



UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS

CAMPUS DE GURUPI

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO MESTRADO ACADÊMICO EM
QUÍMICA

ELAINE CAÇAL CESARINO

**CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO QUÍMICO DE *Acacia polyphylla*
E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE**

Gurupi/TO
2019

ELAINE CAÇAL CESARINO

**CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO QUÍMICO DE *Acacia polyphylla*
E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE**

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do título de **Mestre em Química** no curso de Pós-Graduação em Química, Área de Concentração em Química Orgânica.

Orientadora: Professora Doutora Rafaela Oliveira Ferreira

Gurupi/TO
2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Tocantins

- C421 c Cesarino, Elaine Caçal
Contribuição ao estudo químico de *Acacia polyphylla* e avaliação da atividade antioxidante. / Elaine Caçal Cesarino. – Gurupi, TO, 2019.
65 f.
Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade Federal do Tocantins – Câmpus Universitário de Gurupi - Curso de Pós-Graduação (Mestrado) em Química, 2019.
Orientadora : Rafaela Oliveira Ferreira
1. *Acacia polyphylla*. 2. Monjoleiro. 3. Flavonoides. 4. Antioxidantes. I.
Titulo

CDD 540

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de qualquer forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado desde que citada a fonte. A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184 do Código Penal.

Elaborado pelo sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFT com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

FOLHA DE APROVAÇÃO

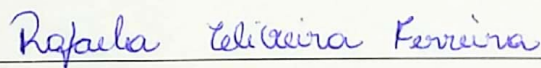
ELAINE CAÇAL CESARINO

CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO QUÍMICO DE *Acacia polyphylla* E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química. Foi avaliada para obtenção do título de Mestre em Química e aprovada em sua forma final pelo orientador e pela Banca Examinadora.

Data de aprovação: 05/ 04 / 2019

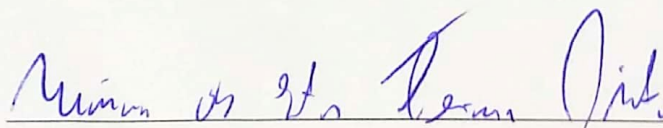
Banca Examinadora



Prof. Dra. Rafaela Oliveira Ferreira, UFT



Prof. Dra. Talita Pereira de Souza Ferreira, UFT



Prof. Dr. Márcio dos Santos Texeira Pinto, UFT

Gurupi, 2019

AGRADECIMENTOS

Á Deus pela sua misericórdia.

Aos meus familiares e amigos pelo apoio.

À Professora Dra. Rafaela Oliveira Ferreira pela orientação.

As acadêmicas Jakarta Gomes e Eliete Lessa pelas contribuições à pesquisa.

Aos professores Dr. Mario Geraldo de Carvalho (UFRRJ) e Dr. Ivo José Curcino Vieira (UENF) pelas análises de RMN e CG-EM.

Á todos que de forma direta ou indireta contribuíram para este momento.

RESUMO

Acacia polyphylla (Leguminosea – Mimosoideae) ocorre nos biomas da Amazônia, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica e Pantanal, sendo conhecida popularmente como monjoleiro. É empregada na medicina popular no tratamento da tosse, como fonte de substâncias tanantes e na recuperação de áreas degradadas. Este trabalho descreve o estudo químico e a avaliação da atividade antioxidante de folhas de *Acacia polyphylla*. A prospecção fitoquímica detectou a presença de triterpenos, esteroides, saponinas e flavonoides. O estudo químico por técnicas cromatográficas usuais conduziu ao isolamento de quatro flavonoides (luteolina, isovitexina, isoquercitrina e hiperosídeo), três triterpenos (α -amirina, β -amirina e lupeol), quatro esteroides (estigmastenol, espinasterol, sitostanol e β -sitosterol) e um alcano (*n*-nonacosano). As estruturas das substâncias isoladas foram elucidadas pelas análises dos espectros de RMN ^1H e ^{13}C , incluindo 2D, e CG-EM. Todas as substâncias identificadas estão sendo descritas pela primeira vez nesta espécie. Para avaliar a atividade antioxidante foram determinados o teor de fenóis totais (Folin-Denis), o teor de flavonoides totais (AlCl_3) e a atividade sequestradora frente ao radical livre DPPH. Com base nos resultados, pôde-se considerar que todas as amostras foram ativas por apresentarem o CE_{50} abaixo de $500 \mu\text{g/mL}$. Diante da partição com solventes orgânicos a fração acetato de etila apresentou o melhor resultado dentre os obtidos, com CE_{50} no valor de $7,78 \pm 0,17 \mu\text{g/mL}$, e teores de fenóis totais e flavonoides totais com valores de $563,28 \pm 1,13 \text{ EAG/g}$ e $217 \pm 0,17 \text{ EQ/g}$, respectivamente, sugerindo o potencial da espécie *A. polyphylla* como fonte de antioxidantes.

Palavras-chaves: *Acacia polyphylla*; Monjoleiro; Flavonoides; Triterpenos; Antioxidantes.

ABSTRACT

Acacia polyphylla (Leguminosea - Mimosoideae) occurs in the Amazon, Caatinga, Cerrado, Atlantic Forest and Pantanal biomes, being popularly known as monjoleiro. It is used in folk medicine to treat cough, as a source of tanning substances and in the recovery of degraded areas. This work describes the chemical study and evaluation of the antioxidant activity of *Acacia polyphylla* leaves. The presence of triterpenes, steroids, saponins and flavonoids was assessed by phytochemical prospecting methods. The chemical study, by classical chromatographic techniques, led to the isolation of four flavonoids (luteolin, isovitexin, isoquercitrin and hyperoside), three triterpenes (α -amirin, β -amirin and lupeol), four steroids (stigmastenol, spinasterol, sitostanol and β -sitosterol) and an alkane (*n*-nonacosane). Its structures were elucidated by analyzes of the ^1H and ^{13}C NMR spectra, including 2D, and GC-MS. This is the first report of all these compounds in this specie. Antioxidant activity, the total phenol content (Folin-Denis), the total flavonoid content (AlCl_3) and the sequestering activity against free radical DPPH were also evaluated. Based on its EC_{50} (less than 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$), all samples were considered active. In front of the partition with organic solvents the ethyl acetate fraction presented the best result among those obtained with EC_{50} value of $7.78 \pm 0.17 \mu\text{g}/\text{mL}$ and total phenol and total flavonoid contents with values of $563.28 \pm 1.13 \text{ EAG}/\text{g}$ and $217 \pm 0.17 \text{ EQ}/\text{g}$, respectively, suggesting the potential of *A. polyphylla* as a source of antioxidants.

Keywords: *Acacia polyphylla*; Monjoleiro; Flavonoids; Triterpenes; Antioxidants

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Substâncias identificadas em espécies do gênero <i>Acacia</i>	19
Figura 2- Espécie <i>A. polyphylla</i>	22
Figura 3- Cromatograma de íons totais (TIC) de FAP(H)2 (α -amirina, β -amirina e lupeol) obtido por CG-EM.....	35
Figura 4- Espectro de massas de FAP(H)2 (α -amirina, β -amirina e lupeol) obtido por CG-EM (IE 70 eV).....	35
Figura 4.1- Proposta de fragmentação de FAP(H)2 (α -amirina).....	36
Figura 4.2- Proposta de fragmentação de FAP(H)2 (β -amirina).....	37
Figura 4.3- Proposta de fragmentação de FAP(H)2 (lupeol).....	38
Figura 5. Espectro de RMN ^1H em CDCl_3 (500 MHz) de FAP(H)2 (α -amirina, β -amirina e lupeol).....	39
Figura 6- Espectro de RMN ^{13}C em CDCl_3 (125 MHz) de FAP(H)2 (α -amirina, β -amirina e lupeol).....	39
Figura 7- Espectro de RMN ^1H em CD_3OD (500 MHz) de FAP1 (luteolina).....	42
Figura 8- Espectro de RMN ^{13}C em CD_3OD (125 MHz) de FAP1 (luteolina).....	42
Figura 9- Espectro de RMN ^1H em CD_3OD (500 MHz) de FAP2 (Isovitexina).....	45
Figura 10- Espectro de RMN ^{13}C em CD_3OD (125 MHz) de FAP2 (Isovitexina).....	45
Figura 11- Espectro de HMBC em CD_3OD (RMN ^1H : 500 MHz, RMN ^{13}C : 125 MHz) de FCP2 (isovitexina).....	46
Figura 12- Espectro de RMN ^1H em CD_3OD (500 MHz) de FAP3 (isoquercitrina e hiperosídeo).....	49
Figura 13- Espectro de RMN ^{13}C em CD_3OD (125 MHz) de FAP3 (isoquercitrina e hiperosídeo).....	49
Figura 14. Cromatograma de íons totais (TIC) de FAP(H)3 (estigmastanol, espinasterol, sitostanol e sitosterol) obtido por CG-EM.....	52
Figura 15. Espectro de massas de FAP(H)3 (estigmastanol, espinasterol, sitostanol e sitosterol) obtido por CG-EM (IE 70 eV).....	52
Figura 16. Espectro de RMN ^1H em CDCl_3 (500 MHz) de FAP(H)3 (estigmastanol, espinasterol, sitostanol e sitosterol).....	53
Figura 17. Espectro de RMN ^{13}C em CDCl_3 (125 MHz) de FAP(H)3 (estigmastanol, espinasterol, sitostanol e sitosterol).....	53
Figura 18. Cromatograma de íons totais (TIC) de FAP(H)1 (<i>n</i> -nonacosano) obtido por CG-EM.....	55
Figura 19. Espectro de massas de FAP(H)1 (<i>n</i> -nonacosano) obtido por CG-EM (IE 70 eV).....	55
Quadro 1- Programação do cromatógrafo acoplado ao espectrômetro de massas.....	26
Esquema 1- Isolamento das substâncias do extrato em etanol de folhas de <i>A. polyphylla</i>	30

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Uso medicinal e atividades farmacológicas descritas para espécies do gênero <i>Acacia</i>	17
Tabela 2- Prospecção fitoquímica de extratos e frações de folhas de <i>A. polyphylla</i>	33
Tabela 3- Dados de RMN ¹³ C em CDCl ₃ (125 MHz) de FAP(H)2 (α-amirina, β-amirina e lupeol).....	40
Tabela 4- Dados de RMN ¹ H e ¹³ C em CD ₃ OD (500 e 125 MHz, respectivamente) de FAP1 (luteolina).....	43
Tabela 5- Dados de RMN ¹ H e ¹³ C em CD ₃ OD (500 e 125 MHz, respectivamente) de FAP2 (isovitexina).....	47
Tabela 6- Dados de RMN ¹ H em CD ₃ OD (500 MHz) de FCP3 (isoquercetina e hiperosídeo).....	50
Tabela 7- Dados de RMN ¹³ C em CD ₃ OD (125 MHz) de FCP3.....	50
Tabela 8. Dados de RMN ¹³ C em CDCl ₃ (125 MHz) de FAP(H)3 (espinasterol).....	54
Tabela 9- Teor de fenóis totais, flavonoides totais e atividade sequestradora do radical DPPH de extrato e frações de folhas de <i>A. polyphylla</i>	56
Tabela 10- Atividade sequestradora do radical livre DPPH de espécies do gênero <i>Acacia</i>	57

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIDS	Acquired Immunodeficiency Syndrome
BHA	Butil-Hidroxi-Anisol
BHT	Butil-Hidroxi-Tolueno
CAT	Catalase
CCDA	Cromatografia em Camada Delgada Analítica
CE ₅₀	Concentração da amostra necessária para sequestrar 50% dos radicais
COSY	COrelated SpectroscopY
DEPTQ	Distorsionless Enhancement by Polarization Transfer including the detection of Quaternary nuclei
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DPPH	2,2-Difenil-1-Picrilhidrazil
DSTs	Doenças Sexualmente Transmissíveis
EAG	Equivalente ao Ácido Gálico
EQ	Equivalente a Quercetina
ERN	Espécie Reativa de Nitrogênio
ERO	Espécie Reativa de Oxigênio
FDA	Food and Drug Administration
FT	Fenóis Totais
GC/EM	Cromatografia Gasosa/Espectrometria de Massas
GSH	Glutathione
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HMQC	Heteronuclear Multiple-Quantum Correlation
LCT	Lesão Cerebral Traumática
MHz	Mega Hertz
PG	Propil-Galato
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
SOD	Superóxido Dismutase
TBHQ	Terc-Butil-Hidroquinona
TIC	Cromatograma de íons totais
UENF	Universidade Estadual do Norte Fluminense
UFRRJ	Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
UFT	Universidade Federal do Tocantins
UV-VIS	Ultravioleta-Visível

LISTA DE SÍMBOLOS

δ	Deslocamento Químico
μ	Micro
d	Dupleto
J	Constante de Acoplamentos
m	Multiplero
m/z	Massa/carga
sl	Singleto Largo
t	Triplero

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
1.2	Família Leguminosae - Subfamília Mimosoideae.....	15
1.3	Gênero <i>Acacia</i>.....	16
1.3.1	Flavonoides identificados em espécies do gênero <i>Acacia</i>	19
1.3.2	<i>Acacia polyphylla</i>	21
1.4	Antioxidantes.....	23
2	OBJETIVO.....	26
2.1	Objetivo geral.....	26
2.2	Objetivos específicos.....	26
3	METODOLOGIA.....	27
3.1	Material vegetal e preparação de extratos.....	27
3.2	Métodos cromatográficos.....	27
3.2.1	Cromatografia em Coluna (CC) e Cromatografia em Camada Delgada Analítica (CCDA).....	27
3.2.2	Cromatografia com fase Gasosa (CG) acoplada a Espectrometria de Massas (EM).....	27
3.3	Ressonância Magnética Nuclear (RMN).....	27
3.4	Prospecção fitoquímica.....	28
3.4.1	Taninos.....	28
3.4.2	Esteroides/Triterpenos.....	28
3.4.3	Saponinas.....	28
3.4.4	Antocianinas, Antocianidinas, Flavonoides e Chalconas.....	28
3.4.5	Leucoantocianidinas, Catequinas e Flavanonas.....	29
3.4.6	Alcaloides.....	29
3.5	Isolamento dos constituintes químicos.....	29

3.6	Atividade antioxidante.....	30
3.6.1	Teor de fenóis totais.....	30
3.6.2	Teor de flavonoides totais.....	31
3.6.3	Atividade sequestradora do radical livre DPPH.....	31
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	33
4.1	Prospecção fitoquímica.....	33
4.2	Identificação estrutural dos constituintes químicos.....	34
4.2.1	Triterpenos.....	34
4.2.1.1	Substâncias 1, 2 e 3.....	34
4.2.2	Flavonoides.....	41
4.2.2.1	Substância 4.....	41
4.2.2.2	Substância 5.....	44
4.2.2.3	Substâncias 6 e 7.....	48
4.2.3	Esteroides.....	51
4.2.3.1	Substâncias 8, 9, 10 e 11.....	51
4.2.4	Alcano.....	55
4.2.4.1	Substância 12.....	55
4.3	Atividade antioxidante.....	56
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	58
6	REFERÊNCIAS.....	59

1. INTRODUÇÃO

O conhecimento de plantas para fins medicinais é relatado desde épocas remotas. O uso terapêutico de plantas é proveniente de civilizações como a Suméria e Acadiana. Hipócrates, um dos autores mais antigos, lista mais de 400 exemplares botânicos com propósitos medicinais. Ainda hoje, em comunidades com difícil acesso a medicamentos este tipo de conhecimento se torna o único recurso para o tratamento de doenças. Desta forma, o interesse para o desenvolvimento de novos produtos farmacêuticos que busquem aliar a tecnologia com o conhecimento tradicional desponta. O estudo desses compostos químicos de origem vegetal chama-se fitoquímica (CORDELL, 2015; DOUGHARI, 2012). A fitoquímica está intrinsecamente ligada a medicina tradicional ou em outros termos, medicina popular (CORDELL, 2015).

Apesar do grande avanço da química moderna, os produtos naturais continuam contribuindo para o desenvolvimento de novos fármacos, citando principalmente os antibacterianos, antifúngicos e antitumorais. De certa forma, a natureza é uma fonte inspiradora para químicos orgânicos na busca de metodologias de síntese total ou parcial, incluindo manipulação de vias sintéticas de compostos biologicamente ativos que possam servir a sociedade (NEWMAN; CRAGG, 2016). Um terço dos compostos químicos aprovados pela Food and Drug Administration (FDA), agência reguladora americana, são provenientes de produtos naturais, desses um quarto é de origem microbiana, quase metade vem de mamíferos e outro um quarto tem suas fontes nas plantas (PATRIDGE et al., 2016).

O estudo dos produtos naturais estimulou o desenvolvimento de técnicas de separação, abordagens espectroscópicas para a elucidação estrutural e metodologias de sínteses que constituem atualmente a base para química orgânica contemporânea (JARVIS, 2000).

O crescente interesse em novas substâncias biologicamente ativas está diretamente relacionado à riqueza da biodiversidade. O gênero *Acacia*, família Leguminosae, é um dos maiores entre as Angiospermas. Espécies deste gênero são utilizadas como medicinais, ornamentais, em marcenaria, curtumes, perfumaria e na reconstrução de áreas degradadas. Diversas atividades farmacológicas são descritas para este gênero, como anti-inflamatória, anti-hipertensiva, antiespasmódica, antiviral, antimicrobiana, dentre outras (ANDRADE et al., 2003). A potencialidade químico-farmacológica descrita para o gênero *Acacia* justifica os estudos químicos e biológicos de espécies deste gênero. Neste trabalho, analisou-se o perfil químico da espécie *Acacia polyphylla* e avaliou-se a atividade antioxidante.

1.2 Família Leguminosae - Subfamília Mimosoideae

Leguminosas fazem parte da dieta humana desde do início da agricultura, se tornando as primeiras plantas a serem domesticadas. Constituem-se em alimentos acessíveis de baixo preço e distribuídos mundialmente (VIEW, 2018). Monoculturas economicamente importantes como ervilha, feijão, soja e amendoim fazem parte desta família. Existem ainda espécies que são utilizadas como madeira para construção, artesanatos, essências para perfumes, tinturas, adubos verdes e forragens (AHMAD; ANWAR; HIRA, 2016; RIBEIRO; DE QUEIROZ; MORIM, 2016).

A Leguminosae, recentemente denominada Fabaceae, é uma família extensa e compreende cerca de 19.400 espécies, divididas em 730 gêneros (AHMAD; ANWAR; HIRA, 2016; VIEW, 2018). O legume, fruto típico desta família, abriu precedente para o nome Leguminosae (RIBEIRO; DE QUEIROZ; MORIM, 2016). Suas formas vão desde plantas anãs à árvores mais densas (AHMAD; ANWAR; HIRA, 2016). Espécies de Leguminosae se distribuem por ambientes tropicais, subtropicais, frios, temperados e áridos, apresentando uma maior diversidade nos dois primeiros (VIEW, 2018). No Brasil, consiste na família botânica com maior número de espécies, representando cerca de 54,7% das angiospermas endêmicas (CHAGAS et al., 2014; RIBEIRO; DE QUEIROZ; MORIM, 2016).

Devido a sua associação com bactérias, algumas das espécies da família Leguminosae são conhecidas pela sua habilidade de converter o nitrogênio atmosférico em compostos nitrogenados úteis para nutrição das plantas. Esta família, de uma forma incomum, demonstra uma espetacular diversificação evolutiva em plantas, sendo diversa tanto morfológicamente, como fisiologicamente e ecologicamente (LPWG, 2017).

Espécies desta família têm sido usadas popularmente no tratamento de diversas doenças, por causa de suas propriedades anti-inflamatórias, citotóxicas, antimicrobianas e antibacterianas, o que torna interessante a investigação de suas ações farmacológicas e de seus constituintes químicos (AHMAD; ANWAR; HIRA, 2016). Componentes como aminoácidos, proteínas, oligoelementos e açúcares, tidos como agentes antioxidantes, despertam este tipo de interesse, além de taninos, flavonoides, fitatos, oligossacarídeos e saponinas que se relacionam com efeitos protetores contra doenças cardiovasculares, diabetes e câncer (VIEW, 2018).

A família Leguminosae pode ser dividida tradicionalmente em três subfamílias: Papilionoideae, Mimosoideae e a Caesalpinioideae (CHAGAS et al., 2014; RIBEIRO; DE QUEIROZ; MORIM, 2016; VIEW, 2018).

A subfamília Mimosoideae é a segunda mais diversa em número de espécies dentro de Leguminosae, com mais de 3.200 espécies divididas em torno de 80 gêneros, com distribuição em regiões tropicais, subtropicais e temperadas do mundo (CHAGAS et al., 2014; VIEW, 2018). Nacionalmente são relatadas cerca de 819 espécies agrupadas em 35 gêneros (CHAGAS et al., 2014). Distinguindo-se das demais subfamílias de Leguminosae pelas flores em filetes, sementes com pleurogramas e folhas bipinadas (BORGES; PIRANI, 2013).

Esta subfamília possui, em geral, dois terços das suas espécies conhecidas divididas em três gêneros: *Senegalia* ou também *Acacia* Mill., *Mimosa* e *Inga*, que se destacam entre os 20 maiores gêneros da família Leguminosae (NICULAU et al., 2016; SOUSA; BASTOS; ROCHA, 2009).

A maioria dos membros de Mimosoideae tornaram-se medicinalmente importantes em vários países. Na Índia, grupos autóctones utilizam espécies desta subfamília, como *Mimosa pudica*, *Acacia nilótica*, *Acacia catechu* e *Acacia concinna*, como agentes terapêuticos na cura de leucorréia, fraturas ósseas, eczema e câncer de mama. Os gêneros desta subfamília como *Acacia*, *Albizia*, *Mimosa* e *Samanea* já tiveram comprovadas suas atividades no combate a disenteria, como agentes antioxidantes e antidiuréticos (SAHA; KAR; SEN, 2018).

1.3 Gênero *Acacia*

Dentro da família Leguminosae – Mimosoideae, o gênero *Acacia* se apresenta como o segundo em representatividade numérica incluindo mais de 1350 espécies (GABR et al., 2018; ORCHARD; MASLIN, 2003; SEIGLER, 2003). As espécies de *Acacia* estão difundidas pela África, Ásia, Américas e Austrália (MURPHY et al., 2003).

Há registros históricos de *Acacia* desde o Egito antigo, por meio de hieróglifos que simbolizavam a árvore. Os judeus também registraram a ocorrência de *Acacia*, segundo escritos bíblicos a sua madeira foi utilizada na construção da arca do tabernáculo. Devido a sua origem histórica e por possuir espécies em vários lugares do globo terrestre, a sistemática de nomenclatura botânica desse grupo de espécies adquiriu certa complexidade (MURPHY et al., 2003).

Um dos produtos mais proeminentes deste gênero é a chamada goma arábica, usada pela indústria alimentícia para modificar reologia de materiais, atuando como estabilizante, formadora de filmes, espessante, floculante e emulsificante (DAOUB et al., 2016). A goma arábica é um exsudado proveniente de um mecanismo de proteção das espécies *Acacia senegal*

e *Acacia seyal* contra insetos e invasores, e na cicatrização de feridas. O uso dessa goma remete a tempos antigos. Desde 4000 a.C, onde os chineses e japoneses a utilizavam na pintura bem como os egípcios a utilizavam no embalsamento de múmias (SANCHEZ et al., 2017).

Espécies deste gênero têm sido utilizadas na medicina popular (Tabela 1) para o tratamento de diversas doenças, como diarreia, infecções urinárias, gastrites, tuberculose, asma e dores de cabeça. O uso medicinal destas espécies motivou a investigação biológica de extratos, frações semi-purificadas e substâncias isoladas (Tabela 1), destacando-se propriedades anti-inflamatória, antibacteriana, antimicrobiana, antiplaquetária, anti-hipertensiva, analgésica e anticancerígena. Estas atividades são relacionadas aos componentes químicos comuns deste gênero, como ácidos fenólicos, alcaloides, terpenos, taninos e flavonoides (AFSAR et al., 2018; GABR et al., 2018).

Tabela 1. Uso medicinal e atividades farmacológicas descritas para espécies do gênero *Acacia*.

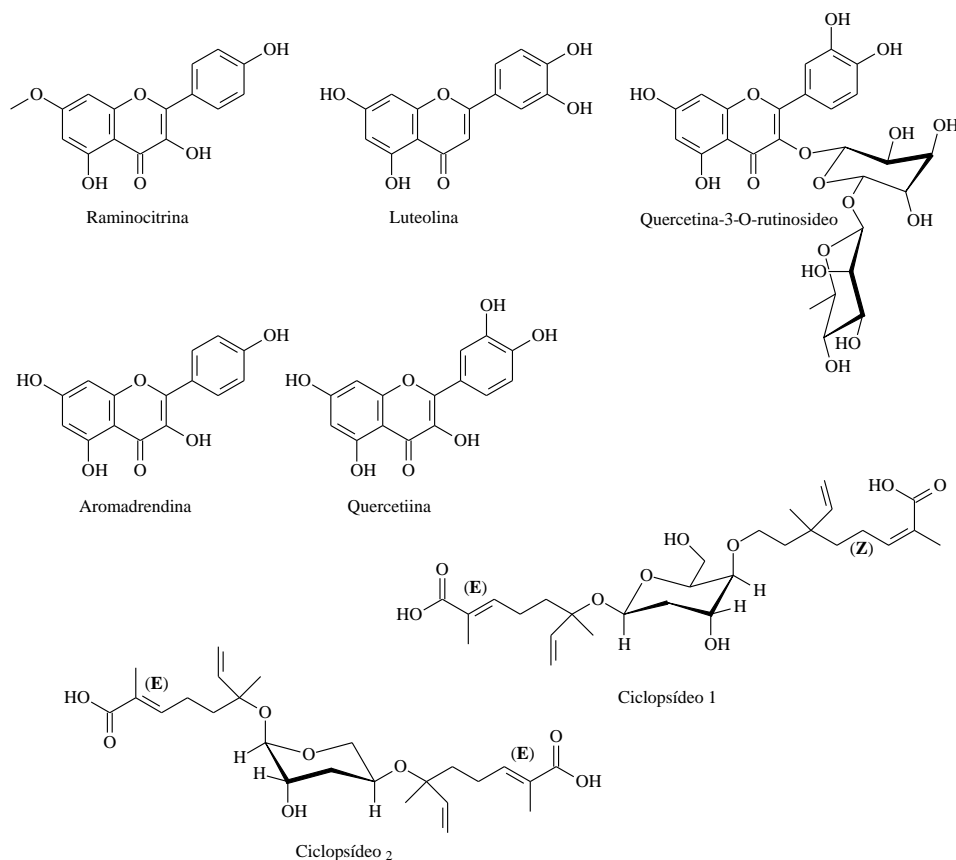
Espécie	Parte usada	Uso popular	Atividade biológica	Referências
<i>A. auriculiformis</i>	Casca do caule Folhas	Doenças reumáticas	Antidiabética, antimalárica, antioxidante, hepatoprotetiva, larvicida	(EX; STEM, 2016; SUBBARAJ et al., 2017)
<i>A. catechu</i>	Folhas, flores, sementes, casca, raízes	Problemas de pele, leucorréia, asma, bronquite, vitiligo, câncer, dor no peito, diarreia, dor de dente, ulcerações	Antiviral, antifúngica, antibacteriana, antipirética, anticoncepcional	(ALAMBAYAN et al., 2015)
<i>A. cochliacantha</i>	Folhas, flores	-	Anti-helmíntica, antimicrobiana	(CASTILLO-MITRE et al., 2017; OLMEDO-JUÁREZ et al., 2017)
<i>A. cyanophylla</i>	Flores, vagens	-	Alelopática	(EL AYEB-ZAKHAMA et al., 2015)
<i>A. cyclops</i>	Vagens, sementes	-	Alelopática	(JELASSI et al., 2016)
<i>A. dealbata</i>	-	-	Alelopática	(LORENZO; PEREIRA; RODRÍGUEZ-ECHEVERRÍA, 2013)
<i>A. ferrugínea</i>	Casca, folhas	Leucoderma, úlceras, estomatite, doença do sangue, gonorreia, doenças oculares e do fígado, coceira	Analgésica, anti-inflamatória, antiúlcera, antitumoral, adstringente	(FAUJDAR et al., 2016)
<i>A. hamulosa</i>	Partes aéreas	-	Antimicrobiana	(ALAJMI et al., 2017)
<i>A. hydaspica</i>	Casca, folhas	-	Antioxidante, anti-inflamatória, anticancerígena (mama e próstata), analgésica, antipirética, antidepressiva	(AFSAR et al., 2015)
<i>A. karroo</i>	Casca, folhas	Diarreia, disenteria, malária, doenças sexualmente transmissíveis (DSTs)	Antibacteriana, antifúngica, anti-helmíntica, antimalárica	(MAROYI, 2017)
<i>A. melífera</i>	Casca do caule	Malária, sífilis, ingestão, problemas	Anti-inflamatória, analgésica, antipirética, antimicrobiana	(AUGUST et al., 2017)

		estomacais, pneumonia		
<i>A. nilótica</i>	Casca do caule, folhas	Esterilidade, diarreia, doenças oculares no gado, dor de estomago, malária, tosse, pneumonia, dor de garganta, asma, reumatismo, hemorroida, inflamações, tuberculose	Anti-hipertensiva, antimicrobiana, imunomoduladora, antitumoral, antibacteriana, antioxidante, anti-helmíntica, afrodisíaca, diurética, antiviral	(ANGELO, 2015; DONALISIO et al., 2018; FAUJDAR et al., 2016; REDDY; NIRMALADEVI; GOPINATH, 2018; VERMA et al., 2015)
<i>A. salicina</i>	Folhas	-	Antioxidante, antimutagênica	(ALAJMI et al., 2017)
<i>A. seyal</i>	Casca do caule	Infertilidade, câncer, dermatoses	-	(ABDLLHA et al., 2016)
<i>A. suma</i>	Casca do caule	Gonorreia, pneumonia, lepra, malária, diabetes	Antimalárica, afrodisíaca, hipoglicêmica	(DASH; ABDULLAH; ACHARYYA, 2014)
<i>A. tortillis</i>	Sementes, folhas	-	Anti-nociceptiva em roedores, ansiolítica, antidepressiva, sedativa, anticonvulsivante	(AGRAWAL et al., 2018; ALAJMI et al., 2017)

O uso medicinal e as propriedades farmacológicas de espécies de *Acacia* motivou a investigação do metabolismo secundário destas plantas. Diversos metabólitos secundários como as cumarinas, taninos, glicosídeos cianogênicos, alcaloides, esteroides e flavonoides foram verificados no gênero *Acacia*. Os flavonoides correspondem ao grupamento químico predominante neste gênero (ANDRADE et al., 2003), motivo pelo qual a presente pesquisa direcionou-se na busca da identificação de novos antioxidantes naturais.

Entre os compostos isolados deste gênero, podemos citar os flavonoides isolados da *A. albida* (MOHAMMED et al., 2018) e os dois novos ácidos glicosídeos monoterpênicos isolados de *A. cyclops* (JELASSI et al., 2014). Abaixo a Figura 1 com as estruturas químicas dos compostos isolados destas espécies.

Figura 1. Substâncias identificadas em espécies do gênero *Acacia*.



1.3.1 Flavonoides identificados em espécies do gênero *Acacia*

Conhecidos como pigmentos naturais importantes que protegem as plantas contra agentes oxidantes, os flavonoides são uma grande classe de compostos polifenólicos, considerados um dos maiores grupos de metabólitos secundários das plantas, não sendo sintetizados pela espécie humana, mas presentes de forma diária em sua dieta por meio de chás, vinhos, frutas e vegetais (COUTINHO; MUZITANO; COSTA, 2009; MESSIAS, 2009; SILVA et al., 2015).

Os flavonoides se apresentam na forma de agliconas ou glicosídeos, esses compostos polifenólicos são biossintetizados pela via do ácido chiquímico. O flavilium é o nome dado a estrutura básica de tais compostos, constituída por cerca de 15 carbonos distribuídos em dois anéis benzênicos (A e B), interligado por um anel do tipo pirano, um heterocíclico (C), as variações químicas dentro dessa estrutura pode dar origem a cerca de mais de quatro mil flavonoides que podem ser então separados em classes. Entre suas principais classes estão as antocianidinas, flavanas, flavonas, flavonóis, isoflavonóis e chalconas. Essas classes se distinguem pelo nível de oxidação e/ou saturação apresentado pelo anel C, e dentro das próprias

classes os compostos são individualizados pela diferenciação quanto ao padrão de substituição dos anéis A e B, como óxidos de metais, glicosilações, acilações e substituintes hidroxilas (OH) (CARUSO, 2012; COUTINHO; MUZITANO; COSTA, 2009; SILVA et al., 2015).

Os flavonoides, incluindo suas classes como flavanas, flavanonas, flavonóis, flavonas e seus glicosídeos já foram encontrados em diferentes espécies do gênero *Acacia*. O cerne e as cascas foram as partes mais relatadas em espécies australianas e africanas. Existe também o estudo de outras partes como a vagens, folhas e sementes, mas estes de forma menos comum que as anteriormente citadas (SUBHAN et al., 2018). Alguns destes trabalhos serão relatados a seguir.

A *A. auriculiformis* é uma árvore muito comum na Índia. Em um estudo dos extratos metanólico e etanólico das vagens desta espécie caracterizou-se a presença do flavonoide quercetina (BANDYOPADHYAY, 2018).

O cerne da árvore de *A. catechu*, usada como planta medicinal na Ayuverda, é rico em flavonoides como: catequina, epicatequina, epicatequina-3-O-galato, epicalocatequina-3-O-galato, homo-isocatequina, quercetina, procianidina, taxifolina, isoramnetina e canferol (SRIVASTAVA; SHARMA; SINGH, 2016; STOHS; BAGCHI, 2015). Já do cerne de *A. confusa* foram isolados três flavanóis a melacidina, 4-O-metilmelacacidina e 4'-O-metilmelacacidina; uma flavanona, 7,8,3',4'-tetra-hidroxi-flavanona; um flavanonol, trans-3,7,8,3',4'-pentahidroxi-flavanonol; duas flavonas, 7,3',4'-trihidroxi-flavona e 7,8,3',4'-tetrahidroxi-flavona; cinco flavonóis, 7,3',4'-trihidroxi-3-O-metilflavonol, melamoxetina, transilitina, 4'-O-metilmelanoxetina e 4'-O-metiltransilitina; e uma chalcona, a okanina. Da raiz dessa espécie foram isolados os flavonoides melacacidina, isomelacacidina, melanoxetina, transilitina, okaina, (+)-catequina e a (-)-epicatequina (LIN; CHANG; CHANG, 2018).

Do polén de *A. dealbata* foi possível identificar compostos derivados da nangerina-chalcona, derivados da luteolina (substituições 6- ou 8-O), um diidroflavonol e derivados de quercetina (ANJOS et al., 2014). Já das flores dessa espécie foram isoladas a isoquercetrina, quercetina-3-O- β -D-glicopiranosídeo, isomiricitrina e o hiperosídeo (MOVSUMOV et al., 2017).

Na busca por substâncias antioxidantes de *A. hydasypica* foram isolados da fração em acetato de etila os flavonoides: 7-O-galoil-(+)-catequina e a (+)-catequina (AFSAR et al., 2018). De *A. leucophloea* foram isolados 3 flavonoides, sendo eles a catequina, O-metil-epicatequina e a leuco-fisetinidina (SULAIMAN; NASIYA; BALACHANDRAN, 2016).

Da fração em acetato de etila de folhas de *A. nilotica* foram isoladas duas flavonas a 5, 7, 3',4'- tetrahidroxiflavona-3-*O*-galactose e a penta-metoxiflavona (BASHIR, 2014). Outros flavonoides descritos para folhas e cascas dessa espécie são a catequina, naringenina, canferol, melacidina, leucocianidina, acacetina, vitexina, taxifolina e a miricetina (RATHER; SHAHID-UL-ISLAM; MOHAMMAD, 2015; SADIQ et al., 2015).

Da *A. pycantha* foram identificados os flavonoides (2S)-naringenin-5-*O*- β -D-piranosídeo, miricetina-3-ramnosídeo, quercetina-3-glucosídeo, canferol-3-rutinosídeo e a chalcona isolipurposídeo-glicosídeo (HENDRA; WILLIS; KELLER, 2018). Já da espécie *A. nigrescens*, usada na medicina popular no tratamento de disenteria e convulsões, foram isolados os flavonoides melanoxetina, quercetina e quercetina-3-*O*-éter-metílico (BODEDE et al., 2018).

1.3.2 *Acacia polyphylla*

Conhecida por nomes comuns como: espinheiro, monjoleiro, monjoleira, juqueri-guaçu, maricá, paricá-branco, paricarana-de-espinho, *Acacia polyphylla* DC. (Figura 2, pág. 10), é uma árvore espinhenta de 3 a 6 m quando jovem e atingindo até 20 m quando adulta. O seu tronco pode variar de 40 a 60 cm de diâmetro com folhas bipinadas de 20 a 26 cm de comprimento. É uma espécie nativa das regiões amazônicas, do cerrado e mata atlântica. Ocorre preferencialmente em solos férteis e argilosos, sendo reconhecida como uma fixadora de nitrogênio (LORENZI, 1992; MONQUERO et al., 2011).

Figura 2. Espécie *A. polyphylla*



Fonte: Elaine Caçal Cesarino, 2017

Sinonímia de *Senegalia polyphylla*, esta espécie é encontrada na América Central em: Belize, Costa Rica, El Salvador, Guatemala, México e Panamá. Já na América do Sul na Argentina, Bolívia, Colômbia, Equador, Paraguai, Peru, Suriname e Venezuela. Com flores coletadas de dezembro a abril e frutos de abril a outubro no Brasil, essa espécie possui 56 indivíduos de 85 espalhados no continente americano. Sua ocorrência foi registrada nos estados de São Paulo, Rio de Janeiro, Goiás, Mato grosso, Mato Grosso do Sul, Sergipe, Amazonas, Pará, Alagoas, Ceará, Maranhão, Bahia, Minas Gerais, Paraná, Espírito Santo, Paraíba, Piauí e Distrito Federal (TAMASHIRO; ANDREA; ESCOBAR, 2016).

A madeira da *A. polyphylla* é própria para a marcenaria. A casca serve para curtir o couro. Quando em flor possui valor ornamental e sua copa frondosa garante uma boa sombra aos animais. Por apresentar características rústicas e ser do tipo pioneira, é uma árvore muito utilizada em programas de reflorestamentos em áreas de preservação ambiental (LORENZI, 1992). Apesar do interesse econômico e medicinal, poucos estudos químicos e farmacológicos são descritos para esta espécie (CASTRO et al., 2016).

1.4 Antioxidantes

O envelhecimento pode ser tido como um processo no qual gradativamente há aumento das perdas funcionais vitais que ocorre com alta complexidade biológica. Envelhecer leva a um comprometimento progressivo implicando em riscos para o desenvolvimento de doenças neurodegenerativas, doenças cardiovasculares além de câncer e diabetes (CORRÊA et al., 2018).

Os compostos antioxidantes são vistos com grande interesse científico pelo seu potencial biológico parte disso devido a ideia que funcionariam como inibidores nas vias de envelhecimento ajudando assim a prolongar a vida e abrandar doenças decorrentes da idade (ALVES et al., 2010; AMORATI; VALGIMIGLI, 2018; CORRÊA et al., 2018). Um estudo realizado com mulheres jovens e de meia idade na Suécia associou uma dieta rica em antioxidantes à redução do risco de infarto de miocárdio (HANTIKAINEN et al., 2018). Porém a ação retardatória para o envelhecimento e doenças associadas seria apenas uma das benesses creditadas aos antioxidantes.

Os antioxidantes são um grupo de substâncias heterogêneas (vitaminas, minerais, compostos vegetais e enzimas) que possuem ação retardatória para alterações oxidativas, eles bloqueiam o efeito danoso dos radicais livres, resultando em proteção contra os danos oxidativos (MESSIAS, 2009).

Um estudo realizado com camundongos sugeriu que a combinação de drogas, entre elas um antioxidante, ajudaria no combate ao estresse oxidativo promovendo uma neuroproteção após uma Lesão Cerebral Traumática (LCT) melhorando o quadro do dano cerebral secundário. A LCT é uma importante fonte de mortalidade e morbidade afetando milhões de pessoas em todo o mundo, causando impacto econômico significativo. Entre os vários mecanismos fisiopatológicos envolvidos na progressão do dano cerebral secundário, disfunção neurológica a longo prazo após a LCT, está o estresse oxidativo (CHANDRAN et al., 2018).

O conceito de oxidação pode ser entendido como perda de elétrons para outra substância e o processo inverso é chamado de redução. Esse processo de transferência de elétrons é essencial para a sobrevivência das células, fundamental a vida aeróbica e ao metabolismo humano. O resultado desse tipo de reação são os radicais livres que apesar de serem mediadores em várias rotas metabólicas, envolvidos na fagocitose, sinalização intercelular, síntese de substâncias biológicas importantes e produção de energia, são considerados prejudiciais quando em excesso, provocando danos ao DNA, proteínas e organelas celulares por alterar estrutura e funções (BARREIROS; DAVID, 2006; MESSIAS, 2009).

Os radicais livres são espécies químicas produzidas naturalmente ou por meio de uma disfunção biológica, instáveis e muito reativos devido aos seus elétrons desemparelhados. Quando possuem o elétron desemparelhado centrado no átomo de oxigênio é denominado como Espécie Reativa de Oxigênio (ERO) quando o elétron desemparelhado está no átomo de nitrogênio, Espécie Reativa de Nitrogênio (ERN). Envolvidos em patologias como o câncer entre outras como envelhecimento precoce, AIDS, catarata, doenças cognitivas e artrite, os radicais livres são vistos como a causa ou agravantes desses quadros (ALVES et al., 2010; BARREIROS; DAVID, 2006).

Dada a importância dos antioxidantes estes constituem em grupo heterogêneo que podem ser divididos para uma melhor compreensão em dois grupos: antioxidantes diretos e antioxidantes indiretos (AMORATI; VALGIMIGLI, 2018).

Os antioxidantes diretos são capazes de proteger, prevenindo, bloqueando ou retardando o processo de oxidação expressando sua atividade tanto em ensaios in vivo quanto in vitro. Diante de remoção ou inativação dos radicais livres com doação de átomos de hidrogênio interrompendo a propagação em cadeia; remoção do oxigênio por meio de reações químicas estáveis ou processos enzimáticos e quelação de íons metálicos que catalisam a oxidação lipídica como o cobre (Cu) e o ferro (Fe) (AMORATI; VALGIMIGLI, 2018; MESSIAS, 2009).

Os antioxidantes indiretos possuem pouca ou nenhuma ação antioxidantes, eles não protegem os materiais da auto-oxidação mas em contrapartida conseguem aumentar o potencial antioxidante de outros, isso acontece quando da indução de biossíntese de enzimas antioxidantes que aumentam a defesa antioxidante do organismo. (AMORATI; VALGIMIGLI, 2018; MESSIAS, 2009).

Atuando no corpo humano no combate aos radicais livres, os antioxidantes possuem duas fontes: substâncias produzidas pelo próprio organismo como a glutathione peroxidase (GPx), superóxido dismutase (SOD) e a catalase (CAT) ou substâncias adquiridas através da dieta como α -tocoferol (vitamina E), ácido ascórbico (vitamina C) e compostos fenólicos nos quais destacam-se os flavonoides (BARREIROS; DAVID, 2006).

As plantas consistem em verdadeiras fábricas de compostos químicos (CORDELL, 2015). Muitos desses compostos não participam diretamente do seu crescimento e desenvolvimento. Esses compostos são chamados de metabólitos secundários. Algumas das suas funções são desconhecidas e sua elucidação tem sido feita com frequência. Baseado na origem biossintética, os metabólitos secundários de plantas se dividem em três grandes grupos: os alcaloides, terpenos e compostos fenólicos (JARVIS, 2000).

Os grupos Fenólicos dividem-se em ácidos fenólicos, polifenóis flavonoides (flavononas, flavonas, xantonas e catequinas) e polifenóis não flavonoides. Os flavonoides são polifenóis que por possuírem uma estrutura privilegiada tornam-se ideais no sequestro de radicais livres, agindo como antioxidantes mais potentes que o α -tocoferol e ácido ascórbico, vitaminas E e C respectivamente. Obedecendo a fatores como estabilidade do radical flavanoil formado; capacidade em quelar metais de transição bem como a reatividade de hidrogênios (H) e elétrons, entre outros, estabelece-se que quanto mais hidroxilas o composto possui maior será a sua ação antioxidante. Existem mais de 4 mil compostos descritos por exemplo, a quercetina, o caempferol e a quercitrina são flavonoides presentes em cerca de 70% das plantas (ALVES et al., 2007; DOUGHARI, 2012).

A indústria farmacêutica e a alimentícia possuem interesse em compostos antioxidantes além da criação e aprimoramento de fármacos ou suplementos, já que os efeitos danosos dos radicais livres também são notados em plantas e alimentos provocando alterações no odor e sabor bem como a redução do valor nutricional. Os antioxidantes atuam na prevenção da decomposição oxidativa causadas pela exposição a luz, temperatura e umidade, protegendo assim cosméticos, fármacos e alimentos em geral. Nesse cenário, principalmente no tocante a indústria de alimentos, utilizam-se muito os antioxidantes sintéticos como o butil-hidroxi-anisol (BHA), o butil-hidroxi-tolueno (BHT), o *terc*-butil-hidroquinona (TBHQ) e o propil-galato (PG). O mercado moderno diante de novas prerrogativas da sociedade busca alternativas e fontes mais naturais, o que inclui nesse contexto os antioxidantes (ALVES et al., 2010; BARREIROS; DAVID, 2006; MESSIAS, 2009).

Em estudo sobre promessas e desafios do uso de novos fitoquímicos como compostos antienvhecimento humano, CÔRREA e colaboradores (2018), propuseram como direcionamento para novas pesquisas a busca para identificação de moléculas antioxidantes provenientes de fitoquímicos envolvidos no combate ao envelhecimento, levando em consideração não só a comprovação de uma atividade eficiente mas também as interações sinérgicas existentes principalmente em extratos fitoquímicos.

2. OBJETIVOS

2.1 Geral

Contribuir para o conhecimento da composição química e do potencial biológico de *A. polyphylla*.

2.2 Específicos

Isolar e identificar metabólitos secundários de folhas de *A. polyphylla* por técnicas cromatográficas e espectroscópicas;

Quantificar o teor de fenóis totais e flavonoides totais de extratos e frações de folhas de *A. polyphylla*.

Avaliar a atividade antioxidante de extratos e frações de folhas de *A. polyphylla* pelo ensaio da atividade sequestradora do radical livre DPPH.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Material vegetal e preparação de extratos

As folhas de *A. polyphylla* foram coletados no campus da UFT, Gurupi – To sendo a espécie identificada por meio da Excicata n° 7485, Herbário HUTO, Unitins.

O material botânico (200 g), seco e triturado, foi submetido à extração por maceração em etanol. O material extraído foi filtrado e concentrado em rotaevaporador (45 °C) resultando no extrato em etanol (8,20 g). Parte do extrato em etanol (7,00 g) foi solubilizado em uma mistura de metanol-água (3:7) e particionado com solventes orgânicos em polaridade crescente dando origem as frações em hexano (2,92 g), clorofórmio (0,23 g) e acetato de etila (1,30 g).

3.2 Métodos cromatográficos

3.2.1 Cromatografia em Coluna (CC) e Cromatografia em Camada Delgada Analítica (CCDA)

A cromatografia em coluna foi realizada tendo como suporte Sephadex LH-20 (Amersham Biosciences) e gel de sílica (70-230 mesh, Vetec). Para Cromatografia em Camada Delgada Analítica (CCDA) foram usadas cromatofolhas de sílica 60F₂₅₄ (Merck) e como reveladores foram utilizadas soluções de cloreto férrico a 2% e reagente de Liebermann–Burchard.

3.2.2 Cromatografia com fase Gasosa (CG) acoplada a Espectrometria de Massas (EM)

Os espectros de massa de baixa resolução, obtidos na UFRRJ, foram registrados em cromatógrafo com fase gasosa GC/EM-QP2010 Plus Shimadzu acoplado a espectrômetro de massas com analisador quadrupolo e ionização por impacto de elétrons, 70 eV. A programação utilizada foi como no Quadro 1:

Quadro 1. Programação do cromatógrafo acoplado ao espectrômetro de massas.

Temp. Forno	Temp. Injetor	Fluxo na Col.	Gás de Arraste	Rampa (r)	Temp. Corrida
60- 290 °C	250 °C	1 ml/min.	Hélio	10 °C/min.	60 min.

3.3 Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear ¹H e ¹³C (incluindo experimentos bidimensionais), obtidos na UFRRJ e na UENF, foram registrados em espectrômetro Bruker, modelo Advance II, operando com frequências 500 MHz para ¹H e 125 MHz para ¹³C. Como

referência interna foi usado tetrametilsilano ou resíduo de solvente como CHCl_3 e MeOH, nos respectivos solventes deuterados. Os deslocamentos químicos (δ) foram obtidos em partes por milhão (ppm) e as constantes de acoplamento (J) foram expressos em Hertz (Hz).

3.4 Prospecção fitoquímica

A prospecção fitoquímica do extrato e frações de *A. polyphylla* para a caracterização de algumas classes de compostos fenólicos, flavonoides, saponinas, alcaloides, esteroides e triterpenos foi realizada segundo MATOS (1997), com pequenas modificações.

3.4.1 Taninos

Em um tubo de ensaio foi adicionado 1,0 ml da amostra e gota a gota, foi acrescentada uma solução de gelatina 2,5%. O aparecimento de precipitado branco indicaria a presença de taninos.

3.4.2 Esteroides/Triterpenos

Os testes para esteroides/triterpenos foram realizados pela reação de Lieberman-Burchard (anidrido acético + ácido sulfúrico concentrado), tomando 2,0 ml do extrato e misturando-o a 2,0 ml de clorofórmio, em seguida a solução clorofórmica foi filtrada em um funil com algodão coberto com alguns decigramas de Na_2SO_4 anidro. Em tubo de ensaio, adicionou-se 1,0 ml de anidrido acético, agitando suavemente, e acrescentaram-se cuidadosamente três gotas de H_2SO_4 concentrado, agitando suavemente e observando, se haveria desenvolvimento de cores. Coloração azul evanescente seguida de verde indicaria a presença de esteroides/triterpenos, respectivamente.

3.4.3 Saponinas

Em 2,0 ml do extrato adicionou-se 2,0 ml de clorofórmio e 5,0 ml de água destilada logo após filtrou-se para um tubo de ensaio. Em seguida a solução foi agitada permanentemente por 3 minutos e observado a formação de espuma. Espuma persistente e abundante (colarinho) indicaria a presença de saponina.

3.4.4 Antocianinas, Antocianidinas, Flavonoides e Chalconas

Em três tubos de ensaio foram adicionados 1,0 ml da amostra. O tubo 1 foi acidificado com HCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 3). Os tubos 2 e 3 foram alcalinizados com NaOH $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 8 e 11). O aparecimento de coloração vermelha, lilás e azul púrpura nos tubos 1, 2 e 3, respectivamente, indicaria a presença de antocianidinas. A coloração amarela no tubo 3, indicaria a presença de flavonas, flavonóis e xantonas. A coloração vermelha nos tubos 1 e 3

indicaria a presença de chalconas e auronas. A coloração vermelho-laranja no tubo 3, indicaria a presença de flavanonois.

3.4.5 Leucoantocianidinas, Catequinas e Flavanonas

Em dois tubos de ensaio foram adicionados 1,0 ml de amostra. O tubo 1 foi acidificado com HCl 0,5 mol L⁻¹ (pH 3) e o tubo 2 foi alcalinizado com NaOH 0,5 mol L⁻¹ (pH 11). Em seguida, os tubos foram aquecidos, em bico de Bunsen, cuidadosamente. O aparecimento da coloração vermelha no tubo 1 indicaria a presença de leucoantocianidinas. A coloração amarela no tubo 1 indicaria a presença de catequinas. A coloração vermelho-laranja no tubo 2, indicaria a presença de flavanonas.

3.4.6 Alcaloides

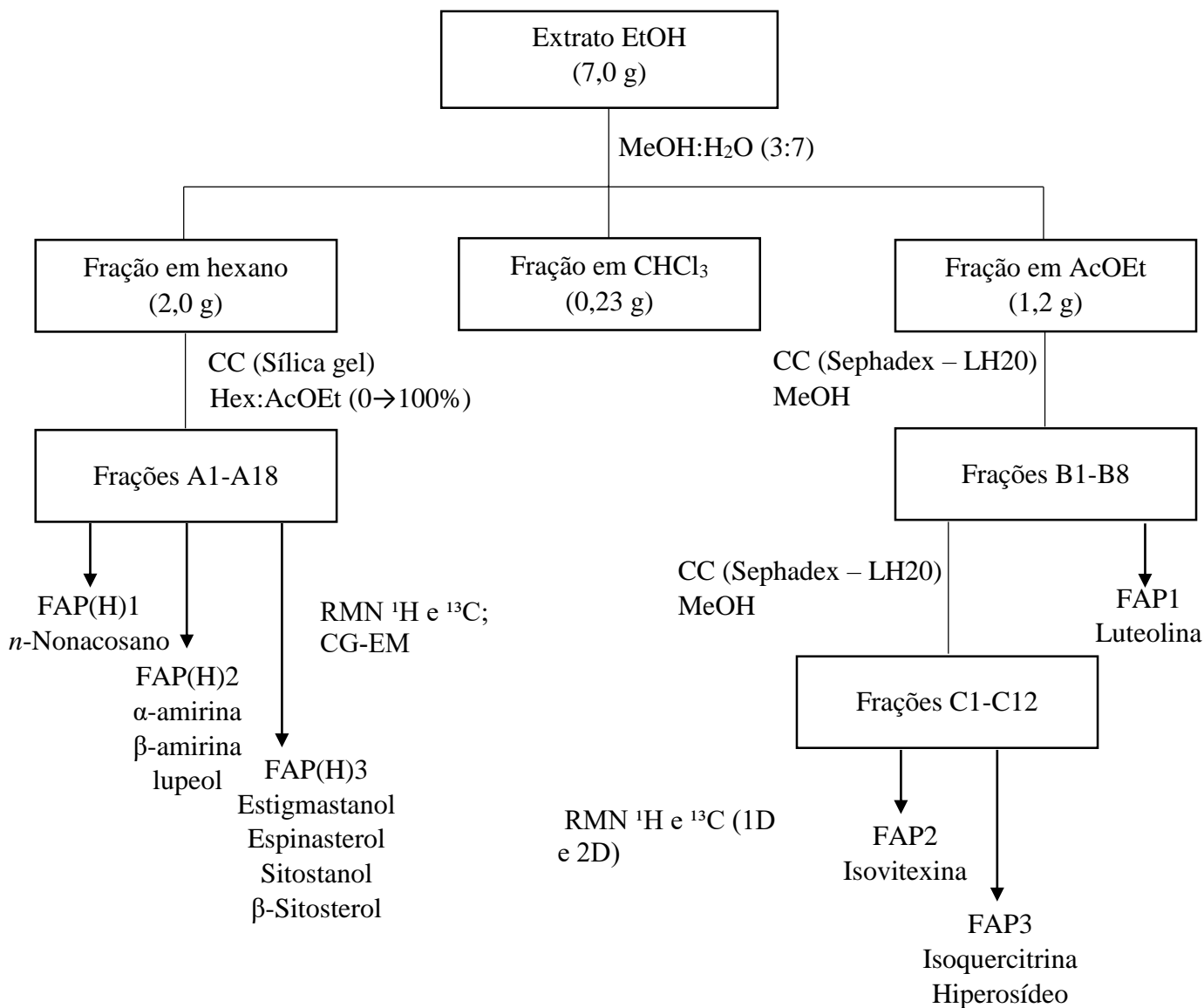
Utilizou-se 2 ml do extrato e frações em tubo de ensaio, alcalinizado com quinze gotas de hidróxido de sódio a 1% e acrescido de 2 ml de água, e adicionou-se 2 ml de diclorometano. A fração aquosa foi desprezada e a fração clorofórmica acrescida de quinze gotas de ácido clorídrico a 1%, em seguida extraída com 2 ml de água. Essa fração aquosa de diclorometano foi desprezada e os testes foram realizados com a fração aquosa ácida, onde se acrescentou três gotas do reagente de Dragendorff para a verificação da presença de alcaloides. A formação de precipitados insolúveis e floculoso indicaria a presença de alcaloides.

3.5 Isolamento dos constituintes químicos

O extrato em etanol de folhas de *A. polyphylla* foi fracionado através de partição com solventes orgânicos como apresentado no Esquema I. A fração em hexano FAP(H) (2,0 g), proveniente da partição, foi fracionada por cromatografia em coluna (CC) (Coluna A) em sílica gel usando como fase móvel a mistura de solventes Hexano: AcOEt (0→100%) com gradiente crescente de polaridade. Das 18 frações (A1-A18) obtidas, após análise de CCDA, foram isoladas as substâncias **FAP(H)1** (125,0 mg), **FAP(H)2** (128,0 mg) e **FAP(H)3** (70,0 mg) na forma de cristais brancos.

Parte da fração em acetato de etila FAP (1,2 g), proveniente da partição, foi fracionada em CC com Sephadex LH-20 (Coluna B) usando como fase móvel metanol. Das 8 frações obtidas (B1-B8), após análise de CCDA, foi isolada a substância **FAP1** (20,0 mg) na forma de um sólido marrom. A fração B6 foi submetida a novo fracionamento em CC com Sephadex LH-20 (Coluna C) usando como eluente MeOH. Das 12 frações (C1-C12) obtidas, foram isoladas as substâncias **FAP2** (20,0 mg) e **FAP3** (60,0 mg) na forma de sólidos amarelos. Ver representação do procedimento no Esquema I.

Esquema I. Isolamento das substâncias do extrato em etanol de folhas de *A. polyphylla*.



3.6 Atividade antioxidante

3.6.1 Teor de fenóis totais

A determinação do teor de fenóis totais foi realizada pelo método espectrofotométrico de Folin-Dennis (SINGLETON; ORTHOFER; LAMUELA-RAVENTÓS, 1999) com modificações, empregando-se o ácido gálico como substância fenólica padrão.

Para o preparo do reagente de Folin-Dennis, adicionou-se em um balão volumétrico de 250 ml acoplado a um condensador de refluxo, 20 g de tungstato de sódio, 4 g de ácido fosfomolibdico, 10 ml de ácido fosfórico e 152 ml de água destilada. Após 2 horas de refluxo, a solução foi deixada em repouso em temperatura ambiente para seu resfriamento e, em seguida, transferida para um balão volumétrico de 200 ml, sendo seu volume completado com água destilada.

Para análise do teor de fenóis totais foram preparadas soluções das amostras a 0,25 mg/ml em metanol. Adicionou-se 2,5 ml do reagente de Folin-Denis em uma alíquota de 0,5 ml de solução de extrato e após 5 minutos adicionou-se 2,0 ml de solução aquosa de Na₂CO₃ 14%, recém-preparada. Após 2 horas, a absorvância das amostras foi medida em espectrofotômetro de UV-VIS (T60 UV-Visible Spectrophotometer, PG instruments) em 760 nm. As análises foram realizadas em 3 repetições e o teor de fenóis totais (FT) foi determinado pela interpolação da absorvância das amostras contra uma curva de calibração construída com padrão de ácido gálico (0 – 0,022 mg/mL) e expressos como miligramas de equivalente ao ácido gálico por grama de extrato (mg EAG/g), considerando-se o desvio padrão da média (\pm D.P.).

3.6.2 Teor de flavonoides totais

O teor de flavonoides totais foi determinado segundo metodologia descrita na literatura (MEDA et al., 2005) utilizando como reagente o cloreto de alumínio.

Para análise do teor de flavonoides totais foram preparadas soluções das amostras a 0,25 mg/mL em metanol. Neste ensaio, 3,0 mL de solução metanólica de AlCl₃ a 2% foram adicionadas a 3,0 mL de solução de extrato. Após 30 minutos de incubação, a absorvância das amostras foi medida em espectrofotômetro de UV-VIS (T60 UV-Visible Spectrophotometer, PG instruments) em 415 nm, empregando-se metanol como branco. As análises foram realizadas em 3 repetições e o teor de flavonoides totais foi determinado pela interpolação da absorvância das amostras em uma curva de calibração construída com padrão de quercetina (0 – 0,020 mg/mL) e expressos como miligramas de equivalente de quercetina por grama de extrato (mg EQ/g), considerando-se o desvio padrão da média (\pm D.P.).

3.6.3 Atividade sequestradora do radical livre DPPH

O ensaio da atividade sequestradora do radical livre DPPH foi realizado de acordo com (TIAGO J. T. SOUZA¹, MIRIAM A. APEL¹, SÉRGIO BORDIGNON², NELSON IVO MATZENBACHER³; ÂNGELO S. ZUANAZZI¹, 2007), com modificações.

Adicionou-se uma alíquota de 2,7 mL de solução de DPPH (40 μ g/mL) a 0,3 mL de solução metanólica de extrato e frações, concentrações finais variaram de 2,0 a 200 μ g/mL. Após 30 minutos ao abrigo de luz, as absorvâncias foram lidas a 517 nm em espectrofotômetro UV-VIS. Utilizou-se uma mistura de metanol (2,7 mL) e solução metanólico do extrato (0,3 mL) como branco, e uma mistura de DPPH (2,7 mL) e metanol (0,3 mL) como controle negativo. A percentagem de atividade sequestradora (% AS) foi calculada pela equação (1):

$$\% AS = 100 \times (A_{\text{controle}} - A_{\text{amostra}}) / A_{\text{controle}} \quad (1)$$

Onde A_{amostra} é a absorbância do radical na presença do extrato (absorbância do branco) e A_{controle} é a absorbância do controle. As análises foram efetuadas em três repetições e os resultados obtidos foram expressos como média \pm D.P. A eficiência antirradicalar foi avaliada através da análise de regressão linear no intervalo de confiança de 95% ($p < 0,05$). Os resultados foram expressos pelo valor de CE_{50} , que representa a concentração da amostra necessária para sequestrar 50% dos radicais de DPPH.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Prospecção fitoquímica

O extrato obtido por maceração a frio em etanol e as respectivas frações das folhas de *A. polyphylla* foram submetidas à triagem fitoquímica pela metodologia de prospecção preliminar, realizando testes para as classes de metabólitos como taninos, saponinas, alcaloides, flavonoides, xantonas, esteroides e triterpenos. Os resultados dos testes foram considerados positivos por reações de precipitações, coloração e formação de espuma. As classes de metabólitos que apresentaram maior expressividade foram esteroides, triterpenos, saponinas, taninos e flavonoides quando analisados por prospecção (Tabela 2). O perfil químico observado nesta prospecção fitoquímica está de acordo com o esperado para espécies do gênero *Acacia*.

Tabela 2. Prospecção fitoquímica de extratos e frações de folhas de *A. polyphylla*.

Metabólitos Secundários	Extrato e frações			
	EtOH	Hexano	AcOEt	CHCl ₃
Esteroides Triterpenos	+	+	-	-
Taninos	+	-	+	-
Saponinas	+	-	-	-
Alcaloides	-	-	-	-
Antocianinas e Antocianidinas	-	-	-	-
Flavonas, Flavonóis e Xantonas	+	-	+	+
Chalconas e Auronas	-	-	-	-
Flavanonóis	-	-	-	-
Leucoantocianidinas	-	-	-	-
Catequinas	-	-	-	-
Flavanonas	-	-	-	-

(+) Presente; (-) Ausente

4.2 Identificação estrutural dos constituintes químicos

4.2.1 Triterpenos

4.2.1.1 Substâncias 1, 2 e 3

A amostra FAP(H)2 (128,0 mg), mistura das substâncias **1**, **2** e **3**, foi obtida na forma de um sólido cristalino branco a partir da fração em hexano de folhas de *A. polyphylla*. A elucidação estrutural de FAP(H)2 foi realizada a partir da análise de espectros de RMN ^1H e ^{13}C (DEPTQ), CG-EM e comparação com dados descritos na literatura (ASSIS JUNIOR et al., 2013).

A análise da mistura de **1**, **2** e **3** em cromatoplaça de sílica revelou duas manchas. A mistura FAP(H)2 revelou, por injeção no sistema CG-EM dois picos (Figura 3), todos com íons moleculares em m/z 426 (M^+) e respectivos padrões de fragmentação (Figura 4) compatíveis com α -amirina (**1**), β -amirina (**2**) e lupeol (**3**), estes, possivelmente coeluídos, conforme dados da literatura (ASSIS JUNIOR et al., 2013). Uma proposta de fragmentação mostra as possíveis quebras das ligações para os três triterpenos conforme as Figuras 4.1, 4.2 e 4.3. O espectro de RMN ^{13}C (Figura 6) apresentou sinais em δ_{C} 121,7 e 145,2; 124,4 e 139,6; 109,3 e 150,9 próprios de β -amirina, α -amirina e lupeol, respectivamente. O espectro de RMN ^1H (Figura 5) confirmou as identificações destas substâncias através dos sinais δ_{H} 5,21 (*t*) e 5,15 (*t*) próprios do H-12 de α -amirina e β -amirina; δ_{H} 4,71 (*sl*) e 4,59 (*sl*) característico dos dois H-29 do lupeol; e δ_{H} 3,23 (*m*) do H-3a, comum às três substâncias. Comparando os dados obtidos (Tabela 3) com os dados da literatura (ASSIS JUNIOR et al., 2013) foi possível propor para FAP(H)2 a mistura de triterpenos α -amirina, β -amirina e lupeol.

Estes triterpenos já foram isolados em espécies de *Acacia*, a atividade anti-inflamatória observada para extratos de folhas de *A. visco* foi atribuída aos triterpenos α -amirina, β -amirina, e lupeol (PEDERNERA et al., 2010). Entretanto, este é o primeiro relato da ocorrência destas substâncias em *A. polyphylla*.

Figura 3. Cromatograma de íons totais (TIC) de FAP(H)2 (α -amirina, β -amirina e lupeol) obtido por CG-EM.

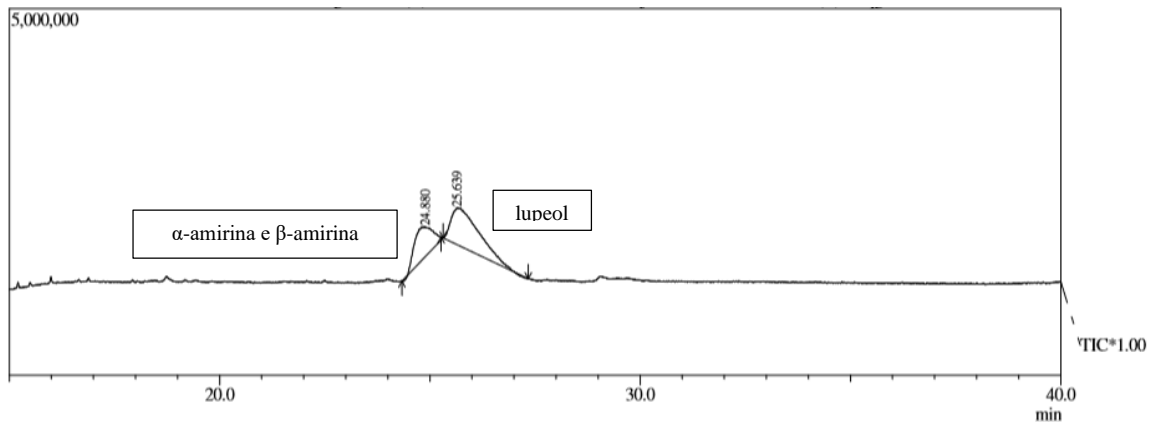


Figura 4. Espectro de massas de FAP(H)2 (α -amirina, β -amirina e lupeol) obtido por CG-EM (IE 70 eV).

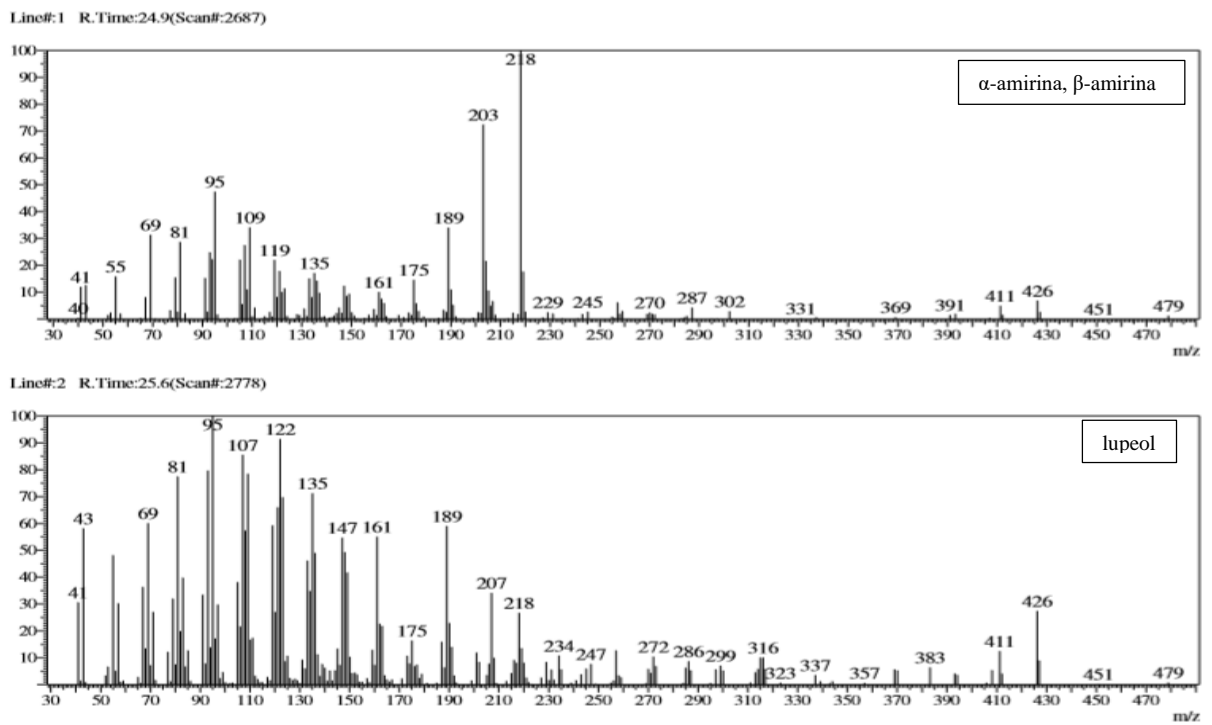


Figura 4.1. Proposta de fragmentação de FAP(H)2 (α -amirina).

α -amirina

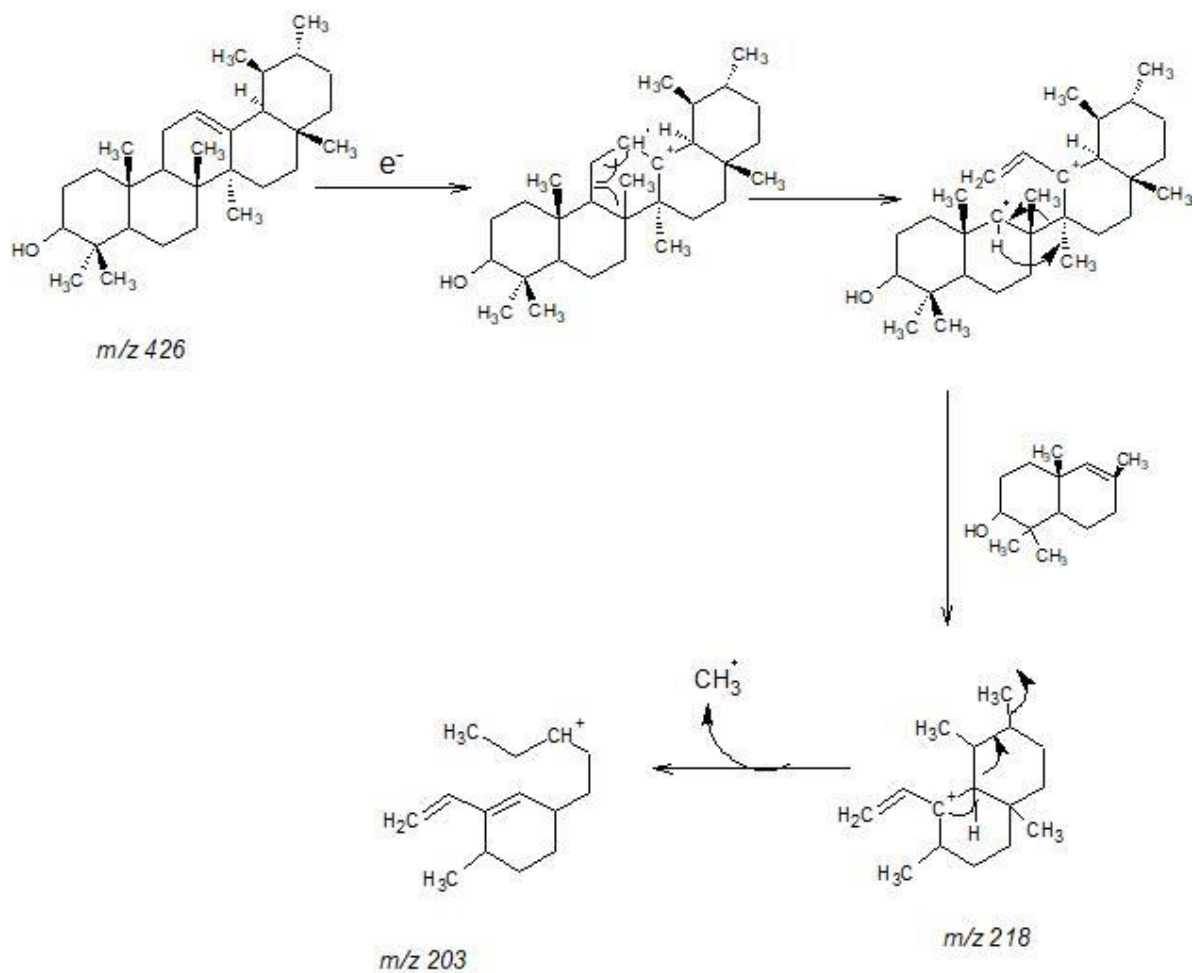


Figura 4.2. Proposta de fragmentação de FAP(H)2 (β -amirina).

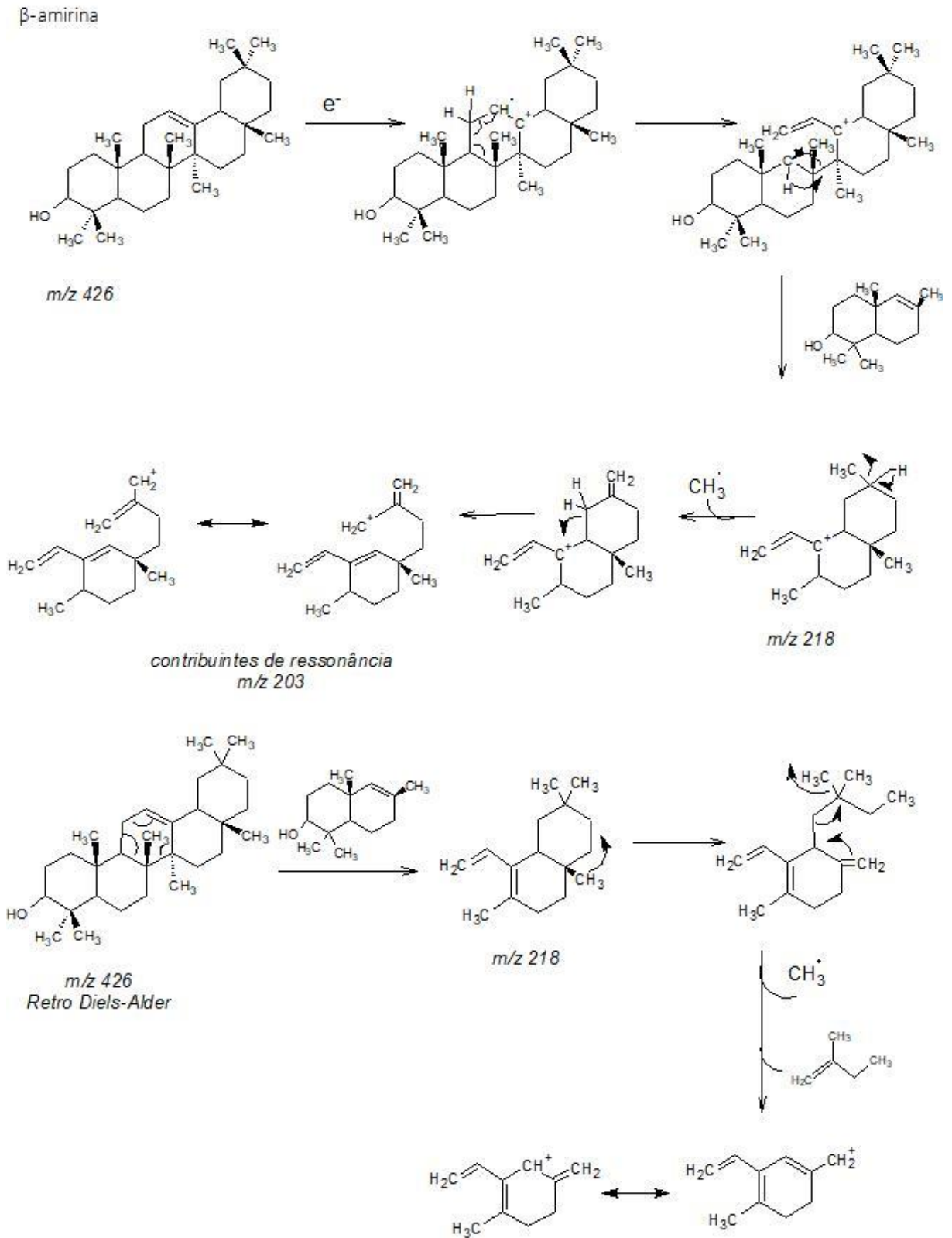


Figura 4.3. Proposta de fragmentação de FAP(H)2 (lupeol).

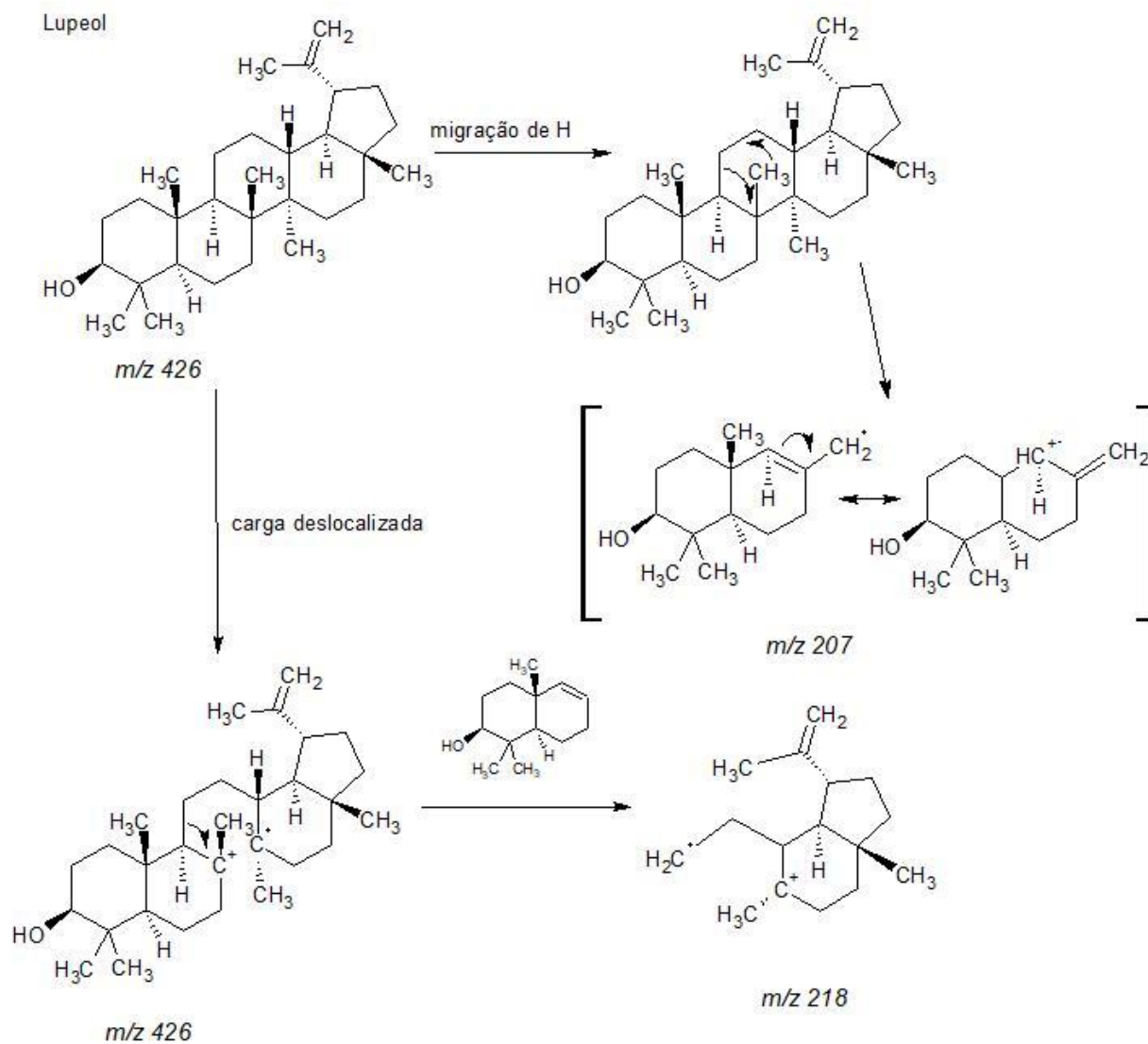


Figura 5. Espectro de RMN ^1H em CDCl_3 (500 MHz) de FAP(H)2 (α -amirina, β -amirina e lupeol).

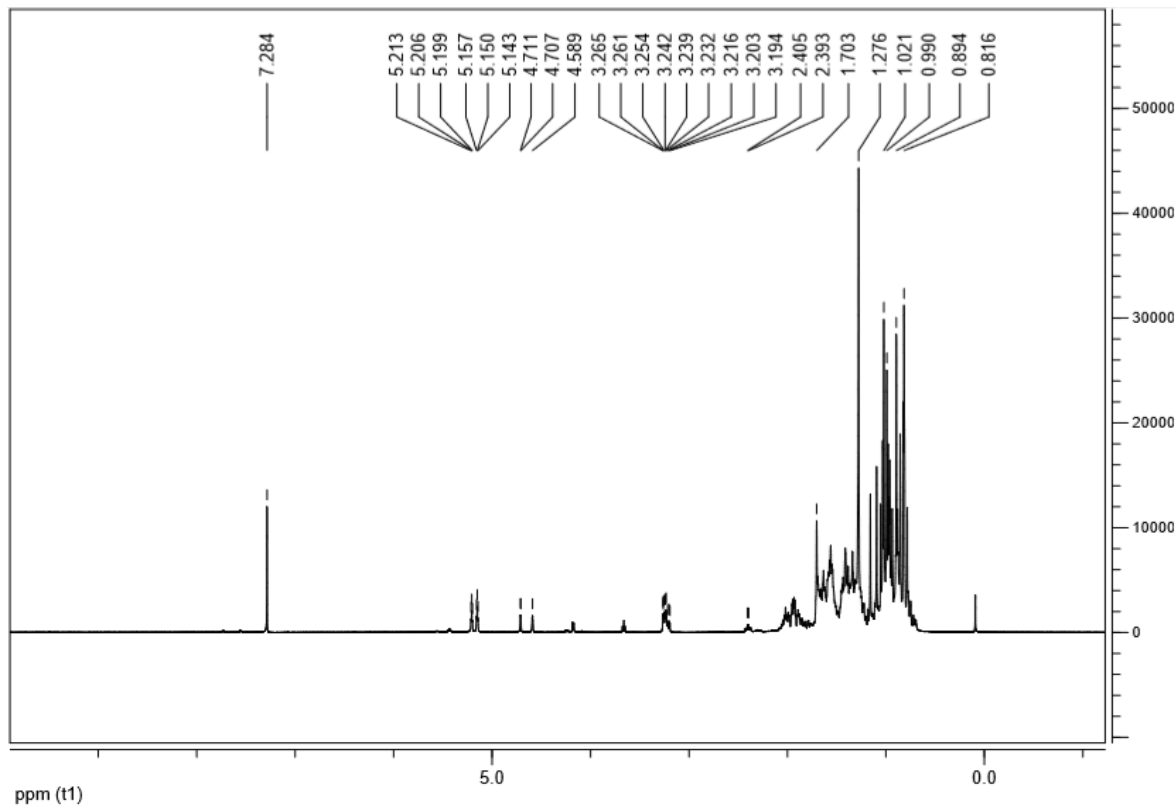


Figura 6. Espectro de RMN ^{13}C em CDCl_3 (125 MHz) de FAP(H)2 (α -amirina, β -amirina e lupeol).

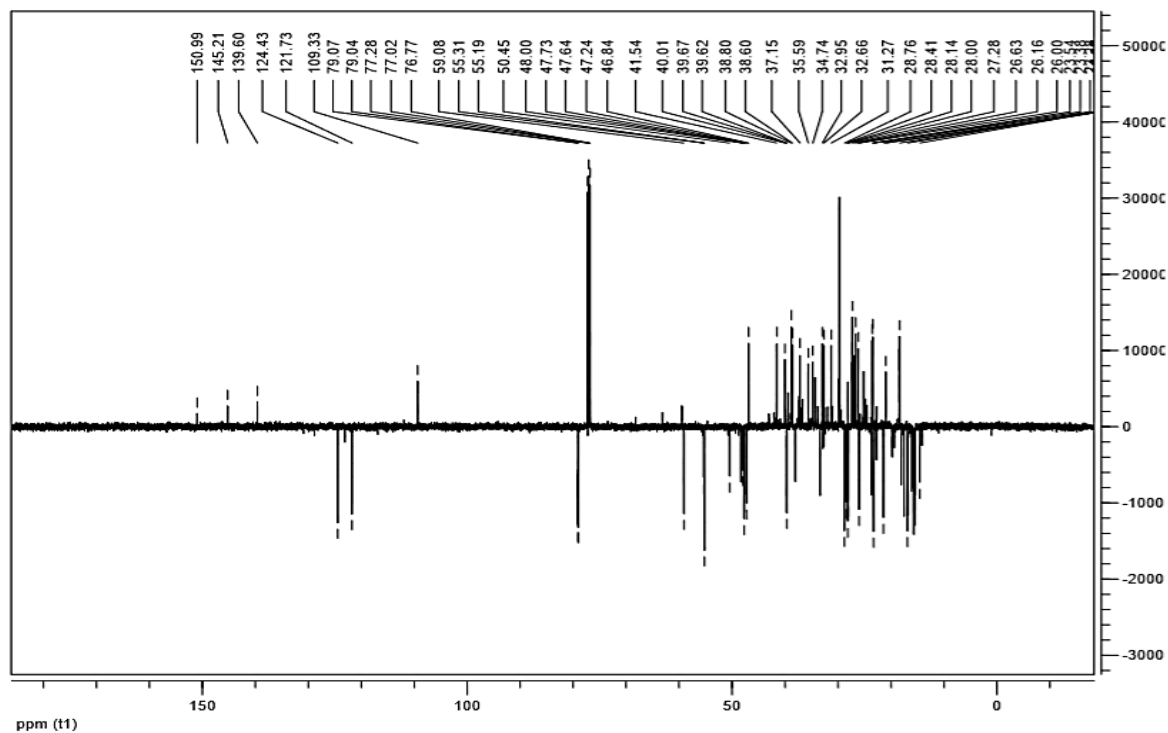
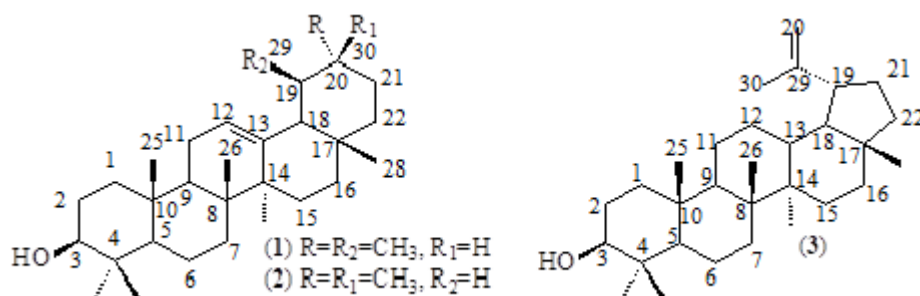


Tabela 3. Dados de RMN ^{13}C em CDCl_3 (125 MHz) de FAP(H)2 (α -amirina, β -amirina e lupeol).



C	α -amirina (1)	Literatura*	β -amirina (2)	Literatura*	Lupeol (3)	Literatura*
	δ_{C}					
1	38,7	38,7	38,7	38,7	38,7	38,7
2	27,2	27,2	27,3	27,3	27,4	27,4
3	79,1	78,3	79,1	79,0	79,1	78,9
4	38,7	38,7	38,8	38,8	38,8	38,8
5	55,2	55,2	55,2	55,3	55,3	55,3
6	18,4	18,3	18,4	18,5	18,3	18,3
7	32,9	32,9	32,6	32,8	34,3	34,2
8	40,0	40,0	38,8	38,8	40,0	40,8
9	47,7	47,7	47,6	47,7	50,4	50,4
10	37,1	36,9	37,1	37,6	37,1	37,1
11	23,3	23,3	23,5	23,6	20,9	20,9
12	124,4	124,3	121,7	121,6	25,1	25,1
13	139,6	139,3	145,2	145,1	38,0	38,0
14	41,5	42,0	41,5	41,8	41,5	42,8
15	28,1	28,7	26,2	26,2	27,4	27,4
16	26,6	26,6	27,2	27,0	35,6	35,5
17	34,7	33,7	32,6	32,5	41,5	43,0
18	59,1	58,9	47,6	47,4	48,3	48,2
19	39,7	39,6	46,8	46,9	47,9	47,9
20	39,7	39,6	31,3	31,1	150,9	150,9
21	31,3	31,2	34,7	34,8	29,7	29,8
22	41,5	41,5	37,1	37,2	40,0	40,0
23	28,1	28,1	28,1	28,2	28,0	28,0
24	15,6	15,6	15,5	15,5	15,4	15,4
25	15,6	15,6	15,6	15,6	16,1	16,1
26	16,8	16,8	16,9	16,9	16,0	15,9
27	23,3	23,3	26,0	26,0	14,6	14,5
28	28,1	28,1	28,3	28,4	18,0	18,0
29	17,5	17,4	33,3	33,3	109,3	109,3
30	21,4	21,3	23,7	23,7	19,3	19,3

* (DE ASSIS JUNIOR et al., 2013)

4.2.2 Flavonoides

4.2.2.1 Substância 4

A amostra FAP1 (20,0 mg), substância **4**, foi obtida na forma de um sólido marrom a partir da fração em acetato de etila de folhas de *A. polyphylla*. A elucidação estrutural de FAP1 foi realizada a partir da análise de espectros de RMN ^1H , ^{13}C (DEPTQ), COSY, HMQC, HMBC e comparação com dados descritos na literatura (WAHAB et al., 2014).

O espectro de RMN ^1H (Figura 7) de FAP1, substância **4**, apresentou um sinal em δ_{H} 6,55 característico de H-3 do anel C de flavonas. Esse sinal apresentou acoplamento a uma ligação com o sinal em δ_{C} 102,4 (C-3) observado no espectro de HMQC. O espectro de RMN ^1H exibiu um sistema ABX em δ_{H} 6,92 (*d*, $J = 8,8$ Hz, H-5'), 7,38 (*sl*, H-2') e 7,40 (*dd*, $J = 8,8$ e 1,8 Hz, H-6'). Esses sinais estão consistentes com um anel B trissubstituído de uma flavona, cujos acoplamentos foram confirmados através do espectro bidimensional COSY ^1H - ^1H . Os dois dupletos em δ_{H} 6,22 (*d*, $J = 2,0$ Hz, H-6) e 6,45 (*d*, $J = 2,0$ Hz, H-6) são consistentes com o anel A de um flavonoide 5,7-dioxigenado. Estes hidrogênios apresentaram sinais de correlação com carbonos em δ_{C} 98,7 (C-6) e 93,6 (C-8) no espectro de HMQC, respectivamente. Comparando os dados obtidos (Tabela 4) com os dados da literatura (WAHAB et al., 2014) foi possível propor para FAP1 a estrutura da luteolina (**4**).

No gênero *Acacia* a ocorrência da luteolina foi descrita nas espécies *A. aroma*, *A. caven*, *A. confusa*, *A. furcatispina*, *A. leucophloea*, *A. longifolia* e *A. praecox*, (GABR et al., 2018; LIN; CHANG; CHANG, 2018). No entanto, este é o primeiro relato da ocorrência deste flavonoide na espécie *A. polyphylla*.

A Luteolina (3',4',5,7-tetrahidroxiflavona) é um dos flavonoides mais comuns, uma importante flavona, com ocorrência natural em diversas espécies de plantas (NABAVI et al., 2015). Este flavonoide apresenta várias atividades farmacológicas, tais como, atividade antioxidante, anti-inflamatória, anticancerígena e neuroprotetora (GABR et al., 2018; LIN; CHANG; CHANG, 2018; NABAVI et al., 2015; PAREDES-GONZALEZ et al., 2015).

Figura 7. Espectro de RMN ^1H em CD_3OD (500 MHz) de FAP1 (luteolina).

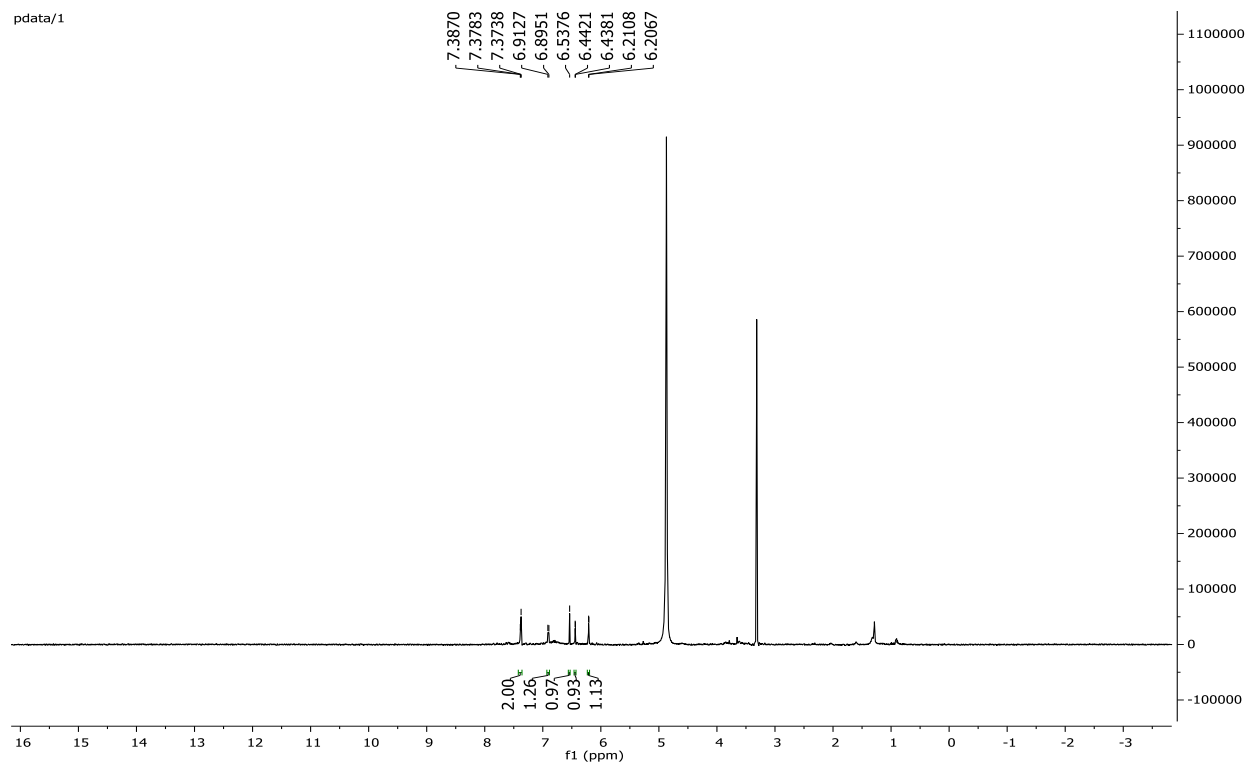


Figura 8. Espectro de RMN ^{13}C em CD_3OD (125 MHz) de FAP1 (luteolina).

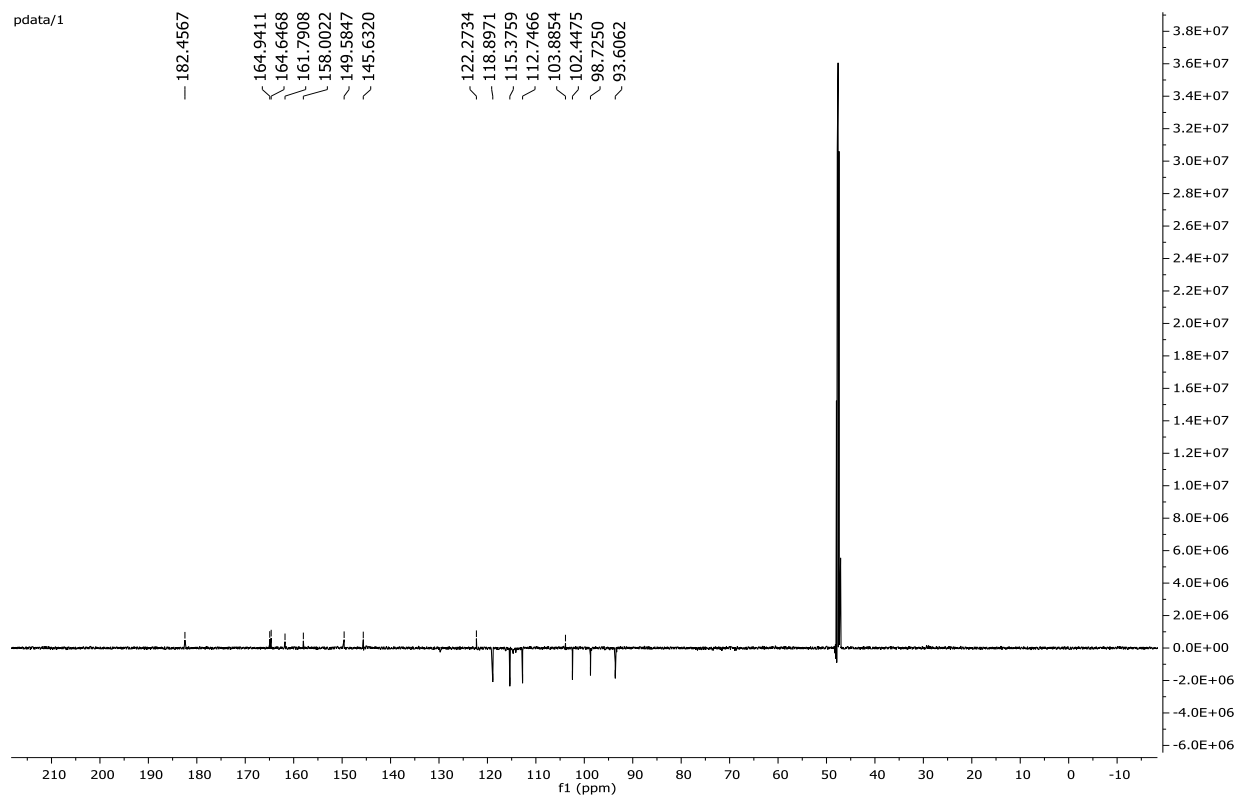
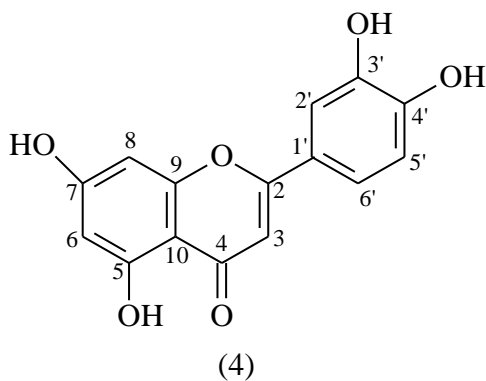


Tabela 4. Dados de RMN ^1H e ^{13}C em CD_3OD (500 e 125 MHz, respectivamente) de FAP1 (luteolina).



C	Luteolina (4)		Literatura*	
	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}
2	164,9	-	164,3	-
3	102,4	6,55 (s)	103,2	6,53 (s)
4	182,5	-	181,7	-
5	161,8	-	161,5	-
6	98,7	6,22 (d, $J= 2,0$ Hz)	99,1	6,19 (d, $J= 1,8$ Hz)
7	164,6	-	164,3	-
8	93,6	6,45 (d, $J= 2,0$ Hz)	94,2	6,43 (d, $J= 1,8$ Hz)
9	158,0	-	157,6	-
10	103,9	-	104,1	-
1'	122,3	-	122,0	-
2'	112,7	7,38 (sl)	112,8	7,36 (d, $J= 1,8$ Hz)
3'	145,6	-	146,1	-
4'	149,6	-	150,0	-
5'	115,4	6,92 (d, $J= 8,8$ Hz)	115,3	6,88 (d, $J= 9,0$ Hz)
6'	118,9	7,40 (dd, $J= 8,8$ e $1,8$ Hz)	119,2	7,39 (dd, $J= 9,0$ e $1,8$ Hz)

*(WAHAB et al., 2014)

4.2.2.2 Substância 5

A amostra FAP2 (20,0 mg), substância **5**, foi obtida na forma de um sólido amarelo a partir da fração em acetato de etila de folhas de *A. polyphylla*. A elucidação estrutural de FAP2 foi realizada a partir da análise de espectros de RMN ^1H , ^{13}C (DEPTQ), COSY, HMQC, HMBC e comparação com dados descritos na literatura (GIRISH; ANIL KUMAR; PRASADA, 2016).

O espectro de RMN ^1H (Figura 9) de FAP 2, substância **5**, apresentou sinais característicos de apigenina 6-*C*-substituída, sendo caracterizado pela presença de dois dupletos em δ_{H} 7,84 ($J= 8,5$ Hz; H-2'/6') e δ_{H} 6,93 ($J= 8,5$ Hz; H-3'/5'), sugerindo um sistema do tipo AA'XX', dois singletos em δ_{H} 6,60 (H-3) e δ_{H} 6,51 (H-8), e ausência de sinal característico de H-6. Adicionalmente, observou-se um sinal em δ_{H} 4,92 (H-1'') que permitiu atribuir a presença de uma unidade glicosídica. Os espectros de RMN ^{13}C (Figura 10) e HMQC de **5** corroboraram com a sugestão de uma unidade de carboidrato pela presença do sinal de carbono anomérico em δ_{C} 73,90 (C-1''), além do sinal para um carbono metilênico em δ_{C} 61,44 (C-6''). Após comparação com dados da literatura (GIRISH; ANIL KUMAR; PRASADA, 2016) propôs-se a presença de uma unidade de glicose. As correlações $^{2,3}J_{\text{HC}}$ observadas no HMBC (Figura 11) entre os picos em δ 4,92/157,3 (H-1''/C-5), 4,92/107,8 (H-1''/C-6) e 4,92/164,7 (H-1''/C-7) confirmaram a conectividade do monossacarídeo na molécula. Por conseguinte, a análise detalhada dos dados de RMN de ^1H e ^{13}C (Tabela 5), COSY ^1H - ^1H , HMQC e HMBC e a comparação com dados descritos na literatura permitiram identificar a substância **5** como isovitexina.

A isovitexina já foi isolada em algumas espécies do gênero *Acacia*, como *A. caven*, *A. furcatispina* e *A. pennata* (DONGMO et al., 2007). No entanto, esta flavona é relatada de forma inédita na espécie *A. polyphylla*.

A isovitexina (apigenina-6-*C*- β -*D*-glicopiranosídeo) é um flavonoide glicosilado que consiste na junção de uma flavona (apigenina) e um sacarídeo (glicose). Possuindo 7 hidroxilas contribuintes para suas atividades biológicas, esta flavona demonstrou propriedades terapêuticas potentes relacionadas as suas propriedades antioxidante e anti-inflamatória, sendo candidata para o tratamento de muitas doenças e síndromes (CARUSO et al., 2014; HE et al., 2016; KHOLE et al., 2016; LIN et al., 2002; LV et al., 2016).

Figura 9. Espectro de RMN ^1H em CD_3OD (500 MHz) de FAP2 (Isovitexina).

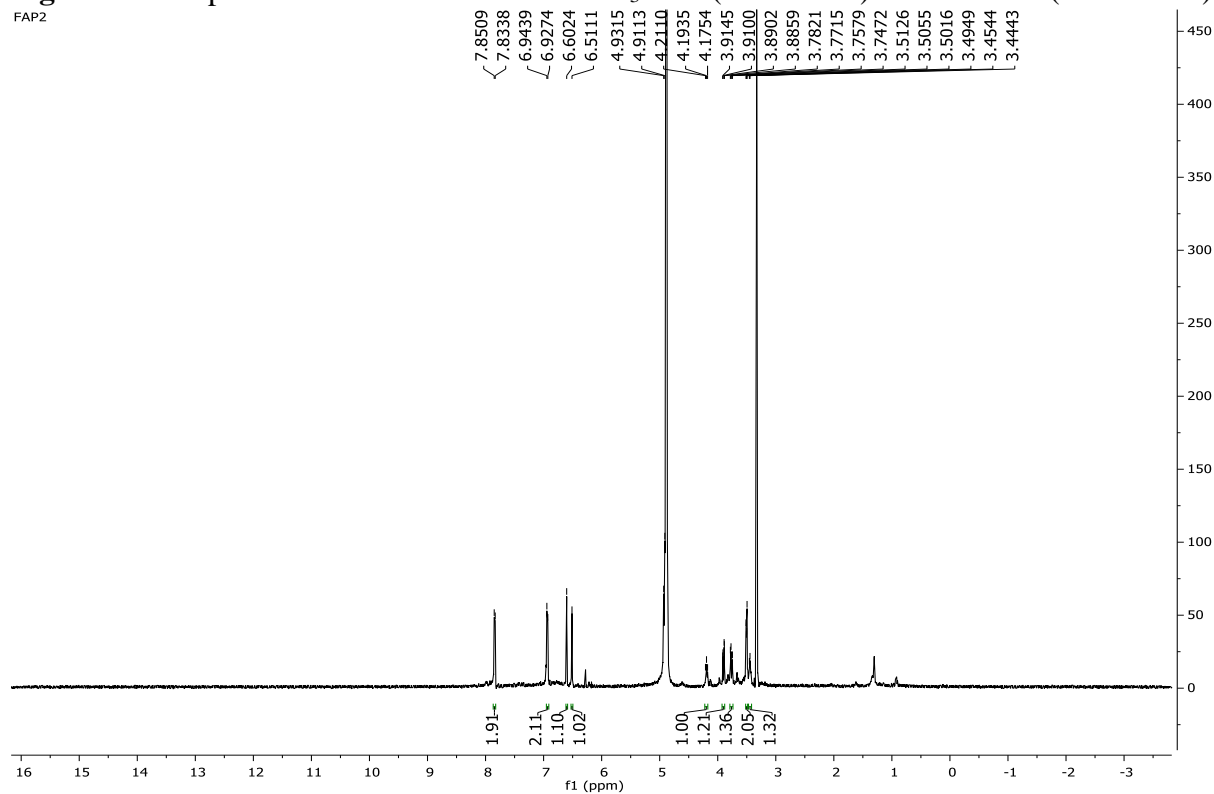


Figura 10. Espectro de RMN ^{13}C em CD_3OD (125 MHz) de FAP2 (Isovitexina).

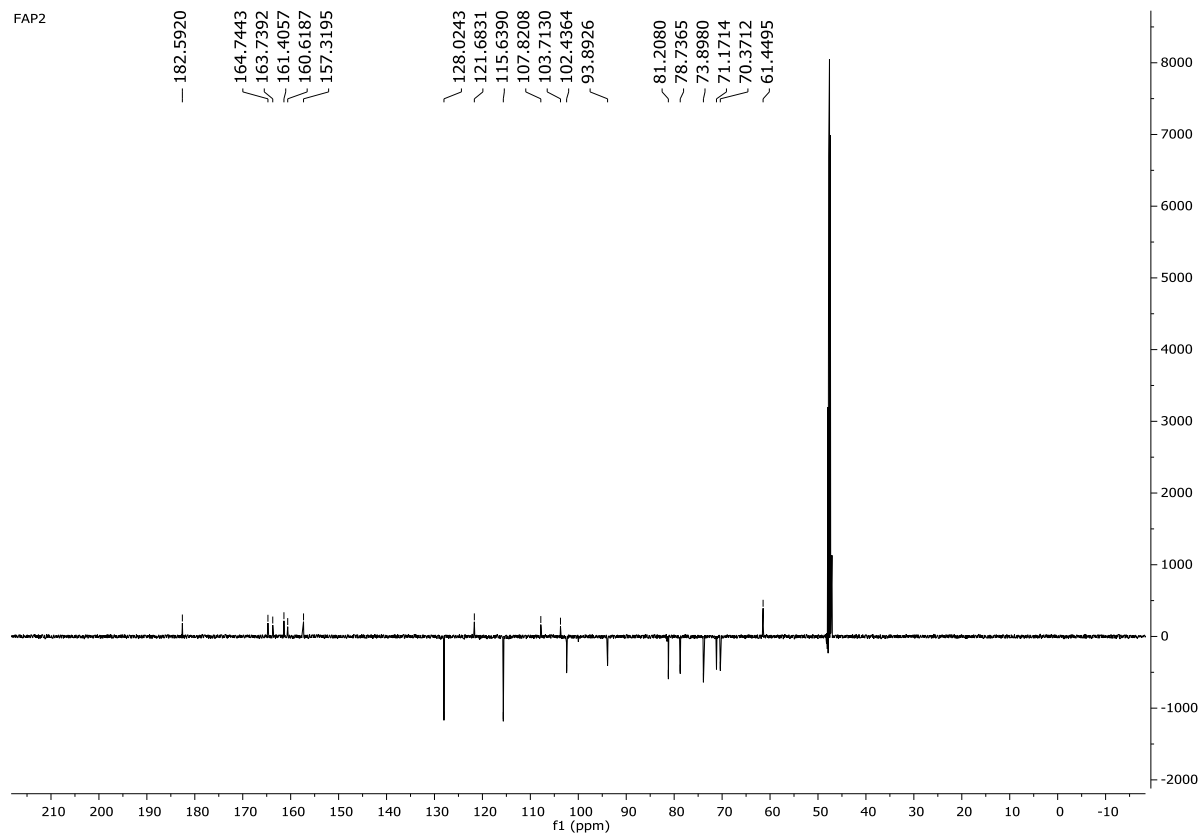


Figura 11. Espectro de HMBC em CD_3OD (RMN 1H : 500 MHz, RMN ^{13}C : 125 MHz) de FCP2 (isovitexina).

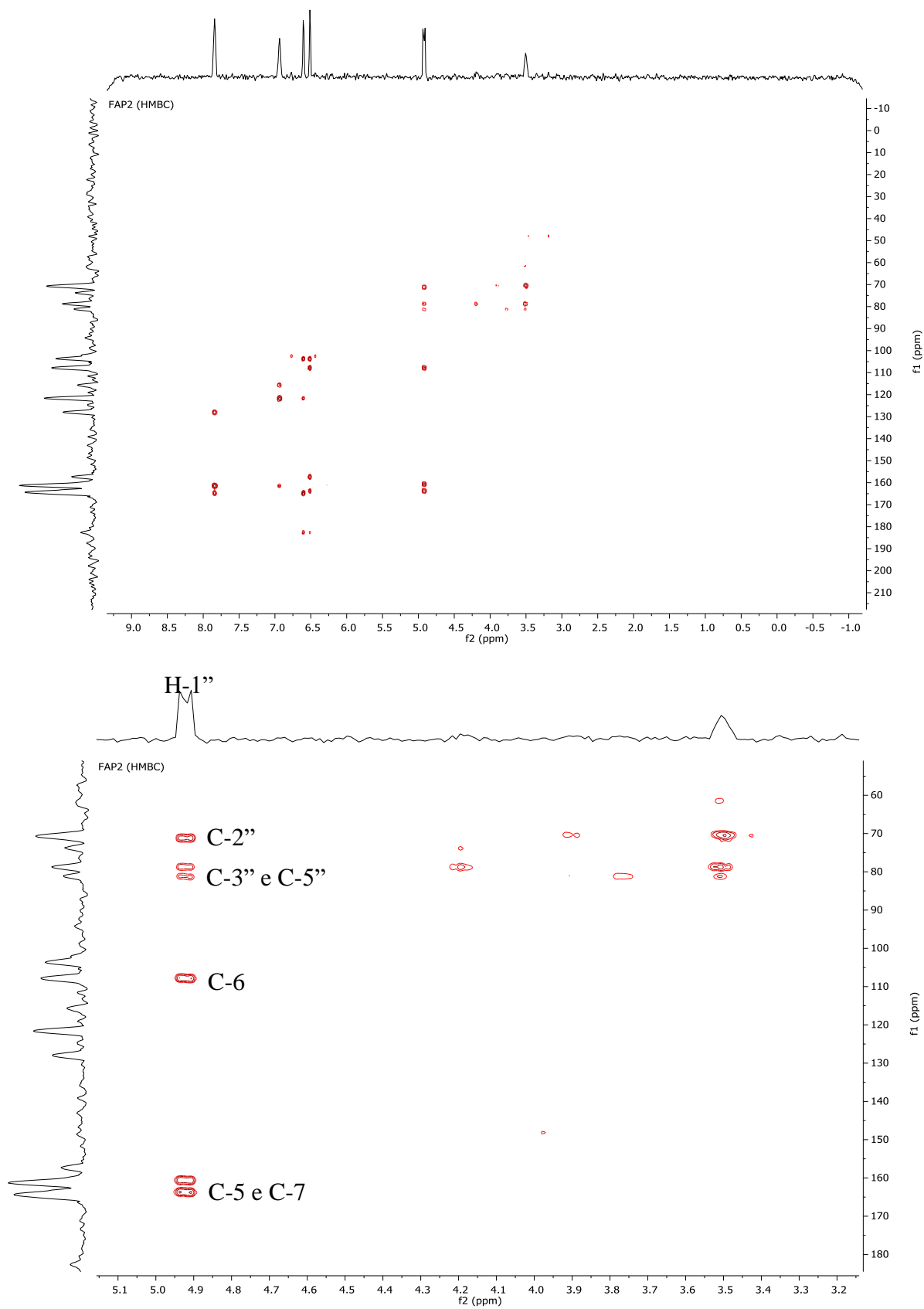
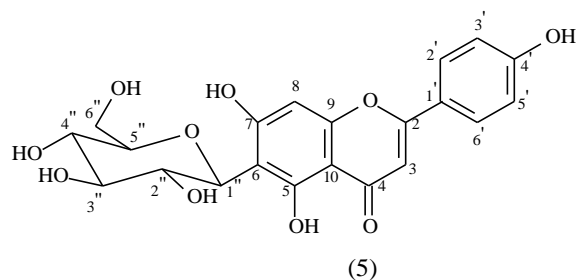


Tabela 5. Dados de RMN ^1H e ^{13}C em CD_3OD (500 e 125 MHz, respectivamente) de FAP2 (isovitexina).



C	Isovitexina (5)		Literatura*	
	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}
2	163,73	-	163,18	-
3	102,43	6,51 (s)	102,21	6,48 (s)
4	182,59	-	182,34	-
5	157,31	-	157,02	-
6	107,82	-	107,49	-
7	164,74	-	164,50	-
8	93,89	6,60 (s)	95,57	6,57 (s)
9	161,40	-	161,06	-
10	103,71	-	103,52	-
1'	121,68	-	121,44	-
2'	128,02	7,84 (d, $J= 8,5$ Hz)	127,73	7,82 (d, $J= 8,5$ Hz)
3'	115,63	6,93 (d, $J= 8,5$ Hz)	115,34	6,91 (d, $J= 8,5$ Hz)
4'	160,61	-	160,31	-
5'	115,63	6,93 (d, $J= 8,5$ Hz)	115,34	6,91 (d, $J= 8,5$ Hz)
6'	128,02	7,84(d, $J= 8,5$ Hz)	127,73	7,82 (d, $J= 8,5$ Hz)
1''	73,90	4,92	73,62	4,89
2''	71,17	4,19	70,94	4,16
3''	78,73	3,49 – 3,51	78,43	3,44 – 3,52
4''	70,37	3,49 – 3,51	70,08	3,44 – 3,52
5''	81,20	3,44 – 3,45	80,89	3,38 – 3,44
6''	61,44	3,90 e 3,76	61,15	3,87 e 3,73

* (GIRISH; KUMAR; PRASADA RAO, 2016)

4.2.2.3 Substâncias 6 e 7

A amostra FAP3 (60,0 mg), substâncias **6** e **7**, foi obtida na forma de um sólido amarelo a partir da fração em acetato de etila de folhas de *A. polyphylla*. A elucidação estrutural de FAP3 foi realizada a partir da análise de espectros de RMN ^1H , ^{13}C (DEPTQ), COSY, HMQC, HMBC e comparação com dados descritos na literatura (WAN et al., 2012).

A análise preliminar do espectro de RMN ^1H (Figura 12) permitiu sugerir a presença de uma mistura de substâncias de natureza flavonoídica, sendo um componente majoritário (**6**) e outro minoritário (**7**). O espectro de RMN ^1H da mistura de **6** e **7** mostrou sinais entre δ_{H} 6,0 e 8,0 ppm característicos de hidrogênios de núcleos aromáticos e sinais entre δ_{H} 3,0 e 5,5 ppm característicos de glicosídeos.

O espectro de RMN ^1H de FAP3, substância **6**, demonstrou padrão de deslocamento químico característico de 3', 4', 5, 7-tetrahidroxiflavonol. Os sinais em δ_{H} 7,72 (*d*; J = 1,8 Hz; H-2'), 7,60 (*dd*; J = 8,5 Hz e 2,1 Hz; H-6') e 6,89 (*d*; J = 8,5 Hz (orto); H-5') referem-se a um sistema ABX onde o anel aromático B do flavonoide possui substituição nas posições 3' e 4'. Os dupletos observados em δ_{H} 6,41 (*d*; J = 2,1 Hz; H-8) e 6,22 (*d*; J = 2,1 Hz; H-6) foram atribuídos aos hidrogênios meta relacionados H-6 e H-8 do anel A. Adicionalmente, foi observada a presença de hidrogênio de carbono anomérico (H-1'') de carboidrato, sendo que este sinal em δ_{H} 5,27 (*d*; J = 7,6 Hz) se correlaciona ao carbono em δ_{C} 102,9 (C-1'') no espectro de HMQC, sugerindo a presença de um flavonoide *O*- β -glicosilado. A localização deste glicosídeo foi definida através das correlações observadas no espectro de HMBC, no qual o H-1'' se correlaciona com o carbono em δ_{C} 134,2 correspondente ao C-3. Comparando os dados obtidos (Tabelas 6 e 7) com os dados da literatura (WAN et al., 2012) foi possível propor para substância **6** a estrutura da isoquercetrina. Os sinais de RMN ^1H e ^{13}C (Tabelas 6 e 7) do componente minoritário, substância **7**, foram compatíveis com a estrutura do hiperosídeo.

Estes flavonoides já foram identificados em outras espécies do gênero *Acacia* (ANDRADE et al, 2003). No entanto, este é o primeiro relato dessas substâncias em *A. polyphylla*. Estes flavonoides apresentam várias atividades farmacológicas, incluindo propriedades quimioprotetoras, contra o estresse oxidativo, câncer, distúrbios cardiovasculares, diabetes e reações alérgicas (VALENTOVÁ et al, 2014).

Figura 12. Espectro de RMN ^1H em CD_3OD (500 MHz) de FAP3 (isoquercitrina e hiperosídeo).

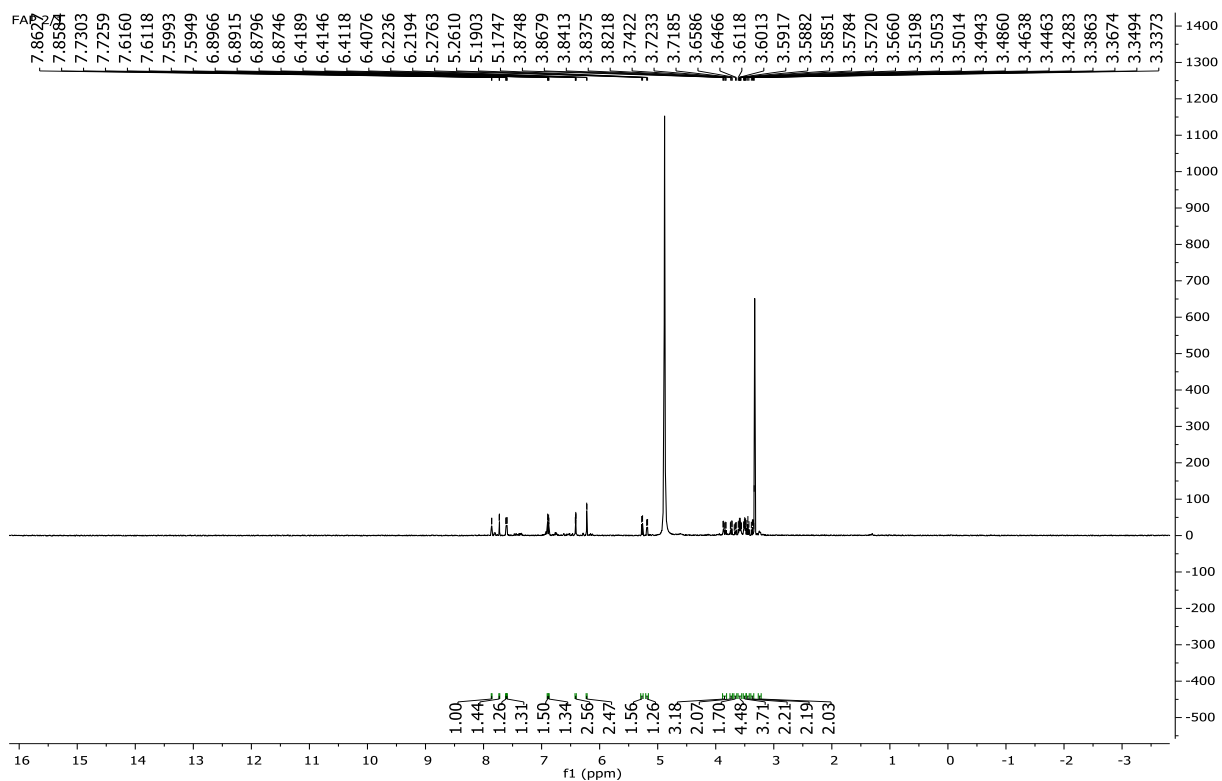


Figura 13. Espectro de RMN ^{13}C em CD_3OD (125 MHz) de FAP3 (isoquercitrina e hiperosídeo).

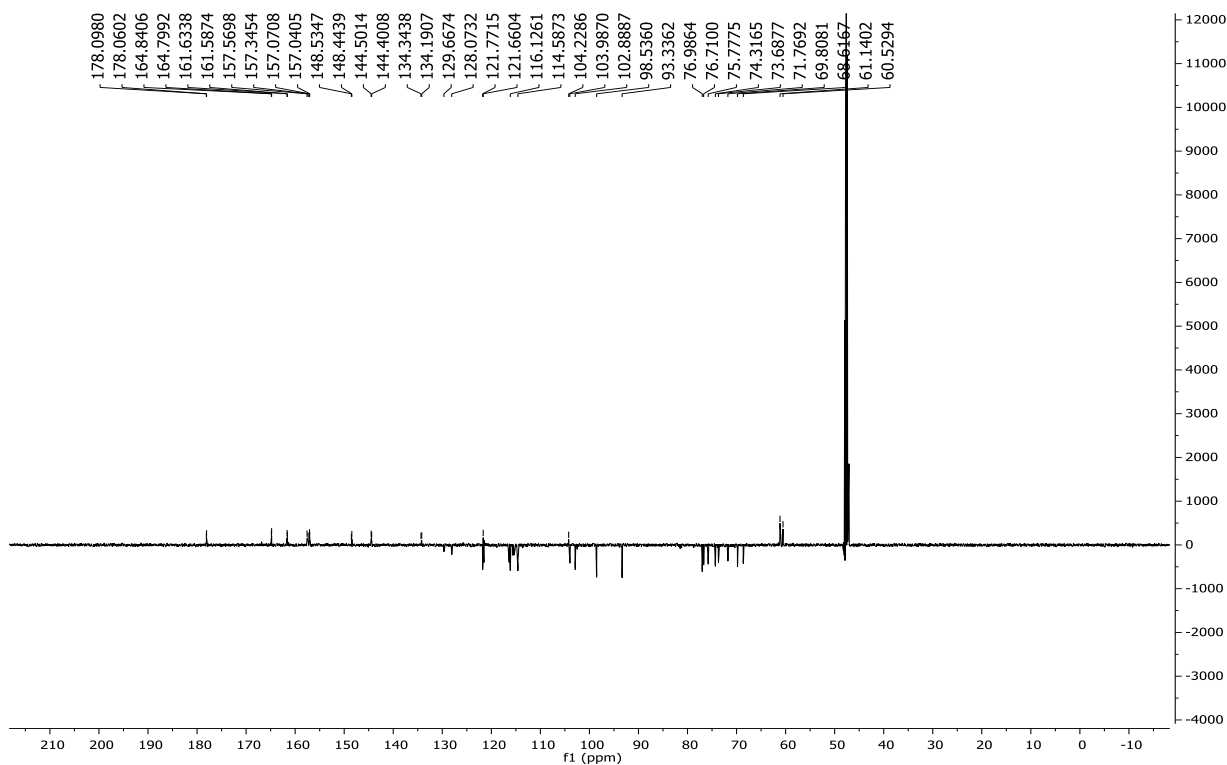
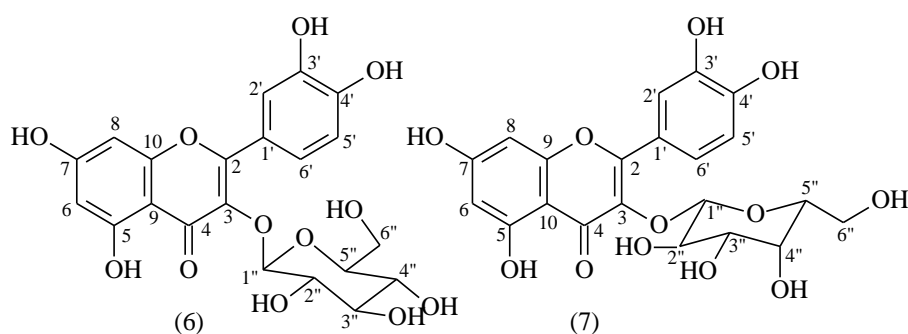


Tabela 6. Dados de RMN ¹H em CD₃OD (500 MHz) de FCP3 (isoquercetina e hiperosídeo).



	Isoquercetina (6)	Literatura*	Hiperosídeo (7)	Literatura*
H	δ_H		δ_H	
6	6,22 (<i>d</i> , J= 2,1 Hz)	6,20 (<i>d</i> , J= 2,1 Hz)	6,22 (<i>d</i> , J= 2,1 Hz)	6,20 (<i>d</i> , J= 2,1 Hz)
8	6,41 (<i>d</i> , J= 2,1 Hz)	6,40 (<i>d</i> , J= 2,1 Hz)	6,42 (<i>d</i> , J= 2,1 Hz)	6,40 (<i>d</i> , J= 2,1 Hz)
2'	7,72 (<i>d</i> , J= 2,2 Hz)	7,71 (<i>d</i> , J= 2,1 Hz)	7,86 (<i>d</i> , J= 2,1 Hz)	7,85 (<i>d</i> , J= 2,1 Hz)
5'	6,89 (<i>d</i> , J= 8,5 Hz)	6,87 (<i>d</i> , J= 8,5 Hz)	6,88 (<i>d</i> , J= 8,5 Hz)	6,86 (<i>d</i> , J= 8,5 Hz)
6'	7,60 (<i>dd</i> , J= 8,5 e 2,1 Hz)	7,60 (<i>dd</i> , J= 8,5 e 2,1 Hz)	7,60 (<i>dd</i> , J= 8,5 e 2,1 Hz)	7,58 (<i>dd</i> , J= 8,5 e 2,1 Hz)
1''	5,27 (<i>d</i> , J= 7,6 Hz)	5,26 (<i>d</i> , J= 7,8 Hz)	5,18 (<i>d</i> , J= 7,8 Hz)	5,18 (<i>d</i> , J= 7,8 Hz)
2'' – 6''	3,33-3,73	3,23 – 3,73	3,87 – 3,43	3,86 – 3,43

* (WAN et al., 2012)

Tabela 7. Dados de RMN ¹³C em CD₃OD (125 MHz) de FCP3.

	Isoquercetina (6)	Literatura*	Hiperosídeo (7)	Literatura*
C	δ_C			
2	157,3	157,3	1157,6	157,6
3	134,2	134,2	134,4	134,3
4	178,1	178,1	178,1	178,1
5	161,6	161,5	161,6	161,5
6	98,5	98,4	98,5	98,4
7	164,8	164,5	164,8	164,6
8	93,3	93,3	93,3	93,3
9	157,1	157,0	157,0	157,0
10	104,0	103,9	104,2	104,2
1'	121,7	121,6	121,8	121,8
2'	116,1	116,1	116,3	116,3
3'	144,4	144,4	144,5	144,5
4'	148,4	148,4	148,5	148,5
5'	114,6	114,6	114,6	114,6
6'	121,4	121,4	121,5	121,5
1''	102,9	102,8	104,0	103,9
2''	74,3	74,3	71,8	71,7
3''	76,7	76,7	73,7	73,7
4''	69,8	69,8	68,6	68,6
5''	77,0	77,0	75,8	75,7

6"	61,1	61,1	60,5	60,5
----	------	------	------	------

* (WAN et al., 2012)

4.2.3 Esteroides

4.2.3.1 Substâncias 8, 9, 10 e 11

A amostra FAP(H)3 (70,0 mg), mistura das substâncias **8**, **9**, **10** e **11**, foi obtida na forma de um sólido cristalino branco a partir da fração em hexano de folhas de *A. polyphylla*. A elucidação estrutural de FAP(H)3 foi realizada a partir da análise de espectros de RMN ¹H e ¹³C (DEPTQ), CG-EM e comparação com dados descritos na literatura (BRAZ-FILHO et al., 1986; LAVOIE e STEVANOVIC, 2007).

A análise da mistura de **8**, **9**, **10** e **11** em cromatoplaça de sílica mostrou três manchas. A mistura FAP(H)3 revelou, por injeção no sistema CG-EM quatro picos principais (Figura 14). No espectro de massas (Figura 15) de cada uma das substâncias foi possível observar picos correspondentes ao íon molecular em *m/z* 414 (26%, C₂₉H₅₀O), 412 (41%, C₂₉H₄₈O), 416 (22%, C₂₉H₅₂O) e 414 (9%, C₂₉H₅₀O), correspondentes ao estigmastanol (**8**), epinasterol (**9**), sitostanol (**10**) e β-sitosterol (**11**), respectivamente. Outros picos com fragmentos em *m/z* 397, 353, 367, 257, 81 e 55, característicos de esteroides, foram detectados através da comparação do padrão de fragmentação com dados da literatura (LAVOIE e STEVANOVIC, 2007).

O espectro de RMN de ¹H (Figura 16) revelou padrões de deslocamento químico característicos de esqueleto esteroidal, com um pacote de sinais na região de δ_H 0,8 e 2,0 ppm atribuídos a grupos metínicos, metilênicos e metílicos; o multiplete observado em δ_H 3,63 foi atribuído ao hidrogênio ligado a carbono carbinólico (H-3). Os sinais de hidrogênios olefínicos aparecem na região de δ_H 5,2 a 5,02 ppm sendo relacionados aos H-7 e H-22/H-23. Os sinais observados no espectro de RMN ¹³C (Figura 17) em δ_C 138,3 e 129,6 foram atribuídos aos carbonos sp² envolvidos na ligação entre C-22/C-23, já os sinais em δ_C 139,7 e 117,6 ppm são compatíveis com ligação dupla entre C-7/C-8. Comparando os dados obtidos (Tabela 8) com os dados da literatura (BRAZ-FILHO et al., 1986) foi possível propor que a substância majoritária na mistura FAP(H)3 e o epinasterol (**9**), os demais sinais observados nos espectros de RMN foram atribuídos as substâncias minoritárias presentes na mistura. Este é o primeiro relato da ocorrência destes esteroides em *A. polyphylla*.

Em 1967 já foram identificados em espécies como a *A. obtusifolia*, *A. melanoxydon*, *A. mearnsii*, *A. sparsiflora* e *A. maidenii* misturas contendo epinasterol e β-sitosterol, sendo o epinasterol considerado um dos fitoesteróis característicos do gênero *Acacia*. (O'SULLIVAN, 1969)

Figura 14. Cromatograma de íons totais (TIC) de FAP(H)3 (estigmastanol, espinasterol, sitostanol e sitosterol) obtido por CG-EM.

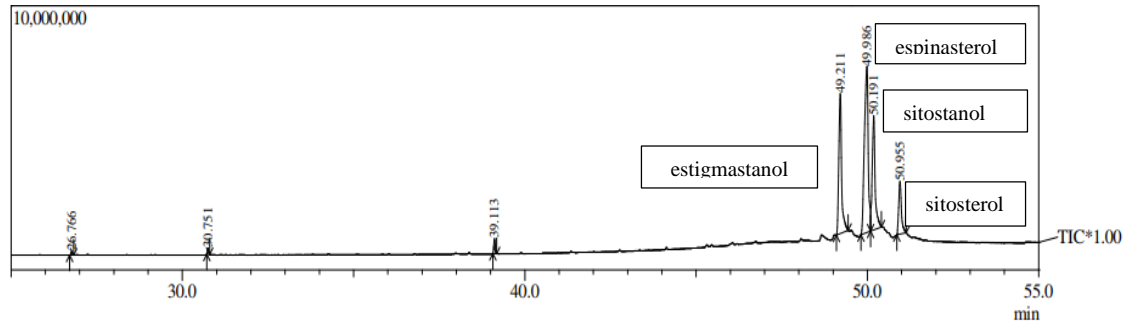


Figura 15. Espectro de massas de FAP(H)3 (estigmastanol, espinasterol, sitostanol e sitosterol) obtido por CG-EM (IE 70 eV).

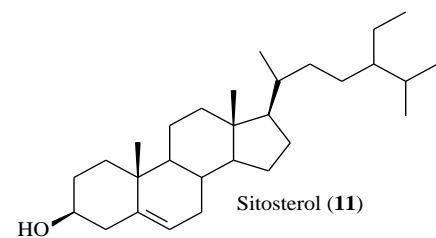
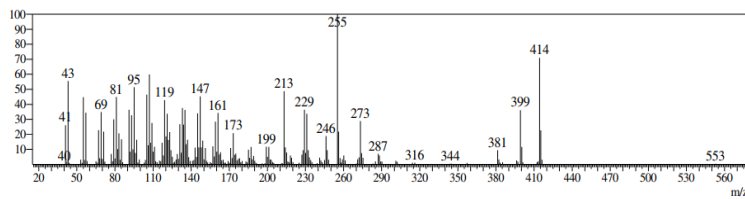
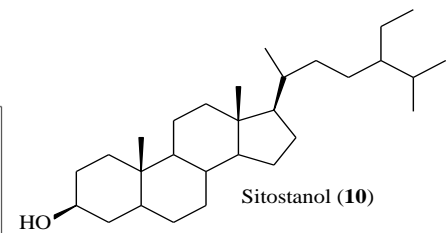
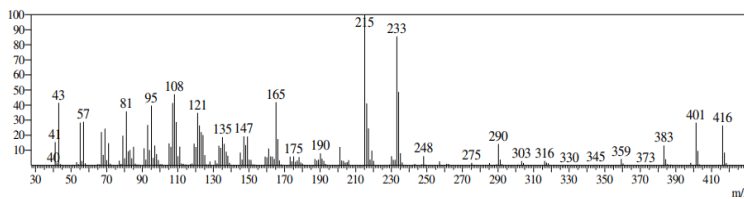
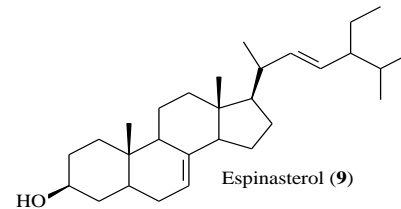
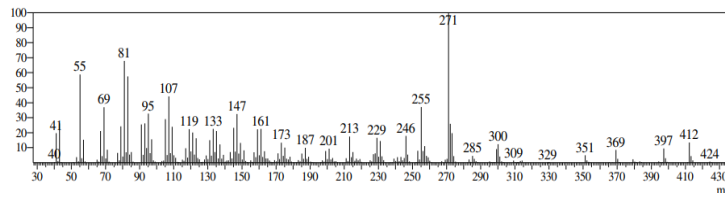
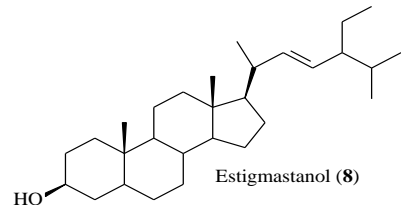
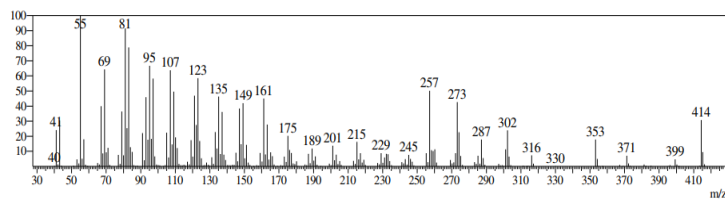


Figura 16. Espectro de RMN ^1H em CDCl_3 (500 MHz) de FAP(H)3 (estigmastanol, espinasterol, sitostanol e sitosterol).

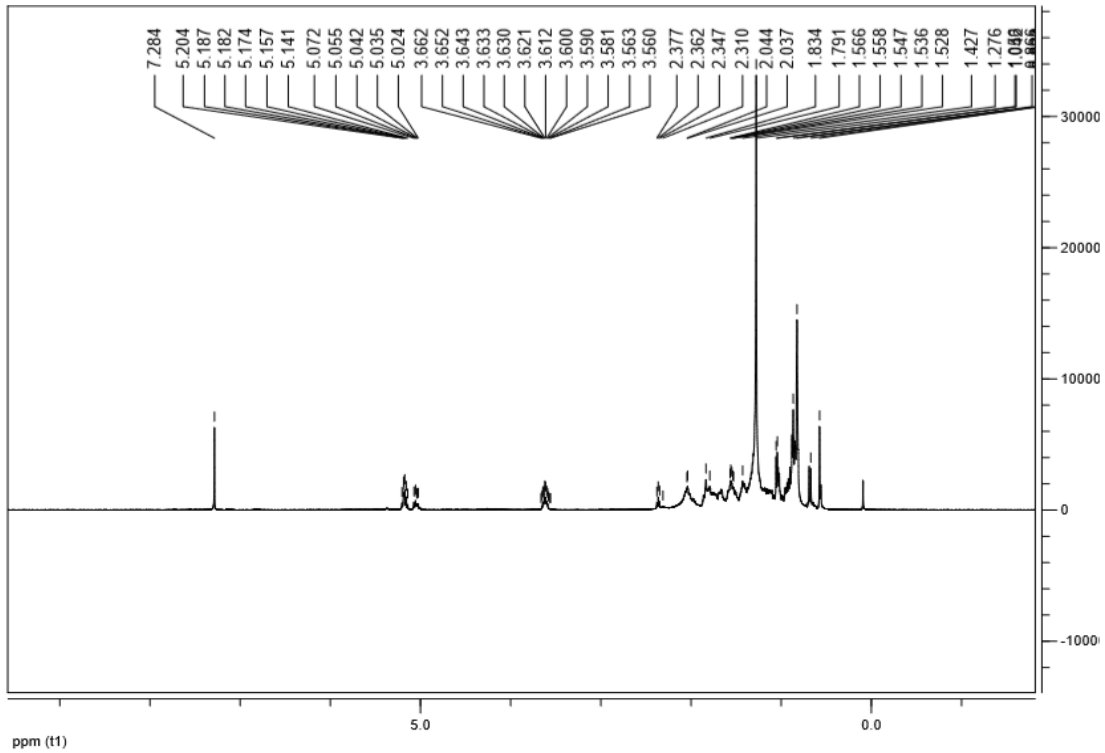


Figura 17. Espectro de RMN ^{13}C em CDCl_3 (125 MHz) de FAP(H)3 (estigmastanol, espinasterol, sitostanol e sitosterol).

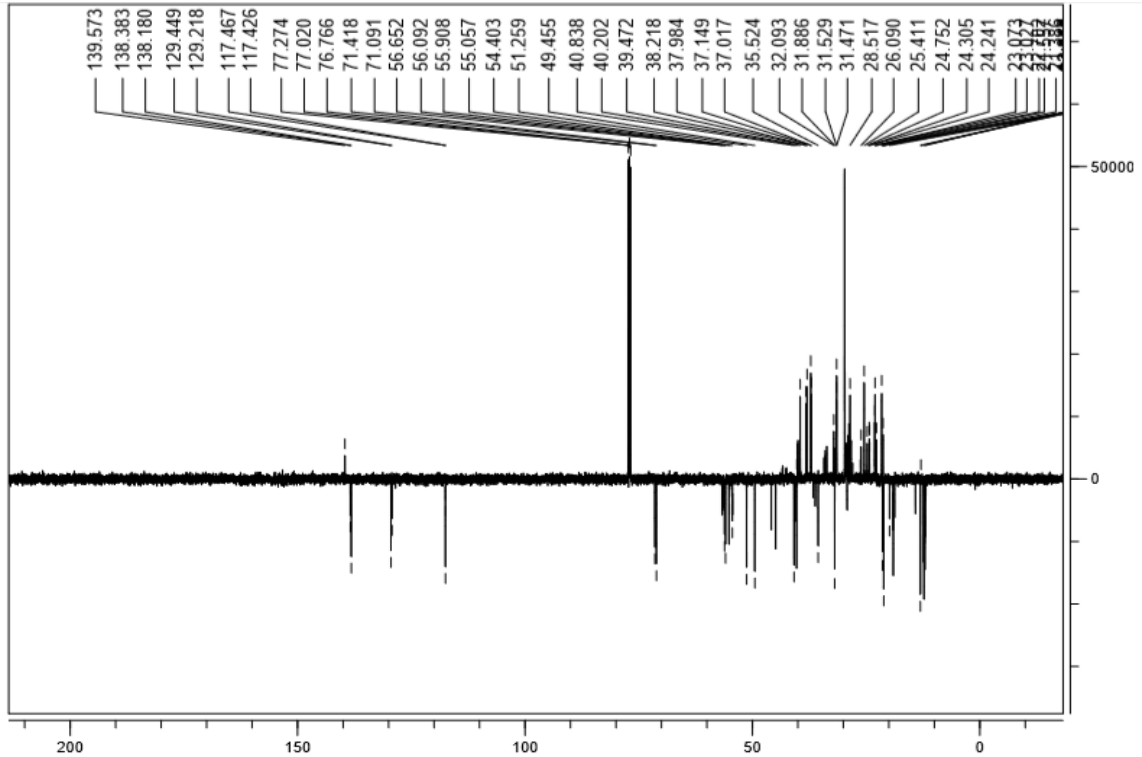
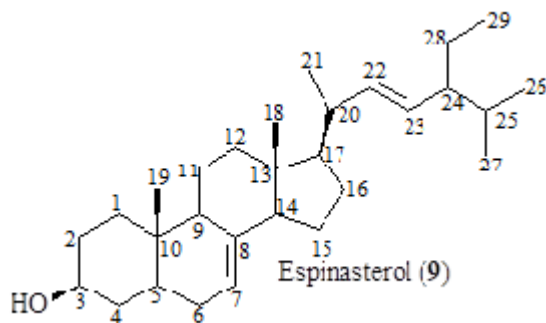


Tabela 8. Dados de RMN ^{13}C em CDCl_3 (125 MHz) de FAP(H)3 (espinasterol).



C	Espinasterol (9)	Literatura*
	δ_{C}	
1	37,3	37,0
2	28,7	28,4
3	71,2	70,8
4	34,1	34,1
5	40,2	40,1
6	29,8	29,6
7	117,6	117,3
8	139,7	139,4
9	49,6	49,3
10	34,1	34,1
11	21,7	21,4
12	39,6	39,4
13	45,0	43,1
14	55,2	55,7
15	23,2	22,9
16	28,9	28,8
17	56,2	55,7
18	12,4	12,1
19	13,2	12,9
20	40,9	40,7
21	21,5	21,2
22	138,3	138,1
23	129,6	129,3
24	51,4	51,1
25	31,6	31,8
26	21,4	21,4
27	19,1	18,9
28	25,6	25,3
29	12,4	12,1

*(BRAZ-FILHO et al., 1986)

4.2.4. Alcano

4.2.4.1 Substância 12

A amostra FAP(H)1 (125,0 mg), substância **12**, foi obtida na forma de um sólido cristalino branco a partir da fração em hexano de folhas de *A. polyphylla*. A elucidação estrutural de FAP(H)1 foi realizada a partir da análise de espectros de CG-EM e comparação com dados descritos na literatura (NIST).

Ao n-nonacosano pode ser creditado a propriedade aleloquímica sendo apresentado como composto químico atraente a insetos, exemplo disso acontece com as flores da *Momordica cochinchinensis* e as fêmeas do inseto *Aulacophora foveicollis* Lucas (Coleoptera: Chrysomelidae) (MUKHERJEE; SARKAR; BARIK, 2013)

Entre as espécies do gênero *Acacia* o n-nonacosano teve a sua presença relatada no óleo da semente da *A. nilótica*. (ABBASIAN; ZIARATI; ASGARPAHAH, 2016)

A amostra FAP(H)1 revelou, por injeção no sistema CG-EM um pico principal (Figura 18). No espectro de massas (Figura 19) da substância **12** foi possível observar o pico correspondente ao íon molecular em m/z 408 (86%, $C_{29}H_{60}$), correspondente ao *n*-nonacosano. Outros picos com fragmentos em m/z 99, 85, 71, 57(100) e 43, característicos de alcanos de cadeia linear, foram detectados através da comparação do padrão de fragmentação com dados da literatura.

Figura 18. Cromatograma de íons totais (TIC) de FAP(H)1 (*n*-nonacosano) obtido por CG-EM.

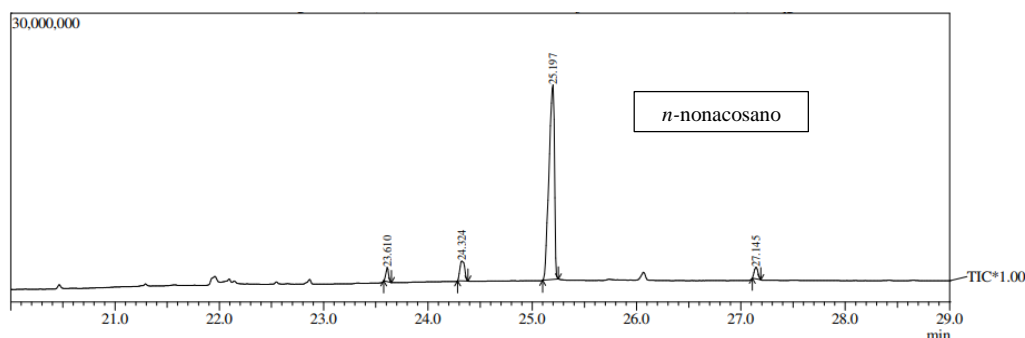
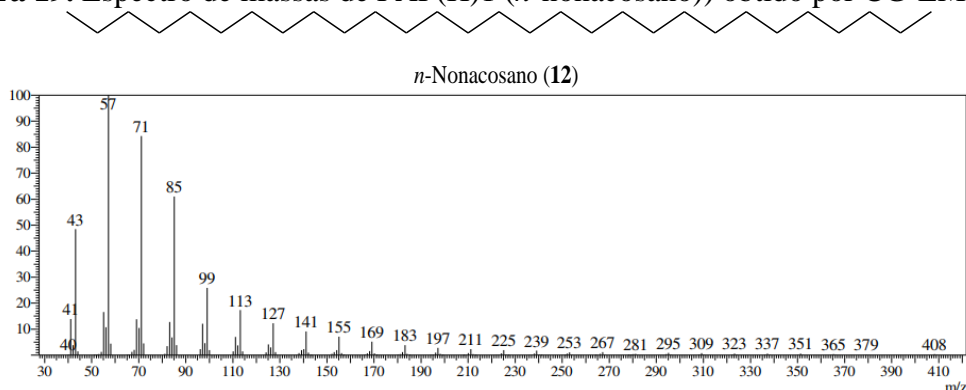


Figura 19. Espectro de massas de FAP(H)1 (*n*-nonacosano) obtido por CG-EM (IE 70 eV).



4.3 Atividade antioxidante

O teor de fenóis totais do extrato etanólico e das frações em hexano, clorofórmio e acetato de etila de folhas de *A. polyphylla*, quantificados pela metodologia de Folin-Dennis estão descritos na Tabela 9. A fração em acetato de etila ($563,28 \pm 1,13$ mg EAG/g de extrato) mostrou o maior teor de fenóis totais, seguida da fração em clorofórmio ($282 \pm 14,32$ mg EAG/g de extrato), do extrato em etanol ($262,72 \pm 2,54$ mg EAG/g de extrato) e da fração em hexano ($259,95 \pm 9,89$ mg EAG/g de extrato).

Resultados apresentados para espécies do gênero *Acacia* sugerem que a quantificação do teor total de fenóis pode variar de acordo com fatores como a parte analisada da espécie ou até mesmo a estação climática na qual ocorreu a coleta. Por exemplo, *A. confusa* apresentou teor de fenóis totais para o extrato etanólico de flores igual a $105,1 \pm 2,0$ mg EAG/g e para os brotos de $173,3 \pm 1,3$ mg EAG/g (TUNG et al., 2011). Já *A. ferruginea* mostrou para os extratos hidroalcoólicos das o teor fenóis totais no valor de $9,32$ mg EAG/g e para a casca de $17,55$ mg EAG/g (FAUJDAR et al., 2016). Com relação a estação do ano, análises dos teores de fenóis totais de extratos etanólicos das acácias: *A. farnesiana*, *A. longifolia* e *A. tortilis* na primavera apresentaram $247,9 \pm 3,5$ mg EAG/g, $858,8 \pm 7,4$ mg EAG/g e $512,4 \pm 4,5$ mg EAG/g e no inverno os valores de $63,2 \pm 2,3$ mg EAG/g, $643,4 \pm 8,2$ mg EAG/g e $338,8 \pm 3,9$ mg EAG/g, respectivamente (GABR et al., 2018). A espécie em estudo, *A. polyphylla* apresentou um moderado teor de fenóis totais em comparação a outras espécies do gênero *Acacia*.

Tabela 9. Teor de fenóis totais, flavonoides totais e atividade sequestradora do radical DPPH de extrato e frações de folhas de *A. polyphylla*.

Extrato e frações	Teor de fenóis mg EAG/g de extrato	Teor de flavonoides mg EQ/g de extrato	DPPH (CE ₅₀ , µg/ml)
EtOH	$262,72 \pm 2,54$	$86,81 \pm 0,42$	$48,18 \pm 2,18$
Hexano	$259,95 \pm 9,89$	$70,96 \pm 2,03$	$263,98 \pm 14,10$
CHCl ₃	$282 \pm 14,32$	$40,50 \pm 1,61$	$140,07 \pm 4,05$
AcOEt	$563,28 \pm 1,13$	$217 \pm 6,46$	$7,78 \pm 0,17$

Das quatro amostras analisadas no ensaio do DPPH, a fração em acetato de etila foi a mais ativa, apresentando o CE₅₀ (concentração da amostra necessária para sequestrar 50% do radical DPPH) no valor de $7,78 \pm 0,17$ µg/ml em comparação com os valores $48,18 \pm 2,18$; $140,07 \pm 4,05$; $263,98 \pm 14,10$, obtidos a partir do extrato etanólico e das frações em clorofórmio e em hexano, respectivamente. Todas as amostras foram consideradas ativas com valores de CE₅₀ abaixo de 500 µg/mL.

A maior atividade antioxidante da fração em acetato de etila pode estar relacionada ao maior teor de compostos fenólicos (563,28 mg EAG/g) e flavonoides (217±6,46 mg EQ/g) em comparação com as demais frações e o extrato analisados, corroborando com o discurso de que os grupos fenólicos atuam como doadores de átomos de hidrogênios para receptores, no caso, radicais livres, inativando-os ou estabilizando-os de maneira que suas ações danosas provocadas em sua maioria pelo seu excesso e ainda associadas a diversas doenças, sejam mitigadas. Seguindo-se então o raciocínio que quanto maior a concentração de grupos fenólicos (doadores de hidrogênios) no extrato orgânico, menor se torna a concentração necessária da amostra para sequestrar o radical livre, exibindo então maior eficiência em sua ação biológica (MESSIAS, 2009).

A espécie *A. polyphylla* pode ser considerada uma promissora fonte de substâncias antioxidantes em comparação a outras espécies do gênero *Acacia*. Dentro de um mesmo quadro de condições: extrato etanólico produzido por meio das folhas, por exemplo, a atividade sequestradora de radicais livres DPPH da *A. polyphylla* foi de 48,18±2,18 CE₅₀ (µg/ml) ficando aquém apenas de espécies como *A. nilótica*, 22,33±0,6 CE₅₀ (µg/ml) e a *A. catechu* 18,26±0,4 CE₅₀ (µg/ml), espécies já conhecidas por seu potencial bioativo dentro do gênero (SUBHAN et al., 2018). As atividades sequestradoras do radical livre DPPH de algumas espécies de *Acacia* são descritas na Tabela 10.

Tabela 10. Atividade sequestradora do radical livre DPPH de espécies do gênero *Acacia*.

Espécie	Extrato ou Fração	Parte vegetal	CE ₅₀ (µg/ml)	Referência
<i>A. confusa</i>	EtOH	Flores	30,8 ± 0,2	(TUNG et al., 2011)
	EtOH	Brotos	13,1 ± 2,3	
<i>A. cyanophylla</i>	AcOEt	Flores	67,26 ± 2,0	(GHRIBIA et al., 2014)
<i>A. karroo</i>	EtOH	Raízes	0,83	(MAROYI, 2017)
<i>A. nilótica</i>	EtOH	Folhas	22,33±0,6	(SAHA; KAR; SEN, 2018)
<i>A. catechu</i>	EtOH	Folhas	18,26±0,4	
<i>A. seyal</i>	EtOH	Hastes	91±0,03	
	CHCl ₃		88±0,01	
<i>A. nubica</i>	EtOH	Partes aéreas	83±0,02	(ABDLLHA et al., 2016)
	CHCl ₃		28±0,20	
<i>A. salicina</i>	EtOH	Folhas	60,39	
<i>A. laeta</i>	EtOH	Folhas	217,06	(ALAM et al., 2017)
<i>A. hamulosa</i>	EtOH	Folhas	255,83	

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Pesquisas que contribuem com o estudo químico de plantas medicinais são de grande interesse pois estes estudos são necessários para validar o uso popular destes vegetais e identificar substâncias naturais bioativas.

O estudo químico de folhas de *A. polyphylla* resultou no isolamento e identificação de quatro flavonoides (luteolina, isovitexina, isoquercitrina e hiperosídeo), três triterpenos (α -amirina, β -amirina e lupeol), quatro esteroides (estigmastanol, espinasterol, sitostanol e sitosterol) e um alceno (*n*-nonacosano) estes dados estão de acordo com o perfil químico de espécies de *Acacia*. Todas as substâncias estão sendo descritas pela primeira vez nesta espécie.

Quando submetidas aos ensaios antioxidantes, todas as amostras foram consideradas ativas. A fração acetato de etila apresentou o melhor resultado dentre os obtidos, com CE_{50} no valor de $7,78 \pm 0,17$ $\mu\text{g/mL}$, e teores de fenóis totais e flavonoides totais com valores de $563,28 \pm 1,13$ mg EAG/g e $217 \pm 0,17$ mg EQ/g, respectivamente, sugerindo o potencial da espécie *A. polyphylla* como fonte de antioxidantes. Parte da atividade antioxidante da fração acetato de etila pode ser atribuída aos flavonoides identificados.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBASIAN, K.; ZIARATI, P.; ASGARPAHAH, J. Seed oil composition of *Acacia nilotica* (L.) Delile from Iran. **Herba Polonica**, v. 62, n. 1, p. 22–28, 2016.
- ABDULLHA, H. B. et al. Evolution of Antimicrobial , Antioxidant Potentials and Phytochemical Studies of Three Solvent Extracts of Five Species from *Acacia* Used in Sudanese Ethnomedicine. n. August, p. 691–698, 2016.
- AFSAR, T. et al. Antipyretic, anti-inflammatory and analgesic activity of *Acacia hydasypica* R. Parker and its phytochemical analysis. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 15, n. 1, p. 1–12, 2015.
- AFSAR, T. et al. Antioxidant activity of polyphenolic compounds isolated from ethyl-acetate fraction of *Acacia hydasypica* R. Parker. **Chemistry Central Journal**, v. 12, n. 1, p. 1–13, 2018.
- AGRAWAL, N. K. et al. IJBCP International Journal of Basic & Clinical Pharmacology Original Research Article Anti-nociceptive effect of seed extract of *Acacia tortilis* in rodents. v. 7, n. 4, p. 650–654, 2018.
- AHMAD, F.; ANWAR, F.; HIRA, S. Review on medicinal importance of fabaceae family. **Pharmacologyonline**, v. 3, p. 151–156, 2016.
- ALAJMI, M. F. et al. Comparative anticancer and antimicrobial activity of aerial parts of *Acacia salicina*, *Acacia laeta*, *Acacia hamulosa* and *Acacia tortilis* grown in Saudi Arabia. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 25, n. 8, p. 1248–1252, 2017.
- ALAM, P. et al. Comparative study of antioxidant activity and validated RP-HPTLC analysis of rutin in the leaves of different *Acacia* species grown in Saudi Arabia. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 25, n. 5, p. 715–723, 2017.
- ALAMBAYAN, J. et al. Evaluation of antiulcer activity of roots of *Acacia catechu* Willd. (Mimosoideae). **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry JPP**, v. 79, n. 35, p. 79–84, 2015.
- ALVES, C. Q. et al. Avaliação da atividade antioxidante de flavonóides. **Revista da Rede de Ensino FTC**, n. 12, p. 1–8, 2007.
- ALVES, C. Q. et al. Métodos para determinação de atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos. **Química Nova**, v. 33, n. 10, p. 2202–2210, 2010.
- AMORATI, R.; VALGIMIGLI, L. Methods to Measure the Antioxidant Activity of Phytochemicals and Plant Extracts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 66, n. 13, p. 3324–3329, 2018.
- ANGELO, R. U. Original Research Article Efficacy of *Acacia nilotica* Extracts Towards Microbicidal Activity against Pathogens. v. 4, n. 10, p. 33–42, 2015.

- ANJOS, O. et al. Determination of structural phenolic compounds of *Acacia dealbata* pollen by HPLC/DAD. **Planta Medica**, v. 80, n. 16, p. 1533–1534, 2014.
- AUGUST, J.- et al. Antiinflammatory , analgesic and antipyretic effects of dichloromethane stem bark extract of *Acacia mellifera*. v. 6, n. 4, p. 239–246, 2017.
- BANDYOPADHYAY, S. Detection of various phytochemical compounds from seeds of *A. Auriculiformis* for possibilities of obtaining potent antimicrobial agents. n. June 2015, 2018.
- BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. P. Divulgação. **Quimica Nova**, v. 29, n. 1, p. 113–123, 2006.
- BODEDE, O. et al. Quorum sensing inhibitory potential and in silico molecular docking of flavonoids and novel terpenoids from *Senegalia nigrescens*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 216, p. 134–146, 2018.
- BORGES, L. M.; PIRANI, J. R. Flora da Serra do Cipó, Minas Gerais: Leguminosae-Mimosoideae. **Boletim de Botânica**, v. 31, n. 1, p. 41, 2013.
- CARUSO, Í. P. et al. Binding of antioxidant flavone isovitexin to human serum albumin investigated by experimental and computational assays. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 98, p. 100–106, 2014.
- CARUSO, P. Ícaro Putinhon Caruso Estudo da Interação entre Flavonóides e a Albumina do Soro Humano São José do Rio Preto - SP Ícaro Putinhon Caruso Estudo da Interação entre Flavonóides e a Albumina do Soro Humano São José do Rio Preto - SP. 2012.
- CASTILLO-MITRE, G. F. et al. Caffeoyl and coumaroyl derivatives from *Acacia cochliacantha* exhibit ovicidal activity against *Haemonchus contortus*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 204, n. April, p. 125–131, 2017.
- CASTRO, L. T. S. et al. Citometria De Fluxo: Histórico, Princípios Básicos E Aplicações Em Pesquisa. **Enciclopédia Biosfera**, v. 13, n. 23, p. 1–26, 2016.
- CHAGAS, A. P. et al. Leguminosae-caesalpinioideae do parque estadual paulo César vinha, Espírito Santo, Brasil. **Rodriguesia**, v. 65, n. 1, p. 99–112, 2014.
- CHANDRAN, R. et al. A combination antioxidant therapy to inhibit NOX2 and activate Nrf2 decreases secondary brain damage and improves functional recovery after traumatic brain injury. **Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism**, v. 38, n. 10, p. 1818–1827, 2018.
- CORDELL, G. A. Phytochemistry and traditional medicine - The revolution continues. **Phytochemistry Letters**, v. 10, n. 4, p. xxviii–xl, 2015.
- CORRÊA, R. C. G. et al. New phytochemicals as potential human anti-aging compounds: Reality, promise, and challenges. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 58, n. 6, p. 942–957, 2018.
- COUTINHO, M. A. S.; MUZITANO, M. F.; COSTA, S. S. Flavonoids: Potential therapeutic agents for the inflammatory process. **Revista Virtual de Química**, v. 1, n. 3, p. 241–256, 2009.

DAOUB, R. M. A. et al. Characterization and functional properties of some natural Acacia gums. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, 2016.

DASH, G. K.; ABDULLAH, M. S.; ACHARYYA, S. Pharmacognostic evaluation of the bark of *Acacia suma* Roxb (Fabaceae). **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v. 13, n. 6, p. 961–966, 2014.

DE ASSIS JUNIOR, L. R. et al. Pregnanos e outros constituintes das raízes de *Macrosiphonia petraea* (A. St.-Hil.) Kuntze (Apocynaceae). **Quimica Nova**, v. 36, n. 4, p. 519–523, 2013.

DONALISIO, M. et al. The traditional use of *Vachellia nilotica* for sexually transmitted diseases is substantiated by the antiviral activity of its bark extract against sexually transmitted viruses. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 213, p. 403–408, 2018.

DONGMO, A. B. et al. Flavonoids from *Acacia pennata* and their cyclooxygenase (COX-1 and COX-2) inhibitory activities. **Planta Medica**, v. 73, n. 11, p. 1202–1207, 2007.

DOUGHARI, J. H. Phytochemical constituents of some selected medicinal plants. In: **Phytochemicals - A Global Perspective of Their Role in Nutrition and Health**. [s.l: s.n.].

EL AYEB-ZAKHAMA, A. et al. Chemical Composition and Allelopathic Potential of Essential Oils Obtained from *Acacia cyanophylla* Lindl . Cultivated in Tunisia. **Chemistry & Biodiversity**, v. 12, n. 4, p. 615–626, 2015.

EX, C.; STEM, B. EVALUATION OF IN VITRO ANTI ARTHRITIC ACTIVITY OF *ACACIA AURICULIFORMIS* A . n. February, 2016.

FAUJDAR, S. et al. Comparative analysis of analgesic and anti-inflammatory activity of bark and leaves of *Acacia ferruginea* DC. **Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences**, v. 5, n. 1, p. 70–78, 2016.

GABR, S. et al. Characterization and optimization of phenolics extracts from *Acacia* species in relevance to their anti-inflammatory activity. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 78, p. 21–30, 2018.

GHRIBIA, L. et al. Antioxidant and anti-acetylcholinesterase activities of extracts and secondary metabolites from *Acacia cyanophylla*. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 4, n. Suppl 1, p. S417–S423, 2014.

GIRISH, T. K.; KUMAR, K. A.; PRASADA RAO, U. J. S. C-Glycosylated flavonoids from black gram husk: Protection against DNA and erythrocytes from oxidative damage and their cytotoxic effect on HeLa cells. **Toxicology Reports**, v. 3, p. 652–663, 2016.

HANTIKAINEN, E. et al. Dietary non enzymatic antioxidant capacity and the risk of myocardial infarction in the Swedish women's lifestyle and health cohort. **European Journal of Epidemiology**, v. 33, n. 2, p. 213–221, 2018.

HE, M. et al. A review on the pharmacological effects of vitexin and isovitexin. **Fitoterapia**, v. 115, p. 74–85, 2016.

HENDRA, R.; WILLIS, A.; KELLER, P. A. Phytochemical studies on the Australian native plant species *Acacia pycnantha* and *Jacaranda mimosifolia* D.Don*. **Natural Product Research**, v. 6419, p. 1–7, 2018.

JARVIS, B. B. **Chapter One The role of natural products in evolution**. [s.l.] Elsevier Science Ltd, 2000. v. 34

JELASSI, A. et al. Two new unusual monoterpene acid glycosides from *Acacia cyclops* with potential cytotoxic activity. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 24, n. 16, p. 3777–3781, 2014.

JELASSI, A. et al. Phytochemical composition and allelopathic potential of three Tunisian *Acacia* species. **Industrial Crops and Products**, v. 83, p. 339–345, 2016.

KHOLE, S. et al. Comprehensive Assessment of Antioxidant Activities of Apigenin Isomers: Vitexin and Isovitexin. **Free Radicals and Antioxidants**, v. 6, n. 2, p. 155–166, 2016.

LIN, C. M. et al. Prevention of cellular ROS damage by isovitexin and related flavonoids. **Planta Medica**, v. 68, n. 4, p. 365–367, 2002.

LIN, H. Y.; CHANG, T. C.; CHANG, S. T. A review of antioxidant and pharmacological properties of phenolic compounds in *Acacia confusa*. **Journal of Traditional and Complementary Medicine**, p. 4–11, 2018.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. [s.l.: s.n.].

LORENZO, P.; PEREIRA, C. S.; RODRÍGUEZ-ECHEVERRÍA, S. Differential impact on soil microbes of allelopathic compounds released by the invasive *Acacia dealbata* Link. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 57, p. 156–163, 2013.

LPWG. A new subfamily classification of the Leguminosae based on a taxonomically comprehensive phylogeny – The Legume Phylogeny Working Group (LPWG). **Taxon**, v. 66, n. 1, p. 44–77, 2017.

LV, H. et al. Isovitexin exerts anti-inflammatory and anti-oxidant activities on lipopolysaccharide-induced acute lung injury by inhibiting MAPK and NF- κ B and activating HO-1/Nrf2 pathways. **International Journal of Biological Sciences**, v. 12, n. 1, p. 72–86, 2016.

MAROYI, A. *Acacia karroo* Hayne: Ethnomedicinal uses, phytochemistry and pharmacology of an important medicinal plant in southern Africa. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 10, n. 4, p. 351–360, 2017.

MATOS, F. J. A. **Introdução à Fitoquímica Experimental**. 2. ed. Fortaleza: Edições UFC, 141p, 1997.

MEDA, A. et al. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. **Food Chemistry**, v. 91, n.

3, p. 571–577, 2005.

MESSIAS, K. L. D. S. Dossiê Antioxidantes. **Food Ingredients Brasil**, v. 6, p. 16–31, 2009.
MOHAMMED, M. M. et al. Compounds isolation and antioxidant activity of *Faidherbia albida* fruit extract. p. 35–40, 2018.

MONQUERO, P. A. et al. Seletividade de herbicidas em mudas das espécies nativas *Acacia polyphylla*, *Enterolobium contortisiliquum* (Fabaceae), *Ceiba speciosa* e *Luehea divaricata* (Malvaceae). **Planta Daninha**, v. 29, n. 1, p. 159–168, 2011.

MOVSUMOV, I. S. et al. Flavonoids of *Acacia dealbata* and *Filipendula vulgaris* Growing in Azerbaijan. **Chemistry of Natural Compounds**, v. 53, n. 4, p. 754–755, 2017.

MUKHERJEE, A.; SARKAR, N.; BARIK, A. Alkanes in Flower Surface Waxes of *Momordica cochinchinensis* Influence Attraction to *Aulacophora foveicollis* Lucas (Coleoptera: Chrysomelidae). **Neotropical Entomology**, v. 42, n. 4, p. 366–371, 2013.

MURPHY, D. J. et al. Molecular phylogeny of *Acacia* subgenus *Phyllodineae* (Mimosoideae: Leguminosae) based on DNA sequences of the internal transcribed spacer region. **Australian Systematic Botany**, v. 16, n. 1, p. 19–26, 2003.

NABAVI, S. F. et al. Luteolin as an anti-inflammatory and neuroprotective agent: A brief review. **Brain Research Bulletin**, v. 119, p. 1–11, 2015.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural Products as Sources of New Drugs from 1981 to 2014. **Journal of Natural Products**, v. 79, n. 3, p. 629–661, 2016.

NICULAU, E. S. et al. Quantitative Analysis of Natural Products in Plants by LC-MS. **Revista Virtual de Química**, v. 8, n. 1, 2016.

O’SULLIVAN, Liam, S. S.; O’Sullivan, W. I. J. Chem. Soc., Perkin Trans 1 1977, 1009. v. 14, 1969.

OLMEDO-JUÁREZ, A. et al. In vitro larvicidal effect of a hydroalcoholic extract from *Acacia cochliacantha* leaf against ruminant parasitic nematodes. **Veterinary Research Communications**, v. 41, n. 3, p. 227–232, 2017.

ORCHARD, A. E.; MASLIN, B. R. (1584) Proposal to conserve the name *Acacia* (Leguminosae: Mimosoideae) with a conserved type. **Taxon**, v. 52, n. 2, p. 362–363, 2003.

PAREDES-GONZALEZ, X. et al. Induction of NRF2-mediated gene expression by dietary phytochemical flavones apigenin and luteolin. **Biopharmaceutics and Drug Disposition**, v. 36, n. 7, p. 440–451, 2015.

PATRIDGE, E. et al. An analysis of FDA-approved drugs: Natural products and their derivatives. **Drug Discovery Today**, v. 21, n. 2, p. 204–207, 2016.

RATHER, L. J.; SHAHID-UL-ISLAM; MOHAMMAD, F. *Acacia nilotica* (L.): A review of its traditional uses, phytochemistry, and pharmacology. **Sustainable Chemistry and Pharmacy**, v. 2, p. 12–30, 2015.

REDDY, H.; NIRMALADEVI, B.; GOPINATH, C. Antihypertensive activity of ethanolic extract of *Acacia nilotica*. v. 12, n. 1, p. 108–111, 2018.

RIBEIRO, P. G.; DE QUEIROZ, L. P.; MORIM, M. P. Flora da Bahia: Leguminosae – Parapiptadenia (Mimosoideae: Mimoseae). **SITIENIBUS série Ciências Biológicas**, v. 16, p. 1–13, 2016.

SADIQ, M. B. et al. Screening of phytochemicals and in vitro evaluation of antibacterial and antioxidant activities of leaves, pods and bark extracts of *Acacia nilotica* (L.) Del. **Industrial Crops and Products**, v. 77, p. 873–882, 2015.

SAHA, M. R.; KAR, P.; SEN, A. Assessment of phytochemical, antioxidant and genetic diversities among selected medicinal plant species of Mimosoideae (Mimosaceae). v. 17, n. January, p. 132–140, 2018.

SANCHEZ, C. et al. Acacia gum: History of the future. **Food Hydrocolloids**, 2017.

SEIGLER, D. S. Phytochemistry of *Acacia* - Sensu lato. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 31, n. 8, p. 845–873, 2003.

SILVA, L. R. DA et al. Flavonoids: Chemical composition, medical actions and toxicity. **Acta toxicológica argentina**, v. 23, p. 36–43, 2015.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTS, R. M. 52 POLYPHENOLS AND FLAVONOIDS. Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent. v. 299, n. 1974, p. 152–178, 1999.

SOUSA, J. D. S. DE; BASTOS, M. D. N. D. C.; ROCHA, A. E. S. Mimosoideae (Leguminosae) do litoral paraense. **Acta Amazonica**, v. 39, n. 4, p. 799–811, 2009.

SRIVASTAVA, B.; SHARMA, V.; SINGH, A. Evaluation for substitution of heartwood with small branches of *Acacia catechu* for therapeutic use-A comparative phytochemical approach. **Journal of**, v. 5, n. 4, p. 254–258, 2016.

STOHS, S. J.; BAGCHI, D. Antioxidant, anti-inflammatory, and chemoprotective properties of *Acacia catechu* heartwood extracts. **Phytotherapy Research**, v. 29, n. 6, p. 818–824, 2015.

SUBBARAJ, D. K. et al. Eco-friendly larvicide source from *Acacia auriculiformis* and its antimicrobial activity against clinical pathogens. v. 9, p. 60–71, 2017.

SUBHAN, N. et al. **Phytochemistry, Ethnomedicine, and Pharmacology of Acacia**. 1. ed. [s.l.] Elsevier B.V., 2018. v. 57

SULAIMAN, C. T.; NASIYA, K. K.; BALACHANDRAN, I. Isolation and mass spectroscopic characterization of phytochemicals from the bark of *Acacia leucophloea* (Roxb.) Willd. **Spectroscopy Letters**, v. 49, n. 6, p. 391–395, 2016.

TAMASHIRO, J. Y.; ANDREA, N.; ESCOBAR, G. **Subfamília mimosoideae 84**. [s.l.: s.n.]. v. 8

TIAGO J. T. SOUZA¹, MIRIAM A. APEL¹, SÉRGIO BORDIGNON², NELSON IVO MATZENBACHER³, J.; ÂNGELO S. ZUANAZZI¹, A. T. H. Artigo Composição química e atividade antioxidante do óleo volátil de. v. 17, n. 3, p. 368–372, 2007.

TUNG, Y. T. et al. Ultrasound-assisted extraction of phenolic antioxidants from *Acacia confusa* flowers and buds. **Journal of Separation Science**, v. 34, n. 7, p. 844–851, 2011.

VERMA, S. C. et al. Comparative phytochemical study of stem bark versus small branches of *Acacia nilotica* Linn. using HPTLC-UV detection Method. **Asian Journal of Research in Chemistry**, v. 8, n. 4, p. 278, 2015.

VIEW, A. L. Documentation , Ethno-botanical and Ethno- medicinal Survey of Wild Leguminous Plants from Some Areas of District Ra medicinal Survey of Wild Leguminous Plants from Some Areas of District Rajouri , J & K State , India. n. April, 2018.

WAHAB, A. et al. Luteolin and kaempferol from *Cassia alata*, antimicrobial and antioxidant activity of its methanolic extracts. **FUFAST Journal of Biology**, v. 4, n. 1, p. 1-5, 2014.

WAN, C. et al. Antioxidant and α -glucosidase inhibitory phenolics isolated from highbush blueberry flowers. **Food Chemistry**, v. 135, p. 1929-1937, 2012.