

CLÁUDIA ALEXANDRA DE ANDRADE

**FLORES DE *Acacia podalyriaefolia* A. CUNN. (LEGUMINOSAE -  
MIMOSOIDEAE): AVALIAÇÃO FITOQUÍMICA E DAS ATIVIDADES  
ANTIBACTERIANA E ALELOPÁTICA**

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre, no Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Vitor Alberto Kerber .  
Co-orientador: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Marilis Dallarmi Miguel.

CURITIBA - PR  
2003

À minha família,  
pelo incentivo e carinho.

Ao Prof. Dr. Vitor Alberto Kerber, meus sinceros agradecimentos pela constante orientação e apoio.

## AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da UFPR pela oportunidade de realizar o mestrado.

Aos professores do Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, que de alguma maneira contribuíram para a execução deste trabalho.

Aos colegas do Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas pela amizade e convívio.

Reitero minha gratidão ao Prof. Dr. Vitor Alberto Kerber, pela orientação, apoio, dedicação, amizade e constante acompanhamento ao longo das várias etapas da realização desta pesquisa.

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Marilis Dallarmi Miguel pela co-orientação, pelo apoio e auxílio nos testes de alelopatia.

Ao Prof. Dr. Obdúlio Gomes Miguel e à Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Tomoe Nakashima pela cooperação, amizade e pelas valiosas sugestões na realização dos experimentos.

Ao botânico Gert Hatschbach do Museu Botânico Municipal de Curitiba, pela identificação da espécie vegetal.

À Prof<sup>a</sup>. Wanda Mocalewiski Abrahão, à funcionária Geni Peruzzo (Laboratório de Controle de Qualidade II da UFPR) e à mestranda Joceline Franco, pela cooperação e auxílio na avaliação da atividade antibacteriana, bem como à farmacêutica Sônia Maria Pereira (Neoprov) pelo fornecimento dos materiais utilizados nestes ensaios.

Ao Prof. Dr. Valentin Emílio Uberti Costa do Departamento de Química Orgânica da UFRGS, e ao Prof. Dr. Fabio Simonelli do Departamento de Química da UFPR pela realização dos espectros de RMN.

Às Prof<sup>as</sup> Maria Madalena Gabriel e Marilu Lopes do Laboratório de Toxicologia desta Universidade, pelo uso do aparelho de espectroscopia de UV.

À Prof<sup>a</sup>. Marlene de Lurdes Ferronato do Setor de Ciências Agrárias da UFPR e ao estatístico Aldemir Junglos pela análise estatística.

Aos amigos Eliza Perez, Carolina Wandscheer, Lílian Hirata, Giovanna Assis, Aline Davet, Suzane Virtuoso, Cristina Peitz, Miriam Machado Cunico, João Luiz

Souza Carvalho, Christian Boller e Ana Cristina Toledo pelo companheirismo e apoio.

A Josiane de Fátima Gaspari Dias e à Luciana Balestrin pela amizade e pelas contribuições nos testes de atividade alelopática.

Minha gratidão à minha família e ao meu esposo, Vladimir Luís de Oliveira, pelo amor e paciência, que souberam compreender os difíceis momentos que envolveram a execução deste trabalho.

A todos aqueles que direta ou indiretamente, colaboraram para a realização desta pesquisa.

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	viii
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	x
<b>LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS</b> .....	xi
<b>RESUMO</b> .....	xiii
<b>ABSTRACT</b> .....	xiv
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	1
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	3
2.1 OBJETIVO GERAL .....	3
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	3
<b>3 REVISÃO</b> .....	4
3.1 COMPOSTOS FENÓLICOS .....	4
3. Flavonóides .....	4
3.1.2 Quinonas .....	9
3.2 ENQUADRAMENTO TAXONÔMICO .....	11
3.2.1 Família Leguminosae - Mimosoideae .....	12
3.2.2 Gênero <i>Acacia</i> .....	12
3.2.3 <i>Acacia podalyriaefolia</i> .....	13
3.3 CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DE <i>Acacia podalyriaefolia</i> A. CUNN.....	15
3.4 APLICAÇÕES E ATIVIDADES BIOLÓGICAS NO GÊNERO <i>Acacia</i> .....	15
3.4.1 Aplicações e usos gerais de espécies de <i>Acacia</i> .....	15
3.4.2 Atividade antibacteriana .....	17
3.4.3 Ação alelopática .....	20
3.5 FITOQUÍMICA DO GÊNERO <i>Acacia</i> COM ÊNFASE EM DERIVADOS DO NÚCLEO FLAVONOÍDICO E COMPOSTOS QUINÔNICOS .....	25
3.5.1 Compostos derivados do núcleo flavonoídico .....	26
3.5.2 Compostos quinônicos .....	33
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	34
4.1 OBTENÇÃO DO MATERIAL VEGETAL .....	34
4.2 CONSERVAÇÃO .....	34
4.3 PESQUISA DE GRUPOS FITOQUÍMICOS NOS EXTRATOS E FRAÇÕES.....	34
4.4 ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS .....	36
4.4.1 Obtenção do extrato etanólico bruto .....	36
4.4.2 Fracionamento do extrato etanólico bruto .....	37

4.4.3	Isolamento de compostos da fração diclorometano .....	39
4.4.4	Identificação dos compostos isolados da fração diclorometano .....	40
4.5	<b>AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA</b> .....	42
4.5.1	Preparo do material .....	43
4.5.2	Preparo das amostras .....	43
4.5.3	Preparo dos discos .....	43
4.5.4	Meio de cultura .....	43
4.5.5	Preparo do inóculo .....	43
4.5.6	Teste de atividade antibacteriana .....	44
4.5.7	Controles .....	45
4.6	<b>AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ALELOPÁTICA</b> .....	45
4.6.1	Preparo das amostras .....	45
4.6.2	Preparo do material .....	46
4.6.3	Teste da germinação .....	46
4.6.4	Teste do crescimento .....	47
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	48
5.1	TEOR DE SÓLIDOS DO EXTRATO ETANÓLICO BRUTO E DAS FRAÇÕES .....	48
5.2	PESQUISA DE GRUPOS FITOQUÍMICOS NOS EXTRATOS E FRAÇÕES .....	48
5.3	IDENTIFICAÇÃO DAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS DA FRAÇÃO DICLOROMETANO ...	49
5.3.1	Identificação do composto DM1 .....	49
5.3.2	Identificação do composto DM2 .....	54
5.4	<b>AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA</b> .....	59
5.5	<b>AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ALELOPÁTICA</b> .....	66
5.5.1	Teste da germinação .....	66
5.5.2	Teste do crescimento .....	69
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	74
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	75

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - FÓRMULA GERAL DOS FLAVONÓIDES E A NUMERAÇÃO DOS ANÉIS A, B E .....	5
FIGURA 2 - PRINCIPAIS CATEGORIAS DE FLAVONÓIDES .....	7
FIGURA 3 - PRINCIPAIS GRUPOS DAS QUINONAS .....	10
FIGURA 4 - ASPECTO GERAL DAS FLORES DE <i>Acacia podalyriaefolia</i> A. CUNN. ....	15
FIGURA 5 - FLUXOGRAMA DO FRACIONAMENTO DO EXTRATO ETANÓLICO BRUTO .....	38
FIGURA 6 - FLUXOGRAMA DO FRACIONAMENTO DA FRAÇÃO CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> (FDCM).....	41
FIGURA 7 - ESTRUTURA QUÍMICA DE 4 - β - D - GALACTOSIL - 8 - METÓXI - 1,5 - NAFTOQUINONA .....	50
FIGURA 8 – ESPECTROS DE <sup>1</sup> H RMN DO COMPOSTO DM1 EM METANOL (300 MHz) .....	52
FIGURA 9 – ESPECTROS DE <sup>13</sup> C RMN DO COMPOSTO DM1 EM METANOL (75 MHz) .....	52
FIGURA 10 - ESPECTRO DE COSY DO COMPOSTO DM1 EM METANOL (400 MHz) ...	53
FIGURA 11 - ESPECTRO DE HMQC DO COMPOSTO DM1 .....	54
FIGURA 12 - ESPECTROS DE UV DO COMPOSTO DM2 COM MeOH; NaOMe .....	55
FIGURA 13 - ESPECTROS DE UV DO COMPOSTO DM2 COM NaOAc; NaOAc/H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> .....	56
FIGURA 14 - ESPECTROS DE UV DO COMPOSTO DM2 COM AlCl <sub>3</sub> ; AlCl <sub>3</sub> /HCl .....	56
FIGURA 15 - ESTRUTURA QUÍMICA DE 5 - β - D - GALACTOSIL - NARINGENINA .....	58
FIGURA 16 – ESPECTROS DE <sup>1</sup> H RMN DO COMPOSTO DM2 EM METANOL (300 MHz).....	59
FIGURA 17 - CONTROLE DE ESTERILIDADE DO MATERIAL UTILIZADO NO TESTE DE ATIVIDADE ANTIBACTERIANA .....	62
FIGURA 18 - PLACAS INOCULADAS COM <i>Staphylococcus aureus</i> CONTENDO DISCOS IMPREGNADOS COM A FRAÇÃO DICLOROMETANO (1), COM O EXTRATO ETANÓLICO BRUTO (2) E COM A FRAÇÃO ACETATO DE ETILA (3) .....	63

FIGURA 19 - PLACAS INOCULADAS COM <i>Staphylococcus epidermidis</i> CONTENDO DISCOS IMPREGNADOS COM A FRAÇÃO DICLOROMETANO (1), COM O EXTRATO ETANÓLICO BRUTO (2) E COM A FRAÇÃO ACETATO DE ETILA (3) .....	64
FIGURA 20 - PLACAS INOCULADAS COM <i>Escherichia coli</i> (1) E COM <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (2) NÃO APRESENTANDO ZONAS DE INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO .....	65
FIGURA 21 - CAIXAS GERBOX CONTENDO AS 40 SEMENTES DE <i>Lactuca sativa</i> , NO 6º DIA DE GERMINAÇÃO (CONTROLE) .....	66
FIGURA 22 - AVALIAÇÃO DA GERMINAÇÃO DE <i>Lactuca sativa</i> FRENTE AO EXTRATO ETANÓLICO BRUTO .....	67
FIGURA 23 - AVALIAÇÃO DA GERMINAÇÃO DE <i>Lactuca sativa</i> FRENTE À FRAÇÃO DICLOROMETANO .....	67
FIGURA 24 - AVALIAÇÃO DA GERMINAÇÃO DE <i>Lactuca sativa</i> FRENTE À FRAÇÃO ACETATO DE ETILA .....	68
FIGURA 25 - AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO DA RADÍCULA E DO HIPOCÓTILO DE <i>Lactuca sativa</i> FRENTE AO EXTRATO ETANÓLICO BRUTO .....	69
FIGURA 26 - AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO DA RADÍCULA E DO HIPOCÓTILO DE <i>Lactuca sativa</i> FRENTE À FRAÇÃO DICLOROMETANO .....	70
FIGURA 27 - AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO DA RADÍCULA E DO HIPOCÓTILO DE <i>Lactuca sativa</i> FRENTE À FRAÇÃO ACETATO DE ETILA .....	71

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - ENQUADRAMENTO TAXONÔMICO DE <i>Acacia podalyriaefolia</i> A. CUNN. ...	12
TABELA 2 – TEOR DE SÓLIDOS NA PARTIÇÃO DO EXTRATO ETANÓLICO BRUTO DAS FLORES DE <i>Acacia podalyriaefolia</i> A. CUNN. ....	49
TABELA 3 – RESULTADOS DA ANÁLISE FITOQUÍMICA DO EXTRATO ETANÓLICO BRUTO E DAS FRAÇÕES ETANÓLICA DESENGORDURADA, HEXÂNICA, DICLOROMETANO E ACETATO DE ETILA OBTIDAS DAS FLORES DE <i>Acacia podalyriaefolia</i> A. CUNN. ....	50
TABELA 4 - DADOS ESPECTRAIS DE <sup>1</sup> H RMN E <sup>13</sup> C RMN DO COMPOSTO DM1 .....	51
TABELA 5 - PRINCIPAIS COMPRIMENTOS DE ONDA (λ) NO ESPECTRO DE UV PARA O COMPOSTO DM2 .....	55
TABELA 6 - DADOS ESPECTRAIS DE <sup>1</sup> H RMN DO COMPOSTO DM2 .....	58
TABELA 7 - RESULTADOS DO TESTE DE ATIVIDADE ANTIBACTERIANA .....	61

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

$\alpha$	posição alfa
$\beta$	posição beta
$\delta$	deslocamento
$\varepsilon$	absortividade molar
$\gamma$	posição gama
$\lambda$	comprimento de onda
$\text{AlCl}_3$	cloreto de alumínio
ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
CCD	cromatografia em camada delgada
$\text{CH}_2\text{Cl}_2$	diclorometano
$\text{CHCl}_3$	clorofórmio
CLAE	cromatografia líquida de alta eficiência
$^{13}\text{C}$ RMN	espectrometria de ressonância magnética nuclear de carbono 13
d	duplete
dd	duplo duplete
DM1	composto 1 obtido da fração diclorometano
DM2	composto 2 obtido da fração diclorometano
EEB	extrato etanólico bruto
FAE	fração acetato de etila
FDCM	fração diclorometano
FED	fração etanólica desengordurada
FH	fração hexânica
H	hidrogênio
$\text{H}_3\text{BO}_3$	ácido bórico
HCl	ácido clorídrico
HCOOH	ácido fórmico
$^1\text{H}$ RMN	espectrometria de ressonância magnética nuclear de próton
Hz	hertz
$J$	constante de acoplamento
m	multiplete

MeOH	metanol
MHz	megahertz
NaOAc	acetato de sódio
NaOMe	metóxido de sódio
p. a .	para análise
ppm	partes por milhão
rpm	rotações por minuto
tol	tolueno
TSB	caldo tríptico de soja
UV	espectrometria de ultravioleta

## RESUMO

*Acacia podalyriaefolia* A. Cunn. (Leguminosae-Mimosoideae), também conhecida como Acácia-mimosa, é uma espécie exótica, originária da Austrália, vastamente difundida no Sul do Brasil, sendo cultivada como árvore ornamental. Avaliações fitoquímicas realizadas com as flores desta espécie, demonstraram a presença de compostos fenólicos. Utilizando métodos cromatográficos, foram isolados dois compostos. Eles foram caracterizados como 5- $\beta$ -D-galactosil-naringenina e 4- $\beta$ -D-galactosil-8-metóxi-1,5-naftoquinona através de espectrometria de UV e RMN ( $^1\text{H}$  RMN,  $^{13}\text{C}$  RMN, COSY, HMQC). Não há dados na literatura para esta naftoquinona, portanto, trata-se de um novo composto natural isolado. Para a verificação de atividade antibacteriana foram analisados o extrato etanólico bruto e as frações diclorometano e acetato de etila, cujos resultados demonstraram ser a fração acetato de etila a mais ativa, apresentando zonas de inibição do crescimento de *Staphylococcus epidermidis* (para os discos contendo 1000, 500, 250 e 125  $\mu\text{g}$ ) e de *Staphylococcus aureus* (nos discos com 1000 e 500  $\mu\text{g}$  desta fração). Não foi observada atividade frente às cepas de *Escherichia coli* e de *Pseudomonas aeruginosa*. O estudo da atividade alelopática demonstrou que as frações diclorometano e acetato de etila tiveram significativa influência na germinação e no crescimento da radícula e do hipocótilo de *Lactuca sativa*.

## ABSTRACT

*Acacia podalyriaefolia* A. Cunn. (Leguminosae-Mimosoideae), also known as “Acácia-mimosa”, is an exotic specie from Australia, vastly spread out in the South of Brazil, where is cultivated as ornamental tree. Phytochemical evaluations carried through with the flowers of this specie had demonstrated the presence of phenolic compounds. Using chromatographic methods two compounds were isolated. They were characterized as 5- $\beta$ -D-galactosil-naringenin and 4- $\beta$ -D-galactosil-8-methoxy-1,5-naphthoquinone through UV and NMR spectra ( $^1\text{H}$  RMN,  $^{13}\text{C}$  RMN, COSY, HMQC). There was no data in the literature for the naphthoquinone therefore it is a new compound isolated in nature. For the verification of antibacterial activity the raw ethanolic extract and the dichloromethane and ethyl acetate fractions had been analyzed, whose results demonstrated the ethyl acetate fraction to be the most active, showing growth inhibition zones of *Staphylococcus epidermidis* (in 1000, 500, 250 and 125  $\mu\text{g}$  discs) and of *Staphylococcus aureus* (in 1000 and 500  $\mu\text{g}$  discs of this fraction). It was not observed activity against *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. The study of the allelopathic activity have demonstrated that the dichloromethane and ethyl acetate fractions have significative influence in the germination and in the growth of the radicle and of the hypocotyls from the *Lactuca sativa*.

## 1. INTRODUÇÃO

O emprego das plantas no controle de diversas doenças e pragas talvez seja tão antigo quanto o próprio aparecimento da humanidade (FRANÇA, 2001).

A riqueza da biodiversidade da flora brasileira, associada aos levantamentos etnobotânicos, etnofarmacológicos, farmacognósticos e fitoquímicos, permitiram aos pesquisadores isolar compostos biologicamente ativos a partir de diferentes espécies vegetais, os quais podem se constituir em modelos tanto para a síntese de fármacos como de outros produtos para aplicação agrícola ou florestal (GUERRA; NODARI, 2001).

Os organismos vegetais produzem uma variedade de compostos químicos que podem ser provenientes do metabolismo primário ou secundário. Do metabolismo primário resultam os carboidratos, as proteínas e as gorduras, essenciais a todos os seres vivos e que podem ser utilizados na alimentação tanto dos seres humanos como dos outros animais. Através de rotas biossintéticas diversas, os produtos do metabolismo primário originam os metabólitos secundários, como os alcalóides, flavonóides, taninos, cumarinas, quinonas, terpenóides, necessários tanto para a sobrevivência e preservação destas espécies vegetais, defendendo-as do ataque de predadores e garantindo sua reprodução, como também são os responsáveis pelas interações planta-planta, denominadas de alelopatia, podendo interferir na germinação e no crescimento de outros vegetais, favorecendo ou prejudicando seu desenvolvimento (MEDEIROS, 1990; POSER; MENTZ, 2001).

Os metabólitos secundários são encontrados em determinados grupos de plantas, em concentrações bem mais baixas que os compostos do metabolismo primário. As atividades biológicas das substâncias ativas extraídas das plantas estão geralmente relacionadas aos compostos do metabolismo secundário (POSER; MENTZ, 2001).

Compostos químicos têm sido isolados de uma variedade de espécies vegetais com potentes atividades farmacológicas, dentre as quais destacaremos neste trabalho a ação antibacteriana, que tem despertado grande interesse, uma vez que microorganismos patogênicos vêm se apresentando cada vez mais resistentes aos antibióticos atualmente disponíveis (SINGH; SHUKLA, 1984).

Além das atividades farmacológicas que os metabólitos secundários possam exercer, a presença de agentes alelopáticos pode provocar influências significativas na produtividade agrícola, bem como representar uma alternativa ao uso dos defensivos agrícolas, propiciando maior segurança, menores efeitos deletérios ao ecossistema e custos mais reduzidos (CHOU, 1998).

A busca por herbicidas que possam ser extraídos de fontes naturais é essencialmente importante para as plantas medicinais, uma vez que não é recomendado o uso de agrotóxicos sintéticos no cultivo destas, podendo haver contaminação com resíduos tóxicos, ocasionando problemas para a saúde, além de poder causar redução na concentração dos princípios ativos do vegetal (REIS; MARIOT, 2001).

O cultivo de espécies pertencentes ao gênero *Acacia* é amplamente difundido no Brasil, principalmente na região Sul, com aplicações diversas, quer seja para a extração de taninos utilizados na indústria de curtumes, como também em programas de reflorestamento, para a recuperação de áreas degradadas, ou como planta ornamental (BURKART, 1979).

O gênero *Acacia* é reconhecido como fonte de compostos fenólicos (KERBER, 1993; SILVA, 2001; PEITZ, 2003), apresentando uma grande variedade de ações farmacológicas e biológicas (DUROUX *et al.*, 1998). Diante disto, uma avaliação fitoquímica de *Acacia podalyriaefolia* A. Cunn. foi apresentada neste trabalho.

Considerando que a ação contra microorganismos patogênicos diversos foi comprovada com diferentes espécies de *Acacia* (KHAN *et al.*, 1980; CHHABRA; UISO, 1991; PALOMBO; SEMPLE, 2001), um estudo antibacteriano foi realizado com os extratos das flores de *A. podalyriaefolia*.

A partir de observações de que a ocorrência de alelopatia era comum no gênero *Acacia* (CASAL *et al.*, 1985; SINGH *et al.*, 1992; CHOU *et al.*, 1998), o potencial alelopático dos extratos das flores de *A. podalyriaefolia* foi avaliado neste trabalho.

Sendo assim, a presente pesquisa se justifica ao buscar novas fontes de compostos que possam ser utilizados no desenvolvimento de produtos com interesse tanto para a obtenção de matéria-prima vegetal para a produção de fitoterápicos, como na geração de novos fármacos a partir destas fontes vegetais.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Estudar quimicamente as flores de *Acacia podalyriaefolia* A. Cunn. e avaliar as atividades antibacteriana e alelopática dos seus extratos e frações.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Revisar a composição química do gênero *Acacia* com ênfase em compostos com núcleo flavonoídico e quinoídico.

Extrair, isolar e identificar compostos majoritários da fração diclorometano das flores de *Acacia podalyriaefolia*.

Avaliar a ação antibacteriana do extrato etanólico bruto e das frações diclorometano e acetato de etila frente às cepas de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*.

Avaliar a ação alelopática do extrato etanólico bruto e das frações diclorometano e acetato de etila na germinação e crescimento de *Lactuca sativa*.

### 3. REVISÃO

#### 3.1 COMPOSTOS FENÓLICOS

Compostos fenólicos são considerados o maior grupo de metabólitos secundários das plantas, apresentando uma variedade de funções biológicas (EVANS, 1992; DUROUX *et al.*, 1998). Diferentes grupamentos fitoquímicos apresentam núcleo fenólico, como os taninos, as cumarinas, os ácidos fenólicos, os flavonóides e as quinonas, atendo-se a referida revisão a estes dois últimos, por serem as classes as quais pertencem as substâncias isoladas neste trabalho.

##### 3.1.1 Flavonóides:

Os Flavonóides estão entre os compostos naturais mais encontrados nos vegetais, sendo conhecidos mais de 5.000 estruturas diferentes (STRACK, 1997). Muitos são coloridos, incluindo as antocianinas que são amplamente encontradas e são os responsáveis, na maioria das vezes, pela coloração de pétalas, frutos e das folhas no outono (LEA; LEEGOOD, 1993).

Flavonóides são metabólitos secundários polifenólicos das plantas e apresentam um esqueleto de carbonos  $C_6 - C_3 - C_6$ , formando um núcleo fundamental benzo- $\gamma$ -pirano, também denominado de cromano, ao qual está ligado um anel aromático, formando o 2-fenil-benzo- $\gamma$ -pirano (COSTA, 1986; ROBBERS *et al.*, 1997; CROZIER, 2000). Os três anéis presentes na composição dos flavonóides, foram convencionados como A, B e C. A numeração destes núcleos é realizada com números ordinários, sendo para o anel B acompanhados de uma linha ( ' ) (ZUANAZZI, 2001). O segundo anel aromático B pode estar também nas posições 3 e 4 (ROBBERS *et al.*, 1997).

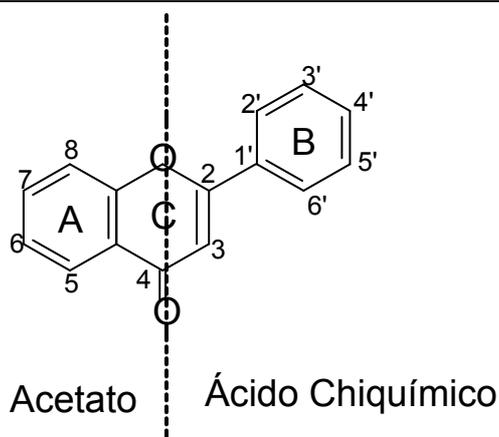
A Figura 1 representa o núcleo fundamental dos flavonóides e sua numeração.

Os flavonóides podem estar numa forma livre (também denominada de aglicona ou genina) ou como heterosídeos (glicosídeos) (ZUANAZZI, 2001). Os flavonóides na forma heterosídica podem ocorrer como C-glicosídeos (glicosídeo ligado diretamente a um carbono) ou O-glicosídeos (glicosídeo ligado na forma de éter) que correspondem

a maioria destes compostos. Também são conhecidos os biflavonóides que são compostos diméricos (EVANS, 1992).

Os flavonóides são biossintetizados a partir da via dos fenilpropanóides, originados a partir dos aminoácidos aromáticos fenilalanina e tirosina (CROZIER, 2000; ZUANAZZI, 2001), em uma mistura das vias acetato-chiquimato (MANN, 1999).

FIGURA 1 - FÓRMULA GERAL DOS FLAVONÓIDES E A NUMERAÇÃO DOS ANÉIS A, B, C



Fonte: Adaptado de MANN (1999); ZUANAZZI (2001).

O controle da biossíntese dos flavonóides ocorre com a diaminação do aminoácido fenilalanina (ou da tirosina em algumas espécies), catalisada pela enzima fenilalanina amônia liase (PAL), cuja atividade é determinada pela luminosidade. Ainda que os flavonóides possam ser formados nas raízes, é nas folhas, pétalas e nos frutos em amadurecimento que são os centros da sua biossíntese (LEA; LEEGOOD, 1993).

Os flavonóides geralmente são armazenados nos vacúolos como derivados glicosídicos solúveis em água, exceto alguns derivados polimetoxilados que podem ocorrer em secreções lipofílicas (STRACK, 1997). Enquanto os flavonóides heterosídicos são geralmente solúveis em água e álcool, mas insolúveis em solventes orgânicos, as geninas (agliconas) são levemente solúveis em água, mas são solúveis em éter. Flavonóides também podem ser dissolvidos em álcalis, formando soluções amarelas as quais se tornam incolores quando se adicionam ácidos (EVANS, 1992).

Associações com glicose, galactose, ramnose, xilose e arabinose são mais comumente observadas nos flavonóides glicosídicos. Geralmente a glicosilação é feita no C-3 mas, pode também ser no C-5 e C-7 do anel A. Flavonóides glicosilados no anel B, são raros (STRACK, 1997).

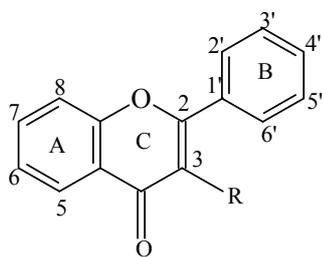
Geralmente os flavonóides são encontrados conjugados com glicosídeos, mas também podem apresentar-se como derivados acilados, metilados, sulfatados ou prenilados (ROBBERS *et al.*, 1997).

Ainda que os flavonóides se encontrem amplamente distribuídos no reino vegetal (BRUNETON, 1991), são mais frequentes nas Angiospermas de grande porte, como em espécies das famílias Polygonaceae, Rutaceae, Leguminosae, Umbeliferae e Compositae podendo ser utilizados como marcadores taxonômicos (EVANS, 1992).

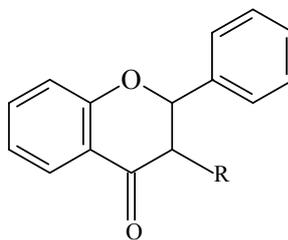
A maioria dos flavonóides permanece inalterada durante o tempo de vida da planta, mas há evidências de que também possa ocorrer renovação e degradação destes compostos. As reações de degradação, na maior parte das vezes, envolvem hidrólise de glicosídeos (como as que ocorrem por ação das  $\beta$ -glicosidasas), desmetilação, hidratação e oxidação. Reações de oxidação também podem levar à polimerização catalisada por peroxidases. Este processo pode ser observado quando em um tecido lesionado aparecem compostos poliméricos de coloração amarronzada (STRACK, 1997).

As principais categorias estruturais gerais dos flavonóides são as flavonas, as flavanonas, os flavonóis, os di-hidro-flavonóis, as chalconas, as di-hidro-chalconas, as catequinas, as antocianidinas, as leucoantocianidinas, as isoflavonas, isoflavanonas, neoflavonas e auronas (STRACK, 1997; MANN, 1999; ZUANAZZI, 2001), que estão relacionadas na Figura 2. Nas auronas, o anel heterocíclico de seis membros é substituído por um anel de cinco membros, enquanto que nas chalconas aparece numa forma isomérica de cadeia aberta (ROBBERS *et al.*, 1997).

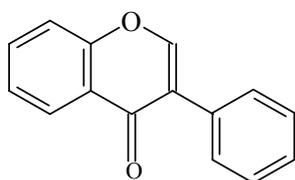
FIGURA 2 - PRINCIPAIS CATEGORIAS DE FLAVONÓIDES



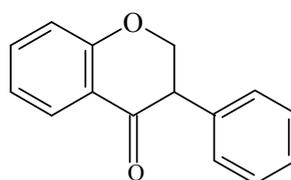
R = H = Flavona  
R = OH = Flavonol



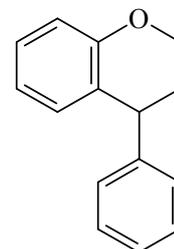
R = H = Flavanona  
R = OH = Di-hidro-flavonol  
(Flavanol)



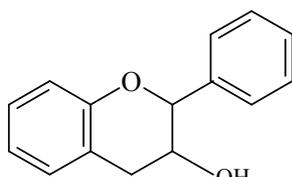
Isoflavona



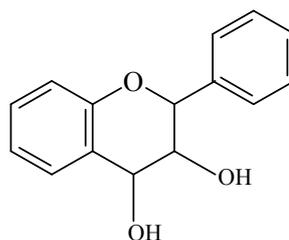
Isoflavanona



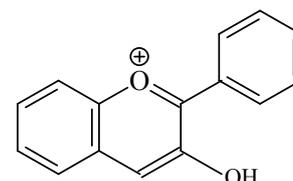
Neoflavona



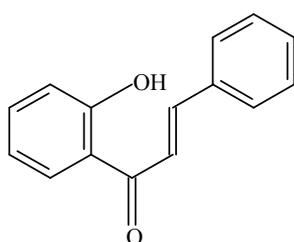
Catequina



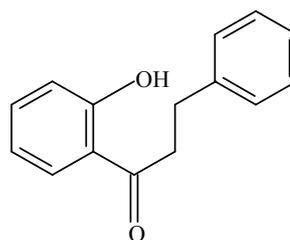
Leucoantocianidina



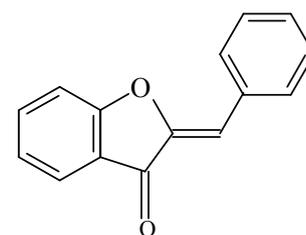
Antocianidina



Chalcona



Di-hidro-chalcona



Aurona

Fonte: Adaptado de STRACK (1997); MANN (1999); ZUANAZZI (2001).

As flavonas e os flavonóis são largamente distribuídos na natureza (MANN, 1999). As flavonas são em sua maioria glicosídeos de derivados fenólicos ou metóxi,

apresentando aumento na coloração amarela à medida que aumenta o pH ou os grupos hidroxila. Isoflavonas são abundantes na família Leguminosae (EVANS, 1992).

As antocianinas apresentam na sua estrutura um cátion flavínico (STRACK, 1997), formando o cromóforo antocianidina, conjugado com um ou mais açúcares (LEA; LEEGOOD, 1993), mas que dependendo do pH, pode se apresentar numa variedade de formas estruturais, representando uma das mais complexas estruturas de conjugação nos flavonóides (STRACK, 1997).

Uma diversidade de funções é atribuída aos flavonóides, como a proteção do vegetal contra os efeitos da radiação ultravioleta (apresentam forte absorção na região do ultravioleta, principalmente entre 265-340 nm), o que é particularmente verificado com as plantas de maior porte e aquelas de habitat tropical, que geralmente apresentam abundância destes compostos (LEA; LEEGOOD, 1993; ZUANAZZI, 2001).

Os flavonóides são produtos de grande interesse econômico, estando presentes em vários pigmentos de flores, frutos e, ocasionalmente, de outras partes do vegetal, desde raízes e sementes (COSTA, 1986; ZUANAZZI, 2001), que além de contribuírem para a coloração das plantas, importante na atração de agentes polinizadores e na dispersão das sementes, apresentam propriedades fisiológicas, como os carotenos, antocianinas e clorofila (STRACK, 1997). Estes compostos também são utilizados na tanagem do couro, na fermentação do chá-da-índia, na manufatura do cacau e na indústria de alimentos (ZUANAZZI, 2001).

Compostos flavonoídicos apresentam atuação na atração de insetos para a polinização; no controle da ação de hormônios nos vegetais; como inibidores de enzimas, agentes alelopáticos e antioxidantes (ZUANAZZI, 2001).

Rutina, que é um flavonóide encontrado em muitas plantas, juntamente com o bioflavonóide cítrico hesperidina, é chamado vitamina P, ou fator de permeabilidade, tendo sido utilizada em sangramentos ou fragilidade capilar (ROBBERS *et al.*, 1997).

A interferência dos flavonóides no metabolismo do ácido aracdônico é um efeito atribuído para as ações antiinflamatória, antialérgica, antitrombótica, vasoprotetora, inibidora da promoção de tumor e protetora da mucosa gástrica apresentados por este grupamento químico (EVANS, 1992).

A silimarina, que é constituída de várias flavonolignanas, que compreendem principalmente a silibina, acompanhada por isossilibina, desidrossilibina, silidianina e

silicristina, apresenta potencial terapêutico considerável na proteção das células hepáticas intactas ou das que sofreram lesão reversível, agindo nas membranas celulares para impedir a entrada de substâncias tóxicas, além de estimular a síntese de proteínas, acelerando o processo de regeneração e de produção de hepatócitos (ROBBERS *et al.*, 1997).

Os flavonóides também podem apresentar ações antibacteriana, antifúngica (EVANS, 1992; HARBONE, 1999; ZUANAZZI, 2001), antiviral (LEE, 2000; ZUANAZZI, 2001), antiespasmódica e antioxidante (BRUNETON, 1991; EVANS, 1992; HARBORNE, 1999).

Para drogas com C-glicosilflavonóides foram descritas ações diuréticas (BRUNETON, 1991).

Foi relatado para este grupo de compostos atividades antiedematosa, hipocolesterolemia e inibidora da aldose-redutase, enzima que desempenha papel na etiologia da catarata em diabéticos (BRUNETON, 1991).

Representantes do grupo das chalconas demonstraram atividade moluscicida contra *Biomphalaria glabrata*, vetor envolvido na transmissão da esquistossomose (ADEWUNMI *et al.*, 1987).

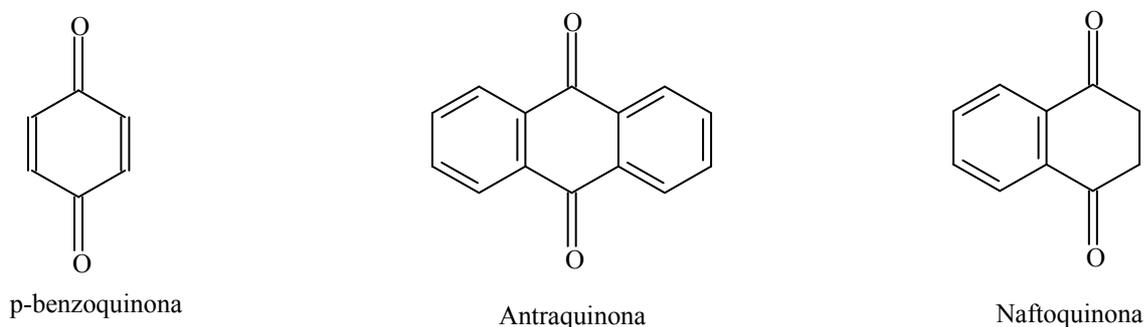
Em certas plantas os flavonóides podem atuar como moléculas sinalizadoras da interação entre bactérias fixadoras de nitrogênio e certos membros da família Leguminosae. Estas plantas exsudariam flavonóides que atuariam seletivamente em bactérias do gênero *Rhizobia*, induzindo a nodulação, através da ativação de proteínas reguladoras (STRACK, 1997).

### 3.1.2 Quinonas:

As quinonas são substâncias oxigenadas resultantes da oxidação de compostos aromáticos (BRUNETON, 1991). A presença de dois grupos carbonílicos, formando um sistema conjugado com pelo menos duas ligações duplas entre carbonos é a principal característica deste grupo (FALKENBERG, 2001).

As quinonas naturais são classificadas em 3 grupos principais: benzoquinona, naftoquinona e antraquinona (BRUNETON, 1991), cujas estruturas fundamentais estão apresentadas na Figura 3.

FIGURA 3 - PRINCIPAIS GRUPOS DAS QUINONAS



Fonte: Adaptado de BRUNETON (1991); FALKENBERG (2001).

São descritas mais de 1.500 estruturas de quinonas, distribuídas em várias partes dos vegetais. Muitas são lipofílicas, apresentando-se alquiladas ou substituídas por grupos isoprenilados, enquanto outras são hidroxiladas, com propriedades fenólicas, livres ou combinadas como glicosídeos (HARBORNE *et al.*, 1999; FALKENBERG, 2001).

Uma diversidade de rotas metabólicas pode estar envolvida na biossíntese das quinonas, permitindo que diferentes organismos possam elaborá-las a partir de um número reduzido de precursores (BRUNETON, 1991).

As benzoquinonas são mais comuns nos fungos, sendo raras nos vegetais superiores. As naftoquinonas podem ser encontradas nas Angiospermas, mas as antraquinonas são as mais freqüentes, especialmente em Leguminosae (BRUNETON, 1991; HARBORNE *et al.*, 1999).

Quinonas presentes no lenho de espécies de Leguminosae apresentaram toxicidade para cupins; antraquinonas foram encontradas em partes da quina infectadas com fungos patogênicos para esta espécie. Capacidade para inibir a germinação e/ou o crescimento de outras espécies vegetais nas proximidades (alelopatia) foi verificada com algumas naftoquinonas (FALKENBERG, 2001).

Propriedades laxantes são comuns em vegetais com antraquinonas. Atividades antibacteriana, antifúngica, antiprotozoária, citotóxica para células tumorais, dentre outras, foram descritas para as naftoquinonas (DUROUX *et al.*, 1998; FALKENBERG,

2001; CHWEN *et al.*, 2003). As benzoquinonas podem ser responsáveis por reações alérgicas com prurido e erupções na pele (BRUNETON, 1991).

As quinonas são também utilizadas como corantes, tanto na indústria alimentícia como em cosméticos (FALKENBERG, 2001).

As quinonas podem se interconverter facilmente em hidroquinonas, sendo consideradas agentes oxidantes suaves. Quando na forma livre, as quinonas são praticamente insolúveis em água, podendo ser extraídas com solventes orgânicos usuais. As benzoquinonas e as 1,4-naftoquinonas podem ser extraídas por arraste com vapor de água (BRUNETON, 1991).

### 3.2 ENQUADRAMENTO TAXONÔMICO

A Tabela 1 representa o enquadramento taxonômico de *Acacia podalyriaefolia* A. Cunn., segundo os sistemas estabelecidos por ENGLER (JOLY, 1998) e CRONQUIST (1988).

TABELA 1 - ENQUADRAMENTO TAXONÔMICO DE *Acacia podalyriaefolia* A. CUNN., SEGUNDO ENGLER (JOLY, 1998) E CRONQUIST (1988)

CLASSIFICAÇÃO	ENGLER	CRONQUIST
CLASSE	Dicotyledonea	Magnoliopsida
SUBCLASSE	Archichlamydeae	Rosidae
ORDEM	Rosales	Fabales
FAMÍLIA	Leguminosae	Mimosaceae
SUBFAMÍLIA	Mimosoideae	
GÊNERO	<i>Acacia</i>	<i>Acacia</i>
ESPÉCIE	<i>Acacia podalyriaefolia</i> A. Cunn.	<i>Acacia podalyriaefolia</i> A. Cunn.

### 3.2.1 Família Leguminosae-Mimosoideae:

Leguminosae é uma das maiores famílias das dicotiledôneas, compreendendo aproximadamente 650 gêneros e 18.000 espécies (POLHILL; HAVEN, 1981), com distribuição mundial, exceto nas regiões Ártica e Antártica (MARCHIORI, 1997); preferencialmente são encontradas em regiões tropicais e subtropicais (JOLY, 1998). Podem apresentar-se como grandes árvores nas matas tropicais, bem como arbustos, subarbustos, ervas anuais ou perenes e trepadeiras. O fruto geralmente é do tipo legume (JOLY, 1998).

Nos nódulos de suas raízes há associação simbiótica com bactérias fixadoras de nitrogênio (JOLY, 1998).

Segundo ENGLER, citado por JOLY (1998), a família Leguminosae é dividida nas subfamílias Mimosoideae, Caesalpinioideae e Faboideae (Papilionideae); enquanto que para CRONQUIST (1988) o conjunto das subfamílias está englobado nas famílias Mimosaceae, Caesalpinaceae e Fabaceae (Papilionaceae).

As espécies das subfamílias Caesalpinioideae e Mimosoideae são encontradas principalmente nas regiões tropicais, enquanto que os representantes das Faboideae estão em regiões temperadas, preferencialmente (BARROSO, 1991).

A subfamília Mimosoideae encontra-se distribuída nas regiões tropicais, subtropicais e cálido-temperadas, com 50 a 60 gêneros que englobam aproximadamente 2.800 espécies, em sua maioria pertencente aos gêneros *Acacia*, *Mimosa* e *Inga* (BARROSO, 1991).

### 3.2.2 Gênero *Acacia*:

*Acacia* deriva do grego *Acis* que indica espinhos, uma vez que muitas espécies deste gênero apresentam estes apêndices (AUSTRALIAN PLANTS ON-LINE, 1997).

O gênero *Acacia* é um dos maiores nas Angiospermas (ENDRESS, 1994), apresentando mais de 1.200 espécies (BARROSO, 1991; ENDRESS, 1994). Apresenta-se como árvores, arbustos ou trepadeiras lenhosas, contendo espinhos ou acúleos, raras vezes inermes na América (BURKART, 1979).

Espécies deste gênero são encontradas em regiões tropicais e subtropicais, sendo muito abundante em savanas e matas, bem como em matas xerófitas, na América tropical, África, Ásia e Austrália, sendo nesta última onde se encontra a maioria das espécies, manifestando um extraordinário endemismo e proliferação evolutiva de espécies com filódios (BURKART, 1979).

Associações benéficas entre espécies de *Acacia* e formigas são observadas naquelas que apresentam espinhos que contenham medula macia, apresentando também nectários extraflorais bem desenvolvidos, folíolos, pinas e raque foliar com ápices modificados em corpúsculos de Belt, ricos em substâncias proteicas. Formigas podem penetrar e se alojar nestes espinhos após alimentar-se do néctar produzido nos nectários extraflorais e dos corpúsculos de Belt, e, em contrapartida, trazem benefícios ao afugentarem outros insetos que tentam se alojar nestas plantas, assim como atacam outras plantas que possam prejudicar o desenvolvimento da *Acacia* (BARROSO, 1991).

### 3.2.3 *Acacia podalyriaefolia* A.Cunn., Leguminosae - Mimosoideae:

*Acacia podalyriaefolia* A. Cunn., Leguminosae - Mimosoideae, é também conhecida como Acácia-mimosa (BURKART, 1979; SCHULTZ, 1990). Na Austrália, país de sua origem, é também conhecida como "Queensland Silver Wattle" (NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES, 1979). Apresenta como sinonímia científica *Acacia fraseri* Hook; *Acacia caleyi* A. Cunn. (DAYDON, 1895) e *Racosperma podalyriifolium* (A. Cunn) Pedley (DAVIES, 1991; WIERSEMA, 2000). Encontra-se relatada no Index Kewensis (DAYDON, 1895).

É uma planta exótica, originária da Austrália, vastamente difundida no sul do Brasil pelo cultivo como planta ornamental, graças às suas folhas de coloração cinza ou cinza-fosco e suas vistosas inflorescências em densos cachos de flores geralmente amarelas, sendo freqüentemente encontrada em praças, jardins ou em proximidades de habitações (BURKART, 1979). A Figura 4 apresenta o aspecto geral das flores de *Acacia podalyriaefolia* A. Cunn.

Apresenta crescimento rápido, florescendo já no segundo ano. Geralmente floresce no inverno. Suas sementes são livres, de fácil propagação, o que pode torná-la invasiva em regiões naturais arbustivas (AUSTRALIAN PLANTS ON-LINE, 1997).

FIGURA 4 - ASPECTO GERAL DAS FLORES DE *Acacia podalyriaefolia* A. CUNN.



Fonte: <http://www.dalie.com.au/farm/trees.htm>

### 3.3 CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DE *Acacia podalyriaefolia* A. CUNN.

*Acacia podalyriaefolia* geralmente se apresenta como árvore, alcançando no máximo 5 metros de altura (AUSTRALIAN PLANTS ON-LINE, 1997).

As folhas são bipinadas (característica da subfamília Mimosoideae) (BARROSO, 1991), reduzidas a filódios elípticos, semelhantes às folhas de lâmina simples, cinzento-prateados (SCHULTZ, 1990) ou cinza-fosco, com somente uma nervura principal mediana, quase central (BURKART, 1979), a filotaxia é alterna, corola regular, com prefloração valvar (BARROSO, 1991). As flores são hermafroditas (AUSTRALIAN PLANTS ON-LINE, 1997), pequenas, actinomorfas, em geral amarelas (BURKART, 1979) e em grande número, densamente agrupadas em inflorescências esféricas ou alongadas (ENDRESS, 1994); capítulos florais axilares, globosos, apresentando estames e filetes de cor amarela (SCHULTZ, 1990), pequenos, em racemos; estes racemos superam em comprimento as folhas, cálice campanulado, corola tubulosa, pentâmera, estames numerosos, filamentos livres, em sua base com ou sem nectário carnoso em anel, anteras enxertas pequenas; às vezes com glândula conectival; ovário súpero pluriovulado, estipitado. O fruto é do tipo legume seco, variado, em geral bivalvo, linear-comprimido, às vezes subcoriáceo grosso, cilíndrico ou globoso, ou moniliforme, raras vezes articulado como lomento; pericarpo pariráceo, ou endurecido, sementes exalbuminadas de testa dura, com fissura anular (BURKART, 1979).

### 3.4 APLICAÇÕES E ATIVIDADES BIOLÓGICAS DE ESPÉCIES NO GÊNERO *Acacia*

#### 3.4.1 Aplicações e usos gerais de espécies de *Acacia*:

Diversas espécies deste gênero são utilizadas como ornamental (*A. farnesiana*, *A. nitidifolia*, *A. mearnsii*, *A. longifolia*, *A. bayleyana*, *A. cyanophylla*, *A. dealbata* e *A. podalyriaefolia*); por sua madeira, como lenha, em marcenaria ou para obtenção de carvão (*A. farnesiana*, *A. velutina*, *A. nitidifolia* e *A. polyphylla*); em curtumes, devido à presença de taninos (*A. cyanophylla*, *A. dealbata*, *A. mearnsii*); para extração de

gomas (*A. baileyana*, *A. dealbata*, *A. senegal* entre outras espécies africanas); pelas essências florais, empregadas em perfumaria (*A. farnesiana*), na fixação de dunas (*A. longifolia*); na formação de cercas vivas, com as espécies aculeadas (*A. plumosa*); além de apresentarem flores melíferas (BURKART, 1979; CORREA, 1984).

Os aborígenes na Austrália utilizam muitas partes de diferentes espécies de *Acacia* na alimentação; as gomas são coletadas e mascadas ou usadas como adesivo e a seiva é empregada para fazer uma bebida doce ( AUSTRALIAN PLANTS ON-LINE, 1997).

Tradicionalmente são empregadas diferentes espécies de *Acacia* no tratamento das mais diversas patologias. Na Somália utiliza-se a goma de *A. tortilis* como medicamento contra a asma, conhecido como Qurac (HAGOS; SAMUELSSON, 1988). No tratamento de enfermidades do trato respiratório, diarreias e hemorróidas é utilizada *Acacia nilotica*, devido às suas propriedades tônicas, adstringentes e estimulantes (NABI *et al.*, 1992). No Zimbábue esta planta é utilizada no tratamento de doenças sexualmente transmissíveis (KAMBIZI; AFOLAYAN, 2001). *Acacia mellifera* e *A. kirkii* são utilizadas no tratamento do câncer; na amenorréia é empregada *A. pentagona*; em crises asmáticas é utilizada *A. polycantha*; na esquistossomose é empregada a raiz de *A. robusta* (CHHABRA *et al.*, 1990). As sementes de *A. concinna* são utilizadas para o tratamento de doenças da pele (SEKINE *et al.*, 1997).

Porém, também foram observados efeitos tóxicos com espécies de *Acacia* como *A. berlandieri* e *A. rigula*, devido a presença de alcalóides e amins tóxicas, conduzindo à ataxia locomotora e efeitos sobre a fertilidade de ovelhas e cabras (CLEMENT *et al.*, 1997; 1998).

Inúmeras atividades biológicas foram averiguadas com extratos e compostos isolados de espécies de *Acacia*. Atividade depressora do Sistema Nervoso Central, pelo flavonóide auriculosídeo extraído de *Acacia auriculiformes* foi observado por DHAWAN *et al.* (1980). Flavonóides extraídos de *Acacia nilotica* e *A. saligna* apresentaram ação moluscicida contra *Biomphalaria pfeifferi* e *B. alexandrina*, que são intermediários presentes na transmissão da esquistossomose (AYOUB, 1985; EL-SAWI, 2001). Extratos de *A. catechu* (PARK; BOO, 1991) e *A. confusa* (CHANG *et al.*, 2001) apresentavam efeitos antioxidantes, devido à presença de substâncias polifenólicas, como flavonóides e taninos. Considerável ação hipoglicemiante foi obtida

com extratos etanólicos de *A. nilotica* e *A. farnesiana* (WASSEL *et al.*, 1992). Inibição de proteínas quinases foi observado pelos derivados de catequinas obtidas de *A. melanoxylon* (POLYA; FOO, 1994). Extratos aquosos de *A. nilotica* apresentaram atividades antiinflamatória, analgésica e antipirética (DAFALLAH; AL-MUSTAFA, 1996). O extrato acetato de etila de *A. catechu* demonstrou propriedades hepatoprotetoras (JAYASEKHAR *et al.*, 1997). Decréscimo na proliferação de células tumorais foi verificado com os flavonóides extraídos de *A. laeta* (NASSAR, 1999). Atividade anti-helmíntica foi verificada com *A. nilotica* (KHAFAGI, 1999).

Diversos trabalhos demonstraram que as ações antibacteriana e alelopática eram comuns neste gênero, as quais foram avaliadas neste trabalho.

#### 3.4.1 Atividade antibacteriana:

Muitos trabalhos têm sido realizados com o objetivo de avaliar extratos e frações obtidos de uma variedade de espécies vegetais com potencial ação antimicrobiana, bem como para isolar e elucidar a estrutura dos compostos envolvidos nesta atividade.

Diversos compostos do metabolismo secundário das plantas apresentam atividade antimicrobiana, dentre os quais os derivados fenólicos, como os flavonóides, taninos, cumarinas, estão entre os mais comuns (KHAN *et al.*, 1980; DIGRAK *et al.*, 1999).

Extratos, frações e compostos isolados de várias espécies de *Acacia* demonstraram atividade contra uma variedade de microorganismos patogênicos.

Extratos de *A. koa* demonstraram atividade contra *Pseudomonas aeruginosa* (BUSHNELL *et al.*, 1950).

Atividade antibacteriana contra *S. aureus* e *E. coli* foram observados por KHAN e colaboradores (1980), ao avaliarem extratos das cascas de *A. mellifera* e *A. sieberiana*, cujos efeitos foram mais moderados, enquanto que os extratos mais ativos foram os de *A. nilotica* e *A. robusta*.

Extrato metanólico, aquoso e clorofórmico dos frutos de *A. nilotica* e *A. polyacantha* foram testados e apresentaram propriedades antibacterianas em graus variáveis, dependendo do extrato avaliado (ALMAGBOUL *et al.*, 1988).

Considerável atividade antibacteriana foi verificada para o extrato metanólico dos frutos de *A. nilotica* frente às cepas de *Staphylococcus aureus*, *Neisseria gonorrhoeae* e *Escherichia coli* (CHHABRA; UIISO, 1991). Extratos de *A. nilotica* estudados por NABI *et al.* (1992), AKHTAR *et al.* (1997) e SATISH *et al.* (1999) permitiram a observação de atividade contra *Xanthomonas campestris*, que causa cancro bacteriano na videira. Inibição de bactérias gram-positivas e negativas foi verificada também com extratos de *A. nilotica* e de *A. farnesiana* (WASSEL *et al.*, 1992). Extratos aquosos e etanólicos de *A. nilotica* também demonstraram atividade contra *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus* e *Klebsiella* spp (CHANDEL *et al.*, 1993). Suspensão aquosa da goma de *A. arabica* (*nilotica*) demonstrou ação contra patógenos periodontais e suas enzimas, indicando possibilidades de aplicação clínica (CLARK *et al.*, 1993; ALMAS, 2001). Devido ao teor de taninos, o extrato das suas folhas demonstrou efeito antimicrobiano sobre *Clostridium perfringens* (SOTOHOY *et al.*, 1995). Com as sementes de *A. nilotica* foi verificada atividade contra *B. subtilis* por BAGCHI *et al.* (1998). Com os extratos etanólicos da goma, das folhas e dos frutos foi verificada atividade antibacteriana para germes gram-positivos (AHMAD *et al.*, 1998; KHAFAGI, 1999). Estudos realizados com plantas tradicionalmente utilizadas no Zimbábue no tratamento de doenças sexualmente transmissíveis, conduziram à verificação de largo espectro antibacteriano dos extratos aquoso, metanólico e acetônico dos frutos e da raiz de *Acacia nilotica*, justificando seu uso popular (KAMBIZI; AFOLAYAN, 2001). Os extratos metanólico, clorofórmico e aquoso dos frutos de *A. nilotica* subespécie *adansonii* apresentaram atividade antibacteriana contra *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*, sendo o efeito mais pronunciado nos extratos metanólico e aquoso (OMER *et al.*, 1998). Extrato aquoso, etanólico, hexânico e clorofórmico dos frutos de *A. nilotica* subespécie *nilotica* foram testados contra bactérias patogênicas, sendo os extratos aquoso e etanólico os mais ativos contra cocos gram-positivos e bacilos gram-negativos. Os resultados indicam valor terapêutico dos extratos de *A. nilotica* como potencial agente antimicrobiano (MUSTAFA *et al.*, 1999).

Alta atividade antibacteriana contra as cepas de *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Shigella boydii*, *Salmonella oranienburg* e *Staphylococcus aureus* foi observada com o extrato metanólico das cascas de *Acacia xanthophloea* (CHHABRA;

UIISO, 1991). Inibição de cepas de *Mycobacterium tuberculosis* sensíveis e resistentes a isoniazida e rifampicina, drogas normalmente utilizadas no tratamento da tuberculose, foi verificada com o extrato acetônico das cascas desta espécie (LALL; MEYER, 1999).

Extratos de *A. angustifolia* inibiram o crescimento de cepas de *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Klebsiella pneumoniae* e *Candida albicans* (HOFFMANN *et al.*, 1993).

Os extratos metanólico e aquoso das cascas de *A. sieberiana* demonstraram ação contra *S. epidemidis* e *B. subtilis* (RABE; STADEN, 1997).

Atividade contra *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* e *Staphylococcus aureus* foi obtida com o extrato etanólico de *A. catechu* (VALSARAJ *et al.*, 1997; AHMAD *et al.*, 1998).

Extratos das cascas de *A. mollissima* (*A. mearnsii*) apresentaram importante ação antibacteriana contra *Bacillus brevis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Micrococcus luteus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Mycobacterium smegmatus* e *Proteus vulgaris* (DIGRAK *et al.*, 1999).

Estudos realizados por ALASBAHI *et al.* (1999) com plantas medicinais do Iêmen, demonstraram ação antibacteriana de *A. harala* para *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus faecalis*.

Extratos metanólicos das raízes e das cascas de *A. senegal* variedade senegal inibiram bactérias cariogênicas (KHAN *et al.*, 2000). Utilizando extratos hexânicos e metanólicos de *A. senegal* e *A. nilotica*, ALI *et al.* (2001) obtiveram inibição das cepas de *E. coli* e de *Staphylococcus aureus*.

O extrato etanólico das folhas de *A. tetragonophylla* apresentou atividade contra *Bacillus cereus* e de *A. kempeana* contra *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis* e *Staphylococcus pyogenes* (PALOMBO; SEMPLE, 2001).

Um estudo antimicrobiano realizado por PEITZ (2003) com os extratos das folhas de *A. longifolia*, demonstrou que o extrato etanólico bruto e a fração acetato de etila apresentavam atividade contra *Staphylococcus aureus*, enquanto que ação contra *Pseudomonas aeruginosa* foi obtida somente com o extrato etanólico bruto.

### 3.4.2 Ação alelopática:

O termo alelopatia (do grego *allelon*: mútuo; *pathos*: prejuízo) foi usado pelo pesquisador alemão Hans Molisch em 1937 para descrever as interações bioquímicas entre as plantas, incluindo também entre estas e os microorganismos (PUTNAM; TANG, 1986; MEDEIROS, 1990). Está relacionado à capacidade de uma planta interferir na germinação de sementes e/ou no crescimento de outras espécies vegetais, prejudicando ou favorecendo o seu desenvolvimento, por meio de compostos químicos (denominados de aleloquímicos) que estas liberam na atmosfera ou no solo (MEDEIROS, 1990).

Em uma definição mais ampla, a IAS (International Allelopathy Society) estabeleceu em 1996 que a alelopatia estaria relacionada aos processos que envolvem a produção de metabólitos secundários pelas plantas e pelos microorganismos, influenciando no crescimento e desenvolvimento de sistemas agrícolas e biológicos (MALHEIROS; PERES, 2001).

Inúmeras substâncias aleloquímicas foram isoladas e identificadas, tendo sido avaliados seus efeitos na germinação, no crescimento, bem como as alterações metabólicas produzidas (RIZVI; RIZVI, 1992).

Diferentes grupamentos químicos (como ácidos fenólicos, cumarinas, terpenóides, flavonóides, alcalóides, taninos, quinonas complexas) podem ser os responsáveis pelos efeitos alelopáticos observados nas plantas (EINHELLIG, 1986; MEDEIROS, 1990).

Compostos fenólicos como os ácidos benzóico e cinâmico, as cumarinas e os flavonóides estão entre os mais comumente associados com a ação alelopática (EINHELLIG, 1986).

Porém, muitas vezes a atividade alelopática observada não se deve a apenas um composto, mas a um conjunto deles, pois geralmente a concentração de cada metabólito está abaixo do mínimo necessário para que exerça o efeito isoladamente (MALHEIROS; PEREZ, 2001).

A atuação destes aleloquímicos pode se realizar por efeitos primários nas funções das membranas e interações com hormônios. Interferências na nutrição

mineral, no balanço hídrico, na fotossíntese, na respiração e na síntese de proteínas também podem ser responsáveis pela ação alelopática (EINHELLING, 1986).

Os aleloquímicos podem ser liberados para o solo por exsudação da raiz, lixiviados das partes aéreas, resultarem da decomposição dos resíduos vegetais por microorganismos, da volatilização dos compostos de várias partes dos vegetais para o solo ou para o ar, de forma ativa ou simplesmente lixiviados. A ação de microorganismos durante a decomposição de partes da planta no solo, bem como a presença de minhocas ou de insetos, podem provocar transformações nos aleloquímicos, podendo aumentar, diminuir ou anular o seu efeito alelopático. Em contrapartida, os aleloquímicos também podem influenciar na atividade destes decompositores (MEDEIROS, 1990; FERREIRA; AQUILA, 2000).

Os aleloquímicos possuem dois atributos complementares: estimulação e inibição, produzindo uma resposta sigmoideal à concentração destas substâncias (MALHEIROS; PERES, 2001).

Desde a década de 60 a presença de compostos aleloquímicos é reconhecida como um importante mecanismo ecológico que pode provocar influências significativas no manejo agrícola ou florestal: na dominação de certas espécies vegetais; na sucessão dos plantios e na rotação dos cultivos, podendo favorecer ou prejudicar o desenvolvimento de um determinado produto agrícola, afetando na produtividade (CHOU, 1986; FERREIRA; AQUILA, 2000). A partir da década de 80 ocorreu um grande aumento nas pesquisas sobre a alelopatia, com inúmeras publicações sobre este processo, tendo sido referenciada na maioria dos países do mundo, além de ser considerada uma ciência prioritária nos países desenvolvidos (MALHEIROS; PERES, 2001).

Muitos compostos biologicamente ativos obtidos das plantas já estão sendo usados no controle de ervas daninhas (muitas das quais apresentavam resistência à várias categorias de herbicidas usualmente empregados), de insetos e de microorganismos patogênicos, podendo constituir-se em uma alternativa ao uso dos defensivos agrícolas, com menores riscos ao meio ambiente, mantendo um melhor equilíbrio do ecossistema (RIZVI; RIZVI, 1992; CHOU, 1998).

A atividade alelopática foi observada com diversas espécies de *Acacia*. Grande potencial alelopático foi demonstrado para *A. dealbata* em ensaios realizados por

CASAL *et al.* (1985) que observaram forte efeito inibitório dos extratos obtidos das folhas, flores e do solo coletado debaixo desta planta, na germinação e no comprimento da raiz e do hipocótilo de *Trifolium pratense*, *T. repens*, *Phleum pratense* e *Lolium perenne*. Diante destes resultados, os autores justificaram a grande capacidade que esta *Acacia* apresenta em colonizar e a presença de vegetação empobrecida no solo abaixo desta. Pela baixa concentração de compostos fenólicos nestes extratos, sugere-se que compostos não-fenólicos estejam envolvidos nesta atuação. Com o intuito de obter mais informações sobre a atividade alelopática desta planta, CARBALLEIRA e REIGOSA (1999) analisaram os efeitos na germinação de *Lactuca sativa* frente às amostras de água e solo de plantações com *A. dealbata*: *throughfall* (água que passa através da copa das árvores e cai no solo), *stemflow* (amostra de água que chega ao solo através de substâncias gasosas volatilizadas) e amostras de solo percolados durante um ano. Os resultados indicaram que o efeito alelopático era observado quando a planta estava florida, havendo inibição na germinação de *L. sativa* (30% de inibição pela *throughfall*, 60% pela *stemflow* e 75% pelo solo percolado) e no crescimento da radícula (23%, 33% e 48% , respectivamente, pelas mesmas amostras).

A observação de redução na germinação e no crescimento de *Vigna mungo*, *V. radiata*, *V. sinensis*, *Cajanus cajan* e *Glycine max* que estiveram crescendo por 30 dias na parte superior de solo com *A. holoserica*, está relacionada com a atividade alelopática desta planta (SRINIVASAN *et al.*, 1990).

Bioensaios realizados com os extratos aquosos das folhas de *A. tortilis* confirmaram o retardo no crescimento de *Prosopis cineraria* observado em plantações associadas com esta *Acacia* (MANJIT *et al.*, 1991). Os efeitos na germinação e no crescimento das sementes de *Pennisetum glaucum* frente a diferentes concentrações dos extratos aquosos das folhas, inflorescências, raiz e amostras de solo ao redor de *A. tortilis* foram analisados, confirmando o potencial alelopático desta espécie (ANURAG *et al.*, 1996).

Efeitos alelopáticos de *A. nilotica* já eram observados em plantações agrícolas próximas destas árvores (SINGH *et al.*, 1992). Taninos presentes nos extratos aquosos da casca e das folhas de *A. nilotica* inibiram significativamente a germinação das sementes e o crescimento da radícula e da plúmula de vários produtos agrícolas

(tomate, sorgo, algodão, feijão fradinho, berinjela, pimenta e girassol), sendo que a inibição foi maior com os extratos da casca do que com os das folhas (SWAMINATHAN *et al.*, 1989). Inibição da germinação das sementes de *Oryza sativa* (arroz) e promoção do crescimento destas foram efeitos verificados com lixiviados das folhas de *A. nilotica* (KOUL *et al.*, 1991). Estudos realizados com *Pennisetum glaucum* e *Cyamopsis tetragonoloba* demonstraram inibição da germinação destas sementes pelos extratos do solo e da casca desta *Acacia* (SINGH *et al.*, 1992). Estímulo no crescimento das sementes de *Eucalyptus globulus* foi observado em estudos realizados com solos modificados com as raízes de *A. nilotica* infestadas com micorrizas, indicando que estas duas espécies podem ser utilizadas juntas em programas de reflorestamentos (SHARMA; SAXENA, 1993). Buscando o biocontrole do *Pathenium hysterothorus* tolerante aos herbicidas, DHAWAN e colaboradores (1995) obtiveram inibição da germinação das suas sementes pelo extrato aquoso das folhas de *A. nilotica*. Extratos das folhas desta *Acacia* também afetaram significativamente o crescimento do trigo (*Triticum aestivum*) (KAMAL *et al.*, 1997). Promoção da germinação, aumento no comprimento das mudas e realce no índice de vigor foram observados com sementes de sorgo e de arroz, devido aos efeitos alelopáticos dos extratos das folhas de *A. nilotica*, nas concentrações de 5 a 10 % (CHANNAL *et al.*, 2000).

BHEEMAIAH e colaboradores (1992) obtiveram aumento no crescimento de *Ricinus communis*, *Helianthus annuus* e *Cajanus cajan* em plantações associadas com *A. albida*.

Inibição da germinação das sementes e na alongação da radícula e da plúmula de *Brassica campestris* (mostarda), *Cicer arietinum* (grama), *Oriza sativa* (arroz) e *Vigna sinensis* (feijão fradinho) foram efeitos obtidos nos ensaios utilizando extratos, palhagem ou lixiviado das folhas de *A. auriculiformis* (JADHAV; GAYNAR, 1992; BORA *et al.*, 1999; JOHN *et al.*, 1999). Inibição da germinação das sementes de trigo (*Triticum aestivum*), de arroz (*Oriza sativa*) e de grama (*Cicer arietinum*) por RAO e colaboradores (1994) e de *Pathenium hysterothorus* por DHAWAN *et al.* (1995) foram efeitos obtidos com a aplicação dos extratos aquosos das folhas desta *Acacia*. BARMAN e colaboradores (1997) observaram que lixiviados das suas folhas reduziram a germinação e o crescimento da plúmula e radícula de *Callistephus chinensis* (áster) e de *Chrysanthemum coronarium* (crisântemo). Mistura da parte superior do solo

associada com folhas e palhagem desta planta estimularam o crescimento das mudas e da biomassa de *Leucaena leucocephala* (HOSSAIN *et al.*, 2002).

O crescimento de uma variedade de arbustos foi afetado pelo lixiviado aquoso dos filódios de *A. cyclops* que é uma espécie invasiva introduzida na África (RUTHERFORD; POWRIE, 1993).

Lixiviado das sementes de *A. mellifera* inibiram a germinação da pimenta (*Capsicum sp*) e do tomate (*Lycopersicon sp*), demonstrando efeitos alelopáticos desta espécie (SANKER; RAI, 1993).

Não houve supressão considerável da germinação das sementes de alface, mas ocorreu inibição de 50% na elongação da sua raiz perante os extratos frescos de *A. mearnsii*. No entanto, houve promoção da elongação das radículas de alface com o resíduo obtido de um mês de decomposição de *A. mearnsii* (KITOU; YOSHIDA, 1993). Extratos aquosos de resíduos de folhas e galhos desta espécie demonstraram efeitos supressores sobre *Conyza sumatrensis*, *Trifolium spp*, *Echinochloa utilis* e *Lactuca sativa* (SCHUMANN *et al.*, 1995). Inibição da germinação e do crescimento da radícula de alface foi também verificado com os extratos aquosos do solo modificados com folhas de *A. mearnsii* durante um período de incubação curto. Porém, com o aumento da duração da incubação estes efeitos inibitórios desapareciam, havendo elongação da radícula (KITOU; YOSHIDA, 1998).

Resíduos dos filódios de *A. melanoxylon*, obtidos após 1, 7, 15, 30, 180 e 365 dias de decomposição no solo, demonstraram efeitos sobre a germinação e o crescimento de *Lactuca sativa*. Com o material do início da decomposição foram verificados fortes efeitos inibitórios, afetando a germinação mais na fase inicial do que na final e com grande interferência no crescimento das mudas. Bioensaios com amostras do solo coletadas debaixo desta *Acacia* permitiram observar a redução da germinação de *Dactylis glomerata* e do crescimento da radícula desta e de *Lactuca sativa*. Foram identificados os ácidos vanílico e ferúlico, o álcool 4-hidróxi-3-metóxi-benzílico e os flavonóides quercetina-3-glicosídeo, quercitrina, luteolina e apigenina nesta *Acacia*, indicando que poderiam estar relacionados à atividade alelopática observada (GONZÁLEZ *et al.*, 1995).

Potencial alelopático de *A. senegal* foi verificado com a inibição da germinação de sementes de sorgo, milho e de sésamo e o retardo no desenvolvimento destas

quando se encontram frente a concentrações maiores que 5% do extrato aquoso das folhas de *A. senegal* (FADL *et al.*, 1997).

Avaliação da capacidade alelopática de *A. confusa*, que é uma espécie endêmica no Taiwan, e de outras 8 espécies do mesmo gênero (*A. aulacocarpa*, *A. auriculiformis*, *A. cincinnata*, *A. crassicarpa*, *A. leptocarpa*, *A. mangium*, *A. polystachya* e *A. tortilis*) foi realizada por CHOU e colaboradores (1998). Extratos aquosos (0,5%, 1%, 2%, 3%, 4% e 5%) das folhas e palhagem das espécies citadas foram testados usando sementes de alface (*Lactuca sativa*), alfafa (*Medicago sativa*) e couve chinesa (*Brassica chinensis*), observando-se fitotoxicidade com vários extratos, mesmo naqueles de concentração menor. Amostras de solo coletadas do local onde se encontravam as espécies de *Acacia*, também apresentaram significativa fitotoxicidade. Compostos isolados, como os ácidos ferúlico, vanílico, gálico, cafeico e flavonóides, obtidos das frações aquosa e acetato de etila, também deram resultados positivos. Entretanto, os produtos obtidos das frações clorofórmica e hexânica não apresentaram os mesmos resultados, sugerindo que a fitotoxicidade observada seja devido a compostos presentes na planta que são mais hidrossolúveis.

PEITZ (2003) avaliou o extrato etanólico bruto das folhas, as frações hexânica, clorofórmica e acetato de etila das flores de *A. longifolia* obtendo inibição da germinação e redução do crescimento da radícula e do hipocótilo de *Lactuca sativa*, em graus variáveis, dependendo do extrato ou fração. O flavonóide naringenina, isolado da fração clorofórmica das flores, demonstrou também potencial alelopático, porém com menor intensidade do que a fração clorofórmica da qual foi obtido, indicando que a presença de outros compostos nesta fração poderia estar influenciando na atividade alelopática observada (PEITZ, 2003).

### 3.5 FITOQUÍMICA DO GÊNERO *Acacia* COM ÊNFASE EM DERIVADOS DO NÚCLEO FLAVONOÍDICO E COMPOSTOS QUINÔNICOS

A revisão da literatura realizada a partir das Bases de Dados do Biological Abstracts (1939 a 2002), Chemical Abstracts (1917 a 2002), CAB Abstracts (1972 a 2002) e TREECD (1939 a 2002) demonstrou uma grande variedade de metabólitos secundários no gênero *Acacia*.

Até o momento, nas fontes analisadas, não foram encontradas referências quanto à análise de compostos com núcleo flavonoídico e quinoídico em *Acacia podalyriaefolia* A. Cunn. Os trabalhos fitoquímicos relatados para esta espécie estão relacionados à pesquisa de alcalóides (WHITE, 1943; BALLANDRIN *et al.*, 1978) e análises dos polissacarídeos da sua goma (ANDERSON; BELL, 1976; CHURMS *et al.*, 1977).

### 3.5.1 Compostos derivados do núcleo flavonoídico:

Compostos flavonoídicos foram os produtos do metabolismo secundário observados com mais freqüência em espécies do gênero *Acacia*.

Em 1951, MARINI-BETTOLO e FALCO relataram a existência de naringerina e seus hidrolisados em *Acacia longifolia*, o que foi comprovado com os estudos realizados com o extrato clorofórmico por KERBER (1993). Da fração acetato de etila das flores foram obtidos naringenina conjuntamente com os heterosídeos 5- $\beta$ -D-galactosil-naringenina e 5- $\beta$ -D-glucosil-naringenina (SILVA, 2001) e a aurona 4-O-galactosil aureusidina (PEITZ, 2003). Das flores foi também isolada a naringenina (PEITZ, 2003). Catequina e galo-catequina foram obtidos por TINDALE e ROUX (1969). Foi isolada por ANAM (1997) uma nova flavanona (5,2',5'-tri-hidróxi-6,7-dimetoxiflavanona) das raízes da mesma espécie.

De *A. catechu* foram obtidos campferol, quercetina, iso-ramnetina, di-hidro-campferol (PARIS, 1953; DESHPANDE; PATIL, 1981). Fisetina, quercetagetina e quercetina foram isoladas do extrato etéreo e acetato de etila do cerne de *A. catechu* por HATHWAY e SEAKINS (1957). Catequina foi obtida por AZUINE e BHIDE (1994). Quercetina-3-O-ramnosídeo, quercetina-3-O-galactosídeo, quercetina-3-O-arabinosídeo, 3-metilquercetina e di-hidro-quercetina foram isolados por SHARMA *et al.* (1997; 1999).

Estudos realizados em *A. cyanophylla* por PARIS (1953) permitiram o isolamento de quercetina 3-O-glicosídeo. Utilizando-se desta mesma espécie, do extrato etanólico das flores IMPERATO (1978) isolou 4,2',4',6'-tetra-hidroxichalcona 4-glicosídeo. Dos extratos clorofórmico, acetato de etila e éter etílico SALEEM e colaboradores (1992 a) identificaram os flavonóides quercitrina e campferol.

Do pólen de *A. dealbata* foram obtidos rutina, quercetina, robinetina, miricetina e naringenina-5-di-glicosídeo (TAPPI *et al.*, 1955; SPADA; CAMERONI, 1955; 1956). Das flores desta mesma espécie foi relatada a presença de 6'-O-glicosil-naringenina-chalcona (IMPERATO, 1982 a) e 6'-O-di-glicosil-naringenina-chalcona e uma aurona, o cernusídeo (IMPERATO, 1982 b). Cianidina, delphinidina e epicatequina foram isoladas desta mesma espécie por KIRILLOVA e KONDZHARIYA (1987).

Análises químicas do extrato das cascas e cerne de *A. mollissima* (*A. mearnsii*) permitiram a obtenção de uma leuco-robinetinidina monomérica, leuco-fisetina (ROUX; EVELYN, 1958), fustina e fisetina (ROUX; PAULUS, 1960). DREWES E ROUX (1963) isolaram também fustina e fisetinidol, além de di-hidrorobinetina (3,3',4',5',7-penta-hidroxi-flavan-4-ona), butina (3',4',7-tri-hidroxi-flavan-4-ona), buteína (2',3,4,4'-tetra-hidroxi-chalcona), robteína (2',3,4,4',5-penta-hidroxi-chalcona) e flavonóides glicosídeos (miricitrina e quercitrina) do extrato acetato de etila das cascas de *A. mearnsii*. Os flavonóides glicosídicos miricitrina (miricetina-3-rhamnosídeo) e quercitrina (quercetina-3-rhamnosídeo), foram isolados do extrato metanólico das folhas desta planta por SAAYMAN e ROUX (1965). ZEIJLEMAKER e MACKENZIE (1965) trabalhando com extratos das folhas obtiveram 4'-O-metil-miricitrina (mearnsitrina). O composto 3-metoxi-fisetina e as formas isoméricas do biflavonóide leucofisetinidina foram extraídas do extrato acetato de etila e aquoso do cerne da mesma espécie por DREWES e ISLEY (1968; 1969). Mearnsitrina foi também detectada nas suas folhas (MACKENZIE, 1967). Do extrato acetato de etila das folhas, MACKENZIE (1969) obteve catequina, galocatequina, quercitrina, isoquercitrina, miricitrina, mearnsetina, mearnsetrina e mirecetina-3-glicosídeo nesta planta. Análises fitoquímicas com o extrato metanólico do caule de *A. mearnsii* realizadas por CRONJÉ e colaboradores (1993) conduziram a obtenção de prorobinetinidinas e proantocianidinas neste material.

Estudos realizados por ROUX e colaboradores (1961) com extratos do cerne e da casca de diferentes espécies de *Acacia* (*A. mearnsii*, *A. decurrens*, *A. dealbata* e *A. pycnantha*) permitiram o isolamento de (+)7,3',4'-tri-hidroxi-flavan-3,4-diol, 3',4',7-tri-hidroxi-flavan-3-ol (fisetinidol), 3,3',4',7-tetra-hidroxi-flavan-4-ona (fustina) e fisetina nestas plantas. Também foram obtidos (-)robinetinidol, (+)catequina e (+) galocatequina em *A. mearnsii* e em *A. decurrens*, enquanto que em *A. dealbata* estas catequinas

estavam junto com (-)epicatequina e (-)epigalocatequina e em *A. pycnantha* com (-)epicatequina, (-)epicatequina galato, (-)epigalocatequina e (-)epigalocatequina galato.

De *A. intertexta* CLARK-LEWIS *et al.* (1961) obtiveram a leucoantocianidina teracacidina.

Das flores de *A. papova*, espécie encontrada no Japão, NAUCHINI (1963) isolou rutina (quercetina-3-O-rutinosídeo). Rutina também foi obtida por BENIMEL (1964), além da quercetina em espécies de *Acacia* no Chile.

De diferentes espécies de *Acacia* foram isolados por CLARKE-LEWIS e NAIR (1964) derivados flavânicos de 7,8,3',4'-tetra-hidroxiflavanona e 7,8,3',4'-tetra-hidroxiflavona.

Hiperosídeo (3-D-galactosil-quercetina) foi isolado do extrato butanólico das flores de *A. melanoxylon* por FALCO e VRIES (1964), enquanto que FOO (1987) isolou do extrato acetato de etila do cerne os di-hidroflavonóis (-)2,3-*cis*-3'4'7,8-tetra-hidroxi-dihidroflavonol, ( $\pm$ )2,3-*trans*-3'4'7-tri-hidroxi-5-metoxi-di-hidroflavonol, ( $\pm$ )2,3-*trans*-3'4'7,8-tetrahidroxidihidroflavonol, conjuntamente com o 2,3-*cis*-leucoantocianidina ou flavan-3,4-diol, auxiliando na elucidação da biossíntese destes compostos. Trabalhando com extrato semelhante, o mesmo pesquisador obteve biflavonóides dímeros de protocianidina: [4-O-4]-bis(2,3-*cis*-3,4-*trans*-3,3',4',7,8,-penta-hidroxiflavana; o isomérico 2,3-*cis*-3,4-*trans*-3,3',4',7,8-penta-hidroxiflavan-[4-O-4]-2,3-*cis*-3,4',7,8-penta-hidroxiflavana (FOO, 1989). Luteolina e apigenina foram identificadas tanto no extrato metanólico da raiz como no das folhas e quercetina-3-glicosídeo nas folhas (GONZÁLES *et al.*, 1995).

Entre as chalconas foi referenciada a sulfuretina (HARBORNE, 1966) no gênero *Acacia*.

Flavan-3,-4-diol (teracacidina e análogos) foram obtidos do extrato metanólico da madeira e das cascas de *A. auriculiformis* (DREWES; ROUX, 1966). Estes compostos também foram obtidos da fração butanólica do cerne desta espécie levando a obtenção do glicosídeo flavônico denominado auriculosídeo (7,3',5'-tri-hidroxi-4'-metoxiflavan-3'-glucosídeo) (SAHAI, 1980); do cerne de *A. saxatilis* utilizando extração com acetona-água 4:1 (FOURIER *et al.*, 1974) e do extrato acetônico do cerne de *A. cultriformis* (DU PREZZ; ROUX, 1970).

Quercitrina, astragalina (campferol 3-glicosídeo) e miricitrina foram isolados do extrato etanólico das folhas de *A. saligna* por EL SISSI e EL SHERBEINY (1967). EL SHAF AE e EL DOMIATY (1998) obtiveram 7-O- $\beta$ -D-glicosil-naringenina, naringenina, 6-C-D-glicosil-naringenina, quercetina e quercitrina. Flavonóides di-hidrocampferol 8-C-glicosídeos, além de luteolina e seu 7-O-glicosídeo e 7-O-rutinosídeo, apigenina-7-O-neo-hesperidoside, quercetrina, rutina, miricetina 3-O-ramnosídeo e isoramnetina-3-O-galactosídeo foram obtidos dos extratos das partes aéreas da mesma espécie por EL-SAWI (2001). Também foram isolados e identificados luteolina e seu 7-O-glicosídeo e 7-O-rutinosídeo; apigenina-7-neo-hesperidosídeo; quercitrina; rutina; miricetina-3-O-ramnosídeo e isoramnosídeo-3-O-galactosídeo pelo mesmo autor.

De *Acacia obtusifolia* e *A. maidenii* foram obtidas por CLARK-LEWIS e DAINIS (1967) teracacidina e isoteracacidina. Os mesmos autores isolaram ramnitrina, quercetina di-glicosídeo, quercitrina, quercetina, ramnetina, apigenina, apigenina 7,4'-di-metil éter e (-)-epicatequina de *A. ixiophylla* (CLARK-LEWIS; DAINIS, 1968).

Estudos fitoquímicos em 61 espécies de *Acacia* originadas da Austrália, realizados por TINDALE e ROUX (1969), permitiram a subdivisão em quatro grupos: 3',4',7-tri-hidroxiflavonóides (grupo da molisacacidina); 3',4',7-tri-hidroxiflavonóides e 4',7-di-hidroxiflavonóides (grupo da molisacacidina-guibourtacacidina); 3',4',7,8-tetra-hidroxiflavonóides (grupo da melacacidina) e 4',7,8-tri-hidroxiflavonóides (grupo da teracacidina), dependendo das variações nas hidroxilas fenólicas.

A partir de espécies de *Acacia* da zona árida da Austrália, foram obtidas 3-metoxiflavonas (amplamente distribuídas nas espécies analisadas), 8-metoxiflavan-3,4-diols, flavonóides metilados incluindo 7,8,4'-tri-hidroxi-3-metoxiflavona, 7,8,3',4'-tetra-hidroxi-3-metoxiflavona, 7,3',4',-tri-hidroxi-3,8-di-metoxiflavona e 7,3',4',-tri-hidroxi-8-metoxiflavonol, fisetina, 8-metoxifisetina e 7,8,4'-tri-hidroxiflavonol (CLARKE-LEWIS; PORTER, 1972).

Acompanhando chalconas, flavanonas, flavonóis e análogos di-hidroflavonóis, melacacidina e isomelacacidina, FOURIER *et al.* (1972), utilizando extração com acetato de etila e água 10:100, isolou do cerne de *A. nigrescens*, 2,3-*trans*-flavan-3,4-*cis*-diol, representante do grupo 3', 4', 7, 8-tetra-hidroxiflavonóides. Flavonóis metilados como 3',4',7,8 tetra-hidroxi-3-metoxiflavona; 4',7,8-tri-hidroxi-3,3'-di-metoxiflavona e

4',7,8-tri-hidroxi-flavona foram obtidos por MALAN (1993) do extrato acetônico do cerne da mesma planta.

Foi isolado do extrato etanólico das flores de *A. farnesiana* por ILYAS e colaboradores (1970) isoramnetidina-3,7-glicoramnosídeo. THIEME e KHOGALI (1974) obtiveram apigenina 6-8-bis-C- $\beta$ -D-glicopiranosídeo do extrato metanólico das folhas e SAHU *et al.* (1998) obtiveram diosmetina e farnesina. Do extrato hidroalcoólico das vagens, BARAKAT *et al.* (1999) obtiveram naringenina 7-O- $\beta$ -(4",6"-di-galoilglicopiranosídeo); miricetina 7-O- $\beta$ -(6"-galoilglicopiranosídeo); quercetina-7-O- $\beta$ -(6"-galoilglicopiranosídeo); naringenina 7-O- $\beta$ -(6"-galoilglicosídeo) e campferol 7-O- $\beta$ -(6"-galoilglicosídeo).

Análises químicas de *A. myrtifolia* permitiram o isolamento da quercetrina (EADE *et al.*, 1973).

MALAN e ROUX (1975) trabalhando com *A. giraffae* e *A. galpinii* isolaram do cerne, utilizando extração com acetona, 2,3-*trans*-3,4-*trans*-teracacidina (7,8,4'-tri-hidroxi-flavan-3,4-diol) e análogos 3-O-metil-, 7,8-di-O-metil- e 7,8,4'-tri-O-metilflavonol. Também foram obtidos 2,3-*cis*-3,4-*cis*-melacacidina (7,8,3',4'-tetra-hidroxi-flavan-3,4-diol); catequina, 2,3-*trans*-leucofisetinidina (7,3',4'-tri-hidroxi-flavan-3,4-diol) e o *trans*-leucofisetinidina-catequina. Do extrato metanólico do cerne de *A. galpinii*, estudos realizados por MALAN e SIREEPARSAD (1995) e por COETZEE *et al.* (1998) conduziram a obtenção de proteracacidinas diméricas.

Pesquisas realizadas por THIEME e KHOGALI (1975) com o extrato metanólico de diversas espécies de *Acacia* (*A. cyanophylla*, *A. farnesiana*, *A. horrida*, *A. longifolia*, *A. mellifera*, *A. nilotica*, *A. polyacantha* subespécie *campylacantha*, *A. saligna*, *A. senegal*, *A. seyal* var. *fistula*, *A. sieberana* e *A. tortilis*) permitiram o isolamento de isoquercitrina (quercetina-3-glicosídeo); hiperosídeo (quercetina-3-galactosídeo); além de quercitrina e rutina; quercetina-3-soforosídeo; espiraeína (quercetina-4'-glicosídeo); apigenina-8-C-glicosídeo; apigenina-6-C-glicosídeo; apigenina-6,8-bis-C-glicosídeo; miricetina-3-galactosídeo; miricetina-4'-metil-éter-3-ramnosídeo; luteolina-7-glicosídeo, catequina, galocatequina, epicatequina, epigalocatequina, epicatequina-3-galato, epigalocatequina-3-galato.

Das flores de *A. retinoides* foi obtida 6-C-glicosil-naringenina (LORENTE *et al.*, 1982).

Estudando espécies de *Acacia* na Argentina, SUARES e colaboradores (1982) obtiveram miricetina, isoramnetina, apigenina e isovitexina.

Estudos realizados por AYOUB (1985) com o extrato acetato de etila dos frutos e cascas de *A. nilotica* subespécies *nilotica*, *tormentosa* e *adstringens*, conduziram à obtenção de epigalocatequina-7-galato e epigalocatequina-5,7-di-galato. Das cascas de *A. nilotica* foram isoladas por KHALID *et al.* (1989) naringenina, catequina e catequina-5-galoil-éster.

Flavonóides como 2',4'-di-hidroxichalcona; 4'-hidroxi-2'-metoxichalcona; 2',4'-di-hidroxi-3'-metoxichalcona; 2',4',4'-tri-hidroxichalcona; 7-hidroxiflavanona, isoliquiritigenina, pinocembrina e crisina foram obtidos do extrato clorofórmico dos exsudatos das folhas e caules de *A. neovernicosa* por WOLLENWEBER e SEIGLER (1982).

FERREIRA *et al.* (1985) obtiveram biflavonóides e seus homólogos baseados na (-)-epicatequina ou (+)-catequina do cerne de *A. luederitzii*, utilizando extração com acetona-água (9:1).

Estudos realizados por VOIRIN *et al.* (1986) com as flores de *A. latifolia* permitiram a obtenção de 3-O- $\beta$ -D-glicosil-quercetina, 7-O- $\beta$ -D-glicosilquercetina, 3-O- $\beta$ -D-galactosil-quercetina, 3-O-triosil-quercetina, 3-O- $\beta$ -D-glicosil-miricetina, 3-O- $\beta$ -D-galactosil-miricetina e 7-O- $\alpha$ -D-glucosil-taxifolina.

Análises por CLAE dos extratos hidroacetônicos (acetona-água) das folhas de *Acacia* na Etiópia, realizadas por MUELLER-HARVEY e colaboradores (1987), permitiram a identificação e quantificação de miricetina (*A. bussei* e *A. seyal*), quercetina (*A. brevispica*, *A. bussei*, *A. drepanolobium*, *A. nilotica* e *A. seyal*) e campferol (*A. brevispica*, *A. drepanolobium* e *A. seyal*).

MALAN E PIENAAR (1987) obtiveram (+)-catequina-3'-galato; (+)-catequina-4'-galato; (+)-catequina-7'-galato; (+)-catequina-4'-7'-digalato e (+)-catequina-3'-7'-digalato do extrato acetônico das cascas de *A. gerrardii*.

Fisetinidol foi obtido da goma de *A. tortilis* (HAGOS; SAMUELSSON, 1988).

Teracacidina foi o componente flavonoídico majoritário obtido por TACHI e colaboradores (1989) do extrato metanólico da madeira de *A. mangium*.

Foram isoladas das vagens de *A. leucophloea* luteolina, uma flavona tetra-hidroxilada (KHAN *et al.*, 1990). Nas flores foi verificada a presença de mirecetina,

quercetina, 3'-hidroxi-7-metoxiisoflavona, apigenina, apigenina 8-C-glicosídeo (VALSAKUMARI; SULOCHANA, 1991), quercetina, quercitrina, campferol e rutina (RAO *et al.*, 1991).

Das folhas de *A. raddiana* submetidas à extração com etanol-água (1:3) EL-MOUSALLAMY *et al.* (1991) obtiveram 3-O-rutinosil-isoramnetina, 3-O-rutinosil-quercetina, 3-O-gentibiosil-quercetina, 3-O-galactosil-quercetina, 3-O-glucosil-galactosil-quercetina e 3-O-galactosil-quercetina.

Ensaio fitoquímico com os extratos clorofórmico, acetato de etila e éter etílico das folhas de *A. aneura* realizados por SALEEM *et al.* (1992 b) permitiram a identificação de apigenina, ramnetina e fisetina nesta planta.

MALAN e SWATZ (1995) utilizando extração com acetona do cerne de *A. karroo*, subespécie *montana*, isolaram 3,10-di-hidroxi-9-O-(6'-hidroxi-7'-O-metil-2'-hidroxi-metil-di-hidrobenceno furan-3-il)-di-benz-[b,d]-piran-6-ona e seu análogo 10-O-metil; 8-O-metilepiprosofin-4 $\beta$ -ol; 8-metoxifustina; 7,8,3,4'-tetra-hidroxi-3'-metoxiflavona; 7,3',4'-tri-hidroxi-di-hidroflavonol; 7,3',4'-tri-hidroxi-flavonol; 7,3',4'-tri-hidroxi-flavan-3-ol; 7,8,3',4'-tri-hidroxi-di-hidroflavonol; 7,8,3',4'-tetra-hidroxi-flavonol; 7,8,4'-tri-hidroxi-3'-metoxiflavonol; 7,8,4'-tri-hidroxi-3,3'-di-metoxiflavona; 5,7,3',4'-tetra-hidroxi-flavona e 8-O-metil-7,3',4'-tri-hidroxi-di-hidroflavonol.

Da fração hexano/acetato de etila (5:2) do cerne de *A. caffra*, MALAN (1995) isolou análogos da teracacina. Continuando a pesquisa juntamente com outros autores (MALAN *et al.*, 1997) obtiveram o dímero 7,8,4'-tri-hidroxi-flavan-epioritina-4- $\alpha$ -ol. Trabalhando com a mesma espécie, BENNIE *et al.*, (2000; 2001), obtiveram os tri-flavanóides epioritina-(4- $\beta$ -(R)-3)-epioritina-4- $\beta$ -ol e epimiquistol-(4- $\beta$ -(R)-3)-epioritina-4- $\beta$ -ol do extrato metanólico do cerne da mesma espécie.

No Egito, NASSAR (1999) isolou das folhas de *A. laeta* apigenina-C-glicosídeo.

Do extrato metanólico das folhas de *A. confusa* foram obtidos miricetina-3-O-(2"-O-galoil)- $\alpha$ -ramnopiranosídeo-7-metil-éter, miricetina-3-O-(3"-O-galoil)- $\alpha$ -ramnopiranosídeo-7-metil-éter; miricetina-3-O-(2",3"-di-O-galoil)- $\alpha$ -ramnopiranosídeo-7-metil-éter e miricetina-3-O-(2"-O-galoil)- $\alpha$ -ramnopiranosídeo-7-metil-éter (HUEI *et al.*, 2000; LEE *et al.*, 2000).

### 3.5.2 Compostos quinônicos:

Entre as quinonas foi verificado nas fontes analisadas que de *A. melanoxylon* foi obtida a benzoquinona denominada de acamelin, junto com a 2,6 dimetoxibenzoquinona, substâncias alergênicas que causam dermatites de contato (HARBORNE *et al.*, 1999).

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 OBTENÇÃO DO MATERIAL VEGETAL

As flores de *Acacia podalyriaefolia* A. Cunn. foram obtidas de um jardim residencial no Cajuru, no município de Curitiba (Paraná), entre os meses de Junho a Agosto de 2002. A classificação da espécie foi realizada pelo botânico Gert Hatschbach do Museu Botânico Municipal de Curitiba. Uma amostra do material se encontra depositada no herbário do Museu, catalogada e registrada sob o nº. 268.219.

### 4.2 CONSERVAÇÃO

O material vegetal coletado (flores) foi seco à sombra, à temperatura ambiente, por uma semana. O material foi então acondicionado em sacos de papel, devidamente fechados, ao abrigo da luz e da umidade.

### 4.3 PESQUISA DE GRUPOS FITOQUÍMICOS NOS EXTRATOS E FRAÇÕES

O estudo fitoquímico das flores de *Acacia podalyriaefolia* consistiu na pesquisa de alcalóides, compostos fenólicos, flavonóides, cumarinas, tanóides, quinonas, saponinas, esteróides e triterpenóides, utilizando as sistemáticas descritas em MOREIRA (1979) e KERBER (1988), com algumas adaptações.

Foram submetidas 50 g de flores, previamente secas, à extração por refluxo com etanol comercial. O material foi concentrado em evaporador rotatório, sob pressão reduzida, com aquecimento em banho-maria à temperatura não superior a 50 °C, até um volume de aproximadamente 50 mL. Este foi então armazenado em geladeira durante uma noite e no dia seguinte foi centrifugado por 10 minutos a 5.000 rpm. O sobrenadante correspondeu ao extrato etanólico bruto (EEB), que foi particionado inicialmente em funil de separação com hexano (obtendo a fração hexânica, FH). Após a extração com hexano, ao extrato etanólico bruto foi acrescentada água destilada em quantidade suficiente para ter-se um extrato hidroalcoólico a 20%, que foi então particionado com diclorometano em sohxlet

modificado (fração diclorometano, FDCM), seguido por acetato de etila em funil de separação (fração acetato de etila, FAE).

O extrato etanólico bruto e as suas frações foram conduzidos à secura em evaporador rotatório sob pressão reduzida.

a) Alcalóides: o extrato e as frações foram dissolvidos em HCl 1% e filtrados e sobre estes gotejados os reagentes Mayer, Dragendorff, Bouchardat e Bertrand. A verificação de turvação ou precipitação frente a estes reagentes indicaria a presença de alcalóides nestas amostras (MOREIRA, 1979).

b) Compostos fenólicos: o extrato e as frações foram dissolvidos em etanol e sobre estes foram gotejados os reagentes de detecção (cloreto férrico 1%, cloreto férrico 1% + ferrocianeto de potássio 1% e hidróxido de potássio 3%). O desenvolvimento de coloração verde a azul com cloreto férrico ou cloreto férrico mais ferrocianeto de potássio e/ou o aparecimento e/ou intensificação de cor amarelo a laranja com hidróxido de potássio, indica a presença de compostos fenólicos (KERBER, 1988).

c) Flavonóides (Teste de Shinoda, reação da cianidina): o extrato e as frações foram dissolvidos em etanol e sobre estes foram adicionados 50 mg de magnésio em pó e 0,2 mL de ácido clorídrico concentrado. O desenvolvimento de coloração laranja sinalizaria a presença de flavonas, coloração violácea a presença de flavanonas e coloração vermelha representaria flavonóis (KERBER, 1988).

d) Cumarinas: em papel de filtro foram feitos três pontos com cada extrato ou fração, sendo acrescentados a dois pontos uma gota de hidróxido de sódio 1N e uma destas manchas foi coberta com papel alumínio. O papel de filtro assim preparado foi deixado em exposição sob luz ultravioleta (ondas longas) por 15 minutos. A observação de fluorescência azul ou verde-amarelada na mancha alcalinizada e descoberta indicaria a reação positiva (MOREIRA, 1979).

e) Quinonas: ao extrato e frações foram adicionados 5 mL de hidróxido de sódio 3% e 0,5 mL de peróxido de hidrogênio 5%. O material foi acidificado com ácido acético e extraído com 5 mL de tolueno. A fase orgânica foi separada e sobre esta foram adicionados 2 mL de hidróxido de potássio 3%. A obtenção de coloração azul indicaria a presença de benzoquinonas, violeta para as naftoquinonas e vermelha para as antraquinonas (KERBER, 1988).

f) Esteróides e triterpenóides: amostras do extrato etanólico bruto e das frações hexânica e diclorometano foram dissolvidas com clorofórmio. A tubos de ensaio contendo 0,5 mL das amostras foram adicionados 0,3 mL de anidrido acético e 0,2 mL de ácido sulfúrico concentrado, lentamente. A obtenção de coloração azul a verde sinaliza a provável presença de núcleo esteroidal e o desenvolvimento de coloração vermelha, rósea, púrpura ou violácea sinalizaria a provável presença de policíclicos triterpênicos (KERBER, 1988).

g) Tanóides: ao extrato e às frações foram adicionado 5 mL de cloreto de sódio 2% e 5 mL de gelatina 1%. A presença de tanóides é verificada pela formação de precipitado (KERBER, 1988).

h) Saponinas: em tubo de ensaio (15 x 200 mm) foi adicionada água destilada ao extrato e às frações, sendo então agitados energicamente durante 10 segundos, em movimentos succionais, medindo-se a altura do anel de espuma formado com a agitação e 10 segundos após a agitação. A obtenção de espuma com altura superior a 10 mm, persistindo após o repouso, representaria a presença desta categoria de composto no extrato (KERBER, 1988).

#### 4.4 ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS

##### 4.4.1 Obtenção do extrato etanólico bruto:

Flores de *Acacia podalyriaefolia* A. Cunn. (300g, divididas em 2 porções de 150 g cada), previamente secas, foram submetidas à extração por refluxo com etanol comercial (5 extrações de 20 minutos em ebulição, cada extração), para a obtenção do extrato etanólico. Os 5 extratos etanólicos assim obtidos foram reunidos e concentrados em evaporador rotatório, sob pressão reduzida, com aquecimento em banho-maria à temperatura não superior a 50 °C, até um volume de aproximadamente 300 mL. Este foi então armazenado em geladeira durante uma noite e no dia seguinte foi centrifugado por 10 minutos a 5.000 rpm, sendo o sobrenadante rotulado como extrato etanólico bruto (EEB). Uma alíquota de 20 mL foi reservada para a execução de ensaios de atividade biológica e determinação do teor de sólidos.

#### 4.4.2 Fracionamento do extrato etanólico bruto:

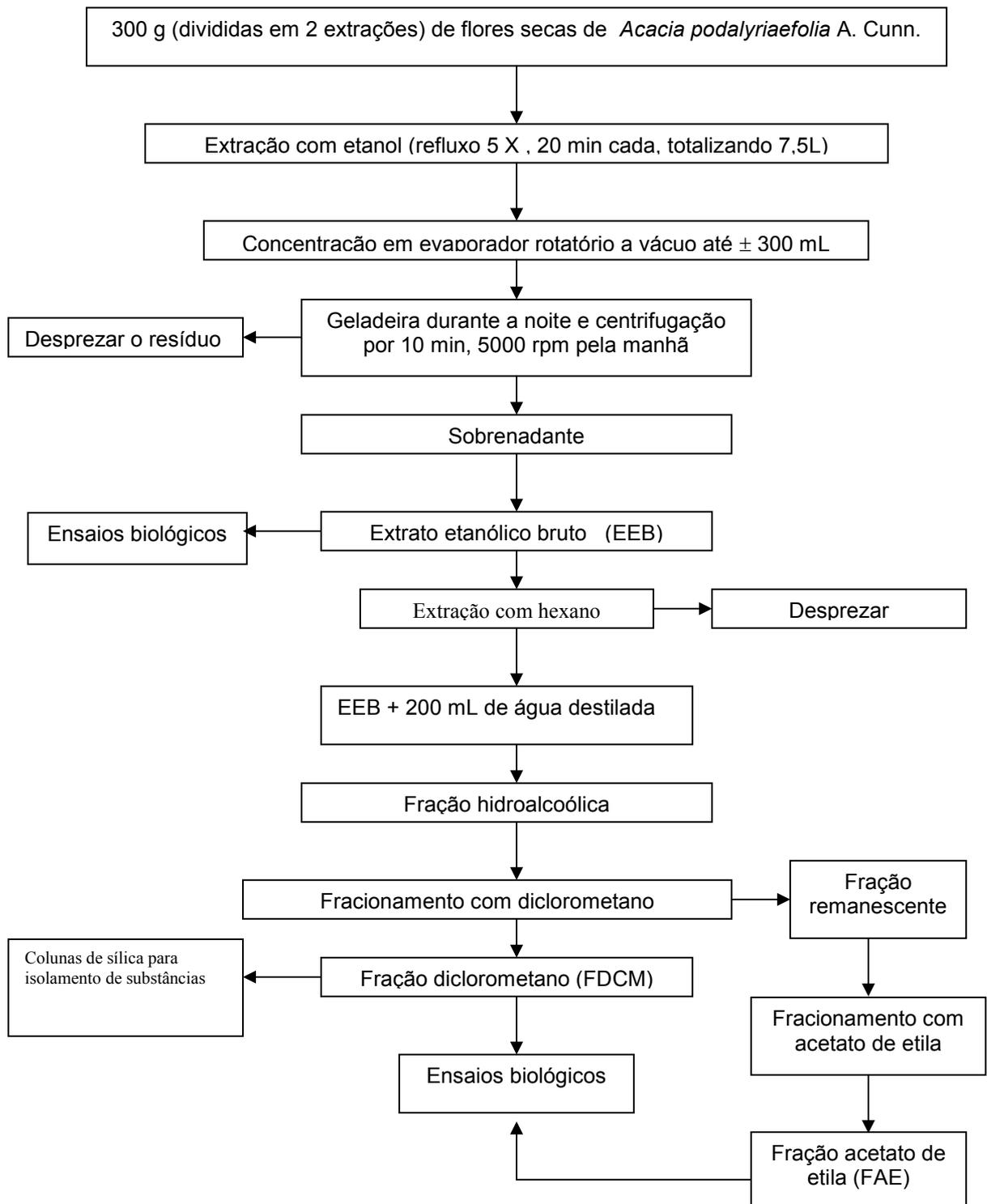
Além da centrifugação, o desengorduramento foi completado através do processo de partição líquido-líquido, em funil de separação de 2.000 mL com hexano p.a. (porções de 100 mL), com agitação manual, até que a fração hexânica ficasse incolor.

Ao extrato etanólico desengordurado foi adicionada água destilada em quantidade suficiente para obter-se 500 mL do extrato hidroalcoólico. Este extrato hidroalcoólico foi particionado com diclorometano ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) p.a. por aproximadamente 30 horas (até que ficasse incolor) em aparelho extrator líquido-líquido (Sohxlet modificado), no qual o sifão possui um alargamento de sua base evitando o sifonamento do extrato e permitindo assim a passagem do solvente mais denso através da fase hidroalcoólica. A fração diclorometano (FDCM) foi concentrada à secura, em evaporador rotatório sob pressão reduzida, em banho-maria à temperatura não superior a 40°C.

A fração hidroalcoólica remanescente foi extraída com acetato de etila p.a., em funil de separação de 2.000 mL, sob agitação manual, até que ficasse incolor. Em seguida esta fração foi também conduzida à secura em evaporador rotatório sob pressão reduzida, em banho-maria com temperatura não superior a 50°C, correspondendo à fração acetato de etila (FAE).

O fracionamento do extrato etanólico bruto está demonstrado na Figura 5.

FIGURA 5 - FLUXOGRAMA DO FRACIONAMENTO DO EXTRATO ETANÓLICO BRUTO



#### 4.4.3 Isolamento de compostos da fração diclorometano:

A fração diclorometano foi analisada por CCD analítica (cromatofolha silicagel 60 F<sub>254</sub> Merck). Foram testadas as fases móveis CHCl<sub>3</sub>:MeOH (98:2 e 90:10) e tolueno:CHCl<sub>3</sub>:HCOOH (5:4:1 e 2:7:1), demonstrando ser a primeira a mais indicada, possibilitando a observação de diversas manchas indicativas de grupos cromóforos com intensa absorção no UV a 360 nm, com alteração ou intensificação da fluorescência pela revelação com solução de hidróxido de sódio concentrada, sinalizando a provável presença de compostos fenólicos nesta fração.

Da fração diclorometano obtida, 1 g foi eluída em coluna (30 X 3 cm) contendo 40 g de silicagel 60 (0,063 a 0,200 mm) Merck.

O sistema eluente utilizado iniciou com 100% de hexano tendo clorofórmio como gradiente de polaridade até 100% de clorofórmio. As mudanças de solvente foram a 2%, 5%, 10%, 15%, 20%, 50% e 100%, em volumes de 50 mL cada, tendo sido coletadas 57 frações com aproximadamente 7 mL cada. Continuando com clorofórmio (100 %) foi utilizado metanol como gradiente nas proporções de 2%, 5%, 10%, 15%, 20% e 100%, em volumes de 50 mL cada (exceto para o gradiente a 10%, no qual foram utilizados 200 mL), tendo sido coletadas mais 64 frações com aproximadamente 7 mL cada, totalizando 121 frações.

A análise destas frações por CCD, nos mesmos sistemas utilizados anteriormente, indicou a presença de duas substâncias principais nas frações 79 a 87 (obtidas com gradiente 10% de metanol no clorofórmio), as quais foram reunidas (229 mg) e re-eluídas em coluna (65 X 1,8 cm) com 30 g de silicagel 60 (0,063 a 0,200 mm) da Merck.

O sistema eluente foi clorofórmio com metanol como gradiente de polaridade, a 2%, 5%, 10%, 12%, 15%, 20% e 100%.

O monitoramento das frações foi realizado com lâmpada ultravioleta a 360 nm. Para os gradientes a 2 e 5% foram utilizados 100 mL do eluente, passando a 600 mL com o gradiente a 10% e porções de 100 mL dos gradientes a 12, 15 e 20 e 100%. Foram obtidas 171 frações, de aproximadamente 7 mL cada.

As frações coletadas foram analisadas por CCD (cromatofolha silicagel 60 F<sub>254</sub> Merck), usando como fase móvel CHCl<sub>3</sub> : MeOH (95:5 e 85:15) , resultando na reunião das frações em grupos:

A: fração 12 a 17, B: 36 a 39, C: 40 a 44, D: 45 a 48, E: 49 a 53, F: 54 a 60, G: 61 a 65, H: 66 a 69, I: 70 a 85.

Foi observado material cristalizado nas frações A, B, E e G.

As frações A e B (obtidas com gradiente a 5%) por apresentarem uma quantidade muito reduzida de material, não despertaram interesse neste momento.

O material cristalizado na fração E foi filtrado em funil com filtro de vidro sinterizado e lavado com clorofórmio gelado, fornecendo 15 mg de um produto amarelado em grumos (DM1).

O material cristalizado na fração G foi também filtrado em funil com filtro de vidro sinterizado e lavado com clorofórmio gelado, fornecendo 17,5 mg de um produto amarelo, em forma de agulhas (DM2). Na Figura 6 temos o Fluxograma do fracionamento da fração diclorometano.

#### 4.4.4 Identificação dos compostos isolados da fração diclorometano:

##### 4.4.4.1 Composto DM1:

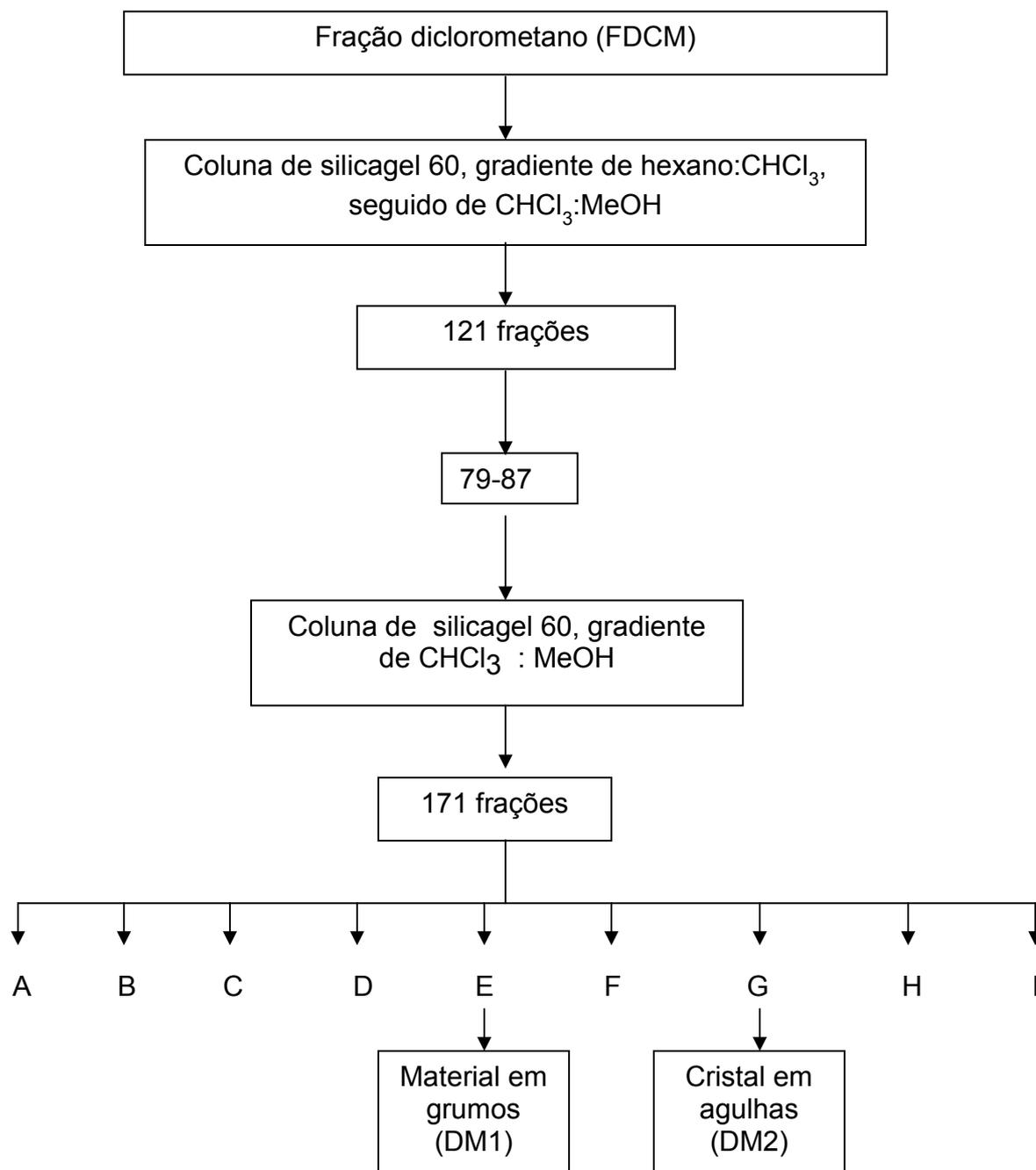
Foram realizadas análises por espectroscopia de <sup>1</sup>H RMN, <sup>13</sup>C RMN e experimento de HMQC em aparelho Varian – INOVA 300 e o COSY em equipamento Brucker – AVANCE 400 para a elucidação da estrutura do composto DM1.

Foi efetuada a hidrólise deste composto, seguida de CCD comparativa com amostras autênticas de açúcares para identificação do açúcar detectado na análise por RMN.

A hidrólise foi realizada com 3 mg do composto DM1 e 20 mL de HCl 10% sob refluxo por 30 minutos. Após este período a solução ácida foi concentrada em evaporador rotatório sob pressão reduzida, utilizando iso-propanol como fator de redução do ponto de ebulição da água. O material resultante foi dissolvido em piridina para ser cromatografado. O sistema de CCD utilizado foi cromatofolha silicagel 60 F<sub>254</sub>, fase móvel CHCl<sub>3</sub>:MeOH (50:50), amostras autênticas de glicose, galactose,

ramnose, xilose, arabinose, rafinose e trehalose e o agente cromogênico foi anisaldeído/ $\text{H}_2\text{SO}_4$  com aquecimento.

FIGURA 6 – FLUXOGRAMA DO FRACIONAMENTO DA FRAÇÃO  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (FDCM)



#### 4.4.4.2. Composto DM2:

Foi preparada uma solução metanólica do composto DM2 com 1 mg/100 mL para a realização da análise de espectrometria no ultravioleta, utilizando os reativos diagnósticos (NaOMe, NaOAc, NaOAc/H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, AlCl<sub>3</sub>, AlCl<sub>3</sub>/HCl) segundo MABRY (1970). Os espectros foram registrados em espectrofotômetro Shimadzu UV 1601, no intervalo entre 200 e 360 nm.

Com o restante do material foi efetuada espectroscopia de <sup>1</sup>H RMN em aparelho Varian – INOVA 300 e hidrólise para identificação do açúcar detectado pelo espectro de RMN.

A hidrólise e análise do composto DM2 foi realizada da mesma forma que para o composto DM1 em relação à porção osídica, porém também foi realizada CCD comparativa da genina com a naringenina.

### 4.5 AVALIAÇÃO DE ATIVIDADE ANTIBACTERIANA

Para a avaliação da atividade antibacteriana foram utilizados o extrato etanólico bruto e as frações diclorometano e acetato de etila das flores de *Acacia podalyriaefolia* A. Cunn.

A metodologia empregada (difusão em disco) foi adaptada de BAUER e colaboradores (1966), utilizando ágar Müller-Hinton e verificando zonas de inibição do crescimento para *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 1228), *Escherichia coli* (ATCC 11229) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), perante os discos de papel impregnados com as amostras do extrato etanólico bruto e as frações diclorometano e acetato de etila, nas concentrações de 1000, 500, 250 e 125 µg/disco.

Os ensaios foram processados em câmara de fluxo laminar, em condições totalmente assépticas.

#### 4.5.1 Preparo do material:

Antes da realização dos ensaios, o material que seria utilizado (incluindo vidrarias, pinças e os discos) foi esterilizado em autoclave a 120°C por 15 minutos.

#### 4.5.2 Preparo das amostras:

O extrato etanólico bruto e as frações diclorometano e acetato de etila foram conduzidas à secura em evaporador rotatório sob pressão reduzida e diluições adequadas com metanol foram efetuadas e adicionadas aos discos de papel filtro esterilizado a fim de se obter as concentrações desejadas de 1000, 500, 250 e 125 µg/disco de cada uma destas amostras testadas. As amostras foram então esterilizadas utilizando membranas filtrantes (Millex ®), com poro de 0,22 µm.

#### 4.5.3 Preparo dos discos:

Foram utilizados discos de papel de 6 mm de diâmetro adquiridos da Neoprov®, os quais foram colocados em placa de Petri estéril, devidamente identificada, e a seguir acrescidos de 20 µL de cada uma das amostras. Também foram impregnados discos com os solventes das amostras, utilizados como controle. Os discos foram deixados sob fluxo laminar até a completa secagem.

#### 4.5.4 Meio de cultura:

Utilizou-se como meio de cultura nos ensaios o ágar Müeller-Hinton (Neoprov ®), disposto em placas de Petri de 15 cm de diâmetro.

#### 4.5.5 Preparo do inóculo:

As cepas bacterianas empregadas foram *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 1228), *Escherichia coli* (ATCC 11229) e

*Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), adquiridas da Neoprov® em discos liofilizados.

Segundo recomendações do fabricante (Neoprov®), na reconstituição destas cepas foi utilizado um disco liofilizado de cada microorganismo, os quais foram colocados em meio TSB e incubados em estufa a 35°C por uma noite (aproximadamente 15 horas). No dia seguinte, verificado o desenvolvimento microbiano uniforme, houve o repique em meio ágar Müller-Hinton, com auxílio de alça estéril e, então, incubado a 35°C por 24 horas, para que na realização dos ensaios os microorganismos estivessem na fase logarítmica de crescimento.

Para o preparo dos inóculos foram retiradas colônias isoladas de cada um dos microorganismos, com auxílio de alça e em câmara de fluxo laminar, as quais foram suspensas com 10 mL de solução salina estéril, em tubos de ensaio. Colônias das cepas foram acrescentadas até adequar-se a turbidez das suspensões bacterianas com a apresentada pelo tubo número 5 da escala Mac Farland (0,5 mL de BaCl<sub>2</sub> a 1% e 9,5 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a 1%), correspondente a 1,5 x 10<sup>9</sup> microorganismos/mL (BIER, 1990).

#### 4.5.6 Teste de atividade antibacteriana:

A partir dos inóculos preparados, em câmara de fluxo laminar, mergulhou-se um Swab estéril na suspensão bacteriana, retirando-se o excesso de líquido ao se pressionar o Swab contra as paredes internas do tubo de ensaio e, em seguida, este foi esfregado em várias direções na placa de Petri com o meio ágar Müller-Hinton até a cobertura de toda a placa. Este procedimento foi realizado para cada uma das suspensões bacterianas.

Cada uma das placas assim preparadas recebeu 6 discos de papel: um disco com cada material nas concentrações averiguadas (1000, 500, 250 e 125 µg), um disco com cloranfenicol 30µg (Neoprov®) e um disco com o solvente da fração .

Os testes foram realizados em triplicata para cada um dos microorganismos e as placas foram incubadas a 35°C durante 24 horas. Após este período, as placas foram verificadas e os resultados registrados.

#### 4.5.7 Controles:

Como controles dos ensaios foram realizadas avaliações da esterilidade do meio, dos discos (contendo ou não as amostras e os solventes), ausência da inibição do crescimento bacteriano pelos solventes das amostras e discos de cloranfenicol 30 µg (controle positivo).

#### 4.6 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ALELOPÁTICA

Para avaliação da atividade alelopática foram utilizados o extrato etanólico bruto e as frações diclorometano e acetato de etila, obtidos das flores de *Acacia podalyriaefolia* A. Cunn..

A metodologia utilizada foi a de verificação de ocorrência de efeitos inibitórios ou estimulantes na germinação e no crescimento de *Lactuca sativa* (alface), frente ao extrato e frações avaliadas, adaptado de MALHEIROS e PERES (2001).

##### 4.6.1 Preparo das amostras:

As sementes utilizadas na avaliação da germinação e do crescimento foram de *Lactuca sativa*, classe fiscalizada, cultivar Babá. Esta espécie foi escolhida como amostra nos bio-testes por ser amplamente citada na literatura e apresentar características apropriadas: maior sensibilidade aos efeitos alelopáticos das plantas, ser facilmente encontrada, requerer pequeno período para a germinação e para o crescimento, não precisar de foto-período, possuir umidade e temperatura de germinação e crescimento bem definidas, a radícula da plântula apresentar um eixo único o que facilita a leitura do crescimento, além do tamanho da semente ser considerado mais uniforme (CARBALLEIRA; REIGOSA, 1999; FERREIRA; ÁQUILA, 2000).

O extrato etanólico bruto e as frações diclorometano e acetato de etila foram diluídos de forma a obter soluções com 0,025, 0,050, 0,100, 0,200 e 0,400 mg em 5

mL de metanol. As amostras foram preparadas em duplicata para as avaliações de germinação e de crescimento das sementes de *Lactuca sativa*.

#### 4.6.2 Preparo do material:

As caixas Gerbox utilizadas nos ensaios foram previamente lavadas, passadas em solução de hipoclorito diluída e enxaguadas com água.

Dentro das caixas Gerbox foram colocadas folhas de papel Whatman número 6, as quais foram embebidas com 5 mL de cada amostra previamente preparada, de forma que os papéis de filtro dentro das caixas Gerbox contivessem 0,025, 0,050, 0,100, 0,200 e 0,400 mg de cada extrativo. Estas caixas Gerbox foram deixadas em estufa a 40°C por 24 horas para a evaporação total dos solventes e, após este período, foram adicionados 3 mL de água destilada e distribuídas 40 sementes de *L. sativa* em cada uma, em 4 repetições consecutivas de 10 sementes. Este material foi utilizado nos testes de germinação e de crescimento. Foram também realizados ensaios controle, nas mesmas condições de ambiente que para os experimentos, utilizando-se apenas água e sementes.

#### 4.6.3 Teste da germinação:

Neste teste foi avaliado o efeito do extrato etanólico bruto e suas frações sobre a germinação das sementes.

O material preparado e os controles foram colocados no germinador Mangelsdorf (Biomatic) com limites de temperatura entre 20,5 e 23°C.

Na verificação da germinação, as sementes foram contabilizadas e retiradas aquelas que germinaram. Este procedimento foi realizado diariamente, sempre no mesmo horário, durante 6 dias, dentro de câmara de fluxo laminar para impedir contaminação com microorganismos. Os resultados obtidos foram comparados com aqueles apresentados pelo controle.

#### 4.6.4 Teste do crescimento:

Neste teste foi avaliado o efeito que o extrato etanólico bruto e suas frações apresentaram sobre o crescimento da radícula e do caulículo (hipocótilo) da plântula.

Os materiais foram processados de modo similar ao do teste da germinação, sendo que somente após o 6º dia de incubação é que as amostras foram analisadas e os resultados comparados com os obtidos para o controle. Foram avaliados os comprimentos da radícula (que origina a raiz) e o do hipocótilo (que origina o caule), utilizando papel milimetrado.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 TEOR DE SÓLIDOS NO EXTRATO ETANÓLICO BRUTO E NAS FRAÇÕES

Do particionamento do extrato etanólico bruto (EEB) resultaram as frações hexânica, diclorometano e acetato de etila.

A Tabela 2 relaciona o teor de sólidos do extrato etanólico bruto e das frações obtidas das flores de *Acacia podalyriaefolia* A. Cunn.

TABELA 2 – TEOR DE SÓLIDOS NA PARTIÇÃO DO EXTRATO ETANÓLICO BRUTO DAS FLORES DE *Acacia podalyriaefolia* A. CUNN.

<b>Extrato/fração</b>	<b>Massa obtida (g)</b>	<b>Rendimento (%) em relação à massa das flores secas (300 g)</b>
Extrato etanólico bruto	51,54	17,18
Fração hexânica	0,90	0,30
Fração diclorometano	7,20	2,40
Fração acetato de etila	22,20	7,40

### 5.2 PESQUISA DE GRUPAMENTOS FITOQUÍMICOS NOS EXTRATOS E FRAÇÕES

Os resultados para a pesquisa de grupamentos fitoquímicos estão apresentados na Tabela 3.

TABELA 3 – RESULTADOS DA ANÁLISE FITOQUÍMICA DO EXTRATO ETANÓLICO BRUTO E DAS FRAÇÕES HEXÂNICA, DICLOROMETANO E ACETATO DE ETILA, OBTIDAS DAS FLORES DE *Acacia podalyriaefolia* A. CUNN.

GRUPO FITOQUÍMICO	EEB <sup>a</sup>	FH <sup>b</sup>	FDCM <sup>c</sup>	FAE <sup>d</sup>
Alcalóides	negativo	negativo	negativo	negativo
Compostos fenólicos	positivo	negativo	positivo	positivo
Flavonóides	positivo	negativo	positivo	positivo
Cumarinas	negativo	negativo	negativo	negativo
Quinonas	negativo	negativo	negativo	negativo
Esteróides	negativo	positivo	negativo	negativo
Triterpenóides	negativo	positivo	negativo	negativo
Saponinas	negativo	negativo	negativo	negativo
Taninos	negativo	negativo	negativo	negativo

<sup>a</sup> Extrato Etanólico Bruto; <sup>b</sup> Fração Hexânica; <sup>c</sup> Fração Diclorometano; <sup>d</sup> Fração Acetato de Etila.

### 5.3 IDENTIFICAÇÃO DAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS DA FRAÇÃO DICLOROMETANO

#### 5.3.1 Identificação do composto DM1:

O composto DM1 foi submetido à espectroscopia de <sup>1</sup>H RMN (Figura 8), <sup>13</sup>C RMN (Figura 9), COSY (Figura 10) e HMQC (Figura 11).

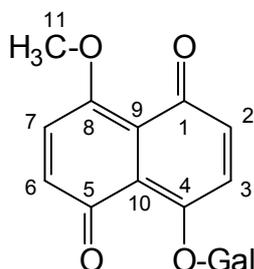
A análise do espectro de <sup>1</sup>H RMN indica a presença de açúcar evidenciado pelo sinal a 5,68 ppm (1H, d, J = 8,06 Hz, H1'), os dois sinais a 3,85 ppm (1H, dd, J = 12,58 e 1,23 Hz, H6 $\beta$ ) e 3,69 ppm (1H, dd, J = 12,58; 4,52 Hz, H6 $\alpha$ ) e o congestionamento na região entre 3,40 e 3,52 ppm. Também fica evidenciada a presença de um grupamento metoxila através do singlete com integração para 3 hidrogênios a 3,87 ppm. A hidrólise da substância seguida por CCD comparativa com amostras autênticas de diferentes açúcares identificou a porção osídica da substância como sendo a galactose. A presença de sinais de carbono quaternário a  $\delta$  166,55 e 166,58 ppm no espectro de <sup>13</sup>C RMN indicou a presença de duas carbonilas. Na substância estudada a galactose e a metoxila já identificadas somam 7 carbonos. O espectro de <sup>13</sup>C RMN contabiliza um total de 17 carbonos o que indica uma estrutura

anelar central de 10 carbonos, possivelmente derivada do naftaleno. Os sinais na região aromática do espectro de  $^1\text{H}$  RMN a 7,00 ppm e a 8,04 ppm têm integração para dois hidrogênios cada. A constante de acoplamento de 9,03 Hz para ambos os sinais indicam acoplamento em *orto*. As duas carbonilas, os quatro hidrogênios aromáticos, os substituintes metoxila e galactosila e os dez carbonos encontrados para a estrutura anelar central da substância indicam tratar-se de uma naftoquinona metoxilada e galactosilada.

Uma estrutura 1,2 naftoquinona é descartada pela presença de sinais idênticos para dois hidrogênios aromáticos e dois carbonos correspondentes, duas vezes (sinais a 7,00 e 8,04 ppm conectados com os sinais a 114,86 e 133,11 ppm – HMQC, respectivamente); uma estrutura 1,4 naftoquinona, embora pudesse possuir os sinais de hidrogênio aromático, idênticos dois a dois, acompanhados dos respectivos carbonos, possivelmente não possuiria acoplamentos idênticos. A presença de COSY entre os sinais de prótons aromáticos é determinante na elucidação da estrutura como 1,5 naftoquinona, a mais simétrica possível.

Desta forma, os dados de  $^1\text{H}$  RMN,  $^{13}\text{C}$  RMN, COSY, HMQC e a hidrólise seguida de CCD comparativa com amostras autênticas de açúcares nos permitem propor a substância 4- $\beta$ -D-galactosil-8-metóxi-1,5-naftoquinona (Figura 7) para o composto DM1. Não foram encontrados dados na literatura para este composto, tratando-se, portanto de substância inédita.

FIGURA 7 – ESTRUTURA QUÍMICA DE 4- $\beta$ -D-GALACTOSIL-8-METÓXI-1,5-NAFTOQUINONA



A Tabela 4 apresenta os dados espectrais de  $^1\text{H}$  RMN e  $^{13}\text{C}$  RMN para o composto DM1.

TABELA 4 - DADOS ESPECTRAIS DE  $^1\text{H}$  RMN E  $^{13}\text{C}$  RMN DO COMPOSTO DM1

Posição	$^1\text{H}$ RMN ( $\delta$ ppm)	J (Hz)	$^{13}\text{C}$ RMN ( $\delta$ ppm)
1	_____		166,55 ou 166,58
2	8,04 d	9,03	133,11
3	7,00 d	9,03	114,86
4	_____		134,74
5	_____		166,55 ou 165,58
6	8,04 d	9,03	133,11
7	7,00 d	9,03	114,86
8	_____		130,80
9	_____		122,83
10	_____		129,63
11	3,87 (3H) s		56,58
1'	5,68 d	8,06	96,04
2'	3,40-3,52 m		74,04
3'	3,40-3,52 m		78,07
4'	3,40-3,52 m		71,04
5'	3,40-3,52 m		78,85
6' $\alpha$	3,69 dd	12,58; 4,52	62,29
6' $\beta$	3,85 dd	12,58; 1,23	62,29

FIGURA 8 - ESPECTRO DE  $^1\text{H}$  RMN DO COMPOSTO DM1 EM METANOL (300MHz)

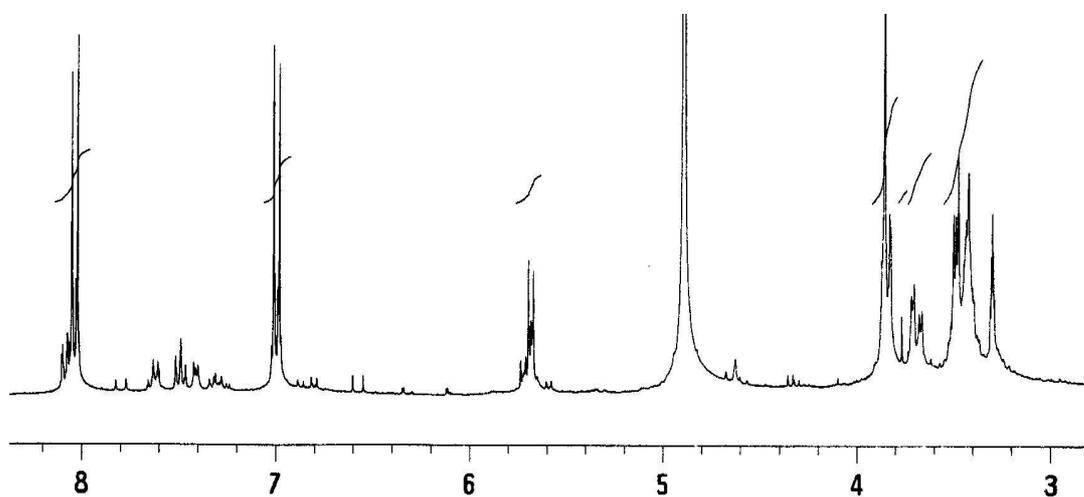


FIGURA 9 - ESPECTRO DE  $^{13}\text{C}$  RMN DO COMPOSTO DM1 EM METANOL (75 MHz)

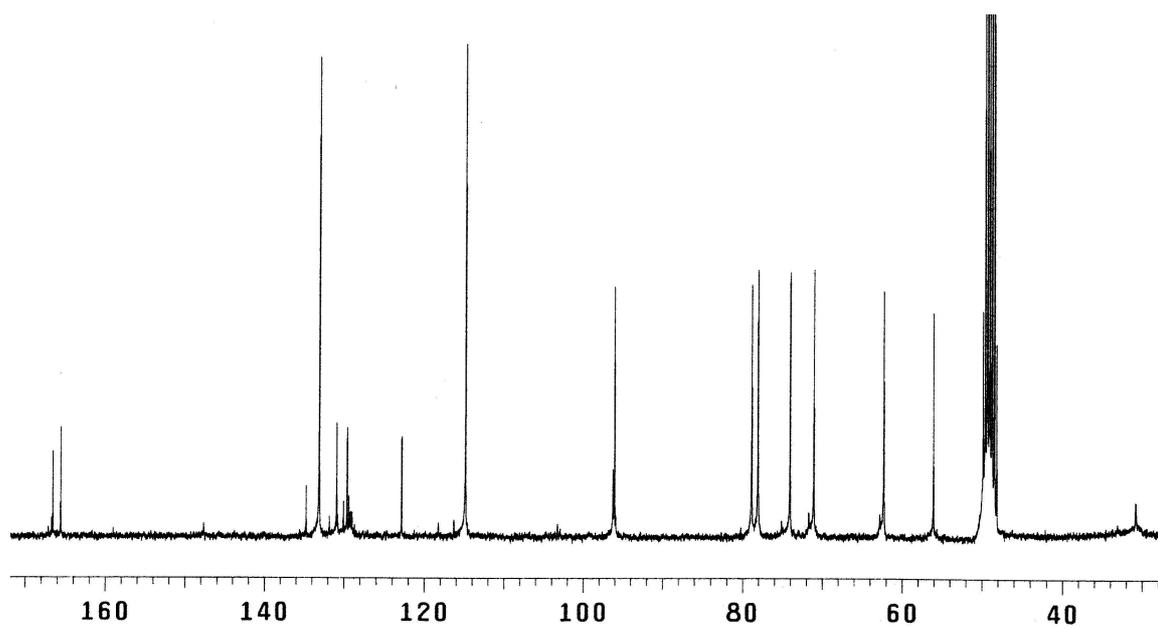


FIGURA 10- ESPECTRO DE COSY DO COMPOSTO DM1 EM METANOL (400MHz)

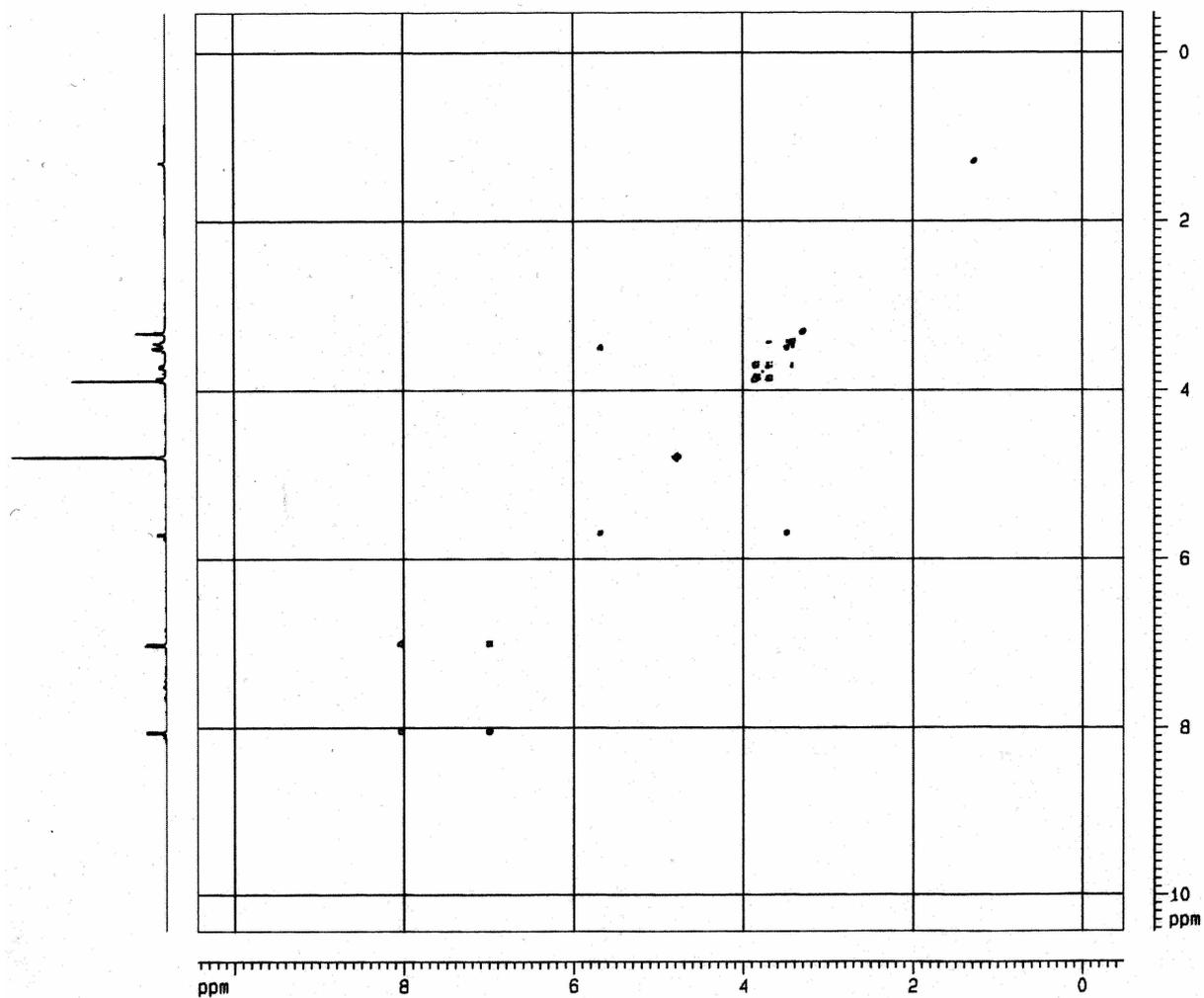
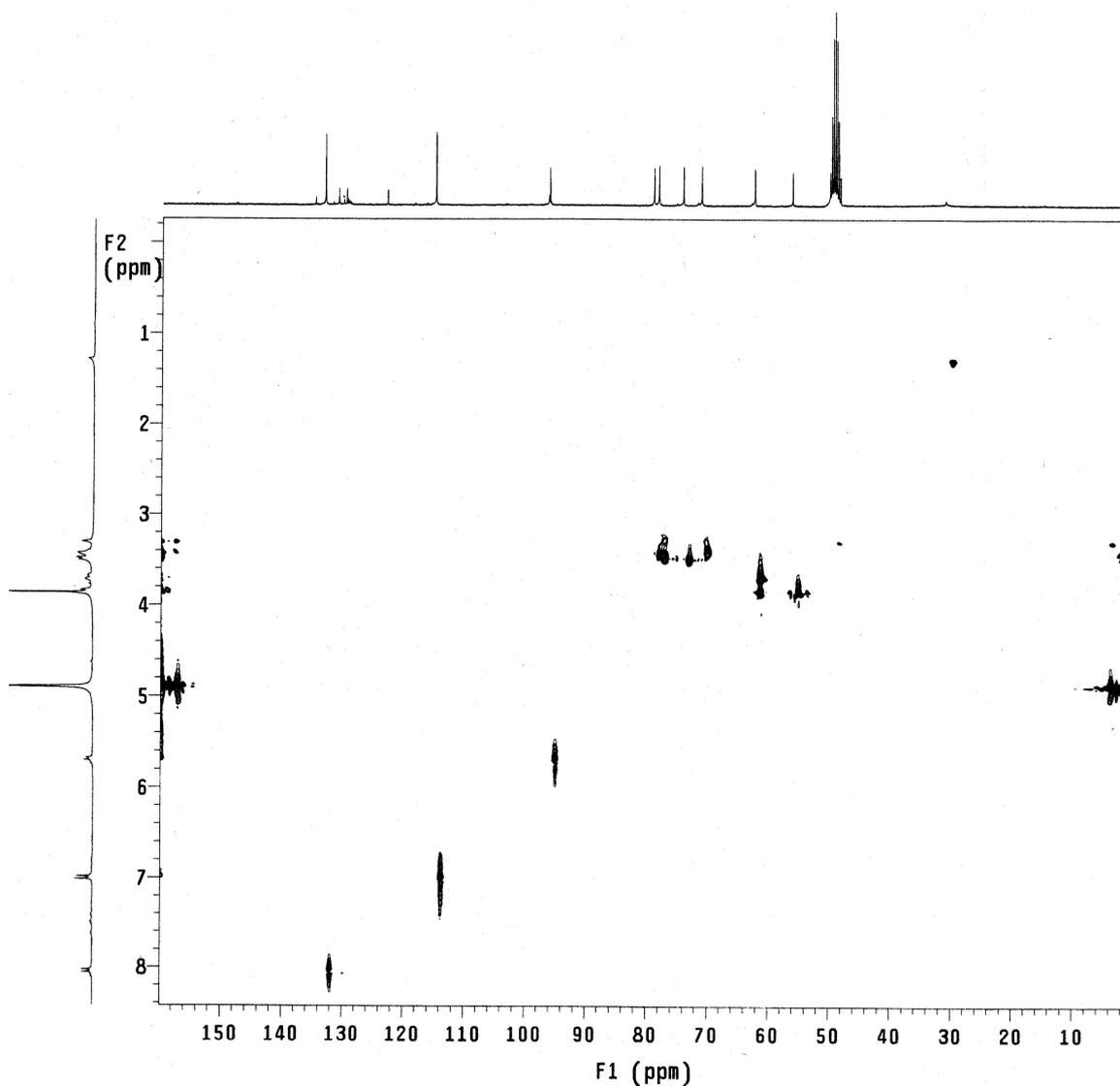


FIGURA 11 - ESPECTRO DE HMQC DO COMPOSTO DM1



### 5.3.2 Identificação do composto DM2 :

A observação de um máximo de absorvância a 283 nm com um ombro a 320 nm no espectro de UV da solução metanólica indica a presença de flavonóide do tipo flavanona.

O deslocamento batocrômico de 42 nm observado pela adição de metóxido de sódio à solução metanólica indica a presença de hidroxila livre na posição 7. Isto se confirma pelo deslocamento batocrômico de 42 nm na banda II, provocado pela

adição de acetato de sódio à solução metanólica. Com a adição de ácido bórico à solução contendo acetato de sódio foi verificado que o espectro retornou à posição original, caracterizando a ausência de grupamentos *orto*-di-hidróxi e/ou hidroxilas livres no C5. A adição de cloreto de alumínio à solução metanólica não provocou deslocamento do espectro, confirmando a ausência de grupamentos *orto*-di-hidróxi ou hidroxila livre em C5 (MABRY, 1970).

A Figura 12 apresenta os espectros de UV em MeOH e com adição de NaOMe para o composto DM2. Os espectros obtidos com a adição de NaOAc à solução metanólica do DM2 e após acrescentar o H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> estão demonstrados na Figura 13. A Figura 14 apresenta os espectros obtidos com a adição de AlCl<sub>3</sub> à solução metanólica do DM2 e com o acréscimo de HCl.

A Tabela 5 descreve os máximos de absorbância visualizados para a solução metanólica do composto DM2 e para os reativos diagnósticos, segundo MABRY (1970).

TABELA 5 – PRINCIPAIS COMPRIMENTOS DE ONDA ( $\lambda$ ) NO ESPECTRO DE UV PARA O COMPOSTO DM2

Reagente	$\lambda$ nm (log $\epsilon$ )
MeOH	225 (4,35), 283 (4,11), 320 (3,78)
NaOMe	249 (4,02), 325 (4,31)
AlCl <sub>3</sub>	226 (4,36), 283 (4,15), 320 (3,83)
AlCl <sub>3</sub> / HCl	226 (4,34), 283 (4,11), 320 (3,81)
NaOAc	252 (4,02), 325 (4,31)
NaOAc / H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	283 (4,15), 321 (3,88)

FIGURA 12 – ESPECTRO DE UV DO COMPOSTO DM2 COM MeOH; NaOMe

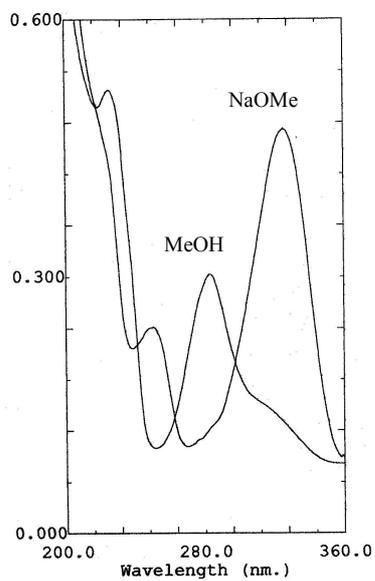


FIGURA 13 – ESPECTRO DE UV DO COMPOSTO DM2 COM NaOAc: NaOAc/H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>

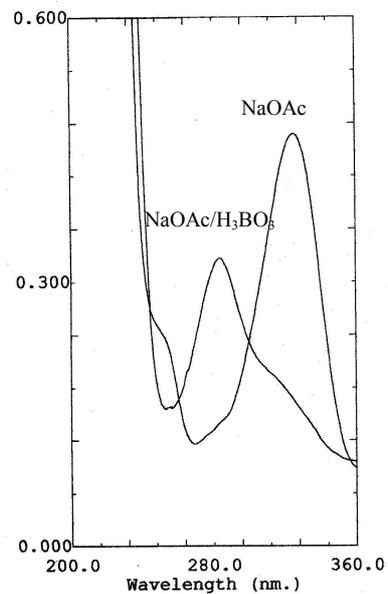
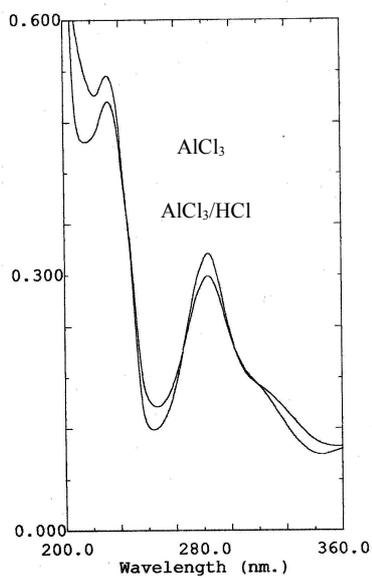


FIGURA 14 – ESPECTRO DE UV DO COMPOSTO DM2 COM AlCl<sub>3</sub>; AlCl<sub>3</sub>/HCl



A presença de uma flavanona indicada pelo espectro de UV é confirmada pelos sinais a 5,29 ppm (1H, dd, J = 2,7 Hz, 3 $\alpha$ ; 12,7 Hz, 3 $\beta$ ; H2 $\alpha$ ); 2,96 ppm (1H, dd, J = 12,7 Hz, 2 $\alpha$ ; 17,3 Hz, 3 $\alpha$ ; H3 $\beta$ ) e 2,66 ppm (1H, dd, J = 12,7 Hz, 2 $\alpha$ ; 17,3 Hz, 3 $\beta$ ; H3 $\alpha$ ).

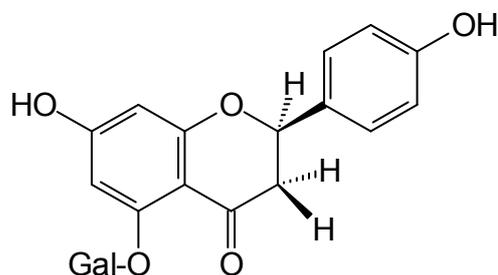
SILVERSTEIN e colaboradores (1991) afirmam que à constante de acoplamento J = 12,7 Hz, verificada entre o H2 $\alpha$  e o H3 $\beta$ , corresponde um ângulo de diedro de 180° e ao J = 2,7 Hz, observada entre o H2 $\alpha$  e o H3 $\alpha$ , corresponde um ângulo de diedro de 55°, de acordo com a correlação de Karplus. Estas correlações associadas ao uso de modelos moleculares permitem indicar que o anel aromático mono-substituído está em posição  $\beta$  em relação ao plano do núcleo  $\gamma$ -pirona.

Os sinais a 6,45 ppm (1 H, d, J = 2,1 Hz, H8) e 6,10 ppm (1H, d, J = 2,1 Hz, H6) indicam acoplamento em *meta* no anel A (H6/H8), com as posições 5 e 7 substituídas, em conformidade com o dado de UV que demonstra hidroxila em C7 livre, porém o UV não indica a presença de hidroxila livre em C5, através da ausência de deslocamento pela adição de cloreto de alumínio. Os sinais a 4,75 ppm (1H, d, J = 7,3 Hz, H1''); 3,94 ppm (1H, d, J = 11,9 Hz, H6'' $\beta$ ); 3,72 ppm (1H, dd, J = 5,0; 11,9 Hz, H6'' $\alpha$ ) e o congestionamento na região entre 3,4 e 3,6 ppm indicam a presença de açúcar, que pode estar ligado ao C5 do anel A.

Os sinais a 7,28 ppm (2H, dd, J = 8,75 Hz; 1,9 Hz, H2', 6') e 6,79 ppm (2H, dd, J = 8,75 Hz; 1,1 Hz, H3', 5') indicam *para* substituição no anel B.

Considerando os dados dos espectros de UV, de  $^1\text{H}$  RMN e a hidrólise, do composto DM2 propõe-se que o mesmo seja a 5- $\beta$ -D-galactosil-naringenina (Figura 15), apresentando ponto de fusão de 172-173°C. A presença deste composto ainda não havia sido mencionada em *Acacia podalyriaefolia* A. Cunn, mas sua presença já fora relatada nas flores de *Acacia longifolia* (SILVA, 2001).

FIGURA 15 - ESTRUTURA QUÍMICA DE 5-β-D-GALACTOSIL-NARINGENINA

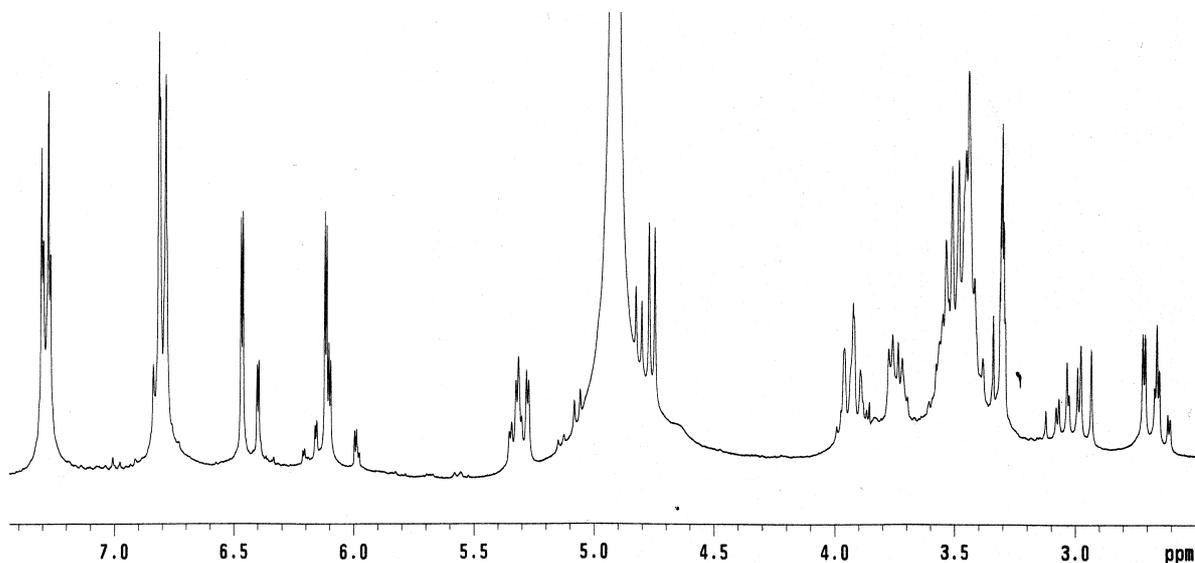


A Tabela 6 apresenta os dados espectrais e na Figura 16 encontra-se relacionado o espectro de  $^1\text{H}$  RMN do composto DM2.

TABELA 6 - DADOS ESPECTRAIS DE  $^1\text{H}$  RMN DO COMPOSTO DM2

Posição	$\delta$ (ppm)	J (Hz) [H acoplado-nº]
2 $\alpha$	5,29 dd	2,70 [3 $\alpha$ ], 12,70 [3 $\beta$ ]
3 $\alpha$	2,66 dd	2,70 [H2], 17,30 [3 $\beta$ ]
3 $\beta$	2,96 dd	12,70 [H2], 17,30 [3 $\alpha$ ]
6	6,10 d	2,10
8	6,45 d	2,10
2'	7,28 dd	8,75 [H3'], 1,90 [H6']
3'	6,79 dd	8,75 [H2'], 1,10 [H5']
5'	6,79 dd	8,75 [H6'], 1,10 [H3']
6'	7,28 dd	8,75 [H5'], 1,90 [H6']
1''	4,75 d	7,30
2''	3,40-3,60 m	
3''	3,40-3,60 m	
4''	3,40-3,60 m	
5''	3,40-3,60 m	
6'' $\alpha$	3,72 dd	11,90 [6'' $\beta$ ], 5,0
6'' $\beta$	3,94 d	11,90[6 $\alpha$ ]

FIGURA 16 - ESPECTRO DE  $^1\text{H}$  RMN DO COMPOSTO DM2 EM METANOL (300 MHz)



#### 5.4 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA

Após a incubação em estufa por 24 horas a 35°C as placas inoculadas e os controles foram avaliados.

A sensibilidade dos microorganismos contra o cloranfenicol (controle positivo) está descrita na Tabela 7. O cloranfenicol foi escolhido como controle positivo devido a sua disponibilidade no laboratório além de três das cepas testadas apresentarem-se sensíveis a este antimicrobiano (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* e *Escherichia coli*) e uma cepa demonstrar sensibilidade intermediária (*Pseudomonas aeruginosa*), de acordo com os parâmetros estabelecidos por BIER (1990).

Foram observadas zonas de inibição para as cepas gram-positivas de *S. epidermidis* e *S. aureus* em graus variáveis dependendo da concentração e do extrato ou fração avaliados, conforme pode ser averiguado nas Tabela 7 e nas Figuras 18, 19 e 20. Nas concentrações averiguadas, não houve inibição para as cepas gram-negativas de *E. coli* e *P. aeruginosa*.

Para o extrato etanólico bruto (EEB) foram verificadas zonas de inibição para *S. epidermidis* nas concentrações de 1000  $\mu\text{g}/\text{disco}$  (21 mm) e de 500  $\mu\text{g}/\text{disco}$  (15mm). Para *S. aureus* houve inibição de crescimento (9 mm) com 1000  $\mu\text{g}/\text{disco}$ .

Empregando discos de 1000  $\mu\text{g}$  com a fração diclorometano (FDCM) foi observada zona de inibição de 10 mm para *S. epidermidis*. Porém, para *S. aureus* não foi verificada inibição de crescimento nas concentrações avaliadas.

Com a fração acetato de etila (FAE) foram observadas zonas de inibição de crescimento para *S. epidermidis* em todas as concentrações avaliadas (24, 20, 16 e 7 mm com 1000, 500 250 e 125  $\mu\text{g}/\text{disco}$  respectivamente) e para *S. aureus* nas concentrações de 1000 (13 mm) e 500 (11 mm)  $\mu\text{g}/\text{disco}$ .

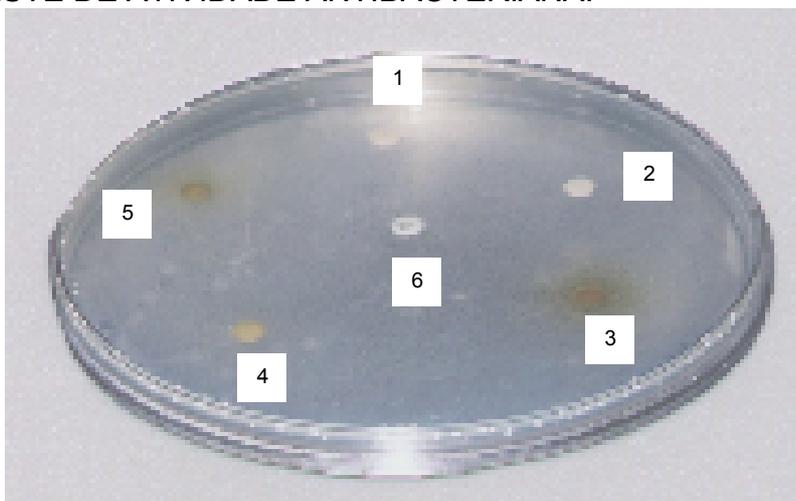
TABELA 7 – RESULTADOS DO TESTE DE ATIVIDADE ANTIBACTERIANA

Amostra		Microorganismo			
Amostra testada	Concentração/disco (µg)	<i>S. aureus</i> ATCC 6538	<i>S. epidermidis</i> ATCC 1228	<i>E. coli</i> ATCC 11229	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853
EEB <sup>b</sup>	1000	9	21	0	0
	500	0	15	0	0
	250	0	0	0	0
	125	0	0	0	0
FDCM <sup>c</sup>	1000	0	10	0	0
	500	0	0	0	0
	250	0	0	0	0
	125	0	0	0	0
FAE <sup>d</sup>	1000	13	24	0	0
	500	11	20	0	0
	250	0	16	0	0
	125	0	7	0	0
CLO <sup>e</sup>	30	33	40	32	17

<sup>a</sup> zona de inibição do crescimento microbiano em mm; <sup>b</sup> extrato etanólico bruto; <sup>c</sup> fração diclorometano;

<sup>d</sup> fração acetato de etila; <sup>e</sup> cloranfenicol (controle positivo)

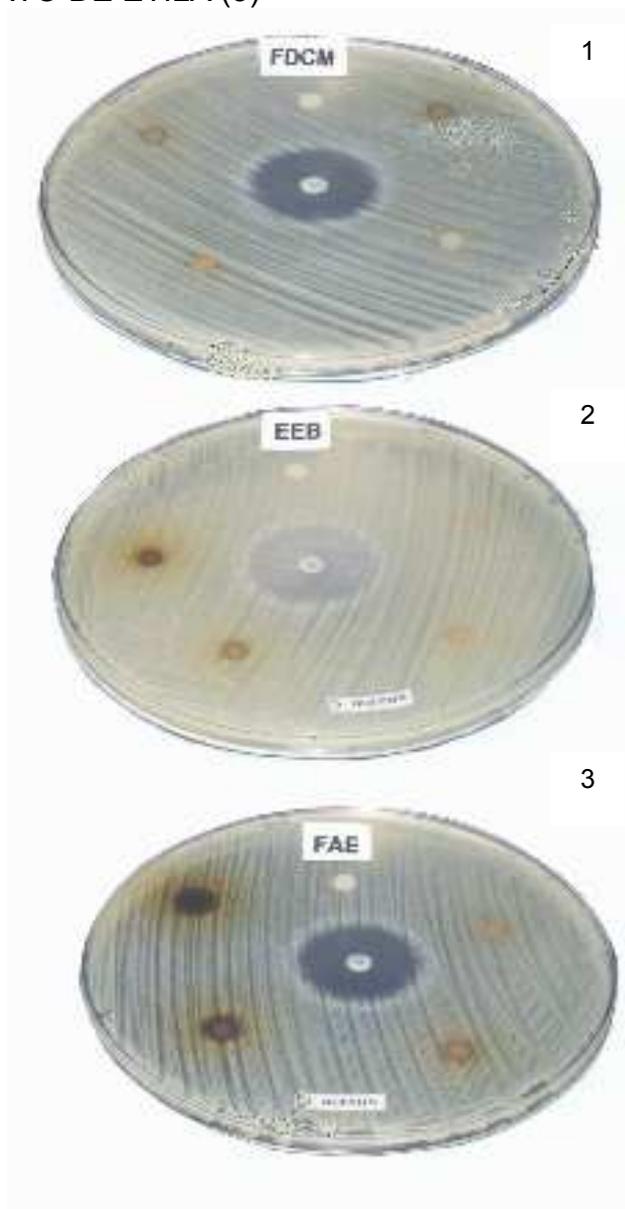
FIGURA 17 – CONTROLE DE ESTERILIDADE DO MATERIAL UTILIZADO NO TESTE DE ATIVIDADE ANTIBACTERIANA.



Nota: Na placa com o meio ágar Müller-Hinton foram adicionados discos impregnados com o solvente (1), somente o disco (2), extrato etanólico bruto (3), fração diclorometano (4), fração acetato de etila (5) e cloranfenicol 30  $\mu\text{g}$  (6).

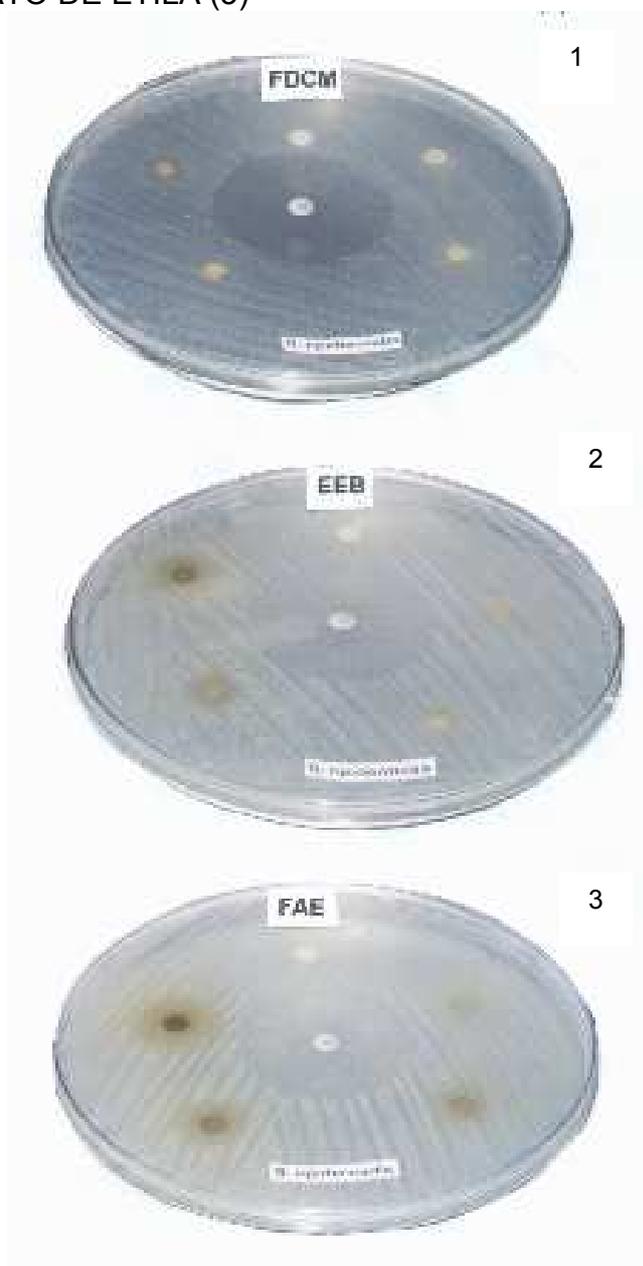
A esterilidade do meio, dos discos, do extrato e das frações avaliadas foi comprovada pela ausência de desenvolvimento microbiano após incubação por 24 horas a 35°C (Figura 17).

FIGURA 18 – PLACAS INOCULADAS COM *Staphylococcus aureus* CONTENDO DISCOS IMPREGNADOS COM A FRAÇÃO DICLOROMETANO (1), COM O EXTRATO ETANÓLICO BRUTO (2) E COM A FRAÇÃO ACETATO DE ETILA (3)



Nota: Em sentido horário: discos com o solvente, as amostras nas concentrações de 125, 250, 500 e 1000 µg e, ao centro, cloranfenicol 30 µg.

FIGURA 19 – PLACAS INOCULADAS COM *Staphylococcus epidermidis* CONTENDO DISCOS IMPREGNADOS COM A FRAÇÃO DICLOROMETANO (1), COM O EXTRATO ETANÓLICO BRUTO (2) E COM A FRAÇÃO ACETATO DE ETILA (3)



Nota: Em sentido horário: discos com o solvente, as amostras nas concentrações de 125, 250, 500 e 1000 µg e, ao centro, cloranfenicol 30 µg.

FIGURA 20 – PLACAS INOCULADAS COM *Escherichia coli* (1) e *Pseudomonas aeruginosa* (2), NÃO APRESENTANDO ZONAS DE INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO.



Nota: Em sentido horário: discos com o solvente, as amostras nas concentrações de 125, 250, 500 e 1000  $\mu\text{g}$  e, ao centro, cloranfenicol 30  $\mu\text{g}$ .

As cepas bacterianas que se apresentaram sensíveis aos extrativos testados tem como similaridade o fato de serem gram-positivas.

A fração acetato de etila foi a mais ativa, possuindo em sua composição química majoritária substâncias fenólicas do tipo flavonóides, para os quais tem sido relatada atividade antibacteriana (EVANS, 1992; HARBORNE, 1999; ZUANAZZI, 2001), como já foi verificado em extratos alcoólicos de *Acacia nilotica*, nos quais compostos flavonoídicos foram considerados responsáveis pela ação antimicrobiana observada (KHAN *et al.*, 1980).

## 5.5 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ALELOPÁTICA

### 5.5.1 Teste de germinação:

Este ensaio objetivou a verificação da interferência do extrato etanólico bruto e das frações diclorometano e acetato de etila, nas quantidades de 0,025, 0,050, 0,100, 0,200 e 0,400 mg/caixa, na germinação das sementes de *Lactuca sativa* (alface) variedade Babá.

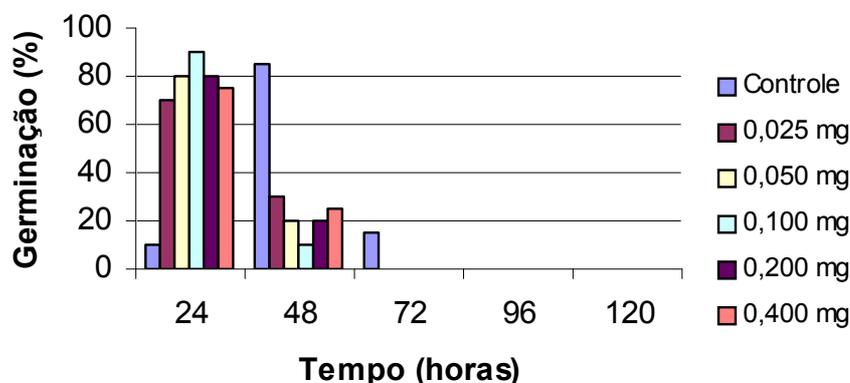
Quando as sementes foram submetidas ao teste de germinação com os respectivos extratos e frações observou-se predominância de germinação já nas primeiras 24 horas de incubação, enquanto que 85% das sementes do controle germinaram com 48 horas de incubação.

A Figura 21 apresenta a caixa Gerbox com o controle, no 6º dia de germinação, contendo as plântulas que se desenvolveram a partir das 40 sementes de *Lactuca sativa*.

FIGURA 21 – CAIXAS GERBOX CONTENDO AS 40 SEMENTES DE *Lactuca sativa*, NO 6º DIA DE GERMINAÇÃO (CONTROLE).

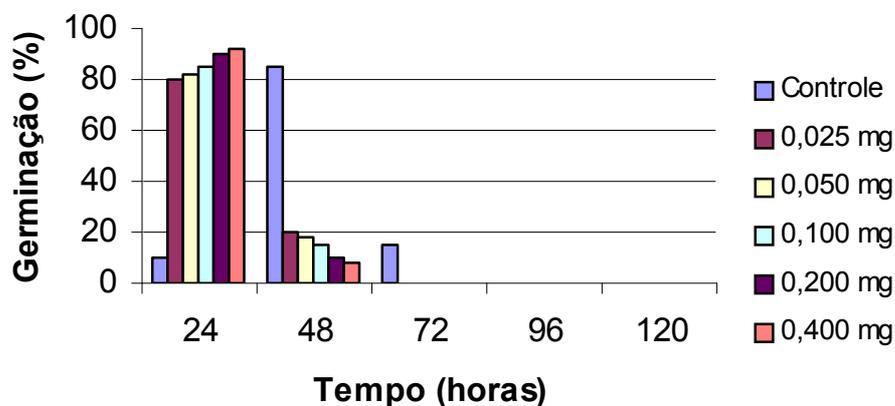


FIGURA 22 – AVALIAÇÃO DA GERMINAÇÃO DE *Lactuca sativa* FRENTE AO EXTRATO ETANÓLICO BRUTO, OBTIDO DAS FLORES DE *Acacia podalyriaefolia*



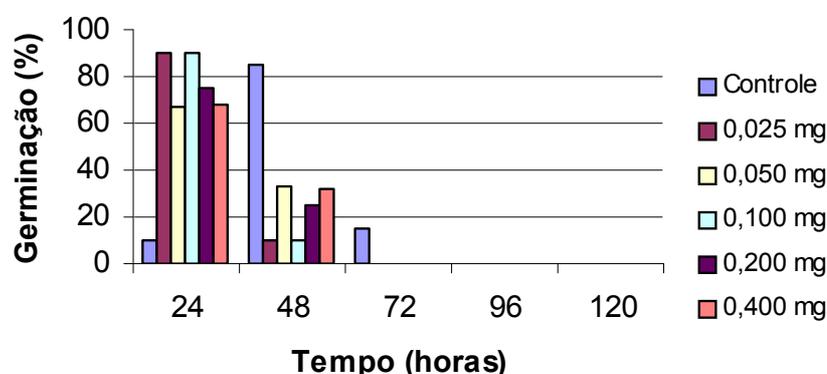
Através do gráfico exposto na Figura 22, pode-se afirmar que houve um aceleração da germinação nas primeiras 24 horas de incubação em substrato com o extrato etanólico bruto, resultando na germinação de 70-92% das sementes dentro das caixas Gerbox com os substratos nas concentrações avaliadas, diferindo do controle quando somente 10% das sementes germinaram nas primeiras 24 horas. Consecutivamente, não houve formação de folíolos nas sementes que germinaram com este substrato, portanto este ensaio de germinação gerou exemplares sem capacidade de auto-sustentabilidade.

FIGURA 23 – AVALIAÇÃO DA GERMINAÇÃO DE *Lactuca sativa* FRENTE À FRAÇÃO DICLOROMETANO, OBTIDA DAS FLORES DE *Acacia podalyriaefolia*



Analisando os dados apresentados na Figura 23, verifica-se que houve aceleração da germinação nas primeiras 24 horas de incubação em substrato com a fração diclorometano, resultando na germinação de 80 a 92% das sementes dentro das caixas Gerbox contendo as quantidades dos substratos avaliados, enquanto que neste período somente 10% das sementes do controle germinaram. As sementes germinadas neste substrato também não apresentaram folíolos, portanto sendo estas incapazes de realizar a fotossíntese quando acabam os nutrientes na semente.

FIGURA 24 – AVALIAÇÃO DA GERMINAÇÃO DE *Lactuca sativa* FRENTE À FRAÇÃO ACETATO DE ETILA, OBTIDA DAS FLORES DE *Acacia podalyriaefolia*



Na Figura 24, observa-se um aceleração da germinação nas primeiras 24 horas de incubação naquelas sementes submetidas a substrato com a fração acetato de etila, resultando na germinação de 67 a 89% das sementes dentro das caixas Gerbox contendo as quantidades de substrato avaliadas, diferindo do controle quando somente 10% das sementes germinaram nas primeiras 24 horas. Também não houve desenvolvimento de folíolos nas sementes germinadas com este substrato, inviabilizando a sobrevivência da plântula.

Considerando que as sementes são elementos de reprodução e de reserva e a germinação sendo entendida como a capacidade da semente produzir uma plântula, que possa originar uma planta normal (MIGUEL, 2000), o estímulo verificado na germinação de *Lactuca sativa* poderá impossibilitar o seu pleno desenvolvimento, devido a ausência de folíolos nas plântulas observadas. Não havendo folíolos a

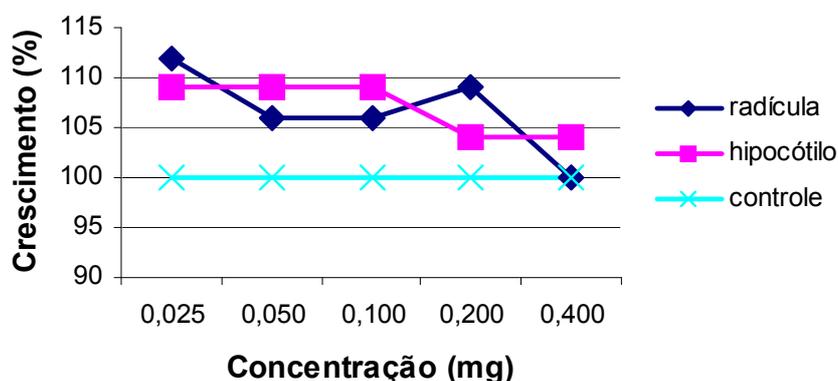
plântula não poderá realizar a fotossíntese, portanto ela não tem condições de se manter após o consumo dos nutrientes na semente.

### 5.5.2 Teste do crescimento:

Este ensaio objetivou a verificação do crescimento da radícula e do hipocótilo (caulículo) de *Lactuca sativa* quando submetida ao extrato etanólico bruto e às frações diclorometano e acetato de etila, nas respectivas quantidades de 0,025, 0,050, 0,100, 0,200 e 0,400 mg/caixa. Os resultados obtidos para o controle (água) foram apresentados nos gráficos em 100%. Os valores obtidos para as amostras foram relacionados a estes controles, permitindo a obtenção do crescimento radicular e caulicular em porcentagem.

Os referidos dados foram submetidos à análise de variância e ao teste "t" de Student para se detectar diferenças entre as amostras e avaliar as diferenças, em nível de 5% de significância com relação ao controle.

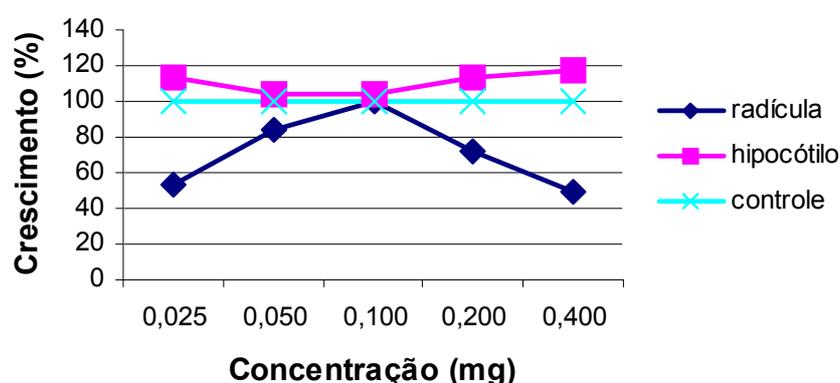
FIGURA 25 – AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO DE *Lactuca sativa* FRENTE AO EXTRATO ETANÓLICO BRUTO DAS FLORES DE *Acacia podalyriaefolia*, COMPARADA AO CONTROLE (100%).



O pequeno estímulo no crescimento da radícula e do hipocótilo verificado com o extrato etanólico bruto (Figura 25), não foi considerado estatisticamente significativo. No entanto, não foi observada a presença de folíolos nas plântulas em substrato etanólico bruto, demonstrando que estas não possuem capacidade de completar seu ciclo de desenvolvimento por não conseguirem efetuar a fotossíntese.

Considerando que no extrato etanólico bruto existem diversos grupamentos químicos, como pôde ser averiguado na pesquisa fitoquímica, observou-se a existência de substâncias com capacidade de estimulação do crescimento, podendo se propor interesse no uso deste extrato ou de substâncias isoladas em pesquisas com cultura de células.

FIGURA 26 – AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO DE *Lactuca sativa* FRENTE À FRAÇÃO DICLOROMETANO DAS FLORES DE *Acacia podalyriaefolia*, COMPARADA AO CONTROLE (100%).

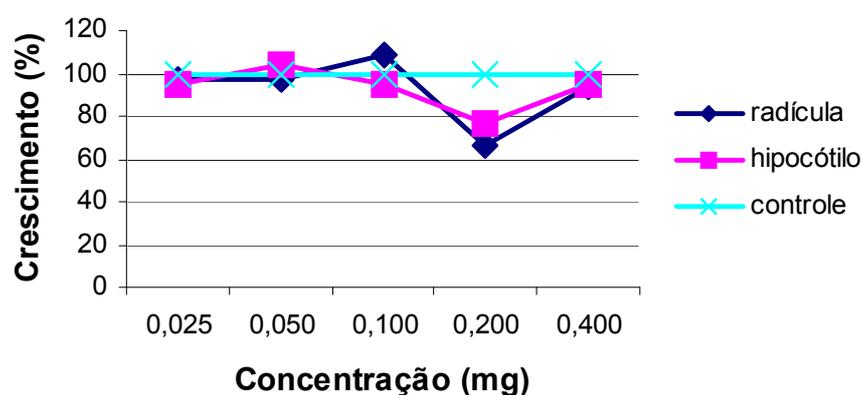


Para a fração diclorometano (Figura 26), houve considerável efeito alelopático, apresentando inibição do crescimento radicular e estímulo caulicular. As quantidades de 0,400 e 0,025 mg/caixa (inibição de 50% e de 45%, respectivamente) apresentaram o mesmo efeito no crescimento da radícula, diferenciando-se dos resultados obtidos com 0,200 e 0,050 mg/caixa (28% e 18% de inibição). Com 0,100 mg/mL não houve diferença significativa em relação ao crescimento radicular do controle, indicando possivelmente que nesta concentração haja um equilíbrio entre as substâncias indutoras e inibidoras do crescimento. No crescimento do hipocótilo foi verificado estímulo de 18% com 0,400 mg desta fração. Com as demais frações os efeitos obtidos no crescimento caulicular não foram significativamente diferentes dos obtidos com o controle.

Com 0,025 e 0,400 mg da fração diclorometano pode-se observar que houve influências significativas no ciclo de desenvolvimento da radícula, inviabilizando o desenvolvimento da plântula.

Associado aos efeitos observados no crescimento radicular e caulicular, houve ausência de folíolos nas sementes desenvolvidas em substrato com a fração diclorometano, salientando a caracterização de efetivo potencial alelopático desta fração.

FIGURA 27 – AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO DE *Lactuca sativa* FRENTE À FRAÇÃO ACETATO DE ETILA DAS FLORES DE *Acacia podalyriaefolia*, COMPARADA AO CONTROLE (100%).



Na Figura 27 observa-se que houve significativa resposta biológica com 0,200 mg da fração acetato de etila, apresentando inibição do crescimento da radícula (34%) e do hipocótilo (23%). Para as demais concentrações não houve alteração significativa em relação ao controle. No entanto, não houve desenvolvimento de folíolos com as plântulas que cresceram neste substrato, reforçando o potencial alelopático desta fração.

Analisando os resultados obtidos nos testes de germinação e de crescimento para as sementes de *Lactuca sativa*, variedade Babá, pode-se afirmar que o extrato etanólico bruto e as frações diclorometano e acetato de etila apresentaram influências na germinação e no desenvolvimento da plântula, quando comparados ao controle.

As frações diclorometano e acetato de etila apresentaram efeitos significativos no crescimento da radícula e do hipocótilo.

Plântulas anormais, com necrose da radícula, foram observadas nos ensaios com as frações acetato de etila e diclorometano. Estes dados sugerem a presença de aleloquímicos nestas amostras, pois conforme afirmam FERREIRA e AQUILA (2000), a presença de substâncias alelopáticas pode induzir este efeito. Aliado a isto,

observou-se discrepâncias no crescimento da radícula e do hipocótilo que também poderiam conduzir a obtenção de plântulas anormais as quais provavelmente não conseguiriam completar o seu ciclo de desenvolvimento. Ainda, a inibição do crescimento radicular pode ocasionar a diminuição de absorção de nutrientes pela raiz, acarretando problemas para o desenvolvimento e a sobrevivência da plântula. Concomitantemente, a ausência de desenvolvimento de folíolos nas plântulas que cresceram nos substratos avaliados, reforça o potencial alelopático das frações em estudo.

A atividade biológica testada com o extrato etanólico bruto foi discreta em relação ao efeito observado nas frações diclorometano e acetato de etila, possivelmente devido a grande diluição de seus componentes antes do fracionamento (a fração diclorometano correspondeu a 13,97% e a fração acetato de etila a 43,03 % do extrato etanólico bruto). Contudo, o leve estímulo de crescimento com o extrato etanólico bruto representa um atributo complementar referente à concentração diferenciada dos aleloquímicos presentes na referida fração.

Os resultados obtidos nos testes de germinação e do crescimento sugerem a presença de aleloquímicos nas flores de *Acacia podalyriaefolia*, conforme já havia sido observado com diversas espécies pertencentes a este gênero, havendo efeito alelopático significativo para 0,200 mg/caixa da fração acetato de etila e para 0,025 e 0,400 mg/caixa da fração diclorometano, onde se evidenciou elevada atividade biológica, possivelmente devido a presença de compostos fenólicos e flavonóides, detectados no "screening" fitoquímico. Este efeito caracterizado para substâncias fenólicas e flavonoídicas foram evidenciados também nos extratos de *Acacia melanoxylon* (GONZÁLES *et al.*, 1995), de *Acacia confusa* (CHOU *et al.*, 1998) e de *Acacia nilotica* (SWAMINATHAN *et al.*, 1989).

Os resultados até aqui obtidos estimulam a continuação deste trabalho para avaliar as frações diclorometano e acetato de etila e os compostos fenólicos isolados destas, quanto ao seu potencial alelopático sobre outras espécies vegetais, com aplicação direta na obtenção de matéria-prima vegetal para a produção de fitoterápicos, isenta de resíduos de herbicidas e agrotóxicos de origem sintética. Tal aplicação justifica-se à medida que vem atender as recomendações para o controle de qualidade de drogas na indústria de fitoterápicos, que requer material isento de

contaminantes microbianos e biológicos, metais pesados e agrotóxicos, de acordo com a Farmacopéia Brasileira e as recomendações da Organização Mundial de Saúde (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1993; BRASIL, 1995; 2000).

## 6. CONCLUSÃO

Referenciando os objetivos inicialmente propostos que visavam contribuições ao estudo fitoquímico e avaliação das atividades antibacteriana e alelopática das flores de *Acacia podalyriaefolia* A. Cunn, algumas considerações podem ser feitas.

Nos estudos fitoquímicos, foram isoladas e identificadas a flavanona 5- $\beta$ -D-galactosil-naringenina, já isolada de *Acacia longifolia* por SILVA (2001), porém sem referências de isolamento em *Acacia podalyriaefolia* e a quinona 4- $\beta$ -D-galactosil-8-metóxi-1,5-naftoquinona, para a qual ainda não havia sido encontrado relato de isolamento.

A análise da atividade antibacteriana demonstrou que o extrato etanólico bruto (1000 e 500  $\mu$ g/disco) e as frações diclorometano (1000  $\mu$ g/disco) e acetato de etila (1000, 500, 250 e 125  $\mu$ g/disco) inibiram o crescimento de *Staphylococcus epidermidis*. Para *Staphylococcus aureus* foram observadas zonas de inibição do crescimento com o extrato etanólico bruto (1000  $\mu$ g/disco) e a fração acetato de etila (1000 e 500  $\mu$ g/disco). Para estas cepas gram-positivas foi observado que a fração acetato de etila demonstrou-se mais ativa. Não foi observada ação sobre as cepas gram-negativas de *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*, nas concentrações averiguadas. Atividade antibacteriana tem sido objeto de estudo no gênero *Acacia* tendo sido verificada também em diversas outras espécies deste gênero (item 3.4.1 da revisão).

Potencial alelopático foi observado com freqüência no gênero *Acacia* (item 3.4.2 da revisão). As frações diclorometano e acetato de etila da espécie avaliada demonstraram significativo potencial alelopático, afetando a germinação e o crescimento radicular e caulicular de *Lactuca sativa*, bem como conduziram à ausência de formação de folíolos nestas plântulas, o que as impossibilitaria de completar seu ciclo de desenvolvimento quando findarem os nutrientes da semente.

Considerando os resultados obtidos, podemos afirmar que os objetivos propostos para este trabalho foram atingidos.

## REFERÊNCIAS

- ADEWUNMI, C. O.; OGUNGBAMILA, F. O. ; OLUWADIYA, J. O. Molluscicidal activities of some synthetic chalcones. **Planta Medica**, v. 53, n. 1, p. 110, 1987.
- AHMAD; I.; MEHMOOD, Z.; MOHAMMAD, F. Screening of some Indian medicinal plants for their antimicrobial properties. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 62, p. 183-193, 1998.
- AHMED, K. H. *et al.* Constituents and molluscicidal activity of *Acacia saligna*, *Chrysanthemum parthenium*. **Bull. Nath. Res. Cent.**, v. 24, n.1, p. 13-25, 1999.
- AKHTAR, M. A.; RABHER-BHATTI, M. H.; ASLAM, M. Antibacterial activity of plant diffused against *Xanthomonas campestris* p.v. citri. **International Journal of Pest Management**, v. 43, n. 2, p. 149-153, 1997.
- ALASBAHI, R. H.; SAFIYEVA, S.; CRAKER, L. E. Antimicrobial activity of some Yemini medicinal plants. **Journal of Herbs Spices Medicinal Plants**, v. 6, n. 3, p. 75-83, 1999.
- ALI, M. S. *et al.* Antimicrobial screening of Mimosaceous plants. **Pharmaceutical Biology**, v. 39, n. 1, p. 43-46, 2001.
- ALMAGBOUL, A. Z. *et al.* Antimicrobial activity of certain Sudanese plants used in folkloric medicine. **Fitoterapia**, v. 59, n. 1, p. 57-62, 1988.
- ALMAS, K. Antimicrobial effects of seven different types of Asian chewing sticks. **Odontostomatol. Trop.**, v. 24, n. 96, p. 17-20, 2001.
- ANAM, E. M. A. Flavanone from the roots of *Acacia longifolia* (Leguminosae). **Indian J. Heterocycl. Chem.**, v. 7, n. 1, p. 63-66, 1997.
- ANDERSON, D. M. W.; BELL, P. C. Partial structural studies of four *Acacia* gums exsudates of the series Phyllodineae. **Phytochemistry**, v. 15, n. 2, p. 301-303, 1976.
- ANURAG, S.; SHARMA, A. K.; SAXENA, A. Allelopathic potential of *Acacia tortilis* in agroforestry systems of arid regions. **Allelopathic Journal**, v. 3, n. 1, p. 81-84, 1996.
- AYOUB, S. M. H. Flavanol molluscicides from Sudan *Acacia*. **International Journal of Crude Drug Research.** , v. 23, n. 2, p. 87-90, 1985.
- \_\_\_\_\_. On the moluscicidal activity of the plant phenolics. **Fitoterapia**, v. 56, n. 4, p. 225-226, 1985.

- AZUINE, M. A. ; BHIDE, S. V. Adjuvant chemoprevention of experimental cancer: catechin and dietary turmeric in forestomach and oral cancer models. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 44, n. 3, p. 211-217, 1994.
- BAGCHI, G. D. *et al.* Wide spectrum antibacterial and antifungal activities in the seeds of some coprophilus plants of north Indian plains. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 64, n. 1, p. 69-77, 1998.
- BALANDRIN, M. F. *et al.* Reverse-phase High-Pressure Liquid Chromatography of some tryptamine derivatives. **Journal of Chromatography**, v. 157, p. 365-370, 1978.
- BARAKAT, H. H. *et al.* Flavonoid galloyl glucosides from the pods of *Acacia farnesiana*. **Phytochemistry**, v. 51, n.1, p. 139-142, 1999.
- BARROSO, G. M. **Sistemática de Angiospermas do Brasil**. Viçosa: Imprensa da Universidade Federal de Viçosa, v. 2, p. 15-70, 1991.
- BARMAN, D.; DE, L.C.; SHARMA, C.K. Allelopathic effects of *Acacia auriculiformis* A. Cunn. on germination of aster (*Callistephus chinensis*) and *chrysanthemum* (*Chrysanthemum coronarium*). **Annals of Plant Physiology**, v. 11, n. 2, p. 212-213, 1997.
- BAUER, A. W. *et al.* Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. **The American Journal of Clinical Pathology**, v. 45, n. 4, p. 493-496, 1966.
- BENIMEL, E. P. Rutin and quercetin in plants of Chile. **An. Fac. Quim. Farm. Univ. Chile**, v. 16, p. 133-142, 1964.
- BENNIE, L. *et al.* Oligomeric flavonoids. Part 32. Structure and synthesis of ether-linked proteracacinedin and promelacacinidin proanthocyanidins from *Acacia caffra*. **Phytochemistry**, v. 53, n. 7, p. 785-793, 2000.
- \_\_\_\_\_. Structure and stereochemistry of triflavanoids containing both ether and carbon-carbon interflavanyl bonds. **Phytochemistry**, v. 57, n. 6, p. 1023-1034, 2001.
- BHEEMAIHAH, G. *et al.* Performance of arable crops with *Acacia albida* under different alley widths in dry lands. **Proceedings: First National Symposium. Allelopathy in agroecosystems (agriculture & forestry)**, February 12-14, p. 120-122, 1992.
- BIER, O. **Microbiologia e Imunologia**. São Paulo: Melhoramentos, p. 930-1017, 1990.
- BORA, I. P. *et al.* Allelopathic effect of leaf extracts of *Acacia auriculiformis* on seed germination of some agricultural crops. **Annals of Forestry**, v. 7, n. 1, p. 143-146, 1999.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria n. 6, de 31 de Janeiro de 1995. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 1995.

- BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria RDC n. 17, de fevereiro de 2000. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 1995.
- BRUNETON, J. **Elementos de Fitoquímica y Farmacognosia**. Zaragoza: Editorial Acribia, p. 159-199, 1991.
- BURKART, A . Leguminosas - Mimosoideas. **Flora Ilustrada Catarinense**. Itajaí: P. Raulino Reitz, v. 1, p.17-48, 1979.
- BUSHNELL, O. A.; FUKUDA, M.; TAKASHY, M. The antibacterial properties of some plants found in Hawaii. **Pacific Sciences**., v. 4, n. 3, p. 167-183, 1950.
- CARBALLEIRA, A.; REIGOSA, M. J. Effects of natural leachates of *Acacia dealbata* link in Galicia (NW Spain). **Botanical Bulletin of Academia Sinica**, v. 40, n. 1, p. 87-92, 1999.
- CASAL, J. F.; REIGOSA, M. J.; CARBALLEIRA, A. Potentiel allelopathique de *Acacia dealbata* Link. **Revue d'Ecologie et de Biologie du Sol**, v. 22, p. 1-12, 1985.
- CHANDEL, B. S.; SHAN, N. M.; TRIPATHI, R. M. In vitro antibacterial activity of *Acacia arabica* bark. **Indian Journal of Indigenous Medicines**, v. 9, n. 1-2, p. 77-79, 1993.
- CHANNAL, H. T.; KURDIKERI, M. B.; SARANGAMATH, P. A. Allelopathic effect of tree leaf extracts on germination of sorghum and rice. **Karnataka Journal of Agricultural Sciences**, v. 13, n. 2, p. 338-342, 2000.
- CHANG, Shang-Tzen *et al.* Antioxidant activity of extracts from *Acacia confusa* bark and heartwood. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** , v. 49, p. 3420-3424, 2001.
- CHHABRA, S. C.; UIISO, F. C. A survey of medicine plants of Eastern Tanzania for alkaloids, flavonoids, saponins and tannins. **Fitoterapia**, v. 4, p.307-316, 1990.
- \_\_\_\_\_. Antibacterial activity of some Tanzanian plants used in traditional medicine. **Fitoterapia**, v. 62, n. 6, p. 499-503, 1991.
- CHOU, Chang-Hung. The role of allelopathy in subtropical agrosystems in Taiwan. In: PUTNAM, A. R.; TANG, Chung-Shih. **The Science of Allelopathy**. Toronto: John Wiley & Sons, p. 57-73, 1986.
- CHOU, Chang-Hung *et al.* Allelopathic potential of *Acacia confusa* and related species in Taiwan. **Journal of Chemical Ecology**, v. 24, n. 12, p. 2131-2150, 1998.
- CHURMS, S. C.; MERRIFIELD, E. H.; STEPHEN, A. M. Structural features of the gum exudates from some *Acacia* species of the series Phyllodineae and Botrycephalae. **Carbohydrate Research**, v. 55, n. 1, p. 3-10, 1977.

CHWEN, L. L.; LING, Y. L. L.; JEN, C. C. Cytotoxic naphthoquinones and plumbagic acid glucosides from *Plumbago zeylanica*. **Phytochemistry**, v. 62, n. 4, p. 619-622, 2003.

CLARK, D. T. *et al.* The effects of *Acacia arabica* gum on the vitro growth and protease activities of periodontopathic bacteria. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 20, n. 4, p. 238-243, 1993.

CLARKE-LEWIS, J. W.; KATEKAR, G. F.; MORTIMER, P. I. Flavan derivatives IV: teracacidin, a new leucoanthocyanidin from *Acacia intertexta*. **Journal of the Chemical Society**, p. 499-503, 1961.

CLARKE-LEWIS, J. W.; NAIR, V. S. Flavan derivatives of 7, 8, 3', 4'-tetrahydroxy-flavanone and 7, 8, 3', 4'-tetrahydroxy-flavone from *Acacia* species. **Australian Journal of Chemistry**, v. 17, n. 10, p. 1164-1169, 1964.

\_\_\_\_\_. Flavan derivatives XX. A new glucoside and other extractives from *Acacia ixiophylla*. **Australian Journal of Chemistry**, v. 21, n. 2, p. 425-437, 1968.

CLARKE-LEWIS, J. W. ; DAINIS, I. Flavan Derivatives XIX. Teracacidin and isoteracacidin from *A. obtusifolia* and *A. maidenii* heartwoods; phenolic hydroxylation patterns of heartwood flavonoids characteristic of sections and subsections of genus *Acacia*. **Australian Journal of Chemistry**, v. 20, n.10, p. 2191-2198, 1967.

\_\_\_\_\_. Flavan Derivatives XX. A new glucoside and other extractives from *Acacia ixiophylla*. **Australian Journal of Chemistry**, v. 21, n. 2, p. 425-437, 1968.

CLARKE-LEWIS, J. W.; PORTER, L. J. Phytochemical survey of the heartwood flavonoids of *Acacia* species from arid zones of Australia. **Australian Journal of Chemistry**, v. 25, n. 9, p. 1943-1955, 1972.

CLEMENT, B. A. Toxic amines and alkaloids from *Acacia belandieri*. **Phytochemistry**, v. 46, nº. 2, p. 249-254, 1997.

CLEMENT, B.; GOFF, C. M.; FORBES, D. Toxic amines and alkaloids from *Acacia rigidula*. **Phytochemistry**, v. 49, n. 5, p. 1377-1380, 1998.

COETZEE, J.; MALAN, E.; FERREIRA, D. Oligomeric flavonoids. Part 29. Structure and synthesis of novel ether-linked [4-O-4] BIS-teracacidins. **Tetrahedron**, v. 54, n. 31, p. 9153-9160, 1998.

CORREA, M. P. **Dicionário das Plantas Úteis do Brasil e Exóticas Cultivadas**. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, v.1, p. 16-18 e 310, 1984.

COSTA, A. F. **Farmacognosia**. 3 ed. Lisboa: Calouste Gulbenkian, v.2, p.195, 1986.

CRONJÉ, A. *et al.* Oligomeric flavanoids. Part 16<sup>a</sup>. Novel prorobinetinidins and the first a-type proanthocyanidin with a 5-deoxy A- and a 3,4-*cis* C-ring from the maiden investigation of commercial wattle bark extract. **Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1**, v. 1, n. 20, p. 2467-2477, 1993.

CRONQUIST, A. **The Evolution and Classification of Flowering Plants**. New York: New York Botanical Garden, 1988.

CROZIER, A. *et al.* Antioxidant flavonols from fruits, vegetables and beverages: measurements and bioavailability. **Biological Research**. Santiago, v. 33, n. 2, 2000.

DAFALLAH, A. A. ; AL-MUSTAFA, Z. Investigation of the anti-inflammatory activity of *Acacia nilotica* and *Hibiscus sabdariffa*. **American Journal of Chinese Medicine**, v. 24, n. 3-4, p. 263-269, 1996.

DAVIES, R. A.; LLOYD, K. M. **INDEX KEWENSIS** . Suplemento 19. Oxford: Clarendon Press, p. 275, 1991.

DAYDON, J. B. **INDEX KEWENSIS**. 1. ed. Oxford: Great Britain at the University Press, v. 1, p. 08 e 11, 1895.

DESHPANDE, V. N.; PATIL, A. D. Flavonoid of *Acacia catechu*, heartwood. **Indian Journal of Chemical Society, Sect. B**, v. 20B, n. 7, p. 628, 1981.

DHAWAN, S. R.; POONAM, D.; DHAWAN, P. Biocontrol of congress grass: studies on seed germination. **World Weeds**, v. 2, n. 1, p. 3-9, 1995.

DHAWAN, B. N. *et al.* **Indian Journal of Experimental Biology**, 1980.

DIGRAK, M. *et al.* Antibacterial and antifungal effects of various commercial plant extracts. **Pharmaceutical Biology**, v. 37, n.3, p. 216-220, 1999.

DREWES, S. E.; ROUX, D. G. Condensed tannins: 15. Interrelationships of flavonoid components in wattle-bark extract. **Biochemistry Journal**, v. 87, p. 167-170, 1963.

\_\_\_\_\_. A New Flavan 3,4-diol from *Acacia auriculiformis* by paper ionophoresis. **Biochemistry Journal**, v. 18, p. 483-500, 1966.

DREWES, S. E.; ISLEY, A.H. Isolation of 3-methoxy-fisetin from *Acacia mearnsii*. **Chemical Communications**, v. 20, p. 1246-1247, 1968.

\_\_\_\_\_. Dioxan-linked biflavonoid from the heartwood of *Acacia mearnsii*. **Journal of the Chemical Society (C)**, p. 897-900, 1969.

DU PREZZ, I. C.; ROUX, D. G. Novel flavan 3,4-diols from *Acacia cultriformis*. **Journal of the Chemical Society**, v. 13, p. 1800-1804, 1970.

- DUROUX, L. *et al.* Insight into naphthoquinone metabolism: beta-glucosidase-catalysed hydrolysis of hydrojuglone beta-D-glucopyranoside. **Biochemical Journal**, v. 333, n. 2, p. 275-283, 1998.
- EADE, R. A.; McDONALD, F. J.; SIMES, J. J. H. Extractives of Australian timbers: XIV triterpene glycosides of *Acacia myrtifolia*. **Australian Journal of Chemistry**, v. 26, n. 4, p. 839-844, 1973.
- EINHELLIG, F. A. Mechanisms and modes of action of allelochemicals. In: PUTNAM, A.R.; TANG, Chung-Shih. **The Science of Allelopathy**. Toronto: John Wiley & Sons, p. 171-187, 1986.
- EL-MOUSALLAMY, A. M. D. *et al.* Polyphenols of *Acacia raddiana*. **Phytochemistry**, v. 30, n.11, p. 3767-3768, 1991.
- EL-SAWI, S. H. A New rare 8-C-glucosylflavonoid and other eight flavonoids from the molluscicidal plant *Acacia saligna* Wendl. **Pharmaceutical Pharmacology Letters**, v. 11, n. 1, p. 30-33, 2001.
- EL-SHAFAE, A. M.; EL-DOMIATY, M. M. Flavonoidal constituents of the flowers of *Acacia saligna*. **Zagazig Journal Pharmaceutical Sciences**, v. 7, n. 1, p. 48-53, 1998.
- EL-SISSI, H. I.; EL-SHERBEINY, A. E. A. The Flavonoid components of the leaves of *Acacia saligna*. **Qualitas Plantarum et Materiae Vegetabiles**, v. 14, n. 3, p.257-266, 1967.
- ENDRESS, P. K. **Diversity and Evolutionary Biology of Tropical Flowers**. Cambridge: Cambridge University Press, p. 284, 1994.
- EVANS, W. C. **Trease and Evans: Pharmacognosy**. 13. ed. London: Baillière Tindall, p. 419-423, 1992.
- FADL, EL M. A. Management of *Prosopis juliflora* for use in agro forestry systems in the Sudan. **Tropical Forestry Reports**, n. 16, p. 107, 1997.
- FALCO, M. R.; VRIES, J. X. Isolation of hyperosid from the flowers of *Acacia melanoxylon*. **Naturwissenschaften**, v. 51, n. 19, p. 462-463, 1964.
- FALKENBERG, M. B. Quinonas. In: SIMÕES, C.M.O. *et al.* **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 2. ed. Florianópolis/Porto Alegre: UFSC/UFRS, p. 555-569, 2001.
- FERREIRA, A. G.; AQUILA, M. E. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 12, p. 175-204, 2000.

- FERREIRA, D. *et al.* Biflavonoid proguibourtinidin carboxylic acids and their biflavonoid homologues from [heartwood of] *Acacia luderitzii*. **Phytochemistry**, v. 24, n. 10, p. 2415-2422, 1985.
- FOO, L. Y. Configuration and conformation of dihydroflavonols from *Acacia melanoxylon*. **Phytochemistry**, v. 26, n.3, p. 813-817, 1987.
- \_\_\_\_\_. Isolation of [4-O-4]-linked biflavonoids from *Acacia melanoxylon* first examples of a new class of single ether-linked proanthocyanidin dimmers. **Journal of the Chemical Society**, v. 20, p. 1505-1506, 1989.
- FOURIER, T. G.; FERREIRA, D.; ROUX, D. G. 8-O-Methyl and the first 3-O-methyl-flavan-3, 4-diol from *Acacia saxatilis*. **Phytochemistry**, v. 13, n. 11, p. 2573-2581, 1974.
- FOURIER, T. G.; DU PREEZ, I. C.; ROUX, D. G.. 3',4', 7, 8-tetrahydroflavonoids from the heartwood of *Acacia nigrescens* and their conversion products. **Phytochemistry**, v. 11, p. 1763-1770, 1972.
- FRANÇA, S. C. Abordagens biotecnológicas para a obtenção de substâncias ativas. In: SIMÕES, C.M.O. *et al.* **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 2. ed. Florianópolis/Porto Alegre: UFSC/UFRS, p.499-525, 2001.
- GONZALES, L.; SOUTO, X. C.; REIGOSA, M. J. Allelopathic effects of *Acacia melanoxylon* R. Br. Phyllodes during their decomposition. **Forest Ecology**, v. 77, n 1-3, p. 53-63, 1995.
- GUERRA, M. P.; NODARI, R. O. Biodiversidade: aspectos biológicos, geográficos, legais e éticos. In: SIMÕES, C.M.O. *et al.* **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 2. ed. Florianópolis/Porto Alegre: UFSC/UFRS, p.13-26, 2001.
- HAGOS, M.; SAMUELSSON, G. Quantitative determination of Quracol A, B and (+)-fisetinidol in bark and gum of *Acacia tortilis*. **Acta Pharmaceutica Suecica**, v. 25, n. 6, p. 321-324, 1988.
- HARBORNE, J. B. Comparative biochemistry of flavonoids- I. Distribution of chalcone and aurone pigments in plants. **Phytochemistry**, v. 5, p. 111-115, 1966.
- HARBORNE, J. B.; BAXTER, H. ; MOSS, G. P. **Phytochemical Dictionary: A Handbook of Bioactive Compounds from Plants**. 2 ed. Philadelphia: Taylor & Francis, p. 420-817, 1999.

- HATHWAY, D. E.; SEAKINS, J. W. T. Enzymatic oxidation of catechin to a polymer structurally related to some phlobatannins. **Biochemistry Journal**, v. 67, n. 2, p. 239-245, 1957.
- HOFFMANN, J. J. *et al.* Potential activity of plants from the Southwestern United States. **International Journal of Pharmacognosy**, v. 31, n. 2, p. 101-115, 1993.
- HOSSAIN, M. K.; DHALI, M. A. H.; HOSSAIN, M. S. Effects of forest soil and leaf-litter on germination and initial seedling growth of *Leucaena leucocephala*. **Allelopathy Journal**, v. 10, n. 1, p. 13-20, 2002.
- HUEI, T. L. *et al.* Three new flavonol galloyl glycosides from leaves of *Acacia confusa*. **Journal of Natural Products**, v. 63, n. 5, p. 710-712, 2000.
- HUSSEIN, G. *et al.* Inhibitory effects of Sudanese plant extracts on HIV-1 replication and HIV-1 protease. **Phytotherapy Research**, v. 13, n. 1, p. 31-36, 1999.
- ILYAS M. ; HAMEED, M. N.; RAHMANN, W. Flavonoids from the Flowers of *Acacia farnesiana* Willd. **Journal of the Indian Chemical Society**, v. 47, n. 2, p. 183-184, 1970.
- IMPERATO, F. A new chalcone glucoside and isosalipurposide from *Acacia cyanophylla*. **Phytochemistry**, v. 1, p. 822-823, 1978.
- \_\_\_\_\_. A chalcone glycoside from *Acacia dealbata*. **Phytochemistry**, v. 21, n.2, p. 480-481, 1982.
- \_\_\_\_\_. A new chalcone glucoside and cernuoside from the flowers of *Acacia dealbata*. **Experientia**, v. 38, p. 67-68, 1982.
- JADHAV, B. B.; GAYNAR, D. G. Allelopathic effects of *Acacia auriculiformis* A. Cunn. on germination of rice and cowpea. **Indian Journal of Plant Physiology**, v. 35, n. 1, p. 86-89, 1992.
- JAYASEKHAR, P.; MOHANAN, P. V.; RATHINAM, K. Hepatoprotective activity of ethyl acetate extract of *Acacia catechu*. **Indian Journal of Pharmacology**, v. 29, n. 6, p. 426-428, 1997.
- JOLY, A. B. **Botânica: Introdução à Taxonomia Vegetal**. 12 ed. São Paulo: Nacional, 1998.
- JOHN, J. *et al.* Preliminary investigations on the allelopathic influence of leaf litter of certain multipurpose trees. **Indian Journal of Forestry**, v. 22, n. 1-2, p. 66-69, 1999.
- KAMAL, S. *et al.* Allelopathic effect of some tree species on wheat (*Triticum aestivum* L.). **Journal of Research**, v. 9, n. 1, p. 101-105, 1997.

- KAMBIZI, L.; AFOLAYAN, A. J. An ethnobotanical study of plants for the treatment of sexually transmitted disease (njovera) in Guruve District, Zimbabwe. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 77, n.1, p. 5-9, 2001.
- KERBER, V. A. **Flavonóides e Cumarinas de *Acacia longifolia* (Andr.) Willd. LEGUMINOSAE-MIMOSOIDEAE (FLORES)**. Porto Alegre, 1988. 171 p. Dissertação (Mestrado em Farmácia) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- KERBER, V. A.; SILVA, G. A. A. B. Flavonóides da *Acacia longifolia* (Andr.) Willd. - Leguminosae-Mimosoideae. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 74, n. 1, p. 16-18, 1993.
- KHAFAGI, I. K. Screening in vitro cultures of some Sinai medicinal plants for their antibiotic activity. **Egyptian Journal of Microbiology**, v. 34, n. 4, p. 613-627, 1999.
- KHALID, S. A. *et al.* (+)-catechin-5-galloylester as a novel natural polyphenol from the bark of *Acacia nilotica* of Sudanese origin. **Planta Medica**, v. 55, n. 6, p. 556-558, 1989.
- KHAN, M. R. *et al.* Studies on African plants: 1- Preliminary screening of medicinal plants for antibacterial activity. **Planta Medica**, Suppl., p. 91-7, 1980.
- KHAN, M. R.; NGASSAPA, O.; MATEE, M. I. N. Antimicrobial activity of Tanzanian chewing sticks against oral pathogenic microbes. **Pharmaceutical Biology**, v. 38, n. 3, p. 235-240, 2000.
- KHAN, M. S. Y. *et al.* Chemical investigation of the pods of *Acacia leucophloea* Roxb. **Indian Drugs**, v. 28, n. 2, p. 97-98, 1990.
- KIRILLOVA, G. M.; KONDZHARIYA, A. T. Characterization of tannins in some subtropical plants. **Khim. Prir. Soedin**, v. 4, p. 602-603, 1987.
- KITOU, M.; YOSHIDA, S. Difference of phytotoxicity between undecomposed and microbially decomposed plant residues. **Weed Research Tokyo**, v. 38, n. 1, p. 43-46, 1993.
- \_\_\_\_\_. Allelopathic effects of extracts of soil amended with some plant material on germination and radicle elongation of lettuce. **Journal of Weed Science and Technology**, v. 43, n. 1, p. 1-9, 1998.
- KOUL, V. K. *et al.* Evaluation of allelopathic influence of certain farm growth tree species on rice (*Oriza sativa* L. c.v. P.c. 19). **Indian of Forestry**, v. 14, n. 1, p. 54-57, 1991.

- LALL, N.; MEYER, J. J. M. In vitro inhibition of drug-resistant and drug-sensitive strains of *Mycobacterium tuberculosis* by ethnobotanically selected South African plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 66, p. 347-354, 1999.
- LEA, P. J. ; LEEGOOD, R. **Plant Biochemistry and Molecular Biology**. West Sussex : John Wiley & Sons Ltd, p. 192, 1993.
- LEE, T. H. *et al.* Three new flavonol galloylglycosides from leaves of *Acacia confusa*. **Journal of Natural Products**, v. 63, n. 5, p. 710-712, 2000.
- LORENTE, F. J.; FERRERAS, F.; BARBERAN, F. A. T. 6-C-glycosil naringenin from flowers of *Acacia retinoides*. **Phytochemistry**, v. 21, n. 6, p. 461-462, 1982.
- MABRY, T. J.; MARKHAN, K. R.; THOMAS, M. B. **The Systematic Identification of Flavonoids**. New York: Springer-Verlag, p. 35-279, 1970.
- MACKENZIE, A. M. Mearnsitrin: a new [methoxylated] flavonol glycoside [a rhamnoside] from the leaves of *Acacia mearnsii*. **Tetrahedron Letters**, v. 26, p. 2519-2550, 1967.
- \_\_\_\_\_. The flavonoids of the leaves of *Acacia mearnsii*. **Phytochemistry**, v. 8, p. 1813-1815, 1969.
- MALAN, E. 7,8,4'-trihydroxy-3,3'-dimethoxy flavone from the heartwood of *Acacia nigrescens*. **Phytochemistry**, v. 33, n. 3, p. 733-734, 1993.
- \_\_\_\_\_. A (4b(r)5)-linked proteracacidin dimer from heartwood of *Acacia caffra*. **Phytochemistry**, v. 40, n. 5, p. 1519-1521, 1995.
- MALAN, E.; ROUX, D. G. Flavonoids and tannins of *Acacia* species. **Phytochemistry**, v. 14, p. 1835-1841, 1975.
- MALAN, E.; PIENAAR, D. (+)-Catechin-galloyl esters from the bark of *Acacia gerrardii*. **Phytochemistry**, v. 26, n. 7, p. 2049-2051, 1987.
- MALAN, E.; SIREEPARSAD, A. The structure and synthesis of the first dimeric proteracacinidins from *Acacia galpinii*. **Phytochemistry**, v. 38, n. 1, p. 237-239, 1995.
- MALAN, E. *et al.* The structure and synthesis of a 7,8,4'-trihydroxyflavan-epioritin dimer from *Acacia caffra*. **Phytochemistry**, v. 44, n. 3, p. 529-531, 1997.
- MALAN, E.; SWATZ, P. A comparative study of the phenolic products in the heartwood of *Acacia karroo* from two different localities. **Phytochemistry**, v. 39, n. 4, p. 791-794, 1995.

- MALHEIROS, A.; PERES, M. T. L. P. Alelopatia: interações químicas entre espécies. In: YUNES, R. A.; CALIXTO, J. B. **Plantas Medicinais Sob a Ótica da Química Moderna**. Chapecó: Argos, p. 503-523, 2001.
- MANJIT, S. *et al.* Growth height of *Prosopis cineraria* (L.) Druce in association with *Acacia tortilis* and *Azadirachta indica*. **Myforest**, v. 27, n. 4, p. 348-350, 1991.
- MANN, J. *et al.* **Secondary Metabolism**. 2. ed., Oxford: Clarendon Press, p.275-283, 1999.
- MARCHIORI, J. N. C. **Dendrologia de Angiospermas: família Leguminosae**. Santa Maria: UFSM, 1997, 200 p.
- MARINI-BETTOLO, G. B. ; FALCO, M. R. Ricerche sui pigmenti delle mimosacee del Sud America: Naringenine de una *Acacia longifolia* del Rio de la Plata. **Ann. Chim.**, v. 41, p. 221-226, 1951.
- MEDEIROS, A. R. M. Alelopatia. **Horti Sul**, v. 1, n. 3, p. 27-32, 1990.
- MIGUEL, M. D. **Produção Vegetal e a Construção do Conhecimento: uma experiência em análise e tecnologia de sementes**. Curitiba, 2000. 195 p. Tese (Doutorado em Agronomia) - Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.
- MOREIRA, E. A. Contribuição ao estudo fitoquímico de *Lobelia hassleri* A. Zahlb e *Lobelia stellfeladii* R. Braga. Campanulaceae. **Tribuna Farmacêutica**, v. 47, n. 1, p. 13-39, 1979.
- MUELLER-HARVEY, I.; REED, J. D.; HARTLEY, R. D. Characterization of phenolic compounds, including flavonoids and tannins, of ten Ethiopian Browse species by High Performance Liquid Chromatography. **Journal the Science of Food and Agricultural**, v. 39, p. 1-14, 1987.
- MUSTAFA, N. K. *et al.* Antimicrobial activity of *Acacia nilotica* subsp. *nilotica* fruit extracts. **Pharmacy and Pharmacology Communications**, v. 5, n. 9, p. 583-586, 1999.
- NABI, A. B. D *et al.* Antimicrobial activity of *Acacia nilotica* (L) Willd ex Del var. *nilotica* (Mimosaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 37, n. 1, p. 77-79, 1992.
- NASSAR, M. I. Apigenin-C-glycoside from de leaves of *Acacia laeta* and their anticancer activity evaluation. **Egypt Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 40, n. 1, p. 73-77, 1999.
- NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES. **Tropical Legumes - Resources for the Future**. Washington: National Academy Press, p.241, 1979.

- NAUCHINI, Y. G. Rutin from the flowers of Japanese: *Acacia papova*. **Tr. Vich. Inst. Kranifelns Vkujona Plom-Plovdiv.**, v. 10, p. 233-300, 1963.
- OMER, M. E. A.; AL MAGBOUL, A. Z.; EL EGAMI, A. A. Sudanese plants used in Folkloric medicine: screening for antibacterial activity. Part IX. **Fitoterapia**, v. 69, n. 369, p. 542-546, 1998.
- PALOMBO, E. A.; SEMPLE, S. J. Antibacterial activity of traditional Australian medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 77, n. 2-3, p. 151-157, 2001.
- PARIS, R. R.. **Bull. Soc. Chim. Biol.**, v. 35, p.655, 1953.
- PARK, S. N.; BOO, Y. C. Flavonoids for protection of cells against chemically active species of oxygen, their extraction from plants, and their use in cosmetics. **Fr. Demande**, 1991, 17 p.
- PEITZ, C. **Estudo Fitoquímico, Alelopático e Microbiano de *Acacia longifolia* Andr. (Willd.)**. Curitiba, 2003. 79 p. Dissertação (Mestrado em Farmácia) - Setor de Ciências de Saúde, Universidade Federal do Paraná.
- POLHILL, R. M. ; HAVEN, P. H. **Advances in Legume Systematics**. England: Royal Botanic Gardens, v. 1 e 2, p. 1-145 e 427-1049, 1981.
- POLYA, G. M. ; FOO, L. Y. Inhibition of eukaryote signal-regulated protein kinases by plant-derived catechin-related compounds. **Phytochemistry**, v. 35, n. 6, p. 1399-1405, 1994.
- POSER, G. L. Von; MENTZ, L.A. Diversidade biológica e sistemas de classificação. In: SIMÕES, C. M. O. *et al.* **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 2. ed. Florianópolis/Porto Alegre: UFSC/UFRS, p. 63-76, 2001.
- PUTNAM, A. R.; TANG, Chung-Shih. Allelopathy: state of the science. In: \_\_\_\_ . **The Science of Allelopathy**. Toronto: John Wiley & Sons, p. 1-19, 1986.
- RABE, T.; STADEN, J. Van. Antibacterial activity of South African plants used for medicinal purposes. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 56, p. 81-87, 1997.
- RAO, O. P.; SAXENA, A. K.; SINGH, B. P. Allelopathic effects of certain agroforestry tree species on the germination of wheat, paddy and gram. **Annals of Forestry**, v. 2, n. 1, p. 60-64, 1994.
- REIS, M. S.; MARIOT, A. Diversidade natural e aspectos agronômicos de plantas medicinais. In: SIMÕES, C.M.O. *et al.* **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 2. ed. Florianópolis/Porto Alegre: UFSC/UFRS, p. 41-62, 2001.

- RIZVI, S. J. H.; RIZVI, V. Exploitation on allelochemicals in improving crop productivity. In: \_\_\_\_\_ . **Allelopathy: basic and applied aspects**. 1 ed., Londres: Chapman & Hall, p. 443-472, 1992.
- ROBBERS, J. E.; SPEEDIE, M. K.; TYLER, V. E. **Farmacognosia e Farmacobiotechnologia**. São Paulo: Premier, p. 157 - 158, 1997.
- ROUX, D. G.; EVELYN, S. R. Condensed tannins 2. Biogenesis of condensed tannins based on leucoanthocyanins. **Biochem. Journal**, v. 77, n. 2, p. 344-349, 1958.
- ROUX, D. G. ; MAIHS, E. A. ; PAULUS E. Condensed tannins: 9. Distribution of flavonoid compounds in the heartwood and barks of some interrelated wattles. **Biochemistry Journal**, v. 78, p. 834-839, 1961.
- ROUX, D. G.; PAULUS, E. Condensed tannins 6: Biochemical and stereochemical interrelations of (+)-fustin from black wattle heartwood (*Acacia molissima*). **Biochemistry Journal**, v. 77, n. 2, p. 315-320, 1960.
- RUTHERFORD, M. C.; POWRIE, L. W. Allelochemic control of biomass allocation in interacting shrub species. **Journal of Chemical Ecology**, v. 19, n. 5, p. 893-906, 1993.
- SAAYMAN, H. M. ; ROUX, D. G. The origins of tannins and flavonoids in black-wattle barks and heartwoods, and their associated 'non-tannin' components. **Biochemistry Journal**, v. 97, p. 794-801, 1965.
- SAHAI, R. ; AGARWAL, S. K. ; RASTOGI, R. P. Auriculoside, a new flavan glycoside from *Acacia auriculiformis*. **Phytochemistry**, v. 19, p. 1560-1562, 1980.
- SAHU, N. P.; ACHARI, B.; BANERJEE, S. 7,3'-dihydroxy-4'-methoxyflavone from seeds of *Acacia farnesiana*. **Phytochemistry**, v. 49, n. 5, p. 1425-1426, 1998.
- SALEEM, M. *et al.* Phytochemical evolution of *Acacia cyanophylla*. **Sci. Int.** (Lahore), v. 4, n. 4, p. 383-384, 1992.
- \_\_\_\_\_. Phytochemical evolution of *Acacia aneura*. **Sci. Int.** (Lahore), v. 4, n. 4, p. 385-386, 1992.
- SANKER, K. B.; RAÍ, R. S. V. Allelopathic effects of a few tropical hardwoods on olericultural crops. **Indian Journal of Forestry**, v. 16, n. 3, p. 246-249, 1993.
- SATISH, S.; RAVEESHA, K. A.; JANARDHANA, G. R. Antibacterial activity of plant extracts on phytopathogenic *Xanthomonas campestris* pathovars. **Letters in Applied Microbiology**, v. 28, p. 145-147, 1999.

- SCHULTZ, A. R. **Introdução ao Estudo da Botânica Sistemática**. 6 ed. Porto Alegre: Globo, v. 2, p. 149, 229 e 236, 1990.
- SCHUMANN, A. W.; LITTLE, K. M.; ECCLES, N. S. Suppression of seed germination and early seedling growth by plantation harvest residues. **South African Journal of Plant and Soil**, v. 12, n. 4, p. 170-172, 1995.
- SEKINE, *et al.* Structure and synthesis of a new monoterpenoidal carboxiamide from the seeds of the Thai medicinal plant *Acacia concinna*. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 45, n. 1, p. 148-151, 1997.
- SHARMA, M.; SAXENA, S. K. Effect of soil amendment with roots of *Acacia nilotica* on growth of *Eucalyptus globulus*. **The Indian Forester**, v. 119, n. 12, p. 1020-1021, 1993.
- SHARMA, P.; DAYAL, R.; AYYAR, K. S. Chemical constituents of *Acacia catechu* leaves. **Journal of the Indian Chemistry Society**, v. 74, n. 1, p. 60, 1997.
- \_\_\_\_\_. Acylglucosterols from *Acacia catechu*. **Journal of Medicinal Aromatic Plant Sciences**, v. 21, n. 4, p. 1002-1005, 1999.
- SILVA, V. C. **Análise dos Flavonóides da *Acacia longifolia* (Andr.) Willd. Leguminosae - Mimosoideae**. Curitiba, 2001. 81p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Setor de Ciências de Saúde, Universidade Federal do Paraná.
- SILVERSTEIN, R. M.; BASSLER, G. C.; MORRIL, T. C. **Spectrometric Identification of Organic Compounds**. 5 ed. New York: John Wiley, 1991. 419 p.
- SINGH, K. V.; SHUKLA, N. P. Activity on multiple resistant bacteria of garlic (*Allium sativum*) extract. **Fitoterapia**, v. 55, n. 5, p. 313-315, 1984.
- SINGH, J. *et al.* Effect of allelopathic rhizosphere of *Acacia nilotica* on *Azotobacter chroococcum* and *Rhizobium cowpea*. **Proceedings: First National Symposium. Allelopathy in agroecosystems (agriculture & forestry)**, February 12-14, 1992.
- SOTOHY, S. A.; ISMAIL, A.A.; MUELLER, W. Further studies on the antimicrobial properties of some plant materials in relation to their tannin content. **Proceedings of the Third Scientific Congress Egyptian Society of Cattle Diseases**, v. 1, n. 1-3, 1995.
- SPADA, A.; CAMERONI, R. Flavonic pigments of the pollen of *Acacia dealbata*. **Gazzetta Chimica Italiana**, v. 85, n. 9-10, p. 1043-1049, 1955.
- \_\_\_\_\_. The flavonic pigments of the pollen of *Acacia dealbata*. **Gazzetta Chimica Italiana**, v. 86, p. 965-979, 1956.

- SRINIVASAN, K.; RAMASAMY, M.; SHANTHA, R. Tolerance of pulse crops to allelochemicals of tree species. **Indian Journal of Pulses Research**, 1990, v. 3, n. 1, p. 40-44, 1990.
- STRACK, D. Phenolic Metabolism. In: DEY, P. M.; HARBORNE, J. B. **Plant Biochemistry**. San Diego: Academic Press, p. 387-408, 1997.
- SUARES, S .S.; CABRERA, J. L.; JULIANI, H. R. Flavonoids of Argentinian *Acacia* species. **An. Asoc. Quim. Argent.**, v. 70, n. 3-4, p. 64-79, 1982.
- SWAMINATHAN, C.; RAÍ, R S .V.; SURESH, K. K. Allelopathic proclivities of *Acacia nilotica* (L) WILLD ex Del. **Journal of Tropical Forest Science**, v. 2, n. 1, p. 56-60, 1989.
- TACHI, M. *et al.* Manufacture of wood-cement boards IV. Cement-hardening inhibitory components of the Malasyan fast-growing tree, *Acacia mangium*. **Mokuzai Gakkaishi**, v. 35, n. 8, p. 731-735, 1989.
- TAPPI, G.; SPADA, A.; CAMERONI, R. Flavone pigments of the pollen of *Acacia dealbata*. **Gazzeta Chimica Italiana**, v. 85, p. 703-713, 1955.
- THIEME, H.; KHOGALI, A. Isolation of apigenin 6-8-Bis (C-β-D-glucopyranoside) from leaves of *Acacia farnesiana* . **Pharmazie**. Berlin, v. 29, n. 5, p. 352, 1974.
- \_\_\_\_\_. Über das Vorkommen von Flavonoiden und Gerbstoffen in den Blättern einiger afrikanischer *Acacia*-Arten. **Pharmazie**, v. 30, n. 11, p. 736-743, 1975.
- TINDALE, M. D.; ROUX, D. G. A Phytochemical survey of the Australian species of *Acacia*. **Phytochemistry**, v. 8, n. 9, p. 1713-1727, 1969.
- VALSAKUMARI, M. K. ; SULOCHANA, N. Chemical examination of *Acacia leucophloea*. **Journal Indian of Chemical Society**, v. 68, n.12, p. 673-674, 1991.
- VALSARAJ, R. *et al.* Antimicrobial screening of selected medicinal plants from India. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 58, p. 75-83, 1997.
- VOIRIN, B. ; BYET, C. ; FAVRE-BONVIN, J. Flavonoids from the flowers of *Acacia latifolia*. **Journal of Natural Products**, v. 49, n. 5, p. 943, 1986.

WASSEL, G. M. *et al.* Phytochemical examination and biological studies of *Acacia nilotica* L. Willd and *Acacia farnesiana* L. Willd growing in Egypt. **Egyptian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 33, n. 1-2, p. 327-340, 1992.

WHITE, E. P. Alkaloids of the Leguminosae. **J. Sci. Tech**, v. 25, section B, p. 93-114 e 137-162, 1943.

WOLLENWEBER, E.; SEIGLER, D.S. Flavonoids from the exsudate of *Acacia neovernicosa*. **Phytochemistry**, v.21, n. 5, p. 1063-1066, 1982.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. WHO/PHARM, n. 93.561, de Fevereiro de 1993. **Good Manufacturing Practices for Pharmaceutical Products**, 1993.

ZEIJLEMAKER, F. C. J. An exploratory study of the biosynthetic relationships of the flavonoids of *Acacia mearnsii*. **Extr. From Rep. Wattle Res. Inst. S. Afr.**, p. 52-56, 1965.

ZUANAZZI, J. A. Flavonóides. In: SIMÕES, C.M.O. *et al.* **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 2. ed. Florianópolis/Porto Alegre: UFSC/UFRS, p.499-525, 2001.

Fontes virtuais:

\_\_\_\_\_. Disponível em: << <http://www.dalie.com.au/farm/trees.htm> >> Consulta em 14/04/2002.

\_\_\_\_\_. **AUSTRALIAN PLANTS ON-LINE.** Disponível em: << <http://farrer.csu.edu.au/ASGAP/a-pod.html> >> Consulta em 17/04/2002.

WIERSEMA, J. H. **GRIN/NPGS TAXONOMY INFORMATION.** Disponível em: <<<http://www.ars-grin.gov/cgi-bin/npgs/html/taxon.pl?314667>>> Consulta em 17/04/2002.