



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: Química Orgânica

ROBERTO WAGNER DA SILVA GOIS

ESTUDO QUÍMICO E AVALIAÇÃO BIOLÓGICA DE *Bauhinia acuruana* Moric.

FORTALEZA

2014

ROBERTO WAGNER DA SILVA GOIS

ESTUDO QUÍMICO E AVALIAÇÃO BIOLÓGICA DE *Bauhinia acuruana* Moric.

Tese submetida à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Química.

Área de Concentração: Química Orgânica

Orientadora: Profa. Dra. Gilvandete Maria Pinheiro Santiago

FORTALEZA

2014

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

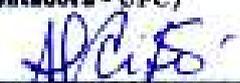
-
- G557e Gois, Roberto Wagner da Silva.
Estudo químico e avaliação biológica de *Bauhinia Acuruana* / Roberto Wagner da Silva Gois. –
2014.
217 f. : il. color., enc. ; 30 cm.
- Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Departamento de Química
Orgânica e Inorgânica, Programa de Pós-Graduação em Química, Fortaleza, 2014.
Área de Concentração: Química Orgânica.
Orientação: Profa. Dra. Gilvandete Maria Pinheiro Santiago.
1. *Bauhinia*. 2. Plantas medicinais. 3. Extrato vegetal. I. Título.

Esta Tese foi apresentada como parte dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Doutor em Química, área de concentração Química Orgânica, outorgado pela Universidade Federal do Ceará, e em cuja Biblioteca Central encontra-se à disposição dos interessados.


Roberto Wagner da Silva Gois

Tese aprovada em: 25/09/2014


Dra. Gilvandete Maria Pinheiro Santiago
(Orientadora - UFC)


Dra. Antonia Maria das Graças Lopes Citó
(UEPI)


Dra. Angela Martha Campos Arriaga
(UFC)


Dr. José Gilberto Martins da Costa
(URCA)


Dra. Telma Leda Gomes de Lemos
(UFC)

AGRADECIMENTOS

A Deus, o princípio e o fim de todas as coisas;

Aos meus pais Raimunda Nonata da Silva Gois e Pedro Leite Gois, que me ensinaram, desde muito cedo a valorizar os estudos e a ser perseverante;

Aos meus avós maternos Emília de Sousa Silva e Gonzaga Ferreira de Sousa (*in memoriam*) pelo amor, compreensão e incentivo irrestritos;

A minha esposa Ana Karoline de Oliveira Gois pela compreensão, dedicação e paciência durante a árdua trajetória da pós-graduação;

À professora Gilvandete Maria Pinheiro Santiago pela sua atenção, orientação, paciência e exemplo de competência e dedicação;

A todos os professores da pós-graduação em Química da UFC, em especial professora Telma, professor Chico Monte, professora Mary Anne e professor Marcos Carlos de Mattos pelos ensinamentos e incentivo;

À Antônia Torres Ávila Pimenta, atualmente, professora vinculada ao Departamento de Química da UFC, pelo apoio, amizade e incentivo;

Ao professor Raimundo Braz Filho (Dr. Braz), a quem tive o privilégio de conhecer pessoalmente, pela confirmação e elucidação estrutural de algumas substâncias;

Aos colegas de laboratório Leôncio, Michele, Jarbas, Erivaldo, Horlando e Valdeline pela amizade e companheirismo.

RESUMO

O presente trabalho relata a investigação química das raízes, do caule e das folhas de *Bauhinia acuruana*. Nesse estudo foram obtidos os extratos em hexano, em acetato de etila e em metanol das folhas e os extratos em etanol das raízes e do caule. O fracionamento cromatográfico destes extratos permitiu o isolamento dos sesquiterpenos 1β , 6α -diidróxi-4 (14)-eudesmeno (**BA-1**), aromadendrano- 4β , 10α -diol (**BA-2**); do esteroide sitosterol glicosilado (**BA-4**); dos bibenzis 2-hidroxi-2',3',5'-trimetoxibibenzila (**BA-5**) e 2-hidroxi-3',5'-dimetoxibibenzila (**BA-6**); dos derivados oxepínicos pacharina (**BA-7**) e bauhiniastatina 1 (**BA-8**); dos flavonoides quercitrina (**BA-3**), (-)-fisetinidol (**BA-9**), (2*R*, 3*S*)-2-(3',4'-diidroxifenil)-5-metoxicromano-3,7-diol (**BA-10**), (2*R*, 3*S*)-2-(3',4'-diidroxifenil)-5-metoxi-6-metilcromano-3,7-diol (**BA-11**) e astilbina (**BA-13**); bem como da mistura dos esteroides sitosterol e estigmasterol (**BA-12**). Cabe ressaltar que os metabólitos secundários **BA-1** e **BA-2** são inéditos no gênero, enquanto **BA-5** e **BA-11** são inéditos na literatura e **BA-10** é inédito como produto natural. As estruturas dos compostos foram elucidadas através de técnicas espectroscópicas (IV, RMN 1D e 2D), espectrometria de massas e comparação com dados descritos na literatura. Os extratos em etanol das raízes e dos caules foram submetidos a testes de atividade antioxidante, apresentando atividades significativas nas concentrações de 0,1 mg/mL e 1,0 mg/mL. **BA-7** foi avaliado quanto à sua atividade larvicida sobre *Aedes aegypti* e apresentou valor de CL_{50} igual a $78,9 \pm 1,8$ μ g/mL. Por outro lado, **BA-5**, **BA-7**, **BA-8**, **BA-9**, **BA-10** e **BA-11** foram submetidos à avaliação de atividade citotóxica frente a seis linhagens tumorais (HCT 116, SF 295, OVCAR, MCF-7, NCIH292 e HL60). **BA-5**, **BA-7** e **BA-8** apresentaram atividade citotóxica significativa.

Palavras-chave: *Bauhinia acuruana*, 2-hidroxi-2',3',5'-trimetoxibibenzila, (2*R*, 3*S*)-2-(3',4'-diidroxifenil)-5-metoxi-6-metilcromano-3,7-diol e (2*R*, 3*S*)-2-(3',4'-diidroxifenil)-5-metoxicromano-3,7-diol.

ABSTRACT

The present work reports the chemical research of the roots, stem and leaves from *Bauhinia acuruana*. In this study were obtained the extracts in hexane, ethyl acetate and methanol of the leaves and ethanol extracts of the roots and stems. The chromatographic fractionation of extracts allowed the isolation of sesquiterpenes 1β , 6α -dihydroxy 4-(14)-eudesmene (**BA-1**) and aromadendrane- 4β , 10α -diol (**BA-2**); the steroid glycosylated sitosterol (**BA-4**); the bibenzyls 2-hydroxy-2',3',5'-trimethoxybybenzyl (**BA-5**) and 2-hydroxy-3',5'-dimethoxybybenzyl (**BA-6**); the oxepin derivatives pacharin (**BA-7**) and bauhiniastatin 1 (**BA-8**); the flavonoids quercitrin (**BA-3**), (-)-fisetinidol (**BA-9**), (2*R*, 3*S*)-2-(3',4'-dihydroxyphenyl)-5-methoxycroman-3,7-diol (**BA-10**), (2*R*,3*S*)-2-(3',4'-dihydroxyphenyl)-5-methoxy-6-methylcroman-3,7-diol (**BA-11**) and astilbin (**BA-13**), as well as the steroidal mixture sitosterol and stigmasterol (**BA-12**). It is worth noting that the secondary metabolites **BA-1** and **BA-2** are unprecedented in the genus, while **BA-5** and **BA-11** unprecedented in the literature and **BA-10** unpublished as natural product. The structures of the compounds were elucidated through spectroscopic techniques (IR, NMR 1D and 2D), mass spectrometry and comparison with data reported in literature. Ethanol extracts of the roots and of the stems were evaluated for antioxidant activity, showing significant activity at concentrations of 0.1 mg/mL and 1.0 mg/mL, respectively. **BA-7** was evaluated for its larvicidal activity against *Aedes aegypti* and presented LC_{50} value of $78.9 \pm 1.8 \mu\text{g/mL}$. In addition, **BA-5**, **BA-7**, **BA-8**, **BA-9**, **BA-10** and **BA-11** were submitted to evaluation of cytotoxic activity and **BA-5**, **BA-7** and **BA-8** presented significant cytotoxic activity.

Keywords: *Bauhinia acuruana*; 2-hydroxy-2',3',5'- trimethoxybybenzyl; (2*R*,3*S*)-2-(3',4'-dihydroxyphenyl)-5-methoxy-6-methylcroman-3,7-diol and (2*R*,3*S*)-2-(3',4'-dihydroxyphenyl)-5-methoxycroman-3,7-diol.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

| | | |
|-----------|--|----|
| Figura 1 | – Principais vias do metabolismo secundário e suas interligações..... | 26 |
| Figura 2 | – Esquema representativo da redução do radical livre DPPH pelo flavonoide quercetina..... | 28 |
| Figura 3 | – Foto de folhas e caules de <i>Bauhinia acuruana</i> | 40 |
| Figura 4 | – Foto de folhas e caules de <i>Bauhinia acuruana</i> | 40 |
| Figura 5 | – Espectro na região do IV de BA-1 (em KBr)..... | 46 |
| Figura 6 | – Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) de BA-1..... | 46 |
| Figura 7 | – Espectro de RMN ^{13}C – BB (75 MHz, CDCl_3) de BA-1..... | 47 |
| Figura 8 | – Espectro de RMN ^{13}C – DEPT 135° (75 MHz, CDCl_3) de BA-1..... | 47 |
| Figura 9 | – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HSQC de BA-1..... | 48 |
| Figura 10 | – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC de BA-1..... | 48 |
| Figura 11 | – Subestrutura 1..... | 43 |
| Figura 12 | – Subestrutura 2..... | 44 |
| Figura 13 | – Subestrutura 3..... | 44 |
| Figura 14 | – Estrutura de $1\beta, 6\alpha$ -dihidroxi-4-(14)-eudesmeno..... | 45 |
| Figura 15 | – Espectro na região do IV de BA-2 (em KBr)..... | 54 |
| Figura 16 | – Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) de BA-2..... | 54 |
| Figura 17 | – Espectro de RMN ^{13}C – BB (75 MHz, CDCl_3) de BA-2..... | 55 |
| Figura 18 | – Espectro de RMN ^{13}C – DEPT 135° (75 MHz, CDCl_3) de BA-2..... | 55 |
| Figura 19 | – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HSQC de BA-2..... | 56 |
| Figura 20 | – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC de BA-2..... | 56 |
| Figura 21 | – Subestrutura 4..... | 50 |
| Figura 22 | – Espectro bidimensional de correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ – COSY de BA-2..... | 57 |
| Figura 23 | – Subestrutura 5..... | 50 |

| | | |
|-----------|---|----|
| Figura 24 | – Subestrutura 6..... | 51 |
| Figura 25 | – Subestrutura 7..... | 51 |
| Figura 26 | – Estrutura de BA-2..... | 52 |
| Figura 27 | – Estrutura de aromadendrano-4 β ,10 α -diol..... | 52 |
| Figura 28 | – Espectro na região do IV de BA-3 (em KBr)..... | 64 |
| Figura 29 | – Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CD_3OD) de BA-3..... | 64 |
| Figura 30 | – Espectro de RMN ^{13}C – BB (125 MHz, CD_3OD) de BA-3..... | 65 |
| Figura 31 | – Espectro de RMN ^{13}C – DEPT 135 $^\circ$ (125 MHz, CD_3OD) de BA-3.. | 65 |
| Figura 32 | – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HSQC de BA-3..... | 66 |
| Figura 33 | – Espectro bidimensional de correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ – COSY de BA-3..... | 66 |
| Figura 34 | – Subestruturas 8 e 9..... | 60 |
| Figura 35 | – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC de BA-3..... | 67 |
| Figura 36 | – Subestrutura 10..... | 60 |
| Figura 37 | – Subestrutura 11..... | 61 |
| Figura 38 | – Esqueleto flavonoídico de BA-3..... | 61 |
| Figura 39 | – Estrutura da quercitrina..... | 62 |
| Figura 40 | – Espectro de RMN ^1H (500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de BA-4..... | 70 |
| Figura 41 | – Espectro de RMN ^{13}C – BB (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de BA-4..... | 71 |
| Figura 42 | – Espectro de RMN ^{13}C – DEPT 135 $^\circ$ (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de BA-4... | 71 |
| Figura 43 | – Estrutura de sitosterol glicosilado..... | 69 |
| Figura 44 | – Espectro de massas de alta resolução de BA-5..... | 77 |
| Figura 45 | – Espectro na região do IV de BA-5 (em KBr)..... | 77 |
| Figura 46 | – Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) de BA-5..... | 78 |
| Figura 47 | – Espectro de RMN ^{13}C – BB (75 MHz, CDCl_3) de BA-5..... | 78 |
| Figura 48 | – Espectro de RMN ^{13}C – DEPT 135 $^\circ$ (75 MHz, CDCl_3) de BA-5..... | 79 |
| Figura 49 | – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HSQC de BA-5..... | 79 |

| | | |
|-----------|--|----|
| Figura 50 | – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC de BA-5..... | 80 |
| Figura 51 | – Subestrutura 12..... | 74 |
| Figura 52 | – Subestrutura 13..... | 74 |
| Figura 53 | – Estrutura de BA-5..... | 74 |
| Figura 54 | – Proposta mecanística para alguns fragmentos de massas de BA-5..... | 75 |
| Figura 55 | – Estrutura de 2-hidroxi-2',3',5'-trimetoxibenzila..... | 75 |
| Figura 56 | – Espectro na região do IV de BA-6 (em KBr)..... | 84 |
| Figura 57 | – Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) de BA-6..... | 85 |
| Figura 58 | – Espectro de RMN ^{13}C – BB (75 MHz, CDCl_3) de BA-6..... | 85 |
| Figura 59 | – Espectro de RMN ^{13}C – DEPT 135° (75 MHz, CDCl_3) de BA-6..... | 86 |
| Figura 60 | – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HSQC de BA-6..... | 86 |
| Figura 61 | – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC de BA-6..... | 87 |
| Figura 62 | – Subestrutura 14..... | 82 |
| Figura 63 | – Estrutura de 2-hidroxi-3',5'-dimetoxibenzila..... | 83 |
| Figura 64 | – Espectro na região do IV de BA-7 (em KBr)..... | 92 |
| Figura 65 | – Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CD_3OD) de BA-7..... | 92 |
| Figura 66 | – Espectro de RMN ^{13}C – BB (125 MHz, CD_3OD) de BA-7..... | 93 |
| Figura 67 | – Espectro de RMN ^{13}C – DEPT 135° (125 MHz, CD_3OD) de BA-7.. | 93 |
| Figura 68 | – Esqueleto básico de derivado oxepínico..... | 89 |
| Figura 69 | – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HSQC de BA-7..... | 94 |
| Figura 70 | – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC de BA-7..... | 94 |
| Figura 71 | – Correlações de HMBC para BA-7..... | 90 |
| Figura 72 | – Estrutura da pacharina..... | 90 |
| Figura 73 | – Espectro na região do IV de BA-8 (em KBr)..... | 98 |
| Figura 74 | – Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de BA-8..... | 99 |

| | | |
|-----------|--|-----|
| Figura 75 | – Espectro de RMN ^{13}C – BB (125 MHz, CDCl_3) de BA-8..... | 99 |
| Figura 76 | – Esqueleto básico de BA-8..... | 96 |
| Figura 77 | – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HSQC de BA-8..... | 100 |
| Figura 78 | – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC de BA-8..... | 100 |
| Figura 79 | – Correlações de HMBC de BA-8..... | 97 |
| Figura 80 | – Estrutura de bauhiniastatina 1..... | 97 |
| Figura 81 | – Cromatograma da CLAE referente à fração (35 a 60) da coluna EERBA (22 a 24) (236 a 289) (4 a 6) (100 a 131)..... | 106 |
| Figura 82 | – Espectro de massas de alta resolução de BA-9..... | 106 |
| Figura 83 | – Espectro na região do IV de BA-9 (em KBr)..... | 107 |
| Figura 84 | – Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CD_3OD) de BA-9..... | 107 |
| Figura 85 | – Espectro de RMN ^{13}C – BB (75 MHz, CD_3OD) de BA-9..... | 108 |
| Figura 86 | – Espectro de RMN ^{13}C – DEPT 135° (75 MHz, CD_3OD) de BA-9.... | 108 |
| Figura 87 | – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HSQC de BA-9..... | 109 |
| Figura 88 | – Esqueleto básico de uma flavana-3-ol..... | 102 |
| Figura 89 | – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC de BA-9..... | 109 |
| Figura 90 | – Correlações de HMBC de BA-9..... | 103 |
| Figura 91 | – Espectro bidimensional de correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - NOESY de BA-9..... | 110 |
| Figura 92 | – Correlações de NOESY de BA-9..... | 103 |
| Figura 93 | – Estrutura de (-)-fisetinidol..... | 104 |
| Figura 94 | – Espectro de massas de alta resolução de BA-10..... | 116 |
| Figura 95 | – Espectro na região do IV de BA-10 (em KBr)..... | 116 |
| Figura 96 | – Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CD_3OD) de BA-10..... | 117 |
| Figura 97 | – Espectro de RMN ^{13}C – BB (125 MHz, CD_3OD) de BA-10..... | 117 |
| Figura 98 | – Espectro de RMN ^{13}C – DEPT 135° (125 MHz, CD_3OD) de BA-10 | 118 |
| Figura 99 | – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - | |

| | | |
|------------|---|-----|
| | HSQC de BA-10..... | 118 |
| Figura 100 | – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC de BA-10..... | 119 |
| Figura 101 | – Correlações de HMBC de BA-10..... | 113 |
| Figura 102 | – Espectro bidimensional de correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - NOESY de BA-10..... | 119 |
| Figura 103 | – Correlações de NOESY de BA-10..... | 113 |
| Figura 104 | – Estrutura de (2 <i>R</i> ,3 <i>S</i>)-2-(3',4'-diidroxifenil)-5-metoxicromano-3,7-diol..... | 114 |
| Figura 105 | – Espectro de massas de alta resolução de BA-11..... | 124 |
| Figura 106 | – Espectro na região do IV de BA-10 (em KBr)..... | 124 |
| Figura 107 | – Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CD_3OD) de BA-11..... | 125 |
| Figura 108 | – Espectro de RMN ^{13}C – BB (75 MHz, CD_3OD) de BA-11..... | 125 |
| Figura 109 | – Espectro de RMN ^{13}C – DEPT 135° (75 MHz, CD_3OD) de BA-11.. | 126 |
| Figura 110 | – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HSQC de BA-11..... | 126 |
| Figura 111 | – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HMBC de BA-11..... | 127 |
| Figura 112 | – Subestrutura 15..... | 122 |
| Figura 113 | – Espectro bidimensional de correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - NOESY de BA-11..... | 127 |
| Figura 114 | – Correlações de NOESY de BA-11..... | 122 |
| Figura 115 | – Estrutura de (2 <i>R</i> , 3 <i>S</i>)-2-(3,4'-diidroxifenil)-5-metoxi-6-metilcromano-3,7-diol..... | 123 |
| Figura 116 | – Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) de BA-12..... | 130 |
| Figura 117 | – Espectro de RMN ^{13}C – BB (75 MHz, CDCl_3) de BA-12..... | 130 |
| Figura 118 | – Espectro de RMN ^{13}C – DEPT 135° (75 MHz, CDCl_3) de BA-12.... | 131 |
| Figura 119 | – Estruturas de sitosterol e estigmasterol..... | 128 |
| Figura 120 | – Espectro na região do IV de BA-13 de BA-13 (em KBr)..... | 136 |
| Figura 121 | – Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CD_3OD) de BA-13..... | 136 |
| Figura 122 | – Espectro de RMN ^{13}C - BB de BA-13 (125 MHz, CD_3OD) de BA- | |

| | | |
|---------------|--|-----|
| | 13..... | 137 |
| Figura 123 | – Espectro de RMN ¹³ C – DEPT 135° (125 MHz, CD ₃ OD) de BA-13 | 137 |
| Figura 124 | – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear ¹ H x ¹³ C - HSQC de BA-13..... | 138 |
| Figura 125 | – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear ¹ H x ¹³ C - HMBC de BA-13..... | 138 |
| Figura 126 | – Correlação do hidrogênio anomérico da ramnose com a aglicona..... | 134 |
| Figura 127 | – Estrutura de astilbina..... | 134 |
| Figura 128 | – Compostos isolados de <i>Bauhinia acuruana</i> | 202 |
| Fluxograma 1 | – Obtenção dos extratos das folhas de <i>B. acuruana</i> | 147 |
| Fluxograma 2 | – Fracionamento cromatográfico de EHFBA (1) e isolamento de BA-1..... | 154 |
| Fluxograma 3 | – Fracionamento cromatográfico de EHFBA (2) e isolamento de BA-2 continua..... | 160 |
| Fluxograma 4 | – Fracionamento cromatográfico de EAFBA e isolamento de BA-3.. | 167 |
| Fluxograma 5 | – Fracionamento cromatográfico de EAFBA e isolamento de BA-4.. | 171 |
| Fluxograma 6 | – Fracionamento cromatográfico de EERBA e isolamento de BA-5.. | 177 |
| Fluxograma 7 | – Fracionamento cromatográfico de EERBA e isolamento de BA-6.. | 179 |
| Fluxograma 8 | – Fracionamento cromatográfico de EERBA e isolamento de BA-12 | 183 |
| Fluxograma 9 | – Fracionamento cromatográfico de EERBA e isolamento de BA-7.. | 186 |
| Fluxograma 10 | – Fracionamento cromatográfico de EERBA e isolamento de BA-8.. | 189 |
| Fluxograma 11 | – Fracionamento cromatográfico de EERBA (22 a 24) e isolamento de BA-9, BA-10 e BA-11..... | 193 |
| Fluxograma 12 | – Fracionamento cromatográfico de EECBA e isolamento de BA-13 | 197 |

| | | |
|-------------|--|----|
| Gráfico 1 – | Trabalhos publicados sobre atividade antioxidante de extratos e/ou compostos isolados de plantas do gênero <i>Bauhinia</i> no período de 1988 a julho de 2014..... | 29 |
| Gráfico 2 – | Trabalhos publicados sobre atividade antioxidante de extratos e/ou compostos isolados de diferentes espécies do gênero <i>Bauhinia</i> no período de 1988 a julho de 2014..... | 30 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|---------------------------|---|
| ATP | Trifosfato de Adenosina |
| BB | Broad Band |
| CCD | Cromatografia em Camada Delgada |
| CENAUREMN | Centro Nordeste de Aplicação e Uso da Ressonância Magnética Nuclear |
| CL₅₀ | Concentração Letal 50% |
| CLAE | Cromatografia Líquida de Alta Eficiência |
| COSY | Correlation Spectroscopy |
| D | Dubleto |
| DDPH | 2,2-difenil-1-picrilhidrazil |
| DEPT | Distortionless Enhancement by Polarization Transfer |
| DMEN | Dulbecco's Modified Eagle's Medium |
| DMSO | Dimetilsulfóxido |
| EECBA | Extrato em etanol do caule de <i>B. acuruana</i> |
| EERBA | Extrato em etanol das raízes de <i>B. acuruana</i> |
| EHFBA | Extrato em hexano das folhas de <i>B. acuruana</i> |
| EM | Espectrometria de massas |
| HMBC | Heteronuclear Multiple Bond Connectivity |
| HSQC | Heteronuclear Single Quantum Coherence |
| IDH | Índice de Deficiência de Hidrogênio |
| IV | Infravermelho |
| MTT | Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium |
| PGA | Ácido Fosfoglicérico |
| ppm | Partes por milhão |
| RMN ¹³C | Ressonância Magnética Nuclear de Carbono-13 |
| RMN ¹H | Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio |
| rpm | Rotação por minuto |
| RPMI | Meio Roswell Park Memorial Institute |
| S | Singleto |

SI Singleto largo

LISTA DE SÍMBOLOS

Φ Diâmetro
 $[\alpha]_D^T$ Rotação óptica específica
 J Constante de acoplamento
 L Comprimento
 δ Deslocamento químico

LISTA DE TABELAS

| | | |
|-----------|--|-----|
| Tabela 1 | – Substâncias isoladas do gênero <i>Bauhinia</i> com atividade anti-câncer..... | 34 |
| Tabela 2 | – Dados taxonômicos de <i>Bauhinia acuruana</i> | 39 |
| Tabela 3 | – Dados de RMN ¹³ C de BA-1 com padrão de hidrogenação..... | 43 |
| Tabela 4 | – Dados espectroscópicos de RMN de BA-1 comparados com os dados descritos na literatura (MOUJIR <i>et al.</i> , 2011) para 1 β , 6 α -diidroxio-4 (14) eudesmeno..... | 45 |
| Tabela 5 | – Dados de RMN ¹³ C de BA-2 com padrão de hidrogenação..... | 49 |
| Tabela 6 | – Dados espectroscópicos de RMN de BA-2 comparados com os dados descritos na literatura (MEIRA <i>et al.</i> , 2008) para aromadendrano-4 β ,10 α -diol..... | 53 |
| Tabela 7 | – Dados de RMN ¹³ C de BA-3 com padrão de hidrogenação..... | 59 |
| Tabela 8 | – Dados espectroscópicos de RMN de BA-3 comparados com os dados descritos na literatura (SLOWING <i>et al.</i> , 1994) para 3-O-ramnosídeo-quercetina..... | 63 |
| Tabela 9 | – Dados espectroscópicos de RMN de BA-4 comparados com os dados descritos na literatura (LEND <i>et al.</i> , 2005) para o sitosterol glicosilado.. | 69 |
| Tabela 10 | – Dados de RMN ¹³ C de BA-5 com padrão de hidrogenação..... | 73 |
| Tabela 11 | – Dados espectroscópicos de RMN de BA-5 (2-hidroxi-2',3',5'-trimetoxibenzila)..... | 76 |
| Tabela 12 | – Dados de RMN ¹³ C de BA-6 com padrão de hidrogenação..... | 82 |
| Tabela 13 | – Dados espectroscópicos de RMN de BA-6 comparados com a literatura (TAKASUGI <i>et al.</i> , 1987) para 2-hidroxi-3',5'-dimetoxibenzila..... | 84 |
| Tabela 14 | – Dados de RMN ¹³ C de BA-7 com padrão de hidrogenação..... | 89 |
| Tabela 15 | – Dados espectroscópicos de RMN de BA-7 comparados com os dados descritos na literatura (PETTIT <i>et al.</i> , 2006) para pacharina..... | 91 |
| Tabela 16 | – Dados de RMN ¹³ C de BA-8 com padrão de hidrogenação..... | 96 |
| Tabela 17 | – Dados espectroscópicos de RMN de BA-8 comparados com os dados descritos na literatura (PETTIT <i>et al.</i> , 2006) para bauhiniastatina 1..... | 98 |
| Tabela 18 | – Dados de RMN ¹³ C de BA-9 com padrão de hidrogenação..... | 102 |

| | |
|---|-----|
| Tabela 19 – Dados espectroscópicos de RMN de BA-9 comparados com os dados descritos na literatura (IMAI <i>et al.</i> , 2008) para (-)-fisetidinol..... | 105 |
| Tabela 20 – Dados de RMN ¹³ C de BA-10 com padrão de hidrogenação..... | 112 |
| Tabela 21 – Dados espectroscópicos de RMN de BA-10 comparados com os dados descritos na literatura (CREN-OLIVER; LEBRUN; ROLANDO, 2002) para (2 <i>R</i> , 2 <i>S</i>)-2-(3',4'-diidroxifenil)-5-metoxicromano-3,7-diol..... | 115 |
| Tabela 22 – Dados de RMN ¹³ C de BA-11 com padrão de hidrogenação..... | 121 |
| Tabela 23 – Dados espectroscópicos de RMN de (2 <i>R</i> , 2 <i>S</i>)-2-(3',4'-diidroxifenil)-5-metoxi-6-metilcromano-3,7-diol..... | 123 |
| Tabela 24 – Dados espectroscópicos de RMN de BA-12 comparados com os dados descritos na literatura (GOULART <i>et al.</i> , 1993) para a mistura dos esteroides sitosterol e estigmasterol..... | 129 |
| Tabela 25 – Dados de RMN ¹³ C de BA-13 com padrão de hidrogenação..... | 133 |
| Tabela 26 – Dados espectroscópicos de RMN de BA-13 comparados com a literatura (HUANG <i>et al.</i> , 2011) para astilbina..... | 135 |
| Tabela 27 – Percentual de redução do DPPH e IC ₅₀ dos extratos em etanol do caule e das raízes de <i>B. acuruana</i> | 139 |
| Tabela 28 – Concentração inibitória 50% (CI ₅₀) e intervalo de confiança (IC) das amostras testadas em células HCT116 (carcinoma de cólon), SF295 (glioblastoma), OVCAR (carcinoma de ovário), MCF-7 (carcinoma de mama), NCIH292 (carcinoma de pulmão) e HL60 (leucemia promielocítica)..... | 140 |
| Tabela 29 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EHFBA..... | 148 |
| Tabela 30 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EHFBA..... | 148 |
| Tabela 31 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EHFBA (1)..... | 149 |
| Tabela 32 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EHFBA (1)..... | 149 |
| Tabela 33 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EHFBA (1) (46 a 58)..... | 150 |
| Tabela 34 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EHFBA (1) (46 a 58)..... | 151 |

| | |
|--|-----|
| Tabela 35 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EHFBA (1) (46 a 58) (67 a 183)..... | 151 |
| Tabela 36 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EHFBA (1) (46 a 58) (67 a 183)..... | 152 |
| Tabela 37 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EHFBA (1) (46 a 58) (67 a 183) (141 a 175)..... | 152 |
| Tabela 38 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EHFBA (1) (46 a 58) (67 a 183) (141 a 175)..... | 153 |
| Tabela 39 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EHFBA (1) (46 a 58) (67 a 183) (141 a 175) (186 a 242)..... | 153 |
| Tabela 40 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EHFBA (2)..... | 155 |
| Tabela 41 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EHFBA (2)..... | 155 |
| Tabela 42 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EHFBA (2) (19 a 22)..... | 156 |
| Tabela 43 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EHFBA (2) (19 a 22) (14 a 27)..... | 156 |
| Tabela 44 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EHFBA (2) (19 a 22) (14 a 27) (15 a 22)..... | 157 |
| Tabela 45 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EHFBA (2) (19 a 22) (14 a 27) (15 a 22)..... | 157 |
| Tabela 46 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EHFBA (2) (19 a 22) (14 a 27) (15 a 22) (48 a 52)..... | 158 |
| Tabela 47 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EHFBA (2) (19 a 22) (14 a 27) (15 a 22) (48 a 52) (40 a 62)..... | 158 |
| Tabela 48 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EAFBA..... | 162 |
| Tabela 49 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EAFBA..... | 162 |
| Tabela 50 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EAFBA (23)..... | 163 |
| Tabela 51 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EAFBA (23)..... | 163 |
| Tabela 52 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EAFBA (23) (17 a 18)..... | 164 |
| Tabela 53 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EAFBA (23) (17 | |

| | |
|--|-----|
| a 18)..... | 164 |
| Tabela 54 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EAFBA (23) (17 a 18) (51 a 80)..... | 165 |
| Tabela 55 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EAFBA (23) (17 a 18) (51 a 80)..... | 165 |
| Tabela 56 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EAFBA (23) (17 a 18) (51 a 80) (96 a 118)..... | 166 |
| Tabela 57 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EAFBA (23) (19 a 20)..... | 168 |
| Tabela 58 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EAFBA (23) (19 a 20)..... | 168 |
| Tabela 59 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EAFBA (23) (19 a 20) (45 a 55)..... | 169 |
| Tabela 60 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EAFBA (23) (19 a 20) (45 a 55) (8 a 27)..... | 169 |
| Tabela 61 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EAFBA (23) (19 a 20) (45 a 55) (8 a 27)..... | 170 |
| Tabela 62 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EERBA..... | 172 |
| Tabela 63 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EERBA..... | 173 |
| Tabela 64 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EERBA (14 a 15)..... | 173 |
| Tabela 65 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EERBA (14 a 15)..... | 174 |
| Tabela 66 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EERBA (14 a 15)..... | 174 |
| Tabela 67 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EERBA (14 a 15) (235 a 285)..... | 175 |
| Tabela 68 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EERBA (14 a 15) (235 a 285) (105 a 165)..... | 175 |
| Tabela 69 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EERBA (14 a 15) (235 a 285) (105 a 165)..... | 176 |

| | |
|---|-----|
| Tabela 70 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EERBA (14 a 15) (235 a 285) (71 a 104)..... | 178 |
| Tabela 71 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EERBA (14 a 15) (235 a 285) (71 a 104)..... | 178 |
| Tabela 72 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EERBA (16 a 18)..... | 180 |
| Tabela 73 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EERBA (16 a 18)..... | 180 |
| Tabela 74 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EERBA (16 a 18) (54 a 118)..... | 181 |
| Tabela 75 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EERBA (16 a 18) (54 a 118)..... | 182 |
| Tabela 76 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EERBA (16 a 18) (54 a 118) (297 a 354)..... | 184 |
| Tabela 77 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EERBA (16 a 18) (54 a 118) (297 a 354)..... | 184 |
| Tabela 78 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EERBA (16 a 18) (54 a 118) (297 a 354) (202 a 249)..... | 185 |
| Tabela 79 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EERBA (16 a 18) (54 a 118) (297 a 354) (202 a 249)..... | 185 |
| Tabela 80 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EERBA (22 a 24)..... | 187 |
| Tabela 81 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EERBA (22 a 24)..... | 187 |
| Tabela 82 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EERBA (22 a 24) (39 a 117)..... | 188 |
| Tabela 83 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EERBA (22 a 24) (39 a 117)..... | 188 |
| Tabela 84 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EERBA (22 a 24) (39 a 117) (38 a 64)..... | 189 |
| Tabela 85 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EERBA (22 a | |

| | | |
|-------------|---|-----|
| | 24) (236 a 289)..... | 190 |
| Tabela 86 – | Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EERBA (22 a 24) (236 a 289)..... | 190 |
| Tabela 87 – | Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EERBA (22 a 24) (236 a 289) (4 a 6)..... | 191 |
| Tabela 88 – | Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EERBA (22 a 24) (236 a 289) (4 a 6)..... | 191 |
| Tabela 89 – | Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EERBA (22 a 24) (236 a 289) (100 a 131)..... | 192 |
| Tabela 90 – | Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EECBA..... | 194 |
| Tabela 91 – | Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EECBA..... | 195 |
| Tabela 92 – | Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EECBA (37).... | 195 |
| Tabela 93 – | Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EECBA (37).... | 196 |
| Tabela 94 – | Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EECBA (37) (88 a 97)..... | 196 |
| Tabela 95 – | Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EECBA (37) (88 a 97)..... | 197 |
| Tabela 96 – | Linhagens de células utilizadas no ensaio de citotoxicidade <i>in vitro</i> por meio do teste do MTT..... | 200 |

SUMÁRIO

| | | |
|--------|---|-----|
| 1 | INTRODUÇÃO | 25 |
| 1.1 | Os metabólitos secundários..... | 25 |
| 1.2 | Atividade antioxidante..... | 27 |
| 1.2.1 | Compostos fenólicos como antioxidantes..... | 27 |
| 1.2.2 | Avaliação <i>in vitro</i> da atividade antioxidante..... | 28 |
| 1.2.3 | Atividade antioxidante de plantas do gênero <i>Bauhinia</i> | 29 |
| 1.3 | Atividade larvicida sobre <i>Aedes aegypti</i> | 31 |
| 1.4 | O câncer..... | 32 |
| 1.4.1 | Substâncias isoladas do gênero <i>Bauhinia</i> com atividade anti-câncer..... | 33 |
| 1.5 | A família Fabaceae..... | 37 |
| 1.5.1 | A subfamília Caesalpinioideae..... | 38 |
| 1.5.2 | Considerações botânicas sobre o gênero <i>Bauhinia</i> | 38 |
| 1.5.3 | Considerações botânicas sobre a espécie <i>Bauhinia acuruana</i> | 39 |
| 2 | OBJETIVOS | 41 |
| 2.1 | Objetivo geral..... | 41 |
| 2.2 | Objetivos específicos..... | 41 |
| 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO | 42 |
| 3.1 | Determinação estrutural dos constituintes isolados..... | 42 |
| 3.1.1 | Determinação estrutural de BA-1..... | 42 |
| 3.1.2 | Determinação estrutural de BA-2..... | 49 |
| 3.1.3 | Determinação estrutural de BA-3..... | 58 |
| 3.1.4 | Determinação estrutural de BA-4..... | 68 |
| 3.1.5 | Determinação estrutural de BA-5..... | 72 |
| 3.1.6 | Determinação estrutural de BA-6..... | 81 |
| 3.1.7 | Determinação estrutural de BA-7..... | 88 |
| 3.1.8 | Determinação estrutural de BA-8..... | 95 |
| 3.1.9 | Determinação estrutural de BA-9..... | 101 |
| 3.1.10 | Determinação estrutural de BA-10..... | 111 |

| | | |
|---------|--|-----|
| 3.1.11 | Determinação estrutural de BA-11..... | 120 |
| 3.1.12 | Determinação estrutural de BA-12..... | 128 |
| 3.1.13 | Determinação estrutural de BA-13..... | 132 |
| 3.2 | Ensaio de atividades biológicas..... | 139 |
| 3.2.1 | Avaliação da atividade antioxidante de EERBA e EECBA..... | 139 |
| 3.2.2 | Avaliação da atividade citotóxica <i>in vitro</i> de BA-5, BA-7, BA-8, BA-9, BA-10 e BA-11 frente a linhagens de células cancerígenas..... | 140 |
| 3.2.3 | Avaliação da atividade larvicida de BA-7 sobre <i>Aedes aegypti</i> | 141 |
| 4 | PARTE EXPERIMENTAL | 143 |
| 4.1 | Material vegetal..... | 143 |
| 4.2 | Métodos analíticos..... | 143 |
| 4.2.1 | Métodos cromatográficos..... | 143 |
| 4.2.1.2 | Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)..... | 144 |
| 4.2.3 | Métodos físicos de análise orgânica..... | 144 |
| 4.2.3.1 | Espectroscopia de absorção na região do Infravermelho..... | 145 |
| 4.2.3.2 | Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN)..... | 145 |
| 4.2.3.3 | Espectrometria de massas (EM)..... | 145 |
| 4.2.3.4 | Ponto de fusão..... | 146 |
| 4.2.3.5 | Rotação óptica específica..... | 146 |
| 4.3 | Estudo dos constituintes fixos dos caules de <i>Bauhinia acuruana</i> (1 ^a coleta)..... | 146 |
| 4.3.1 | Fracionamento cromatográfico de EHFBA..... | 148 |
| 4.3.1.2 | Fracionamento cromatográfico de EHFBA (1)..... | 148 |
| 4.3.1.3 | Fracionamento cromatográfico de EHFBA (1) (46 a 58)..... | 150 |
| 4.3.1.4 | Fracionamento cromatográfico de EAFBA (1) (46 a 58) (67 a 183)..... | 151 |
| 4.3.1.5 | Fracionamento cromatográfico de EAFBA (1) (46 a 58) (67 a 183) (141 a 175)..... | 152 |
| 4.3.1.6 | Fracionamento cromatográfico de EAFBA (1) (46 a 58) (67 a 183) (141 a 175) (186 a 242) e isolamento de BA-1..... | 153 |
| 4.3.2 | Fracionamento cromatográfico de EHFBA (2)..... | 155 |

| | | |
|---------|---|-----|
| 4.3.2.1 | Fracionamento cromatográfico de EHFBA (2) (19 a 22)..... | 156 |
| 4.3.2.2 | Fracionamento cromatográfico de EHFBA (2) (19 a 22) (14 a 27)..... | 156 |
| 4.3.2.3 | Fracionamento cromatográfico de EHFBA (2) (19 a 22) (14 a 27) (15 a 22)..... | 157 |
| 4.3.2.4 | Fracionamento cromatográfico de EHFBA (2) (19 a 22) (14 a 27) (15 a 22) (48 a 52)..... | 157 |
| 4.3.2.5 | Fracionamento cromatográfico de EHFBA (2) (19 a 22) (14 a 27) (15 a 22) (48 a 52) (40 a 62) e isolamento de BA-2..... | 158 |
| 4.3.3 | Fracionamento cromatográfico de EAFBA..... | 162 |
| 4.3.3.1 | Fracionamento cromatográfico de EAFBA (23)..... | 163 |
| 4.3.3.2 | Fracionamento cromatográfico de EAFBA (23) (17 a 18)..... | 164 |
| 4.3.3.3 | Fracionamento cromatográfico de EAFBA (23) (17 a 18) (51 a 80)..... | 164 |
| 4.3.3.4 | Fracionamento cromatográfico de EAFBA (23) (17 a 18) (51 a 80) (96 a 118) e isolamento de BA-3..... | 165 |
| 4.3.4 | Fracionamento cromatográfico de EAFBA (23) (19 a 20)..... | 168 |
| 4.3.4. | Fracionamento cromatográfico de EAFBA (23) (19 a 20) (45 a 55)..... | 169 |
| 4.3.4.2 | Fracionamento cromatográfico de EAFBA (23) (19 a 20) (45 a 55) (8 a 27) e isolamento de BA-4..... | 169 |
| 4.4 | Estudo dos constituintes fixos das raízes <i>Bauhinia acuruana</i> Moric. (2ª coleta)..... | 172 |
| 4.4.1 | Fracionamento cromatográfico de EERBA..... | 172 |
| 4.4.2 | Fracionamento cromatográfico de EERBA (14 a 15)..... | 173 |
| 4.4.3 | Fracionamento cromatográfico de EERBA (14 a 15) (235 a 285)..... | 174 |
| 4.4.4 | Fracionamento cromatográfico de EERBA (14 a 15) (235 a 285) (105 a 165) e isolamento de BA-5..... | 175 |
| 4.4.5 | Fracionamento cromatográfico de EERBA (14 a 15) (235 a 285) (71 a 104) e isolamento de BA-6..... | 178 |
| 4.4.6 | Fracionamento cromatográfico de EERBA (16 a 18)..... | 180 |
| 4.4.6.1 | Fracionamento cromatográfico de EERBA (16 a 18) (54 a 118) e isolamento de BA-12..... | 181 |
| 4.4.6.2 | Fracionamento cromatográfico de EERBA (16 a 18) (54 a 118) (297 a | |

| | | |
|---------|--|-----|
| | 354)..... | 184 |
| 4.4.6.3 | Fracionamento cromatográfico de EERBA (16 a 18) (54 a 118) (297 a 354) (202 a 249) e isolamento de BA-7..... | 185 |
| 4.4.7 | Fracionamento cromatográfico de EERBA (22 a 24)..... | 187 |
| 4.4.7.1 | Fracionamento cromatográfico de EERBA (22 a 24) (39 a 117)..... | 187 |
| 4.4.7.2 | Fracionamento cromatográfico de EERBA (22 a 24) (39 a 117) (38 a 64) e isolamento de BA-8..... | 188 |
| 4.4.8 | Fracionamento cromatográfico de EERBA (22 a 24) (236 a 289)..... | 190 |
| 4.4.8.1 | Fracionamento cromatográfico de EERBA (22 a 24) (236 a 289) (4 a 6).... | 190 |
| 4.4.8.2 | Fracionamento cromatográfico de EERBA (22 a 24) (236 a 289) (4 a 6) (100 a 131) e isolamento de BA-9, BA-10 e BA-11..... | 191 |
| 4.5 | Estudo dos constituintes fixos dos caules de <i>Bauhinia acuruana</i> (2 ^a coleta)..... | 194 |
| 4.5.1 | Fracionamento cromatográfico de EECBA..... | 194 |
| 4.5.2 | Fracionamento cromatográfico de EECBA (37)..... | 195 |
| 4.5.3 | Fracionamento cromatográfico de EECBA (37) (88 a 97) e isolamento de BA-13..... | 196 |
| 4.6 | Ensaio de atividades biológicas..... | 198 |
| 4.6.1 | Avaliação da atividade antioxidante..... | 198 |
| 4.6.2 | Atividade citotóxica <i>in vitro</i> frente a linhagens de células cancerígenas..... | 199 |
| 4.6.2.1 | Atividade antiproliferativa em linhagens de células tumorais <i>in vitro</i> – teste do MTT..... | 199 |
| 4.6.3 | Atividade larvicida sobre <i>Aedes aegypti</i> | 200 |
| 5 | CONSIDERAÇÕES FINAIS | 201 |
| | REFERÊNCIAS | 203 |

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

Um dos vários benefícios que a natureza fornece à humanidade é provê-la de substâncias para o tratamento de suas patologias. Cerca de 80% da população mundial utiliza recursos terapêuticos advindos de fontes vegetais para os cuidados primários de saúde (RAHMAN *et al.*, 2011; CANGADHAR; SHRADDHA; CANESH, 2012). A utilização das plantas medicinais é considerada um dos mais antigos recursos comumente usados para o tratamento das enfermidades humanas por ser uma forma de baixo custo e fácil acesso e basear-se no conhecimento, na experiência e práticas da cultura de povos indígenas (KADIR; YAAKOB; ZULKIFLI, 2013).

Nesse contexto, as plantas do gênero *Bauhinia* têm sido frequentemente utilizadas para o tratamento de diferentes tipos de enfermidades, tais como, infecções, processos inflamatórios e principalmente diabetes (CECHINEL FILHO, 2009). Estudos experimentais têm comprovado a eficácia terapêutica de plantas do referido gênero e tais propriedades são atribuídas principalmente à presença de flavonoides (CECHINEL FILHO, 2009).

1.1 Os metabólitos secundários

A atividade metabólica é umas das características dos seres vivos. O metabolismo pode ser definido como um conjunto de reações químicas que ocorrem no interior da célula. Em se tratando de células vegetais, o metabolismo pode ser dividido em primário e secundário.

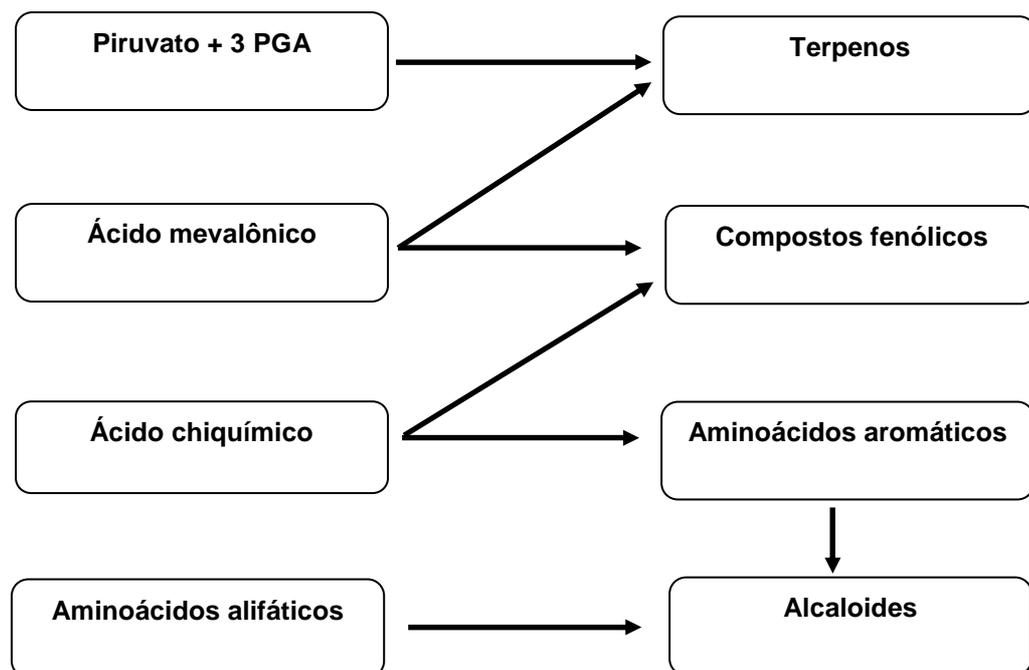
O metabolismo primário é entendido como o conjunto de processos metabólicos que desempenham uma função essencial nas plantas, tais como, a fotossíntese, a respiração e o transporte de solutos. Os compostos diretamente relacionados com o metabolismo primário apresentam uma distribuição universal nas plantas. Podemos citar como exemplos os aminoácidos, os nucleotídeos, os lipídios e os carboidratos (PERES, 2004).

Por outro lado, o metabolismo secundário é responsável pela origem de compostos que não apresentam distribuição universal, pois não são necessários para todas as plantas. Uma das conseqüências práticas é a utilização desses compostos em estudos taxonômicos. Como exemplo, podemos citar as antocianinas

e as betalainas, as quais não ocorrem conjuntamente em uma mesma espécie vegetal. Apesar do metabolismo secundário nem sempre seja necessário para que uma planta complete seu ciclo de vida, ele desempenha um papel importante na interação das plantas com o meio ambiente (PERES, 2004).

Os três grandes grupos de metabólitos secundários são os terpenos, os compostos fenólicos e os alcaloides. Os terpenos são originados no citoplasma a partir do ácido mevalônico ou do piruvato e ácido 3-fosfoglicérico (PGA), os compostos fenólicos derivam do ácido chiquímico ou do ácido mevalônico e os alcaloides são derivados de aminoácidos aromáticos (triptofano e tirosina) que por sua vez procedem do ácido chiquímico, e também de aminoácidos alifáticos (PERES, 2004). A Figura 1 mostra as principais vias do metabolismo secundário e suas interligações.

Figura 1 – Principais vias do metabolismo secundário e suas interligações



1.2 Atividade antioxidante

A respiração celular e o conseqüente consumo de oxigênio impõem vantagem metabólica sobre a vida anaeróbica porque a oxidação de combustíveis moleculares como glicose, ácidos graxos, pode ser completa e produzir quantidades consideráveis de energia livre que são convertidas em ATP. Entretanto subprodutos reativos e potencialmente tóxicos conhecidos como radicais livres são gerados desse processo bioquímico (AUGUSTO, 2006).

Os radicais livres são moléculas com um elétron desemparelhado em seu nível eletrônico mais externo, tal característica é fundamental para definir sua reatividade em relação a outras biomoléculas. A partir do ânion radical superóxido (O_2^-), considerado o primeiro radical gerado na respiração celular podem formar-se várias espécies secundárias, incluindo as espécies reativas do oxigênio (EROs), que iniciam reações em cadeia, que, por sua vez, ocasionam a oxidação das biomoléculas tais como proteínas, lipídios, ácidos nucleicos e açúcares. Essas alterações oxidativas provocam mudanças nas funções biológicas e contribuem para o aparecimento de muitas doenças, tais como, inflamações, tumores malignos, mal de Alzheimer e doenças cardiovasculares, bem como aceleram o processo de envelhecimento (SIKORA *et al.*, 2008). Por isso, as células humanas dependem de certa capacidade antioxidante para fornecer proteção contra os efeitos prejudiciais de radicais livres tais como espécies reativas do oxigênio, que são conseqüências inevitáveis da vida aeróbica (MCLEAN *et al.*, 2005).

1.2.1 Compostos fenólicos como antioxidantes

Os compostos fenólicos de plantas são classificados em várias classes: fenóis simples, ácidos fenólicos (derivados de ácidos benzóico e cinâmico), flavonoides, cumarinas, estilbenos, taninos condensados e hidrolizáveis, lignanas e ligninas (NACZK; SHAHIDI, 2004).

A atividade antioxidante de compostos fenólicos está relacionada, sobretudo, às suas propriedades redutoras e estrutura química que desempenham um papel importante na neutralização ou seqüestro de radicais livres e quelação de metais de transição. Os intermediários oriundos da ação de antioxidantes fenólicos

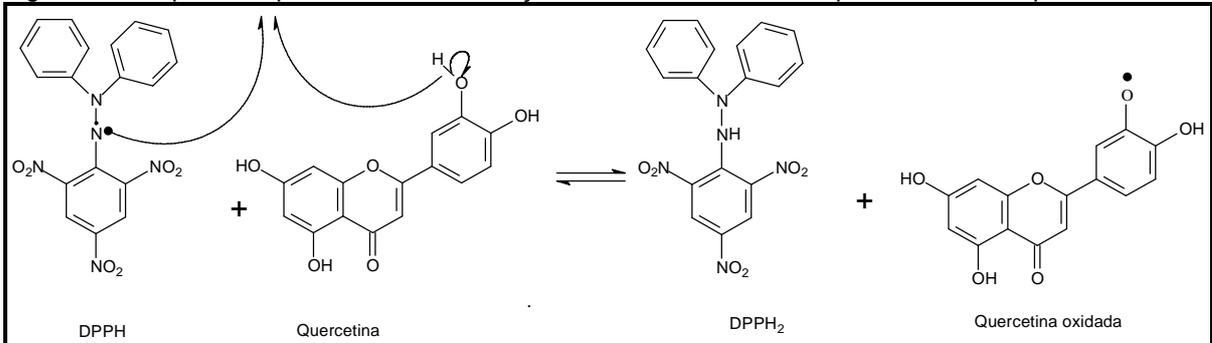
são relativamente estáveis, isso é decorrente da ressonância do anel aromático presente na estrutura destas substâncias (CHUN *et al.*, 2005).

1.2.2 Avaliação *in vitro* de atividade antioxidante

Vários métodos são empregados para determinar a atividade antioxidante em extratos e substâncias isoladas; um dos mais difundidos consiste em avaliar a atividade seqüestradora do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazila – DPPH[•], de coloração púrpura que absorve em 515 nm (ROSINSKY; LISSI, 2005).

Por ação de um antioxidante ou uma espécie radicalar, o radical DPPH[•] é reduzido formando difenil-picril-hidrazina de coloração amarela, isto resulta no desaparecimento da absorção que também pode ser monitorada pela diminuição da absorbância. A partir dos resultados obtidos é calculada a porcentagem de atividade antioxidante ou seqüestradora de radicais livres e/ou a porcentagem de DPPH[•] remanescente no meio reacional (SANCHEZ-MORENO, 2002). A porcentagem de atividade antioxidante corresponde à quantidade de radical DPPH[•] consumida pelo antioxidante, sendo a quantidade de antioxidante necessária para diminuir a concentração inicial de DPPH[•] em 50% denominada de concentração eficiente (CE₅₀), também chamada de concentração inibitória (CI₅₀). Quanto maior o consumo de DPPH[•] por uma amostra, menor será a sua CE₅₀ e maior sua atividade antioxidante. A Figura 2 mostra a redução do radical livre DPPH[•] pelo flavonoide antioxidante quercetina.

Figura 2 – Esquema representativo da redução do radical livre DPPH[•] pelo flavonoide quercetina

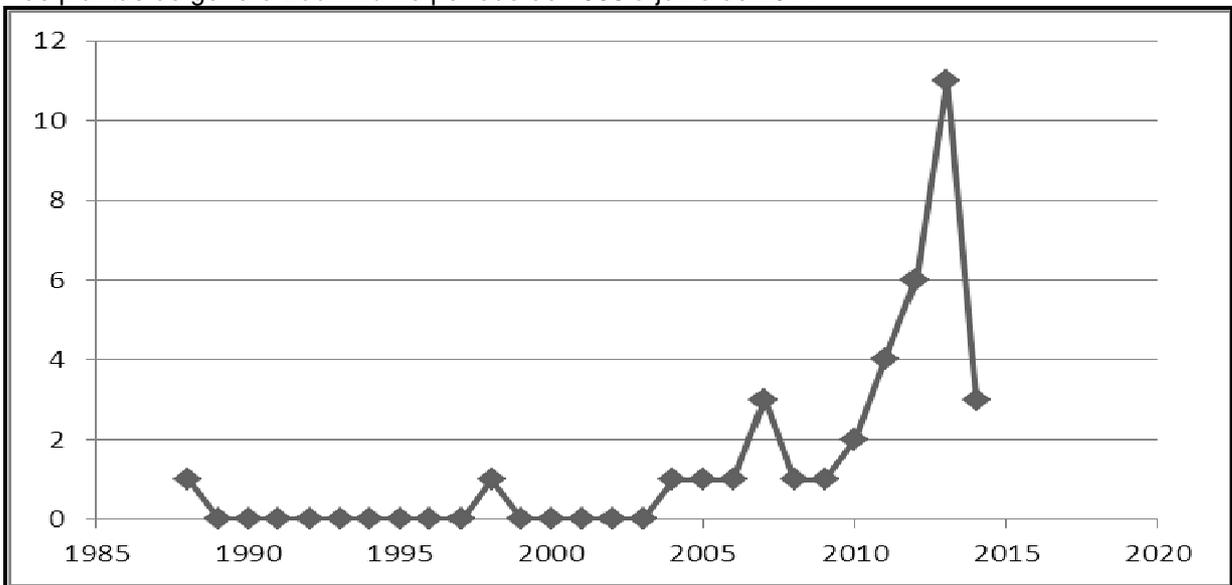


Fonte: https://www.google.com.br/search?q=dpph&client=firefox-a&rls=org.mozilla:pt-BR:official_channel=np&tbm=isch&imgil=VooX81ZG &

1.2.3 Atividade antioxidante de espécies do gênero *Bauhinia*

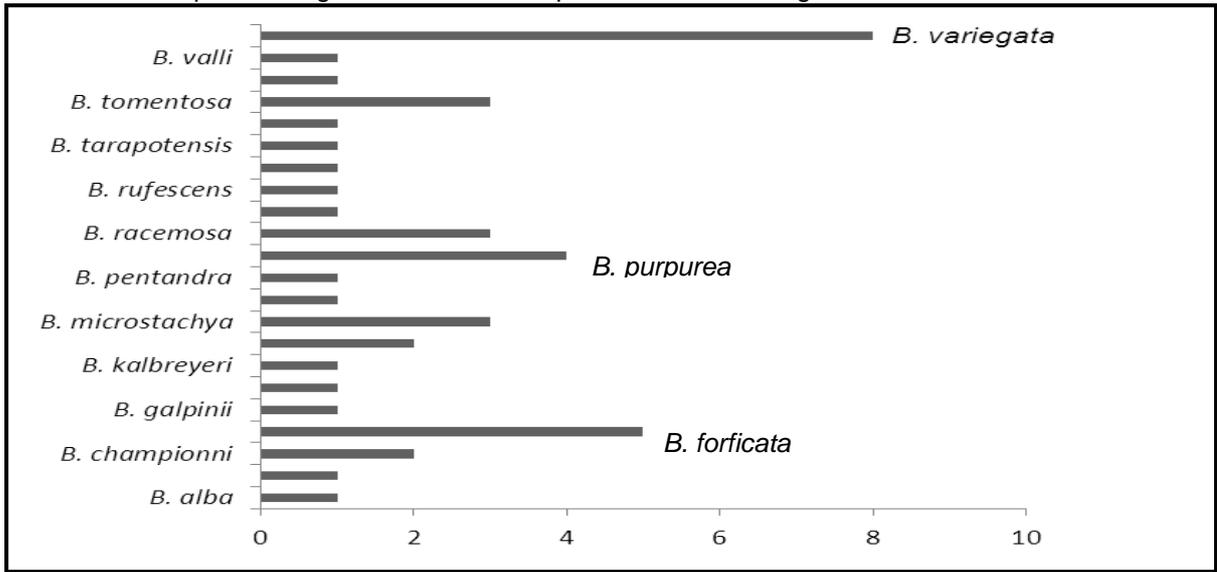
A literatura relata diversos estudos sobre atividade antioxidante de extratos e/ou compostos isolados de plantas do gênero *Bauhinia*. Em pesquisa realizada no Scifinder® de 2008 a agosto de 2014 observou-se que o número de publicações sobre a atividade antioxidante de plantas pertencentes ao gênero *Bauhinia* cresceu significativamente de 2008 a julho de 2014 (Gráfico 1), e que das 23 espécies que foram objeto de estudo da referida atividade, *Bauhinia variegata* apresentou o maior número de estudos (Gráfico 2).

Gráfico 1 – Trabalhos publicados sobre a atividade antioxidante de extratos e/ou compostos isolados de plantas do gênero *Bauhinia* no período de 1988 a julho de 2014



Fonte: [https://scifinder.cas.org/scifinder/view/scifinder/scifinder explore.jsf](https://scifinder.cas.org/scifinder/view/scifinder/scifinder%20explore.jsf)

Gráfico 2 – Trabalhos publicados sobre a atividade antioxidante de extratos e/ou compostos isolados de diferentes espécies do gênero *Bauhinia* no período de 1988 a agosto de 2014



Fonte: [https://scifinder.cas.org/scifinder/view/scifinder/scifinder explore.jsf](https://scifinder.cas.org/scifinder/view/scifinder/scifinder%20explore.jsf)

1.3 Atividade larvicida sobre *Aedes aegypti*

Os mosquitos constituem o grupo mais importante de insetos em termos de saúde pública, uma vez que eles podem atuar como vetores de muitas doenças, que causam sérios problemas de saúde ao homem e introduzem obstáculos socioeconômicos aos países em desenvolvimento, particularmente nas regiões tropicais (SENTHILKUMAR; KANATHASAN; VENKATESALU, 2008; VIMALADEVI *et al.*, 2012).

Dentre as mais diferentes espécies de mosquitos pode-se destacar o *Aedes aegypti*, que atua como principal vetor urbano para o arbovírus que transmite a febre amarela e a dengue. Este mosquito é principalmente encontrado em áreas tropicais e subtropicais do mundo, inclusive no Brasil, pois as condições do meio ambiente favorecem o seu desenvolvimento e proliferação; observando-se que em muitas regiões, a deficiência de esgotamento sanitário também colabora para a proliferação desse mosquito vetor. É válido salientar que no continente americano, o *Aedes aegypti* ocorre desde o sul dos Estados Unidos até o Uruguai (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014).

Nos últimos anos, a transmissão da dengue aumentou predominantemente em áreas urbanas e semi-urbanas e este fato tem se tornado uma preocupação de saúde pública internacional, uma vez que em muitos casos, a dengue pode levar à hospitalização e/ou à morte, principalmente em crianças (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2014).

O controle do *Aedes aegypti* é a estratégia mais importante para interromper a transmissão do vírus causador da dengue, pois até o momento não existe vacina nem tratamento específico para a doença. Dessa forma, o melhoramento das condições sanitárias, através da eliminação dos locais de criação, seria o método de controle ideal da dengue, no entanto, o método mais utilizado para evitar a propagação do *Aedes aegypti* é controlar os seus locais de reprodução, utilizando larvicidas.

Na eliminação de larvas do mosquito *Aedes aegypti* são utilizados diversos inseticidas sintéticos tais como organofosforados, organoclorados, carbamatos e piretróides (WALIWITIYA; KENNEDY; LOWENBERGER, 2009) e como consequência do uso continuado desses inseticidas surgiram populações resistentes de *Aedes aegypti* (MELO-SANTOS *et al.*, 2010; POLSON *et al.*, 2011),

implicando no aumento da dosagem destes, causando maiores danos ao meio ambiente, além de gerar outras doenças e prejuízos econômicos (MENDONÇA *et al.*, 2005). Um problema adicional no uso de inseticidas e/ou larvicidas sintéticos consiste na falta de seletividade e na toxicidade em relação a outros organismos do meio ambiente. Dessa forma, pesquisas estão sendo feitas com o objetivo de descobrir inseticidas e/ou larvicidas, que possam ser efetivos e seguros, sendo, portanto, o uso de extratos, óleos essenciais e metabólitos secundários isolados de espécies vegetais, uma alternativa para o controle do *Aedes aegypti* devido à quase ausência de toxicidade destes produtos naturais para animais e plantas e, pelo fato de serem biodegradáveis, reduzindo, portanto, a contaminação do meio ambiente (RAJKUMAR; JEBANESAN, 2010).

Diversas espécies vegetais e produtos naturais abundantes e seus derivados apresentam atividade larvicida sobre *Aedes aegypti* (AGUIAR *et al.*, 2010; LIMA *et al.*, 2011; GOIS *et al.*, 2011; KUMAR *et al.*, 2012; LAVOR *et al.*, 2012; SEO; PARK; PARK, 2012; VASCONCELOS *et al.*, 2012; WANG *et al.*, 2012, GOIS *et al.*, 2013; SIMAS *et al.*, 2013; SUKARI *et al.*, 2013; KEERTI; PADMA; SAWITRI, 2013; NYAHANGA *et al.*, 2013, FAYEMIWO *et al.*, 2014, NARCISO *et al.*, 2014). Dentro deste contexto, estudos sobre a atividade larvicida de extratos, óleos essenciais e metabólitos secundários isolados destes são de fundamental importância para a identificação de plantas com potencial larvicida.

1.4 O câncer

Câncer é o nome dado a um conjunto de mais de cem doenças que se caracterizam pelo crescimento desordenado de células que invadem os tecidos e órgãos e que podem espalhar-se para outras partes do corpo. Estas células ao se dividirem rapidamente tornam-se muito agressivas e incontroláveis, determinando a formação de tumores ou neoplasias malignas diferindo, assim, dos tumores benignos que são uma massa localizada de células que se multiplicam vagarosamente e se assemelham ao seu tecido original. É uma das principais causas de óbito no mundo e responsável por 8,2 milhões de mortes em 2012 (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2014).

Os tipos diferentes de câncer correspondem aos vários tipos de células do corpo. Se o câncer tem origem em tecidos epiteliais como pele ou mucosas ele é

denominado carcinoma. Sarcoma, por sua vez, é o nome dado ao câncer que tem origem em tecidos conjuntivos como ossos, músculos ou cartilagens. A velocidade de multiplicação das células e a capacidade de invadir tecidos e órgãos adjacentes ou distantes são outras características que diferenciam os diversos tipos de câncer (INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER, 2013).

As causas de câncer são diversas e elas podem ser externas ou internas ao organismo e ambas estão interrelacionadas. As causas externas estão relacionadas ao meio ambiente e aos hábitos ou costumes próprios de um ambiente social e cultural. As causas internas, por sua vez, são geneticamente pré-determinadas. Esses fatores indicados podem interagir de várias formas, aumentando a probabilidade de transformações malignas nas células normais.

Grande parte dos tipos de cânceres (80% a 90%) está relacionada a fatores ambientais. Os mais conhecidos são: câncer de pulmão causado pelo cigarro, o câncer de pele causado pela exposição excessiva ao sol e a leucemia, provocada pela ação de alguns vírus (INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER, 2013).

O envelhecimento ocasiona mudanças nas células que provocam um aumento na suscetibilidade ao surgimento de tumores malignos. Isso, aliado ao fato de pessoas idosas terem sido expostas por mais tempo aos diferentes fatores de riscos, contribui para explicar o porquê de o câncer ser mais freqüente nesses indivíduos. Os fatores cancerígenos ou carcinógenos são fatores de risco ambientais de câncer e atuam alterando o DNA da célula.

Desta forma, a busca por terapias alternativas para o câncer é indispensável, podendo as plantas ser ricas fontes de novos fármacos para o tratamento e prevenção deste mal.

1.4.1 Substâncias isoladas do gênero *Bauhinia* com atividade anti-câncer

Diversos compostos de diferentes classes de metabólitos secundários isolados de espécies do gênero *Bauhinia* apresentaram atividade anti-câncer. Em levantamento bibliográfico realizado no Scifinder® foram identificadas as seguintes substâncias com atividade citotóxica: o flavonoide 3-O- α -L-ramnopirosídeo-3,5,7,3',5'-pentahidroxi-flavanonol e o cromano 3-O- α -L-ramnopirosídeo-3,5,7-trihidroxi-cromano de *Bauhinia strychnifolia* (YUENYONGSAWAD *et al.*, 2013); o flavonoide 5,7,4'-trimetoxi-flavonona de *Bauhinia variegata* (RAJKAPOOR;

MURUGESH; KRISHNA, 2009); os bibenzis bauhinol A e bauhinol B de *Bauhinia saccocalyx* (APISANTIYAKOM *et al.*, 2004); os derivados oxepínicos: pacharina, bauhiniastatina 1, acetato de bauhiniastatina 1, bauhiniastatina 2, bauhiniastatina 3 e bauhiniastatina 4 de *Bauhinia purpurea* (PETTIT *et al.*, 2006); os alcalóides *N*-fenil-2-naftalenoamina, girinimbina, mahanimbina e bicicloamhanimbina de *Bauhinia variegata* (ZHAO *et al.*, 2004); 3-*O*- β -galactosídeo-miricetina de *Bauhinia galpinii* (ADEROGBA *et al.*, 2007); bauhinoxepina C, bauhinoxepina D, bauhinoxepina F, bauhinoxepina I, bauhinoxepina J, 1-hidroxi-2-metoxi-bibenzila (BOONPHONG *et al.*, 2007); além de β -sitosterol, 6,8-*C*-dimetil-3-*O*-ramnopiranosídeo-canferol e éter 6,8-*C*-dimetil-3-metil-canferol de *Bauhinia malabarica* (YOUNG *et al.*, 2014). A Tabela 1 mostra as estruturas dos compostos anteriormente citados.

Tabela 1 – Substâncias isoladas do gênero *Bauhinia* com atividade anti-câncer continua

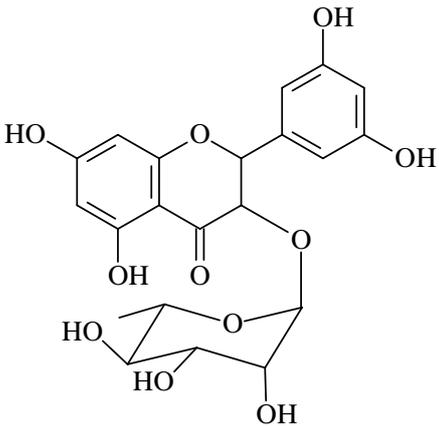
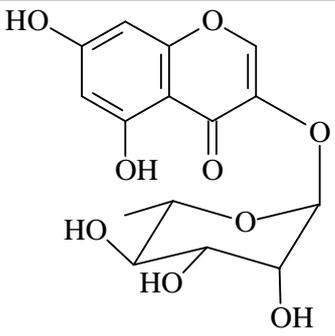
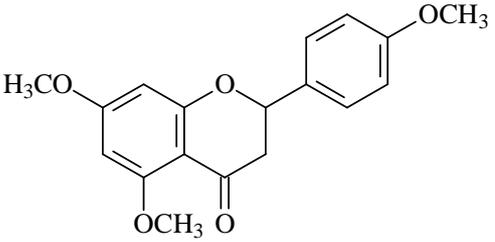
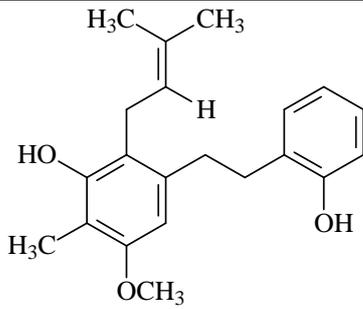
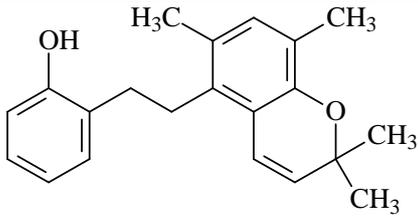
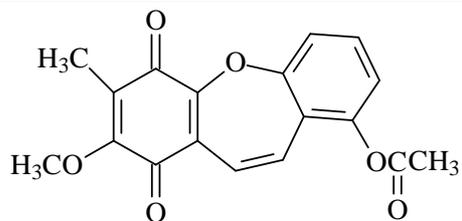
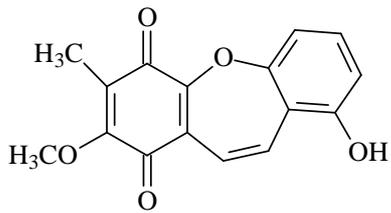
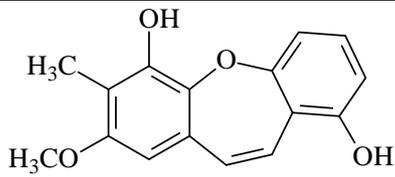
| Substância | Espécie | Referência |
|---|-------------------------------|--|
|  | <i>Bauhinia strychnifolia</i> | YUENYONGSAWAD <i>et al.</i> , 2013 |
|  | | |
|  | <i>Bauhinia variegata</i> | RAJKAPOOR; MURUGESH; KRISHNA, 2009 |

Tabela 1 – Substâncias isoladas do gênero *Bauhinia* com atividade anti-câncer continua

Bauhinia saccocalyx APISANTIYAKOM *et al.*, 2004



Bauhinia purpurea PETTIT *et al.*, 2006

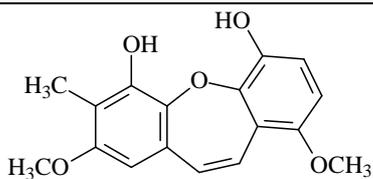
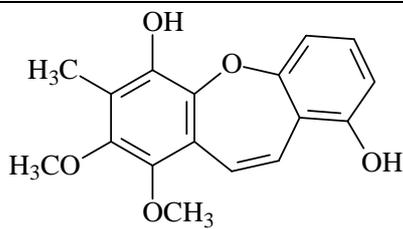


Tabela 1 – Substâncias isoladas do gênero *Bauhinia* com atividade anti-câncer continua

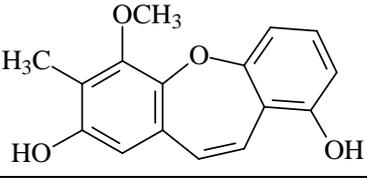
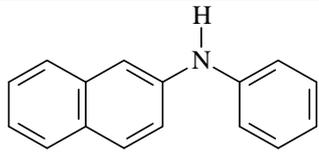
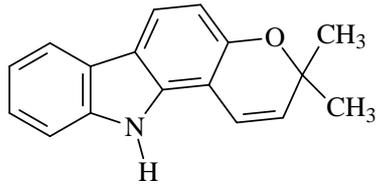
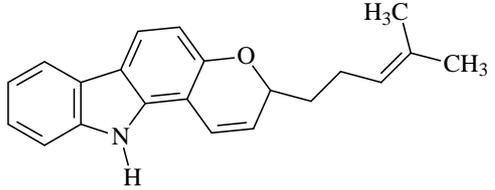
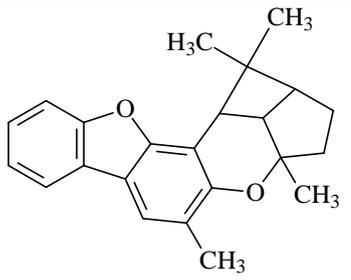
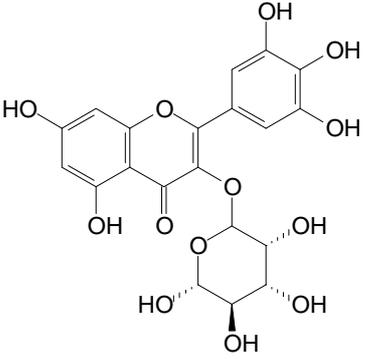
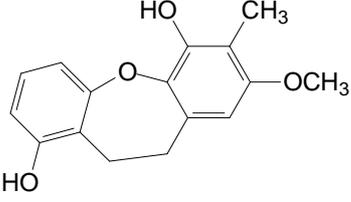
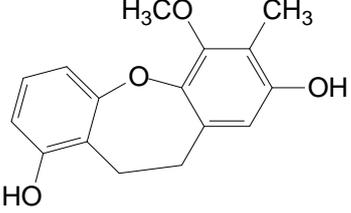
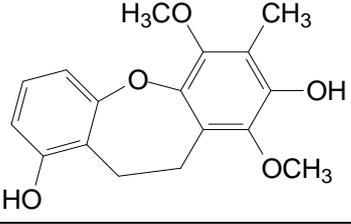
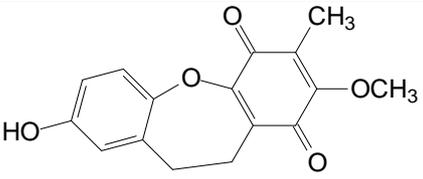
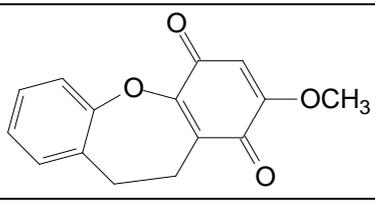
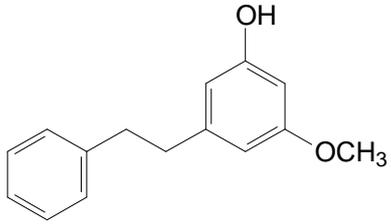
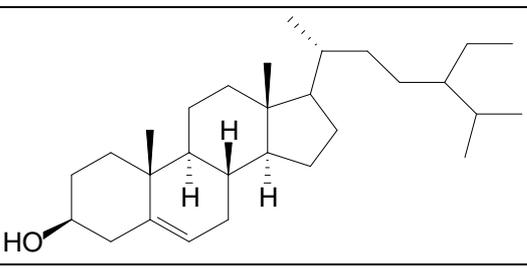
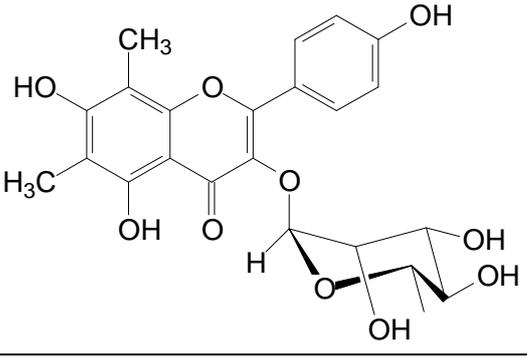
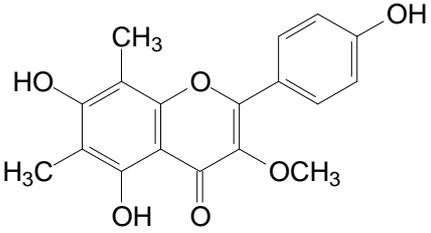
| | | |
|---|---------------------------|--------------------------------|
|  | | |
|  | | |
|  | | |
|  | <i>Bauhinia variegata</i> | ZHAO <i>et al.</i> , 2006 |
|  | | |
|  | <i>Bauhinia galpinii</i> | ADEROGBA <i>et al.</i> , 2007 |
|  | <i>Bauhinia purpurea</i> | BOONPHONG <i>et al.</i> , 2007 |
|  | | |

Tabela 1 – Substâncias isoladas do gênero *Bauhinia* com atividade anti-câncer conclusão

| | |
|---|---|
|  | |
|  | |
|  | <p><i>Bauhinia purpurea</i> BOONPHONG <i>et al.</i>, 2007</p> |
|  | |
|  | |
|  | <p><i>Bauhinia malabarica</i> YOUNG <i>et al.</i>, 2014</p> |
|  | |

1.5 A família Fabaceae

A família Fabaceae é considerada uma das mais importantes dentre as angiospermas, abrange cerca de 630 gêneros e 18.000 espécies (ZIMMERMANN *et al.*, 2012). É dividida em três subfamílias, Caesalpinioideae, Faboideae e Mimosoideae (OLIVEIRA, 2001).

Apresenta distribuição cosmopolita, podendo ser encontrada em praticamente todos os ambientes terrestres (QUEIROZ, 2009). No Brasil, encontram-se 2.100 espécies distribuídas em 188 gêneros com ocorrência em todos os biomas (LIMA *et al.*, 2010).

1.5.1 A subfamília Caesalpinioideae

A subfamília Caesalpinioideae compreende 150 gêneros e 2.200 espécies com ampla distribuição (CAVALHEIRO *et al.*, 2009). Nesta subfamília podemos destacar os gêneros *Bauhinia*, *Caesalpinia*, *Dimorphandra*, *Peltophorum*, *Cassia*, *Senna*, *Copaifera*, *Hymenaea*, *Pterogyne*, *Schizolium* (CONEGLIAN; OLIVEIRA, 2006).

1.5.2 Considerações botânicas sobre o gênero *Bauhinia*

O gênero *Bauhinia* (Fabaceae) compreende aproximadamente 300 espécies encontradas em várias partes do globo terrestre: África, Ásia e Américas Central e do Sul, onde algumas são utilizadas em medicina popular (VAZ; TOZZI, 2003).

As espécies deste gênero consistem de árvores ou arbustos com inflorescências folhosas com flores unilaterais geminadas; cálice espatáceo e fenestrado na base; testa castanho-escura a enegrecida, brilhante com linhas em forma de leque sob a lupa (RODRIGUES; VAZ, 2008); folhas, em geral, bilobadas, aparentemente simples, em razão do crescimento parcial dos dois folíolos. Pelo fato dessas folhas apresentarem uma morfologia peculiar, muitas espécies de *Bauhinia* são denominadas “pata-de-vaca” ou “unha-de-vaca” (ACHENBACH; STOCKER; CONSTELA, 1988). Este gênero é frequente na caatinga, habitando solos férteis e

argilosos, além disso, suas espécies são utilizadas como forragem para caprinos e ovinos (TEIXEIRA *et al.*, 2009).

1.5.3 Considerações da espécie *Bauhinia acuruana*

De acordo com Vaz e Tozzi (2003, p. 79), a espécie *Bauhinia acuruana* é descrita como segue:

Subarbusto ou arbusto. Entrenó distal do ramo 1,5-3,0 cm de comprimento. Folhas inteiras, lâmina 3,3-10,0 x 1,7-6,5 cm, cartácea e coreácea, ovado-oblonga a cordado-ovada, base cordada a emarginada, ápice mais ou menos agudo a obtuso até arredondado, face superior vilosa, glabrescente até glabra, nervuras terciárias e quaternárias bastante impressas dando a superfície um aspecto rugoso, face inferior vilosa ou hirsútula até quase glabra, inclusive na região das nervuras primárias. Flores com pedicelo 1-2 cm comprimento, bractéolas lineares, hipanto cilíndrico, 1-1,8 x 0,6cm, internamente glabro; cálice fendido na antese em 2-5 lobos reflexos, ondulados a retorcidos, 3-4 cm comprimento; pétalas linear-oblongas, 1-2 (-3,5) x 0,15-0,3 (0,5) cm, externamente glabras, raramente com tricomas glandulares esparsos; estaminódios 0, estames 10, anteras iguais, lineares, não loceladas, filetes 1,5-2,7 cm comprimento.

Essa espécie ocorre no Brasil, nos estados da Bahia, Ceará, Goiás, Maranhão, Minas Gerais, Pernambuco e Piauí. Geralmente é encontrada em áreas montanhosas e/ou com altitudes de 600 até 1.100 metros. Cresce em solo pedregoso ou arenoso ou algum tanto argiloso, na orla de floresta estacional caducifolia, cerrado, caatinga, cerrado, carrasco, transição caatinga/cerrado, cerrado/floresta estacional, e finalmente nos campos gerais e campo rupestre (VAZ; TOZZI, 2003). A Tabela 2 mostra os dados taxonômicos de *Bauhinia acuruana*.

Tabela 2 - Dados taxonômicos de *Bauhinia acuruana*

| Reino | Filo | Classe | Ordem | Família | Gênero | Espécie |
|---------|---------------|--------------|---------|----------|-----------------|--------------------------|
| Plantae | Magnoliophyta | Magnolipsida | Fabales | Fabaceae | <i>Bauhinia</i> | <i>Bauhinia acuruana</i> |

Fonte: http://culturesheet.org/fabaceae:bauhinia:acuruana_var_acuruana

As Figuras 3 e 4 ilustram as folhas e caules de um espécime de *Bauhinia acuruana* Moric.

Figura 3 – Foto de folhas e caules de *Bauhinia acuruana* Moric.



Fonte: Arquivo pessoal de G. M. P. Santiago.

Figura 4 – Foto de folhas e caules de *Bauhinia acuruana* Moric.



Fonte: Arquivo pessoal de G. M. P. Santiago

OBJETIVOS

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

- Contribuir para o conhecimento químico e biológico da espécie *Bauhinia acuruana*.

2.2 Objetivos específicos

- Preparar os extratos das raízes, caules e folhas de *B. acuruana*;
- Isolar e purificar, através de técnicas cromatográficas, os constituintes químicos presentes nas raízes, caules e folhas de *B. acuruana*;
- Identificar e caracterizar estruturalmente através de análises físicas e técnicas espectroscópicas de IV, ^{13}C e ^1H os compostos isolados;
- Avaliar a atividade antioxidante dos extratos das raízes, caules e folhas e/ou metabólitos secundários isolados através do ensaio com o radical 2,2-difenil-1-picrilidrazila;
- Avaliar a atividade citotóxica dos compostos isolados utilizando-se o teste do MTT;
- Avaliar a atividade larvicida sobre *Aedes aegypti* dos extratos e compostos isolados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Determinação estrutural dos constituintes isolados

3.1.1 Determinação estrutural de BA-1

Tratamentos cromatográficos sucessivos de EHFBA (1) (ítem 4. 3. 1. 2, p. 148) permitiram o isolamento de 13,6 mg de um material de aspecto oleoso e incolor com rotação óptica específica $[\alpha]_D^{20} - 5,1^\circ$ (c 0,29; CHCl₃), (lit. $[\alpha]_D^{18} - 8^\circ$ (c 0,31; CHCl₃) (WU; WEI; SHI, 2006) que foi denominado BA-1.

O espectro de absorção na região do infravermelho (IV) de BA-1 (Figura 5, p. 46) mostrou uma banda intensa e larga em 3423 cm⁻¹ relacionada à deformação axial de ligação O–H. A banda em 2930 cm⁻¹ sugeriu a presença de deformação axial de ligação C–H de carbono sp³ e a banda em 1647 cm⁻¹ foi atribuída à deformação axial de ligação C=C, além disso, uma banda intensa em 1065 cm⁻¹ sugeriu a presença de deformação axial de ligação C–O (PAVIA *et al.*, 2010).

O espectro de RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) de BA-1 (Figura 6, p. 46) apresentou um singlete em δ 0,72 (3H, s) indicativo de hidrogênios de grupo metila e dois dubletos em δ 0,88 (3H, d, $J = 6,9$ Hz) e δ 0,96 (3H, d, $J = 6,9$ Hz), que foram associados a sinais de hidrogênios de grupamentos metila de grupo isopropila. Os sinais de absorção na região entre δ 1,30 – 2,38 foram associados a hidrogênios ligados a carbonos metínicos e metilênicos. Este espectro revelou ainda sinais de absorção em δ 4,76 (1H, s) e δ 5,03 (1H, s) referentes a hidrogênios ligados a átomos de carbonos olefínicos. Os sinais com deslocamento químico em δ 3,43 (1H, dd, $J = 4,7$ e 11,5 Hz) e em δ 3,72 (1H, t, $J = 9,7$ Hz) foram atribuídos a hidrogênios ligados a carbonos metínicos oxigenados (PAVIA *et al.*, 2010).

O espectro de RMN ¹³C – BB (75 MHz, CDCl₃) de BA-1 (Figura 7, p. 47) mostrou 15 linhas espectrais e a posterior comparação dos espectros de RMN ¹³C – BB com o espectro RMN ¹³C – DEPT 135° (Figura 8, p. 47) permitiu a identificação de duas absorções relativas a carbonos não-hidrogenados (C), cinco absorções associadas a carbonos metínicos (CH), cinco absorções indicativas de carbonos metilênicos (CH₂) e três absorções relativas a carbonos metílicos (CH₃). O sinal em δ_C 108,02 foi atribuído a um carbono olefínico terminal, enquanto que os sinais em

δ_C 67,25 e δ_C 79,27 foram associados a carbonos sp^3 oxigenados (PAVIA *et al.*, 2010), provavelmente ligados a hidroxilas, fato este corroborado pelos dados obtidos através da análise do espectro de absorção na região do infravermelho de BA-1. A Tabela 3 mostra os dados de RMN ^{13}C de BA-1 com padrão de hidrogenação.

Tabela 3 – Dados de RMN ^{13}C de BA-1 com padrão de hidrogenação

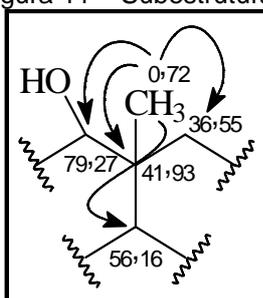
| C | CH | CH ₂ | CH ₃ |
|--------|---------------|-------------------|-------------------|
| 41,93 | 26,27 | 18,45 | 11,82 |
| 146,48 | 49,60 | 32,18 | 16,44 |
| | 56,16 | 35,34 | 21,30 |
| | 67,25 (HC-OH) | 36,55 | |
| | 79,27 (HC-OH) | 108,02 | |
| 2 C | 5 CH | 5 CH ₂ | 3 CH ₃ |

Fórmula molecular: C₁₅H₂₆O₂

O espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^{13}C \times ^1H$ – HSQC (Figura 9, p. 48) permitiu a associação direta dos hidrogênios de BA-1 aos seus respectivos carbonos de acordo com a Tabela 4 (p. 45).

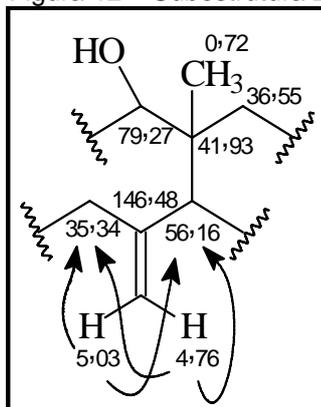
Os dados do espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^{13}C \times ^1H$ – HMBC de BA-1 (Figura 10, p. 48) mostraram as correlações dos hidrogênios em δ 0,72 com os carbonos em δ_C 79,27, δ_C 56,16, δ_C 36,55 e δ_C 41,93. A análise desses dados permitiu inferir a subestrutura 1 (Figura 11).

Figura 11 – Subestrutura 1



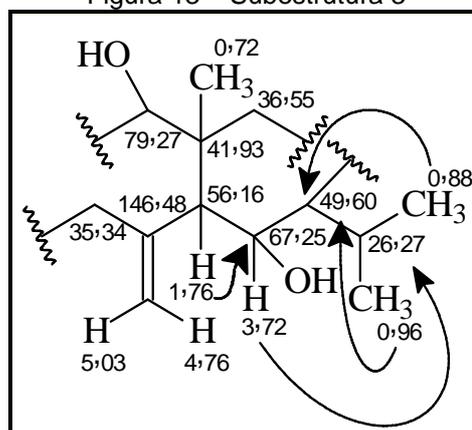
Este espectro revelou ainda as correlações dos hidrogênios ligados em δ 4,76 e δ 5,03 com os carbonos em δ_C 35,34 e δ_C 56,16, definindo, assim, a posição do carbono olefínico terminal, conforme a subestrutura 2 (p. 44).

Figura 12 – Subestrutura 2

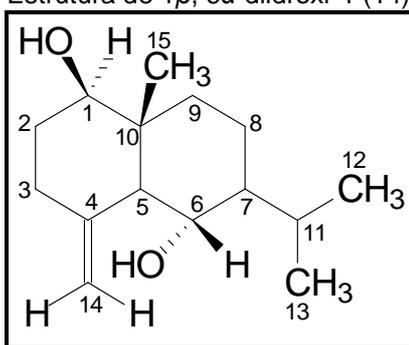


A posição do grupo isopropila foi determinada com base nas correlações entre os sinais de absorção de hidrogênio em δ 0,88 e δ 0,96, referentes a hidrogênios de grupos metilas ao carbono em δ_C 49,60. Por outro lado as correlações entre o hidrogênio em δ 3,72 com o carbono em δ_C 26,27 e do hidrogênio em δ 1,76 com o carbono em δ_C 67,25 definiram a localização da segunda hidroxila. A subestrutura 3 (Figura 13) foi elaborada de acordo com a análise desses dados.

Figura 13 – Subestrutura 3



A análise dos dados espectroscópicos obtidos e a comparação com dados descritos na literatura (MOUJIR *et al.*, 2011) (Tabela 4, p. 45), permitiram identificar BA-1 como o sesquiterpeno $1\beta,6\alpha$ -dihidroxi-4-(14)-eudesmeno, substância inédita no gênero *Bauhinia*, cuja estrutura está mostrada na Figura 14 (p. 45).

Figura 14 – Estrutura de 1 β , 6 α -diidroxi-4-(14)-eudesmenoTabela 4 – Dados espectroscópicos de RMN de BA-1 comparados com os dados descritos na literatura (MOUJIR *et al.*, 2011) para 1 β ,6 α -diidroxi-4-(14)-eudesmeno

| | HSQC | | HMBC | | Literatura (CDCl ₃) | |
|-----------------------|---------------------|---|--------------|----------------------------|---------------------------------|--|
| | δ_c (ppm) | δ_H (ppm, multip., J Hz) | $^2J_{CH}$ | $^3J_{CH}$ | δ_c (ppm) | δ_H (ppm, multip., J Hz) |
| C | | | | | | |
| 4 | 146,48 | - | H-3, H-5 | | 146,2 | - |
| 10 | 41,93 | - | H-5, 3H-15 | | 41,7 | - |
| CH | | | | | | |
| 1 | 79,27 | 3,43, <i>dd</i> , 11,5; 4,7 | | H-3, H-5, 3H-15 | 79,0 | 3,43, <i>dd</i> , 11,5; 4,8 |
| 5 | 56,16 | 1,76, <i>dl</i> , 10,0 | | H-3, H-14a H-14b, 3H-15 | 55,8 | 1,75, <i>dl</i> , 9,8 |
| 6 | 67,25 | 3,72, <i>t</i> , 9,7 | | H-5 | 67,0 | 3,72, <i>t</i> , 9,8 |
| 7 | 49,60 | - | 3H-6 | H-12, H-13 | 49,3 | - |
| 11 | 26,27 | 1,30, <i>d</i> , 4,2 | 3H-12, 3H-13 | H-6 | 25,9 | 2,24, <i>m</i> |
| CH₂ | | | | | | |
| 2 | 32,18 | | | | 31,9 | 1,56, <i>m</i> ; 1,86, <i>m</i> |
| | | 3a (2,08, <i>dl</i> , 5,0) | | | | 3a (2,07, <i>dd</i> , 13,2, 4,8) |
| 3 | 35,34 | 3b (2,36, <i>ddd</i> , 13,1; 5,0; 2,1) | | H-14a, H-14b | 35,1 | 3b (2,33, <i>ddd</i> , 13,2; 4,8; 2,2) |
| 8 | 18,45 | - | | | 18,1 | - |
| 9 | 36,55 | - | | H-1, 3H-15 | 36,2 | 1,92, <i>dl</i> , 11,9 |
| 14 | 108,02 | 14a (4,76, <i>sl</i>), 14b (5,03, <i>sl</i>) | | H-3 | 107,8 | 14a (4,74, <i>d</i> , 1,1) 14b (5,02, <i>sl</i>) |
| CH₃ | | | | | | |
| 12 | 16,44 | 0,88, <i>d</i> , 6,9 | | 3H-13 | 16,1 | 0,87, <i>d</i> , 6,9 |
| 13 | 21,30 | 0,96, <i>d</i> , 7,0 | | 3H-12 | 21,1 | 0,95, <i>d</i> , 6,9 |
| 15 | 11,82 | 0,72, <i>s</i> | | H-5 | 11,6 | 0,71, <i>s</i> |

Figura 5 – Espectro na região do IV de BA-1 (em KBr)

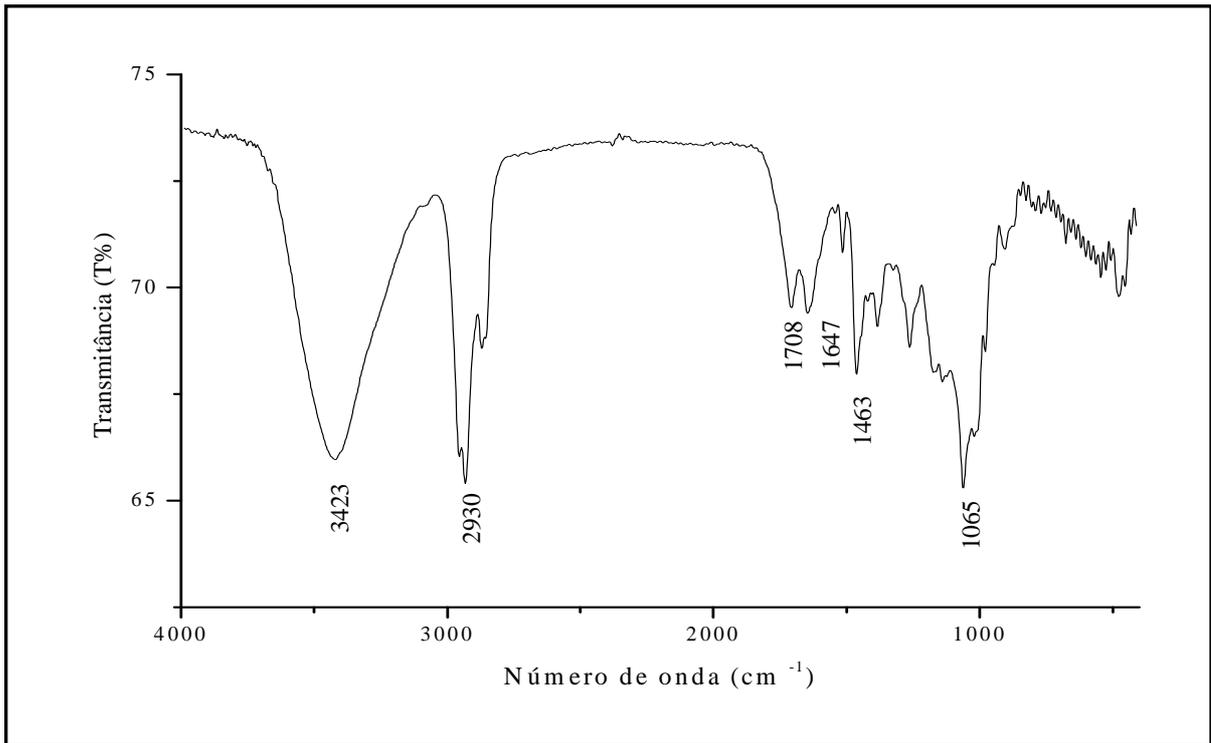
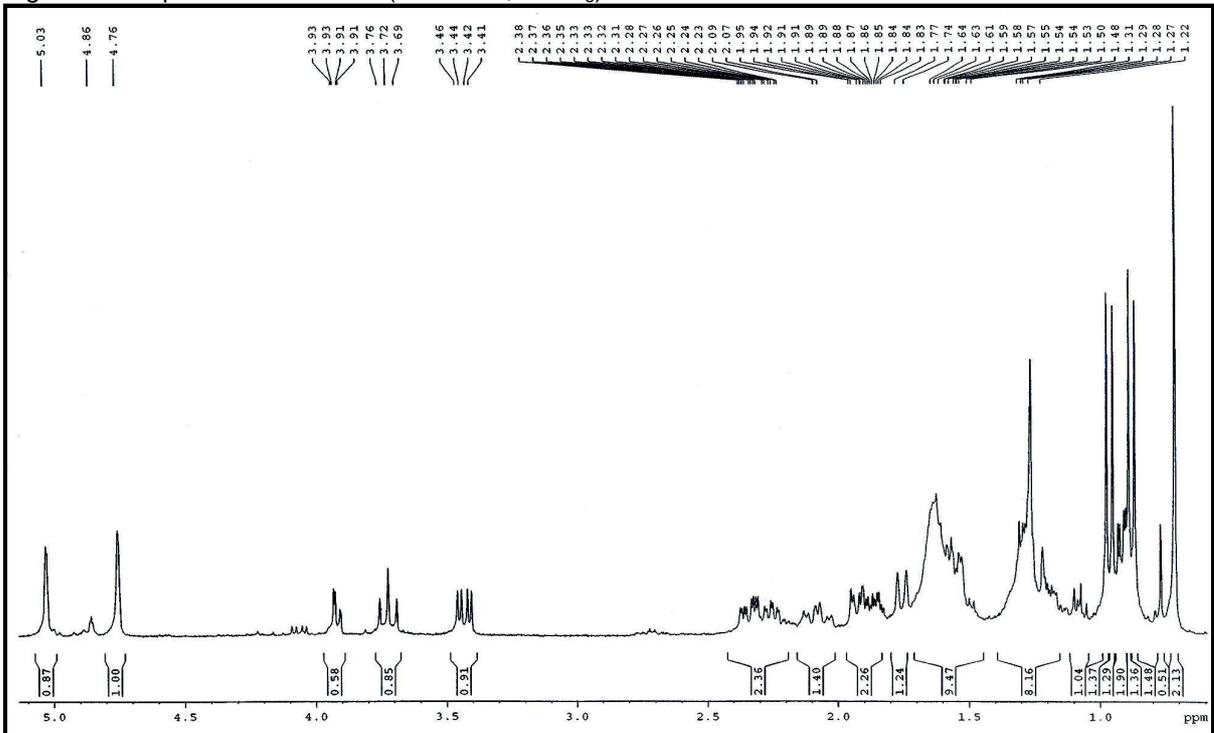
Figura 6 – Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) de BA-1

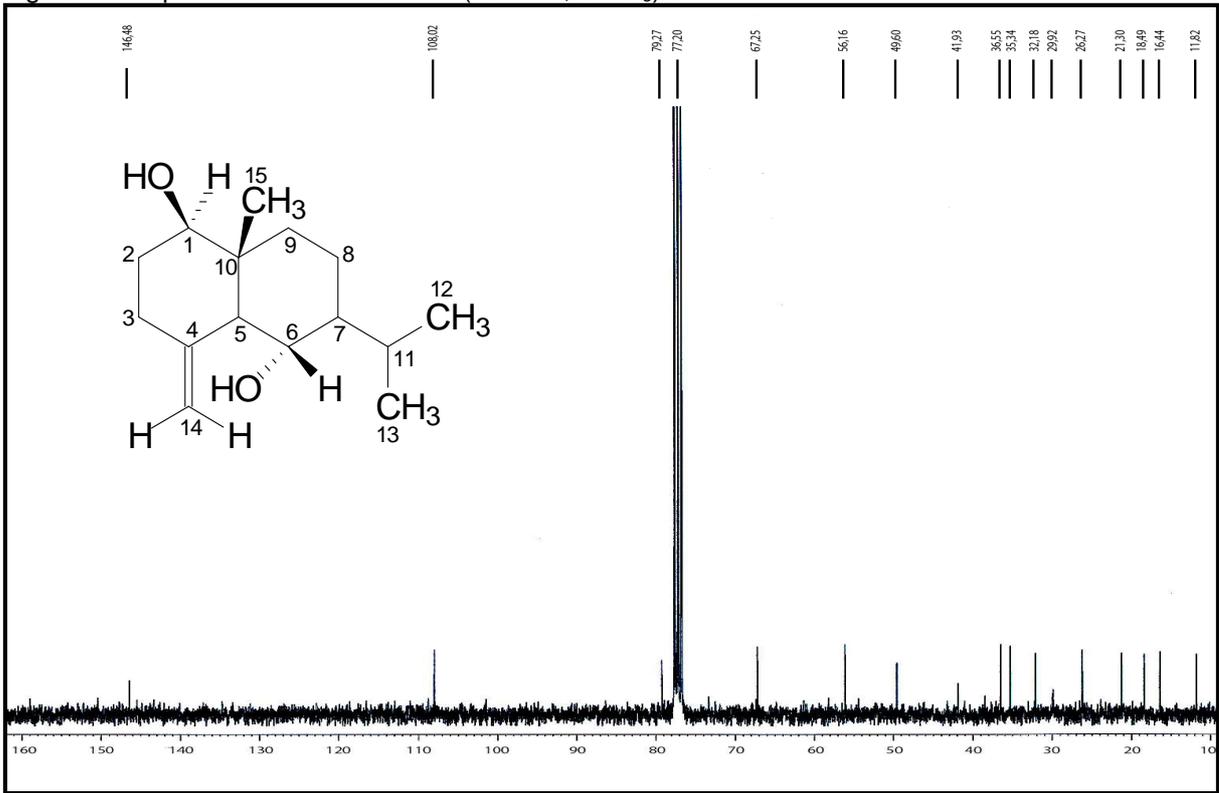
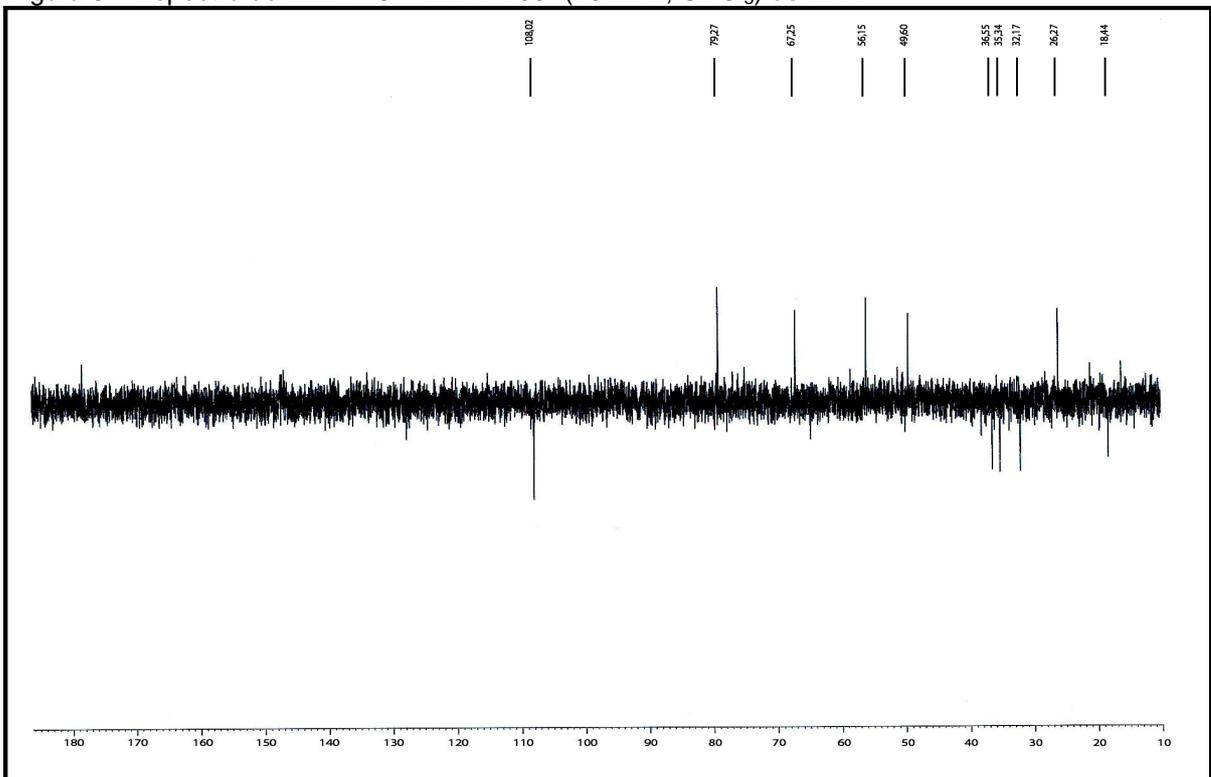
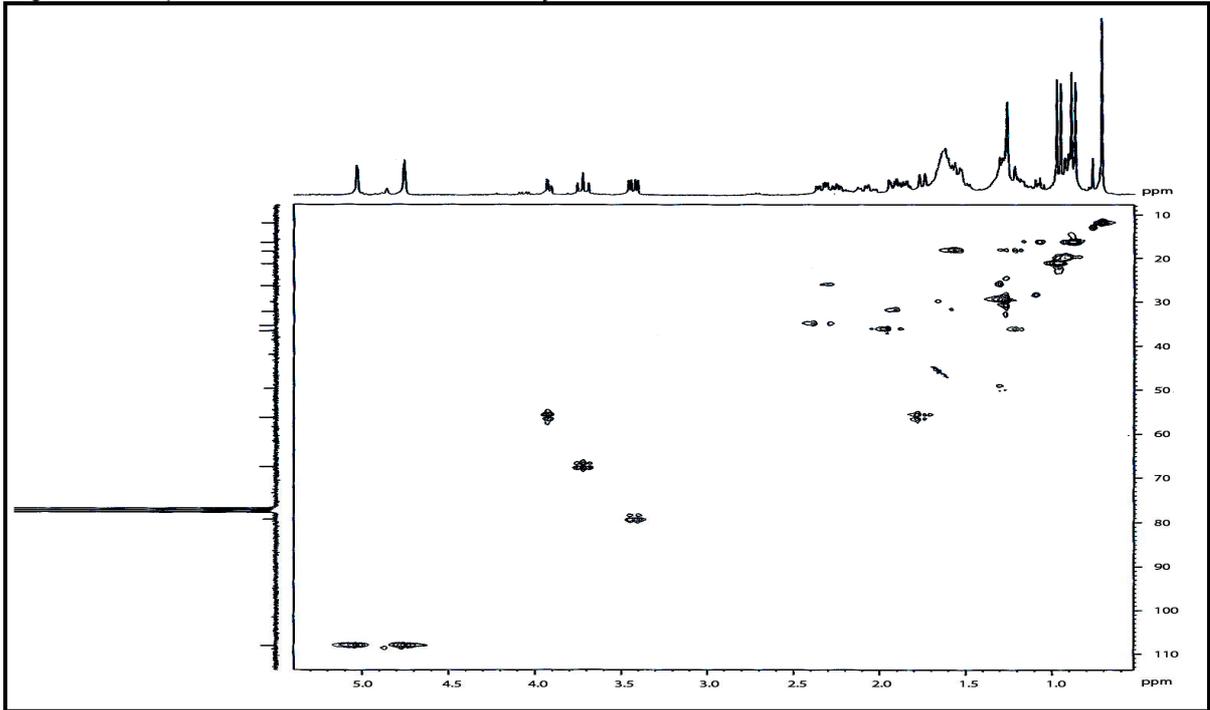
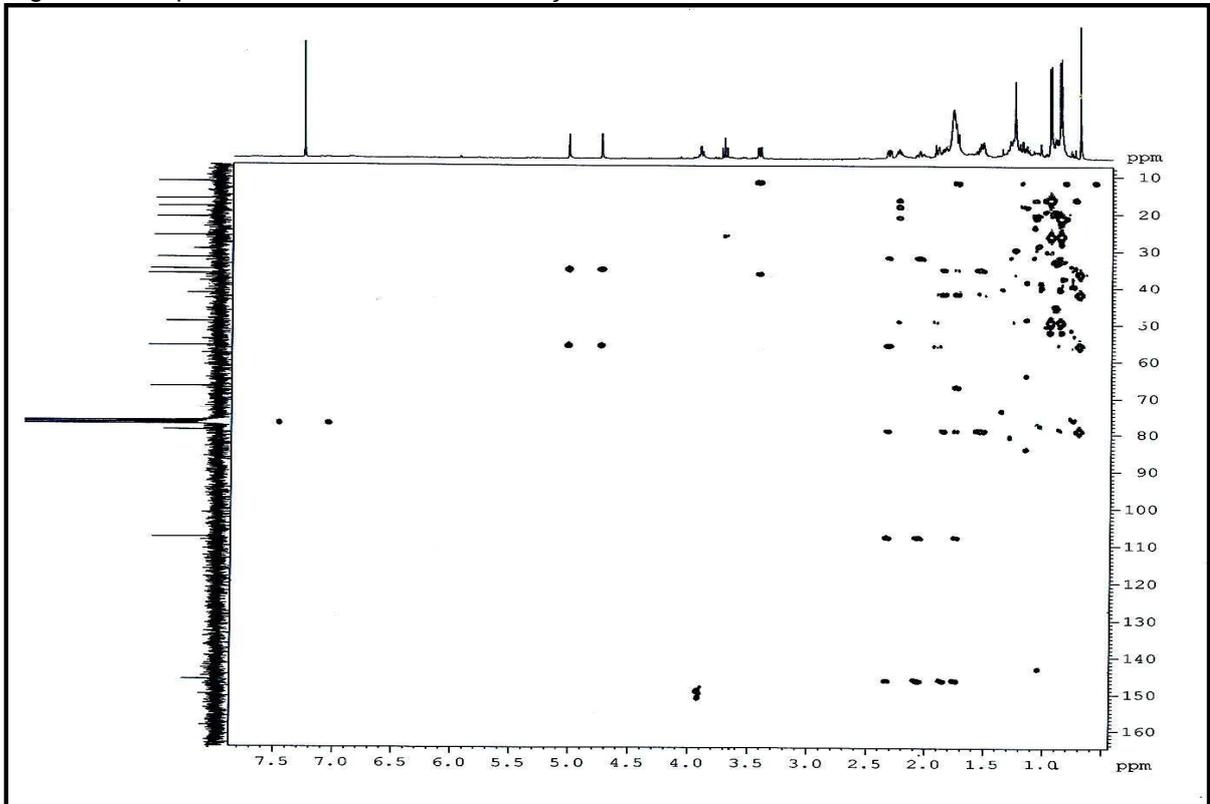
Figura 7 – Espectro de RMN ^{13}C – BB (75 MHz, CDCl_3) de BA-1Figura 8 – Espectro de RMN ^{13}C – DEPT 135° (75 MHz, CDCl_3) de BA-1

Figura 9 – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HSQC de BA-1Figura 10 – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC de BA-1

3.1.2 Determinação estrutural de BA – 2

A partir da fração hexânica das folhas de *Bauhinia acuruana* (item 4. 3. 2, p. 155) foi possível o isolamento de 7,7 mg de uma substância oleosa e incolor, com rotação óptica específica $[\alpha]^{20}_D +1,6^\circ$ (c 0,2; CHCl₃), que foi denominada BA-2.

A análise do espectro de absorção na região do infravermelho (IV) de BA-2 (Figura 15, p. 54) mostrou uma banda larga em 3388 cm⁻¹ indicativa de deformação axial de ligação O - H. A banda em 2945 cm⁻¹ sugeriu a presença de deformação axial de ligação C - H de carbono sp³ e a absorção em 1377 cm⁻¹ é indicativa de deformação simétrica de grupo metila (PAVIA *et al.*, 2010).

O espectro de RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) de BA-2 (Figura 16, p. 54) apresentou sinais de absorção de hidrogênios na região entre δ 0,40 - 1,89, sugerindo, portanto, somente a presença de átomos de hidrogênios ligados a carbonos saturados (PAVIA *et al.*, 2010), o que comprova o caráter não-aromático de BA-2. Os sinais com deslocamentos químicos em δ 1,05 (6H, s), δ 1,18 (3H, s) e δ 1,26 (3H, s) foram atribuídos a hidrogênios de grupos metílicos (PAVIA *et al.*, 2010).

No espectro de RMN ¹³C – BB (75 MHz, CDCl₃) de BA-2 (Figura 17, p. 55) foram observadas 15 linhas espectrais, que após comparação com o espectro de RMN ¹³C – DEPT 135° (Figura 18, p. 55) foi possível a identificação do padrão de hidrogenação de BA-2 (Tabela 5). Dessa forma, foi constatada a presença de três carbonos não-hidrogenados (C), dois oxigenados, provavelmente ligados a hidroxilas, o que já fora sugerido pelo espectro de absorção na região do infravermelho (IV), quatro carbonos metínicos (CH), quatro metilênicos (CH₂) e quatro metílicos (CH₃).

Tabela 5 – Dados de RMN ¹³C de BA-2 com padrão de hidrogenação

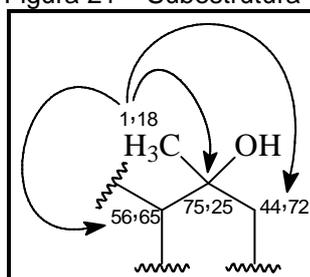
| C | CH | CH ₂ | CH ₃ |
|--------------|-------|-------------------|-------------------|
| 19,80 | 26,86 | 20,42 | 16,68 |
| 75,25 (C-OH) | 28,56 | 24,03 | 20,57 |
| 80,60 (C-OH) | 48,69 | 41,41 | 24,74 |
| | 56,65 | 44,72 | 28,88 |
| 3 C | 4 CH | 4 CH ₂ | 4 CH ₃ |

Fórmula molecular: C₁₅H₂₆O₂

O espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HSQC de BA-2 (Figura 19, p. 56) mostrou a correlação direta dos hidrogênios de BA-2 aos seus respectivos carbonos, conforme pode ser observado na Tabela 6 (p. 53).

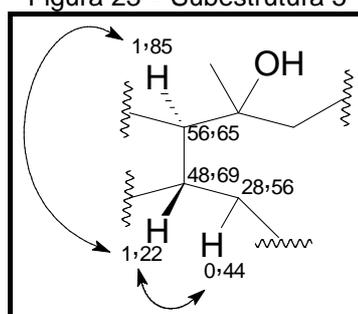
O espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HMBC de BA-2 (Figura 20, p. 56) mostrou que os hidrogênios com deslocamento em δ 1,18, referentes a hidrogênios metílicos, correlacionam-se aos carbonos em δ_{C} 75,25, δ_{C} 44,72 e δ_{C} 56,65. Esses dados foram relevantes para a proposição da subestrutura 4.

Figura 21 – Subestrutura 4



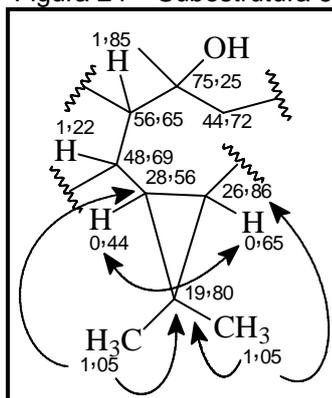
O espectro bidimensional de correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - COSY de BA-2 (Figura 22, p. 57) mostrou acoplamento do hidrogênio em δ 1,22, com os hidrogênios δ 0,44 e δ 1,85, que permitiu a elaboração da subestrutura 5.

Figura 23 – Subestrutura 5



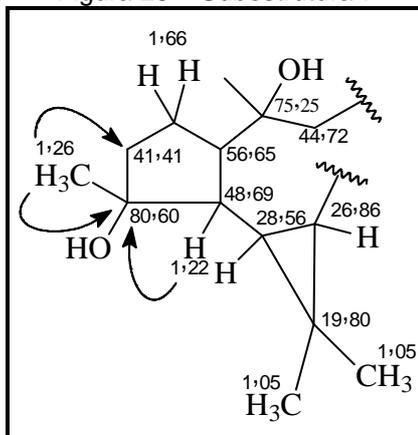
O espectro de correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - COSY de BA-2 (Figura 22, p. 57) mostrou ainda que o hidrogênio com sinal em δ 0,44 está acoplado ao hidrogênio com sinal em δ 0,65. Estes dados em conjunção com as correlações dos hidrogênios metílicos em δ 1,05 com os carbonos em δ_{C} 26,86 e δ_{C} 28,56, bem como, com o carbono em δ_{C} 19,80, mostradas pelo espectro de HMBC (Figura 20, p. 56) foram determinantes no posicionamento dessas metilas cuja existência fora sugerida pelo espectro de RMN ^1H (Figura 16, p. 54), possibilitando a elaboração da subestrutura 6.

Figura 24 – Subestrutura 6



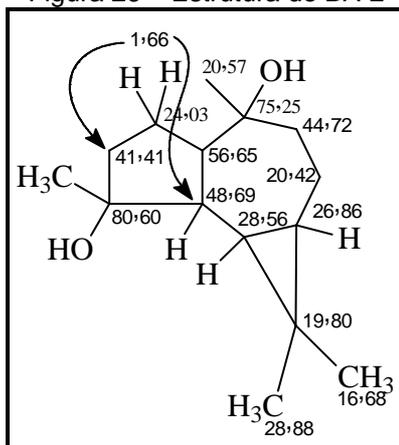
O espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HMBC de BA-2 (Figura 20, p. 56) forneceu ainda as seguintes correlações: do hidrogênio com sinal em δ 1,22 com o carbono metínico em δ_{C} 80,60, dos hidrogênios metílicos em δ 1,26 com carbono em δ_{C} 41,41 e δ_{C} 80,60. Os dados descritos possibilitaram a elaboração da seguinte subestrutura:

Figura 25 – Subestrutura 7



A análise do espectro bidimensional HMBC de BA-2 (Figura 20, p. 56) permitiu, também, identificar as correlações do hidrogênio com sinal em δ 1,66 com carbono em δ_{C} 41,41 e com o carbono em δ_{C} 48,69. Esses dados e os demais anteriormente descritos permitiram sugerir a estrutura mostrada na Figura 26 (p. 52) para BA-2.

Figura 26 – Estrutura de BA-2



A estereoquímica relativa ao carbono C-4 foi definida com base nos dados de RMN de ^{13}C de C-6, uma vez que de acordo com Goldsby e Burk (1987 *apud* LAGO; ROQUE, 2009), o sinal deste carbono deve ser observado entre δ_{C} 28-30 quando o grupo hidroxila estiver em posição β e em torno de δ_{C} 25 quando em posição α . Conforme os dados de RMN ^{13}C de BA-2 (Tabela 6, p. 53), o deslocamento químico de C-6 está em δ 28,56, sugerindo, desta forma, que a hidroxila está em posição β .

Baseados nos dados espectroscópicos de RMN obtidos (Tabela 6, p. 53) e na comparação com os dados descritos na literatura (MEIRA *et al.*, 2008) foi possível concluir que BA-2 tratava-se do aromadendrano-4 β ,10 α -diol, substância inédita no gênero *Bauhinia*, cuja estrutura é mostrada na Figura 27.

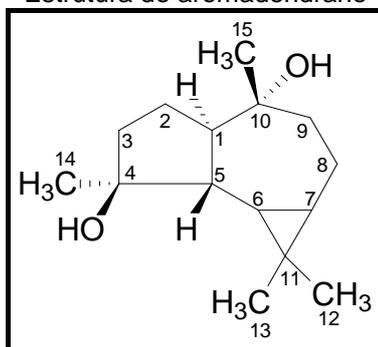
Figura 27 – Estrutura do aromadendrano-4 β ,10 α -diol

Tabela 6 – Dados espectroscópicos de RMN de BA-2 comparados com os dados descritos na literatura (MEIRA *et al.*, 2008) para aromadendrano-4 β ,10 α -diol

| | HSQC | | HMBC | | Literatura (CDCl ₃) | |
|-----------------------|---------------------|----------------------------------|-------------------------|-----------------------|---------------------------------|------------------------------------|
| | δ_C (ppm) | δ_H (ppm, multip., Hz) | $^2J_{CH}$ | $^3J_{CH}$ | δ_C (ppm) | δ_H (ppm, multip., J Hz) |
| C | | | | | | |
| 4 | 80,60 | - | H-5, H-14; 2H-3 | | 80,4 | - |
| 10 | 75,25 | - | H-1, H-9a H-9b, H-15 | 2H-8 | 75,0 | - |
| 11 | 19,80 | - | | | 19,4 | - |
| CH | | | | | | |
| 1 | 56,65 | 1,85, <i>m</i> | 2H-2 | 3H-15 | 56,4 | 1,87, <i>m</i> |
| 5 | 48,69 | 1,22, <i>d</i> , 10,5 | | 2H-2, 3H-14 | 48,4 | - |
| 6 | 28,56 | 0,44, <i>dd</i> , 9,6, 10,9 | | 2H-8, 3H-12, 3H-13 | 28,3 | 0,44, <i>dd</i> , 9,0, 9,6 |
| 7 | 26,86 | 0,65, <i>m</i> | | H-9a, 3H-12 3H-13 | 26,6 | - |
| CH₂ | | | | | | |
| 2 | 24,03 | 1,66, <i>m</i> | | | 23,8 | 1,65, <i>m</i> |
| 3 | 41,41 | 1,68, <i>m</i> | 2H-2 | 3H-14 | 41,1 | 1,67, <i>m</i> |
| 8 | 20,42 | 1,83, <i>m</i> | H-9a, H-9b | | 20,1 | 1,81, <i>m</i> |
| 9 | 44,72 | 1,54, <i>m</i> 1,75, <i>m</i> | 2H-8 | 3H-15 | 44,4 | 1,53, <i>m</i> 1,77, <i>m</i> |
| CH₃ | | | | | | |
| 12 | 28,88 | 1,05, <i>s</i> | | 3H-13 | 28,6 | 1,04, <i>s</i> |
| 13 | 16,68 | 1,05, <i>s</i> | | 3H-12 | 16,4 | 1,04, <i>s</i> |
| 14 | 24,74 | 1,26, <i>s</i> | | | 24,4 | 1,25, <i>s</i> |
| 15 | 20,57 | 1,18, <i>s</i> | | | 20,3 | 1,18, <i>s</i> |

Figura 17 – Espectro de RMN ^{13}C – BB (75 MHz, CDCl_3) de BA -2

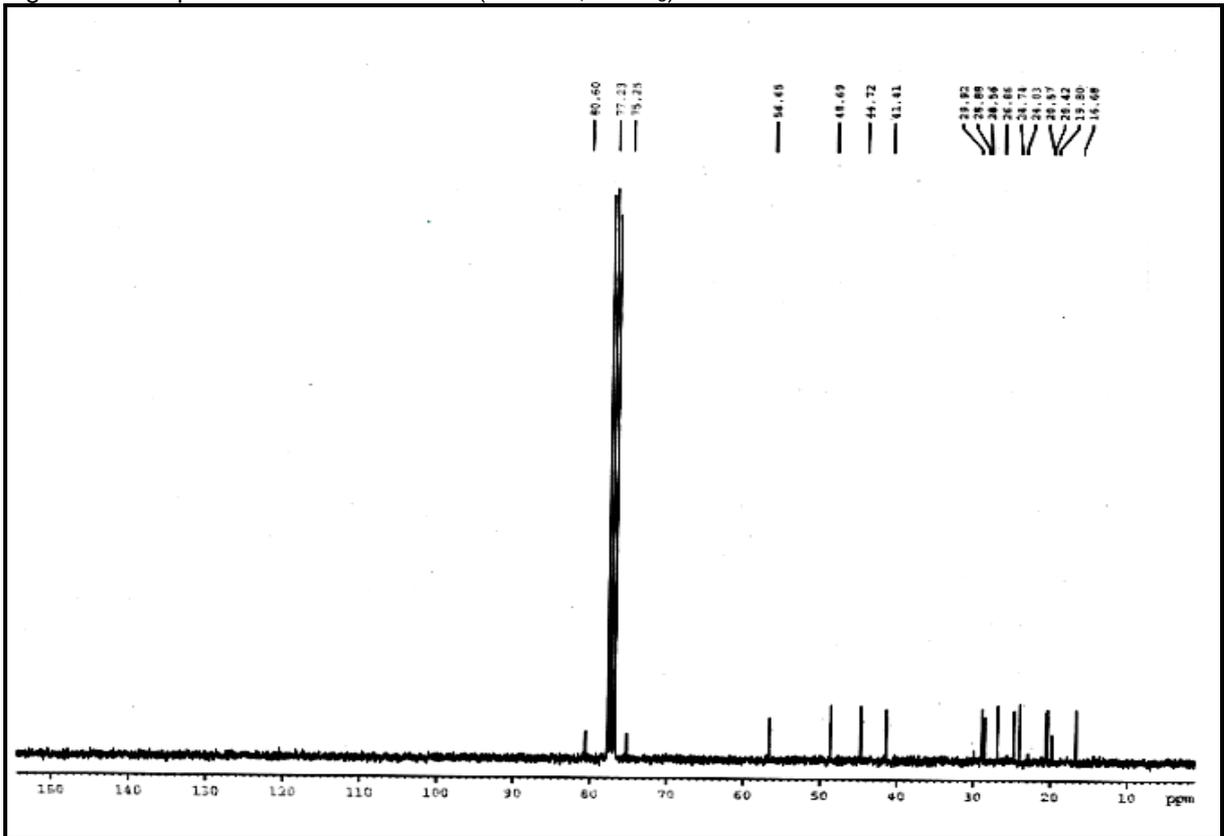


Figura 18 – Espectro de RMN ^{13}C – DEPT 135° (75 MHz, CDCl_3) de BA-2

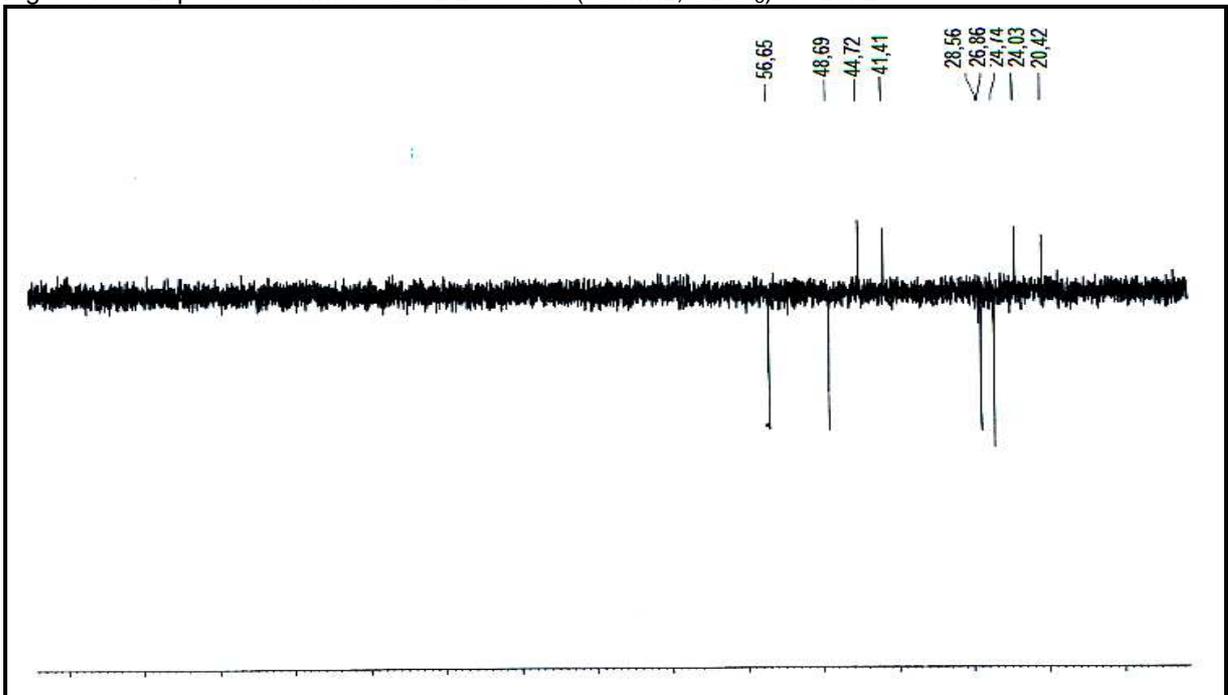


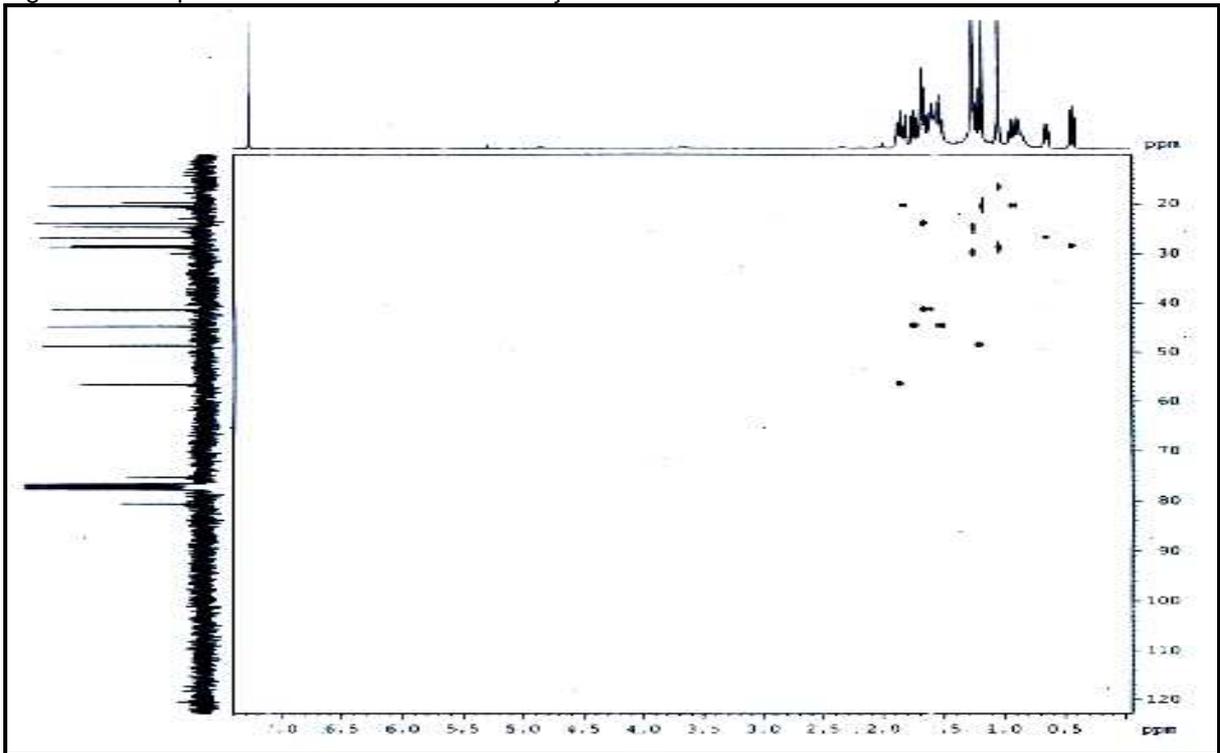
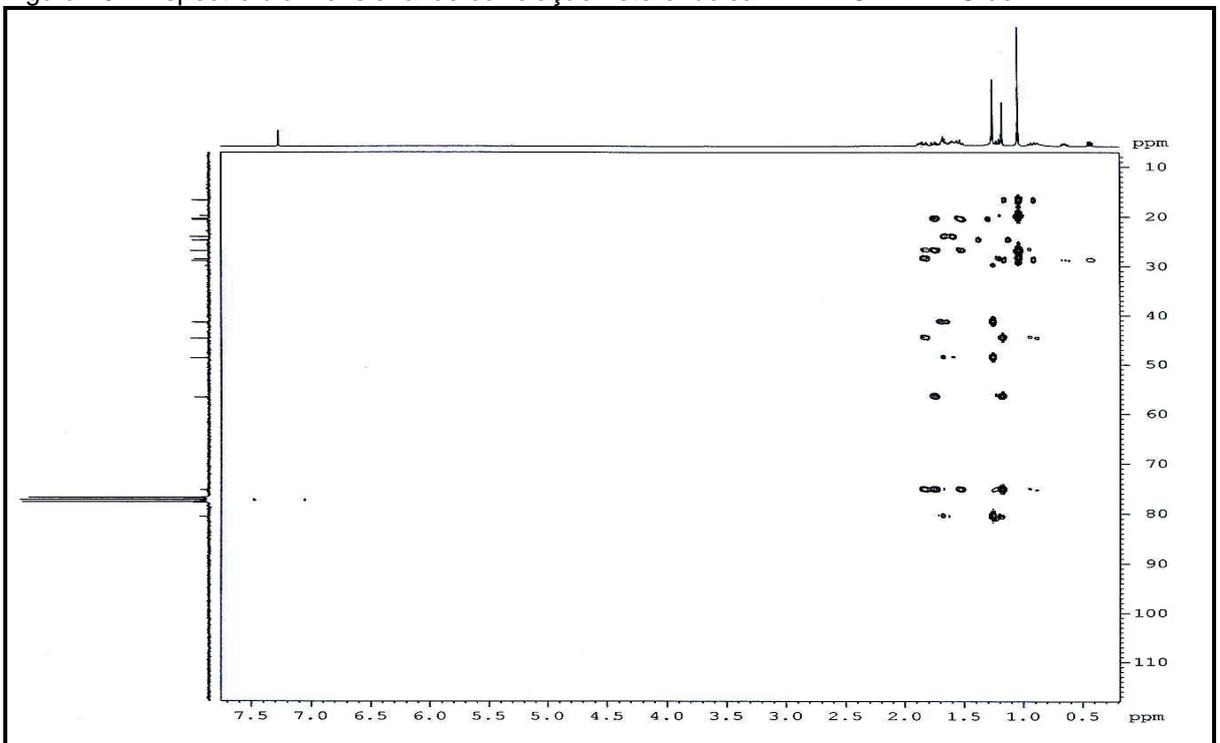
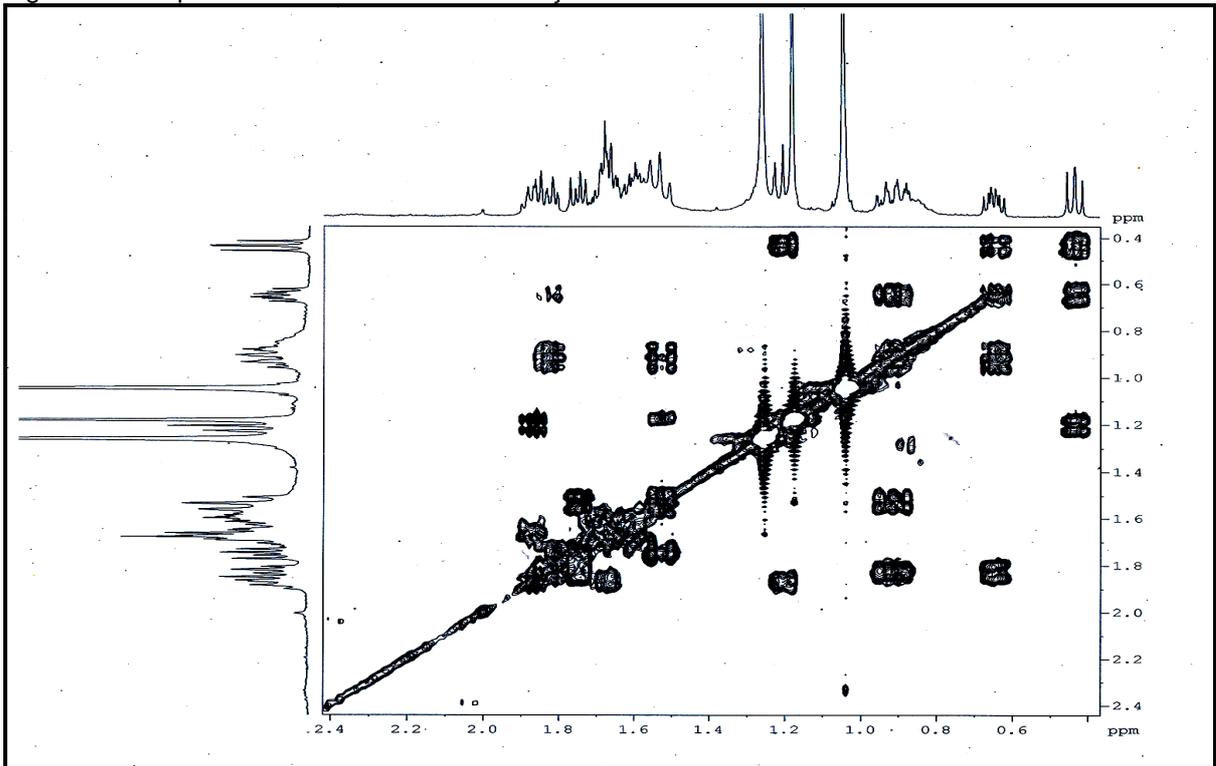
Figura 19 – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HSQC de BA-2Figura 20 – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC de BA-2

Figura 22 – Espectro bidimensional de correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – COSY de BA-2

3.1.3 Determinação estrutural de BA – 3

Fracionamentos cromatográficos em coluna aberta do extrato em acetato de etila das folhas de *Bauhinia acuruana* (EAFBA) (item 4. 3. 3, p. 162) resultaram na obtenção de 7,1 mg de um sólido amorfo de coloração amarela com faixa de fusão entre 176 – 179 °C, que foi denominado BA-3.

O espectro de absorção na região do infravermelho de BA-3 (Figura 28, p. 64) mostrou uma banda intensa e larga em 3275 cm⁻¹ relacionada à deformação axial de ligação O–H. A banda em 2940 cm⁻¹ indicou deformação axial de ligação C–H de carbono sp³ e a banda em 1658 cm⁻¹ foi associada à deformação axial de ligação C=O, além disso, uma banda intensa em 1200 cm⁻¹ sugeriu a presença de deformação axial de ligação C–O (PAVIA *et al.*, 2010).

O espectro de RMN ¹H (500 MHz, CD₃OD) de BA-3 (Figura 29, p. 64) apresentou sinais na região entre δ 6,18 – 7,34, característicos de hidrogênios ligados a carbonos de anel aromático. Nessa região foram observados sinais de absorção de hidrogênios centrados em δ 6,19 (1H, *d*, *J* = 1,9 Hz), δ 6,35 (1H, *d*, *J* = 1,9 Hz) compatível com a presença de um anel aromático 1, 3, 4, 5-tetrassubstituído. O sinal referente a hidrogênio ligado a carbono aromático em δ 7,28 (1H, *d*, *J* = 2,0 Hz) foi referente a hidrogênio em acoplamento *meta* e o sinal em δ 6,91 (1H, *d*, *J* = 8,3 Hz) foi atribuído a hidrogênio *orto* posicionado, por outro lado o sinal em δ 7,32 (1H, *dd*, *J* = 7,5 Hz e 2,0 Hz) foi associado a hidrogênio em acoplamento *orto* e *meta*.

A partir da combinação dessas informações foi possível sugerir a existência de outro anel aromático 1, 3, 4-trissubstituído. Além disso, foram observados sinais na região entre δ 3,30 – 4,24, associados a hidrogênios ligados a carbonos oxigenados, provavelmente indicativos da existência de uma unidade de açúcar. O sinal em δ 5,35 (1H, *d*, *J* = 1,1 Hz) e o sinal em δ 0,95 (3H, *d*, *J* = 6,0 Hz) referiram-se, respectivamente, a um hidrogênio ligado a carbono anomérico e aos hidrogênios de um grupamento metila, característicos do açúcar ramnose (SLOWING *et al.*, 1994).

O espectro de RMN ¹³C – BB (125 MHz, CD₃OD) de BA-3 (Figura 30, p. 65) mostrou vinte e uma linhas espectrais e através da comparação deste com o espectro de RMN ¹³C – DEPT 135° (Figura 31, p. 65) foi possível definir o padrão de hidrogenação relativo a cada átomo de carbono e distinguir aqueles não

hidrogenados dos demais por subtração espectral. Esta análise permitiu identificar um carbono metílico (CH₃), dez carbonos metínicos (CH), dos quais cinco oxigenados (CH–O) e dez carbonos não hidrogenados (C). A partir destes dados foi possível propor a fórmula molecular C₂₁H₂₀O₁₁, com IDH igual a doze. A Tabela 7 mostra o padrão de hidrogenação de BA-3.

Tabela 7 – Dados de RMN ¹³C de BA-3 com padrão de hidrogenação

| C | CH | CH ₃ |
|-----------------|----------------|-----------------|
| 106,04 | 72,05 (CH-OH) | 17,77 |
| 123,15 | 72,16 (CH-OH) | |
| 136,38 | 72,30 (CH-OH) | |
| 146,54 (C – O) | 73,44 (CH-OH) | |
| 149,92 (C – O) | 94,87 | |
| 158,67 (C – O) | 99,98 | |
| 159,44 (C – O) | 103,69 (CH-OH) | |
| 163,33 (C – OH) | 116,52 | |
| 166,05(C – OH) | 117,11 | |
| 179,79 (C=O) | 123,01 | |

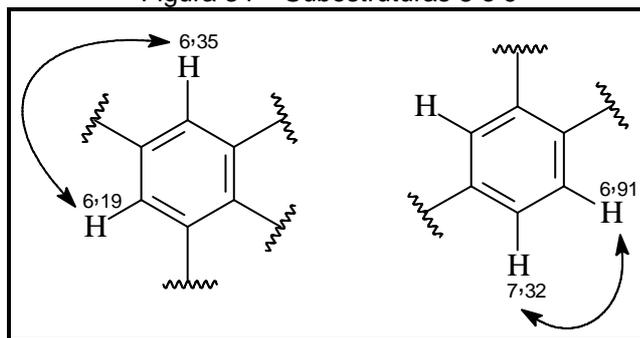
Fórmula molecular: C₂₁H₂₆O₁₂

O espectro bidimensional de correlação heteronuclear ¹H x ¹³C – HSQC de BA-3 (Figura 32, p. 66) revelou as correlações entre os hidrogênios e seus respectivos carbonos de acordo com os dados da Tabela 8 (p. 63).

A análise do espectro bidimensional de correlação homonuclear ¹H x ¹H - COSY de BA-3 (Figura 33, p. 66) permitiu comprovar a existência de dois anéis aromáticos, o que já fora sugerido pela análise do espectro de RMN ¹H, visto que o espectro COSY revelou os acoplamentos vicinais entre os hidrogênios com sinais de absorção em δ 6,19 e δ 6,35 e entre os hidrogênios com sinais de absorção em δ 6,91 e δ 7,32.

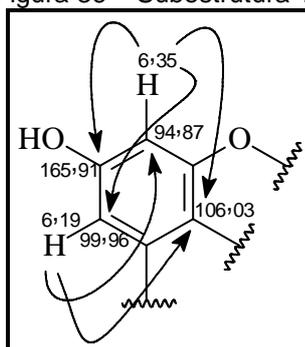
A Figura 34 (p. 60) mostra os padrões de substituição dos anéis aromáticos, cujas subestruturas foram sugeridas a partir dos dados de RMN ¹H e de COSY.

Figura 34 – Subestruturas 8 e 9



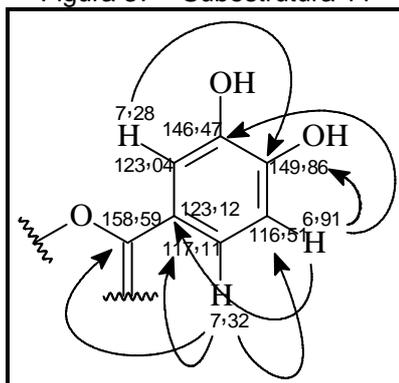
O espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC de BA-3 (Figura 35, p. 66) revelou que o hidrogênio em δ 6,35 correlacionou-se aos carbonos em δ_{C} 99,96, δ_{C} 106,03 e δ_{C} 165,91 e que o hidrogênio em δ 6,19 correlacionou-se aos carbonos em δ_{C} 94,87 e δ_{C} 106,03. A conjunção desses dados permitiu a confecção da subestrutura 10.

Figura 36 – Subestrutura 10



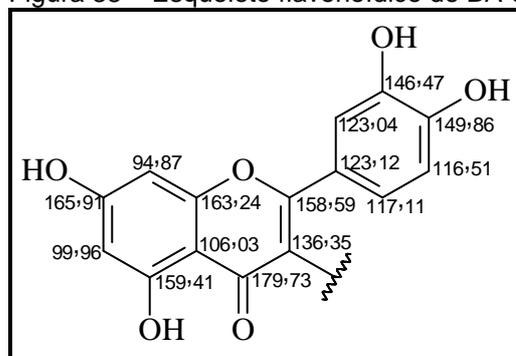
O espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC de BA-3 (Figura 35, p. 67) mostrou ainda que o hidrogênio em δ 7,28 correlacionou-se ao carbono em δ_{C} 149,86 e que o hidrogênio em δ 6,91 correlacionou-se aos carbonos em δ_{C} 123,12, δ_{C} 146,47 e δ_{C} 149,86. Este espectro revelou também que o hidrogênio em δ 7,32 correlacionou-se aos carbonos em δ_{C} 116,51, δ_{C} 123,12 e δ_{C} 158,59. Estas informações permitiram a elaboração da subestrutura 11 (Figura 37).

Figura 37 – Subestrutura 11



A junção das duas subestruturas levou-nos a proposição do esqueleto flavonoídico abaixo:

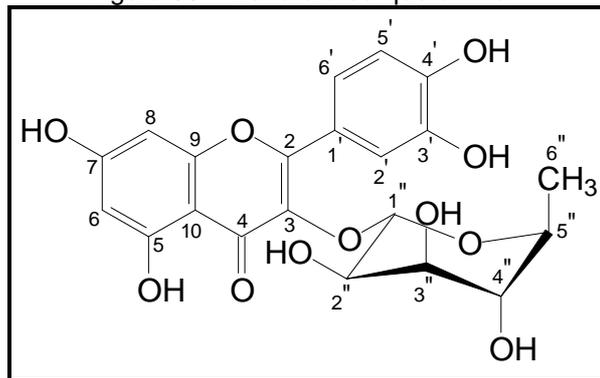
Figura 38 – Esqueleto flavonoídico de BA-3



A análise do espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC de BA-3 (Figura 35, p. 67) permitiu-nos confirmar a conectividade entre a unidade de ramnose e a aglicona através da correlação entre o hidrogênio anomérico em δ 5,35 e o carbono em δ_{C} 136,35.

As análises espectroscópicas até aqui realizadas, bem como a comparação com os dados descritos na literatura (SLOWING *et al.*, 1994) permitiram concluir que BA-3 tratava-se do flavonóide 3-O-ramnosídeo-quercetina, denominado, vulgarmente, de quercitrina. É válido acrescentar que este metabólito secundário, cuja estrutura é mostrada na Figura 39 foi isolado anteriormente de *Bauhinia racemosa* (EL-HOSSARY *et al.*, 2000), *Bauhinia unguolata* (NETO *et al.*, 2008) e *Bauhinia malabarica* (KAEWAMATAWONG *et al.*, 2008).

Figura 39 – Estrutura da quercitrina



A Tabela 8 (p. 63) mostra os dados espectroscópicos de RMN de BA-3 comparados com os dados descritos na literatura (SLOWING *et al.*, 1994) para a 3-O-ramnosídeo-quercetina.

Tabela 8 – Dados espectroscópicos de RMN de BA-3 comparados com os dados descritos na literatura (SLOWING *et al.*, 1994) para 3-O-ramnosídeo-quercetina

| | HSQC | | HMBC | | Literatura (CD ₃ OD) | |
|-----------------------|---------------------|------------------------------------|------------|------------|---------------------------------|------------------------------------|
| | δ_C (ppm) | δ_H (ppm, multip., J Hz) | $^2J_{CH}$ | $^3J_{CH}$ | δ_C (ppm) | δ_H (ppm, multip., J Hz) |
| C | | | | | | |
| 2 | 158,67 | - | | H-2' | 158,5 | - |
| 3 | 136,38 | - | | H-1" | 136,2 | - |
| 4 | 179,79 | - | | - | 179,6 | - |
| 5 | 159,44 | - | | | 159,3 | - |
| 7 | 166,05 | - | H-6, H-8 | | 165,9 | - |
| 9 | 163,33 | - | H-8 | | 163,2 | - |
| 10 | 106,04 | - | | H-6, H-8 | 105,9 | - |
| 1' | 123,15 | - | H-2' | H-5' | 122,9 | - |
| 3' | 146,54 | - | H-2' | H-5' | 146,4 | - |
| 4' | 149,92 | - | H-5' | H-2', H-6' | 149,8 | - |
| CH | | | | | | |
| 6 | 99,98 | 6,20, s | | H-8 | 99,8 | 6,28, d, 2,1 |
| 8 | 94,87 | 6,37, s | | H-6 | 94,7 | 6,45, d, 2,1 |
| 2' | 117,11 | 7,34, s | | H-6' | 116,9 | 7,41, d, 2,1 |
| 5' | 116,52 | 6,91, d, 8,2 | H-6' | | 116,3 | 7,00, d, 8,30 |
| 6' | 123,01 | 7,30, d, 8,1 | H-5' | H-2' | 122,8 | 7,39, dd, 8,1, 2,1 |
| 1" | 103,69 | 5,35, s | | | 103,5 | 5,43, d, 1,50 |
| 2" | 72,05 | 4,22, sl | | | 71,9 | 4,30, dd, 1,5, 3,3 |
| 3" | 72,16 | 3,41, d, 6,0 | | | 72,1 | 3,82, dd, 3,30, 9,0 |
| 4" | 73,44 | 3,34, d, 6,0 | | | 73,2 | 3,45, m |
| 5" | 72,30 | 3,75, sl | | | 72,0 | 3,50, m |
| CH₃ | | | | | | |
| 6" | 17,77 | 0,94, d, 6,0 | | | 17,7 | 1,03, d, 5,9 |

Figura 28 – Espectro na região do IV de BA-3 (em KBr)

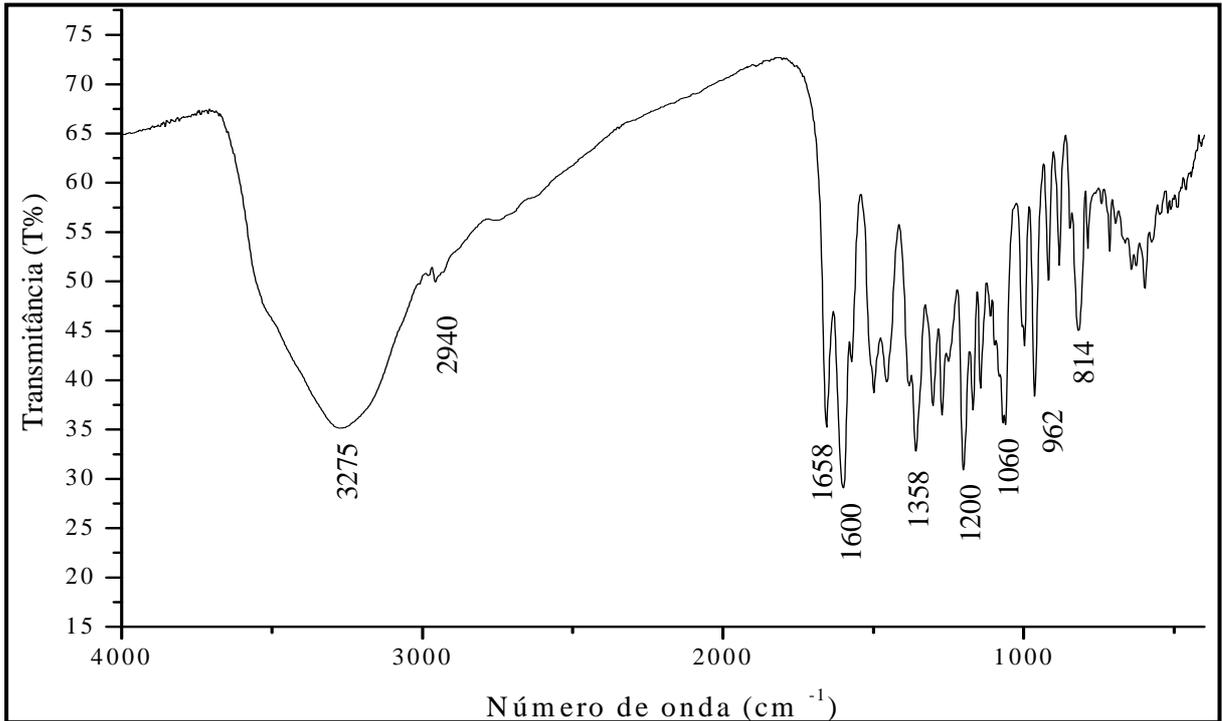
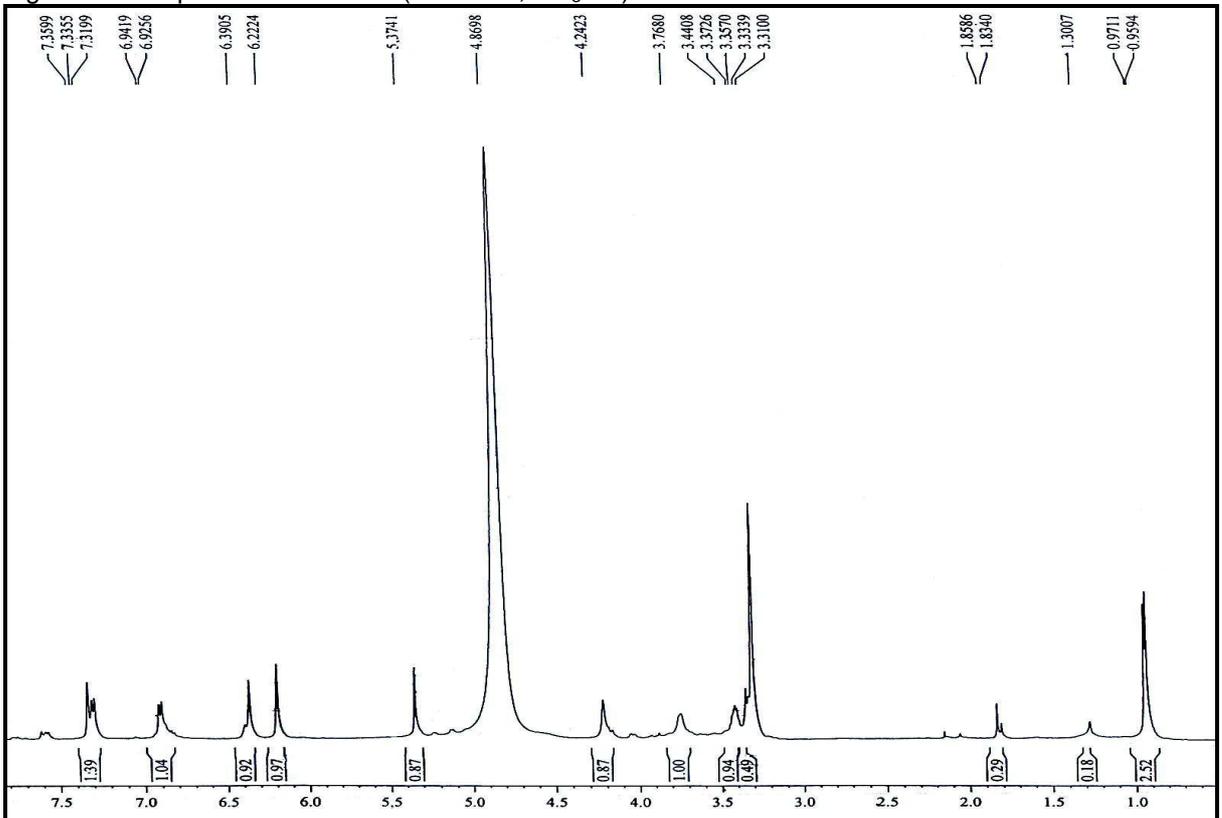
Figura 29 – Espectro de RMN ¹H (500 MHz, CD₃OD) de BA-3

Figura 30 – Espectro de RMN ^{13}C – BB (125 MHz, CD_3OD) de BA-3

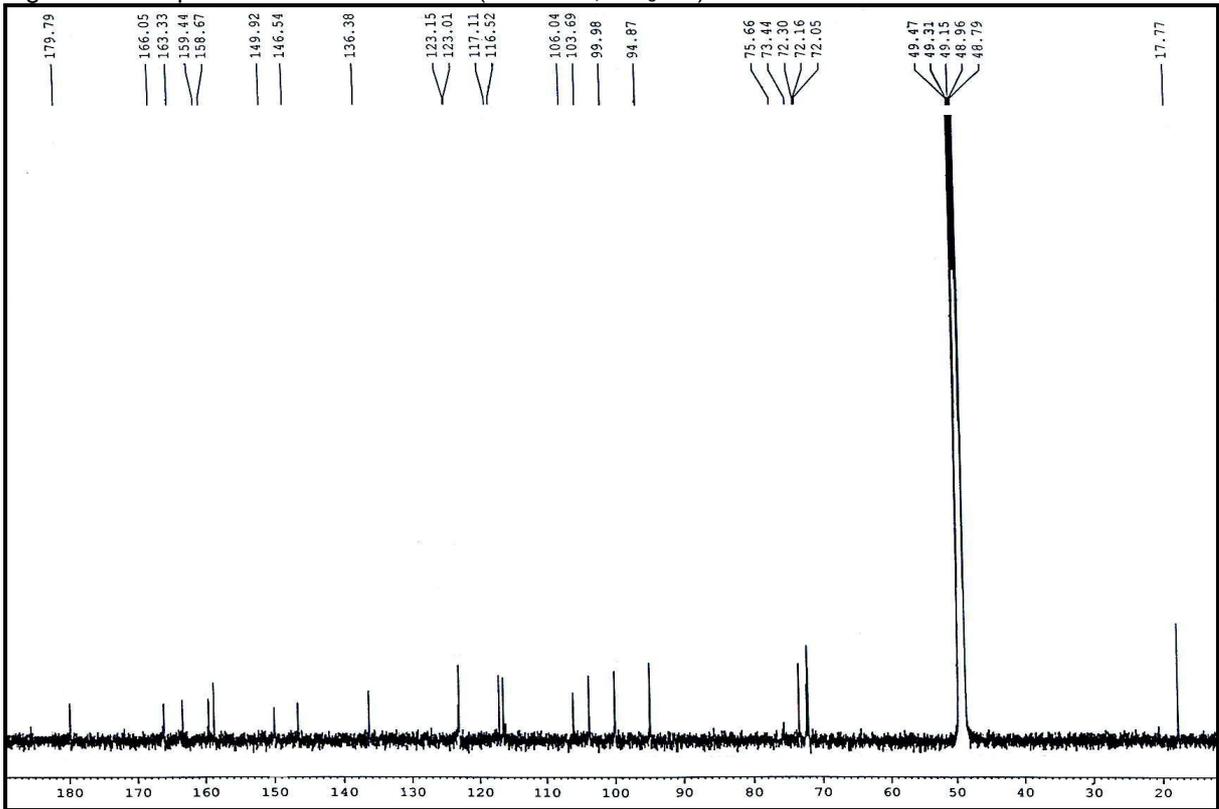


Figura 31 – Espectro de RMN ^{13}C – DEPT 135° (125 MHz, CD_3OD) de BA-3

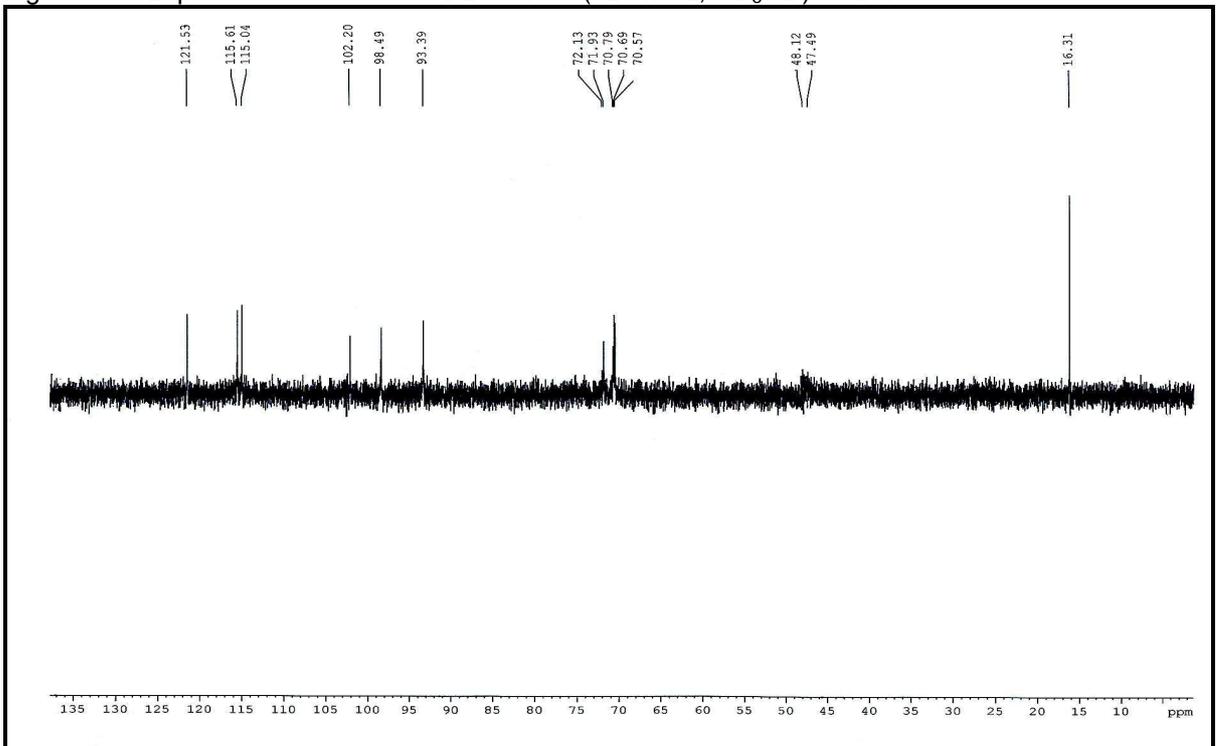


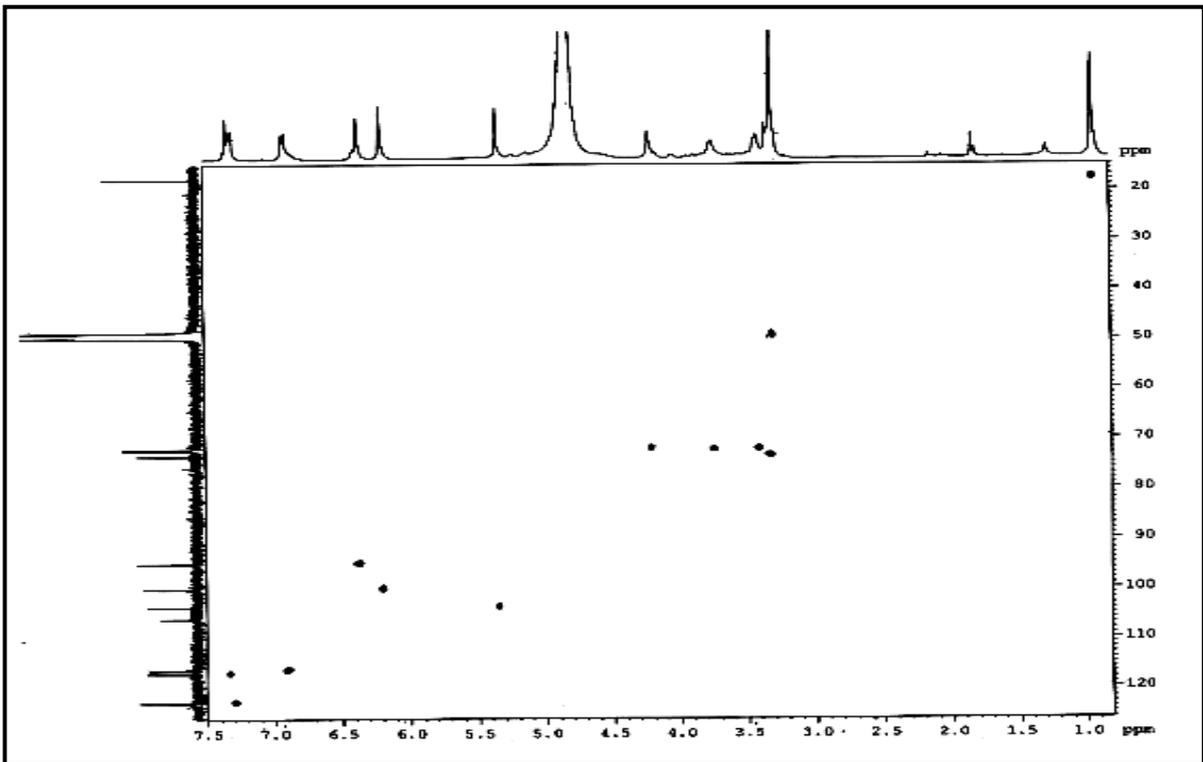
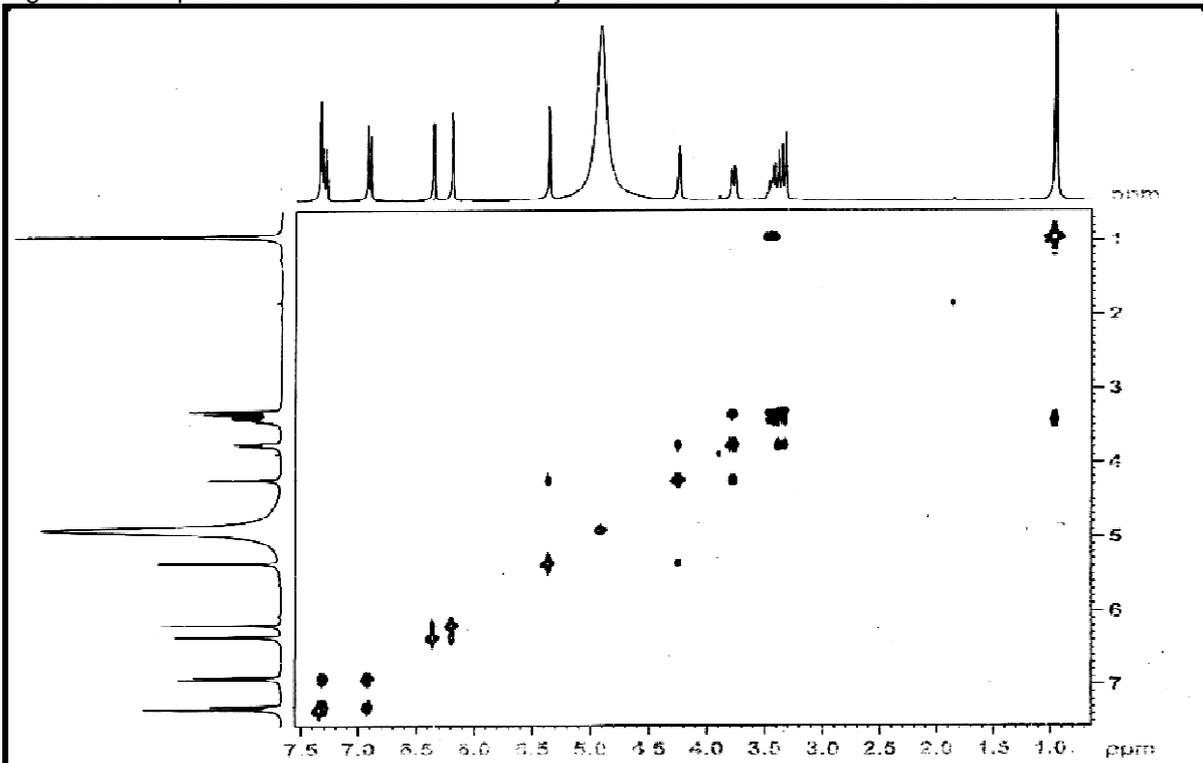
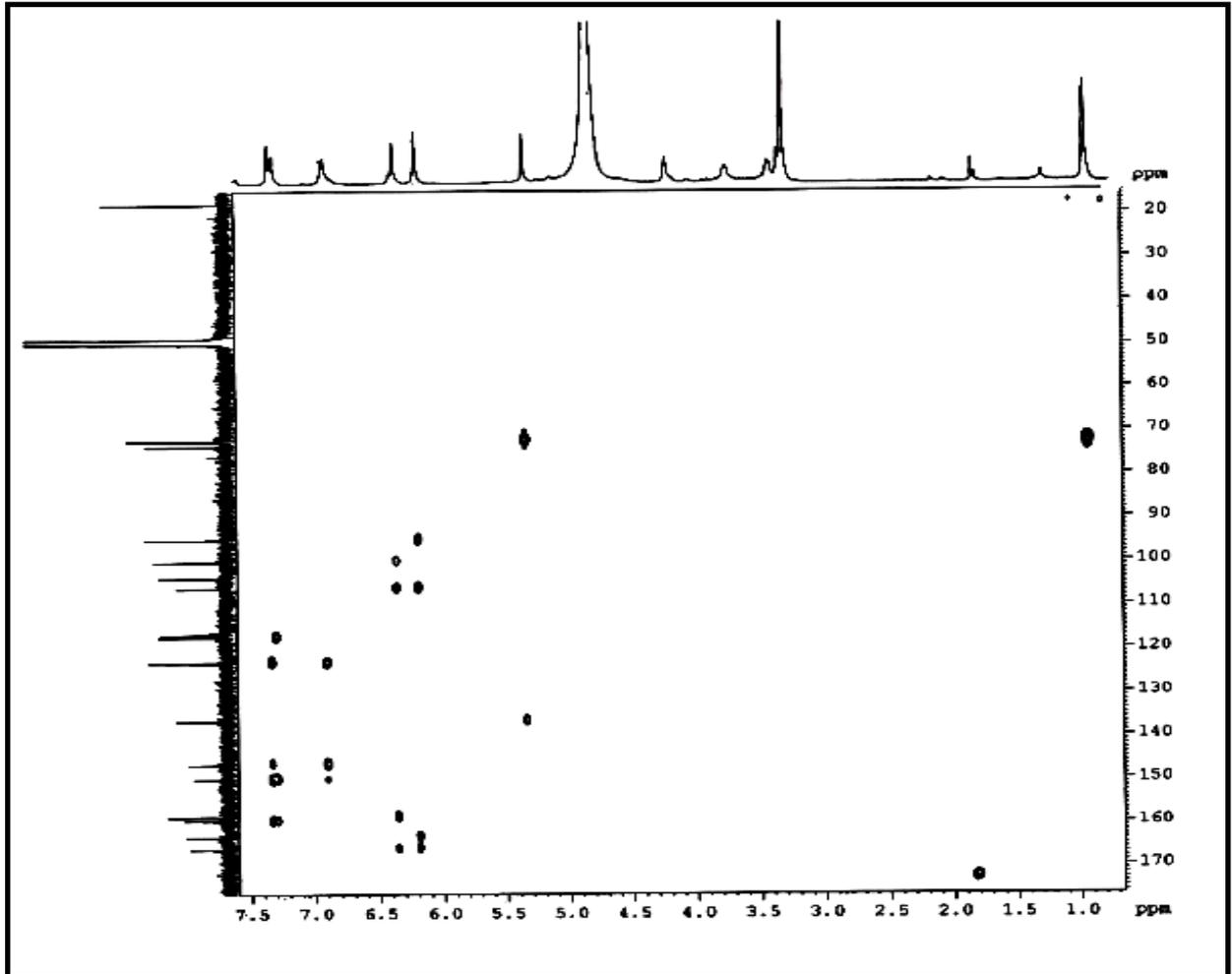
Figura 32 – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HSQC de BA-3Figura 33 – Espectro bidimensional de correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ – COSY de BA-3

Figura 35 – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC de BA-3

3.1.4 Determinação estrutural de BA-4

O fracionamento cromatográfico de EAFBA (23) (19 a 20) (item 4. 3. 4, p. 168) forneceu 9,5 mg de um material sólido, amorfo, de coloração branca, solúvel em piridina com ponto de fusão em 246-248 °C, que foi denominado BA-4.

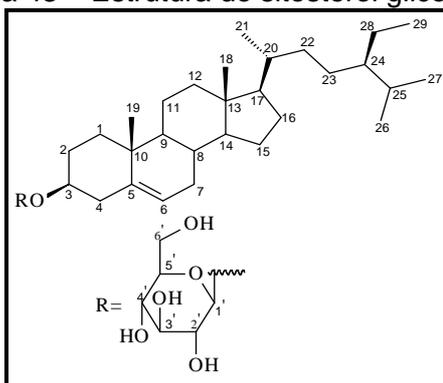
A análise do espectro de RMN ^1H (500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de BA-4 (Figura 40, p. 70) mostrou sinais associados a hidrogênios de sistema esteroidal, ou seja, na região entre δ 0,67 – 2,76. Também foram observados sinais na região entre δ 3,64 – 4,60, referentes a hidrogênios ligados a carbonos oxigenados, provavelmente indicativos da existência de uma unidade de açúcar. A atribuição da configuração β do referido açúcar foi baseada na observação de um dubleto em δ 4,59 (1H, *d*, $J = 10,2$ Hz), sendo, esta constante de acoplamento indicativa de acoplamento diaxial entre H-1' e H-2'. Foi observado ainda um sinal em δ 5,36 (1H, *s*) característico de hidrogênio ligado a carbono olefínico.

O espectro de RMN ^{13}C -BB (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de BA-4 (Figura 41, p. 71), apresentou 37 linhas espectrais. Dentre estes, os sinais em δ_{C} 122,81 e δ_{C} 141,86 são típicos de carbonos sp^2 do sitosterol (LENDL *et al.*, 2005).

No espectro de RMN ^{13}C - DEPT 135° (125 MHz; $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de BA-4 (Figura 42, p. 71) foi observado um sinal, com amplitude negativa, em δ_{C} 63,76 que foi atribuído a um carbono metilênico oxigenado, levando a sugerir que o açúcar anteriormente mencionado refere-se à glicose (LENDL *et al.*, 2005).

A partir da análise dos dados obtidos e a comparação com dados descritos na literatura (Tabela 9, p. 69) (LENDL *et al.*, 2005) foi possível concluir que BA-4 tratava-se do sitosterol em sua forma glicosilada (Figura 43). Este metabólito secundário, conhecido vulgarmente como daucosterol, já foi isolado de *Bauhinia uruguayensis* (IRIBARREN; POMILIO, 1989).

Figura 43 – Estrutura do sitosterol glicosilado

Tabela 9 – Dados espectroscópicos de RMN de BA-4 (C_5D_5N) comparados com dados descritos na literatura (LENDL *et al.*, 2005) para o sitosterol glicosilado continua

| | HSQC [(C_5D_5N)] | | Literatura [$(CDCl_3:CD_3OD)$ (1:1)] | |
|-----------------------|----------------------|------------------------------------|---------------------------------------|------------------------------------|
| | δ_C (ppm) | δ_H (ppm, multip., J Hz) | δ_C (ppm) | δ_H (ppm, multip., J Hz) |
| C | | | | |
| 5 | 141,86 | - | 139,9 | - |
| 10 | 37,85 | - | 36,2 | - |
| 13 | 43,41 | - | 41,8 | - |
| CH | | | | |
| 3 | 79,11 | 3,64, <i>sl</i> | 78,4 | 3,57-3,65, <i>m</i> |
| 6 | 122,81 | 5,36, <i>sl</i> | 121,4 | 5,36-5,39, <i>m</i> |
| 8 | 32,99 | | 31,4 | |
| 9 | 51,28 | | 49,7 | |
| 14 | 57,76 | | 56,3 | |
| 17 | 57,18 | | 55,5 | |
| 20 | 35,14 | | 35,6 | |
| 24 | 46,98 | | 45,4 | |
| 25 | 30,42 | | 28,6 | |
| 1' | 103,49 | 4,59, <i>d</i> , 10,2 | 100,6 | 4,41, <i>d</i> , 7,8 |
| 2' | 76,22 | | 73,1 | |
| 3' | 79,48 | | 76,1 | |
| 4' | 72,64 | | 69,7 | |
| 5' | 79,32 | | 75,6 | |
| CH₂ | | | | |
| 1 | 37,29 | | 36,8 | |
| 2 | 29,44 | | 29,0 | |
| 4 | 38,40 | | 38,1 | |
| 7 | 32,99 | | 31,4 | |

Tabela 9 – Dados espectroscópicos de RMN de BA-4 (C_5D_5N) comparados com dados descritos na literatura (LENDL *et al.*, 2005) para o sitosterol glicosilado conclusão

| | | | | |
|-----------------------|-------|--------------|------|--------------|
| 11 | 22,20 | | 20,5 | |
| 12 | 40,26 | | 39,3 | |
| 15 | 25,42 | | 23,7 | |
| 16 | | | 27,7 | |
| 22 | 33,09 | | 33,4 | |
| 23 | 27,35 | | 25,4 | |
| 28 | 24,32 | | 22,5 | |
| 6' | 63,76 | | 61,1 | |
| CH₃ | | | | |
| 18 | 12,89 | 0,67, s | 11,1 | 0,70, s |
| 19 | 19,93 | 0,95, s | 18,5 | 1,03, s |
| 21 | 20,14 | 1,00, d, 6,3 | 18,0 | 0,94, d, 6,4 |
| 26 | 20,33 | 0,88, d, 3,2 | 18,1 | 0,83, d, 6,5 |
| 27 | 20,88 | 0,90, d, 3,2 | 18,9 | 0,85, d, 6,5 |
| 29 | 13,07 | 0,87, s | 11,1 | 0,86, t, 8,3 |

Figura 40 – Espectro de RMN 1H (500 MHz, C_5D_5N) de BA-4

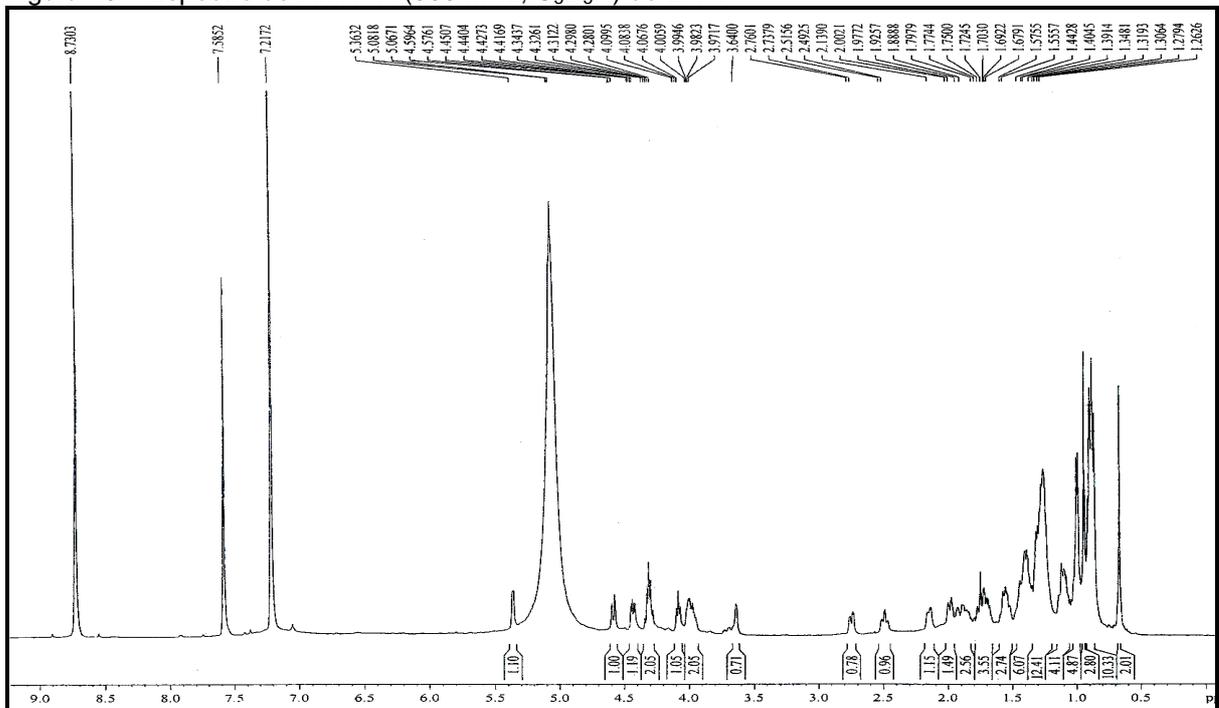


Figura 41 – Espectro de RMN ^{13}C -BB (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de BA-4

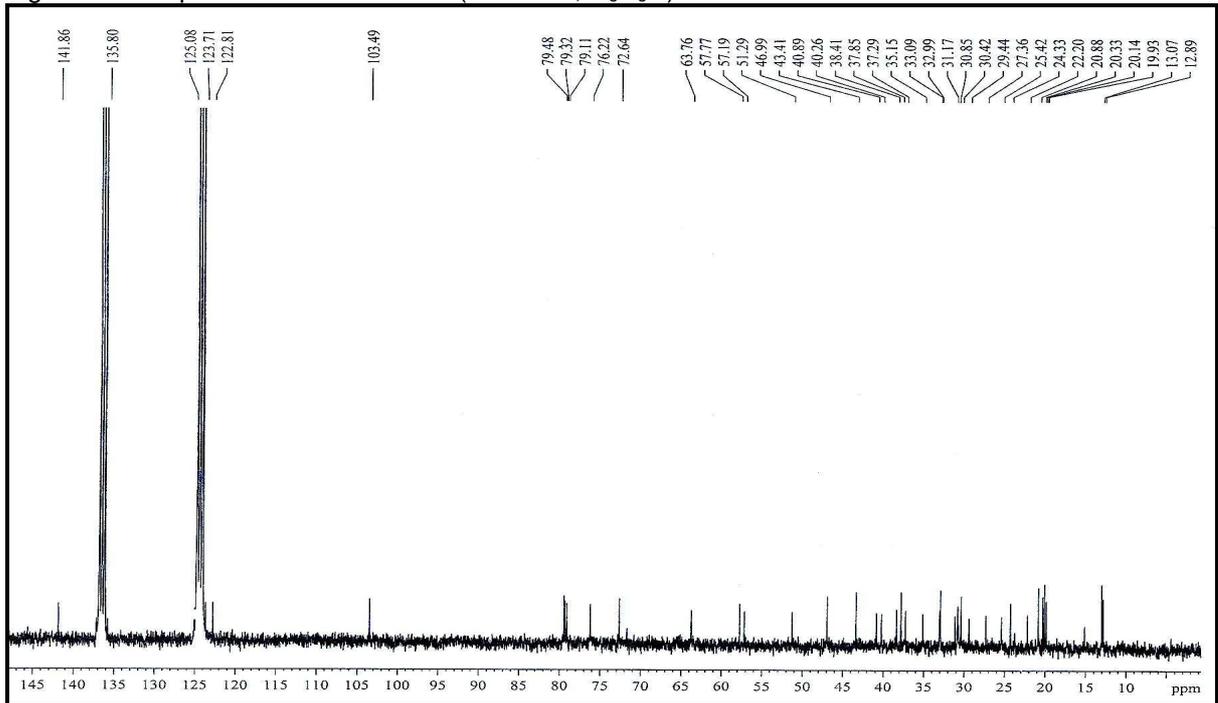
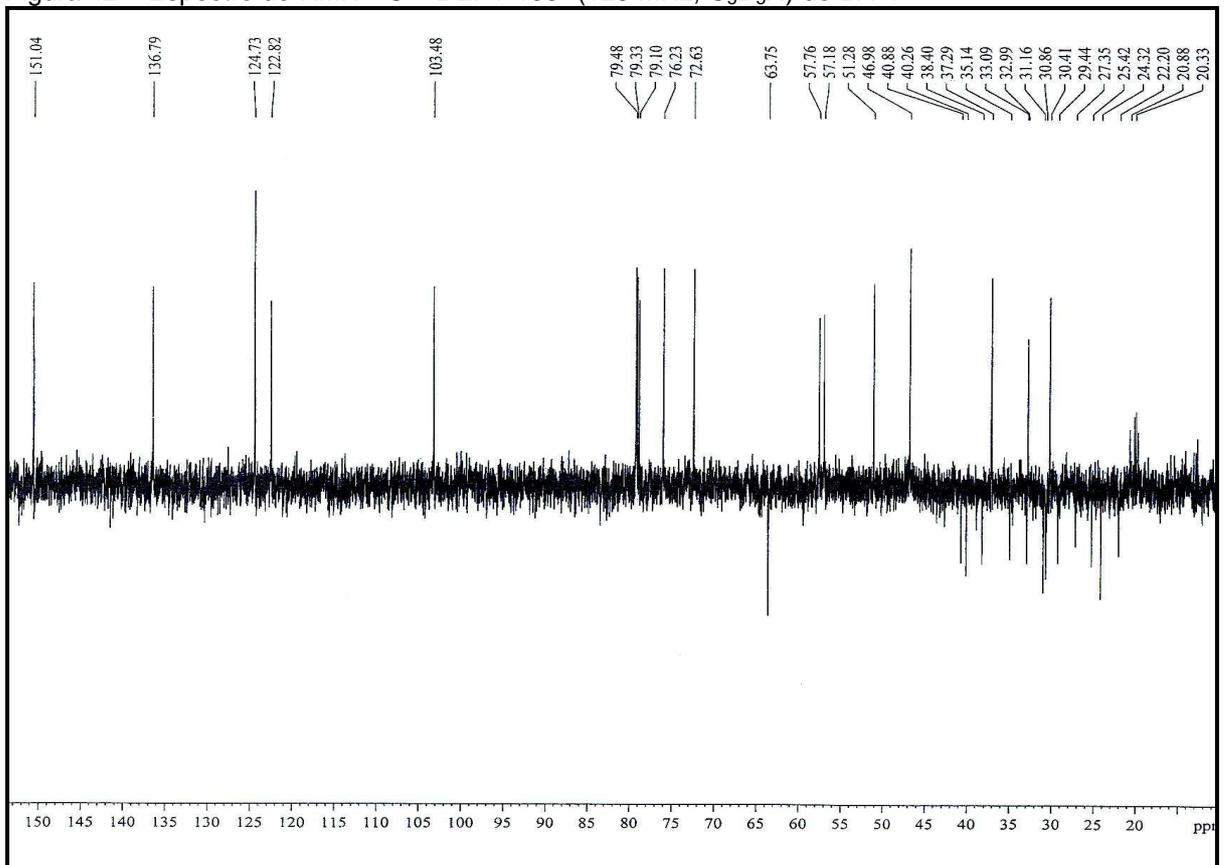


Figura 42 – Espectro de RMN ^{13}C – DEPT 135° (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de BA-4



3.1.5 Determinação estrutural de BA-5

O composto BA-5 (9,4 mg) foi obtido por cromatografia em coluna da fração EERBA (14 a 15) (235 a 285) (item 4. 4. 3, p. 174) como um líquido viscoso de coloração marrom. Sua fórmula molecular $C_{17}H_{20}O_4$ foi estabelecida a partir da análise do espectro de massas de alta resolução (Figura 44, p. 77) com a massa em m/z 288,1361 daltons (311,1259 daltons, calculada para $[C_{17}H_{20}O_4 + Na]^+$).

O espectro de absorção na região do infravermelho de BA-5 (Figura 45, p. 77) mostrou uma banda intensa e larga em 3419 cm^{-1} relacionada à deformação axial de ligação O–H. A banda em 2960 cm^{-1} indicou deformação axial de ligação C–H de carbono sp^3 e as bandas em 1600 cm^{-1} , 1493 cm^{-1} , 1458 cm^{-1} foram associadas à deformação axial de ligação C=C, além disso, as bandas em 1202 cm^{-1} , 1148 cm^{-1} e 1055 cm^{-1} sugeriram a presença de deformação axial de ligação C–O (PAVIA *et al.*, 2010).

O espectro de RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) de BA-5 (Figura 46, p. 78) apresentou sinais na região entre δ 6,32 – 7,14 característicos de hidrogênios ligados a átomos de carbono aromáticos. Os sinais em δ 6,32 (1H, *d*, $J = 2,9$ Hz) e em δ 6,42 (1H, *d*, $J = 2,9$ Hz) foram associados a hidrogênios ligados a átomos de carbonos aromáticos em acoplamento *meta*, sugerindo, portanto, a presença de um anel aromático 1, 3, 4, 5-tetrassubstituído. Os sinais em δ 6,90 (1H, *d*, $J = 6,0$ Hz) e em δ 7,12 (1H, *d*, $J = 6,0$ Hz) são indicativos de hidrogênios *orto* posicionados. Os sinais em δ 6,80 (1H, *dt*) e δ 7,14 (1H, *dt*) referem-se a sinais de hidrogênios acoplado em *orto* e em *meta*, respectivamente. A conjunção desses dados espectroscópicos permitiu inferir a existência de um anel aromático 1, 2-dissubstituído.

Este espectro mostrou ainda, três sinais referentes a hidrogênios ligados a carbonos oxigenados em δ 3,78 (3H, *s*), δ 3,86 (3H, *s*) e δ 3,88 (3H, *s*) e um sinal em δ 2,81 (4H, *s*) indicativo de hidrogênios ligados a carbono sp^3 em posição α a carbono sp^2 (PAVIA *et al.*, 2010).

O espectro de RMN ^{13}C – BB (75 MHz, $CDCl_3$) de BA-5 (Figura 47, p. 78) mostrou dezessete linhas espectrais e a comparação deste espectro com o espectro RMN ^{13}C – DEPT 135° (75 MHz, $CDCl_3$) (Figura 48, p. 79) permitiu a identificação de três carbonos metílicos oxigenados ($-OCH_3$), dois carbonos metilênicos (CH_2), seis

carbonos metínicos (CH) e seis carbonos não hidrogenados (C), dos quais quatro destes, são oxigenados. A partir destes resultados foi possível confirmar a fórmula molecular $C_{17}H_{20}O_4$, com IDH igual a oito, já indicada pelo espectro de massas de alta resolução. A tabela 10 mostra os dados de RMN ^{13}C de BA-5 com padrão de hidrogenação.

Tabela 10 – Dados de RMN ^{13}C de BA-5 com padrão de hidrogenação

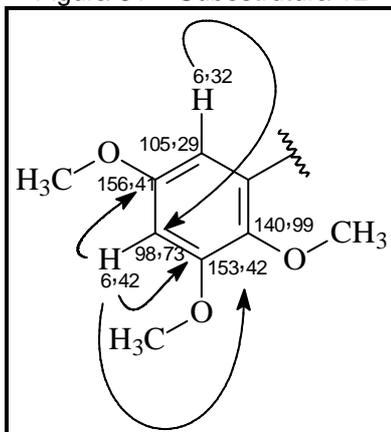
| C | CH | CH ₂ | CH ₃ |
|----------------|--------|-------------------|-------------------|
| 127,44 | 98,73 | 32,12 | 55,79 |
| 135,90 | 105,29 | 32,66 | 55,99 |
| 140,99 (C – O) | 115,97 | | 61,29 |
| 153,42 (C – O) | 120,55 | | |
| 154,64 (C – O) | 128,00 | | |
| 156,41 (C – O) | 130,10 | | |
| 6 C | 6 CH | 2 CH ₂ | 3 CH ₃ |

Fórmula molecular: $C_{17}H_{20}O_4$

A análise do espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^{13}C \times ^1H$ - HSQC de BA-5 (Figura 49, p. 79) permitiu associar inequivocamente todos os sinais de hidrogênios a seus respectivos sinais de átomos de carbono, como pode ser observado na Tabela 11 (p. 76).

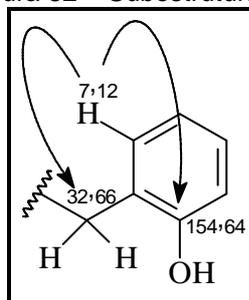
As posições das metoxilas, que foram sugeridas através da análise dos espectros de RMN 1H e de RMN ^{13}C , foram determinadas através da observação das correlações do hidrogênio com sinal em δ 6,32 com o carbono em δ_c 98,73 e do hidrogênio com sinal em δ 6,42 com os carbonos em δ_c 140,99, δ_c 153,42 e δ_c 156,41 no espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^{13}C \times ^1H$ - HMBC de BA-5 (Figura 50, p. 80). A subestrutura 12 (Figura 51, p. 74) é coerente com esses dados espectroscópicos.

Figura 51 – Subestrutura 12



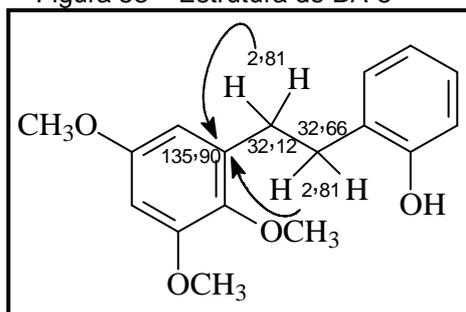
O espectro bidimensional de correlação heteronuclear ¹³C x ¹H - HMBC permitiu também identificar o posicionamento dos grupos ligados ao segundo anel aromático, pois revelou as seguintes correlações: do hidrogênio em δ 7,12 com os carbonos em δ_C 32,66 e em δ_C 154,64. Estes dados corroboraram para a elaboração da subestrutura 13.

Figura 52 – Subestrutura 13



A junção das subestruturas 12 e 13 com consequente finalização da determinação estrutural de BA-5 foi possível devido à observação da correlação entre os hidrogênios em δ 2,81 com o carbono em δ_C 135,90 no espectro HMBC (Figura 53).

Figura 53 – Estrutura de BA-5



Baseados nos dados espectrais obtidos, principalmente de RMN (1D e 2D) e nas informações adicionais obtidas pela interpretação do espectro de massas (Figura 44, p. 77), cuja proposta mecanística para alguns fragmentos de massas está mostrada na Figura 54, BA-5 foi identificada como 2-hidroxi-2',3',5'-trimetoxibenzila, substância pertencente à classe dos bibenzis (grupo A) (XIAO *et al.*, 2008), inédita na literatura, cuja estrutura está mostrada na Figura 55. A Tabela 11 (p. 76) apresenta os dados de RMN de BA-5.

Figura 54 – Proposta mecanística para obtenção de alguns fragmentos de massas de BA-5

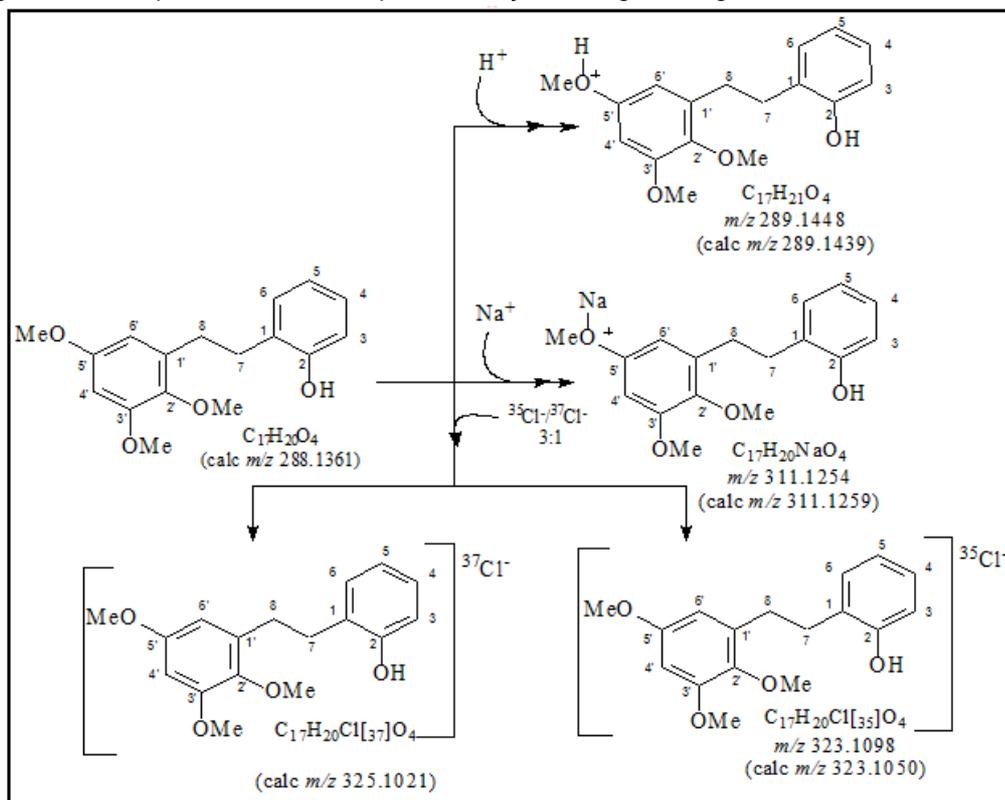


Figura 55 – Estrutura de 2-hidroxi-2', 3', 5'-trimetoxibenzila

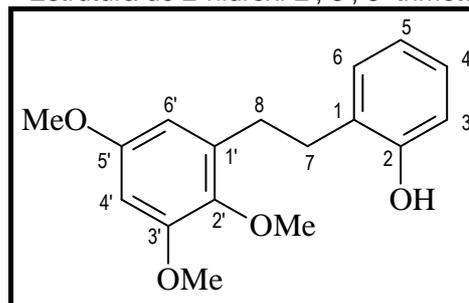


Tabela 11 – Dados espectroscópicos de RMN de BA-5 (2-hidróxi-2',3',5'-trimetoxibenzila)

| | HSQC | | HMBC | |
|------------------------|---------------------|------------------------------------|------------|--------------------|
| | δ_c (ppm) | δ_H (ppm, multip., J Hz) | $^2J_{CH}$ | $^3J_{CH}$ |
| C | | | | |
| 1 | 127,44 | - | 2H-7 | H-3; H-5 |
| 2 | 154,64 | - | | H-6; 2H-7 |
| 1' | 135,90 | - | 2H-8 | 2H-7 |
| 2' | 140,99 | - | | H-4'; H-6'; MeO-2' |
| 3' | 153,42 | - | H-4' | MeO-3' |
| 5' | 156,41 | - | H-4'; H-6' | MeO-5' |
| CH | | | | |
| 3 | 115,97 | 6,90, <i>d</i> , 6,0 | | |
| 4 | 128,00 | 7,14, <i>dt</i> | | |
| 5 | 120,55 | 6,80, <i>dt</i> | | |
| 6 | 130,10 | 7,12, <i>d</i> , 6.0 | | 2H-7 |
| 4' | 98,73 | 6,42, <i>d</i> , 2.9 | | H-6' |
| 6' | 105,29 | 6,32, <i>d</i> , 2.9 | | H-4'; 2H-8 |
| CH₂ | | | | |
| 7 | 32,66 | 2,81, <i>s</i> | | H-6 |
| 8 | 32,12 | 2,81, <i>s</i> | | H-2' |
| OCH₃ | | | | |
| 2' | 61,29 | 3,86, <i>s</i> | | |
| 3' | 55,99 | 3,88, <i>s</i> | | |
| 5' | 55,79 | 3,78, <i>s</i> | | |

Figura 44 – Espectro de massas de alta resolução de BA-5

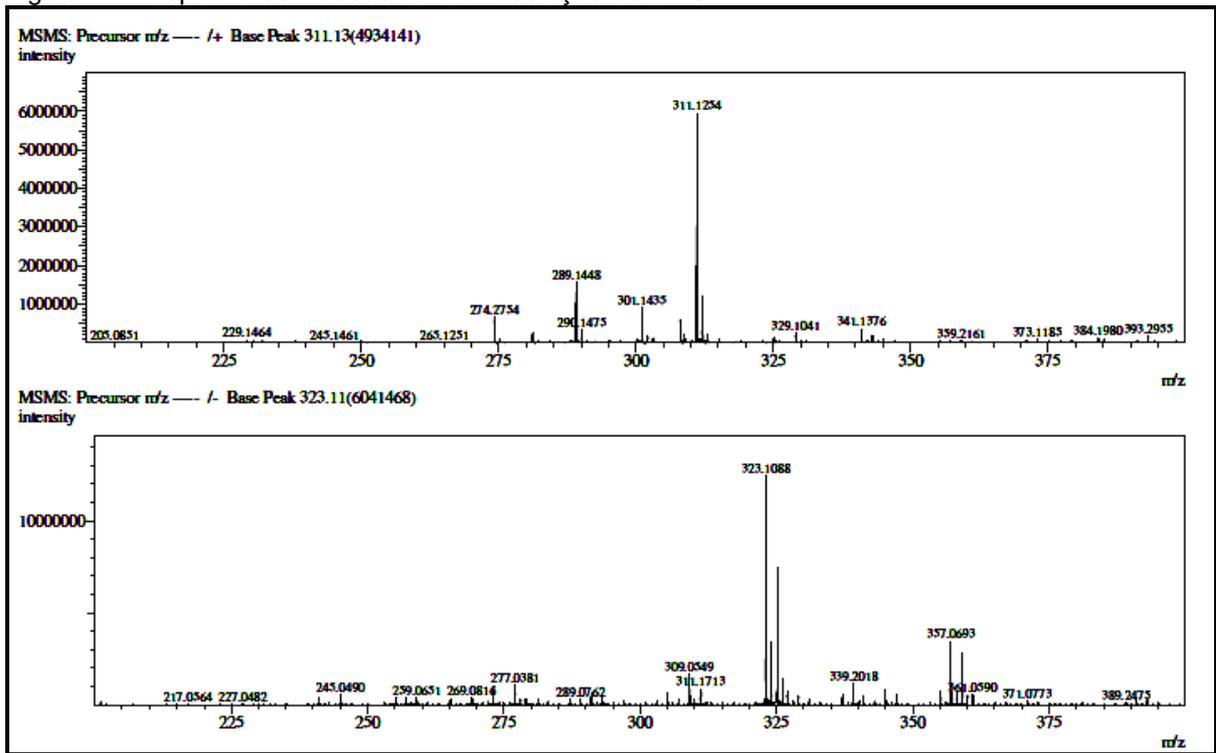


Figura 45 – Espectro na região do IV de BA-5 (em KBr)

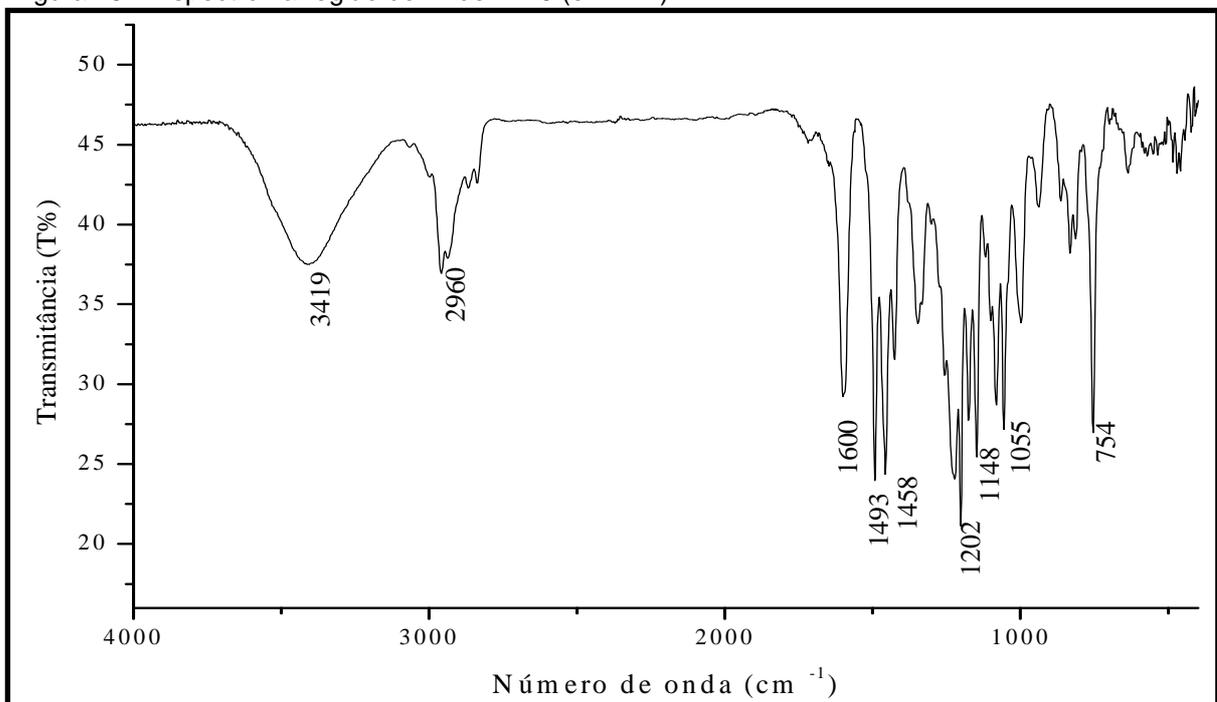


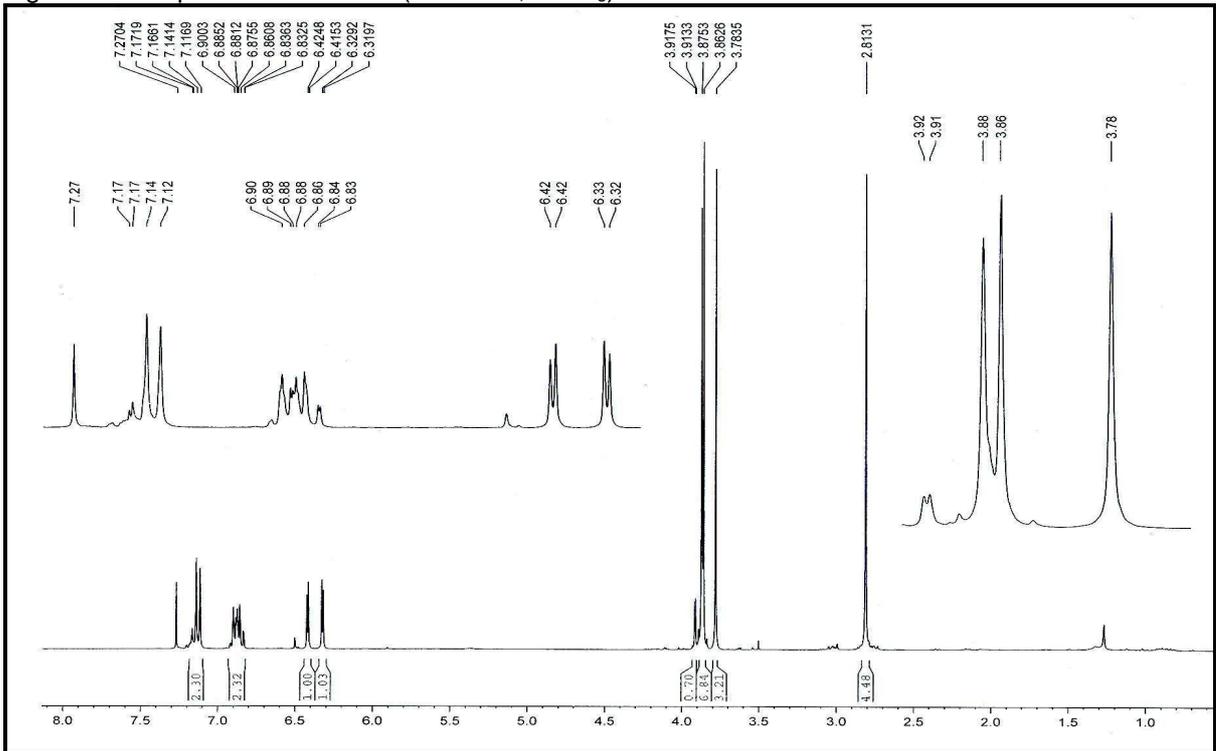
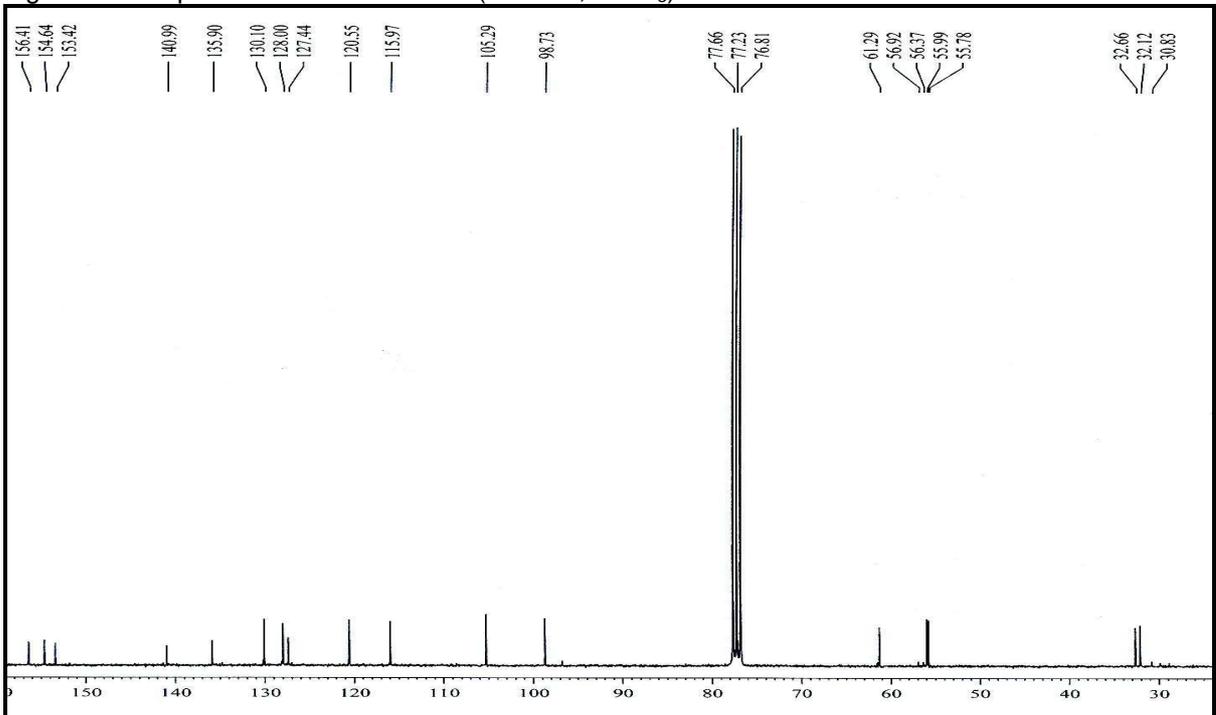
Figura 46 – Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) de BA-5Figura 47 – Espectro de RMN ^{13}C – BB (75 MHz, CDCl_3) de BA-5

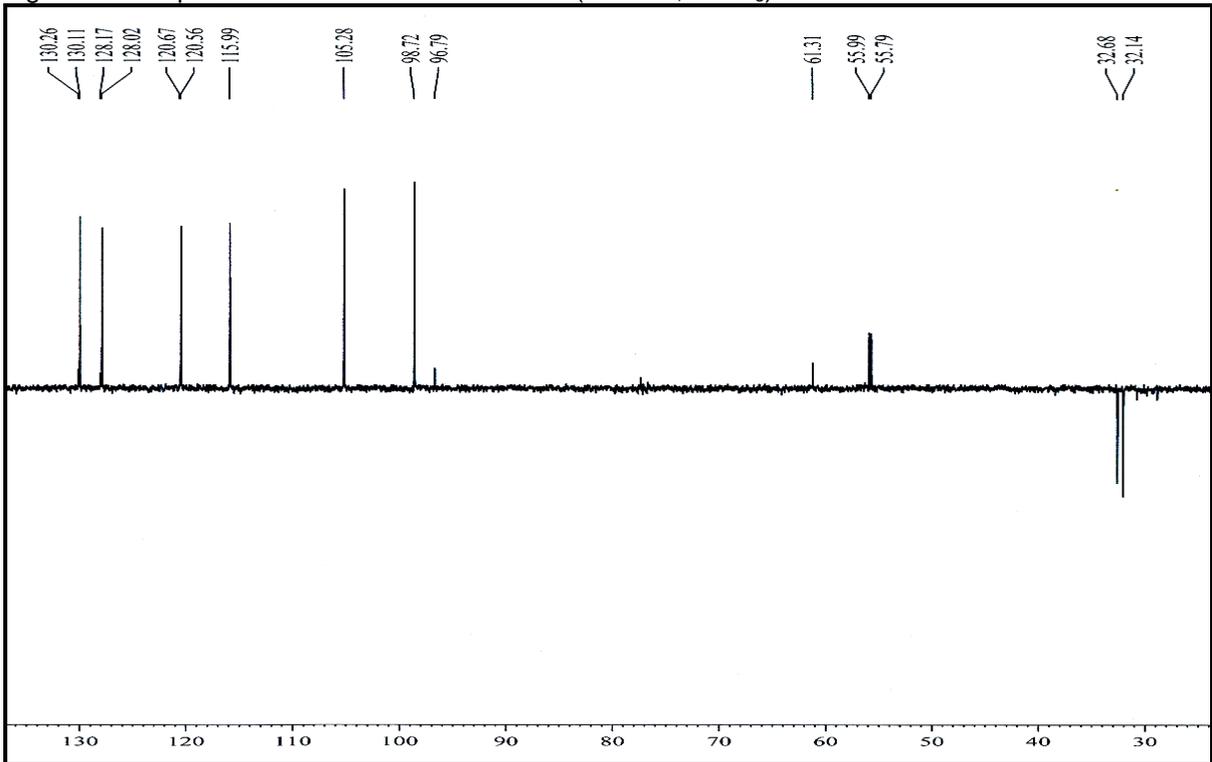
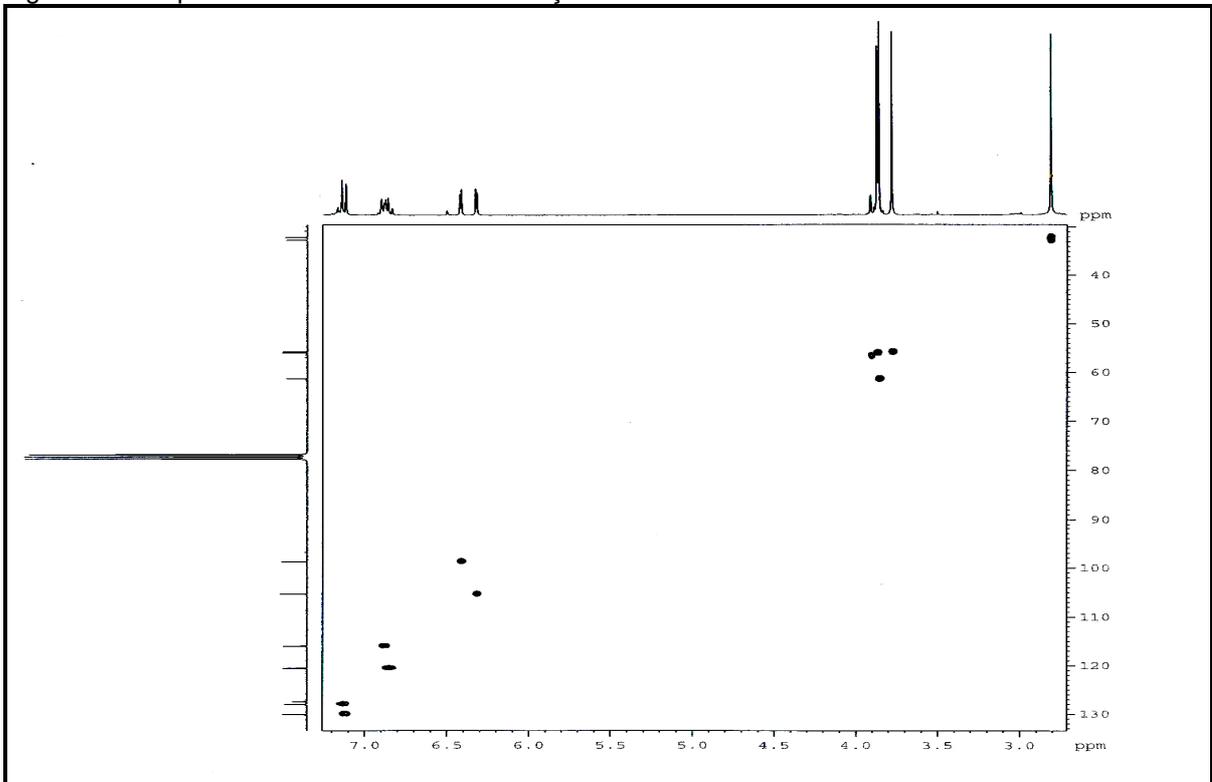
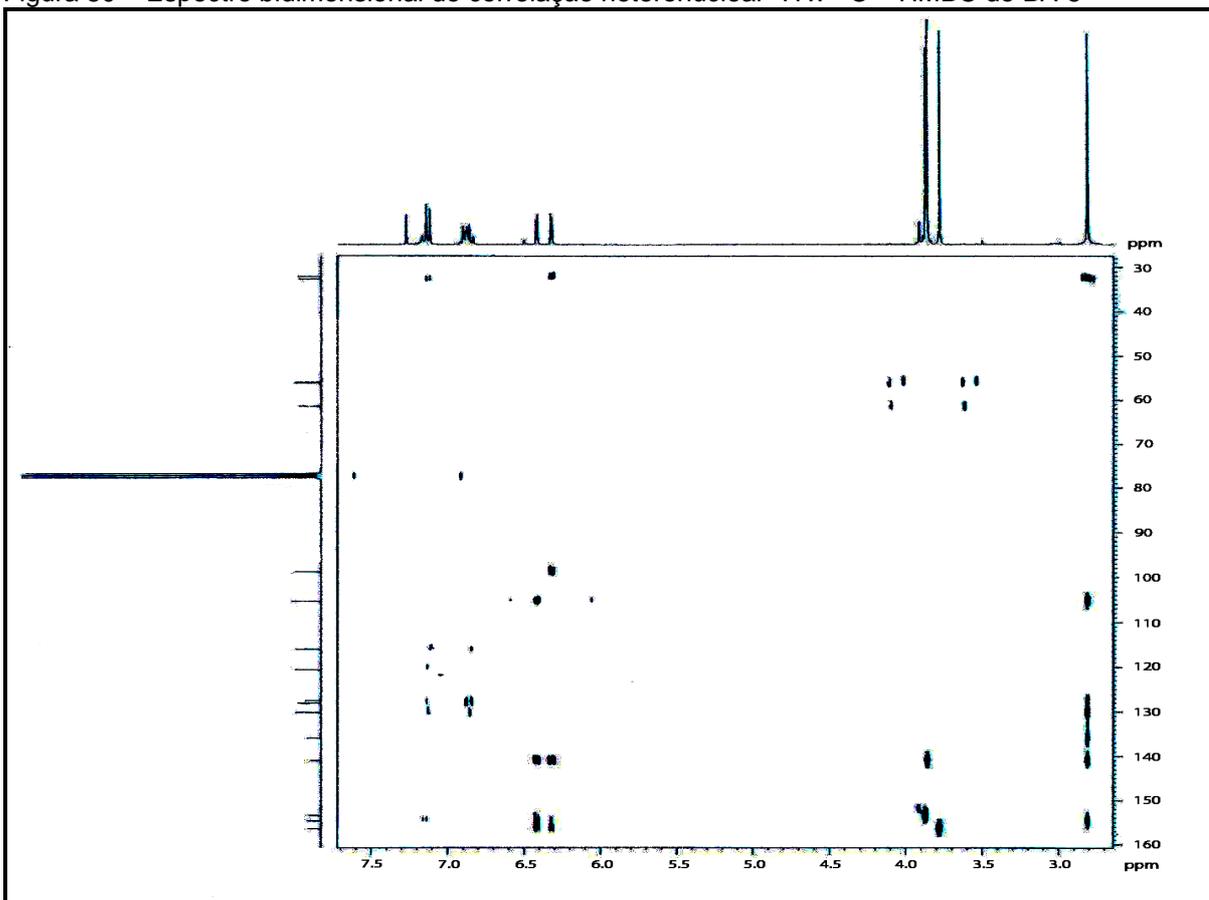
Figura 48 – Espectro de RMN ^{13}C – DEPT 135° (75 MHz, CDCl_3) de BA-5Figura 49 – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HSQC de BA-5

Figura 50 – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC de BA-5

3.1.6 Determinação estrutural de BA-6

BA-6 (12,5 mg), um líquido viscoso de coloração marrom, foi isolada por cromatografia em coluna aberta da fração EERBA (14 a 15) (235 a 285) (item 4. 4. 5, p. 178).

O espectro de absorção na região do infravermelho de BA-6 (Figura 56, p. 84) mostrou uma banda intensa e larga em 3432 cm^{-1} relacionada à deformação axial de ligação O–H. A banda em 2925 cm^{-1} indicou deformação axial de ligação C–H de carbono sp^3 e as bandas em 1597 cm^{-1} e 1456 cm^{-1} foram associadas à deformação axial de ligação C=C, além disso, uma banda em 1149 cm^{-1} foi indicativa de deformação axial de ligação C–O (PAVIA *et al.*, 2010).

O espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) de BA-6 (Figura 57, p. 85) apresentou sinais na região entre δ 6,33 – 7,14, característicos de hidrogênios ligados a carbonos de anel aromático. Nesta faixa foram observados sinais em δ 6,33 (1H, *d*, $J = 2,1\text{ Hz}$) e δ 6,37 (1H, *d*, $J = 2,1\text{ Hz}$) que foram associados a hidrogênios em posição *meta*, devido à magnitude da constante de acoplamento. Os sinais em δ 6,76 (1H, *d*, $J = 8,1\text{ Hz}$) e em δ 6,87 (1H, *t*, $J = 7,2\text{ Hz}$) indicaram hidrogênios *orto* posicionados. Este espectro mostrou ainda um sinal em δ 3,77 (6H, *s*) característico de hidrogênios de grupo metoxila e um sinal em δ 2,90 (4H, *m*) que foi atribuído a hidrogênios ligados a carbonos sp^3 em posição α a carbono sp^2 (PAVIA *et al.*, 2010).

O espectro de RMN ^{13}C – BB (75 MHz, CDCl_3) (Figura 58, p. 85) de BA-6 mostrou treze linhas espectrais, observando-se, portanto, que os sinais em δ_{C} 55,47, δ_{C} 106,74 e δ_{C} 161,02 apresentavam maior intensidade quando comparados aos demais sinais relativos a carbonos com o mesmo grau de hidrogenação. A comparação dos dados obtidos através da análise deste espectro com os dados do espectro de RMN ^{13}C – DEPT 135° (Figura 59, p. 86) permitiu determinar o padrão de hidrogenação de cada carbono de BA-6, observando-se, portanto, cinco carbonos não hidrogenados (C), destes, três oxigenados; sete carbonos metínicos (CH), dois carbonos metilênicos (CH_2) e dois carbonos metílicos (CH_3). Desta forma foi possível propor a fórmula molecular $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_3$, com IDH igual a oito. A Tabela 12 mostra os dados de RMN ^{13}C de BA-6 com padrão de hidrogenação. Vale acrescentar que os

dados espectroscópicos de RMN ^{13}C estão sendo relatados pela primeira vez para essa substância.

Tabela 12 – Dados de RMN ^{13}C de BA-6 com padrão de hidrogenação

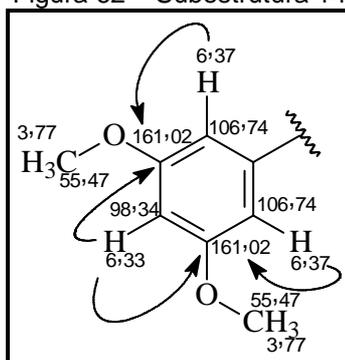
| C | CH | CH ₂ | CH ₃ |
|----------------|--------|-------------------|-------------------|
| 127,55 | 98,34 | 32,33 | 55,47 |
| 144,57 | 106,74 | 36,73 | 55,47 |
| 153,79 (C – O) | 106,74 | | |
| 161,02 (C – O) | 115,60 | | |
| 161,02 (C – O) | 121,08 | | |
| | 127,55 | | |
| | 130,56 | | |
| 5 C | 7 CH | 2 CH ₂ | 2 CH ₃ |

Fórmula molecular: $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_3$

Os dados espectroscópicos observados até aqui, juntamente com o valor do IDH levou-nos a concluir que BA-6 pertence à mesma classe de BA-5 e a diferença entre elas, reside no número de grupos metoxilas, BA-5 possui três grupos enquanto BA-6 somente dois. O espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^{13}\text{C} \times ^1\text{H}$ – HSQC de BA-6 (Figura 60, p. 86) revelou as correlações entre os hidrogênios e seus respectivos carbonos.

As posições das metoxilas de BA-6 foram definidas pela análise do espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^{13}\text{C} \times ^1\text{H}$ – HMBC (Figura 61, p. 87) que revelou as seguintes correlações: os hidrogênios em δ 6,33 e δ 6,37 correlacionaram-se ao carbono em δ_{C} 161,02. A subestrutura 14 foi elaborada de acordo com os dados supracitados.

Figura 62 – Subestrutura 14



Baseados nos dados espectroscópicos de RMN obtidos (Tabela 13, p. 84) e na comparação com os dados descritos na literatura (TAKASUGI *et al.*, 1987) foi possível concluir que BA-6 tratava-se de 2-hidroxi-3',5'-dimetoxibenzila, substância, também pertencente à classe dos bibenzis (grupo A) (XIAO, *et al.*, 2008), já isolada em *Bauhinia purpurea* (BOONPHONG *et al.*, 2007) cuja estrutura está mostrada na Figura 63.

Figura 63 – Estrutura de 2-hidroxi-3',5'-dimetoxibenzila

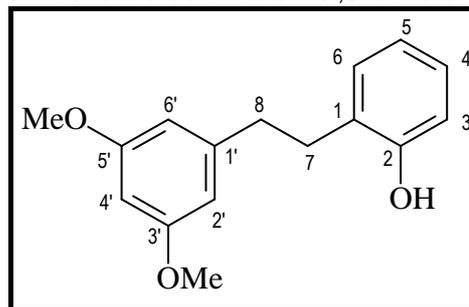


Tabela 13 – Dados espectroscópicos de RMN de BA-6 comparados com os dados descritos na literatura (TAKASUGI *et al.*, 1987) para 2-hidróxi-3',5'-dimetoxibenzila

| | HSQC | | HMBC | | Literatura (CDCl ₃) | |
|------------------------|---------------------|------------------------------------|------------|----------------------|---------------------------------|------------------------------------|
| | δ_c (ppm) | δ_H (ppm, multip., J Hz) | $^2J_{CH}$ | $^3J_{CH}$ | δ_c (ppm) | δ_H (ppm, multip., J Hz) |
| C | | | | | | |
| 1 | 128,08 | - | 2H-7 | 2H-8 | - | - |
| 2 | 153,79 | - | | | - | - |
| 1' | 144,57 | - | 2H-8 | 2H-7 | - | - |
| 3' | 161,02 | - | H-2', H-4' | OCH ₃ -3' | - | - |
| 5' | 161,02 | - | H-4', H-6' | OCH ₃ -5' | - | - |
| CH | | | | | | |
| 3 | 115,60 | 6,76, <i>d</i> , 8,1 | | | | 6,81, <i>m</i> |
| 4 | 127,55 | 7,11, <i>m</i> | | | | 7,10, <i>m</i> |
| 5 | 121,08 | 6,87, <i>t</i> , 7,2 | | | | 6,81, <i>m</i> |
| 6 | 130,56 | 7,11, <i>m</i> | | | | 7,10, <i>m</i> |
| 2' | 106,74 | 6,37, <i>sl</i> | 2H-8 | | | 6,34, <i>s</i> |
| 4' | 98,34 | 6,33, <i>sl</i> | H-2' | H-6' | | 6,34, <i>s</i> |
| 6' | 106,74 | 6,37, <i>sl</i> | | H-4', 2H-8 | | 6,34, <i>s</i> |
| CH₂ | | | | | | |
| 8 | 36,73 | 2,90, <i>m</i> | | | | 2,88, <i>s</i> |
| 7 | 32,33 | 2,90, <i>m</i> | | | | 2,88, <i>s</i> |
| OCH₃ | | | | | | |
| 3' | 55,47 | 3,77, <i>s</i> | | | | 3,75, <i>s</i> |
| 5' | 55,47 | 3,77, <i>s</i> | | | | 3,75, <i>s</i> |

Figura 56 – Espectro na região do IV de BA-6 (em KBr)

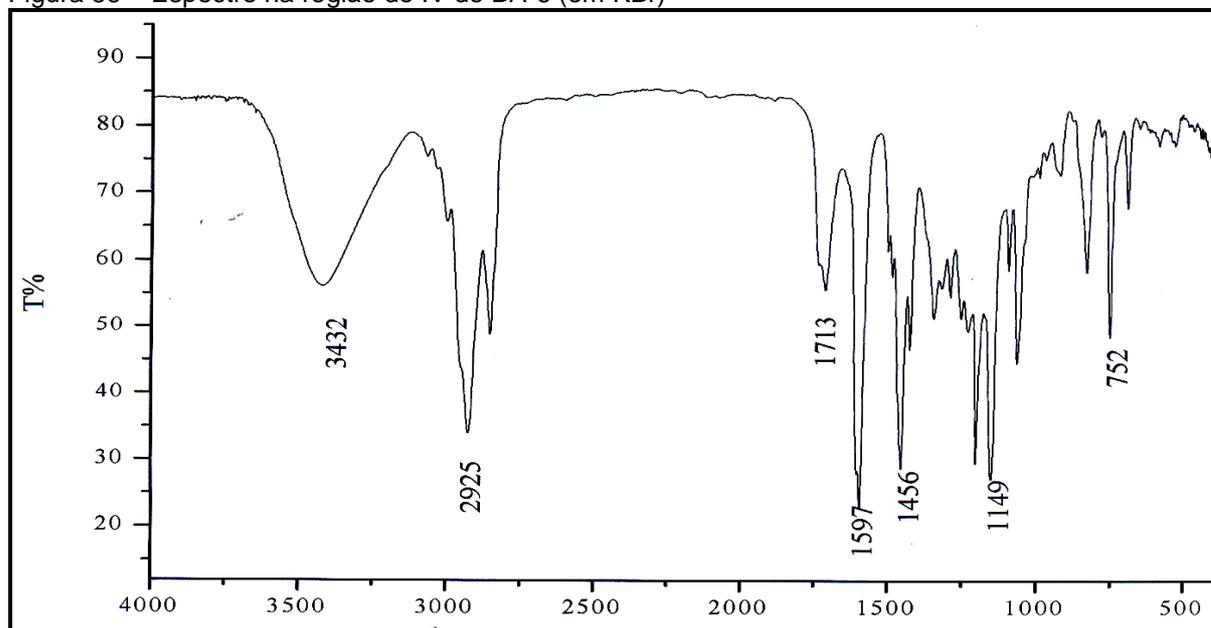


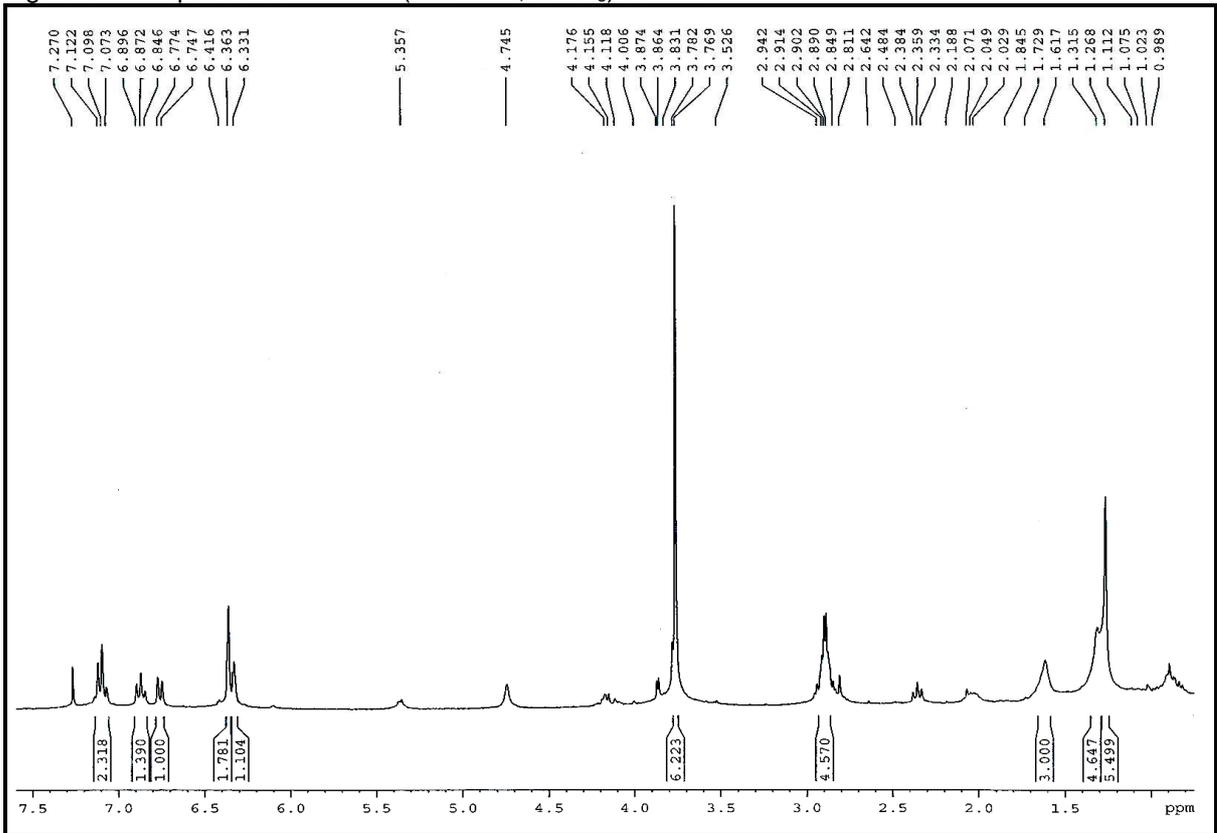
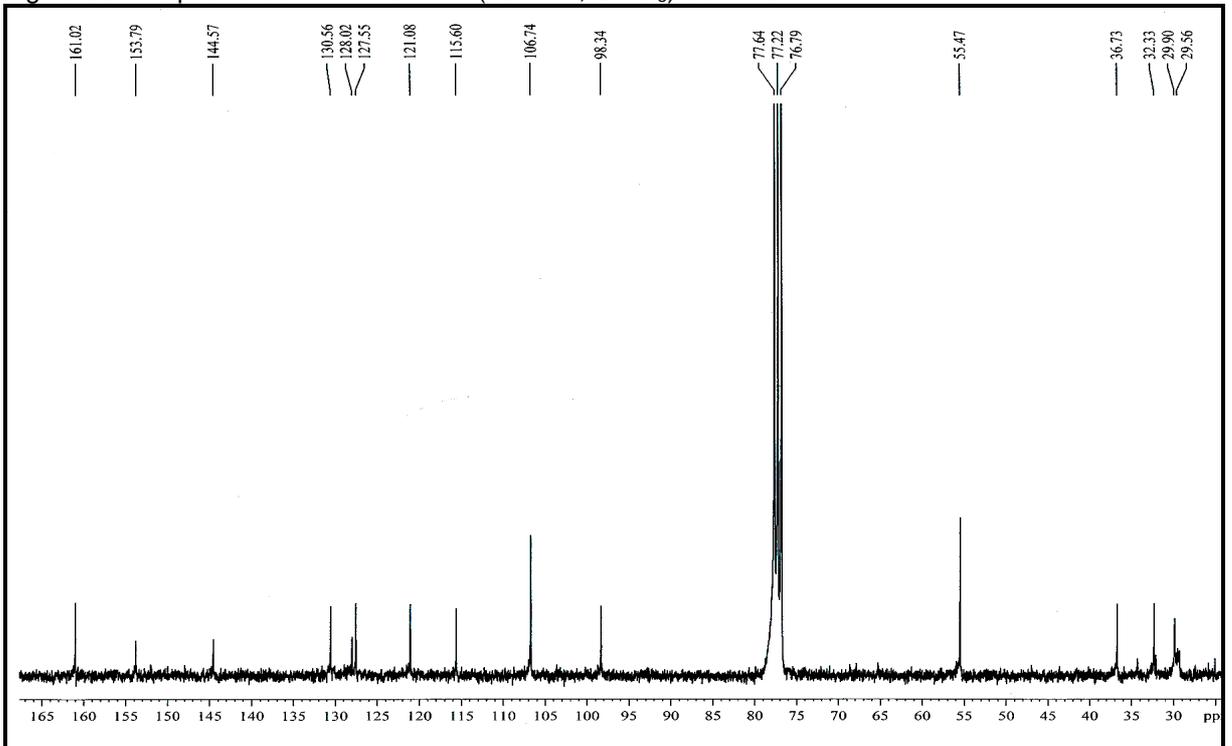
Figura 57 – Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) de BA-6Figura 58 – Espectro de RMN ^{13}C – BB (75 MHz, CDCl_3) de BA-6

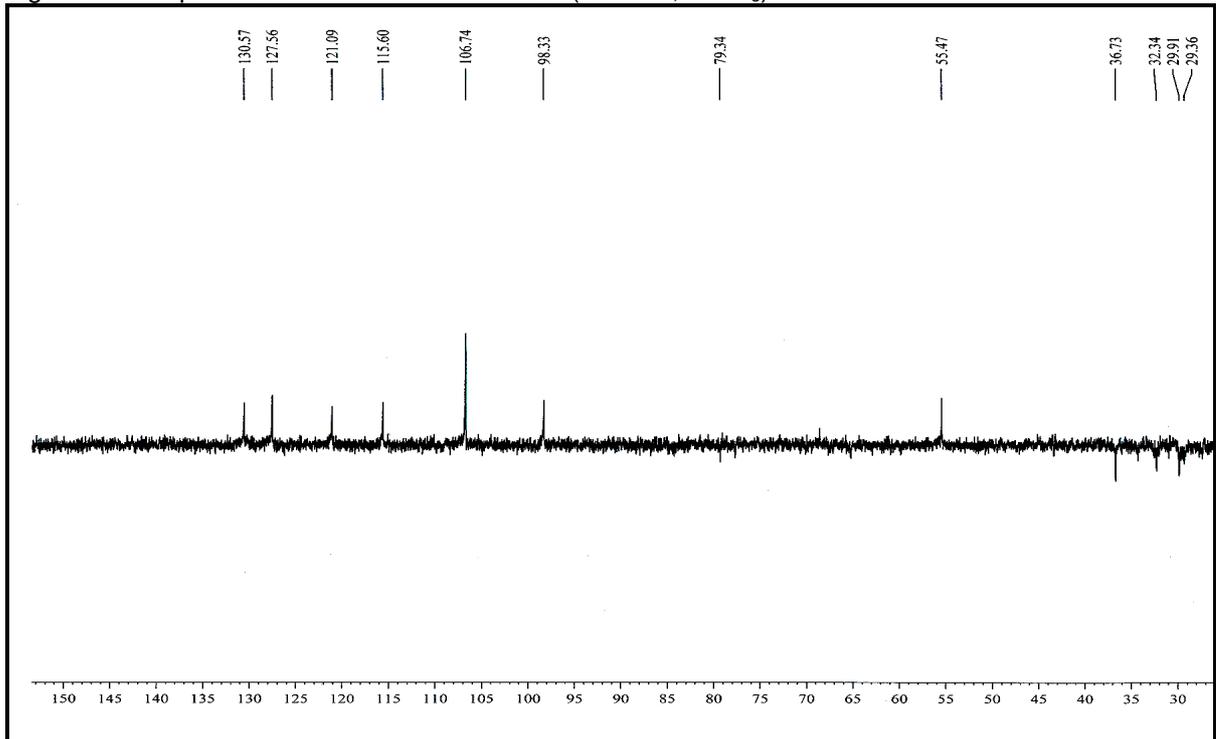
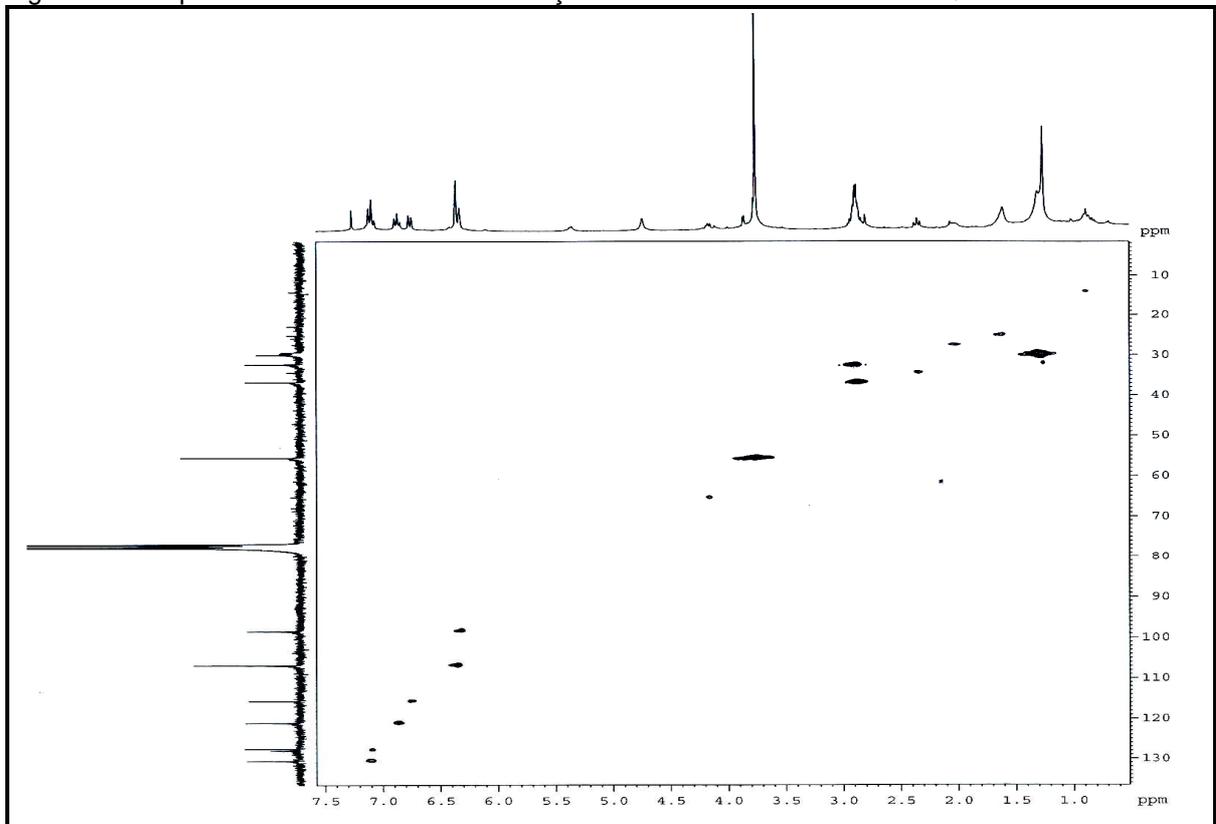
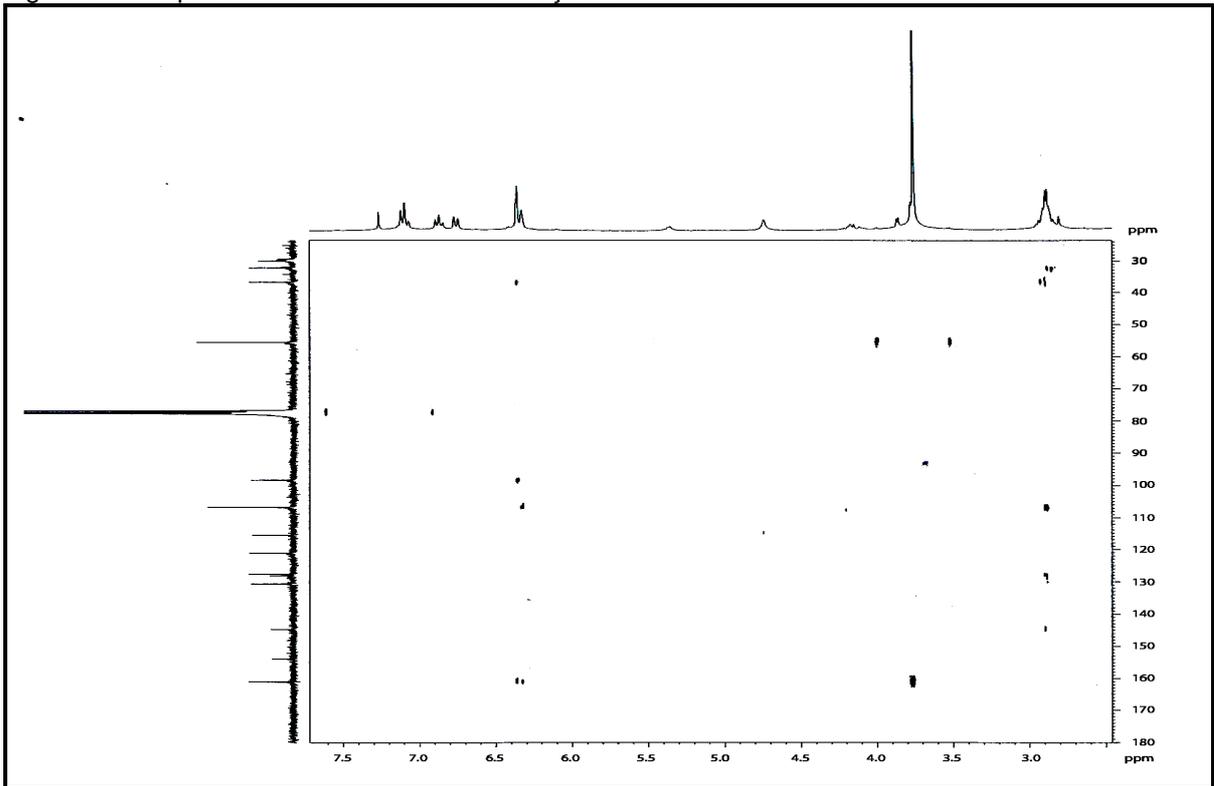
Figura 59 – Espectro de RMN ^{13}C - DEPT 135 $^{\circ}$ (75 MHz, CDCl_3) de BA-6Figura 60 – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HSQC de BA-6

Figura 61 – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC de BA-6

3.1.7 Determinação estrutural de BA-7

A partir da fração EERBA (16 a 18) (54 a 118) (297 a 354) (202 a 249) (item 4. 4. 6. 3, p. 185) foram obtidos 26,0 mg de um sólido amorfo de coloração branca solúvel em metanol, com ponto de fusão na faixa 211,2 - 211,6 °C (P.F. literatura = 211 - 213 °C) (PETTIT *et al.*, 2006), que foi denominado BA-7.

O espectro de absorção na região do infravermelho de BA-7 (Figura 64, p. 92) mostrou uma banda intensa e larga em 3458 cm⁻¹ relacionada à deformação axial de ligação O–H. A banda em 1460 cm⁻¹ é indicativa de deformação axial de ligação C=C de anel aromático e as bandas em 1278 cm⁻¹ e 1115 cm⁻¹ estão associadas à deformação axial de ligação C–O (PAVIA *et al.*, 2010).

O espectro de RMN ¹H (500 MHz, CD₃OD) de BA-7 (Figura 65, p. 92) revelou sinais na região entre δ 6,22 – 7,06 característicos de hidrogênios ligados a átomos de carbonos aromáticos. Os sinais em δ 6,62 (1H, *d*, *J* = 11,5 Hz) e δ 6,93 (1H, *d*, *J* = 11,5 Hz) são indicativos de hidrogênios ligados a átomos de carbono olefínicos em configuração *cis*, devido às magnitudes das constantes de acoplamento. Os sinais de hidrogênios ligados a carbonos aromáticos em δ 6,59 (1H, *d*, *J* = 8,1 Hz), δ 6,89 (1H, *d*, *J* = 8,1 Hz) e δ 7,06 (1H, *t*, *J* = 8,2 Hz) referem-se a hidrogênios *orto* posicionados, enquanto que o sinal em δ 6,22 (1H, *s*), provavelmente, indica hidrogênio ligado a carbono de anel aromático pentassubstituído. O sinal em δ 2,07 (3H, *s*) é indicativo hidrogênio de grupo metila ligado a anel aromático e o sinal em δ 3,75 (3H, *s*) está associado aos hidrogênios de metoxila (PAVIA *et al.*, 2010).

O espectro de RMN ¹³C – BB (125 MHz, CD₃OD) de BA-7 (Figura 66, p. 93) mostrou 16 sinais. Comparando-se os espectros de RMN ¹³C – BB e RMN ¹³C – DEPT 135° (Figura 67, p. 93) pôde-se deduzir a presença de duas absorções correspondentes a carbonos metílicos (CH₃), seis absorções referentes a carbonos metínicos (CH), além de oito carbonos não hidrogenados (C), destes, cinco oxigenados como apresentados na Tabela 14.

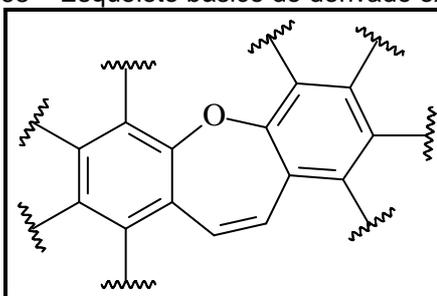
Tabela 14 – Dados de RMN ^{13}C de BA-7 com padrão de hidrogenação

| C | CH | CH ₃ |
|----------------|--------|-------------------|
| 115,19 | 101,96 | 8,61 |
| 120,04 | 112,62 | 55,78 |
| 129,53 | 113,56 | |
| 140,45 (C – O) | 125,48 | |
| 148,31 (C – O) | 129,95 | |
| 156,21 (C – O) | 130,73 | |
| 156,65 (C – O) | | |
| 160,84 (C – O) | | |
| 8 C | 6 CH | 2 CH ₃ |

Fórmula molecular: $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_4$

A fórmula molecular de BA-7, $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_4$, permitiu o cálculo do IDH (Índice de deficiência de hidrogênio) sendo obtido o valor dez. Esta informação em conjunção com os dados espectroscópicos já observados levaram-nos a concluir que BA-7 tratava-se de um derivado oxepínico, classe de metabólito secundário de ocorrência rara na natureza (PETTIT *et al.*, 2006), cujo esqueleto básico está mostrado na Figura 68.

Figura 68 – Esqueleto básico de derivado oxepínico

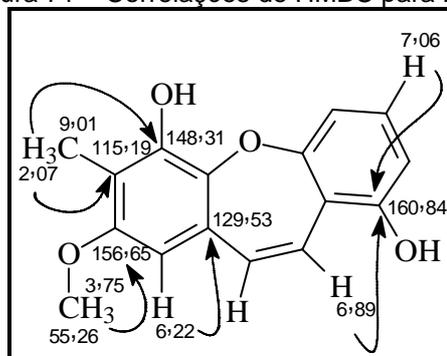


O espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^{13}\text{C} \times ^1\text{H}$ - HSQC de BA-7 (Figura 69, p. 94) revelou a associação direta entre os hidrogênios e seus respectivos carbonos conforme mostrado na Tabela 15 (p. 91).

Através da análise dos dados do espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^{13}\text{C} \times ^1\text{H}$ - HMBC de BA-7 (Figura 70, p. 94) foi possível definir as posições dos grupos ligados ao esqueleto do derivado oxepínico, pois este espectro revelou as seguintes correlações: os hidrogênios metílicos em δ 2,07 com os carbonos em δ_{C} 148,31, δ_{C} 115,19 e os hidrogênios em δ 3,75 com o carbono em δ_{C} 156,65, o hidrogênio com sinal de absorção em δ 6,22 com o carbono em δ_{C} 129,53

e os hidrogênios em δ 6,89 e em δ 7,06 com o carbono em δ_C 160,84. A figura abaixo (Figura 71) mostra as correlações mencionadas.

Figura 71 – Correlações de HMBC para BA-7



A análise dos dados espectroscópicos obtidos e a comparação com dados descritos na literatura (PETTIT *et al.*, 2006) (Tabela 15, p. 91), permitiram identificar BA-7 como uma substância da classe das oxepinas denominada 8-metoxi-1,6-diidroxí-7-metil-dibenzo[b,f]oxepina conhecida, vulgarmente, como pacharina, cuja estrutura está ilustrada na Figura 72, já isolada de *Bauhinia racemosa* (ANJANNEYULU *et al.*, 1984) e de *Bauhinia purpurea* (PETTIT *et al.*, 2006); e sintetizada por Comber e Sargent (COMBER; SARGENT, 1990).

Figura 72 – Estrutura da pacharina

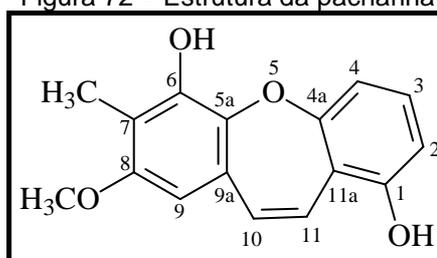


Tabela 15 – Dados espectroscópicos de RMN de BA-7 comparados com os dados descritos na literatura (PETTIT *et al.*, 2006) para pacharina

| | HSQC | | HMBC | | Literatura (CDCl ₃) | |
|------------------------|---------------------|------------------------------------|--------------------|---|---------------------------------|------------------------------------|
| | δ_C (ppm) | δ_H (ppm, multip., J Hz) | $^2J_{CH}$ | $^3J_{CH}$ | δ_C (ppm) | δ_H (ppm, multip., J Hz) |
| C | | | | | | |
| 1 | 160,84 | | | H-3, H-11 | 158,96 | |
| 4a | 156,21 | | | H-3 | 153,50 | |
| 5a | 140,45 | | | H-10 | 138,54 | |
| 6 | 148,31 | | | CH ₃ -7 | 146,22 | |
| 7 | 115,19 | | CH ₃ -7 | H-9 | 113,97 | |
| 8 | 156,65 | | | CH ₃ -7, OCH ₃ -8 | 154,97 | |
| 9a | 129,53 | | H-9, H-10 | H-11 | 127,05 | |
| 11a | 120,04 | | H-11 | H-4 | 118,33 | |
| CH | | | | | | |
| 2 | 113,56 | 6,89, <i>d</i> , 8,1 | | H-4 | 113,31 | 6,73, <i>dd</i> , 8,2, 0,9 |
| 3 | 130,73 | 7,06, <i>t</i> , 8,2 | | | 129,81 | 7,12, <i>t</i> , 8,2 |
| 4 | 112,62 | 6,59, <i>d</i> , 8,1 | | H-2 | 112,16 | 6,59, <i>dd</i> , 8,2, 0,9 |
| 9 | 101,96 | 6,22, <i>s</i> | | | 101,13 | 6,19, <i>s</i> |
| 10 | 129,95 | 6,62, <i>d</i> , 11,5 | H-11 | H-9 | 130,01 | 6,72, <i>d</i> , 11,7 |
| 11 | 125,48 | 6,93, <i>d</i> , 11,5 | | H-10 | 123,18 | 6,92, <i>d</i> , 11,7 |
| CH₃ | | | | | | |
| CH ₃ -7 | 9,01 | 2,07, <i>s</i> | | | 8,61 | 2,13, <i>s</i> |
| OCH₃ | | | | | | |
| OCH ₃ -8 | 56,26 | 3,75, <i>s</i> | | | 55,78 | 3,78, <i>s</i> |

Figura 64 – Espectro na região do IV de BA-7 (em KBr)

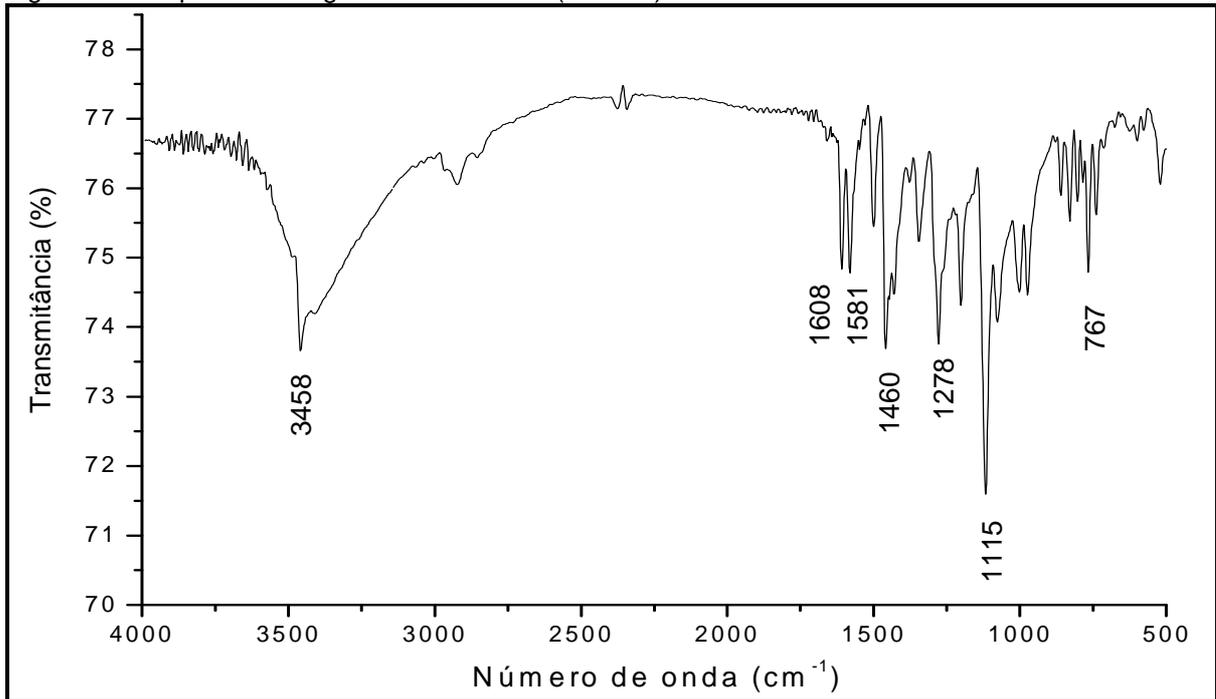
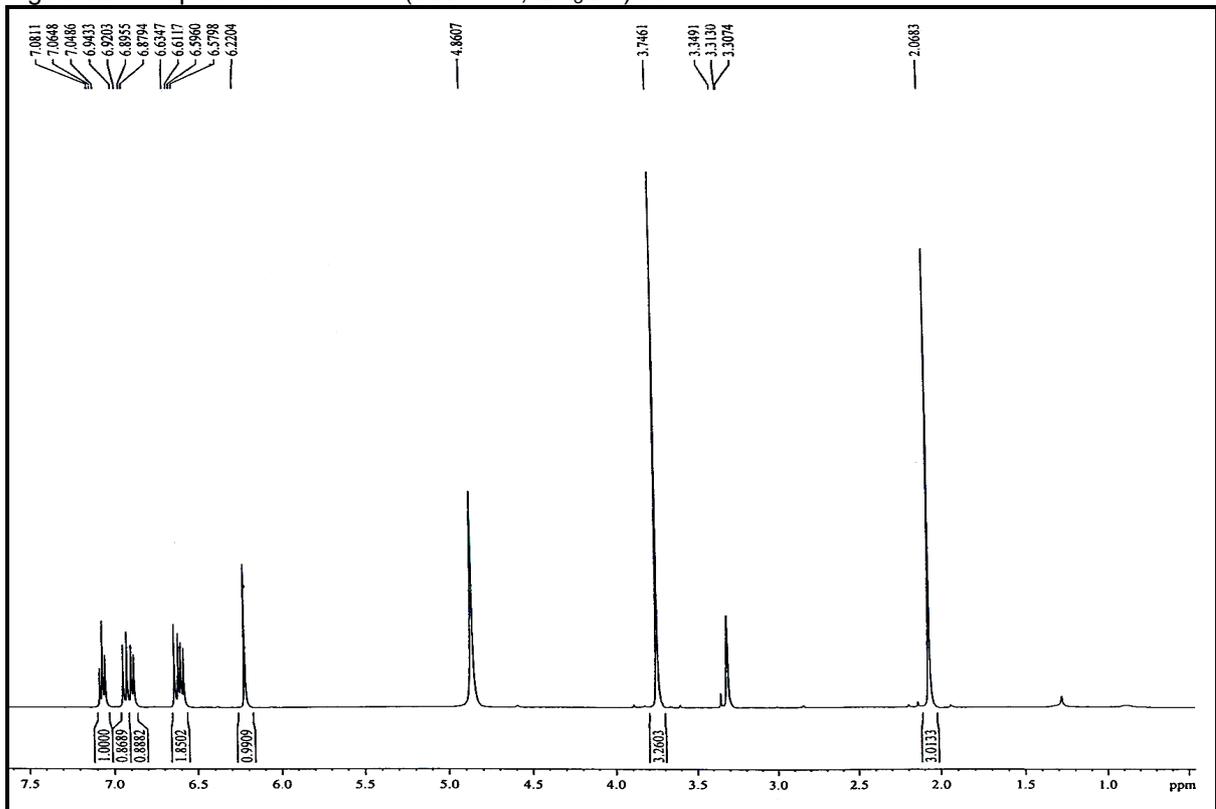
Figura 65 – Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CD_3OD) de BA-7

Figura 66 – Espectro de RMN ^{13}C – BB (125 MHz, CD_3OD) de BA-7

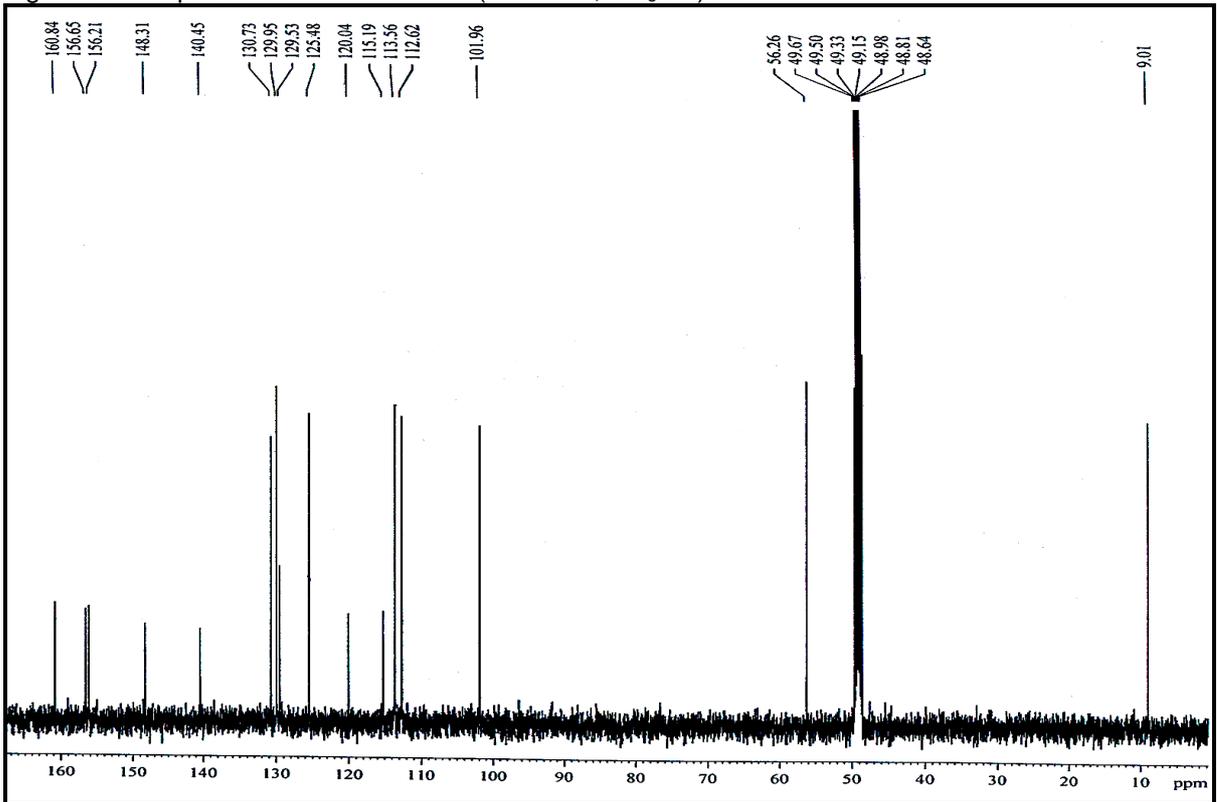


Figura 67 – Espectro de RMN ^{13}C – DEPT 135° (125 MHz, CD_3OD) de BA-7

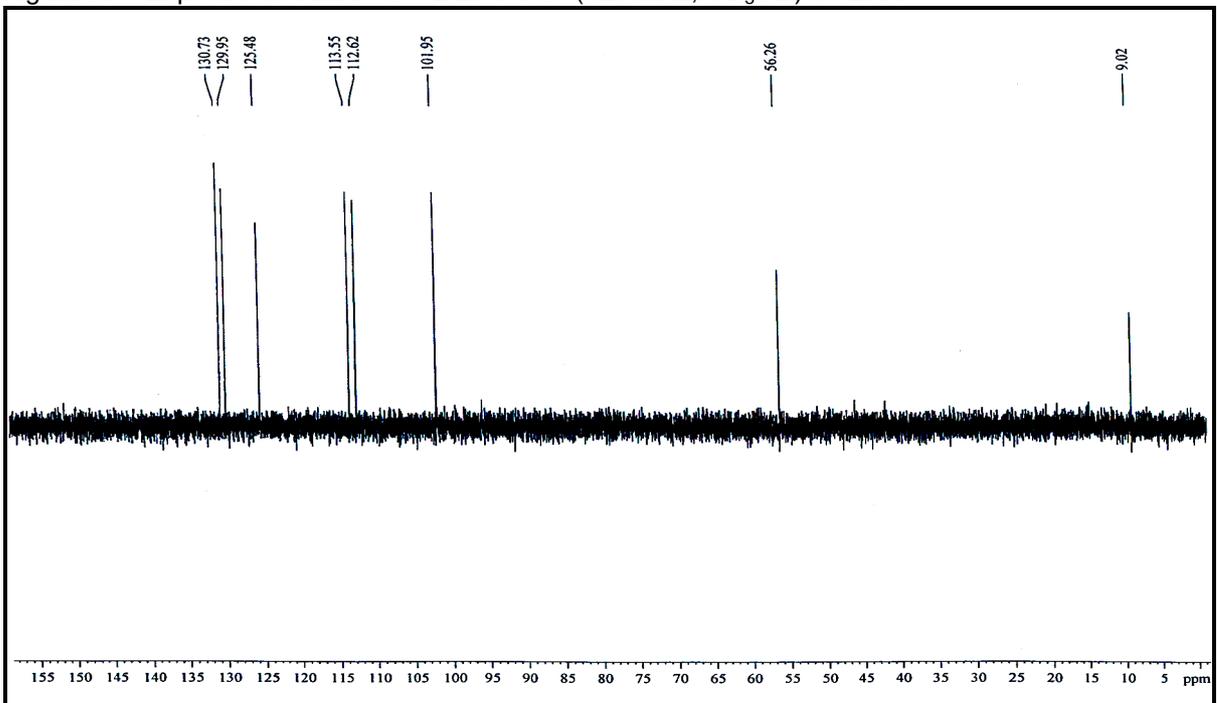
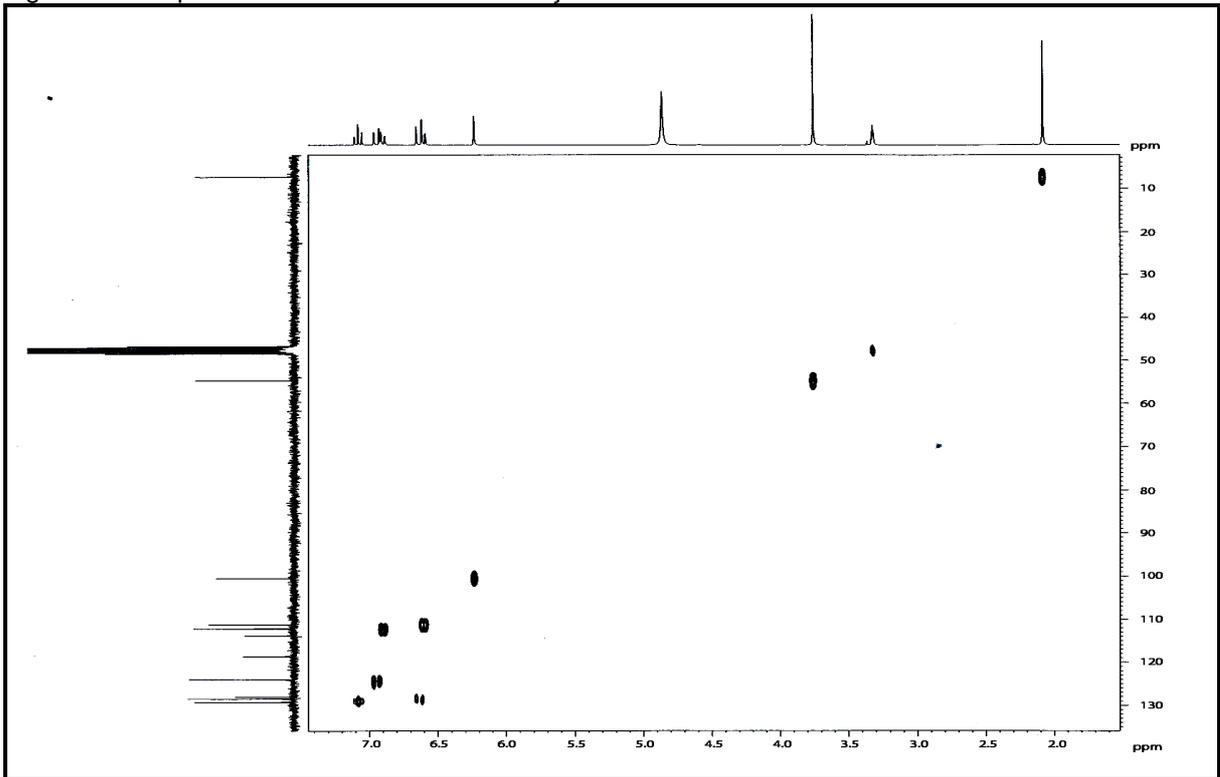
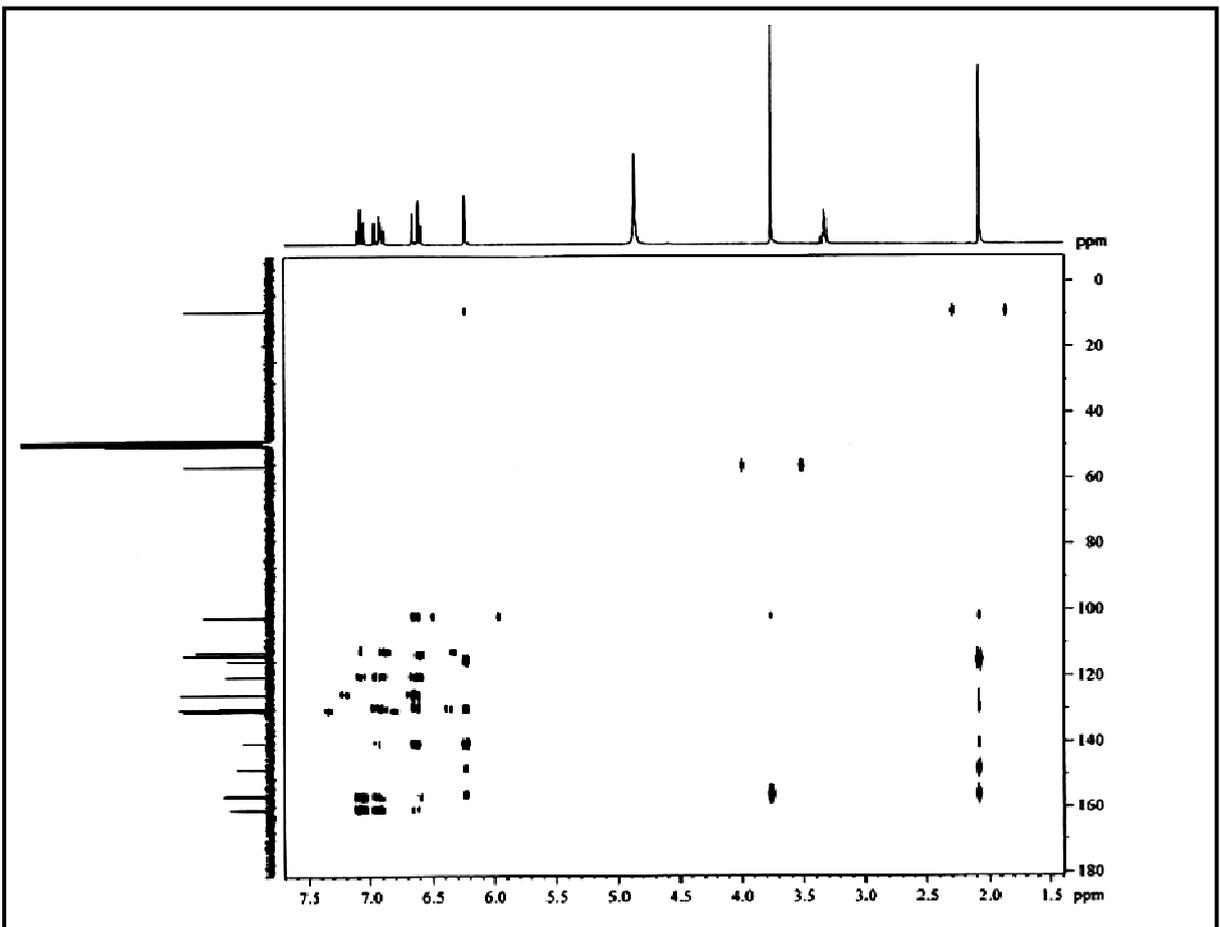


Figura 69 – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HSQC de BA-7Figura 70 – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC de BA-7

3.1.8 Determinação estrutural de BA-8

O fracionamento cromatográfico de EERBA (22 a 24) (39 a 117) (38 a 64) (item 4. 4. 7. 2, p. 188) forneceu 6,2 mg de um sólido amorfo de coloração vermelha escura, solúvel em metanol, com ponto de fusão na faixa entre 210,2 – 211,6 °C, que foi denominado BA-8.

O espectro de absorção na região do infravermelho de BA-8 (Figura 73, p. 98) mostrou uma banda intensa e larga em 3444 cm^{-1} relacionada à deformação axial de ligação O–H. A banda em 2920 cm^{-1} indicou deformação axial de ligação C–H de carbono sp^3 e a banda em 1607 cm^{-1} está associada à deformação axial de ligação C=C de alqueno, além disso, uma banda intensa em 1250 cm^{-1} é indicativa de deformação axial de ligação C–O (PAVIA *et al.*, 2010).

O espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de BA-8 (Figura 74, p. 99) apresentou sinais em δ 6,76 (1H, *d*, $J = 11,6$ Hz) e em δ 7,38 (1H, *d*, $J = 11,6$ Hz), sugerindo, portanto, a presença de hidrogênios ligados a carbonos olefínicos em configuração *cis*, em virtude da magnitude da constante de acoplamento. Os sinais centrados em δ 6,63 (1H, *d*, $J = 8,2$ Hz), em δ 6,86 (1H, *d*, $J = 8,2$ Hz) e em δ 7,21 (1H, *t*, $J = 8,2$ Hz) sugeriram a presença de hidrogênios ligados a carbonos aromáticos em acoplamento *orto*. Estes dados mostraram semelhanças com BA-7 e indicaram a presença de apenas um anel aromático na constituição de BA-8. Os sinais em δ 1,99 (3H, *s*) e em δ 3,99 (3H, *s*) indicaram, respectivamente, a presença de uma metila e de uma metoxila.

O espectro de RMN ^{13}C - BB (125 MHz, CDCl_3) de BA-8 (Figura 75, p. 99) mostrou 16 sinais espectrais. A presença de duas carbonilas na estrutura de BA-8 foi indicada pelos sinais em δ_{C} 182,18 e δ_{C} 182,72 (PAVIA *et al.*, 2010). A Tabela 16 mostra os dados de RMN ^{13}C de BA-8 com padrão de hidrogenação.

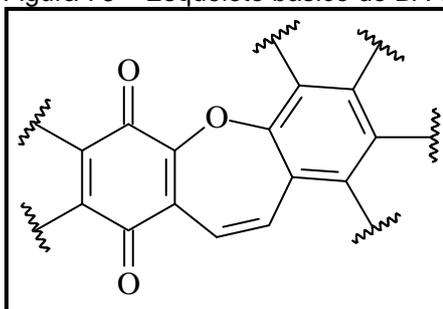
Tabela 16 – Dados de RMN ^{13}C de BA-8 com padrão de hidrogenação

| C | CH | CH ₃ |
|-----------------|--------|-------------------|
| 118,71 | 113,01 | 8,98 |
| 128,58 | 114,42 | 61,27 |
| 130,03 | 121,42 | |
| 150,90 | 131,78 | |
| 153,99 | 132,40 | |
| 155,58 | | |
| 157,41 (C – OH) | | |
| 182,18 (C = O) | | |
| 182,72 (C = O) | | |
| 9 C | 5 CH | 2 CH ₃ |

Fórmula molecular: C₁₆H₁₂O₅

A partir da análise dos dados espectroscópicos observados juntamente com o valor do IDH (dez) foi possível concluir que BA-8 tratava-se também de um derivado oxepínico, diferindo de BA-7 pela presença de um anel ciclo-hexadienona. A Figura 76 mostra o esqueleto básico de BA-8.

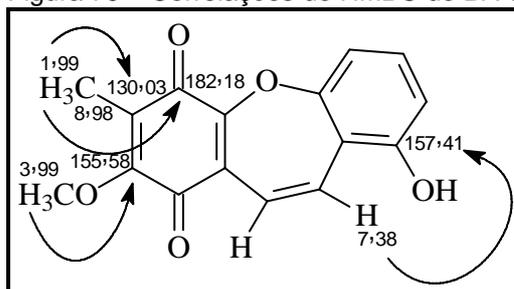
Figura 76 – Esqueleto básico de BA-8



As posições dos grupamentos metila, metoxila e hidroxila de BA-8 foram determinadas pela análise dos dados do espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^{13}\text{C} \times ^1\text{H}$ – HSQC (Figura 77, p. 100) em conjunção com os dados do espectro de correlação heteronuclear $^{13}\text{C} \times ^1\text{H}$ – HMBC (Figura 78, p. 100).

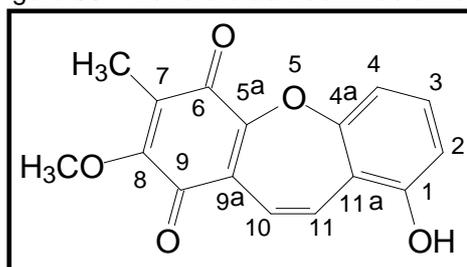
A posição da metila foi definida pelas correlações entre os hidrogênios em δ 1,99 ao carbono em δ_{C} 130,03 e ao carbono em δ_{C} 182,18. A correlação dos hidrogênios em δ 3,99 ao carbono em δ_{C} 155,58 determinou a posição da metoxila e a localização da hidroxila foi definida pela correlação do hidrogênio em δ 7,38 ao carbono em δ_{C} 157,41. A Figura 79 mostra as correlações citadas.

Figura 79 – Correlações de HMBC de BA-8



Baseados nos dados espectrais apresentados, no conhecimento de classes de substâncias presentes neste gênero e na comparação com os dados descritos na literatura (PETTIT *et al.*, 2006) foi possível concluir que BA-8 tratava-se de 8-metoxi-1-hidroxi-7-metil-benzo [b] [1] benzoxepina-6,9-diona, conhecida, vulgarmente como Bauhiniastatina 1, já descrita anteriormente em *Bauhinia purpurea* (PETITT *et al.*, 2006), cuja estrutura está mostrada na Figura 80.

Figura 80 – Estrutura de Bauhiniastatina 1



Os dados de RMN ^1H e RMN ^{13}C de BA-8, assim como os descritos na literatura (PETITT *et al.*, 2006) para a Bauhiniastatina 1 encontram-se descritos na Tabela 17.

Tabela 17 – Dados espectroscópicos de RMN de BA-8 comparados com os dados descritos na literatura (PETTIT *et al.*, 2006) para a Bauhiniastatina 1

| | HSQC | | HMBC | | Literatura (CDCl ₃) | |
|--------------------------|---------------------|------------------------------------|--------------------|---------------------|---------------------------------|------------------------------------|
| | δ_C (ppm) | δ_H (ppm, multip., J Hz) | $^2J_{CH}$ | $^3J_{CH}$ | δ_C (ppm) | δ_H (ppm, multip., J Hz) |
| C | | | | | | |
| 1 | 157,41 | | H-2 | H-3, H-11 | 157,1 | |
| 4a | 153,99 | | H-4 | H-3, H-11 | 153,8 | |
| 5a | 150,90 | | | H-10 | 150,6 | |
| 6 | 182,18 | | | CH ₃ -7 | 182,0 | |
| 7 | 130,03 | | CH ₃ -7 | | 128,4 | |
| 8 | 155,58 | | | OCH ₃ -8 | 155,4 | |
| 9 | 182,72 | | | H-10 | 182,5 | |
| 9a | 128,58 | | | | 128,6 | |
| 11a | 118,71 | | | H-2, H-4, H-10 | 118,5 | |
| CH | | | | | | |
| 2 | 114,42 | 6,86, <i>d</i> , 8,2 | | H-4 | 114,1 | 6,85, <i>dd</i> , 8,3, 0,9 |
| 3 | 132,40 | 7,21, <i>t</i> , 8,2 | | | 132,2 | 7,22, <i>t</i> , 8,3 |
| 4 | 113,01 | 6,63, <i>d</i> , 8,1 | | H-2 | 112,8 | 6,63, <i>dd</i> , 8,3, 0,9 |
| 10 | 121,42 | 6,76, <i>d</i> , 11,6 | | | 121,1 | 6,74, <i>d</i> , 11,7 |
| 11 | 131,78 | 7,38, <i>d</i> , 11,6 | | | 131,7 | 7,37, <i>d</i> , 11,7 |
| CH₃ | | | | | | |
| CH₃-7 | 8,98 | 1,99, <i>s</i> | | | 8,8 | 1,98, <i>s</i> |
| OCH₃ | | | | | | |
| OCH₃-8 | 61,27 | 3,99, <i>s</i> | | | 61,1 | 3,99, <i>s</i> |

Figura 73 – Espectro na região do IV de BA-8 (em KBr)

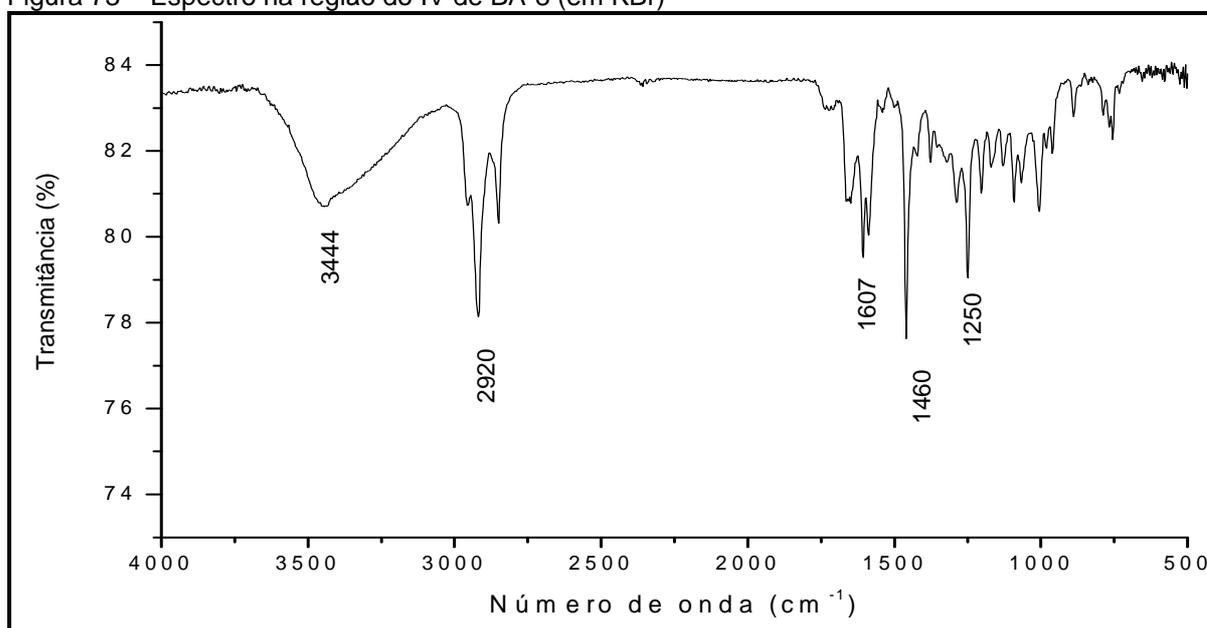


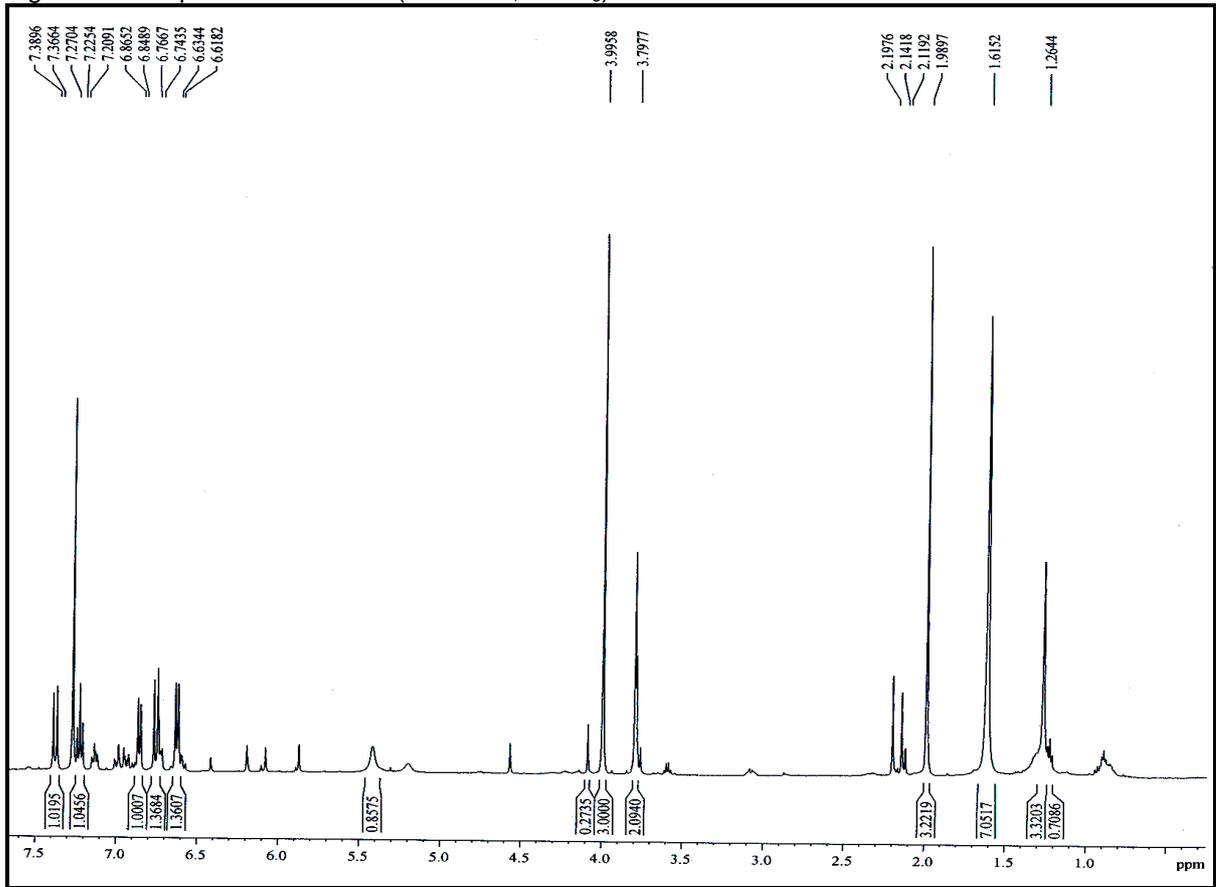
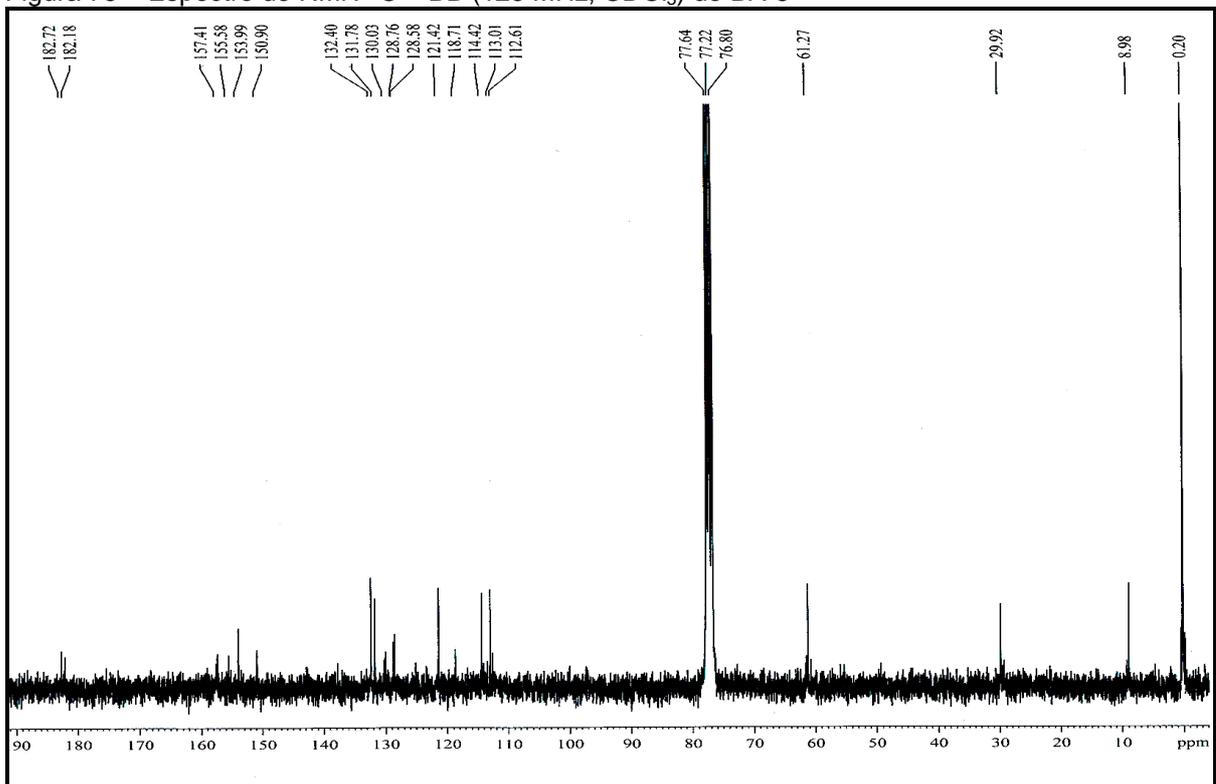
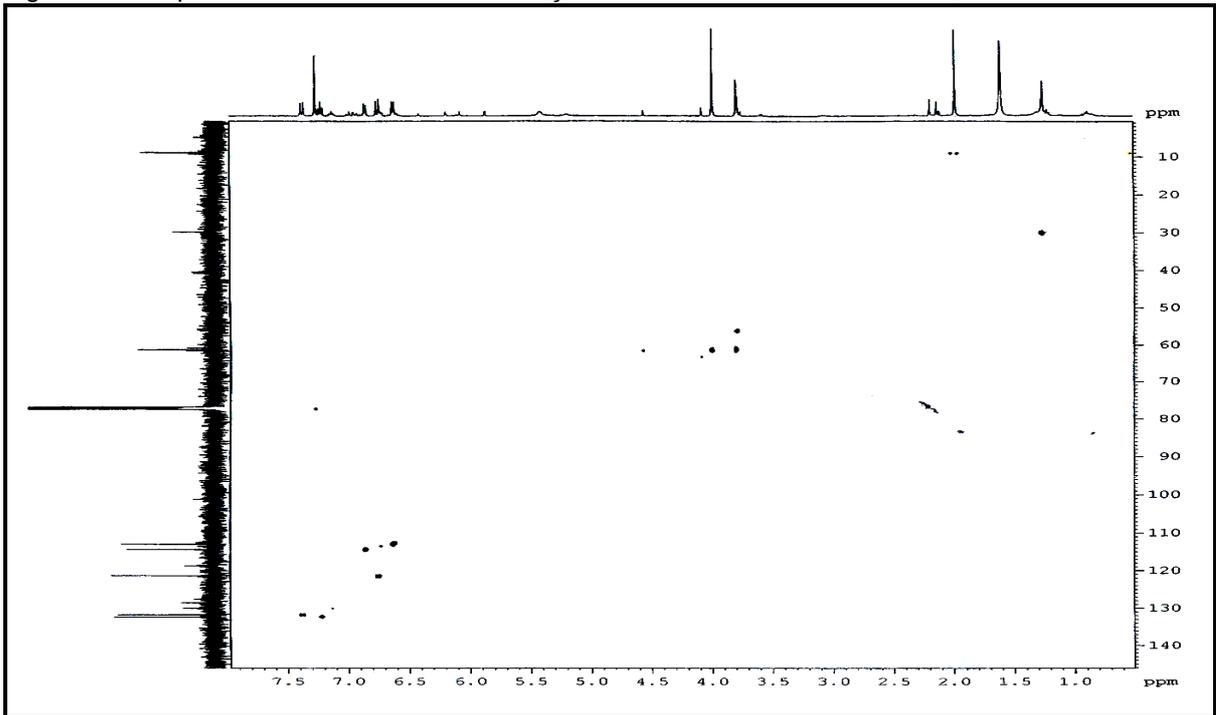
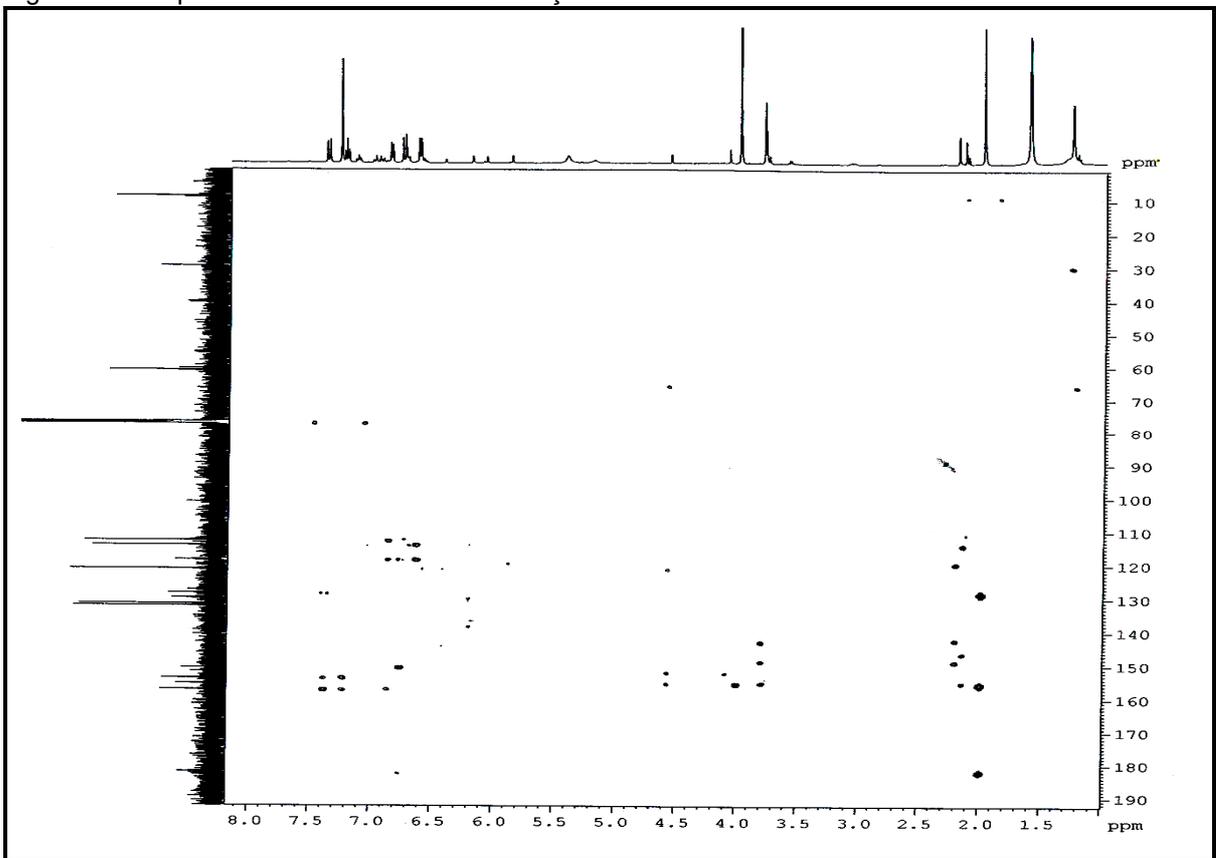
Figura 74 – Espectro de RMN¹H (500 MHz, CDCl₃) de BA-8Figura 75 – Espectro de RMN¹³C – BB (125 MHz, CDCl₃) de BA-8

Figura 77 – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HSQC de BA-8Figura 78 – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC de BA-8

3.1.9 Determinação estrutural de BA-9

A cromatografia em coluna aberta da fração EERBA (22 a 24) (236 a 289) (4 a 6) (100 a 131) em gel de sílica (item 4. 4. 8. 2, p. 191) resultou em sete frações. A fração (F₃₅₋₆₀) foi submetida à CLAE (Figura 81, p. 106), fornecendo 29,6 mg de um sólido de coloração alaranjada, com ponto de fusão entre 201,2 e 201,9 °C e rotação óptica específica $[\alpha]_D^{19,6} - 16,3^\circ$ (c 0,1; CH₃OH), (lit. $[\alpha]_D^{25} - 24,0^\circ$ (c 1,11; CH₃OH) (IMAI *et al.*, 2008), que foi denominado BA-9.

Sua fórmula molecular C₁₅H₁₄O₅ foi estabelecida a partir da análise do espectro de massas de alta resolução (Figura 82, p. 106) com a massa em m/z 274,0841 daltons (297,0785 daltons, calculada para $[(C_{15}H_{14}O_5 + Na)^+]$).

O espectro na região do infravermelho de BA-9 (Figura 83, p. 107) mostrou uma banda larga em 3352 cm⁻¹, correspondente à deformação axial de ligação O-H, caracterizando a presença de grupo hidroxila; as absorções em 1623 cm⁻¹ e 1513 cm⁻¹ são indicativas de deformação axial de ligação C=C de anel aromático. As bandas em 1162 cm⁻¹, 1120 cm⁻¹ e 1016 cm⁻¹ são características de deformações axiais de ligações C-O (PAVIA *et al.*, 2010).

O espectro de RMN ¹H (300 MHz, CD₃OD) de BA-9 (Figura 84, p. 107) mostrou seis sinais na faixa entre δ 6,29 e 6,87, os quais foram associados a hidrogênios ligados a carbonos aromáticos. Destes, os dubletos centrados em δ 6,85 (1H, *d*, $J = 8,2$ Hz) e em δ 6,75 (1H, *d*, $J = 8,1$ Hz) foram atribuídos a hidrogênios em posições *orto* e os dubletos centrados em δ 6,29 (1H, *d*, $J = 2,4$ Hz) e δ 6,83 (1H, *d*, $J = 1,7$ Hz) foram compatíveis com hidrogênios *meta* posicionados.

Os sinais assinalados em δ 6,34 (1H, *dd*, $J = 8,2$ Hz e 2,4 Hz) e δ 6,71 (1H, *dd*, $J = 8,1$ Hz e 1,7 Hz) foram atribuídos a hidrogênios com acoplamento *orto* e *meta*, respectivamente. Este espectro mostrou ainda sinais em δ 2,68 (1H, *dd*, $J = 15,9$ Hz e 5,4 Hz) e δ 2,87 (1H, *dd*, $J = 15,9$ Hz e 8,0 Hz) referentes, provavelmente, a hidrogênios de grupo benzila. O sinal em δ 4,65 (1H, *d*, $J = 7,2$ Hz) é característico de hidrogênio ligado a carbono oxigenado (PAVIA *et al.*, 2010).

O espectro de RMN ¹³C – BB (75 MHz, CD₃OD) de BA-9 (Figura 85, p. 108) mostrou 14 linhas espectrais. A análise comparativa destes dados com o espectro de RMN ¹³C – DEPT 135° (75 MHz, CD₃OD) (Figura 86, p. 108) revelou a presença de um carbono metilênico (CH₂), oito carbonos metínicos (CH) e seis carbonos não hidrogenados (C). Este espectro mostrou também que o sinal em δ_c

146,34 estava mais intenso quando comparado aos demais com o mesmo padrão de hidrogenação, com isso foi verificado que esse sinal pode ser atribuído a dois átomos de carbono. A Tabela 18 mostra os dados de RMN ^{13}C de BA-9 com padrão de hidrogenação.

Tabela 18 – Dados de RMN ^{13}C de BA-9 com padrão de hidrogenação

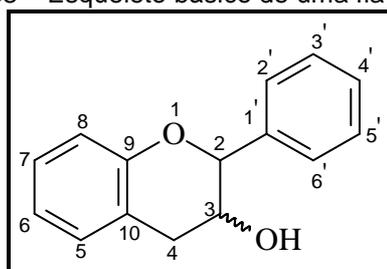
| C | CH | CH ₂ |
|-----------------|----------------|-------------------|
| 112,72 | 68,94 (C – OH) | 33,22 |
| 132,38 | 83,08 (C – O) | |
| 146,34 (C – OH) | 103,76 | |
| 146,34 (C – OH) | 109,61 | |
| 156,25 (C – O) | 115,25 | |
| 157,95 (C – OH) | 116,28 | |
| | 120,02 | |
| | 131,43 | |
| 6 C | 8 CH | 1 CH ₂ |

Fórmula molecular: $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_5$

O espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HSQC de BA-9 (Figura 87, p. 109) indicou a associação direta de cada hidrogênio a seu respectivo carbono (Tabela 19, p. 105).

Os dados de RMN ^1H e RMN ^{13}C – BB e o valor do IDH (nove) sugeriram que BA-9 tratava-se de um flavonoide. A ausência de sinal de absorção de carbonila, a existência de dois sinais relativos a carbonos oximetínicos (δ_{C} 68,94 e δ_{C} 83,08) e um carbono metilênico (δ_{C} 33,22) observados no espectro de RMN ^{13}C – BB foram conclusivos para determinar a classe a qual pertence BA-9, ou seja, flavana-3-ol, cujo esqueleto básico está mostrado na figura abaixo.

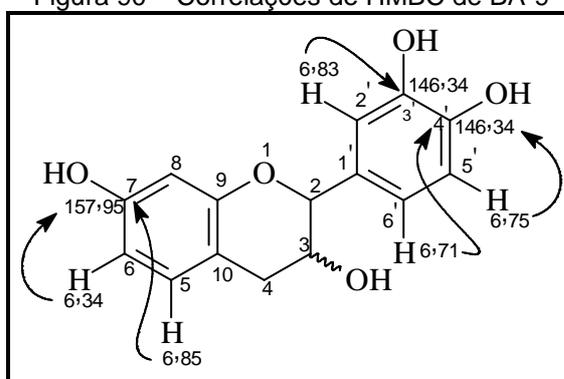
Figura 88 – Esqueleto básico de uma flavana-3-ol



A análise do espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^{13}\text{C} \times ^1\text{H}$ - HMBC de BA-9 (Figura 89, p. 109) permitiu indicar as posições das hidroxilas ligadas aos anéis A e B do flavonoide. Este espectro revelou que os hidrogênios em δ 6,34 e δ 6,85 correlacionaram-se ao carbono em δ_{C} 157,95, definindo, portanto a posição da hidroxila do anel A.

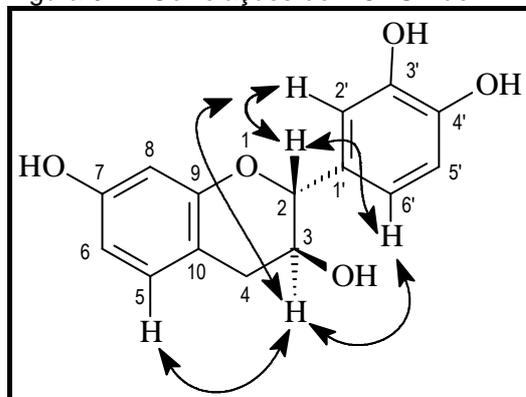
As localizações das hidroxilas ligadas ao anel B foram determinadas com base nas correlações dos hidrogênios em δ 6,71, δ 6,75 e δ 6,83 aos carbonos em δ_{C} 146,34. A Figura 90 mostra as correlações mencionadas.

Figura 90 – Correlações de HMBC de BA-9



A análise do espectro bidimensional de correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - NOESY de BA-9 (Figura 91, p. 110) permitiu inferir a configuração dos carbonos 2 e 3. A análise desse espectro permitiu a observação das correlações entre H-2 e H-2'; H-2 e H-6'; H-3 e H-5; H-3 e H-2'; H-3 e H-6'. Esses dados corroboraram para a seguinte configuração mostrada na Figura 92.

Figura 92 – Correlações do NOESY de BA-9



A análise dos dados espectroscópicos obtidos e a comparação com dados descritos na literatura (IMAI *et al.*, 2008) (Tabela 19, p. 105), permitiram

identificar BA-9 como o flavonoide da classe das flavanas-3-ol denominado (2*R*,3*S*)-2-(3',4'-diidroxifenil)-cromano-3,7-diol, conhecido vulgarmente como (-)-fisetinidol, substância inédita no gênero *Bauhinia*, cuja estrutura está mostrada na Figura 93.

Figura 93 – Estrutura do (-)-fisetinidol

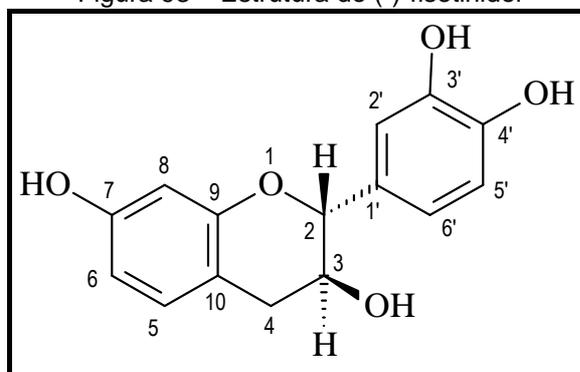


Tabela 19 – Dados de RMN de BA-9 comparados com os dados descritos na literatura (IMAI *et al.*, 2008) para (-)-fisetidinol

| | HSQC | | HMBC | | Literatura (CD ₃ OD) | |
|-----------------------|---------------------|--|------------|------------------|---------------------------------|--|
| | δ_c (ppm) | δ_H (ppm, multip., J Hz) | $^2J_{CH}$ | $^3J_{CH}$ | δ_c (ppm) | δ_H (ppm, multip., J Hz) |
| C | | | | | | |
| 7 | 157,95 | - | H-6 | H-5 | 155,6 | - |
| 9 | 156,25 | - | H-8 | H-2; 2H-4 | 154,9 | - |
| 10 | 112,72 | - | 2H-4 | H-6; H-8 | 111,2 | - |
| 1' | 132,38 | - | H-2 | H-5' | 131,0 | - |
| 3' | 146,34 | - | | H-5' | 145,0 | - |
| 4' | 146,34 | - | | H-2'; H-6' | 145,0 | - |
| CH | | | | | | |
| 2 | 83,08 | 4,65, <i>d</i> , 7,2 | | H-2'; 2H-4; H-6' | 81,7 | 4,64, <i>d</i> , 7,1 |
| 3 | 68,94 | 4,02, <i>m</i> | H-2; 2H-4 | | 67,5 | 4,02, <i>m</i> |
| 5 | 131,43 | 6,85, <i>d</i> , 7,2 | | 2H-4 | 130,0 | 6,88, <i>d</i> , 7,9 |
| 6 | 109,61 | 6,34, <i>dd</i> , 8,2, 2,4 | | | 108,2 | 6,36, <i>dd</i> , 8,1, 2,4 |
| 8 | 103,76 | 6,29, <i>d</i> , 2,4 | | | 102,3 | 6,31, <i>d</i> , 2,4 |
| 2' | 115,25 | 6,83, <i>d</i> , 1,7 | | H-2; H-6' | 113,8 | 6,85, <i>d</i> , 1,5 |
| 5' | 116,28 | 6,75, <i>d</i> , 8,1 | | | 114,8 | 6,78, <i>d</i> , 9,3 |
| 6' | 120,02 | 6,71, <i>dd</i> , 8,1, 1,7 | | H-2; H-2' | 118,3 | 6,73, <i>dd</i> , 9,4, 1,7 |
| CH₂ | | | | | | |
| 4 | 33,22 | 2,87, <i>dd</i> , 15,9, 5,4 2,68, <i>dd</i> , 15,9, 8,0 | | H-2; H-5 | 31,9 | 2,89, <i>dd</i> , 4,8, 16,0 2,70, <i>dd</i> , 4,8, 16,0 |

Figura 81 – Cromatograma obtido por CLAE referente à fração (35 a 60) da coluna EERBA (22 a 24) (236 a 289) (4 a 6) (100 a 131)

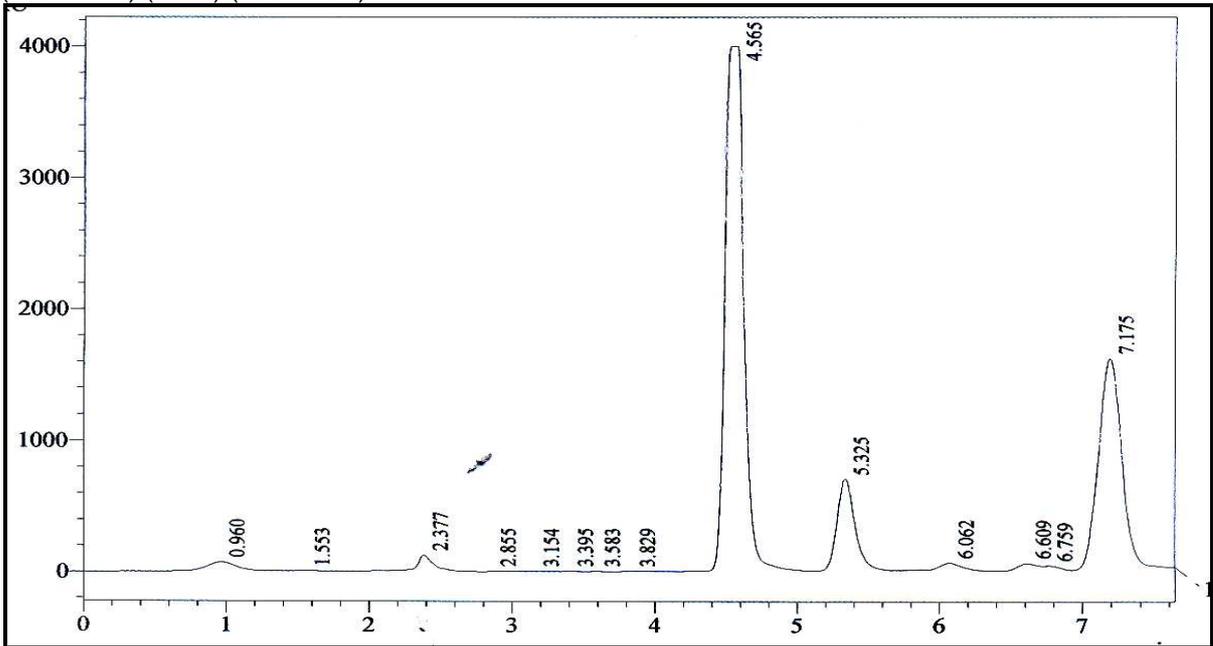


Figura 82 – Espectro de massas de alta resolução de BA-9

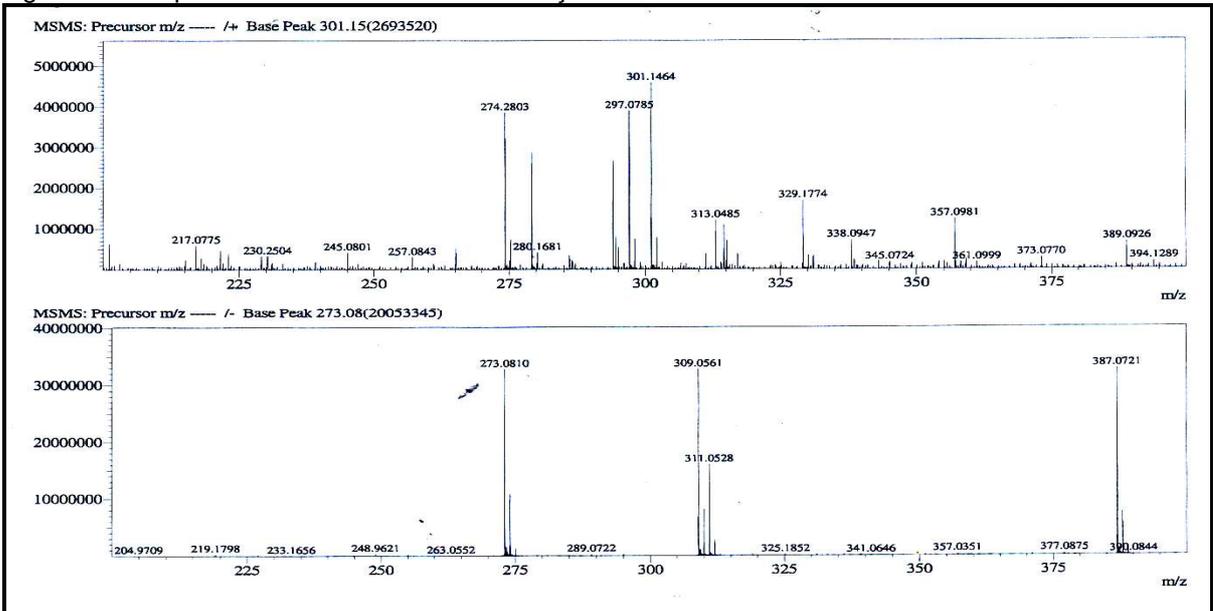


Figura 83 – Espectro na região do IV de BA-9 (em KBr)

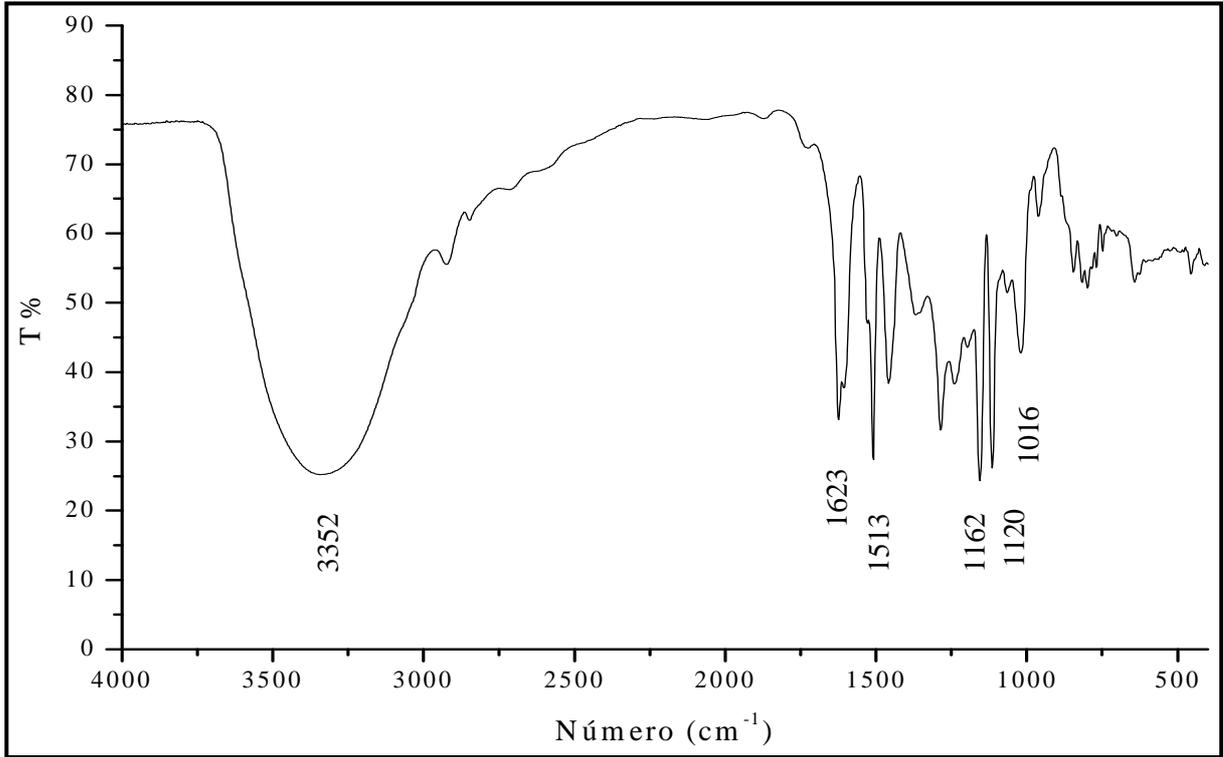


Figura 84 – Espectro de RMN¹H (300 MHz, CD₃OD) de BA-9

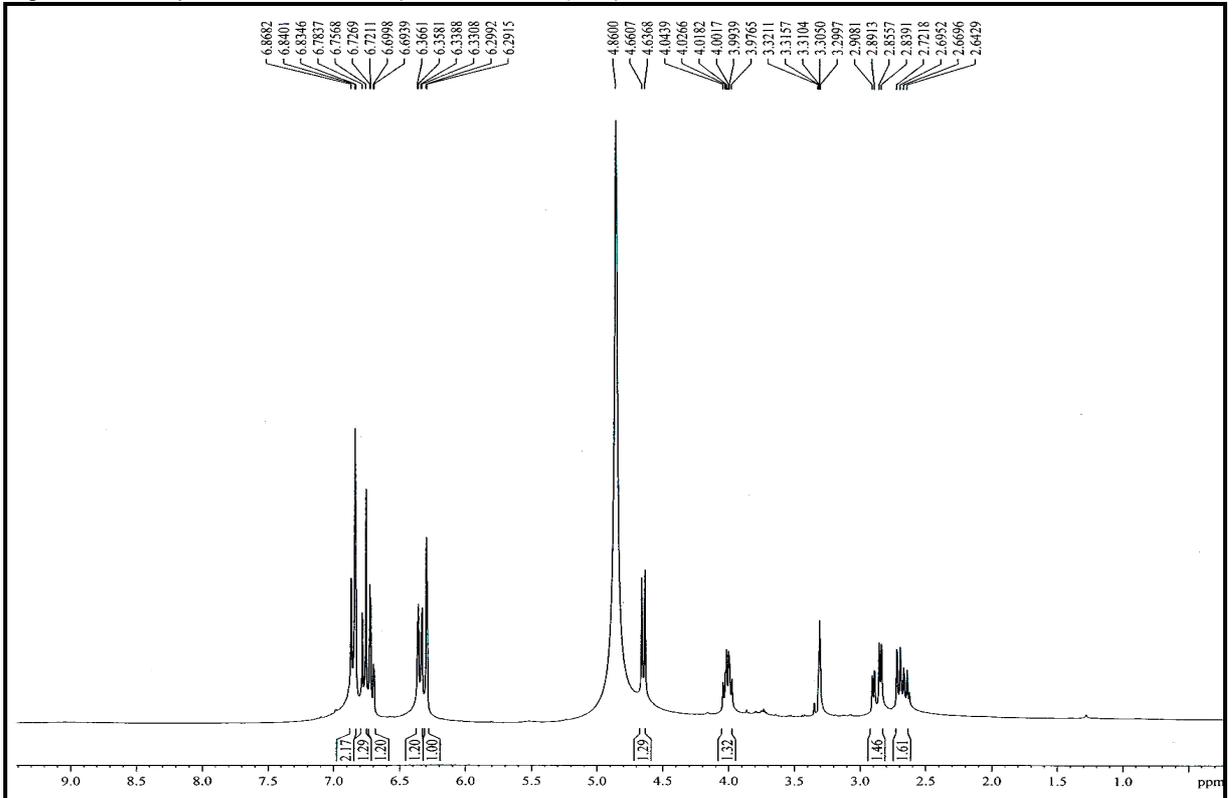


Figura 85 – Espectro de RMN¹³C-BB (75 MHz, CD₃OD) de BA-9

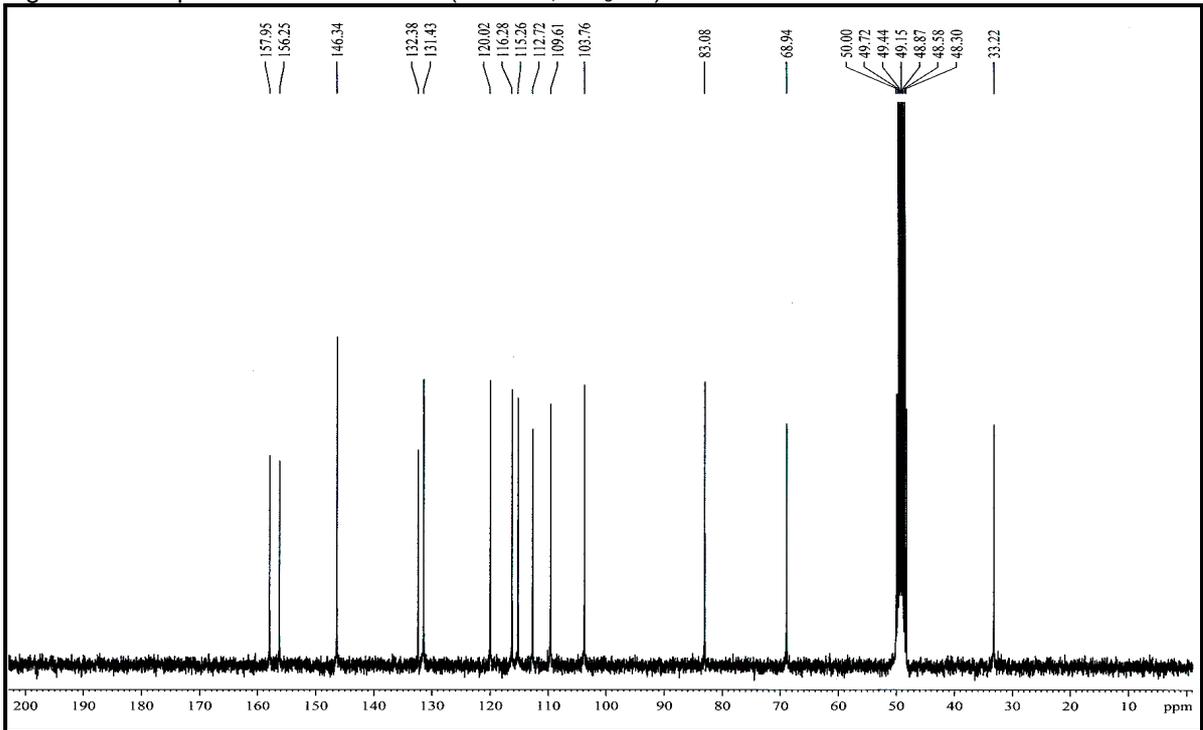


Figura 86 – Espectro de RMN¹³C-DEPT-135° (75 MHz, CD₃OD) de BA-9

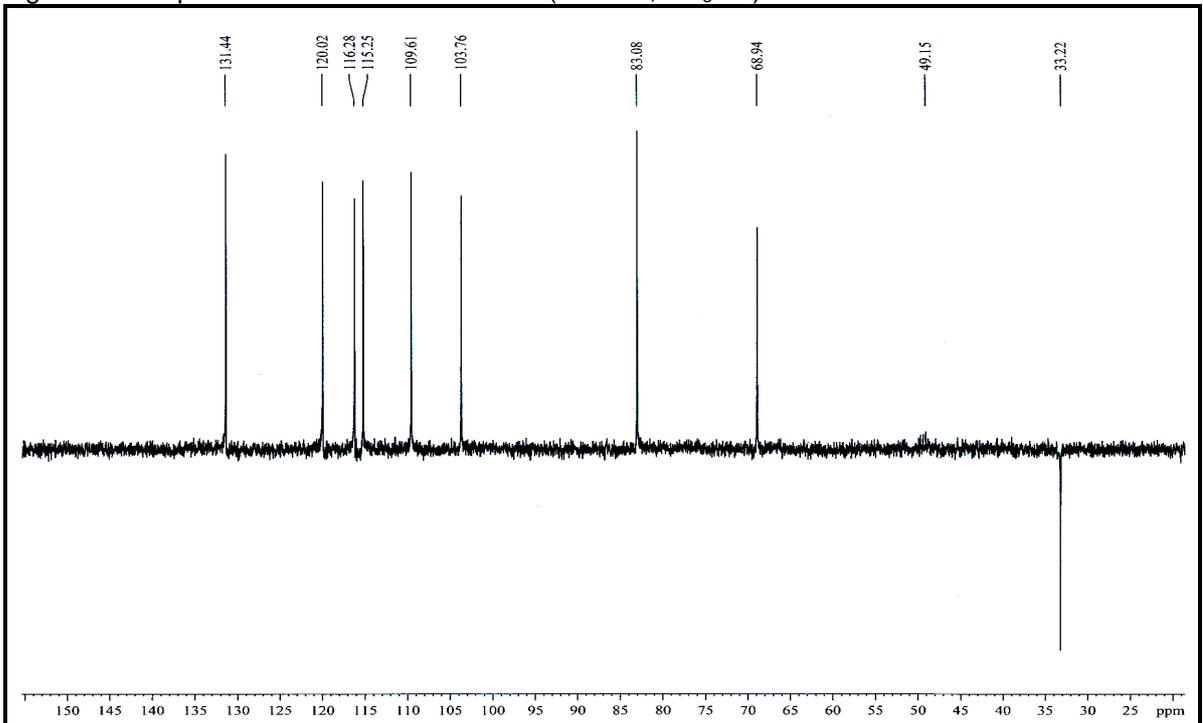


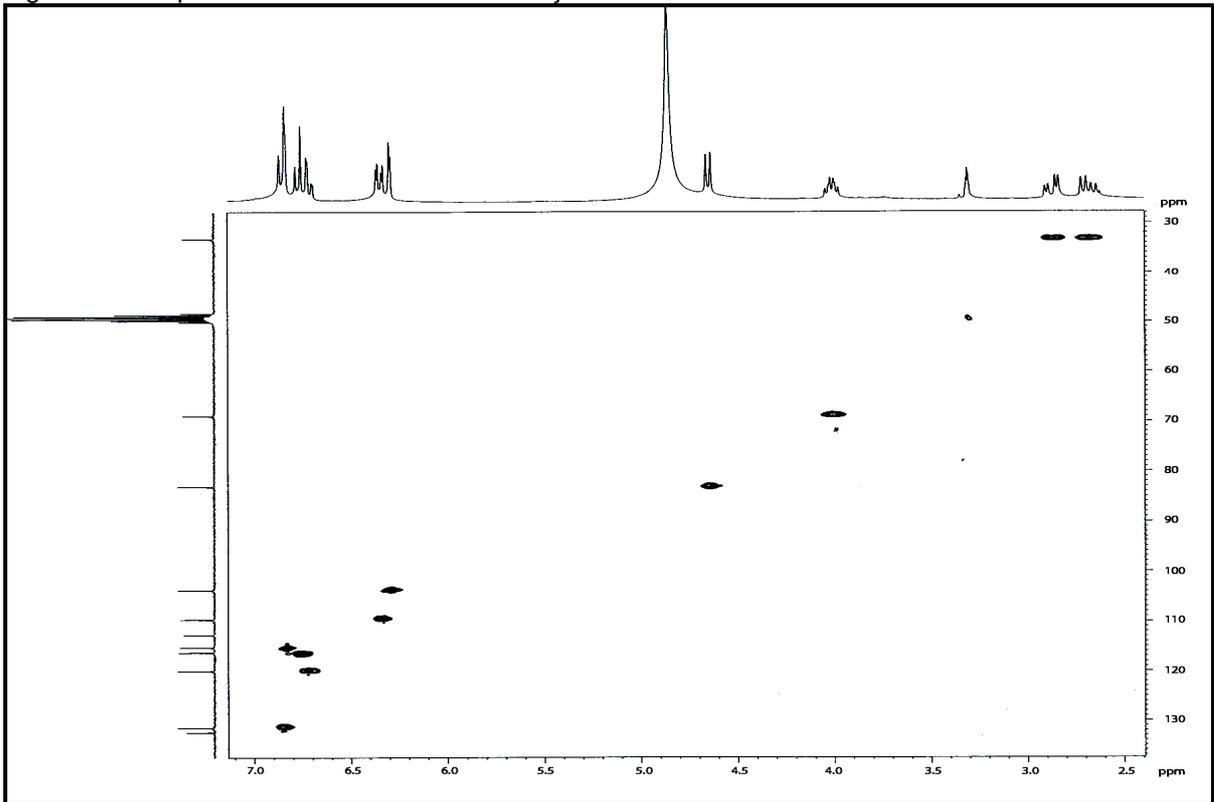
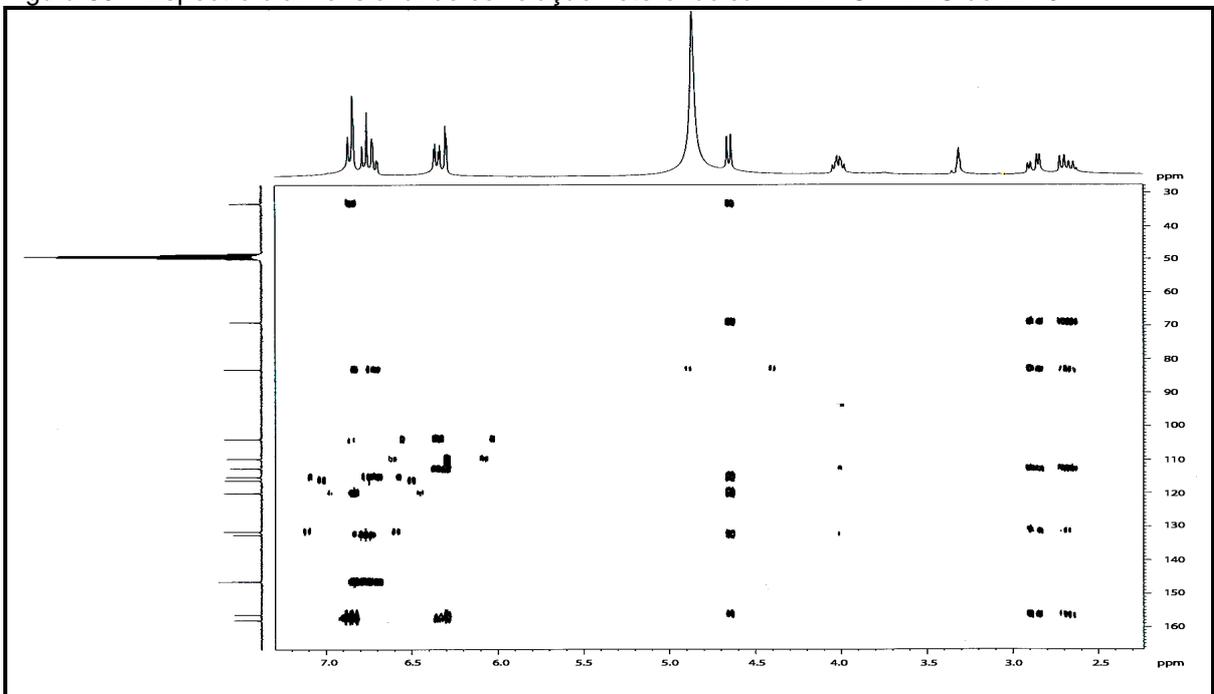
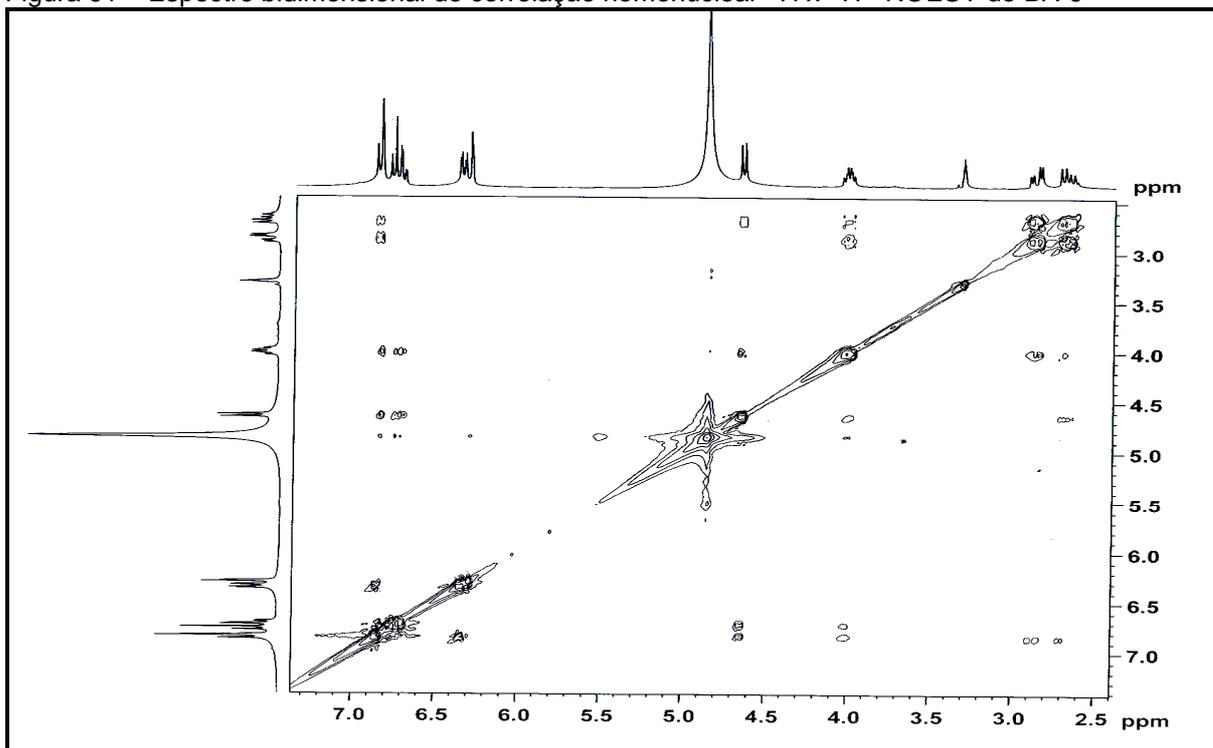
Figura 87 – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HSQC de BA-9Figura 89 – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC de BA-9

Figura 91 – Espectro bidimensional de correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - NOESY de BA-9

3.1.10 Determinação estrutural de BA-10

A cromatografia em coluna da fração EERBA (22 a 24) (236 a 289) (4 a 6) (100 a 131) em gel de sílica (item 4. 4. 8. 2, p. 191) resultou em sete frações. A fração (F₃₅₋₆₀) depois de submetida à CLAE (Figura 81, p. 106) forneceu, além de BA-9, um sólido (4,2 mg) de coloração alaranjada com ponto de fusão entre 222,3 - 223,8 °C (P.F._{literatura} = 222 - 223 °C) (CRÉN-OLIVÉ; LEBRUN; ROLANDO, 2002) e rotação óptica específica, $[\alpha]_D^{21,1} - 21,9^\circ$ (c 0,05; CH₃OH) (lit. $[\alpha]_D^{20} - 1,2^\circ$ (c 0,85; acetona) (CRÉN-OLIVÉ; LEBRUN; ROLANDO, 2002), que foi denominado BA-10.

Sua fórmula molecular C₁₆H₁₆O₆ foi estabelecida a partir da análise do espectro de massas de alta resolução (Figura 94, p. 116) com a massa em *m/z* 304,0947 daltons (339,0664 daltons, calculada para ([C₁₆H₁₆O₆+ Cl]⁻).

O espectro na região do infravermelho de BA-10 (Figura 95, p. 116) mostrou uma banda larga e intensa em 3388 cm⁻¹, correspondente à deformação axial de ligação O-H, caracterizando a presença de grupo hidroxila. Este espectro também mostrou absorção em 2926 cm⁻¹ que está associada à deformação axial de ligação C-H de átomo de carbono sp³, além de bandas em 1619 cm⁻¹ e 1465 cm⁻¹ que estão relacionadas à deformação axial de ligação C=C de anel aromático. A banda em 1119 cm⁻¹ é indicativa de deformação axial de ligação C-O (PAVIA *et al.*, 2010).

O espectro de RMN ¹H (500 MHz, CD₃OD) de BA-10 (Figura 96, p. 117) mostrou cinco sinais na faixa entre δ 5,94 e 6,83, os quais foram associados a hidrogênios ligados a carbonos aromáticos. Destes, os dubletos centrados em δ 5,94 (1H, *d*, *J* = 1,9 Hz) e em δ 6,02 (1H, *d*, *J* = 1,8 Hz) foram atribuídos a hidrogênios em posição *meta*. Os sinais em δ 6,71 (1H, *d*, *J* = 8,1 Hz) e em δ 6,76 (1H, *d*, *J* = 8,1 Hz) foram compatíveis com hidrogênios *orto* posicionados. O sinal em δ 6,83 (1H, *s*) referiu-se a hidrogênio provavelmente *meta* posicionado. Assim como revelado no espectro de RMN ¹H de BA-9, o espectro de BA-10 (Figura 96, p. 117) mostrou sinais com deslocamentos químicos semelhantes, ou seja, δ 2,49 (1H, *dd*, *J* = 16,4 Hz e 8,0 Hz) e δ 2,82 (1H, *dd*, *J* = 16,4 Hz e 5,4 Hz) referentes a hidrogênios benzílicos. Os sinais em δ 4,57 (1H, *d*, *J* = 7,5 Hz) e em δ 3,96 (1H, *m*) são compatíveis com hidrogênios ligados a carbonos oxigenados, por outro lado, o sinal em δ 3,78 (3H, *s*) referente a hidrogênios de uma metoxila (PAVIA *et al.*, 2010), foi considerado como uma diferença em relação a BA-9.

O espectro de RMN ^{13}C – BB (125 MHz, CD_3OD) de BA-10 (Figura 97, p. 117) mostrou-se bastante semelhante ao de BA-9. A diferença entre os mesmos consistiu na presença, no espectro de RMN ^{13}C – BB de BA-10, de um sinal em δ_{C} 55,97, referente a uma metoxila, o que foi confirmado pela análise do espectro de RMN ^{13}C – DEPT 135 $^\circ$ de BA-10 (Figura 98, p. 118). A comparação entre os espectros de RMN ^{13}C – BB e de RMN ^{13}C – DEPT 135 permitiu a definição do padrão de hidrogenação de cada átomo de carbono (Tabela 20).

Tabela 20 – Dados de RMN ^{13}C de BA-10 com padrão de hidrogenação

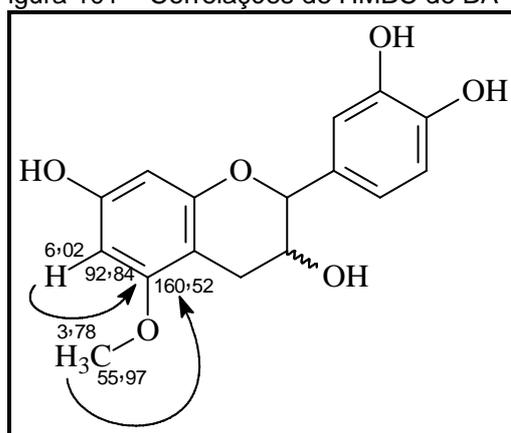
| C | CH | CH_2 | CH_3 |
|-----------------|---------------|-----------------|-----------------|
| 101,76 | 68,81 (C – O) | | |
| 132,48 | 82,97 (C – O) | | |
| 146,32 (C – OH) | 92,84 | | |
| 146,32 (C – OH) | 96,49 | 28,39 | 55,97 |
| 156,84 (C – O) | 115,36 | | |
| 158,41 (C – O) | 116,23 | | |
| 160,52 (C – O) | 120,12 | | |
| 7 C | 7 CH | 1 CH_2 | 1 CH_3 |

Fórmula molecular: $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{O}_6$

O espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HSQC de BA-10 (Figura 99, p. 118) revelou a correlação de cada hidrogênio a seu respectivo carbono, de acordo com os dados da Tabela 21 (p. 115).

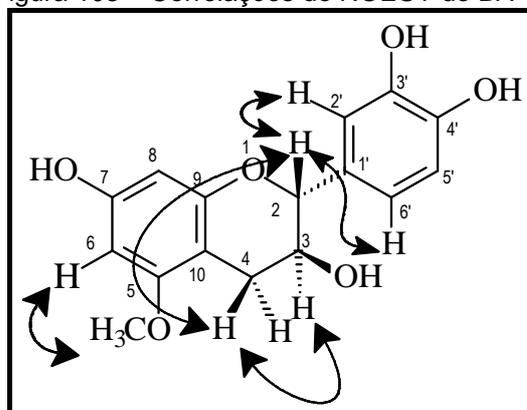
Conforme citado anteriormente, foi observado que BA-10 diferia de BA-9 pela presença de uma metoxila. Desta forma, através da análise do espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC de BA-10 (Figura 100, p. 119) foi possível determinar a localização do referido grupo, através da correlação do hidrogênio com sinal de absorção em δ 6,02 e dos hidrogênios do grupo metoxila em δ 3,78 com o carbono em δ 160,52. A Figura 101 mostra essas correlações.

Figura 101 – Correlações de HMBC de BA-10

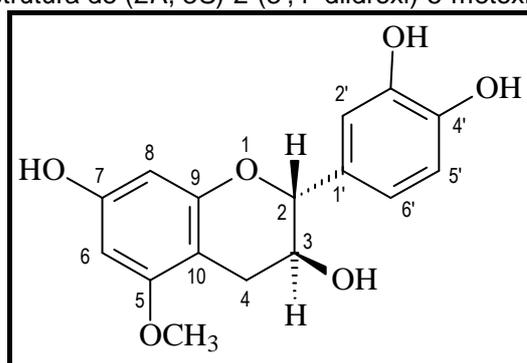


A análise do espectro bidimensional de correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ – NOESY de BA-10 (Figura 102, p. 119) permitiu inferir a configuração dos carbonos 2 e 3 de BA-10, além de confirmar a localização do grupo metoxila. A análise desse espectro permitiu a observação das correlações entre H-6 e CH_3O -5; H-2 e H-2', H-2 e H-6', H-2 e 2H-4; 2H-4 e H-3. Esses dados corroboram para a confirmação das configurações de C-2 e C-3 de BA-10, conforme mostrado na Figura 103.

Figura 103 – Correlações de NOESY de BA-10



A análise dos dados espectroscópicos obtidos e a comparação com dados descritos na literatura (CREN-OLIVÉ; LEBRUN; ROLANDO, 2002) (Tabela 21 p. 115), permitiram identificar BA-10 também como flavonoide da classe das flavanas-3-ol denominada (2*R*,3*S*)-2-(3',4'-diidroxifenil)-5-metoxicromano-3,7-diol. É válido acrescentar que BA-10 é um metabólito secundário isolado pela primeira vez como produto natural, mas relatado previamente na literatura como um derivado semi-sintético (CREN-OLIVÉ; LEBRUN; ROLANDO, 2002). A estrutura de BA-10 está mostrada na Figura 104.

Figura 104 – Estrutura de (2*R*, 3*S*)-2-(3',4'-diidroxifenil)-5-metoxicromano-3,7-diol

A Tabela 21 (p. 115) apresenta os dados de RMN para BA-10 comparados com os dados descritos na literatura (CREN-OLIVÉ; LEBRUN; ROLANDO, 2002) para (2*R*,3*S*)-2-(3',4'-diidroxifenil)-5-metoxicromano-3,7-diol.

Tabela 21 – Dados espectroscópicos de RMN de BA-10 comparados com os dados descritos na literatura (CREN-OLIVER; LEBRUN; ROLANDO, 2002) para (2*R*,2*S*)-2-(3',4'-diidroxifenil)-5-metoxicromano-3,7-diol

| | HSQC | | HMBC | | Literatura (Acetona- <i>d</i> ₆) | |
|------------------------|---------------------|--|------------|---------------------|--|--|
| | δ_C (ppm) | δ_H (ppm, multip., J Hz) | $^2J_{CH}$ | $^3J_{CH}$ | δ_C (ppm) | δ_H (ppm, multip., J Hz) |
| C | | | | | | |
| 5 | 160,52 | - | H-6 | OCH ₃ -5 | 159,6 | - |
| 7 | 158,41 | - | H-6, H-8 | | 157,9 | - |
| 9 | 156,84 | - | H-8 | H-2 | 156,4 | - |
| 10 | 101,76 | - | 2H-4 | H-6, H-8 | 101,4 | - |
| 1' | 132,48 | - | H-2', H-6' | H-2, H-5' | 132,0 | - |
| 3' | 146,32 | - | H-2' | H-5' | 145,5 | - |
| 4' | 146,32 | - | H-5' | H-2' | 145,6 | - |
| CH | | | | | | |
| 2 | 82,97 | 4,57, <i>d</i> , 7,5 | | 2H-4, H-2', H-6' | 82,6 | 4,56, <i>d</i> , 7,3 |
| 3 | 68,81 | 3,96, <i>m</i> | 2H-4, H-2' | | 68,1 | 3,95-3,99, <i>m</i> |
| 6 | 92,84 | 6,02, <i>d</i> , 1,8 | | H-8 | 92,4 | 6,04, <i>d</i> , 2,2 |
| 8 | 96,49 | 5,94, <i>d</i> , 1,9 | | H-6 | 96,0 | 5,95, <i>d</i> , 2,2 |
| 2' | 115,36 | 6,83, <i>sl</i> | | H-6' | 115,1 | 6,73-6,89, <i>m</i> |
| 5' | 116,23 | 6,76, <i>d</i> , 8,1 | | | 115,6 | 6,73-6,89, <i>m</i> |
| 6' | 120,12 | 6,71, <i>d</i> , 8,1 | | H-2, H-2' | 119,9 | 6,73-6,89, <i>m</i> |
| CH₂ | | | | | | |
| 4 | 28,39 | 2,49, <i>dd</i> , 16,4, 8,0 2,82, <i>dd</i> , 16,4, 5,4 | | | 28,6 | 2,49, <i>dd</i> , 16,2, 8,0 2,85, <i>dd</i> , 16,2, 5,2 |
| OCH₃ | | | | | | |
| OCH ₃ -5 | 55,97 | 3,78, <i>s</i> | | | 55,6 | 3,75, <i>s</i> |

Figura 94 – Espectro de massas de alta resolução de BA-10

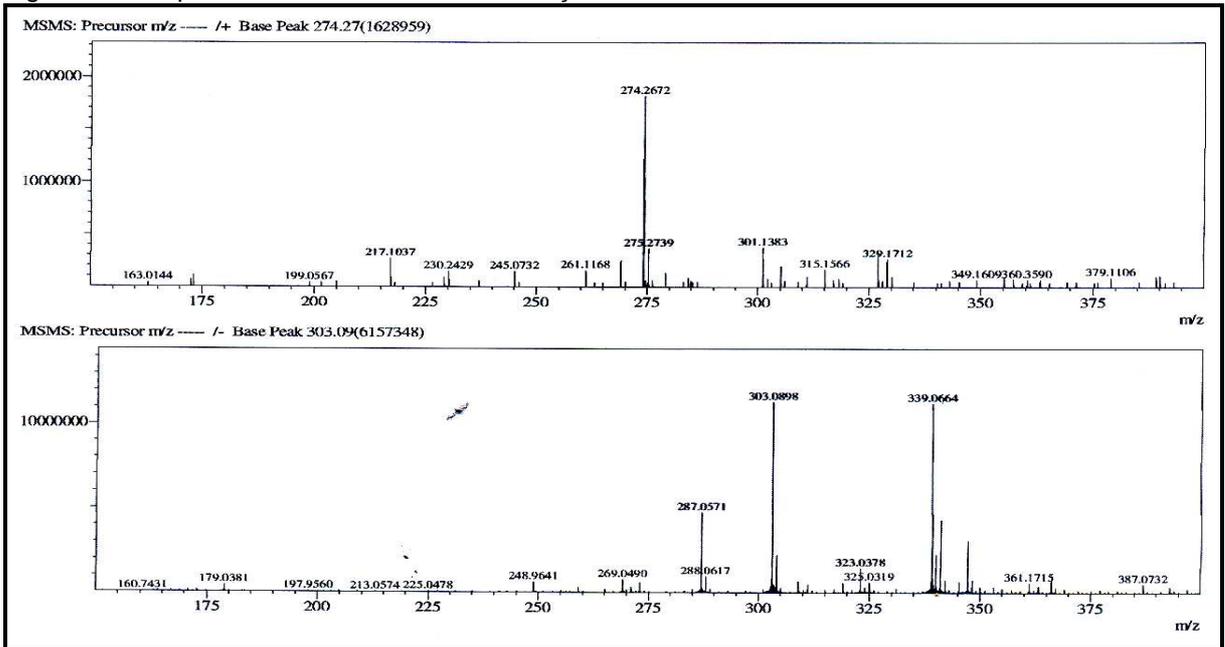


Figura 95 – Espectro na região do IV de BA-10 (em KBr)

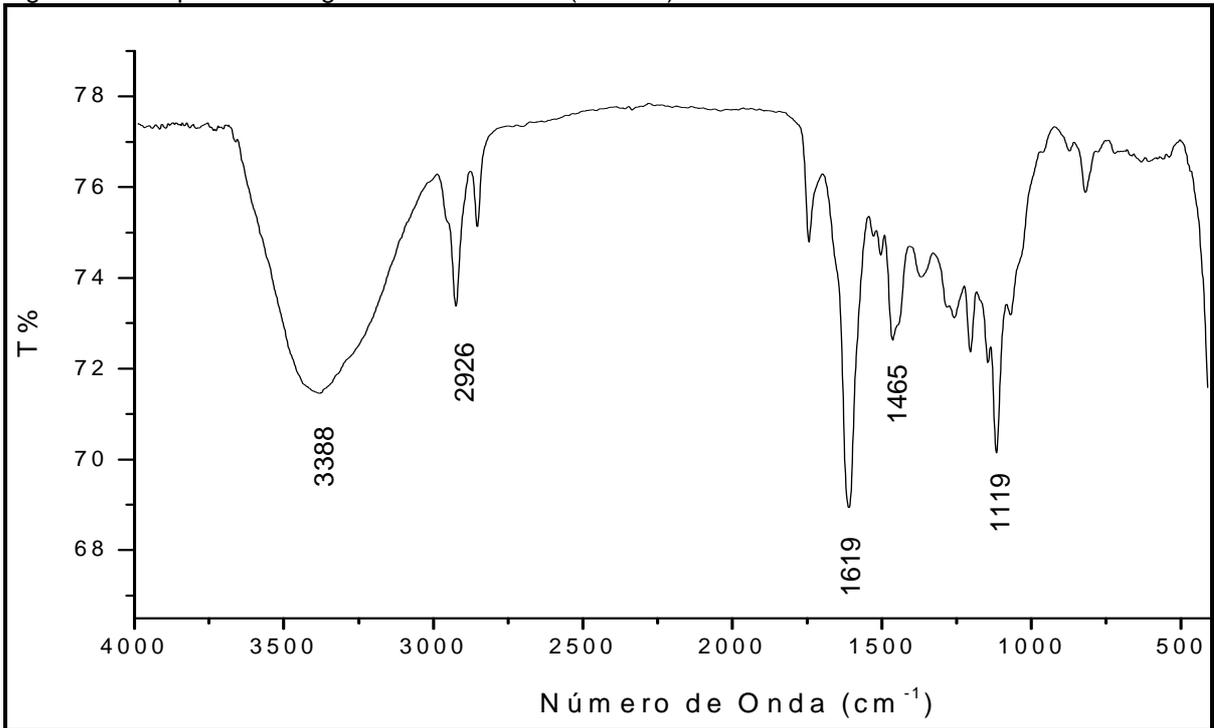


Figura 96 – Espectro de RMN ¹H (500 MHz, CD₃OD) de BA-10

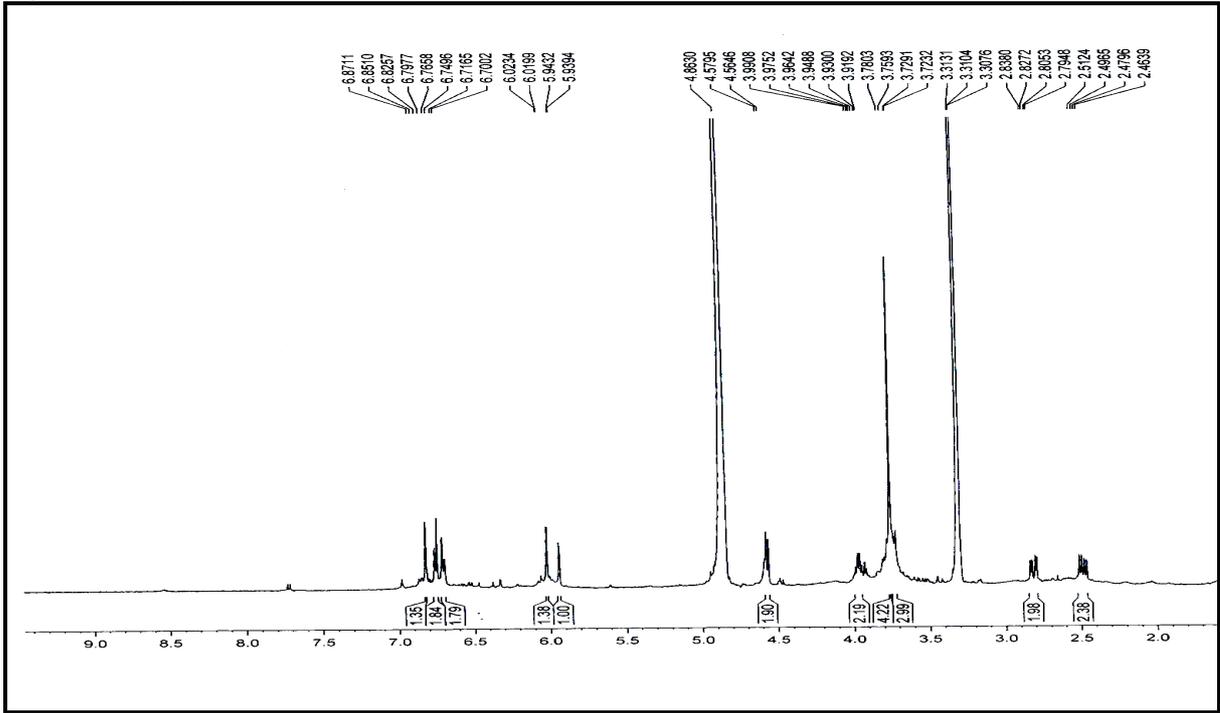


Figura 97 – Espectro de RMN ¹³C-BB (125 MHz, CD₃OD) de BA-10

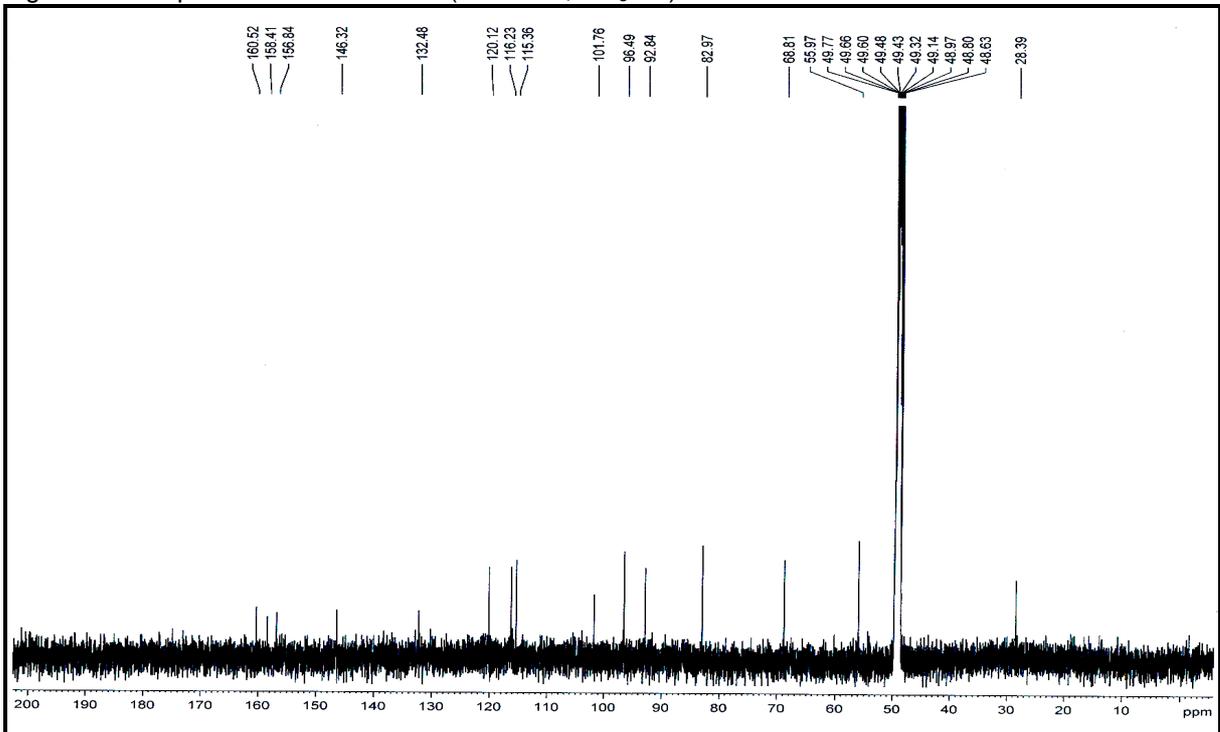


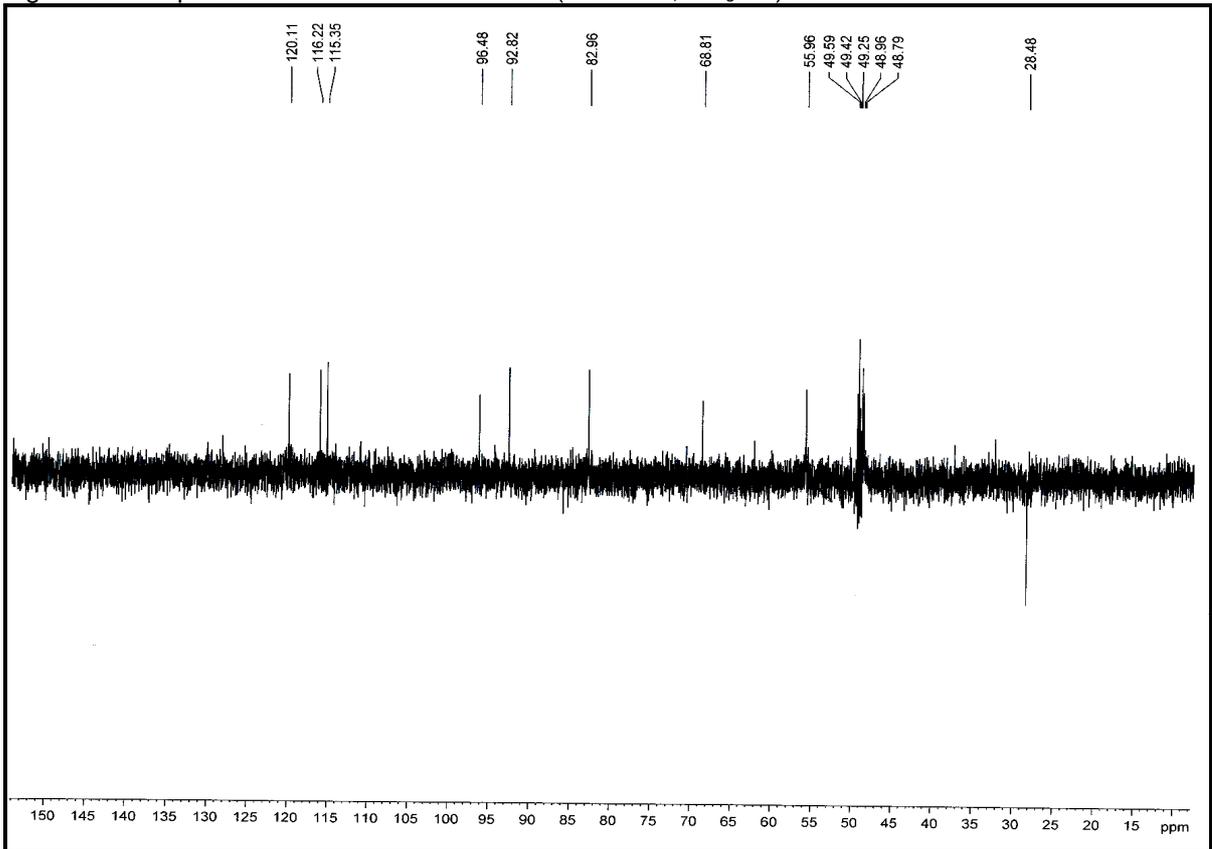
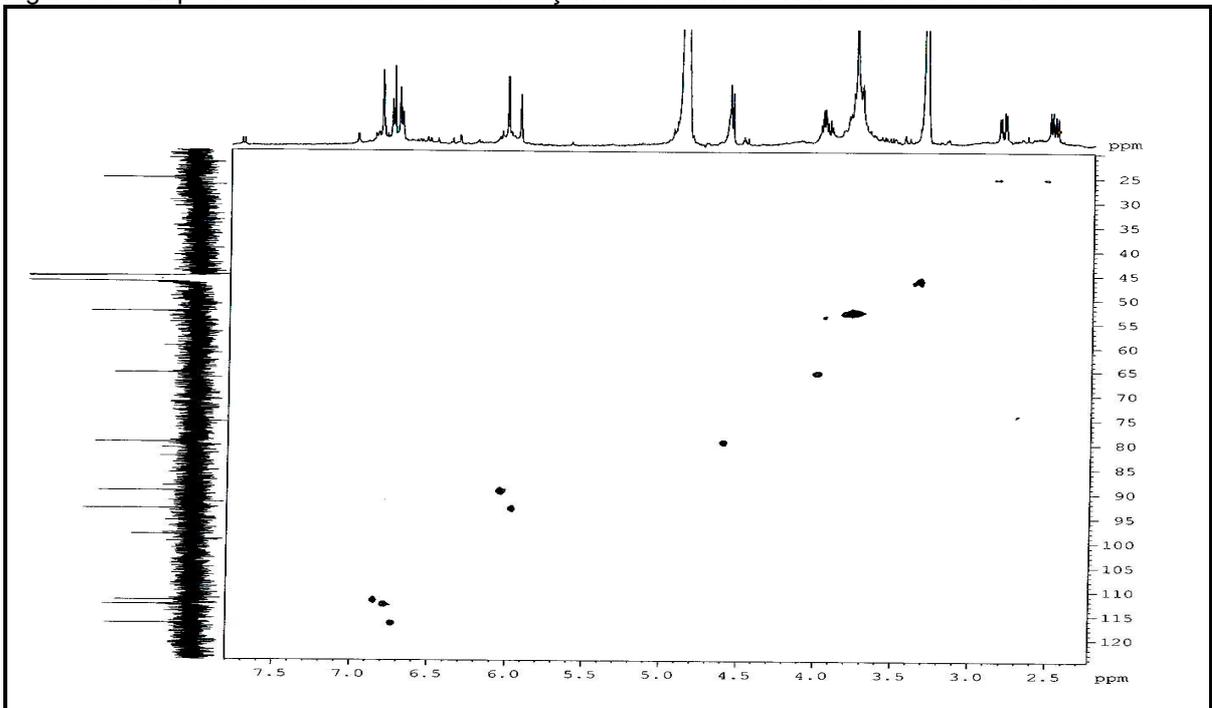
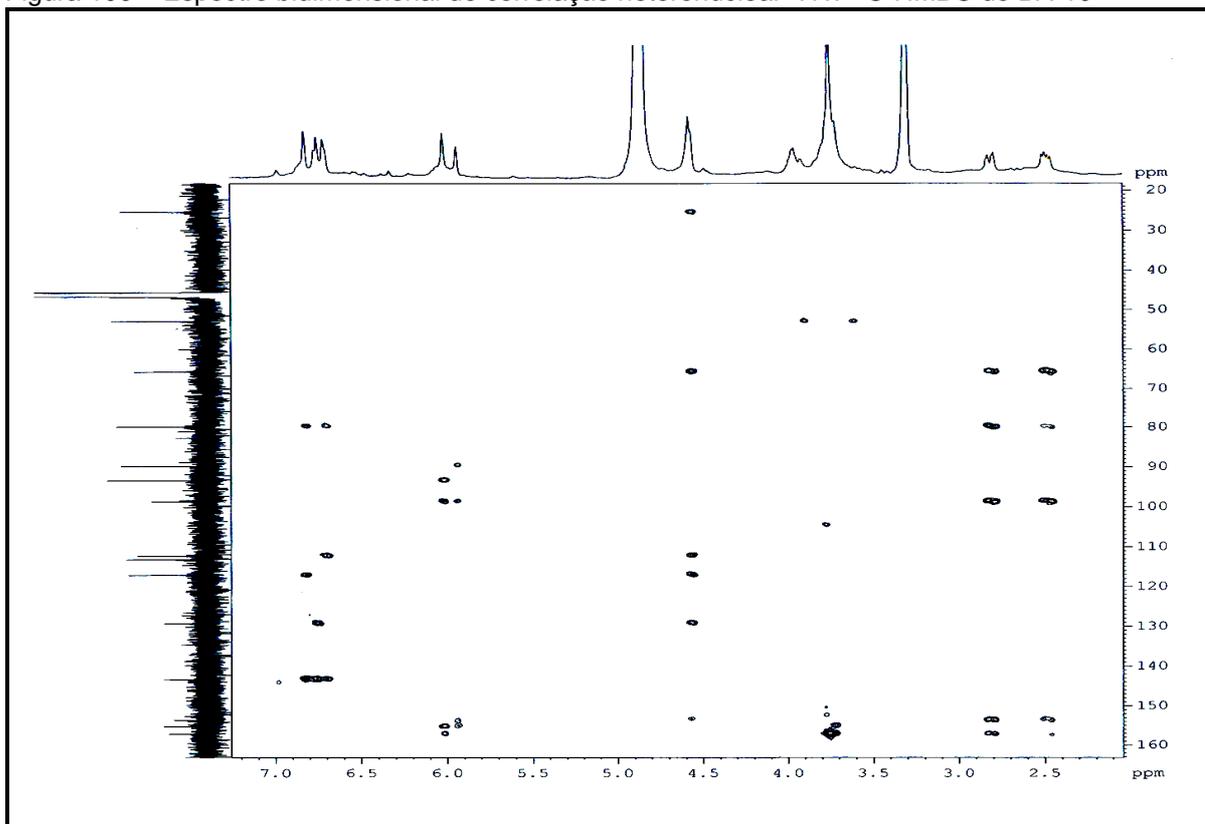
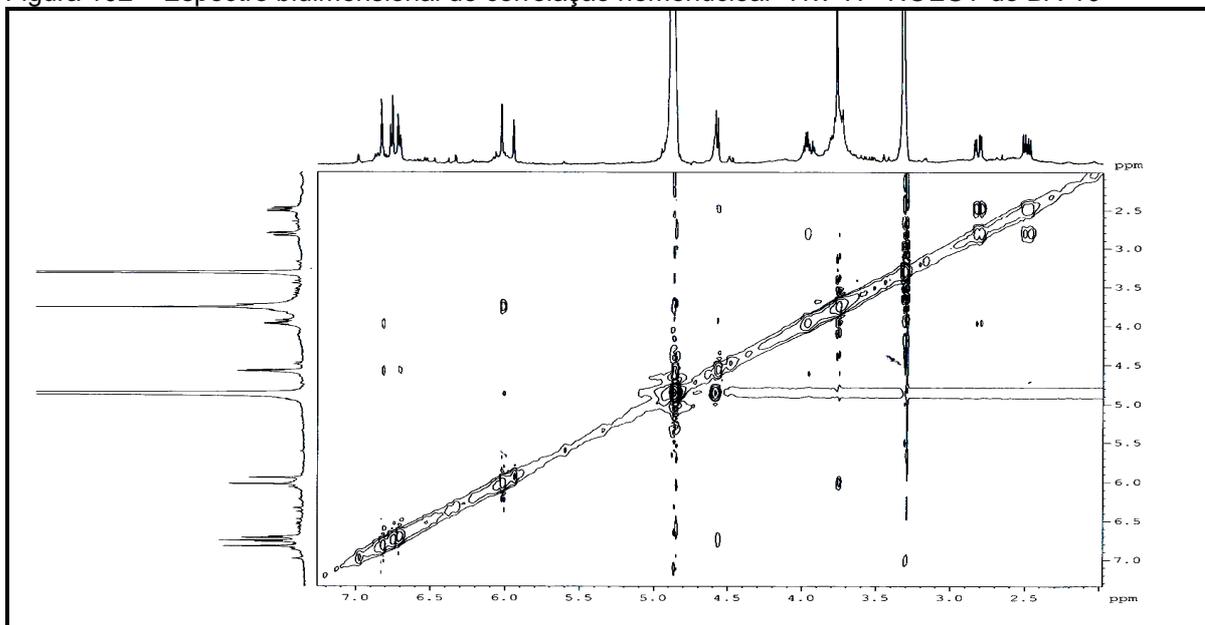
Figura 98 – Espectro de RMN ^{13}C -DEPT-135 $^{\circ}$ (125 MHz, CD_3OD) de BA-10Figura 99 – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HSQC de BA-10

Figura 100 – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC de BA-10Figura 102 – Espectro bidimensional de correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - NOESY de BA-10

3.1.11 Determinação estrutural de BA-11

A fração (F_{35-60}) resultante do tratamento cromatográfico da fração EERBA (22 a 24) (236 a 289) (4 a 6) (100 a 131) (item 4. 4. 8. 2, p. 191) depois de submetida à CLAE (Figura 81, p. 106) forneceu além de BA-9 e BA-10, um sólido de coloração alaranjada (21,3 mg) com ponto de fusão entre 197,1-197,9 °C e rotação óptica específica, $[\alpha]_D^{20,4} + 2,6$ (c 0,1; CH₃OH) que foi denominado BA-11.

Sua fórmula molecular C₁₇H₁₈O₆ foi estabelecida a partir da análise do espectro de massas de alta resolução (Figura 105, p. 124) com a massa em m/z 318,1103 daltons (353,0819 daltons, calculada para $[(C_{17}H_{18}O_6 + Cl)^-]$).

O espectro na região do infravermelho de BA-11 (Figura 106, p. 124) mostrou uma banda larga em 3394 cm⁻¹, correspondente à deformação axial de ligação O-H, caracterizando a presença de grupo hidroxila; mostrou ainda absorção em 1618 cm⁻¹ que está relacionada à deformação axial de ligação C=C de anel aromático. As bandas em 1285 cm⁻¹, 1117 cm⁻¹ e 1094 cm⁻¹ são características de deformações axiais de ligações C-O (PAVIA *et al.*, 2010).

O espectro de RMN ¹H (300 MHz, CD₃OD) de BA-11 (Figura 107, p. 125) mostrou-se bastante semelhante aos espectros de RMN ¹H de BA-9 e BA-10. Este espectro revelou dois dubletos centrados em δ 6,76 (1H, *d*, $J = 8,1$ Hz) e δ 6,83 (1H, *d*, $J = 1,6$ Hz) relativos a hidrogênios ligados a carbonos aromáticos em posição *orto* e *meta*, respectivamente. O sinal centrado em δ 6,70 (1H, *dd*, $J = 8,1$ Hz e 1,6 Hz) foi compatível com hidrogênio em acoplamento *orto* e *meta*, respectivamente. Estes dados espectroscópicos caracterizam os sinais de absorção de hidrogênios ligados ao anel B do flavonoide.

Esta conclusão foi feita com base na análise comparativa entre os espectros de RMN ¹H de BA-11 com os espectros de RMN ¹H de BA-9 e BA-10. Por outro lado os sinais em δ 2,63 (1H, *dd*, $J = 16,1$ Hz e 5,2 Hz) e δ 2,91 (1H, *dd*, $J = 16,1$ Hz e 8,0 Hz) foram atribuídos a hidrogênios benzílicos, e o sinal em δ 4,60 (1H, *d*, $J = 7,3$ Hz) foi indicativo de hidrogênio ligado a carbono oxigenado. Estes sinais foram bastante semelhantes aos sinais de hidrogênios do anel C dos flavonoides BA-9 e BA-10.

Por outro lado, o sinal em δ 2,04 (3H, *s*) foi atribuído a átomos de hidrogênios de grupo metila ligado a anel aromático. O sinal em δ 3,67 (3H, *s*)

sugeriu a presença de hidrogênios de metoxila e o sinal em δ 6,15 (1H, s) foi característico de hidrogênio ligado a um anel aromático pentassubstituído.

O espectro de RMN ^{13}C – BB de BA-11 (Figura 108, p. 125) revelou dezesseis sinais espectrais com um sinal de maior intensidade (δ_{C} 146,36) comparado aos demais com mesmo grau de hidrogenação, sendo, portanto, atribuído a dois átomos de carbono. A análise comparativa entre os espectros de RMN ^{13}C – BB (75 MHz, CD_3OD) (Figura 108, p. 125) e RMN ^{13}C – DEPT 135 $^\circ$ (75 MHz, CD_3OD) (Figura 109, p. 126) revelou o padrão de hidrogenação de BA-11. A Tabela 22 apresenta o padrão de hidrogenação de BA-11.

Tabela 22 – Dados de RMN ^{13}C de BA-11 com padrão de hidrogenação

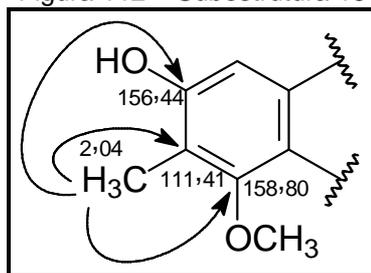
| C | CH | CH ₂ | CH ₃ |
|-----------------|-----------------|-------------------|-------------------|
| 106,37 | 63,81 (HC – OH) | | |
| 111,41 | 82,90 | | |
| 132,35 | 99,78 | | |
| 146,36 (C – OH) | 115,32 | | |
| 146,36 (C – OH) | 116,28 | 28,83 | 8,83 |
| 154,33 (C – O) | 120,09 | | 60,46 |
| 156,44 (C – OH) | | | |
| 158,80 (C – O) | | | |
| 8 C | 6 CH | 1 CH ₂ | 2 CH ₃ |

Fórmula molecular: $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{O}_6$

O espectro de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HSQC de BA-11 (Figura 110, p. 126) permitiu a associação inequívoca de cada hidrogênio a seu respectivo carbono, de acordo com a Tabela 23 (p. 123). A análise do espectro de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC de BA-11 (Figura 111, p. 127) permitiu a localização do grupamento metila.

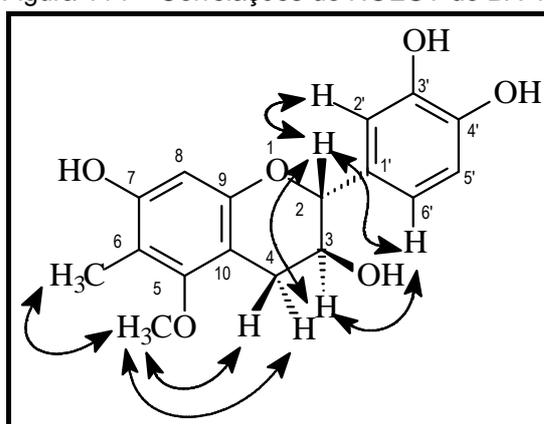
Este espectro revelou as correlações entre os hidrogênios com sinal de absorção em δ 2,04 com os carbonos em δ_{C} 111,41 C 156,44 e δ_{C} 158,80. Esses dados determinaram a posição do grupamento metila e justificaram o singlete referente ao sinal de hidrogênio ligado a carbono aromático em δ 6,15, conforme subestrutura 15 (Figura 112).

Figura 112 – Subestrutura 15



A análise do espectro de correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - NOESY de BA-11 (Figura 113, p. 127) permitiu determinar a configuração relativa dos carbonos 2 e 3 de BA-11 além de confirmar as localizações dos grupos metila e metoxila. A análise desse espectro permitiu a observação das correlações entre CH_3 -6 e CH_3O -5, CH_3O -5 e 2H-4; H-2 e H-2', H-2 e H-6', H-2 e H-3; H-3 e H-6'. Esses dados corroboraram para determinar a configuração de BA-11 (Figura 114).

Figura 114 – Correlações do NOESY de BA-11



Baseados nos dados espectrais obtidos, BA-11 foi identificada como (2*R*, 3*S*)-2-(3,4'-dihidroxifenil)-5-metoxi-6-metilcromano-3,7-diol, substância que está sendo descrita pela primeira vez, cuja estrutura está mostrada na Figura 115. A Tabela 23 (p. 123) apresenta os dados de RMN para BA-11.

Figura 115 – Estrutura de (2R, 3S)-2-(3',4'-diidroxifenil)-5-metoxi-6-metilcromano-3,7-diol

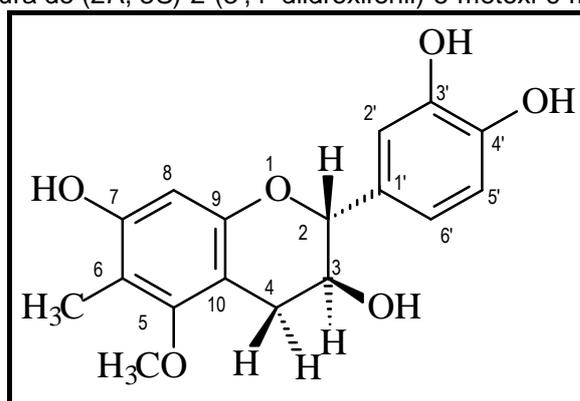


Tabela 23 – Dados espectroscópicos de RMN de (2R, 3S) -2-(3',4'-diidroxifenil)-5-metoxi-6-metilcromano-3,7-diol

| | HSQC | | HMBC | |
|-----------------------|---------------------|--|--------------------|---|
| | δ_C (ppm) | δ_H (ppm, multip., J Hz) | $^2J_{CH}$ | $^3J_{CH}$ |
| C | | | | |
| 5 | 158,80 | - | | CH ₃ O-5; CH ₃ -6 |
| 6 | 111,41 | - | CH ₃ -6 | H-8 |
| 7 | 156,44 | - | H-8 | Me-6 |
| 9 | 154,33 | - | H-8 | H-2 |
| 10 | 106,37 | - | | 2H-4; H-8 |
| 1' | 132,35 | - | H-2 | H-5' |
| 3' | 146,36 | - | | H-5' |
| 4' | 146,36 | - | | H-2'; H-6' |
| CH | | | | |
| 2 | 82,90 | 4,60 (<i>d</i> , 7,3) | | H-2'; 2H-4 |
| 3 | 68,81 | 3,99 (<i>m</i>) | H-2; 2H-4 | |
| 8 | 99,78 | 6,15 (<i>s</i>) | | |
| 2' | 115,32 | 6,83 (<i>d</i> , 1,6) | | H-2; H-6' |
| 5' | 116,28 | 6,76 (<i>d</i> , 8,1) | | |
| 6' | 120,09 | 6,70 (<i>dd</i> , 8,1, 1,6) | | H-2; H-2' |
| CH₂ | | | | |
| 4 | 28,83 | 2,91 (<i>dd</i> , 16,1, 5,2) 2,63 (<i>dd</i> , 16,1, 8,0) | | |
| CH₃ | | | | |
| CH ₃ O-5 | 60,46 | 3,67 (<i>s</i>) | | |
| CH ₃ -6 | 8,83 | 2,04 (<i>s</i>) | | |

Figura 105 – Espectro de massas de alta resolução de BA-11

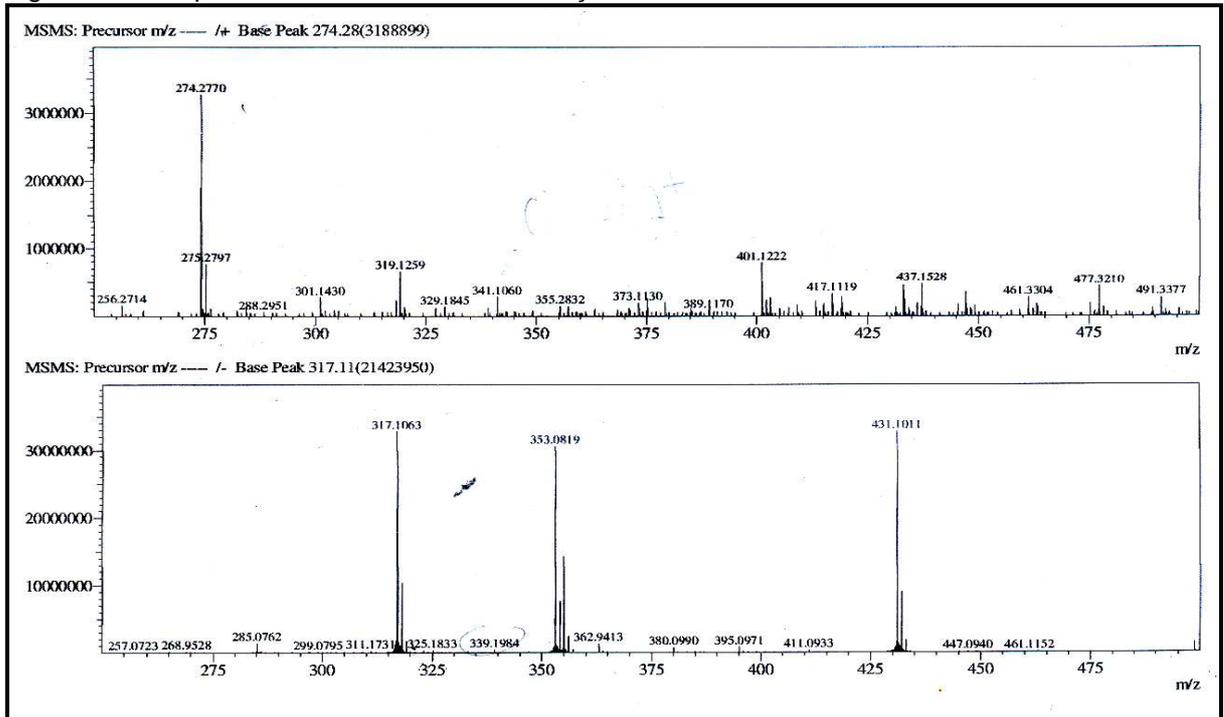


Figura 106 – Espectro na região do IV de BA-11 (em KBr)

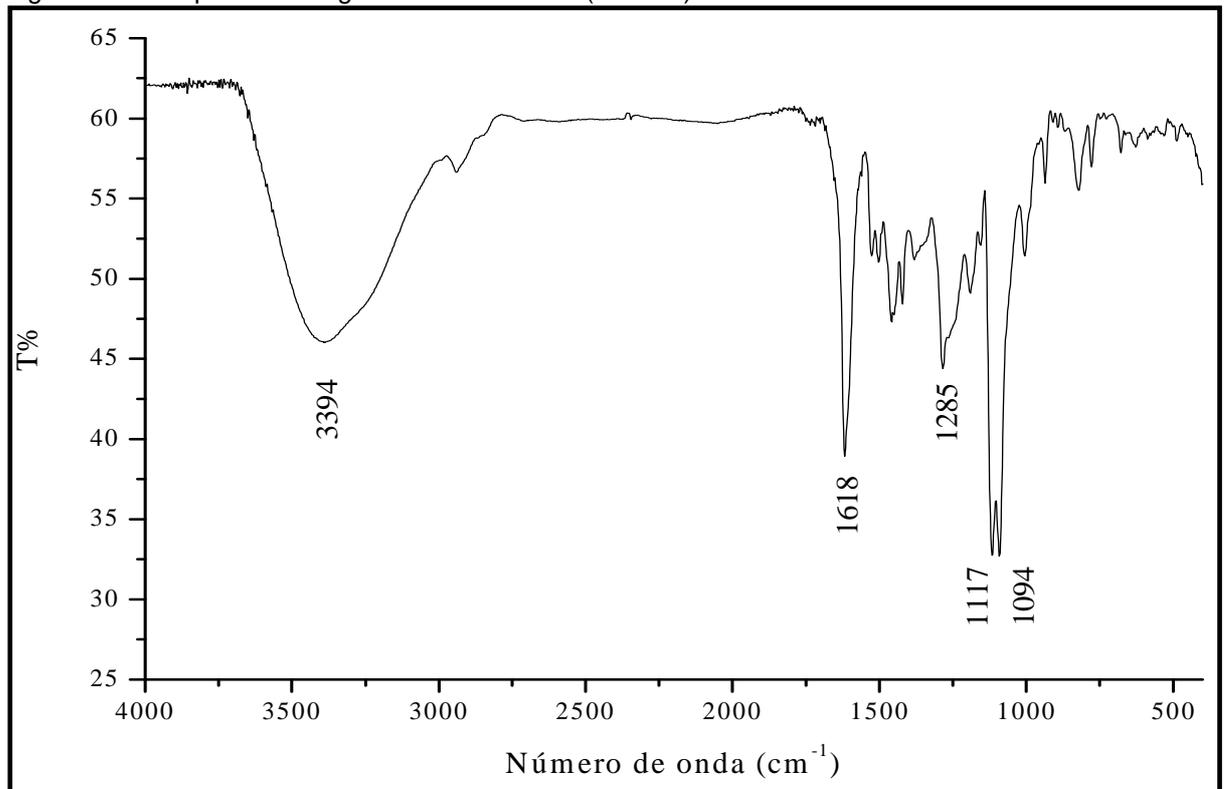


Figura 107 – Espectro de RMN¹H (300 MHz, CD₃OD) de BA-11

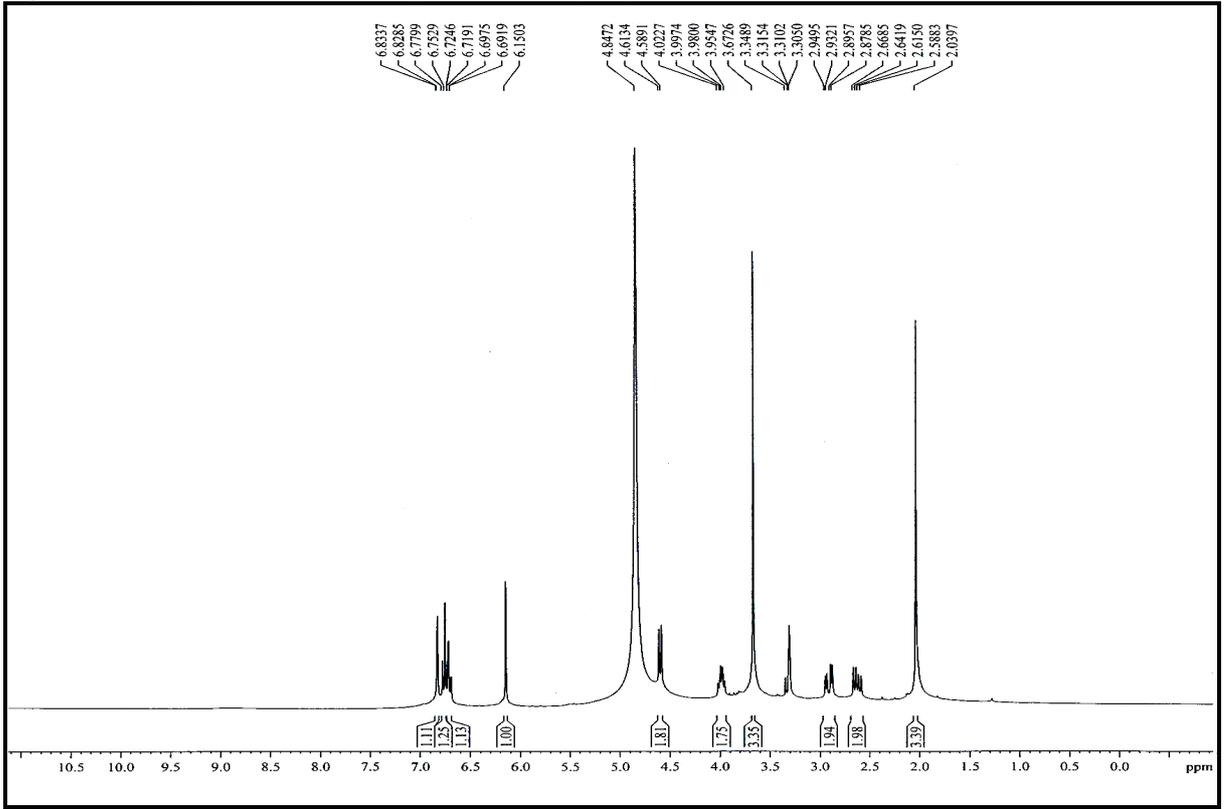


Figura 108 – Espectro de RMN¹³C-BB (75 MHz, CD₃OD) de BA-11

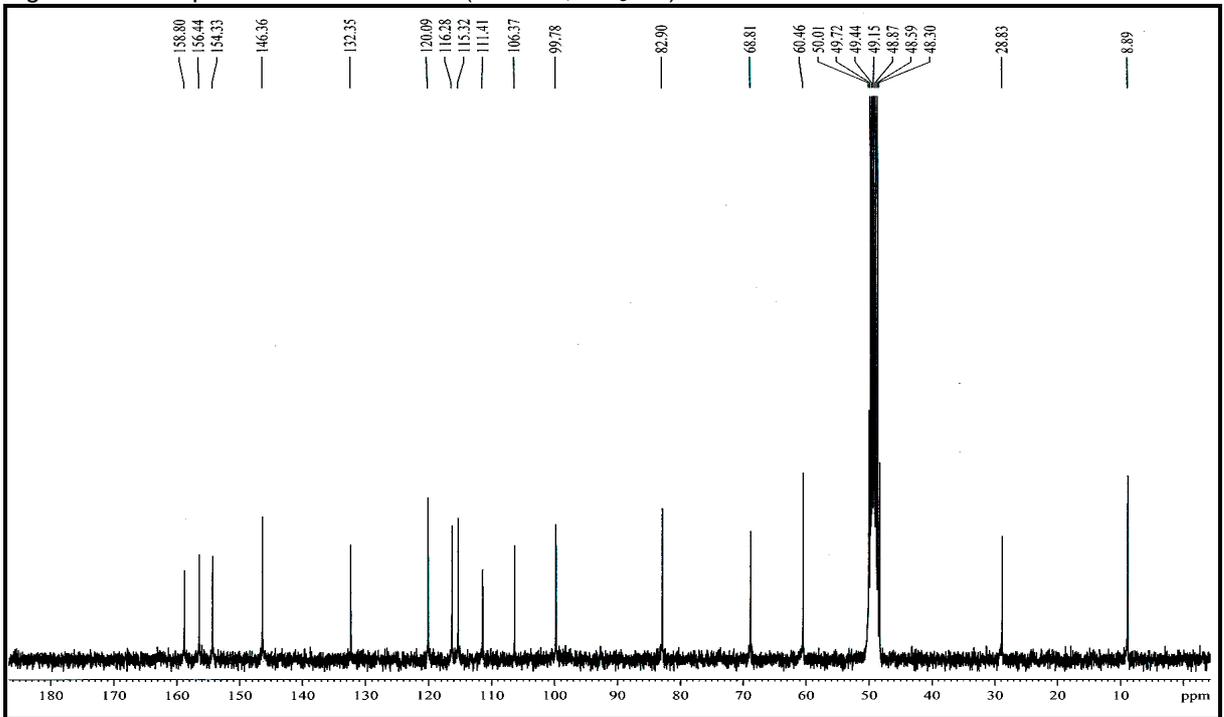


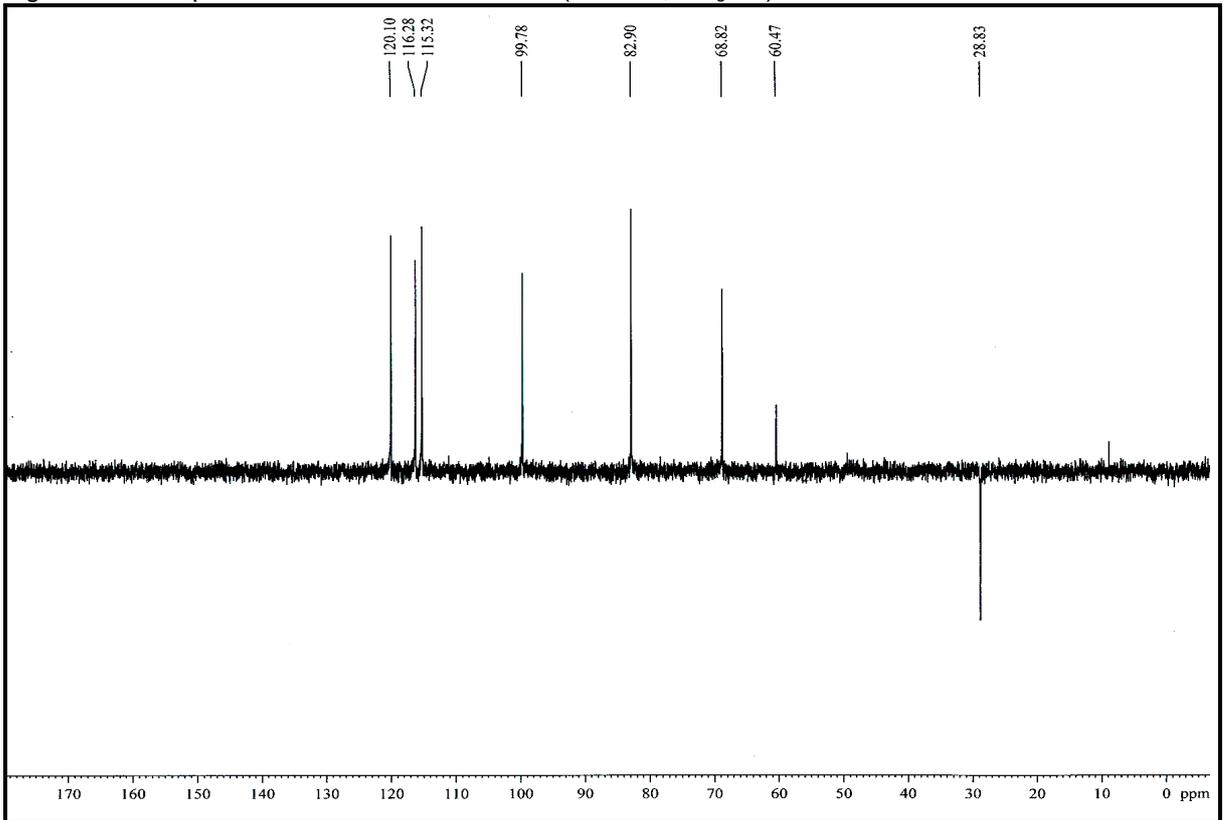
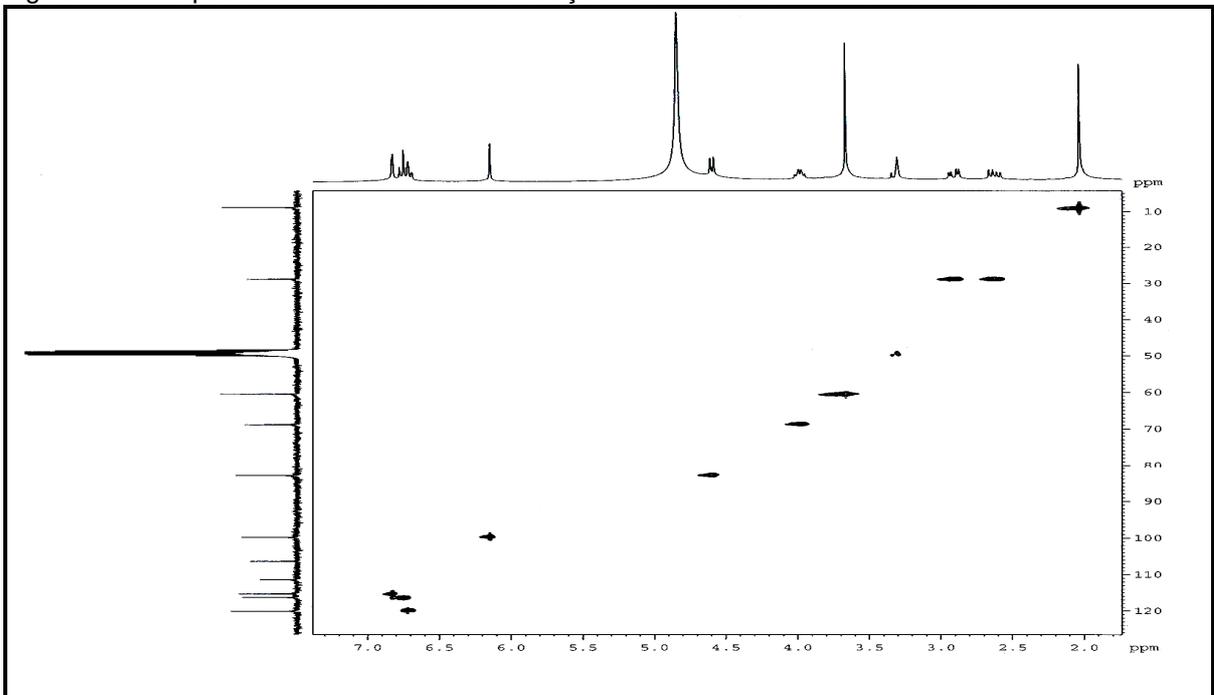
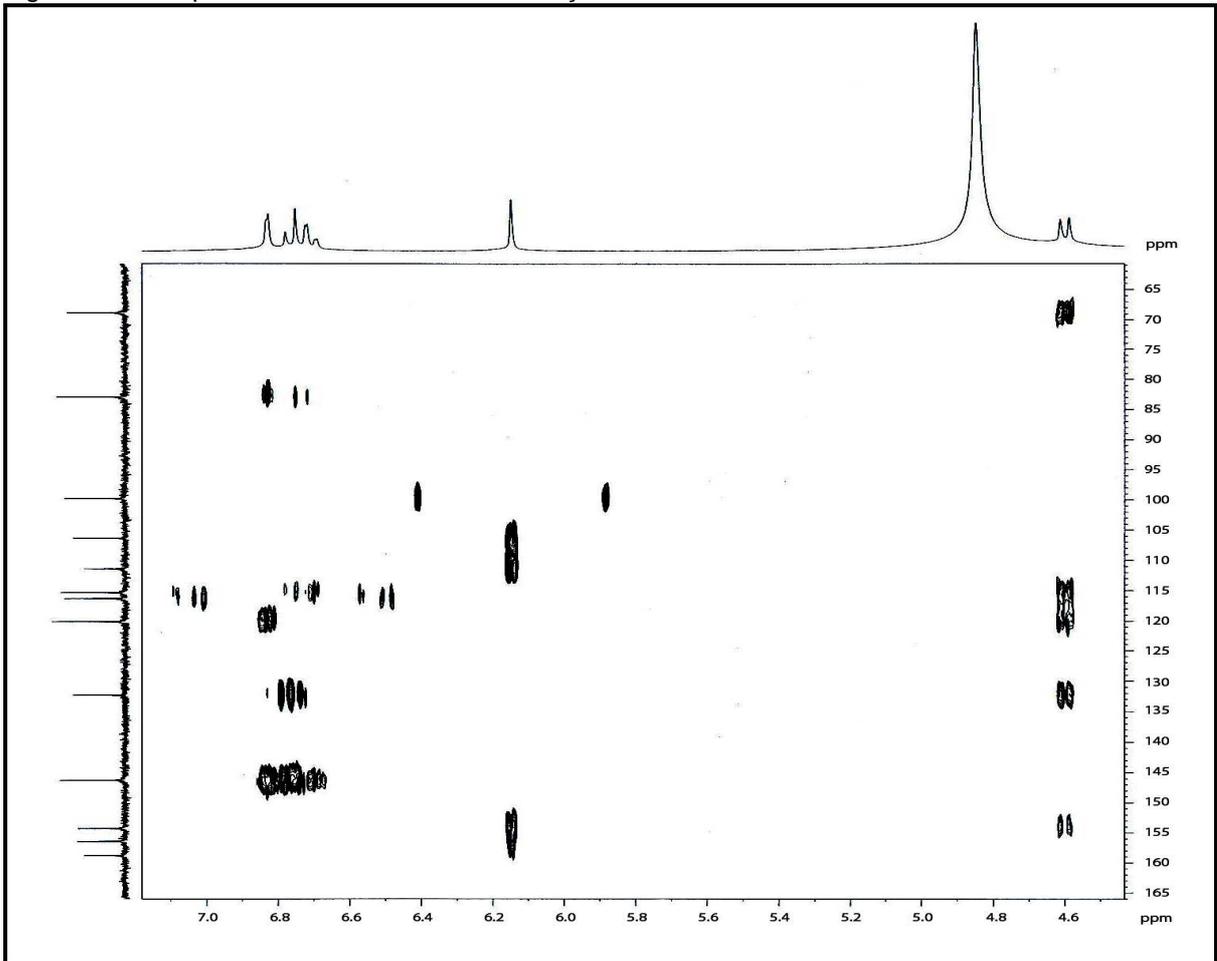
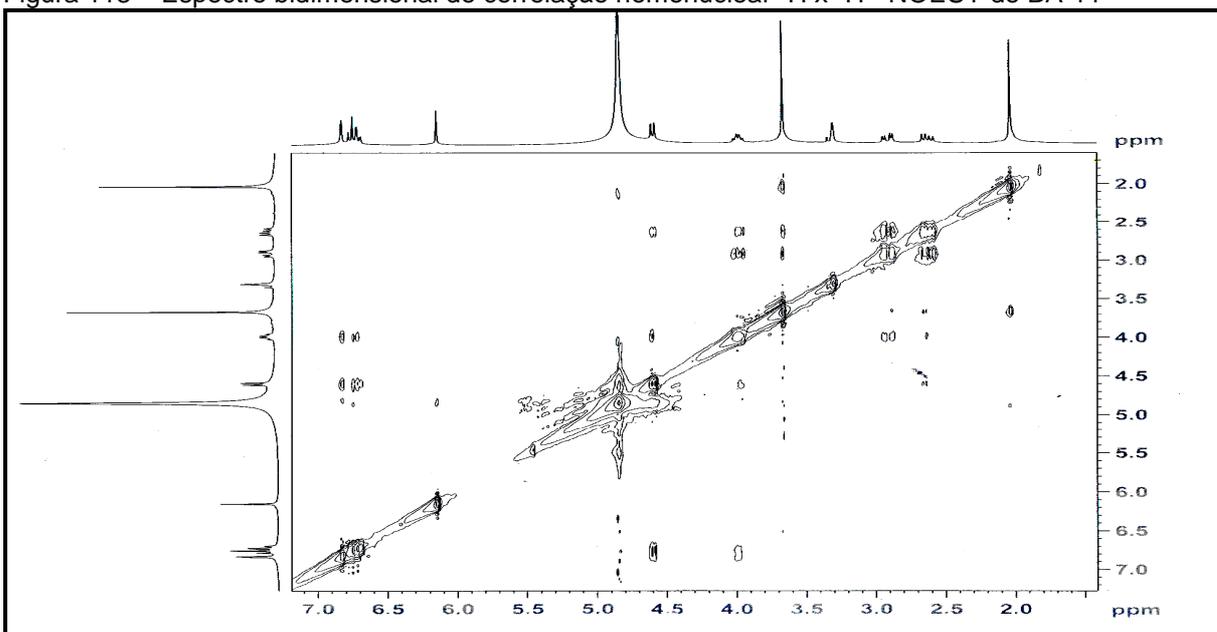
Figura 109 – Espectro de RMN¹³C-DEPT 135° (75 MHz, CD₃OD) de BA-11Figura 110 – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear ¹H x ¹³C-HSQC de BA-11

Figura 111 – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC de BA-11Figura 113 – Espectro bidimensional de correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - NOESY de BA-11

3.1.12 Determinação estrutural de BA-12

A cromatografia em coluna de EERBA (16 a 18) (54 a 118) (item 4. 4. 6. 1, p. 181) permitiu o isolamento de 28,8 mg de um sólido cristalino, de forma acicular, incolor e solúvel em clorofórmio, que foi denominado BA-12.

A análise do espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) de BA-12 (Figura 116, p. 130) revelou um multiplete em δ 3,54 que foi atribuído aos hidrogênios ligados aos carbonos carbinólicos C-3 do sitosterol e estigmasterol; um duplo dublete em δ 5,02 ($J_{23-22} = 15,2$ Hz e $J_{23-24} = 8,5$ Hz), atribuído ao H-23 do estigmasterol; um duplo dublete em δ 5,16 ($J_{22-23} = 15,2$ Hz e $J_{22-20} = 8,5$ Hz), atribuído ao H-22 do estigmasterol e um dublete em δ 5,36 ($J = 5,1$ Hz), atribuído aos hidrogênios olefínicos H-6 dos dois compostos. Os demais sinais referentes aos hidrogênios metínicos, metilênicos e metílicos apareceram na região entre δ 0,69 e 2,34.

O espectro de RMN ^{13}C – BB (CDCl_3 , 75 MHz) de BA-12 (Figura 117, p. 130) e o espectro RMN ^{13}C – DEPT 135° (CDCl_3 , 75 MHz) (Figura 118, p. 131) mostraram deslocamentos químicos em δ_{C} 121,93 e 140,99, típicos do sistema olefínico entre C-5 e C-6 do sitosterol e estigmasterol, em δ_{C} 138,52 e 129,53, característico do sistema olefínico entre C-22 e C-23 do estigmasterol e em δ_{C} 72,03 referente ao carbono carbinólico C-3 destes dois esteroides. A comparação dos dados espectroscópicos descritos na literatura (GOULART *et al.*, 1993), permitiu confirmar que BA-12 tratava-se da mistura constituída pelos esteroides sitosterol e estigmasterol, cujas estruturas estão mostradas na Figura 119. Os dados de RMN ^{13}C – BB estão mostrados na Tabela 24 (p. 129).

Figura 119 - Estruturas do sitosterol e do estigmasterol

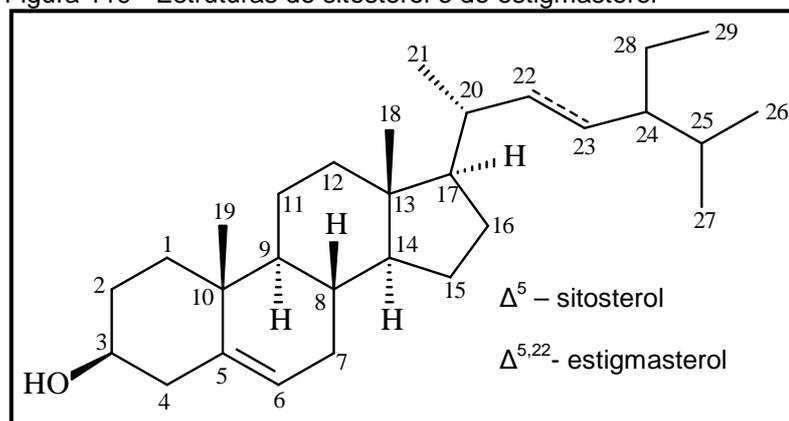


Tabela 24 – Dados espectroscópicos de RMN de BA-12 comparados com os dados descritos na literatura (GOULART *et al.*, 1993) para a mistura dos esteroides sitosterol e estigmasterol

| C | DEPT | Sitosterol | | Estigmasterol | |
|----|---------------------|------------|--------|---------------|--------|
| | | BA-12 | Lit. | BA-12 | Lit. |
| 1 | CH ₂ | 37,49 | 37,25 | 37,49 | 37,25 |
| 2 | CH ₂ | 32,14 | 31,64 | 32,14 | 31,64 |
| 3 | CH | 72,03 | 71,81 | 72,03 | 71,81 |
| 4 | CH ₂ | 42,54 | 42,29 | 42,54 | 42,29 |
| 5 | C | 140,99 | 140,73 | 140,99 | 140,73 |
| 6 | CH | 121,93 | 121,72 | 121,93 | 121,72 |
| 7 | CH ₂ | 31,90 | 31,89 | 31,90 | 31,89 |
| 8 | CH | 32,10 | 31,89 | 32,10 | 31,89 |
| 9 | CH | 50,38 | 50,12 | 51,47 | 50,12 |
| 10 | C | 36,74 | 36,40 | 36,74 | 36,40 |
| 11 | CH ₂ | 21,31 | 21,08 | 21,31 | 21,08 |
| 12 | CH ₂ | 40,02 | 39,78 | 40,02 | 39,68 |
| 13 | C | 42,45 | - | 42,56 | - |
| 14 | CH | 57,01 | 56,75 | 57,10 | 56,87 |
| 15 | CH ₂ | 24,53 | 24,30 | 24,53 | 24,38 |
| 16 | CH ₂ | 28,47 | 28,24 | 28,41 | 28,24 |
| 17 | CH | 56,21 | 56,05 | 56,21 | 55,93 |
| 18 | CH ₃ | 12,08 | 11,87 | 12,08 | 11,87 |
| 19 | CH ₃ | 19,61 | 19,38 | 19,61 | 19,38 |
| 20 | CH | 36,37 | 36,16 | 40,70 | 40,50 |
| 21 | CH ₃ | 19,21 | 19,03 | 21,31 | 21,20 |
| 22 | CH ₂ /CH | 34,19 | 33,94 | 138,53 | 138,40 |
| 23 | CH ₂ /CH | | 39,12 | 129,52 | 129,27 |
| 24 | CH | 46,09 | 45,83 | 51,47 | 51,23 |
| 25 | CH | 29,41 | 26,03 | 31,90 | 31,89 |
| 26 | CH ₃ | 19,62 | 18,76 | 19,27 | 19,00 |
| 27 | CH ₃ | 21,31 | 19,81 | 19,27 | 19,00 |
| 28 | CH ₂ | 23,31 | 23,06 | 26,34 | 25,42 |
| 29 | CH ₃ | 12,20 | 11,99 | 12,27 | 12,27 |

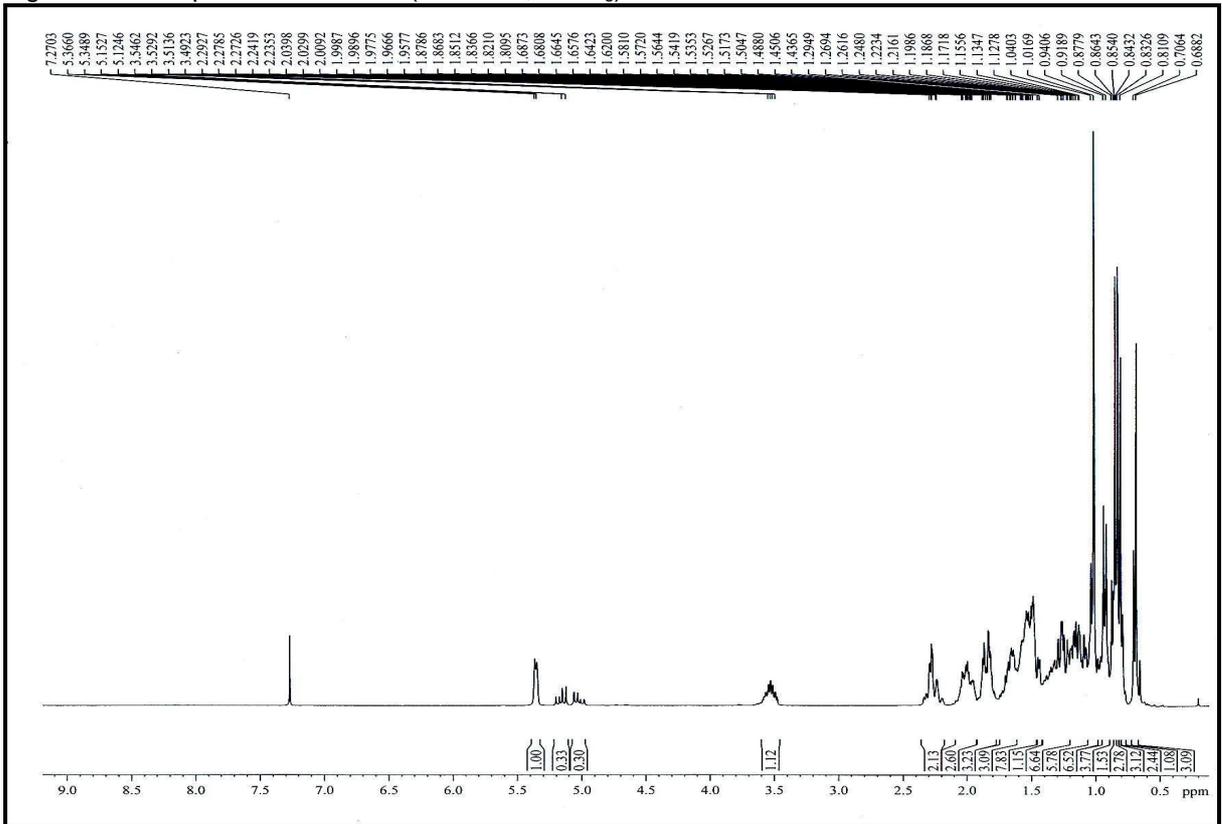
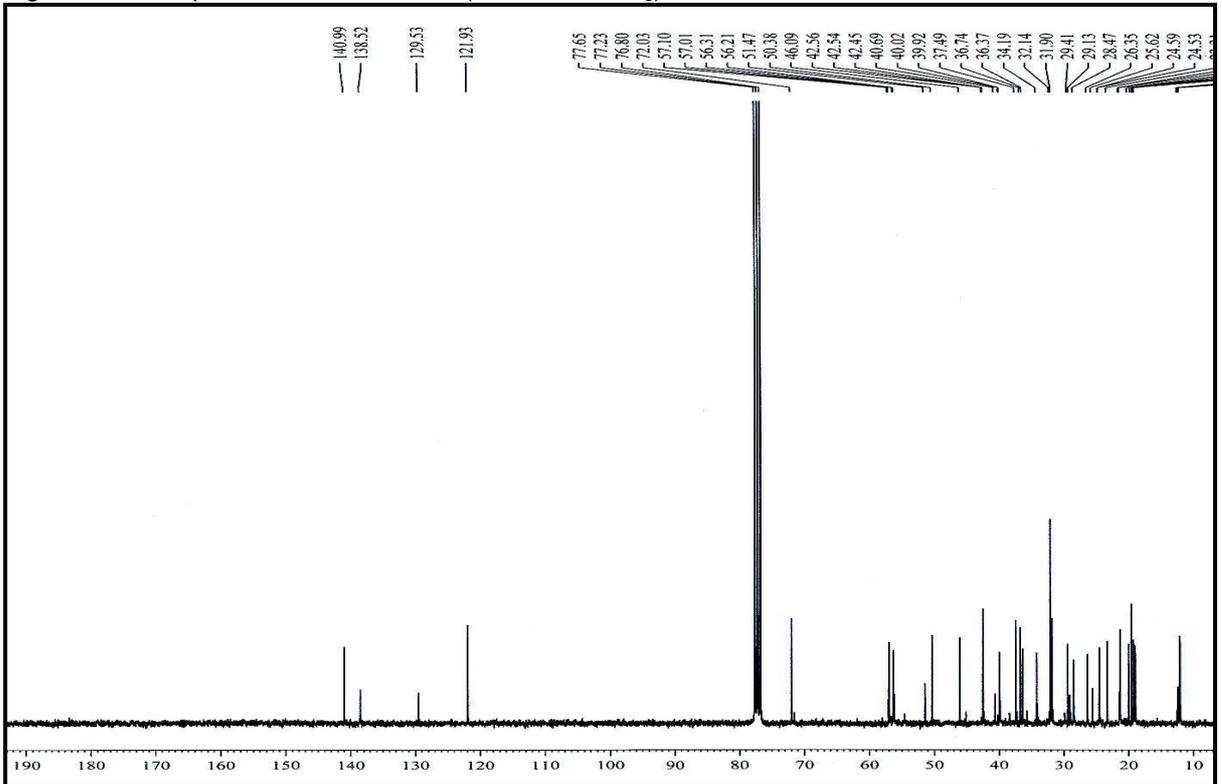
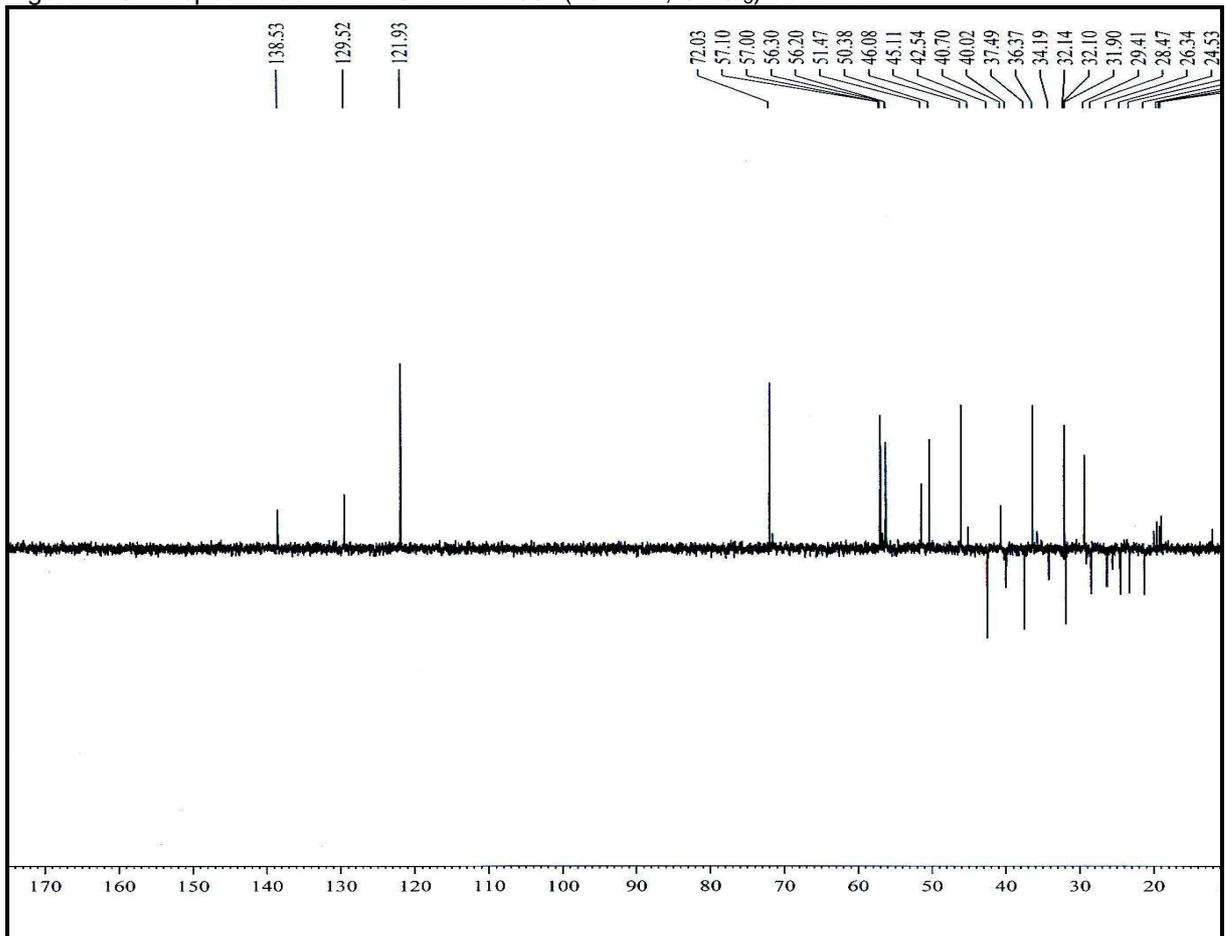
Figura 116 – Espectro de RMN¹H (300 MHz, CDCl₃) de BA-12Figura 117 – Espectro de RMN¹³C-BB (75 MHz, CDCl₃) de BA-12

Figura 118 – Espectro de RMN¹³C-DEPT 135° (75 MHz, CDCl₃) de BA-12

3.1.13 Determinação estrutural de BA-13

A cromatografia em coluna da fração EECBA (37) (88 a 97) (item 4. 5. 3, p. 196) resultou em 112,0 mg de um sólido de coloração laranja com ponto de fusão na faixa de 182-186 °C, rotação óptica específica, $[\alpha]_D^{25} - 29,4^\circ$ (c 0,1; CH₃OH) (lit. $[\alpha]_D^{25} - 22^\circ$; c 0,82, CH₃OH) (REGASINI *et al.*, 2008), que foi denominado BA-13.

O espectro na região do infravermelho de BA-13 (Figura 120, p. 136) mostrou uma banda larga e intensa em 3395 cm⁻¹, correspondente à deformação axial de ligação O-H, caracterizando a presença de grupo hidroxila. A absorção em 2932 cm⁻¹ está relacionada à deformação axial de ligação C-H de carbono *sp*³. A banda intensa em 1648 cm⁻¹ está associada à deformação axial de ligação C=O de cetona, provavelmente formando ligação de hidrogênio intramolecular. A banda em 1465 cm⁻¹ é indicativa de deformação axial de ligação C=C de anel aromático. A absorção em 1170 cm⁻¹ é característica de deformação axial de ligação C-O de álcoois e fenóis (PAVIA *et al.*, 2010).

O espectro de RMN ¹H (500 MHz, CD₃OD) de BA-13 (Figura 121, p. 136) mostrou cinco sinais na faixa δ 5,90 – 6,96, os quais foram associados a hidrogênios ligados a carbonos aromáticos. Destes os dubletos centrados em δ 5,90 (1H, *d*, $J = 1,8$ Hz) e δ 5,92 (1H, *d*, $J = 2,2$ Hz) foram característicos de hidrogênios em posição *meta*, sugerindo a presença de um anel aromático 1,3,4,5-tetrassubstituído à semelhança de BA-3. Os sinais em δ 6,81 (1H, *d*, $J = 7,8$ Hz) e em δ 6,84 (1H, *d*, $J = 8,6$ Hz) foram compatíveis com hidrogênios *orto* posicionados e o hidrogênio com sinal de absorção em δ 6,96 (1H, *s*) foi indicativo, provavelmente, de hidrogênio *meta* posicionado sugerindo, possivelmente, a existência de anel aromático 1,3,4-trissubstituído.

Esse espectro mostrou ainda, sinais na região entre δ 3,31-4,25 associados a hidrogênios ligados a carbonos oxigenados, caracterizando a existência de uma unidade de açúcar. O sinal em δ 4,06 (1H, *s*) e o sinal em δ 1,19 (3H, *d*, $J = 5,9$ Hz) indicou a presença da ramnose, pois são compatíveis com o deslocamento químico (δ) de hidrogênio ligado a carbono anomérico e de grupo metílico, respectivamente (HUANG *et al.*, 2011). Este espectro revelou também sinais de absorção relacionados a hidrogênios ligados a carbonos oxigenados em δ 4,58 (1H, *d*, $J = 10,5$ Hz) e δ 5,07 (1H, *d*, $J = 10,7$ Hz) (PAVIA *et al.*, 2010).

O espectro de RMN ^{13}C - BB de BA-13 (125 MHz, CD_3OD) (122, p. 137) tal qual BA-3 mostrou 21 linhas espectrais que após comparação com o espectro de RMN ^{13}C - DEPT 135° (125 MHz, CD_3OD) (Figura 123, p. 137) permitiu a identificação do padrão de hidrogenação de BA-13, de acordo com a Tabela 25.

Tabela 25 – Dados de RMN ^{13}C de BA-13 com padrão de hidrogenação

| C | CH | CH_3 |
|-----------------|-----------------|-----------------|
| 102,61 | 70,63 (CH – OH) | 18,00 |
| 129,31 | | |
| 146,66 (C – OH) | 71,90 (CH – OH) | |
| 147,49 (C – OH) | 72,15 (CH – OH) | |
| 164,22 (C – O) | 73,94 (CH – OH) | |
| 165,62 (C – O) | 78,70 (CH – O) | |
| 168,75 (C – OH) | 84,07 (CH – O) | |
| 196,09 (C=O) | 96,40 | |
| | 97,62 | |
| | 102,27 | |
| | 115,62 | |
| | 116,46 | |
| | 120,62 | |
| 8 C | 12 CH | 1 CH_3 |

Fórmula molecular: $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_{12}$

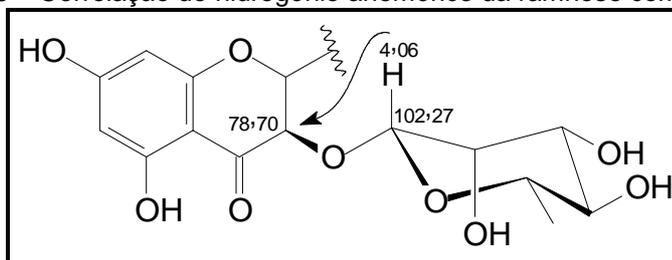
As correlações dos hidrogênios de BA-13 aos seus respectivos carbonos foram obtidas através da análise do espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HSQC (Figura 124, p. 138) conforme dados da Tabela 26, (p. 135).

Através da comparação do espectro de RMN ^{13}C – BB de BA-3 (Figura 30, p. 65) com o espectro de RMN ^{13}C – BB de BA-13 (Figura 122, p. 137) observou-se que as diferenças entre ambas estão nos deslocamentos químicos correspondentes aos carbonos 2 e 3; BA-13 apresentou deslocamentos químicos dos carbonos anteriormente citados compatíveis com um flavonoide da classe dos flavanonois, diferindo, assim de BA-3 que pertence à classe dos flavonois.

A posição da ramnose, que já fora sugerida pelos espectros de RMN ^1H e RMN ^{13}C – BB, foi determinada através da análise do espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC (Figura 125, p. 138), que revelou

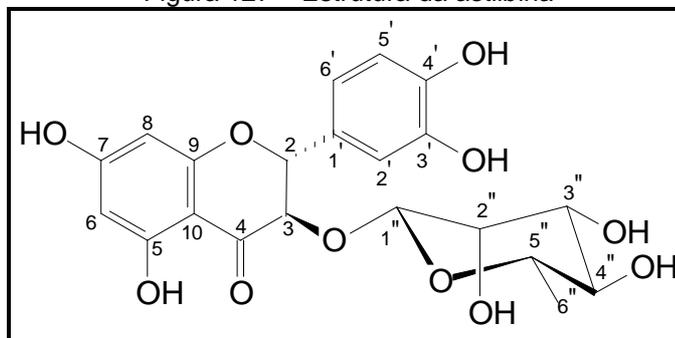
correlação do hidrogênio anomérico em δ 4,06 ao carbono em δ_C 78,70. A Figura 126 mostra a localização da ramnose na aglicona.

Figura 126 – Correlação do hidrogênio anomérico da ramnose com a aglicona



Baseados nos dados espectrais apresentados, no conhecimento de classes de substâncias presentes neste gênero e na comparação com os dados descritos na literatura (HUANG *et al.*, 2011) foi possível concluir que BA-13 tratava-se de (2*R*, 3*R*)-5,7,3',4'-tetra-hidroxi-3- α -O-ramnose-flavanona, conhecida usualmente como astilbina, já descrita anteriormente em *Bauhinia aurea* (SHANG *et al.*, 2007) cuja estrutura está mostrada na Figura 127.

Figura 127 – Estrutura da astilbina



Os dados de RMN ^1H e RMN ^{13}C de BA-13, assim como os descritos na literatura (HUANG *et al.*, 2011) para a astilbina encontram-se descritos na Tabela 26.

Tabela 26 – Dados espectroscópicos de RMN de BA-13 comparados com dados descritos na literatura (HUANG *et al.*, 2011) para astilbina

| | HSQC | | HMBC | | Literatura (CD ₃ OD) | |
|-----------------------|---------------------|------------------------------------|-------------|-------------|---------------------------------|------------------------------------|
| | δ_C (ppm) | δ_H (ppm, multip., J Hz) | $^2 J_{CH}$ | $^3 J_{CH}$ | δ_C (ppm) | δ_H (ppm, multip., J Hz) |
| C | | | | | | |
| 4 | 196,09 | - | H-3 | H-2 | 196,00 | |
| 5 | 165,62 | - | H-6 | | 165,62 | |
| 7 | 168,75 | - | H-8 | | 168,62 | |
| 9 | 164,22 | - | H-8 | | 164,11 | |
| 10 | 102,61 | - | | H-3; H-8 | 102,48 | |
| 1' | 129,31 | - | H-2 | H-3 | | |
| 3' | 146,66 | - | | H-5' | 146,54 | |
| 4' | 147,49 | - | | H-2'; H-6' | 147,38 | |
| CH | | | | | | |
| 2 | 84,07 | 5,07; <i>d</i> ; 10,7 | H-3 | H-2'; H-6' | 83,96 | 5,08; <i>d</i> ; 10,8 |
| 3 | 78,70 | 4,58; <i>d</i> ; 10,5 | H-2 | H-1'' | 78,56 | 4,58; <i>d</i> ; 10,4 |
| 6 | 97,62 | 5,92; <i>d</i> ; 2,2 | | H-8 | 97,37 | 5,89; <i>d</i> ; 2,0 |
| 8 | 96,40 | 5,90; <i>d</i> ; 2,2 | | H-6 | 96,25 | 5,91; <i>d</i> ; 2,0 |
| 2' | 116,46 | 6,96; <i>s</i> | | H-2 | 116,30 | 6,95; <i>d</i> ; 1,6 |
| 5' | 115,62 | 6,81; <i>d</i> ; 7,8 | | | 115,46 | 6,85; <i>m</i> |
| 6' | 120,62 | 6,84; <i>d</i> ; 7,8 | | H-2 | 120,48 | 6,85; <i>m</i> |
| 1'' | 102,27 | 4,06; <i>s</i> | | H-5'' | 102,14 | 4,04; <i>d</i> ; 1,6 |
| 2'' | 71,90 | 3,55; <i>s</i> | | | 71,77 | 4,28; <i>m</i> |
| 3'' | 72,15 | 3,66; <i>dd</i> ; 3,3; 9,3 | H-4'' | H-1'' | 72,15 | 3,67; <i>dd</i> ; 3,2; 9,6 |
| 4'' | 73,94 | 3,31; <i>s</i> | H-3'' | H-6'' | 73,79 | 3,53; <i>dd</i> ; 1,6; 3,2 |
| 5'' | 70,63 | 4,25; <i>m</i> | H-4'' | | 70,50 | 3,32; <i>m</i> |
| CH₃ | | | | | | |
| 6'' | 18,00 | 1,19; <i>d</i> ; 5,9 | | | 17,85 | 1,18; <i>d</i> ; 6,0 |

Figura 120 – Espectro de IV de BA-13 (em KBr)

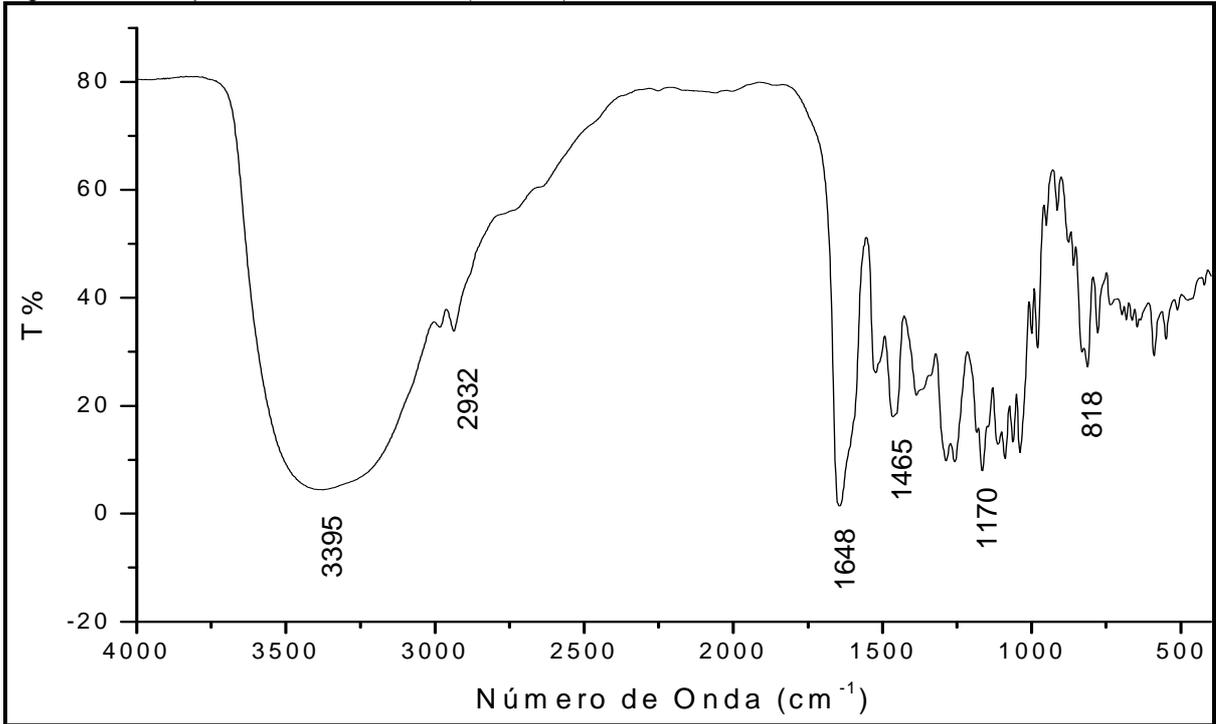


Figura 121 – Espectro de RMN¹H (500 MHz, CD₃OD) de BA-13

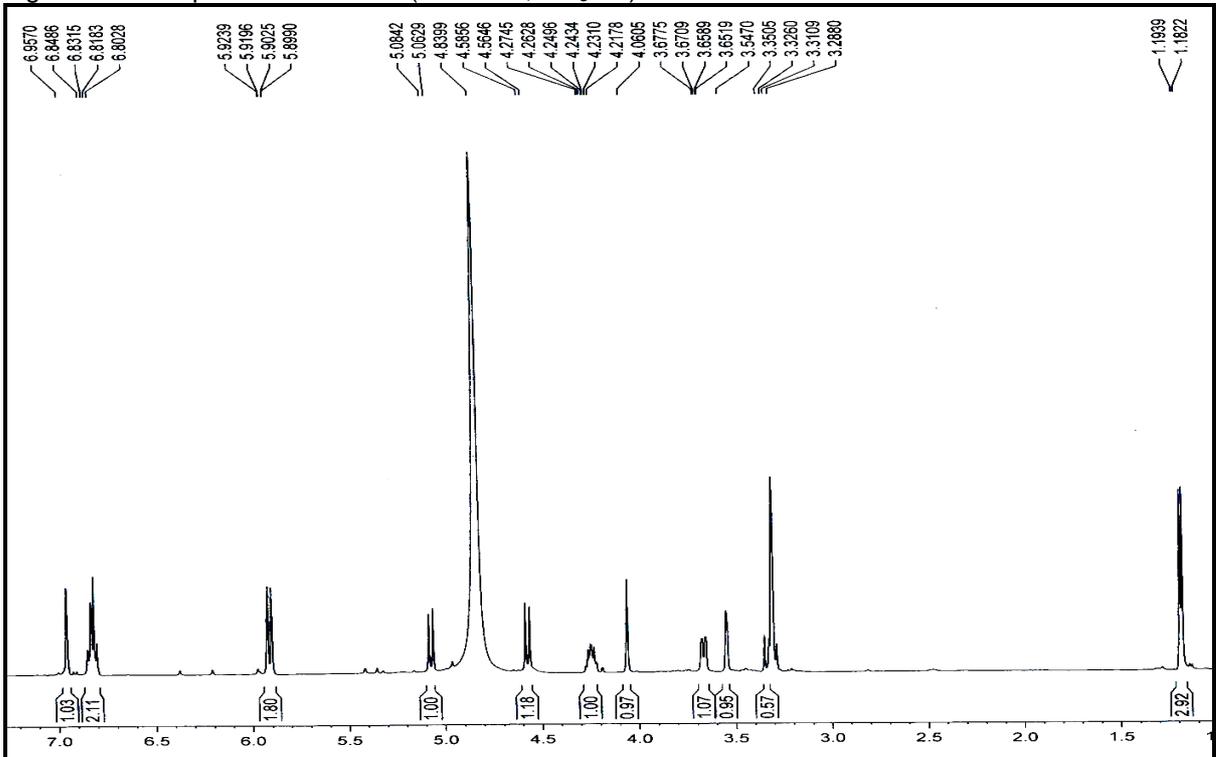


Figura 122 – Espectro de RMN¹³C - BB (125 MHz, CD₃OD) de BA-13

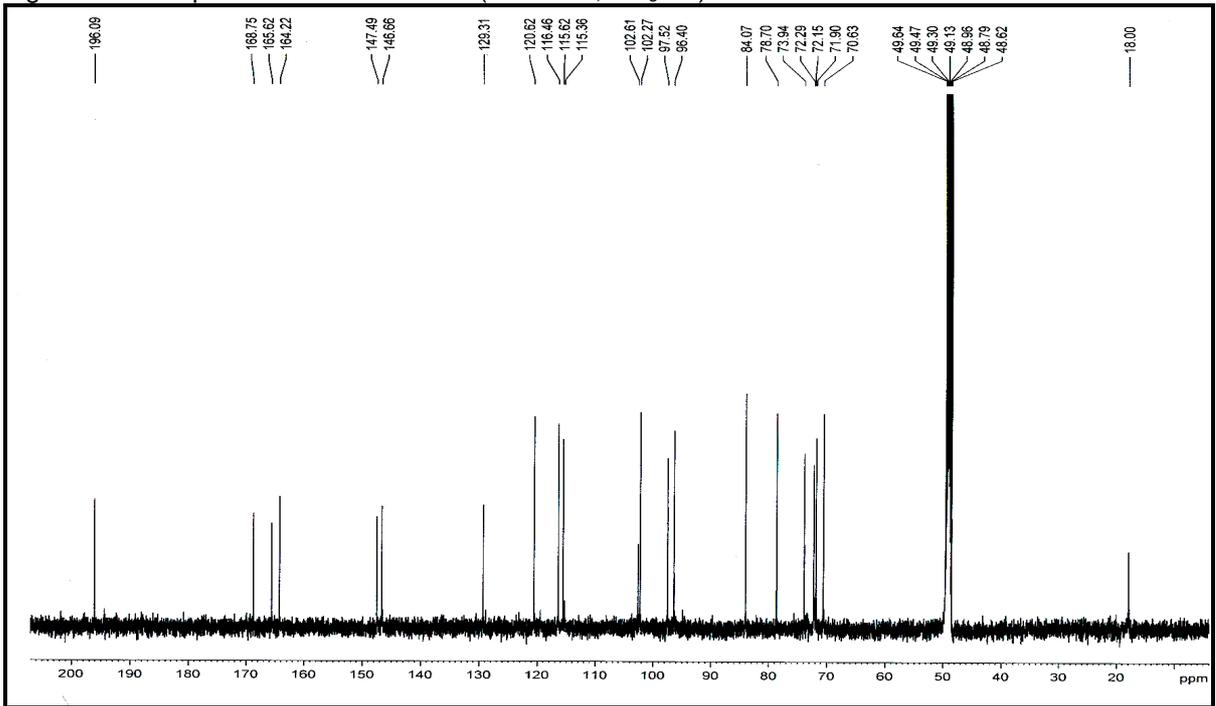


Figura 123 – Espectro de RMN¹³C - DEPT 135° (125 MHz, CD₃OD) de BA-13

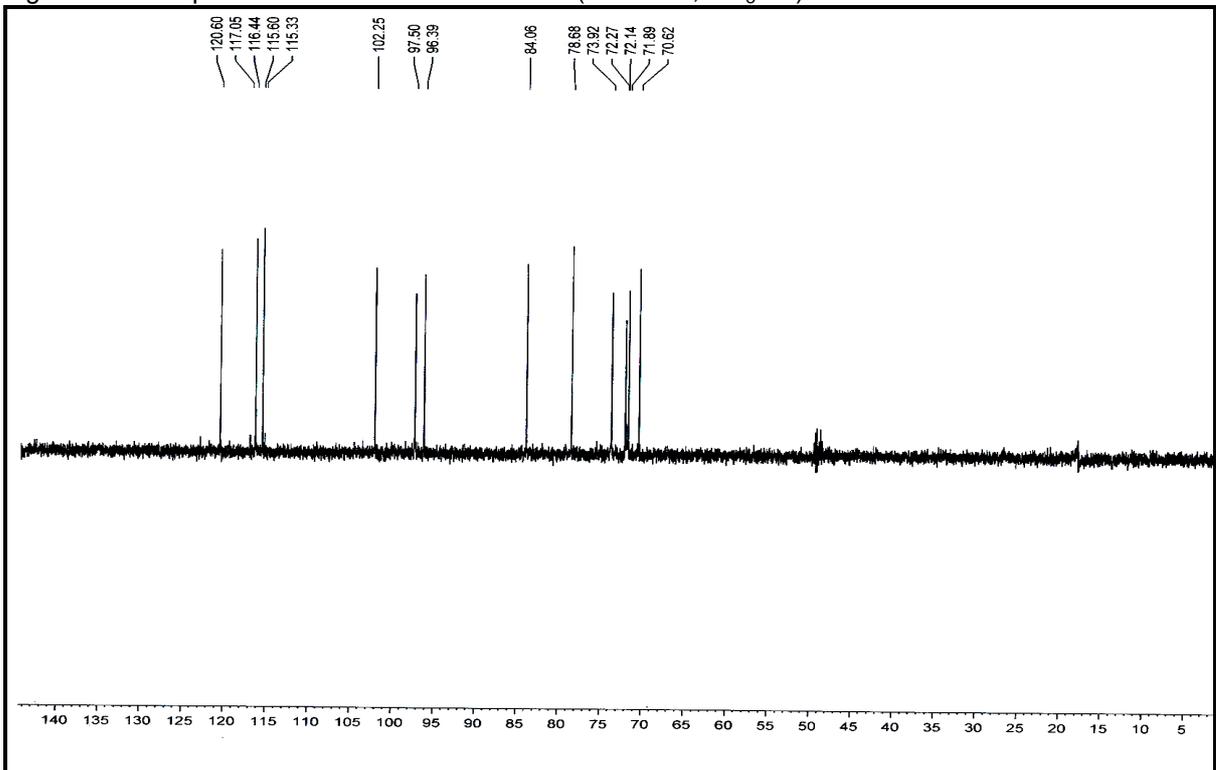
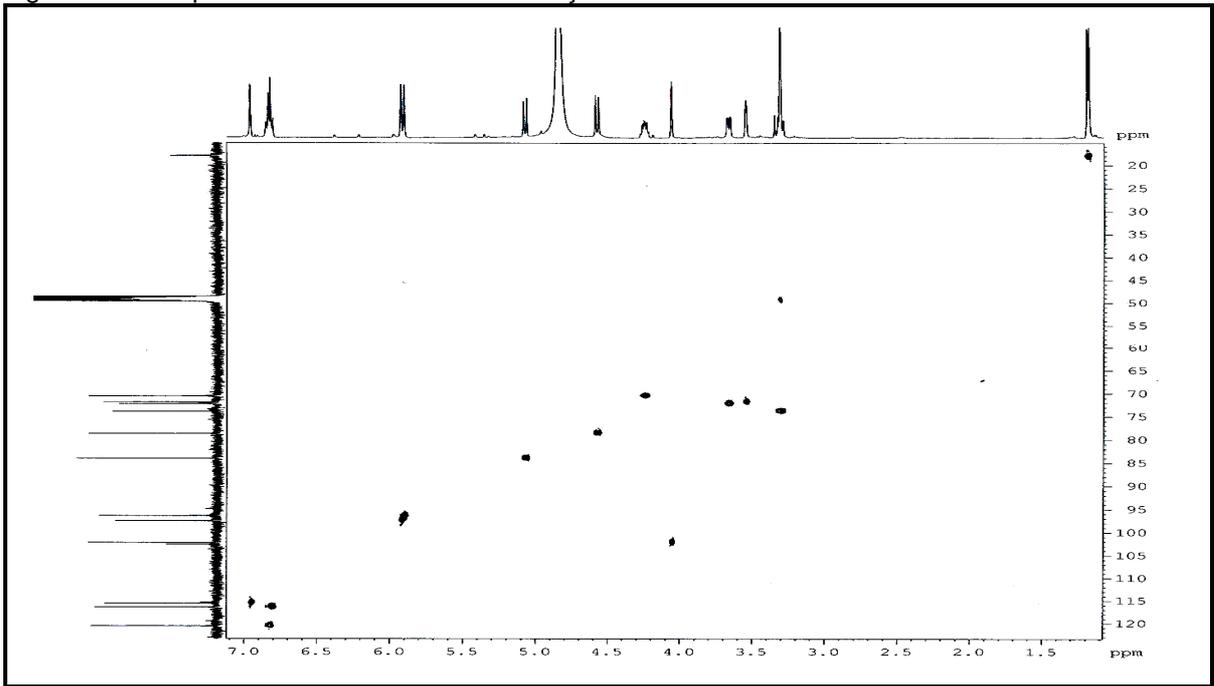
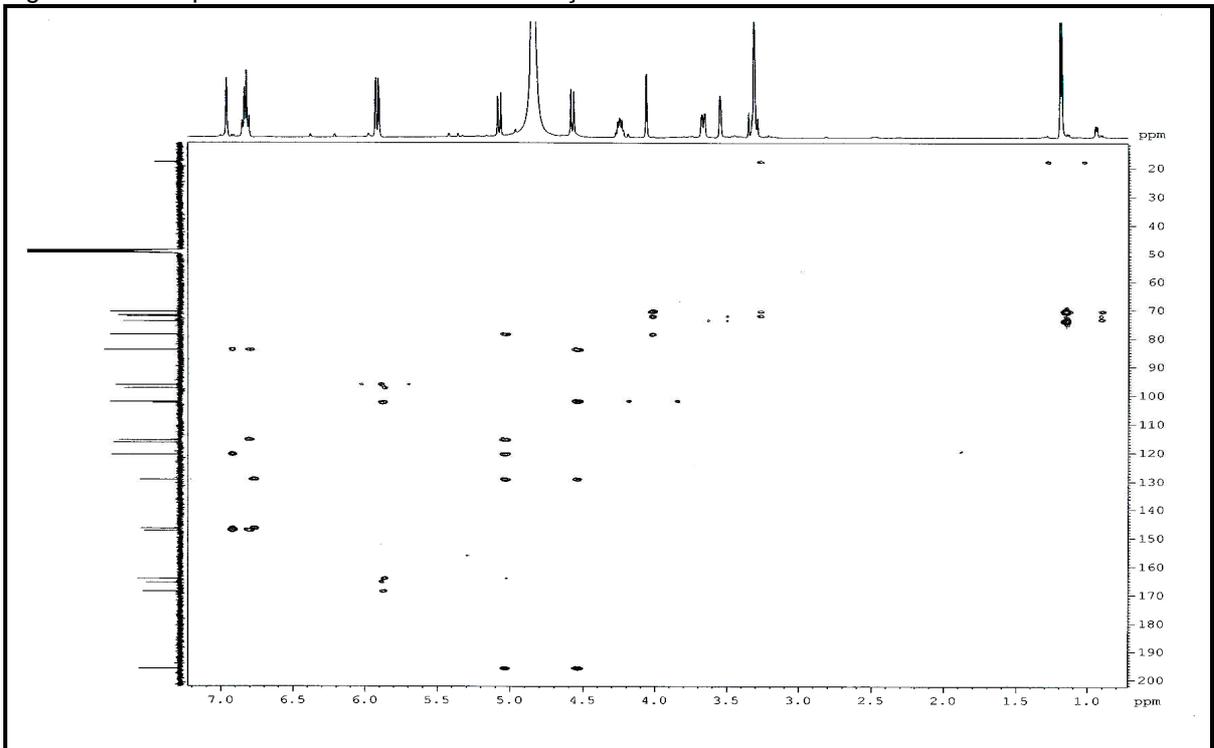


Figura 124 – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HSQC de BA-13Figura 125 – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HMBC de BA-13

3.2 Ensaios de atividades biológicas

3.2.1 Avaliação da atividade antioxidante de EERBA e EECBA

Os extratos EERBA e EECBA foram avaliados quanto aos seus potenciais antioxidantes (item 4. 6. 1, p. 197), apresentando atividades significativas nas concentrações de 0,1 mg/mL e 1,0 mg/mL, respectivamente (Tabela 27). Nestes ensaios, a adição de diferentes concentrações dos extratos EERBA e EECBA na solução de DPPH induziu uma rápida diminuição na absorbância e o consumo do radical foi dependente da concentração do extrato adicionado ao meio reacional. É importante citar que este é o primeiro relato de atividade antioxidante com extratos em etanol da espécie *Bauhinia acuruana*.

Tabela 27 – Percentual de redução do DPPH e IC₅₀ dos extratos em etanol do caule e raízes de *B. acuruana*

| Amostra/Conc. (mg/L) | 0,001 | 0,005 | 0,01 | 0,05 | 0,1 | 1,0 | IC ₅₀ (mg/mL) |
|-------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--|
| EECBA | 7,4% | 32,8% | 68,1% | 88,0% | 99,3% | 99,4% | $7,39 \times 10^{-3} \pm 1,9 \times 10^{-4}$ |
| EERBA | 9,1% | 48,5% | 91,7% | 97,0% | 99,5% | 99,6% | $5,36 \times 10^{-4} \pm 2,4 \times 10^{-4}$ |
| Padrão/Conc. (mg/L) | 0,001 | 0,002 | 0,004 | 0,005 | 0,1 | 1,0 | IC ₅₀ (mg/mL) |
| Trolox | 24,5% | 41,8% | 51,8% | 86,5% | 99,8% | 99,9% | $2,6 \times 10^{-3} \pm 2,3 \times 10^{-4}$ |
| Vitamina C | 3,25% | 17,8% | 19,0% | 19,3% | 92,8% | 99,8% | $4,3 \times 10^{-2} \pm 1,9 \times 10^{-2}$ |

A literatura relata diversos estudos sobre a atividade antioxidante de extratos de plantas do gênero *Bauhinia*. São descritos, portanto, a atividade antioxidante dos seguintes extratos: etanólico e metanólico das folhas de *B. monandra* (ARGOLO *et al.*, 2004), metanólico das cascas do caule de *B. racemosa* (KUMAR *et al.*, 2005), aquoso e hidroetanólico das folhas de *B. microstachya* (DA SILVA *et al.*, 2007), etanólico do caule de *B. guianensis* (TAIPE; LA ROSA; CAYCHO, 2008), etanólico e aquoso das cascas do caule e das raízes de *B. variegata* Linn. (RAJANI; PURNIMA, 2009), metanólico e aquoso do caule de *B. purpurea* (AVINASH *et al.*, 2011) e hidroetanólico das folhas de *B. forficata* e *B. variegata* (SAYAGO *et al.*, 2013).

A presença de compostos fenólicos, incluindo os flavonoides na composição desses extratos justifica essa atividade biológica. Ademais o estudo químico dos extratos mencionados possibilitou o isolamento e caracterização de metabólitos pertencentes às referidas classes.

3.2.2 Avaliação da atividade citotóxica *in vitro* de BA-5, BA-7, BA-8, BA-9, BA-10 e BA-11 frente a linhagens de células cancerígenas

As substâncias **BA-5** (2-hidróxi-2,3,5-trimetoxibibenzila), **BA-7** (pacharina), **BA-8** (bauhiniastatina 1), **BA-9** [(2*R*,3*S*)-2-(3',4'-diidroxifenil)-cromano-3,7-diol], **BA-10** [2*R*, 3*S*-2-(3,4-diidroxifenil)-5-metoxicromano-3,7-diol] e **BA-11** [2*R*, 3*S*-2-(3,4-diidroxifenil)-5-metóxi-6-metilcromano-3,7-diol] foram submetidas à avaliação da atividade citotóxica (item 4. 6. 2. 1, p.198). Somente **BA-5** (2-hidróxi-2,3,5-trimetoxibibenzila), **BA-7** (pacharina) e **BA-8** (bauhiniastatina 1) apresentaram atividade citotóxica significativa, de acordo com a Tabela 28.

Tabela 28 – Concentração inibitória 50% (CI₅₀) e intervalo de confiança (IC) das amostras testadas em HCT116 (carcinoma de cólon), SF295 (glioblastoma), OVCAR (carcinoma de ovário), MCF-7 (carcinoma de mama), NCIH292 (carcinoma de pulmão) e HL60 (leucemia promielocítica)

| Amostras | HCT116 | SF295 | OVCAR | MCF-7 | NCIH292 | HL60 |
|--------------|-----------------------------------|------------------|------------------|----------------|---------------------|----------------|
| | CI₅₀ µg/mL (IC) | | | | | |
| BA-5 | 6,9 5,7 – 8,2 | 10,9 7,8-15,0 | 11,7 7,4-18,5 | >25 | 16,6 10,2 – 27,2 | 5,6 4,5-6,9 |
| BA-7 | 5,2 4,4-6,2 | 3,9 2,9-5,3 | 6,3 5,0-8,2 | 5,4 4,0-7,2 | 3,0 2,6-3,4 | 2,2 2,0-2,4 |
| BA-8 | 7,3 6,4-8,2 | 6,0 3,5-10,5 | 6,5 5,3-7,9 | 6,2 4,1-9,3 | 3,1 2,7-3,6 | 2,9 2,2-3,7 |
| BA-9 | nt | nt | nt | >25 | >25 | nt |
| BA-10 | >25 | >25 | >25 | >25 | >25 | nt |
| BA-11 | >25 | >25 | >25 | >25 | >25 | nt |

Conforme citado anteriormente, **BA-5**, isolado do extrato etanólico das raízes de *Bauhinia acuruana*, é um composto pertencente à classe dos bibenzis que

está sendo descrito pela primeira vez na literatura. Diversas atividades biológicas são atribuídas aos bibenzis e dentre elas a atividade citotóxica (DU *et al.*, 2014, XIAO-KU *et al.*, 2013; FA-WU *et al.*, 2013; YANG *et al.*, 2013; THANAWUTH; BOOCHOO; KITTISAK, 2012; ISMIARNI *et al.*, 2011; YUELONG *et al.*, 2011; CHAO-FENG *et al.*, 2008). É válido salientar que bibenzis com atividade citotóxica também foram isolados e caracterizados de espécies do gênero *Bauhinia* (KITTAKOOP *et al.*, 2000; APISANTIYAKOM *et al.*, 2004; BOOPHONG *et al.*, 2007). Estes registros e os anteriores confirmam a ação citotóxica de **BA-5**.

BA-7 e **BA-8**, derivados oxepínicos isolados do extrato etanólico das raízes de *B. acuruana* já foram avaliados quanto à sua ação citotóxica sobre as linhagens P388 (células leucêmicas de rato), BXPC-3 (células de câncer de pâncreas humano), MCF-7 (células de carcinoma de mama humana), SF268 (células de câncer de sistema nervoso central humano), NCI-H460 (células de carcinoma de pulmão humano), KM20L2 (células de carcinoma de cólon humano) e DU-145 (células de câncer de próstata humana) e apresentaram resultados satisfatórios (PETTIT *et al.*, 2006).

3.2.3 Avaliação da atividade larvicida de BA-7 sobre *Aedes aegypti*

Sabendo-se que a utilização de compostos naturais e de seus derivados sintéticos tem sido largamente empregada como inseticidas e/ou larvicidas, decidiu-se avaliar a atividade de BA-7 (pacharina) sobre larvas de terceiro estágio de *Aedes aegypti*. BA-7 (pacharina) apresentou um valor de CL₅₀ igual a 78,9 ± 1,8 µg/mL (GOIS *et al.*, 2013). Este resultado é considerado satisfatório, uma vez que de acordo com a literatura, amostras apresentando valores de CL₅₀ menores do que 100 µg/mL podem ser consideradas ativas e constituem bons agentes larvicidas (CHENG *et al.*, 2003). Esse estudo, portanto, tem caráter inédito no que se refere à utilização de um metabólito secundário isolado de uma espécie do gênero *Bauhinia* com atividade larvicida sobre *Aedes aegypti*, além de contribuir para estudos posteriores, no sentido de isolar e caracterizar outros compostos pertencentes à mesma classe de pacharina ou a outras classes de metabólitos secundários e avaliá-los quanto ao seu potencial larvicida.

Relacionado ao gênero *Bauhinia*, a literatura registra a composição e a atividade larvicida sobre *Aedes aegypti* do óleo essencial das folhas de *B. acuruana* (GOIS *et al.*, 2011).

PARTE EXPERIMENTAL

4 PARTE EXPERIMENTAL

4.1 Material vegetal

Foram realizadas duas diferentes coletas do material botânico no município de Tianguá-CE. A primeira coleta foi realizada em 8 de maio de 2008 pelo Professor Manoel Andrade Neto, enquanto a segunda coleta ocorreu em 4 de junho de 2011 pelo aluno de doutorado em Química Roberto Wagner da Silva Gois. A identificação botânica da espécie em ambas as coletas foi realizada pelo Professor Edson Pereira Nunes do Departamento de Biologia da Universidade Federal do Ceará. As exsiccatas encontram-se depositadas no Herbário Prisco Bezerra da Universidade Federal do Ceará sob os números 42405 e 049268.

4.2 Métodos analíticos

4.2.1 Métodos cromatográficos

Para as cromatografias de adsorção em coluna foram utilizados gel de sílica 60 (Φ mm 0,063–0,200) e gel de sílica (Φ μ m 35-70) para cromatografia *flash*, ambas da Vetec[®]; para a cromatografia de exclusão molecular utilizou-se Sephadex LH-20. As análises cromatográficas em camada delgada foram efetuadas em gel de sílica G60 da Vetec[®] sobre suporte de vidro e em gel de sílica 60 F₂₅₄ sobre alumínio da Silicycle[®]. As revelações das substâncias nas cromatoplasmas analíticas foram realizadas através da exposição das mesmas à irradiação ultravioleta (UV) em dois comprimentos de onda (254 e 365 nm), emitidos por lâmpada modelo VL-4. LC da Vilber Loumart e/ou por imersão em solução de vanilina (C₈H₈O₃) 5g/100 mL de ácido perclórico (HClO₄) 0,75 M/100 mL de etanol, seguido de aquecimento em soprador térmico HL-500, da Steinel à aproximadamente 150 ° C, durante alguns segundos.

Para a cromatografia de adsorção em coluna sob média pressão (*flash*) utilizou-se um sistema adaptado com bomba compressora do fabricante NS Indústria de Aparelhos Médicos Ltda.

Foram utilizados solventes de qualidade PA (Synth) tais como hexano, diclorometano, éter etílico, acetato de etila, acetona e metanol, de forma isocrática

ou em misturas, em ordem crescente de polaridade. A remoção dos solventes dos extratos e das frações resultantes das cromatografias foi realizada em evaporador rotatório BÜCHI Rotavapor R-3, sob pressão reduzida.

4.2.1.2 Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) foi realizada em equipamento da marca SHIMADZU, constituído por três bombas de alta pressão, modelo LC-20AT SHIMADZU[®] e um detector SHIMADZU[®] SPD-M20A. Nas separações foram usadas uma coluna semi-preparativa de fase reversa PHENOMENEX[®] RP-18 (250 x 10 mm, 5 µm). Foram empregados solventes de grau CLAE [MeOH, e H₂O (MILLI-Q[®])] que foram filtrados através de membranas de nylon com poros de 0,45 µm (Phenomex[®]). As amostras foram dissolvidas nas fases móveis empregadas em cada análise e filtradas em membranas com poros de 0,45 µm (Waters[®]).

4.2.3 Métodos físicos de análise orgânica

As análises de espectroscopia na região do infravermelho (IV) e espectrometria de massas de alta resolução (EMS) foram realizadas nos equipamentos do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará.

Os espectros de ressonância magnética nuclear (RMN) das substâncias isoladas foram obtidos em aparelhos pertencentes ao CENAUREMN (Centro Nordestino de Aplicação e Uso da Ressonância Magnética Nuclear), do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará.

4.2.3.1 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho

Estes espectros foram obtidos em espectrômetro Perkin Elmer, modelo FT-IR Spectrum 1000, utilizando pastilhas de brometo de potássio para análise das amostras.

4.2.3.2 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN)

Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN ^1H) e de carbono-13 (RMN ^{13}C) uni e bidimensionais, foram obtidos em espectrômetros Bruker, modelos Avance DRX-500 e DPX-300, operando nas frequências de 500 MHz e 300 MHz para hidrogênio, e de 125 MHz e 75 MHz para carbono-13, respectivamente.

Os solventes utilizados na dissolução das amostras foram clorofórmio deuterado, metanol deuterado e piridina deuterada. Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em partes por milhão (ppm) e referenciados nos espectros de RMN ^1H pelos picos dos hidrogênios pertencentes as moléculas residuais não deuteradas (δ_{H} 7,27), (δ_{H} 3,31) e (δ_{H} 8,74; 7,58; 7,22), respectivamente. Nos espectros de carbono-13, os deslocamentos químicos (δ) foram referenciados pelos picos de carbono-13 (δ_{C} , 77,0), (δ_{C} , 49,2) e (δ_{C} , 150,35; 135,91; 123,87).

As multiplicidades das absorções foram indicadas segundo a convenção: singlete (s), singlete largo (sl), dubleto (d), duplo dubleto (dd) e duplo tripleto (dt).

O padrão de hidrogenação dos carbonos foi determinado através da utilização da técnica DEPT (Distortionless Enhancement by Polarization Transfer), com ângulo de ntação de 135° (CH e CH_3 com amplitude em oposição aos CH_2). Os carbonos não hidrogenados foram caracterizados pela subtração dos sinais espectrais observados no espectro BB (Broad Band).

4.2.3.3 Espectrometria de massas (EM)

Os espectros de massas de alta resolução foram obtidos por ionização por electrospray (ESI) em espectrômetro de massas modelo LCMS-IT-TOF (225-07100-34)-SHIMADZU[®], pertencente ao Laboratório de Espectrometria de Massas do Nordeste (LEMANOR-DQOI/UFC).

4.2.3.4 Ponto de fusão

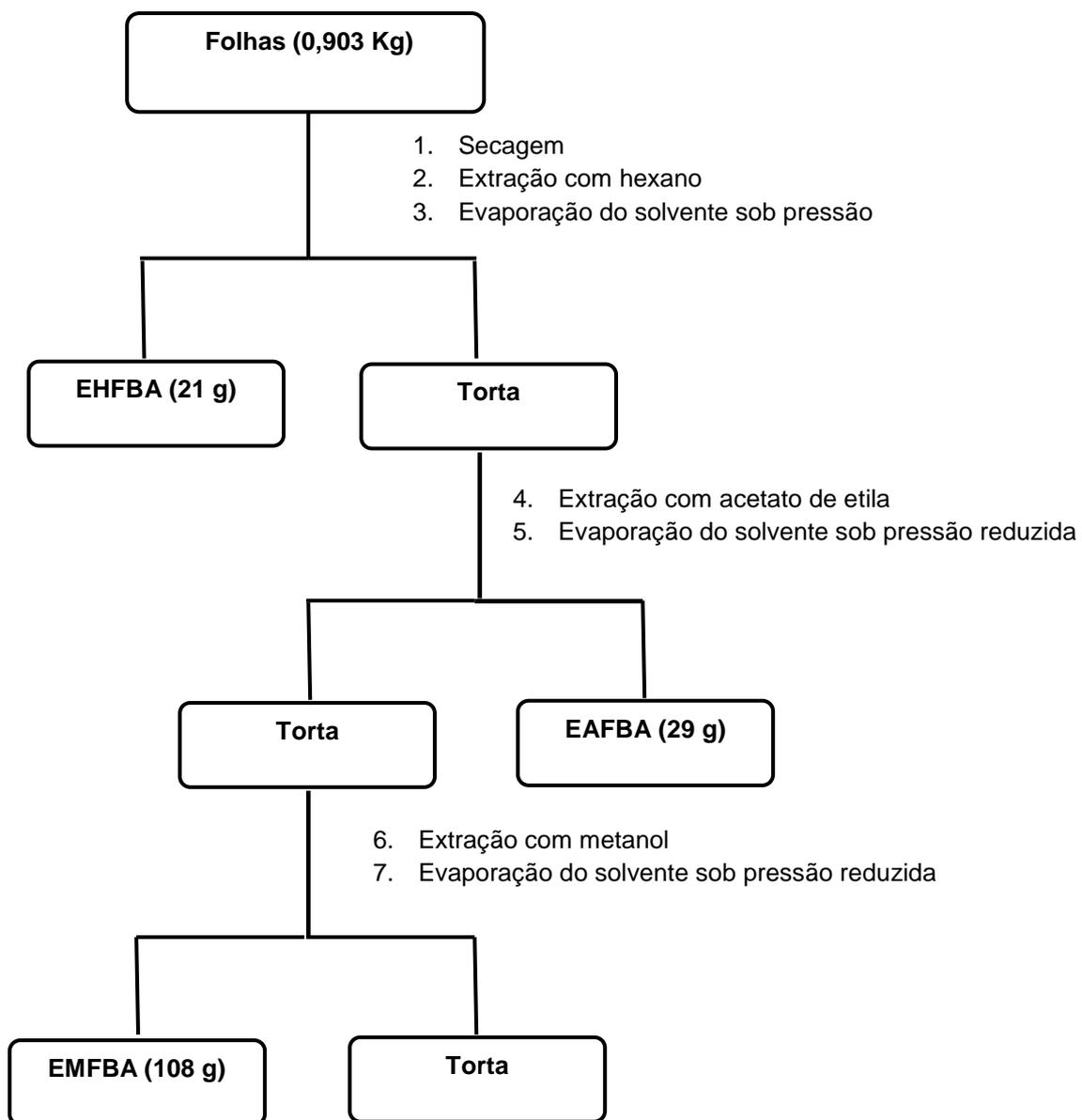
Os pontos de fusão das substâncias isoladas foram determinados em equipamentos de microdeterminação digital da Metler Toledo® com placa aquecedora FP82HT e uma central de processamento FP90. As determinações foram realizadas a uma velocidade de aquecimento de 2 °C/min e não foram corrigidas.

4.2.3.5 Rotação óptica específica

As rotações ópticas foram determinadas em um polarímetro Perkin Elmer modelo P-2000 do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará. As medidas foram expressas utilizando a notação $[\alpha]_D^T$ onde “D” é a raia D da luz monocromática de sódio de comprimento de onda igual a 589 nm e T é a temperatura, em °C, na qual foi realizada a medida. Para dissolução das amostras utilizou-se clorofórmio (CHCl₃) e metanol (CH₃OH).

4.3 Estudo dos constituintes fixos de *Bauhinia acuruana* Moric. (1^a coleta)

As folhas de *B. acuruana* (0,903 Kg) procedentes da primeira coleta foram secas à temperatura ambiente e posteriormente trituradas e em seguida, foram submetidas à extração a frio, com hexano, em seguida com acetato de etila e com metanol (Fluxograma 1). No processo de extração foram utilizados 5 L de cada um dos solventes citados, durante um período de três dias. Após sucessivas extrações com os solventes citados, os extratos obtidos foram concentrados por destilação sob pressão reduzida, resultando na obtenção de 21,0 g de extrato em hexano (EHFBA), 29,0 g de extrato em acetato de etila (EAFBA) e 108,0 g de extrato em metanol (EMFBA).

Fluxograma 1 – Obtenção dos extratos das folhas de *B. acuruana*

4.3.1 Fracionamento cromatográfico de EHFBA

Uma fração do extrato EHFBA (16 g) foi submetido a uma coluna filtrante sob pressão reduzida, utilizando-se 217 g de gel de sílica, em uma coluna (L = 6,2 cm e Φ = 8,0 cm). Foram utilizados hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol puros, como eluentes. As frações (1000 mL) tiveram seus solventes evaporados sob pressão reduzida, resultando nas frações mostradas na Tabela 29.

Tabela 29 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EHFBA

| FRAÇÕES | ELUENTE |
|---------|------------------|
| 1 | Hexano |
| 2 | Diclorometano |
| 3 | Acetato de etila |
| 4 | Metanol |

Após análise por cromatografia em camada delgada (CCD) as frações foram reunidas de acordo com a Tabela 30.

Tabela 30 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EHFBA

| FRAÇÕES | MASSA (g) | RENDIMENTO (%) |
|--------------|----------------|----------------|
| 1 | 9,2676 | 57,92 |
| 2 | 4,2833 | 26,77 |
| 3 | 0,9458 | 5,91 |
| 4 | 0,1294 | 0,81 |
| TOTAL | 14,6261 | 91,41 |

4.3.1.2 Fracionamento cromatográfico de EHFBA (1)

A fração EHFBA (1) (9,2676 g) obtida do fracionamento cromatográfico de EHFBA descrito no item 4. 3. 1 (p.148) foi submetida a uma coluna cromatográfica (L = 27,3 cm e Φ = 6,4 cm) de gel de sílica (505 g), eluída com hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol em ordem crescente de polaridade de acordo com os dados descritos na Tabela 31. Foram coletadas frações de 10 mL

Tabela 31 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EHFBA (1)

| FRAÇÕES | ELUENTE |
|----------------|--|
| 1 a 18 | Hexano |
| 19 a 27 | Hexano : Diclorometano (90 : 10) |
| 28 a 38 | Hexano : Diclorometano (80 : 20) |
| 39 a 48 | Hexano : Diclorometano (70 : 30) |
| 49 a 63 | Hexano : Diclorometano (50 : 50) |
| 64 a 78 | Diclorometano |
| 79 a 92 | Diclorometano : Acetato de etila (80 : 20) |
| 93 a 109 | Diclorometano : Acetato de etila (70 : 30) |
| 110 a 117 | Diclorometano : Acetato de etila (50 : 50) |
| 118 a 120 | Acetato de etila |
| 121 a 128 | Metanol |

Após análise por cromatografia em camada delgada (CCD) foi possível verificar o perfil cromatográfico das frações e reuni-las, conforme mostrado na Tabela 32.

Tabela 32 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EHFBA (1)

| FRAÇÕES | MASSA (g) | RENDIMENTO (%) |
|----------------|------------------|-----------------------|
| 1 a 22 | 0,0000 | 0,00 |
| 23 a 34 | 0,0616 | 0,67 |
| 35 a 45 | 0,0549 | 0,59 |
| 46 a 58 | 2,8768 | 31,04 |
| 59 a 67 | 0,2589 | 2,79 |
| 68 a 75 | 0,1658 | 1,79 |
| 76 a 88 | 0,3214 | 3,47 |
| 89 a 105 | 0,1200 | 1,30 |
| 106 a 118 | 0,1450 | 1,57 |
| 119 a 127 | 1,1864 | 12,80 |
| 128 | 0,1621 | 1,75 |
| TOTAL | 5,3529 | 57,77 |

4.3.1.3 Fracionamento cromatográfico de EHFBA (1) (46 a 58)

A fração EHFBA (1) (46 a 58) (2,8768 g) obtida do fracionamento cromatográfico de EHFBA (1) descrito no item 4. 3. 1. 2 (p. 148) foi submetida a uma coluna cromatográfica (L = 23,2 cm e Φ = 5,5 cm) de gel de sílica (315 g), eluída com hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol em ordem crescente de polaridade de acordo com os dados descritos na Tabela 33.

Tabela 33 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EHFBA (1) (46 a 58)

| FRAÇÕES | ELUENTE |
|-----------|--|
| 1 a 10 | Hexano |
| 11 a 45 | Hexano : Diclorometano (90 : 10) |
| 46 a 85 | Hexano : Diclorometano (80 : 20) |
| 86 a 104 | Hexano : Diclorometano (70 : 30) |
| 105 a 138 | Hexano : Diclorometano (50 : 50) |
| 139 a 161 | Hexano : Diclorometano (40 : 60) |
| 162 a 172 | Hexano : Diclorometano (30 : 70) |
| 173 a 191 | Hexano : Diclorometano (20 : 80) |
| 192 a 210 | Diclorometano |
| 211 a 221 | Diclorometano : Acetato de etila (90 : 10) |
| 222 a 232 | Diclorometano : Acetato de etila (80 : 20) |
| 233 a 243 | Diclorometano : Acetato de etila (70 : 30) |
| 244 a 263 | Diclorometano : Acetato de etila (50 : 50) |
| 264 a 277 | Acetato de etila |
| 278 | Metanol |

Após análise por cromatografia em camada delgada (CCD) as frações (10 mL) foram reunidas de acordo com a Tabela 34 (p. 151).

Tabela 34 – Dados referentes ao fracionamento de EHFBA (1) (46 a 58)

| FRAÇÕES | MASSA (g) | RENDIMENTO (%) |
|----------------|------------------|-----------------------|
| 1 a 7 | 0,0146 | 0,51 |
| 8 a 13 | 0,0180 | 0,63 |
| 14 a 21 | 0,0514 | 1,79 |
| 22 a 57 | 0,3701 | 12,87 |
| 58 a 66 | 0,3364 | 11,69 |
| 67 a 183 | 1,5164 | 52,71 |
| 184 a 278 | 0,2547 | 8,85 |
| TOTAL | 2,5616 | 89,05 |

4.3.1.4 Fracionamento cromatográfico de EHFBA (1) (46 a 58)(67 a 183)

A fração EHFBA (1) (46 a 58) (67 a 183) (1,5164 g) resultante do fracionamento cromatográfico de EHFBA (1) (46 a 58) descrito no item 4. 3. 1. 3 (p. 150) foi submetida a uma coluna cromatográfica (L = 23,0 cm e Φ = 5,5 cm) de gel de sílica (205 g), eluída com hexano e acetato de etila em ordem crescente de polaridade de acordo com os dados descritos na Tabela 35.

Tabela 35 – Dados referentes ao fracionamento de EHFBA (1) (46 a 58) (67 a 183)

| FRAÇÕES | ELUENTE |
|----------------|-------------------------------------|
| 1 a 33 | Hexano |
| 34 a 190 | Hexano : Acetato de etila (98 : 2) |
| 191 a 201 | Hexano : Acetato de etila (95 : 5) |
| 202 a 249 | Hexano : Acetato de etila (95 : 10) |
| 250 | Acetato de etila |

Após análise por cromatografia em camada delgada (CCD) as frações foram reunidas de acordo com a Tabela 36 (p. 152).

Tabela 36 – Dados referentes ao fracionamento de EHFBA (1) (46 a 58) (67 a 183)

| FRAÇÕES | MASSA (g) | RENDIMENTO (%) |
|----------------|------------------|-----------------------|
| 1 a 67 | 0,0137 | 0,90 |
| 68 a 94 | 0,0031 | 0,20 |
| 95 a 110 | 0,0590 | 3,89 |
| 111 a 128 | 0,0406 | 2,68 |
| 129 a 140 | 0,0158 | 1,04 |
| 141 a 175 | 0,2795 | 18,43 |
| 176 a 222 | 0,4135 | 27,27 |
| 223 a 239 | 0,1651 | 10,89 |
| 240 a 249 | 0,0305 | 2,01 |
| 250 | 0,1945 | 12,83 |
| TOTAL | 1,2153 | 80,14 |

4.3.1.5 Fracionamento cromatográfico de EHFBA (1) (46 a 58) (67 a 183)(141 a 175)

A fração EHFBA (1) (46 a 58) (67 a 183) (141 a 175) (0,2795 g) obtida do fracionamento cromatográfico de EHFBA (1) (46 a 58) (67 a 183) descrito no item 4.3.1.4 (p. 151) foi submetida a uma coluna cromatográfica (L = 12,0 cm e Φ = 2,0 cm) de gel de sílica (112 g), eluída com hexano e acetato de etila em ordem crescente de polaridade de acordo com os dados descritos na Tabela 37.

Tabela 37 – Dados referentes ao fracionamento de EHFBA (1) (46 a 58) (67 a 183) (141 a 175)

| FRAÇÕES | ELUENTE |
|----------------|------------------------------------|
| 1 a 37 | Hexano |
| 38 a 413 | Hexano : Acetato de etila (99 : 1) |
| 414 a 417 | Acetato de etila |

Após análise por cromatografia em camada delgada (CCD) as frações foram reunidas de acordo com a Tabela 38.

Tabela 38 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EHFBA (1) (46 a 58) (67 a 183) (141 a 175)

| FRAÇÕES | MASSA (g) | RENDIMENTO (%) |
|--------------|---------------|----------------|
| 1 a 89 | 0,0000 | 0,00 |
| 90 a 108 | 0,0221 | 7,91 |
| 109 a 185 | 0,0530 | 18,96 |
| 186 a 242 | 0,0395 | 14,13 |
| 243 a 370 | 0,0128 | 4,58 |
| 371 a 413 | 0,0083 | 2,97 |
| 414 a 417 | 0,0042 | 1,50 |
| TOTAL | 0,1399 | 50,05 |

4.3.1.6 Fracionamento cromatográfico de EHFBA (1) (46 a 58) (67 a 183)(141 a 175) (186 a 242) e isolamento de BA-1

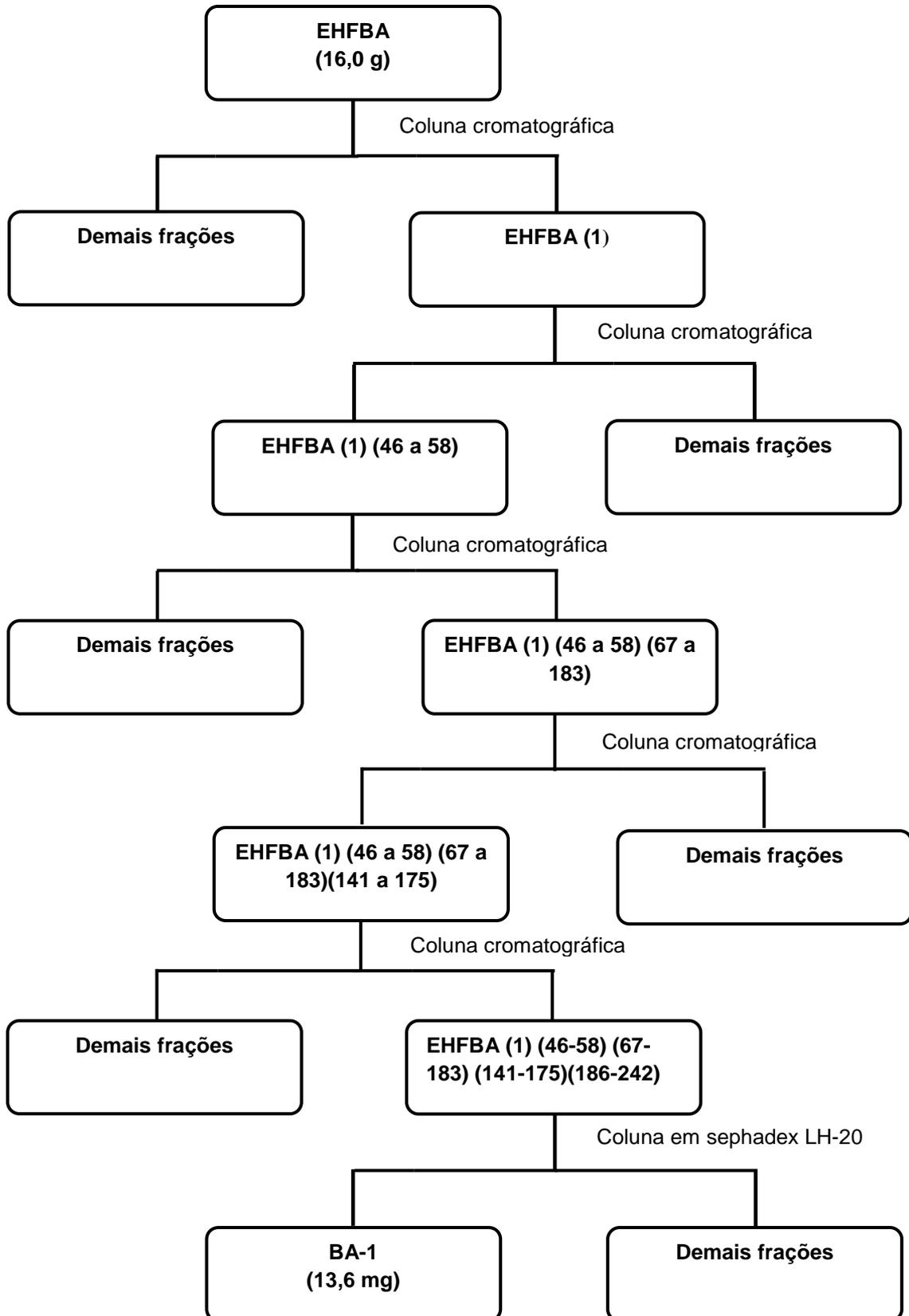
A fração EHFBA (1) (46 a 58) (67 a 183) (141 a 175) (186 a 242) (0,0395 g) obtida do fracionamento cromatográfico de EHFBA (1) (46 a 58) (67 a 183) (141 a 175) descrito no item 4. 3. 1. 5 (p. 152) foi submetida a uma coluna cromatográfica (L = 32,0 cm e Φ = 1,5 cm) em resina sephadex LH-20, eluída com clorofórmio : metanol (50 : 50), sendo obtidas 33 frações.

Após análise por cromatografia em camada delgada (CCD) foi possível verificar o perfil cromatográfico das frações e reuni-las, conforme mostrado na Tabela 39. As frações de 1 a 18 foram descartadas por ausência de material e a fração 28 a 33 apresentou 13,6 mg de um líquido incolor, solúvel em clorofórmio, que foi denominado **BA-1**. O Fluxograma 2 (p. 154) mostra as etapas envolvidas no isolamento de BA-1.

Tabela 39 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EHFBA (1) (46 a 58) (67 a 183) (141 a 175) (186 a 242)

| FRAÇÕES | MASSA (g) | RENDIMENTO (%) |
|--------------|---------------|----------------|
| 1 a 18 | 0,0000 | 0,00 |
| 19 a 22 | 0,0060 | 15,19 |
| 23 a 24 | 0,0030 | 7,59 |
| 25 a 27 | 0,0120 | 30,38 |
| 28 a 33 | 0,0136 | 34,43 |
| TOTAL | 0,0346 | 87,59 |

Fluxograma 2 – Fracionamento cromatográfico de EHFBA (1) e isolamento de BA-1



4.3.2 Fracionamento cromatográfico de EHFBA (2)

A fração EHFBA (2) (4,2833 g) obtida do fracionamento cromatográfico de EHFBA descrito no item 4. 3. 1 (p. 148) foi submetida a uma coluna cromatográfica (L = 18,0 cm e Φ = 5,0 cm) em gel de sílica (257 g), eluída com hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol em ordem crescente de polaridade de acordo com os dados descritos na Tabela 40.

Tabela 40 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EHFBA (2)

| FRAÇÕES | ELUENTE |
|---------|--|
| 1 a 5 | Hexano |
| 6 a 13 | Hexano : Diclorometano (75 : 25) |
| 14 a 18 | Hexano : Diclorometano (50 : 50) |
| 19 a 23 | Diclorometano |
| 24 a 26 | Diclorometano : Acetato de etila (75 : 25) |
| 27 a 30 | Diclorometano : Acetato de etila (50 : 50) |
| 31 a 32 | Acetato de etila |
| 33 a 34 | Acetato de etila : metanol (50 : 50) |
| 35 | Metanol |

Após análise por cromatografia em camada delgada (CCD) foi possível verificar o perfil cromatográfico das frações e reuni-las, conforme mostrado na Tabela 41.

Tabela 41 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EHFBA (2)

| FRAÇÕES | MASSA (g) | RENDIMENTO (%) |
|--------------|---------------|----------------|
| 1 | 0,0000 | 0,00 |
| 2 a 4 | 0,0244 | 0,57 |
| 5 a 16 | 0,2063 | 4,82 |
| 17 a 18 | 0,3141 | 7,33 |
| 19 a 22 | 0,9389 | 21,92 |
| 23 a 25 | 0,3582 | 8,36 |
| 26 a 31 | 0,1856 | 4,33 |
| 32 a 35 | 0,0751 | 1,75 |
| TOTAL | 2,1026 | 49,08 |

4.3.2.1 Fracionamento cromatográfico de EHFBA (2) (19 a 22)

A fração EHFBA (2) (19 a 22) (0,9389 g) obtida do fracionamento cromatográfico de EHFBA (2) descrito no item 4. 3. 2 (p. 155) foi submetida a uma coluna cromatográfica (L = 7,0 cm e Φ = 4,0 cm) em sephadex LH 20, eluída com metanol, sendo obtidas 50 frações.

Após análise por cromatografia em camada delgada (CCD) as frações foram reunidas de acordo com a Tabela 42.

Tabela 42 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EHFBA (2) (19 a 22)

| FRAÇÕES | MASSA (g) | RENDIMENTO (%) |
|--------------|---------------|----------------|
| 1 a 7 | 0,0000 | 0,00 |
| 8 a 13 | 0,2245 | 23,91 |
| 14 a 27 | 0,2517 | 26,81 |
| 28 a 50 | 0,3733 | 39,76 |
| TOTAL | 0,8495 | 90,48 |

4.3.2.2 Fracionamento cromatográfico de EHFBA (2) (19 a 22) (14 a 27)

A fração EHFBA (2) (19 a 22) (14 a 27) (0,2517 g) obtida do fracionamento cromatográfico de EHFBA (2) (19 a 22) descrito no item 4. 3. 2. 1 (p. 156) foi submetida a uma coluna cromatográfica (L = 7,0 cm e Φ = 4,0 cm) em sephadex LH 20, eluída com metanol sendo obtidas 41 frações.

Após análise por cromatografia em camada delgada (CCD) as frações foram reunidas de acordo com a Tabela 43.

Tabela 43 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EHFBA (2) (19 a 22) (14 a 27)

| FRAÇÕES | MASSA (g) | RENDIMENTO (%) |
|--------------|---------------|----------------|
| 1 | 0,0000 | 0,00 |
| 2 a 6 | 0,0085 | 3,38 |
| 7 a 14 | 0,0134 | 5,32 |
| 15 a 22 | 0,2064 | 82,00 |
| 23 a 32 | 0,0171 | 6,79 |
| 33 a 41 | 0,0052 | 2,07 |
| TOTAL | 0,2506 | 99,56 |

4.3.2.3 Fracionamento cromatográfico de EHFBA (2) (19 a 22) (14 a 27) (15 a 22)

A fração EHFBA (2) (19 a 22) (14 a 27) (15 a 22) (0,2064 g) obtida do fracionamento cromatográfico de EHFBA (2) (19 a 22) (14 a 27) descrito no item 4. 3. 2. 2 (p. 156) foi submetida a uma coluna cromatográfica (L = 18,0 cm e Φ = 2,0 cm) sob média pressão, utilizando-se 40,21 g de gel de sílica como adsorvente e hexano e acetato de etila como eluentes, conforme os dados mostrados na Tabela 44.

Tabela 44 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EHFBA (2) (19 a 22) (14 a 27) (15 a 22)

| FRAÇÕES | ELUENTE |
|---------|-------------------------------------|
| 1 a 105 | Hexano : Acetato de etila (80 : 20) |
| 106 | Hexano : Acetato de etila (50 : 50) |
| 107 | Acetato de etila |

Após análise por cromatografia em camada delgada (CCD) as frações foram reunidas de acordo com a Tabela 45 .

Tabela 45 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EHFBA (2) (19 a 22) (14 a 27) (15 a 22)

| FRAÇÕES | MASSA (g) | RENDIMENTO (%) |
|--------------|---------------|----------------|
| 1 a 47 | 0,0000 | 0,00 |
| 48 a 52 | 0,0156 | 7,56 |
| 53 a 55 | 0,0702 | 34,01 |
| 56 a 63 | 0,0183 | 8,87 |
| 64 a 107 | 0,0303 | 14,68 |
| TOTAL | 0,1344 | 65,12 |

4.3.2.4 Fracionamento cromatográfico de EHFBA (2) (19 a 22) (14 a 27) (15 a 22)(48 a 52)

A fração EHFBA (2) (19 a 22) (14 a 27) (15 a 22) (48 a 52) (0,0156 g) obtida do fracionamento cromatográfico de EHFBA (2) (19 a 22) (14 a 27) (15 a 22) descrito no item 4. 3. 2. 3 foi submetida a uma coluna cromatográfica (L = 28,5 cm e Φ = 1,5 cm) sob média pressão, utilizando-se 18,0 g de gel de sílica, eluída com hexano e acetato de etila (80 : 20), resultando em 133 frações que após análise por

cromatografia em camada delgada foram reunidas de acordo com os dados da Tabela 46.

Tabela 46 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EHFBA (2) (19 a 22) (14 a 27) (15 a 22) (48 a 52)

| FRAÇÕES | MASSA (g) | RENDIMENTO (%) |
|----------------|------------------|-----------------------|
| 1 a 39 | 0,0000 | 0,00 |
| 40 a 44 | 0,0032 | 20,51 |
| 45 a 50 | 0,0046 | 29,49 |
| 51 a 54 | 0,0021 | 13,46 |
| 55 a 62 | 0,0026 | 16,67 |
| 63 a 133 | 0,0030 | 19,23 |
| TOTAL | 0,0155 | 99,36 |

4.3.2.5 Fracionamento cromatográfico de EHFBA (2) (19 a 22) (14 a 27) (15 a 22) (48 a 52) (40 a 62) e isolamento de BA-2

A fração EHFBA (2) (19 a 22) (14 a 27) (15 a 22) (48 a 52) (40 a 62) obtida do fracionamento cromatográfico de EHFBA (2) (19 a 22) (14 a 27) (15 a 22) (48 a 52) (0,0125 g) descrito no item 4. 3. 2. 4 (p. 157) foi submetida a uma coluna cromatográfica (L = 26 cm e Φ = 0,9 cm) sob média pressão, utilizando-se 7,6 g de gel de sílica, eluída com hexano e acetato de etila (80 : 20), resultando em 62 frações que após análise por cromatografia em camada delgada foram reunidas de acordo com os dados da Tabela 47.

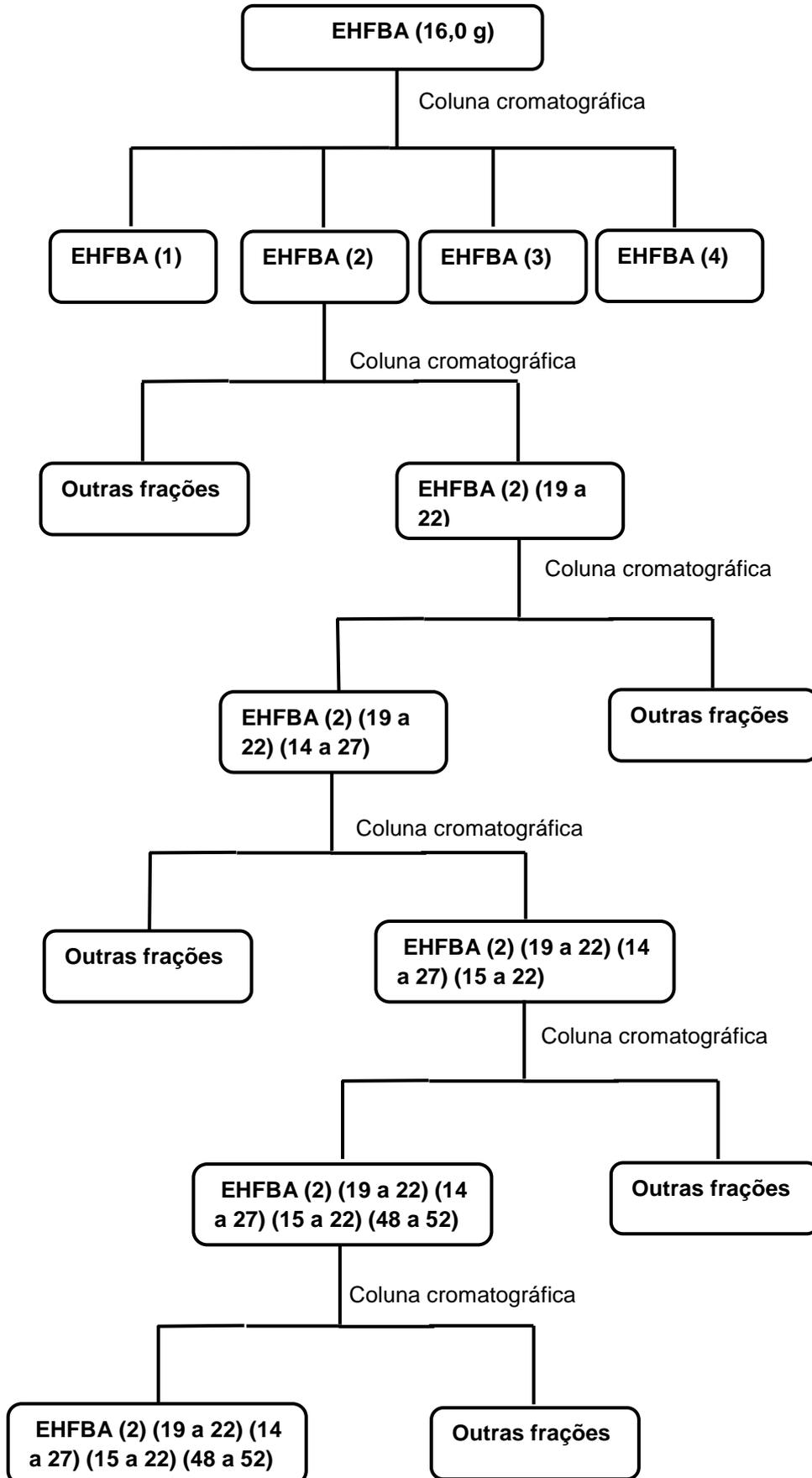
Tabela 47 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EHFBA (2) (19 a 22) (14 a 27) (15 a 22) (48 a 52) (40 a 62)

| FRAÇÕES | MASSA (g) | RENDIMENTO (%) |
|----------------|------------------|-----------------------|
| 1 a 12 | 0,0000 | 0,00 |
| 13 a 24 | 0,0077 | 61,60 |
| 25 a 62 | 0,0042 | 33,60 |
| TOTAL | 0,0119 | 95,20 |

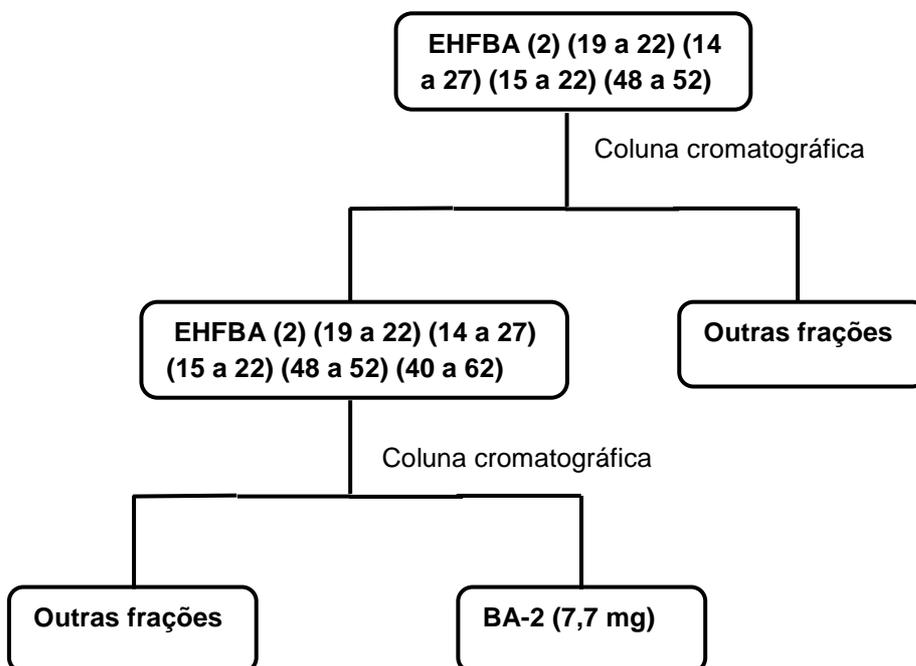
Após análise por cromatografia em camada delgada (CCD) foi possível verificar o perfil cromatográfico das frações e reuni-las, conforme mostrado na Tabela 46. As frações de 1 a 12 foram descartadas por ausência de material e a fração 13 a 24 apresentou 7,7 mg de um líquido incolor, solúvel em clorofórmio, que

foi denominado **BA-2**. As etapas do isolamento de BA-2 estão mostradas no fluxograma 3 (p. 160).

Fluxograma 3 – Fracionamento cromatográfico de EHFBA (2) e isolamento de BA-2 continua



Fluxograma 3 – Fracionamento cromatográfico de EHFBA (2) e isolamento de BA-2 conclusão



4.3.3 Fracionamento cromatográfico de EAFBA

O extrato EAFBA (29,0 g) foi submetido à cromatografia em coluna, utilizando 600,0 g de gel de sílica, em uma coluna (L = 15,5 cm e Φ = 9,3 cm). Foram utilizados hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol em ordem crescente de polaridade. As frações obtidas tiveram seus solventes evaporados sob pressão reduzida, resultando nas frações mostradas na Tabela 48.

Tabela 48 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EAFBA

| FRAÇÕES | ELUENTE |
|---------|--|
| 1 a 2 | Hexano |
| 3 a 6 | Hexano : Diclorometano (50 : 50) |
| 7 a 11 | Diclorometano |
| 11 a 19 | Diclorometano : Acetato de etila (50 : 50) |
| 20 a 22 | Acetato de etila |
| 23 a 24 | Metanol |

Após análise por cromatografia em camada delgada (CCD), as frações foram reunidas de acordo com a Tabela 49.

Tabela 49 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EAFBA

| FRAÇÕES | MASSA (g) | RENDIMENTO (%) |
|--------------|----------------|----------------|
| 1 a 3 | 0,0000 | 0,00 |
| 4 a 7 | 1,7630 | 6,08 |
| 8 a 15 | 1,0861 | 3,75 |
| 16 a 19 | 3,7597 | 12,96 |
| 20 a 21 | 3,2876 | 11,34 |
| 22 | 0,6308 | 2,18 |
| 23 | 13,5700 | 46,79 |
| 24 | 0,0877 | 0,30 |
| TOTAL | 24,1849 | 83,40 |

4.3.3.1 Fracionamento cromatográfico de EAFBA (23)

A fração EAFBA (23) (13,5700 g) obtida do fracionamento cromatográfico de EAFBA descrito no item 4. 3. 3 (p. 162) foi submetida a uma coluna cromatográfica (L = 16,0 cm e Φ = 5,0 cm) de gel de sílica, utilizando 232,0 g de gel de sílica, eluída com hexano, diclorometano, acetato de etila, acetona e metanol em ordem crescente de polaridade de acordo com os dados descritos na Tabela 50.

Tabela 50 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EAFBA (23)

| FRAÇÕES | ELUENTE |
|---------|--|
| 1 a 2 | Hexano |
| 3 a 4 | Hexano : Diclorometano (50 : 50) |
| 5 | Diclorometano |
| 6 a 11 | Diclorometano : Acetato de etila (75 : 25) |
| 12 a 13 | Diclorometano : Acetato de etila (50 : 50) |
| 14 a 15 | Acetato de etila |
| 16 a 17 | Acetato de etila : Acetona (75 : 25) |
| 18 a 19 | Acetato de etila : Acetona (50 : 50) |
| 20 a 21 | Acetona |
| 22 a 28 | Acetona : Metanol (50 : 50) |
| 29 a 31 | Metanol |

Após análise por cromatografia em camada delgada (CCD) as frações foram reunidas de acordo com a Tabela 51.

Tabela 51 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EAFBA (23)

| FRAÇÕES | MASSA (g) | RENDIMENTO (%) |
|--------------|---------------|----------------|
| 1 a 6 | 0,0000 | 0,00 |
| 7 a 16 | 0,6231 | 4,59 |
| 17 a 18 | 0,3112 | 2,29 |
| 19 a 20 | 0,3042 | 2,24 |
| 21 a 22 | 0,2254 | 1,66 |
| 23 | 0,1625 | 1,20 |
| 24 a 26 | 1,0316 | 7,60 |
| 27 a 31 | 0,1584 | 1,18 |
| TOTAL | 2,8164 | 20,76 |

4.3.3.2 Fracionamento cromatográfico de EAFBA (23) (17 a 18)

A fração EAFBA (23) (17 a 18) (0,3112 g) obtida do fracionamento cromatográfico de EAFBA (23) descrito no item 4. 3. 3. 1 (p. 163) foi submetida a uma coluna cromatográfica (L = 17,0 cm e Φ = 2,0 cm) de gel de sílica (36,46 g), eluída com diclorometano e metanol em ordem crescente de polaridade de acordo com os dados descritos na Tabela 52.

Tabela 52 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EAFBA (23) (17 a 18)

| FRAÇÕES | ELUENTE |
|----------|-----------------------------------|
| 1 a 65 | Diclorometano : Metanol (90 : 10) |
| 66 a 76 | Diclorometano : Metanol (80 : 20) |
| 77 a 86 | Diclorometano : Metanol (70 : 30) |
| 87 a 94 | Diclorometano : Metanol (50 : 50) |
| 95 a 109 | Metanol |

Após análise por cromatografia em camada delgada (CCD), as frações foram reunidas de acordo com a Tabela 53.

Tabela 53 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EAFBA (23) (17 a 18)

| FRAÇÕES | MASSA (g) | RENDIMENTO (%) |
|--------------|---------------|----------------|
| 1 a 5 | 0,0000 | 0,00 |
| 6 a 50 | 0,0234 | 7,52 |
| 51 a 80 | 0,2439 | 78,37 |
| 81 a 89 | 0,0052 | 1,67 |
| 90 a 109 | 0,0148 | 4,76 |
| TOTAL | 0,2873 | 92,32 |

4.3.3.3 Fracionamento cromatográfico de EAFBA (23) (17 a 18) (51 a 80)

A fração EAFBA (23) (17 a 18) (51 a 80) (0,2439 g) obtida do fracionamento cromatográfico de EAFBA (23) (17 a 18) descrito no item 4. 3. 3. 2 foi submetida a uma coluna cromatográfica (L = 14,0 cm e Φ = 2,0 cm) de gel de sílica (27,0 g), eluída com diclorometano e metanol em ordem crescente de polaridade de acordo com os dados descritos na Tabela 54.

Tabela 54 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EAFBA (23) (17 a 18) (51 a 80)

| FRAÇÕES | ELUENTE |
|-----------|-----------------------------------|
| 1 a 57 | Diclorometano : Metanol (97 : 3) |
| 58 a 75 | Diclorometano : Metanol (95 : 5) |
| 76 a 89 | Diclorometano : Metanol (90 : 10) |
| 90 a 104 | Diclorometano : Metanol (85 : 15) |
| 105 a 141 | Diclorometano : Metanol (70 : 30) |
| 142 | Metanol |

Após análise por cromatografia em camada delgada (CCD) as frações foram reunidas de acordo com a Tabela 55.

Tabela 55 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EAFBA (23) (17 a 18) (51 a 80)

| FRAÇÕES | MASSA (g) | RENDIMENTO (%) |
|--------------|---------------|----------------|
| 1 a 55 | 0,0000 | 0,00 |
| 56 a 75 | 0,1050 | 43,05 |
| 76 a 95 | 0,0200 | 8,20 |
| 96 a 118 | 0,0300 | 12,30 |
| 119 a 141 | 0,0120 | 4,92 |
| 142 | 0,0149 | 6,10 |
| TOTAL | 0,1819 | 74,57 |

4.3.3.4 Fracionamento cromatográfico de EAFBA (23) (17 a 18) (51 a 80) (96 a 118) e isolamento de BA-3

A fração EAFBA (23) (17 a 18) (51 a 80) (96 a 118) (0,0300 g) obtida do fracionamento cromatográfico de EAFBA (23) (17 a 18) (51 a 80) descrito no item 4.3.3 (p. 164) foi submetida a uma coluna cromatográfica (L = 17,0 cm e Φ = 2,0 cm) em sephadex LH-20, eluída com metanol, sendo obtido um total de 43 frações.

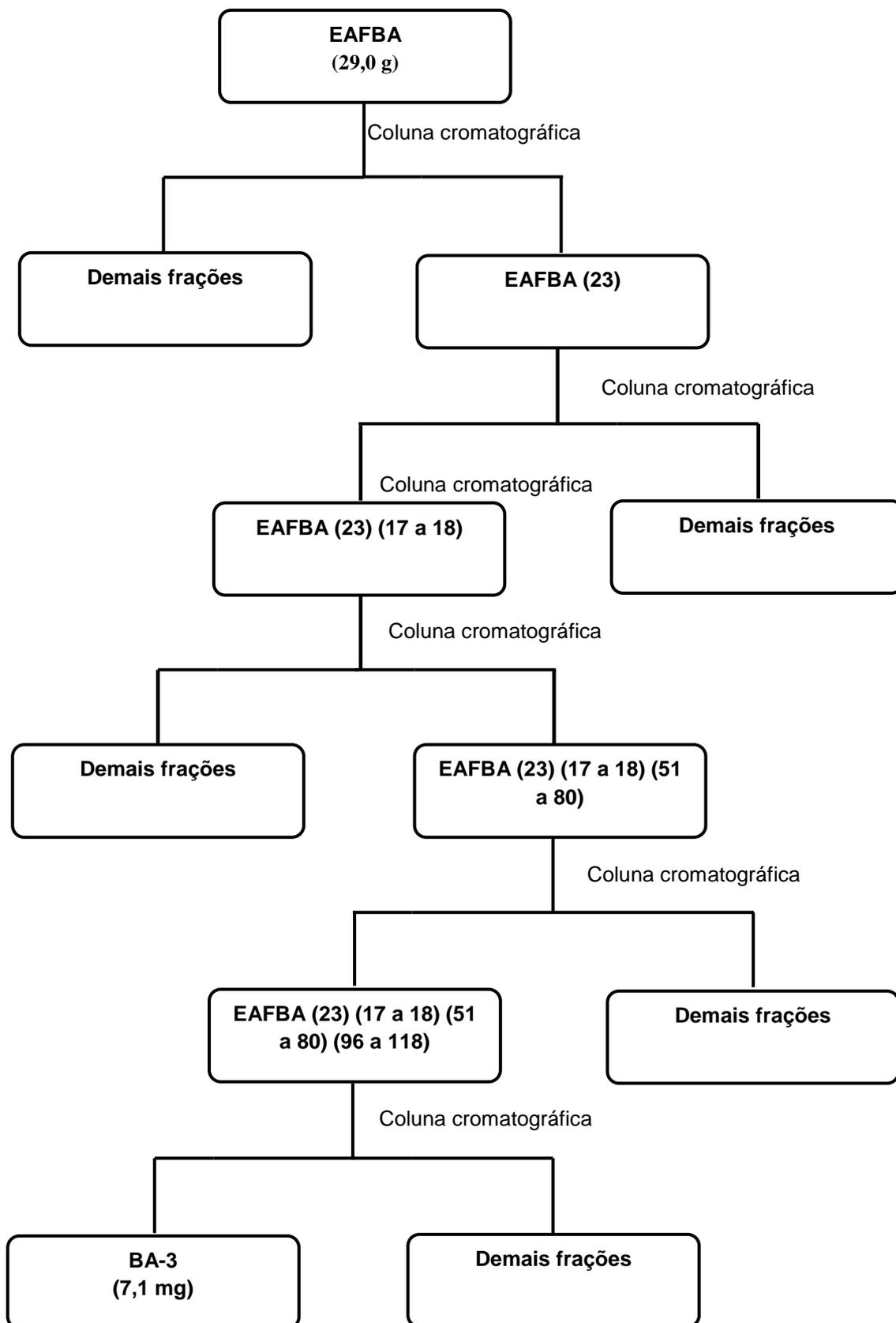
Após análise por cromatografia em camada delgada (CCD) as frações foram reunidas de acordo com a Tabela 56.

Tabela 56 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EAFBA (23) (17 a 18) (51 a 80) (96 a 118)

| FRAÇÕES | MASSA (g) | RENDIMENTO (%) |
|--------------|---------------|----------------|
| 1 a 26 | 0,0000 | 0,00 |
| 27 a 28 | 0,0032 | 10,68 |
| 29 a 35 | 0,0071 | 23,68 |
| 36 a 43 | 0,0180 | 60,00 |
| TOTAL | 0,0283 | 94,33 |

Após análise por cromatografia em camada delgada (CCD) foi possível verificar o perfil cromatográfico das frações e reuni-las, conforme mostrado na Tabela 56. As frações 29 a 35 apresentaram 7,1 mg de um sólido de coloração amarela, solúvel em metanol, que foi denominado **BA-3**. As etapas do isolamento de **BA-3** estão mostrados no Fluxograma 4 (p. 167).

Fluxograma 4 – Fracionamento cromatográfico de EAFBA e isolamento de BA-3



4.3.4 Fracionamento cromatográfico de EAFBA (23) (19 a 20)

A fração EAFBA (23) (19 a 20) (0,3042 g) obtida do fracionamento cromatográfico de EAFBA (23) descrito no item 4. 3. 3. 1 (p. 163) foi submetida a uma coluna cromatográfica (L = 27,5 cm e Φ = 2,0 cm) em gel de sílica (21,29 g), eluída com diclorometano e metanol em mistura binária de acordo com os dados descritos na Tabela 57.

Tabela 57 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EAFBA (23) (19 a 20)

| FRAÇÕES | ELUENTE |
|-----------|-----------------------------------|
| 1 a 71 | Diclorometano : Metanol (90 : 10) |
| 72 a 131 | Diclorometano : Metanol (85 : 15) |
| 132 a 161 | Diclorometano : Metanol (80 : 20) |
| 162 a 193 | Diclorometano : Metanol (70 : 30) |
| 194 a 208 | Diclorometano : Metanol (50 : 50) |
| 209 a 216 | Metanol |

Após análise por cromatografia em camada delgada (CCD) as frações foram reunidas de acordo com a Tabela 58.

Tabela 58 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EAFBA (23) (19 a 20)

| FRAÇÕES | MASSA (g) | RENDIMENTO (%) |
|--------------|---------------|----------------|
| 1 a 24 | 0,0000 | 0,00 |
| 25 a 40 | 0,0005 | 0,16 |
| 41 a 44 | 0,0032 | 1,05 |
| 45 a 55 | 0,0637 | 20,94 |
| 56 a 59 | 0,0022 | 0,72 |
| 60 a 80 | 0,1320 | 43,39 |
| 81 a 88 | 0,0028 | 0,92 |
| 89 a 95 | 0,0154 | 5,06 |
| 96 a 124 | 0,0028 | 0,92 |
| 125 a 140 | 0,0027 | 0,89 |
| 141 a 216 | 0,0720 | 23,67 |
| TOTAL | 0,2973 | 97,72 |

4.3.4.1 Fracionamento cromatográfico de EAFBA (23) (19 a 20) (45 a 55)

A fração EAFBA (23) (19 a 20) (45 a 55) (0,0637 g) obtida do fracionamento cromatográfico de EAFBA (23) (19 a 20) (45 a 55) descrito no item 4.3.4 (p. 168) foi submetida a uma coluna cromatográfica (L = 18,0 cm e Φ = 1,5 cm) em sephadex LH-20, eluída com diclorometano e metanol (80 : 20), obtendo-se 57 frações.

Após análise por cromatografia em camada delgada (CCD), as frações foram reunidas de acordo com a Tabela 59.

Tabela 59 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EAFBA (23) (19 a 20) (45 a 55)

| FRAÇÕES | MASSA (g) | RENDIMENTO (%) |
|--------------|---------------|----------------|
| 1 a 7 | 0,0000 | 0,00 |
| 8 a 27 | 0,0602 | 94,51 |
| 28 a 43 | 0,0015 | 2,35 |
| 44 a 57 | 0,0001 | 0,16 |
| TOTAL | 0,0618 | 97,02 |

4.3.4.2 Fracionamento cromatográfico de EAFBA (23) (19 a 20) (45 a 55) (8 a 27) e isolamento de BA-4

A fração EAFBA (23) (19 a 20) (45 a 55) (8 a 27) (0,0602 g) obtida do fracionamento cromatográfico de EAFBA (23) (19 a 20) (45 a 55) descrito no item 4.3.4.1 foi submetida a uma coluna cromatográfica (L= 46,0 cm e Φ = 1,5 cm) em gel de sílica (6,21 g), eluída com acetato de etila e metanol em ordem crescente de polaridade de acordo com os dados descritos na Tabela 60.

Tabela 60 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EAFBA (23) (19 a 20) (45 a 55) (8 a 27)

| FRAÇÕES | ELUENTE |
|-----------|--------------------------------------|
| 1 a 67 | Acetato de etila : Metanol (95 : 5) |
| 68 a 108 | Acetato de etila : Metanol (90 : 10) |
| 109 a 123 | Acetato de etila : Metanol (80 : 20) |

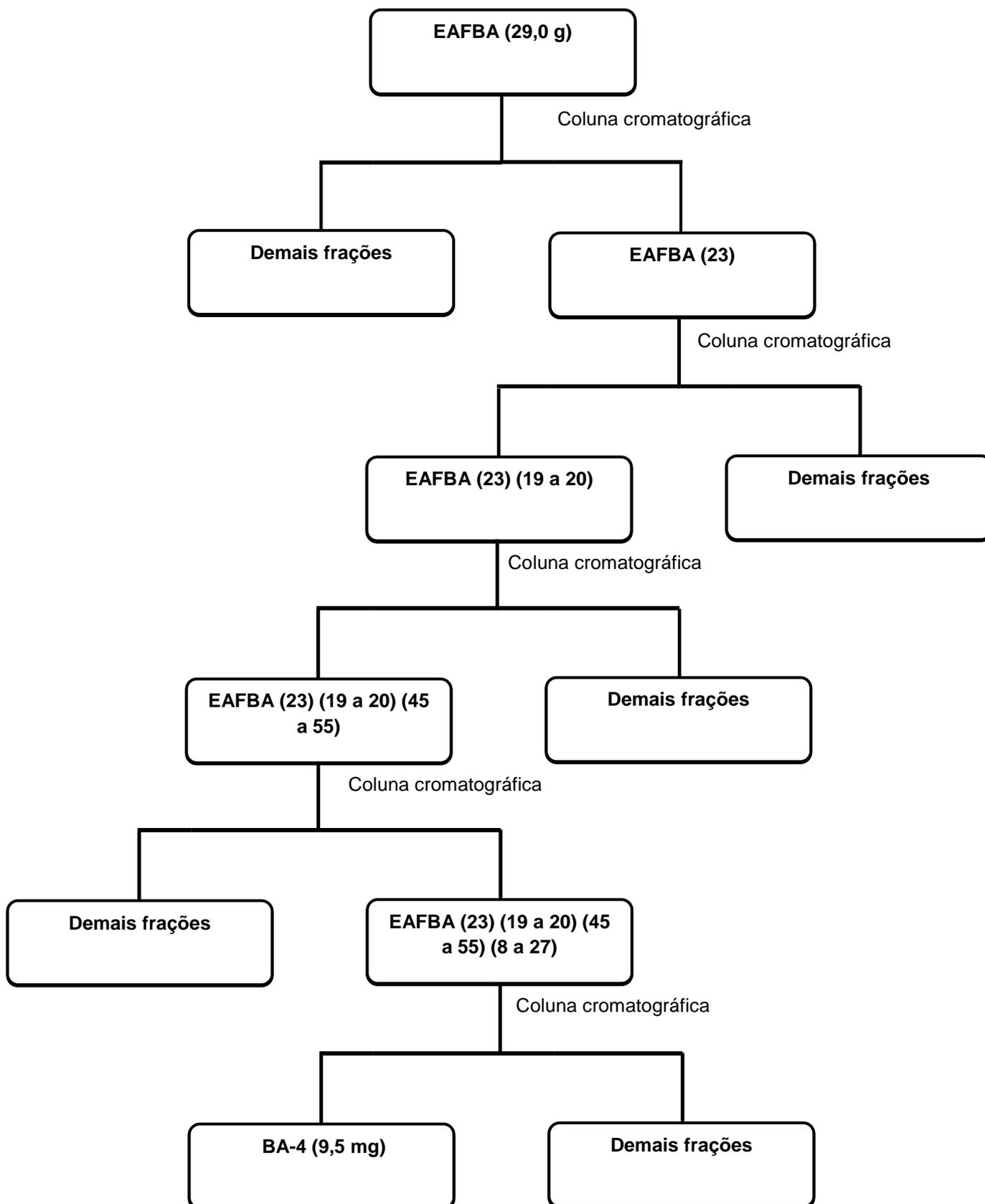
Após análise por cromatografia em camada delgada (CCD) foi possível verificar o perfil cromatográfico das frações e reuni-las, conforme mostrado na

Tabela 61. As frações de 1 a 36 foram descartadas por ausência de material e a fração reunida 37 a 50 apresentou 9,5 mg de um líquido incolor, solúvel em piridina, sendo denominado **BA-4**. As etapas envolvidas no isolamento deste metabolito secundário estão mostradas no Fluxograma 5 (p. 171).

Tabela 61 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EAFBA (23) (19 a 20) (45 a 55) (8 a 27)

| FRAÇÕES | MASSA (g) | RENDIMENTO (%) |
|----------------|------------------|-----------------------|
| 1 a 36 | 0,0000 | 0,00 |
| 37 a 50 | 0,0095 | 15,78 |
| 51 a 83 | 0,0056 | 9,30 |
| 84 a 123 | 0,0044 | 7,31 |
| TOTAL | 0,0195 | 32,39 |

Fluxograma 5 – Fracionamento cromatográfico de EAFBA e isolamento de BA-4



4.4 Estudo dos constituintes fixos das raízes de *Bauhinia acuruana* (2^a coleta)

As raízes de *B. acuruana* (2,122 Kg), procedentes da segunda coleta, foram secas à temperatura ambiente, posteriormente trituradas, e em seguida submetidas à extração a frio com etanol num período de três dias. Após extração exaustiva com o solvente citado, o extrato obtido foi concentrado por destilação sob pressão reduzida, resultando na obtenção de 102,6 g do extrato, que foi denominado EERBA.

4.4.1 Fracionamento cromatográfico de EERBA

O extrato EERBA (102,6 g) foi submetido a uma coluna cromatográfica (L = 17,0 cm e Φ = 9,5 cm) utilizando 830 g de gel de sílica. Foram utilizados hexano, diclorometano, éter etílico, acetato de etila e metanol em ordem crescente de polaridade de acordo com os dados descritos na Tabela 62.

Tabela 62 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EERBA

| FRAÇÕES | ELUENTE |
|---------|---|
| 1 a 2 | Hexano |
| 3 a 10 | Hexano : Diclorometano (50 : 50) |
| 11 a 13 | Diclorometano |
| 14 a 30 | Éter etílico |
| 31 a 35 | Éter etílico : Acetato de etila (50 : 50) |
| 36 a 48 | Acetato de etila |
| 49 a 52 | Acetato de etila : Metanol |
| 53 a 56 | Metanol |

Após análise por cromatografia em camada delgada (CCD) as frações foram reunidas de acordo com a Tabela 63.

Tabela 63 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EERBA

| FRAÇÕES | MASSA (g) | RENDIMENTO (%) |
|--------------|----------------|----------------|
| 1 a 2 | 0,0755 | 0,07 |
| 3 a 6 | 0,5245 | 0,51 |
| 7 a 13 | 1,0831 | 1,06 |
| 14 a 15 | 0,3869 | 0,38 |
| 16 a 18 | 0,7911 | 0,77 |
| 19 a 21 | 1,4706 | 1,43 |
| 22 a 24 | 6,4500 | 6,29 |
| 25 a 40 | 0,8875 | 0,87 |
| 41 a 46 | 2,2278 | 2,17 |
| 47 a 52 | 7,3979 | 7,21 |
| 53 a 56 | 47,2090 | 46,01 |
| TOTAL | 68,5039 | 66,77 |

4.4.2 Fracionamento cromatográfico de EERBA (14 a 15)

A fração EERBA (14 a 15) (0,3869 g) obtida do fracionamento cromatográfico de EERBA descrito no item 4. 4. 1 (p. 172) foi submetida a uma coluna cromatográfica (L = 32,0 cm e Φ = 2,0 cm) de gel de sílica (124,0 g), eluída com hexano, diclorometano e acetato de etila em ordem crescente de polaridade de acordo com os dados descritos na Tabela 64.

Tabela 64 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EERBA (14 a 15)

| FRAÇÕES | ELUENTE |
|-----------|--|
| 1 a 43 | Hexano |
| 44 a 72 | Hexano : Diclorometano (95 : 5) |
| 73 a 93 | Hexano : Diclorometano (90 : 10) |
| 94 a 115 | Hexano : Diclorometano (75 : 25) |
| 116 a 176 | Hexano : Diclorometano (70 : 30) |
| 177 a 214 | Hexano : Diclorometano (50 : 50) |
| 215 a 286 | Diclorometano |
| 287 a 295 | Diclorometano : Acetato de etila (50 : 50) |

Após análise por cromatografia em camada delgada (CCD) foi possível verificar o perfil cromatográfico das frações e reuni-las, conforme mostrado na Tabela 65.

Tabela 65 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EERBA (14 a 15)

| FRAÇÕES | MASSA (g) | RENDIMENTO (%) |
|----------------|------------------|-----------------------|
| 1 a 137 | 0,0000 | 0,00 |
| 138 a 234 | 0,0025 | 0,65 |
| 235 a 285 | 0,3234 | 83,59 |
| 286 a 295 | 0,0589 | 15,22 |
| TOTAL | 0,3848 | 99,46 |

4.4.3 Fracionamento cromatográfico de EERBA (14 a 15) (235 a 285)

A fração EERBA (14 a 15) (235 a 285) (0,3234 g) obtida do fracionamento cromatográfico de EERBA (14 a 15) descrito no item 4. 4. 2 (p. 173) foi submetida a uma coluna cromatográfica (L = 32,0 cm e Φ = 2,0 cm) sob média pressão, utilizando 65,76 g de gel de sílica, eluída com hexano e acetato de etila em ordem crescente de polaridade de acordo com os dados descritos na Tabela 66.

Tabela 66 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EERBA (14 a 15) (235 a 285)

| FRAÇÕES | ELUENTE |
|----------------|-------------------------------------|
| 1 a 136 | Hexano : Acetato de etila (85 : 15) |
| 137 a 176 | Hexano : Acetato de etila (80 : 20) |
| 177 a 217 | Hexano : Acetato de etila (70 : 30) |

Após análise por cromatografia em camada delgada (CCD) foi possível verificar o perfil cromatográfico das frações e reuni-las, conforme mostrado na Tabela 67.

Tabela 67 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EERBA (14 a 15) (235 a 285)

| FRAÇÕES | MASSA (g) | RENDIMENTO (%) |
|--------------|---------------|----------------|
| 1 a 35 | 0,0068 | 2,10 |
| 36 a 41 | 0,0027 | 0,83 |
| 42 a 45 | 0,0042 | 1,30 |
| 46 a 50 | 0,0179 | 5,53 |
| 61 a 70 | 0,0349 | 10,79 |
| 71 a 104 | 0,0365 | 11,29 |
| 105 a 165 | 0,0548 | 16,94 |
| 166 a 170 | 0,0038 | 1,18 |
| 171 a 195 | 0,0097 | 3,00 |
| 196 a 217 | 0,0122 | 3,77 |
| TOTAL | 0,1835 | 56,73 |

4.4.4 Fracionamento cromatográfico de EERBA (14 a 15) (235 a 285) (105 a 165) e isolamento de BA-5

A fração EERBA (14 a 15) (235 a 285) (105 a 165) (0,0548 g) obtida do fracionamento cromatográfico de EERBA (14 a 15) (235 a 285) descrito no item 4. 4. 3 (p. 174) foi submetida a uma coluna cromatográfica (L = 21,0 cm e Φ = 1,0 cm) de gel de sílica (3,29 g), eluída com diclorometano e acetato de etila em ordem crescente de polaridade de acordo com os dados descritos na Tabela 68.

Tabela 68 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EERBA (14 a 15) (235 a 285) (105 a 165)

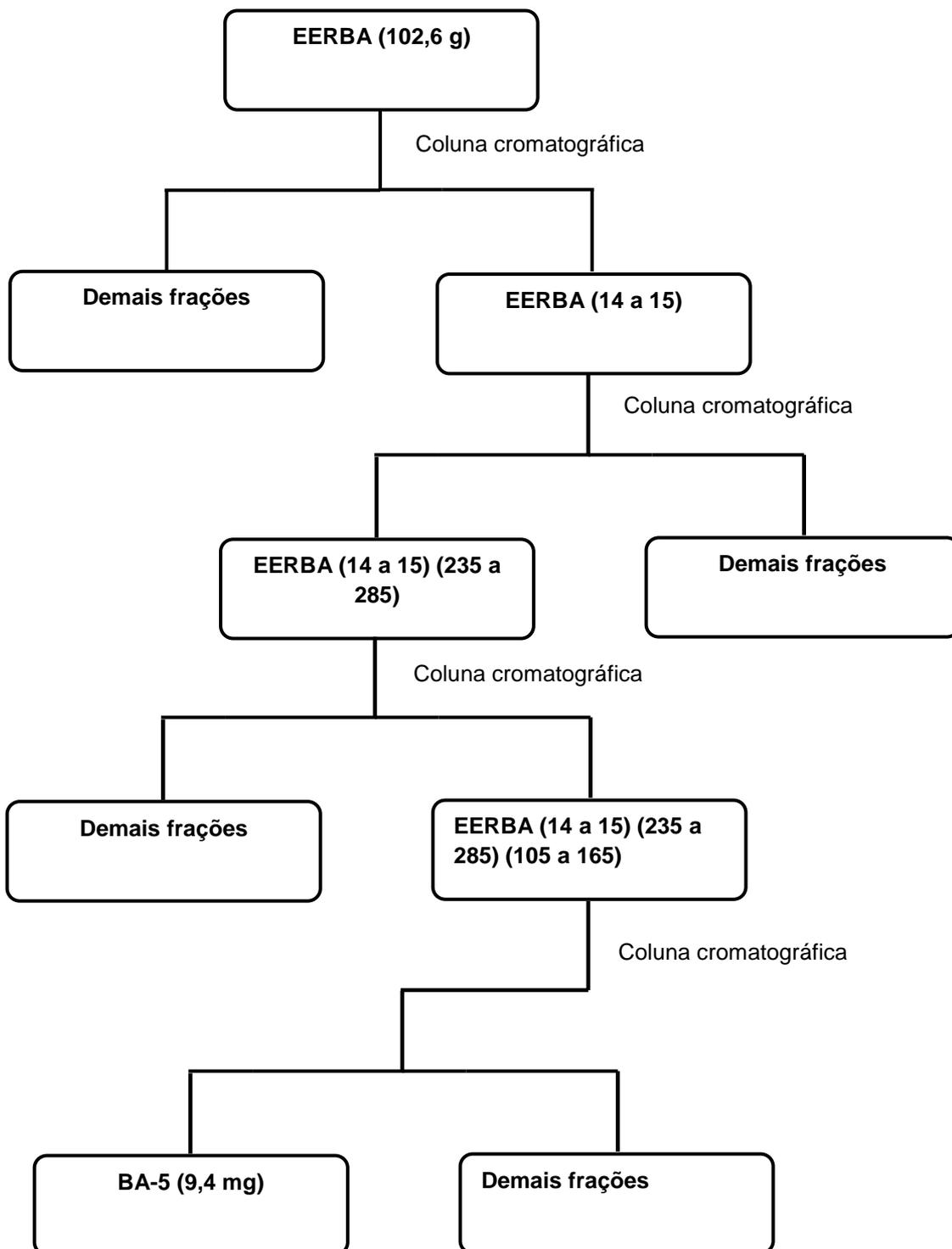
| FRAÇÕES | ELUENTE |
|-----------|--|
| 1 a 112 | Diclorometano |
| 113 a 137 | Diclorometano : Acetato de etila (90 : 10) |

Após análise por cromatografia em camada delgada (CCD) foi possível verificar o perfil cromatográfico das frações e reuni-las, conforme mostrado na Tabela 69. As frações de 40 a 50 apresentaram 9,4 mg de um líquido viscoso de coloração marrom, solúvel em clorofórmio, que foi denominado **BA-5**. As etapas envolvidas no isolamento de **BA-5** estão mostradas no Fluxograma 6 (p. 177).

Tabela 69 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EERBA (14 a 15) (235 a 285) (105 a 165)

| FRAÇÕES | MASSA (g) | RENDIMENTO (%) |
|----------------|------------------|-----------------------|
| 1 a 29 | 0,0031 | 5,66 |
| 30 a 34 | 0,0022 | 4,01 |
| 35 a 39 | 0,0012 | 2,19 |
| 40 a 50 | 0,0094 | 17,15 |
| 51 a 100 | 0,0020 | 3,65 |
| 101 a 137 | 0,0127 | 23,18 |
| TOTAL | 0,0306 | 55,84 |

Fluxograma 6 – Fracionamento cromatográfico de EERBA e isolamento de BA-5



4.4.5 Fracionamento cromatográfico de EERBA (14 a 15) (235 a 285) (71 a 104) e isolamento de BA-6

A fração EERBA (14 a 15) (235 a 285) (71 a 104) (0,0365 g) obtida do fracionamento cromatográfico de EERBA (14 a 15) (235 a 285) descrito no item 4. 4. 3 (p. 174) foi submetida a uma coluna cromatográfica (L = 24,0 cm e Φ = 0,8 cm) de gel de sílica (2,20 g), eluída com diclorometano e acetato de etila em ordem crescente de polaridade de acordo com os dados descritos na Tabela 70.

Tabela 70 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EERBA (14 a 15) (235 a 285) (71 a 104)

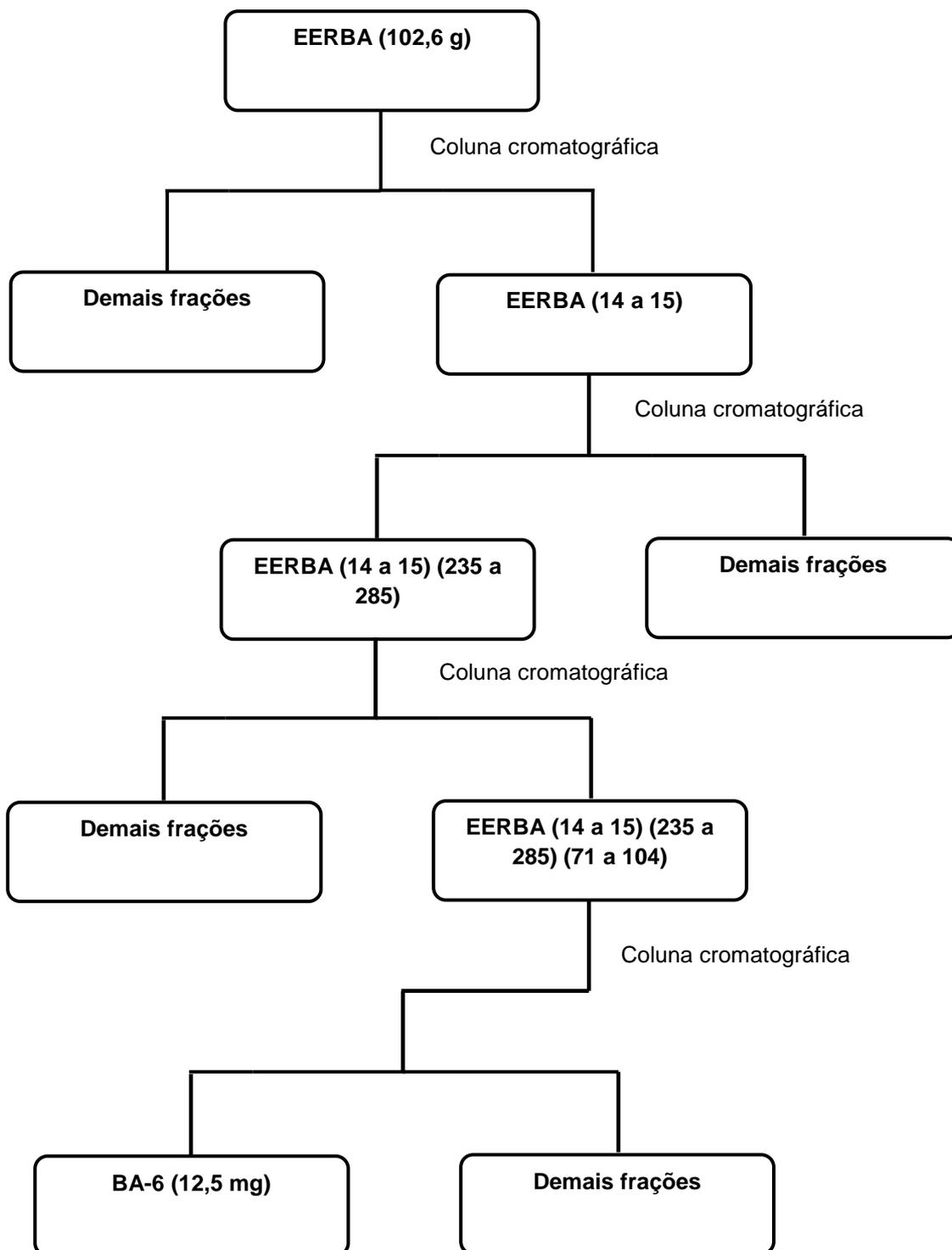
| FRAÇÕES | ELUENTE |
|---------|--|
| 1 a 12 | Diclorometano |
| 13 a 20 | Diclorometano : Acetato de etila (95 : 5) |
| 21 a 36 | Diclorometano : Acetato de etila (90 : 10) |
| 37 a 42 | Diclorometano : Acetato de etila (85 : 15) |

Após análise por cromatografia em camada delgada (CCD) foi possível verificar o perfil cromatográfico das frações e reuni-las, conforme mostrado na Tabela 71. As frações de 7 a 18 apresentaram 12,5 mg de líquido de coloração verde escura, solúvel em clorofórmio, que foi denominado **BA-6**, cujo isolamento está mostrado no Fluxograma 7 (p. 179).

Tabela 71 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EERBA (14 a 15) (235 a 285) (71 a 104)

| FRAÇÕES | MASSA (g) | RENDIMENTO (%) |
|--------------|---------------|----------------|
| 1 a 6 | 0,0088 | 24,11 |
| 7 a 18 | 0,0125 | 34,25 |
| 19 a 34 | 0,0032 | 8,77 |
| 35 a 42 | 0,0018 | 4,93 |
| TOTAL | 0,0263 | 72,06 |

Fluxograma 7 – Fracionamento cromatográfico de EERBA e isolamento de BA-6



4.4.6 Fracionamento cromatográfico de EERBA (16 a 18)

A fração EERBA (16 a 18) (0,7911 g) obtida do fracionamento cromatográfico de EERBA descrito no item 4. 4. 1 (p. 172) foi submetida a uma coluna cromatográfica (L = 27,5 cm e Φ = 2,0 cm) de gel de sílica (59,47 g), eluída com hexano e acetato de etila em ordem crescente de polaridade de acordo com os dados descritos na Tabela 72.

Tabela 72 - Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EERBA (16 a 18)

| FRAÇÕES | ELUENTE |
|-----------|-------------------------------------|
| 1 a 3 | Hexano : Acetato de etila (95 : 5) |
| 4 a 17 | Hexano : Acetato de etila (90 : 10) |
| 18 a 40 | Hexano : Acetato de etila (85 : 15) |
| 41 a 119 | Hexano : Acetato de etila (80 : 20) |
| 120 a 149 | Hexano : Acetato de etila (75 : 25) |
| 150 a 172 | Hexano : Acetato de etila (70 : 30) |
| 173 a 220 | Hexano : Acetato de etila (50 : 50) |
| 221 a 241 | Acetato de etila |

Após análise por cromatografia em camada delgada (CCD) as frações foram reunidas de acordo com a Tabela 73.

Tabela 73 - Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EERBA (16 a 18)

| FRAÇÕES | MASSA (g) | RENDIMENTO (%) |
|--------------|---------------|----------------|
| 1 a 11 | 0,0000 | 0,00 |
| 12 a 34 | 0,0026 | 0,33 |
| 35 a 53 | 0,1398 | 17,67 |
| 54 a 118 | 0,5048 | 63,81 |
| 119 a 143 | 0,0245 | 3,10 |
| 144 a 153 | 0,0128 | 1,62 |
| 154 a 197 | 0,0321 | 4,06 |
| 198 a 241 | 0,0456 | 5,76 |
| TOTAL | 0,7622 | 96,35 |

4.4.6.1 Fracionamento cromatográfico de EERBA (16 a 18) (54 a 118) e isolamento de BA-12

A fração EERBA (16 a 18) (54 a 118) (0,5048 g) obtida do fracionamento cromatográfico de EERBA (16 a 18) descrito no item 4. 4. 6 (p. 180) foi submetida a uma coluna cromatográfica (L = 28,0 cm e Φ = 2,0 cm) de gel de sílica (35,33 g), eluída com hexano e diclorometano em ordem crescente de polaridade de acordo com os dados descritos na Tabela 74.

Tabela 74 - Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EERBA (16 a 18) (54 a 118)

| FRAÇÕES | ELUENTE |
|-----------|----------------------------------|
| 1 a 25 | Hexano : Diclorometano (95 : 5) |
| 26 a 49 | Hexano : Diclorometano (90 : 10) |
| 50 a 71 | Hexano : Diclorometano (85 : 15) |
| 72 a 93 | Hexano : Diclorometano (80 : 20) |
| 94 a 116 | Hexano : Diclorometano (70 : 30) |
| 117 a 311 | Hexano : Diclorometano (50 : 50) |
| 312 a 355 | Diclorometano |

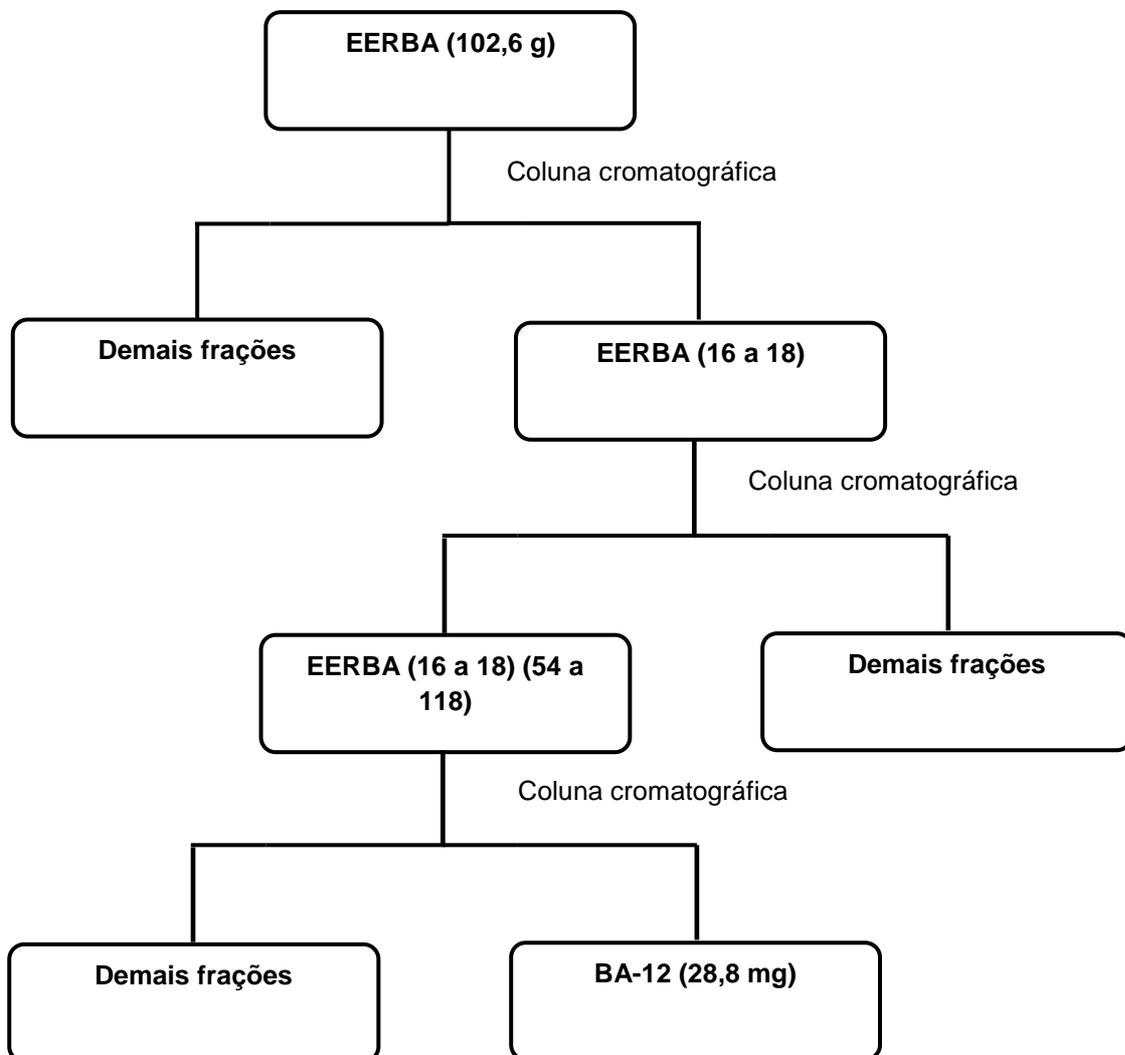
Após análise por cromatografia em camada delgada (CCD) as frações foram reunidas de acordo com a Tabela 75.

Tabela 75 - Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EERBA (16 a 18) (54 a 118)

| FRAÇÕES | MASSA (g) | RENDIMENTO (%) |
|--------------|---------------|----------------|
| 1 a 40 | 0,0000 | 0,00 |
| 41 a 84 | 0,0342 | 6,77 |
| 85 a 128 | 0,0523 | 10,36 |
| 129 a 144 | 0,0824 | 16,32 |
| 145 a 164 | 0,0232 | 4,60 |
| 165 a 181 | 0,0288 | 5,71 |
| 182 a 240 | 0,0160 | 3,17 |
| 242 a 250 | 0,0257 | 5,09 |
| 251 a 263 | 0,0312 | 6,18 |
| 264 a 275 | 0,0157 | 3,11 |
| 276 a 296 | 0,0126 | 2,50 |
| 297 a 354 | 0,1196 | 23,69 |
| 355 | 0,0104 | 2,06 |
| TOTAL | 0,4521 | 89,56 |

Após análise por cromatografia em camada delgada (CCD) foi possível verificar o perfil cromatográfico das frações e reuni-las, conforme mostrado na Tabela 75. As frações de 1 a 40 foram descartadas por ausência de material e a fração 165 a 181 apresentou 28,8 mg de um sólido incolor, solúvel em clorofórmio, que foi denominado **BA-12**. O fluxograma 8 mostra as etapas que permitiram o isolamento de **BA-12**.

Fluxograma 8 – Fracionamento cromatográfico de EERBA e isolamento de BA-12



4.4.6.2 Fracionamento cromatográfico de EERBA (16 a 18) (54 a 118) (297 a 354)

A fração EERBA (16 a 18) (54 a 118) (297 a 354) (0,1196 g) obtida do fracionamento cromatográfico de EERBA (16 a 18) (54 a 118) descrito no item 4.4.6.1 (p. 181) foi submetida a uma coluna cromatográfica (L = 30,0 cm e Φ = 1,5 cm) de gel de sílica (8,37 g), eluída com hexano, acetato de etila e metanol em ordem crescente de polaridade de acordo com os dados descritos na Tabela 76.

Tabela 76 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EERBA (16 a 18) (54 a 118) (297 a 354)

| FRAÇÕES | ELUENTE |
|-----------|-------------------------------------|
| 1 a 49 | Hexano |
| 50 a 221 | Hexano : Acetato de etila (95 : 5) |
| 222 a 248 | Hexano : Acetato de etila (90 : 10) |
| 249 a 277 | Hexano : Acetato de etila (80 : 20) |
| 278 a 306 | Hexano : Acetato de etila (70 : 30) |
| 307 a 329 | Hexano : Acetato de etila (50 : 50) |
| 330 a 350 | Acetato de etila |
| 351 a 358 | Metanol |

Após análise por cromatografia em camada delgada (CCD) as frações foram reunidas de acordo com a Tabela 77.

Tabela 77 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EERBA (16 a 18) (54 a 118) (297 a 354)

| FRAÇÕES | MASSA (g) | RENDIMENTO (%) |
|--------------|---------------|----------------|
| 1 a 102 | 0,0124 | 10,36 |
| 103 a 149 | 0,0101 | 8,44 |
| 150 a 201 | 0,0134 | 11,20 |
| 202 a 249 | 0,0401 | 33,53 |
| 250 a 262 | 0,0091 | 7,61 |
| 263 a 312 | 0,0125 | 10,45 |
| 313 a 343 | 0,0065 | 5,43 |
| 344 a 354 | 0,0045 | 3,76 |
| 355 a 358 | 0,0033 | 2,76 |
| TOTAL | 0,1119 | 93,54 |

4.4.6.3 Fracionamento cromatográfico de EERBA (16 a 18) (54 a 118) (297 a 354) (202 a 249) e isolamento de BA-7

A fração EERBA (16 a 18) (54 a 118) (297 a 354) (202 a 249) (0,0401 g) obtida do fracionamento cromatográfico de EERBA (16 a 18) (54 a 118) (297 a 354) descrito no item 4. 4. 6. 2 (p. 182) foi submetida a uma coluna cromatográfica (L = 18,0 cm e $\Phi = 1,5$ cm) de gel de sílica (2,41 g), eluída com hexano e acetato de etila em ordem crescente de polaridade de acordo com os dados descritos na Tabela 78.

Tabela 78 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EERBA (16 a 18) (54 a 118) (297 a 354) (202 a 249)

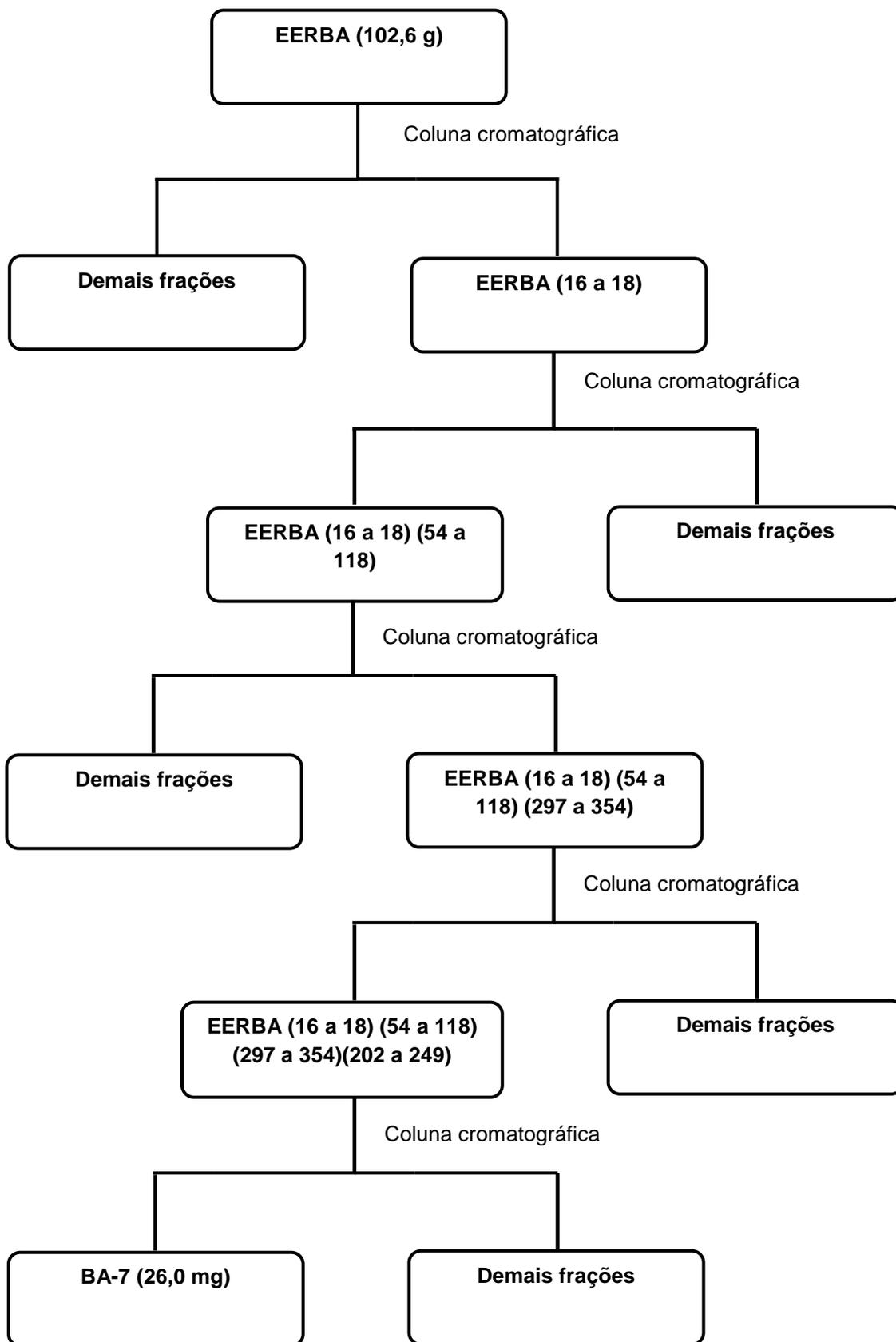
| FRAÇÕES | ELUENTE |
|-----------|-------------------------------------|
| 1 a 167 | Hexano : Acetato de etila (85 : 15) |
| 168 a 237 | Hexano : Acetato de etila (80 : 20) |
| 238 a 254 | Hexano : Acetato de etila (70 : 30) |

Após análise por cromatografia em camada delgada (CCD) foi possível verificar o perfil cromatográfico das frações e reuni-las, conforme mostrado na Tabela 79. As frações de 28 a 45 apresentaram 26,0 mg de um sólido de cor branca, solúvel em metanol, que foi denominado **BA-7**, cujo isolamento está mostrado no Fluxograma 9 (p. 186).

Tabela 79 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EERBA (16 a 18) (54 a 118) (297 a 354) (202 a 249)

| FRAÇÕES | MASSA (g) | RENDIMENTO (%) |
|--------------|---------------|----------------|
| 1 a 27 | 0,0000 | 0,00 |
| 28 a 45 | 0,0260 | 64,84 |
| 46 a 74 | 0,0021 | 5,24 |
| 75 a 127 | 0,0022 | 5,49 |
| 128 a 186 | 0,0030 | 7,48 |
| 187 a 254 | 0,0024 | 5,99 |
| TOTAL | 0,0357 | 89,04 |

Fluxograma 9 – Fracionamento cromatográfico de EERBA e isolamento de BA-7



4.4.7 Fracionamento cromatográfico de EERBA (22 a 24)

A fração EERBA (22 a 24) (6,45 g) obtida do fracionamento cromatográfico de EERBA descrito no item 4. 4. 1 (p. 172) foi submetida a uma coluna cromatográfica (L = 17,0 e Φ = 3,5 cm) de gel de sílica (387,0 g), eluída com hexano, acetato de etila, acetona e metanol em ordem crescente de polaridade de acordo com os dados descritos na Tabela 80.

Tabela 80 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EERBA (22 a 24)

| FRAÇÕES | ELUENTE |
|-----------|--------------------------------------|
| 1 a 102 | Hexano : Acetato de etila (60 : 40) |
| 103 a 189 | Hexano : Acetato de etila (50 : 50) |
| 190 a 297 | Acetato de etila |
| 298 a 319 | Acetato de etila : Acetona (50 : 50) |
| 320 a 341 | Acetona |
| 342 a 397 | Metanol |

Após análise por cromatografia em camada delgada (CCD) as frações foram reunidas de acordo com a Tabela 81.

Tabela 81 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EERBA (22 a 24)

| FRAÇÕES | MASSA (g) | RENDIMENTO (%) |
|--------------|---------------|----------------|
| 1 a 38 | 0,3250 | 5,04 |
| 39 a 117 | 0,0443 | 0,69 |
| 118 a 190 | 0,2323 | 3,60 |
| 191 a 235 | 0,3140 | 4,87 |
| 236 a 289 | 4,5000 | 69,76 |
| 290 a 397 | 0,6540 | 10,14 |
| TOTAL | 6,0696 | 94,10 |

4.4.7.1 Fracionamento cromatográfico de EERBA (22 a 24) (39 a 117)

A fração EERBA (22 a 24) (39 a 117) (0,0443 g) obtida do fracionamento cromatográfico de EERBA (22 a 24) descrito no item 4. 4. 7 foi submetida a uma coluna cromatográfica (L = 30,0 cm e Φ = 2,0 cm) sob média pressão, utilizando gel de sílica (4,66 g) como adsorvente e hexano e acetato de etila (85 : 15) e metanol como eluentes, conforme mostrado na Tabela 82.

Tabela 82 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EERBA (22 a 24) (39 a 117)

| FRAÇÕES | ELUENTE |
|----------|-------------------------------------|
| 1 a 95 | Hexano : Acetato de etila (85 : 15) |
| 96 a 100 | Metanol |

Após análise por cromatografia em camada delgada (CCD) as frações foram reunidas de acordo com a Tabela 83.

Tabela 83 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EERBA (22 a 24) (39 a 117)

| FRAÇÕES | MASSA (g) | RENDIMENTO (%) |
|--------------|---------------|----------------|
| 1 a 37 | 0,0000 | 0,00 |
| 38 a 64 | 0,0117 | 26,41 |
| 65 a 69 | 0,0080 | 18,06 |
| 70 a 95 | 0,0052 | 11,74 |
| 96 a 100 | 0,0108 | 24,38 |
| TOTAL | 0,0357 | 80,59 |

4.4.7.2 Fracionamento cromatográfico de EERBA (22 a 24) (39 a 117) (38 a 64) e isolamento de BA-8

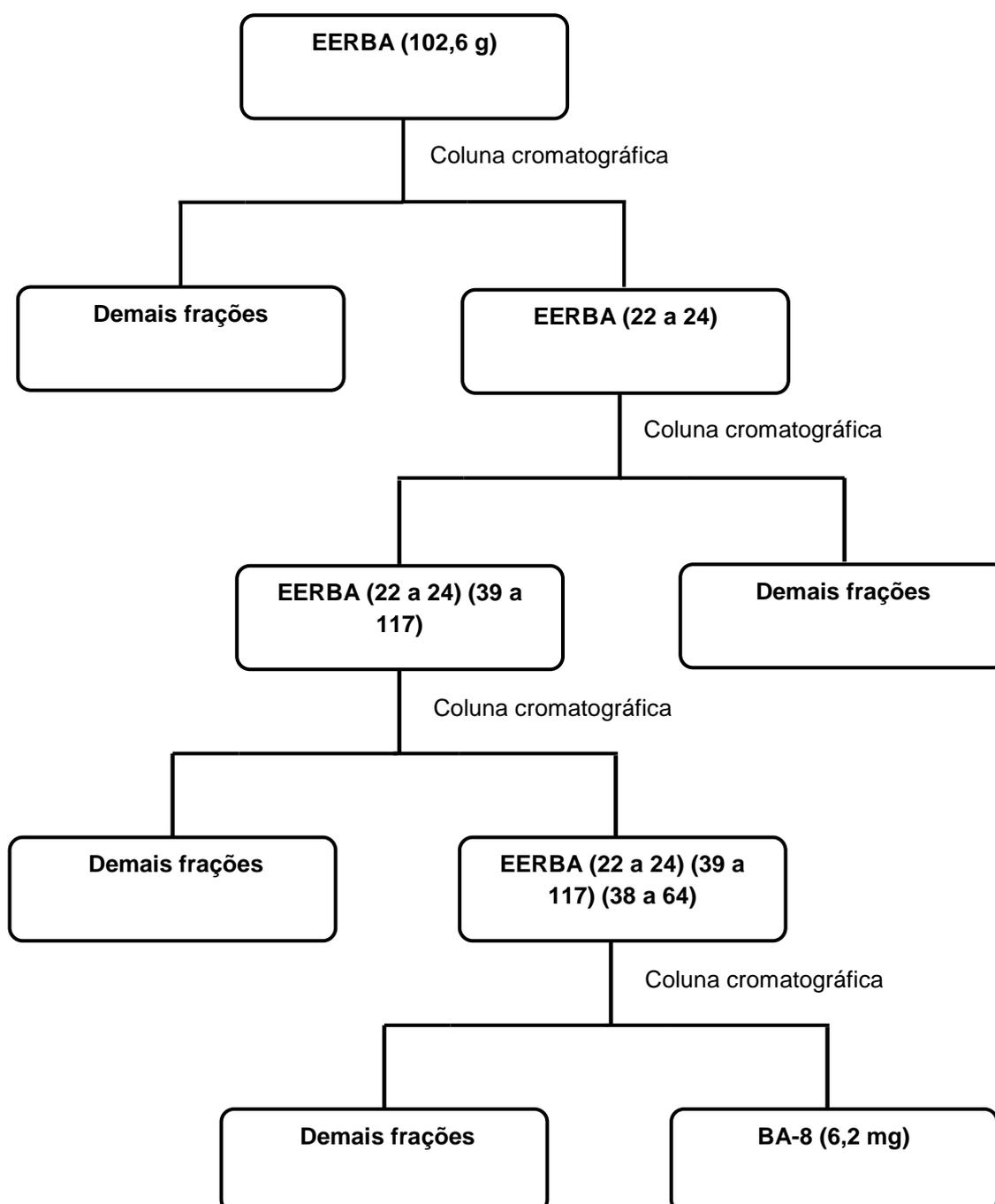
A fração EERBA (22 a 24) (39 a 117) (38 a 64) (0,0117 g) obtida do fracionamento cromatográfico de EERBA (22 a 24) (39 a 117) descrito no item 4. 4. 7. 1 (p. 187) foi submetida a uma coluna cromatográfica (L = 19,0 cm e Φ = 1,5 cm) sob média pressão, utilizando 0,702 g de gel de sílica como adsorvente e diclorometano como eluente, sendo obtidas 57 frações.

Após análise por cromatografia em camada delgada (CCD) foi possível verificar o perfil cromatográfico das frações e reuni-las, conforme mostrado na Tabela 84. As frações de 30 a 57 apresentaram 6,2 mg de um sólido de cor marrom-escura, solúvel em metanol, que foi denominado **BA-8**. As etapas envolvidas no isolamento deste metabólito secundário estão mostradas no Fluxograma 10 (p. 188).

Tabela 84 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EERBA (22 a 24) (39 a 117) (38 a 64)

| FRAÇÕES | MASSA (g) | RENDIMENTO (%) |
|--------------|---------------|----------------|
| 1 a 14 | 0,0000 | 0,00 |
| 15 a 29 | 0,0030 | 25,64 |
| 30 a 57 | 0,0062 | 52,99 |
| TOTAL | 0,0092 | 78,63 |

Fluxograma 10 – Fracionamento cromatográfico de EERBA e isolamento de BA-8



4.4.8 Fracionamento cromatográfico de EERBA (22 a 24) (236 a 289)

A fração EERBA (22 a 24) (236 a 289) (4,50 g) obtida do fracionamento cromatográfico de EERBA (22 a 24) descrito no item 4. 4. 7 (p. 187) foi submetida a uma coluna cromatográfica (L = 13,0 cm e Φ = 4,0 cm) de gel de sílica (315,0 g), eluída com hexano, acetato de etila, acetona e metanol em ordem crescente de polaridade de acordo com os dados descritos na Tabela 85.

Tabela 85 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EERBA (22 a 24) (236 a 289)

| FRAÇÕES | ELUENTE |
|---------|--------------------------------------|
| 1 a 8 | Hexano : Acetato de etila (50 : 50) |
| 9 a 11 | Acetato de etila |
| 12 a 13 | Acetato de etila : Acetona (50 : 50) |
| 14 a 17 | Acetona |
| 18 a 23 | Metanol |

Após análise por cromatografia em camada delgada (CCD) as frações foram reunidas de acordo com a Tabela 86.

Tabela 86 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EERBA (22 a 24) (236 a 289)

| FRAÇÕES | MASSA (g) | RENDIMENTO (%) |
|--------------|---------------|----------------|
| 1 a 3 | 0,0126 | 0,28 |
| 4 a 6 | 0,4338 | 9,64 |
| 7 a 8 | 1,4817 | 32,93 |
| 9 a 11 | 1,0490 | 23,31 |
| 12 a 15 | 0,0245 | 0,54 |
| 16 a 20 | 0,0321 | 0,71 |
| 21 a 23 | 0,0523 | 1,16 |
| TOTAL | 3,0860 | 68,57 |

4.4.8.1 Fracionamento cromatográfico de EERBA (22 a 24) (236 a 289) (4 a 6)

A fração EERBA (22 a 24) (236 a 289) (4 a 6) (0,4338 g) obtida do fracionamento cromatográfico de EERBA (22 a 24) (236 a 289) descrito no item 4. 4. 8 foi submetida a uma coluna cromatográfica (L = 14,0 cm e Φ = 2,5 cm) de gel de

sílica (30,37 g) eluída com hexano e acetato de etila em ordem crescente de polaridade de acordo com os dados descritos na Tabela 87.

Tabela 87 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EERBA (22 a 24) (236 a 289) (4 a 6)

| FRAÇÕES | ELUENTE |
|-----------|-------------------------------------|
| 1 a 9 | Hexano : Acetato de etila (80 : 20) |
| 10 a 16 | Hexano : Acetato de etila (70 : 30) |
| 17 a 21 | Hexano : Acetato de etila (60 : 40) |
| 22 a 107 | Hexano : Acetato de etila (50 : 50) |
| 108 a 131 | Acetato de etila |

Após análise por cromatografia em camada delgada (CCD) as frações foram reunidas de acordo com a Tabela 88.

Tabela 88 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EERBA (22 a 24) (236 a 289) (4 a 6)

| FRAÇÕES | MASSA (g) | RENDIMENTO (%) |
|--------------|---------------|----------------|
| 1 a 34 | 0,0000 | 0,00 |
| 35 a 55 | 0,0230 | 5,30 |
| 56 a 80 | 0,0700 | 16,14 |
| 81 a 99 | 0,0562 | 12,96 |
| 100 a 131 | 0,2070 | 47,72 |
| TOTAL | 0,3562 | 82,12 |

4.4.8.2 Fracionamento cromatográfico de EERBA (22 a 24) (236 a 289) (4 a 6) (100 a 131) e isolamento de BA-9, BA-10 e BA-11

A fração EERBA (22 a 24) (236 a 289) (4 a 6) (100 a 131) (0,2070 g) obtida do fracionamento cromatográfico de EERBA (22 a 24) (236 a 289) (4 a 6) descrito no item 4. 4. 8. 1 (p. 190) foi submetida a uma coluna cromatográfica (L = 30,0 cm e Φ = 2,0 cm) de gel de sílica (17,49 g), eluída com hexano e acetato de etila (30 : 70), sendo obtidas 88 frações.

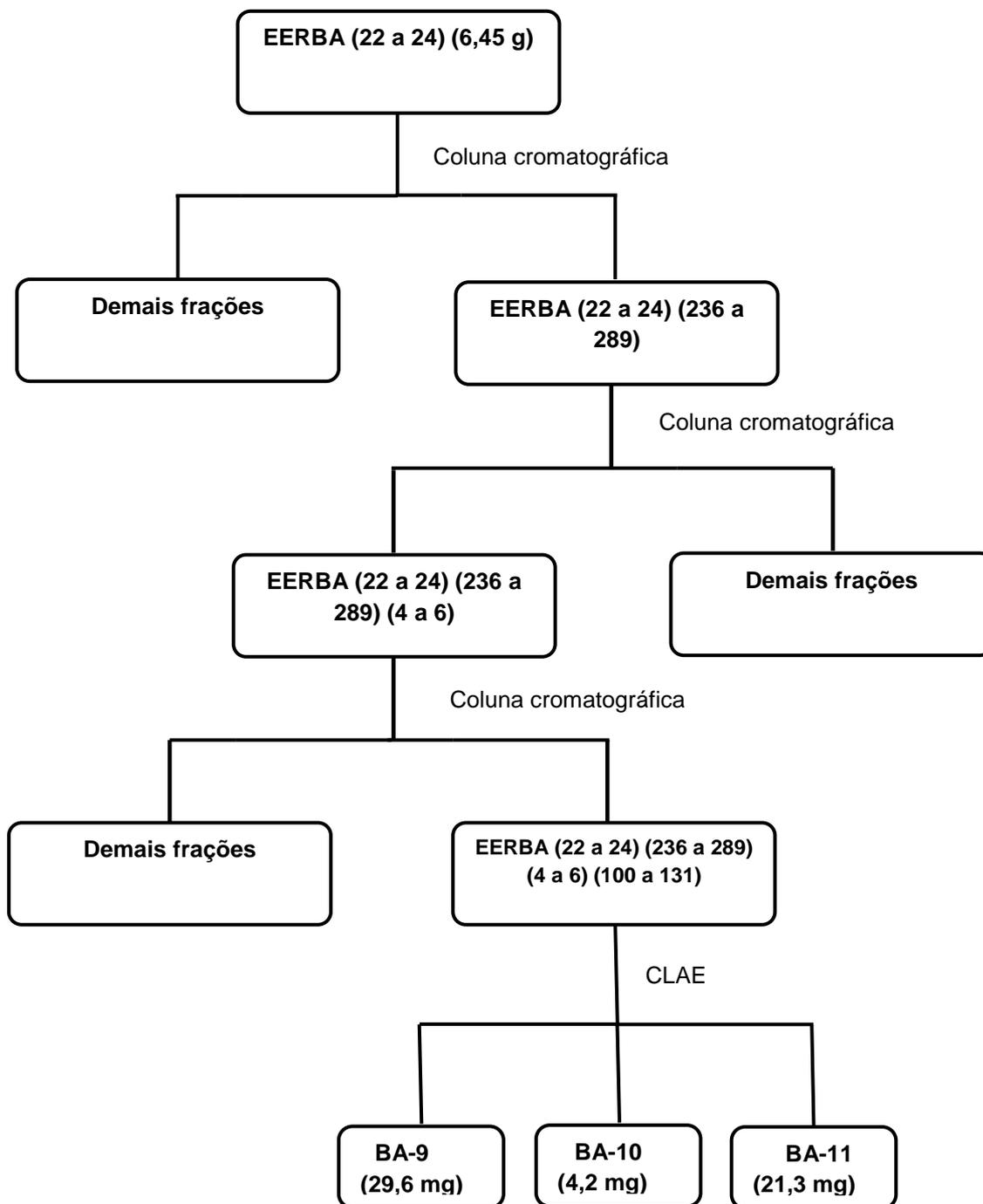
Após análise por cromatografia em camada delgada (CCD) as frações foram reunidas de acordo com a Tabela 89.

Tabela 89 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EERBA (22 a 24) (236 a 289) (4 a 6) (100 a 131)

| FRAÇÕES | MASSA (g) | RENDIMENTO (%) |
|----------------|------------------|-----------------------|
| 1 a 21 | 0,0000 | 0,00 |
| 22 a 30 | 0,0103 | 4,98 |
| 31 a 34 | 0,0326 | 15,75 |
| 35 a 60 | 0,0642 | 31,01 |
| 61 a 68 | 0,0073 | 3,53 |
| 69 a 85 | 0,0058 | 2,80 |
| 86 a 88 | 0,0052 | 2,51 |
| TOTAL | 0,1254 | 60,58 |

A fração (35 a 60) (64,2 mg) foi analisada por CLAE, em coluna semi-preparativa (C-18) em condições de fase reversa utilizando-se metanol : água (45 : 55) como fase móvel em modo isocrático, empregando-se um fluxo de 4,72 mL/min. O cromatograma (Figura 81, p. 106) exibiu 14 picos; dentre eles três majoritários: pico 1 (29,6 mg; $t_r = 4,6$ min) foi denominado BA-9, o pico 2 (4,2 mg; $t_r = 5,3$ min) foi denominado BA-10 e o pico 3 (21,3 mg; $t_r = 7,2$ min) foi denominado BA-11. O fluxograma a seguir mostra as etapas do isolamento dos compostos acima relacionados.

Fluxograma 11 – Fracionamento cromatográfico de EERBA (22 a 24) e isolamento de BA-9, BA-10 e BA-11



4.5 Estudo dos constituintes fixos dos caules de *Bauhinia acuruana* Moric. (2ª coleta)

Os caules de *B. acuruana* (1,248 Kg), procedentes da segunda coleta, foram secos à temperatura ambiente, posteriormente triturados e em seguida submetidos à extração a frio com etanol e após extração exaustiva com o solvente citado, o extrato obtido foi concentrado por destilação sob pressão reduzida, resultando na obtenção de 70,0 g de extrato em etanol (EECBA).

4.5.1 Fracionamento cromatográfico de EECBA

O extrato EECBA (70,0 g) foi submetido a uma coluna cromatográfica filtrante (L= 14,2 cm e Φ = 9,5 cm), utilizando 566,30 g de gel de sílica. Foram utilizados como eluentes hexano, diclorometano, éter etílico, acetato de etila, acetona e metanol em ordem crescente de polaridade de acordo com os dados descritos na Tabela 90.

Tabela 90 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EECBA

| FRAÇÕES | ELUENTE |
|---------|------------------|
| 1 a 12 | Hexano |
| 13 a 26 | Diclorometano |
| 27 a 31 | Éter etílico |
| 32 a 34 | Acetato de etila |
| 35 a 38 | Acetona |
| 39 a 41 | Metanol |

Após análise por cromatografia em camada delgada (CCD) as frações foram reunidas de acordo com a Tabela 91.

Tabela 91 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EECBA

| FRAÇÕES | MASSA (g) | RENDIMENTO (%) |
|----------------|------------------|-----------------------|
| 1 a 3 | 0,0183 | 0,03 |
| 4 a 5 | 0,0134 | 0,02 |
| 6 a 12 | 0,0377 | 0,05 |
| 13 a 14 | 0,0420 | 0,06 |
| 15 a 19 | 2,0992 | 3,00 |
| 20 a 22 | 1,7348 | 2,48 |
| 23 a 27 | 0,2742 | 0,39 |
| 28 a 30 | 0,7674 | 1,10 |
| 31 | 0,1245 | 0,18 |
| 32 | 0,0993 | 0,14 |
| 33 a 34 | 0,2979 | 0,43 |
| 35 a 36 | 0,2715 | 0,39 |
| 37 | 0,7236 | 1,03 |
| 38 | 1,6280 | 2,33 |
| 39 | 4,1113 | 5,87 |
| 40 a 41 | 36,2700 | 51,81 |
| TOTAL | 48,5131 | 69,31 |

4.5.2 Fracionamento cromatográfico de EECBA (37)

A fração EECBA (37) (0,7236 g) obtida do fracionamento cromatográfico de EECBA descrito no item 4. 5. 1 (p. 194) foi submetida a uma coluna cromatográfica (L= 18,7 cm e Φ = 2,5 cm) de gel de sílica (50,65 g), eluída com diclorometano e metanol em ordem crescente de polaridade de acordo com os dados descritos na Tabela 92.

Tabela 92 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EECBA (37)

| FRAÇÕES | ELUENTE |
|----------------|-----------------------------------|
| 1 a 41 | Diclorometano : Metanol (95 : 5) |
| 42 a 73 | Diclorometano : Metanol (85 : 15) |
| 74 a 118 | Diclorometano : Metanol (80 : 20) |
| 119 a 125 | Diclorometano : Metanol (70 : 30) |
| 126 a 155 | Diclorometano : Metanol (50 : 50) |

Após análise por cromatografia em camada delgada (CCD) as frações foram reunidas de acordo com a Tabela 93.

Tabela 93 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EECBA (37)

| FRAÇÕES | MASSA (g) | RENDIMENTO (%) |
|--------------|---------------|----------------|
| 1 a 5 | 0,0000 | 0,00 |
| 6 a 18 | 0,0240 | 3,32 |
| 19 a 56 | 0,0152 | 2,10 |
| 57 a 63 | 0,0080 | 1,11 |
| 64 a 75 | 0,0094 | 1,30 |
| 76 a 87 | 0,0043 | 0,59 |
| 88 a 97 | 0,3391 | 46,86 |
| 98 a 118 | 0,0430 | 5,94 |
| 119 a 131 | 0,0213 | 2,94 |
| 132 a 155 | 0,0362 | 5,00 |
| TOTAL | 0,5005 | 69,16 |

4.5.3 Fracionamento cromatográfico de EECBA (37) (88 a 97) e isolamento de BA-13

A fração EECBA (37) (88 a 97) (0,3391 g) obtida do fracionamento cromatográfico de EECBA descrito no item 4. 5. 1 (p. 194) foi submetida a uma coluna cromatográfica (L = 16,0 cm e Φ = 2,0 cm) de gel de sílica (23,74 g), eluída com diclorometano e metanol em ordem crescente de polaridade de acordo com os dados descritos na Tabela 94.

Tabela 94 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EECBA (37) (88 a 97)

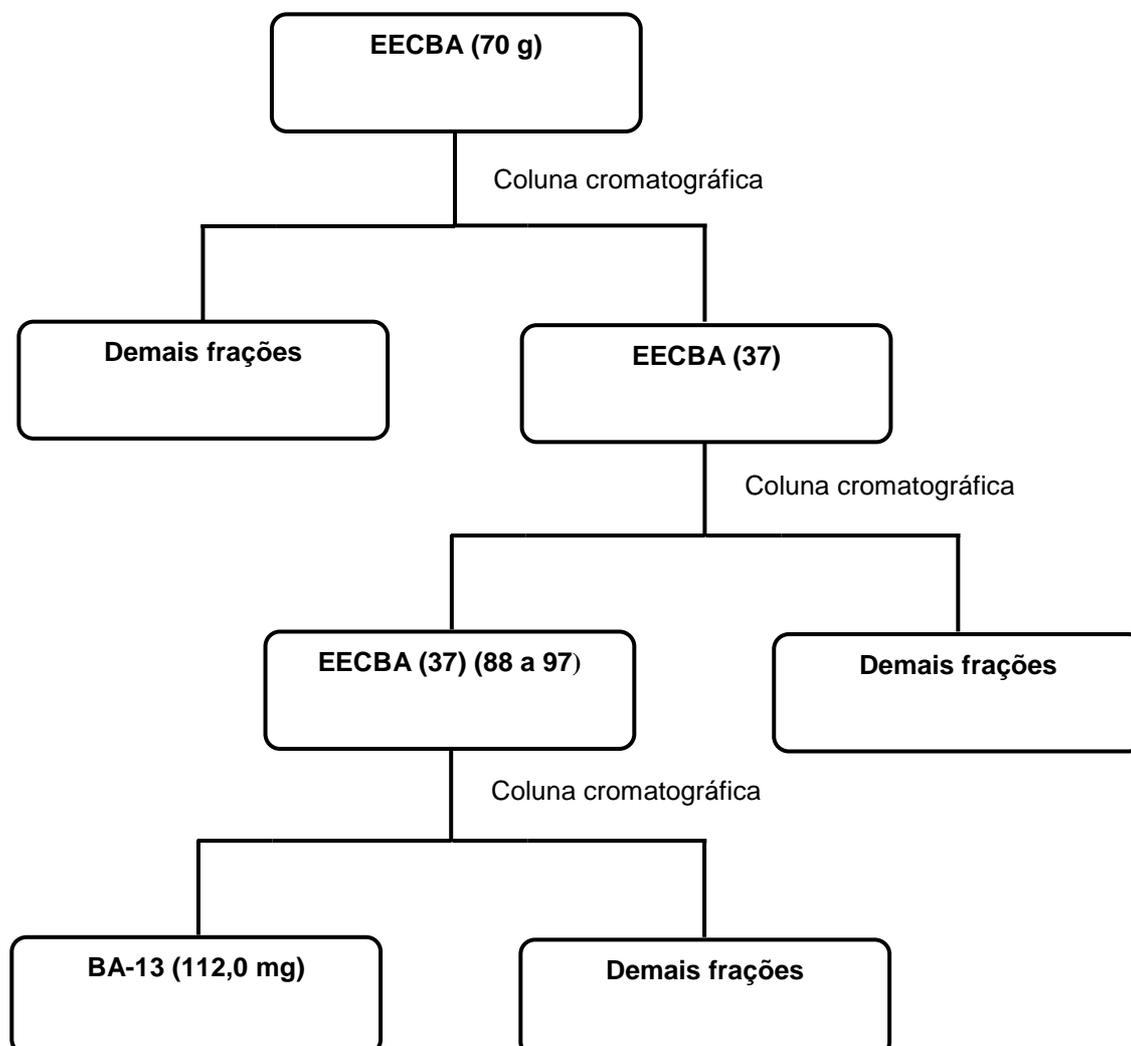
| FRAÇÕES | ELUENTE |
|---------|-----------------------------------|
| 1 a 58 | Diclorometano : Metanol (90 : 10) |
| 59 a 72 | Diclorometano : Metanol (85 : 15) |

Após análise por cromatografia em camada delgada (CCD) foi possível verificar o perfil cromatográfico das frações e reuni-las, conforme mostrado na Tabela 95. As frações de 34 a 42 apresentaram 112,0 mg de um sólido de coloração laranja, solúvel em metanol, que foi denominado **BA-13**, cujo isolamento está mostrado no Fluxograma 11.

Tabela 95 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EECBA (37) (88 a 97)

| FRAÇÕES | MASSA (g) | RENDIMENTO (%) |
|----------------|------------------|-----------------------|
| 1 a 25 | 0,0000 | 0,00 |
| 26 a 33 | 0,0178 | 5,25 |
| 34 a 42 | 0,1120 | 33,03 |
| 45 a 64 | 0,0131 | 3,86 |
| 65 a 72 | 0,0165 | 4,87 |
| TOTAL | 0,1594 | 47,01 |

Fluxograma 12 – Fracionamento cromatográfico de EECBA e isolamento de BA-13



4.6 Ensaios de atividades biológicas

4.6.1 Avaliação da atividade antioxidante

O extrato etanólico das raízes de *Bauhinia acuruana* (EERBA) e extrato etanólico das raízes *Bauhinia acuruana* (EECBA) tiveram seu potencial antioxidante avaliado usando o método de seqüestro de DPPH em comparação com os padrões positivos trolox e vitamina C.

A metodologia utilizada, neste teste, foi baseada na captura de radicais livres, descrita por HEGAZI e HADY (2002), na qual o radical utilizado foi DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazil) na concentração de 60 mM.

Em uma cubeta de 3 mL, foram adicionados 1 mL de DPPH e 1 mL de etanol P.A., sendo, em seguida, realizada uma leitura da absorbância em espectrofotometria a 520 nm, para obtenção de um teste em branco.

Foram preparadas soluções de cada amostra em seis diferentes concentrações (0,001; 0,005; 0,01; 0,05; 0,1 e 1,0 mg/L). A 1 mL de cada uma destas foram adicionados 1 mL de DPPH, na cubeta, e levadas para leitura em espectrofotometria.

O declínio da concentração de DPPH é indicado com a diminuição na absorbância em 520 nm, por um período de 30 minutos. Após a leitura, em espectrofotômetro, a inibição de DPPH radical livre em porcentagem foi calculada. Estes ensaios tiveram trolox (ácido 3,4-diidro-6-hidróxi-2,5,7,8-tetrametil-2H-1-benzopiran-2-carboxílico) e vitamina C como controles positivos.

A porcentagem de inibição foi obtida por comparação da absorção da solução contendo a amostra, em relação a uma solução controle de DPPH sem amostra.

4.6.2 Avaliação da atividade citotóxica in vitro frente à linhagens de células cancerígenas

4.6.2.1 Avaliação da atividade antiproliferativa em linhagens de células tumorais in vitro - Teste do MTT

O ensaio da atividade citotóxica frente à linhagem de células cancerígenas foi realizado no Laboratório de Oncologia Experimental, pela professora Dra. Gardênia Carmen Gadelha Militão do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

O ensaio consiste em uma análise colorimétrica baseada na conversão do sal 3-(4,5-dimetil-2-tiazol)-2,5-difenil-2-H-brometo de tetrazólio (MTT) para formazan, pela atividade da enzima succinil-desidrogenase presente na mitocôndria da célula viável (MOSMANN, 1993), permitindo, dessa maneira, quantificar a porcentagem de células vivas. As células foram cultivadas em frascos plásticos para cultura (75 cm², volume de 250 mL para células em suspensão); utilizando o meio RPMI 1640 ou DMEN suplementado com 10% de soro fetal bovino e 1% de antibióticos (penicilina/estreptomicina).

As células foram incubadas em estufa a 37 °C com atmosfera de 5% de CO₂, seguido da observação do crescimento celular com ajuda de microscópio de inversão a cada 24 horas. Para a realização do ensaio as células foram distribuídas em multiplacas de 96 cavidades numa densidade específica para cada linhagem (Tabela 94, p. 174). As substâncias **BA-5**, **BA-7**, **BA-8**, **BA-9**, **BA-10** e **BA-11** (0,39 – 25 µg/mL) foram incubadas durante 69 horas juntamente com a suspensão de células.

Após o período de incubação, as placas foram centrifugadas (1500 rpm/15 min.), e o sobrenadante foi descartado. Cada cavidade recebeu 150 µL da solução de MTT (10% em meio RPMI 1640 ou DMEN) e foi reincubada durante 3 horas, em estufa a 37 °C e a 5 % CO₂, totalizando 72 horas de experimento. Após esse período o sobrenadante foi desprezado, e o precipitado foi ressuscitado em 150 µL de DMSO para a quantificação do sal reduzido nas células vivas. As absorbâncias foram lidas com o auxílio do espectrofotômetro de placa, no comprimento de onda de 595 nm.

O gráfico absorvância x concentração foi registrado e determinado a sua concentração inibitória média capaz de provocar 50% do efeito máximo (CI_{50}) e seus respectivos intervalos de confiança de 95 % (IC 95 %) realizado a partir de regressão não-linear no programa GraphPad Prism Software versão 5.0.

Tabela 96 – Linhagens de células utilizadas no ensaio de citotoxicidade *in vitro* por meio do teste do MTT

| Linhagem | Tipo histológico | Origem | Concentração |
|----------|--------------------------|--------|----------------------------|
| HCT-116 | Carcinoma de cólon | Humana | $0,7 \times 10^5$ cels./mL |
| OVCAR-8 | Adenocarcinoma de ovário | Humana | $0,1 \times 10^6$ cels./mL |
| SF295 | Glioblastoma | Humana | $0,7 \times 10^5$ cels./mL |
| MCF-7 | Carcinoma de mama | Humana | $0,1 \times 10^5$ cels./mL |
| NCIH292 | Carcinoma de pulmão | Humana | $0,1 \times 10^5$ cels./mL |
| HL60 | Leucemia promielocítica | Humana | $0,3 \times 10^6$ cels./mL |

4.6.3 Atividade larvicida sobre *Aedes aegypti*

As larvas de *Aedes aegypti* foram coletadas de colônias de mosquitos mantidas no NUVET-SESA (Núcleo de Controle de Endemias Transmissíveis por Vetor da Secretaria de Saúde do Estado do Ceará).

BA-7, em diferentes concentrações (25 – 500 $\mu\text{g/mL}$), foram dissolvidas em 0,3 mL de dimetilsulfóxido e transferidas para um béquer de 50 mL. Posteriormente, foram adicionadas 50 larvas de terceiro estágio (GADELHA; TODA, 1985) juntamente com 19,7 mL de água. Esses experimentos foram realizados a $28^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ e nenhum outro suplemento nutricional foi adicionado. Os bioensaios foram realizados em triplicata e para cada experimento foi feito um controle positivo (Temephos®) e um negativo ($\text{H}_2\text{O/DMSO}$ 1,5 %). Após 24 horas, foi realizada a contagem das larvas mortas e calculada a CL_{50} (OLIVEIRA *et al.*, 2002).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

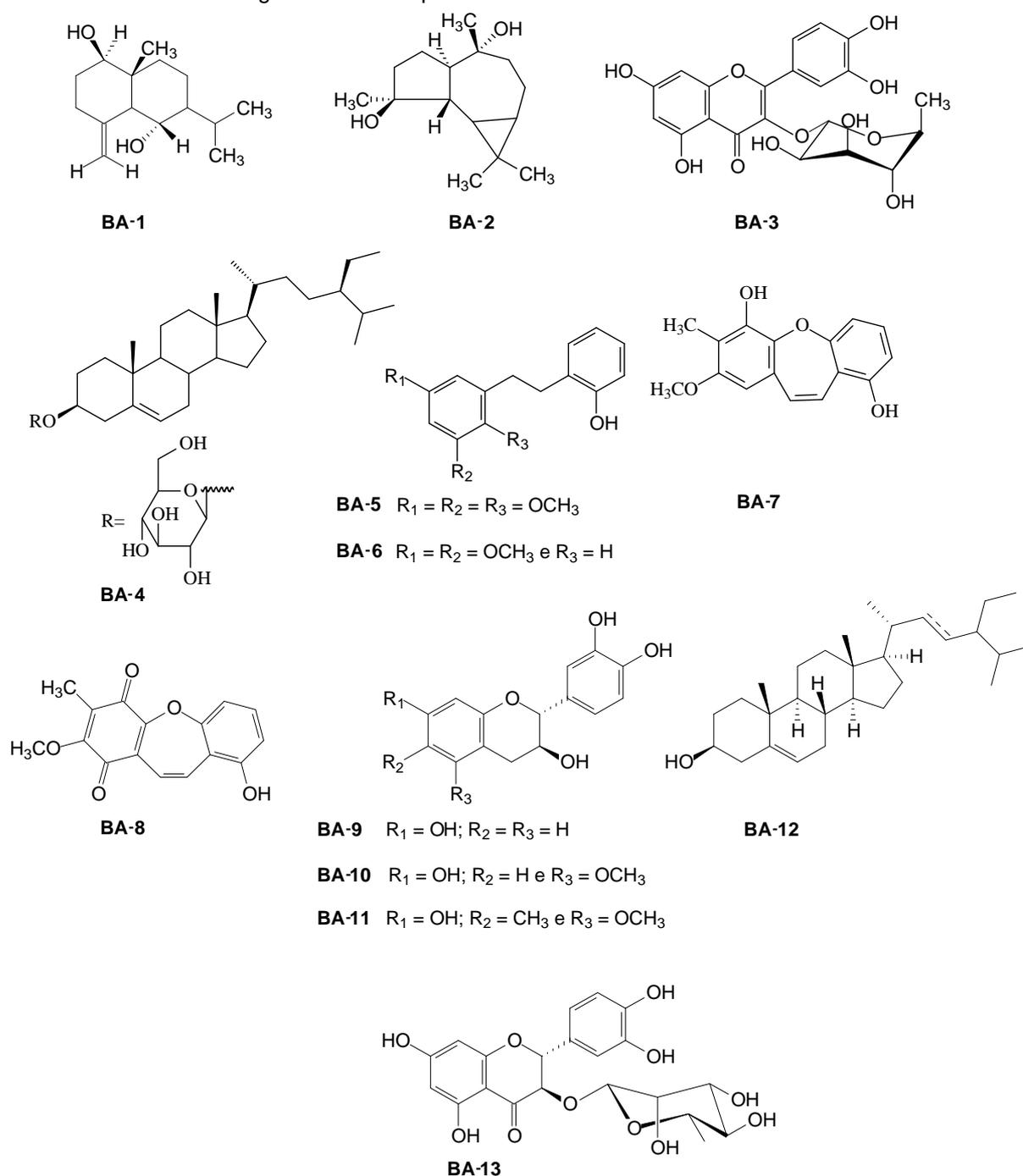
A continuação do estudo químico de *Bauhinia acuruana* permitiu o isolamento de treze metabólitos secundários. Dentre esses, dois sesquiterpenos que foram identificados como 1β , 6α -diidróxi-4(14)-eudesmeno (**BA-1**) e aromadendrano- 4β , 10α -diol (**BA-2**), dois bibenzis identificados como 2-hidroxi-2',3',5'-trimetoxibibenzila (**BA-5**) e 2-hidroxi-3',5'-dimetoxibibenzila (**BA-6**), dois derivados oxepínicos que foram identificados como pacharina (**BA-7**) e bauhiniastatina 1 (**BA-8**), cinco flavonoides identificados como quercitrina (**BA-3**), (-)-fisetinidol (**BA-9**), (2*R*, 3*S*)-2-(3',4'-diidroxifenil)-5-metoxicromano-3,7-diol (**BA-10**), (2*R*, 3*S*)-2-(3',4'-diidroxifenil)-5-metoxi-6-metilcromano-3,7-diol (**BA-11**) e astilbina (**BA-13**) e dois esteroides, sitosterol glicosilado (**BA-4**) e a mistura contendo sitosterol e estigmasterol (**BA-12**). A Figura 128 (p. 202) mostra a estrutura de todos os metabólitos secundários isolados nesse estudo.

Os sesquiterpenos 1β , 6α -diidróxi-4(14)-eudesmeno (**BA-1**), aromadendrano- 4β , 10α -diol (**BA-2**) estão sendo descritos pela primeira vez no gênero *Bauhinia*. O bibenzil 2-hidroxi-2', 3', 5'-trimetoxibibenzila (**BA-5**) e o flavonoide (2*R*, 3*S*)-2-(3',4'-diidroxifenil)-5-metoxi-6-metóxi-3,7-diol (**BA-11**) estão sendo descritos pela primeira vez na literatura, enquanto (2*R*, 3*S*)-2-(3',4'-diidroxifenil)-5-metoxicromano-3,7-diol (**BA-10**) está sendo descrito pela primeira vez como produto natural, visto que essa substância já existe como produto sintético. Os extratos em etanol dos caules (EECBA) e das raízes (EERBA) de *B. acuruana* tiveram seu potencial antioxidante avaliado mostrando resultados satisfatórios, além da avaliação da atividade citotóxica frente a linhagens de células cancerígenas (HCT116, OVCAR-8, SF295, MCF-7, NCIH292 e HL60) que mostraram resultados satisfatórios para as substâncias 2-hidroxi-2', 3', 5'-trimetoxibibenzila (**BA-5**), pacharina (**BA-7**) e bauhiniastatina 1 (**BA-8**). A pacharina (**BA-7**) foi também submetida à avaliação larvicida sobre *Aedes aegypti* e mostrou valor de CL_{50} igual a $78,9 \pm 1,8 \mu\text{g/mL}$ (GOIS *et al.*, 2013), podendo, portanto, ser considerada um bom agente larvicida.

Os resultados obtidos contribuem para um melhor conhecimento químico do gênero *Bauhinia*, mostrando a diversidade de substâncias fenólicas presentes, o que corrobora com a atividade antioxidante observada nos extratos em etanol dos

caules (EECBA) e das raízes (EERBA), além disso, os resultados satisfatórios da atividade citotóxica de 2-hidroxi-2', 3', 5'-trimetoxibenzila (**BA-5**), pacharina (**BA-7**) e bauhiniastatina 1 (**BA-8**) justificam estudos posteriores visando a descoberta de outros derivados oxepínicos e bibenzis que apresentem tal atividade. Também é importante destacar que os flavonoides juntamente com os derivados oxepínicos e bibenzis descritos nesse estudo constituem classes de substâncias fenólicas que apresentam distribuição nas espécies do gênero *Bauhinia* podendo, portanto, serem consideradas marcadores taxonômicos deste gênero.

Figura 128 – Compostos isolados de *Bauhinia acuruana*



REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

- ACHENBACH, H.; STOCKER, M.; CONSTENLA, M. A. F.; Flavonoids and other constituents of *Bauhinia manca*. **Phytochemistry**, v. 27, p.1835-1841, 1988.
- ADEROGBA, M. A.; MCGAW, L. J.; OGUNDAINE, A. O.; ELOFF, J. N. Antioxidant activity and cytotoxicity study of the flavonol glycosides from *Bauhinia galpinii*. **Natural Product Research**, v. 21, p. 591-599, 2007.
- AGUIAR, J. C. D.; SANTIAGO, G. M. P.; LAVOR, P. L.; VERAS, H. N. H.; FERREIRA, Y. S.; LIMA, M. A. A.; ARRIAGA, A. M. C.; LEMOS, T. L. G.; LIMA, J. Q.; DE JESUS, H. C. R.; ALVES, P. B.; BRAZ-FILHO, R. Chemical constituents and larvicidal activity of *Hymenaea courbaril* fruit pell. **Natural Product Communications**, v. 5, p. 1977-1980, 2010.
- ANJANNEYULU, A. S. R.; REDDY, A. V. R.; REDDY, D. S. K, WARD, R. S.; ADHIKESAVALU, D.; CAMERON, T. S. Pacharin: a new dibenzo (2,3-6,7) oxepin derivative from *Bauhinia racemosa* Lamk. **Tetrahedron**, v. 40, p. 4245-4252, 1984.
- APISANTIYAKOM, S.; KITTAKOOP, P.; MANYUM, T.; KIRTIKARA, K.; BREMNER, J. B.; THEBTARANONTH, Y. Novel biologically active bibenzyls from *Bauhinia saccocalyx* Pierre. **Chemistry & Biodiversity**, v. 1, p. 1694-1701, 2004.
- ARGOLO, A. C. C.; SAN'TANA, A. E. G., PLETSCH, M. COELHO, L. C. B. B. Antioxidant activity of leaf extracts from *Bauhinia monandra*. **Bioresource Technology**, v. 95, p. 229-233, 2004.
- AUGUSTO, O. **Radicais livres: bons, maus e naturais**. São Paulo: Oficina de Textos Editora, 2006.
- AVINASH, P.; ATTITALLA, I. H.; RAMGOPAL, M.; SANTHOSH, C.; BALAJI, M. *In vitro* antimicrobial and antioxidant activities of bark extracts of *Bauhinia purpurea*, **African Journal of Biotechnology**, v. 10, p. 9160-9164, 2011.
- BOONPHONG, S.; PUANGSOMBAT, P.; BARAMEE, A.; MAHIDOL, C.; RUCHIRAWAT, S.; KITTAKOOP, P. Bioactive compounds from *Bauhinia purpurea* possessing antimalarial, antimycobacterial, antifungal, anti-inflammatory and cytotoxic activities. **Journal of Natural Products**, v. 70, p. 795-801, 2007.
- CANGADHAR, M.; SHRADDHA, K.; CANESH, M. Antimicrobial screening of garlic (*Allium sativum*) extracts and their effect on glucoamylase activity *in-vitro*. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v. 2, p. 106-108, 2012.
- CAVALHEIRO, M. G; FARIAS, D. F.; FERNANDES, G. F; NUNES, E. P.; CAVALCANTI, S. F.; VASCONCELOS, I. M; MELO, V. M, M.; CARVALHO, A. F. U. Atividades biológicas e enzimáticas do extrato aquoso de sementes de *Caesalpinia ferrea* Mart., Leguminosae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, p. 586-591, 2009

- CECHINEL FILHO, V. Chemical composition and biological potential of plants from the genus *Bauhinia*. **Phytotherapy Research**, v. 23, p. 1347-1354, 2009.
- CHENG, S. S.; CHANG, H. T.; CHANG, S. T.; TSAI, K. H.; CHEN, W. J. Bioactivity of selected plant essential oils against the yellow fever mosquito *Aedes aegypti* larvae. **Bioresource Technology**, v. 89, p. 99-102, 2003.
- CHAO-FENG, Z.; MIN, W.; LEI, W.; MUNEKAZU, I.; MIAN, Z.; LUO-SHAN, X.; ZHENG-TAO, W.; Chemical constituents of *Dendrobium gratiosissimum* and their cytotoxic activities. **Indian Journal of Chemistry, Section B: Organic Chemistry Including Medicinal Chemistry**, v. 47, p. 952-956, 2008.
- CHUN, S. S.; VATTEM, D. A.; LIN, Y. T.; SHETTY, K. Phenolic antioxidants from clonal oregano (*Origanum vulgare*) with antimicrobial activity against *Helicobacter pylori*. **Process Biochemistry**, v. 40, p. 809-816, 2005.
- COMBER, M. F.; SARGENT, M. V. The synthesis of pacharin: a dibenzoxepine from the heartwood of *Bauhinia racemosa* Lamk. **Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1: Organic and Bio-Organic Chemistry**, v. 5, p. 1371-1373, 1990.
- CONEGLIAN, I. R. M.; OLIVEIRA, D. M. T. Anatomia comparada dos limbos cotiledonares e eofilares de dez espécies de Caesalpinioideae (Fabaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 29, p. 193-207, 2006.
- CREN-OLIVÉ, C.; LEBRUN, S.; ROLANDO, C. An efficient synthesis of the four mono methylated isomers of (+)-catechin including the major metabolites and some dimethylated and trimethylated analogues through selective protection of the catechol ring. **Journal of the Chemical Society Perkin Transactions 1**, p. 821-830, 2002.
- DA SILVA, E. G.; BEHR, G. A.; ZANNOTO-FILHO, A.; RODRIGO, L.; PASQUALI, M. A. B.; RAVAZOLO, L. G.; BORDIGNON, C. L.; DA SILVA, F. A.; ABOY, A. L.; BASSANI, V. L. Antioxidant activities and free radical scavenging potential of *Bauhinia microstachya* (Raddi) Macbr. (Caesalpinaceae) extracts linked to their polyphenol content. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v. 30, 1488-1496, 2007.
- DU, G.; SHEN, Y.; YANG, L.; SHU, L.; WEN, M. L.; HU, Q. F. Bibenzyl derivatives of *Arundina graminifolia* and their cytotoxicity. **Chemistry of Natural Compounds**, v. 49, p. 1019-1022, 2014.
- EL-HOSSARY, G. A.; SELIM, M. A.; EL SAYED, A.; KHALEEL, A. E. Study of the flavonoid content of *Bassia muricata* L. and *Bauhinia racemosa* Lam. **Bulletin of the Faculty of Pharmacy (Cairo University)**, v. 38, p. 93-97, 2000.
- FA-WU, D.; WEI-WEI, X.; FENG-QUING, W.; QIN-LI, W.; SU, J.; LI, Y.; LU, Z.; JUN, Z.; JIANG-MIAO, H. Inhibitory activities on nitric oxide production of stilbenoids from *Pholidota yunnanensis*. **Journal of Asian Natural Products Research**, v. 15, p. 1256-1264, 2013.

- FAYEMIWO, K. A.; ADELEKE, M. A.; OKORO, O. P.; AWOJIDE, S. H.; AWONIYI, I. O. Larvicidal efficacies and chemical composition of essential oils of *Pinus sylvestris* and *Syzygium aromaticum* against mosquitoes. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 4, p. 30-34, 2014.
- GADELHA, D. P.; TODA, A. T. Biologia e comportamento do *Aedes aegypti*. **Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais**, v. 37, p. 29-36, 1985.
- GOIS, R. W. S.; DE SOUSA, L. M.; LEMOS, T. L. G.; ARRIAGA, A. M. C.; ANDRADE-NETO, M.; SANTIAGO, G. M. .; FERREIRA, Y. S.; ALVES, P. B; DE JESUS, H. C. R. Chemical composition and larvicidal effects of essential oil from *Bauhinia acuruana* (Moric.) against *Aedes aegypti*. **Journal of Essential Oil Research**, v. 23, p. 59-62, 2011.
- GOLDSBY, G.; BURKE, B. A. Sesquiterpene lactones and a sesquiterpene diol from jamaican *Ambrosia peruviana*. **Phytochemistry**, v. 26, p. 1059-1063, 1987.
- GOIS, R. W. S; SOUSA, L. M.; SANTIAGO, G. M. P.; ROMERO, N. R.; LEMOS, T. L. G.; ARRIAGA, A. M. C.; BRAZ-FILHO, R. Larvicidal activity against *Aedes aegypti* of pacharin from *Bauhinia acuruana*. **Parasitology Research**, v. 112, p. 2753-2757, 2013.
- GOULART, M. O. F.; SANT'ANA, A. E. G.; LIMA, R. A.; CAVALCANTE, S. H.; CARVALHO, M. G.; BRAZ-FILHO, R. Fitoconstituintes químicos isolados de *Jatropha elliptica*. Atribuição de deslocamentos químicos dos átomos de carbono e hidrogênio dos diterpenos jatrolonas A e B. **Química Nova**, v. 16, p. 95-100, 1993.
- HEGAZI, A. G; EL HADY, F. K. A. Egyptian Propolis: 3. Antioxidant, antimicrobial activities and chemical composition of propolis from reclaimed lands. **Zeitschrift für Naturforschung B**, v. 57, p. 395-402, 2002.
- HUANG, H.; CHENG, Z.; SHI, H.; XIN, W.; WANG, T. T. Y.; YU, L. Isolation and characterization of two flavonoids, engeletin and astilbin, from the leaves of *Engelhardia roxburghiana* and their potential anti-inflammatory properties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, p. 4562-4569, 2011.
- IMAI, T.; INOUE, S.; OHDAIRA, N.; MATSUSHITA, Y.; SUSUKI, R.; SAKURAY, M.; DE JESUS, J. M. H; OZAKI, S. K.; FINGER, Z.; FUKUSHIMA, K. Heartwood extractives from the amazonian trees *Dipterys odorata*, *Hymenaea courbaril* and *Astronium lecointei* and their antioxidant activities. **Journal of Wood Science**, v. 54, p. 470-475, 2008.
- INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER, 2014. Disponível em: <www1.inca.gov.br/conteudo_view.asp?id=322>. Acesso em: 30 Jul. 2013.
- IRIBARREN, A. M.; POMILIO, A. B. Steroidal glycosides, flavonoids and other components of *Bauhinia uruguayensis*. **Anales de la Asociación Química Argentina**, v. 77, p. 461-466, 1989.

ISMIARNI, K.; TAKUYA, I.; FUMIHIRO, N.; YASUYUKI, Y.; YOSHINORI, A. Cytotoxic bibenzyls and germacrane and pinguisane-type sesquiterpenoids from Indonesian, Tahitian and Japanese liverworts. **Natural Product Communications**, v. 6, p. 303-309, 2011.

KADIR, S. L. A.; YAAKOB, H.; ZULKIFLI, R. M. Potential anti-dengue of medicinal plants: a review. **Journal of Natural Medicines**, v. 6, p. 677-689, 2013.

KAEWAMATAWONG, R.; KITAJIMA, M.; KOGURE, N.; TAKAYAMA, H. Flavonols from *Bauhinia malabarica*. **Journal of Natural Medicines**, v. 62, p. 364-365, 2008.

KEERTI, G.; PADMA, K.; SAWITRI, P. Larvicidal activity and GC – MS analysis of flavonoids of *Vitex negundo* and *Andrographis paniculata* against two vector mosquitoes *Anopheles stephensi* and *Aedes aegypti*. **Journal of Vector Borne Diseases**, v. 50, p. 171-178, 2013.

KITTAKOOP, P.; KIRTIKARA, K.; TANTICHAROEN, M.; THEBTARANONTH, Y. Antimalarial preracemosols A and B, possible precursors of racemosol from *Bauhinia malabarica* Roxb. **Phytochemistry**, v. 55, p. 349-352, 2000.

KUMAR, R. S.; SIVAKUMAR, T.; SUNDERAM, R. S.; GUPTA, M.; MAZUMDAR, U. K.; GOMATHI, P.; RAJESHWAR, Y.; SARAVANAN, S.; KUMAR, M. S.; MURUGESH, K. Antioxidant and antimicrobial activities of *Bauhinia racemosa* L. stem bark. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 38, p. 1015-1024, 2005.

KUMAR, P. M.; MURUGAN, K.; KOVENDAN, K.; PANNEERSELVAN, C.; KUMAR, K. P.; AMERASAN, D.; SUBRAMANIAM, J.; KALIMUTHU, K.; NATARAJ, T. Mosquitocidal activity of *Solanum xanthocarpum* fruit extract and copepod *Mesocyclops thermocyclopoides* for the control of dengue vector *Aedes aegypti*. **Parasitology Research**, v. 111, p. 609-618, 2012.

LAGO, J. H. G.; ROQUE, N. F. Estudo fitoquímico da madeira de *Guarea macrophylla* (Meliaceae). **Química Nova**, v. 32, p. 2351-2354, 2009.

LAVOR, P. L.; SANTIAGO, G. M. P.; GOIS, R. W. S.; DE SOUSA, L. M.; BEZERRA, G. P.; ROMERO, N. R.; ARRIAGA, A. M. C.; LEMOS, T. L. G.; ALVES, P. B.; GOMES, P. C. S. Larvicidal activity against *Aedes aegypti* of essential oils from northeast Brazil. **Natural Product Communications**, v. 7, p. 1391-1392, 2012.

LENDL, A.; WERNER, I.; GLASL, S.; KLETTER, C.; MUCAJI, P.; PRESSER, A.; REZNICEK, G.; JURENITSCH, J.; TAYLOR, D. W. Phenolic and terpenoid compounds from *Chione venosa* (sw.) URBAN var. *venosa* (Bois Bandé). **Phytochemistry**, v. 66, p. 2381-2387, 2005.

LIMA, H. C.; QUEIROZ, L. P.; MORIM, M. P.; SOUZA, V. C.; DUTRA, V. F.; BORTOLUZZI, R. L. C.; IGANCI, J. R. V.; VAZ, A. M.; SOUZA, E. R.; FILARDI, F. L. R.; VALLS, J. F. M.; GARCIA, F. C. P.; FERNANDES, J. M.; MARTINS-DA-SILVA, R. C.; PEREZ, A. P. F.; MANSANO, V. F.; MIOTTO, S. T. S.; TOZZI, A. M. G. A.; MEIRELES, J. E.; LIMA, L. C. P.; FLORES, A. S.; PINTO, R. B.; RIBEIRO, R. D.;

RANDO, J. G.; SCALON, V. R.; CARDOSO, D. B. O. S.; COSTA, L. C.; SILVA, M. J.; MOURA, T. M.; BARROS, L. A. V.; QUEIROZ, R. T.; SARTORI, A. L. B. Fabaceae. In: Forzza, R.C. et al. (Org.). **Catálogo de Plantas e Fungos do Brasil**. Rio de Janeiro, v. 2, p. 989-1102, 2010.

LIMA, M. A. A.; DE OLIVEIRA, F. F. M.; GOMES, G. A.; LAVOR, P. L.; SANTIAGO, G. M. P.; NAGAO-DIAS, A. T.; ARRIAGA, A. M. C.; LEMOS, T. L. G.; DE CARVALHO, M. G. Evaluation of larvicidal activity of the essential oils of plants species from Brazil against *Aedes aegypti*. **African Journal of Biotechnology**, v. 10, p. 11716-11720, 2011.

MCLEAN, J. A.; KARADAS, F.; SURAY, P.; MCDEVITTI, R.; SPEAK, B. Lipid-soluble and water-soluble antioxidant activities of the avian intestinal mucosa at different sites along the intestinal tract. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 141, p. 366-372, 2005.

MEIRA, M.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P.; ARAÚJO, S. V.; RÉGIS, T. L.; GIULIETTI, A. M.; QUEIRÓZ, L. P., Constituintes químicos de *ipomoea subincana* Meisn. (Convolvulaceae). **Quimica Nova**, v.31, p. 751-754, 2008.

MELO-SANTOS, M. A. V.; VARJAL-MELO, J. J. M.; ARAÚJO, A. P.; GOMES, T. C. S.; PAIVA, M. H. S.; REGIS, L. N.; FURTADO, A. F.; MAGALHÃES, T.; MACORIS, M. L. G.; ANDRIGHETTI, M. T. M.; AYRES, C. F. J. Resistance to the organophosphate temephos: mechanisms, evolution and reversion in an *Aedes aegypti* laboratory strain from Brazil. **Acta Tropica**, v. 113, p. 180-189, 2010.

MENDONÇA, F. A. C.; SILVA, K. F. S.; DOS SANTOS, K. K.; RIBEIRO JÚNIOR, K. A. L.; SANT'ANA, A. E. G. Activities of some brazilian plants against larvae of the mosquito *Aedes aegypti*. **Fitoterapia**, v. 76, p. 629-636, 2005.

MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014. Disponível em:
<http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/area.cfm?id_area=1525 >
acesso em: 22 de Ago. 2014.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays, **Journal of Immunological Methods**, v. 16, n. 65, p. 55-63, 1993.

MOUJIR, L. M.; SECA, A. M. L.; ARAUJO, L.; SILVA, A. M. S.; BARRETO, M. C. A new natural spiro hetrocyclic compound and the cytotoxic activity of the secondary metabolites from *Juniperus brevifolia* leaves. **Fitoterapia**, v. 82, p. 225-229, 2011.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. **Phenolics in food and nutraceuticals**. Flórida: CRC Press LLC, 2004.

NARCISO, J. O. A.; SOARES, R. O. A.; REIS, S. M. J.; GUIMARÃES, A. E.; DE OLIVEIRA, C. M. C.; BARBOSA-FILHO, J. M.; MALECK, M. Burchellin: study of bioactivity against *Aedes aegypti*. **Parasites & Vectors**, v. 7, p. 172, 2014.

NETO, M. M.; NETO, M. A.; BRAZ FILHO, R.; LIMA, M. A. S.; SILVEIRA, E. R. Flavonoids and alkaloids from leaves of *Bauhinia unguolata* L. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 36, p. 227-229, 2008.

NYAHANGA, T.; JONDIKO, J. I.; MANGURO, L. O. A.; ORWA, J. A. Antiplasmodial and larvicidal compounds of *Toddalia asiatica* root bark. **Journal of Chemical Sciences**, v. 125, p. 1115-1121, 2013.

OLIVEIRA, D. M. T. Morfologia comparada de plântulas e plantas jovens de leguminosas arbóreas nativas: espécies de *Phaseoleae*, *Sophoreae*, *Swartzieae* e *Tephrosea*. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 24, p. 85-97, 2001.

OLIVEIRA, M. F.; LEMOS, T. L. G.; MATTOS, M. C.; SEGUNDO, T. A.; SANTIAGO, G. M. P.; BRAZ-FILHO, R. New enamines derivatives of lapachol and biological activity. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 74, p. 211-221, 2002.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S.; VYVYAN, J. R. **Introdução à espectroscopia**. 4ª Ed. São Paulo: Cengage Learning Edições Ltda., 2010.

PERES, L. E. P. **Metabolismo secundário**. São Paulo, 2004. Disponível em: <http://www2.ufpel.edu.br/biotecnologia/gbiotec/site/content/paginadoprofessor/upload_sprofessor/ce5449dfcf0e02f741a5af86c3c5ae9a.pdf?PHPSESSID=e32d8df36f08f86ef80010a253f33762>. Acesso em: 3 dez. 2013.

PETTIT, G. R.; NUMATA, A.; IWAMOTO, C.; USAMI, Y.; YAMADA, T.; OHISHI, H.; CRAG, G. M. Antineoplastic agents. Isolation and structures of Bauhiniastatins 1 – 4 from *Bauhinia purpurea*. **Journal of Natural Products**, v. 69, p. 323-327, 2006.

POLSON, K. A.; BROGDON, W. G.; RAWLINS, S. C.; CHADEE, D. D. Characterization of insecticide resistance in Trinidadian strains of *Aedes aegypti* mosquitoes. **Acta Tropica**, v. 117, p. 31-38, 2011.

QUEIROZ, L. P. **Leguminosas da Caatinga**. Feira de Santana: Universidade Estadual de Feira de Santana: Royal Botanic Gardens, Kew: Associação Plantas do Nordeste, 2009.

RAHMAN, M. S.; SALEHIN, M. F.; JAMAL, M.; PARVIN, A.; ALAM, M. K. Antibacterial activity of *Argemone mexicana* L. against waterborne microbes. **Research Journal of Medicinal Plant**, v. 5, p. 621-626, 2011.

RAJANI, G. P.; PURNIMA, A. In vitro antioxidant and antihyperlipidemic activities of *Bauhinia variegata* Linn. **Indian Journal of Pharmacology**, v. 41, p. 227-232, 2009.

RAJKAPOOR, B.; MURUGESH, N.; KRISHNA, D. R. Cytotoxic activity of flavanone from the stem of *Bauhinia variegata* Linn. **Natural Product Research**, v. 23, p. 1384-1389, 2009.

RAJKUMAR, S.; JEBANESAN, A. Chemical composition and larvicidal activity of leaf essential oil from *Clausena dentata* (Wild.) M. Roam. (Rutaceae) against the

chikungunya vector, *Aedes aegypti* Linn (Diptera: Culicidae). **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 13, p. 107-109, 2010.

REGASINI, L. O.; FERNANDES, D. C. ; CASTRO-GAMBOA, I.; SILVA, D. H. S.; FURLAN, M.; BOLZANI, V. S. Constituintes químicos das flores de *Pterogyne nitens* (Caesalpinioideae). **Química Nova**, v. 31, p. 802-806, 2008.

RODRIGUES, A. C. L. N.; VAZ, A. M. S. F. *Bauhinia albicans* e *B. affinis*: espécies ameaçadas de extinção no Estado do Rio de Janeiro. **Rodriguésia**, v. 59, p. 449-454, 2008.

ROSINSKI, V.; LISSI, E. A. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. **Food Chemistry**, v. 92, p. 235-254, 2005.

SANCHEZ-MORENO, C. Review: Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. **Food Science and Technology International**, v. 8, p. 121-137, 2002.

SAYAGO, C. T. M.; CAMARGO, V. B.; BARBOSA, F.; GULARTE, C.; PEREIRA, G.; MIOTTO, S.; CECHINEL FILHO, V.; LUIZ, P. R.; FOLMER, V.; MENDZ, A. Chemical composition and *in vitro* antioxidant activity of hydro-ethanolic extracts from *Bauhinia forficata* subsp. *pruinosa* and *B. variegata*. **Acta Biologica Hungarica**, v. 64, p. 21-33, 2013.

SENTHILKUMAR, A.; KANNATHASAN, K.; VENKATESALU. Chemical constituents and larvicidal property of the essential oil of *Blumea mollis* (D. Don) Merr. against *Culex quinquefasciatus*. **Parasitology Research**, v. 103, p. 959-962, 2008.

SEO, S-M.; PARK, H-M.; PARK, I-K. Larvicidal activity of ajowan (*Trachyspermum ammi*) and Peru balsam (*Myroxylon pereira*) oils and blends of their constituents against mosquito, *Aedes aegypti*, acute toxicity on water flea, *Daphnia magna*, and aqueous residue. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, p. 5909-5914, 2012.

SHANG, X-Y.; LI, S.; WANG, S-J.; YANG, Y-C.; SHI, J-G. Dihydroflavonol glycosides and flavan-3-ols from *Bauhinia aurea*. **China Journal of Chinese Materia Medica**, v. 32, p. 815-818, 2007.

SIKORA, E.; CIELISK, E.; LESZCZYNSKA, T.; FILIPIAK-FLORKIWUACZ, A.; PISULEWSKI, P. M. The antioxidant activity of selected cruciferous vegetables subjected to aquathermal processing. **Food Chemistry**, v. 107, p. 50-55, 2008.

SIMAS, N. K.; DELLAMORA, E. C. L.; SCHRIPSEMA, J.; LAGE, C. L. S.; DE OLIVEIRA FILHO, A. M.; WESSJOHANN, L.; PORZEL, A.; KUSTER, R. M. Acetylenic 2-phenylethylamides and new isobutylamides from *Acmella oleracea* (L.) R. K. Jansen, a brazilian spice with larvicidal activity on *Aedes aegypti*. **Phytochemistry Letters**, v. 6, p. 67-72, 2013.

SLOWING, K.; SOLLHUBER, M.; CARRETERO, E.; VILLAR, A. Flavonoid glycosides from *Eugenia jambos*. **Phytochemistry**, v. 37, p. 255-258, 1994.

- SUKARI, M. A.; NOOR, H. S. M.; BAKAR, A. N. H.; Ee, G. C. L.; ISMAIL, I. S.; RAHMANI, M.; ABDUL, A. B. Larvicidal carbazole alkaloids from *Murraya koenigii* against dengue fever mosquito *Aedes aegypti* Linnaeus. **Asian Journal of Chemistry**, v. 25, p. 7719-7721, 2013.
- TAIPE, G. M.; LA ROSA, T. G. A.; CAYCHO, J. R. Eletrochemical evaluation of the antioxidant of alcoholic extract from *Bauhinia guianensis* var. *kuntiana* Aubl. **Revista de la Sociedad Quimica del Peru**, v. 74, p. 233-246, 2008.
- TAKASUGI, M.; KAWASHIMA, S.; MONDE, K.; KATSUI, N.; MASAMUNE, T.; SHIRATA, A. Antifungal compounds from *Dioscorea batatas* inoculated with *Pseudomonas cichorii*. **Phytochemistry**, v. 26, p. 371-375, 1987.
- TEIXEIRA, M. A.; ANDRADE NETO, M.; BARBOSA, F. G.; SOUSA, A. H.; RIOS, J. B.; LIMA, L. B.; SILVA, M. G. V. Avaliação do potencial antioxidante de plantas do gênero *Bauhinia*. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 32, 2009, Fortaleza, **Resumo Expandido**, Fortaleza, 2009. CD-ROM.
- THANAWUTH, P.; BOONCHOO, S.; KITTISAK, L. New phenolic compounds from *Dendrobium cappilipes* and *Dendrobium secundum*. **Journal of Asian Natural Products Research**, v. 14, p. 748-754, 2012.
- VASCONCELOS, J. N.; SANTIAGO, G. M. P.; LIMA, J. Q.; MAFEZOLI, J.; DE LEMOS, T. L. G.; DA SILVA, F. R. L.; LIMA, M. A. S.; PIMENTA, A. T. A.; BRAZ-FILHO, R.; ARRIAGA, A. M. C.; CESARIN-SOBRINHO, D. Rotenoids from *Tephrosia toxicaria* with larvicidal activity against *Aedes aegypti*, the main vector of dengue fever. **Química Nova**, v. 35, p. 1097-1100, 2012.
- VAZ, A. M. S. F.; TOZZI, A. M. G. A. *Bauhinia* ser. *Cansenia* (Leguminosae: Caesalpinioideae no Brasil). **Rodriguésia**, v. 54, p. 55-143, 2003.
- VIMALADEV, S; MAHESHA, A.; DHAYANITHI, B. N.; KARTHIKEYAN, N. Mosquito larvicidal efficacy of phenolic acids of seaweed *Chaetomorpha antennina* (Bory) Kuetz. against *Aedes aegypti*. **Biologia**, v. 67, p. 212-216, 2012.
- WALIWITIYA, R.; KENNEDY, C. J.; LOWENBERGER, C. A. Larvicidal and oviposition-altering activity of monoterpenoids, *trans*-anethole and rosemary oil to the yellow fever mosquito *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Pest Management Science**, v. 65, p. 241-248, 2009.
- WANG, Z.; KIM, J.-R.; WANG, M.; SHU, S.; AHN, Y.-J. Larvicidal activity of *Cnidium monnieri* fruit coumarins and structurally related compounds against insecticide-susceptible and insecticide-resistant *Culex pipiens pallens* and *Aedes aegypti*. **Pest Management Science**, v. 68, p. 1041-1047, 2012.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION WHO/Dengue and severe dengue. **Fact sheet 117**, 2014. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs117/en/>> Acesso em: 22 Ago. 2014.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Cancer**, 2014. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/cancer/en/>> Acesso em: 30 Jul. 2014.

WU, Q. X.; WEI, Q. Y.; SHI, Y. P. Sesquiterpenes with various carbon skeletons from *Ligularia virgaurea* spp. *oligocephala*. **Pharmazie**, v. 61, p. 241-243, 2006.

XIAO, K.; ZHANG, H. J.; XUAN, L. J.; ZHANG, J.; XU, Y. M.; BAI, D. L. Stilbenoids: Chemistry and bioactivities. **Studies in Natural Products Chemistry**, Atta-ur-Rahman (Ed.), v. 34, p. 469, 2008.

XIAO-KU, R. XIAO-TONG, W.; PEI-PEI, L.; YU-XIN, C.; BO-JIA, W.; DE-QIANG, D.; TING-GUO, K.; WEI, X. Cytotoxic constituents from leaves of *Broussonetia papyrifera*. **Zhongguo Tianran Yaowu**, v. 11, p. 269-273, 2013.

YANG, W.; SHU-HONG, G.; YU-HI, M.; YI-BEI, Z.; CHUN-RU, C.; YANG-YANG, S.; RUI-HONG, F.; FENG, Z.; ZHI-YUAN, W.; JING-XIAN, Z. Phenanthrenes 9,10-dihydrophenanthrenes, bibenzyls with their derivatives and malate or tartrate benzyl ester glucosides from tubers of *Cremastra appendiculata*. **Phytochemistry**, v. 94, p. 268-276, 2013.

YOUNG, H. P.; KAZAFUMI, T.; MIDORI, A. A.; TAKASHI, K.; THAWORN, K.; MASAMI, I.; β -sitosterol and flavonoids isolated from *Bauhinia malabarica* found during screening for Wnt signaling inhibitory activity. **Journal of Natural Medicines**, v. 68, p. 242-245, 2014.

YUELONG, C.; LING, T.; BAOMIN, F.; LIYING, S.; HUIGUO, W.; YONGGI, W. New bibenzyl glycosides from leaves of *Camellia oleifera* Abel. with cytotoxic activities. **Fitoterapia**, v. 82, p. 481-484, 2011.

YUENYONGSAWAD, S.; BUNLUEPUECH, K.; WATTANAPIROMSAKUL, C.; TEWTRAKUL, S. Anti-cancer activity of compounds from *Bauhinia strychnifolia* stem. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 150, p. 765-769, 2013.

ZHAO, Y.; CUI, C.; CAI, B.; HAN, B.; SUN, Q. Study on the constituents with anticancer activities of alkaloids from *Bauhinia variegata* L. **Zhongguo Yaowu Huaxue Zazhi**, v. 14, p. 169-171, 2004.

ZIMMERMANN, T. G.; BEGNINI, R. M.; CASTELLANI, T. T.; LOPES, B. C.; REIS, A. Consumo e dispersão de sementes de *Mucuna urens* (Fabaceae) em floresta atlântica no sul do Brasil. **Rodriguésia**, v. 63, p. 1139-1145, 2012.