

JOANA SOUZA OLIVEIRA GALAVOTTI

Perfil químico de mudas de *Inga marginata* usadas em reflorestamento

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Instituto de Química da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” como requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel em Química.

Orientador: Prof. Dr. Alberto José Cavalheiro

Araraquara

2016

JOANA SOUZA OLIVEIRA GALAVOTTI

Perfil químico de mudas de *Inga marginata* usadas em reflorestamento

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Química da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, como requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel em Química.

Orientador: Prof. Dr. Alberto José Cavalheiro

Data da apresentação: 14/12/2016

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Alberto José Cavalheiro (Orientador)
Instituto de Química – UNESP/Araraquara

Dr^a Juliana Rodrigues
Instituto de Química – UNESP/Araraquara

Prof. Dr. Humberto Márcio Santos Milagre
Instituto de Química – UNESP/Araraquara

Dedico este trabalho primeiramente a Deus,
a Jesus e a Nossa Senhora por toda a força e
por todo o amor e a Creusa Souza Oliveira
por ser essa mãe que eu tanto amo e mulher
que tanto admiro.

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a Deus, a Jesus, a Nossa Senhora Aparecida, ao Mestre Meishu Sama e aos irmãos espirituais por toda a ajuda, o amor e a força que me deram. Em todos os momentos sei que não estive sozinha.

Ao meu orientador e professor Alberto José Cavalheiro por todos os ensinamentos, a atenção e preocupação com o meu aprendizado. Meus mais sinceros agradecimentos por essa oportunidade incrível de conhecimento.

À minha co-orientadora Alene Côrtes de Queiroz e Silva por toda a paciência, pelos ensinamentos e orientação que me aproximaram ainda mais desse mundo científico.

À todo o grupo de pesquisa e ao departamento de orgânica que de alguma forma me proporcionaram bons momentos e aprendizado.

À minha mãe Creusa Souza Oliveira por ser simplesmente a pessoa mais importante da minha vida e o meu grande motivo pra seguir em frente. Seu amor, seu carinho, sua abnegação, sua felicidade a cada sorriso meu e sua preocupação são tão incondicionais quanto o amor que sinto por você. Obrigada por ser quem você é, obrigada por tudo.

Aos meus tios Marcos Souza Oliveira e Joaquim Augusto de Souza Vilela pelo amor, pela preocupação e pelo incentivo desde pequena. Amo vocês.

Aos meus padrinhos João e Irma Fávoro por todo o amor, o carinho e ajuda. À minha irmã Cris Torioni por não ter desistido de mim e por me dar um carinho de irmã tão especial que sempre desejei. Aos amigos e amigas Ana Cantieiro, Maria das Graças, Rita de Cássia, Alvaír e Maria Favarin e Fernanda Isler, por toda a preocupação, ajuda, orações e carinho.

À minha avó Maria de Souza Vilela (in memoriam) por todos os momentos, pelo carinho e por ter me deixado grandes lições que custei a aprender.

Aos técnicos da UNESP que sempre me ajudaram / socorreram durante a graduação e proporcionaram momentos de descontração em meio aos experimentos. Em especial ao Albertinho, Márcia, Tiago, Robson, Poli, Nivaldo, João e Juliana. Sem vocês, chegar aqui seria muito mais difícil.

Ao casal Marquinho e Zilda Gonçalves por toda a ajuda, a preocupação, a amizade e ao acolhimento nessa terra das laranjas. Vocês são incríveis.

Aos funcionários e amigos da biblioteca aos quais tenho muito respeito e carinho. Por todas as conversas, a preocupação, as risadas e a amizade. Obrigada Valéria, Isabel, Paul, Rosana, Mônica, Bete, Carol, Lari, Carlos, Kátia e Fábio.

Aos amigos da Casa dos Espíritas de Rio Claro por todo o carinho, o afeto, a atenção, as palavras acolhedoras e encorajamento. Em especial à Ellen, Sidinei e ao Seu Moita.

Aos meus amigos Gustavo, Laís, Pedro Henrique, Thaís (Torres), Thamiris, Rodrigo, Flávia, Adrielle (Rainha do IQ), Beatriz, Lígia, Aline, Stéphanie (Sté), Eduardo (Barney), Karol, Nicole (Kenga), Jessyka (Ky), Raul, Gabi (Sucesso), Thayná (Kids), Victor (Xerxes), Noelle, Alexander, Luís Monelli, Maíra, Melany, Marcus Vinícius, Gabriel (Muçulmano), Mari (Velma), Harley, Paloma (Boto), Débora, Giovanni (Engenharia), Luís, Renan (mister moradia), Naira, Patrícia (Diva Sensacional), Fran, Thiago (Catu), Leonardo (Empolgado), Mirian, Aninha (Iracema), Bianca, Mayara, Guilherme, Vágner, Daniel, Luís (Barata), Lucas, Caio (Gurt), João (Chico), Rafael (Omelete), Pedro (Slow), Mateus (Pavan), Bruna, Luan (Zorba), Glenda, Pedro (Madá), Victor (Johnsen), Paulo e Pedrão. À turma mais maravilhosa, incrível, inesquecível e unespiana de todas: a turma 53! Aos grandes veteranos da turma 52! Obrigada a todos vocês pelas risadas, pelo compartilhamento de desespero, pelos brigadeiros e atualização de informações. Por cada história, por cada conversa, por cada apoio. Por cada riso, por cada abraço no meio de lágrimas, por cada oportunidade de dividir meu dia e minha vida. Por cada vídeo novo que só eu não conhecia, por cada dança super bem coreografada nas festas, por cada “loko, loko, loko, eu sou da UNESP”. Vocês fizeram desses anos os mais inesquecíveis porque em cada íntimo conseguiram ser grandes amigos e companheiros de jornada. Aos amigos que tanto me ajudaram em meio às provas e dúvidas: Tiago Catelani, Guilherme (Sumido), Guilherme (Tripodi), Weslei e Marcelo (Sauna).

Aos amantes de ensino, a todos os “olha que facinho!”, “goiabão!” e “melhora isso!”, vocês conseguiram despertar amor pelo que ensinavam e admiração. A cada professor que se preocupou, que abriu mão de seu tempo, que não desistiu de me ensinar e que me despertou amor por algo, muito obrigada! Nenhuma ciência humana, biológica ou exata seria tão prazerosa senão com vocês.

À FAPESP, CAPES, CNPq e PROEX.

Ao Instituto de Química da UNESP Araraquara pela infra-estrutura oferecida.

“Espera no Senhor, anima-te e Ele fortalecerá o teu coração; espera, pois no Senhor.”

Versículo 14, Salmo 27.

“Ninguém pode voltar atrás e fazer um novo começo. Mas qualquer um pode recomeçar e fazer um novo fim.”

Chico Xavier, pelo espírito Emmanuel.

“Se o mundo lá fora quer te apunhalar
Lembre que seu corpo é só poeira estelar
Tudo que importa é o agora e nada mais
Tudo que nós somos é apenas o que a gente faz”

(Poeira Estelar, Fresno)

Resumo

Inga marginata Willd., popularmente conhecida como ingá-feijão, é uma planta nativa da Mata Atlântica que ocorre em quase todo o território nacional. É utilizada no reflorestamento de matas ciliares por se adaptar em ambientes úmidos e solos encharcados e na arborização urbana. O presente trabalho propôs a identificação dos componentes presentes no extrato etanólico das folhas de mudas de *Inga marginata* Willd. através de técnicas analíticas como cromatografia líquida, espectrometria de massas, ressonância magnética nuclear uni e bidimensional, ultravioleta e infravermelho, além da comparação com a literatura, os quais permitiram a elucidação de quatro flavonoides pertencentes à classe de flavonois: miricetina-3-*O*- α -*L*-ramnopiranosídeo (**C5**), miricetina-3-*O*-(2''-*O*-galoil)- α -*L*-ramnopiranosídeo (**C10**), quercetina-3-*O*- α -*L*-ramnopiranosídeo (**C9**) e miricetina 4'-metiléter-3-*O*-ramnose (**C8**). Este é o primeiro relato no gênero de **C8**, já as substâncias **C9** e **C10** foram identificadas pela primeira vez em folhas de mudas de *Inga marginata* enquanto a substância **C5** já havia sido relatada em folhas da planta adulta.

Palavras chaves: Leguminosae. *Inga marginata*. Flavonois.

Abstract

Inga marginata Willd., popularly known as “ingá-feijão”, is a native plant from “Mata Atlântica” (Atlantic Forest) found in all national territory. It is used for reforestation of riparian buffers, because of this plant’s adaptive capacity in humid environment and waterlogged soil, and for urban reforestation. This work proposed the identification of the components present in the ethanolic extract from *Inga marginata* Willd. seedling’s leaves through analytical technics such as liquid chromatography, mass spectroscopy, one and two-dimensional magnetic resonance, ultraviolet and infrared as well as comparing with the literature, which permitted clarify four flavonoids from the flavonols class: myricetin-3-*O*- α -*L*-rhamnopyranoside (**C5**), myricetin-3-*O*-(2’-*O*-galloyl)- α -*L*-rhamnopyranoside (**C10**), quercetin-3-*O*- α -*L*-rhamnopyranoside (**C9**) and myricetin 4'-methylether-3-*O*-rhamnoside (**C8**). This is the first report in the **C8** genus, since the **C9** and **C10** substances were firstly identified in *Inga marginata* seedling’s leaves while the substance **C5** had already been reported in leaves from the adult plant.

Keywords: Leguminosae. *Inga marginata*. Flavonols.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Representação dos órgãos vegetais de *Inga marginata* Willd. segundo a Flora Brasilienses.
- Figura 2 - Imagens das amostras de *Inga marginata* adquiridas: mudas (A), flores (B) e folhas (C).
- Figura 3 - Estrutura básica de flavonoides.
- Figura 4 - Classes de flavonoides.
- Figura 5 - Espectros no UV obtidos de taninos (A) flavonoides (B).
- Figura 6 - Perfis cromatográficos de órgãos vegetais de *Inga marginata* Willd. em 254 nm: Extratos etanólicos (A) e Extratos etanólicos após remoção de taninos (B).
- Figura 7 - Cromatograma obtido da Fração 3.
- Figura 8 - Perfil cromatográfico obtido via CLAE-DAD-EFS-TT da Fração 4.
- Figura 9 - Perfil cromatográfico obtido por CLAE-DAD-EFS da fração 4 com identificação das bandas coletadas C1, C2, C3, C4, C5, C6, C7, C8, C9, C10 e C11.
- Figura 10 - Miricetina-3-*O*- α -*L*-ramnopiranosídeo.
- Figura 11 - Espectro de absorção no infravermelho de C5 (solução metanólica).
- Figura 12 - Identificação da banda e UV referente à C5.
- Figura 13 - Espectro de RMN ^1H de C5 (CD_3OD , 600 MHz).
- Figura 14 - Espectro de correlações $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - J_{CH} - HSQC de C5 (CD_3OD , 600 e 150 MHz).
- Figura 15 - Espectro de correlações $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - $^nJ_{\text{CH}}$ ($n = 2$ e 3) - HMBC de C5 (CD_3OD , 600 e 150 MHz).
- Figura 16 - Espectro de massas obtido por ESI da substância C5 (modo negativo).
- Figura 17 - Miricetina-3-*O*-(2''-*O*-galoil)- α -*L*-ramnopiranosídeo
- Figura 18 - Espectro na região do infravermelho de C10 (solução metanólica).
- Figura 19 - Identificação e UV da banda referente à C10.
- Figura 20 - Espectro de RMN ^1H de C10 (CD_3OD , 600 MHz).
- Figura 21 - Espectro de correlações $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - J_{CH} - HSQC de C10 (CD_3OD , 600 e 150 MHz).
- Figura 22 - Espectro de correlações $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - $^nJ_{\text{CH}}$ ($n = 2$ e 3) - HMBC de C10 (CD_3OD , 600 e 150 MHz).
- Figura 23 - Espectro de massas obtido por ESI da substância C10 (modo negativo).
- Figura 24 - Quercertina-3-*O*- α -*L*-ramnopiranosídeo.

Figura 25 - Espectro na região do infravermelho de **C9** (solução metanólica).

Figura 26 - Identificação e UV referente à **C9**.

Figura 27 - Espectro de RMN ^1H de **C9** (CD_3OD , 600 MHz).

Figura 28 - Espectro de correlações $^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - J_{\text{CH}}$ - HSQC de **C9** (CD_3OD , 600 e 150 MHz).

Figura 29 - Espectro de correlações $^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - {}^nJ_{\text{CH}}$ ($n = 2$ e 3) - HMBC de **C9** (CD_3OD , 600 e 150 MHz).

Figura 30 - Espectro de massas obtido por ESI da substância **C9** (modo negativo).

Figura 31 - Miricetina 4'-metiléter-3-*O*-ramnose.

Figura 32 - Espectro de absorção no infravermelho de **C8**.

Figura 33 - Identificação e UV referente a **C8**.

Figura 34 - Espectro de RMN ^1H de **C8** (CD_3OD , 600 MHz).

Figura 35 - Espectro de correlações $^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - J_{\text{CH}}$ - HSQC de **C8** (CD_3OD , 600 e 150 MHz).

Figura 36 - Espectro de correlações $^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - {}^nJ_{\text{CH}}$ ($n = 2$ e 3) - HMBC de **C8** (CD_3OD , 600 e 150 MHz).

Figura 37 - Espectro de massas obtido por ESI da substância **C8** (modo negativo).

LISTA DE FLUXOGRAMA

Fluxograma 1 - Esquema geral do fracionamento do extrato etanólico das folhas de mudas de *Inga marginata*.

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Substâncias identificadas em *Inga marginata* Willd.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Substâncias isoladas de *Inga marginata* Willd.

Tabela 2 - Condições cromatográficas do CLAE-DAD preparativo da Fração 3 obtida do extrato etanólico das folhas de *Inga marginata*.

Tabela 3 - Massa das subfrações coletadas em CLAE-DAD preparativo da Fração 3.

Tabela 4 - Condições de análise por CLAE-EFS da Fr. 4 das folhas de *Inga marginata*.

Tabela 5 - Dados de RMN 1D e 2D da substância **C5** e da miricetrina (miricetina-3-*O*- α -*L*-ramnopiranosídeo).

Tabela 6 - Dados de RMN 1D e 2D de **C10** e da desmantina-1 (miricetina-3-*O*-(2''-*O*-galoil)- α -*L*-ramnopiranosídeo).

Tabela 7 - Dados de RMN 1D e 2D de **C9** e da quercitrina (quercetina-3-*O*- α -*L*-ramnopiranosídeo).

Tabela 8 - Dados de RMN 1D e 2D de **C8** e da mearnsitrina (miricetina 4'-metiléter-3-*O*-ramnose).

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

δ	Deslocamento químico
ACN	Acetonitrila
AcOEt	Acetato de etila
C18	Fase reversa em octadecilsilano
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
<i>d</i>	Dupleto
<i>dd</i>	Duplo dupleto
DAD	Detector UV/Vis com arranjo de fotodiodos
CLAE-DAD	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada com Detector de Arranjo de Fotodiodos
MS	Espectrometria de Massas
EtOH	Etanol
Hz	Hertz
ESI	Ionização por eletrospray
<i>J</i>	Constante de acoplamento
<i>m</i>	Multiplete
MeOH	Metanol
<i>m/z</i>	massa/carga
RMN ¹ H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
<i>s</i>	Simpleto
UV	Ultravioleta
Vis	Visível

Sumário

1	INTRODUÇÃO	16
1.1.	Família Leguminosae.....	16
1.2.	Gênero <i>Inga</i>	17
1.3.	<i>Inga marginata</i> Willd	18
1.4.	Flavonoides	26
2	OBJETIVOS	29
3	PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	30
3.1.	Consumíveis.....	30
3.2.	Equipamentos.....	30
3.3.	Coleta e identificação do material vegetal	31
3.4.	Obtenção do extrato etanólico bruto.....	32
3.5.	Estudo químico do extrato etanólico	32
3.6.	Isolamento das substâncias da Fração 3	34
3.7.	Isolamento das substâncias da Fração 4	35
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
4.1.	Miricetina-3- <i>O</i> - α - <i>L</i> -ramnopiranosídeo (C5)	39
4.2.	Miricetina-3- <i>O</i> -(2''- <i>O</i> -galoil)- α - <i>L</i> -ramnopiranosídeo (C10).....	47
4.3.	Quercetina-3- <i>O</i> - α - <i>L</i> -ramnopiranosídeo (C9)	55
4.4.	Miricetina 4'-metileter-3- <i>O</i> -ramnosídeo (C8)	63
5.	CONCLUSÃO	72
	Referências	73

1 INTRODUÇÃO

As pesquisas em torno dos produtos naturais são crescentes mundialmente devido à biodiversidade animal e vegetal, sendo esse último, o reino responsável por uma boa parcela do fornecimento de metabólitos secundários¹ – substâncias que possuem distribuição taxonômica restrita no vegetal² - muitos destes de alto valor agregado devido a aplicações como medicamentos, cosméticos, alimentos e agroquímicos¹.

Produtos de origem natural são alternativa de medicação de parte da população, podendo as plantas ser aplicadas em uso terapêutico, matéria-prima para manipulação, obtenção de princípios ativos ou como precursores em semi-síntese³. Se as plantas medicinais são aquelas retiradas da natureza de forma bruta e praticamente sem purificação, a fim de medicação, e capazes de curar enfermidades de acordo com a sabedoria popular, os fitofármacos são substâncias isoladas de vegetais e utilizadas como ativo em medicamentos⁴ e os fitoterápicos, por sua vez, são medicamentos obtidos a partir de plantas medicinais empregando-se exclusivamente derivados de droga vegetal (extrato, óleo e outros) que devem ter efeitos terapêuticos comprovados⁵. Os fitoterápicos aparecem como recurso terapêutico de mais de 2/3 da população mundial demonstrando a necessidade acerca de estudos dos vegetais superiores como fonte de substâncias ativas¹.

Partindo do metabolismo secundário do reino vegetal encontra-se uma vasta quantidade de substâncias que atuam de forma protetora ao ataque de micro-organismos e herbívoros, atração de insetos para polinização e relação simbiótica com microorganismos². Devido às características únicas de cada planta, tais produtos não são universais, fomentando a pesquisa em torno dos mesmos¹. Dentre estes produtos estão os compostos fenólicos encontrados no gênero *Inga* que pertence à família Leguminosae. Para esse estudo foi escolhida a espécie *Inga marginata* cuja composição química é ainda pouco conhecida.

1.1. Família Leguminosae

Geologicamente antiga e ausente apenas nas regiões Ártica e Antártica, a vasta família Fabaceae ou Leguminosae conta com 727 gêneros e 19325 espécies, sendo que somente no Brasil há registro de 178 gêneros e 3200 espécies⁶ distribuídas em três subfamílias: Caesalpinioideae, Mimosoideae e Papilionoideae. Espécies desta família são caracterizadas por apresentarem frutos em forma de vagem, geralmente⁷.

A utilização de leguminosas na área agrônômica é de extrema importância para o contexto ambiental e financeiro devido à redução de uso de fertilizantes industriais uma vez que ocorre o aumento do rendimento das culturas comerciais por conta da manutenção da umidade do solo e da relação simbiótica com bactérias fixadoras de nitrogênio, às quais, garantem à planta o suplemento contínuo de um dos nutrientes mais importantes para a mesma^{8,9}.

Destaca-se também o uso como fonte de alimento, produção de óleos, perfumes e inseticidas, ornamental e, principalmente, para produção de madeiras nobres e valiosas usadas na marcenaria, entalhadura e construções em geral. Há relatos que apontam as leguminosas como uma das principais fontes para produção de proteína vegetal, particularmente para os países em desenvolvimento⁷.

Quimicamente, as leguminosas apresentam uma grande diversidade, dentre as classes de substâncias conhecidas encontram-se taninos¹⁰, flavonoides^{11,12}, alcaloides¹³, terpenoides¹⁴, saponinas¹⁵ e fitoesteróis¹⁵.

1.2. Gênero *Inga*

Inga, nome derivado do tupi-guarani angá, que quer dizer “que tem semente envolvida” é um gênero pertencente à família Leguminosae, subfamília Mimosoidae e à tribo Ingeae⁶. Este gênero apresenta aproximadamente 300 espécies em clima neotropical onde os principais centros de diversidade são o litoral e o interior brasileiro, o Sudeste da América Central e oeste da América do Sul¹⁶. Destas, 140 encontram-se no Brasil, sendo 93 encontradas na região fitogeográfica do litoral. Ainda no Brasil, há a bacia amazônica constituindo grande centro de diversidade desse gênero¹⁶.

Segundo estudos, alguns fósseis do gênero *Inga* são de períodos como Cretáceo (Europa e América do Norte), Oligoceno (Panamá), Mioceno (Costa Rica) e Plioceno (Bolívia)⁶. Os ingás são plantas dispersadas por zoocoria – através de animais – ou por hidrocoria – por meio aquático – resultante da alta incidência dessas plantas na beira de rios¹⁷. As plantas desse gênero são caracterizadas basicamente por apresentarem folhas paripenadas, com nectário na raque foliar, localizado entre cada par de folíolos e legume com sementes envolvidas por sarcotesta carnosa e adocicada¹⁶. Tais plantas são utilizadas no reflorestamento, fitoterapia, produção de energia e alimentação¹⁶. *Inga* tem importância ecológica na manutenção do equilíbrio natural, fornecendo néctar, pólen, frutos, sementes e sarcotesta para a fauna local e por produzir nódulos radicais que contém bactérias fixadoras de nitrogênio do ar⁶.

Encontram-se nesse gênero grande quantidade de compostos fenólicos como taninos e flavonoides, fazendo deste gênero parte interessante de estudo em propriedades antioxidantes. Atividades anti-bacterianas, antifúngicas, anti-inflamatórias e anti-diarréicas já foram relatadas em várias espécies desse gênero³⁰. Com referência aos constituintes químicos de diferentes espécies do gênero *Inga*, saponinas, fitoesteróis, triterpenoides e taninos têm sido identificados na casca de *Inga marginata*¹⁵; ácido gálico, galotaninos e flavonóides – catequinas, proancinidinas, flavonas e flavononas, entre outros - foram isolados a partir de *Inga edulis*^{18,19}; diferentes ácidos pipecólicos hidroxilados foram identificados em *Inga brenesii*, *Inga longispica*, *Inga oerstediana* e *Inga paterno*, sendo raros alguns desses compostos e encontrados somente em alguns gêneros da subfamília Mimosoideae²⁰; açúcares como D-frutose, sacarose e D-mannitol, entre outros, foram isolados a partir de *Inga spectabilis*²¹. Espécies como *I. brenesii*, *I. densiflora*, *I. longispica*, *I. mortoniana* e *I. punctata* apresentaram um ácido pipecólico metoxilado restrito a poucas espécies²². Em *I. goldmanni* foram relatados aminoácidos raros e em *I. umbellifera* flavonoides restritos à ela e outras duas plantas²³. Ainda sobre *I. umbellifera*, foram descritos alguns cinamoil-glicosídeos de catequina e procianidinas²⁴. Em *I. laurina*, foram constatadas a presença de derivados de tirosina, galotaninos, taninos, flavonoides, saponinas, terpenóides, triterpenos, esteroides e ácido ascórbico^{25,26}.

1.3. *Inga marginata* Willd

Inga marginata Willd apresenta várias sinonímias botânicas: *Inga adorata* G.Don, *Inga excelsa* Poepp., *Inga guayaquilensis* G.Don, *Inga leptostachya* Benth, *Inga semialata* (Vell), *Inga puberula* Benth, *Inga pycnostachya* Benth, *Inga sapida* Kunth, *Inga semialata* (Vell.), *Mimosa semialata* Vell²⁷. Popularmente esta espécie é conhecida como: Ingá-dedo, Ingá-feijão, Ingá-amendoim e Ingá-miúdo.

Ocorre em quase todo o território brasileiro e sabe-se que a mesma é nativa da Mata Atlântica e é indicada para reposição de matas ciliares, sendo capaz de suportar encharcamentos e inundações temporárias. Embora a espécie tenha preferência por ambientes úmidos próximos a rios e lagos, têm-se também sua presença em solo profundo e firme, sendo usada para reflorestamento e arborização urbana²⁸.

É uma árvore mediana, tendo de 5 a 20 m de altura e de 20 a 50 cm de diâmetro. Seu tronco relativamente fino, de ramificação quase horizontal, forma uma copa arredondada e densa, tendo folhas de coloração verde-escuro e comprimento de 10 a 30 cm, já a casca é

provida de lenticelas sendo mais ou menos lisa e marrom escura. O fruto assemelha-se a uma vagem que contém várias sementes com polpa branca adocicada ao longo da sua faixa de 5 a 15 cm de comprimento e 1 a 1,5 cm de largura. As flores são numerosas e brancas organizadas em cachos²⁹ (**Figura 1 e 2**).

Figura 1 - Representação dos órgãos vegetais de *Inga marginata* Willd. segundo a Flora Brasilienses.



Fonte: VON MARTIUS; EICHLER; URBAN²⁷.

Figura 2 - Imagens das amostras de *Inga marginata* adquiridas: (A) mudas (B) flores e (C) folhas.



A



B



C

Fonte: Autor

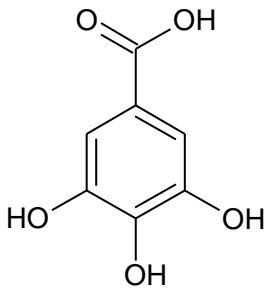
De interessante potencial fitoterápico, tendo sido relatado o tratamento de úlceras vaginais com o fruto e propriedades adstringentes e vasodilatadoras relacionadas ao caule³⁰, foi constatada nas cascas de *Inga marginata* a presença de saponinas, taninos, fitoesteróis e triterpenoides¹⁵, compostos esses atuantes no organismo, onde as saponinas manifestaram atividades antibacteriana, antifúngica, antitumoral e, também, atividade depressora sobre o sistema nervoso central de ratos¹⁵. As substâncias identificadas até o momento nos estudos químicos realizados com esta espécie encontram-se na **Tabela 1** e suas estruturas moleculares no **Quadro 1** :

Tabela 1 - Substâncias isoladas de *Inga marginata* Willd.

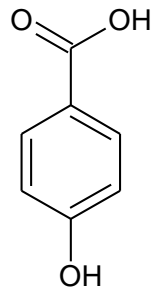
Classe isolada	Órgão vegetal	Substância	Referência
Flavonoide	Folha	Miricetina 3-O- α -L-raminopirasídeo	Referência núm. 31
Terpeno	Folha	Olean-18-eno	
Ácido fenólico	Folha	Ácido vanílico	
Ácido fenólico	Folha	Galato de metila	
Ácido fenólico	Folha	Galato de 2-ramnopiranosil-4,6-diidroxifenila	
Terpeno	Folha	α -amirina	
Ácido fenólico	Folha	Ácido 3,4,5-trimetoxibenzoico	
Esteróide	Galho e folha	Estigmasterol	Referência de núm. 29
Terpeno	Galho	Lupenona	
Terpeno	Galho	Friedelina	
Antraquinona	Galho	Fisciona	
Terpeno	Galho	Lupeol	
Antraquinona	Galho	Emodina	
Ác. fenólico	Galho e folha	Ácido Gálico	
Ác. fenólico	Galho e folha	Ácido 4-hidroxibenzoico	
Terpeno	Galho e folha	Ácido caurenico	
Fenilpropanóide	Galho e folha	Ácido p-cumárico	
Fenilpropanóide	Galho e folha	Ácido ferúlico	

Fenilpropanoide	Galho e folha	Ácido cafeico
Flavonoide	Galho e folha	Catequina
Flavonoide	Galho e folha	Apigenina
Flavonoide	Galho e folha	Quercetina
Flavonoide	Galho e folha	Rutina
Flavonoide	Folha	Vicenina 2
Flavonoide	Galho e folha	Naringenina
Ác. fenólico	Galho e folha	Ácido tânico

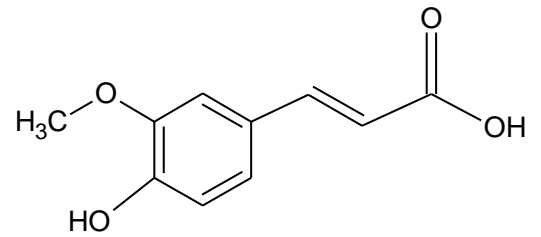
Quadro 1 - Substâncias identificadas em *Inga marginata* Willd.



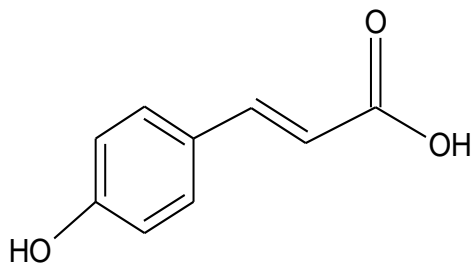
Ácido gálico



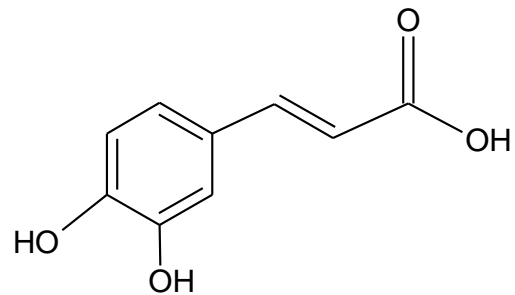
Ácido 4-hidroxibenzoico



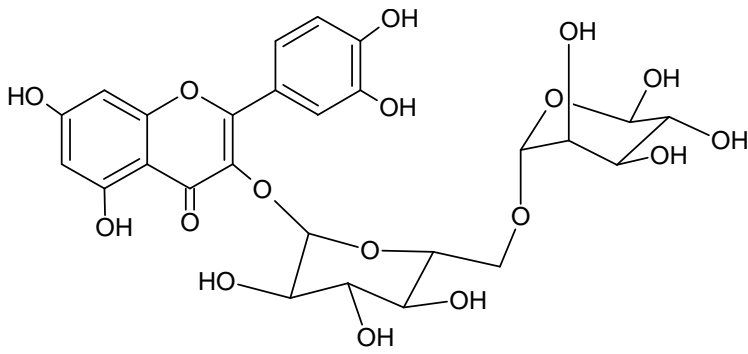
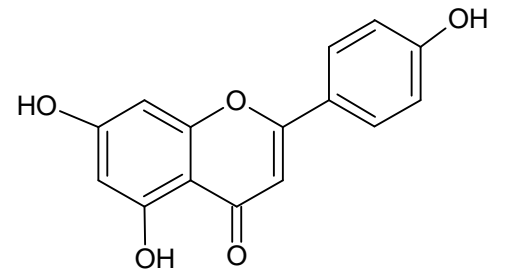
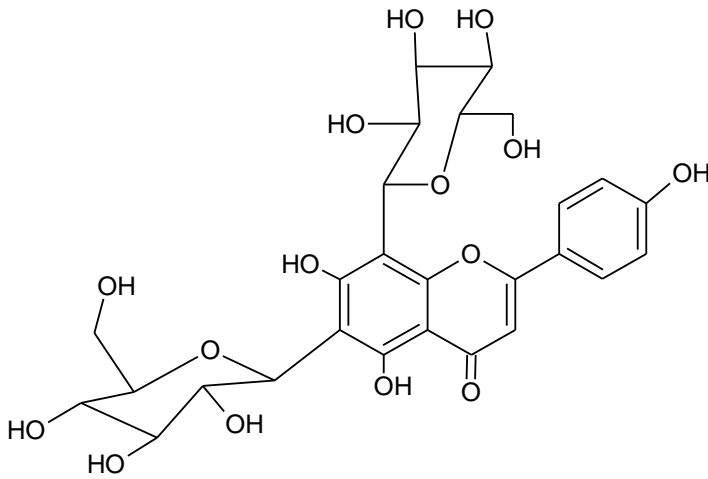
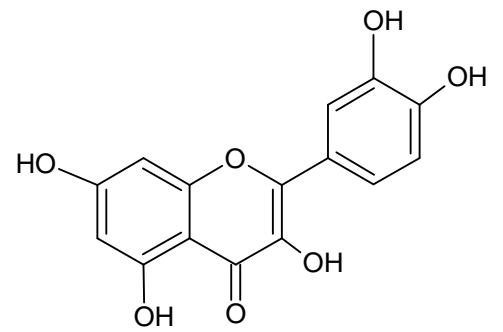
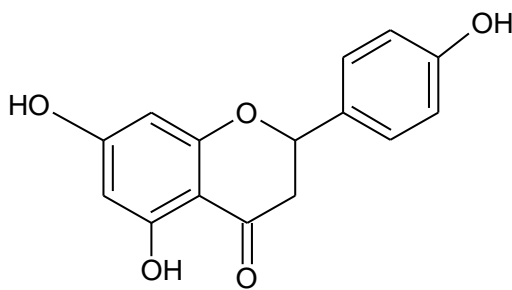
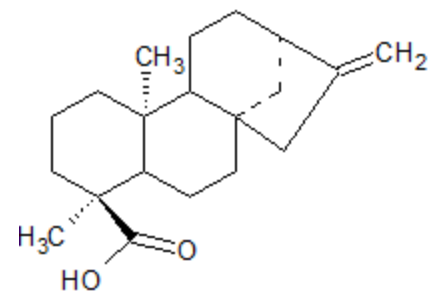
Ácido ferúlico

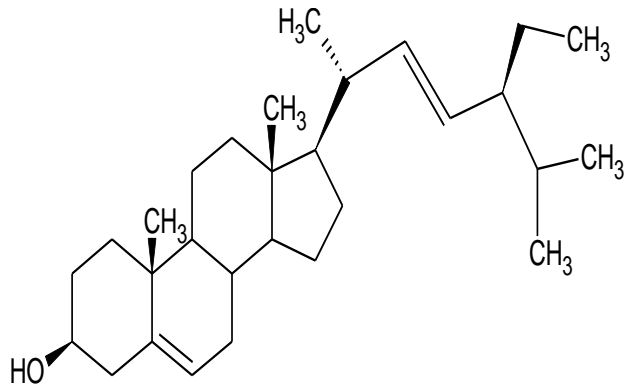
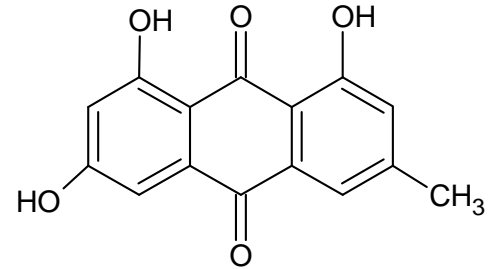
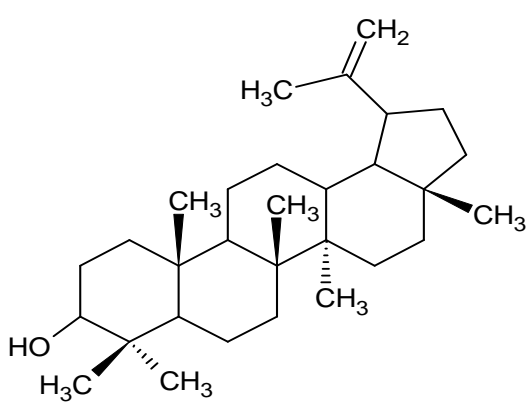
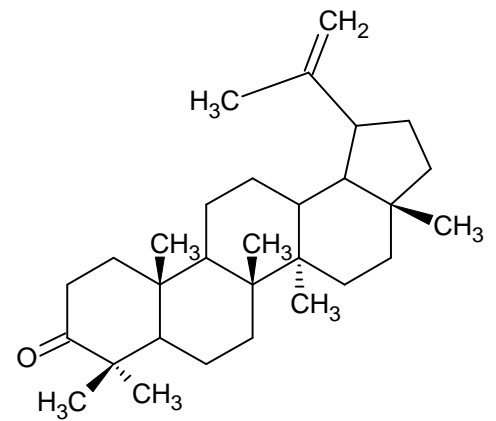
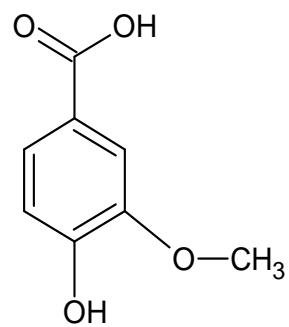
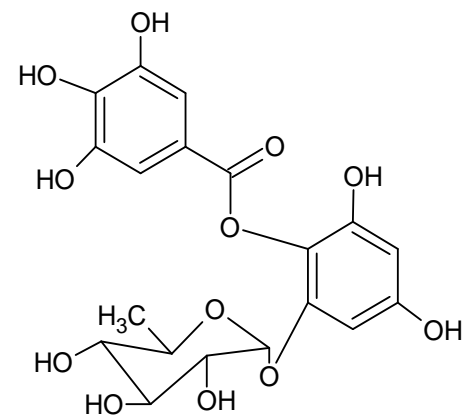


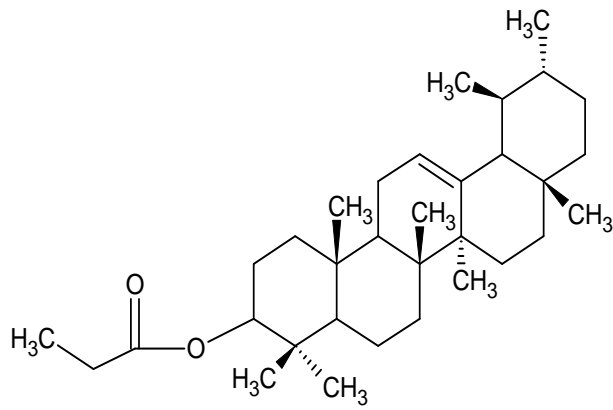
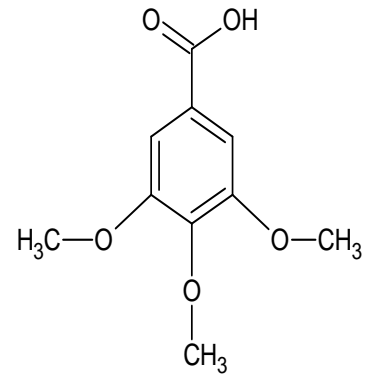
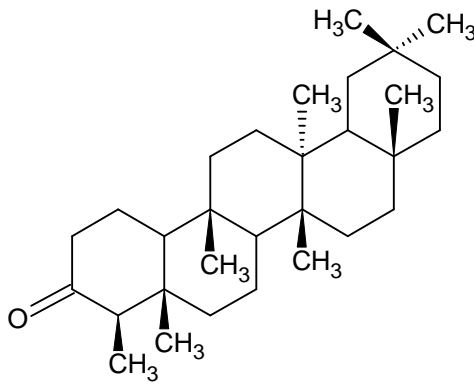
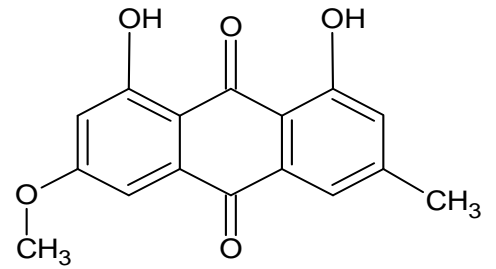
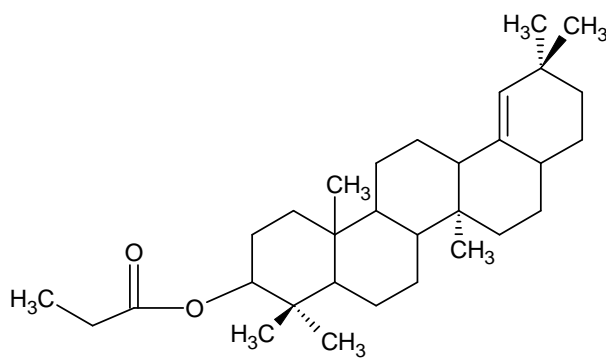
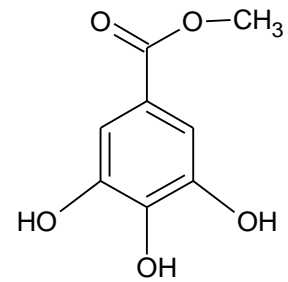
Ácido p-cumárico

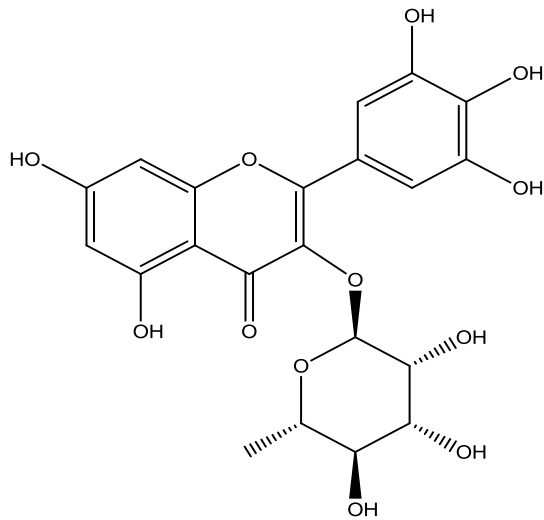


Ácido cafeico

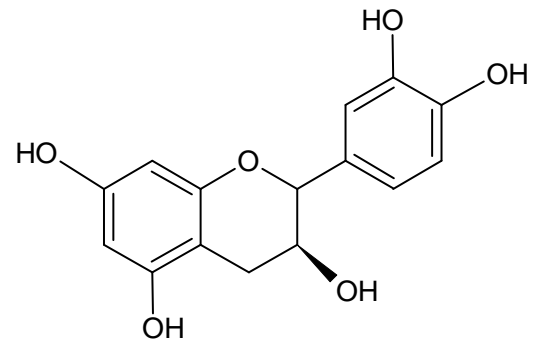
**Rutina****Apigenina****Vicenina 2****Quercetina****Naringenina****Ácido caurenóico**

**Estigmasterol****Emodina****Lupeol****Lupenona****Ácido vanílico****Galato de 2-ramnopiranosil-4,6-diidroxifenila**

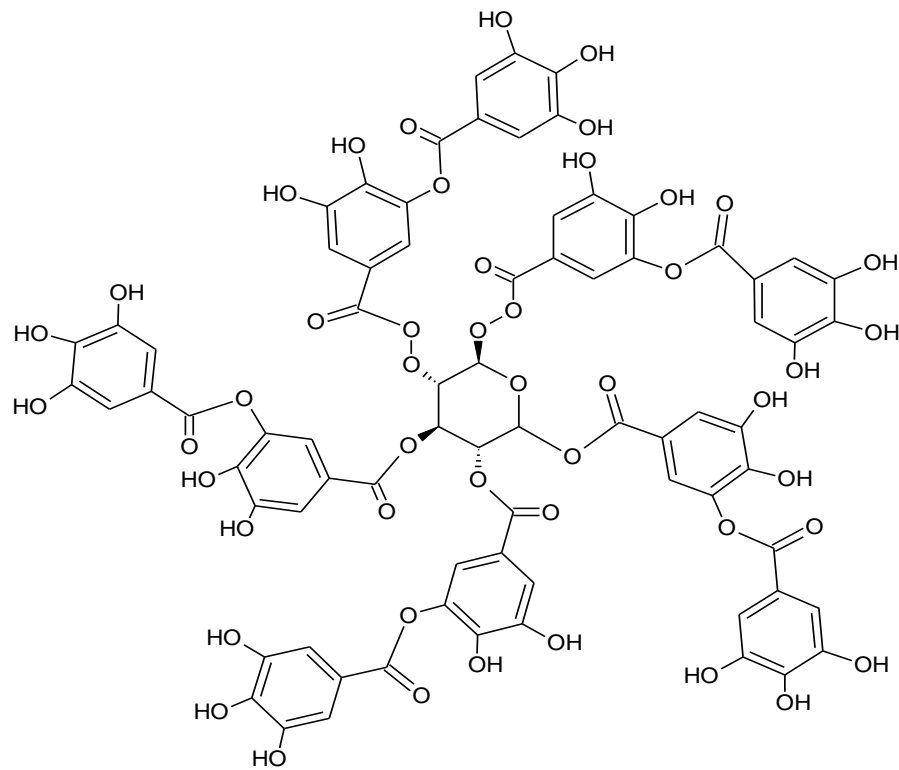
***α* Amirina****Ácido 3,4,5 - trimetoxibenzoico****Friedelina****Fisciona****Olean-18-eno****Galato de metila**



Miricetina-3-O- α -L-ramnopiranosideo



Catequina



Ácido tânico

Fonte: Autor

1.4. Flavonoides

Os flavonoides são compostos polifenólicos produzidos no metabolismo secundário das plantas, participando de importantes funções no crescimento, desenvolvimento e defesa contra agentes patógenos, sendo encontrados nas sementes, frutos, cascas, raízes, folhas e

flores³². Esses metabólitos protegem as células vegetais contra danos causados pela fotoxidação, atuam como agentes atrativos para insetos, servem de mediadores entre as plantas e organismos fixadores de nitrogênio e ainda podem atuar como reguladores no desenvolvimento do vegetal³³.

Os flavonoides são fitoquímicos de plantas que não podem ser sintetizados por seres humanos, mas ao serem ingeridos através do consumo de frutas e legumes, atuam como antioxidantes exercendo função protetora e no tratamento de doenças degenerativas mediadas por estresse oxidativo³⁴. Estudos sugerem ainda atividade antimutagênica, redução no risco de doenças cardiovasculares e acidente vascular cerebral, sendo que cada classe de flavonoide varia em sua absorção pelo organismo e seu metabolismo.

Devido à ampla capacidade em inibir a germinação de esporos patogênicos em plantas, provavelmente por conta da capacidade de formar complexos com proteínas solúveis presentes nas paredes das células fúngicas, os flavonoides são associados à atividade antifúngica³⁵. Sua natureza lipofílica também pode ser responsável pela lise celular do fungo³⁵. Segundo estudos, atividades anti-virais³⁶, antibacterianas³⁷, antiparasitária³⁸, anticâncer³⁹ também são relatadas.

A biossíntese dos flavonoides ocorre a partir do fenilpropano – derivado do ácido cinâmico e sintetizado a partir do ácido chiquímico que age como ponto de partida para a adição de três moléculas de acetato ocorrendo em seguida a ciclização da estrutura. As hidroxilações e reduções posteriores darão origem a diferentes tipos de flavonoides⁴⁰ sendo que alguns estão representados na **Figura 4**.

A estrutura básica de um flavonoide consiste em um núcleo fundamental, constituído de quinze átomos de carbono arranjados em três anéis, sendo dois anéis fenólicos substituídos (A e B) e uma cadeia heterocíclica (C) acoplada ao anel A⁴⁰, como ilustra a **Figura 3**:

Figura 3 - Estrutura básica de flavonoides.

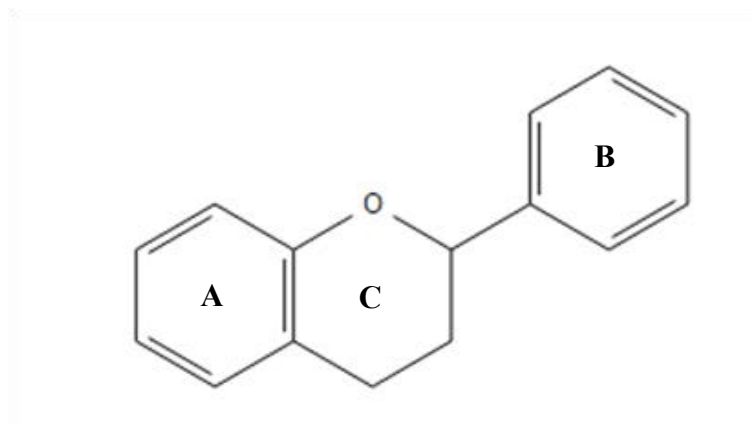
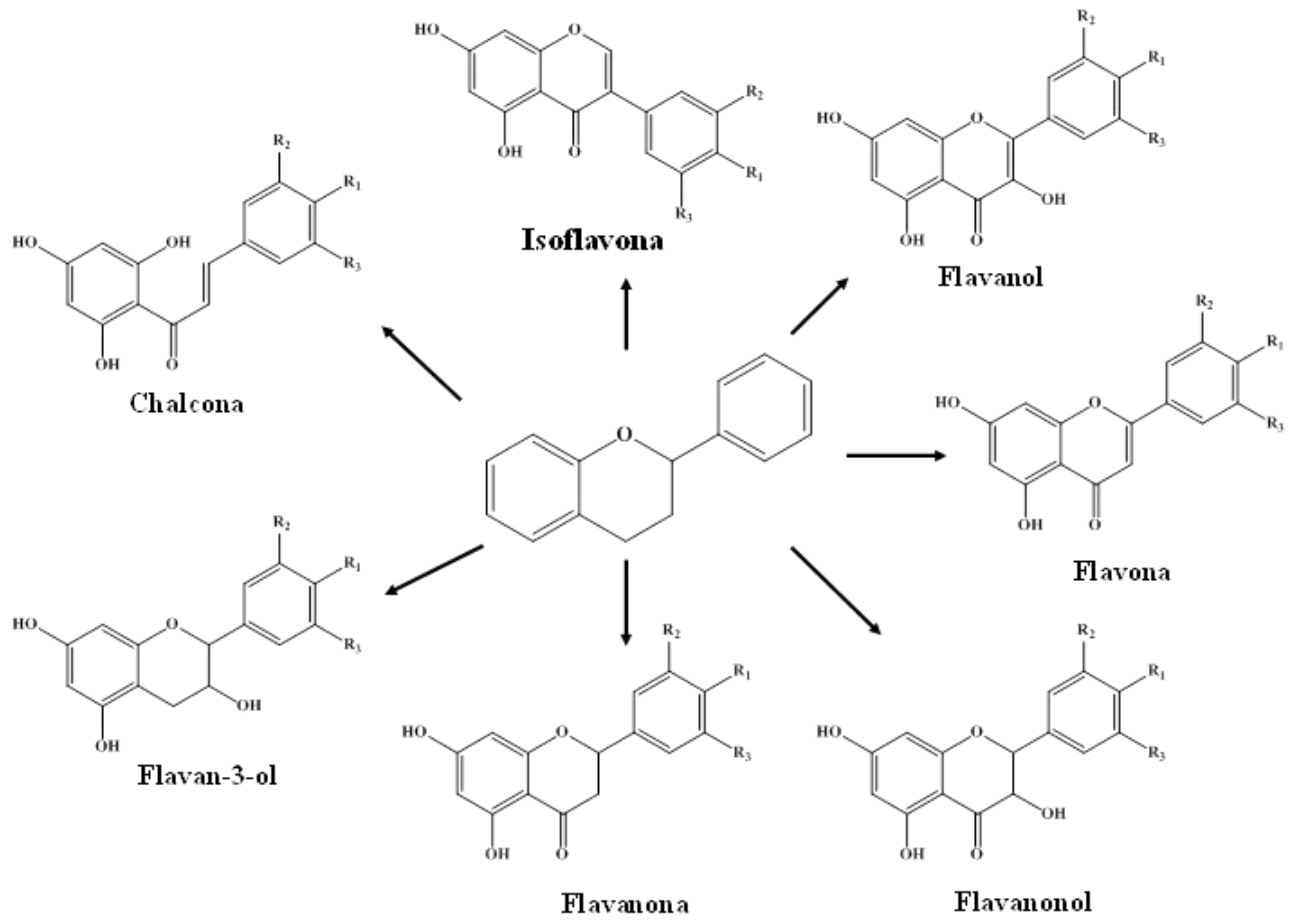


Figura 4 - Classes de flavonoides.



2 OBJETIVOS

Realizar o estudo químico do extrato etanólico das folhas de mudas da espécie *Inga marginata* por CLAE-DAD, CLAE-EFS-TT, RMN, IV, UV e MS buscando substâncias que agreguem valor a essa espécie e conseqüentemente ao gênero.

3 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

O procedimento experimental adotado envolveu a obtenção de extratos com solventes em ordem decrescente de polaridade, fracionamento do extrato selecionado por extração em fase sólida (EFS) e subsequente isolamento das substâncias por CLAE preparativo ou por CLAE-EFS. Para a identificação das substâncias isoladas foram utilizados dados de UV, RMN, MS e IV e comparação com dados da literatura.

A seguir estão indicadas as especificações dos equipamentos e consumíveis utilizados no desenvolvimento desse estudo.

3.1. Consumíveis

- Acetonitrila grau CLAE da marca J.T. Baker – lote T46C57;
- Metanol grau CLAE da marca J.T. Baker – lote T46C03;
- Metanol deuterado da marca ACROS – lote A016503301;
- Etanol grau CLAE da marca J.T. Baker AF4088RA
- Acetato de etila grau CLAE da marca J.T.Baker;
- Ácido fórmico grau PA da marca Êxodo Científica – lote AF4088RA
- Água purificada com sistema Milli-Q da marca Millipore;
- Sílica Polygoprep 60-50 C18 da marca Macherey-Nagel – lote 15004013;
- Filtros de nylon de diâmetro 13 mm e poro 0,22 μ m;
- Seringa HSW;
- Poliamida para coluna cromatográfica da marca Sigma Aldrich – lote BCBN8179V

3.2 Equipamentos

- Moinho analítico A 11 basicS32 da marca IKA 230 v;
- Rotaevaporador Buchi B-480;
- Speed Vac Thermo, compartimento do refrigerador de vapor RVT4104, controlador VN100DDA e bomba OFP400;
- Liofilizador Christ modelo Alpha 2 – 4 LD plus;
- Centrífuga IKA mini G (CE);
- Centrífuga Celm Combate 3600 rpm;

- Banho com Ultra-som Elmasonic S – 60 Hz e 550 w.
- Cromatógrafo líquido de ultra-alta eficiência (UHPLC) Ultimate3000, marca Dionex® (Sunnyvale, USA), equipado com uma bomba ternária modelo DGP-3600RS (2D), compartimento termostaticado de coluna TCC-3000RS, detector de arranjo de diodos modelo DAD-3000(RS), detector de aerossol carregado (Corona Ultra RS) e amostrador automático modelo WPS-3000RS;
- Cromatógrafo Shimadzu equipado com duas bombas *Shimadzu* LC-6AD, auto injetor *Shimadzu* SIL 10AF, detector de arranjo de diodos UV-Vis do modelo *Shimadzu* SPD-M20A e degaseador *Shimadzu* DGU-20 A 5R;
- Coluna Phenomenex Luna 5 μ m C18(2) 100 Å – 250 x 4,60 mm;
- Coluna Phenomenex Luna 5 μ m C18 (2) 100Å – 150 x 21.20 mm (preparativa);
- CLAE-DAD-EFS-TT Agilent Infinity configurado com bomba quaternária 1260, auto sampler 1260 ALS e detector de arranjo de fotodiodos 1260 DAD VL;
Coletor com Sistema de Extração em Fase Sólida da Bruker/Spark Prospekt II com 192 cartuchos HySphere com adsorvente de resina GP;
TT: Transferidor e preparador automático de amostras Automatic Liquid Handling (Gilson) com entrada para eluente dos cartuchos e saída para tubos de RMN 3 mm.
- Espectrômetro Bruker Avance III HD 600 (14,1 T) equipado com criosonda e espectrômetro Bruker 300 Fourier (7,1 T).
- Espectrômetro de Massas Bruker Q-TOF Maxis Impact. A amostra foi analisada em solução H₂O:MeOH 1:1 com 0,1% de ácido fórmico com auxílio de bomba de infusão a 180 μ L/h. Ionização por eletrospray (ESI), modo negativo, voltagem do conjunto do capilar em 4500 v, ajuste da placa final em -500 v e pressão do nebulizador em 0,3 bar.
- Espectrômetro de absorção na região do infravermelho médio com Raman acoplado *Vertex* com faixa de leitura – 400 a 4000 cm⁻¹ cm e lente ATR (cristal de diamante). O estudo foi feito com o analito solubilizado em metanol.

3.3 Coleta e identificação do material vegetal

Trinta mudas de *Inga marginata* foram adquiridas no viveiro Camará (Ibaté-SP). O laudo de autenticidade da espécie em questão foi arquivado. Após adquiridas, as mudas foram limpas e separadas em folhas, caules e raízes. Flores foram obtidas da planta adulta.

3.4 Obtenção do extrato etanólico bruto

O material vegetal (raiz, caule e folhas de mudas e flores da planta adulta) foi seco em estufa à temperatura de 40°C durante 10 dias e em seguida triturado em moinho analítico. A etapa de extração foi realizada com solventes em ordem decrescente de polaridade (água, etanol e hexano) assistida por ultrassom (UAE) com a finalidade de extrair a maior diversidade possível de compostos. Primeiramente, foi realizada apenas uma extração aquosa onde em seis tubos Falcon foram pesados aproximadamente 2,0 g ± 1,0 g de material vegetal e adicionados cerca de 10,0 mL de água em cada tubo que em seguida foram agitados e sonificados por 10 min. Posteriormente, foram centrifugados por 10 min e filtrados. A solução resultante foi alíquotada em 20 microtubos devidamente pesados e esses concentrados em *speed vac* fornecendo o extrato aquoso. Repetiu-se este procedimento, desta vez com etanol, extraíndo duas vezes e fornecendo assim, o extrato etanólico. Novamente, repetiu-se o processo, agora com hexano extraíndo por três vezes e fornecendo o extrato hexânico. Os extratos secos foram pesados, devidamente rotulados e armazenados a frio. O extrato aquoso apresentou massa equivalente a 711,9 mg, o etanólico a 831,5 mg e o hexânico 182,4 mg.

3.5 Estudo químico do extrato etanólico

Uma análise prévia por cromatografia líquida de alta eficiência foi realizada em modo gradiente, num tempo total de 57 minutos, utilizando etanol e água acidificados em 0,05% de ácido fórmico. O gradiente foi construído variando-se de 5% a 100% o solvente orgânico, obtendo-se o espectro no UV de taninos e flavonoides (**Figura 5**). O perfil cromatográfico dos quatro órgãos vegetais analisados (**Figura 6 - A**) demonstrou um alargamento nas bandas indicativo da presença de taninos, sendo realizado posteriormente, um tratamento com poliamida a fim de minimizar esse alargamento e verificar de forma qualitativa a presença desses compostos.

A remoção de taninos foi feita através do uso de um cartucho com 500 mg de poliamida, com ativação do mesmo em metanol, o condicionamento em solução MeOH:H₂O (1:1) seguido da aplicação da amostra em solução MeOH:H₂O (1:1) e eluição com H₂O, MeOH e MeOH:NH₄ (95:5), sendo cada eluição recolhida em béqueres distintos. A fração metanólica foi então analisada por CLAE-DAD (**Figura 6 - B**) demonstrando a remoção de taninos dos extratos e sugerindo uma composição majoritária de taninos na raiz e intermediária entre

taninos e flavonoides no caule enquanto folhas e flores mostraram-se ricas em flavonoides, sendo a flor constituída de grande diversidade de compostos fenólicos. Optou-se pelo estudo com as folhas devido a pouca massa restante dos outros órgãos vegetais.

O extrato etanólico sem o tratamento com a poliamida das folhas de mudas de *I. marginata* foi então submetido a um fracionamento com sílica C18 (40 – 50 mesh, 15 x 2 cm) sob pressão reduzida, resultando em sete frações. A ativação da coluna foi realizada com EtOH e o condicionamento com a passagem de água Milli-Q. A amostra de massa equivalente a 300 mg, aproximadamente, foi dispersa em 5,0 g de C18 e então aplicada na coluna. A eluição foi feita com água, EtOH e AcOEt, como se segue: 1 H₂O (100%), 2 H₂O:EtOH (8:2), 3 H₂O:EtOH (6:4), 4 H₂O:EtOH (1:1), 5 H₂O:EtOH (3:7), 6 EtOH (100%) e 7 AcOEt (100%). Coletou-se 15 mL de cada fração resultando em 0,8 mg (1) , 20,8 mg (2), 45,6 mg (3), 15,0 mg (4), 8,6 mg (5), 5,7 mg (6) e 2,8 mg (7).

Tais frações foram analisadas por CLAE modo reverso, sendo a fase móvel composta por dois solventes: água (A) e acetonitrila (B). A eluição foi realizada em modo isocrático conforme descrito na **Tabela 2**. Considerando a complexidade dos perfis cromatográficos obtidos, a massa das frações e o espectro no UV das principais bandas observadas nos cromatogramas, as frações 3 e 4 foram selecionadas para isolamento e identificação de seus constituintes principais. Assim, procedeu-se o fracionamento da fração 3 em CLAE preparativo e da fração 4 por CLAE-EFS.

Figura 5 - Espectros no UV obtidos de taninos (A) flavonoides (B).

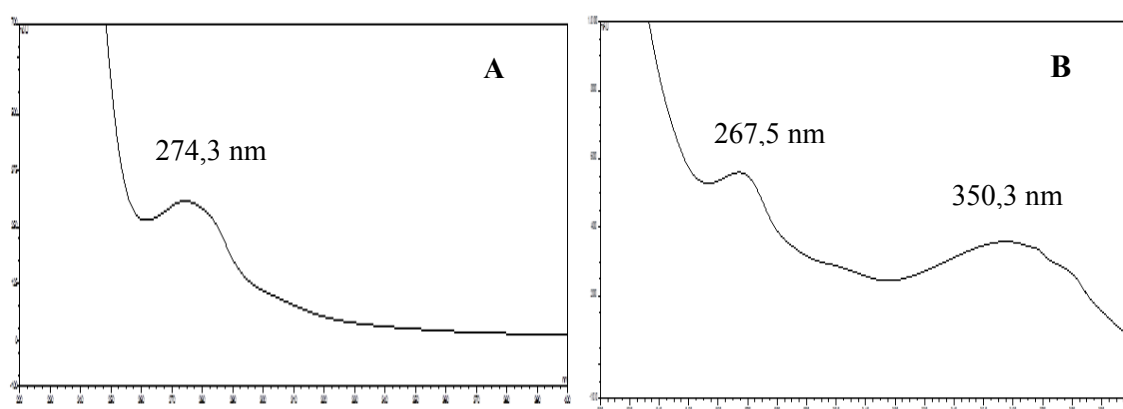
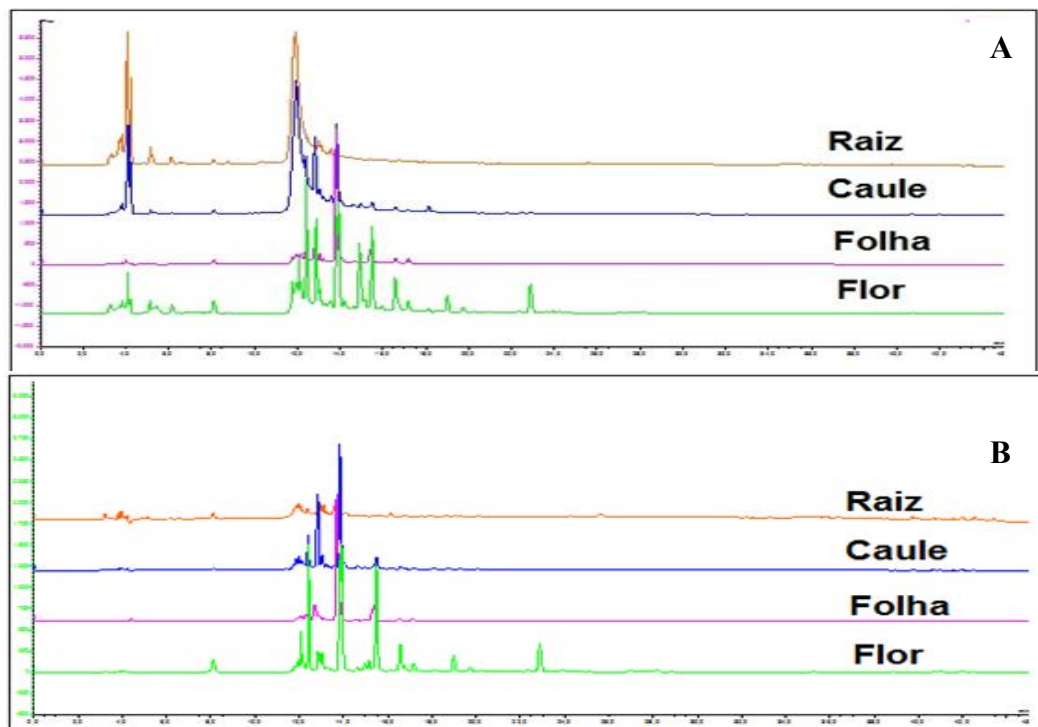


Figura 6 - Perfis cromatográficos de órgãos vegetais de *Inga marginata* Willd. em 254 nm: Extratos etanólicos (A) e Extratos etanólicos após remoção de taninos (B).



3.6 Isolamento das substâncias da Fração 3

A fração 3 com massa de 45,6 mg foi submetida a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) preparativa em coluna cromatográfica C18 (absorção em 254 nm, injeção de 100 μ L e fluxo de 10mL/min) – (**Figura 7**) - e eluída conforme a **Tabela 2**, resultando em 7 bandas (subfrações) as quais tiveram massa correspondente a indicada na **Tabela 3**.

Figura 7 - Cromatograma obtido da Fração 3

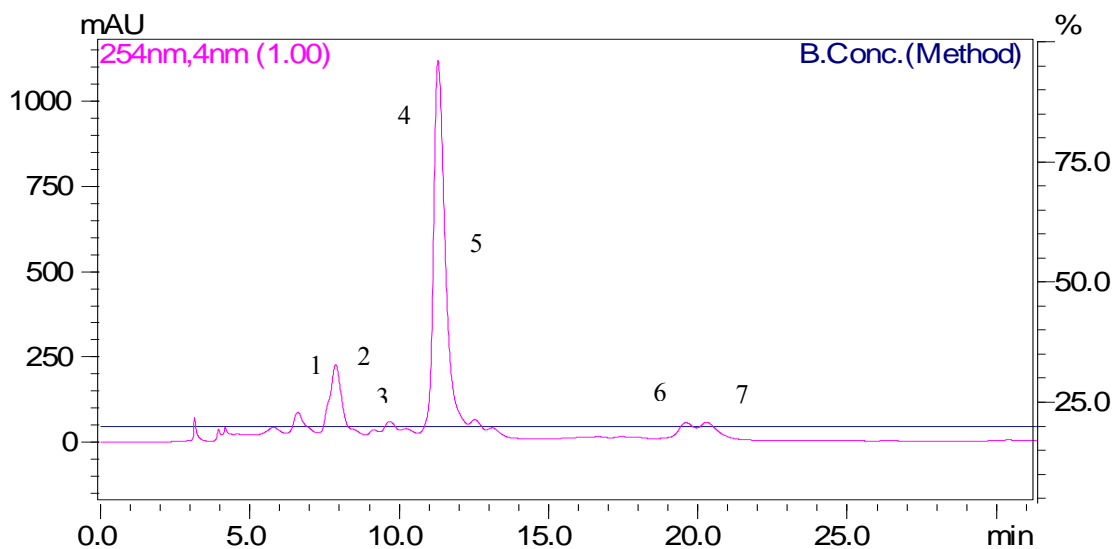


Tabela 2 - Condições cromatográficas do CLAE-DAD preparativo da Fração 3 obtida do extrato etanólico das folhas de *Inga marginata*.

Solvente A	Solvente B	Isocrático	
		Tempo (min.)	B (%)
*H ₂ O	ACN	0	20
		48	20

*Fase aquosa acidificada com 0,1% de ácido fórmico.

Tabela 3 - Massa das subfrações coletadas em CLAE-DAD preparativo da Fração 3.

Massa Fr 3 = 45,6 mg	
Bandas	Massa (mg)
1	0,6
2	1,5
3	0,1
4	8,2
5	1,8
6	1,0
7	1,6

Da fração 3 e através do conjunto de técnicas de determinação estrutural utilizadas, (IF, UV, RMN e EM), foi possível identificar a substância **C5** sendo essa referente à banda 4. As demais frações estão em análise.

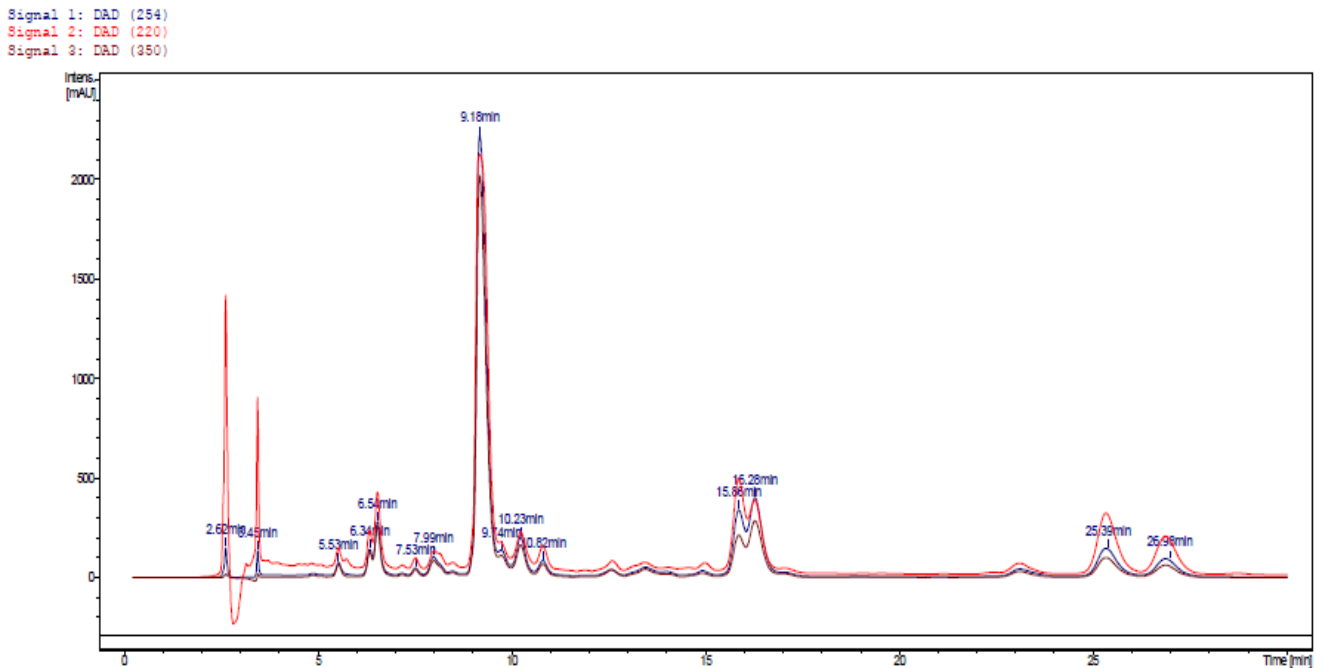
3.7 Isolamento das substâncias da Fração 4

A fração 4, com uma massa equivalente a 15 mg, foi analisada por CLAE-DAD-EFS-TT na qual as condições adotadas estão contidas na tabela abaixo:

Tabela 4 - Condições de análise por CLAE-EFS da Fr. 4 das folhas de *Inga marginata*.

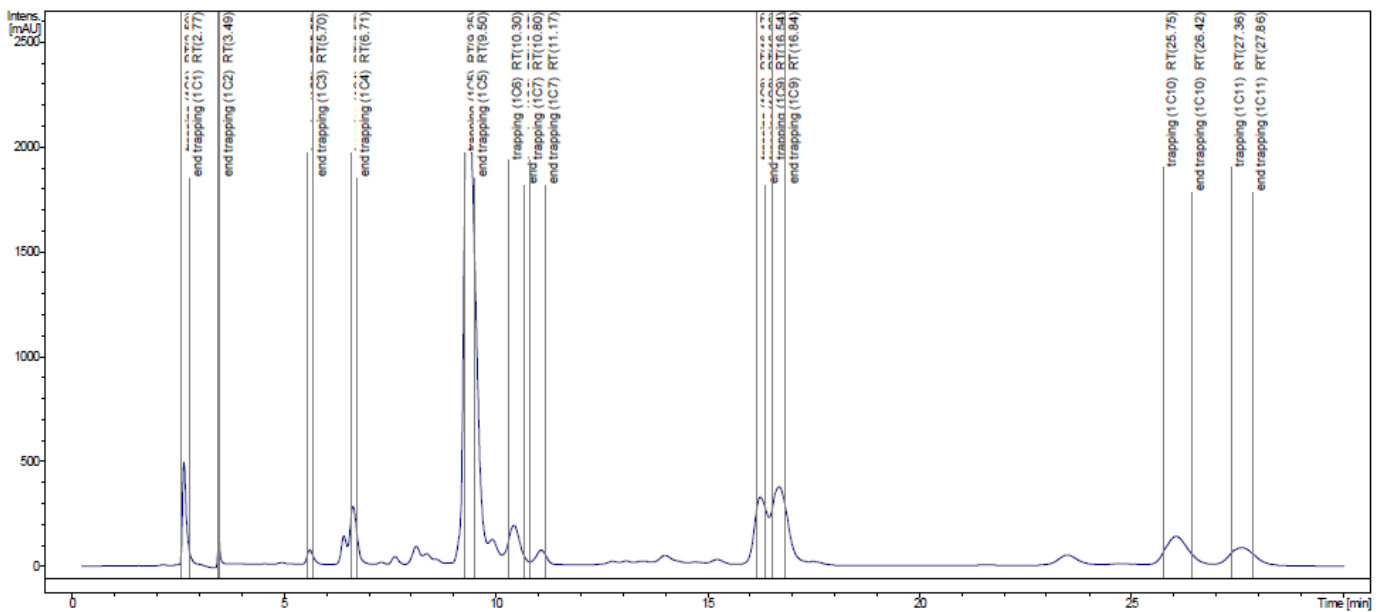
Solvente A	Solvente B	Isocrático	
		Tempo (min.)	B (%)
H ₂ O	ACN	0	20
		30	20

Seguindo um monitoramento em 220, 254 e 350 nm, o perfil obtido por análise CLAE-DAD-EFS-TT foi possível constatar a presença de 11 bandas a serem coletadas. O perfil cromatográfico obtido encontra-se na **Figura 8**:

Figura 8 - Perfil cromatográfico obtido via CLAE-DAD-EFS-TT da Fração 4.

A fração 4 foi então subfracionada no sistema CLAE-EFS considerando a adoção do comprimento de onda de 254 nm e as bandas coletadas (**Figura 9**) analisadas em RMN 600 MHz.

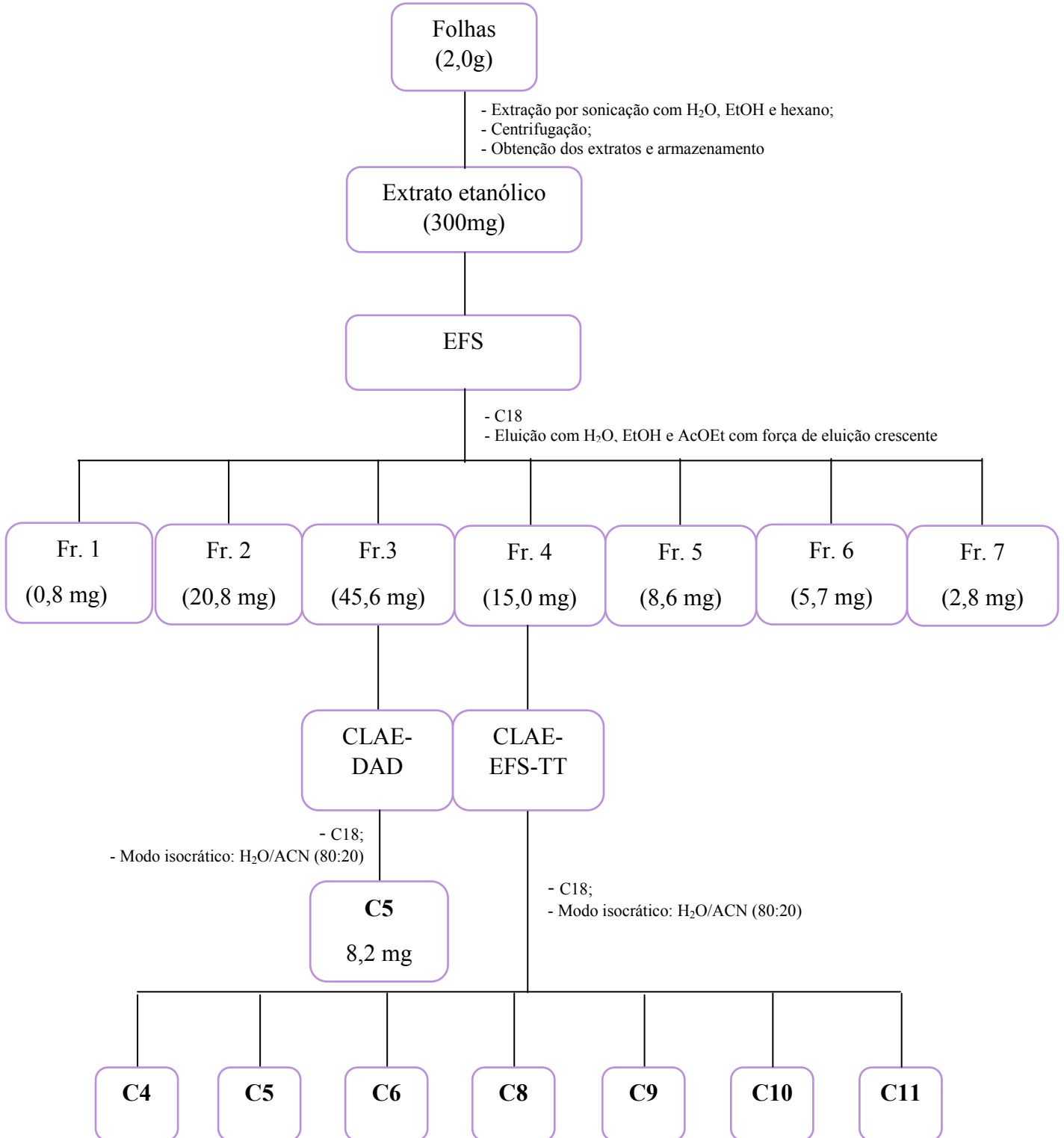
Figura 9 - Perfil cromatográfico obtido por CLAE-DAD-EFS da fração 4 com identificação das bandas coletadas C1, C2, C3, C4, C5, C6, C7, C8, C9, C10 e C11.



Da fração 4 e através do conjunto de técnicas de determinação estrutural utilizadas (IF, UV, RMN e EM), foi possível identificar as substâncias **C5**, **C8**, **C9** e **C10**. As demais frações estão em análise.

O procedimento realizado está resumido no **Fluxograma 1**:

Fluxograma 1- Esquema geral do fracionamento do extrato etanólico das folhas de mudas de *Inga marginata*.



4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O estudo químico das frações 3 e 4, provenientes do extrato etanólico das folhas de mudas de *Inga marginata* Willd., levou ao isolamento de 4 flavonoides: miricetina 3-*O*- α -*L*-ramnopiranosídeo (**C5**), miricetina-3-*O*-(2''-*O*-galoil)- α -*L*-ramnopiranosídeo (**C10**), quercetina-3-*O*- α -*L*-ramnopiranosídeo (**C9**) e miricetina 4'-metiléter-3-*O*-ramnose (**C8**).

4.1. Miricetina-3-*O*- α -*L*-ramnopiranosídeo (**C5**)

Da análise por CLAE-EFS da fração 4 (item 3.7) identificou-se a substância **C5**.

O espectro de absorção na região do infravermelho (**Figura 11**), obtido em solução metanólica, apresentou absorção em $3317,40\text{ cm}^{-1}$ característica de estiramento de OH e sugerindo a presença de hidroxilas no composto. Observou-se também uma absorção em $1652,91\text{ cm}^{-1}$, atribuída à presença de estiramento C=O⁴¹. No espectro UV obtido diretamente do sistema CLAE-DAD foram observadas características típicas de flavonol que incluem absorções em 255 e 349 nm (**Figura 12**).

O espectro de RMN de ¹H (**Figura 13**) apresentou 3 sinais na região de hidrogênios aromáticos, sendo um simpleto em 6,94 ppm e dois dupletos, em 6,37 e 6,21 ppm, ambos com constante de acoplamento equivalente a 2,1 Hz. Foram observados ainda, cinco sinais referente a hidrogênios metínicos oxigenados, sendo um duplete em 5,31 ppm com $J = 1,5\text{ Hz}$, três duplos dupletos em δ 3,33, δ 3,79 ($J = 3,3$ e $9,5\text{ Hz}$) e δ 4,22 ($J = 4,7$ e $3,3\text{ Hz}$), além de um duplete em 0,95 ppm ($J = 6,8\text{ Hz}$) referente a hidrogênios metílicos, sugerindo que a hexose presente seria a ramnose.

Com o auxílio do experimento de HSQC (**Figura 14**) e HMBC (**Figura 15**) foi possível listar vinte sinais de carbonos e atribuir as multiplicidades destes como sendo: doze sinais relativos a carbonos de anel aromático, onde quatro são de CH (δ 94,5; 99,6; 109,4; 109,4) e oito de C (δ 105,7; 121,4; 137,6; 146,6; 146,6; 159,2; 162,9; 165,9), além de dois sinais relativos a carbonos de ligação dupla (δ 136,0; 158,3). Não foi possível observar o sinal da carbonila conjugada. Além destes, foram observados mais cinco sinais na região característica de açúcares: cinco CH (δ 71,7; 71,9; 73,1; 71,8; 107,9) e um CH₃ em δ 17,4. A análise destes dados, associados aos observados no infravermelho, UV e espectro de RMN de ¹H, confirmam a presença de um esqueleto flavonoídico do tipo flavonol glicosilado. Os deslocamentos químicos de **C5** encontram-se na **Tabela 5**.

A molécula desprotonada observada no espectro de massas, modo negativo, indicou uma m/z de 463,0901 (**Figura 16**) sendo compatível com a fórmula molecular $C_{21}H_{20}O_{12}$ proposta para **C5**. A análise dos dados obtidos e comparação com a literatura⁴² (**Tabela 5**) permitiu caracterizar **C5** como sendo miricetina-3-*O*- α -*L*-ramnopiranosídeo, também conhecida como miricetrina (**Figura 10**), previamente isolada do gênero *Inga*¹⁸.

Figura 10 - Miricetina-3-*O*- α -*L*-ramnopiranosídeo

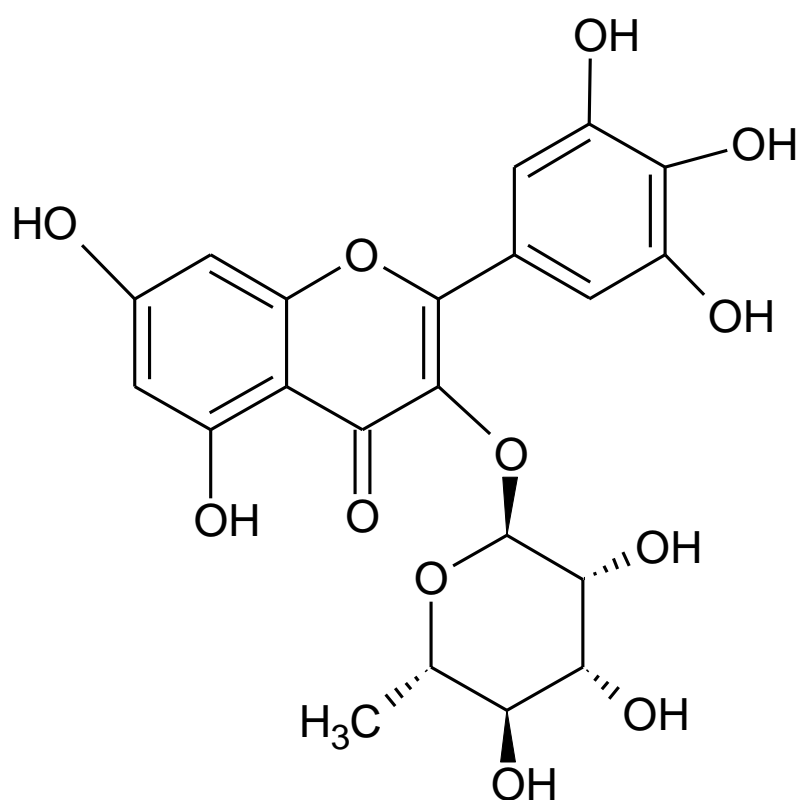


Tabela 5 - Dados de RMN 1D e 2D da substância **C5** e da miricetrina (miricetina-3-*O*- α -*L*-ramnopiranosídeo)⁴².

N° carbono	C5			Miricetina-3- <i>O</i> - α - <i>L</i> -ramnopiranosídeo	
	δ_H^a , Mult, <i>J</i> (Hz)	δ_C^a	HMBC	δ_H^b , Mult, <i>J</i> (Hz)	δ_C^b
2		158,3			159,3
3		136,0			136,1
4		-			179,5
5		162,9			163,1
6	6,21 (1H; <i>d</i> ; 2,1)	99,6	C-5; C-7; C-8; C-10;	6,19 (1H; <i>d</i> ; 2,3)	99,7
7		165,9			164,0
8	6,37 (1H; <i>d</i> ; 2,1)	94,5	C-6; C-7; C-9; C-10	6,35 (1H; <i>d</i> ; 2,3)	94,6
9		159,2			158,4
10		105,7			105,6
1'		121,4			121,7
2'	6,94 (1H; <i>s</i>)	109,4	C-2; C-1'; C-3'; C-4'; C-6'	6,94 (2H; <i>s</i>)	109,4
3'		146,6			146,7
4'		137,6			137,7
5'		146,6			146,7
6'	6,94 (1H; <i>s</i>)	109,4	C-2; C-1'; C-2'; C-4'; C-6'	6,94 (2H; <i>s</i>)	109,4
1''	5,31 (1H; <i>d</i> ; 1,6)	103,4	C-3; C-3''	5,30 (1H; <i>d</i> ; 1,8)	103,5
2''	4,22 (1H; <i>dd</i> ; 1,6 e 3,3)	71,7		4,21 (1H; <i>dd</i> ; 3,2 e 1,8)	71,7
3''	3,79 (1H; <i>dd</i> ; 3,3 e 9,6)	71,9		3,78 (1H; <i>dd</i> ; 9,2 e 3,2)	72,0
4''	3,33 (1H)	73,1		3,33 (1H; <i>t</i> ; 9,2)	73,2
5''	3,52 (1H; <i>m</i>)	71,8		3,51 (1H; <i>dq</i> ; 9,2 e 6,4)	71,9
6''	0,95 (3H; <i>d</i> ; 6,8)	17,4		0,95 (3H; <i>d</i> ; 6,4)	17,5

^aEspectros obtidos em CD₃OD, 600/150MHz

^bEspectros obtidos em CD₃OD, 500/125MHz

Figura 11- Espectro de absorção no infravermelho de **C5** (solução metanólica).

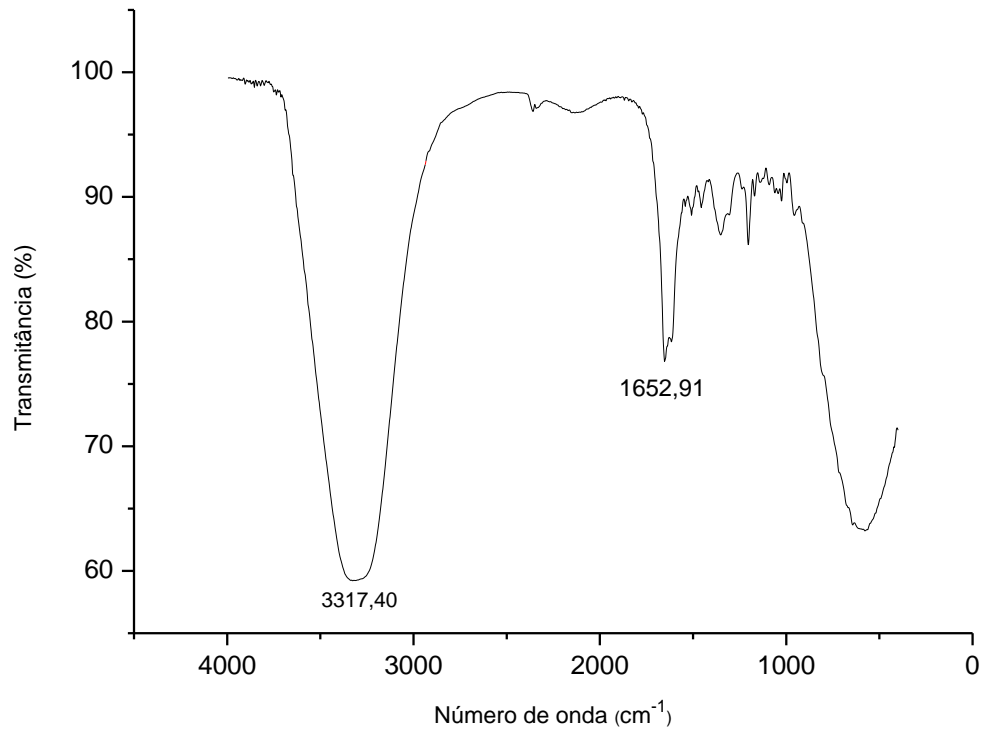


Figura 12 - Identificação da banda e UV referente à C5.

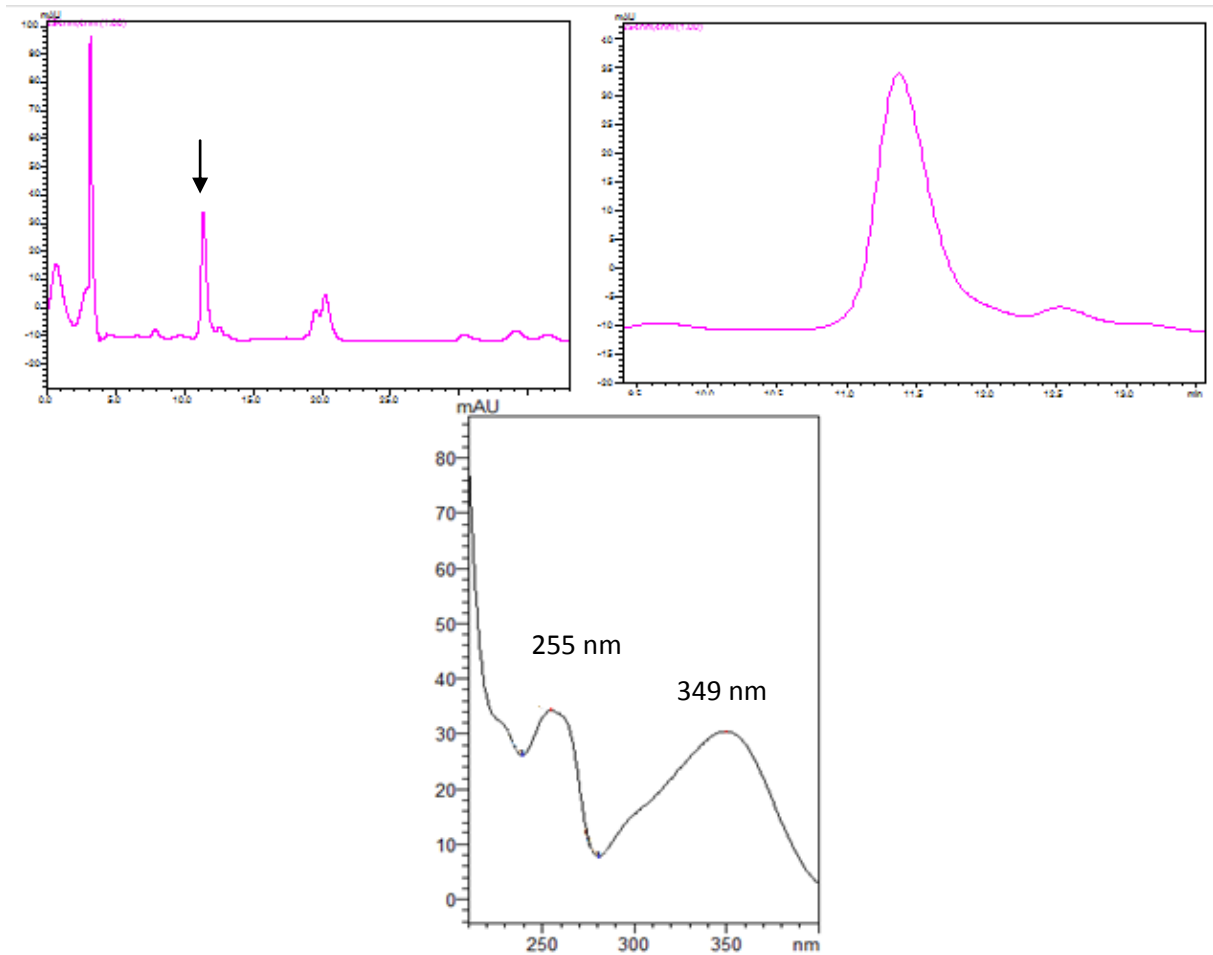


Figura 13 - Espectro de RMN ¹H de **C5** (CD₃OD, 600 MHz).

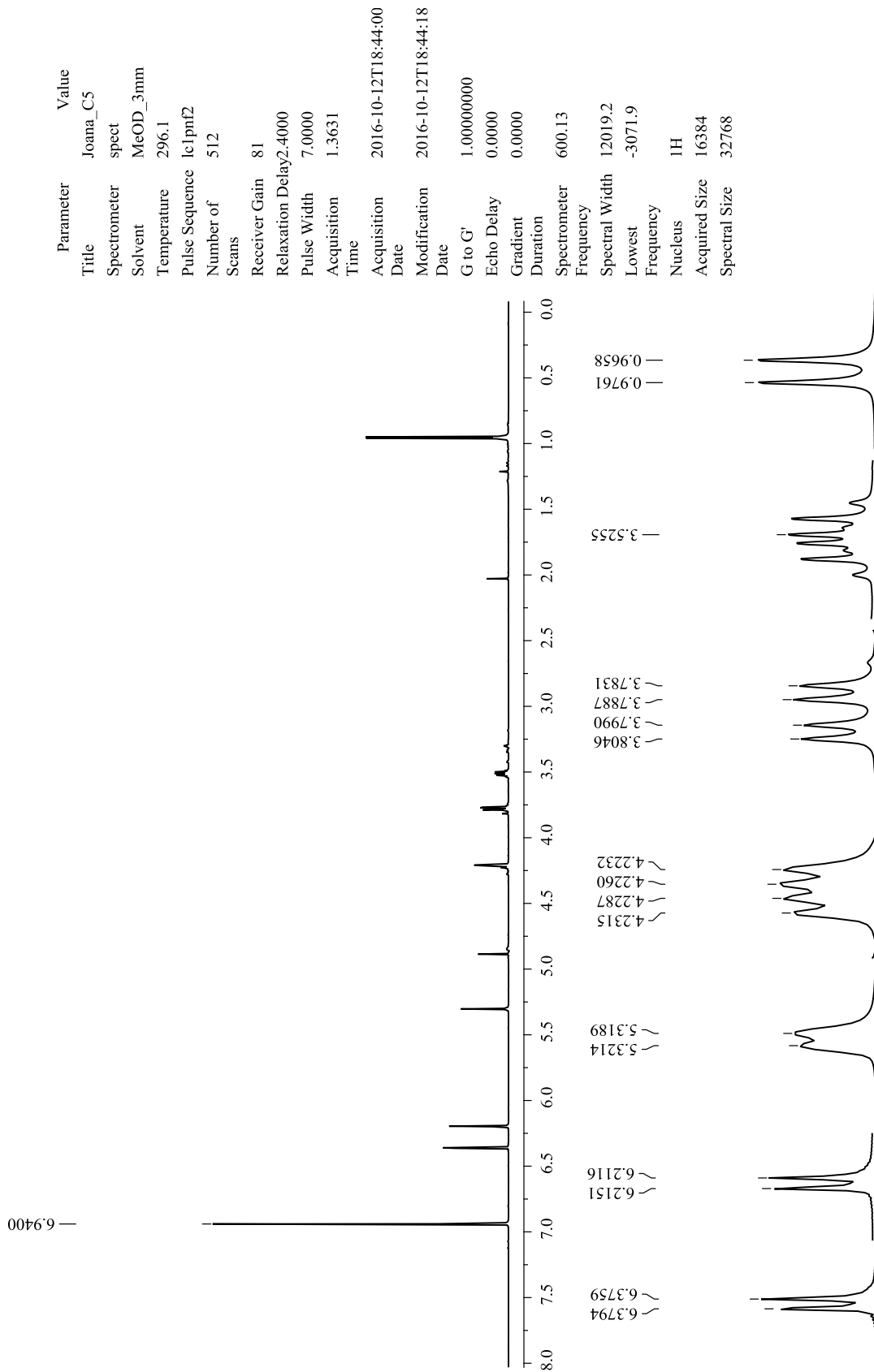


Figura 14 - Espectro de correlações $^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - J_{\text{CH}}$ - HSQC de **C5** (CD_3OD , 600 e 150 MHz).

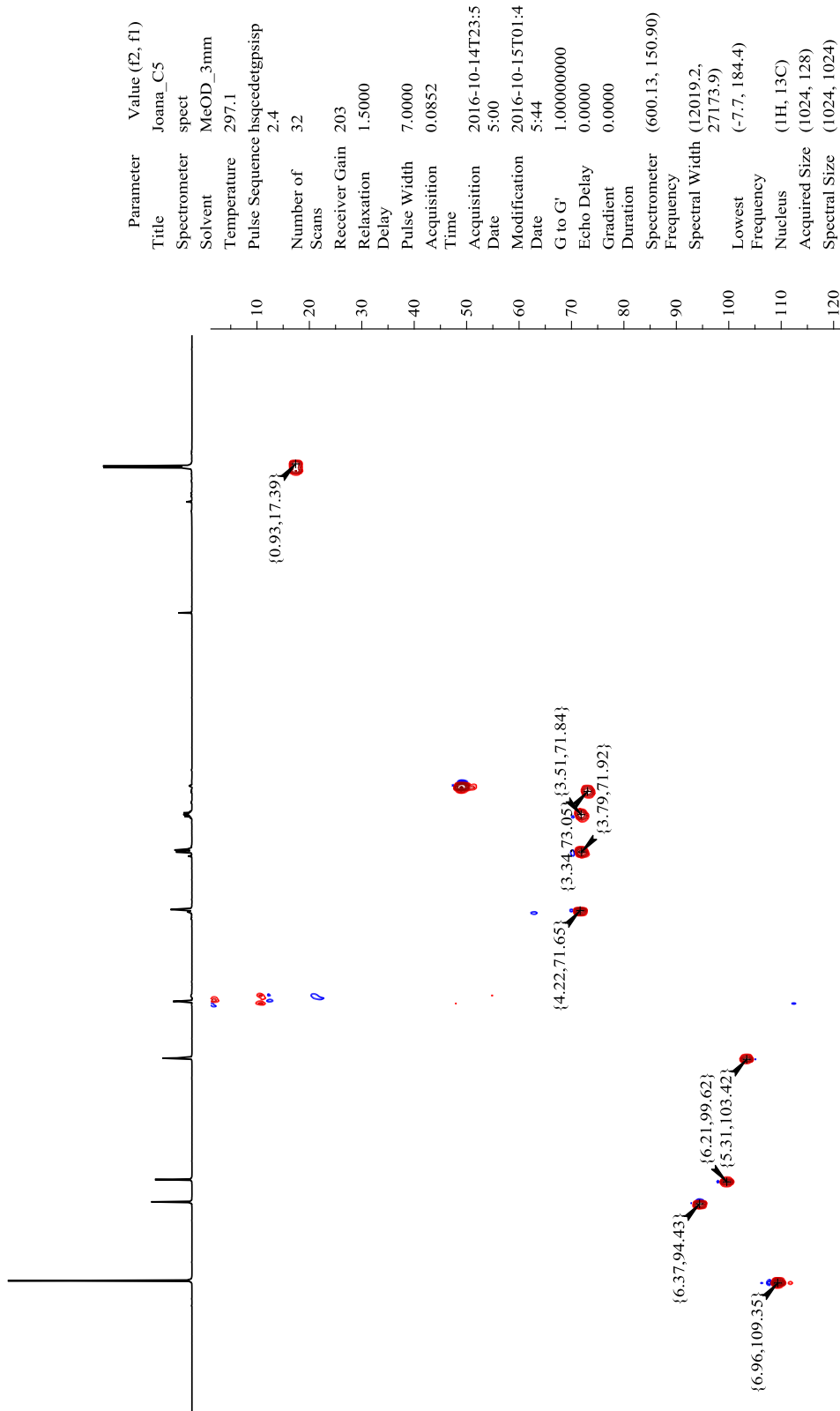


Figura 15 - Espectro de correlações $^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - {}^n\text{J}_{\text{CH}}$ ($n = 2$ e 3) - HMBC de **C5** (CD_3OD , 600 e 150 MHz).

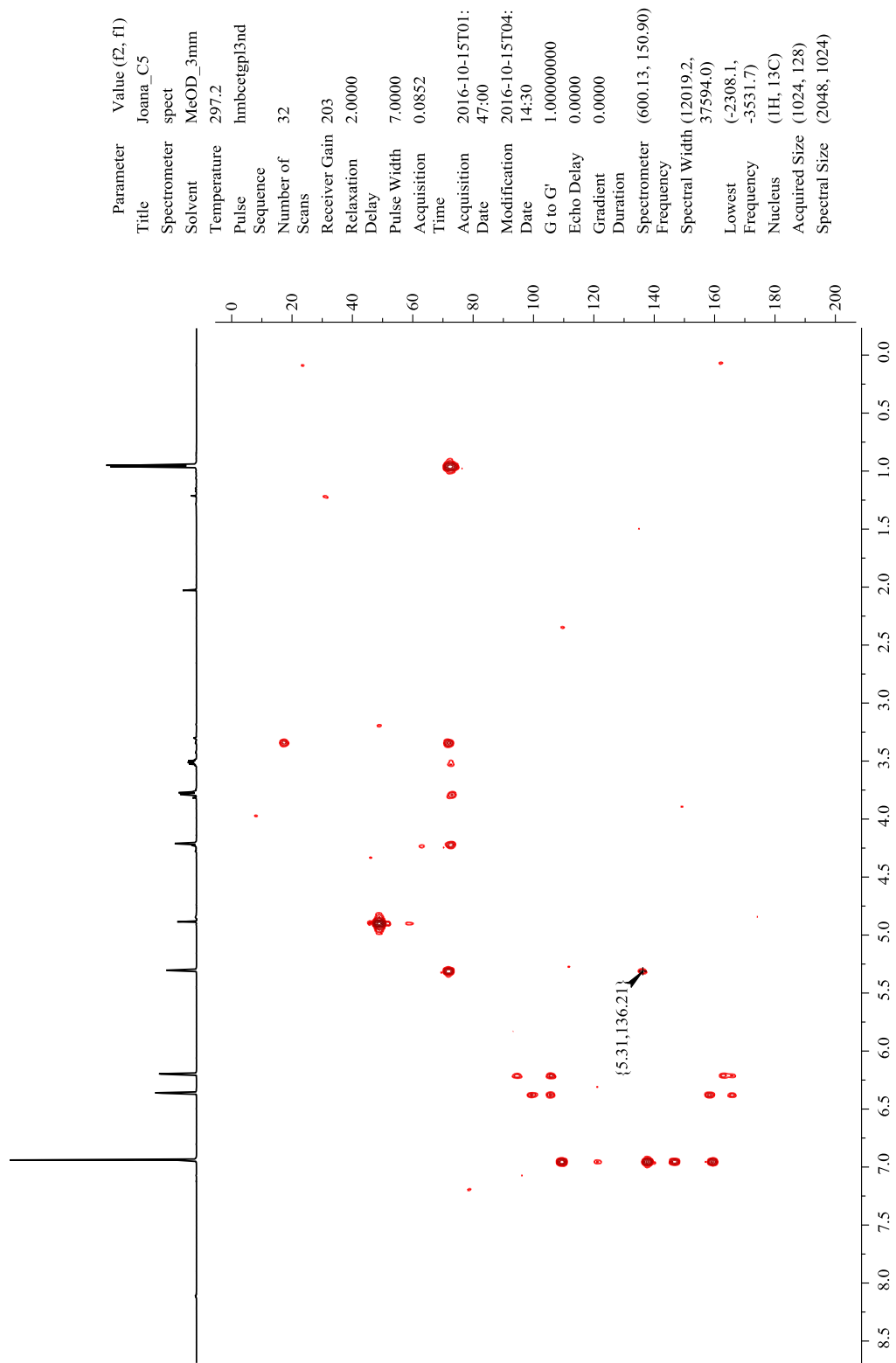
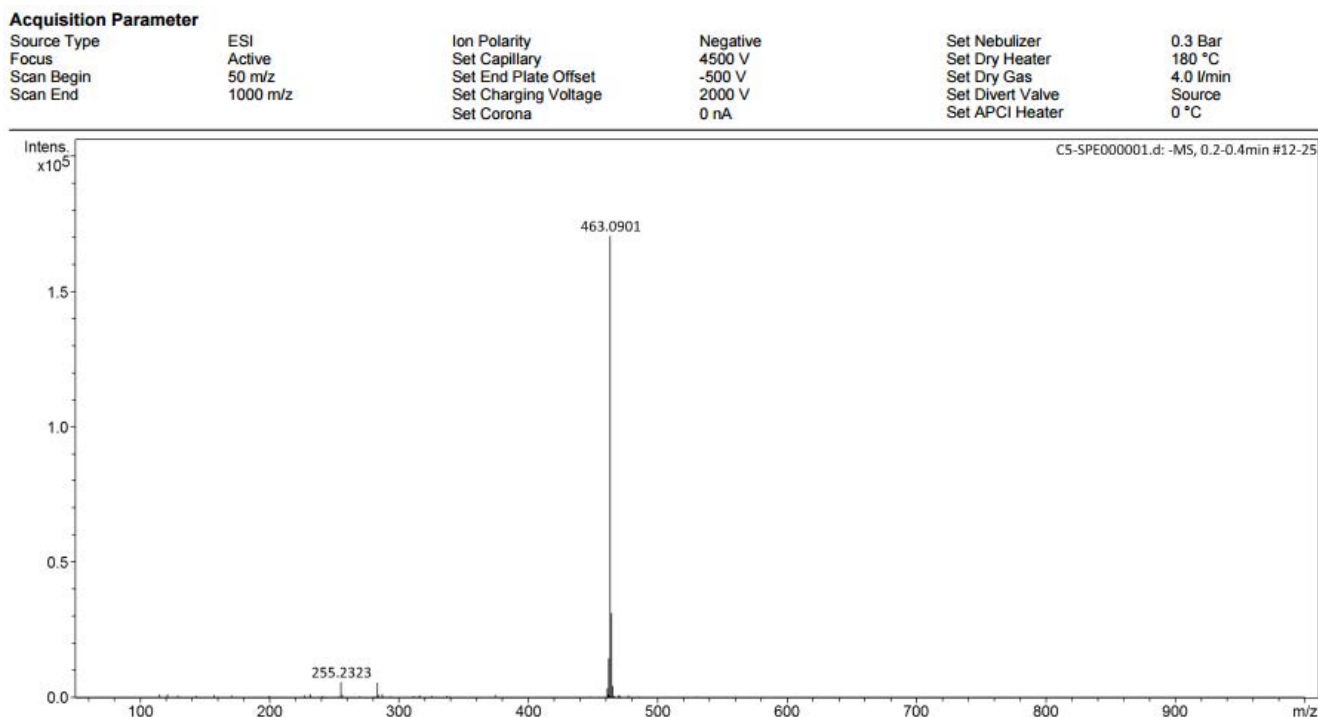


Figura 16 - Espectro de massas por ESI da substância **C5** (modo negativo).



4.2. Miricetina-3-*O*-(2''-*O*-galoil)- α -*L*-ramnopiranosídeo (**C10**)

Da análise por CLAE-EFS da fração 4 (item 3.7) identificou-se a substância **C10**.

O espectro de absorção na região do infravermelho (**Figura 18**) obtido em solução metanólica mostrou uma absorção em 3267,26 cm⁻¹ característica de estiramento de OH sugerindo a presença de hidroxilas no composto. Observou-se também uma absorção em 1649,06 cm⁻¹, atribuída à presença de um estiramento C=O e uma absorção em 1012,58 cm⁻¹ característica de estiramento C – O de ésteres⁴¹. No espectro UV obtido diretamente do sistema CLAE-DAD foram observadas características típicas de flavonol que incluem absorções em 265 e 348 nm (**Figura 19**).

O espectro de RMN de ¹H (**Figura 20**) apresentou um perfil de sinais semelhantes aos de **C5**, indicando tratar-se de um derivado de miricetina. Os sinais em 6,38 (H8) e 6,21 (H6) ppm correspondem aos hidrogênios do anel A e o sinal em 6,98 ppm (H2'; H6') ao anel B. O espectro apresentou sinais na região de 3,0 a 5,5 ppm característicos de açúcares, apresentando um sinal em 5,50 ppm atribuído ao hidrogênio anomérico da unidade da

ramnose. Foi possível constatar também a presença de um simpleto em 7,08 ppm sugestivo da presença de uma unidade de ácido gálico.

Com base nos espectros por HSQC e HMBC (**Figuras 21 e 22**) foi possível listar 11 sinais de carbonos sp^2 típicos da estrutura básica da miricetina. A partir dos dados provenientes do espectro de HSQC foi possível listar os outros sinais de carbono característicos de açúcares: quatro entre 70 – 74 ppm, um referente a metila em 17, 60 ppm e outro em 100,21 ppm referente ao carbono anomérico. Os deslocamentos químicos de **C10** encontram-se na **Tabela 6**.

A molécula desprotonada observado no espectro de massas indicou uma m/z de 615,1022 (**Figura 23**), sendo compatível com a fórmula molecular $C_{28}H_{24}O_{16}$ proposta para **C10**. A análise dos dados obtidos e a comparação com os da literatura⁴³ (**Tabela 6**) permitiu caracterizar **C10** como sendo a miricetina-3-*O*-(2''-*O*-galoil)- α -*L*-ramnospiranosídeo, também conhecida como desmantina-1 também já isolada do gênero *Inga*²⁵ e representada na **Figura 17**.

Figura 17 - Miricetina-3-*O*-(2''-*O*-galoil)- α -*L*-ramnospiranosídeo

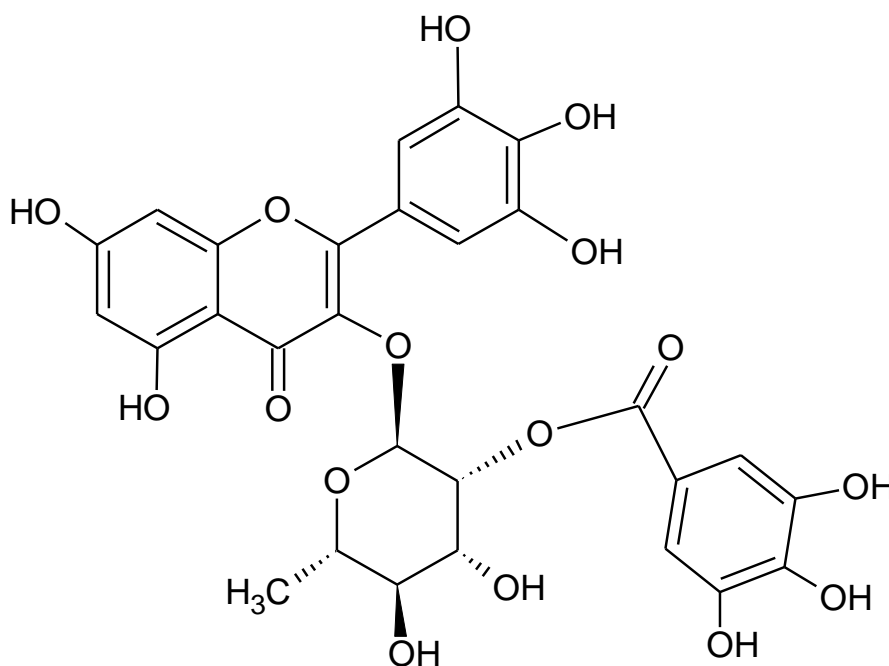


Tabela 6 - Dados de RMN 1D e 2D de **C10** e da desmantina-1 (miricetina-3-*O*-(2''-*O*-galoil)- α -*L*-ramnopiranosídeo)⁴³.

N° carbono	C10			Desmantina-1
	δ_H^a , Mult, <i>J</i> (Hz)	δ_C^a	HMBC	δ_C^b
2		159,4		158,4
3				134,5
4				178
5				162,8
6	6,21 (1H; <i>d</i> ; 2,1)	99,6	C10	99,9
7		164,3		165,4
8	6,38 (1H; <i>d</i> ; 2,1)	94,5	C9	94,4
9		158,8		157,5
10		105,9		105,0
1'				122,6
2'	6,98 (1H; <i>s</i>)	109,4	C2; C3'; C4'; C6'	109,5
3'		146,4		146,4
4'		137,9		137,0
5'		146,4		146,4
6'	6,98 (1H; <i>s</i>)	109,4	C2; C2'; C4'; C5'	109,5
1''	5,50 (1H; <i>d</i> ; 1,6)	100,2	C5''	99,3
2''	5,63 (1H; <i>dd</i> ; 1,6 e 3,4)	73,3		72,9
3''	4,05 (1H; <i>dd</i> ; 3,4 e 9,1)	70,5		70,1
4''	3,48 (1H; <i>m</i>)	73,5		73,2
5''	3,50 (1H; <i>m</i>)	71,7		71,6
6''	1,00 (1H; <i>d</i> ; 5,8)	17,6		17,0
1'''				121,3
2'''	7,08 (1H; <i>s</i>)	110,2	C3'''; C4'''; C6'''; C=O	109,1
3'''		146,2		145,7

4'''		139,8		139,3
5'''		146,2		145,7
6'''	7,08 (1H; <i>s</i>)	110,2	C2'''; C4'''; C5'''; C=O	100,1
C=O		167,3		168,8

^aEspectros obtidos em CD₃OD, 600/150MHz.

^bEspectros obtidos em CD₃OD.

Figura 18 - Espectro na região do infravermelho de **C10** (solução metanólica).

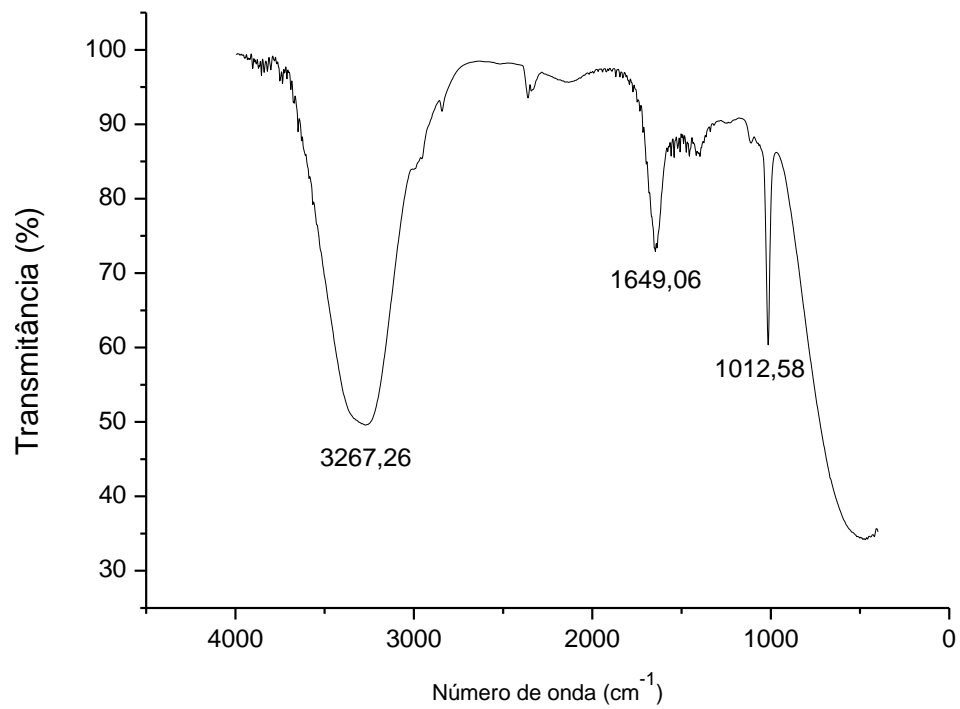


Figura 19 - Identificação e UV da banda referente à C10.

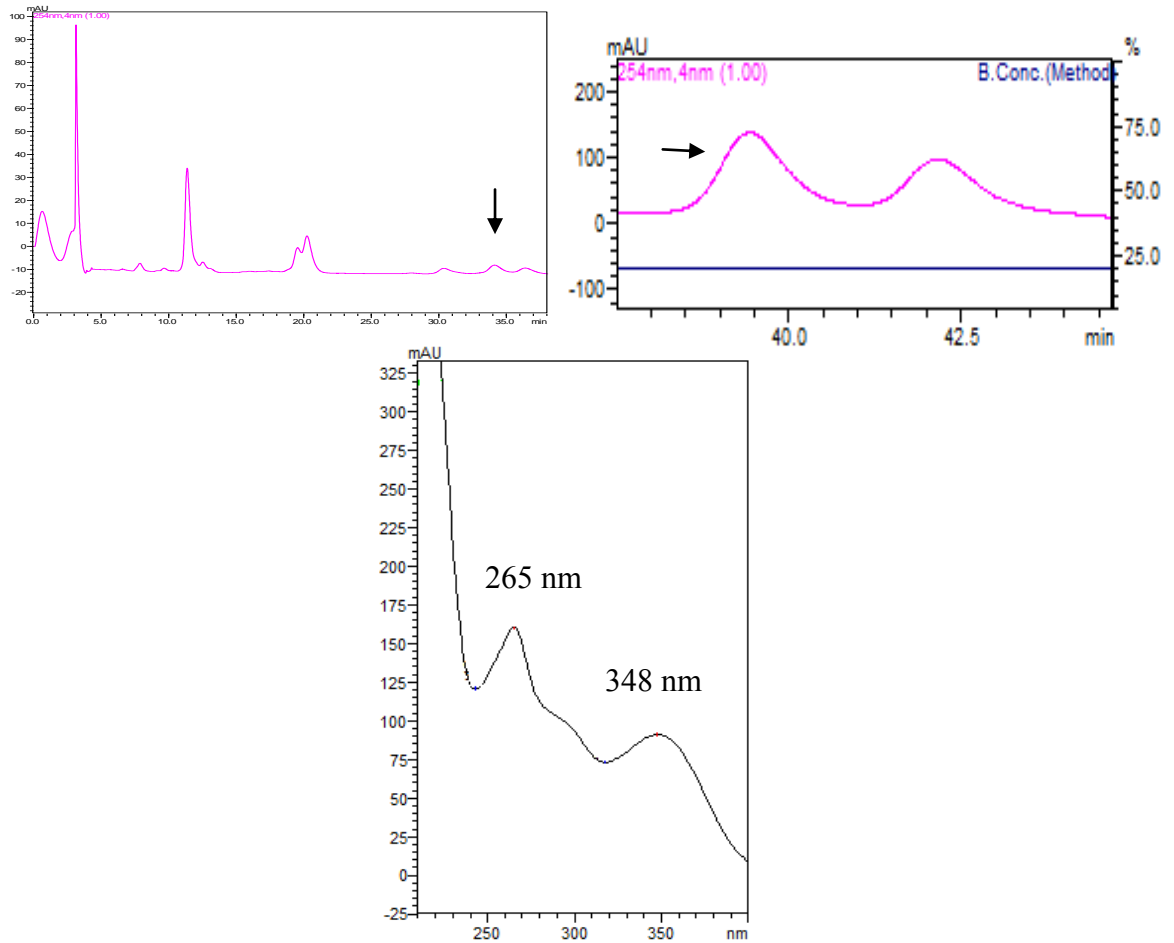


Figura 20 - Espectro de RMN ^1H de **C10** (CD_3OD , 600 MHz).

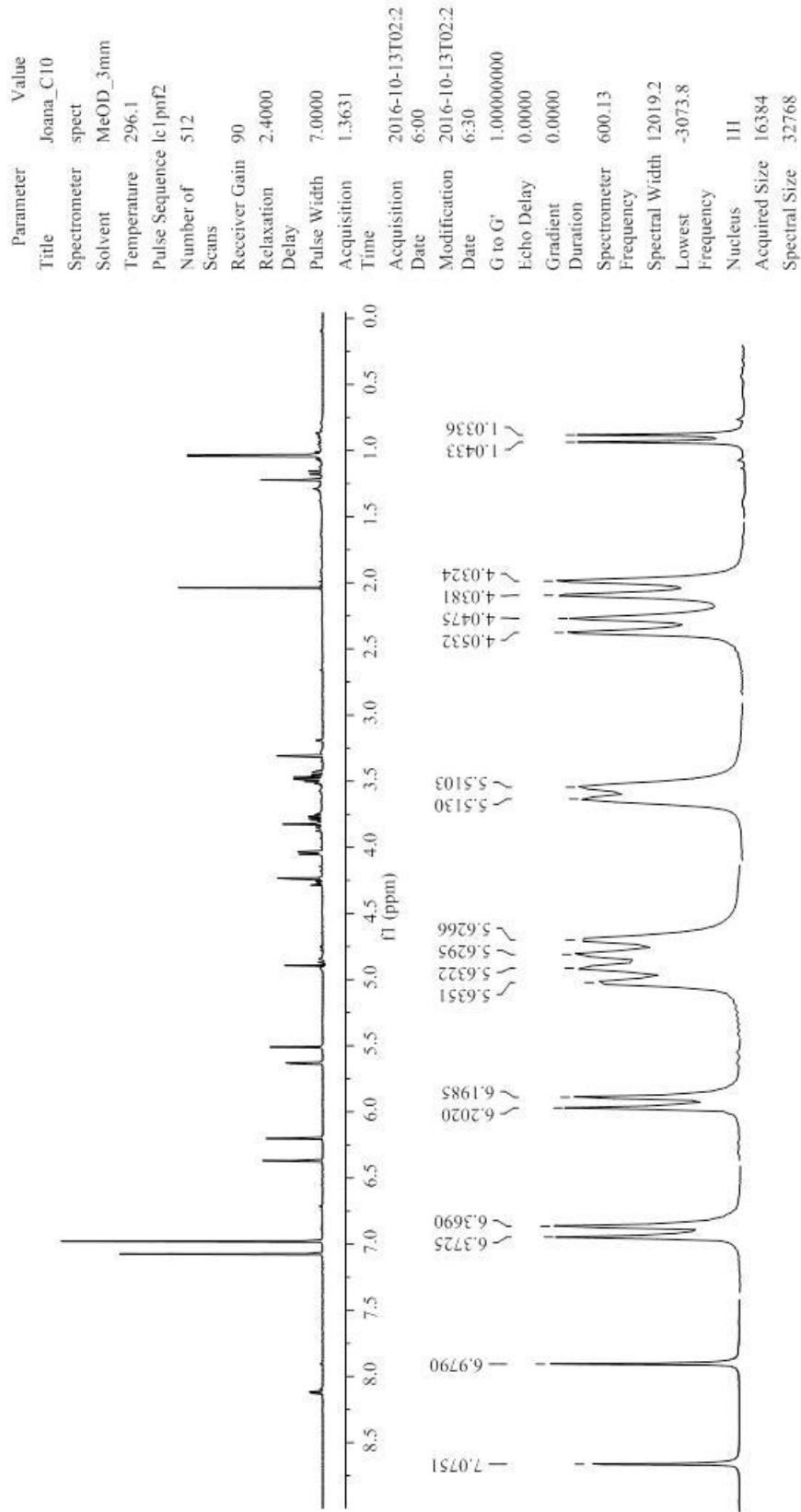


Figura 21 - Espectro de correlações $^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - J_{\text{CH}}$ - HSQC de **C10** (CD_3OD , 600 e 150 MHz).

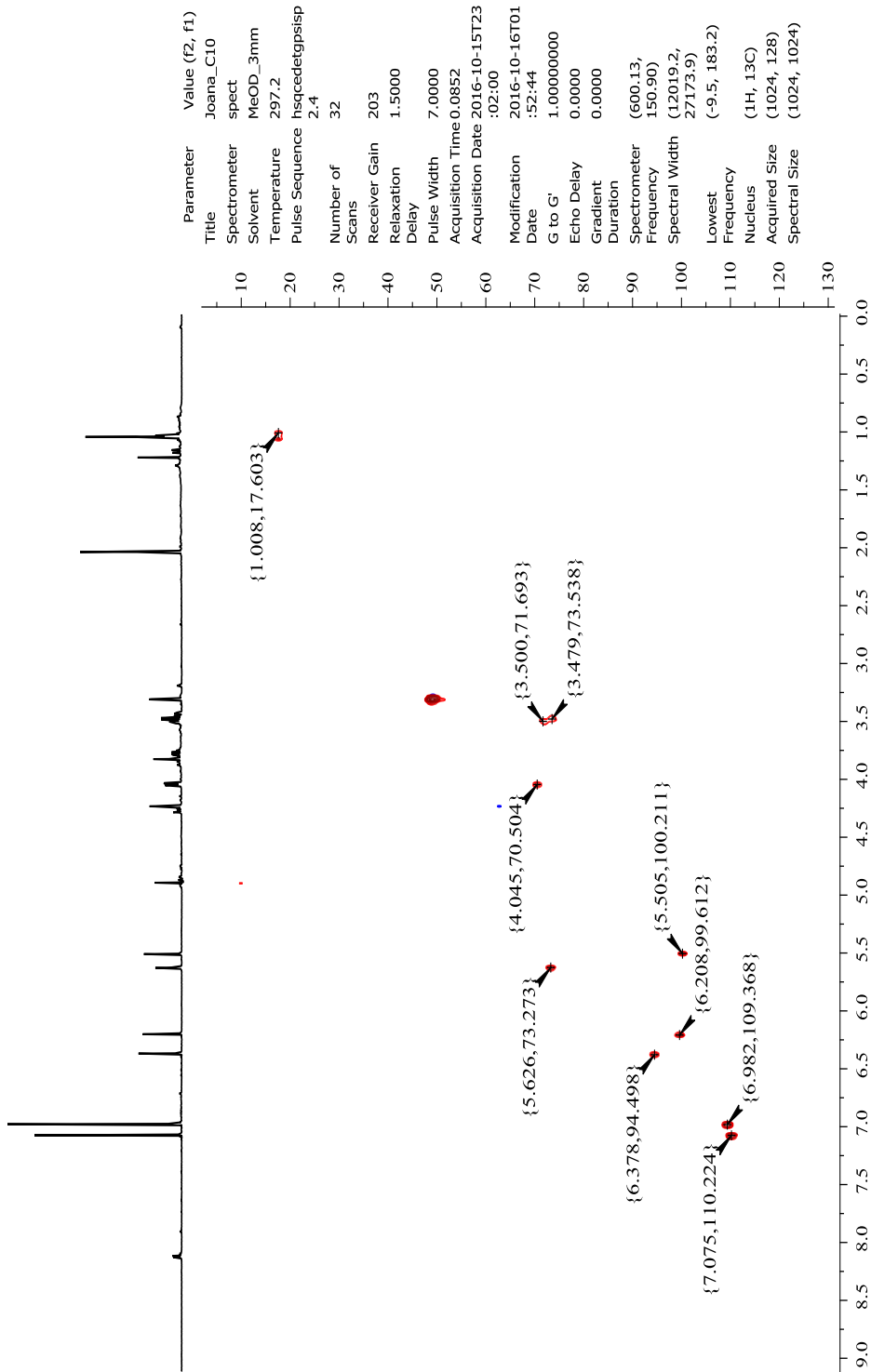


Figura 22 - Espectro de correlações $^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - {}^n\text{J}_{\text{CH}}$ ($n = 2$ e 3) - HMBC de **C10** (CD_3OD , 600 e 150 MHz).

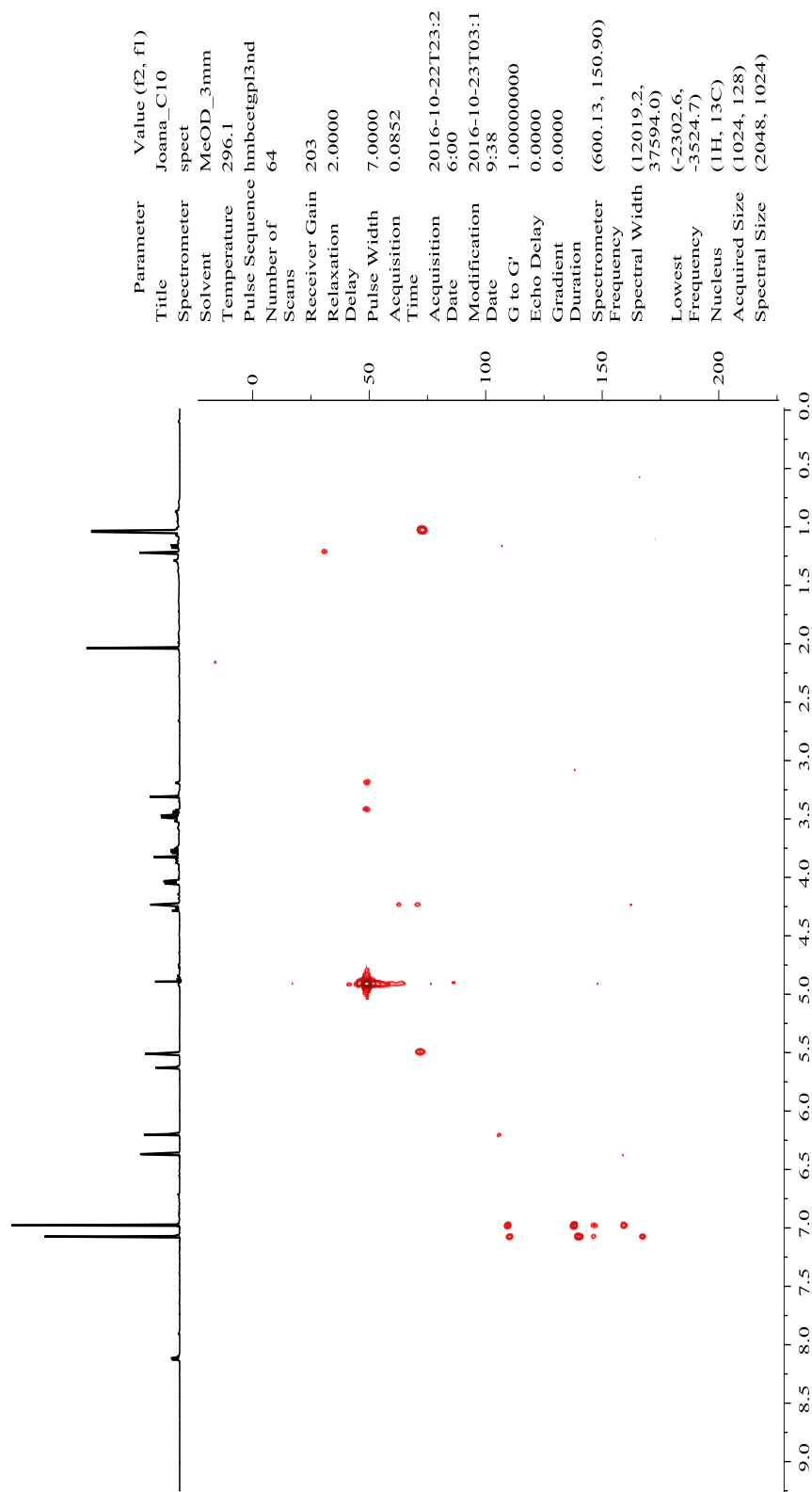
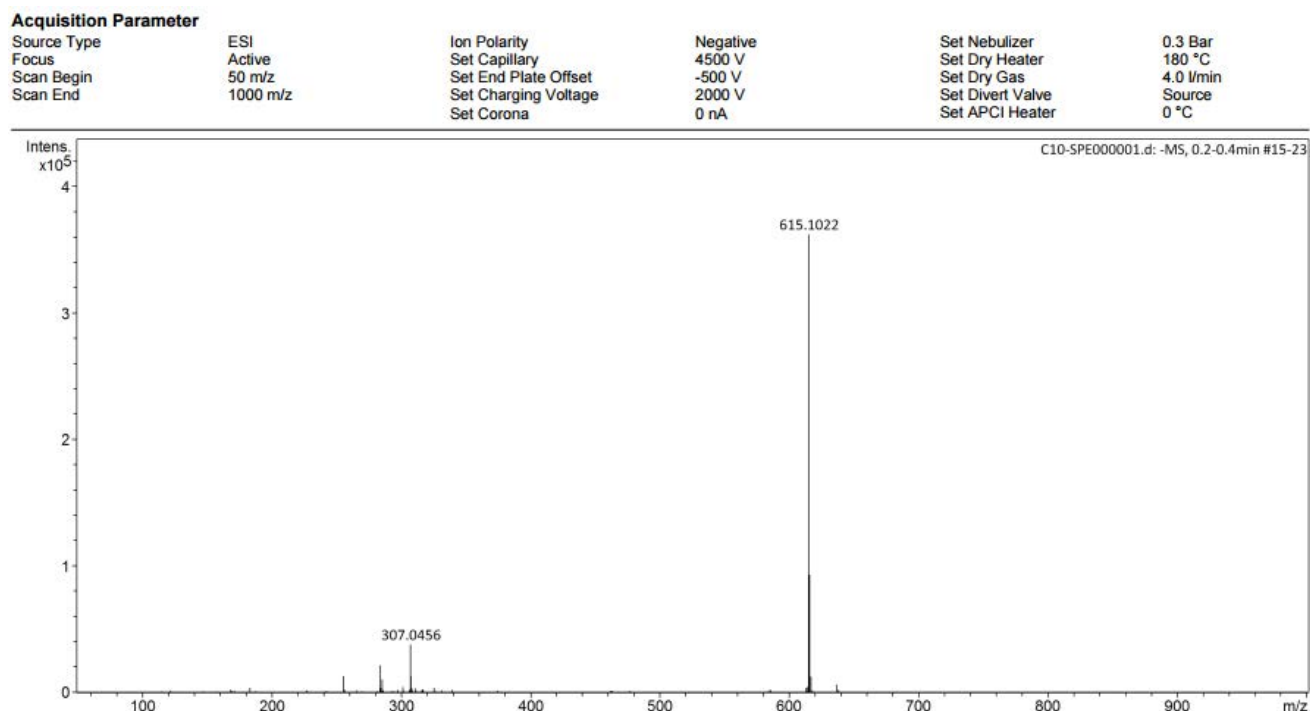


Figura 23 - Espectro de massas obtido por ESI da substância **C10** (modo negativo).



4.3. Quercetina-3-*O*- α -*L*-ramnopiranosídeo (C9)

Da análise por CLAE-EFS da fração 4 (item 3.7) identificou-se a substância **C9**.

O espectro de absorção na região do infravermelho (**Figura 25**) obtido em solução metanólica mostrou uma absorção em 3280,76 cm⁻¹ sendo essa característica de estiramento de OH e sugerindo a presença de hidroxilas no composto. Observou-se também uma absorção em 1645,20 cm⁻¹, atribuída à presença de estiramento C=O e uma absorção em 1012,58 cm⁻¹ característica de estiramento C-O de ésteres⁴¹. No espectro UV obtido diretamente do sistema CLAE-DAD foram observadas características típicas de flavonol que incluem absorções em 259 e 347 nm (**Figura 26**).

O espectro de RMN de ¹H (**Figura 27**) apresentou 5 sinais na região de hidrogênios aromáticos, sendo quatro dupletos, em 7,35 ppm ($J = 2,2$ Hz); 6,92 ppm ($J = 8,3$ Hz); 6,39 ppm ($J = 2,1$ Hz) e 6,22 ppm ($J = 2,1$ Hz) e um duplo duplete em 7,31 ppm ($J = 2,2$ e 8,3 Hz). Foram observados ainda um duplete em 5,35 ppm com $J = 1,6$ Hz, dois duplos dupletos em 4,22 ppm ($J = 1,7$ e 3,4 Hz), 3,75 ppm ($J = 3,4$ e 9,5 Hz), um multipletos em 3,34 ppm, um sinal em 3,41 ppm o qual não foi possível identificar a constante de acoplamento devido à

região do sinal de solvente, além de um duplete em 0,91 ppm ($J = 6,2$ Hz) referente a hidrogênios metílicos, sugerindo que a hexose presente seria a ramnose.

Com o auxílio do experimento de HSQC (**Figura 28**) e HMBC (**Figura 29**) foi possível listar dezoito sinais de carbonos e atribuir as multiplicidades destes como sendo: doze sinais relativos a carbonos de anel aromático, onde cinco são de CH (δ 94,5; 99,6; 116,3; 116,8, 122,7) e sete de C (δ 105,9; 136,2; 146,4; 146,7; 158,0; 158,9; 163,9) e o sinal da carbonila conjugada não foi observado; os dados de ressonância encontram-se na **Tabela 9**. Além destes, foram observados mais cinco sinais na região característica de açúcares: cinco CH (δ 71,7; 71,9; 72,1; 73,0; 103,3) e um CH₃ em δ 17,4. A análise destes dados, associados aos observados no infravermelho, no UV e no espectro de RMN de ¹H, sugeriu a presença de um derivado de quercetina glicosilado.

A molécula desprotonada observada no espectro de massas indicou uma m/z de 447,0934 (**Figura 30**) sendo compatível com a fórmula molecular C₂₁H₂₀O₁₁ que foi proposta para **C9**. A análise dos dados obtidos e comparação com os da literatura⁴⁴ (**Tabela 7**) permitiu caracterizar **C9** como sendo a quercetina-3-*O*- α -L-ramnopiranosídeo (**Figura 24**), também conhecida como quercetrina, também já isolada do gênero *Inga*¹⁹.

Figura 24 - Quercetina-3-*O*- α -L-ramnopiranosídeo.

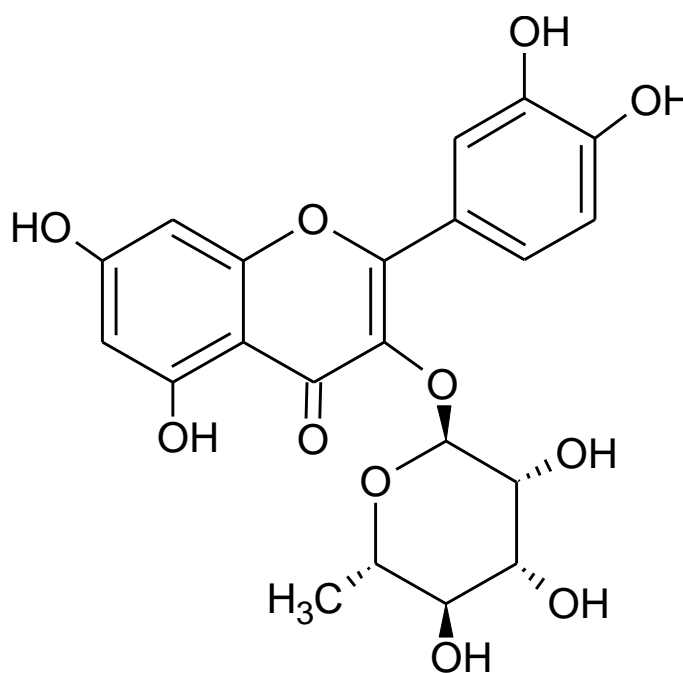


Tabela 7 - Dados de RMN 1D e 2D de **C9** e da quercitrina (quercetina-3-*O*- α -*L*-ramnopiranosídeo)⁴⁴.

Nº carbono	C9			Quercetina-3- <i>O</i> - α - <i>L</i> -ramnopiranosídeo	
	δ_H^a , Mult, <i>J</i> (Hz)	δ_C^a	HMBC	δ_H^b , Mult, <i>J</i> (Hz)	δ_C^b
2		158,9			158,6
3		136,3			136,4
4		-			179,7
5		163,9			163,3
6	6,22 (1H; <i>d</i> ; 2,1)	99,6	C-5; C-8; C-10	6,13 (1H; <i>d</i> ; 2,1)	99,9
7		-			166,0
8	6,39 (1H; <i>d</i> ; 2,1)	94,4	C-5; C-6; C-9	6,30 (1H; <i>d</i> ; 2,1)	94,9
9		158,0			159,4
10		105,9			106,0
1'		-			123,1
2'	7,35 (1H; <i>d</i> ; 2,2)	116,8	C-2; C-3'; C-4'; C-6'	7,28 (H; <i>d</i> ; 2,1)	116,5
3'		146,4			146,5
4'		149,7			149,9
5'	6,92 (1H; <i>d</i> ; 8,3)	116,3	C-3'; C-4'; C-6'	6,85 (1H; <i>d</i> ; 8,3)	117,1
6'	7,31 (1H; <i>dd</i> ; 2,2 e 8,3)	122,7	C-2'; C-4'	7,24 (1H; <i>dd</i> ; 8,3 e 2,1)	123,0
1''	5,35 (1H; <i>d</i> ; 1,6)	103,4	C-3; C-2''	5,29 (1H; <i>d</i> ; 1,7)	103,7
2''	4,22 (1H; <i>dd</i> ; 1,7 e 3,4)	71,7		4,17 (1H; <i>dd</i> ; 3,4 e 1,7)	72,2
3''	3,75 (1H; <i>dd</i> ; 3,4 e 9,5)	72,0		3,70 (1H; <i>dd</i> ; 9,3 e 3,4)	72,2
4''	3,34 (1H; <i>m</i>)	73,2	C-3''; C-6''	3,29 (1H; <i>d</i> ; 9,3)	73,4
5''	3,41 (1H)	71,8		3,37(1H; <i>m</i>)	72,0
6''	0,91 (3H; <i>d</i> ; 6,2)	17,4	C-5''	0,89 (3H; <i>d</i> ; 6,1)	17,8

^aEspectros obtidos em CD₃OD, 600/150MHz.^bEspectros obtidos em CD₃OD, 400/100MHz.

Figura 25 - Espectro na região do infravermelho de **C9** (solução metanólica).

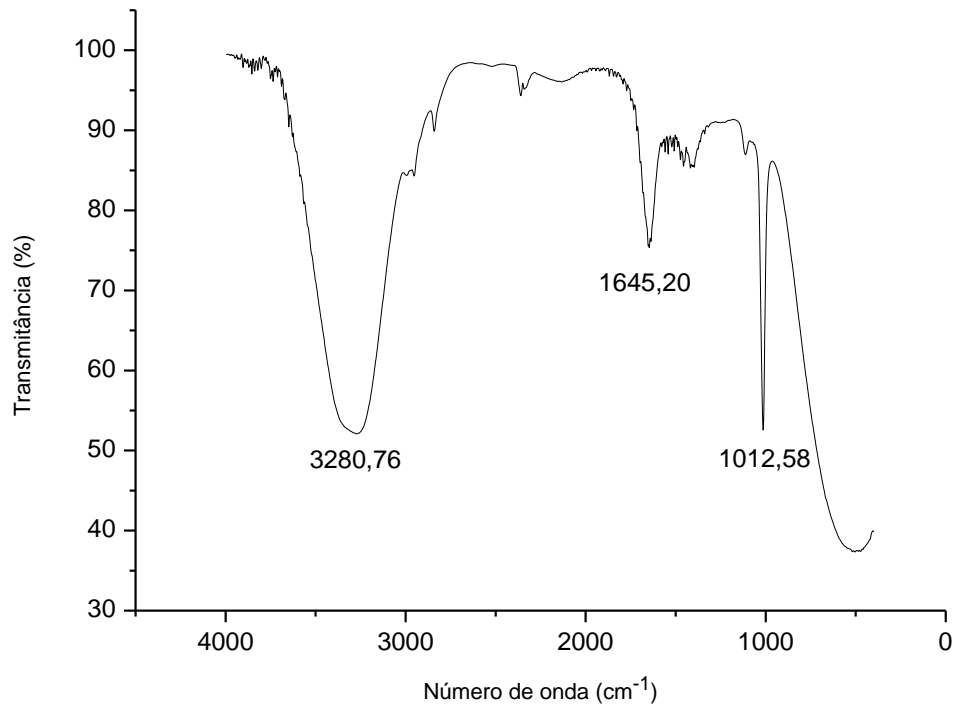


Figura 26 - Identificação e UV referente à **C9**.

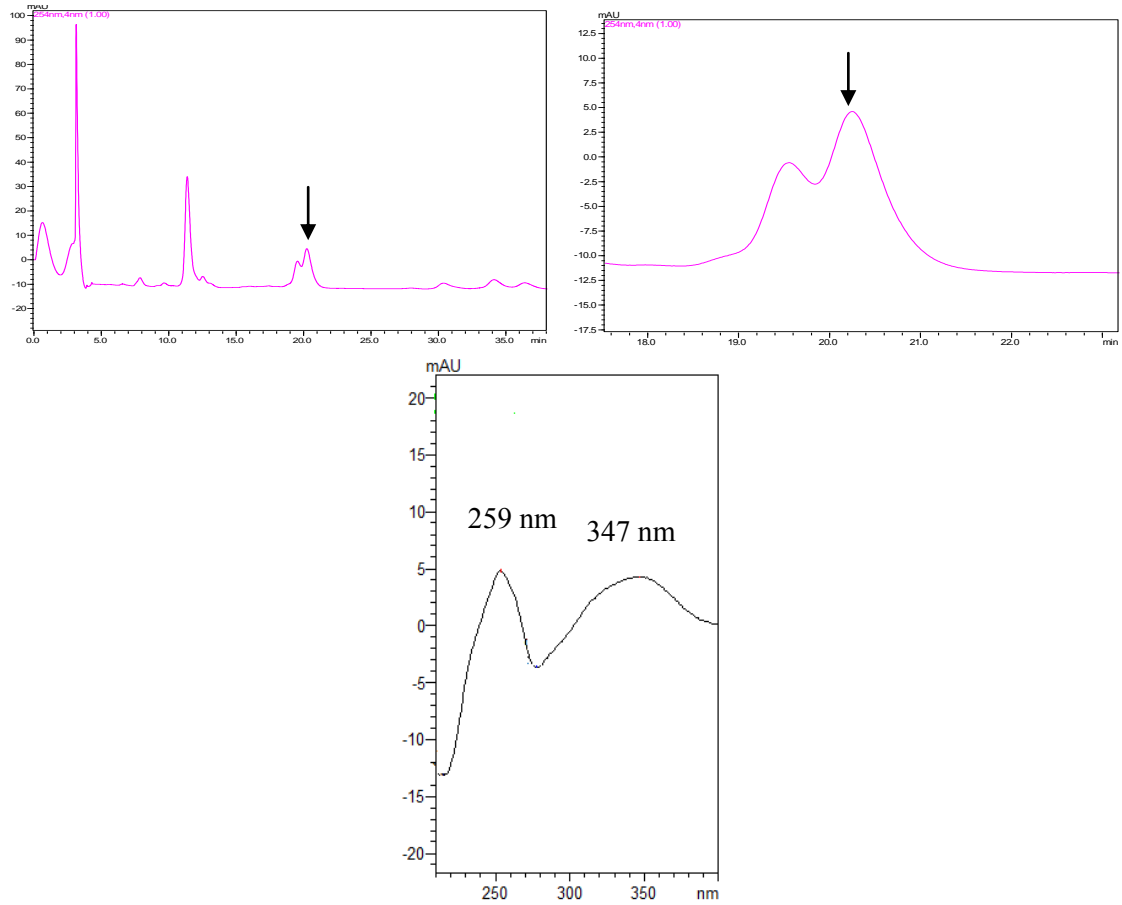
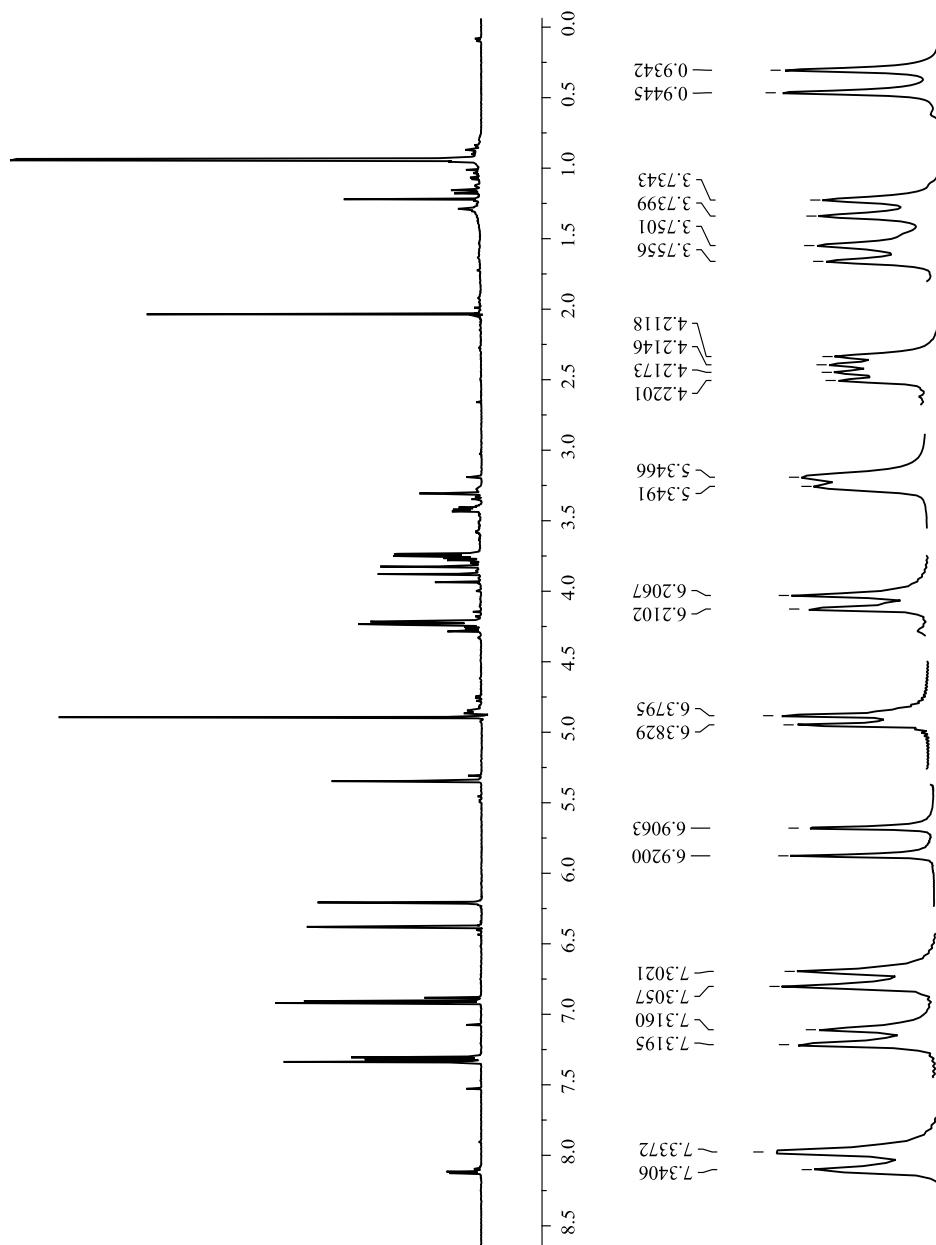
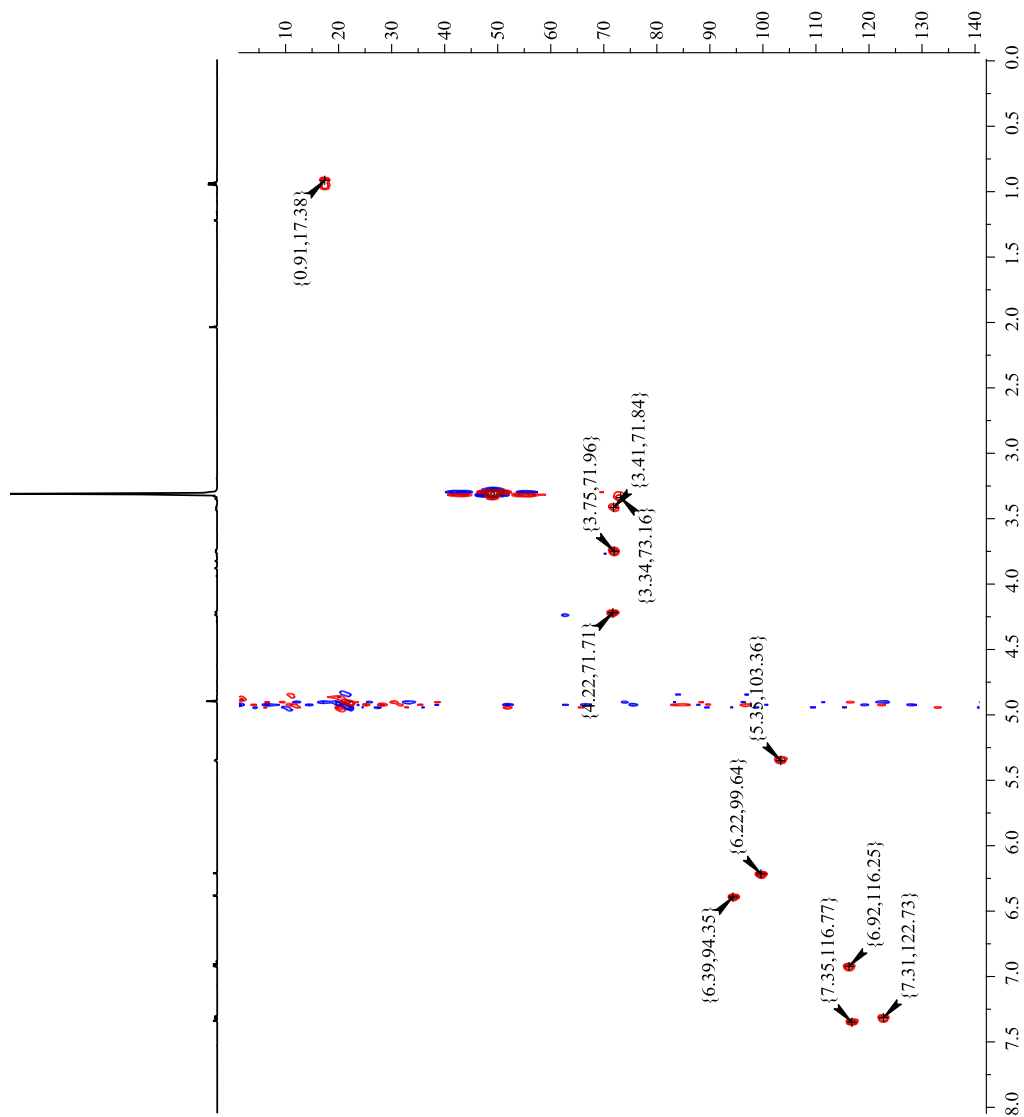


Figura 27 - Espectro de RMN ¹H de C9 (CD₃OD, 600 MHz).



Parameter	Value
Title	Joana_C9
Spectrometer	spect
Solvent	MeOD_3mm
Temperature	296.1
Pulse Sequence	lc1pmf2
Number of Scans	512
Receiver Gain	101
Relaxation Delay	2.4000
Pulse Width	7.0000
Acquisition Time	1.3631
Acquisition Date	2016-10-13T01:47:00
Modification Date	2016-10-13T01:47:10
G to G'	1.00000000
Echo Delay	0.0000
Gradient Duration	0.0000
Spectrometer Frequency	600.13
Spectral Width	12019.2
Lowest Frequency	-3074.0
Nucleus	¹ H
Acquired Size	16384
Spectral Size	32768

Figura 28 - Espectro de correlações $^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - J_{\text{CH}}$ - HSQC de **C9** (CD_3OD , 600 e 150 MHz).



Parameter	Value (2, f1)
Title	Joana_C9
Spectrometer	spect
Solvent	MeOD_3mm
Temperature	297.1
Pulse Sequence	hsqcetgpcisp
Number of Scans	2.4
Receiver Gain	32
Relaxation Delay	203
Pulse Width	1.5000
Acquisition Time	7.0000
Acquisition Date	0.0852
Modification Date	2016-10-15T17:15:00
G to G'	2016-10-15T19:05:38
Echo Delay	1.00000000
Gradient Duration	0.0000
Spectrometer Frequency	0.0000
Spectral Width	(600.13, 150.90)
Lowest Frequency	(12019.2, 27173.9)
Nucleus	(-6.5, 183.8)
Acquired Size	(1H, 13C)
Spectral Size	(1024, 128)
	(1024, 1024)

Figura 29 - Espectro de correlações $^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - ^n\text{J}_{\text{CH}}$ (n = 2 e 3) - HMBC de C9 (CD_3OD , 600 e 150 MHz).

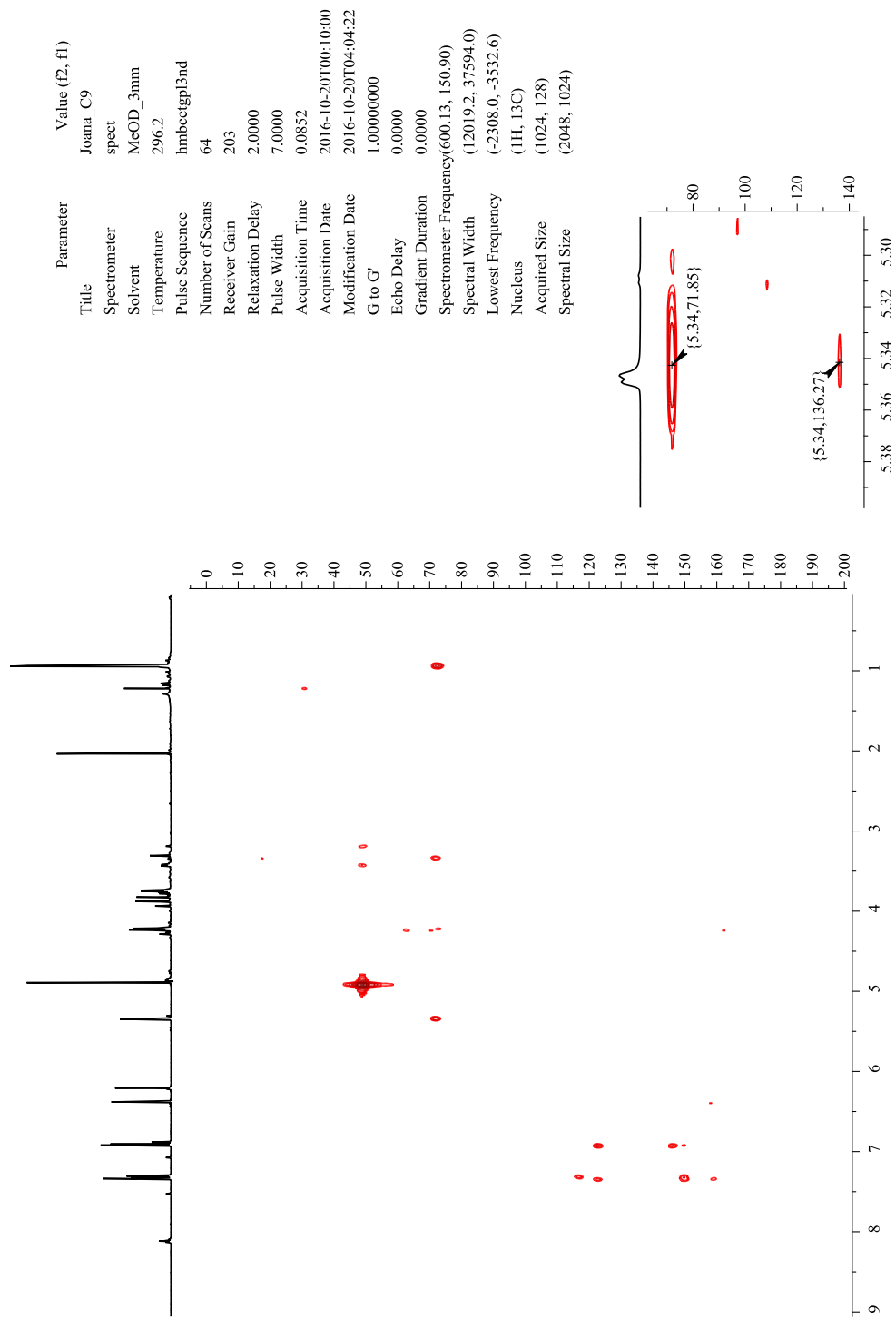
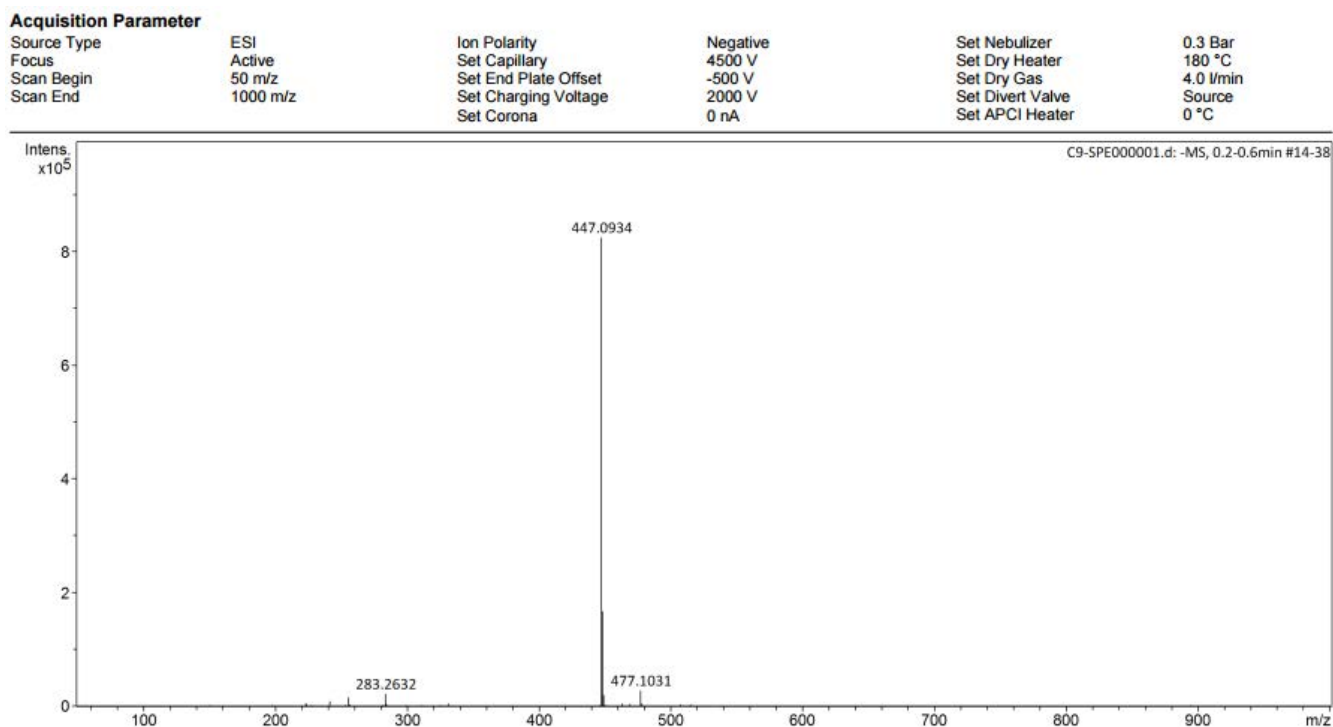


Figura 30 - Espectro de massas obtido por ESI da substância **C9** (modo negativo).



4.4 Miricetina 4'-metileter-3-O-ramnosídeo (C8)

Da análise por CLAE-EFS da fração 4 (item 3.7) identificou-se a substância **C8**.

O espectro de absorção na região do infravermelho (**Figura 32**) obtido em solução metanólica mostrou uma absorção em $3282,69\text{ cm}^{-1}$ característica de estiramento de OH sugerindo a presença de hidroxilas no composto. Observou-se também uma absorção em $1647,13\text{ cm}^{-1}$, atribuída à presença de estiramento C=O e uma absorção em $1012,58\text{ cm}^{-1}$ característica de estiramento C – O de ésteres⁴². No espectro UV obtido diretamente do sistema CLAE-DAD foram observadas características típicas de flavonol que incluem absorções em 258 e 318 nm (**Figura 33**).

No espectro de RMN de ^1H (**Figura 34**) observou-se que o perfil dos sinais é bem semelhante ao de **C5**, indicando-se tratar de um derivado de miricetina. Os sinais em 6,38 (H8) e 6,22 (H6) ppm correspondem aos hidrogênios do anel A e o simpleto em 6,88 ppm (H2'; H6') ao anel B. O espectro apresentou sinais na região de 3,0 a 5,5 ppm característicos

de açúcares, destacando o sinal em 5,31 ppm atribuído ao hidrogênio anomérico da unidade da ramnose. Adicionalmente, o espectro mostrou um simpleto em 3,88 ppm característico da presença de uma metoxila.

Com o auxílio do experimento de HSQC (**Figura 35**) e HMBC (**Figura 36**) foi possível listar quatorze sinais de carbonos e atribuir as multiplicidades destes como sendo: doze sinais relativos a carbonos de anel aromático, onde quatro são de CH (δ 94,6; 99,7; 109,6; 109,6) e quatro de C (δ 104,9; 139,0; 159,1 e 152,0). Além destes, foram observados mais cinco sinais na região característica de açúcares: cinco CH (δ 71,7; 71,9; 72,3; 72,5 e 103,5) e um CH₃ em δ 17,5. A análise destes dados, associados aos observados no infravermelho, UV e espectro de RMN de ¹H, confirmam a presença de um esqueleto flavonoídico do tipo flavonol glicosilado. Os deslocamentos químicos de **C8** encontram-se na **Tabela 8**.

A molécula desprotonada observada no espectro de massas, modo negativo, indicou uma m/z de 477,1054 (**Figura 37**) sendo compatível com a fórmula molecular C₂₂H₂₂O₁₂ proposta para **C8**, também observou-se um fragmento de razão m/z 331,0456 referente a perda de 146,0598, massa equivalente e sugestiva da perda de uma unidade de ramnose. A análise dos dados obtidos e comparação com a literatura⁴⁵ (**Tabela 8**), permitiu caracterizar **C8** como sendo miricetina 4'-metiléter-3-*O*-ramnose, também conhecida como mearnsitrina (**Figura 31**), sendo este o primeiro relato desse flavonoide no gênero *Inga*.

Figura 31 - Miricetina 4'-metiléter-3-*O*-ramnose

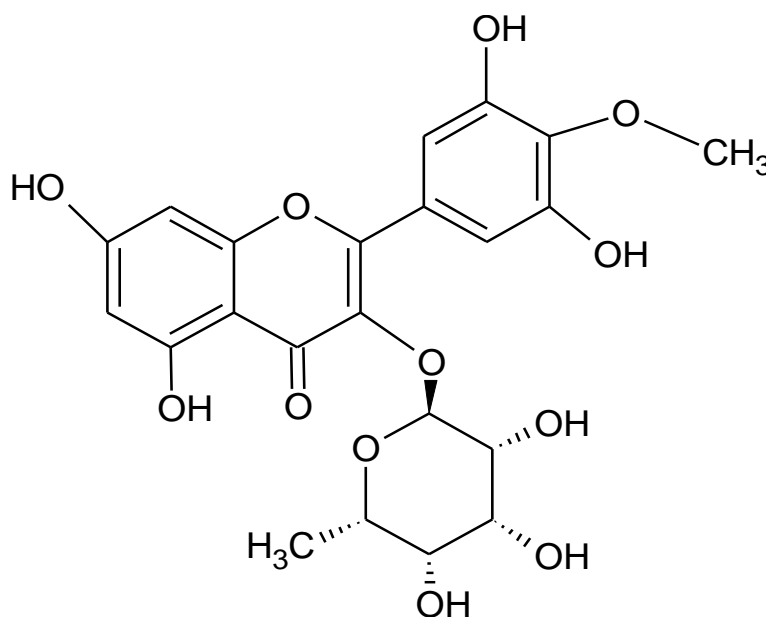


Tabela 8- Dados de RMN 1D e 2D de **C8** e da mearnsitrina (miricetina 4'-metiléter-3-*O*-ramnose)⁴⁵

Nº carbono	C8			Miricetina 4'-metiléter-3- <i>O</i> -ramnose ⁴⁵	
	δ_H^a , Mult, <i>J</i> (Hz)	δ_C^a	HMBC	δ_H^b , Mult, <i>J</i> (Hz)	δ_C^b
2		159,1			158,4
3					139,7
4					179,6
5					163,2
6	6,22 (1H; <i>d</i> ; 2,1)	99,7		6,20 (1H; <i>d</i> ; 1,8)	99,8
7		-			166
8	6,38 (1H; <i>d</i> ; 2,1)	94,6	C10	6,37 (1H; <i>d</i> ; 1,8)	94,7
9					157,5
10		104,9			106,2
1'					124,6
2'	6,88 (1H; <i>s</i>)	109,6	C2; C3'; C4'; C6'		109,8
3'		152,0			151,9
4'		139,0			136,7
5'		152,0			151,9
6'	6,88 (1H; <i>s</i>)	109,6	C2; C2'; C4'; C5'	6,88 (1H; <i>s</i>)	109,8
1''	5,31 (1H; <i>d</i> ; 1,7)	103,5	C3''	5,31 (1H; <i>d</i> ; 2,1)	103,7
2''	4,22 (1H; <i>dd</i> ; 1,7 e 3,3)	71,7			72,0
3''	3,75 (1H)	71,9			72,0
4''	3,33 (1H)	72,5			73,4
5''	3,33 (1H)	72,3			71,9
6''	0,93 (3H; <i>d</i> ; 5,7)	17,5	C5''	0,82 (3H; <i>d</i> ; 5,0)	17,7
OCH3	3,88 (3H; <i>s</i>)	60,7	C4'	3,87 (3H; <i>s</i>)	60,9

^aEspectros obtidos em CD₃OD, 600/150MHz.^bEspectros obtidos em CD₃OD,200/200MHz.

Figura 32 - Espectro de absorção no infravermelho de **C8**.

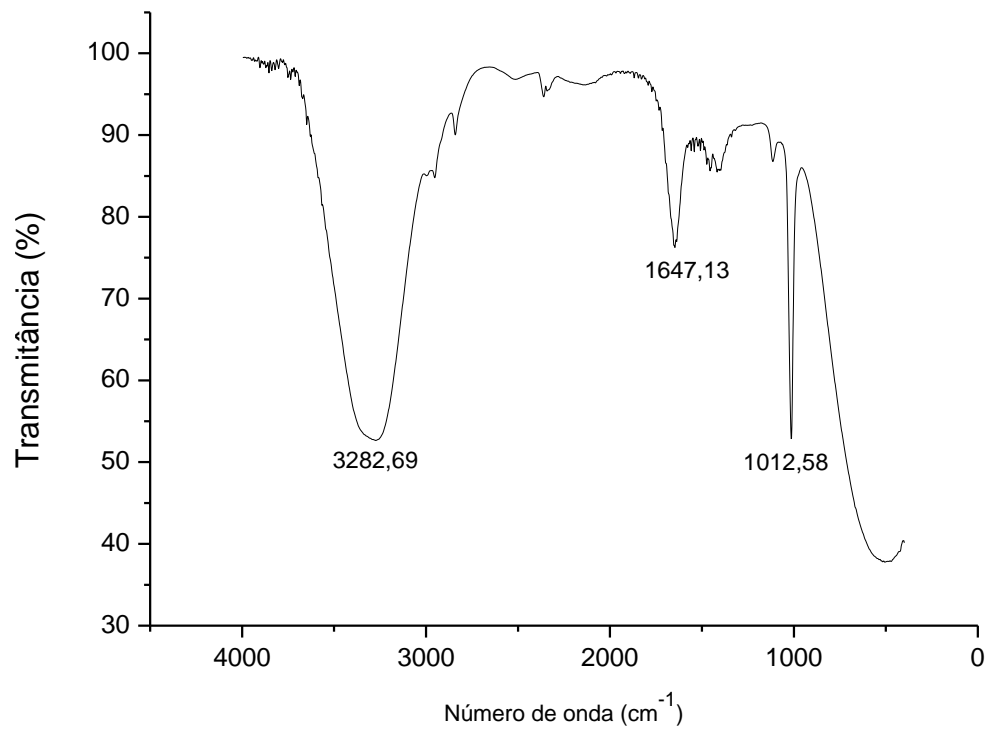


Figura 33 - Identificação e UV referente a C8.

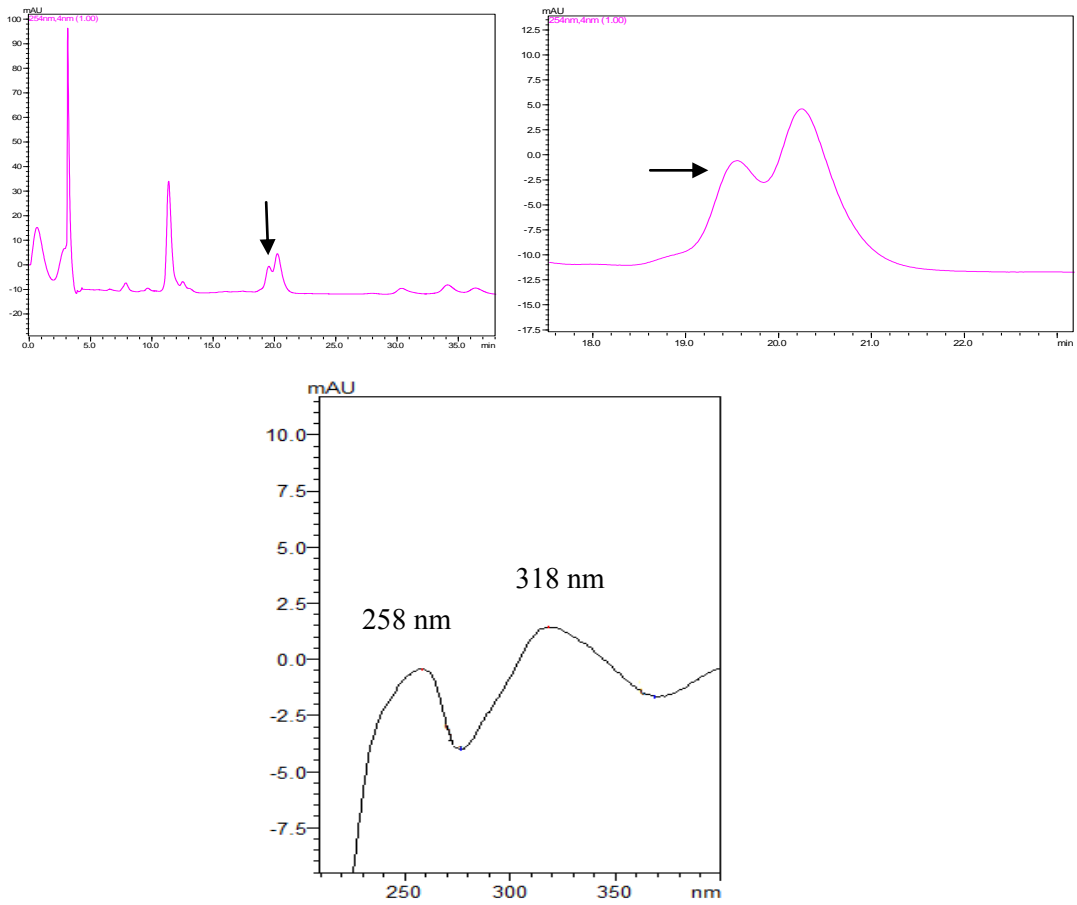


Figura 34 - Espectro de RMN ¹H de C8 (CD₃OD, 600 MHz).

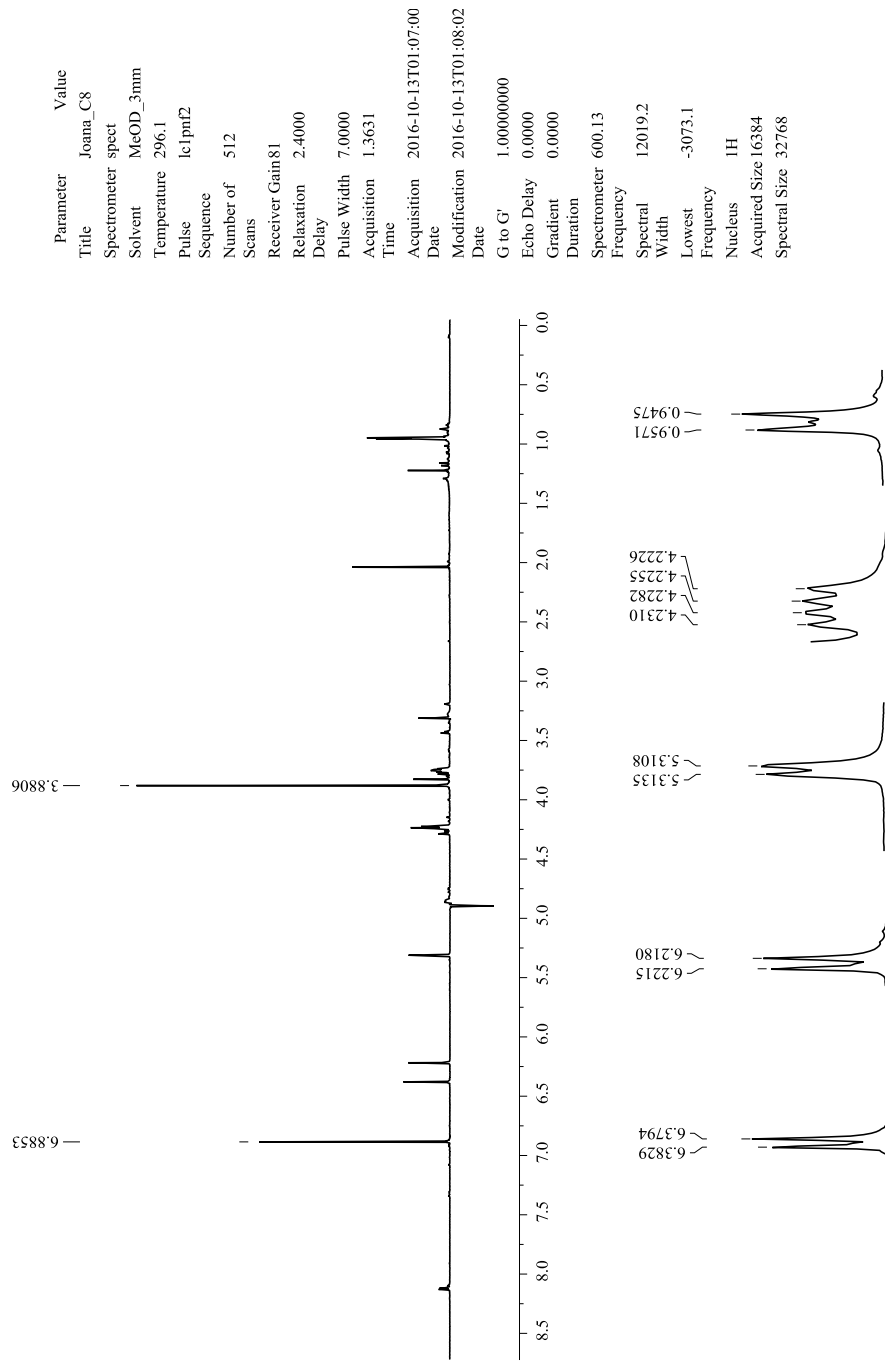
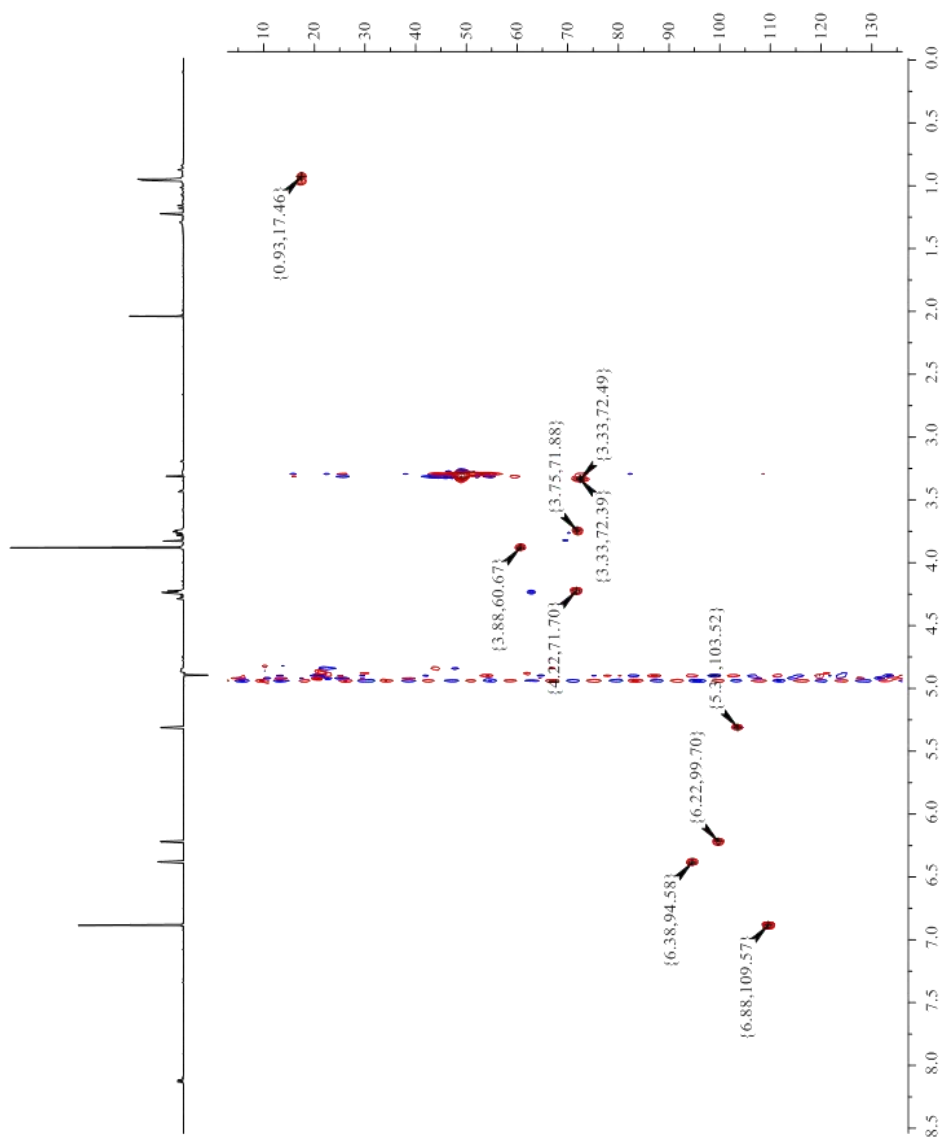


Figura 35 - Espectro de correlações $^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - \text{J}_{\text{CH}}$ - HSQC de **C8** (CD_3OD , 600 e 150 MHz).



Parameter	Value (2, f1)
Title	Joana_C8
Spectrometer	spect
Solvent	MeOD_3mm
Temperature	297.1
Pulse Sequence	hsqcetgpcisp2.4
Number of Scans	32
Receiver Gain	203
Relaxation Delay	1.5000
Pulse Width	7.0000
Acquisition Time	0.0852
Acquisition Date	2016-10-15T11:28:00
Modification Date	2016-10-15T13:19:04
G to G'	1.00000000
Echo Delay	0.0000
Gradient	0.0000
Duration	
Spectrometer Frequency	(600.13, 150.90)
Spectral Width	(12019.2, 27173.9)
Lowest Frequency	(-8.9, 183.5)
Nucleus	(1H, 13C)
Acquired Size	(1024, 128)
Spectral Size	(1024, 1024)

Figura 36 - Espectro de correlações $^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - {}^n\text{J}_{\text{CH}}$ ($n = 2$ e 3) - HMBC de **C8** (CD_3OD , 600 e 150 MHz).

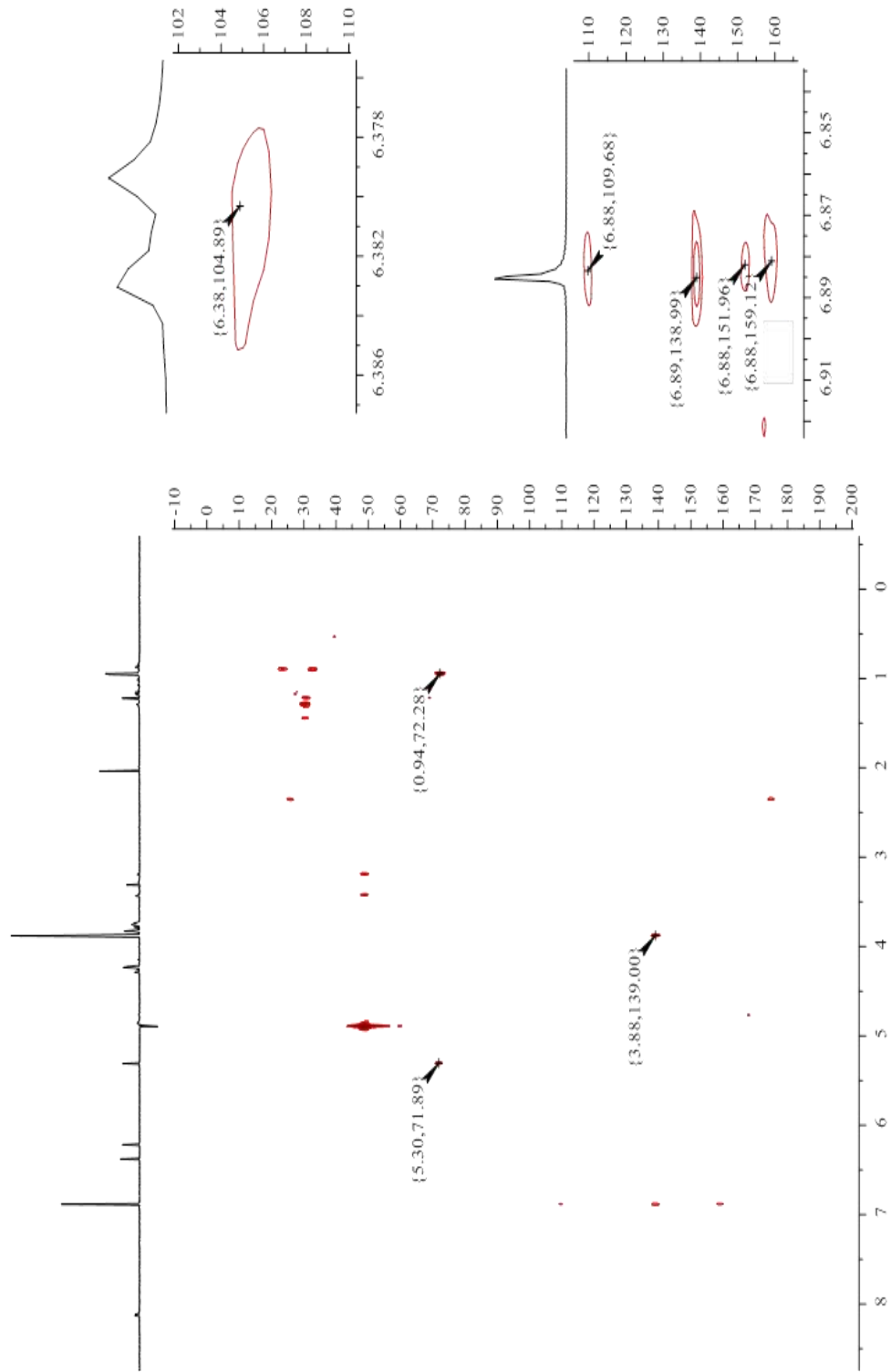
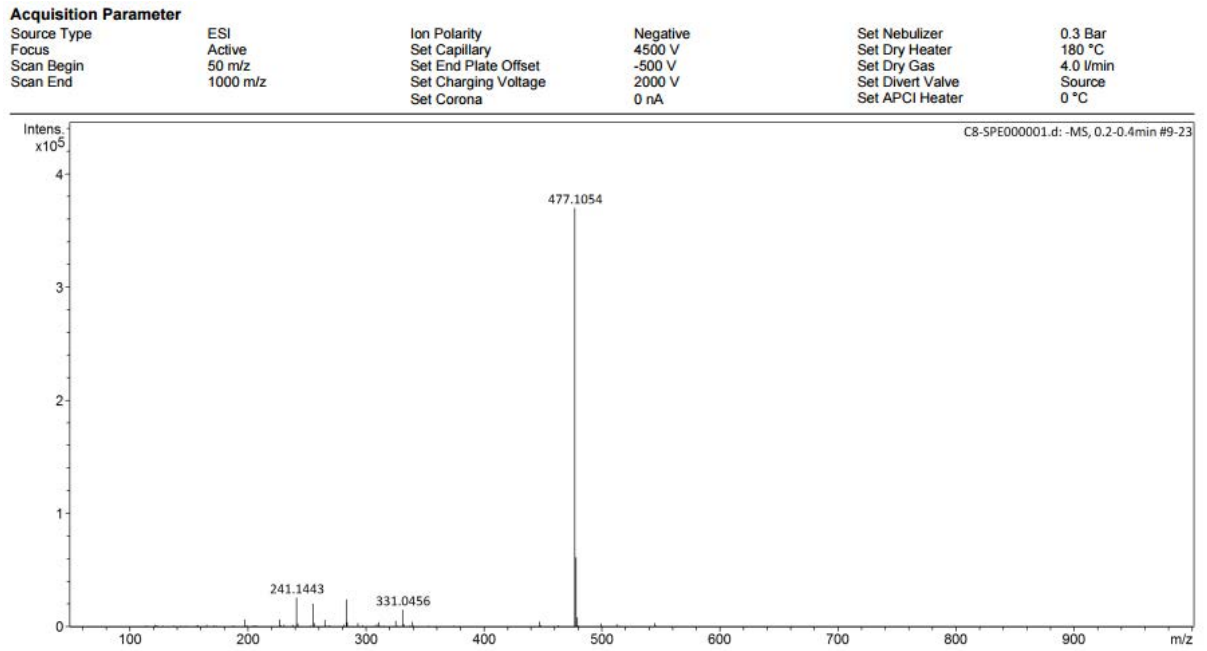


Figura 37 - Espectro de massas obtido por ESI da substância **C8** (modo negativo)

5. CONCLUSÃO

A cromatografia líquida permitiu a visualização do perfil cromatográfico dos extratos etanólicos dos órgãos vegetais – raiz, caule, folhas e flores – de *I. marginata* Willd. indicando diferenças qualitativas da presença de taninos e flavonóides entre eles. O estudo por CLAE-DAD-EFS-TT proporcionou a separação de subfrações e juntamente com EM, RMN e IV a identificação de quatro flavonoides. Dentre essas técnicas o método on-line por CLAE-DAD-EFS-TT mostrou-se mais eficiente que CLAE-DAD devido à detecção de substâncias em uma amostra com pouca massa por conta da minimização de perdas de transferência de vidraria, erros manuais e a possibilidade de coleta e preparação para análise em RMN feita pelo próprio sistema.

O estudo químico do extrato etanólico das folhas de mudas de *Inga marginata* Willd. adquiridas em um viveiro em Ibaté-SP, levou a determinação de quatro flavonóides glicosilados: miricetina-3-*O*- α -*L*-ramnopiranosídeo (**C5**), miricetina-3-*O*-(2''-*O*-galoil)- α -*L*-ramnopiranosídeo (**C10**), quercetina-3-*O*- α -*L*-ramnopiranosídeo (**C9**) e miricetina 4'-metiléter-3-*O*-ramnose (**C8**). Este é o primeiro relato no gênero de **C8**, já as substâncias **C9** e **C10** foram identificadas pela primeira vez em folhas de mudas de *Inga marginata* enquanto a substância **C5** já havia sido relatada em folhas da planta adulta.

Referências

- 1 PINTO, A. C.; SILVA, D. H. S.; BOLZANI, V. S.; LOPES, N. P.; EPIFANIO, R. A. Produtos naturais: Atualidade, desafios e perspectivas. **Química Nova**, v. 25, supl. 1, p. 45-61, 2002.
- 2 VIZZOTO, M.; KROLOW, A. C.; WEBER, G. E. B. Metabólitos secundários encontrados em plantas e sua importância. **Embrapa Clima Temperado**, documento 316, 2010. Disponível em: < <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/886074>>. Acesso em 10 nov. 2016.
- 3 FOGLIO, M. A.; QUEROGA, C. L.; SOUSA, I. M. O.; RODRIGUES, R. A. F. Plantas medicinais como fonte de recursos terapêuticos: um modelo multidisciplinar. **MultiCiência**, n.7, Out. 2006.
- 4 AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Consulta Pública nº 86, de 10 de agosto de 2010. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 12 ago. 2016. Disponível em: <http://www.puntofocal.gov.br/notific_otros_miembros/bra388_t.pdf>. Acesso em: 19 nov. 2016.
- 5 AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA **Medicamentos fitoterápicos**. Brasília, DF. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/medicamentos/fitoterapicos/definicao.htm>>. Acesso em 19 nov. 2016.
- 6 POSSETE, R. F. S.; RODRIGUES, W. A. O gênero *Inga* Mill. (Leguminosae – Mimosoideae) no Estado do Paraná, Brasil. **Acta Botânica Brasileira**, v. 24, n. 2, p. 354-368, 2010.
- 7 FERREIRA, G. C.; HOPKINS, M. J. G.; SECCO, R. S. Contribuição ao conhecimento morfológico das espécies de leguminosae comercializadas no estado do Pará, como “angelim”. **Acta Amazônica**, v. 34, n. 2, p. 219-232, 2004.
- 8 TEODORO, R. B.; OLIVEIRA, F. L.; SILVA, D. M. N.; FÁVERO, C.; QUARESMA, M. A. L. Aspectos agrônômicos de leguminosas para adubação verde no cerrado do Alto Vale do Jequitinhonha. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 35, n. 2, p. 635-643, 2011.
- 9 PERIN, A.; LIMA, E. A.; PEREIRA, M. G.; TEIXEIRA, M. G.; GUERRA, J. G. M. Efeitos de coberturas vivas com leguminosas herbáceas perenes sobre a umidade e temperatura do solo. **Agronomia**, v. 38, n. 1, p. 27-31, 2004.
- 10 SILVA, M. R.; SILVA, M. A. A. P. da. Aspectos nutricionais de fitatos e taninos. **Revista de Nutrição**, v. 12, n.1, p. 5-19, 1999.
- 11 ATEBA, S. B.; NJAMEN, D.; UKOWITZ, K.; ZEHL, M.; KAHLIG, H.; HOBIGER, S.; JUNGBAUER, A.; KRENN, L. New flavonoids from the underground parts of *Eriosema laurentii*. **Phytochemistry Letters**, 18, p. 144-149, 2016.

- 12 YANG, B.; YANG, J.; ZHAO, Y.; LIU, H.; JIANG, Y. The plant resources, structure characteristics, biological activities and synthesis of pyranoflavonoids. **Current Medicinal Chemistry**, v. 3, p. 3078–3115, 2016.
- 13 BOLZANI, V. S.; GUNATILAKA, A. A. L.; KINGSTON, D. G. I. Bioactive guanidine alkaloids from *Pterogyne nitens*. **Journal of Natural Products**, v. 58, n. 11, p. 1683–1688, 1995.
- 14 LUNZ, A. M.; CARVALHO, A. G.; JORGE, A. C.; CARVALHO, M. G.; GOMES, M. S. R. Prospecção fitoquímica de três leguminosas e associação com incidência de coleópteros xilófagos. **Floresta e Ambiente**, v. 14, n. 1, p. 6-13, 2007
- 15 ÁLVAREZ, J. C.; SERRANO, R. P.; OSPINA, L. F. e TORRES, L. A. A. Actividad biológica de las saponinas de la corteza de *Inga marginata* Wiild. **Revista Colombiana de Ciências Químico-Farmacêuticas**, n. 27, p. 17-19, 1998.
- 16 SOUSA, S. J.; BASTOS, C. N. M.; GURGEL, C. S. E. O gênero *Inga* (Leguminosae-Mimosoideae) na Província Petrolífera de Urucu, Coari, Amazonas, Brasil. **Rodriguésia – Revista do Jardim Botânico do Rio de Janeiro**, v. 62, n. 2, p. 283–297, 2011.
- 17 MATA, M. F. O gênero *Ingá* (Leguminosae, Mimosoideae) no nordeste do Brasil: citogenética, taxonomia e tecnologia de sementes. 183 f. Tese (Doutorado em Agronomia na Área de Concentração em Tecnologia de Semente) – Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2009.
- 18 SOUZA, S. N. J.; SILVA, M. E.; SILVA, N. M da; ARRUDA, P. S. M.; LARONDELLE, Y.; ROGEZ, H. Identification and Antioxidant activity of several flavonoids of *Inga Edulis* leaves. **Journal Brazilian Chemical Society**, v. 18, n. 6, p. 1276-1280, 2007.
- 19 DIAS, A. L. S.; SOUZA, J. N. S.; ROGEZ, H. Enriquecimento de compostos fenólicos de folhas de *Inga edulis* por extração em fase sólida: quantificação de seus compostos majoritários e avaliação da capacidade antioxidante. **Química Nova**, v. 33, n. 1, p. 38-42, 2010.
- 20 MORTON, T. C. Chemotaxonomic significance of hydroxylated pipecolic acids in Central American *Inga* (Fabaceae: Mimosoideae: Ingeae). **Biochemical Systematics and Ecology**, 26, p. 376–401, 1998.
- 21 HUSSAIN, R. A.; LIN, Y.; POVEDA, L. J.; BORDAS, J.; CHUNG, B.; PEZZUTO, J. M.; SOEJARTO, D. D.; KINGHORN, D. Plant-derived sweetening agents: saccharide and polyol constituents of some sweet-tasting plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 28, p. 103-115, 1990.
- 22 MORTON, T. C.; ZEKTZER, A. S.; RIFE, J. P.; ROMEO, J. T. Trans-4-methoxypipecolic acid, na amino acid from *Inga paterno*. **Phytochemistry**, v. 30, n. 7, p. 2397–2399, 1991.
- 23 BRENES-ARGUEDAS, T.; COLEY, P. D.; KURSAR, T. A.; LOKVAM, J.; RUDOLPH, K.; BROMBERG, K.; SACKETT, T. E.; WRIGHT, L.; DVORETT, D.; RING, S.; CLARK, A.; BAPTISTE, C.; PENNINGTON, R. T.; KURSAR, T. A. Divergent defensive strategies of young leaves in two species of *Inga*. **Ecology**, v. 86, n. 10, p. 2633–2643, 2005.

24 LOKVAM, J.; COLEY, D. P.; KURSAR, A. T. Cinnamoyl glucosides of catechin and dimeric procyanidins procuanidins from young leaves of *Inga umbellifera* (Fabaceae). **Phytochemistry**, v. 65, p. 351-358, 2004.

25 LOKVAM, J.; CLAUSEN, T. P.; GRAPOV, D.; COLEY, P. D.; KURSAR, T. A. Galloyl depsides of tyrosine from young leaves of *Inga laurina*. **Journal Natural Products**, v. 70, n. 1, p. 134-136, 2007.

26 FURTADO, F. B. **Estudo químico, análise do óleo essencial e atividades biológicas de *Inga laurina* (Sw.) Willd.** 100 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2014.

27 VON MARTIUS, C. F. P.; EICHLER, A. W.; URBAN, I. **Flora Brasilienses**. 1876. Disponível em <<http://florabrasiliensis.cria.org.br>>. Acesso em 24 out. 2016.

28 GONÇALVES, C. A.; GOI, S. R.; NETO, J. J. Crescimento e nodulação de *Inga marginata* em resposta à adição de nitrogênio, fósforo e inoculação com rizóbio. **Floresta e Ambiente**, v. 6, n. 1, p. 118-126, jan/dez. 1999.

29 RIEGER, S. C. **Constituintes químicos e atividades antioxidante, bacteriostática e anti-helmíntica de *Inga marginata* Willd.** 126 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2011.

30 DANIEL, J. F. S.; IWASSO, D. R.; FLORINI, M. A.; RIEGER, S. C.; FARIA, T. J.; ANDREI, C. C.; REZENDE, M. I.; BARBOSA, A. M. Antimicrobial activity of Brazilian plants of the genera Leguminosae and Myrtaceae. **Journal of Medicinal Plant Research**, v. 8, n. 28, p. 958-966, 2014.

31 LIMA, Marques Nerilson. *Biospreccção em espécies de Inga (Fabaceae Mimosoideae)*. 2015. 177f. Tese de doutorado – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara – SP.

32 DORNAS, W. C.; OLIVEIRA, T. T.; DORES, R. G. R. das; SANTOS, A. F.; NAGEM, T. J. Flavonóides: potencial terapêutico no estresse oxidativo. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 28, n. 3, p. 241-249, 2007.

33 FERREIRA, M. M. M.; OLIVEIRA, A. H. C. DE; SANTOS, N. S. dos. Flavonas e flavonóis: novas descobertas sobre sua estrutura química e função biológica. **Revista Agroambiente**, v. 2, n. 2, p. 57-60, 2008.

34 LOPEZ-REVUELTA, A.; SÁNCHEZ-GALLEGO, J. I.; HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ, A.; SÁNCHEZ-YAGUE, J.; LIANILOO, M. Membrane cholesterol contents influence the protective effects of quercetin and rutin in erythrocytes damaged by oxidative stress. **Chemico-Biological Interactions**, v. 161, p. 79-91, 2006.

35 ARIF, T., MANDAL, T. K.; DABUR, R. Natural products: anti – fungal agents derived from plants. IN: TI WARI, V. K. (Ed). **Opportunity, Challenge and Scope of Natural Products in Medicinal Chemistry**, Research Signpost, 2011. Cap. 9, p. 283 – 311, 2011.

- 36 FRIEDMAN, M. Overview of antibacterial, antitoxin, antiviral, and antifungal activities of tea flavonoids and teas. **Molecular Nutrition and Food Research**, v. 51, p. 116–134, 2007.
- 37 ALCARÁZ, L. E., BLANCO, S. E., PUIG, O. N., TOMÁS, F., FERRETI, F. H. Antibacterial activity of flavonoids against methicilin – resistant *Staphylococcus aureus* strains. **Journal of Theoretical Biology**, v. 205, p. 231–240, 2000.
- 38 MATSUDA, M. M., RAMBERT, J., MALVY, D., BOISSEAU, H. L., DAULOUÉDE, S., THIOLAT, D., COVES, S., COURTOIS, P., VINCEDEAU, P., MOSSALAYI, D. Quercetin induces apoptosis of *Trypanosoma brucei gambiense* and decreases the proinflammatory response of human macrophages. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 48, n. 3, p. 924–929, 2004.
- 39 MIDDLETON, E.; KANDASWAMI, C.; THEOHARIDES, C. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. **Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 52, p. 673–751, 2000.
- 40 DI CARLO, G., MASCOLO, N., IZZO, A. A., CAPASSO, F. Old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. **Life Science**, v. 65, n. 4, p. 337–353, 1999.
- 41 SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 6 ed, 2000.
- 42 CHUNG, S. K.; KIM, Y. C.; TAKAYA, Y.; TERASHIMA, K.; NIWA, M. Novel flavonol glycoside, 7-O-methyl mearnsitrin from *Sageretia theezans* and its antioxidant effect. **Journal Agricultural Food Chemistry**, n. 52, p. 4664–4668, 2004.
- 43 NICOLLIER, G.; THOMPSON, A. C. Flavonoids of *Desmanthus illinoensis*. **Journal of Natural Products**, v. 46, n. 1, p. 112–117, 1983.
- 44 ABDULLAEVA, R. Kh.; BOBAKULOV, M.; NISHANBAEV, C. Z.; SHAM'YANOV, I. D.; ABDULLAEV, N. D. Flavonoids and other constituents from the aerial part of *Anaphalis racemifera*. **Chemical of Natural Compunds**, v. 52, n. 3, p. 503–504, 2016.
- 45 BRACA, A.; BILIA, A. R.; MENDEZ, J.; MORELLI, I. Myricetin glycosides from *Licania densiflora*. **Fitoterapia**, v. 72, p. 182–185, 2001.

