



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

VANESSA ARAUJO DE QUEIROZ

ESTUDO QUÍMICO DE *MARCTIA MUCUGENSIS* WURDACK (MELASTOMATACEAE)

Fortaleza – Ceará
2011

VANESSA ARAUJO DE QUEIROZ

**ESTUDO QUÍMICO DE *MARCTIA MUCUGENSIS* 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 – Ce

2011

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- Q48e Queiroz, Vanessa Araujo de.
Estudo químico de *Marcetia mucugensis* Wurdack (melastomataceae) / Vanessa Araujo de Queiroz. – 2011.
113 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Programa de Pós-Graduação em Química, Fortaleza, 2011.
Orientação: Profa. Dra. Nilce Viana Gramosa Pompeu de Sousa Brasil.
1. *Marcetia mucugensis*. 2. Flavonoides. 3. Melastomataceae. I. Título.

CDD 540

VANESSA ARAUJO DE QUEIROZ

**ESTUDO QUÍMICO DE *MARCTIA MUCUGENSIS* WURDACK
(MELASTOMATACEAE)**

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.

Aprovada em: 05/07/2011

BANCA EXAMINADORA:

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

Profa. Dra. Mary Anne Sousa Lima (UFC)
Universidade Federal do Ceará - UFC

Dr. Kirley Marques Canuto (EMBRAPA)
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – (EMBRAPA)

Agradeço a Deus por todos obstáculos superados. Dedico este trabalho ao meus pais, Anchieta e Maria Luisa, e ao meu marido, Gleidson, pelo incentivo, amor e paciência. Ao meu irmão, Júnior e a minha prima, Graças, por todos os momentos felizes.

AGRADECIMENTOS

À Deus por iluminar meu caminho e me conceder a sabedoria para seguir sempre em frente, me dando forças para superar as dificuldades mais inesperadas e a alegria de viver sabendo que Ele sonda por mim.

Aos meus pais, Jose Anchieta de Queiroz e Maria Luisa Araujo Queiroz pelo amor e carinho concedidos, pelas conversas que irão sempre estar guardadas como base para minha vida e por sempre acreditarem em mim.

Ao meu marido, Gleidson Lima Pinheiro, pelo amor, companheirismo, dedicação e pelas palavras de tranquilidade nos momentos que mais precisei.

Ao meu irmão, Júnior e à minha prima, Graças, pelos momentos de risos e conversas a toa, pela amizade e atenção nas horas mais importantes.

A Professora. Nilce Viana Gramosa Pompeu de Sousa Brasil, por ter me aceitado como orientanda, pela compreensão, atenção e amizade. As horas de conversa e confraternizações lembrarei com muito carinho.

Ao professor Edilberto Rocha Silveira pela dedicação e atenção à pesquisa de produtos naturais, pelos conselhos e livros emprestados.

A professora Mary Anne Sousa Lima pelas aulas, sugestões e auxílio material que contribuíram para o desenvolvimento deste projeto.

Aos professores Otilia Deusdênia P. Cavalcante, Gilvandeti Maria Pinheiro Santiago, Telma Leda G. Lemos e Prof. Francisco José Queiroz Monte, pelas disciplinas ministradas, atenção e colaboração no meu desenvolvimento intelectual.

Em especial aos meus amigos de grupo: Duvilardo, João Vitor, Mariano, Antônio Neto, Paulo Vitor, ao ex-integrante do grupo Clêrton e à minha amiga Antônia pela ótima convivência, sugestões, auxílio nos experimentos e alguns destes foram essenciais no desenvolvimento deste trabalho.

Aos meus amigos antigos e novos Ayla, Ceíça, Isabel, Karisia, Leonardo Alcântara, Luciana, Patrícia, Paula, Paulo e Ticiania, pela atenção, apoio e momentos divertidos que passamos juntos.

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

Aos órgãos financiadores CAPES, FUNCAP e CNPq.

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

Queiroz, V. A.

RESUMO

Este trabalho descreve o estudo químico de *Marcetia mucugensis* (Melastomataceae), planta restrita a campos rupestres, encontrada em Mucugê, na Bahia. Várias espécies dessa família são utilizadas para fins medicinais, como: *Miconia albicans* (Sw.) Tr., usada contra reumatismo; *Mouriri guianensis* Aubl., utilizado contra ulcerações, banhos pós-parto e infecções vaginais e *Macairea radla* (Bonpl.) DC., usada contra escabiose e dermatoses. Além de apresentar plantas com atividades farmacológicas comprovadas, como: atividade antimicrobiana dos extratos etanólicos de *Miconia albicans* e *Miconia rubiginosa* e atividade antioxidante e citotóxica de flavonoides presentes em *Melastoma malabathricum* L. A investigação química de *M. mucugensis* foi realizada através do isolamento e caracterização de metabólitos secundários presentes no extrato hidroalcoólico das folhas coletadas na Chapada Diamantina-Bahia. Foram isolados o triterpeno esqualeno, quatro polimetoxiflavonas: 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 e o flavonol pentahidroxilado quercetina. O isolamento dos constituintes químicos foi realizado por métodos cromatográficos convencionais e a determinação estrutural das substâncias isoladas realizada através do uso de técnicas espectrométricas como: infravermelho (IV), espectrometria de massa (EM) e ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN ¹H) e carbono-13 (RMN ¹³C), incluindo técnicas bidimensionais (COSY, HSQC, e HMBC) e comparação com os dados descritos na literatura. Este trabalho apresenta o primeiro relato sobre o estudo fitoquímico de *M. mucugensis*.

Palavras-chave: *Marcetia mucugensis*. Flavonoides. Melastomataceae.

ABSTRACT

This work describes the chemical composition of *Marcetia mucugensis* (Melastomataceae), a plant restricted to rocky fields and that can be found in Mucugê, Bahia. Several species of this family are used for medicinal purposes, such as *Miconia albicans* (Sw.) Tr. Used against rheumatism; *Mouriri guianensis* Aubl. Used against ulcers, postpartum baths and vaginal infections and *Macairea radla* (Bonpl.) DC. used against scabies and skin diseases. Besides presenting plants with proven pharmacological activities such as antimicrobial activity of ethanol extracts of *Miconia albicans* and *Miconia rubiginosa* and cytotoxic and antioxidant activity of flavonoids present in *Melastoma malabathricum* L. The phytochemical investigation of this plant was carried out through the isolation and characterization of secondary metabolites present in the hydroalcoholic extract from the leaves collected in the Chapada Diamantina, Bahia. The triterpene squalene, four polymethoxyflavones 5,3'-dihydroxy-3,6,7,8,4',5'-hexamethoxyflavone (digitrigin), 5-hydroxy-3,6,7,8,3',4',5'-heptamethoxyflavone (gardenin A), 5-hydroxy-3,6,7,8,3',4'-hexamethoxyflavone, and 5,7-dihydroxy-3,6,8,3',4',5'-hexamethoxyflavone along with quercetin were isolated. The isolation of chemical constituents was performed by conventional chromatographic methods, while the structural determination was carried out by means of spectrometric techniques such as infrared (IR), mass spectrometry (MS) as well as nuclear magnetic resonance hydrogen (^1H NMR) and carbon-13 (^{13}C NMR), including two-dimensional techniques (COSY, HSQC, and HMBC) and comparison with the data described in the literature. This work is the first report about the phytochemical study of *M. mucugensis*.

LISTA DE FIGURA

Figura 1. Metabólitos secundários isolados de espécies da família Melastomataceae.....	18
Figura 2. <i>M. mucugensis</i> Wurdack em seu habitat natural.....	22
Figura 3. <i>Marcetia mucugensis</i> Wurdack: detalhe para as folhas e inflorescências.....	23
Figura 4. Estrutura básica de um flavonoide.....	24
Figura 5. Biossíntese de Flavonoide.....	25
Figura 6. Espectro de absorção na região do infravermelho de FMU-1 (KBr).....	42
Figura 7. Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) de FMU-1.....	42
Figura 8. Espectro de RMN ^{13}C -CPD (75 MHz, CDCl_3) de FMU-1.....	43
Figura 9. Espectro de Massas de Baixa Resolução de FMU-1.....	43
Figura 10. Esqueleto base de uma flavona.....	46
Figura 11. Correlações observadas no espectro HMBC para FMU-3.....	46
Figura 12. Espectro de absorção na região do infravermelho de FMU-3 (KBr)....	49
Figura 13. Espectro de RMN ^{13}C -CPD (125 MHz, CDCl_3) de FMU-3.....	49
Figura 14. Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° (125 MHz, CDCl_3) de FMU-3.....	50
Figura 15. Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de FMU-3.....	50
Figura 16. Espectro de RMN ^1H - expansão (500 MHz, CDCl_3) de FMU-3.....	51
Figura 17. Espectro de Massas de Baixa Resolução de FMU-3.....	51
Figura 18. Espectro HSQC (500 x 125 MHz, CDCl_3) de FMU-3.....	52
Figura 19. Espectro HSQC - expansão - (500 x 125 MHz, CDCl_3) de FMU-3.....	52
Figura 20. Espectro HMBC (500 x 125 MHz, CDCl_3) de FMU-3.....	53
Figura 21. Espectro HMBC - expansão (500 x 125 MHz, CDCl_3) de FMU-3.....	53
Figura 22. Subestruturas mostrando correlações observadas no HMBC para FMU-2.....	56
Figura 23. Espectro de absorção na região do infravermelho de FMU-2 (KBr)....	59
Figura 24. Espectro de RMN ^{13}C -CPD (125 MHz, CDCl_3) de FMU-3.....	59
Figura 25. Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° (125 MHz, CDCl_3) de FMU-2.....	60
Figura 26. Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de FMU-2.....	60
Figura 27. Espectro de RMN ^1H - expansão (500 MHz, CDCl_3) de FMU-2.....	61
Figura 28. Espectro de Massas de Baixa Resolução de FMU-2.....	61

Figura 29. Espectro HSQC (500 x 125 MHz, CDCl ₃) de FMU-2.....	62
Figura 30. Espectro HSQC – expansão (500 x 125 MHz, CDCl ₃) de FMU-2.....	62
Figura 31. Espectro HMBC (500 x 125 MHz, CDCl ₃) de FMU-2.....	63
Figura 32. Espectro HMBC - expansão (500 x 125 MHz, CDCl ₃) de FMU-2.....	63
Figura 33. Subestruturas mostrando correlações observadas no HMBC para FMU-4.....	66
Figura 34. Espectro de absorção na região do infravermelho de FMU-4 (KBr)....	69
Figura 35. Espectro de RMN ¹³ C-CPD (125 MHz, CDCl ₃) de FMU-4.....	69
Figura 36. Espectro de RMN ¹³ C-DEPT 135° (125 MHz, CDCl ₃) de FMU-4.....	70
Figura 37. Espectro de RMN ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) de FMU-4.....	70
Figura 38. Espectro de RMN ¹ H - expansão (500 MHz, CDCl ₃) de FMU-4.....	71
Figura 39. Espectro de Massas de Baixa Resolução de FMU-4.....	71
Figura 40. Espectro COSY (500 x 500 MHz, CDCl ₃) de FMU-4.....	72
Figura 41. Espectro HSQC (500 x 125 MHz, CDCl ₃) de FMU-4.....	72
Figura 42. Espectro HSQC – expansão (500 x 125 MHz, CDCl ₃) de FMU-4.....	73
Figura 43. Espectro HSQC - expansão (500 x 125 MHz, CDCl ₃) de FMU-4.....	73
Figura 44. Espectro HMBC (500 x 125 MHz, CDCl ₃) de FMU-4.....	74
Figura 45. Espectro HMBC - expansão (500 x 125 MHz, CDCl ₃) de FMU-4.....	74
Figura 46. Espectro HMBC - expansão (500 x 125 MHz, CDCl ₃) de FMU-4.....	75
Figura 47. Correlações observadas no espectro HMBC para FMU-5.....	78
Figura 48. Espectro de absorção na região do infravermelho de FMU-5 (KBr)....	80
Figura 49. Espectro de RMN ¹³ C-CPD (125 MHz, CDCl ₃) de FMU-5.....	80
Figura 50. Espectro de RMN ¹³ C-DEPT 135° (125 MHz, CDCl ₃) de FMU-5.....	81
Figura 51. Espectro de RMN ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) de FMU-5.....	81
Figura 52. Espectro de RMN ¹ H - expansão (500 MHz, CDCl ₃) de FMU-5.....	82
Figura 53. Espectro HSQC (500 x 125 MHz, CDCl ₃) de FMU-5.....	82
Figura 54. Espectro HSQC - expansão - (500 x 125 MHz, CDCl ₃) de FMU-5.....	83
Figura 55: Espectro HMBC (500 x 125 MHz, CDCl ₃) de FMU-5.....	83
Figura 56. Correlações observadas no espectro HMBC para FMU-5.....	85
Figura 57. Espectro de absorção na região do infravermelho de FMU-6 (KBr)....	88
Figura 58. Espectro de RMN ¹³ C-CPD (125 MHz, CD ₃ O de FMU-6.....	88
Figura 59. Espectro de RMN ¹³ C-DEPT 135° (125 MHz, CD ₃ OD) de FMU-6.....	89
Figura 60. Espectro de RMN ¹ H (500 MHz, CD ₃ OD) de FMU-6.....	89

Figura 61. Espectro de RMN ^1H - expansão (500 MHz, CD_3OD) de FMU-6.....	90
Figura 62. Espectro COSY (500 x 500 MHz, CD_3OD) de FMU-6.....	90
Figura 63. Espectro HSQC (500 x 125 MHz, CD_3OD) de FMU-6.....	91
Figura 64. Espectro HMBC (500 x 125 MHz, CD_3OD) de FMU-6.....	91
Figura 65. Espectro HMBC - expansão (500 x 125 MHz, CD_3OD) de FMU-6.....	92
Figura 66. Espectro HMBC - expansão (500 x 125 MHz, CD_3OD) de FMU-6.....	92
Figura 67. Substâncias isoladas de <i>M. mucugensis</i>	108

LISTA DE FLUXOGRAMAS

Fluxograma 1 - Fracionamento de FMUA-H.....	99
Fluxograma 2 - Fracionamento de FMUA-D(4).....	103
Fluxograma 3 - Fracionamento de FMUA-D(5).....	106

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Flavonas e biflavona isoladas de espécies da família Melastomataceae.....	30
Quadro 2. Flavonas glicosiladas isoladas de espécies da família Melastomataceae.....	31
Quadro 3. Flavanonas isoladas de espécies da família Melastomataceae.....	37
Quadro 4. Flavonóis isolados de espécies da família Melastomataceae.....	38

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Espécies da família Melastomataceae que apresentam flavonoides...	27
Tabela 2. Deslocamento químico de RMN ¹³ C-CPD de FMU-1 com padrão de hidrogenação baseado nos dados da literatura (SAITOA et al., 2007).....	40
Tabela 3. Dados de FMU-1 de RMN ¹ H, ¹³ C (300 x 75 MHz, CDCl ₃) comparados com os dados da literatura para o Esqualeno.....	41
Tabela 4. Deslocamento químico de RMN ¹³ C-CPD de FMU-3 com padrão de hidrogenação [(RMN ¹³ C-CPD e DEPT (θ=135), δ, CDCl ₃ , 125MHz)].....	45
Tabela 5. Dados de RMN ¹ H, ¹³ C e correlações de HSQC e HMBC (² J e ³ J) (500 x 125 MHz, CDCl ₃) de FMU-3, comparado com os valores da literatura de RMN ¹ H e ¹³ C para a 3-metoxiflavona flavona Gardenina.....	48
Tabela 6. Deslocamento químico de RMN ¹³ C-CPD de FMU-2 com padrão de hidrogenação [(RMN ¹³ C-CPD e DEPT (θ = 135), δ, CDCl ₃ , 125 MHz)].....	55
Tabela 7. Dados de RMN ¹ H, ¹³ C e correlações de HSQC e HMBC (² J e ³ J) (500 x 125 MHz, CDCl ₃) de FMU-2, comparado com os valores da literatura de RMN ¹ H, ¹³ C para 5,3'-dihidroxi-3,6,7,8,4',5'-hexametoxiflavona.....	58
Tabela 8. Deslocamento químico de RMN ¹³ C-CPD de FMU-4 com padrão de hidrogenação [(RMN ¹³ C-CPD e DEPT (θ = 135), δ, CDCl ₃ , 125 MHz)].....	65
Tabela 9. Dados de RMN ¹ H, ¹³ C e correlações de HSQC e HMBC (² J e ³ J) (500 x 125 MHz, CDCl ₃) de FMU-4, comparado com os valores da literatura (SHIMING et al, 2006) de RMN ¹ H e ¹³ C (300 x 75 MHz, DMSO-d6) para 5-hidroxi-3,6,7,8,3',4'-hexametoxiflavona.....	68
Tabela 10. Deslocamento de RMN ¹³ C-CPD de FMU-5 com padrão de hidrogenação [(RMN ¹³ C-CPD e DEPT (θ = 135), δ, CDCl ₃ , 125 MHz)].....	77

Tabela 11. Dados de RMN ^1H , ^{13}C e correlações de HSQC e HMBC (2J e 3J)m(500 x 125 MHz, CDCl_3) de FMU-5, comparado com os valores da literatura (Roitman e James, 1985) de RMN ^1H e ^{13}C para 5,7-dihidroxi-3,6,8,3',4',5'-hexametoxiflavona.....	79
Tabela 12. Deslocamento químico de RMN ^{13}C -CPD de FMU-6 com padrão de hidrogenação [(RMN ^{13}C -CPD e DEPT ($\theta = 135$), δ , MeOD, 125 MHz)].....	84
Tabela 13. Dados de RMN ^1H , ^{13}C e correlações de HSQC e HMBC (2J e 3J) (500 x 125 MHz, CD_3OD) de FMU-5, comparado com os valores da literatura de RMN ^1H e ^{13}C para quercetina.....	87
Tabela 14. Particionamento do extrato hidroalcoólico FMUA.....	97
Tabela 15. Frações da coluna cromatográfica de FMUA-H.....	97
Tabela 16. Frações da coluna cromatográfica de FMUA-H (2).....	98
Tabela 17. Frações da coluna cromatográfica de FMUA-D.....	100
Tabela 18. Frações da coluna cromatográfica de FMUA-D (4).....	101
Tabela 19. Frações da coluna cromatográfica de FMUA-D (4)(11-13).....	102
Tabela 20. Frações da coluna cromatográfica de FMUA-D (4)(11-13)(4-9).....	102
Tabela 21. Frações da coluna cromatográfica de FMUA-D (5).....	104
Tabela 22. Frações da coluna cromatográfica de FMUA-D (5)(21-23).....	105

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

BB	Broad band
CC	Cromatografia Líquida em Coluna
CCD	Cromatografia de Camada Delgada
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
COSY	Correlation Spectroscopy
CPD	Composite Pulse Decoupling
δ	Deslocamento químico
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
DMSO	Dimetilsulfóxido
EM	Espectrometria de Massas
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence
Hz	Hertz
<i>J</i>	Constante de acoplamento
IDH	Índice de Deficiência de Hidrogênio
IV	Infravermelho
ppm	partes por milhão
RMN ¹H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio-1
RMN ¹³C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono-13
UV	Ultravioleta

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
2	OBJETIVOS.....	20
2.1	Geral.....	20
2.2	Específicos.....	20
3	CONSIDERAÇÕES BOTÂNICAS.....	21
3.1	Considerações gerais sobre a família Melastomataceae.....	21
3.2	Considerações gerais sobre o gênero <i>Marcetia</i>	21
3.3	Considerações gerais sobre a espécie <i>Marcetia mucugensis</i> Wurdack.....	22
4	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA DE FLAVONOIDES PERTENCENTES À FAMÍLIA MELASTOMATACEAE.....	24
4.1	Flavonoides: Definição e Biossíntese.....	24
4.2	Flavonoides presentes na família Melastomataceae.....	26
5	DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL.....	39
5.1	Determinação estrutural de FMU-1.....	39
5.2	Determinação estrutural de FMU-3.....	44
5.3	Determinação estrutural de FMU-2.....	54
5.4	Determinação estrutural de FMU-4.....	64
5.5	Determinação estrutural de FMU-5.....	76
5.6	Determinação estrutural de FMU-6.....	84
6	PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS.....	93
6.1	Coleta do Material.....	93
6.2	Métodos Cromatográficos.....	93
6.2.1	<i>Cromatografia Líquida em Coluna (CC)</i>	93
6.2.2	<i>Cromatografia em Camada Delgada (CCD)</i>	93
6.2.3	<i>Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)</i>	94
6.3	Métodos Espectroscópicos	94
6.3.1	<i>Espectroscopia na Região do Infravermelho (IV)</i>	94
6.3.2	<i>Espectrometria de Massas (EM)</i>	94
6.3.3	<i>Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)</i>	95

6.4	Métodos Físicos.....	96
6.4.1	Ponto de Fusão.....	96
6.5	Obtenção do extrato hidroalcoólico das folhas de <i>Marctia mucugensis</i> – FMUA	96
6.5.1	Tratamento cromatográfico de FMUA.....	96
6.5.2	Fracionamento cromatográfico de FMUA-H.....	97
6.5.2.1	Isolamento de FMU-1.....	98
6.5.3	Fracionamento cromatográfico de FMUA-D.....	99
6.5.3.1	Isolamento de FMU-2	100
6.5.4.	Isolamento de FMU-3 e FMU-4.....	101
6.5.5	Isolamento de FMU-5.....	104
6.5.6	Isolamento de FMU-6.....	105
7	CONCLUSÃO.....	107
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	109

1 INTRODUÇÃO

A natureza sempre despertou no homem um fascínio encantador, não só pelos recursos oferecidos para sua alimentação e manutenção, mas por ser sua principal fonte de inspiração e aprendizado. A busca por alívio e cura de doenças pela ingestão de ervas e folhas talvez tenha sido uma das primeiras formas de utilização dos produtos naturais (VIEGAS JR., BOLZANI e BARREIRO, 2006)

A prática da fitoterapia é importante para o reconhecimento do valor do sistema de medicina tradicional e a identificação de plantas medicinais, a qual têm mostrado um significativo poder de cura no seu estado natural ou como fonte de novos agentes farmacológicos (ELVIN-LEWIS, 2001).

Em muitas comunidades o recurso terapêutico é a utilização de plantas medicinais, onde ainda hoje nas regiões mais pobres do país e até mesmo nas grandes cidades brasileiras as plantas medicinais são comercializadas em feiras livres, mercados populares e encontradas em quintais residenciais (MACIEL *et al.*, 2002).

A família Melastomataceae é constituída de 166 gêneros e aproximadamente 4.570 espécies, concentradas principalmente na América, onde são conhecidas cerca de 2.950 espécies (RENNER, 1993; CLAUSING e RENNER, 2001). No Brasil é a sexta maior família de Angiospermas com 68 gêneros e mais de 1.500 espécies, que se distribuem desde a Amazônia até o Rio Grande do Sul, estando presente em praticamente todas as formações vegetacionais (ROMERO e MARTINS, 2002).

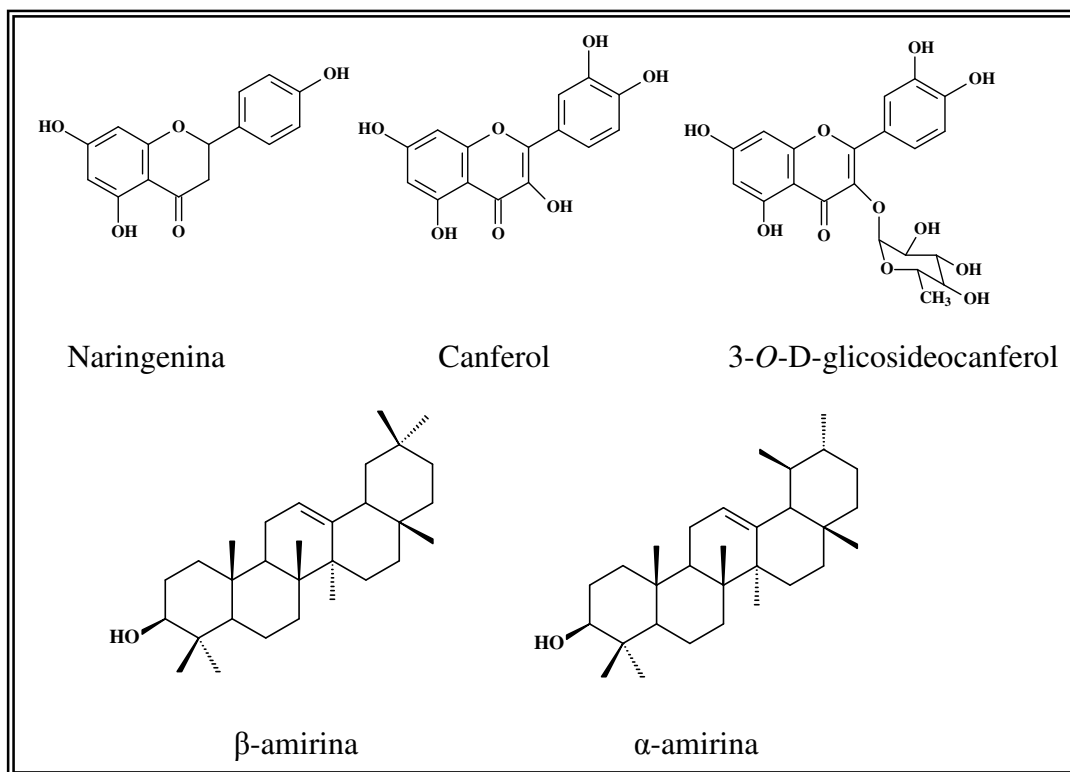
Várias espécies de Melastomataceae apresentam potencial de uso em recuperação e reflorestamento de áreas degradadas, também proporcionam características ornamentais, sendo muito utilizadas no paisagismo urbano (CRUZ e KAPLAN, 2004).

Dentre as espécies utilizadas para fins medicinais destacam-se: *Miconia albicans* (Sw.) Tr. usada contra reumatismo; *Mouriri guianensis* Aubl. utilizada contra ulcerações, banhos pós-parto e infecções vaginais; *Macairea radla* (Bonpl.) DC. usada contra escabiose e dermatoses; *Tibouchina clavata* (Pers.) Wurdack. utilizada contra dores de garganta e *T. semidecandra* F. usada contra dores de cabeça e cicatrizante (MORS *et al.*, 2000).

Plantas desta família possuem atividades farmacológicas, como: atividade antimicrobiana dos extratos etanólicos de *Miconia albicans* e *Miconia rubiginosa* Queiroz, V. A.

(CELOTTO *et al.*, 2003), atividade antioxidante e citotóxica de flavonoides como naringenina, canferol, 3-*O*-D-glicosideocanferol presentes em *Melastoma malabathricum* L. (SUSANTI *et al.*, 2007). Extrato hexânico de *Miconia ligustroides*, que apresentou os triterpenos β -amirina e α -amirina (Figura 1) com importante efeito analgésico (CUNHA *et al.*, 2003) e espécies como *Osbeckia chinensis* e *Tibouchina semidecandra*, ricas em elagitaninos (YOSHIDA *et al.*, 2010).

Figura 1 - Metabólitos secundários isolados de espécies da família Melastomataceae



M. mucugensis não apresentou estudo fitoquímico descrito na literatura, mas pode ser observado relatos anteriores de algumas espécies do gênero *Marcetia* como *M. velutina* que apresentou o triterpeno β -amirina (COSTA *et al.*, 2007); em *M. latifolia* foi possível ser observado flavonoides polimetoxilados através de espectroscopia no ultravioleta (BARBOSA *et al.*, 2009). Para *M. canescens*, *M. latifolia*, *M. macrophylla* e *M. taxifolia*, foi relatada atividade antimicrobiana (LEITE *et al.*, 2008).

A fim de descobrir os metabólitos secundários presentes em *M. mucugensis*, foi realizado o estudo químico desta planta, visando o isolamento e caracterização de substâncias químicas presentes nas folhas.

Este trabalho encontra-se dividido em Introdução; Considerações Botânicas – Capítulo 1; Revisão bibliográfica de flavonoides pertencentes à família Melastomataceae – Capítulo 2; Determinação Estrutural – Capítulo 3; Procedimentos Experimentais – Capítulo 4; Conclusão – Capítulo 5 e Referências Bibliográficas – Capítulo 6.

No primeiro capítulo são relatadas informações botânicas sobre *M. mucugensis*, o gênero *Marcetia* e a família Melastomataceae.

O segundo capítulo aborda uma visão geral sobre flavonoides e a revisão bibliográfica de espécies da família Melastomataceae que possuem flavonoides.

O terceiro capítulo trata das determinações estruturais dos compostos isolados, utilizando técnicas como Espectroscopia na região do Infravermelho (IV), Espectrometria de Massas (EM) e Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio-1 (RMN ^1H) e de Carbono-13 (RMN ^{13}C), incluindo técnicas bidimensionais como COSY, HSQC e HMBC.

No quarto capítulo são descritas as técnicas utilizadas para o isolamento dos constituintes fixos de *M. mucugensis* dentre elas a cromatografia clássica, como a cromatografia em coluna e sob pressão, utilizando gel de sílica.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

- Contribuir com o conhecimento químico do gênero *Marcetia*, investigando os principais metabólitos secundários das folhas da espécie *M. mucugensis*.

2.2 Específicos

- Obter o extrato hidroalcoólico das folhas de *M. mucugensis*;
- Isolar os constituintes presentes no extrato utilizando técnicas de cromatografia, como por exemplo, a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE);
- Identificar os constituintes químicos isolados utilizando métodos Espectrométricos como Espectrometria de Massas, Espectroscopia na região do Infravermelho e Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e ^{13}C uni e bidimensional.

3 CONSIDERAÇÕES BOTÂNICAS

3.1 Considerações gerais sobre a família Melastomataceae

A família Melastomataceae possui distribuição pantropical, com aproximadamente 166 gêneros e 4.570 espécies, das quais dois terços são neotropicais. Constitui uma das principais famílias da flora brasileira, com cerca de 68 gêneros e 1.500 espécies, presentes nos mais variados ecossistemas (ROMERO e MARTINS, 2002).

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 freqüentemente com anteras de deiscência poricida, geralmente falciformes e/ou com o conectivo conspicuo. Frutos capsulares ou bacáceos, em geral com numerosas sementes (GIULIETTI *et al.*, 2009).

Alguns gêneros desta família são abundantes em áreas de Mata Atlântica, como por exemplo, *Miconia*, *Leandra* e *Tibouchina*, outros em áreas de cerrados e campos rupestres como *Microlicia*, *Lavoisiera*, *Marcetia*, *Cambessedesia* e *Trembleya* (SOUZA e LORENZI, 2008), onde são encontradas muitas espécies de distribuição restrita.

3.2 Considerações gerais sobre o gênero *Marcetia*

Plantas deste gênero têm uma forte preferência por habitat rupestre e muitos manifestam uma forte tendência em apresentar distribuições endêmicas. Existem 27 espécies pertencentes ao gênero *Marcetia*, das quais a maioria cresce na Cadeia do Espinhaço e principalmente na Chapada Diamantina-BA, onde 80% das espécies são endêmicas (KRUCKEBERG e RABINOWITZ, 1985; MARTINS, 1989).

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

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 (MARTINS, 1989).

3.3 Considerações gerais sobre a espécie *Marsetia mucugensis* Wurdack

A espécie é endêmica da Bahia, tem distribuição restrita a campos rupestres situados em altitudes inferiores a 1000 m, se não encontrada em Andaraí, Lençóis e Mucugê na Bahia (Figura 2). *M. mucugensis* provavelmente floresce e frutifica em dois períodos distintos, de dezembro a fevereiro e entre junho a setembro (MARTINS, 1989).

É uma planta que se apresenta como um subarbusto ereto, muito ramificado, com 40 a 100 cm de altura e folhas opostas ou em pseudo-fascículos, pecioladas, pecíolos com 1 a 2 mm de comprimento. Apresenta pétalas brancas com a base rosada ou avermelhada (Figura 3), ovais, ápice arredondado e terminado com pêlo glandular (WURDACK, 1977).

Figura 2 - *M. mucugensis* Wurdack em seu habitat natural



Fonte: Prof. Edilberto Rocha Silveira

Figura 3 - *M. mucugensis* Wurdack: detalhe para as folhas e inflorescências



Fonte: Prof. Edilberto Rocha Silveira

4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA DE FLAVONOIDES PERTENCENTES À FAMÍLIA MELASTOMATACEAE

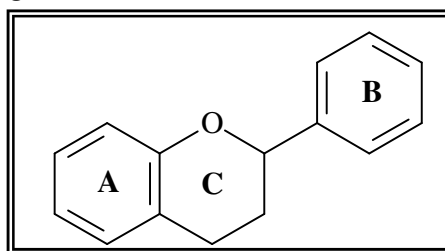
Os flavonoides pertencentes às espécies da família Melastomataceae são relatados neste capítulo. Os dados fornecidos foram obtidos de artigos publicados até o ano de 2010, através de pesquisas buscadas no *Scifinder* e nos sites científicos *Science direct* (<http://www.sciencedirect.com>) e *Web of Science* (<http://www.isiwebofknowledge.com>).

4.1 Flavonoides: Definição e Biossíntese

Os flavonoides representam um dos grupos fenólicos mais importantes e diversificados entre os produtos de origem vegetal, responsáveis pela maioria dos corantes amarelos, vermelhos e azuis naturais. Têm propriedades estimulantes na circulação e agem na redução da fragilidade dos capilares (VASCONCELOS *et al.*, 2004).

São encontrados principalmente em frutas, verduras, temperos e chás (SANTOS, 2006). A sua estrutura básica é formada por um núcleo flavano, constituído de quinze átomos de carbono arranjados em três anéis (C₆-C₃-C₆), sendo dois anéis fenólicos substituídos (A e B) e um pirano (cadeia heterocíclica) acoplado ao anel A (Figura 4). Os anéis A e B são hidroxilados e podem conter substituintes metoxilados (HERRMANN *et al.*, 2001).

Figura 4 - Estrutura básica de um flavonoide

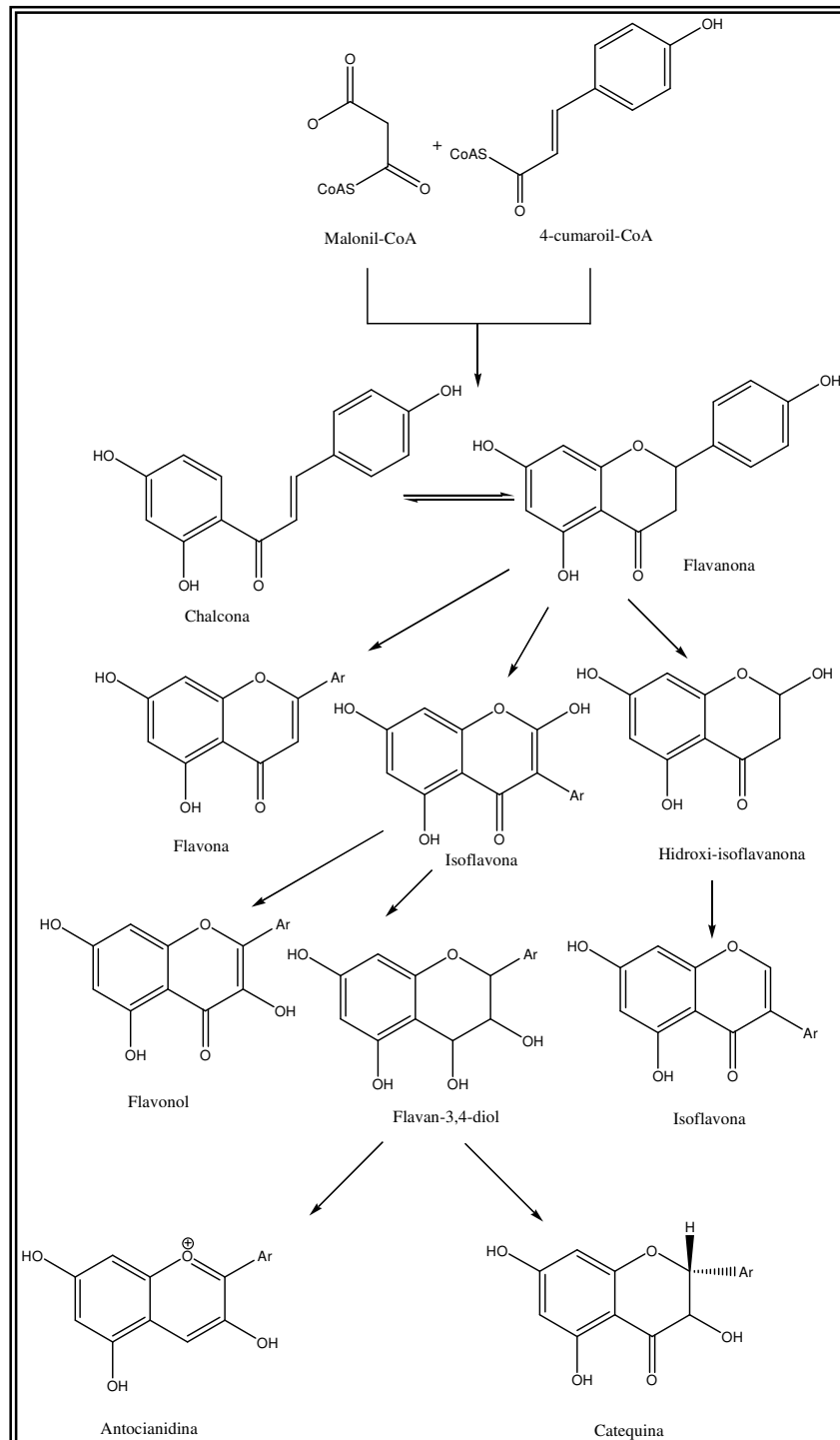


Os efeitos bioquímicos e farmacológicos dos flavonoides são muito vastos, dentre estes se destacam as ações antioxidante, anti-inflamatória e antiplaquetária, além de efeitos antialérgicos. Quando em alimentos, os flavonoides agem de forma a poupar o consumo de vitamina C, evitando a formação de radicais livres (KOO e SUHAILA, 2001).

Há aproximadamente 8000 flavonoides relatados na literatura. Eles apresentam origem biossintética mista, com parte da molécula proveniente da rota

do ácido chiquímico e parte do ácido mevalônico, com estrutura química baseada no esqueleto 2-fenilcromano. Um derivado do ácido cinâmico (fenilpropano), sintetizado a partir do ácido chiquímico, age como precursor na síntese de um intermediário ao qual são adicionados três resíduos de acetato, via ácido malônico, com posterior ciclização da estrutura (DI CARLO *et al.*, 1999) (Figura 5).

Figura 5 - Biossíntese de Flavonoide



4.2 Flavonoides presentes na família Melastomataceae

Vários estudos em espécies da família Melastomataceae têm sido realizados, como o estudo químico e biológico do extrato das folhas de *Miconia alypifolia* que revelou a presença de quatro flavonoides: trifolina, hiperina, 7-O-glicosideoapigenina e 3-O-diglicosideocanferol (Tabela 1), que apresentaram atividade antioxidante (MANCINI *et al.*, 2008). Nishijima e colaboradores (2009) observaram que *Mouriri pusa* desempenha um papel importante no potencial anti-hemorrágico contra o veneno de *Bothrops jararacas*, uma vez que o extrato metanólico e as frações flavonoídicas (quercetina e miricetina) das folhas apresentaram capacidade de neutralização total do veneno.

De acordo com Susanti e colaboradores (2007), foram isolados três compostos do extrato acetato de etila das flores de *Melastoma malabathricum*: naringenina, canferol e astragalina. Do extrato metanólico foram obtidos astragalina e 3-O-(2'',6''-di-O-*p-trans*-cumaroil)glicosideocanferol. Os extratos apresentaram atividade antioxidante estimável, além do primeiro ter apresentado considerável inibição de células cancerígenas.

Os resultados obtidos por RODRIGUES *et al.* (2008) mostraram que algumas espécies de *Miconia* podem ser uma fonte útil na busca de extratos e compostos com atividade antimicrobiana, como por exemplo, os extratos metanólicos das folhas de *M. rubiginosa* e *M. stenostachya* e o extrato clorofórmico das folhas de *M. Cabucu*. Segundo MONTENEGRO *et al.* (2007), o extrato metanólico bruto de *Clidemia sericia* apresentou os flavonoides glicosilados 2'',6''-O-digalloylvitexina e 2''-O-galloylvitexina com moderada atividade antimalárica.

A família Melastomataceae apresentou 13 espécies que possuíam flavonoides, dentre os quais se encontrou 2 flavonas, 1 biflavona (Quadro 1), 36 flavonas glicosiladas (Quadro 2), 2 flavanonas (Quadro 3) e 4 flavonóis (Quadro 4). Neste conjunto foram observados 45 flavonoides, encontrados preferencialmente nas folhas, dos quais prevaleceram flavonas glicosiladas isoladas principalmente de *Mouriri pusa*.

Nesse contexto, pode-se observar que poucos estudos foram feitos com espécies da família Melastomataceae, principalmente com as espécies pertencentes ao gênero *Marcetia* como por exemplo, *Marcetia latifolia* que foi apenas observado

flavonoides polimetoxilados através de espectroscopia no ultravioleta (BARBOSA *et al.*, 2009).

Tabela 1 - Espécies da família Melastomataceae que apresentam flavonoides

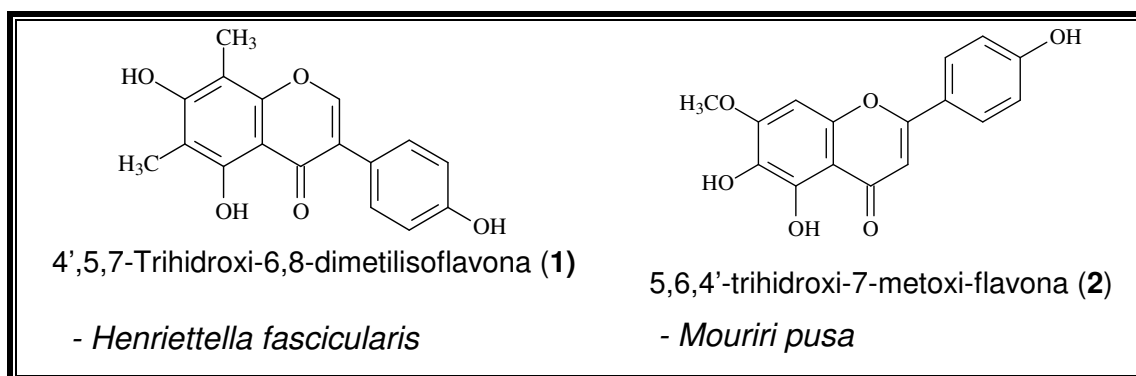
Espécie	Parte da Planta	Substâncias	Referências
<i>Clidemia sericea</i>	Folhas	- 2'',6''- <i>O</i> -digalloilvitexina (10) - Isovitexina (12) - 2''- <i>O</i> -galloilvitexina (11) - Rutina (34) - Vitexina (13)	MONTENEGRO <i>et al.</i> , 2007
<i>Henriettella fascicularis</i>	Ramos	- 4',5,7-Trihidroxi-6,8-dimetilisoflavona (1)	MACKOVA <i>et al.</i> , 2006
<i>Melastoma dodecandrum</i>	Não determinado	- Quercetina (45) - Canferol (44) - Avicularina (37)	CHAO e YAN-XIONG, 2003
<i>Melastoma Malabathricum</i>	Flores	- Naringenina (41) - Canferol (44) - Astragalina (32) - 3- <i>O</i> -(2'',6''-di- <i>O</i> - <i>p</i> -trans-cumaroil) glicosideocanferol (33)	SUSANTI <i>et al.</i> , 2007
<i>Miconia alypifolia</i>	Folhas	- 7- <i>O</i> -glicosideoapigenina (18) - 3- <i>O</i> -diglicosideocanferol (19) - Trifolina (35) - Hiperina (31)	MANCINI <i>et al.</i> , 2008
<i>Miconia cabucu</i>	Folhas	-3- <i>O</i> - β -xilopiranosil-(1 \rightarrow 2)- <i>O</i> - α - rhamnopiranosideoquercetina (4) - Quercitrina (27)	RODRIGUES <i>et al.</i> , 2007 RODRIGUES <i>et al.</i> , 2008

		<ul style="list-style-type: none"> - Miricitrina (28) -3-O-β-D-glicopiranosideoquercetina (29) -3-O-β-D-(6''-cumaroil)-glicopiranosideocamferol (5) - 5-hidroxi-4',7-dimetoxiflavona-(6-C-6''')-5''-hidroxi-3''',4''',7'''-trimetoxiflavona (3) - 3-O-β-xilopiranosil-(1→2)-O-α-rhamnopiranosideoquercetina (6): 	
<i>Miconia rubiginosa</i>	Folhas	<ul style="list-style-type: none"> - Quercitrina (27) - 3-O-β-arabinofuranosideoquercetina (7) - 3-O-α-arabinopiranosideoquercetina (8) - 3-O-β-arabinopiranosideoquercetina (30) - Hiperina (31) - 3-O-α-rhamnopiranosil-(1→4)-O-β-galactopiranosideoquercetina (9) 	RODRIGUES <i>et al.</i> , 2008
<i>Mouriri elliptica</i>	Folhas	<ul style="list-style-type: none"> -3-O-β-D-galactopiranosideoquercetina (36) - 3-O-β-glicopiranosideoquercetina (38) - Miricitrina (28) - Hiperina (31) - 3-O-β-xilopiranosideoquercetina (39) - Quercitrina (27) 	SANTOS <i>et al.</i> , 2008
<i>Mouriri pusa</i>	Folhas	<ul style="list-style-type: none"> - 5,6,4'-trihidroxi-7-metoxi-flavona (2) - Canferol (44) - 3-O-β-D-arabinopiranosideocanferol (15) - 6,8-dihidroxicanferol-3-O-β-D-glicopiranosideo (16) -3-O-β-D-glicopiranosideoquercetina (29) 	ANDREO <i>et al.</i> , 2006 SANTOS <i>et al.</i> , 2008

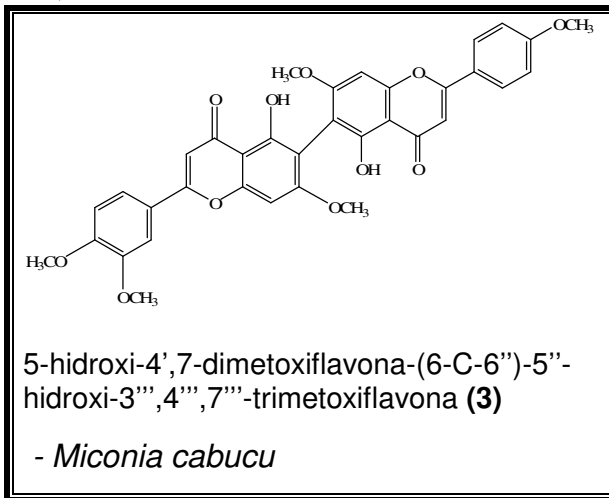
		- 4'-O-β-D-arabinopiranosideoquercetina (17)	
		- 3-O-β-D-galactopiranosideomiricetina (36)	
		- 3-O-β-glicopiranosideomiricetina (38)	ANDREO <i>et al.</i> , 2006
		-Miricitrina (28)	SANTOS <i>et al.</i> , 2008
		- 3-O-β-xilopiranosideoquercetina (39)	
		- 3-O-β-arabinopiranosideoquercetina (30)	
		- Quercitrina (27)	
		- Quercetina (45)	
		- Miricetina (42)	
		- Avicularina (37)	
		- Trifolina (35)	
		- Hiperina(31)	
		- Rutina (34)	
<i>Osbeckia áspera</i>	Folhas	- Hiperina (31)	GRAYER <i>et al.</i> , 2008
		-3-O-β-D-glicopiranosideoquercetina (29)	
		- 3-O-(3''-O-acetil-β-galactopiranosideo)quercetina (20)	
		- Astragalina (32)	
		- tilirosideo (21)	
		- 3-O-(2'',6''-di-O-p-trans-cumaroil)glicosideocanferol (33)	
		- Quercetina (45)	
		- Canferol (44)	
<i>Sarcopyramis bodinieri</i>	Não determinado	- Quercetina (45)	WAN <i>et al.</i> , 2009
		- Isorhamnetina (43)	
		-3-O-β-D-glicopiranosideoquercetina (29)	

		-3-O-β-D-glicopiranosideoisorhamnetina (22) - 3-O-(6"-acetil)-β-D-glicopiranosideoquercetina (23) - 3-O-(6"-O-E-p-cumaroil)-β-D-glicopiranosideoquercetina (24) - 3-O-(6"-acetil)-β-D-glicopiranosideoisorhamnetina (25) - 3-O-(2"-acetil)-β-D-glicopiranosideoisorhamnetina (26)	
<i>Tibouchina pulchra</i>	Folhas	- 7-O-galactosideoluteolina (14) - Canferol (44) - Trifolina (35) - Astragalina (32) - Quercetina (45) - Quercitrina (27) -3-O-β-D-galactopiranosideomiricetina (36)	MOTTA <i>et al.</i> , 2005
<i>Trembleya laniflora</i>	Folhas	- 5-hidroxi-7,4'-dimetoxiflavanona (40)	VENTURA <i>et al.</i> , 2007

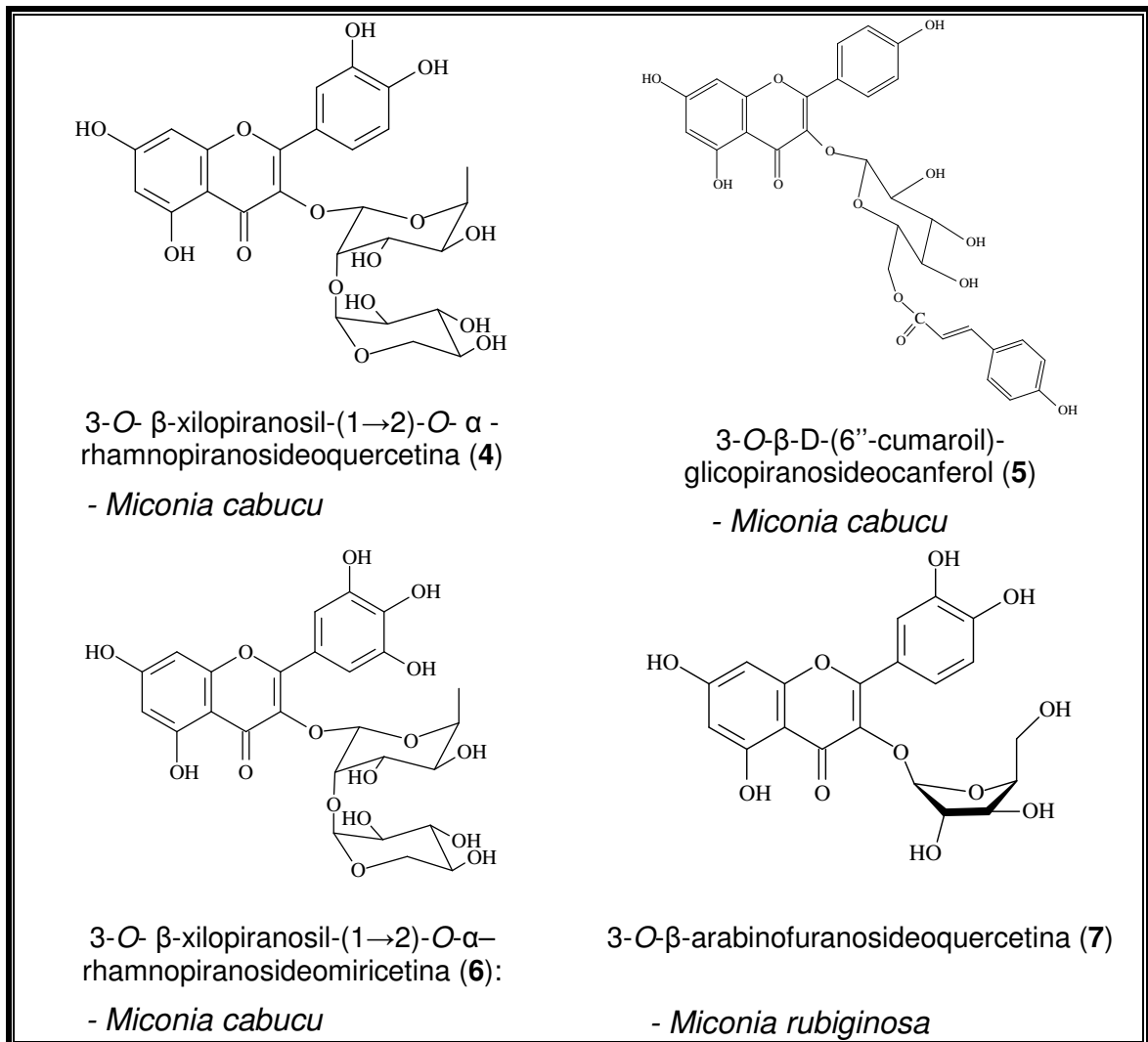
Quadro 1 - Flavonas e biflavona isoladas de espécies da família Melastomataceae

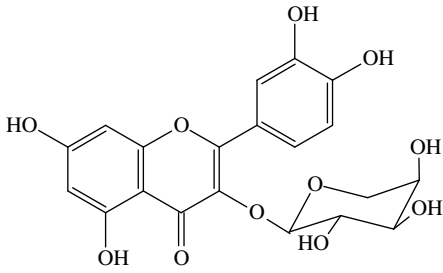
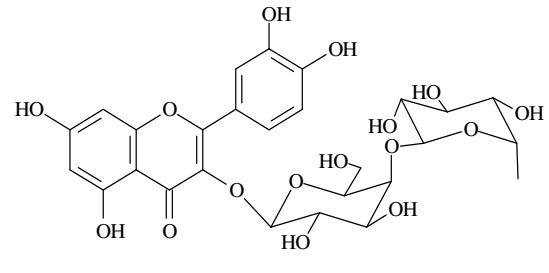
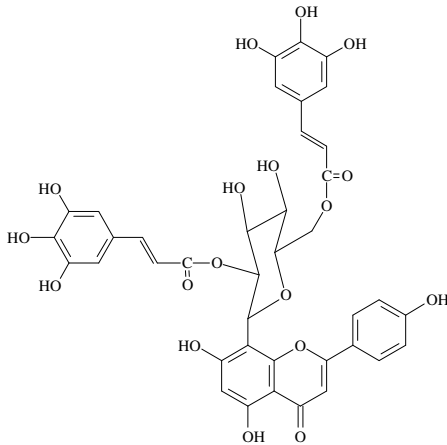


Cont. Quadro 1

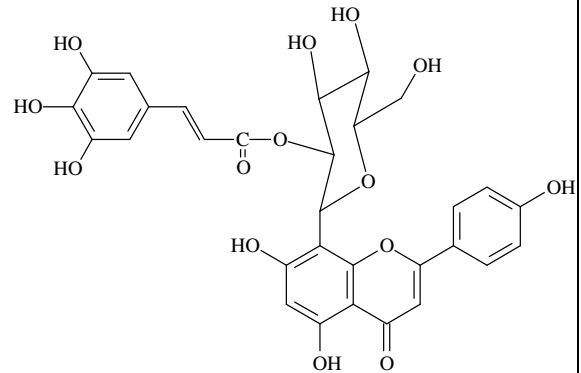


Quadro 2 - Flavonas glicosiladas isoladas de espécies da família Melastomataceae

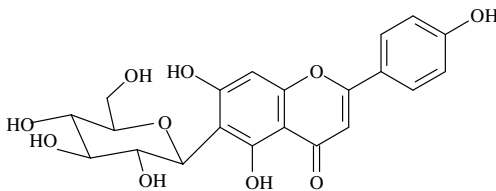


3-O- α -arabinopiranosideoquercetina (8)- *Miconia rubiginosa*3-O- α -rhamnopyranosil-(1 \rightarrow 4)-O- β -galactopiranosideoquercetina (9)- *Miconia rubiginosa*

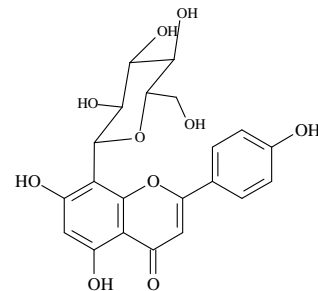
2'',6''-O-digalloilvitexina (10)

- *Clidemia sericea*

2''-O-galloilvitexina (11)

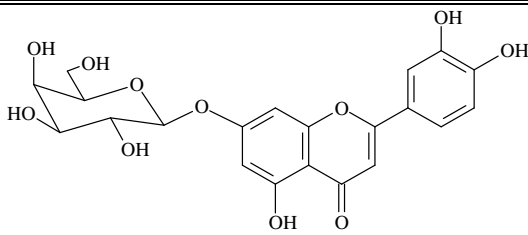
- *Clidemia sericea*

Isovitexina (12)

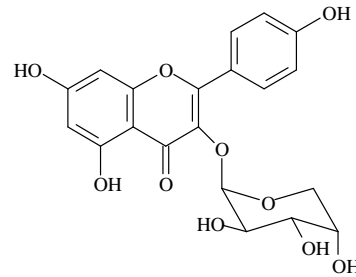
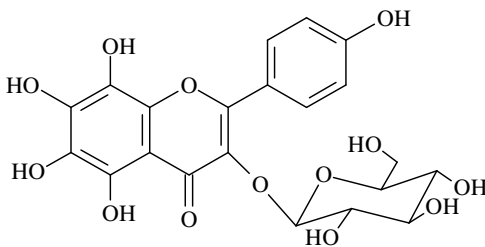
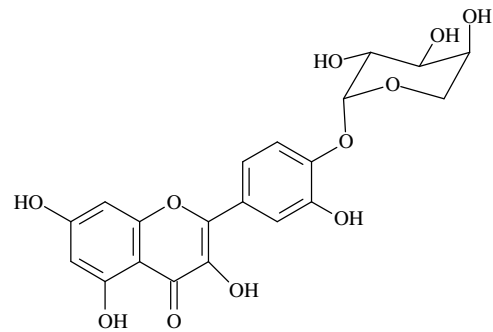
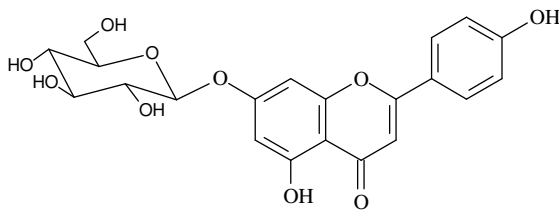
- *Clidemia sericea*

Vitexina (13)

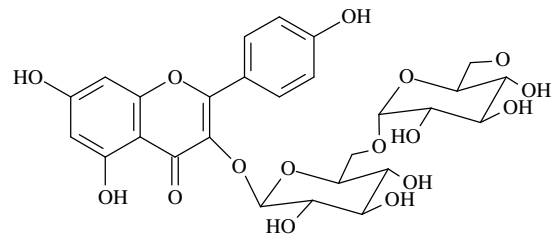
- *Clidemia sericea*



7-O-galactosideoluteolina (14)

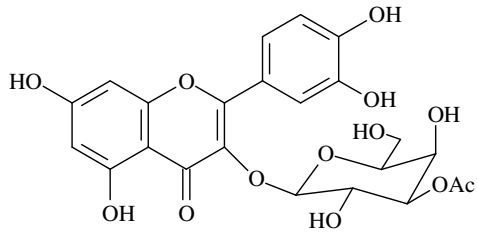
- *Tibouchina pulchra*3-O- β -D-arabinopyranosidecanferol (15)- *Mouriri pusa*6,8-dihydroxicanferol-3-O- β -D-glicopiranosideo (16)- *Mouriri pusa*4'-O- β -D-arabinopyranosideoquercetina (17)- *Mouriri pusa*

7-O-glicosideoapigenina (18)

- *Miconia alypifolia*

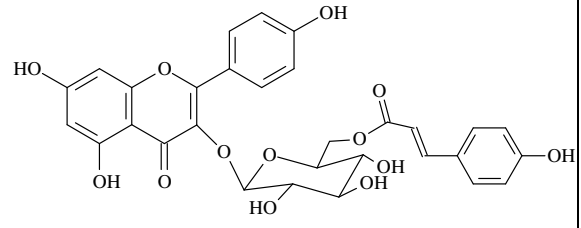
3-O-diglicosideocanferol (19)

- *Miconia alypifolia*



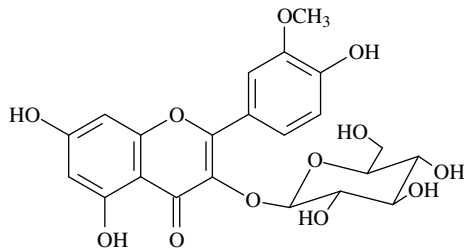
3-O-(3''-O-acetil- β -galactopiranosideo)quercetina (20)

- *Osbeckia áspera*



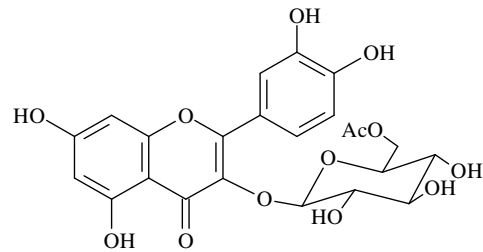
tilirosideo (21)

- *Osbeckia áspera*



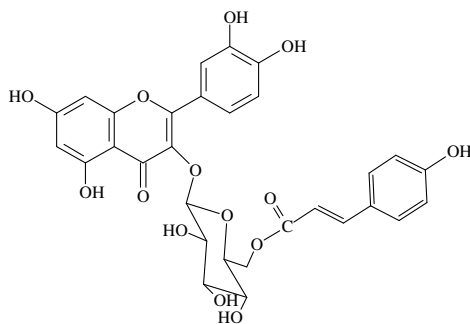
3-O- β -D-glicopiranosideoisorhamnetina (22)

- *Sarcopyramis bodinieri* var.



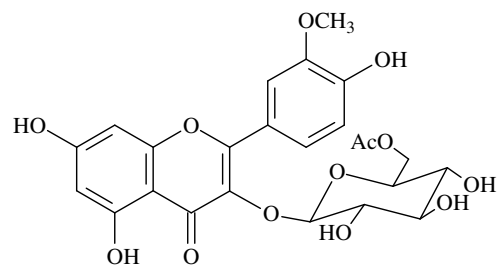
3-O-(6''-acetil)- β -D-glicopiranosideoquercetina (23)

- *Sarcopyramis bodinieri* var.



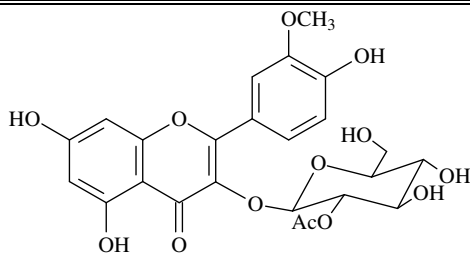
3-O-(6''-O-E-p-cumaroil)- β -D-glicopiranosideoquercetina (24)

- *Sarcopyramis bodinieri* var.



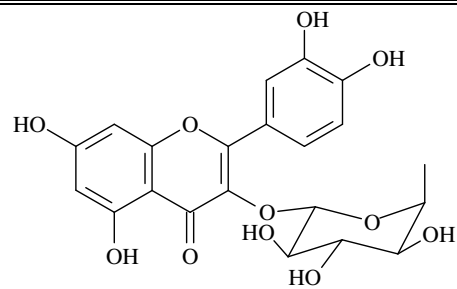
3-O-(6''-acetil)- β -D-glicopiranosideoisorhamnetina (25)

- *Sarcopyramis bodinieri* var.



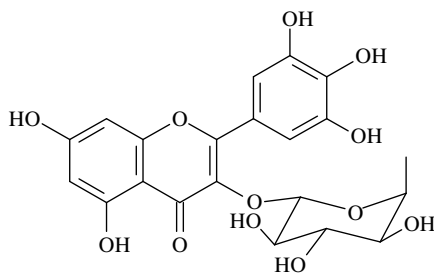
3-O-(2''-acetyl)- β -D-glicopiranosideoisorhamnetina (26)

- *Sarcopyramis bodinieri* var.



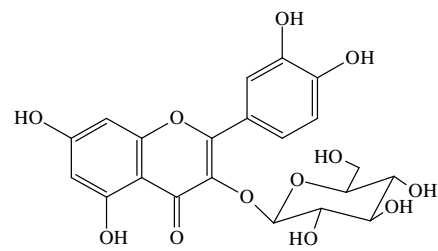
quercitrina (27)

- *Miconia cabucu*
 - *Miconia rubiginosa*
 - *Tibouchina pulchra*
 - *Mouriri pusa*
 - *Mouriri elliptica*



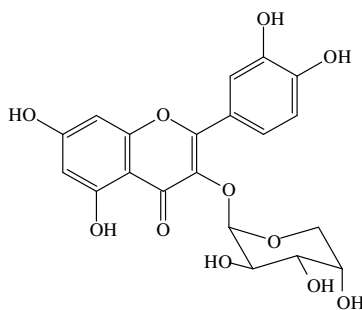
Miricitrina (28)

- *Miconia cabucu*
 - *Mouriri pusa*
 - *Mouriri elliptica*



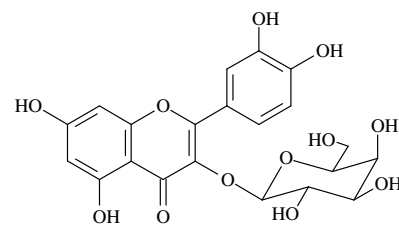
3-O- β -D-glicopiranosideoquercetina (29)

- *Miconia cabucu*
 - *Mouriri pusa*
 - *Osbeckia aspera*
 - *Sarcopyramis bodinieri* var.



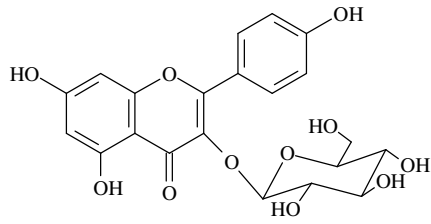
3-O- β -arabinopiranosideoquercetina (30)

- *Miconia rubiginosa*
 - *Mouriri pusa*

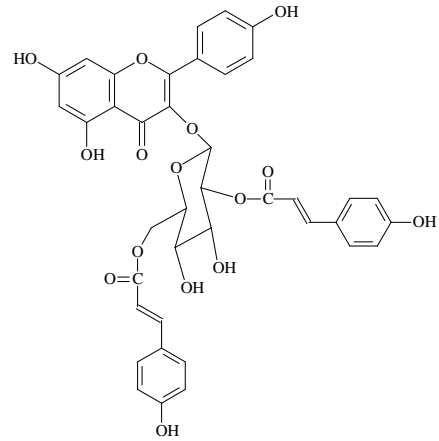


Hiperina (31)

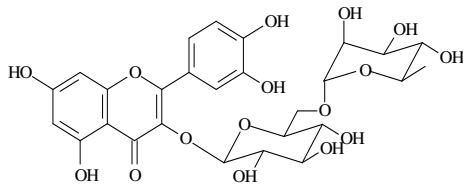
- *Miconia rubiginosa*
 - *Mouriri pusa*
 - *Mouriri elliptica*
 - *Miconia alypifolia*
 - *Osbeckia áspera*

Astragalina (**32**)

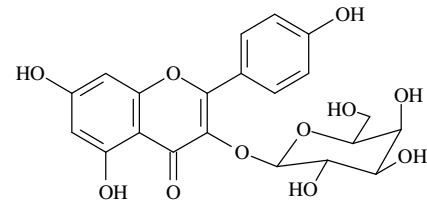
- *Melastoma malabathricum*
- *Tibouchina pulchra*
- *Miconia alypifolia*
- *Osbeckia áspera*

3-O-(2'',6''-di-O-p-trans-cumaroyl)glucosideocanferol (**33**)

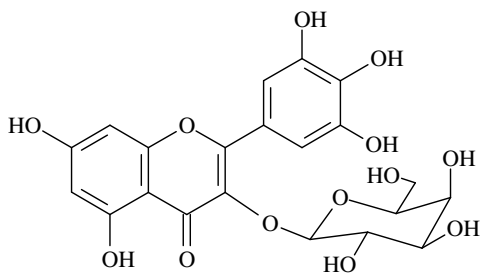
- *Melastoma malabathricum*
- *Osbeckia aspera*

Rutina (**34**)

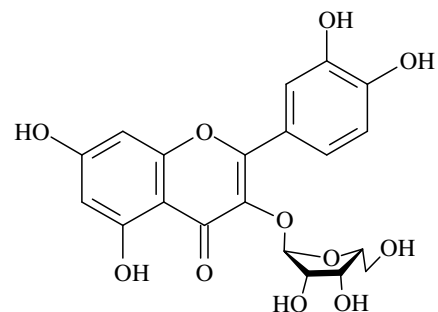
- *Clidemia sericea*
- *Mouriri pusa*

Trifolina (**35**)

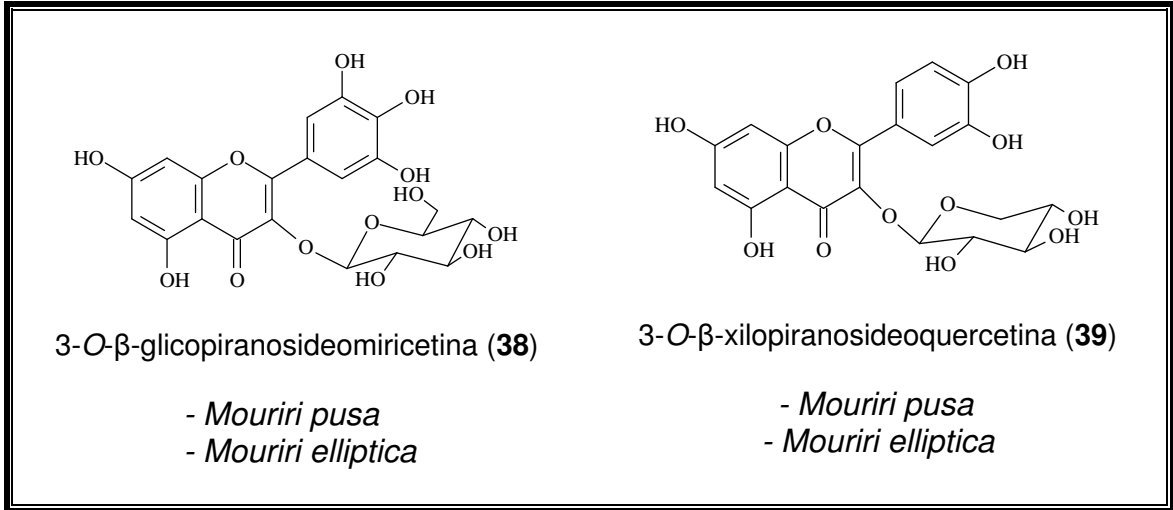
- *Tibouchina pulchra*
- *Mouriri pusa*
- *Miconia alypifolia*

3-O- β -D-galactopiranosideomiricetina (**36**)

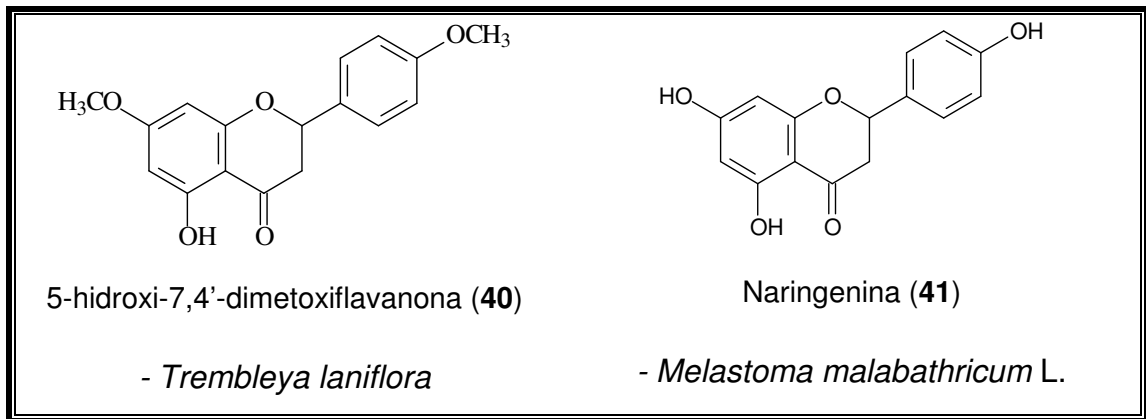
- *Tibouchina pulchra*
- *Mouriri pusa*
- *Mouriri elliptica*

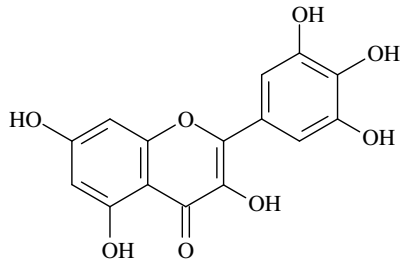
Avicularina (**37**)

- *Mouriri pusa*
- *Melastoma dodecandrum*

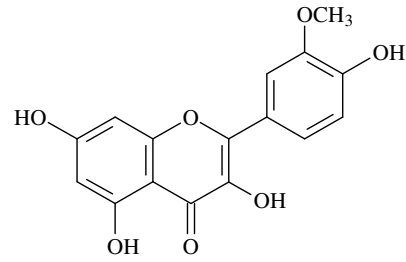


Quadro 3 - Flavanonas isoladas de espécies da família Melastomataceae

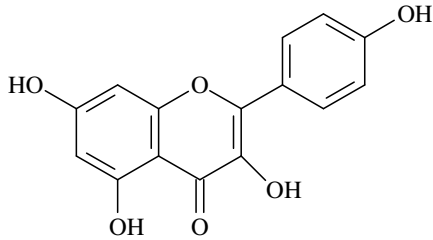


Quadro 4 - Flavonóis isolados de espécies da família Melastomataceae

Miricetina (**42**)
- *Mouriri pusa*

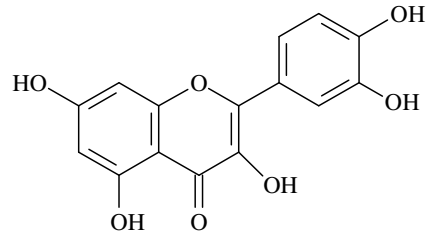


Isorhamnetina (**43**)
- *Sarcopyramis bodinieri* var.



Canferol (**44**)

- *Melastoma malabathricum* L.
- *Tibouchina pulchra*
- *Mouriri pusa*
- *Osbeckia áspera*
- *Melastoma dodecandrum*



Quercetina (**45**)

- *Tibouchina pulchra*
- *Mouriri pusa*
- *Osbeckia áspera*
- *Sarcopyramis bodinieri* var.
- *Melastoma dodecandrum*

5. DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL

5.1 Determinação estrutural de FMU-1

O tratamento cromatográfico da fração hexânica (FMUA-H), obtida a partir do extrato hidroalcoólico das folhas de *Marctia mucugensis* resultou na obtenção de 5,0 mg de um óleo incolor, solúvel em clorofórmio e homogêneo em CCD, denominado de FMU-1.

O espectro na região do infravermelho de FMU-1 (Figura 6) apresentou duas bandas intensas referentes a deformação axial de ligação C-H de carbono metílico em 2942 e 2918 cm^{-1} , uma banda em 2851 cm^{-1} atribuída às deformação axial da ligação C-H de carbono metilênico sp^3 e uma banda em 1636 cm^{-1} referente à vibração de deformação axial de ligação C=C de alceno.

O espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) de FMU-1 (Figura 7) apresentou sinais em δ_{H} 5,13 (m, 6H), sugerindo a presença de hidrogênios olefínicos, sinais em δ_{H} 2,05 (m, 20H) sugerindo a presença de hidrogênios metilênicos ligados a carbonos olefínicos, 2 singletos em δ_{H} 1,69 (s, 6H) e δ_{H} 1,61 (s, 18H) atribuídos a dois hidrogênios de carbonos metílicos.

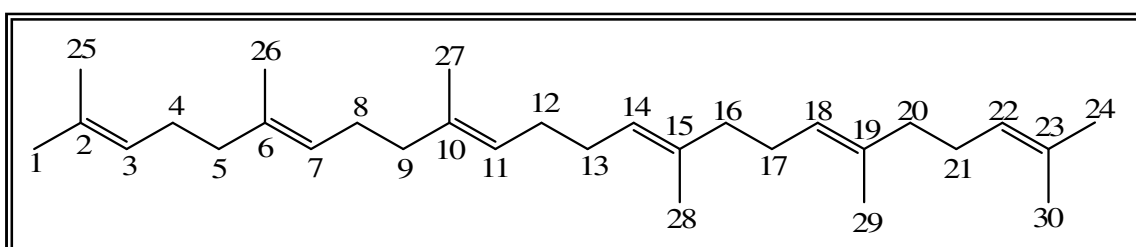
O espectro de RMN ^{13}C -CPD (75 MHz, CDCl_3) de FMU-1 (Figura 8) apresentou 12 linhas espectrais, que ao serem comparados com os deslocamentos químicos dos dados de RMN ^{13}C descritos na literatura (Tabela 3) possibilitou a identificação dos 5 sinais correspondentes a carbonos olefínicos, dentre estes, 3 sinais em δ_{C} 135,4 (C-6 e C-19); 135,1 (C-10 e C-15); 131,4 (C-2 e C-23) e 2 sinais em δ_{C} 124,7 (C-3 e C-22); 124,6 (C-7, C-11, C-14 e C-18). Foi observado também 4 sinais em δ_{C} 39,9 (C-5, C-9, C-16 e C-20); 28,5 (C-12 e C-13); 27,1 (C-8 e C-17); 26,95 (C-4 e C-21) referentes a carbonos metilênicos e três sinais em δ_{C} 25,9 (C-1 e C-24); 17,9 (C-25 e C-30); 16,2 (C-26 a C-29) referentes a carbonos metílicos (Tabela 2).

Tabela 2 - Deslocamento químico RMN ^{13}C -CPD de FMU-1 com padrão de hidrogenação baseado nos dados da literatura (SAITOA et al., 2007)

C (olefínico)	CH (olefínico)	CH ₂	CH ₃
135,4 (x2)	124,7 (x2)	39,9 (x4)	25,9 (x2)
135,1 (x2)	124,6 (x4)	28,5 (x2)	17,9 (x2)
131,4 (x2)		27,1 (x2)	16,2 (x4)
		26,9 (x2)	
6C	6CH	10CH ₂	8CH ₃
Fórmula molecular: C₃₀H₅₀			

A fórmula molecular C₃₀H₅₀ foi proposta a partir dos dados espectroscópicos obtidos para FMU-1 e está de acordo com o pico do íon-molecular m/z 410 Daltons, observado no espectro de massas (Figura 9), sugerindo que este composto se tratava de uma estrutura simétrica. Para FMU-1 foi observado índice de deficiência de hidrogênio (IDH) igual a 6, justificado pela presença de 6 ligações duplas. Desta forma, foi possível correlacionar à estrutura de FMU-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; SAITOA *et al.*, 2007), foi possível propor que o referido composto trata-se do triterpeno esqualeno, relatado pela primeira vez no gênero *Marcetia*.



Esqualeno

Tabela 3 - Dados de FMU-1 de RMN ^1H , ^{13}C (300 x 75 MHz, CDCl_3) comparados com os dados da literatura (500 x 125 MHz, CDCl_3) para o Esqualeno

			SAITOA <i>et al.</i> , 2007	CURSINO <i>et al.</i> , 2009
C	δ_{C}	δ_{H}	$\delta_{\text{C}}^{\text{a}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{b}}$
1 = 24	25,9	1,69 (s; 6H)	25,6	1,8
2 = 23	131,4	-	131,0	-
3 = 22	124,7	5,13 (m; 2H)	124,0	5,0
4 = 21	26,9	2,05 (m; 4H)	26,6	2,0
5 = 20	39,9	2,05 (m; 4H)	39,6	2,0
6 = 19	135,4	-	135,0	-
7 = 18	124,6	5,13 (m; 2H)	124,0	5,0
8 = 17	27,1	2,05 (m; 4H)	26,6	2,0
9 = 16	39,9	2,05 (m; 4H)	39,6	2,0
10 = 15	135,1	-	135,0	-
11 = 14	124,6	5,13 (m; 2H)	124,0	5,0
12 = 13	28,5	2,05 (m; 4H)	28,2	2,0
25 = 30	17,9	1,61 (s; 6H)	17,6	1,7
26 = 29	16,2	1,61 (s; 6H)	15,9	1,7
27 = 28	16,2	1,61 (s; 6H)	15,9	1,7

Figura 6 - Espectro de absorção na região do infravermelho de FMU-1 (KBr, cm^{-1})

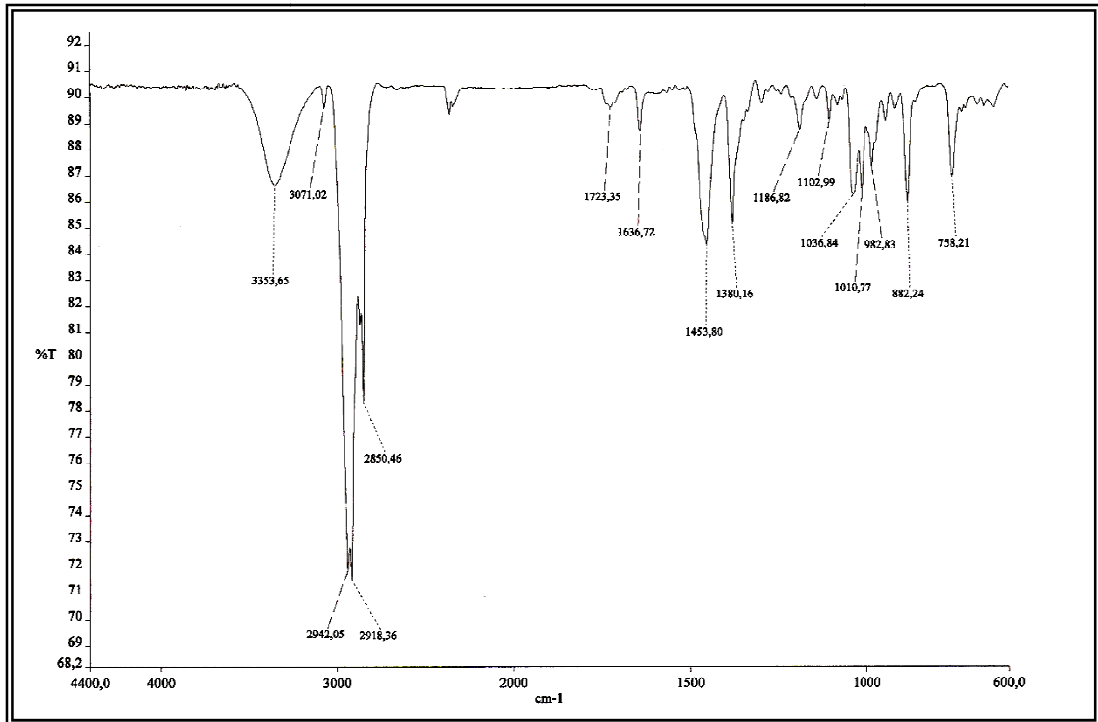


Figura 7 - Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3 , δ) de FMU-1

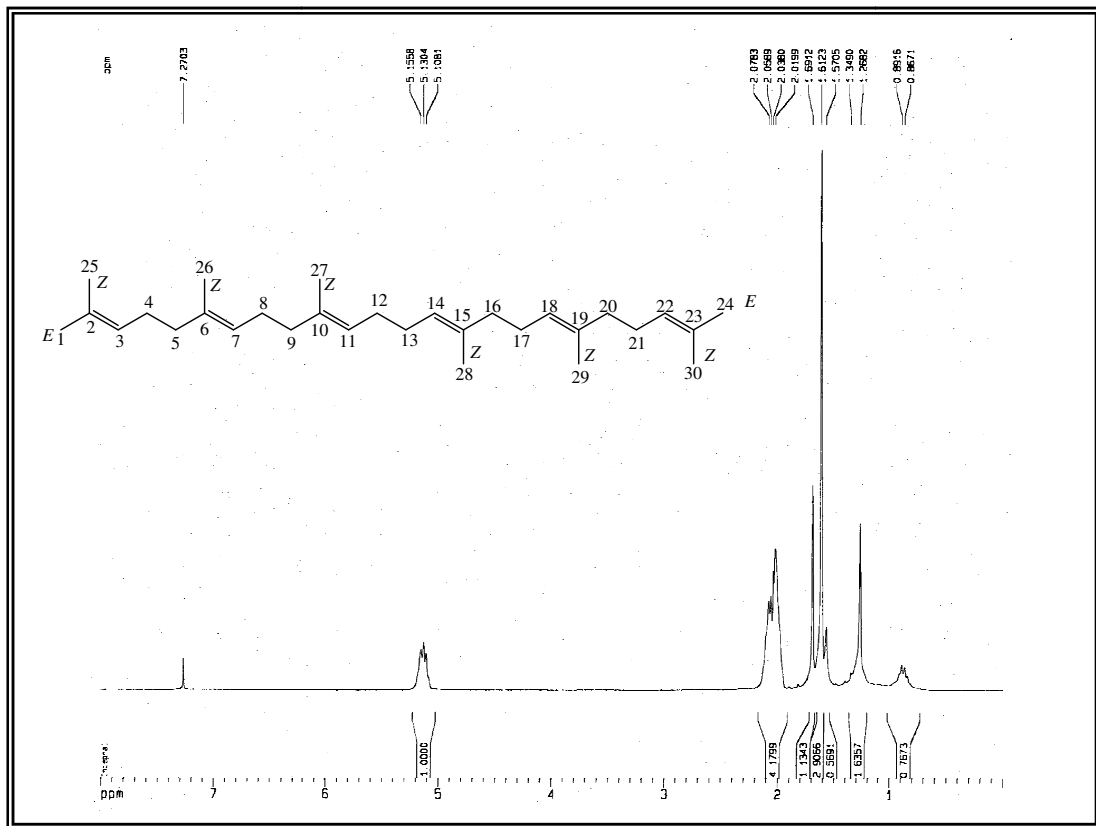


Figura 8 - Espectro de RMN ^{13}C -CPD (75 MHz, CDCl_3 , δ) de FMU-1

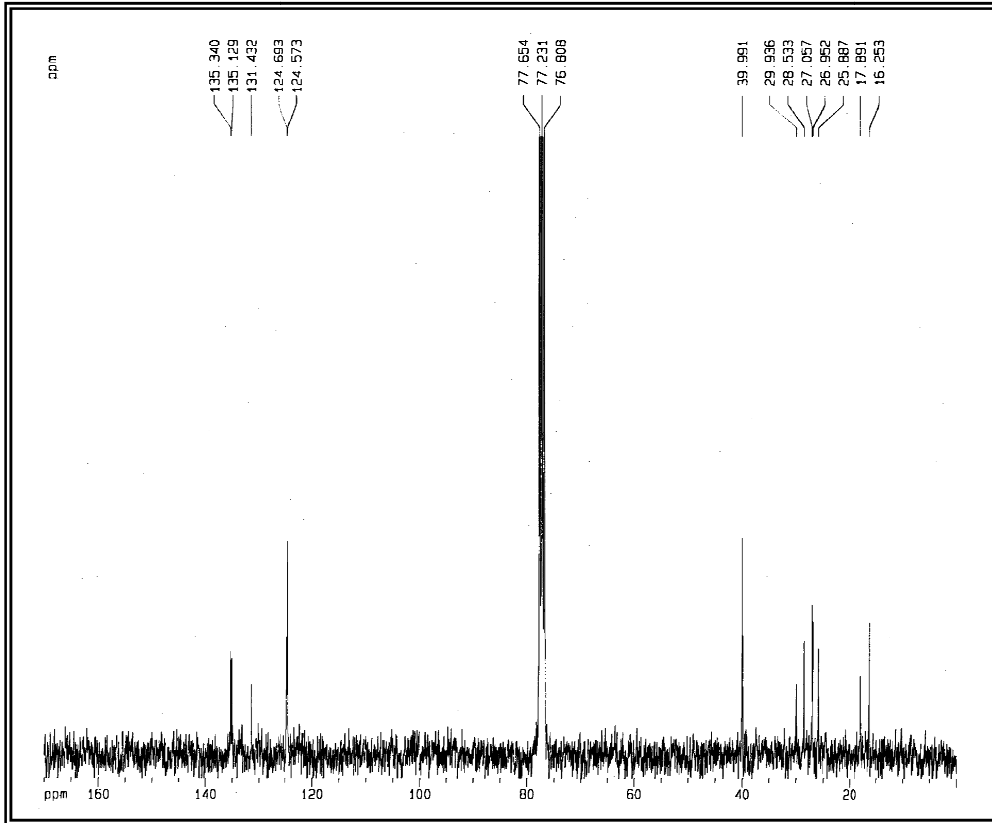
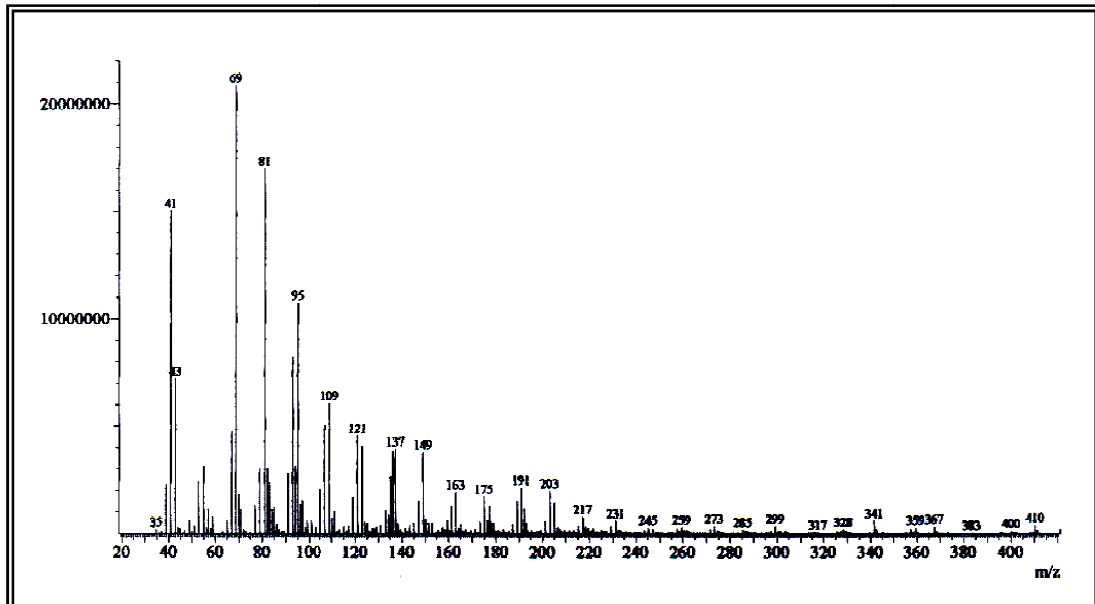


Figura 9 - Espectro de Massas de Baixa Resolução de FMU-1 (IE, 70 eV)



5.2 Determinação estrutural de FMU-3

O tratamento cromatográfico da fração diclorometano (FMUA-D), obtida a partir do extrato hidroalcoólico das folhas de *Marcetia mucugensis*, utilizando cromatografia líquida de alta eficiência, levou à obtenção de um sólido amarelo, solúvel em clorofórmio, denominado de FMU-3, com ponto de fusão na faixa de 117,2-118,5 °C.

O espectro de absorção na região do infravermelho (Figura 12) apresentou uma banda larga em 3448 cm^{-1} relativa a deformação axial de ligação O-H, bem como, duas bandas em 2937 e 2833 cm^{-1} referentes à deformação axial de ligação C-H de carbono sp^3 e outra em 1375 cm^{-1} referente à deformação angular simétrica de ligação C-H de CH_3 . Ainda no mesmo espectro, foi observada uma banda em 1653 cm^{-1} referente à deformação axial de ligação C=O conjugada, bandas em 1595 e 1470 cm^{-1} referentes à deformação axial de ligação C=C de aromático. As bandas em 1246 e 1057 cm^{-1} são compatíveis com as deformações axiais assimétrica e simétrica de ligação C-O-C.

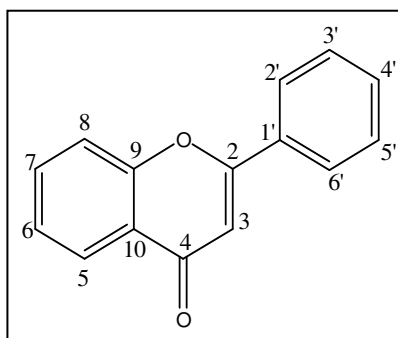
A análise do espectro de RMN ^{13}C -CPD (125 MHz, CDCl_3) de FMU-3 (Figura 13) mostrou a presença de 19 linhas espectrais que ao serem comparadas com o espectro de RMN ^{13}C -DEPT ($\theta=135$) (125 MHz, CD_3OD) (Figura 14) possibilitou a identificação do sinal relacionado ao carbono carbonílico conjugado em δ_{C} 179,6 (C-4), confirmado pelo espectro no infravermelho em 1653 cm^{-1} . Apresentou também 12 linhas espectrais entre δ_{C} 155,6 e 106,5 referentes a carbonos sp^2 , dos quais 7 foram atribuídos a carbonos aromáticos oxigenados em δ_{C} 153,5 (C-3' e C-5'); 153,3 (C-7); 149,4 (C-5); 145,1 (C-9); 141,3 (C-4'); 136,5 (C-6); 133,1 (C-8), 1 sinal de carbono aromático hidrogenado em δ_{C} 106,5 (C-2' e C-6') e 2 sinais de carbonos aromáticos não oxigenados em δ_{C} 107,8 (C-10) e 125,8 (C-1'). Os 6 sinais entre δ_{C} 62,2 e 56,5 foram relacionados a sete carbonos metílicos oxigenados (Tabela 4).

Tabela 4 - Deslocamento químico de RMN ^{13}C -CPD de FMU-3 com padrão de hidrogenação [(RMN ^{13}C -CPD e DEPT ($\theta = 135$), δ , CDCl_3 , 125 MHz)]

C	CH	CH₃
179,6 (C=O)	106,5 (x2)	62,2 (C-O)
155,6 (C-O)		61,9 (C-O)
153,5 (C-O) (x2)		61,3 (C-O)
153,3 (C-O)		61,2 (C-O)
149,4 (C-O)		60,5 (C-O)
145,1 (C-O)		56,5 (C-O) (x2)
141,3 (C-O)		
139,5 (C-O)		
136,5 (C-O)		
133,1 (C-O)		
125,8		
107,8		
13C	2CH	7CH ₃
Fórmula molecular: C₂₂H₂₄O₁₀		

A análise do espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) de FMU-3 (Figura 15), revelou um sinal em δ_{H} 7,52 (s, 2H) característico de hidrogênio aromático. Observou-se a presença de seis sinais característicos de metoxila em δ_{H} 4,12 (s, 3H); 3,97 (s, 3H); 3,97 (s, 3H); 3,96 (s, 3H); 3,96 (s, 3H) e 3,91 (s, 3H) (Figura 16) e ainda uma hidroxila quelada em δ_{H} 12,32.

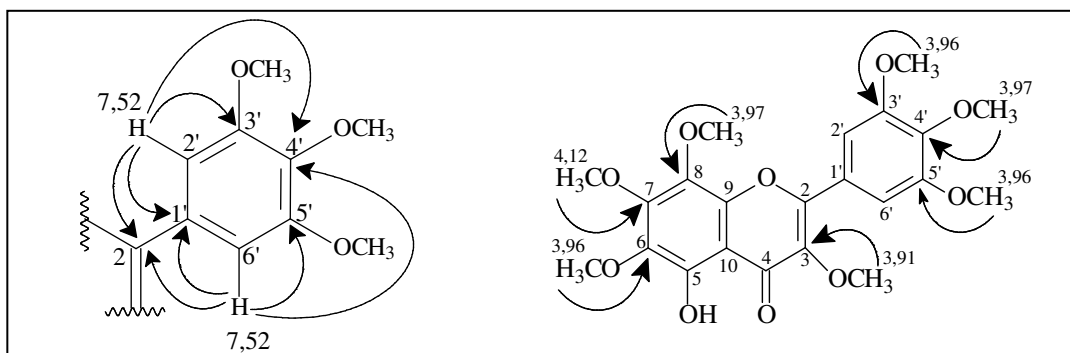
A fórmula molecular $\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{O}_{10}$ foi proposta a partir da união dos dados espectroscópicos e está de acordo com o pico do íon-molecular m/z 448 Daltons observado no espectro de massas (Figura 17), apresentando IDH igual a 11. Um desses justificado pela presença de uma carbonila, oito referentes a dois anéis aromáticos, e os outros dois a uma ligação dupla e um anel. Desta forma, foi possível correlacionar a estrutura de FMU-3 a um flavonoide do tipo flavona, contendo a estrutura básica de 15 átomos de carbono num padrão $\text{C}_6\text{-C}_3\text{-C}_6$. (Figura 10).

Figura 10 - Esqueleto base de uma flavona

Os padrões de substituição dos anéis A e B foram propostos a partir da análise dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C . Através do espectro HSQC (500 x 125 MHz, CDCl_3) (Figuras 18 e 19) foi possível atribuir os sinais de hidrogênio aos seus respectivos carbonos. Neste espectro foram observados os acoplamentos do sinal dos hidrogênios em δ_{H} 7,52 (H-2' e H-6') com o sinal dos carbonos em δ_{C} 106,5 (C-2' e C-6').

O espectro HMBC (500 x 125 MHz, CDCl_3) (Figuras 20 e 21) mostrou as correlações dos hidrogênios com os carbonos a duas (2J) e três (3J) ligações. Desse modo, puderam-se observar algumas correlações importantes para o assinalamento inequívoco dos deslocamentos de ^1H e ^{13}C para o FMU-3, como a correlação do hidrogênio em δ_{H} 7,52 (H-2' e H-6') com os carbonos em δ_{C} 125,8 (C-1'); 141,3 (C-4'); 153,5 (C-3' e C-5') e 155,6 (C-2).

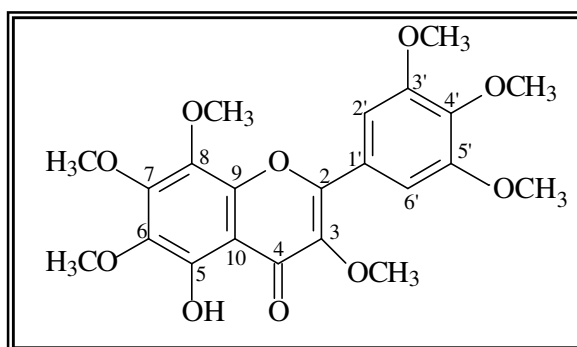
O espectro HMBC também exibiu correlações de hidrogênio de metoxila em δ_{H} 4,12 com o carbono em δ_{C} 153,3 (C-7), de dois hidrogênios em δ_{H} 3,97 com os carbonos em δ_{C} 133,1 (C-8) e δ_{C} 141,3 (C-4'), respectivamente. Dos hidrogênios em δ_{H} 3,96 com os carbonos em δ_{C} 136,5 (C-6); 153,5 (C-3' e C-5') e do hidrogênio em δ_{H} 3,91 com o carbono em δ_{C} 139,5 (C-3) (Figura 11).

Figura 11 - Correlações observadas no espectro HMBC para FMU-3

No espectro HSQC só foi possível correlacionar os hidrogênios metoxílicos em δ_H 4,12 (7-OMe); 3,96 (3'-OMe e 5'-OMe) e 3,91 (3-OMe) com seus respectivos carbonos em δ_C 61,9; 56,5 e 60,5. As posições das metoxilas referentes aos hidrogênios 6-OMe, 8-OMe, 4'-OMe foram feitas por análise dos seus deslocamentos químicos e podem ter seus valores trocados. (Tabela 5).

Levando em consideração as informações acima discutidas e comparando-as com os dados de RMN de ^{13}C das estruturas (1) e (2) (AGRAWAL, 1989) e de RMN 1H de gardenina A da literatura (FANG *et al.*,1986), conclui-se que o referido composto trata-se do flavonoide denominado 5-hidroxi-3,6,7,8,3',4',5'-heptametoxiflavona (Gardenina A), isolado anteriormente de *Gutierrezia microcephala*, (FANG *et al.*,1986), porém está sendo relatado pela primeira vez no gênero *Marcetia*.

A Gardenina A não possui dados de carbono descritos na literatura, então estes dados foram comparados com parte das estruturas dos flavonoides 5-hidroxi-3,6,7,8,3',4'-hexametoxiflavona (1) e 5-hidroxi-3,7,8,3',4',5'-hexametoxiflavona (2). Na estrutura (1) foram considerados os valores de deslocamento dos carbonos C-2 ao C-10 e na estrutura (2) foram observados C-1' ao C-6'.



Gardenina A

Tabela 5 - Dados de RMN ^1H , ^{13}C e correlações de HSQC e HMBC (2J e 3J) (500 x 125 MHz, CDCl_3) de FMU-3, comparado com os valores da literatura de RMN ^1H e ^{13}C para a 3-metoxiflavona Gardenina A

C	HSQC		HMBC		AGRAWAL, 1989		FANG <i>et al.</i> , 1986
	Δc	δ_{H}	2J	3J	$^{\text{a}}1$	$^{\text{b}}2$	$^{\text{c}}$ Gardenina A
					δ_{c}	δ_{c}	
2	155,6	-	-	H-2', H-6'	155,5	155,9	-
3	139,5	-	-	3-OCH ₃	138,0	138,5	-
4	179,6	-	-	-	178,6	178,1	-
5	149,4	-	-	-	148,1	154,3	-
6	136,5	-	-	6-OCH ₃	135,5	98,9	-
7	153,3	-	-	7-OCH ₃	152,4	157,3	-
8	133,1	-	-	8-OCH ₃	132,4	127,5	-
9	145,1	-	-	-	144,4	148,6	-
10	107,8	-	-	-	106,8	104,1	-
1'	125,7	-	-	-	122,1	125,2	-
2'	106,5	7,52 (s; 1H)	-	-	110,9	105,6	7,50 (s; 1H)
3'	153,5	-	H-2'	3'-OCH ₃	148,5	152,7	-
4'	141,3	-	-	H-2', H-6', 4'OCH ₃	151,4	139,9	-
5'	153,5	-	H-6'	5'-OCH ₃	111,7	152,7	-
6'	106,5	7,52 (s; 1H)	-	-	122,0	105,6	7,50 (s; 1H)
3-OMe	60,5	3,91 (s; 3H)	-	-	-	-	3,90 (s; 3H)
6-OMe	61,2	3,96 (s; 3H)	-	-	-	-	3,90 (s; 3H)
7-OMe	61,9	4,12 (s; 3H)	-	-	-	-	3,90 (s; 3H)
8-OMe	61,3	3,97 (s; 3H)	-	-	-	-	4,04 (s; 3H)
3'-OMe	56,5	3,96 (s; 3H)	-	-	-	-	3,90 (s; 3H)
4'-OMe	62,2	3,97 (s; 3H)	-	-	-	-	3,99 (s; 3H)
5'-OMe	56,5	3,96 (s; 3H)	-	-	-	-	3,90 (s; 3H)
5'-OH	-	12,32 (s, 1H)	-	-	-	-	-

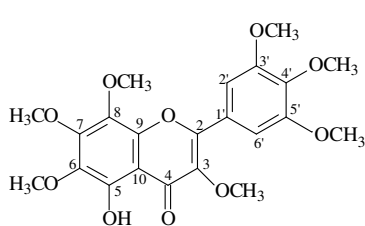
^a(Carbonos metoxílicos) δ_{c} : 61,7; 61,4; 60,6; 59,7; 55,7

^b(Carbonos metoxílicos) δ_{c} : 60,8; 60,2; 59,9; 55,9

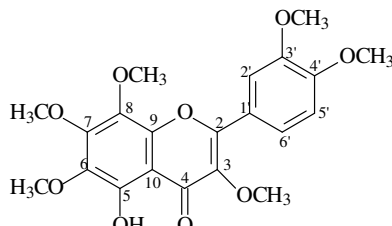
(a) Flavonoide 5-hidroxi-3,6,7,8,3',4'-hexametoxiflavona - DMSO-d_6

(b) Flavonoide 5-hidroxi-3,7,8,3',4',5'-hexametoxiflavona - DMSO-d_6

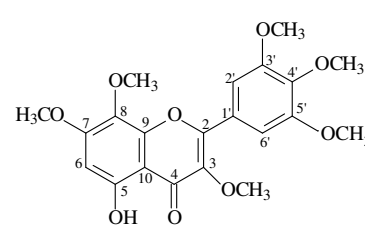
(c) CDCl_3



Gardenina A



(1)



(2)

Figura 12 - Espectro de absorção na região do infravermelho de FMU-3 (KBr).

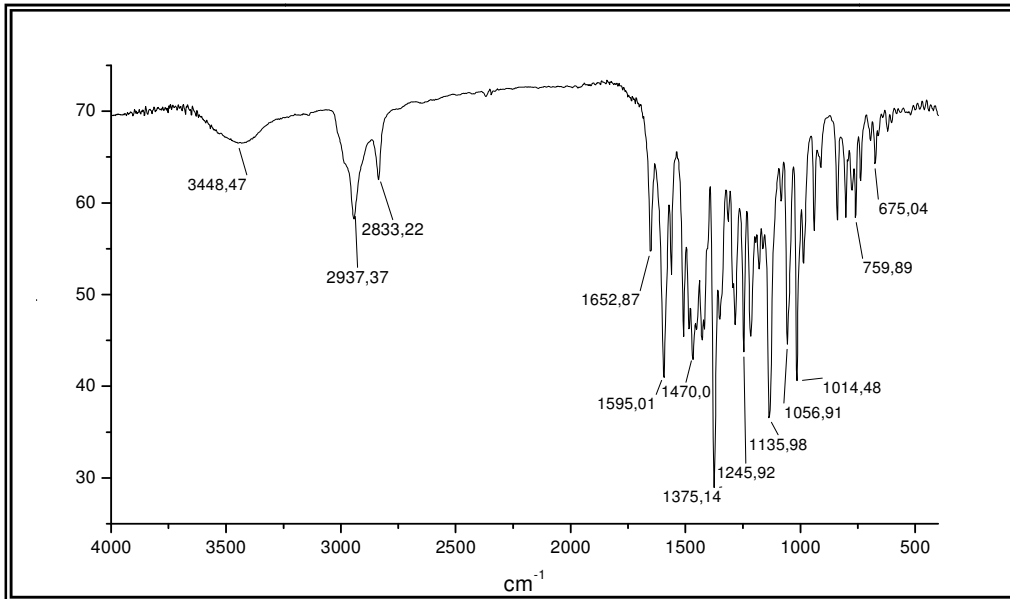


Figura 13 - Espectro de RMN ¹³C-CPD (125 MHz, CDCl₃) de FMU-3

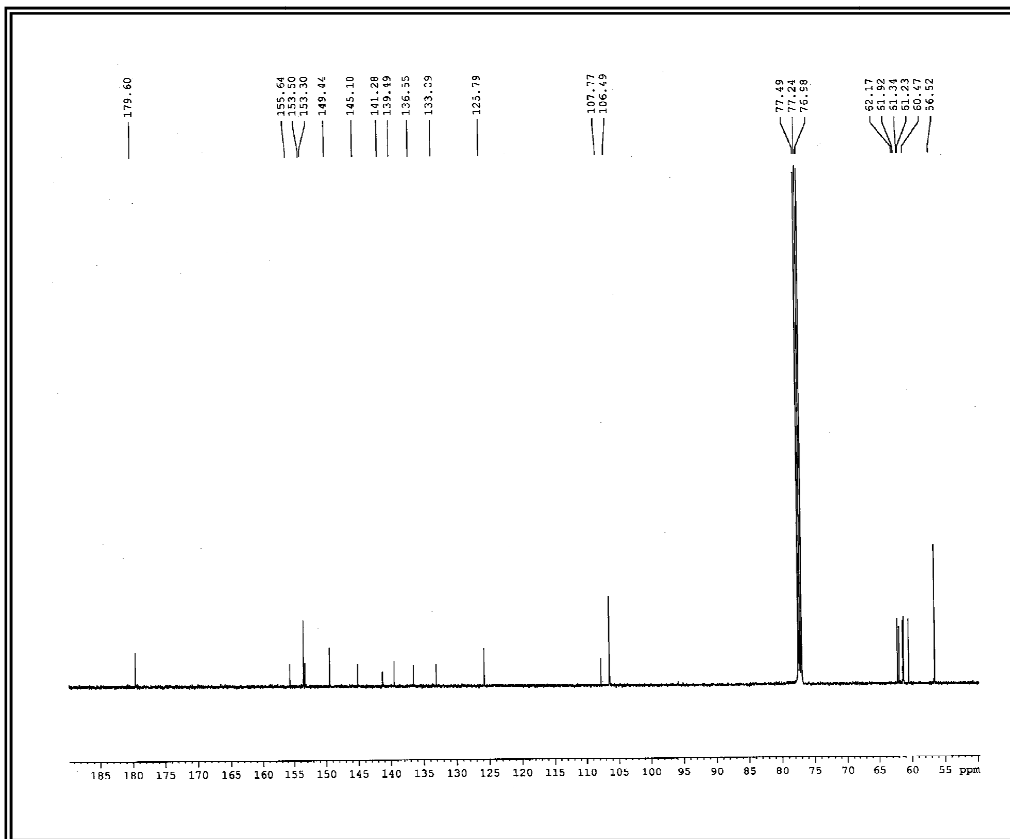


Figura 14 - Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° (125 MHz, CDCl_3) de FMU-3

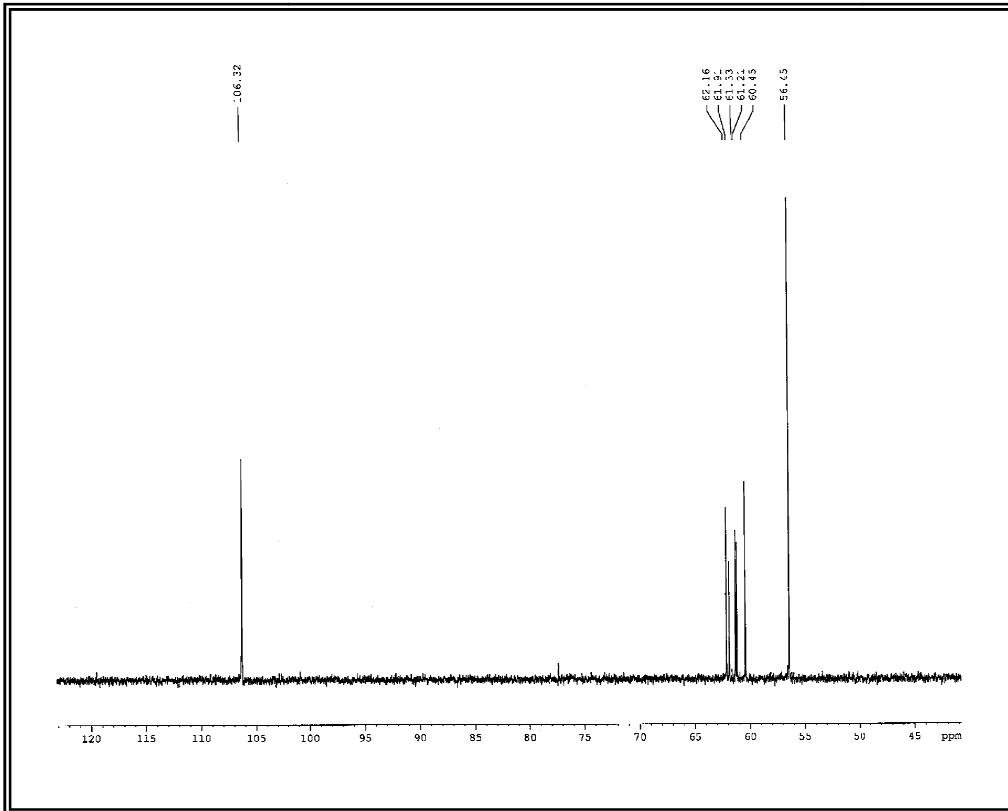


Figura 15 - Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de FMU-3

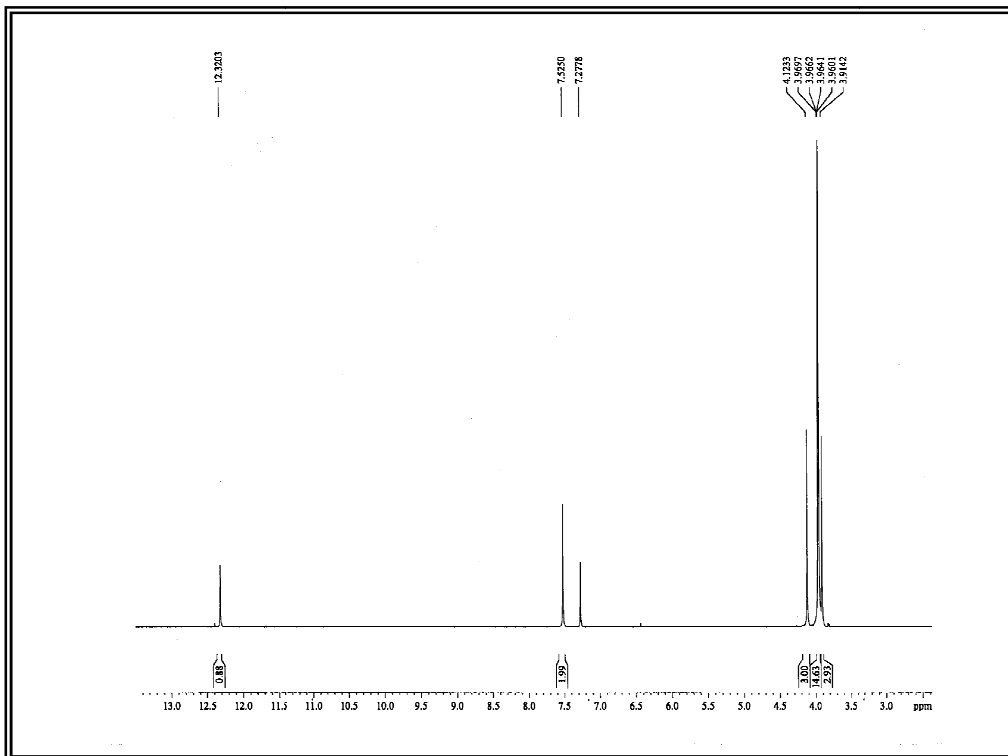


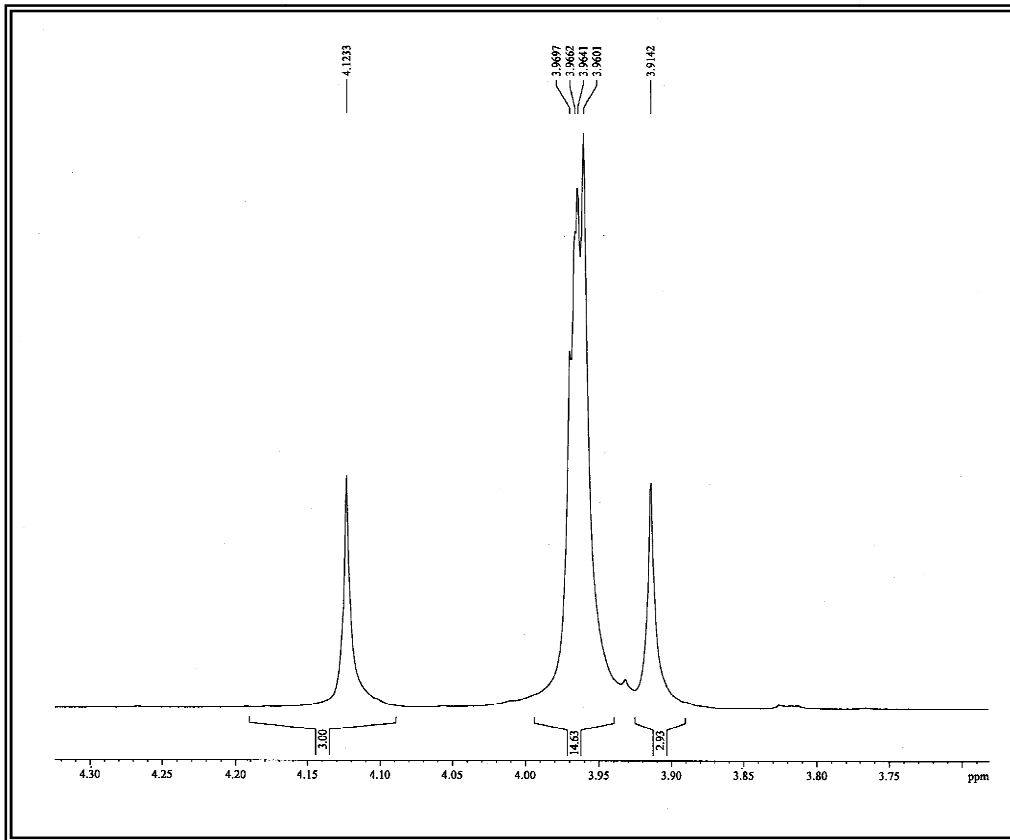
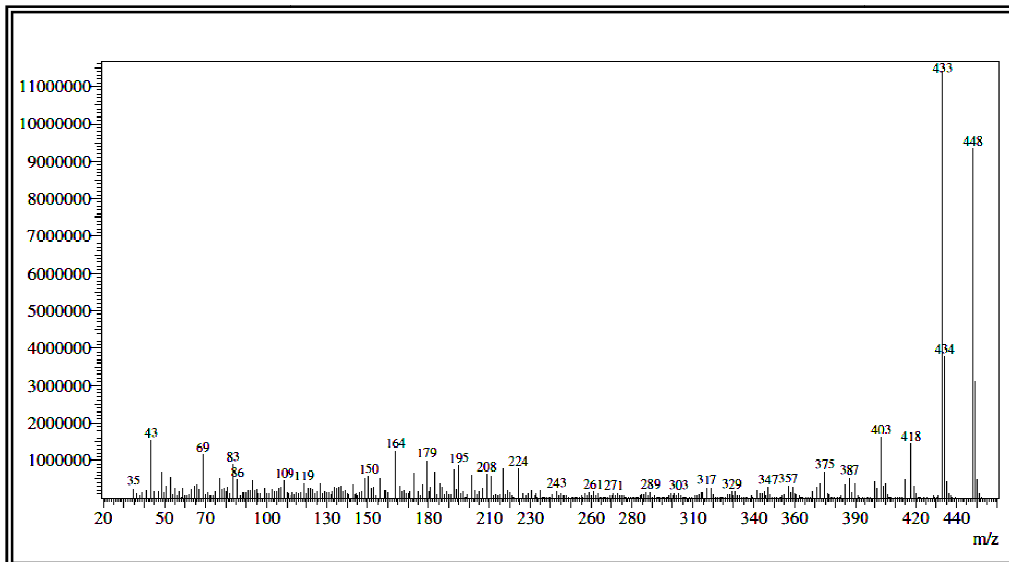
Figura 16 - Espectro de RMN ^1H - expansão (500 MHz, CDCl_3) de FMU-3**Figura 17** - Espectro de Massas de Baixa Resolução de FMU-3

Figura 18 - Espectro HSQC (500 x 125 MHz, CDCl_3) de FMU-3

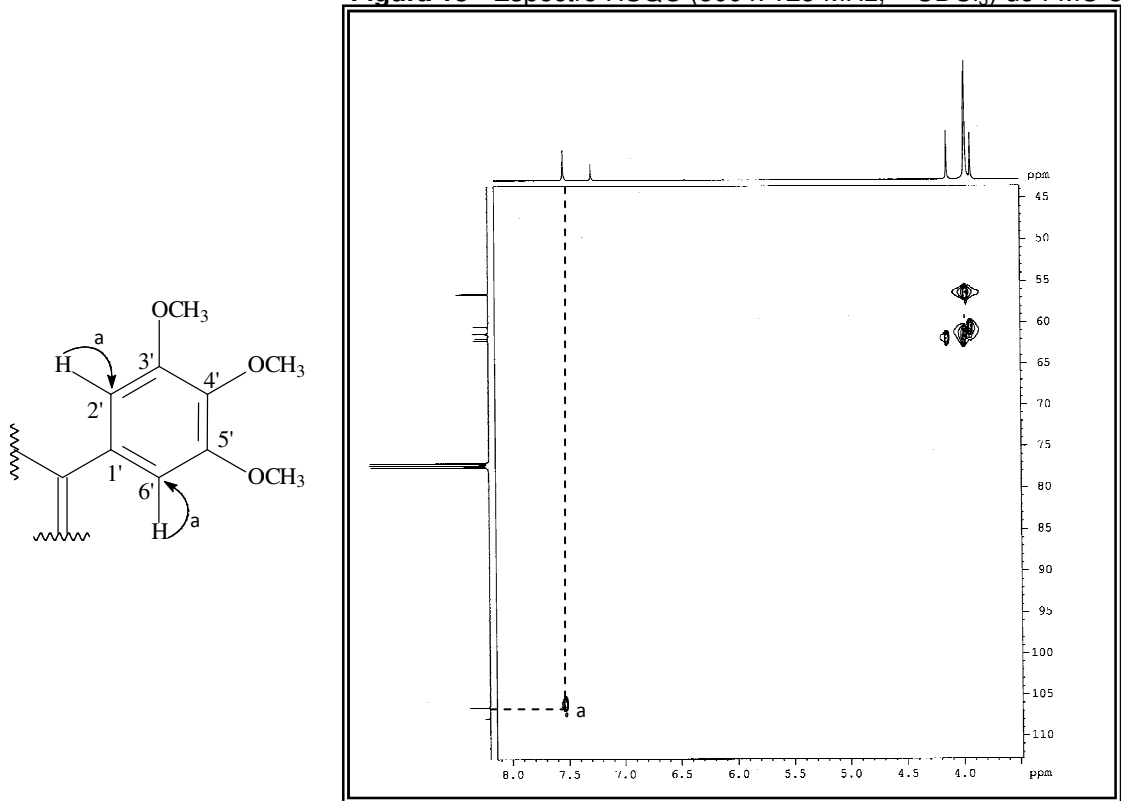


Figura 19 - Espectro HSQC - expansão - (500 x 125 MHz, CDCl_3) de FMU-3

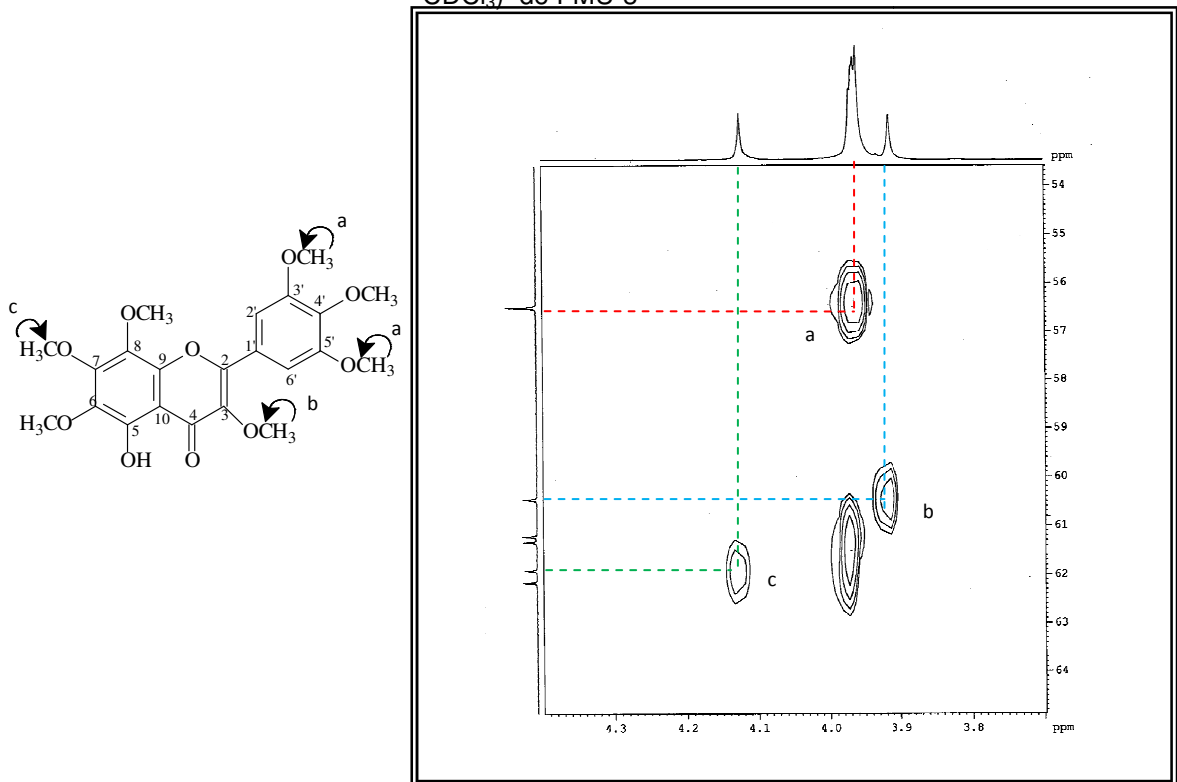


Figura 20 - Espectro HMBC (500 x 125 MHz, CDCl_3) de FMU-3

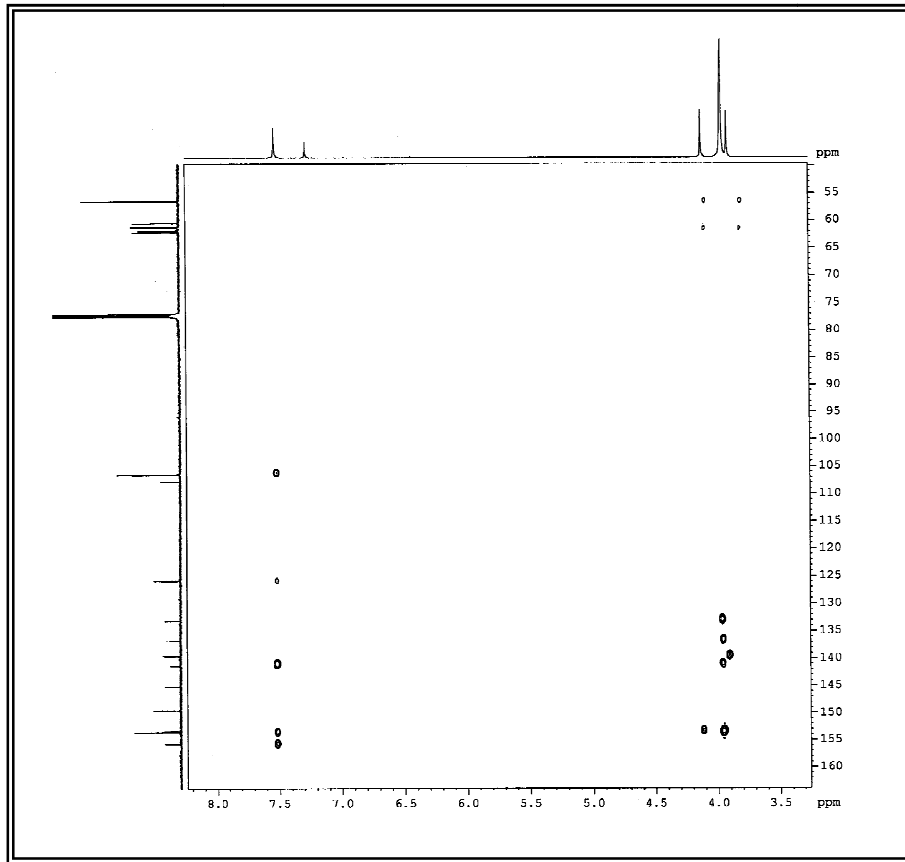
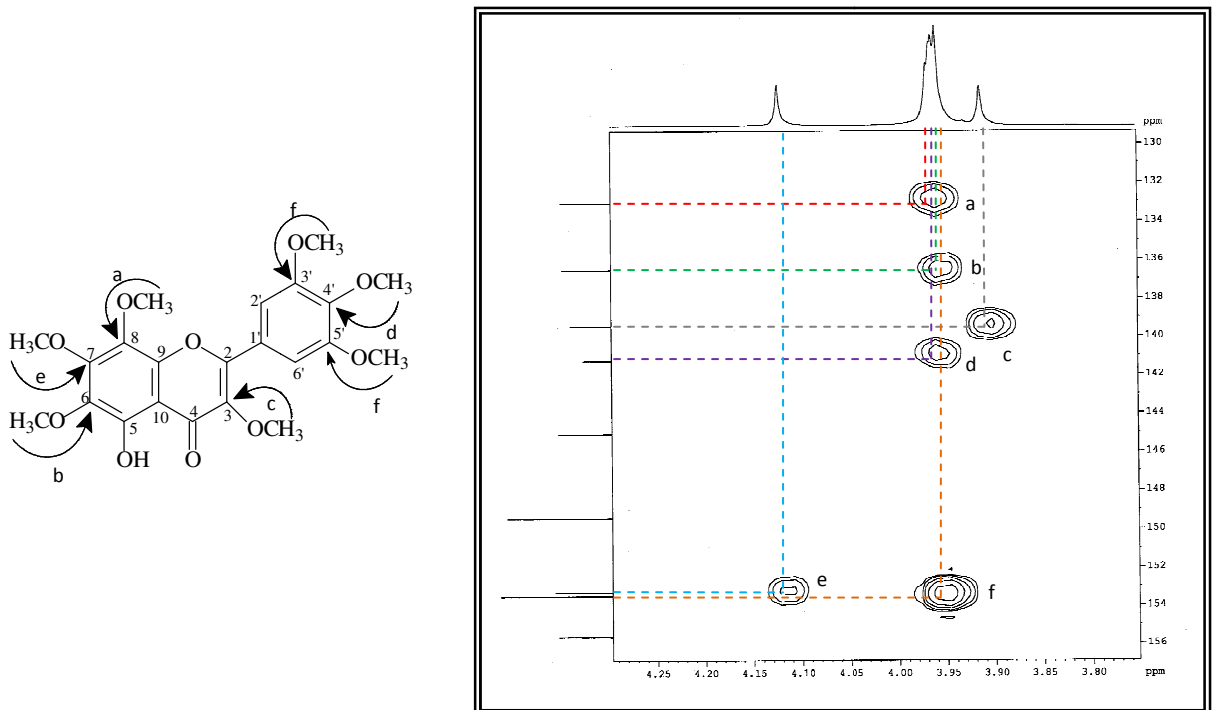


Figura 21 - Espectro HMBC - expansão (500 x 125 MHz, CDCl_3) de FMU-3



5.3 Determinação estrutural de FMU-2

O tratamento cromatográfico da fração FMUA-D, obtida a partir do extrato hidroalcoólico das folhas de *Marsetia mucugensis*, foi possível obter 10,2 mg de um sólido amarelo escuro, solúvel em clorofórmio, homogêneo em CCD, com ponto de fusão na faixa de 173,1-174,2 °C, denominado de FMU-2.

O espectro de absorção na região do infravermelho (IV) (Figura 23) exibiu bandas semelhantes às de FMU-3. Uma absorção intensa referente à deformação axial da ligação O-H de hidroxila fenólica foi observada em 3406 cm⁻¹. Além dessa absorção, observou-se bandas de deformações axiais de ligação C-H de carbono sp³ em 2943 e 2843 cm⁻¹ e de ligação C=O em 1646 cm⁻¹. Mostrou ainda absorções de deformação axial de ligação C=C de aromático em 1594 e 1479 cm⁻¹ e bandas em 1212 e 1050 cm⁻¹ compatíveis com a deformação axial assimétrica e simétrica de ligação C-O-C.

Observando o espectro de RMN ¹³C-CPD (125 MHz, CDCl₃) (Figura 24) verificou-se a presença de 21 linhas espectrais, apresentando um carbono a menos que o observado para FMU-3. Das absorções observadas, uma em δ_C 179,6 (C-4) era referente à carbonila de cetona conjugada, enquanto que as 14 linhas na faixa de δ_C 155,6 – 105,1 foram relacionadas a carbonos insaturados. As linhas observadas em δ_C 155,6 (C-2); 153,3 (C-7); 152,3 (C-5'); 149,5 (C-3'); 149,3 (C-5); 145,1 (C-9); 139,5 (C-3); 138,2 (C-4'); 136,4 (C-6); 133,1 (C-8) foram atribuídas a carbonos oxigenados e as linhas em δ_C 62,3; 61,9; 61,4; 61,3; 60,5 e 56,2 são referentes a grupos metoxila.

A análise comparativa dos espectros de RMN ¹³C-CPD com o espectro de RMN ¹³C-DEPT (θ = 135) (125 MHz, CDCl₃) (Figura 25) de FMU-2 revelou a presença de 13 absorções relativas a carbonos não hidrogenados, 2 de carbonos aromáticos hidrogenados e 6 de carbonos metílicos (Tabela 6).

Tabela 6 - Deslocamento químico de RMN ^{13}C -CPD de FMU-2 com padrão de hidrogenação [(RMN ^{13}C -CPD e DEPT ($\theta = 135$), δ , CDCl_3 , 125 MHz)]

C	CH	CH₃
179,6 (C=O)	109,0	62,3 (C-O)
155,6 (C-O)	105,1	61,9 (C-O)
153,3 (C-O)		61,4 (C-O)
152,3 (C-O)		61,3 (C-O)
149,5 (C-O)		60,5 (C-O)
149,3 (C-O)		56,2 (C-O)
145,1 (C-O)		
139,5 (C-O)		
138,2 (C-O)		
136,4 (C-O)		
133,1 (C-O)		
126,2		
107,7		
13C	2CH	6CH ₃
Fórmula molecular: $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_{10}$		

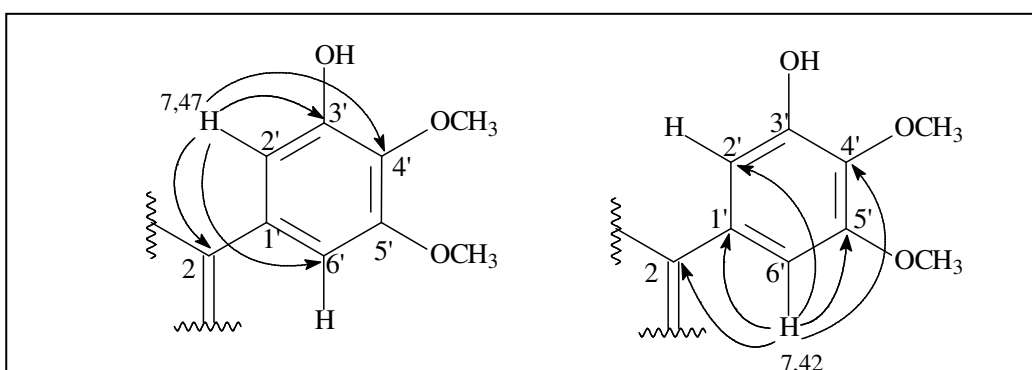
No espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) de FMU-2 (Figuras 26 e 27) foi observado um sinal em δ_{H} 12,33 característico de hidrogênio de hidroxila quelada, dois dubletos centrados em δ_{H} 7,47 (d, 1H) e 7,42 (d, 1H) típicos de hidrogênios aromáticos, ambos apresentando constante de acoplamento ($J = 1,8$ Hz), característico de acoplamento meta e um sinal em δ_{H} 5,96 (s; 1 H), atribuído a uma hidroxila. Ainda no espectro de RMN ^1H de FMU-2 foram observados sinais em δ_{H} 4,11 (s, 3H); 4,02 (s, 3H); 3,96 (s, 6H); 3,95 (s, 3H) e 3,90 (s, 3H) típicos de metoxilas.

A união dos dados espectroscópicos descritos para FMU-2, juntamente com o íon molecular obtido no espectro de massas (Figura 28) em $m/z = 434$ Daltons, permitiram propor a fórmula molecular $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_{10}$. Desta forma, foi possível atribuir para FMU-2 um índice de deficiência de hidrogênio (IDH) igual a 11, oito desses justificados pela presença de dois anéis aromáticos, uma insaturação referente ao anel alifático, uma a ligação dupla e uma a carbonila.

No espectro de HSQC (500 x 125 MHz, CDCl_3) (Figuras 29 e 30) de FMU-2 foram observadas correlações C-H à uma ligação, relacionando os hidrogênios aos seus respectivos carbonos, cujos dados estão descritos na Tabela 7.

A análise do espectro de correlação heteronuclear (^1H , ^{13}C) HMBC (500 x 125 MHz, CDCl_3) (Figura 31) permitiu verificar o acoplamento do sinal de hidrogênio em δ_{H} 7,47 (H-2') com os carbonos em δ_{C} 105,1 (C-6'; 3J); 138,2 (C-4'; 3J); 149,5 (C-3'; 2J) e 155,6 (C-2'; 3J); do hidrogênio em δ_{H} 7,42 (H-6') com os carbonos em δ_{C} 109,0 (C-2'; 3J); 126,2 (C-1'; 2J); 138,2 (C-4'; 3J); 152,3 (C-5'; 2J) e 155,6 (C-2'; 3J) (Figura 22).

Figura 22 - Subestruturas mostrando correlações observadas no HMBC para FMU-2



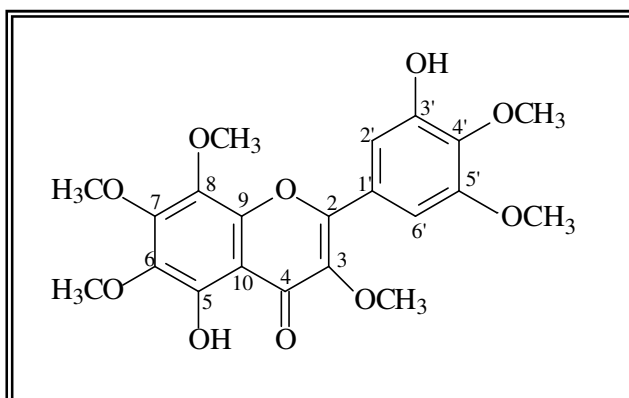
O sinal de hidrogênio em δ_{H} 5,96 apresentou correlações com os carbonos em δ_{C} 109,0 (C-2'; 3J); 138,2 (C-4'; 3J) e 149,5 (C-3'; 2J), confirmando a presença de uma hidroxila no anel B, bem como, levando em consideração que no espectro de HSQC não foi observado correlação desse hidrogênio com os carbonos.

No espectro de HMBC ainda foi possível verificar correlações dos hidrogênios de metoxilas em δ_{H} 4,11 com carbono em δ_{C} 153,3 (C-7; 3J); δ_{H} 3,96 com o carbono em δ_{C} 133,1 (C-8; 3J); δ_{H} 3,95 com os carbonos em δ_{C} 136,4 (C-6; 3J) e 152,3 (C-5'; 3J), evidenciando a presença de três metoxilas no anel A. A metoxila em δ_{H} 4,02 apresentou correlação com o carbono em δ_{C} 138,2 (C-4'; 3J), verificando a presença de duas metoxilas no anel B. O sinal da metoxila em δ_{H} 3,90 apresentou acoplamento com o carbono em δ_{C} 139,5 (C-3; 3J), justificando a desproteção deste sinal de carbono (Figura 32).

Quando comparados os deslocamentos químicos de hidrogênio de FMU-2 com os da literatura (FANG *et al.*, 1986), observou-se uma troca nos valores de deslocamento entre H-2', H-6' e os hidrogênios metoxílicos 7-OMe, 8-OMe.

Através dos dados discutidos anteriormente foi sugerida a estrutura de uma hexametoxiflavona dihidroxilada. A comparação com os dados de RMN ^1H e ^{13}C registrados para FMU-3 e os dados de RMN de ^{13}C das estruturas (1) e (3) (AGRAWAL, 1989) e de RMN ^1H de digicitrina da literatura (FANG *et al.*, 1986), permitiu caracterizar FMU-2 como 5,3'-dihidroxi-3,6,7,8,4',5'-hexametoxiflavona (digicitrina), isolado anteriormente de *Digitalis purpúrea* (MEIER e FUERST, 1962), *Polygonum orientale* (KUROYANAGI e FUKUSHIMA, 1982), *Gutierrezia microcephala* (FANG *et al.*, 1986) e descrito pela primeira vez no gênero *Marsetia*.

A Digicitrina não possui dados de carbono descritos na literatura, então foram consideradas, como base de comparação, parte das estruturas dos flavonoides 5-hidroxi-3,6,7,8,3',4'-hexametoxiflavona (1) e 5,7,3'-trihidroxi-3,6,8,4',5'-pentametoxiflavona (3). Na estrutura (1) foram considerados os valores de deslocamento dos carbonos C-2 ao C-10 e na estrutura (2) foram observados C-1' ao C-6'.



Digicitrina

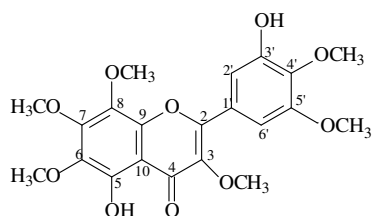
Tabela 7 - Dados de RMN ^1H , ^{13}C e correlações de HSQC e HMBC (2J e 3J) (500 x 125 MHz, CDCl_3) de FMU-2, comparado com os valores da literatura de RMN ^1H , ^{13}C para 5,3'-dihidroxi-3,6,7,8,4',5'-hexametoxiflavona.

C					AGRAWAL, 1989		FANG <i>et al.</i> , 1986
	HSQC		HMBC		a1	b3	c Digicitrina
	Δc	δ_{H}	2J	3J	δc	δc	δ_{H}
2	155,6	-	-	H-2', H-6'	155,5	154,7	-
3	139,5	-	-	3-OCH ₃	138,0	138,2	-
4	179,6	-	-	-	178,6	178,5	-
5	149,3	-	-	-	148,1	147,9	-
6	136,4	-	-	6-OCH ₃	135,5	131,4	-
7	153,3	-	-	7-OCH ₃	152,4	150,7	-
8	133,1	-	-	8-OCH ₃	132,4	127,8	-
9	145,1	-	-	-	144,4	144,6	-
10	107,7	-	-	-	106,8	103,6	-
1'	126,2	-	H-6'	-	122,1	125,1	-
2'	109,0	7,47 (d; $J=1,8$ Hz; 1H)	-	H-6', 3'-OH	110,9	109,7	7,42 (d; $J=2,5$ Hz; 1H)
3'	149,5	-	H-2', 3'-OH	-	148,5	150,9	-
4'	138,2	-	-	H-2', H-6', 3'-OH, 4'-OCH ₃	151,4	138,9	-
5'	152,3	-	H-6'	5'-OCH ₃	111,7	153,0	-
6'	105,1	7,42 (d; $J=1,8$ Hz; 1H)	-	H-2'	122,0	103,9	7,48 (d; $J=2,5$ Hz; 1H)
3-OMe	60,5	3,90 (s; 3H)	-	-	-	-	3,96
6-OMe	61,4	3,95 (s; 3H)	-	-	-	-	3,90
7-OMe	61,9	4,11 (s; 3H)	-	-	-	-	3,96
8-OMe	62,3	3,96 (s; 3H)	-	-	-	-	4,11
4'-OMe	61,3	4,02 (s; 3H)	-	-	-	-	4,02
5'-OMe	56,2	3,95 (s; 3H)	-	-	-	-	3,96
5-OH	-	12,36 (s, 1H)	-	-	-	-	-
3'-OH	-	5,96 (s, 1H)	-	-	-	-	-

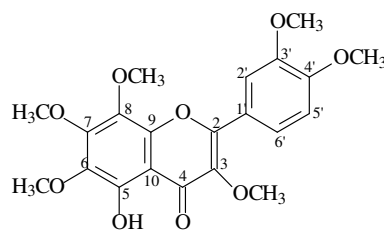
a (Carbonos metoxilicos) δc : 61,7; 61,4; 60,6; 59,7; 55,7

b (Carbonos metoxilicos) δc : 61,2; 60,1; 59,9; 55,7

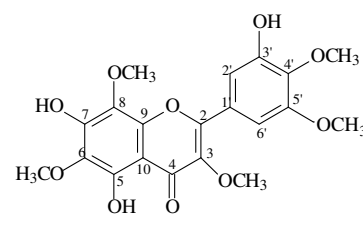
- (a) 5-hidroxi-3,6,7,8,3',4'-hexametoxiflavona - DMSO-d_6
 (b) 5,7,3'-trihidroxi-3,6,8,4',5'-pentametoxiflavona - DMSO-d_6
 (c) CDCl_3



Digicitrina



(1)



(3)

Figura 23 - Espectro de absorção na região do infravermelho de FMU-2 (KBr)

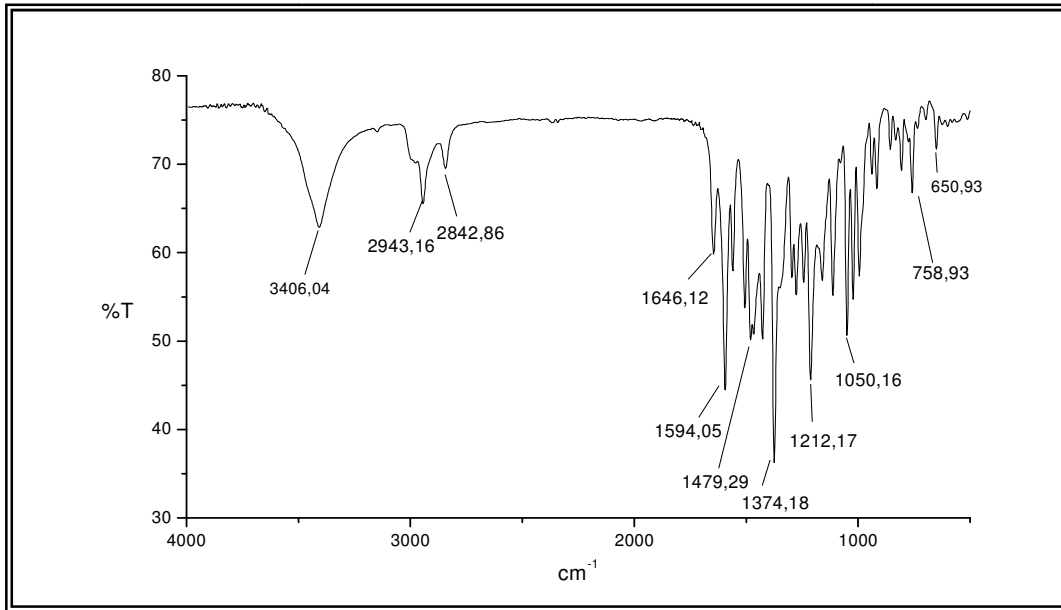


Figura 24 - Espectro de RMN ^{13}C -CPD (125 MHz, CDCl_3) de FMU-3

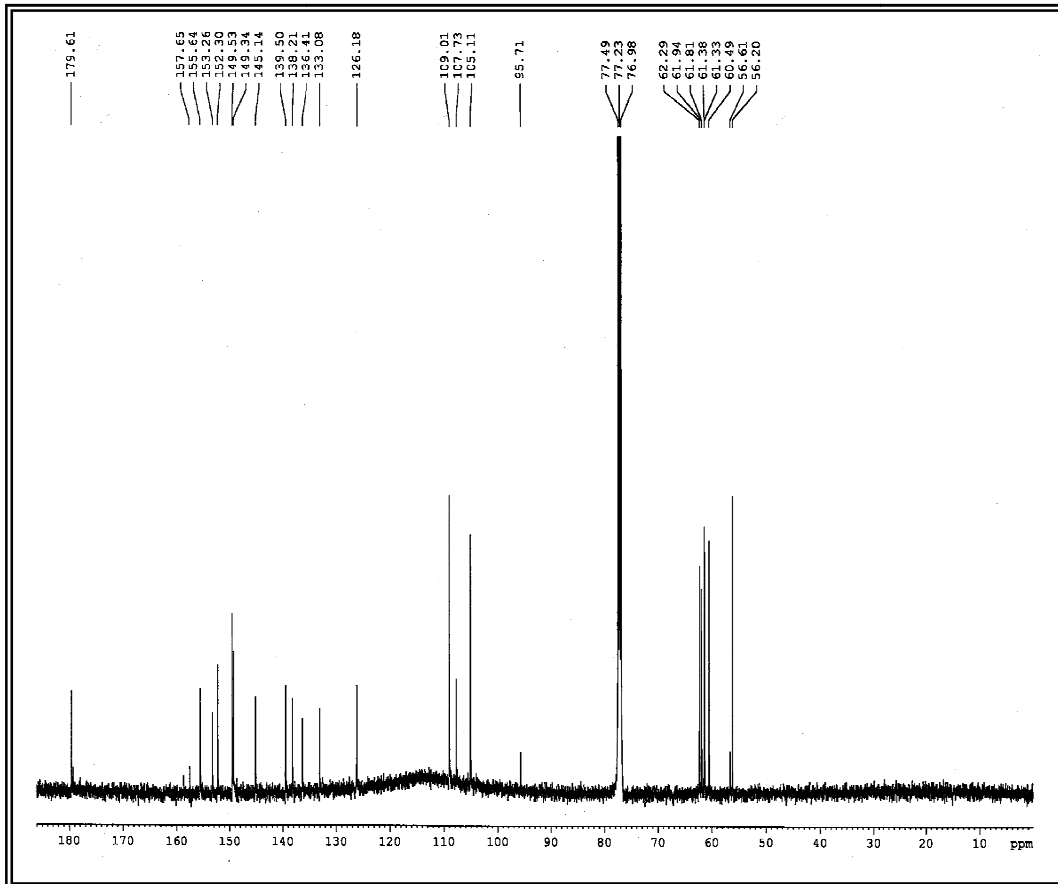


Figura 25 - Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° (125 MHz, CDCl_3) de FMU-2

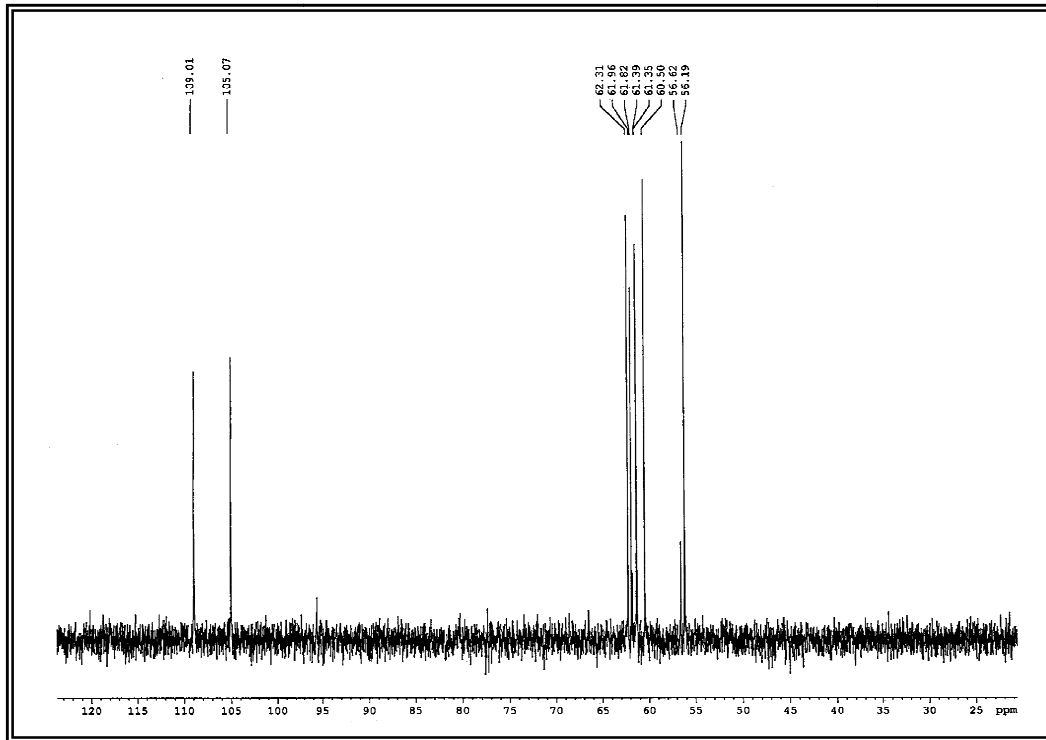


Figura 26 - Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de FMU-2

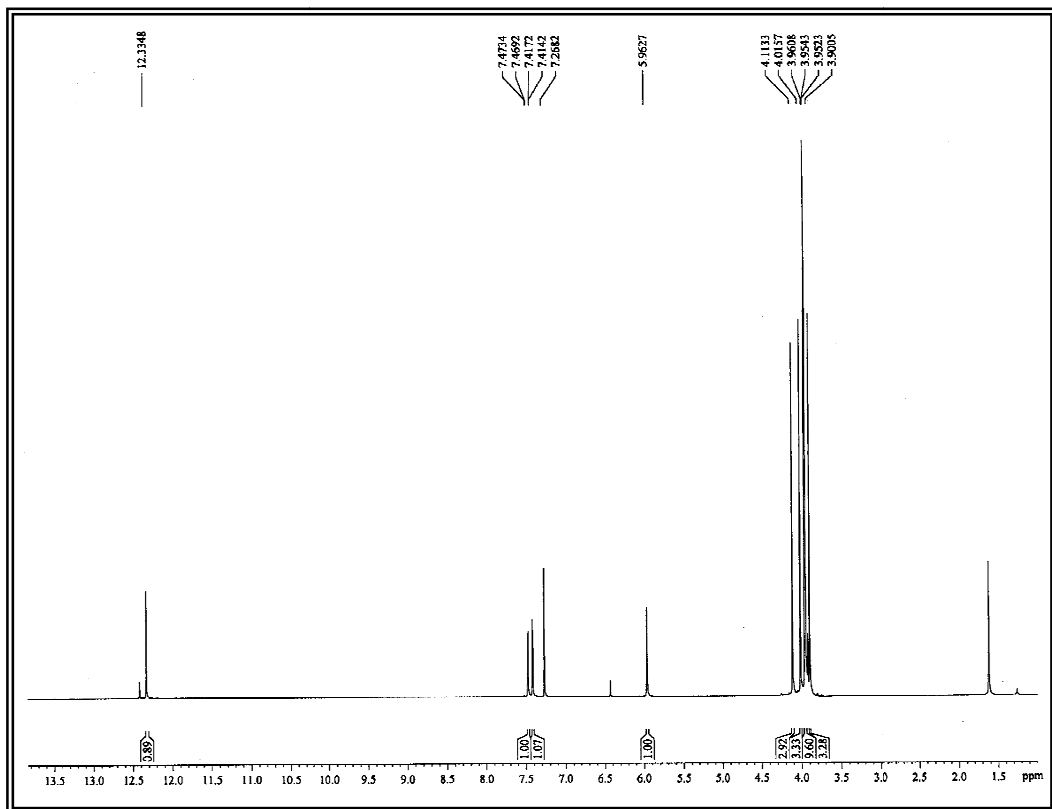


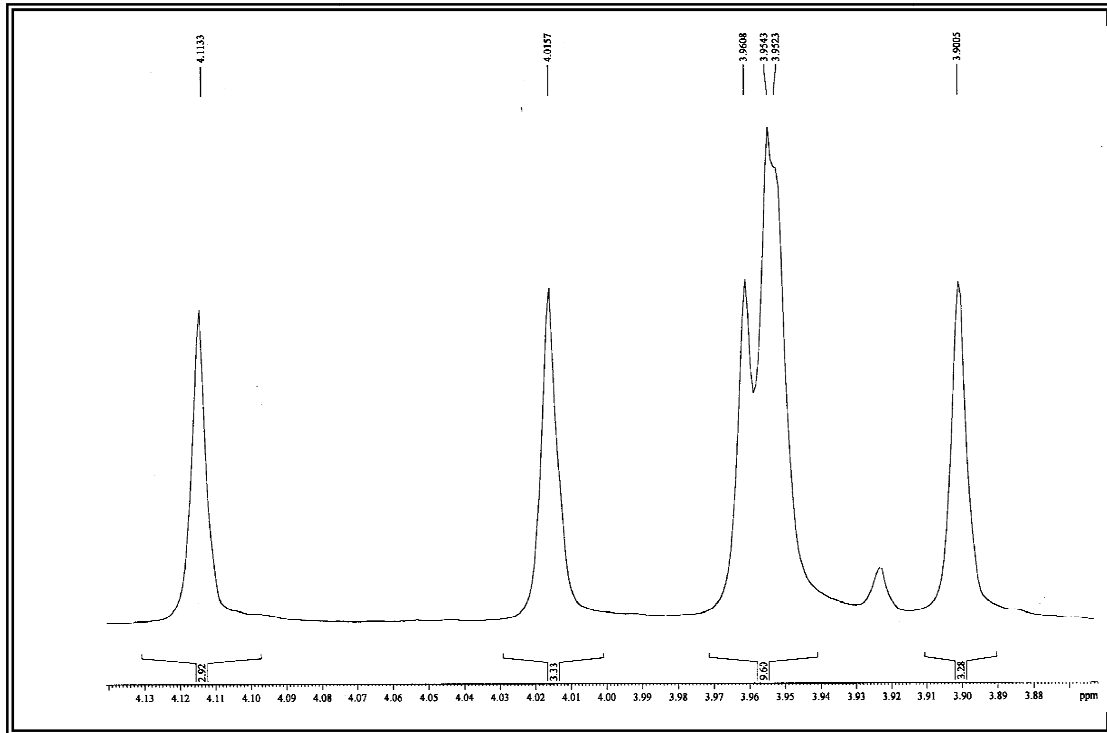
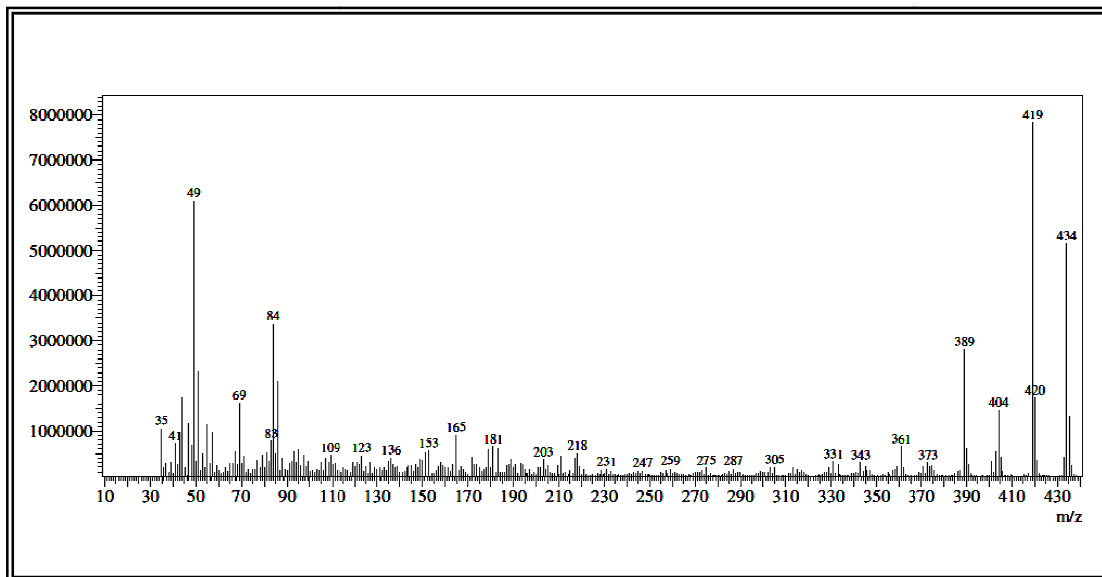
Figura 27 - Espectro de RMN ^1H - expansão (500 MHz, CDCl_3) de FMU-2**Figura 28** - Espectro de Massas de Baixa Resolução de FMU-2

Figura 29 - Espectro HSQC (500 x 125 MHz, CDCl_3) de FMU-2

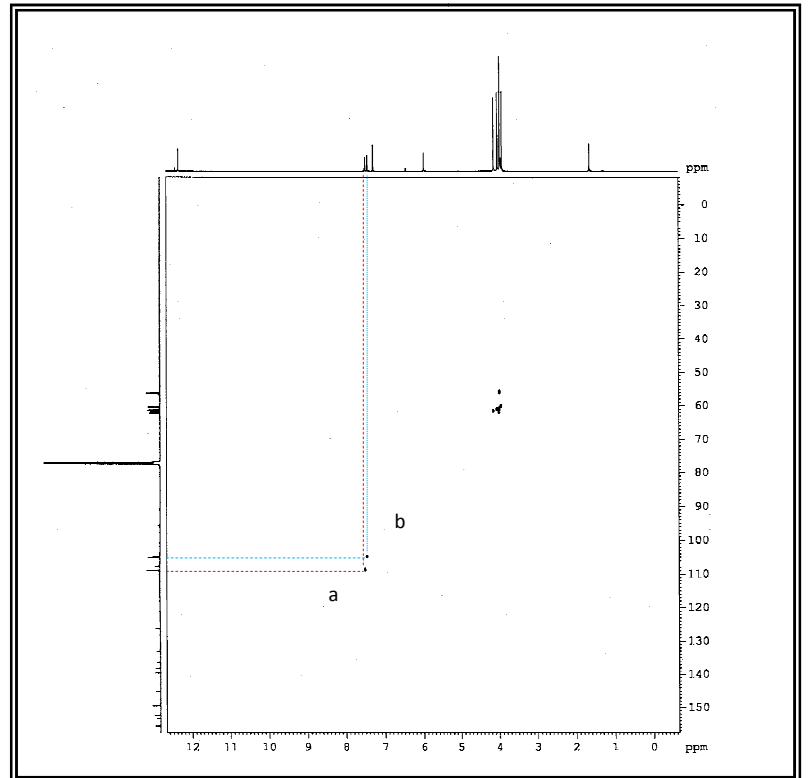
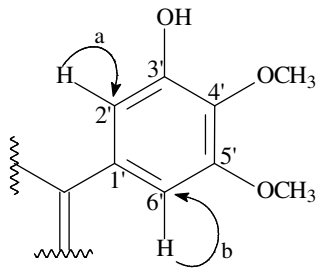


Figura 30 - Espectro HSQC – expansão (500 x 125 MHz, CDCl_3) de FMU-2

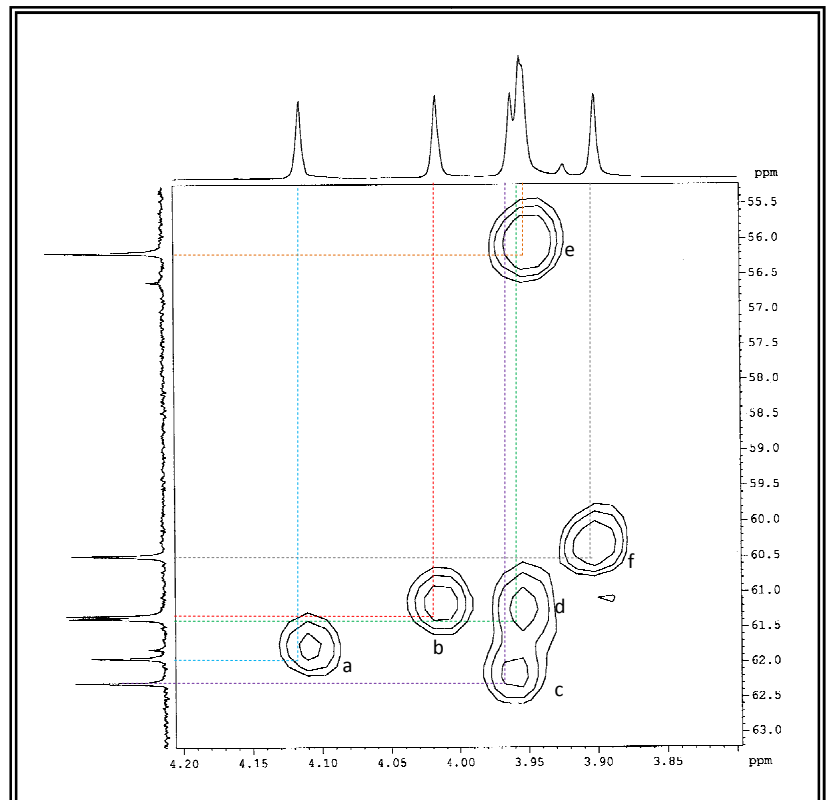
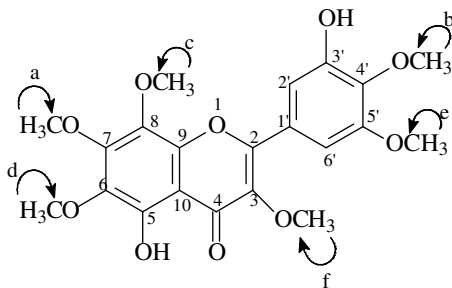


Figura 31 - Espectro HMBC (500 x 125 MHz, CDCl_3) de FMU-2.

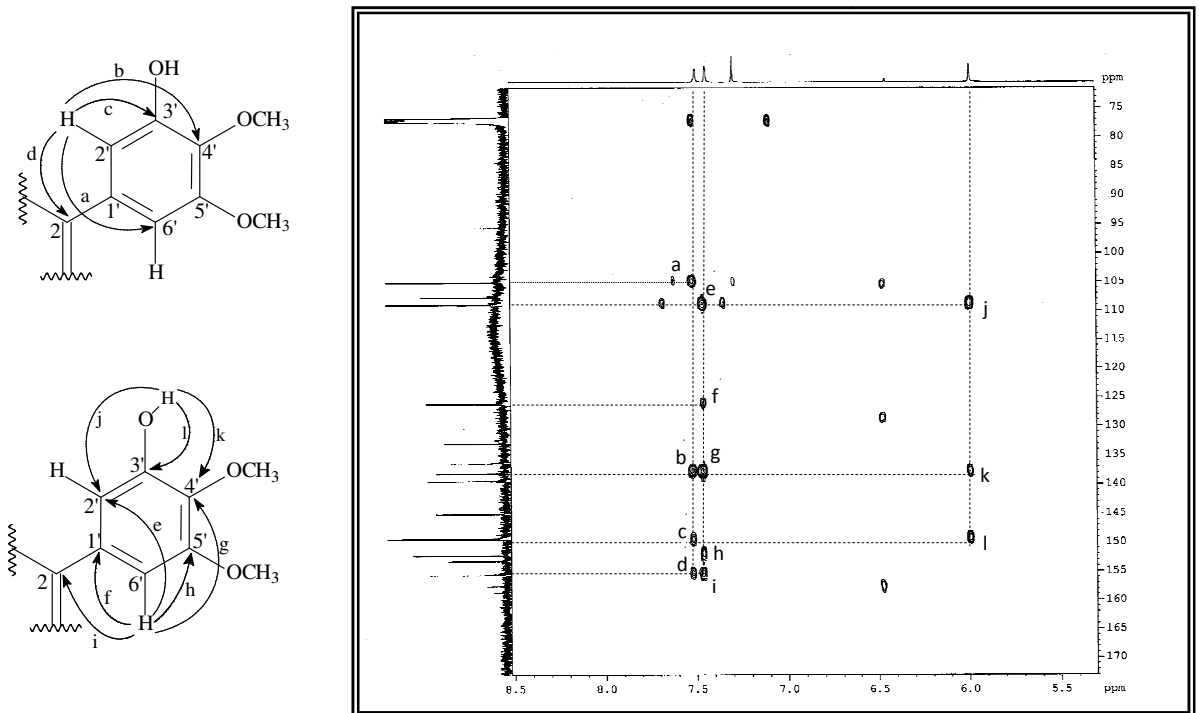
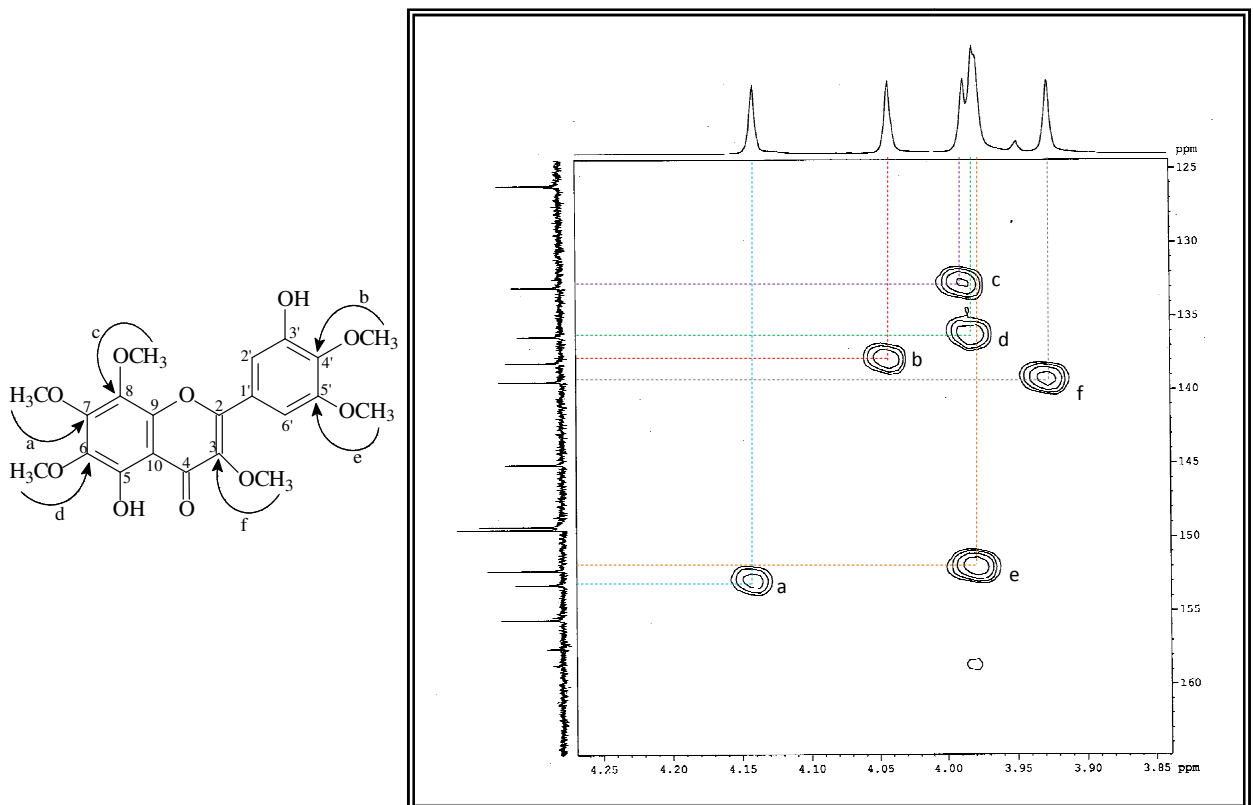


Figura 32 - Espectro HMBC - expansão (500 x 125 MHz, CDCl_3) de FMU-2



5.4 Determinação estrutural de FMU-4

O composto FMU-4 (28,9 mg) foi isolado a partir da fração FMUA-D, obtida a partir do extrato hidroalcoólico das folhas de *Marsetia mucugensis*, utilizando cromatografia líquida de alta eficiência. Este composto apresentou-se como um sólido amarelado, solúvel em clorofórmio, com ponto de fusão na faixa de 105,5-107,3 °C.

O espectro de absorção na região do infravermelho (IV) de FMU-4 (Figura 34) apresentou bandas semelhantes às de FMU-2 e FMU-3. Uma banda intensa em 3433 cm^{-1} referente à deformação axial de ligação O-H de hidroxila quelada e duas bandas em 2937 e 2845 cm^{-1} referentes à deformação axial de ligação C-H de carbono sp^3 . No mesmo espectro foi observado ainda uma absorção em 1652 cm^{-1} , atribuída à deformação axial de ligação C=O conjugada, bandas em 1593 e 1472 cm^{-1} referentes à deformação axial de ligação C=C de aromático. As bandas em 1275 e 1047 cm^{-1} são compatíveis com as deformações axiais assimétrica e simétrica, respectivamente, de ligação C-O-C de éteres aromáticos, além disso, observou-se uma absorção forte em 1147 cm^{-1} atribuída à deformação axial da ligação C-O de fenol.

O espectro de RMN ^{13}C -CPD (125 MHz, CD_3OD) de FMU-3 (Figura 35), revelou sinais correspondentes a 21 átomos de carbono, apresentando um carbono a menos que o observado para FMU-3. A comparação do espectro de RMN ^{13}C -CPD com o espectro de RMN ^{13}C -DEPT ($\theta = 135$) (125 MHz, CD_3OD) (Figura 36) permitiu determinar o padrão de hidrogenação correspondente a 3 carbonos aromáticos hidrogenados em δ_{C} 122,6 (C-6'); 111,5 (C-2'); 111,3 (C-5'), 12 carbonos não hidrogenados, sendo os sinais em δ_{C} 123,3 (C-1'); 107,7 (C-10) correspondentes a carbonos sp^2 não oxigenados, bem como, um sinal em δ_{C} 179,5 (C-4) referente a carbonila conjugada e os sinais em δ_{C} 156,0 (C-2); 153,1 (C-7); 151,9 (C-4'); 149,2 (C-3'); 149,2 (C-5); 145,0 (C-9); 139,0 (C-3); 136,4 (C-6); 133,0 (C-8) característicos de carbonos sp^2 oxigenados. O espectro ainda apresentou 6 sinais entre δ_{C} 62,2 e 56,1 referentes a carbonos metílicos oxigenados (Tabela 8), sendo esta a principal diferença entre FMU-3 e FMU-4, onde o primeiro possui sete metoxilas e o segundo o mesmo número de metoxilas que FMU-2.

Tabela 8 - Deslocamento químico de RMN ^{13}C -CPD de FMU-4 com padrão de hidrogenação [(RMN ^{13}C -CPD e DEPT ($\theta = 135$), δ , CDCl_3 , 125 MHz)]

C	CH	CH ₃
179,5 (C=O)	122,6	62,2 (C-O)
156,0 (C-O)	111,5	61,8 (C-O)
153,1 (C-O)	111,3	61,3 (C-O)
151,9 (C-O)		60,3(C-O)
149,3 (C-O)		56,2 (C-O)
149,2 (C-O)		56,1 (C-O)
145,0 (C-O)		
139,0 (C-O)		
136,4 (C-O)		
133,0 (C-O)		
123,3		
107,7		
12C	3CH	6CH ₃
Fórmula molecular: C₂₁H₂₂O₉		

Na comparação do espectro de RMN ^1H [500 MHz, CDCl_3] (Figura 37) de FMU-4 com o de FMU-3 confirmou-se a ausência de um sinal correspondente a metoxila e apresentou absorções características de hidrogênios aromáticos na faixa de δ_{H} 7,0 a 8,0; possuindo um hidrogênio a mais que FMU-3 com sinal em δ_{H} 7,0 (d; $J=8,6$ Hz; 1H) referente ao carbono C-5'. O mesmo espectro apresentou ainda seis absorções de metoxilas em δ_{H} 4,09 (s, 3H); 3,97 (s, 3H); 3,96 (s, 3H); 3,95 (s, 3H); 3,93 (s, 3H) e 3,87 (s, 3H) (Figura 38) e uma absorção em δ_{H} 12,37 evidenciando a presença de hidroxila quelada.

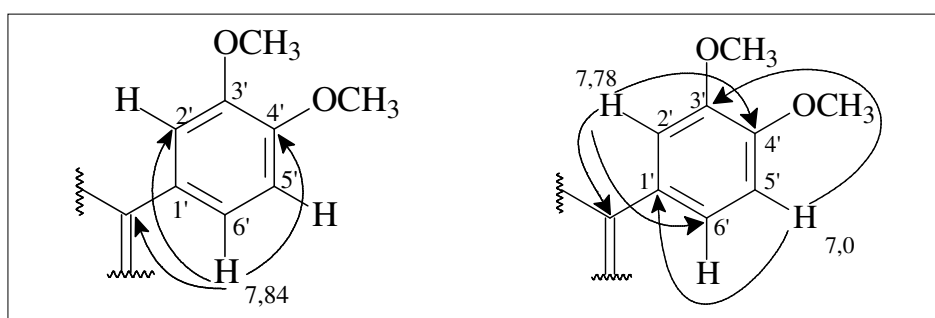
O espectro de massas, obtido por impacto eletrônico a 70 eV (Figura 39), apresentou o pico do íon molecular em m/z 418 Daltons, confirmando a fórmula molecular $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_9$. A molécula apresentou índice de deficiência de hidrogênio (IDH) igual a 11 graus de insaturação, oito referentes a dois anéis aromáticos, uma ao anel alifático, uma a ligação dupla e uma a carbonila. Pela união dos dados pôde-se observar que o composto tratava-se de uma flavona hexametoxilada.

As constantes de acoplamento observadas para os hidrogênios em δ_{H} 7,84 (dd; $J=8,6$ Hz; 1,6 Hz; 1H); 7,78 (d; $J = 1,6$ Hz; 1H); 7,0 (d; $J = 8,6$ Hz; 1 H), bem como, as correlações do espectro homonuclear COSY (Figura 40), permitiram propor que esses hidrogênios formavam um sistema do tipo ABX.

O espectro HSQC (500 x 125 MHz, CDCl_3) (Figuras 41 - 43) possibilitou correlacionar os sinais de hidrogênio aos seus respectivos carbonos (Tabela 9). Com este experimento foi possível verificar as correlações dos hidrogênios aromáticos referentes ao anel B em δ_{H} 7,84 com o carbono em δ_{C} 122,6 (C-6'), δ_{H} 7,78 com o carbono em δ_{C} 111,5 (C-2') e δ_{H} 7,0 com o carbono em δ_{C} 111,3 (C-5').

O espectro de correlação heteronuclear HMBC (500 x 125 MHz, CDCl_3) (Figuras 44 - 46) mostrou o acoplamento entre o hidrogênio em δ_{H} 7,84 (H-6') com os carbonos em δ_{C} 111,5 (C-2'; 3J); 151,9 (C-4'; 3J) e 156,0 (C-2; 3J); do hidrogênio em δ_{H} 7,78 (H-2') com os carbonos em δ_{C} 122,6 (C-6'; 3J); 151,9 (C-4'; 3J) e 156,0 (C-2; 3J), do hidrogênio em δ_{H} 7,0 (H-5') com os carbonos em δ_{C} 123,3 (C-1'; 3J) e 149,2 (C-3'; 3J) (Figura 33).

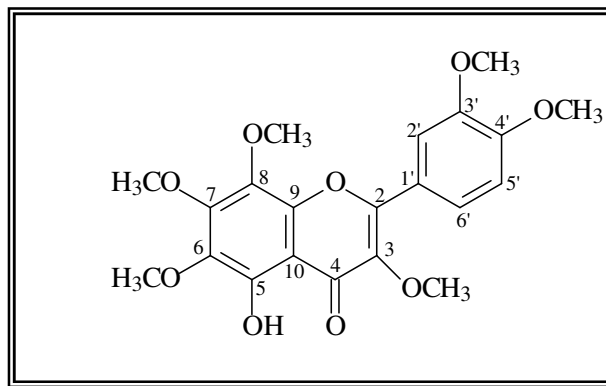
Figura 33 - Subestruturas mostrando correlações observadas no HMBC para FMU-4



Os carbonos (C-3') e (C-4') apresentaram correlação com hidrogênios em δ_{H} 3,96 e 3,97 a três ligações (3J), respectivamente, confirmando a presença de duas metoxilas no anel B. A metoxila em δ_{H} 3,87 foi posicionada no anel C, uma vez que apresentou acoplamento com o carbono em δ_{C} 139,0 (C-3; 3J), característico de C-3 de flavonas metoxiladas nesta posição (AGRAWAL, 1989). Ainda foram observadas correlações dos hidrogênios em δ_{H} 4,09; 3,95 e 3,94 com seus respectivos carbonos em δ_{C} 153,1 (C-7; 3J); 133,0 (C-8; 3J) e 136,4 (C-6; 3J).

Como no espectro HSQC não foi possível correlacionar os hidrogênios metoxílicos entre δ_{H} 3,97 e 3,94 com seus respectivos carbonos em δ_{C} 62,2 a 56,1, as posições das metoxilas referentes a esses hidrogênios foram feitas por comparação com dados da literatura (SHIMING *et al.*, 2006) e análise dos seus deslocamentos químicos.

A comparação dos dados espectrais de RMN ^1H e ^{13}C de FMU-4 com os dados de FMU-2, FMU-3 e os registrados na literatura para 3-metoxiflavonas (Shiming *et al.*, 2006) permitiu identificar FMU-4 como sendo a flavona 5-hidroxi-3,6,7,8,3',4'-hexametoxiflavona. Este flavonoide natural foi isolado pela primeira vez de *Citrus sinensis* (TATUM e BERRY, 1972; Li *et al.*, 2006). Posteriormente foi isolado a partir das folhas de *Polanysia trachysperma* (WOLLENWEBER *et al.*, 1989) e de *Melicope borbonica* e *Melicope obscura* (Rutaceae) (SIMONSEN *et al.*, 2003), contudo está sendo relatado pela primeira vez no gênero *Marcetia*.



5-hidroxi-3,6,7,8,3',4'-hexametoxiflavona

Tabela 9 - Dados de RMN ^1H , ^{13}C e correlações de HSQC e HMBC (2J e 3J) (500 x 125 MHz, CDCl_3) de FMU-4, comparado com os valores da literatura (SHIMING et al, 2006) de RMN ^1H e ^{13}C (300 x 75 MHz, DMSO-d_6) para 5-hidroxi-3,6,7,8,3',4'-hexametoxiflavona

#C	HSQC		HMBC	SHIMING et al, 2006	
	Δc	δ_{H}	3J	δc	δ_{H}
2	156,0	-	H-2'; H-6'	155,6	-
3	139,0	-	3-OCH ₃	138,1	-
4	179,4	-	-	178,7	-
5	149,3	-	-	148,5	-
6	136,4	-	6-OCH ₃	135,5	-
7	153,1	-	7-OCH ₃	152,5	-
8	133,0	-	8-OCH ₃	132,4	-
9	145,0	-	-	144,4	-
10	107,7	-	-	106,8	-
1'	123,3	-	H-5'	122,1	-
2'	111,5	7,78 (d; $J=1,6$ Hz; 1H)	H-6'	110,9	7,65 (d; $J=2$ Hz; 1H)
3'	149,2	-	H-5', 3'-OCH ₃	148,1	-
4'	151,9	-	H-6', H-2', 4'-OCH ₃	151,4	-
5'	111,3	7,0 (d; $J=8,6$ Hz; 1H)	-	111,8	7,15 (d; $J=9$ Hz; 1H)
6'	122,6	7,84 (dd; $J = 8,6$ Hz; 1,6 Hz; 1 H)	H-2'	122,0	7,72 (dd; $J= 9\text{Hz}, 2\text{Hz}; 1\text{H}$)
3-OMe	60,3	3,87 (s, 3H)	-	59,7	3,82
6-OMe	61,3	3,94 (s, 3H)	-	60,6	3,83
7-OMe	61,8	4,09 (s,3H)	-	61,8	4,02
8-OMe	62,2	3,95 (s, 3H)	-	61,5	3,84
3'-OMe	56,1	3,96 (s, 3H)	-	55,4	3,86
4'-OMe	56,2	3,97 (s, 3H)	-	55,7	3,89
5'-OH	-	12,37 (s, 1H)	-	-	-

Figura 34 - Espectro de absorção na região do infravermelho de FMU-4 (KBr)

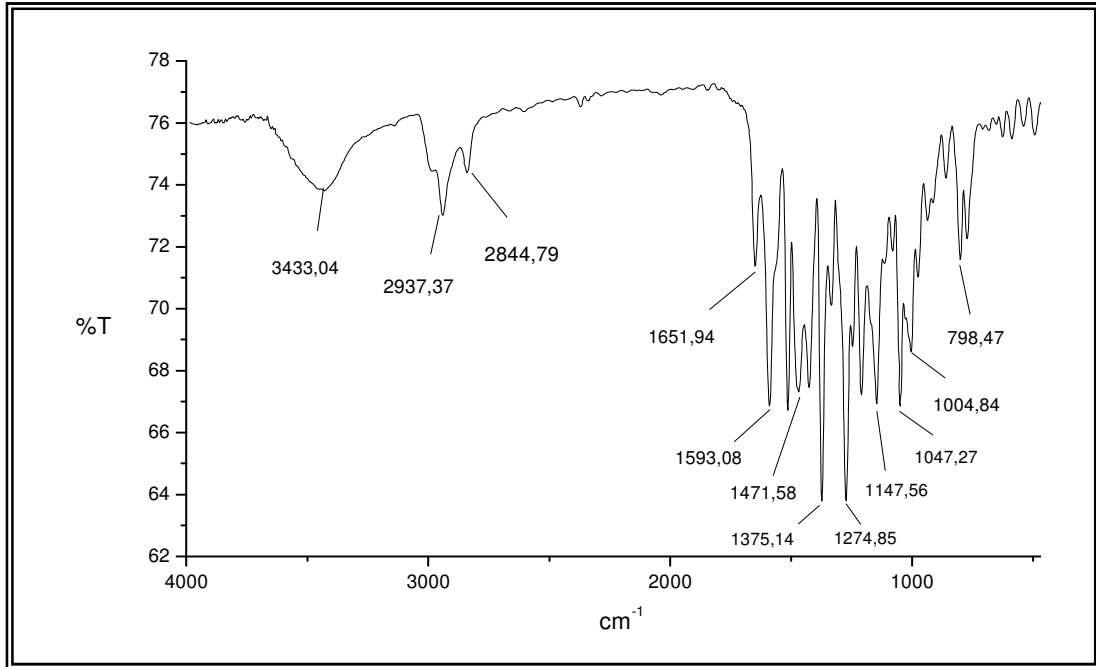


Figura 35 - Espectro de RMN ¹³C-CPD (125 MHz, CDCl₃) de FMU-4

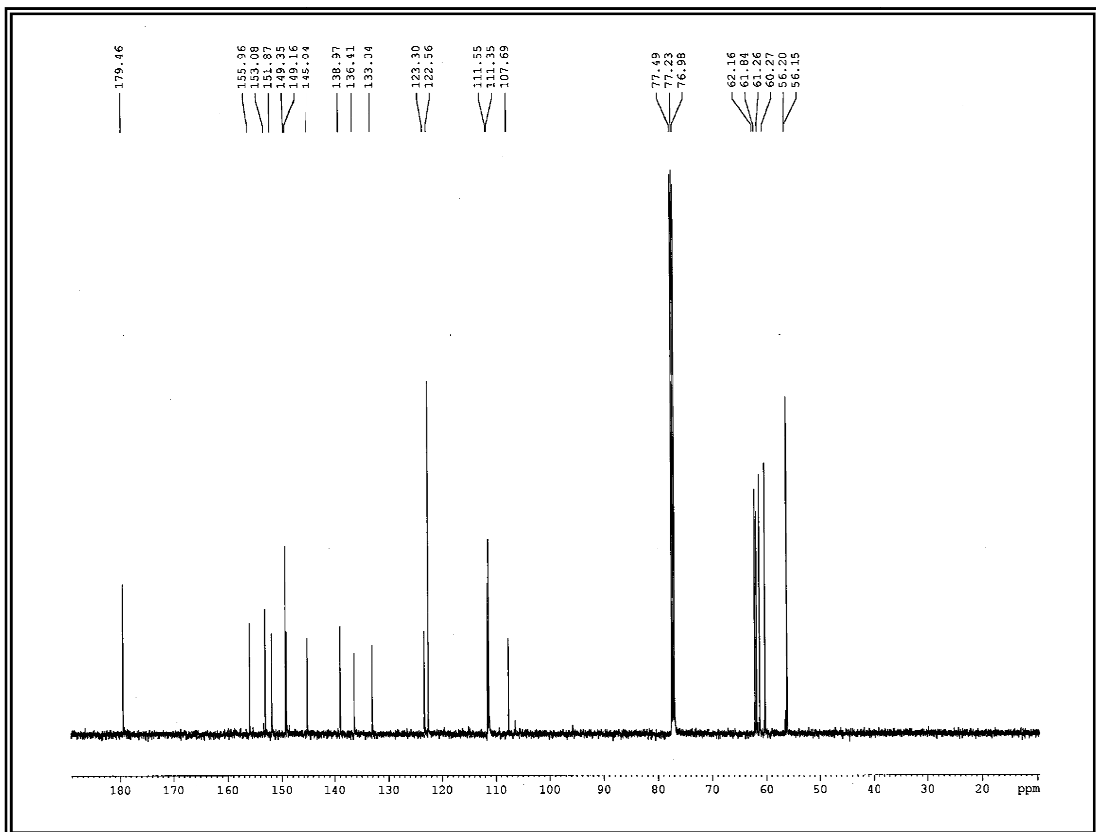


Figura 36 - Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° (125 MHz, CDCl_3) de FMU-4

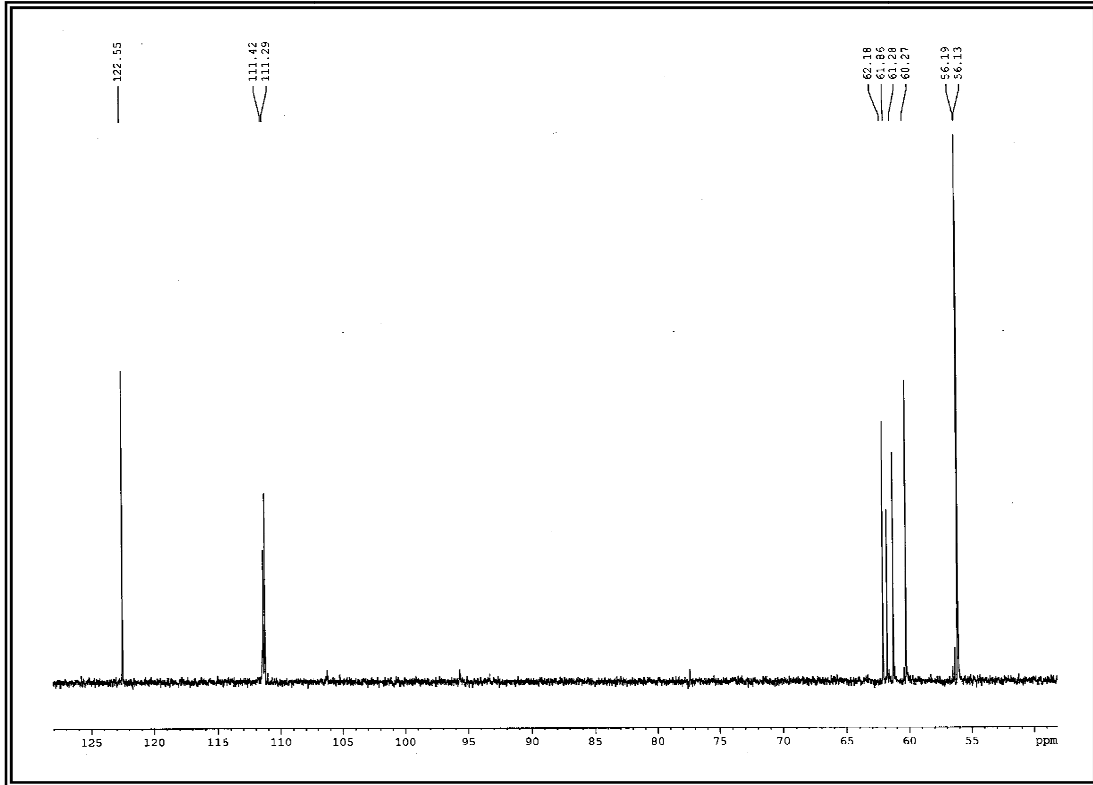


Figura 37 - Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de FMU-4

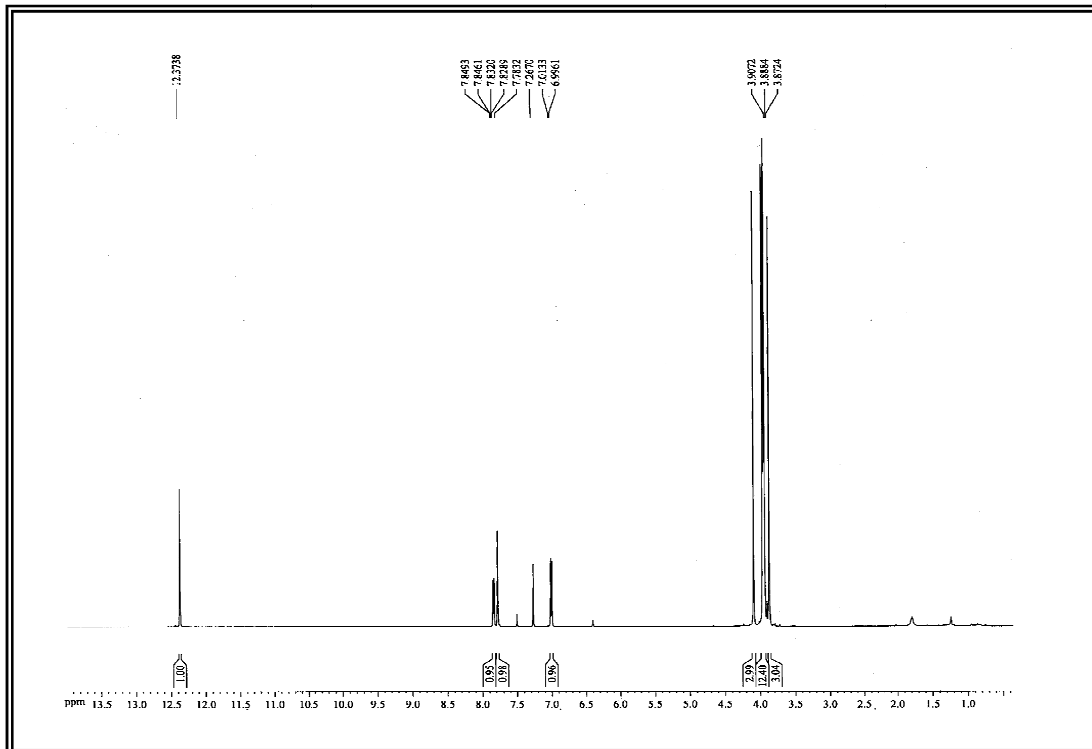


Figura 38 - Espectro de RMN ^1H - expansão (500 MHz, CDCl_3) de FMU-4

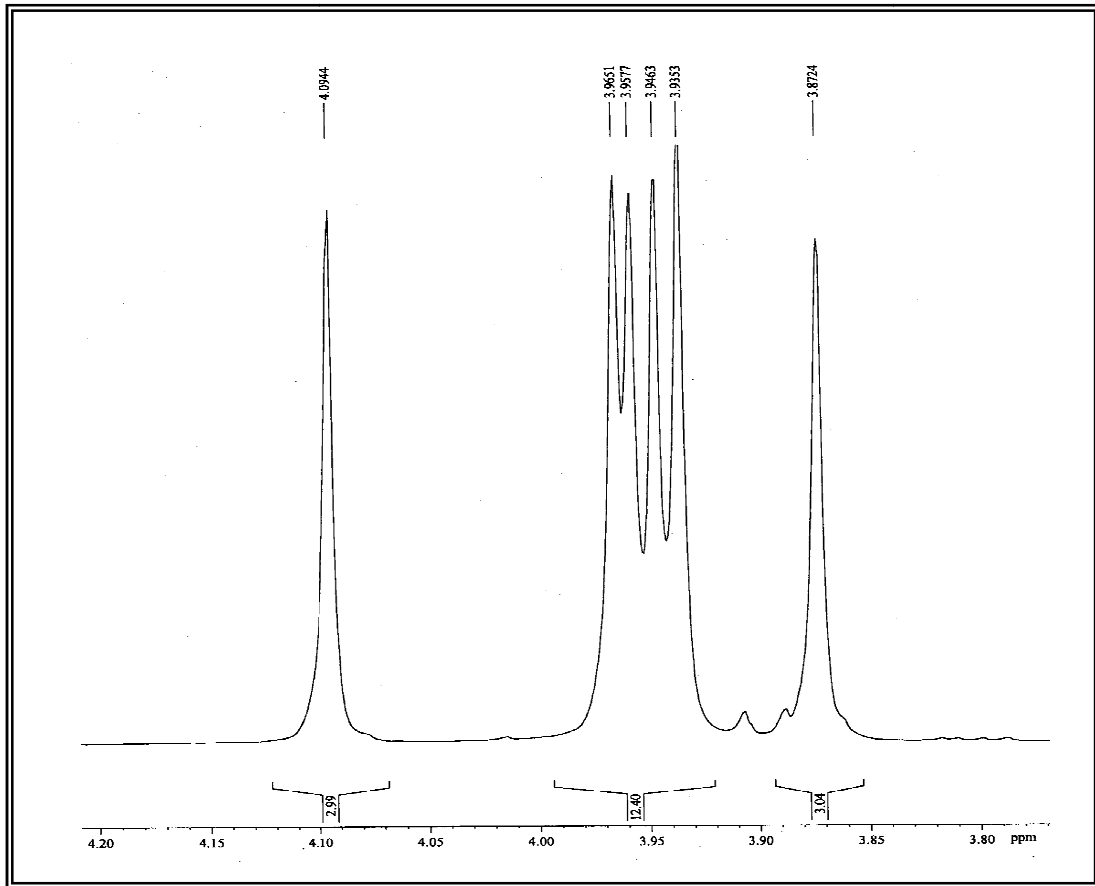


Figura 39 - Espectro de Massas de Baixa Resolução de FMU-4

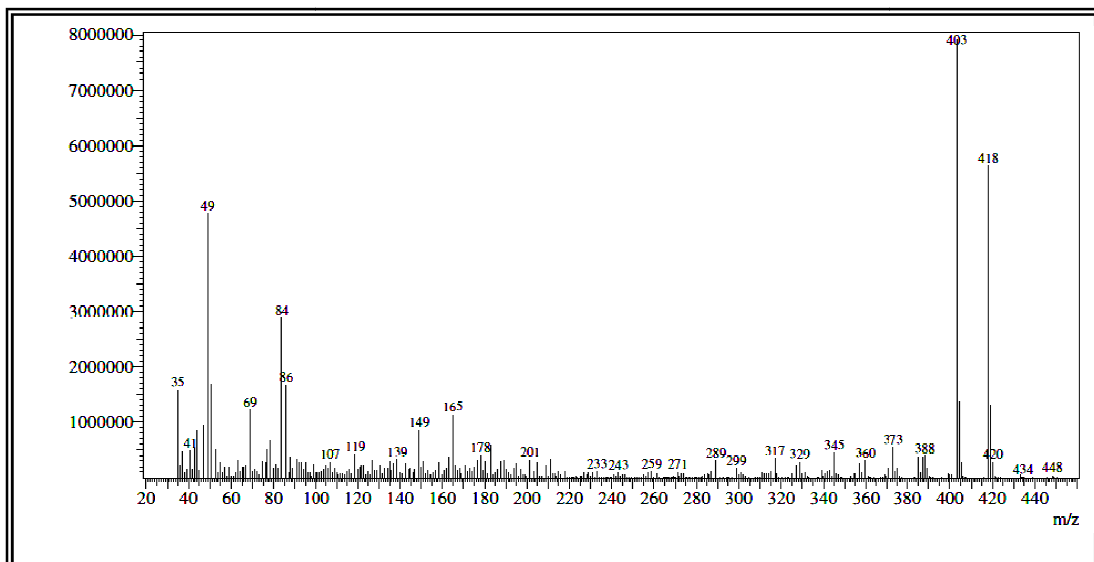


Figura 40 - Espectro COSY (500 x 500 MHz, CDCl_3) de FMU-4

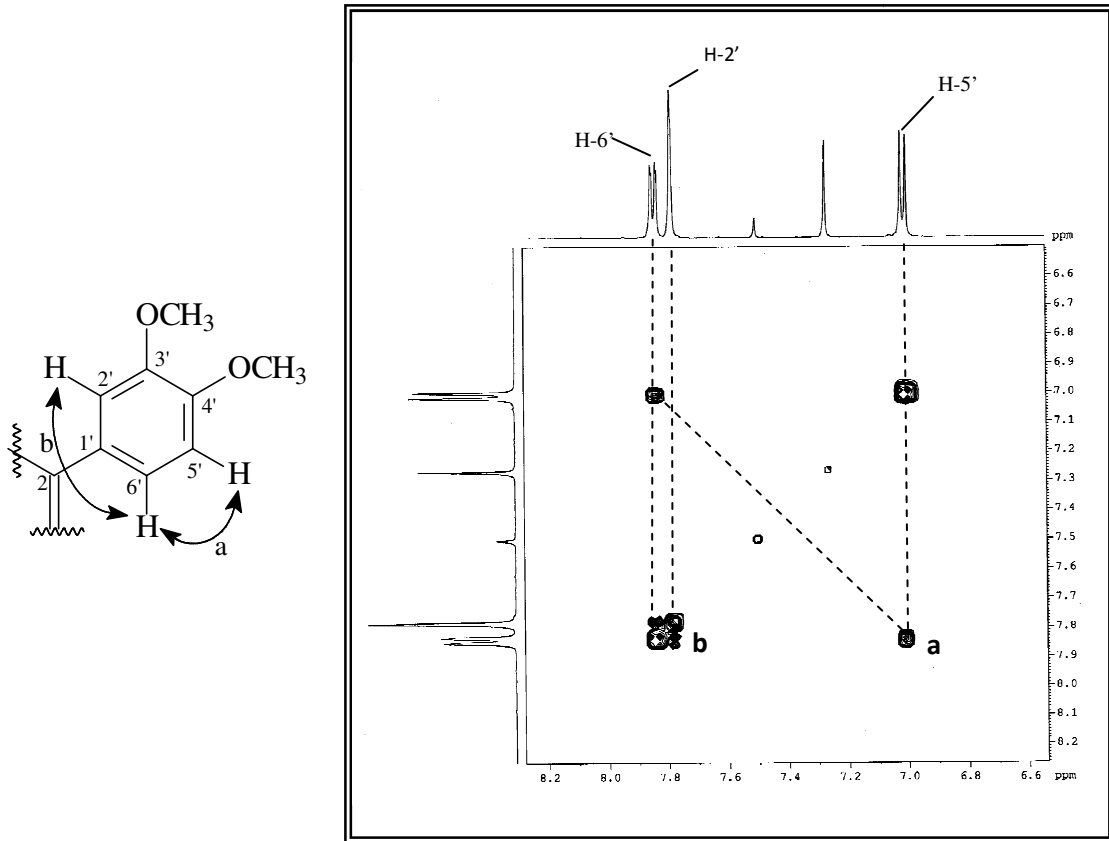


Figura 41 - Espectro HSQC (500 x 125 MHz, CDCl_3) de FMU-4

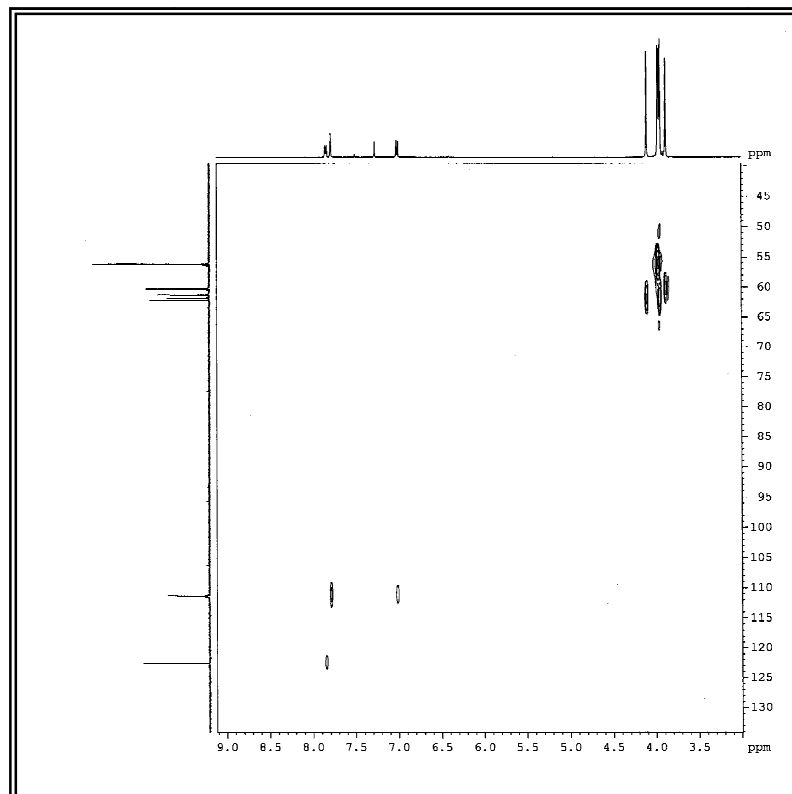


Figura 42 - Espectro HSQC – expansão (500 x 125 MHz, CDCl_3) de FMU-4

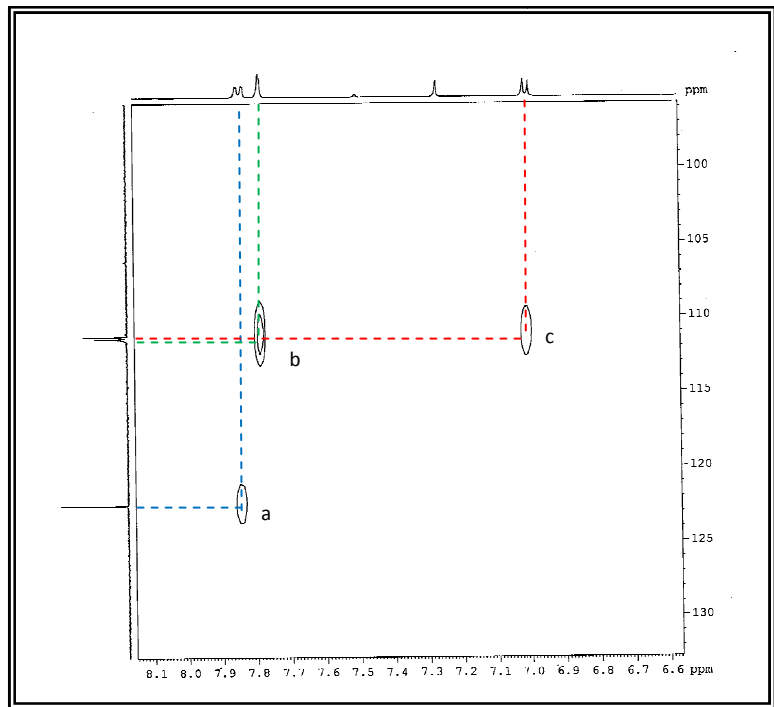
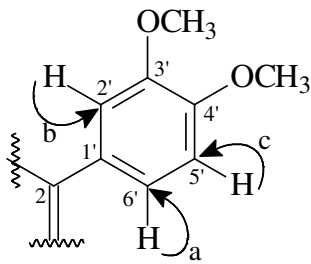


Figura 43 - Espectro HSQC - expansão (500 x 125 MHz, CDCl_3) de FMU-4

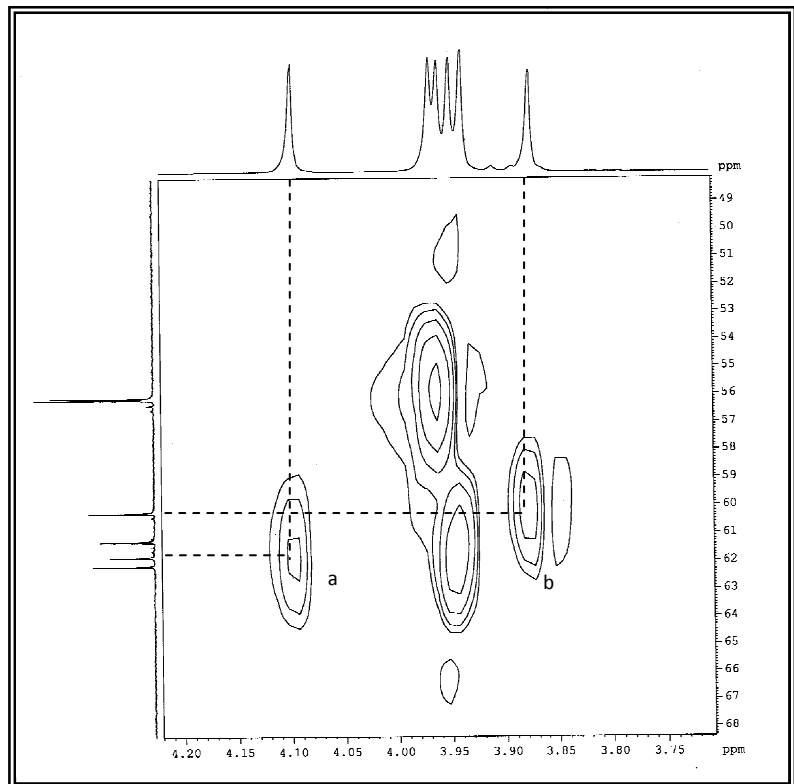
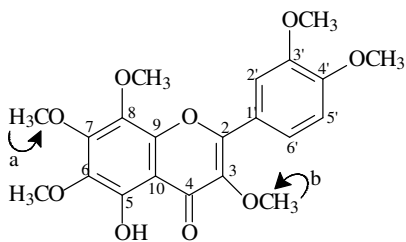


Figura 44 - Espectro HMBC (500 x 125 MHz, CDCl₃) de FMU-4

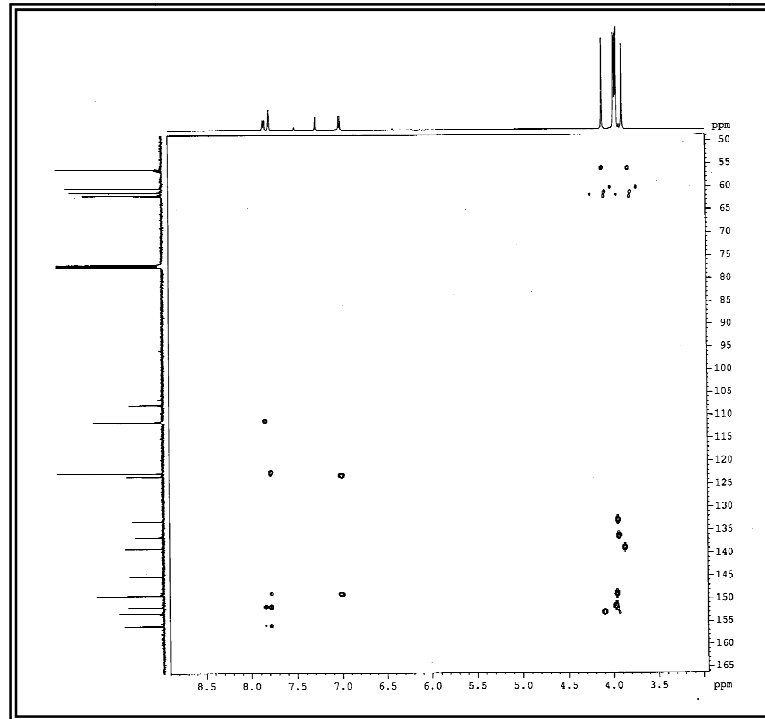


Figura 45 - Espectro HMBC - expansão (500 x 125 MHz, CDCl₃) de FMU-4

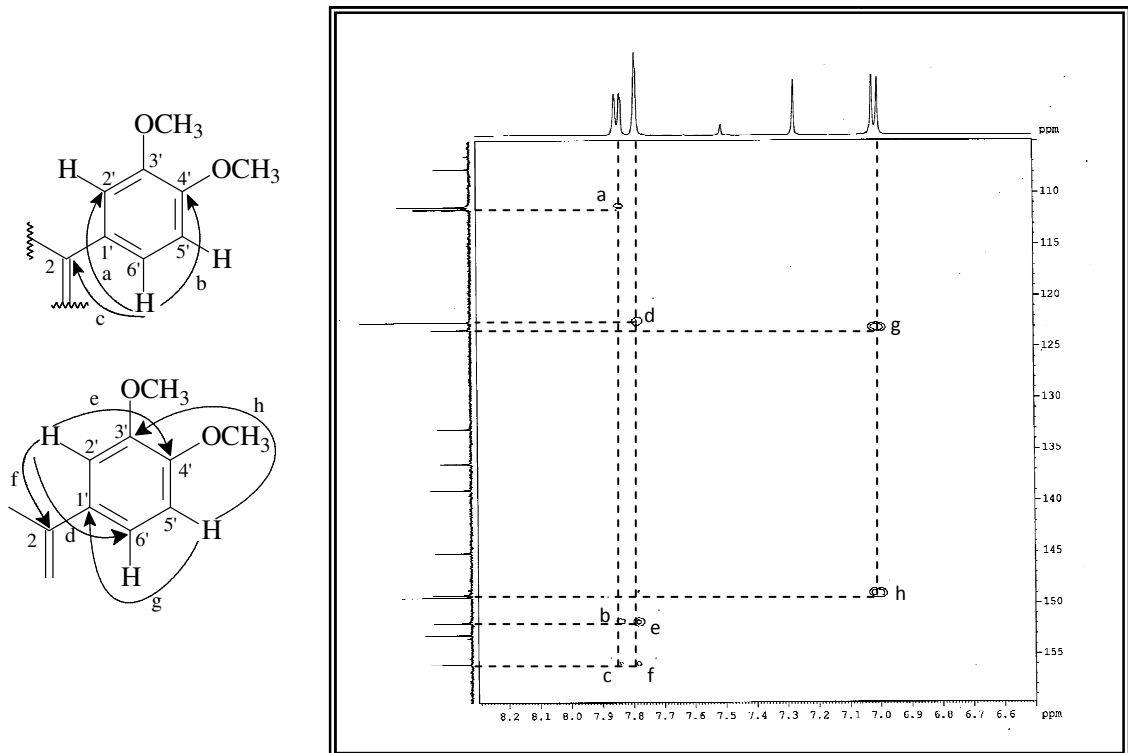
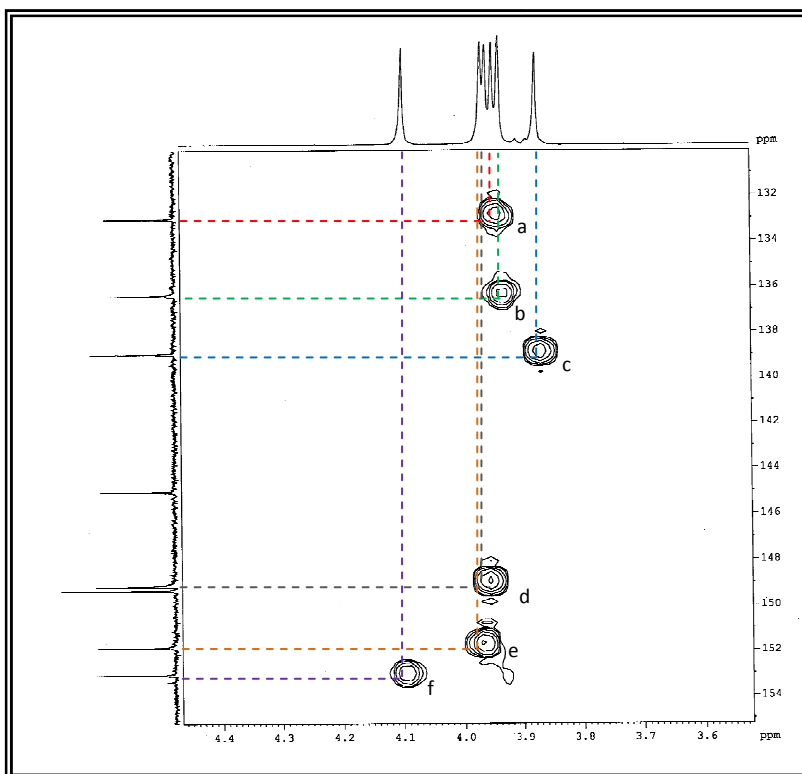
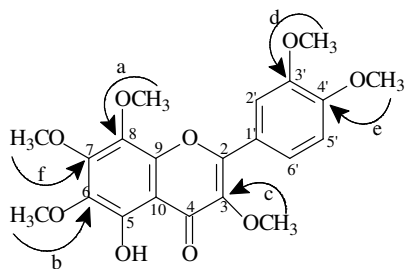


Figura 46 - Espectro HMBC - expansão (500 x 125 MHz, CDCl_3) de FMU-4



5.5 Determinação estrutural de FMU-5

A partir do tratamento cromatográfico da fração diclorometano (FMUA-D), obtida a partir do extrato hidroalcoólico das folhas de *Marcetia mucugensis*, utilizando cromatografia em coluna e cromatografia líquida de alta eficiência, foi possível obter um sólido amarelo, solúvel em clorofórmio, denominado de FMU-5, com ponto de fusão na faixa de 177,3-178,6 °C.

O espectro de absorção na região do infravermelho (Figura 48) revelou bandas semelhantes às de FMU-2, FMU-3 e FMU-4. Uma banda larga centrada em 3442 cm^{-1} característica do grupo hidroxila, duas bandas em 2934 e 2829 cm^{-1} referentes a deformação axial de ligação C-H de carbono sp^3 . Ainda foi observada uma banda em 1645 cm^{-1} referente à deformação axial de ligação C=O conjugada, bandas em 1591 e 1473 cm^{-1} referentes à deformação axial de ligação C=C de aromático. As bandas em 1246 e 1034 cm^{-1} são compatíveis com as deformações axiais assimétrica e simétrica de ligação C-O-C.

Ao examinar o espectro de RMN ^{13}C -CPD (125 MHz, CDCl_3) de FMU-5 (Figura 49) pode-se observar a presença de 19 linhas espectrais que ao serem comparadas com o espectro de RMN ^{13}C -DEPT ($\theta=135$) (125 MHz, CD_3OD) (Figura 50) possibilitou a identificação do sinal relacionado ao carbono carbonílico conjugado em δ_{C} 179,4 (C-4). O mesmo espectro apresentou também 12 linhas espectrais entre δ_{C} 155,2 e 105,1 referentes a carbonos sp^2 , dos quais 7 foram atribuídos a carbonos aromáticos oxigenados em δ_{C} 153,2 (C-3' e C-5'); 148,8 (C-7); 148,0 (C-5); 144,9 (C-9); 140,7 (C-4'); 130,5 (C-6); 127,1 (C-8), 1 sinal de carbono aromático hidrogenado em δ_{C} 106,0 (C-2' e C-6') e 2 sinais de carbonos aromático não oxigenados em δ_{C} 125,6 (C-1') e 105,1 (C-10). Os 5 sinais entre δ_{C} 61,7 e 56,3 foram relacionados a 6 carbonos metílicos oxigenados (Tabela 10).

Tabela 10 - Deslocamento químico de RMN ^{13}C -CPD de FMU-5 com padrão de hidrogenação [(RMN ^{13}C -CPD e DEPT ($\theta = 135$), δ , CDCl_3 , 125 MHz)]

C	CH	CH ₃
179,4 (C=O)	106,0 (x2)	61,7 (C-O)
155,2 (C-O)		61,1 (C-O)
153,2 (C-O) (x2)		61,0 (C-O)
148,8 (C-O)		60,3 (C-O)
148,0 (C-O)		56,3 (C-O) (x2)
144,9 (C-O)		
140,7 (C-O)		
139,1 (C-O)		
130,5 (C-O)		
127,1 (C-O)		
125,6		
105,1		
13C		2CH
Fórmula molecular: C₂₁H₂₂O₁₀		

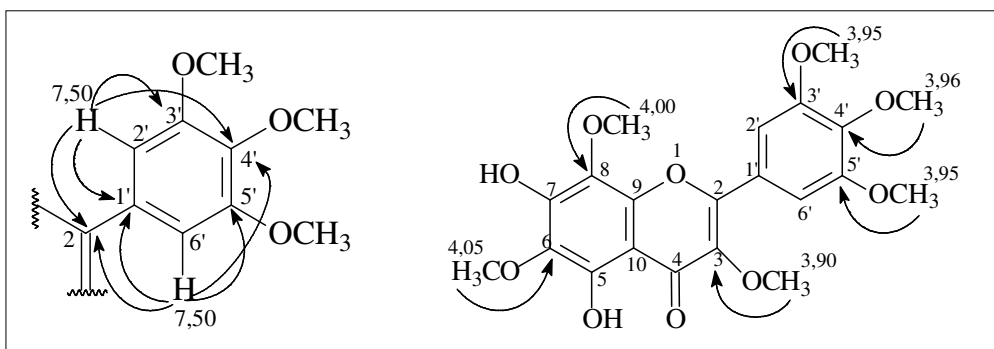
No espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) de FMU-5 (Figuras 51 e 52) foi observado um sinal em δ_{H} 12,51 característico de hidrogênio de hidroxila quelada, um simpleto em δ_{H} 7,50 (s, 2H), típico de hidrogênio aromático e os valores de integração indicam que este sinal é referente a dois átomos de hidrogênio equivalentes. Ainda no espectro de RMN ^1H de FMU-5 foram observados sinais em δ_{H} 4,05 (s, 3H); 4,0 (s, 3H); 3,96 (s, 6H); 3,95 (s, 3H) e 3,90 (s, 3H) típicos de metoxilas.

No espectro de HSQC (500 x 125 MHz, CDCl_3) (Figuras 53 e 54) foi possível correlacionar os sinais de hidrogênio aos seus respectivos carbonos (Tabela 11). Neste experimento foi possível verificar as correlações dos hidrogênios aromáticos equivalentes referentes ao anel B em δ_{H} 7,50 com os carbonos em δ_{C} 106,0 (C-2' e C-6').

O espectro de HMBC (500 x 125 MHz, CDCl_3) (Figura 55) mostrou o acoplamento dos hidrogênios aromáticos equivalentes em δ_{H} 7,50 (H-2' e H-6') com os carbonos em δ_{C} 125,6 (C-1'; 2J); 140,7 (C-4'; 3J), 153,2 (C-3' e C-5'; 2J) e 155,2 (C-2'; 3J) (Figura 47). Ainda foi possível observar a correlação dos hidrogênios metoxílicos em δ_{H} 4,05 e 4,00 com seus respectivos carbonos em δ_{C} 130,5 (C-6) e 127,1 (C-8), do hidrogênio em δ_{H} 3,96 com o carbono em δ_{C} 140,7 (C-4'). De dois

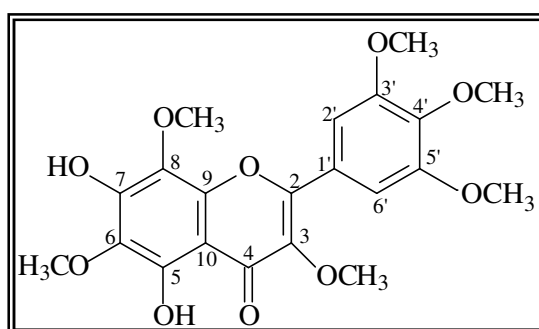
hidrogênios em δ_H 3,95 com os carbonos em δ_C 153,2 (C-3' e C-5') e do hidrogênio em δ_H 3,90 com o carbono em δ_C 139,1 (C-3), podendo ser observada a principal diferença de FMU-2, o qual apresentou correlação de hidrogênio metoxílico com C-7 e hidrogênio de hidroxila com C-3'.

Figura 47 - Correlações observadas no espectro HMBC para FMU-5



No espectro de HSQC foi possível correlacionar o sinal dos hidrogênios metoxílicos em δ_H 4,05 (6-OMe) com o carbono em δ_C 61,0; dos hidrogênios em δ_H 4,0 e 3,96 (8-OMe e 4'-OMe) com os seus respectivos carbonos em δ_C 61,7 e 61,1. Dos hidrogênios em 3,95 (3'-OMe e 5'-OMe) com os carbonos em δ_C 56,3 e do hidrogênio em δ_H 3,90 (3-OMe) com o carbono em 60,3.

Através dos dados observados anteriormente foi deduzida a fórmula molecular $C_{21}H_{22}O_{10}$, assim como comparação com os dados de RMN 1H e ^{13}C registrados para FMU-3, FMU-2, FMU-4 e os dados de RMN de 1H e ^{13}C obtidos da literatura (Roitman e James, 1985), permitiu caracterizar FMU-5 como 5,7-dihidroxi-3,6,8,3',4',5'-hexametoxiflavona, isolado anteriormente de *Gutierrezia microcephala* (ROITMAN E JAMES, 1985) e *Gutierrezia grandis* (FANG et al, 1985), descrito pela primeira vez no gênero *Marcetia*.



5,7-dihidroxi-3,6,8,3',4',5'-hexametoxiflavona

Tabela 11 - Dados de RMN ^1H , ^{13}C e correlações de HSQC e HMBC (2J e 3J) (500 x 125 MHz, CDCl_3) de FMU-5, comparado com os valores da literatura (Roitman e James, 1985) de RMN ^1H e ^{13}C para 5,7-dihidroxi-3,6,8,3',4',5'-hexametoxiflavona.

#C	HSQC		HMBC		ROITMAN E JAMES, 1985	
	δ_{C}	δ_{H}	2J	3J	$^a\delta_{\text{C}}$	$^b\delta_{\text{H}}$
2	155,2	-	H-2', H-6'	-	154,4	-
3	139,0	-	-	3-OCH ₃	138,3	-
4	179,4	-	-	-	178,4	-
5	148,0	-	-	-	147,9	-
6	130,5	-	-	6-OCH ₃	131,4	-
7	148,8	-	-	-	151,0	-
8	127,1	-	-	8-OCH ₃	127,7	-
9	144,9	-	-	-	144,6	-
10	105,1	-	-	-	103,6	-
1'	125,6	-	H-2', H-6'	-	125,2	-
2'	106,0	7,50 (s; 1H)	-	-	105,6	7,54 (s; 1H)
3'	153,2	-	H-2', H-6'	3'-OCH ₃	152,7	-
4'	140,7	-	-	H-2', H-6', 4'-OCH ₃	139,9	-
5'	153,2	-	H-2', H-6'	5'-OCH ₃	152,7	-
6'	106,0	7,50 (s; 1H)	-	-	105,6	7,54 (s; 1H)
3-OMe	60,3	3,90 (s, 3H)	-	-	59,9	3,85 (s; 3H)
6-OMe	61,0	4,05 (s, 3H)	-	-	60,2	3,99 (s; 3H)
8-OMe	61,7	4,00 (s, 3H)	-	-	61,1	3,89 (s; 3H)
3'-OMe	56,3	3,95 (s, 3H)	-	-	55,9	3,94 (s; 3H)
4'-OMe	61,1	3,96 (s, 3H)	-	-	60,2	3,95 (s; 3H)
5'-OMe	56,3	3,95 (s, 3H)	-	-	55,9	3,94 (s; 3H)
5'-OH	-	12,51 (s, 1H)	-	-	-	12,57

a) DMSO-d₆, 25 MHz

b) Acetona-d₆, 100 MHz

Figura 48 - Espectro de absorção na região do infravermelho de FMU-5 (KBr)

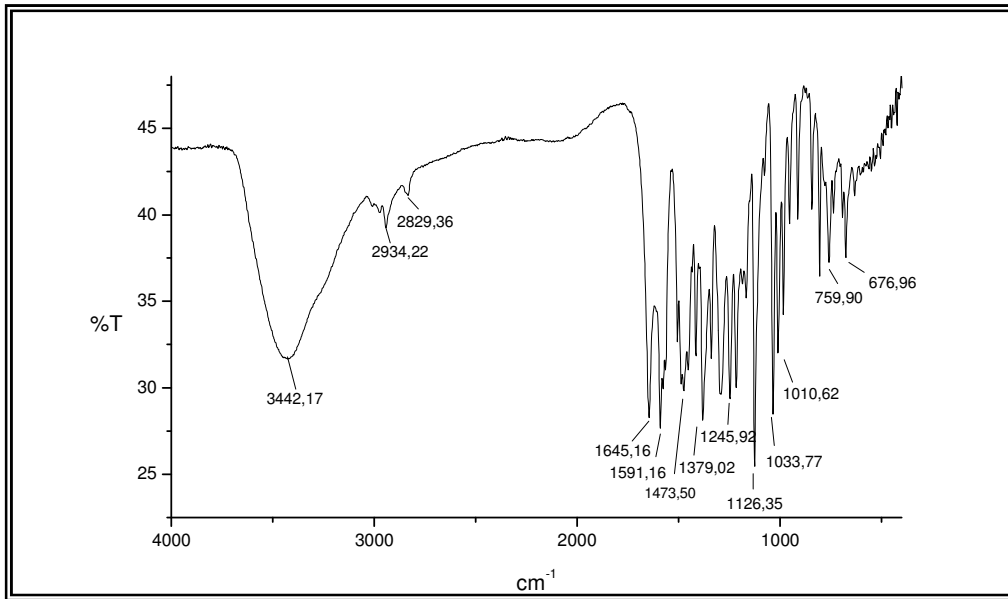


Figura 49 - Espectro de RMN ¹³C-CPD (125 MHz, CDCl₃) de FMU-5

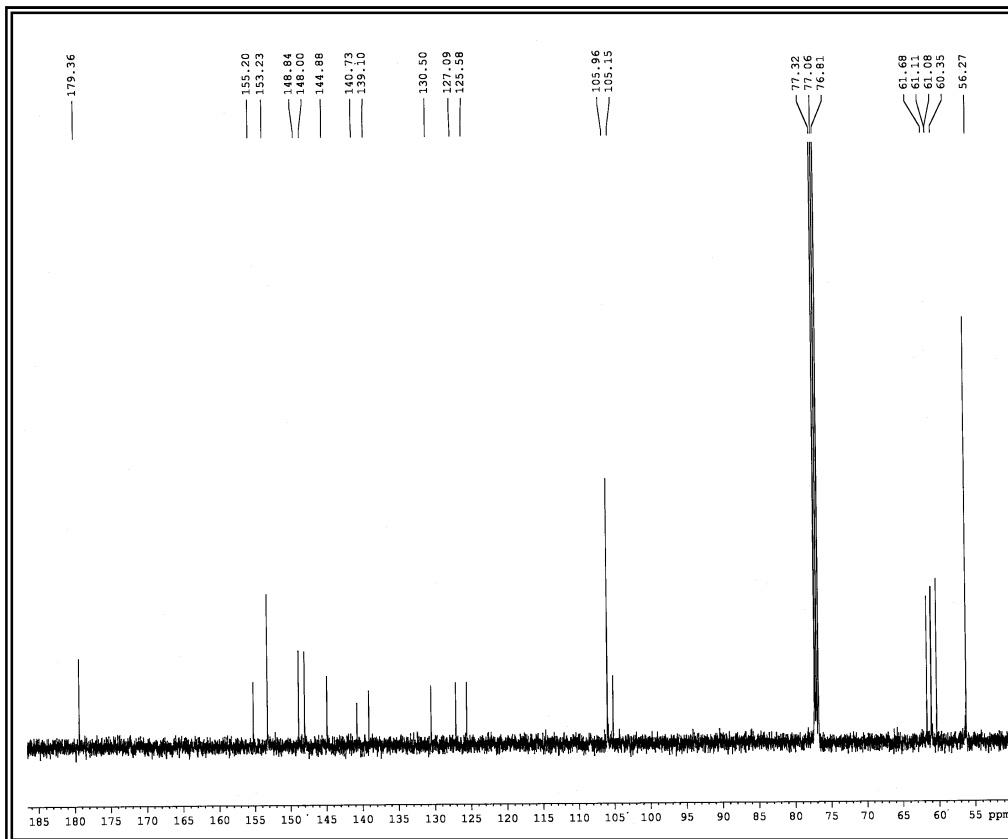


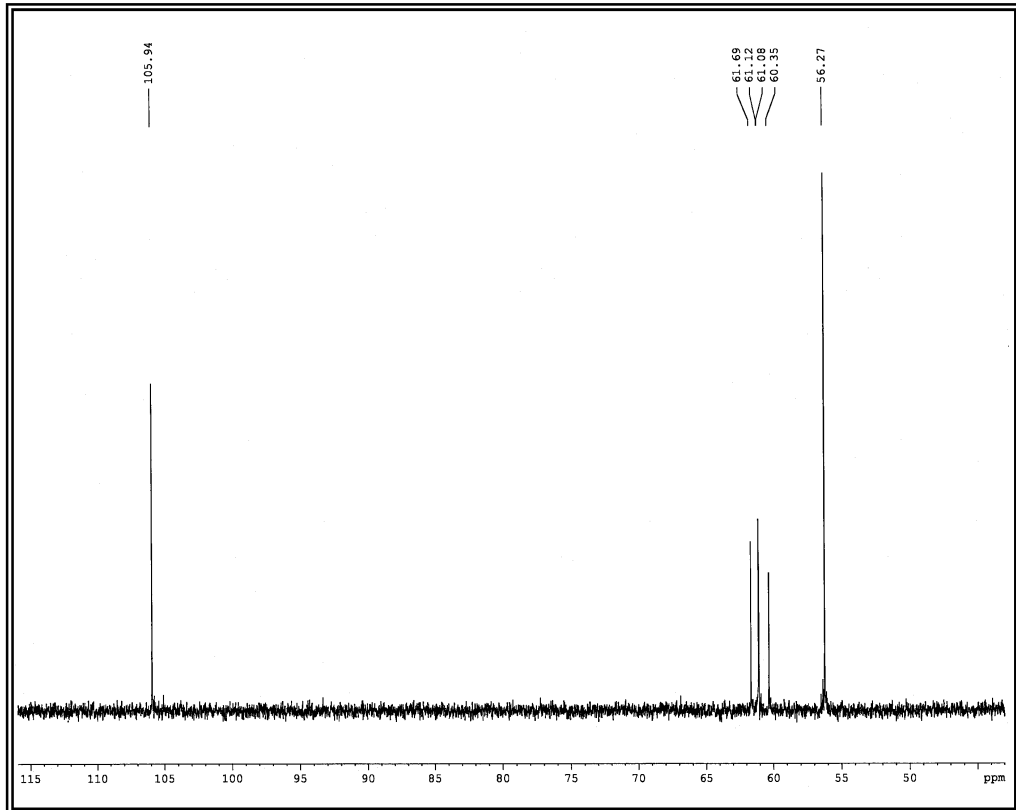
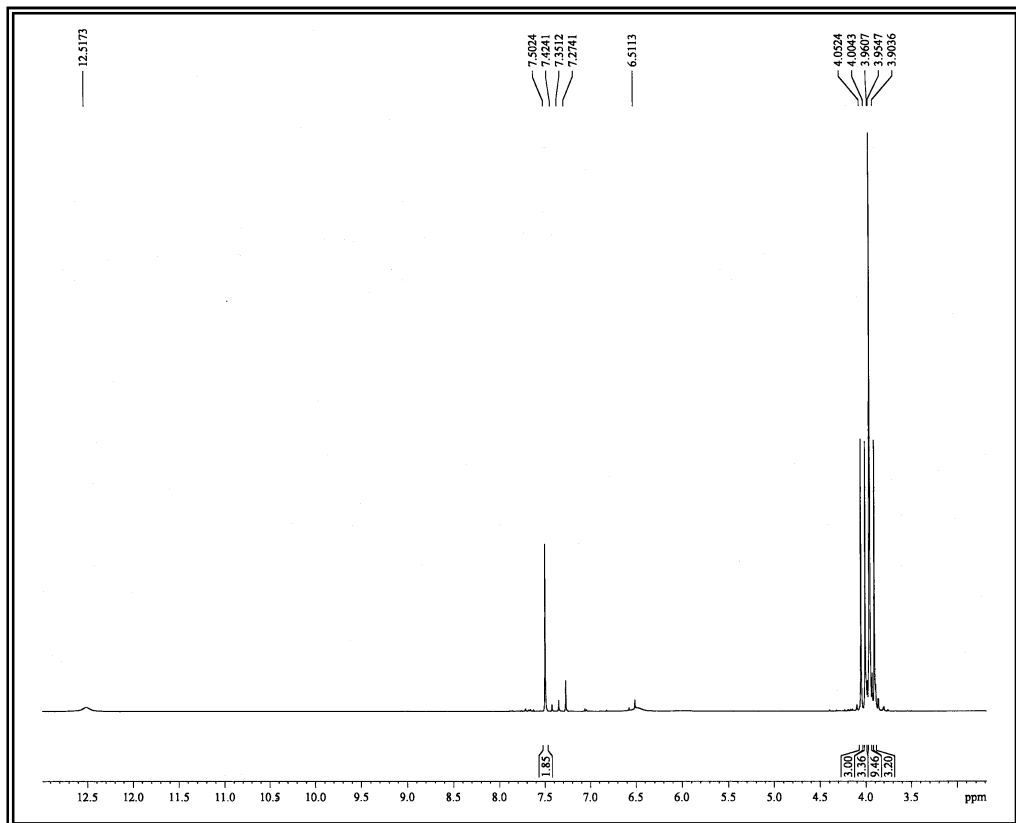
Figura 50 - Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° (125 MHz, CDCl_3) de FMU-5**Figura 51** - Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de FMU-5

Figura 52 - Espectro de RMN ^1H - expansão (500 MHz, CDCl_3) de FMU-5

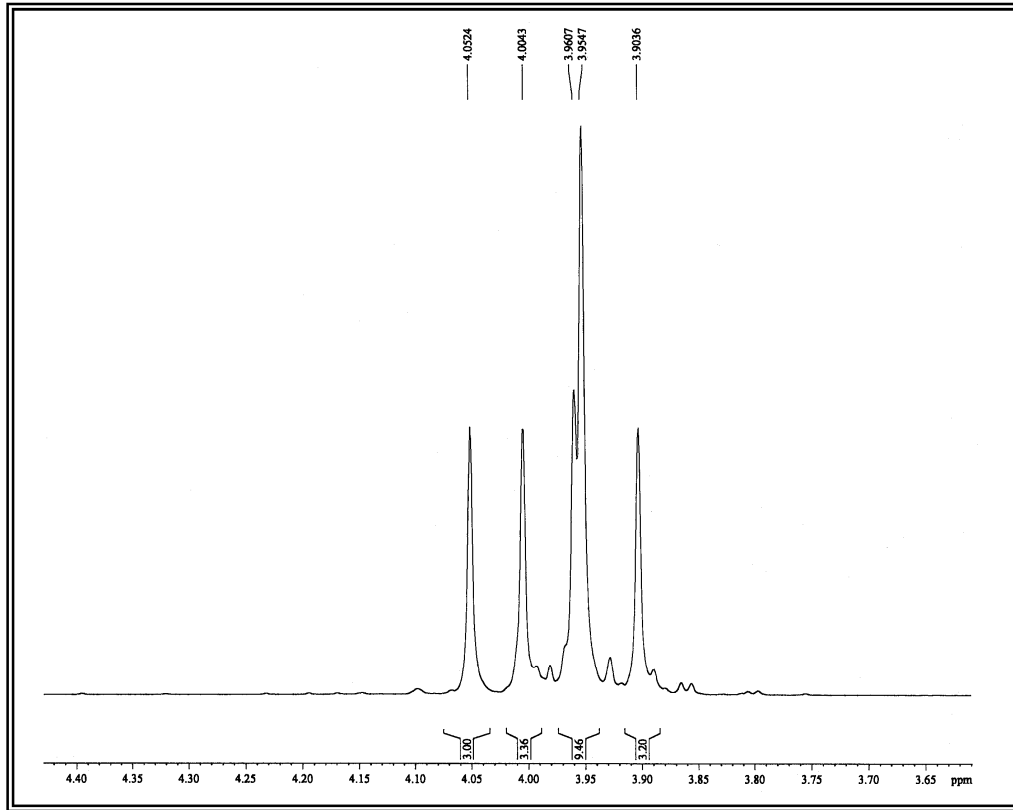


Figura 53 - Espectro HSQC (500 x 125 MHz, CDCl_3) de FMU-5

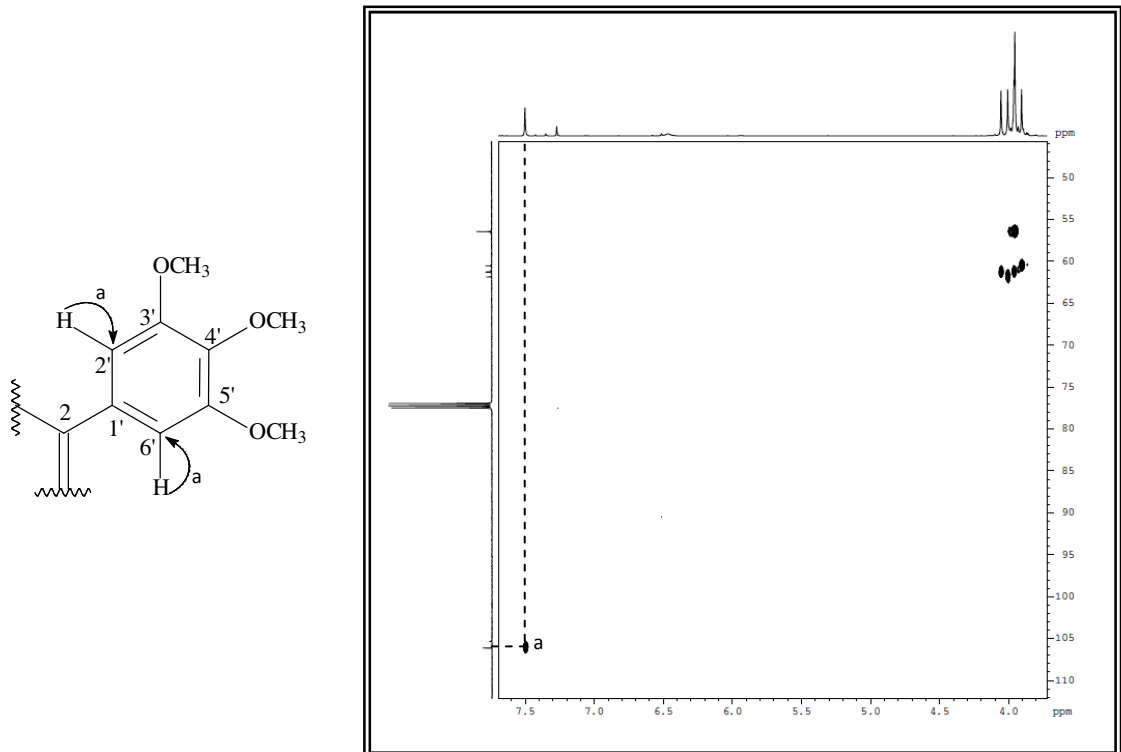


Figura 54 - Espectro HSQC - expansão - (500 x 125 MHz, CDCl_3) de FMU-5

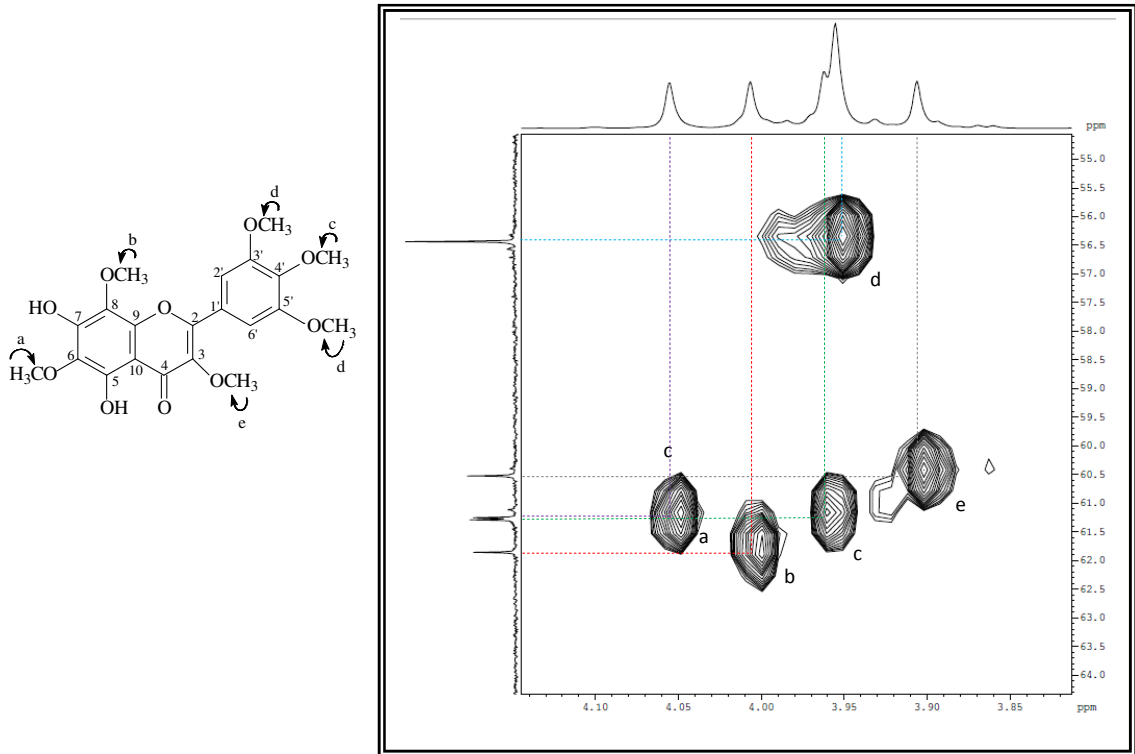
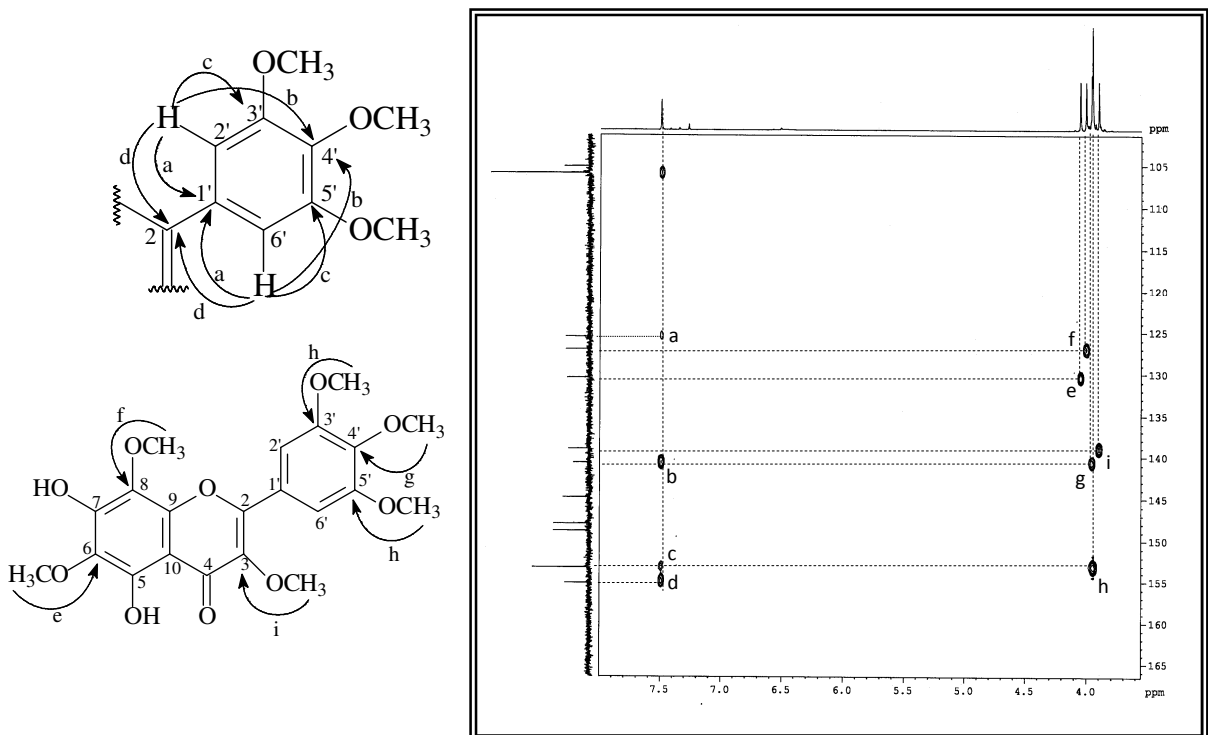


Figura 55 - Espectro HMBC (500 x 125 MHz, CDCl_3) de FMU-5



5.6 Determinação estrutural de FMU-6

A fração FMUA-D do extrato hidroalcoólico das folhas de *M. mucugensis*, após sucessivos tratamentos cromatográficos e lavagens com diclorometano e acetato de etila, forneceu 4,5 mg de um sólido amarelo escuro, solúvel em metanol, apresentando ponto de fusão na faixa de 309,6-311,3 °C, denominado de FMU-6.

O espectro de absorção na região do infravermelho (Figura 57) exibiu uma banda larga em 3416 cm⁻¹, característica de deformação axial de ligação OH, uma banda em 1661 cm⁻¹, referente a deformação axial de ligação C=O, revelou ainda, bandas em 1614 e 1514 cm⁻¹ compatíveis com deformação axial de C=C de aromáticos, além de uma banda em 1360, característica de deformação angular no plano de OH.

O espectro de RMN ¹³C-CPD (125 MHz, MeOD) de FMU-6 (Figura 58), exibiu 15 linhas espectrais. A análise comparativa com o espectro de carbono de RMN ¹³C-DEPT (θ=135) (125 MHz, MeOD) (Figura 59), revelou a presença de 1 sinal de carbono carbonílico em δ_C 177,5 (C-4), 5 sinais de carbonos aromáticos oxigenados em δ_C 165,7 (C-7); 162,6 (C-5); 158,4 (C-9); 148,2 (C-4'); 146,3 (C-3'), 2 sinais de carbonos aromáticos não oxigenados em δ_C 124,3 (C-1'); 104,7 (C-10) e 5 sinais de carbonos aromáticos hidrogenados em δ_C 121,8 (C-6'); 116,4 (C-5'); 116,1 (C-2'); 99,4 (C-6); 94,6 (C-8) (Tabela 12).

Tabela 12 - Deslocamento químico de RMN ¹³C-CPD de FMU-6 com padrão de hidrogenação [(RMN ¹³C-CPD e DEPT (θ = 135), δ, MeOD, 125 MHz)]

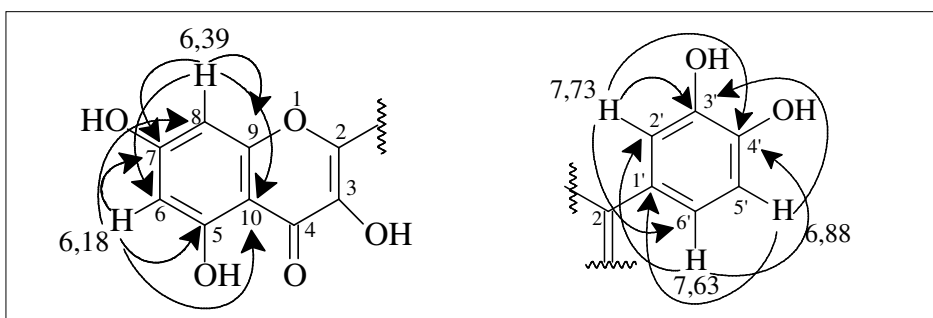
C	CH
177,5 (C=O)	121,8
165,7 (C-O)	116,4
162,6 (C-O)	114,1
158,4 (C-O)	99,4
148,9 (C-O)	94,6
148,2 (C-O)	
146,3 (C-O)	
137,3 (C-O)	
124,3	
104,7	
10C	5CH
Fórmula molecular: C₁₅H₁₀O₇	

O espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) de FMU-6 (Figuras 60 e 61) apresentou 3 sinais na região de hidrogênio aromático compatíveis com um sistema ABX: δ_{H} 7,73 (d; $J = 1,8$ Hz; 1H); 7,63 (dd; $J = 8,5$ Hz; 1,8 Hz; 1H); 6,88 (d; $J = 8,5$ Hz; 1H), confirmado através das correlações do espectro homonuclear COSY (Figura 62). O espectro revelou ainda dois dubletos centrados em δ_{H} 6,39 (d; $J = 1,7$ Hz; 1H) e δ_{H} 6,18 (d; $J = 1,7$ Hz; 1H), cujos valores de constantes de acoplamentos evidenciam hidrogênios aromáticos em posição meta.

O espectro bidimensional HSQC (500 x 125 MHz, CDCl_3) (Figura 63) possibilitou correlacionar os sinais de hidrogênio aos seus respectivos carbonos. Os sinais dos hidrogênios aromáticos em δ_{H} 7,73; 7,63; 6,88 com os seus respectivos carbonos em δ_{C} 116,1; 121,8 e 116,4. Do hidrogênio em 6,39 com o carbono em δ_{C} 94,6 e do hidrogênio em δ_{H} 6,18 com o carbono em δ_{C} 99,4 (Tabela 13).

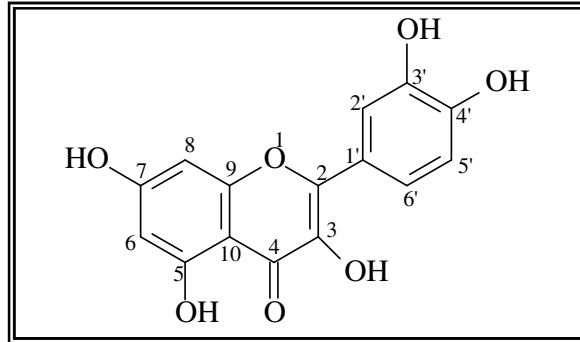
Com base no espectro HMBC (500 x 125 MHz, CDCl_3) (Figuras 64-66) foi possível determinar o acoplamento de hidrogênios aromáticos em δ_{H} 7,73 com os carbonos em δ_{C} 121,8 (C-6'; 3J); 146,3 (C-3'; 2J); 148,2 (C-4'; 3J); δ_{H} 7,63 com os carbonos em δ_{C} 116,1 (C-2'; 3J); 148,2 (C-4'; 3J); δ_{H} 6,88 com os carbonos δ_{C} 124,3 (C-1'; 3J); 146,3 (C-3'; 3J); δ_{H} 6,39 com os carbonos em δ_{C} 99,4 (C-6; 3J); 104,7 (C-10; 3J); 158,4 (C-9; 2J); 165,7 (C-7; 2J) e δ_{H} 6,18 com os carbonos em δ_{C} 94,6 (C-8; 3J); 104,7 (C-10; 3J); 162,6 (C-5; 2J) e 165,7 (C-7; 2J) (Figura 56).

Figura 56 - Correlações observadas no espectro HMBC para FMU-6



De acordo com os dados espectroscópicos do composto em questão apresentados foi deduzida a fórmula molecular $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7$, bem como comparação com os dados de RMN de ^{13}C e ^1H descritos na literatura (AGRAWAL, 1989;

CANUTO, 2007), permitiu caracterizar o composto FMU-6 como sendo o flavonol quercetina, comumente encontrado em alimentos e isolado pela primeira vez no gênero *Marsetia*. Os deslocamentos químicos dos hidrogênios H-2' e H-5', segundo Canuto (2007), encontram-se trocados em comparação com os dados obtidos da estrutura analisada.



Quercetina

Tabela 13 - Dados de RMN ^1H , ^{13}C e correlações de HSQC e HMBC (2J e 3J) (500 x 125 MHz, CD_3OD) de FMU-5, comparado com os valores da literatura de RMN ^1H e ^{13}C para quercetina

#C	HSQC		HMBC		^a AGRAWAL, 1989	^b CANUTO, 2007
	Δc	δ_{H}	2J	3J	Δc	δ_{H}
2	148,9	-	-	-	147,5	-
3	137,3	-	-	-	136,5	-
4	177,5	-	-	-	176,5	-
5	162,6	-	H-6	-	161,0	-
6	99,4	6,18 (d; $J = 1,7$ Hz; 1H)	-	H-8	99,5	6,18 (d; $J = 2,0$ Hz; 1H)
7	165,7	-	H-8, H-6	-	166,0	-
8	94,6	6,39 (d; $J = 1,7$ Hz; 1H)	-	H-6	94,5	6,41 (d; $J = 2,0$ Hz; 1H)
9	158,4	-	H-8	-	156,7	-
10	104,7	-	-	H-8, H-6	104,0	-
1'	124,3	-	-	H-5'	123,0	-
2'	116,1	7,73 (d; $J = 1,8$ Hz; 1H)	-	H-6'	116,0	6,88 (d; $J = 2,1$ Hz; 1H)
3'	146,3	-	H-2'	H-5'	145,7	-
4'	148,2	-	-	H-2', H-6'	148,1	-
5'	116,4	6,88 (d; $J = 8,5$ Hz; 1H)	-	-	116,5	7,67 (d; $J = 8,5$ Hz; 1H)
6'	121,8	7,63 (dd; $J = 8,5$ Hz; 1,8 Hz; 1H)	-	H-2'	121,0	7,53 (dd; $J = 8,5$ Hz; 2,1 Hz; 1H)

(a) CD_3OD

(b) DMSO-d_6

Figura 57 - Espectro de absorção na região do infravermelho de FMU-6 (KBr)

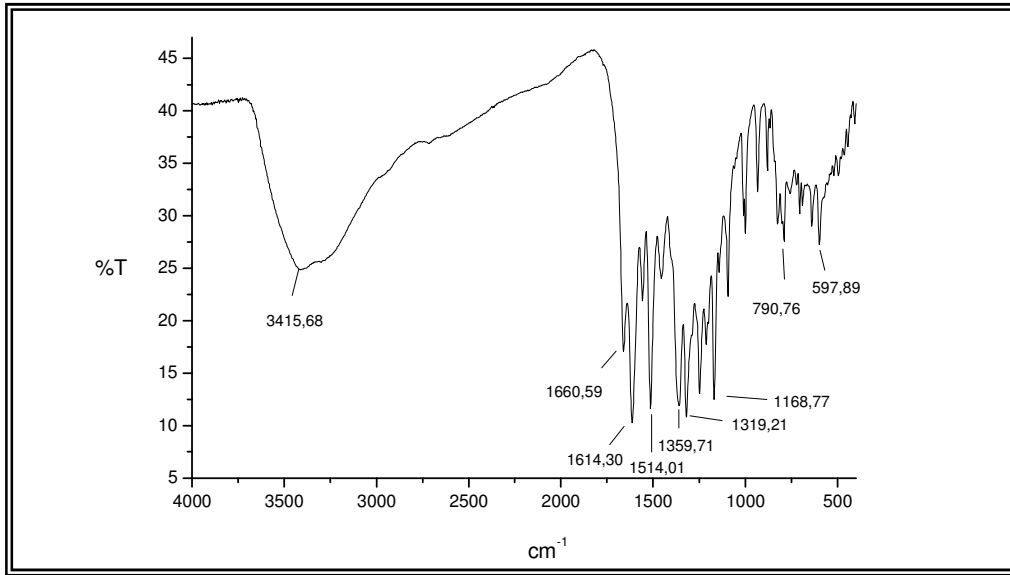


Figura 58 - Espectro de RMN ¹³C-CPD (125 MHz, CD₃OD) de FMU-6

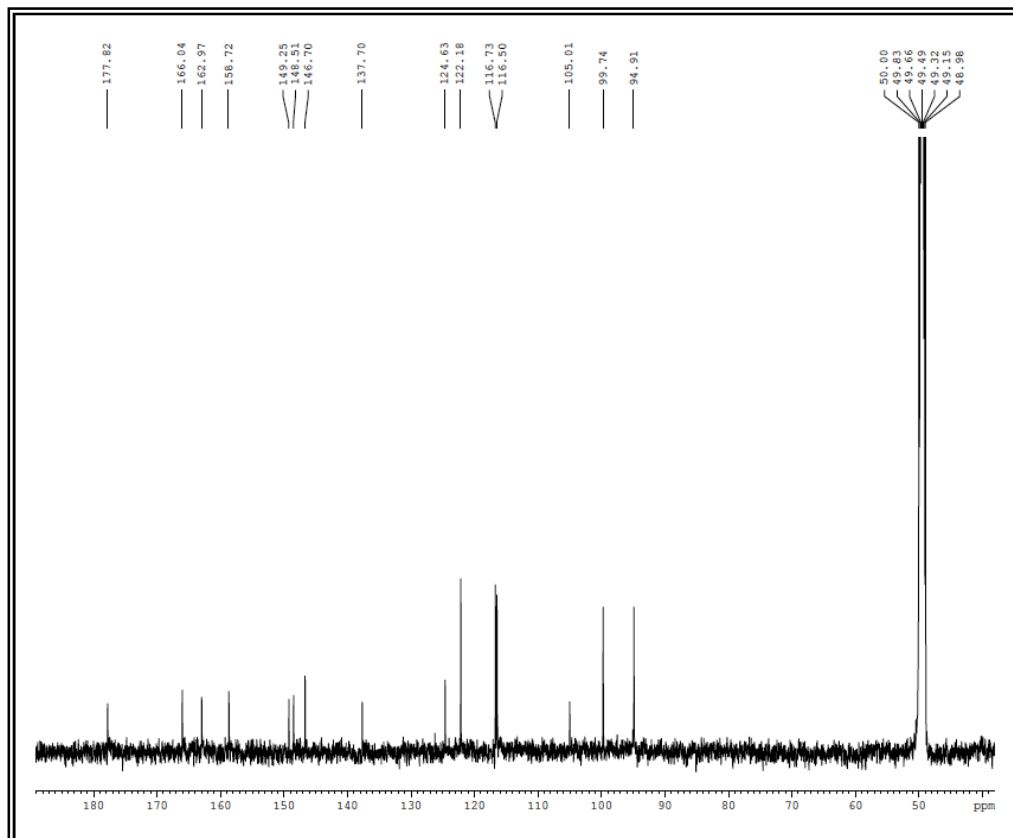


Figura 59 - Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° (125 MHz, CD_3OD) de FMU-6

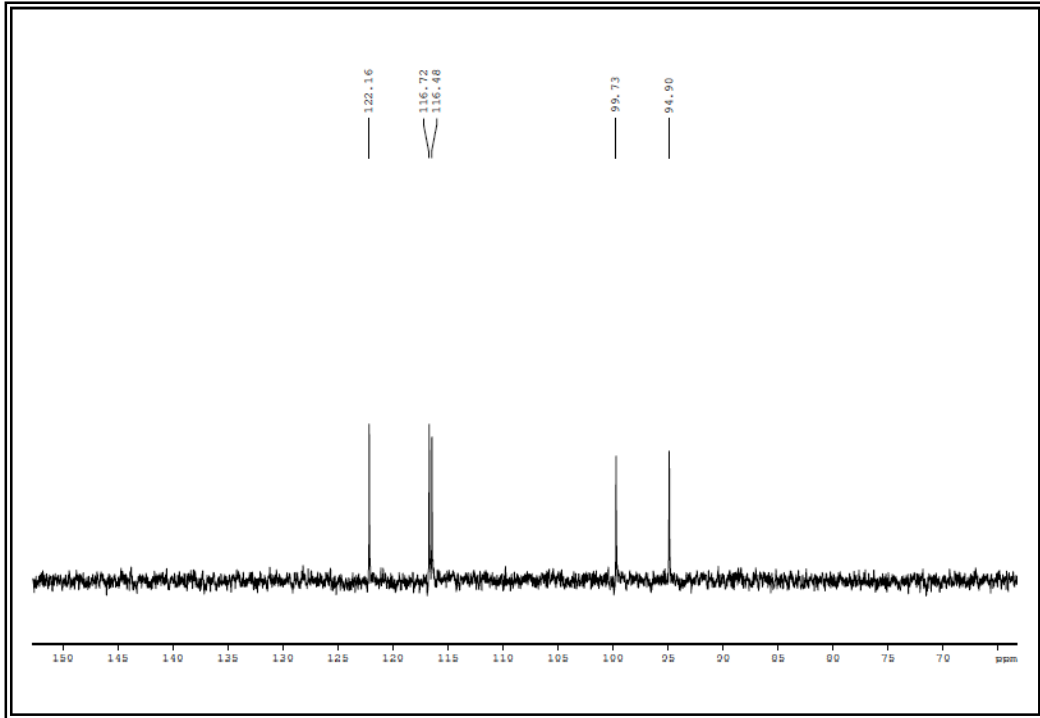


Figura 60 - Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CD_3OD) de FMU-6

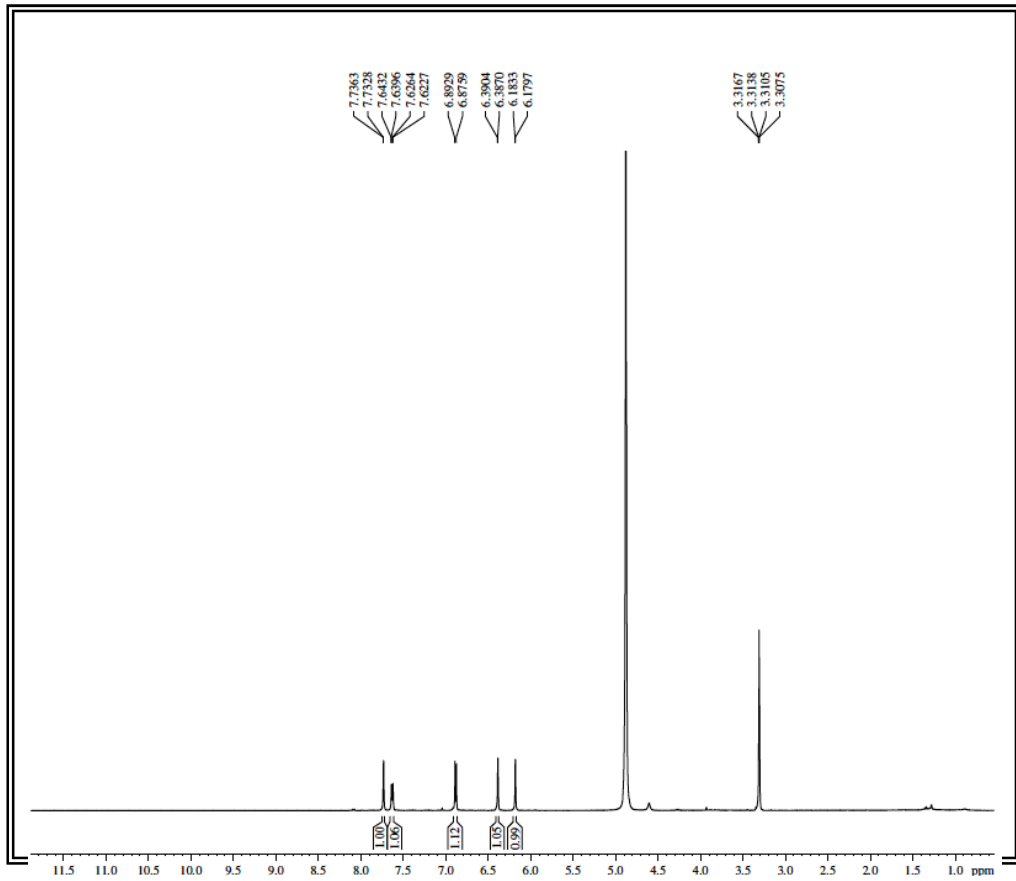


Figura 61 - Espectro de RMN ¹H - expansão (500 MHz, CD₃OD) de FMU-6

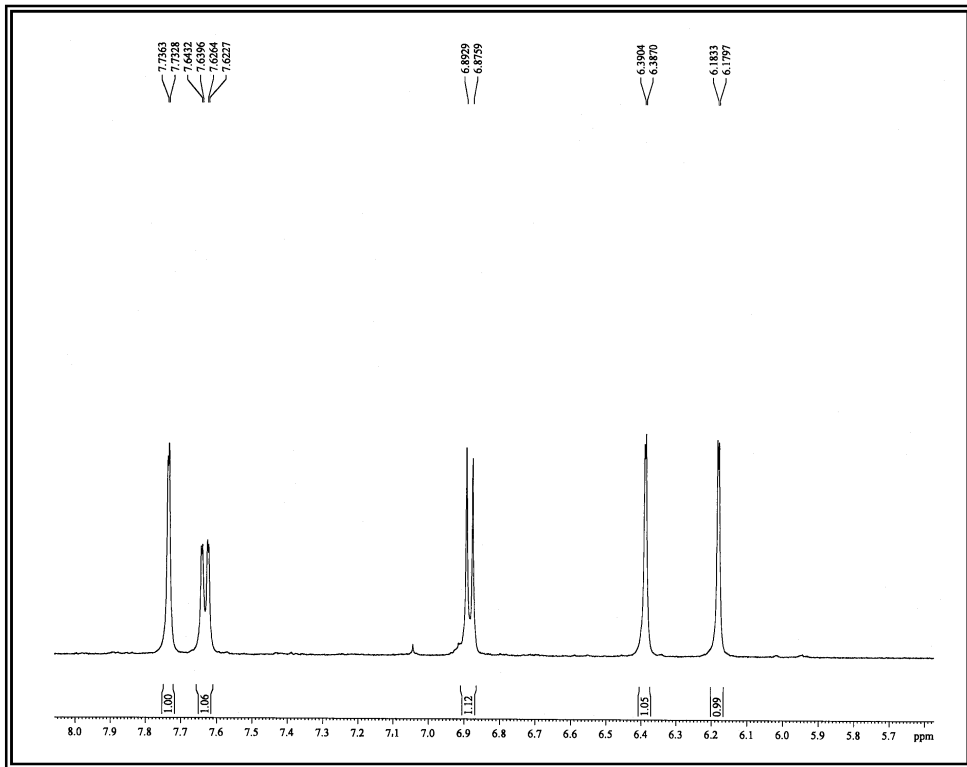


Figura 62 - Espectro COSY (500 x 500 MHz, CD₃OD) de FMU-6

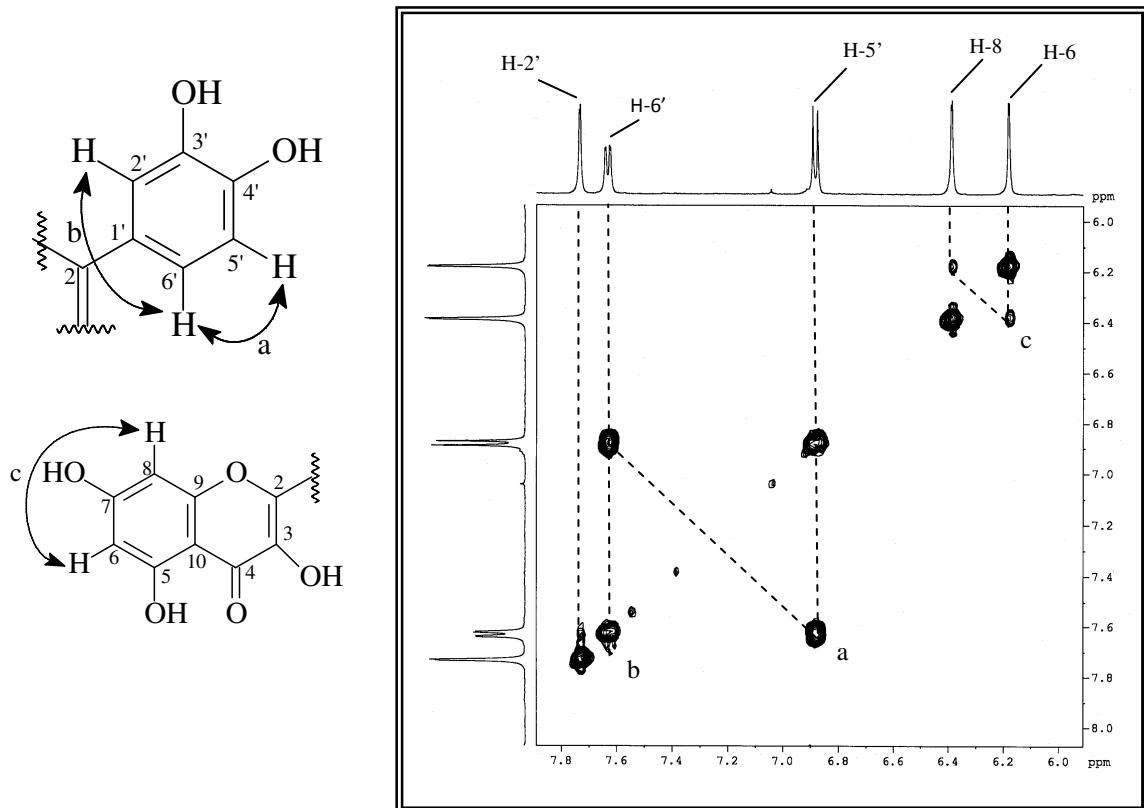


Figura 63 - Espectro HSQC (500 x 125 MHz, CD₃OD) de FMU-6

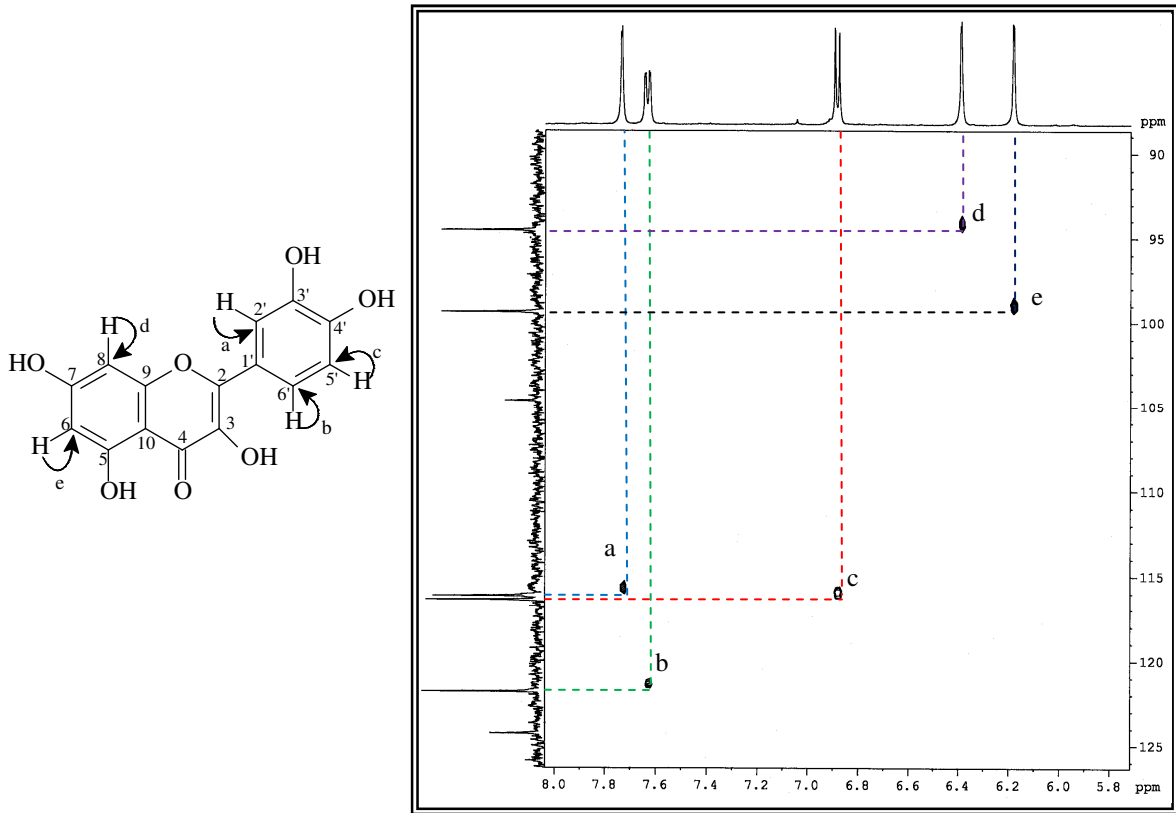


Figura 64 - Espectro HMBC (500 x 125 MHz, CD₃OD) de FMU-6

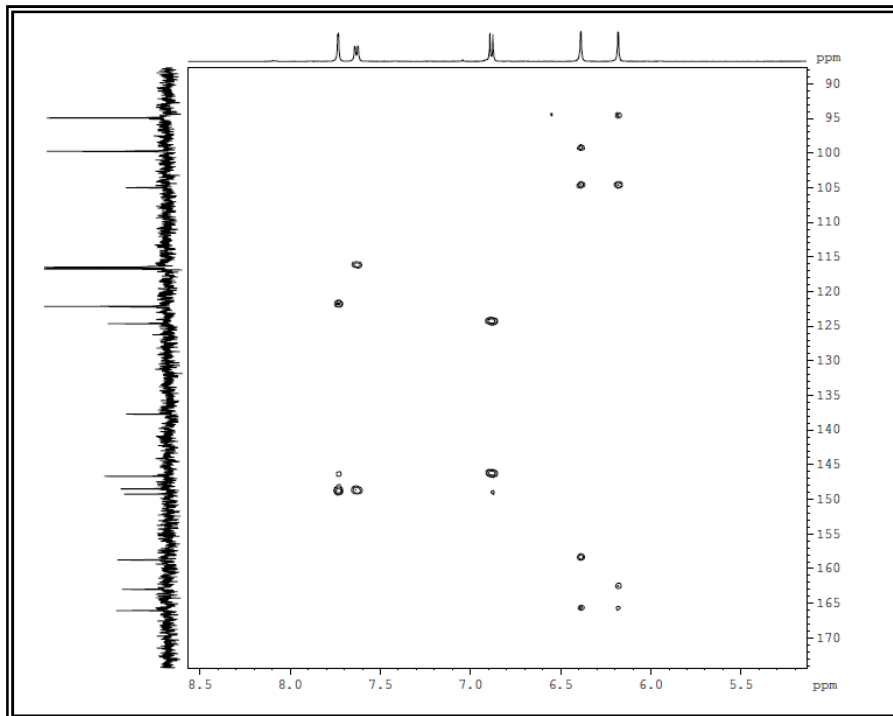


Figura 65 - Espectro HMBC - expansão (500 x 125 MHz, CD₃OD) de FMU-6

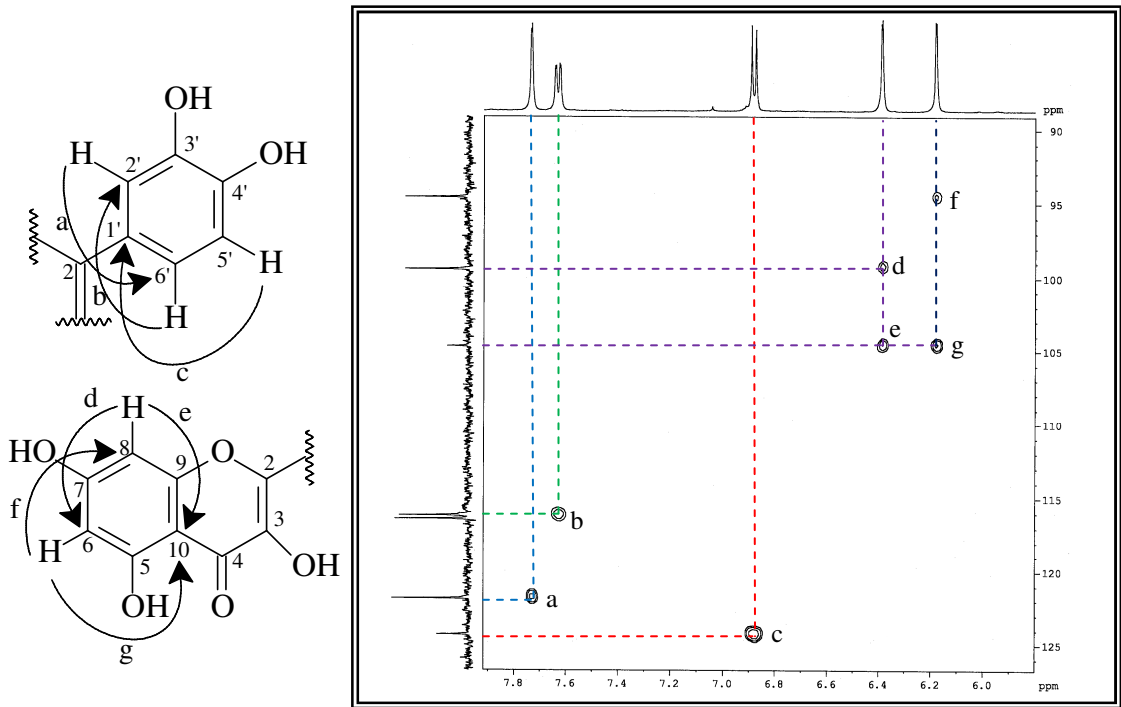
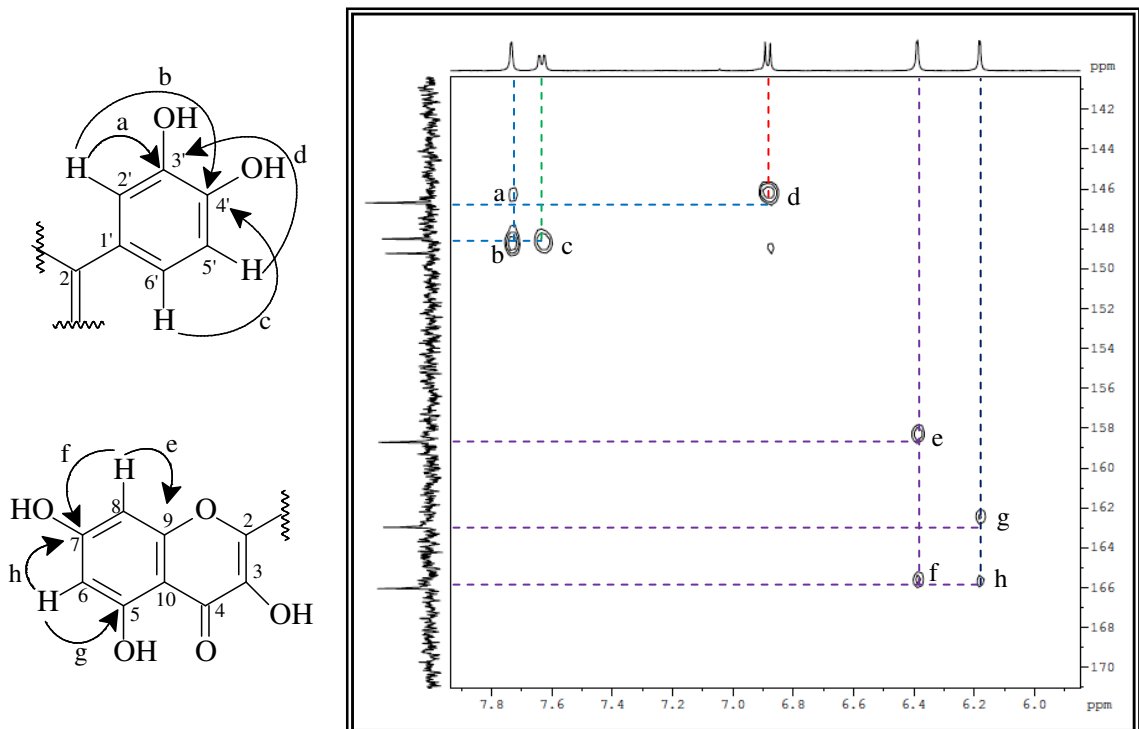


Figura 66 - Espectro HMBC - expansão (500 x 125 MHz, CD₃OD) de FMU-6



6 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

6.1 Coleta do Material

As folhas de *Marcetia mucugensis*, selecionadas para o estudo, foram coletadas na Chapada Diamantina-Bahia em fevereiro de 2009 pelo Prof. Edilberto R. Silveira. A classificação botânica foi realizada pela Profa. Msc. 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 94840.

6.2 Métodos Cromatográficos

6.2.1 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 gravitacional 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. destilados ou grau CLAE.

6.2.2 Cromatografia em Camada Delgada (CCD)

Foram utilizadas cromatoplaças de gel de sílica 60 (Φ μm 2 – 25 μm) sobre alumínio da Merck (com indicador de fluorescência na faixa de 254 nm). As placas de vidro empregadas de dimensões 10 x 5 cm foram preparadas utilizando-se gel de sílica 60 (Φ 2 – 25 μm).

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 aspersão com solução de vanilina ($C_8H_8O_3$) em ácido perclórico ($HClO_4$) e etanol (C_2H_5OH), seguida de aquecimento em chapa elétrica a $100^\circ C$ por aproximadamente 5 minutos.

6.2.3 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) foi realizada em equipamento constituído de uma bomba ternária Shimadzu LC-20AT e um detector Shimadzu SPD-M20A utilizando coluna de fase normal Phenomenex (10 x 150 mm, 5 μm).

Os solventes empregados como fase móvel foram hexano e acetato de etila com grau de pureza CLAE, que foram filtrados em membrana de nylon com poros de 0,45 μm (Phenomenex), seguido de desgaseificação por sonicação à vácuo durante 5 minutos. As amostras foram dissolvidas com os solventes usados na fase móvel e filtradas num sistema manual de membrana de teflon com poros de 0,45 μm (Waters).

6.3 Métodos Espectrométricos

6.3.1 Espectroscopia na Região do Infravermelho (IV)

Os espectros na região do IV foram obtidos em Espectrômetro Perkin Elmer modelo FT-IR Spectrum 1000 da central analítica do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará, utilizando pastilhas de KBr para análise de amostras sólidas.

6.3.2 Espectrometria de Massas (EM)

Os espectros de massa das substâncias isoladas foram obtidos no Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará, em espectrômetro Shimadzu, modelo QP 5000/DI-50 através de impacto eletrônico a 70 eV.

6.3.3 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 300 K, em espectrômetros Bruker, modelos Avance DPX-300 ou modelo Avance DRX-500, pertencentes ao Centro Nordestino de Aplicação e Uso de Ressonância Magnética Nuclear (CENAUREMN) da UFC, 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 CDCl_3 ou MeOD e acondicionadas em tubos de RMN de 5 mm. Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em partes por milhão (ppm) e foram referenciados para o RMN ^1H pelo picos dos hidrogênios da porção residual não deuterada dos solventes clorofórmio (δ 7,27), metanol (δ 3,31) e para RMN ^{13}C pelo pico central do clorofórmio (δ 77,23) e do metanol (δ 49,17).

As multiplicidades das bandas de absorção dos hidrogênios nos espectros de RMN ^1H foram indicadas segundo a convenção: s (simpleto), d (duplete) 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 natação (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 CPD.

Os experimentos bidimensionais de correlação homonuclear (COSY) e heteronuclear (HSQC e HMBC) foram efetuados em sonda multinuclear de 5mm, com detecção inversa, empregando-se gradiente de campo, posicionado no eixo z e magnitude de 10A.

6.4 Métodos Físicos

6.4.1 Ponto de Fusão

Os pontos de fusão foram determinados em um equipamento de microdeterminação Mettler Toledo com placa aquecedora FP82HT e uma central de processamento FP 90, localizado no Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará. As determinações foram realizadas a uma taxa de aquecimento de 2º C/min e não foram corrigidos.

6.5 Obtenção do extrato hidroalcoólico das folhas de *Marcetia mucugensis* - FMUA

Na preparação do extrato hidroalcoólico das folhas de *Marcetia mucugensis*, 670 g 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, obtendo-se 212,3 g (31,7%) de um material marrom escuro, viscoso denominado FMUA.

6.5.1 Tratamento cromatográfico de FMUA

Uma alíquota de 100,0 g do extrato hidroalcoólico das folhas de *Marcetia mucugensis* foi dissolvida em 600 mL de água destilada e fracionada por cromatografia de partição utilizando: hexano, diclorometano, acetato de etila e *n*-butanol. Foram obtidas 5 frações, concentradas em rota-evaporador sob pressão reduzida e analisadas por CCD. As frações obtidas foram denominadas FMUA-H, FMUA-D, FMUA-AE, FMUA-B e FMUA-AQ (Tabela 14).

Tabela 14 - Particionamento do extrato hidroalcoólico FMUA

FRAÇÃO	ELUENTE	PESO (g)	Rendimento(%)
FMUA-H	Hexano	10,9	10,9
FMUA-D	Diclorometano	8,8	8,8
FMUA-AE	Acetato de Etila	6,7	6,7
FMUA-B	<i>n</i> -Butanol	6,0	6,0
FMUA-AQ	Água	40,0	40,0
TOTAL		72,4	72,4

6.5.2 Fracionamento cromatográfico de FMUA-H

Uma alíquota de 8,0 g de FMUA-H foi adsorvida em 24,6 g de gel de sílica e acondicionada em uma coluna de diâmetro interno de 7,5 cm sobre 176,9 g de gel de sílica. A eluição foi realizada pelos solventes hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol, bem como, suas misturas binárias em ordem crescente de polaridade, de acordo com a Tabela 15. Foram obtidas 6 frações que foram concentradas sob pressão reduzida em rota-evaporador e comparadas por CCD.

Tabela 15 - Frações da coluna cromatográfica de FMUA-H

FRAÇÃO	ELUENTE	PESO (g)
1	Hexano 100%	0,2
2	Hex/CH ₂ Cl ₂ 50%	0,6
3	CH ₂ Cl ₂ 100%	0,8
4	CH ₂ Cl ₂ /AcOEt 50%	4,4
5	AcOEt 100%	1,3
6	CH ₃ OH 100%	0,7

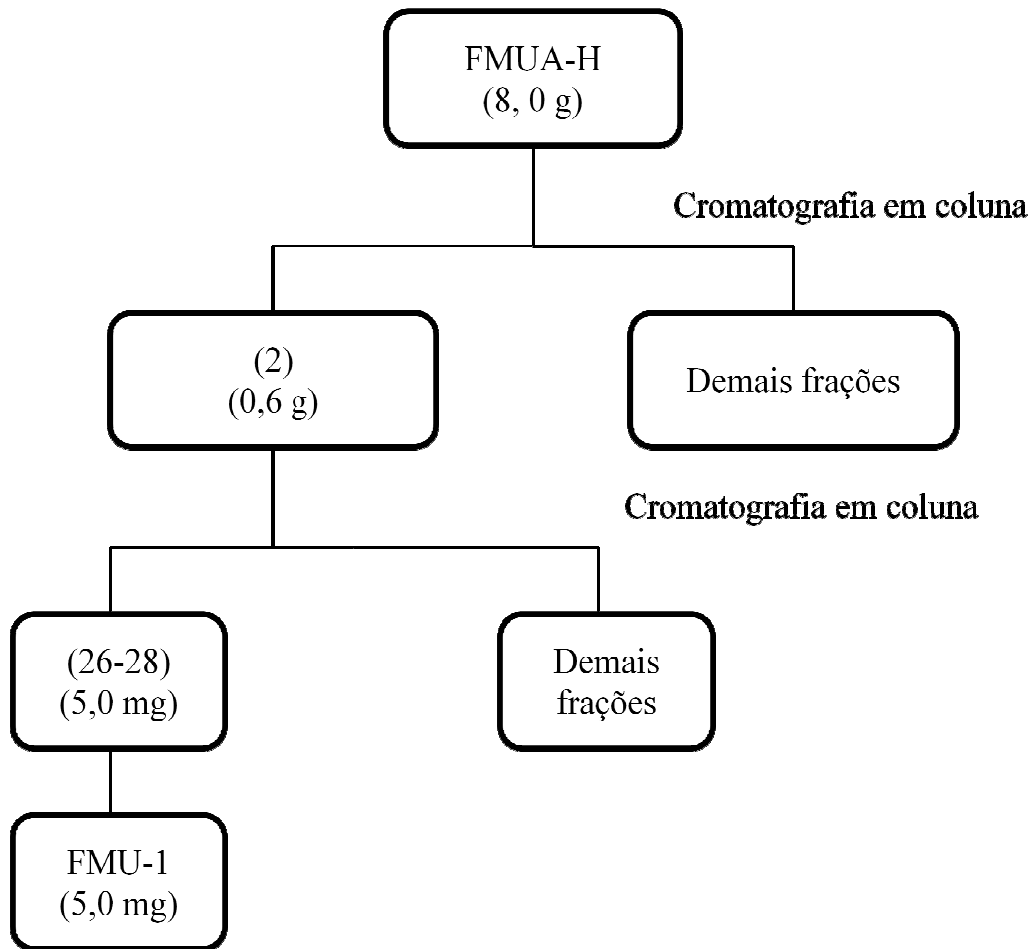
6.5.2.1 Isolamento de FMU-1

A fração 2 (0,6 g) foi adsorvida em 1,7 g de gel de sílica e acondicionada em uma coluna de diâmetro interno de 3,0 cm sobre 56,5 g de gel de sílica. A eluição foi realizada com os solventes hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol, assim como as misturas binárias destes solventes em ordem crescente de polaridade. Foram obtidas 97 frações de 10 mL, que após análise comparativa por CCD foram reunidas em 10 frações, conforme suas semelhanças (Tabela 16).

Tabela 16 - Frações da coluna cromatográfica de FMUA-H (2)

FRAÇÃO	ELUENTE	PESO (mg)
1-21	Hex/CHCl ₃ 5%	11,1
22-25	Hex/CHCl ₃ 8%	2,4
26-28	Hex/CHCl ₃ 8%	5,0
29-31	Hex/CHCl ₃ 10%	5,9
32-69	Hex/CHCl ₃ 15%	20,8
70-74	Hex/CHCl ₃ 30%	6,0
75-76	Hex/CHCl ₃ 50%	32,6
77-82	Hex/CHCl ₃ 50%	360,3
83-95	AcOEt 100%	176,3
96-97	CH ₃ OH 100%	3,2

A fração 26-28 (5,0 mg) denominada FMU-1 (Fluxograma 1) apresentou-se como um óleo incolor, solúvel em clorofórmio e homogêneo em CCD. Análise por RMN ¹H e ¹³C (unidimensionais), EM, IV e comparação com dados obtidos da literatura permitiu identificá-la como sendo um hidrocarboneto triterpênico de cadeia aberta denominado esqualeno, inédito no gênero.

Fluxograma 1 - Fracionamento de FMUA-H

6.5.3 Fracionamento cromatográfico de FMUA-D

Uma alíquota da fração FMUA-D (7,4 g) foi submetida à cromatografia em coluna, sendo adsorvida em 18,3 g de gel de sílica e disposta em uma coluna de diâmetro interno de 7,5 cm sobre 90,9 g de gel de sílica. A eluição foi realizada pelos solventes hexano, acetato de etila e metanol, assim como as misturas binárias destes solventes em ordem crescente de polaridade, de acordo com a Tabela 17. Foram obtidas 8 frações de 200 mL cada, que foram concentradas sob pressão reduzida em evaporador rotatório e analisadas por CCD.

Tabela 17 - Frações da coluna cromatográfica de FMUA-D

FRAÇÃO	ELUENTE	PESO (mg)
1	Hexano 100%	6,8
2	Hex/AcOEt 10%	3,4
3	Hex/AcOEt 20%	136,4
4	Hex/AcOEt 40%	965,7
5	Hex/AcOEt 60%	1987,3
6	Hex/AcOEt 80%	969,2
7	AcOEt 100%	1005,6
8	AcOEt/CH ₃ OH 50%	2314,9

6.5.3.1 Isolamento de FMU-2

A fração 4 (965,7 mg) foi adsorvida em 2,7 g de gel de sílica e acondicionada em uma coluna flash de 3,0 cm de diâmetro interno sobre 56,5 g de gel de sílica. A eluição foi realizada pelos solventes hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol, assim como por misturas binárias destes solventes em ordem crescente de polaridade. Foram obtidas 20 frações de 50 mL cada, que após serem concentradas, sob pressão reduzida em rota-evaporador, foram comparadas por CCD, resultando em 10 frações, conforme as suas semelhanças (Tabela 18).

Tabela 18 - Frações da coluna cromatográfica de FMUA-D (4)

FRAÇÃO	ELUENTE	PESO (mg)
1-3	Hex/CH ₂ Cl ₂ 80%	10,2
4-5	Hex/CH ₂ Cl ₂ 80%	4,6
6-7	Hex/CH ₂ Cl ₂ 80%	3,5
8-10	CH ₂ Cl ₂ 100%	39,0
11-13	CH ₂ Cl ₂ /AcOEt 10%	232,7
14	CH ₂ Cl ₂ /AcOEt 10%	99,1
15-16	CH ₂ Cl ₂ /AcOEt 20%	176,2
17	CH ₂ Cl ₂ /AcOEt 20%	45,8
18	CH ₂ Cl ₂ /AcOEt 50%	40,1
19-20	CH ₃ OH 100%	239,1

A fração 15-16 (176,2 mg) apresentou um precipitado que foi separado após lavagem com acetato de etila resultando em 8,1 mg de um sólido amarelo escuro, solúvel em clorofórmio, com ponto de fusão na faixa de 173,1-174,2 °C, denominado de FMU-2. Análises por RMN ¹H e ¹³C, EM, IV e comparação com dados obtidos da literatura permitiram identificar FMU-2 como sendo uma 3-metoxiflavona, denominada de 5,3'-dihidroxi-3,6,7,8,4',5'-hexametoxiflavona (Digicitrina).

6.5.4 Isolamento de FMU-3 e FMU-4

A fração (11-13) (232,7 mg) foi recromatografada em gel de sílica (41,4 g), utilizando coluna flash de 3,0 cm de diâmetro e eluída com os solventes diclorometano, acetato de etila e metanol, assim como em misturas binárias destes solventes em ordem crescente de polaridade. Foram obtidas 19 frações de 10 mL cada, que após análise comparativa por CCD, foram reunidas em 7 frações (Tabela 19).

Tabela 19 - Frações da coluna cromatográfica de FMUA-D (4)(11-13)

FRAÇÃO	ELUENTE	PESO (mg)
1-3	CH ₂ Cl ₂ 100%	8,0
4-9	CH ₂ Cl ₂ /AcOEt 5%	124,2
10-14	CH ₂ Cl ₂ /AcOEt 15%	21,3
15	CH ₂ Cl ₂ /AcOEt 50%	2,6
16	CH ₂ Cl ₂ /AcOEt 50%	3,9
17	AcOEt 100%	13,1
18-19	CH ₃ OH 100%	47,5

A fração (4-9) (124,2 mg) foi recromatografada em gel de sílica (22,40 g), utilizando coluna flash de 2 cm de diâmetro e eluída com Hexano/AcOEt (7:3 v/v) de forma isocrática. Foram obtidas 54 frações de 10 mL cada, que após análise comparativa em CCD foram reunidas em 7 frações resultantes, conforme as suas semelhanças (Tabela 20).

Tabela 20 - Frações da coluna cromatográfica de FMUA-D (4)(11-13)(4-9)

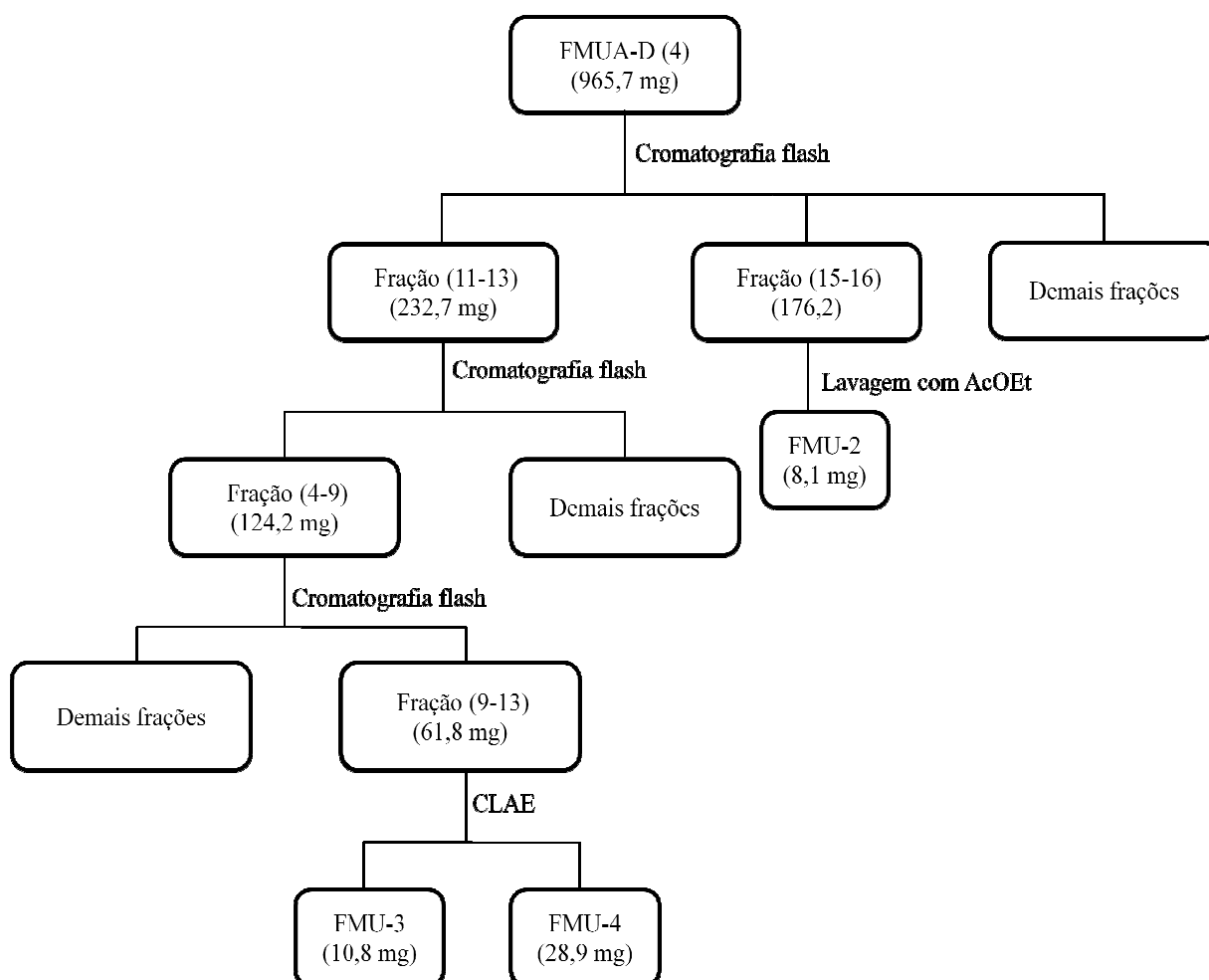
FRAÇÃO	ELUENTE	PESO (mg)
1-4	Hex/AcOEt 30%	19,1
5-8	Hex/AcOEt 30%	12,8
9-13	Hex/AcOEt 30%	61,8
14-23	Hex/AcOEt 30%	13,5
24-28	Hex/AcOEt 30%	2,0
29-54	Hex/AcOEt 30%	11,5

61,8 mg da fração FMUA-D (4)(11-13)(4-9)(9-13) foi submetida a CLAE, provido de coluna de fase normal e utilizando fase móvel Hex/AcOEt (65:35 v/v) em um fluxo de 3 mL/min. Selecionou-se a detecção de UV para uma faixa de 260 – 400

nm e obteve-se um cromatograma que exibiu dois picos majoritários cujos tempos de retenção foram 8,38 min (pico 1), 9,19 min (pico 2). O pico 1 rendeu 10,1 mg de um sólido amarelo com ponto de fusão na faixa de 117,2-118,5 °C, denominado como FMU-3. O pico 2 levou ao isolamento de 28,9 mg de um sólido amarelo com ponto de fusão na faixa de 105,5-107,3 °C, denominado como FMU-4, como pode ser observado no Fluxograma 2.

Análises por RMN ¹H e ¹³C, EM, IV e comparação com dados obtidos da literatura permitiram identificar FMU-3 e FMU-4 como sendo duas 3-metoxiflavonas, denominadas, respectivamente de 5-hidroxi-3,6,7,8,3',4',5'-heptametoxiflavona (gardenina A) e 5-hidroxi-3,6,7,8, 3',4'-hexametoxiflavona.

Fluxograma 2 - Fracionamento de FMUA-D(4)



6.5.5 Isolamento de FMU-5

A fração (5) (1987,3 g) de FMUA-D foi adsorvida em 4,0 g de gel de sílica e acondicionada em uma coluna flash de 3,5 cm de diâmetro interno sobre 91,0 g de gel de sílica. A eluição foi realizada pelas misturas binárias dos solventes diclorometano, acetato de etila e metanol em ordem crescente de polaridade. Foram obtidas 23 frações de 100 mL cada, que após serem concentradas, sob pressão reduzida em rota-evaporador e comparadas por CCD, resultaram em 12 frações, conforme as suas semelhanças (Tabela 21).

Tabela 21 - Frações da coluna cromatográfica de FMUA-D (5)

FRAÇÃO	ELUENTE	PESO (mg)
1	CH ₂ Cl ₂ / AcOEt 10%	3,8
2	CH ₂ Cl ₂ / AcOEt 10%	20,0
3	CH ₂ Cl ₂ / AcOEt 10%	77,5
4-5	CH ₂ Cl ₂ / AcOEt 10%	125,8
6-7	CH ₂ Cl ₂ / AcOEt 10%	60,8
8	CH ₂ Cl ₂ / AcOEt 10%	95,1
9-11	CH ₂ Cl ₂ / AcOEt 30%	419,3
12-13	CH ₂ Cl ₂ / AcOEt 40%	221,4
14-16	CH ₂ Cl ₂ / AcOEt 50%	78,5
17-18	CH ₂ Cl ₂ / AcOEt 80%	24,1
19-20	AcOEt 100%	93,1
21-23	MeOH 100%	279,2

A fração (4-5) (125,8 mg) foi submetida a CLAE, equipado de coluna de fase normal e utilizando fase móvel Hex/AcOEt (51:49 v/v) em um fluxo de 3 mL/min. Selecionou-se a detecção de UV para uma faixa de 260 – 400 nm e obteve-se um cromatograma que exibiu um pico majoritário cujo o tempo de retenção foi de 7,7 min. Após análise em CCD este pico (43 mg) foi reinjetado (CLAE) sendo submetido

a uma coluna de fase normal e utilizando fase móvel Hex/AcOEt (60:40 v/v) em um fluxo de 3 mL/min. Selecionou-se a detecção de UV para uma faixa de 260 – 400 nm e obteve-se um cromatograma que exibiu um pico majoritário cujo o tempo de retenção foi 14,5 min, rendendo 10,5 mg de um sólido amarelo, solúvel em clorofórmio, com ponto de fusão na faixa de 177,3-178,6 °C, denominado como FMU-5.

Após análises por RMN ¹H e ¹³C, EM, IV e comparação com dados obtidos da literatura permitiram identificar FMU-5 como sendo uma 3-metoxiflavona, denominada de 5,7-dihidroxi-3,6,8,3',4',5'-hexametoxiflavona.

6.5.6 Isolamento de FMU-6

279,2 mg da fração FMUA-D (5)(21-23) foi adsorvida em 0,8 g de gel de sílica e submetida a uma coluna de 3,0 cm de diâmetro interno sobre 12,0 g de gel de sílica. A eluição foi realizada pelas solventes diclorometano, acetato de etila e metanol, bem como pelas misturas binárias destes solventes em ordem crescente de polaridade. Foram obtidas 31 frações de 10 mL cada, que após comparação por CCD, resultaram em 5 frações, conforme as suas semelhanças (Tabela 22).

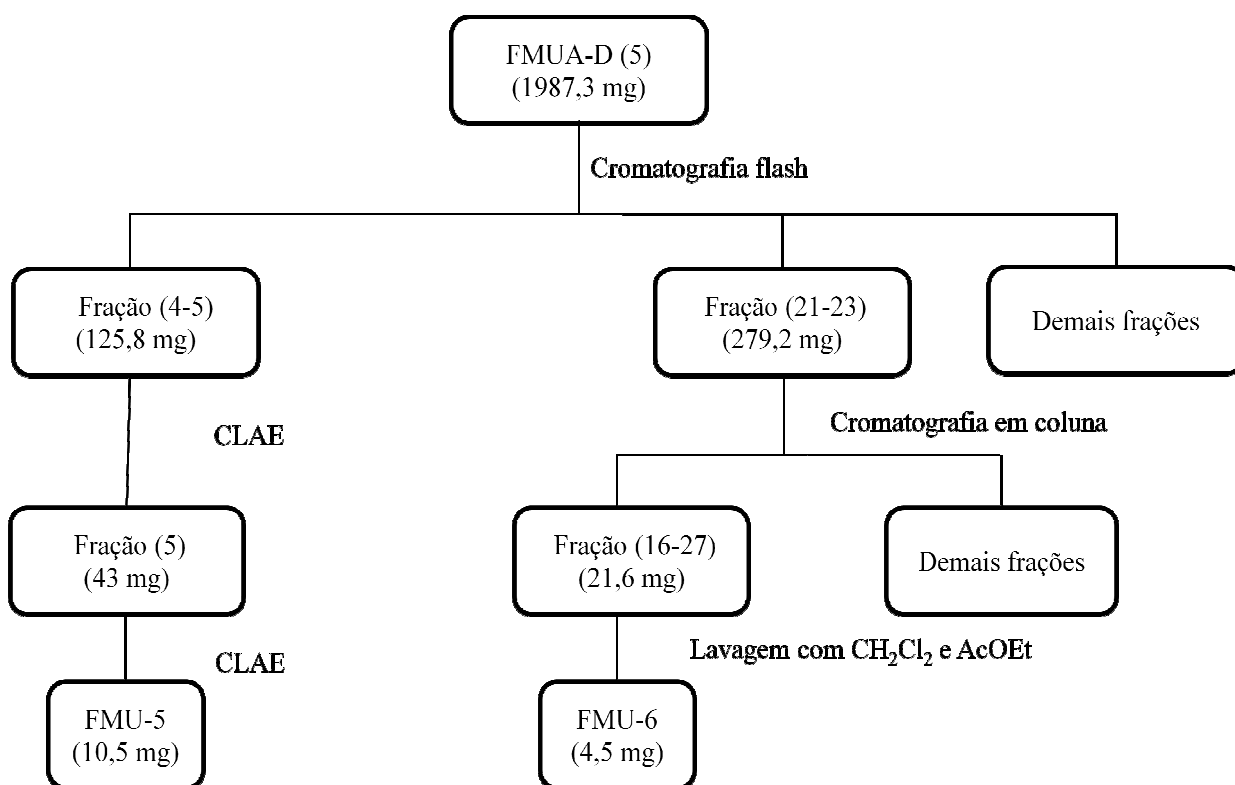
Tabela 22 - Frações da coluna cromatográfica de FMUA-D (5)(21-23)

FRAÇÃO	ELUENTE	PESO (mg)
1-15	CH ₂ Cl ₂ /AcOEt 20%	7,3
16-27	CH ₂ Cl ₂ /AcOEt 70%	21,6
28	AcOEt 100%	11,6
29-30	AcOEt 100%	33,3
31	MeOH	162,4

A fração (16-27) (21,6 mg) apresentou precipitado, a fim de separá-lo da amostra, esta foi lavada com diclorometano e acetato de etila resultando em 4,5 mg de um sólido amarelo escuro, solúvel em metanol, apresentando ponto de fusão na

faixa de 309,6-311,3 °C, denominado de FMU-6, como pode ser observado no Fluxograma 3. Após ser analisado por RMN ^1H e ^{13}C , EM, IV e comparação com dados obtidos da literatura permitiram identificar FMU-6 como sendo um flavonol, denominado de quercetina.

Fluxograma 3 - Fracionamento de FMUA-D(5)



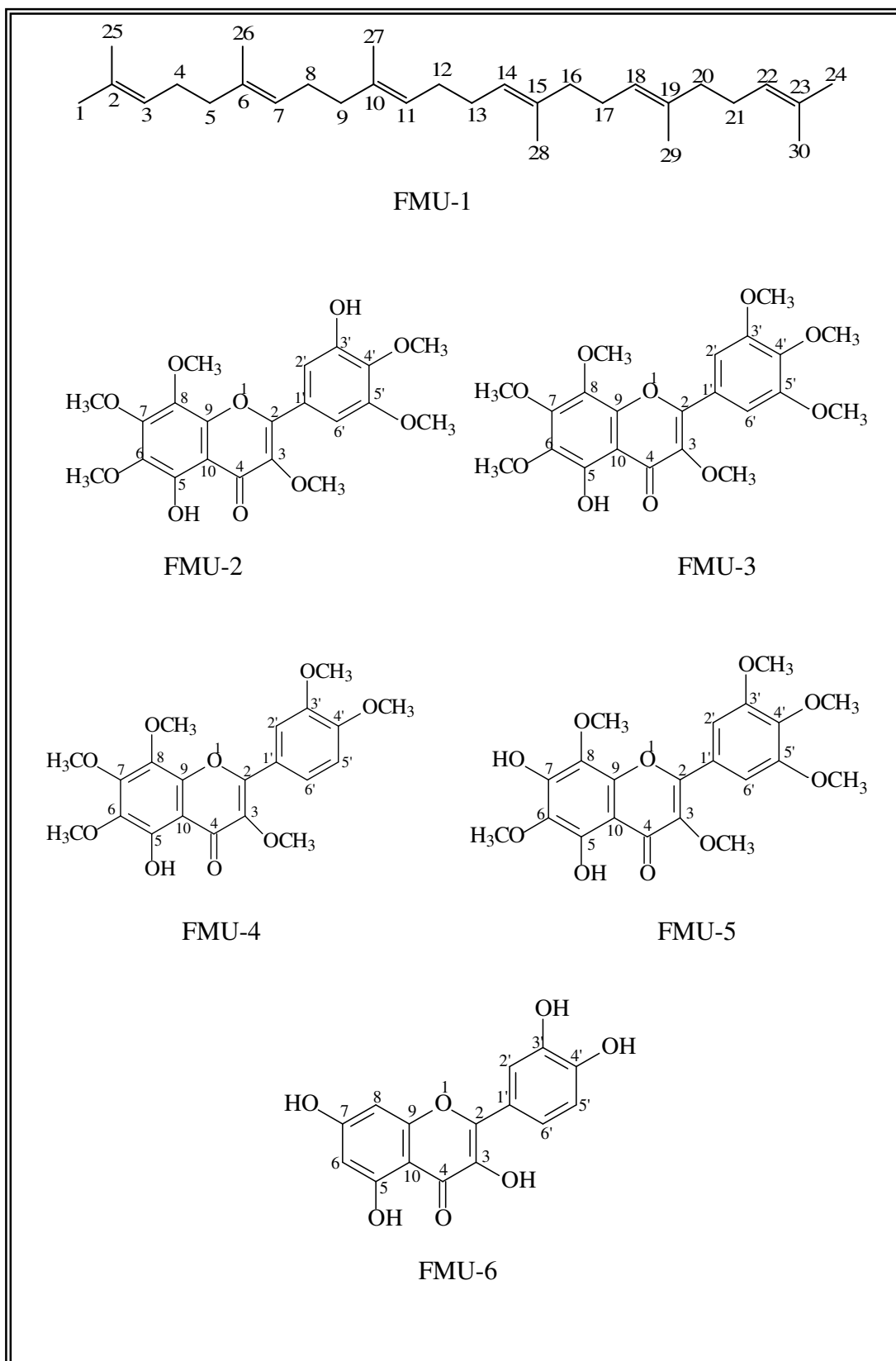
7 CONCLUSÃO

O estudo químico do extrato hidroalcoólico das folhas de *Marcetia mucugensis*, utilizando métodos cromatográficos clássicos e modernos, inclusive a cromatografia líquida de alta eficiência, resultou no isolamento de seis metabólitos secundários.

Os constituintes isolados das folhas foram um triterpeno, o esqualeno (FMU-1), quatro polimetoxiflavonas: 5,3'-dihidroxi-3,6,7,8,4',5'-hexametoxiflavona (digitrina) (FMU-2), 5-hidroxi-3,6,7,8,3',4',5'-heptametoxiflavona (gardenina A) (FMU-3), 5-hidroxi-3,6,7,8,3',4'-hexametoxiflavona (FMU-4), 5,7-dihidroxi-3,6,8,3',4',5'-hexametoxiflavona (FMU-5) e o flavonol pentahidroxilado quercetina (FMU-6) (Figura 67). Como esta planta não apresenta estudos farmacológicos ou fitoquímicos descritos na literatura, estas substâncias são inéditas na espécie. Os resultados confirmam a presença de flavonoides na família Melastomataceae e sugerem *M. mucugensis* como fonte promissora destes metabólitos secundários.

Também foi verificado que as 3-metoxiflavonas: 5,3'-dihidroxi-3,6,7,8,4',5'-hexametoxiflavona (digitrina) (FMU-2) e 5-hidroxi-3,6,7,8,3',4',5'-heptametoxiflavona (gardenina A) (FMU-3) não apresentavam dados de RMN ¹³C na literatura, sendo relatados pela primeira vez neste trabalho.

Figura 67 - Substâncias isoladas de *M. mucugensis*



REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

ANDRADE, A. C. S. Efeito da luz e da temperatura na germinação de *Leandra breviflora* Cogn., *Tibouchina benthamiana* Cogn., *Tibouchina grandifolia* Cogn. e *Tibouchina moricandiana* (DC.) Baill. (Melastomataceae). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 17, n. 1, p. 29-35, 1995.

ANDREO, M. A.; BALLESTEROS, K. V. R.; HIRUMA-LIMA, C. A.; ROCHAB, L. R. M.; BRITO, A. R. M. S.; VILEGAS, W. Effect of *Mouriri pusa* extracts on experimentally induced gastric lesions in rodents: Role of endogenous sulfhydryls compounds and nitric oxide in gastroprotection. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 107, p. 431–441, 2006.

BARBOSA, J. S.; CASSIANO, D. S. A.; BRANCO, A.; BRANDÃO, H. N.; SANTOS, A. K. A.; SILVA, T. R. S. Análise dos flavonoides 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.sbq.org.br/cdrom/32ra/resumos/T0950-2.pdf>>. Acesso em: 10 ago. 2010.

CANUTO, K. M. **Aspectos Químicos do Estudo Interdisciplinar (Química-Agronomia-Farmacologia) de *Amburana cearensis* A.C. Smith**. 303 f. Tese (Doutorado) - Departamento de Química Orgânica e Inorgânica. Universidade Federal do Ceará, Fortaleza-CE, 2007.

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.

CHAO, Z.; YAN-XIONG, F. Studies on the chemical constituents of Chinese herb *Melastoma dodecandrum*. **China Journal of Chinese Materia Medica** v. 28, n. 5, p. 429-431, 2003.

CLAUSING, G.; RENNER, S. S. Molecular phylogenetics of Melastomataceae and Memecylaceae: implications for character evolution. **American Journal of Botany**, v. 88, p. 486-498, 2001.

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.sbq.org.br/cdrom/30ra/resumos/T1220-1.pdf>>. Acesso em: 10 ago. 2010.

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.; 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 *Minquartia guianensis* Aubl. (Olacaceae). **Acta Amazonica**, v. 39, n. 1, p. 181-186, 2009.

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

ELVIN-LEWIS. Should web e concerned about herbal remedies. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 75, p.141-164, 2001.

FANG, N.; LEIDIG, M.; MABRY, T. J. Fifty-one flavonoids from *Gutierrezia microcephala*. **Phytochemistry**, v. 25, n. 4, p. 927-934, 1986.

FANG, N.; LEIDIG, M.; MABRY, T. J. Highly oxygenated flavonoid aglycones from *Gutierrezia grandis*. **Phytochemistry**, v. 24, n. 11, p. 2693-2698, 1985.

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

GRAYER, R. J.; THABREW, M. I.; HUGHES, R. D.; BRETHERTON, S.; LEVER, A.; VEITCH, N. C.; KITE, G. C.; LELLI, R.; SIMMONDS, M. S. J. Phenolic and terpenoid constituents from the Sri Lankan medicinal Plant *Osbeckia aspera*. **Pharmaceutical Biology**, v. 46, n. 3, p. 154-161, 2008.

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

KOO, H. M.; SUHAILA, M. Flavonoid (myricetin, quercetin, kaempferol, luteolin and apigenin) content of edible tropical plants. **Journal Agriculture and Food Chemistry**, v. 49, n. 6, p. 3106-3112, 2001.

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

KUROYANAGI, M.; FUKOSHIMA, S. Highly Oxygenated Flavonoids from *Polygonum orientale*. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v. 30, n. 4, p. 1163-1168, 1982.

- 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 *Marcetia* (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: 10 ago. 2010.
- LI, S.; LO, C. Y.; HO, C. T. Hydroxylated Polymethoxyflavones and Methylated Flavonoids in Sweet Orange (*Citrus sinensis*) Peel. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 4176-4185, 2006.
- MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; JÚNIOR, V. F. V.; GRYNBERG, N. F.; ESCHEVARRIA, A. Plantas Medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, v. 25, p. 429-438, 2002.
- MACKOVA, Z.; KOBLOVSKA, R.; LAPCIK, O. Distribution of isoflavonoids in non-leguminous taxa – An update. **Phytochemistry**, v. 67, p. 849–855, 2006.
- MANCINI, E.; DE MARTINO, L.; BELISARIO, M. A.; DE FEO, V. Flavonoids of *Miconia alypifolia* and their antioxidant activity. **Pharmacologyonline**, v. 2, p. 452-460, 2008.
- MARTINS, A. B. **Revisão taxonômica do gênero *Marcetia* DC.(Melastomataceae)**. 1989. 277 f. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- MEIER, W.; FUERST, A. Digicitrin, a new flavone from the leaves of the red foxglove. **Helvetica Chimica Acta**, v. 45, p. 232-239, 1962.
- MONTENEGRO, H.; GONZÁLEZ, J.; ORTEGA-BARRIA, E.; CUBILLA-RIOS, L. Antiprotozoal activity of flavonoid glycosides isolated from *Clidemia sericea* and *Mosquitoxylon jamaicense*. **Pharmaceutical Biology**, v. 45, n. 5, p. 376–380, 2007.
- MORS, W. B.; RIZZINI, C. T., PEREIRA, N. A. **Medicinal Plants of Brazil**. 1^a ed. Michigan, USA: Reference Publications, 2000.
- MOTTA, L. B.; KRAUS, J. E.; SALATINO, A.; SALATINO, M. L. F. Distribution of metabolites in galled and non-galled foliar tissues of *Tibouchina pulchra*. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 33, p 971-981, 2005.
- NISHIJIMA, C. M.; RODRIGUES, C. M.; SILVA, M. A.; LOPES-FERREIRA, M.; VILEGAS, W.; HIRUMA-LIMA, C. A. Anti-hemorrhagic activity of four brazilian vegetable species against *Bothrops jararaca* Venom. **Molecules** v. 14, p. 1072-1080, 2009.
- RENNER, S. S. Phylogeny and classification of the Melastomataceae and Memecylaceae. **Nordic Journal of Botany**, v. 13, p. 519-540, 1993.

RODRIGUES, J.; MICHELIN, D. C.; RINALDO, D.; ZOCCOLO, G. J.; SANTOS, L. C.; VILEGAS, W.; SALGADO, H. R. N. Antimicrobial Activity of *Miconia* Species (Melastomataceae). **Journal of Medicinal Food**, v. 11, n. 1, p. 120-126, 2008.

RODRIGUES, J.; RINALDO, D.; SANTOS, L. C.; VILEGAS, W. An unusual C6–C600 linked flavonoid from *Miconia cabucu* (Melastomataceae). **Phytochemistry**, v. 68, p. 1781–1784, 2007.

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

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.

SAITOA, T.; KLINKLAIB, W.; KAWAHARA, S. Characterization of epoxidized natural rubber by 2D NMR. **Spectroscopy Polymer**, v. 48, n. 3, p. 750-757, 2007.

SANTOS, A. B. **Atividade antioxidante de extratos vegetais da flora brasileira: estudo com ressonância paramagnética eletrônica (RPE) e teoria do funcional da densidade (TFD)**. p. 91, 2006. (tese de doutorado). Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto/São Paulo 2006.

SANTOS, F. V.; TUBALDINI, F. R.; CÔLUS, I. M. S.; ANDRÉO, M. A.; BAUAB, T. M.; LEITE, C. Q. F. Mutagenicity of *Mouriri pusa* Gardner and *Mouriri elliptica* Martius. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, p. 2721–2727, 2008.

SANTOS, S. R. G.; SANTOS, D. C. Estudo de maturação de uma espécie de restinga, *Tibouchina pulchra* (manacá-da-praia). **Instituto Florestal**, n. 31, p. 191-195, 2007.

SILVA, C. V.; AFFONSO, P. Levantamento de *Tibouchina* AUBL. (Melastomataceae) no parque estadual da serra do mar- núcleo Curucutu - São Paulo. **Revista do Instituto Florestal**, v. 17, n. 2, p. 195-206, 2005.

SILVERSTEIN, R. M.; BASSLER, G. C.; MORRIL, T. C. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. 5^a ed. São Paulo: Livros Técnicos e Científicos Editora S. A., 1994.

SIMONSEN, H. T.; ADSERSEN, A.; MITT, U. W.; STRSBERG, D.; JAROSZESKI, J. Methoxyflavones from *Melicope borbonica* and *M. obscura* (Rutaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 31, p. 327-330, 2003.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de fanerógamas nativas e exóticas no Brasil**. 2^a ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008.

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.

TATUM, J. H.; BERRY, R. E. Six new flavonoids from citrus. **Phytochemistry**, v. 11, p. 2283-2288, 1972.

VASCONCELOS, N. M. S. de; LIBERATO, M. C. T.; MORAIS, S. M. de. **Água e alimentos: Química e biotecnologia**. Fortaleza: edições Demócrito Rocha, 120 p., 2004.

VENTURA, C. P.; SOUZA FILHO, J. D.; OLIVEIRA, A. B.; 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.

VIEGAS JR, C.; BOLZANI, V. S.; BARREIRO, E. J. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Química Nova**, 29, 326-337, 2006.

WAN, C.; ZHENG, X.; CHEN, H.; ZOU, X.; SONG, Z.; ZHOU, S.; QIU, Y. Flavonoid constituents from herbs of *Sarcopyramis bodinieri* var. *delicate*. **China Journal of Chinese Materia Medica**, v. 34, n. 2, p. 172-174, 2009.

WOLLENWEBER, E.; STERN, S.; ROITMAN, J. N.; YATSKIEVYCH, G. External leaf flavonoids of *Polanisia trachysperma*. **Phytochemistry**, v. 28, p. 303-305, 1989.

WURDACK, J. J. Certamem melastomataceis XXXVI. **Phytologia**, v. 53, n. 2, p. 121-137, 1977.

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.