



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

MACIA CLEANE SOARES DE ALMEIDA

**CONTRIBUIÇÃO AO CONHECIMENTO QUÍMICO DE PLANTAS
MEDICINAIS DO NORDESTE: *Bauhinia pentandra* (BONG.) D.DIETR. E
Bauhinia monandra KURZ**

FORTALEZA
2015

MACIA CLEANE SOARES DE ALMEIDA

**CONTRIBUIÇÃO AO CONHECIMENTO QUÍMICO DE PLANTAS
MEDICINAIS DO NORDESTE: *Bauhinia pentandra* (BONG.) D.DIETR. E
Bauhinia monandra KURZ**

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

Orientadora: Profa. Dra. Telma Leda Gomes de Lemos

Co-orientador: Prof. Dr. Raimundo Braz-Filho

FORTALEZA

2015

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

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

- A449c Almeida, Macia Cleane Soares de.
Contribuição ao conhecimento químico de plantas medicinais do Nordeste: Bauhinia pentandra (Bong.) D.Dietr. e Bauhinia monandra Kurz / Macia Cleane Soares de Almeida. – 2015.
258 f. : il. color.
- Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Programa de Pós-Graduação em Química, Fortaleza, 2015.
Orientação: Profa. Dra. Telma Leda Gomes de Lemos.
Coorientação: Prof. Dr. Raimundo Braz-Filho.
1. Bauhinia pentandra. 2. Bauhinia monandra. 3. Cianoglicosídeos. I. Título.

CDD 540

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.

Macia Cleane Soares de Almeida
Macia Cleane Soares de Almeida

Tese aprovada em: 29/10/2015.

Francisco José Queiroz Monte
Dr. Francisco José Queiroz Monte
(Presidindo-UFC)

Angela Martha Campos Arriaga
Dra. Angela Martha Campos Arriaga
(UFC)

Gilvandete Maria Pinheiro Santiago
Dra. Gilvandete/Maria Pinheiro Santiago
(UFC)

João Carlos da Costa Assunção
Dr. João Carlos da Costa Assunção
(UFCE)

Maria Teresa Salles Trevisan
Dra. Maria Teresa Salles Trevisan
(UFC)

A Deus.

Aos meus pais.

A minha filha.

Ao meu esposo.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus pela vida e por todas as bênçãos recebidas.

Aos meus pais, Francisco e Penha que, com muito carinho e apoio, não mediram esforços para que eu chegasse até esta etapa de minha vida. Ao meu esposo Márcio Henrique, pelo amor e companheirismo, e a minha filha Júlia, meu bem mais precioso. Aos meus irmãos, Márcio e Flávio, e a toda minha família.

À Profa. Telma Leda Gomes de Lemos, pela orientação, dedicação e paciência que tornaram possível a conclusão deste trabalho.

Ao Prof. Raimundo Braz-Filho pela co-orientação e valiosa contribuição na elucidação das estruturas.

Ao Prof. Francisco José Queiroz Monte pelos ensinamentos e, principalmente, por ter aceitado ser presidente da banca, substituindo a Profa. Telma que não estará presente.

Aos membros da banca examinadora, pelo aceite e indispensável contribuição a este trabalho.

Aos Professores do Curso de Pós-Graduação em Química que contribuíram para a minha formação profissional.

Aos Professores Geraldo e Teresa, e as suas alunas, Roberta e Irvila, pela realização dos testes biológicos.

Aos colegas da turma de Doutorado pela amizade e horas dedicadas aos estudos.

Aos amigos do laboratório: Daniele, Luciana, Patrícia, Juliana, Felipe, André, Gisele, Romézio, Iolanda, Rafaela, Bruna, Emerson, pelo apoio, amizade, momentos de descontração e, principalmente, pela ajuda indispensável todos os momentos que precisei. Aos que já concluíram o curso, mas que também contribuíram para o meu aprendizado, e não poderia deixar de esquecer, Leo, Bertini, Ayla e Anderson.

À CAPES e ao CNPq pela bolsa concedida.

À CAPES, CNPq, FUNCAP e PRONEX pelo apoio financeiro.

Aos funcionários e a todos que, de alguma forma, contribuíram para a conclusão deste trabalho.

RESUMO

Este trabalho descreve a investigação fitoquímica das espécies *Bauhinia pentandra* (Bong.) D.Dietr. e *Bauhinia monandra* Kurz, pertencentes à família Fabaceae. A composição química do óleo essencial das folhas secas e frescas de *B. pentandra*, obtidos por hidrodestilação e microextração em fase sólida (MEFS), foi determinada por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG-EM). O constituinte majoritário do óleo obtido pela técnica de hidrodestilação foi o β -cariofileno nas folhas secas, e o fitol nas frescas, enquanto que o composto majoritário do óleo obtido pela técnica MEFS foi o β -cariofileno nas folhas secas, e os salicilatos de 2-etilhexila e de homomentila nas frescas. Os ácidos graxos presentes nos extratos hexânicos foram identificados por CG-EM, apresentando como componentes majoritários os ácidos palmítico, linolênico e esteárico em *B. pentandra* e os ácidos linolênico e linoléico em *B. monandra*. O estudo químico do extrato etanólico das folhas de *B. pentandra* possibilitou o isolamento e a caracterização de misturas de ácidos graxos (palmítico e esteárico), esteroides (sitosterol e estigmasterol), derivados do ácido fenilacético (ácido 2,4-diidroxifenilacético, 2,4-diidroxifenilacetato de etila e 2,4-diidroxifenilacetato de metila), além de uma mistura de 6-hidroxibenzofuran-2(3H)-ona e 1-(3',4'-dimetoxifenil)-2-propanol, e uma mistura de um cianoglicosídeo (dasicarponina) e um glicopiranosídeo de etila. Foi isolado e caracterizado, também, um derivado metilado do inositol ((+)-3-O-metil-D-*quiro*-inositol) e duas lactonas, 7-*epi*-grifonilida (inérita) e dasicarponilida. Do extrato etanólico das folhas de *B. monandra* foram isolados e identificados o palmitato de etila e estearato de etila em mistura, o α -tocoferol (vitamina-E), o diterpeno fitol e dois cianoglicosídeos, (2*R*,3*S*,4*R*,5*R*,6*S*)-(Z)-6-(β -D-glicopiranosiloxi)-2,3,4,5-tetraidroxiciclohexilideno- $\Delta^{1,\alpha}$ -acetonitrila (inérito) e didemetilsimmondsina. Os compostos foram isolados por técnicas cromatográficas clássicas e CLAE, e suas estruturas foram determinadas através de análise espectroscópica (RMN ^1H , RMN ^{13}C , IV e EM), além de comparação com dados da literatura. Os extratos foram avaliados quanto ao teor de fenóis totais, atividade antioxidante, nematicida e anticolinesterásica.

Palavras-chave: *Bauhinia pentandra*. *Bauhinia monandra*. Cianoglicosídeos.

ABSTRACT

This work describes the phytochemical investigation of the species *Bauhinia pentandra* (Bong.) D.Dietr. and *Bauhinia monandra* Kurz, belonging to the Fabaceae family. The chemical composition of the essential oil from the leaves dried and fresh *B. pentandra*, obtained by hydrodistillation and solid phase microextraction (SPME), was determined by GC/MS. The major constituent of the oil obtained from the hydrodistillation technique was β -caryophyllene in the dried leaves, and phytol in the fresh ones, whereas the major compound of the oil obtained by SPME technique was β -caryophyllene in the dried leaves, and 2-ethylhexyl and homomenthyl salicylates in the fresh ones. The fatty acids present in the hexanic extracts were identified by GC/MS, presenting as major components palmitic, linolenic and stearic acids in *B. pentandra* and linolenic and linoleic acids in *B. monandra*. The chemical study of the ethanol extract of leaves of *B. pentandra* allowed the isolation and characterization of mixtures of fatty acids (palmitic and stearic), steroids (sitosterol and stigmasterol), phenylacetic acid derivatives (2,4-dihydroxyphenylacetic acid, 2,4-dihydroxyphenylacetic acid ethyl ester and 2,4-dihydroxyphenylacetic acid methyl ester), plus a mix of 6-hydroxybenzofuran-2(3H)-one and 1-(3',4'-dimethoxyphenyl)-2-propanol, and a mixture of a cyanoglucoside (dasycarponin) and ethyl glucopyranoside. It was isolated and characterized also a methyl inositol derivative ((+)-3-O-methyl-D-*chiro*-inositol) and two lactones, 7-*epi*-griffonilide (not described) and dasycarponilide. In ethanolic extract of leaves of *B. monandra* were isolated and identified the ethyl palmitate and ethyl stearate in mixture, the α -tocopherol (vitamin E), the diterpene (phytol) and two cyanoglucosides, (2R,3S,4R,5R,6S)-(Z)-6-(β -D-glucopyranosiloxy)-2,3,4,5-tetrahydroxycyclohexylidene- $\Delta^{1,\alpha}$ acetonitrile (unpublished) and didemethylsimmondsin. The compounds were isolated by classic chromatographic techniques and HPLC, and their structures were determined by spectroscopic analysis (^1H NMR, ^{13}C NMR, FT-IR and MS), as well as compared with data from the literature. The extracts were evaluated as total phenols content, antioxidant activity, nematicide and anticholinesterase.

Keywords: *Bauhinia pentandra*. *Bauhinia monandra*. Cyanoglucosides.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Características morfológicas do gênero <i>Bauhinia</i>	26
Figura 2 Fotografia da espécie <i>Bauhinia pentandra</i> (Bong.) D.Dietr.	27
Figura 3 Fotografia da espécie <i>Bauhinia monandra</i> Kurz.	27
Figura 4 Cromatograma do óleo essencial das folhas secas de <i>B. pentandra</i> obtido por hidrodestilação	70
Figura 5 Cromatograma do óleo essencial das folhas frescas de <i>B. pentandra</i> obtido por hidrodestilação	71
Figura 6 Espectro de massas do timol	71
Figura 7 Espectro de massas da (<i>E</i>)- β -damascenona	71
Figura 8 Espectro de massas do β -elemeno	72
Figura 9 Espectro de massas do β -cariofileno	72
Figura 10 Espectro de massas do α -humuleno	72
Figura 11 Espectro de massas do germacreno D	72
Figura 12 Espectro de massas do elixeno	73
Figura 13 Espectro de massas do cupareno	73
Figura 14 Espectro de massas do espatulenol	73
Figura 15 Espectro de massas do óxido de cariofileno	73
Figura 16 Espectro de massas do fitol	74
Figura 17 Cromatograma do óleo essencial das folhas secas de <i>B. pentandra</i> obtido por MEFS	77
Figura 18 Cromatograma do óleo essencial das folhas frescas de <i>B. pentandra</i> obtido por MEFS	78
Figura 19 Espectro de massas do (<i>E</i>)-2-hexenal	78
Figura 20 Espectro de massas do (<i>E</i>)-3-hexenol	78
Figura 21 Espectro de massas do D-limoneno	79
Figura 22 Espectro de massas do (<i>Z</i>)- β -ocimeno	79
Figura 23 Espectro de massas do nonanal	79
Figura 24 Espectro de massas do decanal	79
Figura 25 Espectro de massas do β -cariofileno	80
Figura 26 Espectro de massas do α -humuleno	80
Figura 27 Espectro de massas do germacreno D	80
Figura 28 Espectro de massas do elixeno	80
Figura 29 Espectro de massas do salicilato de 2-etilhexila	81
Figura 30 Espectro de massas do salicilato de homomentila	81
Figura 31 Cromatograma do óleo fixo das folhas de <i>B. pentandra</i>	84
Figura 32 Cromatograma do óleo fixo das folhas de <i>B. monandra</i>	85
Figura 33 Espectro de massas do dodecanoato de metila	85
Figura 34 Espectro de massas do tetradecanoato de metila	85
Figura 35 Espectro de massas do 9(<i>Z</i>)-hexadecanoato de metila	86
Figura 36 Espectro de massas do hexadecanoato de metila	86
Figura 37 Espectro de massas do heptadecanoato de metila	86
Figura 38 Espectro de massas do 9,12(<i>Z,Z</i>)-octadecadienoato de metila	86
Figura 39 Espectro de massas do 9,12,15(<i>Z,Z,Z</i>)-octadecatrienoato de metila	87
Figura 40 Espectro de massas do octadecanoato de metila	87
Figura 41 Espectro de massas do 18-metilnonadecanoato de metila	87
Figura 42 Espectro de massas do docosanoato de metila	87
Figura 43 Espectro de massas do tetracosanoato de metila	88

Figura 44 Espectro na região do infravermelho de BP-1.....	91
Figura 45 Espectro de RMN ^1H [300 MHz, CDCl_3] de BP-1	91
Figura 46 Espectro de RMN ^{13}C -CPD [75 MHz, CDCl_3] de BP-1	92
Figura 47 Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° [75 MHz, CDCl_3] de BP-1.....	92
Figura 48 Cromatograma obtido por CG-EM para BP-1	93
Figura 49 Espectro de massas do componente com TR 17,966 min: BP-1A (ácido palmítico)	93
Figura 50 Espectro de massas do componente com TR 19,113 min: BP-1B (ácido esteárico).....	93
Figura 51 Espectro na região do infravermelho de BP-2.....	97
Figura 52 Espectro de RMN ^1H [300 MHz, CDCl_3] de BP-2.....	97
Figura 53 Expansão do espectro de RMN ^1H [300 MHz, CDCl_3] de BP-2.....	98
Figura 54 Espectro de RMN ^{13}C -CPD [75 MHz, CDCl_3] de BP-2.....	98
Figura 55 Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° [75 MHz, CDCl_3] de BP-2.....	99
Figura 56 Correlações observadas no espectro de RMN 2D ^1H , ^1H -COSY para BP-3	101
Figura 57 Correlações observadas no espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HMBC para BP-3	102
Figura 58 Espectro na região do infravermelho de BP-3.....	105
Figura 59 Espectro de RMN ^1H [300 MHz, CDCl_3] de BP-3.....	105
Figura 60 Expansão do espectro de RMN ^1H [300 MHz, CDCl_3] de BP-3.....	106
Figura 61 Espectro de RMN ^{13}C -CPD [75 MHz, CDCl_3] de BP-3.....	106
Figura 62 Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° [75 MHz, CDCl_3] de BP-3.....	107
Figura 63 Espectro de RMN 2D ^1H , ^1H -COSY [300 x 300 MHz, CDCl_3] de BP-3	107
Figura 64 Espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HSQC [300 x 75 MHz, CDCl_3] de BP-3	108
Figura 65 Espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HMBC [300 x 75 MHz, CDCl_3] de BP-3	108
Figura 66 Expansão do espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HMBC [300 x 75 MHz, CDCl_3] de BP-3	109
Figura 67 Espectro de massas de alta resolução (modo negativo) de BP-3A	109
Figura 68 Espectro de massas de alta resolução (modo negativo) de BP-3B	109
Figura 69 Espectro de massas de alta resolução (modo negativo) de BP-3C	110
Figura 70 Proposta mecanística que justifica fragmentos registrados nos espectros de massas de alta resolução de BP-3A, BP-3B e BP-3C	110
Figura 71 CG-EM de BP-3 (Cromatograma, espectros de massas e propostas de fragmentação para os componentes BP-3A, BP-3B e BP-3C).....	111
Figura 72 Correlações observadas no espectro de RMN 2D ^1H , ^1H -COSY para BP-4	114
Figura 73 Correlações observadas no espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HMBC para BP-4	114
Figura 74 Espectro na região do infravermelho de BP-4.....	117
Figura 75 Espectro de RMN ^1H [300 MHz, CD_3OD] de BP-4	117
Figura 76 Expansão do espectro de RMN ^1H [300 MHz, CD_3OD] de BP-4....	118
Figura 77 Espectro de RMN ^{13}C -CPD [75 MHz, CD_3OD] de BP-4.....	118
Figura 78 Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° [75 MHz, CD_3OD] de BP-4.....	119
Figura 79 Espectro de RMN 2D ^1H , ^1H -COSY [300 x 300 MHz, CD_3OD] de BP- 4	119

Figura 80 Espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HSQC [300 x 75 MHz, CD_3OD] de BP-4	120
Figura 81 Espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HMBC [300 x 75 MHz, CD_3OD] de BP-4	120
Figura 82 Correlações observadas no espectro de RMN 2D ^1H , ^1H -COSY para BP-5	122
Figura 83 Correlações observadas no espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HMBC para BP-5	123
Figura 84 Correlações observadas no espectro de RMN 2D ^1H , ^1H -NOESY para BP-5	123
Figura 85 Espectro na região do infravermelho de BP-5	126
Figura 86 Espectro de RMN ^1H [300 MHz, CD_3OD] de BP-5	126
Figura 87 Espectro de RMN ^{13}C -CPD [75 MHz, CD_3OD] de BP-5	127
Figura 88 Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° [75 MHz, CD_3OD] de BP-5	127
Figura 89 Espectro de RMN 2D ^1H , ^1H -COSY [300 x 300 MHz, CD_3OD] de BP-5	128
Figura 90 Espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HSQC [300 x 75 MHz, CD_3OD] de BP-5	128
Figura 91 Espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HMBC [300 x 75 MHz, CD_3OD] de BP-5	129
Figura 92 Espectro de RMN 2D ^1H , ^1H -NOESY [300 x 300 MHz, CD_3OD] de BP-5	129
Figura 93 Espectro de massas de alta resolução (modo positivo) de BP-5	130
Figura 94 Proposta mecanística que justifica fragmentos registrados no espectro de massas de alta resolução de BP-5	130
Figura 95 Correlações observadas no espectro de RMN 2D ^1H , ^1H -COSY para BP-6	132
Figura 96 Correlações observadas no espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HMBC para BP-6	133
Figura 97 Interação spin-spin pseudo <i>axial-axial</i> entre H-7 e H-8 de BP-6	134
Figura 98 Espectro na região do infravermelho de BP-6	136
Figura 99 Espectro de RMN ^1H [300 MHz, CD_3OD] de BP-6	136
Figura 100 Espectro de RMN ^{13}C -CPD [75 MHz, CD_3OD] de BP-6	137
Figura 101 Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° [75 MHz, CD_3OD] de BP-6	137
Figura 102 Espectro de RMN 2D ^1H , ^1H -COSY [300 x 300 MHz, CD_3OD] de BP-6	138
Figura 103 Espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HSQC [300 x 75 MHz, CD_3OD] de BP-6	138
Figura 104 Espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HMBC [300 x 75 MHz, CD_3OD] de BP-6	139
Figura 105 Espectro de RMN 2D ^1H , ^1H -NOESY [300 x 300 MHz, CD_3OD] de BP-6	139
Figura 106 Espectro de massas de alta resolução (modo positivo) de BP-6	140
Figura 107 Proposta mecanística que justifica os principais fragmentos registrados no espectro de massas de alta resolução de BP-6	140
Figura 108 Correlações observadas no espectro de RMN 2D ^1H , ^1H -COSY para BP-7	142
Figura 109 Correlações observadas no espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HMBC para BP-7B	143

Figura 110 Correlações observadas no espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HMBC para BP-7A.....	143
Figura 111 Espectro na região do infravermelho de BP-7.....	146
Figura 112 Espectro de RMN ^1H [500 MHz, CD_3OD] de BP-7	146
Figura 113 Expansão do espectro de RMN ^1H [500 MHz, CD_3OD] de BP-7..	147
Figura 114 Expansão do espectro de RMN ^1H [500 MHz, CD_3OD] de BP-7..	147
Figura 115 Espectro de RMN ^{13}C -CPD [125 MHz, CD_3OD] de BP-7	148
Figura 116 Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° [125 MHz, CD_3OD] de BP-7...	148
Figura 117 Espectro de RMN 2D ^1H , ^1H -COSY [500 x 500 MHz, CD_3OD] de BP-7	149
Figura 118 Expansão do espectro de RMN 2D ^1H , ^1H -COSY [500 x 500 MHz, CD_3OD] de BP-7	149
Figura 119 Espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HSQC [500 x 125 MHz, CD_3OD] de BP-7	150
Figura 120 Expansão do espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HSQC [500 x 125 MHz, CD_3OD] de BP-7	150
Figura 121 Expansão do espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HSQC [500 x 125 MHz, CD_3OD] de BP-7	151
Figura 122 Espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HMBC [500 x 125 MHz, CD_3OD] de BP-7	151
Figura 123 Expansão do espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HMBC [500 x 125 MHz, CD_3OD] de BP-7	152
Figura 124 Expansão do espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HMBC [500 x 125 MHz, CD_3OD] de BP-7	152
Figura 125 Expansão do espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HMBC [500 x 125 MHz, CD_3OD] de BP-7	153
Figura 126 Espectro de massas de alta resolução (modo positivo) de BP-7 .	153
Figura 127 Proposta mecanística que justifica os principais fragmentos registrados no espectro de massas de alta resolução de BP-7A	154
Figura 128 Proposta mecanística que justifica os principais fragmentos registrados no espectro de massas de alta resolução de BP-7B	154
Figura 129 Correlações observadas no espectro de RMN 2D ^1H , ^1H -COSY para BP-8	156
Figura 130 Correlações observadas no espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HMBC para BP-8	157
Figura 131 Correlações observadas no espectro de RMN 2D ^1H , ^1H -NOESY para BP-8	157
Figura 132 Espectro na região do infravermelho de BP-8.....	160
Figura 133 Espectro de RMN ^1H [300 MHz, CD_3OD] de BP-8	160
Figura 134 Expansão do espectro de RMN ^1H [300 MHz, CD_3OD] de BP-8..	161
Figura 135 Expansão do espectro de RMN ^1H [300 MHz, CD_3OD] de BP-8..	161
Figura 136 Espectro de RMN ^{13}C -CPD [75 MHz, CD_3OD] de BP-8	162
Figura 137 Expansão do espectro de RMN ^{13}C -CPD [75 MHz, CD_3OD] de BP-8	162
Figura 138 Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° [75 MHz, CD_3OD] de BP-8.....	163
Figura 139 Espectro de RMN 2D ^1H , ^1H -COSY [300 x 300 MHz, CD_3OD] de BP-8	163
Figura 140 Expansão do espectro de RMN 2D ^1H , ^1H -COSY [300 x 300 MHz, CD_3OD] de BP-8	164

Figura 141 Espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HSQC [300 x 75 MHz, CD_3OD] de BP-8	164
Figura 142 Expansão do espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HSQC [300 x 75 MHz, CD_3OD] de BP-8	165
Figura 143 Espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HMBC [300 x 75 MHz, CD_3OD] de BP-8	165
Figura 144 Expansão do espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HMBC [300 x 75 MHz, CD_3OD] de BP-8	166
Figura 145 Expansão do espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HMBC [300 x 75 MHz, CD_3OD] de BP-8	166
Figura 146 Espectro de RMN 2D ^1H , ^1H -NOESY [300 x 300 MHz, CD_3OD] de BP-8	167
Figura 147 Espectro de massas de alta resolução (modo positivo) de BP-8 .	167
Figura 148 Espectro na região do infravermelho de BM-1	170
Figura 149 Espectro de RMN ^1H [300 MHz, CDCl_3] de BM-1	170
Figura 150 Espectro de RMN ^{13}C -CPD [75 MHz, CDCl_3] de BM-1	171
Figura 151 Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° [75 MHz, CDCl_3] de BM-1	171
Figura 152 Expansão do espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° [75 MHz, CDCl_3] de BM-1.....	172
Figura 153 Cromatograma obtido por CG-EM para BM-1	172
Figura 154 Espectro de massas do componente com TR 11,463 min: BM-1A (palmitato de etila).....	173
Figura 155 Espectro de massas do componente com TR 12,364 min: BM-1B (estearato de etila)	173
Figura 156 Espectro na região do infravermelho de BM-2	176
Figura 157 Espectro de RMN ^1H [300 MHz, CDCl_3] de BM-2	176
Figura 158 Expansão do espectro de RMN ^1H [300 MHz, CDCl_3] de BM-2... ..	177
Figura 159 Espectro de RMN ^{13}C -CPD [75 MHz, CDCl_3] de BM-2	177
Figura 160 Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° [75 MHz, CDCl_3] de BM-2	178
Figura 161 Expansão do espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° [75 MHz, CDCl_3] de BM-2.....	178
Figura 162 Espectro de massas de BM-2	179
Figura 163 Proposta mecanística que justifica fragmentos registrados no espectro de massas de baixa resolução de BM-2.....	179
Figura 164 Correlações observadas no espectro de RMN 2D ^1H , ^1H -COSY para BM-3.....	181
Figura 165 Correlações observadas no espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HMBC para BM-3.....	181
Figura 166 Espectro de RMN ^1H [300 MHz, CDCl_3] de BM-3	183
Figura 167 Espectro de RMN ^{13}C -CPD [75 MHz, CDCl_3] de BM-3	183
Figura 168 Expansão do espectro de RMN ^{13}C -CPD [75 MHz, CDCl_3] de BM-3	184
Figura 169 Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° [75 MHz, CDCl_3] de BM-3	184
Figura 170 Espectro de RMN 2D ^1H , ^1H -COSY [300 x 300 MHz, CDCl_3] de BM-3	185
Figura 171 Expansão do espectro de RMN 2D ^1H , ^1H -COSY [300 x 300 MHz, CDCl_3] de BM-3.....	185
Figura 172 Espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HSQC [300 x 75 MHz, CDCl_3] de BM-3	186

Figura 173 Expansão do espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HSQC [300 x 75 MHz, CDCl_3] de BM-3.....	186
Figura 174 Espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HMBC [300 x 75 MHz, CDCl_3] de BM-3	187
Figura 175 Expansão do espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HMBC [300 x 75 MHz, CDCl_3] de BM-3.....	187
Figura 176 Espectro de massas de BM-3	188
Figura 177 Proposta mecanística que justifica fragmentos registrados no espectro de massas de baixa resolução de BM-3.....	188
Figura 178 Correlações observadas no espectro de RMN 2D ^1H , ^1H -COSY para BM-4.....	191
Figura 179 Correlações observadas no espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HMBC para BM-4.....	191
Figura 180 Correlações observadas no espectro de RMN 2D ^1H , ^1H -NOESY para BM-4.....	192
Figura 181 Principais acoplamentos dipolares detectados no experimento NOE Seletivo	193
Figura 182 Espectro na região do infravermelho de BM-4	195
Figura 183 Espectro de RMN ^1H [500 MHz, CD_3OD] de BM-4	195
Figura 184 Expansão do espectro de RMN ^1H [500 MHz, CD_3OD] de BM-4 ..	196
Figura 185 Espectro de RMN ^{13}C -CPD [125 MHz, CD_3OD] de BM-4	196
Figura 186 Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° [125 MHz, CD_3OD] de BM-4 ..	197
Figura 187 Espectro de RMN 2D ^1H , ^1H -COSY [500 x 500 MHz, CD_3OD] de BM-4.....	197
Figura 188 Espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HSQC [500 x 125 MHz, CD_3OD] de BM-4.....	198
Figura 189 Expansão do espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HSQC [500 x 125 MHz, CD_3OD] de BM-4.....	198
Figura 190 Espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HMBC [500 x 125 MHz, CD_3OD] de BM-4.....	199
Figura 191 Expansão do espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HMBC [500 x 125 MHz, CD_3OD] de BM-4.....	199
Figura 192 Espectro de RMN 2D ^1H , ^1H -NOESY [300 x 300 MHz, CD_3OD] de BM-4.....	200
Figura 193 Expansão do espectro de RMN 2D ^1H , ^1H -NOESY [300 x 300 MHz, CD_3OD] de BM-4.....	200
Figura 194 Espectro de NOE Seletivo obtido por irradiação no hidrogênio em δ_{H} 3,97 (H-4) (CD_3OD , 300 MHz) de BM-4	201
Figura 195 Espectro de NOE Seletivo obtido por irradiação no hidrogênio em δ_{H} 4,08 (H-5) (CD_3OD , 300 MHz) de BM-4	201
Figura 196 Espectro de NOE Seletivo obtido por irradiação no hidrogênio em δ_{H} 4,72 (H-6) (CD_3OD , 300 MHz) de BM-4	202
Figura 197 Espectro de NOE Seletivo obtido por irradiação no hidrogênio em δ_{H} 5,75 (H-7) (CD_3OD , 300 MHz) de BM-4	202
Figura 198 Espectro de massas de alta resolução (modo positivo) de BM-4. 203	
Figura 199 Correlações observadas no espectro de RMN 2D ^1H , ^1H -COSY para BM-5.....	205
Figura 200 Correlações observadas no espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HMBC para BM-5.....	206
Figura 201 Estereoquímica relativa de BM-5	207

Figura 202 Espectro na região do infravermelho de BM-5	209
Figura 203 Espectro de RMN ^1H [300 MHz, CD_3OD] de BM-5	209
Figura 204 Espectro de RMN ^{13}C -CPD [75 MHz, CD_3OD] de BM-5	210
Figura 205 Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° [75 MHz, CD_3OD] de BM-5	210
Figura 206 Espectro de RMN 2D ^1H , ^1H -COSY [300 x 300 MHz, CD_3OD] de BM-5.....	211
Figura 207 Espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HSQC [300 x 75 MHz, CD_3OD] de BM-5.....	211
Figura 208 Espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HMBC [300 x 75 MHz, CD_3OD] de BM-5.....	212
Figura 209 Expansão do espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HMBC [300 x 75 MHz, CD_3OD] de BM-5.....	212
Figura 210 Espectro de massas de alta resolução (modo positivo) de BM-5.	213
Figura 211 Cromatograma da substância BP-4	231
Figura 212 Cromatograma das substâncias BP-5 e BP-6.....	232
Figura 213 Cromatograma das substâncias BP-7 e BP-8.....	234
Figura 214 Cromatograma das substâncias BM-1 e BM-2.....	240
Figura 215 Cromatograma das substâncias BM-4 e BM-5.....	242
Figura 216 Estruturas do DPPH, Trolox e Vitamina-C	244

LISTA DE FLUXOGRAMAS

Fluxograma 1 Saponificação dos extratos hexânicos de <i>B. pentandra</i> e <i>B. monandra</i>	224
Fluxograma 2 Metilação dos ácidos graxos livres de <i>B. pentandra</i> e <i>B. monandra</i>	225
Fluxograma 3 Rota esquemática do isolamento das substâncias BP-1, BP-2, BP-3 e BP-4	235
Fluxograma 4 Rota esquemática do isolamento das substâncias BP-5 e BP-6	236
Fluxograma 5 Rota esquemática do isolamento das substâncias BP-7 e BP-8	237
Fluxograma 6 Rota esquemática do isolamento das substâncias BM-1, BM-2, BM-3, BM-4 e BM-5.....	243

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 Estruturas das substâncias isoladas de espécies de <i>Bauhinia</i>	48
Quadro 2 Constituintes do óleo essencial das folhas secas e frescas de <i>B. pentandra</i> obtido por hidrodestilação	70
Quadro 3 Constituintes do óleo essencial das folhas secas e frescas de <i>B. pentandra</i> obtido por MEFS	77
Quadro 4 Constituintes do óleo fixo das folhas de <i>B. pentandra</i> e <i>B. monandra</i>	84

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Substâncias isoladas de espécies do gênero <i>Bauhinia</i>	29
Tabela 2 Constituintes do óleo essencial de <i>B. pentandra</i> obtido por hidrodestilação	69
Tabela 3 Constituintes do óleo essencial de <i>B. pentandra</i> obtido por MEFS...	76
Tabela 4 Composição química do óleo fixo das folhas de <i>B. pentandra</i> e <i>B. monandra</i>	83
Tabela 5 Deslocamentos químicos (δ) de RMN ^{13}C (CDCl_3) de BP-1	90
Tabela 6 Deslocamentos químicos (δ) de RMN ^{13}C (CDCl_3) de BP-2.....	96
Tabela 7 Dados de RMN ^1H e ^{13}C de BP-3A, BP-3B e BP-3C, incluindo correlação heteronuclear através de uma ligação (HSQC: $^1J_{\text{CH}}$) e a longa distância (HMBC: $^nJ_{\text{CH}}$, $n=2$ e 3), em CDCl_3 como solvente	104
Tabela 8 Padrão de hidrogenação determinado através da comparação dos espectros de RMN ^{13}C -CPD e DEPT 135° de BP-4	113
Tabela 9 Dados de RMN ^1H e ^{13}C de BP-4, incluindo correlação heteronuclear através de uma ligação (HSQC: $^1J_{\text{CH}}$) e a longa distância (HMBC: $^nJ_{\text{CH}}$, $n=2$ e 3), em CD_3OD como solvente	116
Tabela 10 Padrão de hidrogenação determinado através da comparação dos espectros de RMN ^{13}C -CPD e DEPT 135° de BP-5	121
Tabela 11 Dados de RMN ^1H e ^{13}C de BP-5, incluindo correlação heteronuclear através de uma ligação (HSQC: $^1J_{\text{CH}}$) e a longa distância (HMBC: $^nJ_{\text{CH}}$, $n=2$ e 3), em CD_3OD como solvente	125
Tabela 12 Padrão de hidrogenação determinado através da comparação dos espectros de RMN ^{13}C -CPD e DEPT 135° de BP-6	132
Tabela 13 Dados de RMN ^1H e ^{13}C de BP-6, incluindo correlação heteronuclear através de uma ligação (HSQC: $^1J_{\text{CH}}$) e a longa distância (HMBC: $^nJ_{\text{CH}}$, $n=2$ e 3), em CD_3OD como solvente	135
Tabela 14 Dados de RMN ^1H e ^{13}C de BP-7A, incluindo correlação heteronuclear através de uma ligação (HSQC: $^1J_{\text{CH}}$) e a longa distância (HMBC: $^nJ_{\text{CH}}$, $n=2$ e 3), em CD_3OD como solvente.....	145
Tabela 15 Dados de RMN ^1H e ^{13}C de BP-7B, incluindo correlação heteronuclear através de uma ligação (HSQC: $^1J_{\text{CH}}$) e a longa distância (HMBC: $^nJ_{\text{CH}}$, $n=2$ e 3), em CD_3OD como solvente.....	145
Tabela 16 Dados de RMN ^1H e ^{13}C de BP-8A, incluindo correlação heteronuclear através de uma ligação (HSQC: $^1J_{\text{CH}}$) e a longa distância (HMBC: $^nJ_{\text{CH}}$, $n=2$ e 3), em CD_3OD como solvente.....	159
Tabela 17 Dados de RMN ^1H e ^{13}C de BP-8B, incluindo correlação heteronuclear através de uma ligação (HSQC: $^1J_{\text{CH}}$) e a longa distância (HMBC: $^nJ_{\text{CH}}$, $n=2$ e 3), em CD_3OD como solvente.....	159
Tabela 18 Deslocamentos químicos (δ) de RMN ^{13}C (CDCl_3) de BM-1	169
Tabela 19 Deslocamentos químicos (δ) de RMN ^1H e ^{13}C (CDCl_3) de BM-2 .	175
Tabela 20 Padrão de hidrogenação determinado através da comparação dos espectros de RMN ^{13}C -CPD e DEPT 135° de BM-3	180
Tabela 21 Dados de RMN ^1H e ^{13}C de BM-3, incluindo correlação heteronuclear através de uma ligação (HSQC: $^1J_{\text{CH}}$) e a longa distância (HMBC: $^nJ_{\text{CH}}$, $n=2$ e 3), em CDCl_3 como solvente	182
Tabela 22 Padrão de hidrogenação determinado através da comparação dos espectros de RMN ^{13}C -CPD e DEPT 135° de BM-4	190

Tabela 23 Acoplamentos dipolares observados no experimento NOE Seletivo através da irradiação dos hidrogênios H-4, H-5, H-6 e H-7.....	193
Tabela 24 Dados de RMN ^1H e ^{13}C de BM-4, incluindo correlação heteronuclear através de uma ligação (HSQC: $^1J_{\text{CH}}$) e a longa distância (HMBC: $^nJ_{\text{CH}}$, n=2 e 3), em CD_3OD como solvente	194
Tabela 25 Padrão de hidrogenação determinado através da comparação dos espectros de RMN ^{13}C -CPD e DEPT 135° de BM-5	205
Tabela 26 Dados de RMN ^1H e ^{13}C de BM-5, incluindo correlação heteronuclear através de uma ligação (HSQC: $^1J_{\text{CH}}$) e a longa distância (HMBC: $^nJ_{\text{CH}}$, n=2 e 3), em CD_3OD como solvente	208
Tabela 27 Resultado do teste de atividade antioxidante	214
Tabela 28 Resultado do ensaio de atividade nematicida	215
Tabela 29 Resultado do ensaio de inibição da enzima AChE	215
Tabela 30 Dados referentes aos extratos obtidos de <i>B. pentandra</i> e <i>B. monandra</i>	222
Tabela 31 Dados referentes ao fracionamento cromatográfico gravitacional de EEBP.....	226
Tabela 32 Dados referentes ao fracionamento cromatográfico a vácuo de EEBP	226
Tabela 33 Dados referentes à partição líquido-líquido de EEBP.....	226
Tabela 34 Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EEBP-G(D)	227
Tabela 35 Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de F 72-73 ...	228
Tabela 36 Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de F 25-34 ...	228
Tabela 37 Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EEBP-G(M)	230
Tabela 38 Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EEBP-V(AE)	231
Tabela 39 Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EEBP-P(AE)	233
Tabela 40 Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EEBM.....	238
Tabela 41 Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EEBM(AE)	238
Tabela 42 Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de F 62-70 ...	239
Tabela 43 Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EEBM(M)	241

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AChe	Enzima Acetilcolinesterase
1D e 2D	Unidimensional e Bidimensional
CC	Cromatografia em Coluna
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CG-EM	Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
COSY	<i>Correlation Spectroscopy</i>
CPD	<i>Composite Pulse Decoupling</i>
DEPT	<i>Distortionless Enhancement by Polarization Transfer</i>
DPPH	1,1-Difenil-2-Picril-Hidrazila
EEBM	Extrato Etanólico de <i>Bauhinia monandra</i>
EEBP	Extrato Etanólico de <i>Bauhinia pentandra</i>
EEBP-G(H)	Fração hexano da coluna gravitacional do extrato etanólico de <i>Bauhinia pentandra</i>
EEBP-G(D)	Fração diclorometano da coluna gravitacional do extrato etanólico de <i>Bauhinia pentandra</i>
EEBP-G(AE)	Fração acetato de etila da coluna gravitacional do extrato etanólico de <i>Bauhinia pentandra</i>
EEBP-G(M)	Fração metanol da coluna gravitacional do extrato etanólico de <i>Bauhinia pentandra</i>
EEBP-P(H)	Fração hexano da partição líquido-líquido do extrato etanólico de <i>Bauhinia pentandra</i>
EEBP-P(D)	Fração diclorometano da partição líquido-líquido do extrato etanólico de <i>Bauhinia pentandra</i>
EEBP-P(AE)	Fração acetato de etila da partição líquido-líquido do extrato etanólico de <i>Bauhinia pentandra</i>
EEBP-P(HA)	Fração hidroalcoólica da partição líquido-líquido do extrato etanólico de <i>Bauhinia pentandra</i>
EEBP-V(H)	Fração hexano da coluna a vácuo do extrato etanólico de <i>Bauhinia pentandra</i>
EEBP-V(D)	Fração diclorometano da coluna a vácuo do extrato etanólico

	de <i>Bauhinia pentandra</i>
EEBP-V(AE)	Fração acetato de etila da coluna a vácuo do extrato etanólico de <i>Bauhinia pentandra</i>
EEBP-V(M)	Fração metanol da coluna a vácuo do extrato etanólico de <i>Bauhinia pentandra</i>
EHBM	Extrato Hexânico de <i>Bauhinia monandra</i>
EHBP	Extrato Hexânico de <i>Bauhinia pentandra</i>
EM	Espectrometria de Massas
HMBC	<i>Heteronuclear Multiple Bond Correlation</i>
HSQC	<i>Heteronuclear Single Quantum Correlation</i>
Hz	Hertz
IDH	Índice de Deficiência de Hidrogênio
IK	Índice de Kovats
IV	Infravermelho
MEFS	Microextração em Fase Sólida
NOE	<i>Nuclear Overhauser Effect</i> (Efeito Overhauser Nuclear)
NOESY	<i>Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy</i>
ppm	Partes por Milhão
RMN ¹³C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono-13
RMN ¹H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio-1
TR	Tempo de Retenção

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	23
2 CONSIDERAÇÕES BOTÂNICAS	25
2.1 Considerações sobre a família Fabaceae	25
2.2 Considerações sobre o gênero <i>Bauhinia</i>	25
2.3 Considerações sobre a espécie <i>B. pentandra</i> (Bong.) D.Dietr.....	26
2.4 Considerações sobre a espécie <i>B. monandra</i> Kurz.	27
3 LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO	28
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	68
4.1 Identificação dos constituintes dos óleos essenciais de <i>B. pentandra</i> obtidos por hidrodestilação	68
4.2 Identificação dos constituintes dos óleos essenciais de <i>B. pentandra</i> obtidos por microextração em fase sólida (MEFS)	75
4.3 Determinação da composição de ácidos graxos de <i>B. pentandra</i> e <i>B.</i> <i>monandra</i>	82
4.4 Estudo dos constituintes fixos de <i>B. pentandra</i>	89
4.4.1 Determinação estrutural de BP-1	89
4.4.2 Determinação estrutural de BP-2	94
4.4.3 Determinação estrutural de BP-3	100
4.4.4 Determinação estrutural de BP-4	113
4.4.5 Determinação estrutural de BP-5	121
4.4.6 Determinação estrutural de BP-6	131
4.4.7 Determinação estrutural de BP-7	141
4.4.8 Determinação estrutural de BP-8	155
4.5 Estudo dos constituintes fixos de <i>B. monandra</i>	168
4.5.1 Determinação estrutural de BM-1	168
4.5.2 Determinação estrutural de BM-2	174
4.5.3 Determinação estrutural de BM-3	180
4.5.4 Determinação estrutural de BM-4	189
4.5.5 Determinação estrutural de BM-5	204
4.6 Atividade antioxidante	214
4.7 Atividade nematicida	214
4.8 Atividade inibidora da enzima acetilcolinesterase (AChE)	215
4.9 Determinação de fenóis totais	215
5 PARTE EXPERIMENTAL	216

5.1	Material vegetal.....	216
5.2	Métodos cromatográficos.....	216
5.2.1	<i>Cromatografia em coluna (CC)</i>	216
5.2.2	<i>Cromatografia em coluna de fase reversa (C18)</i>	216
5.2.3	<i>Cromatografia em camada delgada (CCD)</i>	217
5.2.4	<i>Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)</i>	217
5.3	Métodos espectroscópicos e espectrométricos	217
5.3.1	<i>Espectroscopia na região do infravermelho (IV)</i>	217
5.3.2	<i>Espectrometria de massas (EM)</i>	218
5.3.3	<i>Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN ¹H) e de carbono-13 (RMN ¹³C)</i>	220
5.4	Métodos físicos	221
5.4.1	<i>Rotação ótica</i>	221
5.5	Estudo dos constituintes voláteis de <i>B. pentandra</i>	221
5.5.1	<i>Obtenção dos óleos essenciais de B. pentandra por hidrodestilação</i>	221
5.5.2	<i>Obtenção dos óleos essenciais de B. pentandra por microextração em fase sólida (MEFS)</i>	221
5.6	Estudo dos constituintes fixos de <i>B. pentandra</i> e <i>B. monandra</i>	222
5.6.1	<i>Preparação dos extratos</i>	222
5.6.2	<i>Perfil de ácidos graxos de B. pentandra e B. monandra</i>	223
5.6.2.1	<i>Reação de saponificação e obtenção dos ácidos graxos livres</i>	223
5.6.2.2	<i>Reação de metilação e obtenção dos ésteres metílicos</i> ..	224
5.6.3	<i>Fracionamento cromatográfico do extrato EEBP</i>	225
5.6.3.1	<i>Fracionamento cromatográfico da fração EEBP-G(D)</i>	226
5.6.3.2	<i>Fracionamento cromatográfico da F 15-21 e isolamento de BP-1</i>	227
5.6.3.3	<i>Fracionamento cromatográfico da F 72-73</i>	227
5.6.3.4	<i>Fracionamento cromatográfico da F 25-34</i>	228
5.6.3.5	<i>Fracionamento cromatográfico da F 16-25 e isolamento de BP-2</i>	229
5.6.3.6	<i>Fracionamento cromatográfico da fração EEBP-G(AE) e isolamento de BP-3</i>	229

5.6.3.7	Fracionamento cromatográfico da fração EEBP-G(M).....	229
5.6.3.8	Fracionamento cromatográfico da F 27-30 e isolamento de BP-4	230
5.6.3.9	Fracionamento cromatográfico da fração EEBP-V(AE) ...	231
5.6.3.10	Fracionamento cromatográfico da F 60-69 e isolamento de BP-5 e BP-6.....	232
5.6.3.11	Fracionamento cromatográfico da fração EEBP-P(AE) .	232
5.6.3.12	Fracionamento cromatográfico da F 80-92 e isolamento de BP-7 e BP-8.....	233
5.6.4	<i>Fracionamento cromatográfico do extrato EEBM</i>	238
5.6.4.1	Fracionamento cromatográfico da fração EEBM(AE).....	238
5.6.4.2	Fracionamento cromatográfico da F 62-70	239
5.6.4.3	Fracionamento cromatográfico da F 29-32 e isolamento de BM-1 e BM-2.....	239
5.6.4.4	Fracionamento cromatográfico da F 36-41 e isolamento de BM-3.....	240
5.6.4.5	Fracionamento cromatográfico da fração EEBM(M).....	240
5.6.4.6	Fracionamento cromatográfico da F 3-17 e isolamento de BM-4 e BM-5.....	241
5.7	Atividade antioxidante: método de seqüestro do radical DPPH	244
5.8	Atividade nematicida <i>in vitro</i>	245
5.9	Ensaio para inibição da enzima acetilcolinesterase (AChE)	245
5.10	Determinação de fenóis totais.....	246
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	247
	REFERÊNCIAS.....	249

1 INTRODUÇÃO

O uso de plantas com fins terapêuticos é uma tradição milenar presente nas culturas de várias nações, constituindo, ainda hoje, um recurso alternativo de grande aceitação, não somente nos centros urbanos, mas sobretudo nas pequenas comunidades rurais. Este comportamento vem chamando a atenção da comunidade científica no sentido de comprovar a eficácia e promover o uso seguro desses recursos naturais (FENNELL *et al.*, 2004). Vale ressaltar que as plantas são fontes de uma infinidade de substâncias químicas que são biossintetizadas com várias finalidades, dentre elas, proteção contra predadores ou atração de polinizadores (STEPP, 2004).

Levando em consideração a biodiversidade vegetal que existe no planeta (cerca de 250.000 espécies) e que somente cerca de 5 a 15% foi investigada do ponto de vista fitoquímico e/ou farmacológico, as pesquisas com plantas superiores apresentam-se como uma fonte extremamente promissora para a descoberta de novas substâncias que possam ser utilizados no tratamento de várias doenças (ROJAS *et al.*, 2003).

Entre as inúmeras espécies vegetais de interesse medicinal, encontram-se as plantas do gênero *Bauhinia*, pertencentes à família Fabaceae (antiga família Leguminosae), as quais são encontradas principalmente nas áreas tropicais do planeta. Muitas destas plantas são usadas na medicina popular em várias regiões do mundo (SILVA; CECHINEL FILHO, 2002; KERNTOPF; NASCIMENTO; FONTELES, 2013).

Dentre as espécies de *Bauhinia*, as mais estudadas fitoquimicamente foram: *B. manca*, *B. candicans*, *B. uruguayensis*, *B. purpurea*, *B. forficata* e *B. splendens*. Os estudos fitoquímicos realizados com plantas deste gênero mostraram a presença principalmente de esteroides, terpenos e flavonoides (KERNTOPF; NASCIMENTO; FONTELES, 2013).

Diversas atividades são relatadas para as espécies de *Bauhinia*, tais como: hipoglicemiante, antimicrobiana, analgésica, antiinflamatória, antimalárica, antipirética, antitumoral, antiulcerogênica, antioxidante, larvicida, entre outras (MENEZES *et al.*, 2007; CECHINEL FILHO, 2009; ARGOLO *et al.*, 2004; GOIS, 2010).

As folhas, caules e raízes das espécies de *Bauhinia* são amplamente utilizadas no Brasil e em outros países em forma de chás e outras preparações fitoterápicas para o tratamento de várias enfermidades, principalmente infecções, processos dolorosos e diabetes (SILVA; CECHINEL FILHO, 2002). Além de antidiabéticas, as folhas são consideradas diuréticas e hipocolesteremiantes, sendo empregadas na medicina popular também contra cistites, parasitoses intestinais e elefantíase (NOGUEIRA; SABINO, 2012).

Bauhinia pentandra (Bong.) D.Dietr., também conhecida como mororó-de-espinho (MATOS, 2002), trata-se de uma espécie que habita nos biomas caatinga e savana, sendo encontrada no Brasil nos Estados de Alagoas, Bahia, Ceará, Goiás, Minas Gerais, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Rio de Janeiro, Rio Grande do Norte, São Paulo e Sergipe (VAZ; TOZZI, 2005). Na medicina popular é usada para tratamento de diabetes possivelmente por confundir com outra espécie (*B. forficata*) já validada pelo SUS, no entanto *B. pentandra* ainda não teve comprovada a sua propriedade hipoglicemiante (MATOS, 2002).

Bauhinia monandra Kurz. é uma planta nativa da Ásia, embora possa ser encontrada na Índia, Nigéria e outras regiões da África e América do Sul (HAVER, 2002). Conhecida como pata-de-vaca, *Bauhinia monandra*, possui grande valor econômico, e é utilizada com fins ornamentais, forrageiro e principalmente medicinal (ILKIU-BORGES; MENDONÇA, 2009) para o tratamento de diabetes e como diurético (ARGOLO *et al.*, 2004). Suas sementes servem como alimento, pois é fonte de vitamina A e como um possível agente controlador de praga (ILKIU-BORGES; MENDONÇA, 2009).

Na literatura há poucos relatos acerca da composição química de *B. pentandra* e *B. monandra*, portanto, o estudo fitoquímico e biológico destas espécies é de grande importância a fim de contribuir para conhecimento químico, taxonômico e farmacológico do gênero *Bauhinia*. O presente trabalho tem como objetivo a identificação dos constituintes químicos dos óleos essenciais e fixos das espécies, o isolamento e a identificação de metabólitos secundários, bem como a determinação de fenóis totais, a avaliação da atividade antioxidante, da atividade nematicida e da inibição da enzima acetilcolinesterase.

2 CONSIDERAÇÕES BOTÂNICAS

2.1 Considerações sobre a família Fabaceae

A família Fabaceae (Leguminosae) possui distribuição cosmopolita, incluindo cerca de 650 gêneros e aproximadamente 19000 espécies, representando uma das maiores famílias de Angiospermas e também uma das principais do ponto de vista econômico. No Brasil ocorrem cerca de 200 gêneros e 2700 espécies, correspondendo a maior família em número de espécies no país (SOUZA; LORENZI, 2012).

Segundo Souza e Lorenzi (2012), a família Fabaceae é descrita como:

Ervas, arbustos, árvores ou lianas; folhas alternas, muito raramente opostas, geralmente compostas, com estípulas, às vezes transformadas em espinhos, frequentemente com nectários extraflorais, ocasionalmente com pontuações translúcidas. Inflorescência geralmente racemosa; flores vistosas ou não, geralmente bissexuadas. Fruto geralmente do tipo legume, mas também de outros tipos, incluindo drupa, sâmara, folículo, craspédio ou lomento (SOUZA; LORENZI, 2012).

Em geral, são reconhecidos três subgrupos dentro de Fabaceae: Caesalpinioideae, Faboideae e Mimosoideae. A subfamília Caesalpinioideae compreende 150 gêneros e 2700 espécies. Nesta subfamília podemos destacar os gêneros: *Bauhinia*, *Caesalpinia*, *Cassia*, *Chamaecrista*, *Cercis*, *Delonix*, *Gleditsia*, *Parkinsonia*, *Senna*, *Tamarindus* (JUDD *et al.*, 2009).

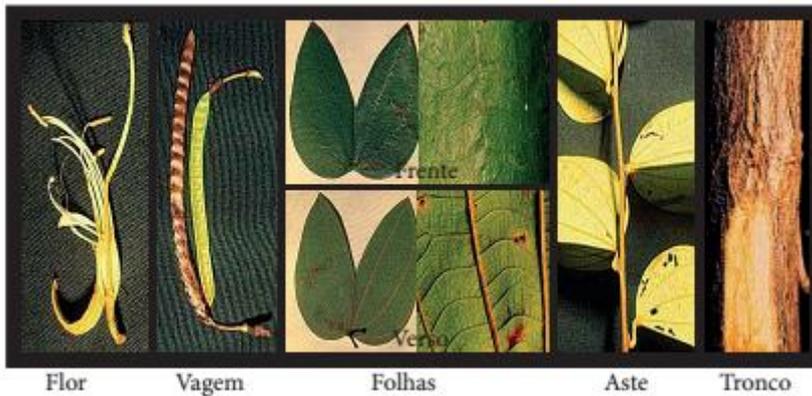
2.2 Considerações sobre o gênero *Bauhinia*

O gênero *Bauhinia* inclui aproximadamente 300 espécies, distribuídas na maioria dos países tropicais, incluindo a África, Ásia e América do Sul (CECHINEL FILHO, 2009). As espécies do gênero *Bauhinia* são conhecidas popularmente em todo Brasil como “pata-de vaca” e no Ceará como “mororó” [Do tupi miroi'ró.] S. m. Bras. [moró (nutrir, alimentar) + rô (produzir)], e são extensamente utilizadas na medicina popular brasileira por sua atividade antidiabética (KERNTOPF; NASCIMENTO; FONTELES, 2013).

As diversas espécies deste gênero apresentam-se como árvores, arbustos e cipós, com típicas folhas bigeminadas, paripeneadas, grandes, ramificadas, unijugadas, glabras, geminadas com os folíolos trinervados por

vezes, estípulas estreitas e caducas. As flores são grandes, algumas semelhantes a uma orquídea; corola com cinco pétalas desiguais, androceu diplostêmone, às vezes com alguns estames reduzidos a estaminódios ou ausentes, gineceu com ovário unilocular com óvulos bisseriados, estiletes livres ou consorcados. Frutos do tipo vagem, chatos, escuros e compridos, indeiscentes ou deiscentes, bivalvares, oblongos, com sementes, também, achatadas (**Fig. 1**) (KERNTOPF; NASCIMENTO; FONTELES, 2013).

Figura 1 Características morfológicas do gênero *Bauhinia*



Fonte: KERNTOPF; NASCIMENTO; FONTELES, 2013.

2.3 Considerações sobre a espécie *B. pentandra* (Bong.) D.Dietr.

B. pentandra (Bong.) D.Dietr. (**Fig. 2, p. 27**) apresenta-se como uma árvore de pequeno porte (arvoreta) podendo atingir até 4 m de altura, escandente com ramos contendo acúleos rígidos em direção ao ápice, com folhas bifoliadas, e inflorescências parciais com pétalas lineares. Seu legume apresenta contorno estreitamente oblongo, sem divisões internas, portanto sem câmaras que alojam as sementes as quais não possuem apêndice unciforme encobrindo o hilo, e sem linhas em leque (CRISÓSTOMO, 2008).

Figura 2 Fotografia da espécie *Bauhinia pentandra* (Bong.) D.Dietr.



Fonte: Do autor

2.4 Considerações sobre a espécie *B. monandra* Kurz.

Bauhinia monandra Kurz. (**Fig. 3**) é uma árvore ou arbusto, de crescimento rápido, que normalmente atinge 3-15,2 m de altura e 0,5 m de diâmetro. As folhas são em forma de asas de borboleta, arredondadas, formando dois lóbulos iguais. Eles são dissecadas em 11 ou 13 veias principais. Os pecíolos se estendem para aristas curtas entre os lóbulos da folha. As flores alcançam 6,4-10,2 cm de diâmetro, têm apenas um estame fértil por flor e uma divisão de cálice de um lado. Os frutos são vagens deiscentes, escuros, com 2,5 cm de largura, 15,2-30,5 cm de comprimento e apontam para o ápice. As sementes pretas são elípticas, planas e medem 1 cm de comprimento (CONNOR, 2002).

Figura 3 Fotografia da espécie *Bauhinia monandra* Kurz.



Fonte: Do autor

3 LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO

Estudos fitoquímicos com várias espécies do gênero *Bauhinia* levaram ao isolamento e identificação de diferentes classes de metabólitos de interesse medicinal, incluindo terpenos, esteroides, alcaloides e especialmente flavonoides (CECHINEL FILHO, 2009). A principal atividade biológica relatada para as plantas do gênero *Bauhinia* é a hipoglicemiante, uma vez que na medicina popular estas plantas são usadas para o tratamento de diabetes (SILVA; CECHINEL FILHO, 2002). Outras atividades são: antimicrobiana, anti-inflamatória, analgésica e antioxidante. (CECHINEL FILHO, 2009; NOGUEIRA; SABINO, 2012).

Na revisão bibliográfica são apresentadas as substâncias isoladas de espécies do gênero *Bauhinia* nos últimos dez anos (2005-2015). A pesquisa foi realizada através de buscas em “sites” científicos, como *Scifinder*, *Science direct* e *Web of science*. Durante o período de dez anos, as espécies estudadas fitoquimicamente foram: *B. aculeata*, *B. acuruana*, *B. aurea*, *B. brachycarpa*, *B. championii*, *B. forficata*, *B. galpinii*, *B. glauca*, *B. kockiana*, *B. malabarica*, *B. megalandra*, *B. microstachya*, *B. monandra*, *B. muricata*, *B. pentandra*, *B. purpurea*, *B. racemosa*, *B. retusa*, *B. rufescens*, *B. scandens*, *B. sirindhorniae*, *B. strychnifolia*, *B. tomentosa*, *B. unguolata* e *B. variegata*.

Na **Tabela 1**, **p. 29** encontram-se os nomes das substâncias isoladas de espécies do gênero *Bauhinia*, e as suas respectivas estruturas químicas são mostradas no **Quadro 1**, **p. 48**. Apesar de muitos compostos do gênero serem conhecidos, são raros os estudos sobre a composição química de *B. pentandra* e *B. monandra*.

Tabela 1 Substâncias isoladas de espécies do gênero *Bauhinia*

Espécie	Substância	Estrutura	Referência
<i>B. aculeata</i>	Bauhiniastatina 4	1	TANJUNG; SAPUTRI; TJAHHANDARIE, 2014
	Pacharina	2	
<i>B. acuruana</i>	Pacharina	2	GÓIS <i>et al.</i> , 2013
<i>B. aurea</i>	6,6-bisastilbina	82	SHANG <i>et al.</i> , 2012
	(<i>Z</i>)-5 α ,6 β -diidroxi-4 β -metoxi-2-cicloexeno- $\Delta^{1,\alpha}$ - acetonitrila	14	
	Bauhinina	15	
	Bauhinilida	108	
	Dehidrodicatequina A	100	
<i>B. aurea</i>	Crisina	37	SHANG <i>et al.</i> , 2009
	Luteolina	38	
	Apigenina	39	
	Quercetina-3-O- β -D-glicosídeo	19	
	Quercitrina	23	
	Eucrifina	18	
	Crisina-7-O- β -D-glicosídeo	28	
	Kampferitrina	30	

<i>B. aurea</i>	Quercetina-3,7-O-diramnosídeo	31	SHANG <i>et al.</i> , 2009
	Quercetina-3-O-(6"-galoil)- β -D-glicosídeo	32	
	Quercetina-3-O-(6"-galoil)- β -D-galactosídeo	33	
<i>B. aurea</i>	Isoengeletina	80	SHANG <i>et al.</i> , 2007
	Isoastilbina	81	
	Astilbina	83	
	Neoastilbina	84	
	Neoisostilbina	85	
	(+)-catequina	101	
	(-)-epicatequina	102	
	(-)-epicatequina-3-O-galato	104	
<i>B. aurea</i>	Ácido protocatecuico	112	SHANG <i>et al.</i> , 2006
	Ácido 4-hidróxibenzóico	113	
	Ácido 4-hidróxi-3-metóxibenzóico	114	
	Ácido 3-hidróxi-4-metóxibenzóico	115	
	Ácido gálico	116	
	Galato de metila	117	
	Galato de etila	118	
	β -sitosterol	121	
	Daucosterol	123	

<i>B. aurea</i>	Estigmast-4-en-3-ona	124	SHANG <i>et al.</i> , 2006
	Lupeol	126	
	Lupenona	127	
<i>B. brachycarpa</i>	Lupeol	126	ZHANG <i>et al.</i> , 2012
	β -sitosterol	121	
	Daucosterol	123	
	(-)-epicatequina-3-O-galato	104	
	Ácido gálico	116	
	Galato de metila	117	
	5,7,3',4',5'-pentametoxiflavona	40	
	5,6,7,3',4',5'-hexametoxiflavona	41	
	5,6,7-trimetoxi-3',4'-metileno-dioxiflavona	76	
5,6,7,5'-tetrametoxi-3',4'-metileno-dioxiflavona	77		
<i>B. championii</i>	β -sitosterol	121	XU <i>et al.</i> , 2013
	Daucosterol	123	
	Triacotano	109	
	Hexacotano	110	
	Quercitina	42	
	Miricitrina	24	
	Oblongixantona	78	

<i>B. championii</i>	β-sitosterol	121	BAI <i>et al.</i> , 2005
	Daucosterol	123	
	Ácido gálico	116	
	(±)-lioniresinol	135	
	2,4,6- trimetoxifenol-1-O-β-D-(6'-O-galoil)- glicopiranosídeo	138	
<i>B. forficata</i>	Quercetina-3,7-O-diramnosídeo	31	MENEZES <i>et al.</i> , 2007
	Kampferitrina	30	
<i>B. galpinii</i>	Hiperosídeo	34	ADEROGBA <i>et al.</i> , 2007
	Miricetina-3-O-galactopiranosídeo	35	
	2''-O-ramnosilvitexina	79	
<i>B. glauca</i>	Ácido gálico	116	XU <i>et al.</i> , 2015
	Peperomina B	197	
	Quercetina	42	
	Fisetina	48	
	Luteolina	38	
	Farrerol	88	
	Garbanzol	95	
<i>B. glauca</i>	3,5,7,4'-tetraidroxi-3'-metoxiflavona	45	TANG <i>et al.</i> , 2014
	3-O-metilquercetina	47	

<i>B. glauca</i>	Quercetina	42	TANG <i>et al.</i> , 2014
	Luteolina	38	
	Kampferol	44	
	5,7,4'-triidroxi-3'-metoxiflavona	43	
	3,7,3'-triidroxi-4'-metoxiflavona	46	
	Miricitrina	24	
	Quercetina-3-O- α -L-arabinofuranosídeo	36	
	(+)-catequina	101	
<i>B. glauca</i>	(2',4'-diidroxi-4-metoxichalcona)-4'- β -D-glicosídeo	156	BAIMING <i>et al.</i> , 2012a
	Bauhinasina	161	
	Sulfuretina	137	
	Isoliquiritigenina	143	
	4'-metilglicoliquiritigenina	86	
<i>B. glauca</i>	3,5,7,3',5'-pentaidroxiflavanona	94	BAIMING <i>et al.</i> , 2012b
	Eriodictiol	87	
	3-O-metilquercetina	47	
	Luteolina	38	
	Fisetina	48	
<i>B. glauca</i>	Isopropil-O- β -(6'-O-galoil)-glicopiranosídeo	140	ZHAO <i>et al.</i> , 2011
	Etil-O- β -(6'-O-galoil)-glicopiranosídeo	139	

<i>B. glauca</i>	3,4,5-trimetoxifenil-(6'-O-galoil)-O-β-D-glicopiranosídeo	141	ZHAO <i>et al.</i> , 2011
	3,4,5-trimetoxifenil-β-D-glicopiranosídeo	94	
	Ácido gálico	116	
	Galato de metila	117	
	Galato de etila	118	
	Ácido protocatecuico	112	
	Ácido 3,5-dimetoxi-4-hidroxibenzóico	119	
	Erigeside C	142	
	Ácido glucosiringico	163	
<i>B. glauca</i>	4-metóxi-buteína	148	WU <i>et al.</i> , 2009a
	Isoliquiritigenina	143	
	Buteína	144	
	2'-metóxi-isoliquiritigenina	149	
	2',4'-diidroxichalcona	145	
	4-metoxi-isoliquiritigenina	146	
	4-hidroxi-2',4'-dimetoxichalcona	147	
<i>B. glauca</i>	6-metilhomoeiodictiol	96	WU <i>et al.</i> , 2009b
	Bauhinasida A	159	
	Bauhinasina	161	

<i>B. glauca</i>	2',4'-diidroxí-4-metoxidiidrochalcona-4'-O- β -D-glicopiranosídeo	158	WU <i>et al.</i> , 2009
	Farrerol	88	
	Homoeriodictiol	89	
	2',4'-diidroxí-4-metoxidiidrochalcona	160	
<i>B. kockiana</i>	Ácido gálico	116	CHEW <i>et al.</i> , 2014
	Galato de metila	117	
<i>B. malabarica</i>	β -sitosterol	121	PARK <i>et al.</i> , 2014
	Quercetina	42	
	6,8-C-dimetil-kampferol-3-O-ramnopiranosídeo	25	
	Éter-3-metil-6,8-C-dimetil-kampferol	49	
	Hiperosídeo	34	
<i>B. malabarica</i>	Éter-3-metil-6,8-C-dimetil-kampferol	49	KAEWAMATAWONG <i>et al.</i> , 2008
	Kampferol	44	
	Afzelina	26	
	Quercetina	42	
	Quercetina-3-O- β -D-glicosídeo	19	
	Quercitrina	23	
	Hiperosídeo	34	

<i>B. megalandra</i>	Astilbina	83	ESTRADA <i>et al.</i> , 2005
	Quercitrina	23	
	Afzelina	26	
	Quercetina-3-O- α -arabinosídeo	55	
	Quercetina-3-O- α -(2"-galoil)ramnosídeo	57	
	Kampferol-3-O- α -(2"-galoil)ramnosídeo	56	
	Quercetina	42	
	Kampferol	44	
<i>B. microstachya</i>	Afzelina	26	MANSUR <i>et al.</i> , 2012
	Astragalina-2",6"-O-digalato	58	
<i>B. microstachya</i>	Quercitrina	23	GADOTTI <i>et al.</i> , 2005
<i>B. monandra</i>	Rutina	59	ADEROGBA <i>et al.</i> , 2006
	Quercetina	42	
<i>B. pentandra</i>	Riachina	16	SILVA <i>et al.</i> , 2013
<i>B. purpurea</i>	Pacharina	2	PETTIT <i>et al.</i> , 2006
	Bauhiniastatina 1	9	
	Bauhiniastatina 2	3	
	Bauhiniastatina 3	4	
	Bauhiniastatina 4	1	
<i>B. purpurea</i>	Bauhinoxepina C	5	BOONPHONG <i>et al.</i> , 2007

<i>B. purpurea</i>	Bauhinoxepina D	6	BOONPHONG <i>et al.</i> , 2007
	Bauhinoxepina E	7	
	Bauhinoxepina F	8	
	Bauhinoxepina G	10	
	Bauhinoxepina H	11	
	Bauhinoxepina I	12	
	Bauhinoxepina J	13	
	Bauhibenzofurina A	168	
	Bauhispirorina A	107	
	Estrobopinina	90	
	Demetoximateucinol	91	
	Bauhinol E	150	
	Batatasina IV	151	
	2-[2-(3,5-Dimetoxifenil)etil]fenol	152	
	2,2'-Diidroxí-3,5-dimetoxibenzil	153	
Diidropinosilvina	154		
Diidropinosilvina metil éter	155		
<i>B. purpurea</i>	3,5,7-triidroxí-2-(3,4,5-triidroxifenil)-4H-1-benzopiran-4-ona	60	PAHWA; MAZUMDER; BHATTACHARYA, 2015

<i>B. purpurea</i>	Ácido mirístico	173	JOSHI; DESAI; BHOBE, 2013
	Ácido octadecanóico	174	
	Ácido 9,12-octadecadienóico	178	
	24-metil-pentacosanoato de isopropila	180	
	Estigmasterol	125	
	β -amirina	128	
	β -Sitosterol	121	
	Lupeol	126	
	9,12-Hexadecadienoato de etila	179	
<i>B. purpurea</i>	Caprilato de α -amirina	129	VERMA; CHANDRASHEKAR; JOSHI, 2009
<i>B. racemosa</i>	3,7-diidroxí-3'-metoxiflavona-3-O- α -L-ramnopiranosil(1 \rightarrow 4)-O- α -L-arabinopiranosil(1 \rightarrow 3)-O- β -D-galactopiranosídeo	73	YADAVA; CHAKRAVARTY, 2014
	Isovitexina	74	
	Isoorientina	75	
<i>B. racemosa</i>	Galato de metila	117	RASHED; BUTNARIU, 2014
	Acido galico	116	
	Kampferol	44	
	Quercetina	42	

<i>B. racemosa</i>	Quercetina-3-O- α -ramnosídeo	23	RASHED; BUTNARIU, 2014
	Kampferol-3-O- β -D-glicopiranosídeo	20	
	Miricetina-3-O- β -glicosídeo	61	
	Rutina	59	
<i>B. racemosa</i>	Racemosolona	169	JAIN <i>et al.</i> , 2013
	Tetracosane	111	
	Estereato de β -sitosterila	122	
	Acido eicosanoico	175	
	Estigmasterol	125	
	β -sitosterol	121	
	Racemosol	170	
	Ferulato de octacosila	165	
	De-O-metilracemosol	171	
	Lupeol	126	
1,7,8,12b-tetraidro-2,2,4-trimetil-2H-benzo[6,7]ciclohepta[1,2,3-de][1]benzopiran-5,10,11-triol	172		
<i>B. racemosa</i>	(2S)-1,2-di-O-linolenoil-3-O- α -galactopiranosil-(1/6)-O- β -galactopiranosil glicerol	200	SASHIDHARA <i>et al.</i> 2012

<i>B. racemosa</i>	(2S)-1-O-linolenoil-2-O-palmitoil-3-O- α -galactopiranosil-(1/6)-O- β -galactopiranosil glicerol	199	SASHIDHARA <i>et al.</i> 2012
	(2S)-1-O-oleoil-2-O-palmitoil-3-O- α -galactopiranosil-(1/6)-O- β -galactopiranosil glicerol	198	
	(-)-epiafzelequina	103	
	(-)-epicatequina	102	
	(-)-catequina	105	
	Acido protocatecuico	112	
	Octacosanol	185	
<i>B. racemosa</i>	Racemosol	170	JAIN <i>et al.</i> 2008
	De-O-metilracemosol	171	
	1,7,8,12b-tetraidro-2,2,4-trimetil-2H-benzo[6,7]ciclohepta[1,2,3-de][1]benzopiran-5,10,11-triol	172	
<i>B. retusa</i>	Kampferol	44	EL SAYED; HASSAN; ATEYA, 2015
	Ramnetin-3-O- α -L-ramnopiranosil-3'-O-(prop-1-enil)	72	
	Isoramnetin-3- α -ramnosídeo	27	
	Quercitrina	23	
	Quercetina 3-O- β -D-glucopiranosil- β -D-glicopiranosídeo	63	

<i>B. retusa</i>	Quercetina-3,7-di-O-β-D-glicosídeo	62	EL SAYED; HASSAN; ATEYA, 2015
<i>B. retusa</i>	1-O-β-D-glucopiranosil-9β,15-diidroxi-5α,6βH-eudesma-3-ene-6α,12-olide	189	SEM WAL; SHARMA, 2011a
	4'-hidroxi-7-metoxiflavana	106	
	β-sitosterol	121	
	Estigmasterol	125	
<i>B. retusa</i>	2,6-di(4',5'-diidroxifenil)-3,7-dioxabicyclo[3.3.0]octano-1-hidroxi-5-O-ramnopiranosídeo	190	SEM WAL; SHARMA, 2011b
<i>B. retusa</i>	Kampferitrina	30	YADAV; VERMA, 2010
	Quercetina-3,7-O-diramnosídeo	31	
	Kampferol-3-O-α-L-ramnosil-(1→2)-β-D-glicosídeo	66	
	Quercetina-3-O-β-D-glucosil-(1→2)-β-D-galactosídeo-7-O-β-D-glicosídeo	67	
	Kampferol-3-O-α-L-ramnosídeo-(1→6)-β-D-glicopiranosídeo-7-O-β-D-glicosídeo	65	
	Quercetina-3-O-α-L-ramnosil-(1→6)-β-D-glicopiranosídeo-7-O-β-D-glicosídeo	64	
	Isoramnetina-3-O-α-L-ramnopiranosil-(1→2)-β-D-galactopiranosídeo-7-O-β-D-glicopiranosídeo	69	

<i>B. retusa</i>	Kampferol-3-O- β -D-glucosil-(1 \rightarrow 2)- α -ramnosil-(1 \rightarrow 6)- β -D-glicopiranosídeo-7-O- α -L-ramnosídeo	68	YADAV; VERMA, 2010
<i>B. rufescens</i>	Menisdaurina	17	USMAN <i>et al.</i> , 2013
<i>B. scandens</i>	1-O-álquil-glicerol	181	HAZRA; CHATTERJEE, 2008
<i>B. sirindhorniae</i>	Eriodictiol	87	ATHIKOMKULCHAI; SRIUBOLMAS; RUANGRUNGSI, 2005
	Naringenina	92	
	Isoliquiritigenina	143	
	4-metoxi-isoliquiritigenina	146	
	Luteolina	38	
<i>B. strychnifolia</i>	Quercetina	42	YUENYONGSAWAD <i>et al.</i> , 2013
	3,5,7,3',5'-Pentaidroxi-flavanonol-3-O- α -L-ramnopiranosídeo	97	
	Eucrifina	18	
	β -sitosterol	121	
	Estigmasterol	125	
<i>B. tomantosa</i>	Apigenina	39	JAIN <i>et al.</i> , 2011
	Quercetina	42	
	Rutina	59	
	4'-metoxikampferol	50	
<i>B. unguolata</i>	Quercetina	42	MAIA NETO <i>et al.</i> , 2008

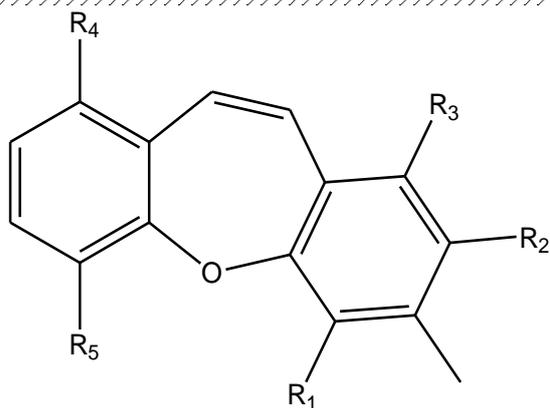
<i>B. unguolata</i>	Quercetina-3-O- α -L-arabinofuranosídeo	36	MAIA NETO <i>et al.</i> , 2008
	Quercitrina	23	
	3-O-metil-D-pinitol	193	
	Harmana	191	
	Eleagnina	192	
<i>B. variegata</i>	Lupeol	126	JASH; ROY; GORAI, 2014
	β -sitosterol	121	
	Kampferol	44	
	Quercetina	42	
<i>B. variegata</i>	Caprilato de α -amirina	129	SAHA <i>et al.</i> , 2011
	Lupeol	126	
	nor- α -amirina	131	
	Palmitato de 3 β ,28-diidroxi-olean-12-enila	130	
<i>B. variegata</i>	Kampferol	44	RAO; FANG; TZENG, 2008
	Ombuina	51	
	Kampferol-7,4'-dimetil eter 3-O- β -D-glicopiranosídeo	22	
	Kampferol 3-O- β -D-glicopiranosídeo	20	
	Isoramnetina-3-O- β -D-glicopiranosídeo	21	
	Hesperidina	99	

<i>B. variegata</i>	Ácido 3 β - <i>trans</i> -(3,4-diidroxicinamoiloxi)olean-12-en-28-oico	132	RAO; FANG; TZENG, 2008
<i>B. variegata</i>	Bauhiniona	194	ZHAO <i>et al.</i> , 2005a
<i>B. variegata</i>	Quercetina	42	MOHAMED; MAMMOUD; HAYEN, 2009
	3,3'-dimetoxi-quercetina	52	
	3,3',6-trimetoxi-quercetina	53	
	Ácido cafeico	166	
	Ácido ferulico	167	
	Quercetina-3-O- β -D-glicosídeo	19	
	Hiperosídeo	34	
	Quercetina-3-O- α -L- ¹ C ₄ -ramnopiranosil-(1''' \rightarrow 2'')-O- β -D- ⁴ C ₁ -glicopiranosídeo	70	
	Ácido 23-hidroxi-3 α -[O- α -L- ¹ C ₄ -ramnopiranosil-(1'' \rightarrow 4')-O- α -L- ⁴ C ₁ -arabinopiranosil-oxi]olean-12-en-28-oico-O- α -L- ¹ C ₄ -ramnopiranosil-(1'''' \rightarrow 4''''')-O- β -D- ⁴ C ₁ -glicopiranosil-(1'''' \rightarrow 6''''')-O- β -D- ⁴ C ₁ -glicopiranosil ester	133	
<i>B. variegata</i>	5,7,4'-trimetoxi-flavanona	98	RAJKAPOOR; MURUGESH; KRISHNA, 2009
<i>B. variegata</i>	12,13-heptatriacontanodiol	182	KUMAR <i>et al.</i> , 2014

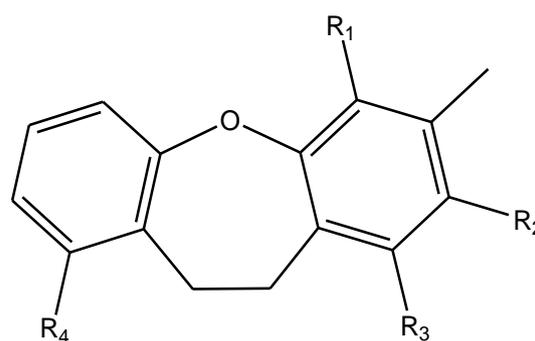
<i>B. variegata</i>	Friedelina	134	KUMAR <i>et al.</i> , 2014
	Ácido docosanoico	176	
	Estigmasterol	125	
	β -sitosterol	121	
	Ácido hexadecanoico	177	
	Lupeol	126	
	Eriodictiol	87	
	Quercetina	42	
<i>B. variegata</i>	Isoliquiritigenina	143	LIAO; LI, 2013
	Naringenina	92	
	Kampferol	44	
	Kampferol-7-O- β -D-glicopiranosídeo	29	
	Kampferol-3-O- β -D-glicopiranosídeo	20	
	Ácido cafeico	166	
	(-)-catequina	105	
	Afzelina	26	
<i>B. variegata</i>	16-metil-tetratriacontanoato de metila	183	SINGH <i>et al.</i> , 2011
	7-hidroxinonadecan-9-ona	186	
	10-acetoxidotriacontano	184	
	9-hidroxipentatriacontan-7-ona	187	

<i>B. variegata</i>	Lupeol	126	SINGH <i>et al.</i> , 2011
	β -sitosterol	121	
<i>B. variegata</i>	2,4,8,9,10-pentaidroxi-3,7-dimetoxiantraceno-6-O- α -L-ramnopiranosídeo	195	BODAKHE <i>et al.</i> , 2010
	Kampferol-7-O-metil eter	54	
	(2S)- 2,3-diidro-5-hidroxi-2-(3-hidroxi-4-metoxifenil)-6,7-dimetoxi-4H-1-benzopiran-4-ona	93	
	Ácido 4-(β -D-glicopiranosiloxi)benzoico	164	
<i>B. variegata</i>	3-O-metilquercetina	47	EL-DONDAITY <i>et al.</i> , 2005
	Luteolina	38	
	Rutina	59	
	Narcissina	196	
	Quercetina-3-O- β -D-glicofuranosídeo	71	
	Daucosterol	123	
<i>B. variegata</i>	12,13-heptatriacontanodiol	182	SINGH; PANDEY; GHANSHYAM, 2006
	15-dotetraconten-9-ol	188	
<i>B. variegata</i>	(-)-epicatequina	102	ZHAO <i>et al.</i> , 2005b
	Ácido protocatecuico	112	
	Protocatecuato de etila	120	
	Ácido 4-hidróxibenzoico	113	

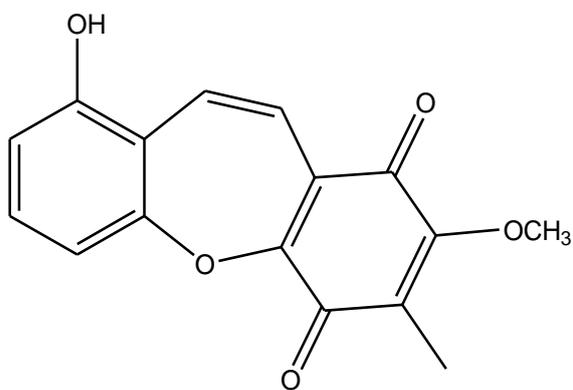
<i>B. variegata</i>	Galato de metila	117	ZHAO <i>et al.</i> , 2005b
	Galato de etila	118	
	Esquisandrisida	136	
<i>B. variegata</i>	2'-hidroxi-4',6'-dimetoxi-3,4-metileno-dioxichalcona	157	MAHESWARA <i>et al.</i> , 2005
	Kampferol-3-O- β -D-glicopiranosídeo	20	
	Afzelina	26	

Quadro 1 Estruturas das substâncias isoladas de espécies de *Bauhinia*

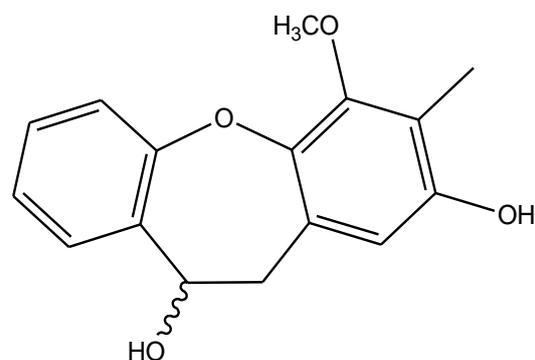
- 1 $R_1=OCH_3$; $R_2=R_4=OH$; $R_3=R_5=H$
 2 $R_1=R_4=OH$; $R_2=OCH_3$; $R_3=R_5=H$
 3 $R_1=R_4=OH$; $R_2=R_3=OCH_3$; $R_5=H$
 4 $R_1=R_5=OH$; $R_2=R_4=OCH_3$; $R_3=H$



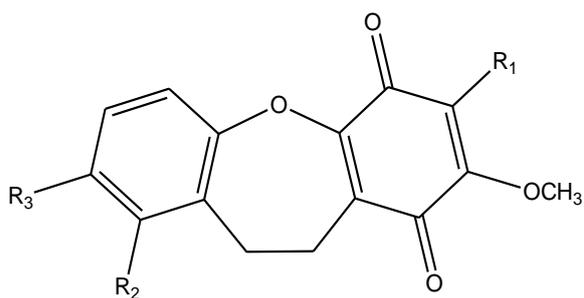
- 5 $R_1=R_4=OH$; $R_2=OCH_3$; $R_3=H$
 6 $R_1=OCH_3$; $R_2=R_4=OH$; $R_3=H$
 7 $R_1=R_2=OCH_3$; $R_3=R_4=OH$
 8 $R_1=R_3=OCH_3$; $R_2=R_4=OH$



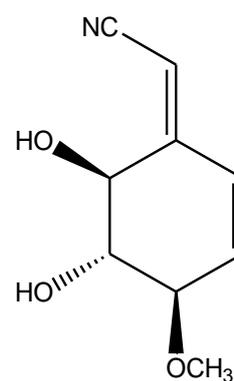
9



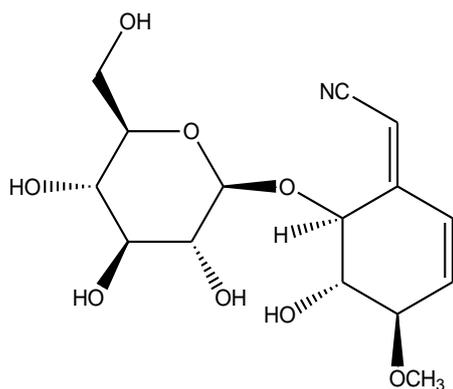
10



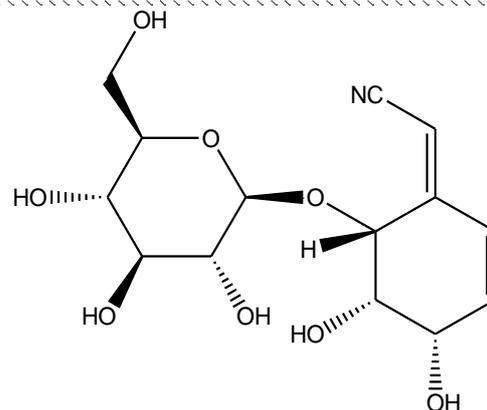
- 11 $R_1=CH_3$; $R_2=OH$; $R_3=H$
 12 $R_1=CH_3$; $R_2=H$; $R_3=OH$
 13 $R_1=H$; $R_2=R_3=H$



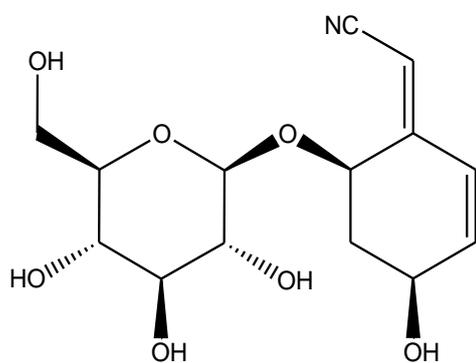
14



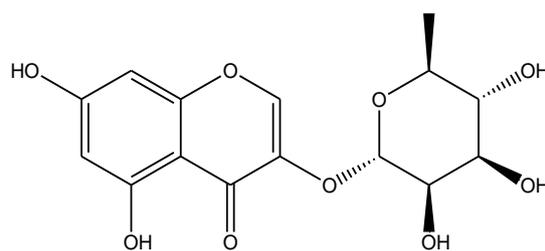
15



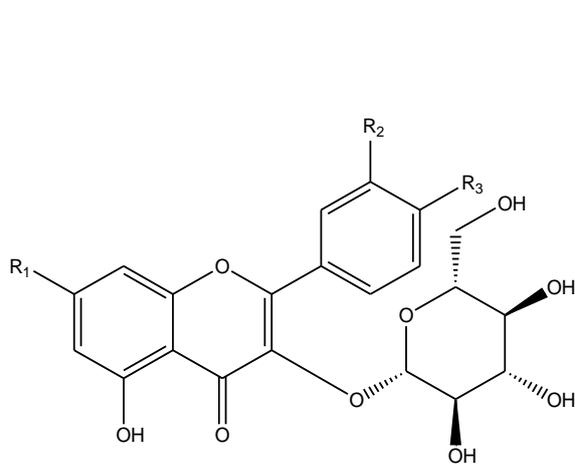
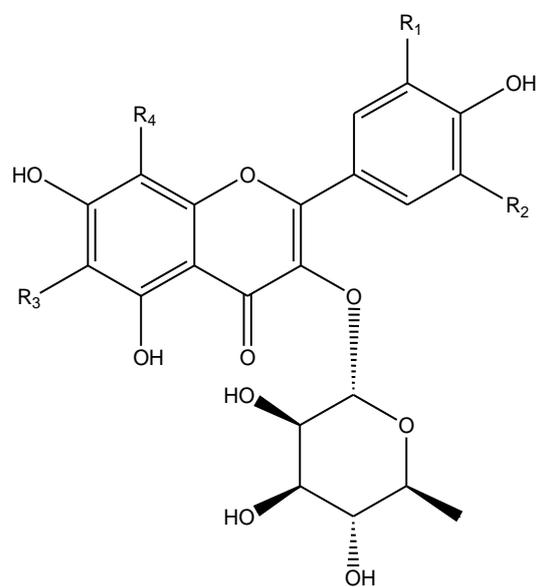
16

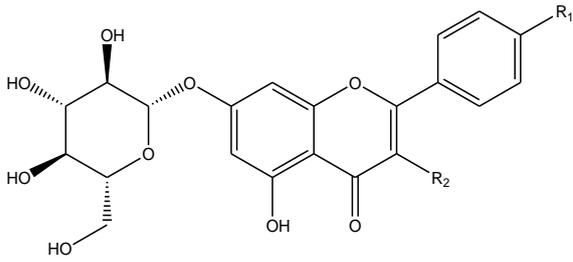


17



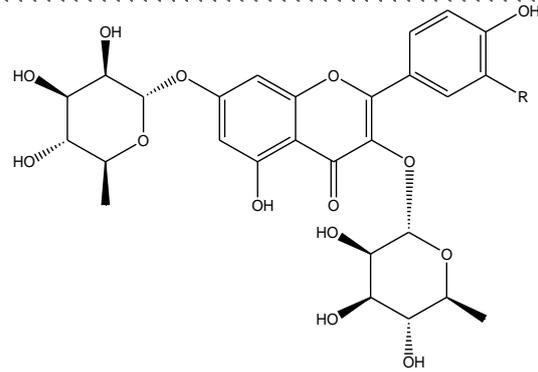
18

19 $R_1=R_2=R_3=OH$ 20 $R_1=R_3=OH$; $R_2=H$ 21 $R_1=R_3=OH$; $R_2=OCH_3$ 22 $R_1=R_3=OCH_3$; $R_2=H$ 23 $R_1=R_3=R_4=H$; $R_2=OH$ 24 $R_1=R_2=OH$; $R_3=R_4=H$ 25 $R_1=R_2=H$; $R_3=R_4=CH_3$ 26 $R_1=R_2=R_3=R_4=H$ 27 $R_1=R_3=R_4=H$; $R_2=OCH_3$



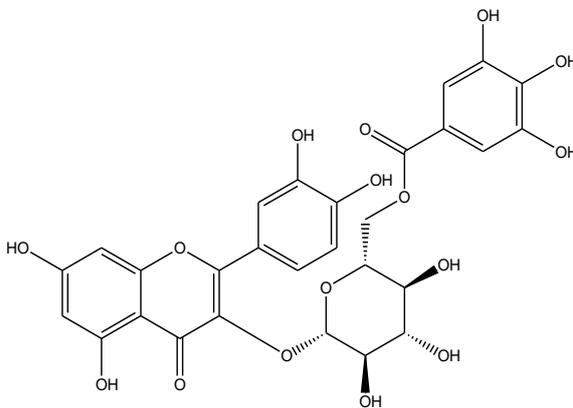
28 $R_1=R_2=H$

29 $R_1=R_2=OH$

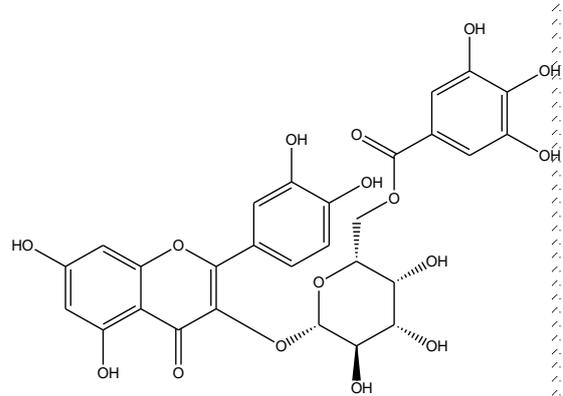


30 $R=H$

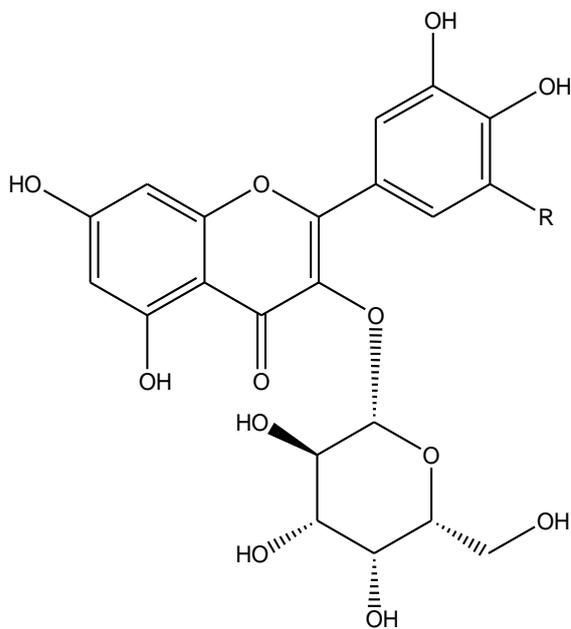
31 $R=OH$



32

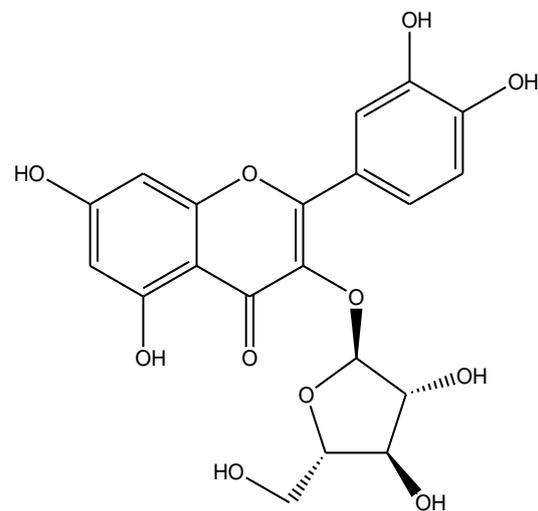


33

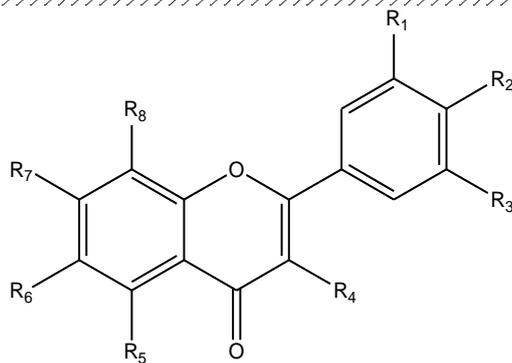


34 $R=H$

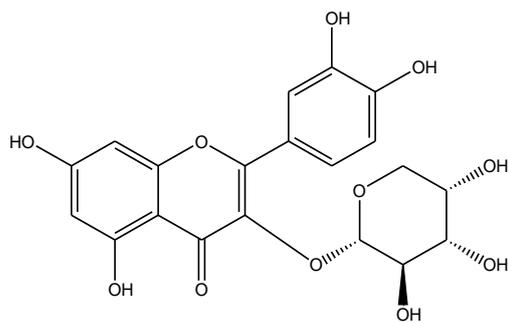
35 $R=OH$



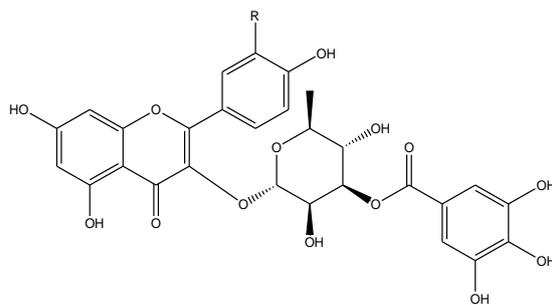
36



- 37** $R_1=R_2=R_3=R_4=R_6=R_8=H$; $R_5=R_7=OH$
38 $R_1=R_2=R_5=R_7=OH$; $R_3=R_4=R_6=R_8=H$
39 $R_1=R_3=R_4=R_6=R_8=H$; $R_2=R_5=R_7=OH$
40 $R_1=R_2=R_3=R_5=R_7=OCH_3$; $R_4=R_6=R_8=H$
41 $R_1=R_2=R_3=R_5=R_6=R_7=OCH_3$; $R_4=R_8=H$
42 $R_1=R_2=R_4=R_5=R_7=OH$; $R_3=R_6=R_8=H$
43 $R_1=OCH_3$; $R_2=R_5=R_7=OH$; $R_3=R_4=R_6=R_8=H$
44 $R_1=R_3=R_6=R_8=H$; $R_2=R_4=R_5=R_7=OH$
45 $R_1=OCH_3$; $R_2=R_4=R_5=R_7=OH$; $R_3=R_6=R_8=H$
46 $R_1=R_4=R_7=OH$; $R_2=OCH_3$; $R_3=R_5=R_6=R_8=H$
47 $R_1=R_2=R_5=R_7=OH$; $R_3=R_6=R_8=H$; $R_4=OCH_3$
48 $R_1=R_2=R_4=R_7=OH$; $R_3=R_5=R_6=R_8=H$
49 $R_1=R_3=H$; $R_2=R_5=R_7=OH$; $R_4=OCH_3$; $R_6=R_8=CH_3$
50 $R_1=R_3=R_6=R_8=H$; $R_2=OCH_3$; $R_4=R_5=R_7=OH$
51 $R_1=R_4=R_5=OH$; $R_2=R_7=OCH_3$; $R_3=R_6=R_8=H$
52 $R_1=R_4=OCH_3$; $R_2=R_5=R_7=OH$; $R_3=R_6=R_8=H$
53 $R_1=R_4=R_5=OCH_3$; $R_2=R_7=OH$; $R_3=R_6=R_8=H$
54 $R_1=R_3=R_6=R_8=H$; $R_2=R_4=R_5=OH$; $R_7=OCH_3$

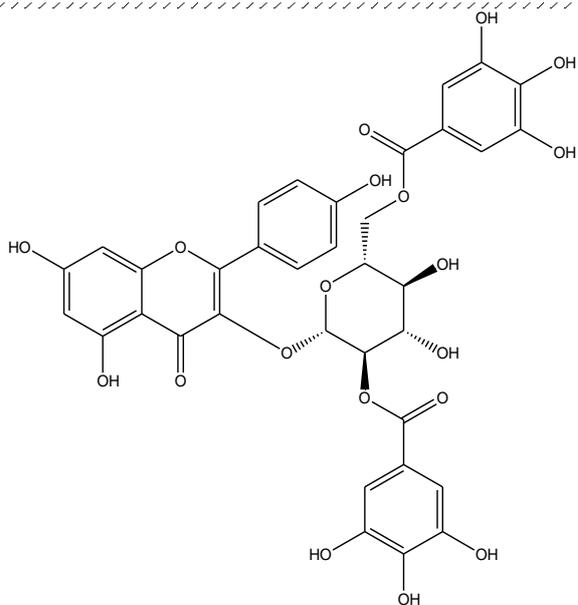


55

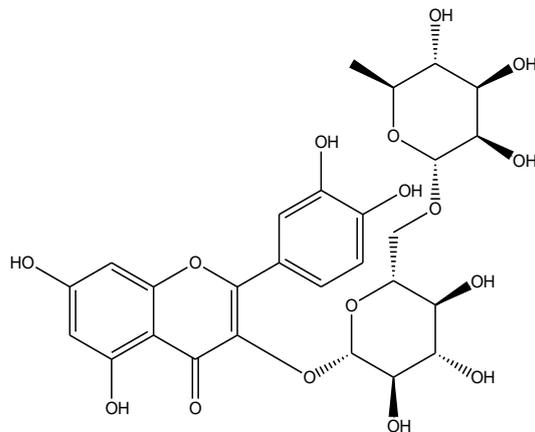


56 R=H

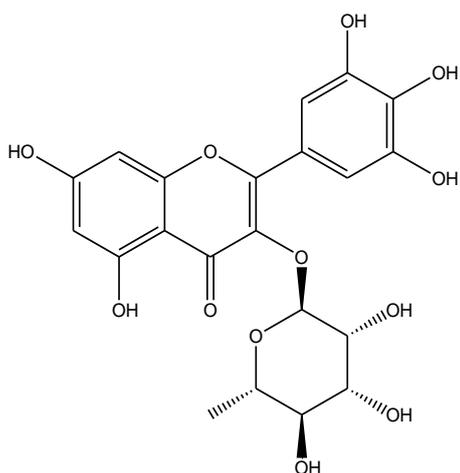
57 R=OH



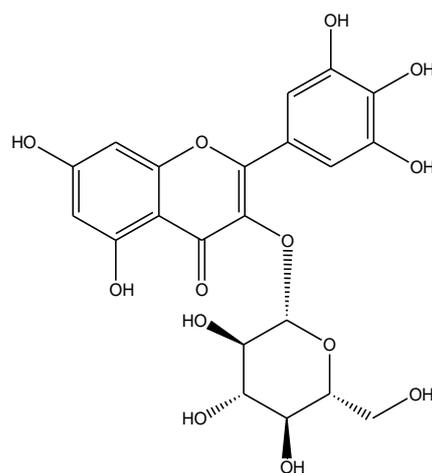
58



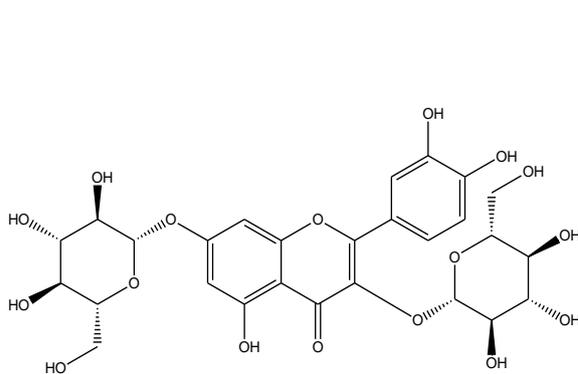
59



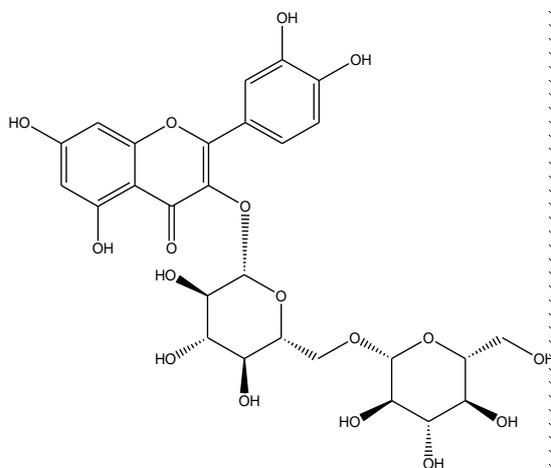
60



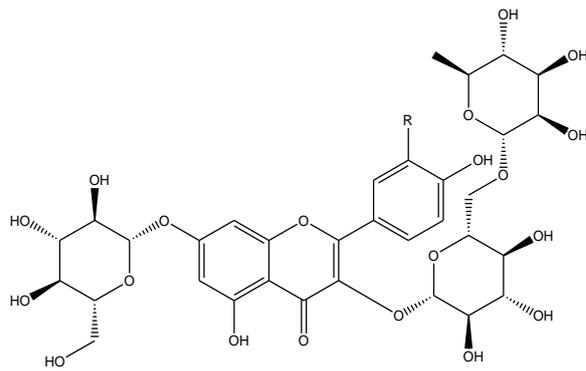
61



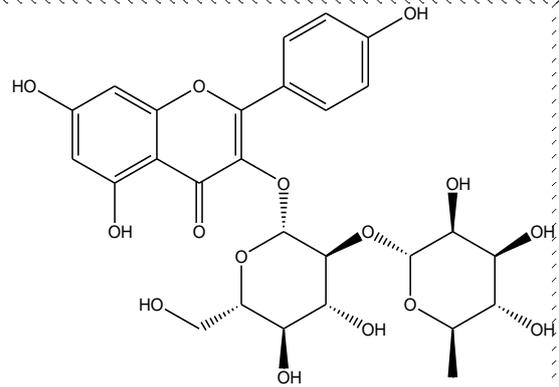
62



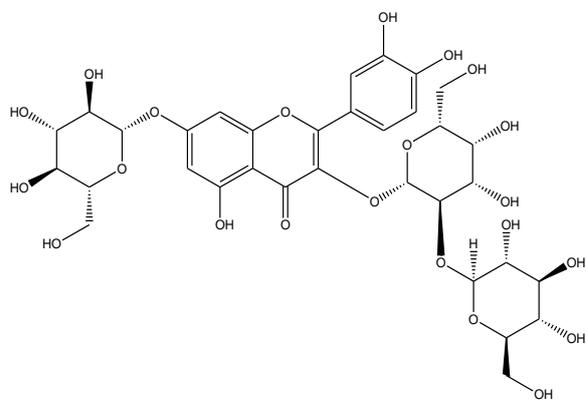
63



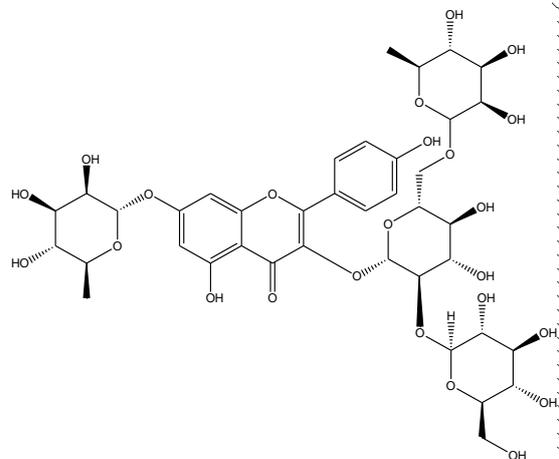
64 R=OH
65 R=H



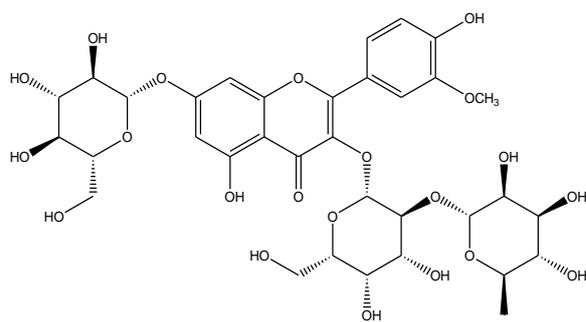
66



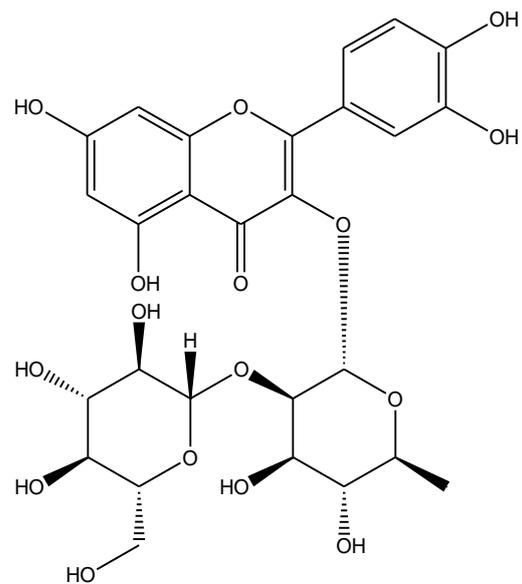
67



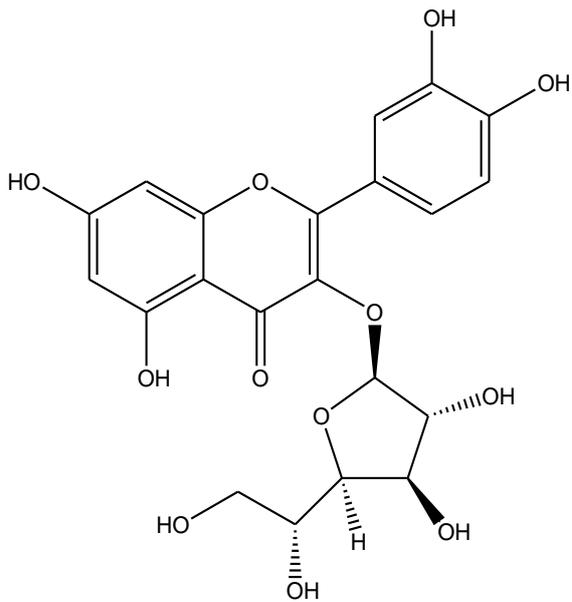
68



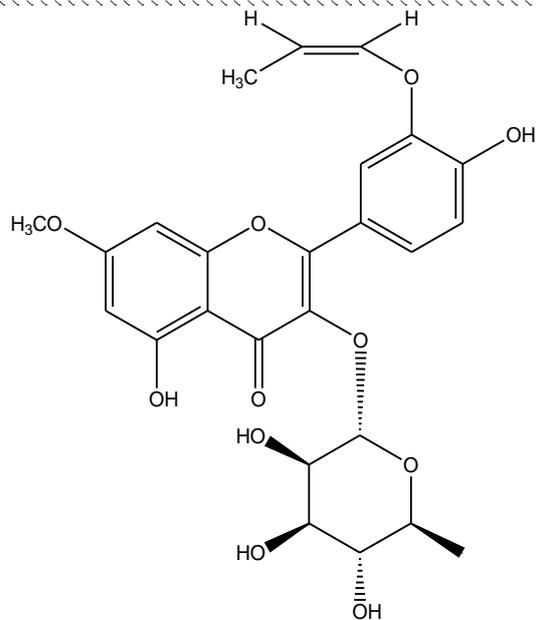
69



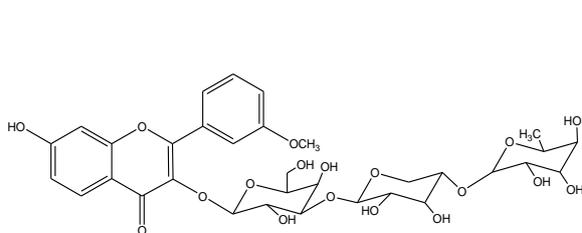
70



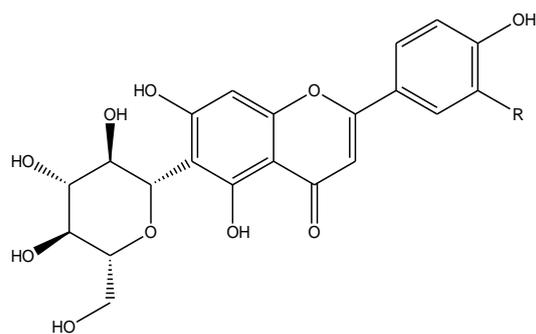
71



72

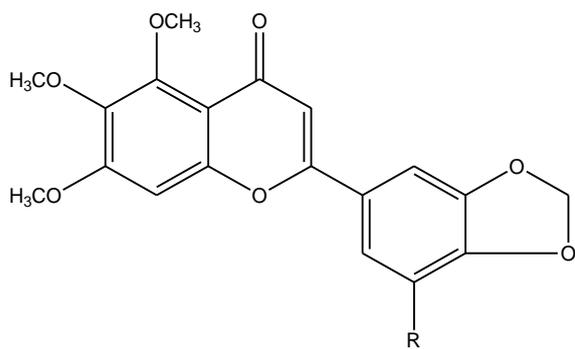


73

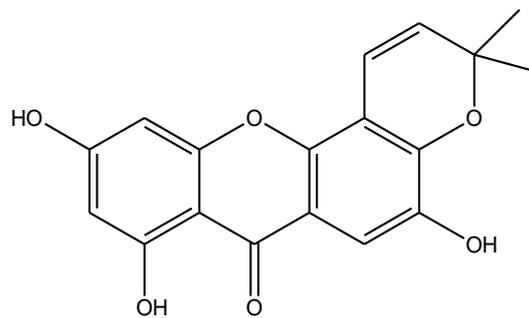


74 R=H

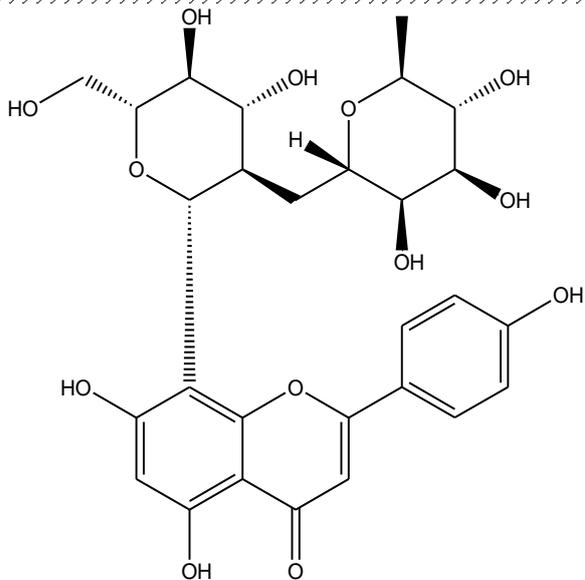
75 R=OH



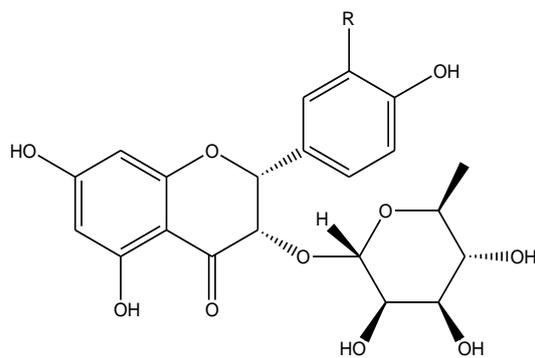
76 R=H

77 R=OCH₃

78

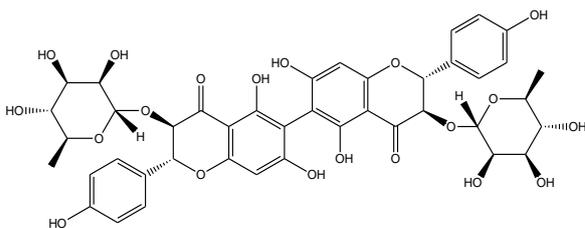


79

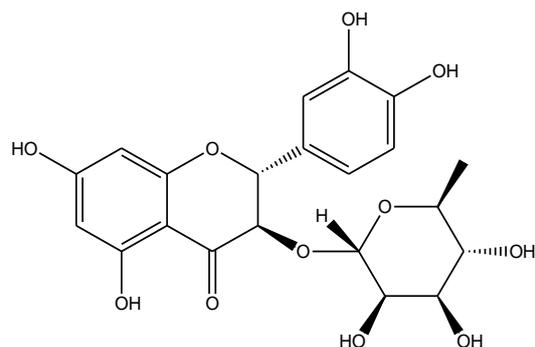


80 R=H

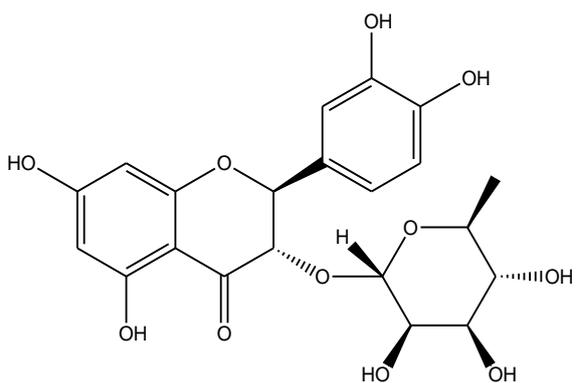
81 R=OH



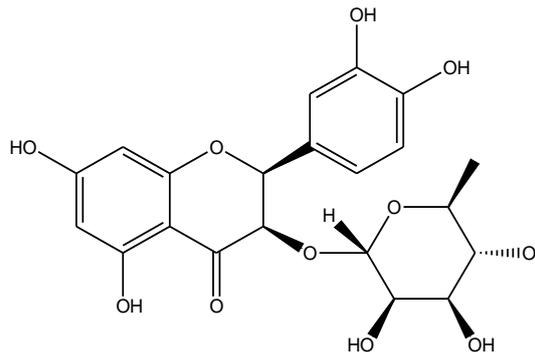
82



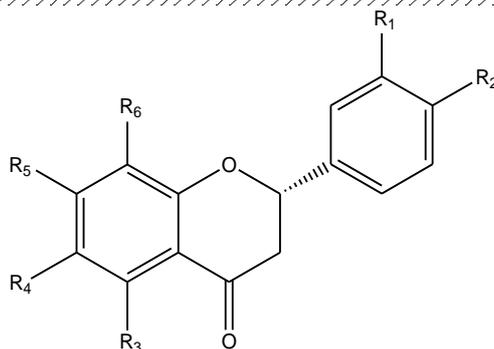
83



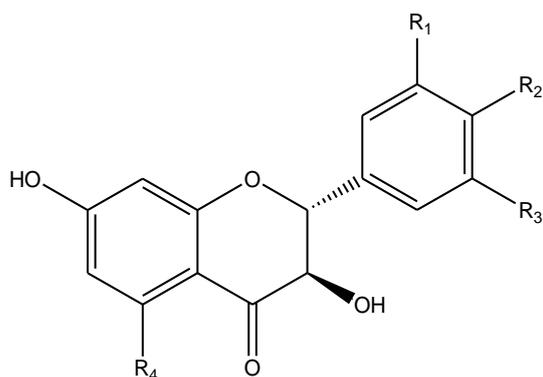
84



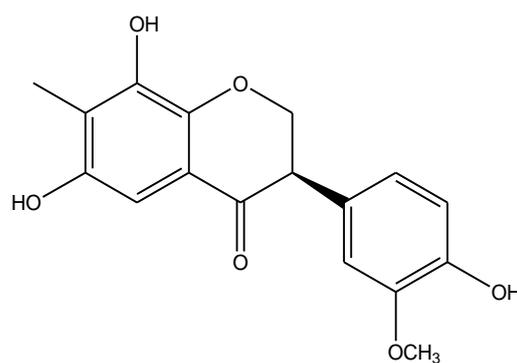
85



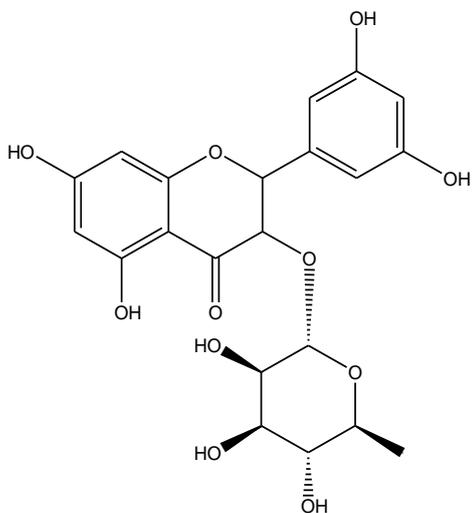
- 86** $R_1=R_3=R_4=R_6=H$; $R_2=R_5=OH$
87 $R_1=R_2=R_3=R_5=OH$; $R_4=R_6=H$
88 $R_1=H$; $R_2=R_3=R_5=OH$; $R_4=R_6=CH_3$
89 $R_1=OCH_3$; $R_2=R_3=R_5=OH$; $R_4=R_6=H$
90 $R_1=R_2=R_6=H$; $R_3=R_5=OH$; $R_4=CH_3$
91 $R_1=R_2=H$; $R_3=R_5=OH$; $R_4=R_6=CH_3$
92 $R_1=R_4=R_6=H$; $R_2=R_3=R_5=OH$
93 $R_1=R_3=OH$; $R_2=R_4=R_5=OCH_3$; $R_6=H$



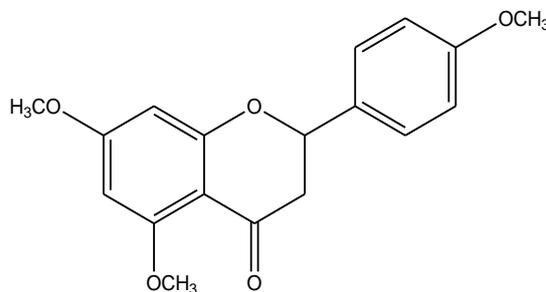
- 94** $R_1=R_3=R_4=OH$; $R_2=H$
95 $R_1=R_3=R_4=H$; $R_2=OH$



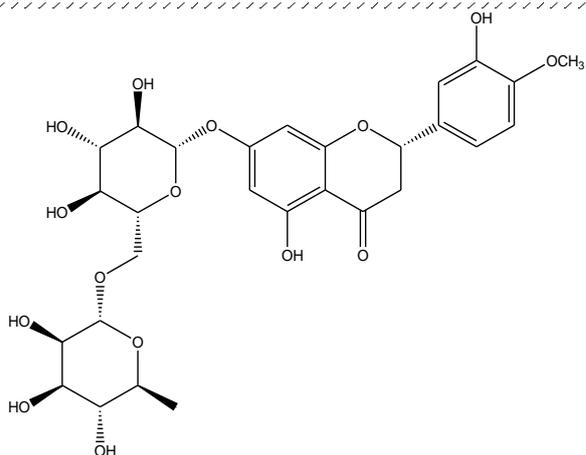
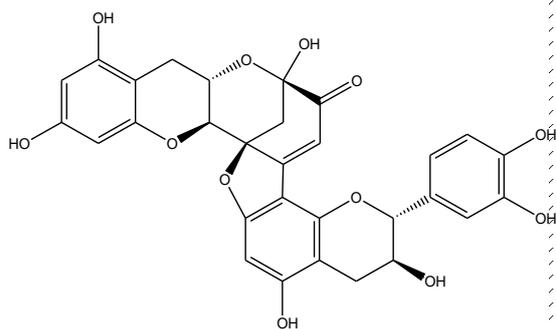
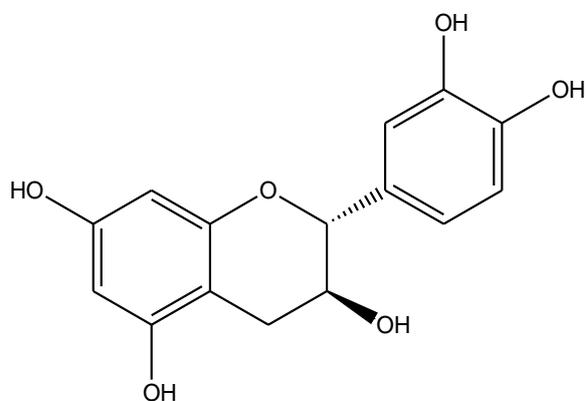
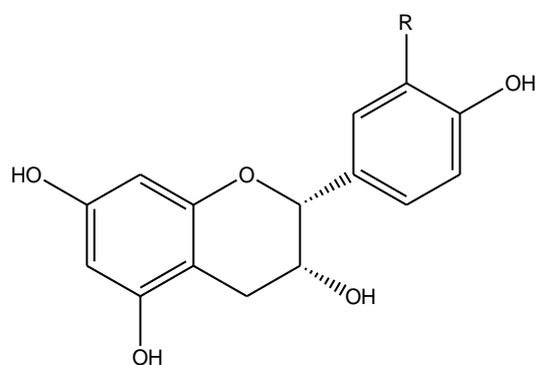
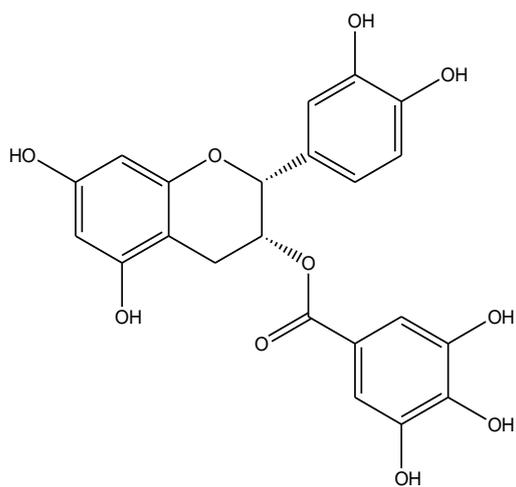
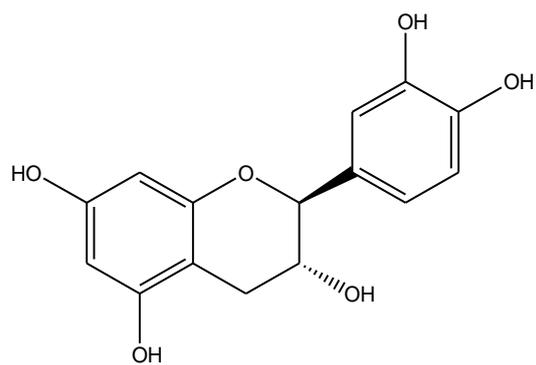
96

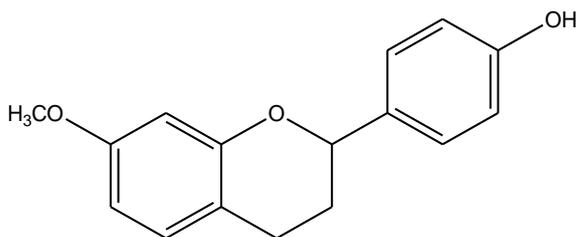


97

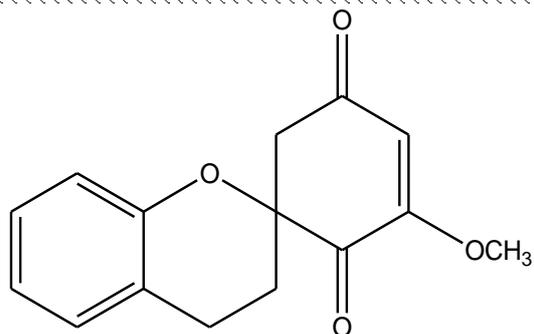


98

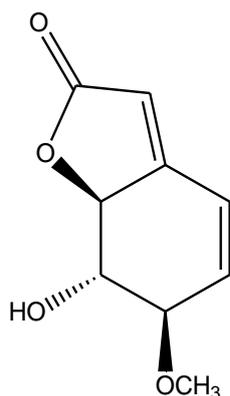
**99****100****101****102** R=OH**103** R=H**104****105**



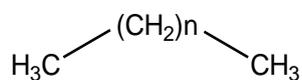
106



107



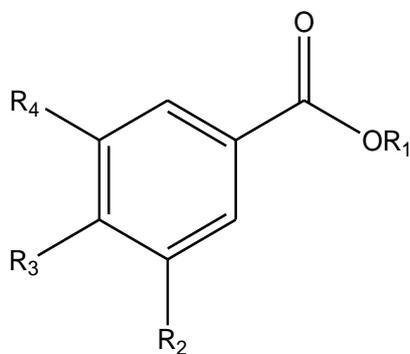
108

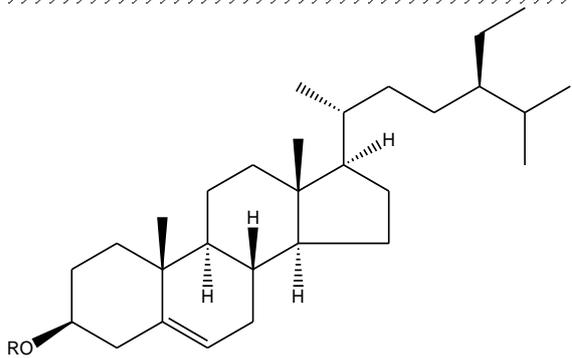
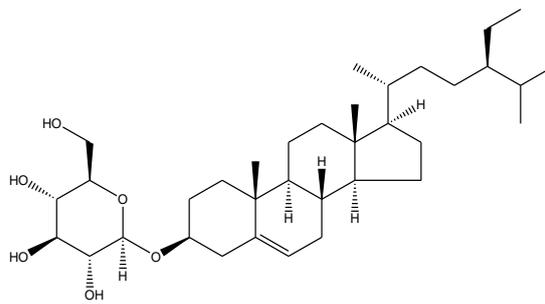
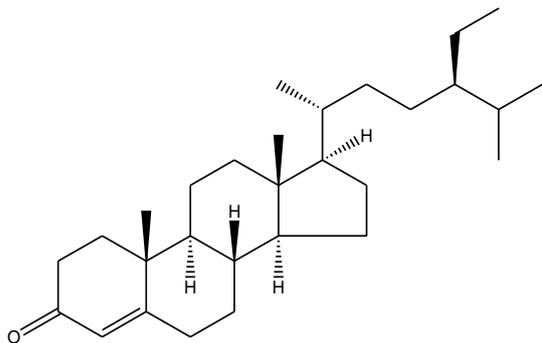
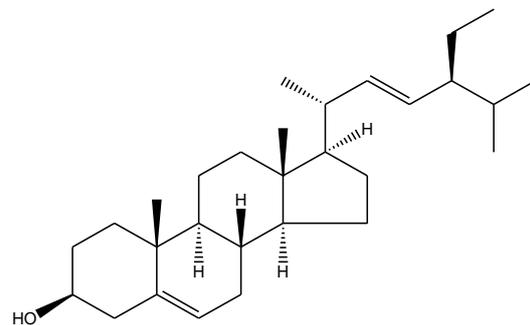
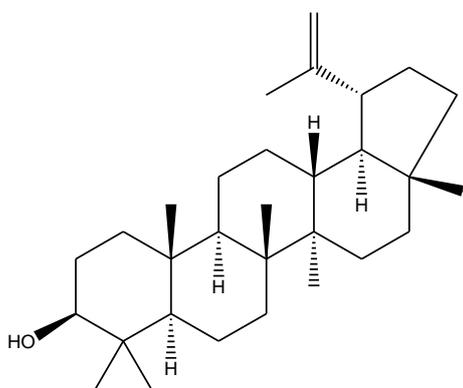
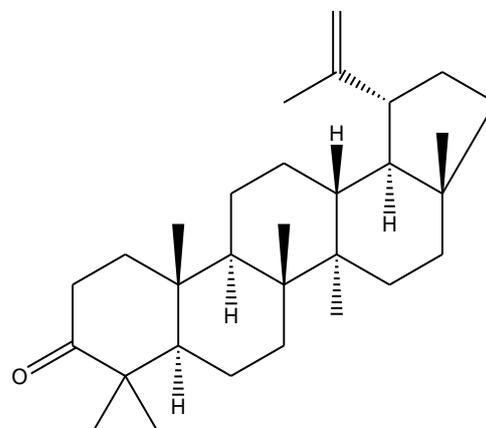
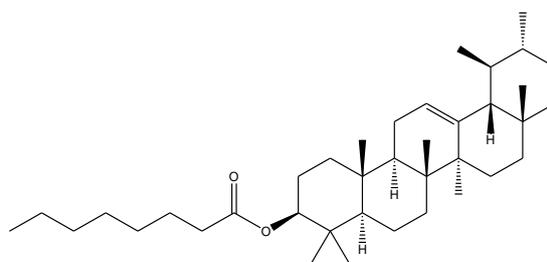
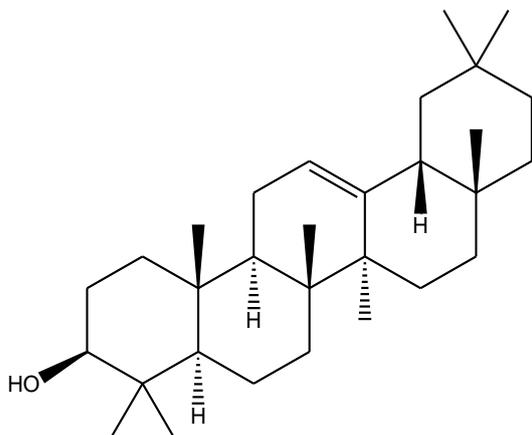


109 n=28

110 n=58

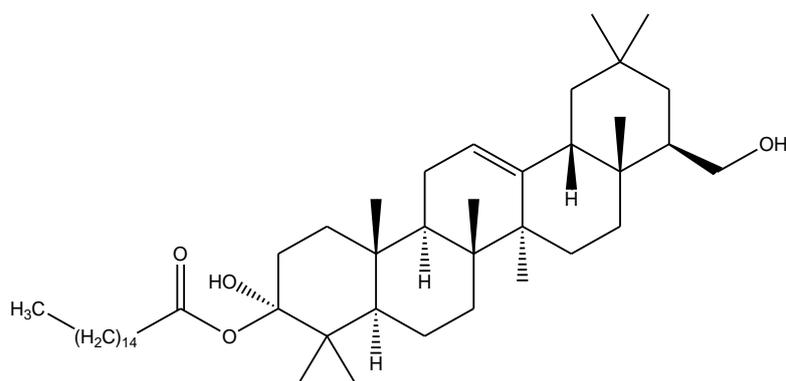
111 n=22

112 $R_1=R_2=H$; $R_3=R_4=OH$ 113 $R_1=R_2=R_4=H$; $R_3=OH$ 114 $R_1=R_2=H$; $R_3=OH$; $R_4=OCH_3$ 115 $R_1=R_2=H$; $R_3=OCH_3$; $R_4=OH$ 116 $R_1=H$; $R_2=R_3=R_4=OH$ 117 $R_1=CH_3$; $R_2=R_3=R_4=OH$ 118 $R_1=CH_2CH_3$; $R_2=R_3=R_4=OH$ 119 $R_1=H$; $R_2=R_4=OCH_3$; $R_3=OH$ 120 $R_1=CH_2CH_3$; $R_2=H$; $R_3=R_4=OH$

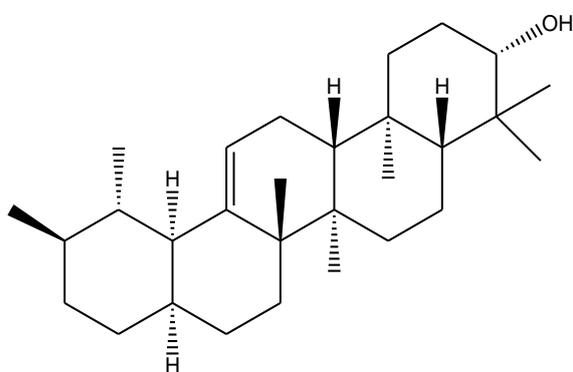
**121** R=H**122** R=CO(CH₂)₁₆CH₃**123****124****125****126****127**

128

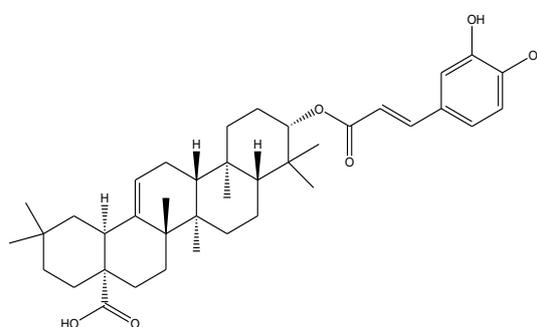
129



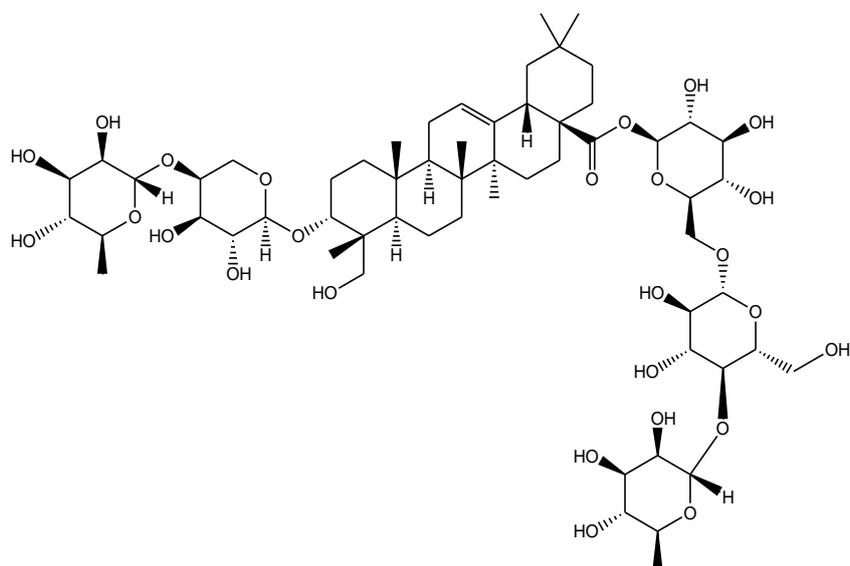
130



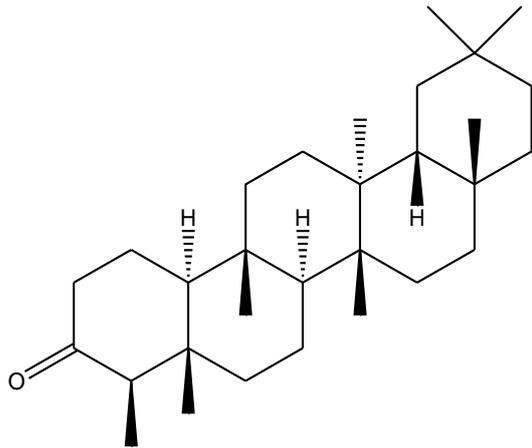
131



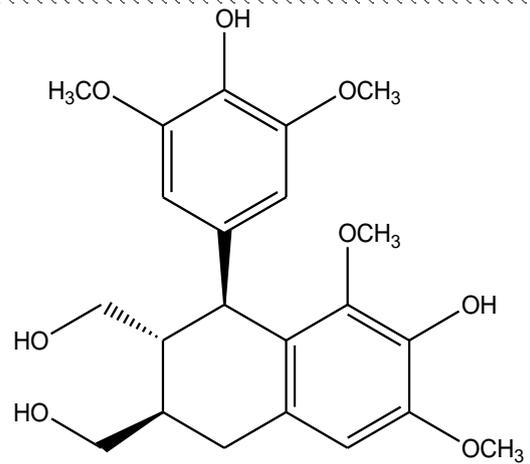
132



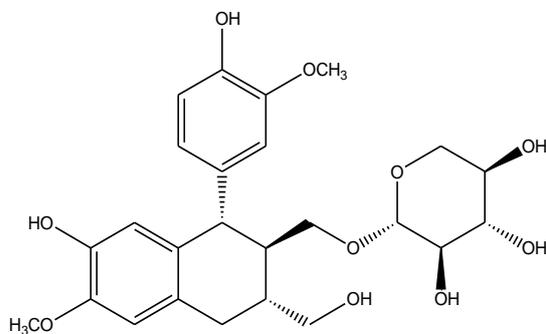
133



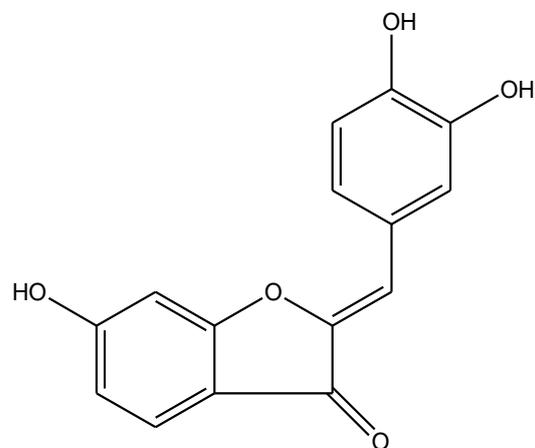
134



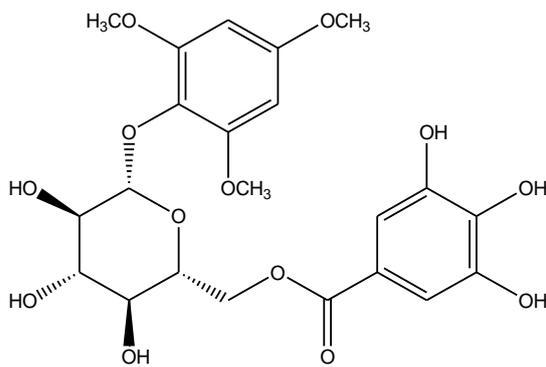
135



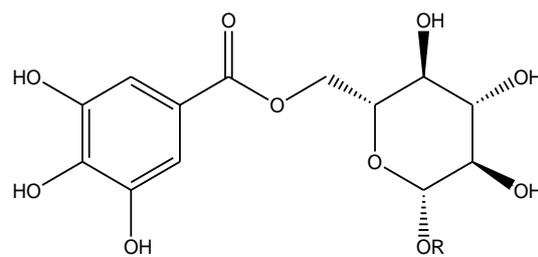
136



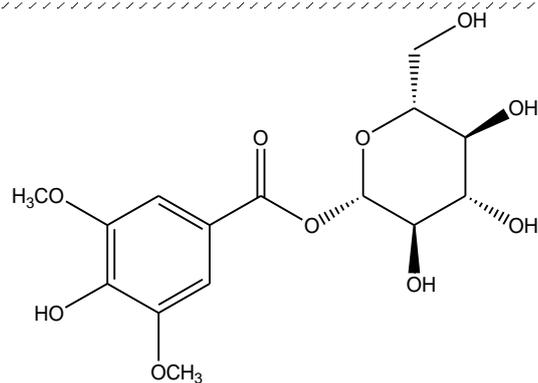
137



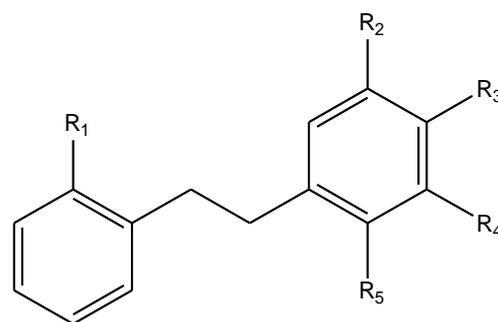
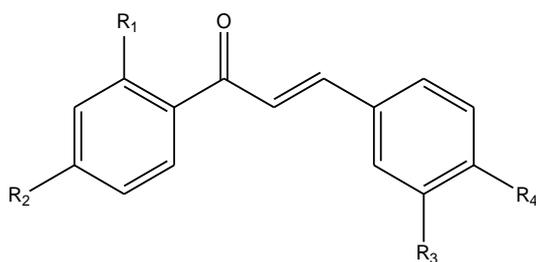
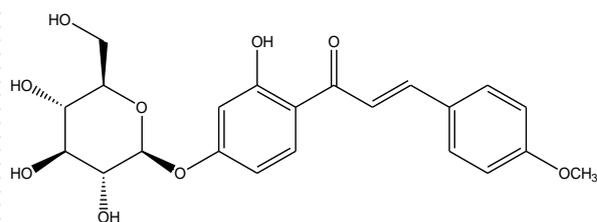
138

139 R=CH₂CH₃140 R=CH(CH₃)₂

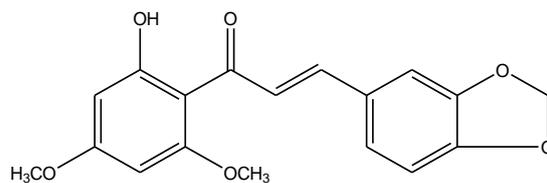
141 R=3,4,5-trimetoxifenil



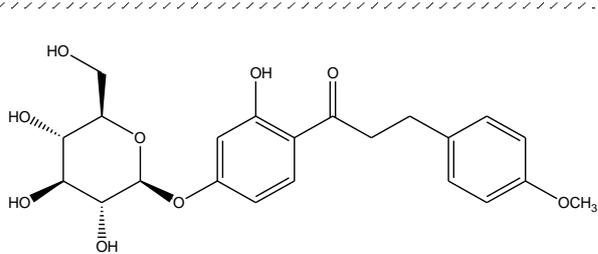
142

143 $R_1=R_2=R_4=OH$; $R_3=H$ 144 $R_1=R_2=R_3=R_4=OH$ 145 $R_1=R_2=OH$; $R_3=R_4=H$ 146 $R_1=R_2=OH$; $R_3=H$; $R_4=OCH_3$ 147 $R_1=R_2=OCH_3$; $R_3=H$; $R_4=OH$ 148 $R_1=R_3=R_4=OH$; $R_2=OCH_3$ 149 $R_1=R_4=OH$; $R_2=OCH_3$; $R_3=H$ 150 $R_1=R_2=OH$; $R_3=CH_3$; $R_4=OCH_3$;
 $R_5=H$ 151 $R_1=R_2=OH$; $R_3=R_5=H$; $R_4=OCH_3$ 152 $R_1=OH$; $R_2=R_4=OCH_3$;
 $R_3=R_5=H$ 153 $R_1=R_5=OH$; $R_2=R_4=OCH_3$;
 $R_3=H$ 154 $R_1=R_3=R_5=H$; $R_2=R_4=OH$ 155 $R_1=R_3=R_5=H$; $R_2=OH$;
 $R_4=OCH_3$ 

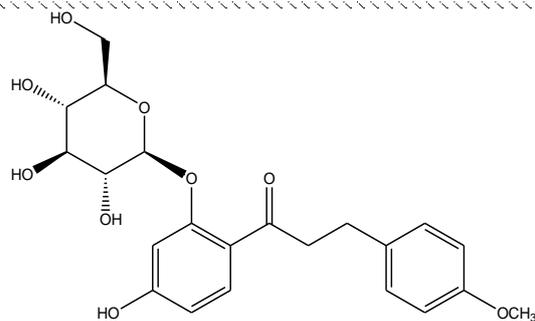
156



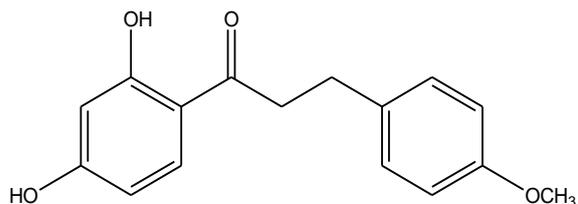
157



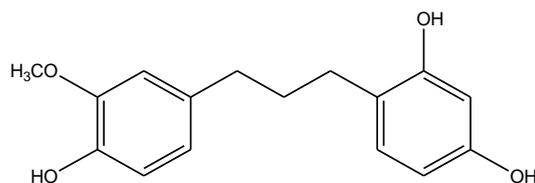
158



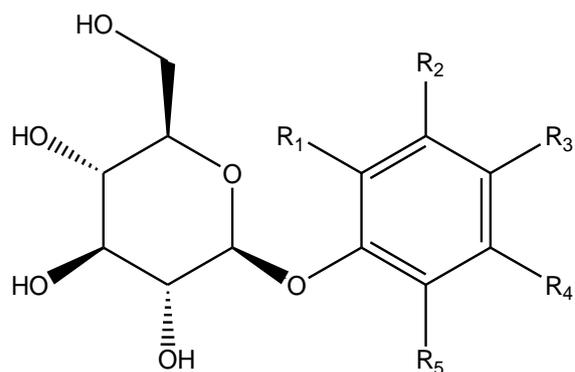
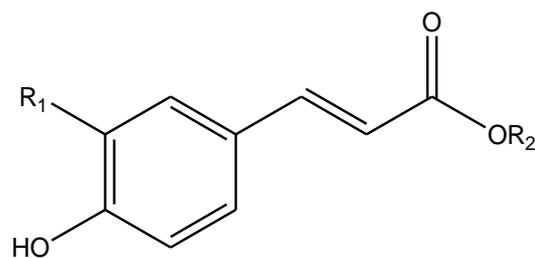
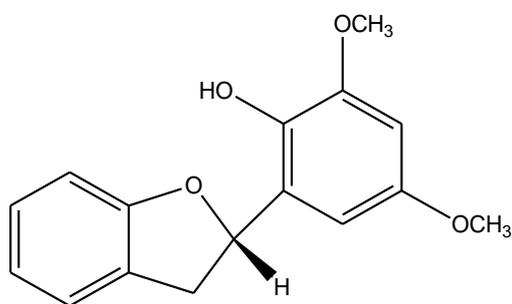
159



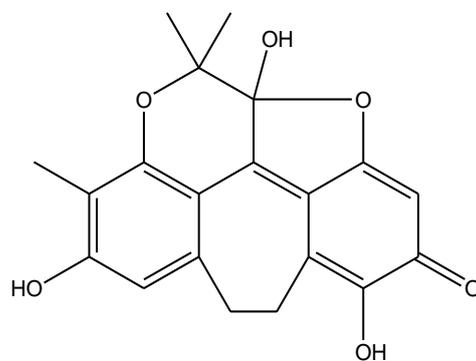
160



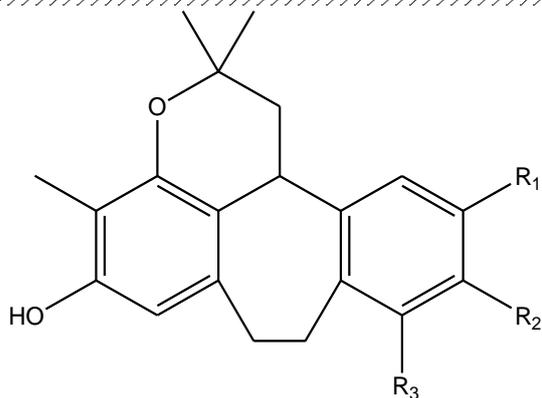
161

162 $R_1=R_5=H$; $R_2=R_3=R_4=OCH_3$ 163 $R_1=R_5=OCH_3$; $R_2=R_4=H$;
 $R_3=COOH$ 164 $R_1=R_2=R_4=R_5=H$; $R_3=COOH$ 165 $R_1=OCH_3$; $R_2=(CH_2)_{27}CH_3$ 166 $R_1=OH$; $R_2=H$ 167 $R_1=OCH_3$; $R_2=H$ 

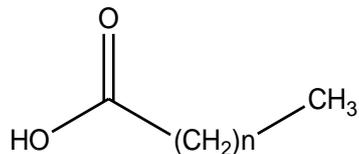
168



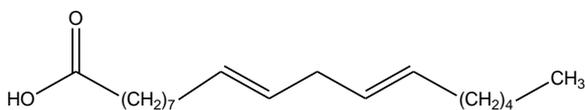
169



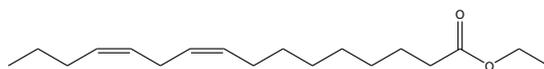
170 $R_1=H$; $R_2=OCH_3$; $R_3=OH$
171 $R_1=H$; $R_2=R_3=OH$
172 $R_1=R_2=OH$; $R_3=H$



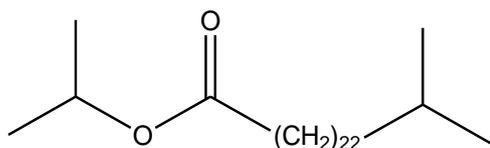
173 $n=12$
174 $n=16$
175 $n=18$
176 $n=20$
177 $n=14$



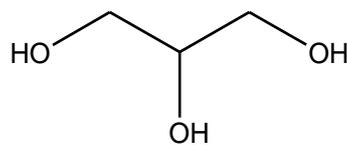
178



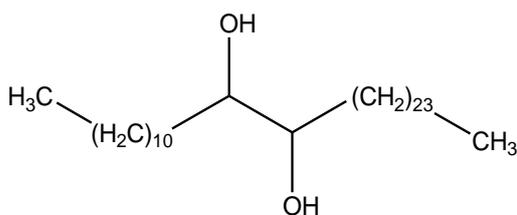
179



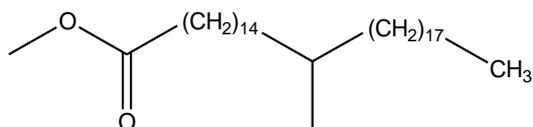
180



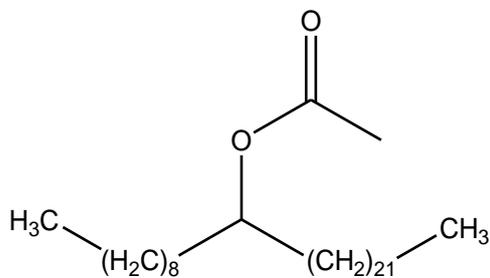
181



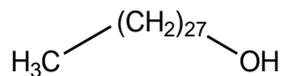
182



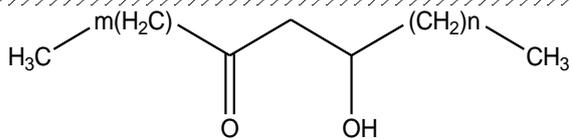
183



184

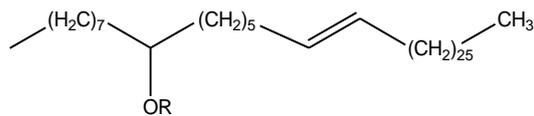


185

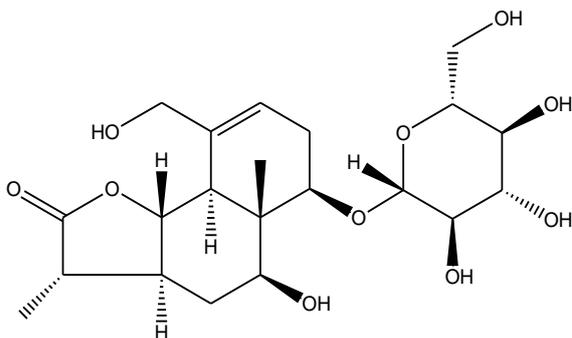


186 $m=9$; $n=5$

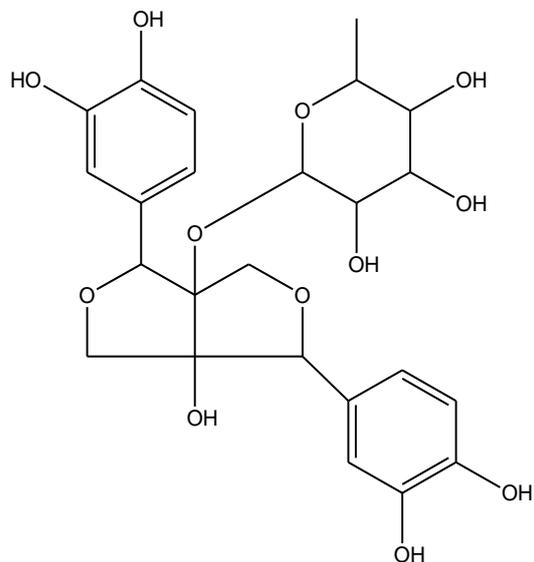
187 $m=5$; $n=25$



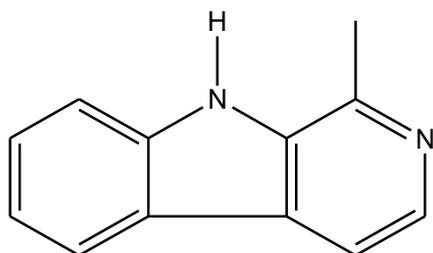
188 $R=H$



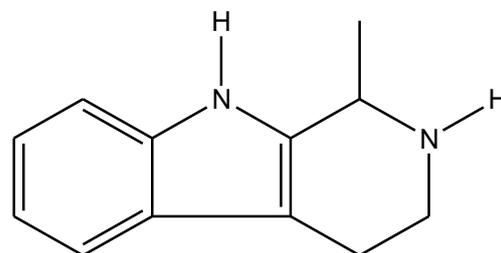
189



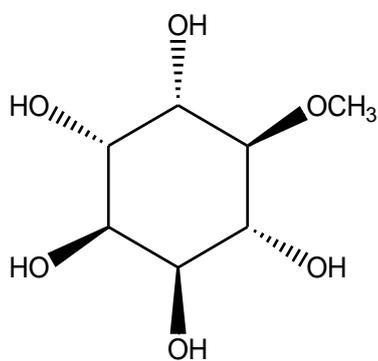
190



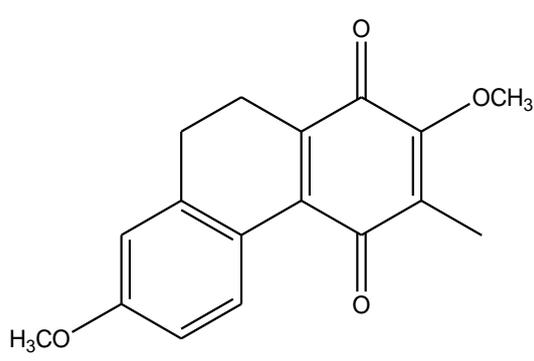
191



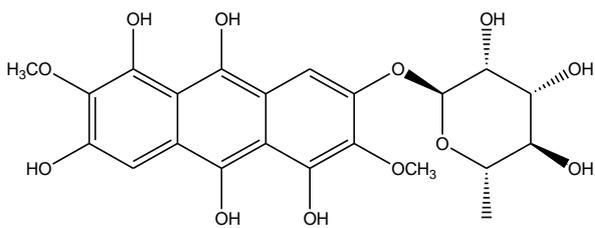
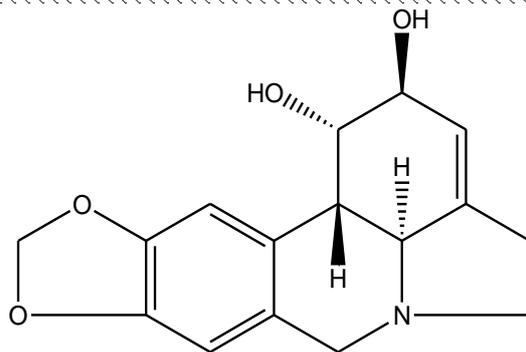
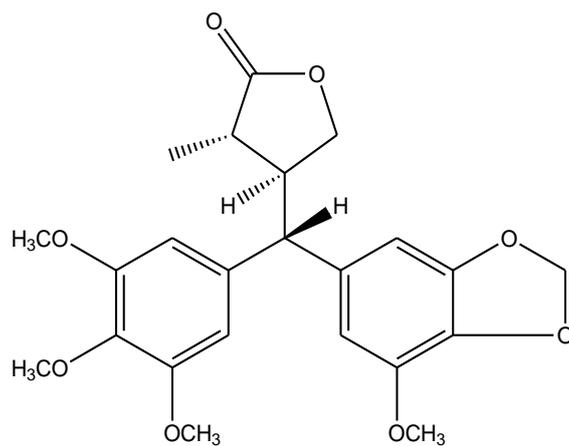
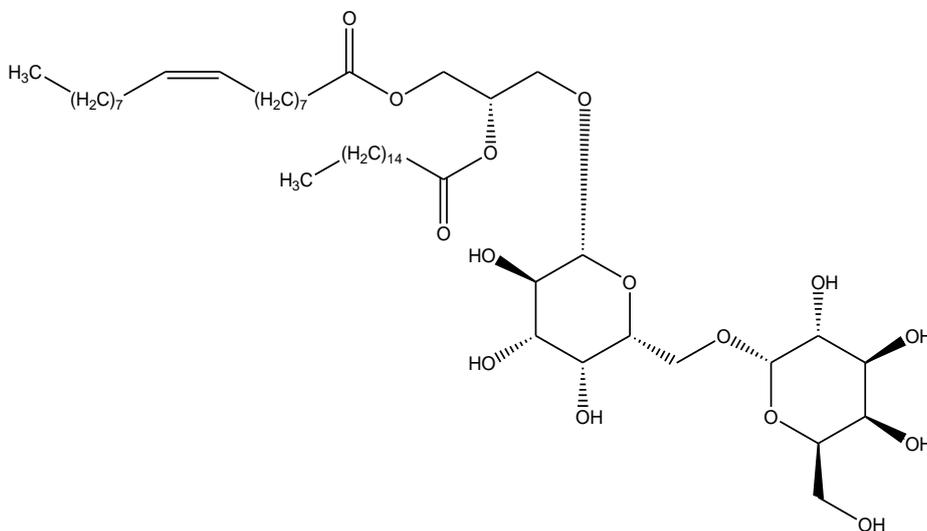
192

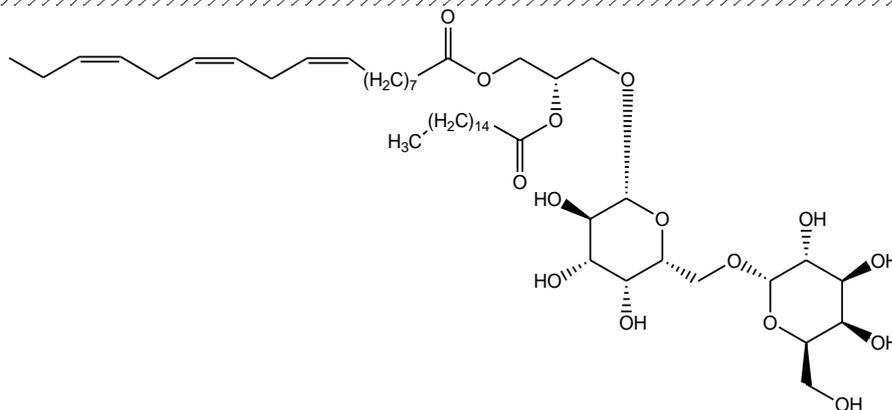
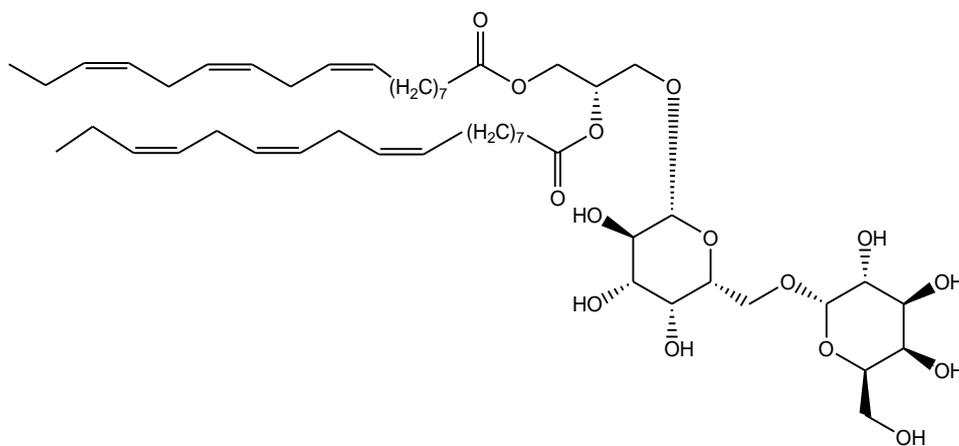


193



194

**195****196****197****198**

**199****200**

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Identificação dos constituintes dos óleos essenciais de *B. pentandra* obtidos por hidrodestilação

Os constituintes do óleo essencial das folhas secas e das frescas de *B. pentandra*, obtido pelo processo de hidrodestilação, foram identificados pela técnica de CG-EM.

Do óleo essencial das folhas secas foram identificados onze constituintes, representando 92,28% da sua composição total, sendo sua maioria constituída por sesquiterpenos, com registro de apenas um monoterpeno, um diterpeno e uma cetona (**Tab. 2, p. 69**). O principal constituinte foi o sesquiterpeno β -cariofileno (30,65%).

No óleo essencial das folhas frescas seis constituintes foram identificados, representando 96,19% da sua composição total, sendo cinco sesquiterpenos e um diterpeno (**Tab. 2, p. 69**). O constituinte majoritário foi identificado como o diterpeno fitol (56,75%).

O fitol é um componente da molécula da clorofila, presente em folhas verdes de várias plantas medicinais, sendo a ela complexado por uma ligação do tipo éster em sua cadeia lateral e, portanto, está presente na natureza de forma abundante (COSTA *et al.*, 2012).

Os cromatogramas e os espectros de massas dos constituintes identificados encontram-se nas páginas 70-74, e as estruturas químicas respectivas são mostradas no **Quadro 2, p. 70**.

Tabela 2 Constituintes do óleo essencial de *B. pentandra* obtido por hidrodestilação

Constituintes	<i>Folhas secas</i>				<i>Folhas frescas</i>			
	TR (min) ^a	IK _{exp.} ^b	IK _{lit.} ^c	Área (%)	TR (min) ^a	IK _{exp.} ^b	IK _{lit.} ^c	Área (%)
Timol	21,500	1303	1302	1,52	-	-	-	-
(<i>E</i>)- β -damascenona	24,715	1390	1390	1,39	-	-	-	-
β -elemeno	24,980	1397	1395	2,74	-	-	-	-
β -cariofileno	26,035	1431	1431	30,65	25,967	1429	1431	13,49
α -humuleno	27,090	1464	1462	5,33	27,070	1463	1462	3,04
Germacreno D	28,000	1493	1492	9,84	27,976	1492	1492	8,37
Elixeno	28,525	1509	1511	13,69	28,499	1509	1511	13,20
Cupareno	28,773	1517	1518	1,05	-	-	-	-
Espatulenol	31,060	1590	1591	3,72	-	-	-	-
Óxido de cariofileno	31,250	1596	1596	10,04	31,204	1594	1596	1,34
Fitol	39,805	2118	2119	12,31	39,835	2121	2119	56,75
Total				92,28				96,19

^a TR: tempo de retenção^b Índice de Kovats experimental em coluna capilar RTX-5^c Índice de Kovats da literatura (ADAMS, 2007; NIST)

Quadro 2 Constituintes do óleo essencial das folhas secas e frescas de *B. pentandra* obtido por hidrodestilação

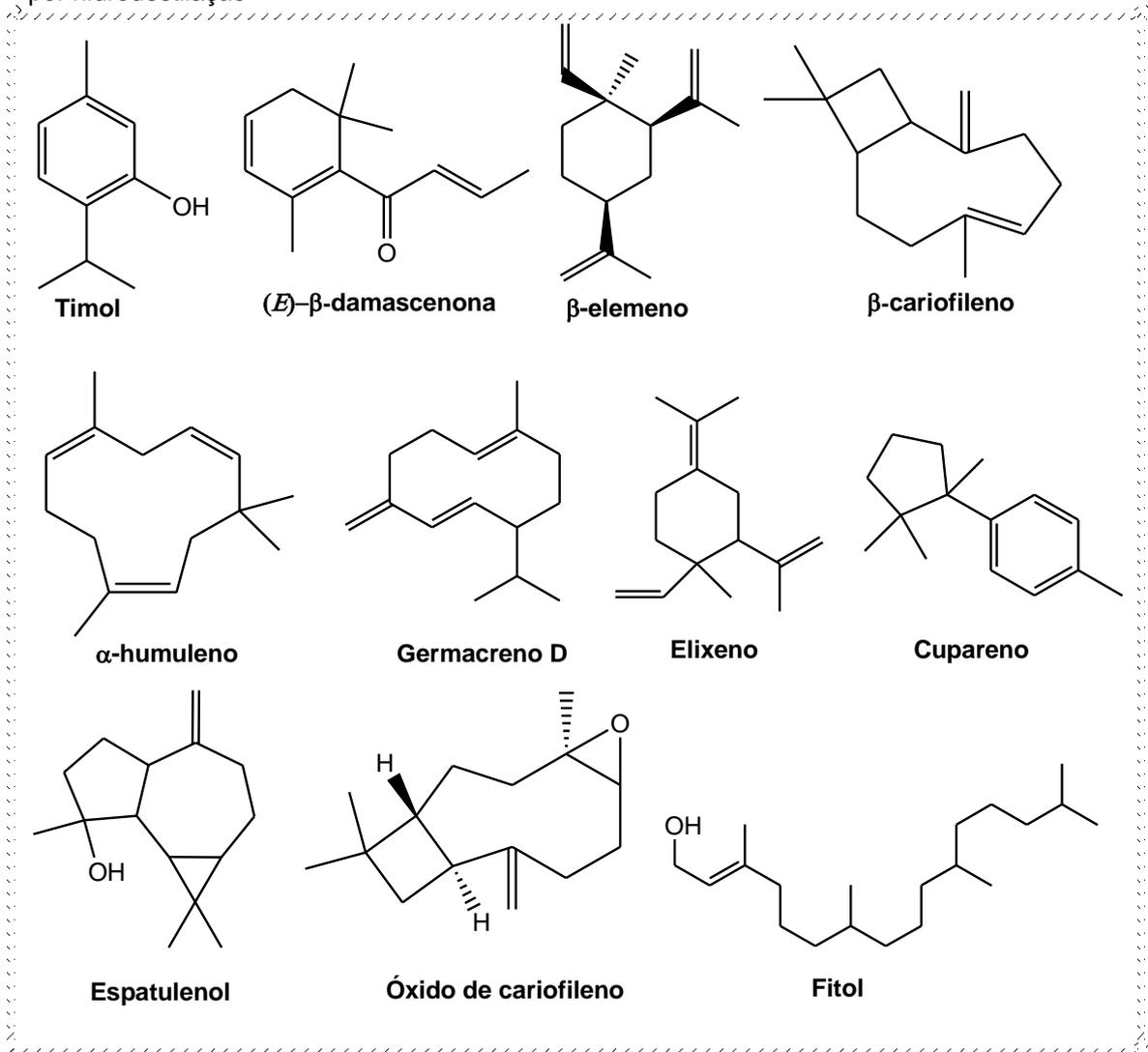


Figura 4 Cromatograma do óleo essencial das folhas secas de *B. pentandra* obtido por hidrodestilação

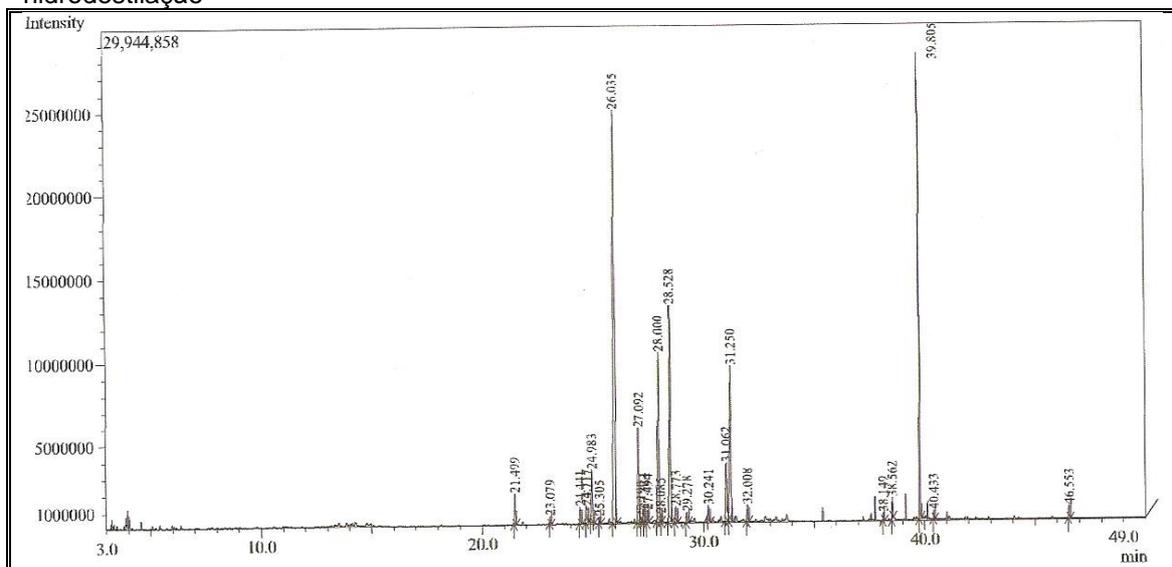


Figura 5 Cromatograma do óleo essencial das folhas frescas de *B. pentandra* obtido por hidrodestilação

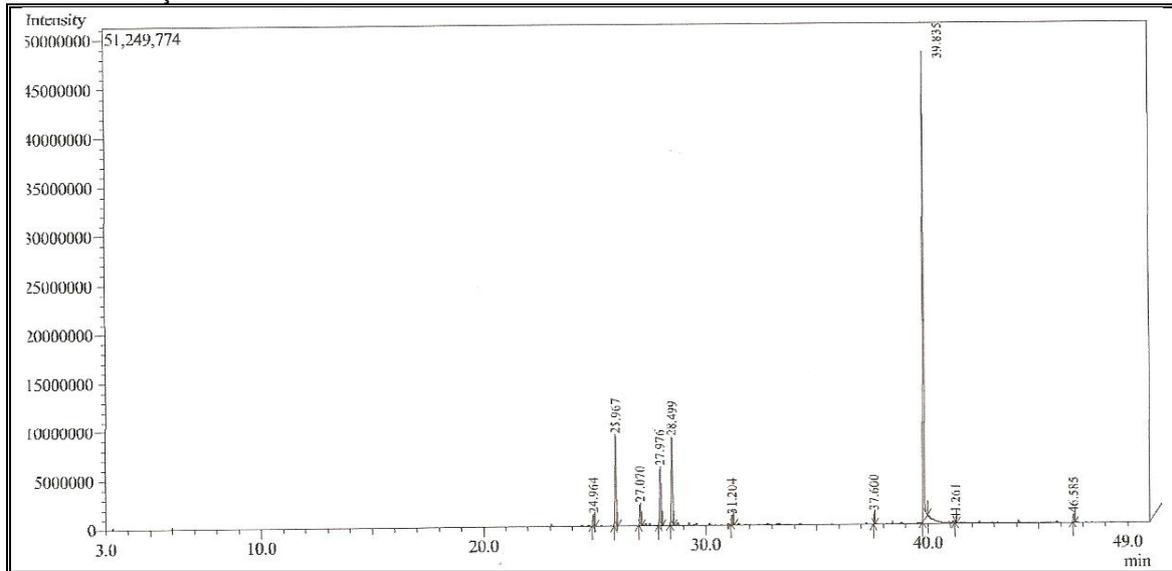


Figura 6 Espectro de massas do timol

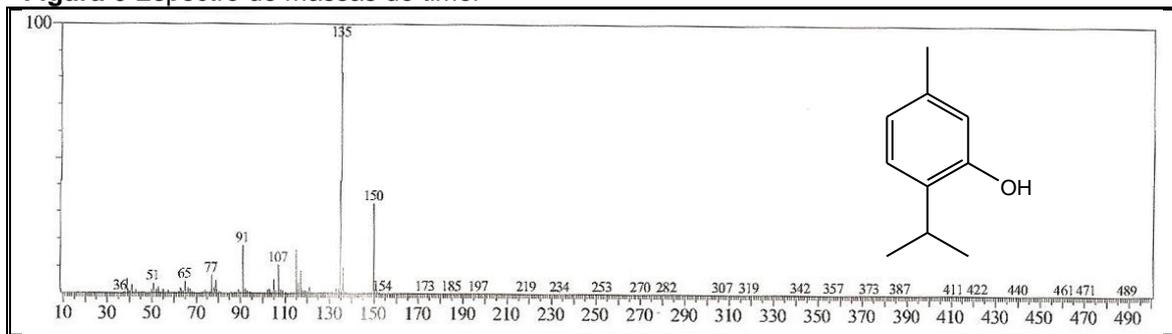


Figura 7 Espectro de massas da (*E*)- β -damascenona

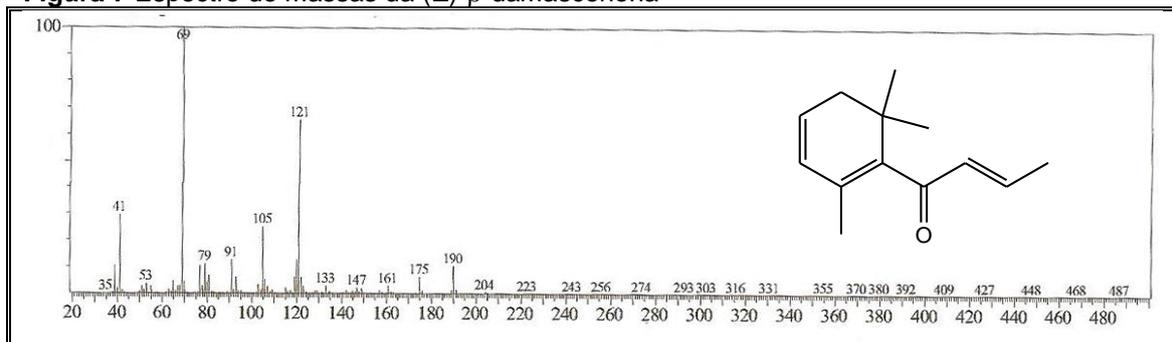


Figura 8 Espectro de massas do β -elemeno

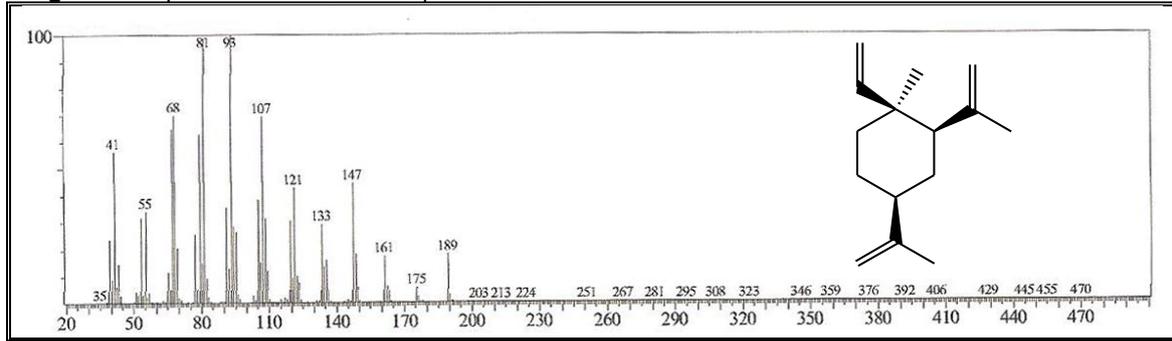


Figura 9 Espectro de massas do β -cariofileno

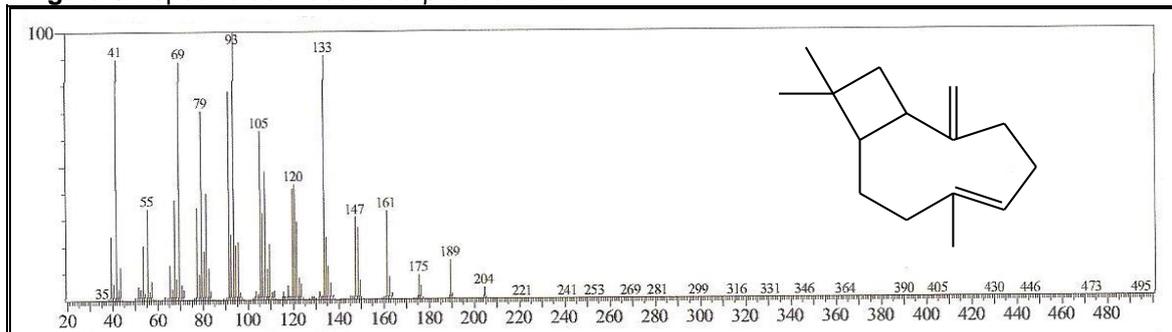


Figura 10 Espectro de massas do α -humuleno

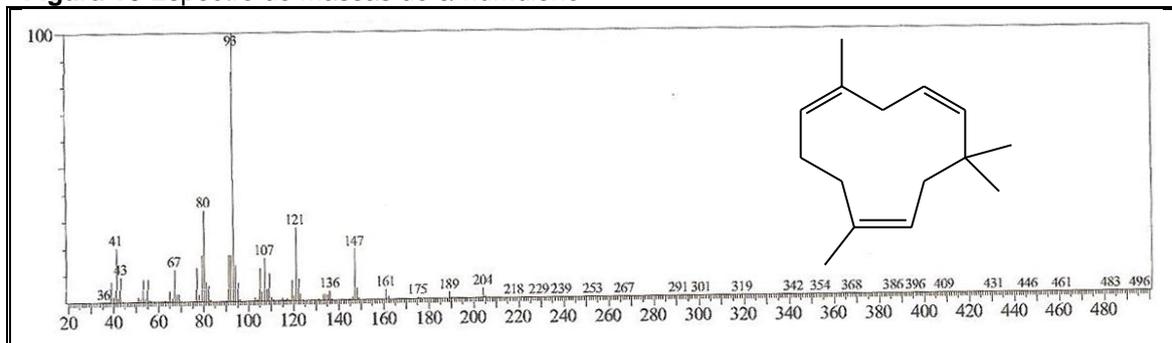


Figura 11 Espectro de massas do germacreno D

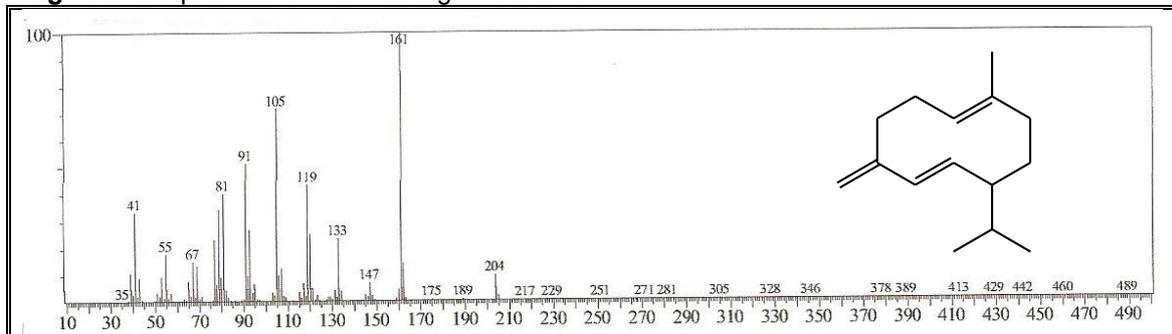


Figura 12 Espectro de massas do elixeno

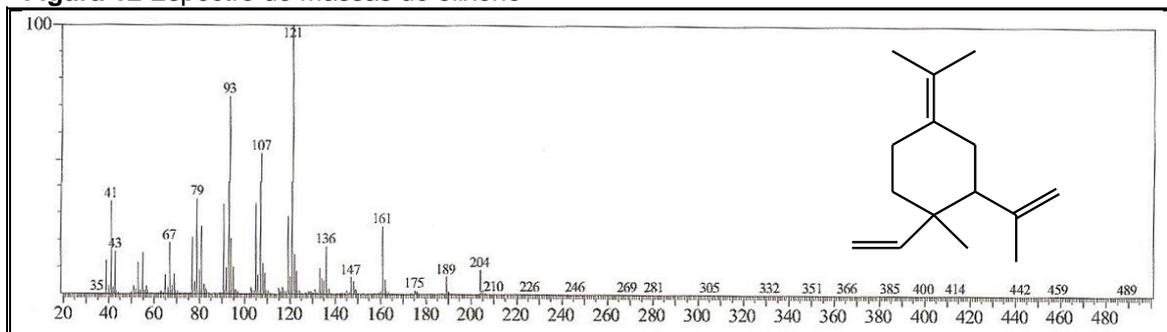


Figura 13 Espectro de massas do cupareno

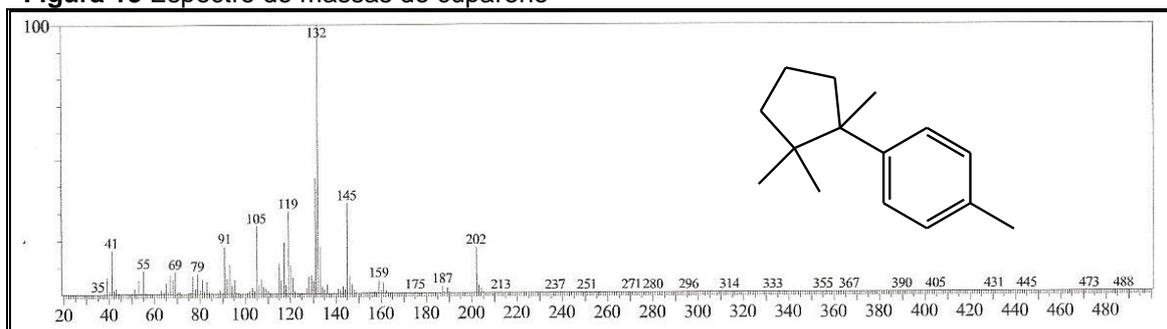


Figura 14 Espectro de massas do espatulenoI

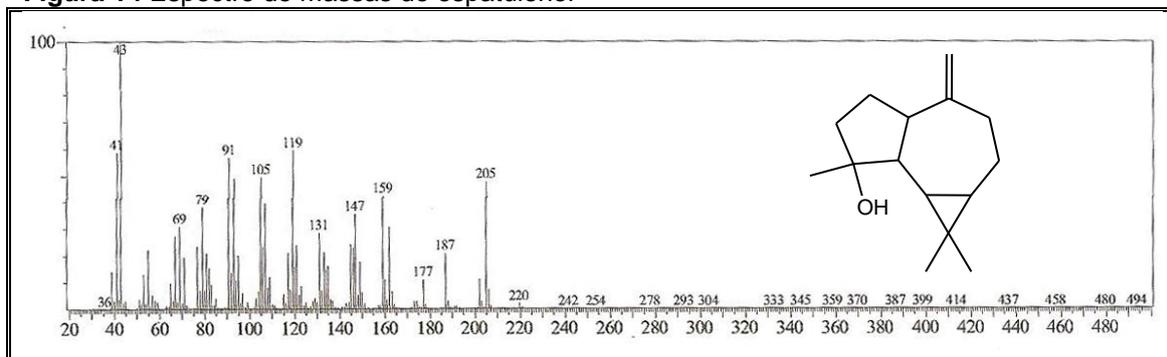


Figura 15 Espectro de massas do óxido de cariofileno

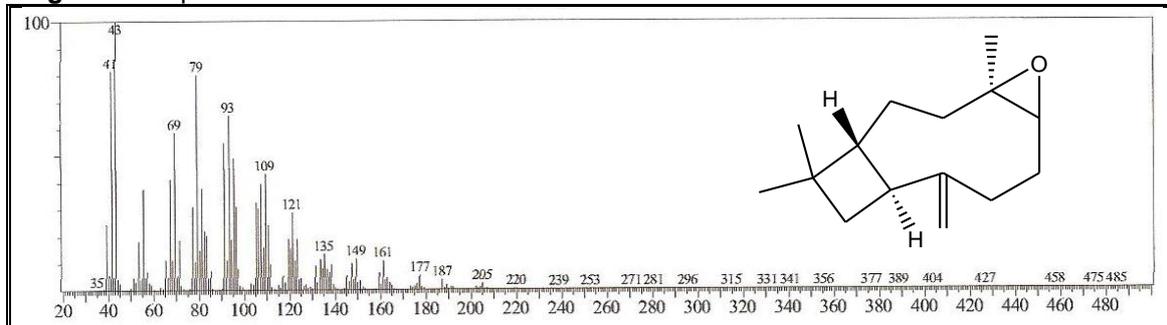
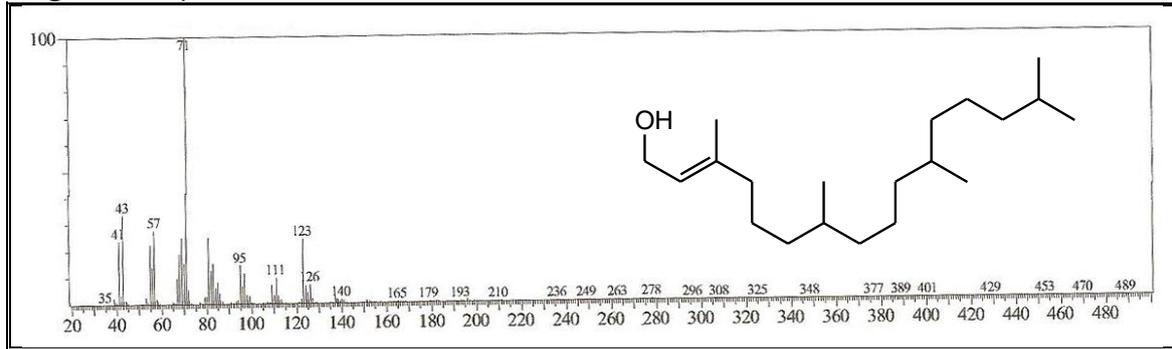


Figura 16 Espectro de massas do fitol



4.2 Identificação dos constituintes dos óleos essenciais de *B. pentandra* obtidos por microextração em fase sólida (MEFS)

Os constituintes do óleo essencial das folhas secas e das frescas de *B. pentandra*, obtido pela técnica de microextração em fase sólida (MEFS), foram identificados pela técnica de CG-EM.

No óleo essencial das folhas secas foram identificados nove compostos, representando 96,69% da sua composição total. Destes, um monoterpene, dois aldeídos, quatro sesquiterpenos e dois fenóis (**Tab. 3, p. 76**). O constituinte majoritário foi o sesquiterpene β -cariofileno (24,82%).

No óleo essencial das folhas frescas nove compostos foram identificados, representando 93,34% da sua composição total, dentre os quais um aldeído, um álcool, um monoterpene, quatro sesquiterpenos e dois fenóis (**Tab. 3, p. 76**). Os constituintes majoritários foram os fenóis salicilato de 2-etilhexila (27,32%) e salicilato de homomentila (25,42%), este também chamado de homosalato.

O homosalato é um protetor solar natural que pode proteger o DNA contra a radiação ultravioleta. Homosalato e salicilato de 2-etilhexila também foram detectados no óleo essencial de *Opuntia acanthocarpa* (WRIGHT; SETZER, 2013).

Os cromatogramas e os espectros de massas dos constituintes identificados encontram-se nas páginas 77-81, e as respectivas estruturas químicas são mostradas no **Quadro 3, p. 77**.

Dos constituintes identificados nos óleos essenciais das folhas secas e frescas obtidos por hidrodestilação e MEFS, quinze estão sendo registrados pela primeira vez na espécie. São eles: timol, β -damascenona, germacreno D, elixeno, cupareno, espatulenol, fitol, (*E*)-2-hexenal, (*E*)-3-hexenol, D-limoneno, (*Z*)- β -ocimeno, nonanal, decanal, salicilato de 2-etilhexila e salicilato de homomentila. Estudo anterior do óleo essencial das folhas de *B. pentandra* mostrou o β -cariofileno como constituinte majoritário (DUARTE-ALMEIDA; NEGRI; SALATINO, 2004), entretanto não foi relatada a presença álcool, cetona, diterpene, monoterpene, aldeídos e fenóis.

Tabela 3 Constituintes do óleo essencial de *B. pentandra* obtido por MEFS

Constituintes	<i>Folhas secas</i>				<i>Folhas frescas</i>			
	TR (min) ^a	IK _{exp.} ^b	IK _{lit.} ^c	Área (%) ^d	TR (min) ^a	IK _{exp.} ^b	IK _{lit.} ^c	Área (%) ^d
(<i>E</i>)-2-hexenal	-	-	-	-	5,720	-	-	3,95 ± 0,13
(<i>E</i>)-3-hexenol	-	-	-	-	5,823	-	-	2,50 ± 1,26
D-Limoneno	11,386	1018	1020	10,29 ± 2,32	-	-	-	-
(<i>Z</i>)-β-ocimeno	-	-	-	-	12,127	1039	1040	2,98 ± 1,19
Nonanal	14,196	1169	1142	2,55 ± 0,56	-	-	-	-
Decanal	17,959	1203	1204	10,84 ± 2,68	-	-	-	-
β-cariofileno	25,569	1416	1418	24,82 ± 1,11	25,579	1416	1418	17,29 ± 8,00
α-humuleno	26,698	1452	1454	3,10 ± 0,16	26,702	1452	1454	2,40 ± 0,62
Germacreno D	27,590	1480	1480	10,56 ± 0,04	27,600	1480	1480	5,90 ± 2,60
Elixeno	28,102	1496	1492	12,03 ± 0,89	28,110	1496	1492	5,58 ± 1,49
Salicilato de 2-etilhexila	36,576	1764	1805	11,20 ± 0,63	36,580	1764	1805	27,32 ± 6,59
Salicilato de homomentila	37,714	1813	1903	11,30 ± 0,16	37,717	1814	1903	25,42 ± 4,94
Total				96,69 ± 0,20				93,34 ± 0,98

^a TR: tempo de retenção^b Índice de Kovats experimental em coluna capilar RTX-5^c Índice de Kovats da literatura (ADAMS, 2007; NIST)^d Média de duas repetições com desvio padrão

Quadro 3 Constituintes do óleo essencial das folhas secas e frescas de *B. pentandra* obtido por MEFS

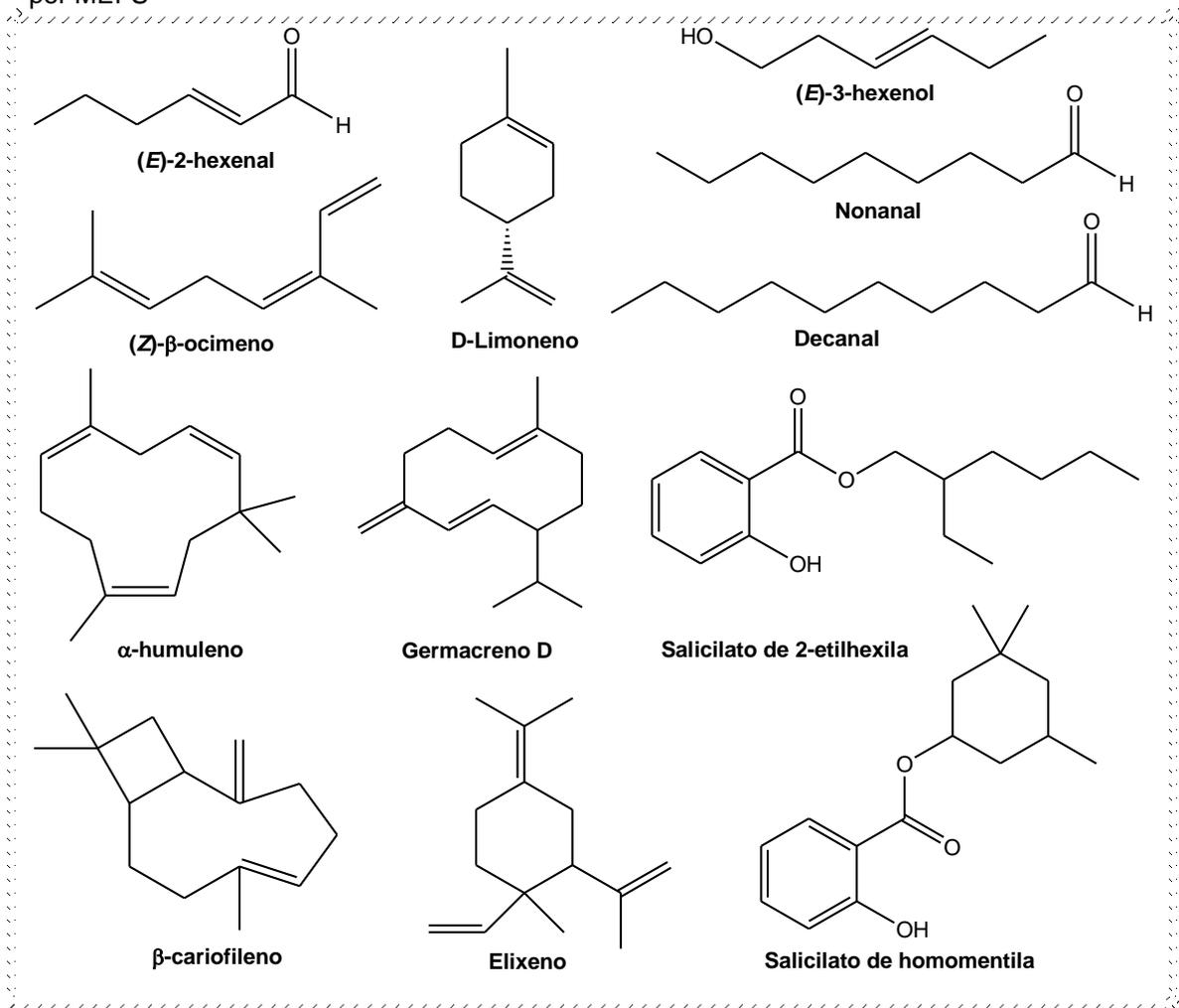


Figura 17 Cromatograma do óleo essencial das folhas secas de *B. pentandra* obtido por MEFS

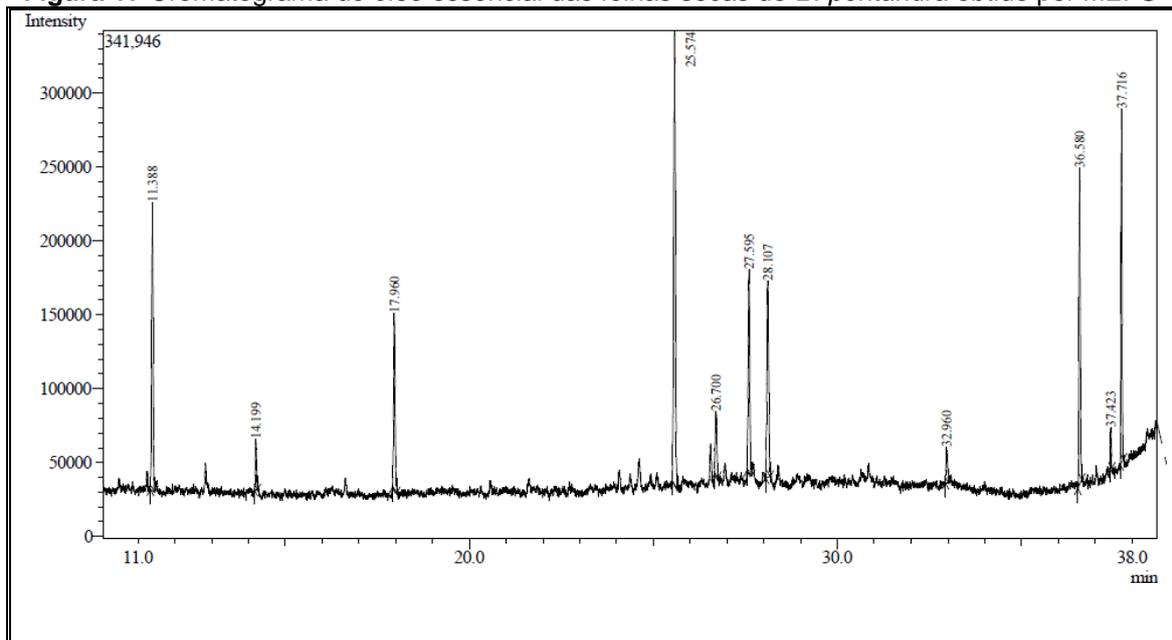


Figura 18 Cromatograma do óleo essencial das folhas frescas de *B. pentandra* obtido por MEFS

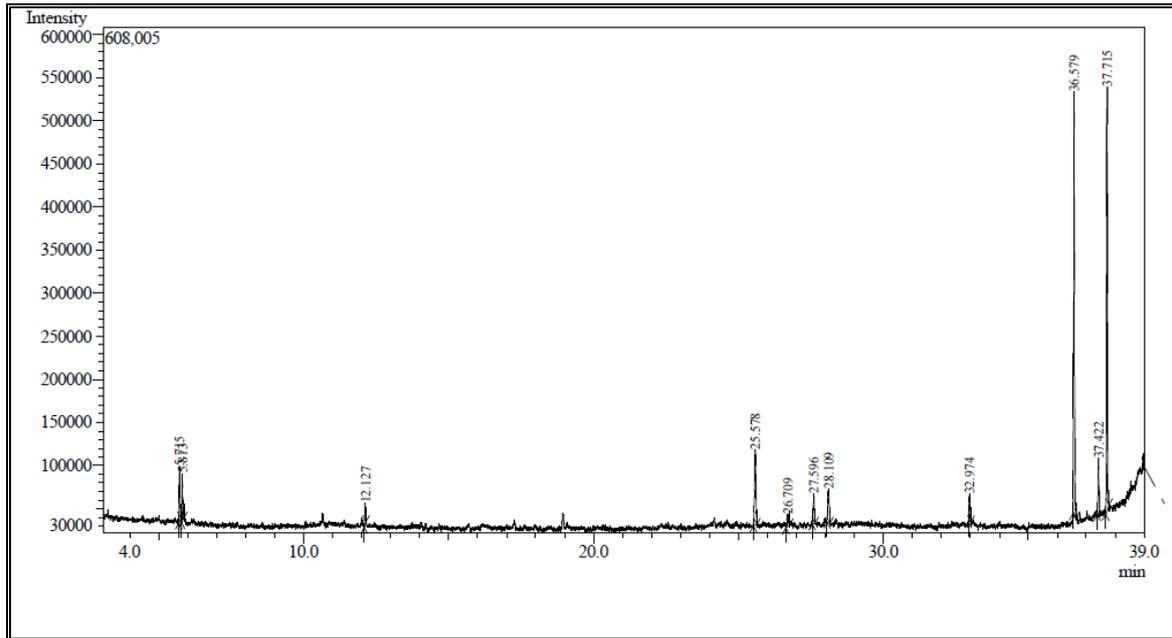


Figura 19 Espectro de massas do (*E*)-2-hexenal

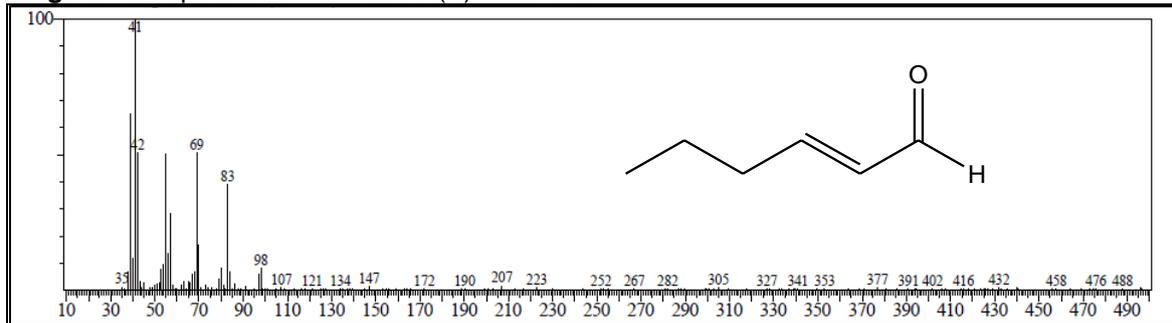


Figura 20 Espectro de massas do (*E*)-3-hexenol

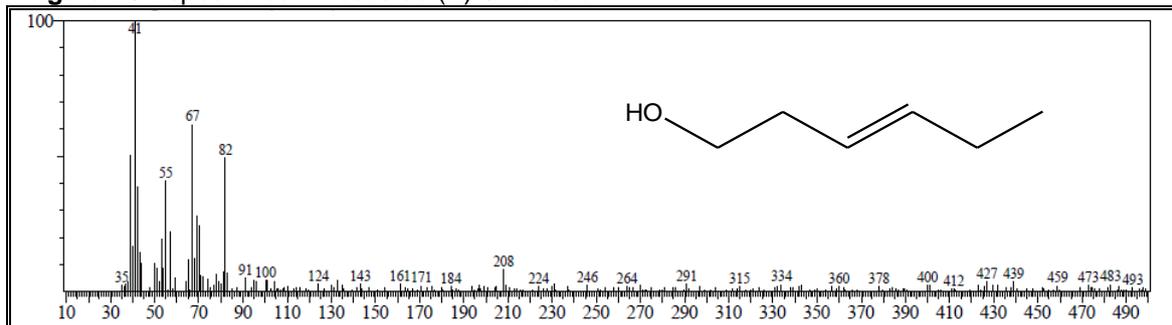


Figura 21 Espectro de massas do D-limoneno

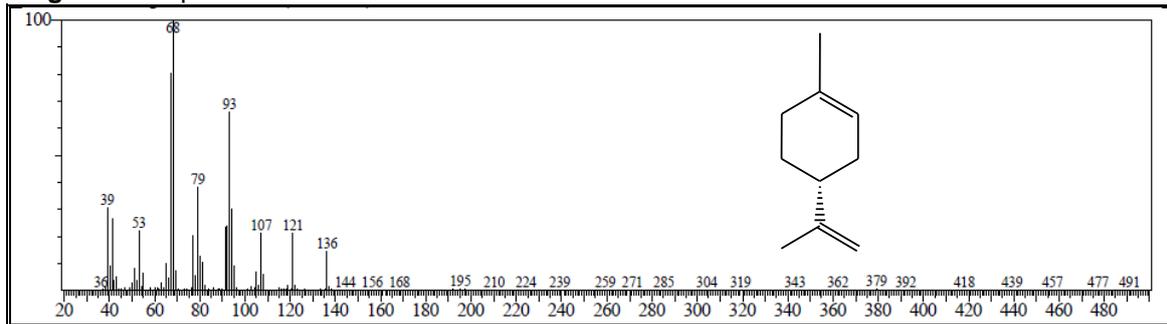


Figura 22 Espectro de massas do (Z)- β -ocimeno

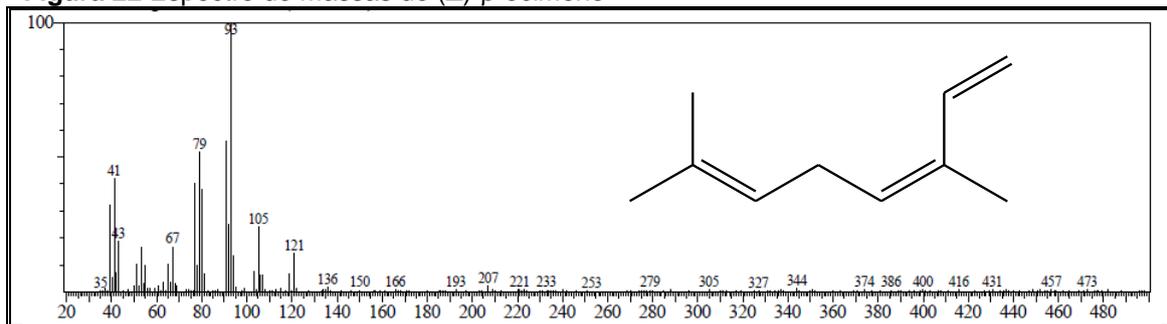


Figura 23 Espectro de massas do nonanal

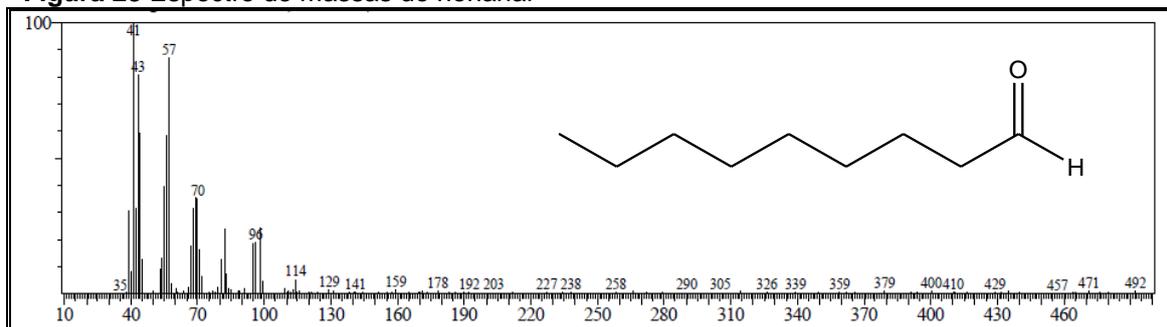


Figura 24 Espectro de massas do decanal

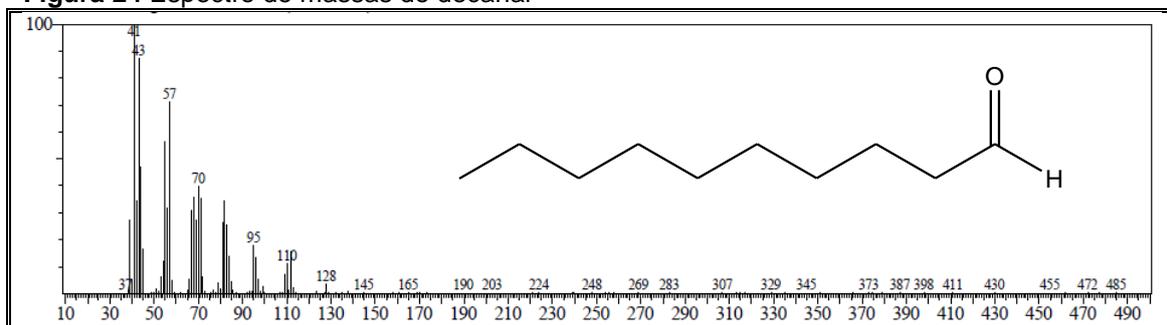


Figura 25 Espectro de massas do β -cariofileno

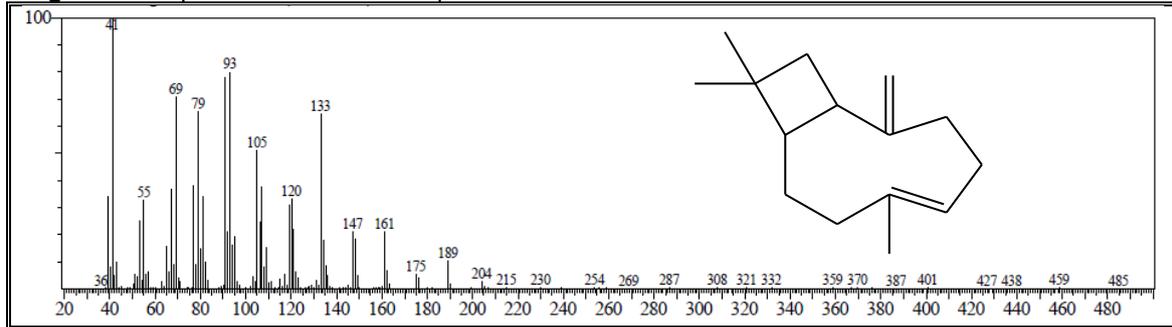


Figura 26 Espectro de massas do α -humuleno

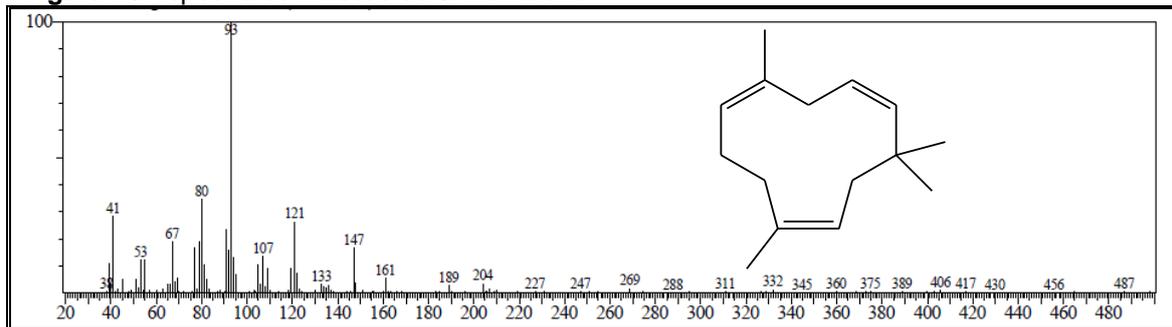


Figura 27 Espectro de massas do germacreno D

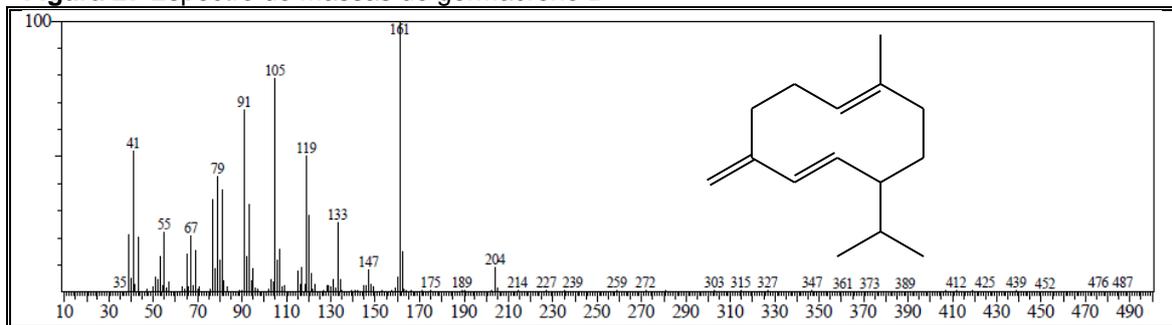


Figura 28 Espectro de massas do elixeno

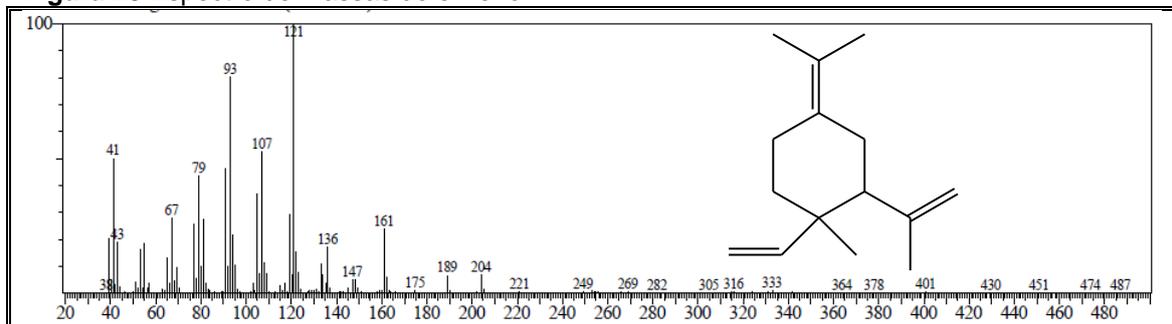


Figura 29 Espectro de massas do salicilato de 2-etilhexila

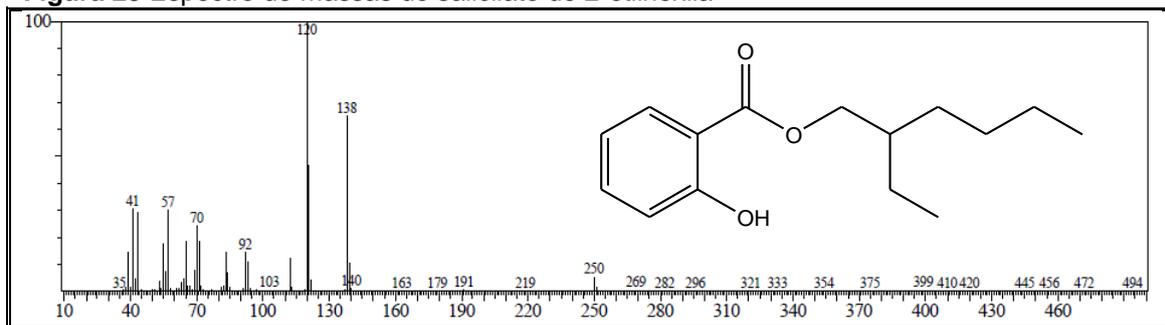
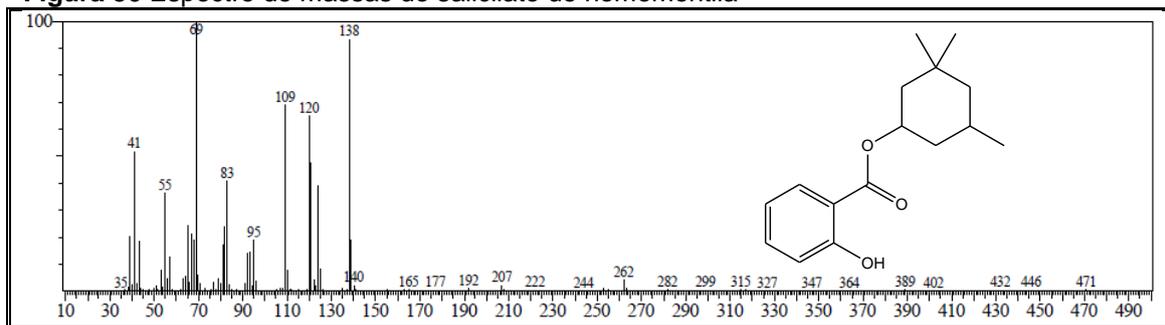


Figura 30 Espectro de massas do salicilato de homomentila



4.3 Determinação da composição de ácidos graxos de *B. pentandra* e *B. monandra*

Os extratos hexânicos das folhas de *B. pentandra* e *B. monandra* foram submetidos ao processo de saponificação/metilação para obtenção dos ésteres metílicos dos seus ácidos graxos.

No óleo fixo de *B. pentandra* foram identificados dez constituintes, representando 84,62% da sua composição total. Os constituintes majoritários foram hexadecanoato de metila (29,03%), 9,12,15(Z,Z,Z)-octadecatrienoato de metila (28,93%) e octadecanoato de metila (10,58%) (**Tab. 4, p. 83**). Estes resultados indicam que os principais ácidos graxos presentes nas folhas de *B. pentandra* foram os ácidos palmítico, linolênico e esteárico.

No óleo fixo de *B. monandra* foram identificados quatro constituintes, representando 97,08% da sua composição total. Os principais constituintes foram 9,12,15(Z,Z,Z)-octadecatrienoato de metila (77,87%) e 9,12(Z,Z)-octadecadienoato de metila (11,91%) (**Tab. 4, p. 83**), o que indica que os principais ácidos graxos presentes nas folhas de *B. monandra* foram os ácidos linolênico e linoléico.

Os cromatogramas e os espectros de massas dos constituintes identificados encontram-se nas páginas 84-88, e as estruturas químicas são mostradas no **Quadro 4, p. 84**. Este representa o primeiro registro dos componentes do óleo fixo das espécies *B. pentandra* e *B. monandra*.

Tabela 4 Composição química do óleo fixo das folhas de *B. pentandra* e *B. monandra*

Constituintes	<i>B. pentandra</i>				<i>B. monandra</i>			
	TR (min) ^a	IK _{exp.} ^b	IK _{lit.} ^c	Área (%)	TR (min) ^a	IK _{exp.} ^b	IK _{lit.} ^c	Área (%)
Dodecanoato de metila	15,118	1498	1521	4,13	-	-	-	-
Tetradecanoato de metila	19,797	1725	1726	5,72	-	-	-	-
9(Z)-hexadecenoato de metila	23,620	1904	1912	1,46	-	-	-	-
Hexadecanoato de metila	24,225	1931	1927	29,03	24,012	1922	1927	6,43
Heptadecanoato de metila	26,030	2023	2022	0,78	-	-	-	-
9,12(Z,Z)-octadecadienoato de metila	-	-	-	-	27,360	2096	2096	11,91
9,12,15(Z,Z,Z)-octadecatrienoato de metila	27,800	2117	2113	28,93	27,573	2106	2113	77,87
Octadecanoato de metila	28,089	2132	2128	10,58	27,916	2123	2128	0,87
Eicosanoato de metila	31,546	2327	2329	2,04	-	-	-	-
Docosanoato de metila	34,842	2529	2530	1,39	-	-	-	-
Tetracosanoato de metila	37,893	2730	2731	0,56	-	-	-	-
Total				84,62				97,08

^a TR: tempo de retenção^b Índice de Kovats experimental em coluna capilar RTX-5^c Índice de Kovats da literatura (ADAMS, 2007; NIST)

Quadro 4 Constituintes do óleo fixo das folhas de *B. pentandra* e *B. monandra*

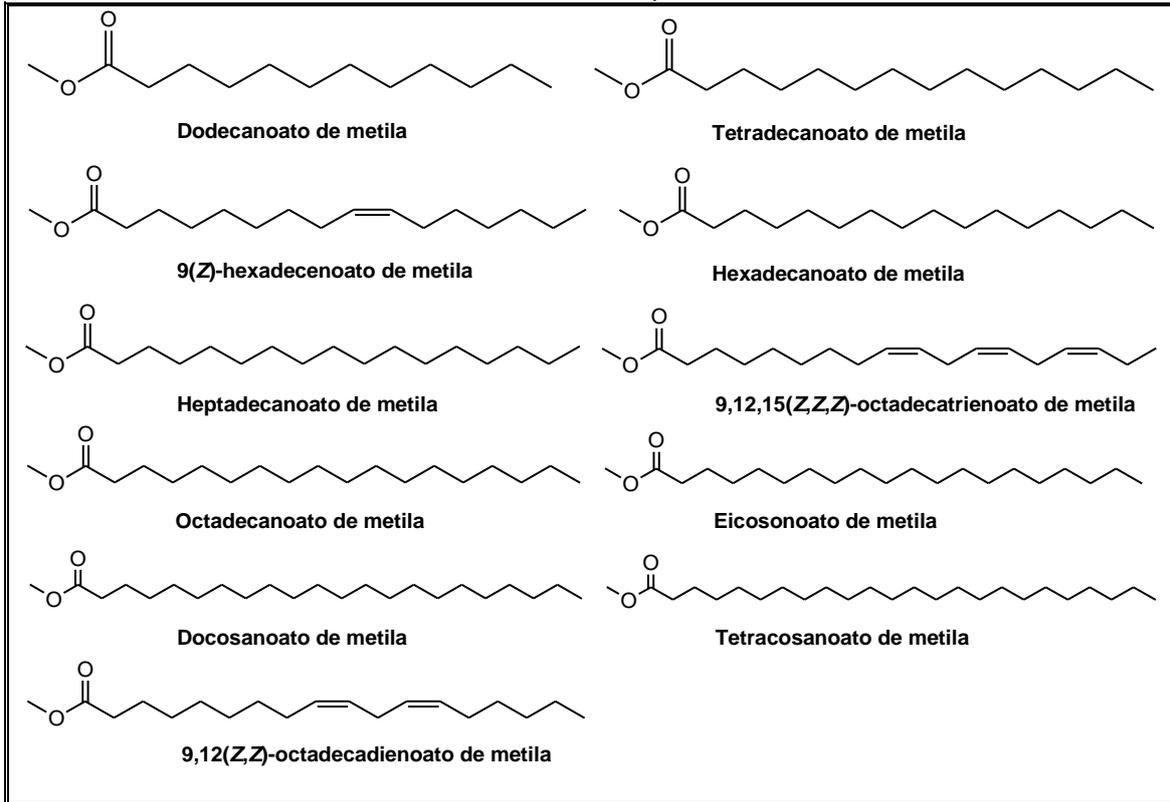


Figura 31 Cromatograma do óleo fixo das folhas de *B. pentandra*

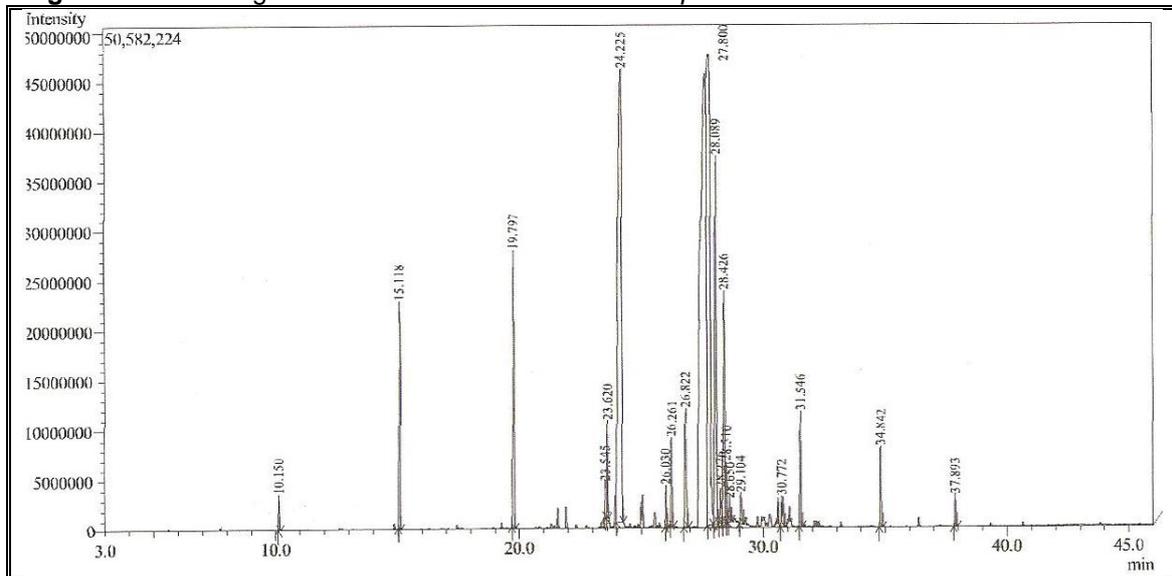


Figura 32 Cromatograma do óleo fixo das folhas de *B. monandra*

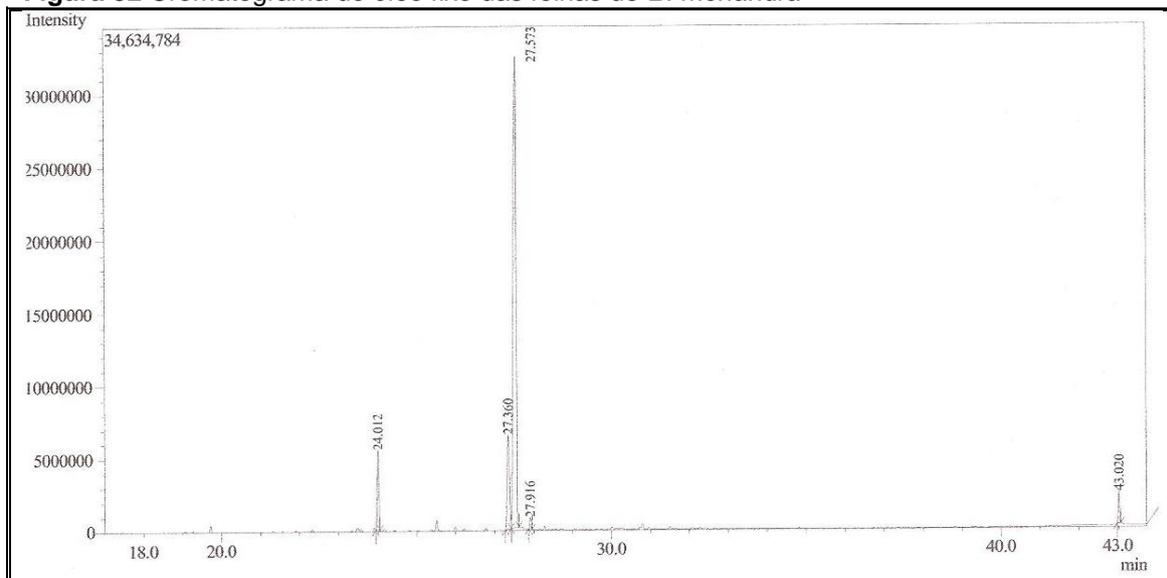


Figura 33 Espectro de massas do dodecanoato de metila

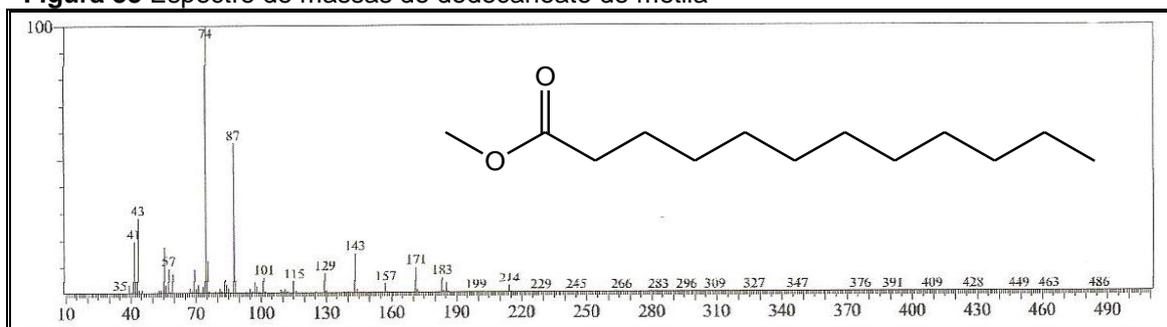


Figura 34 Espectro de massas do tetradecanoato de metila

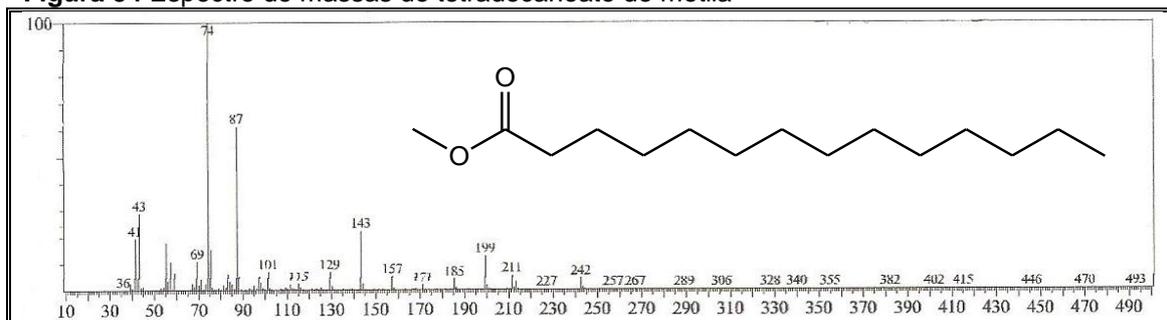


Figura 35 Espectro de massas do 9(Z)-hexadecenoato de metila

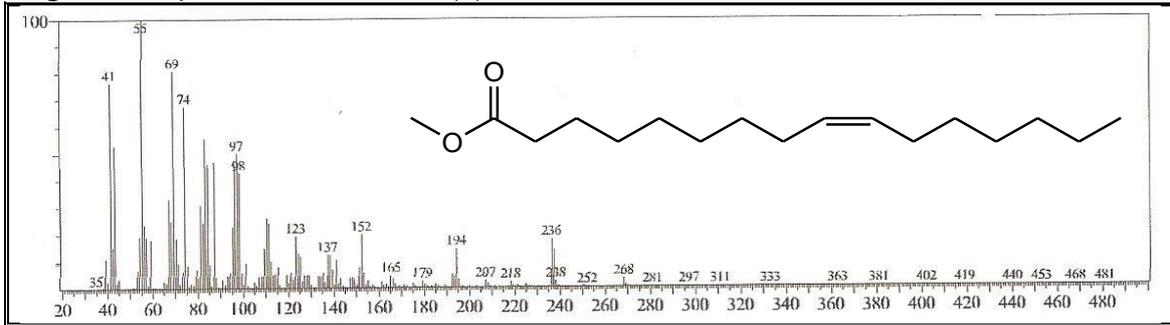


Figura 36 Espectro de massas do hexadecanoato de metila

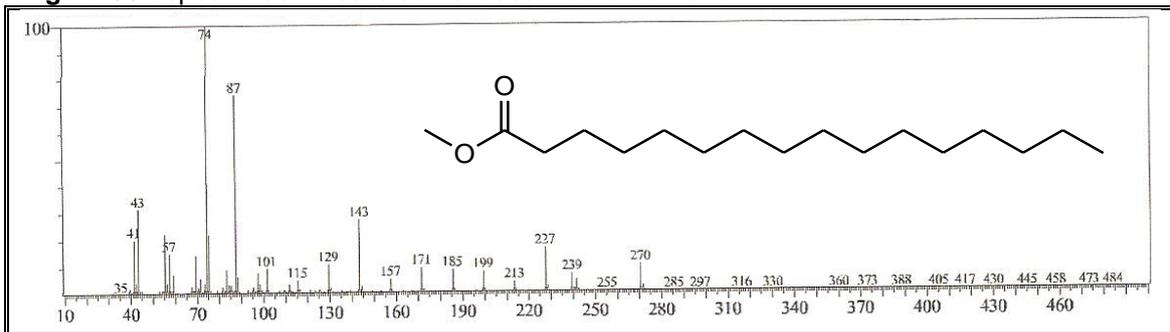


Figura 37 Espectro de massas do heptadecanoato de metila

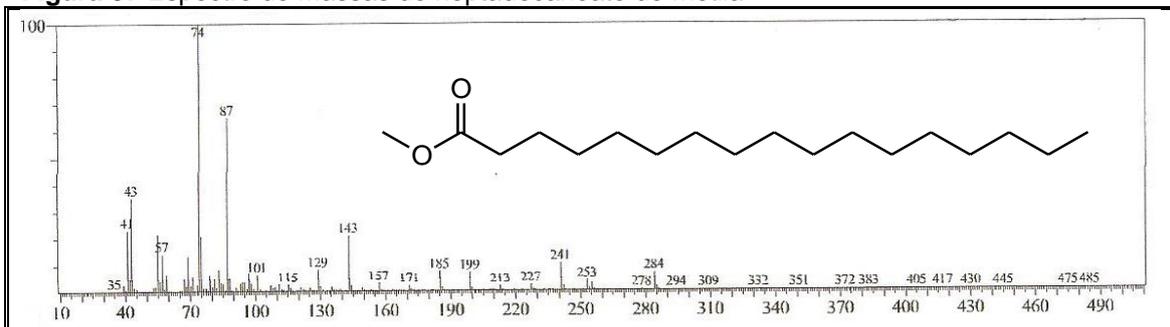


Figura 38 Espectro de massas do 9,12(Z,Z)-octadecadienoato de metila

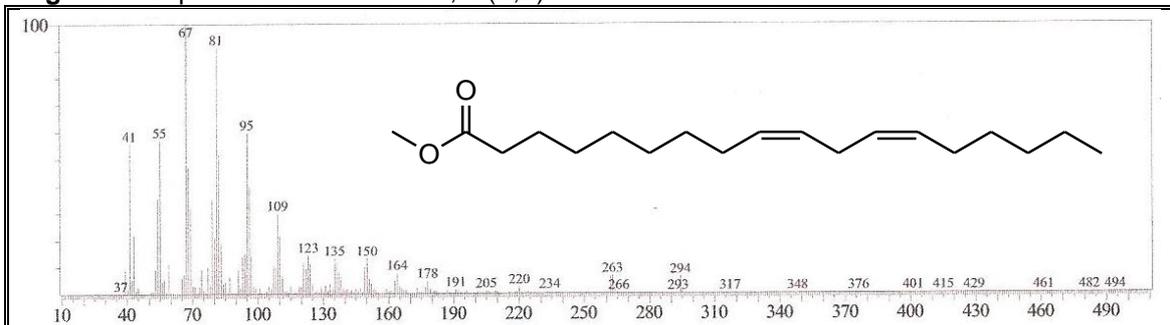


Figura 39 Espectro de massas do 9,12,15(Z,Z,Z)-octadecatrienoato de metila

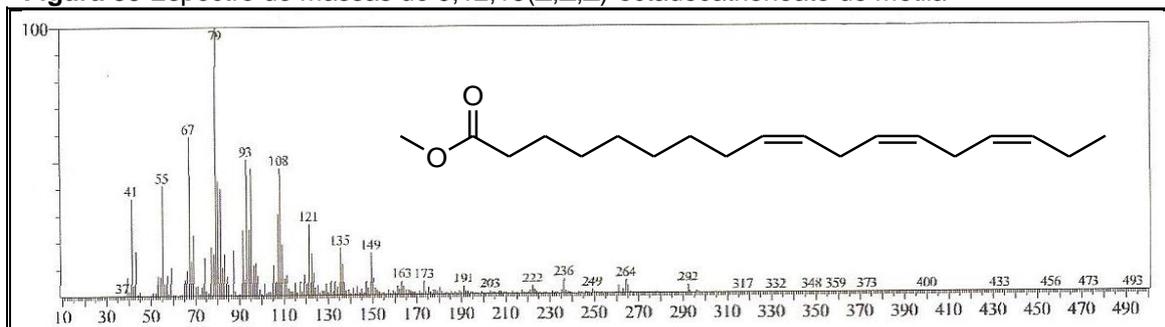


Figura 40 Espectro de massas do octadecanoato de metila

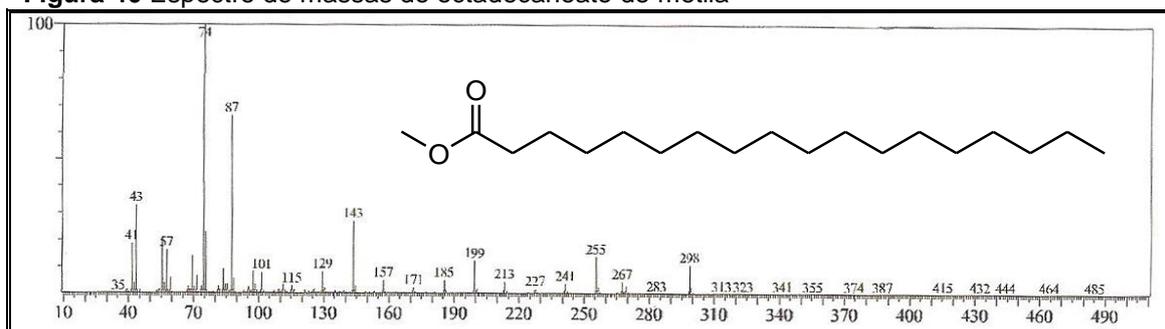


Figura 41 Espectro de massas do 18-metilnonadecanoato de metila

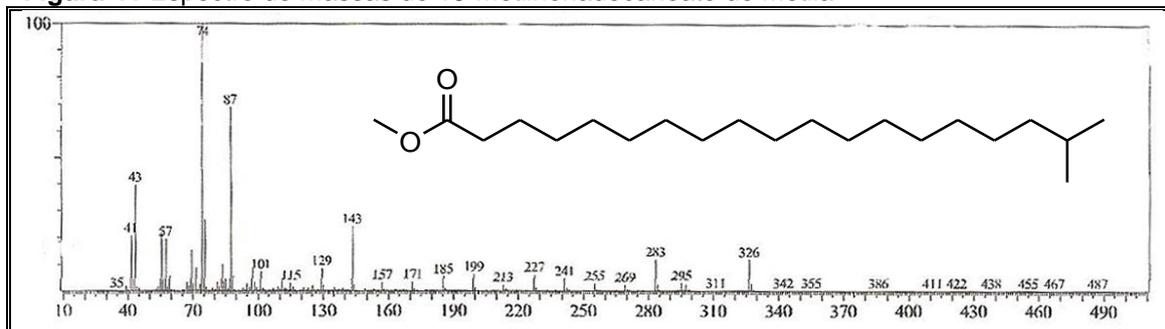


Figura 42 Espectro de massas do docosanoato de metila

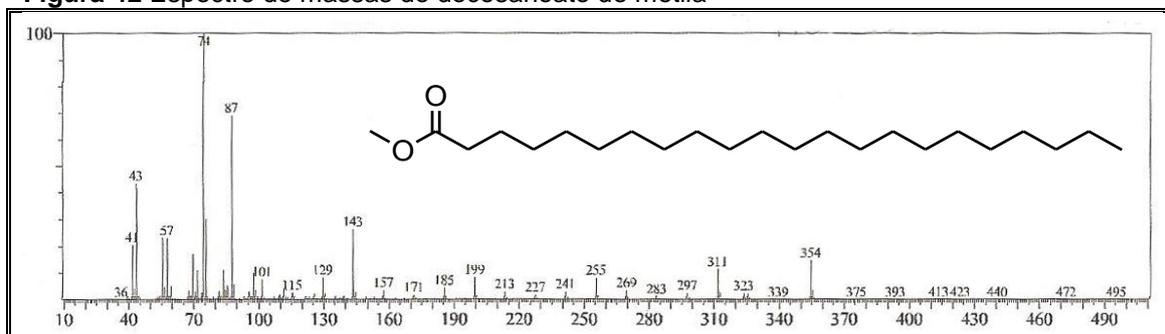
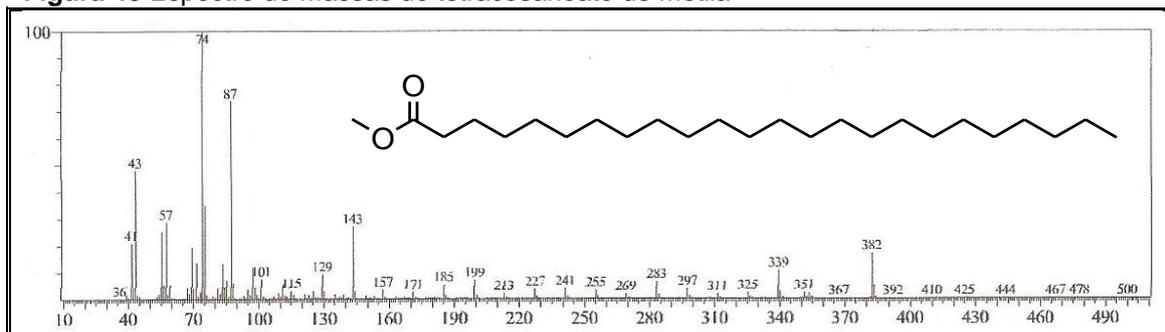


Figura 43 Espectro de massas do tetracosanoato de metila

4.4 Estudo dos constituintes fixos de *B. pentandra*

4.4.1 Determinação estrutural de BP-1

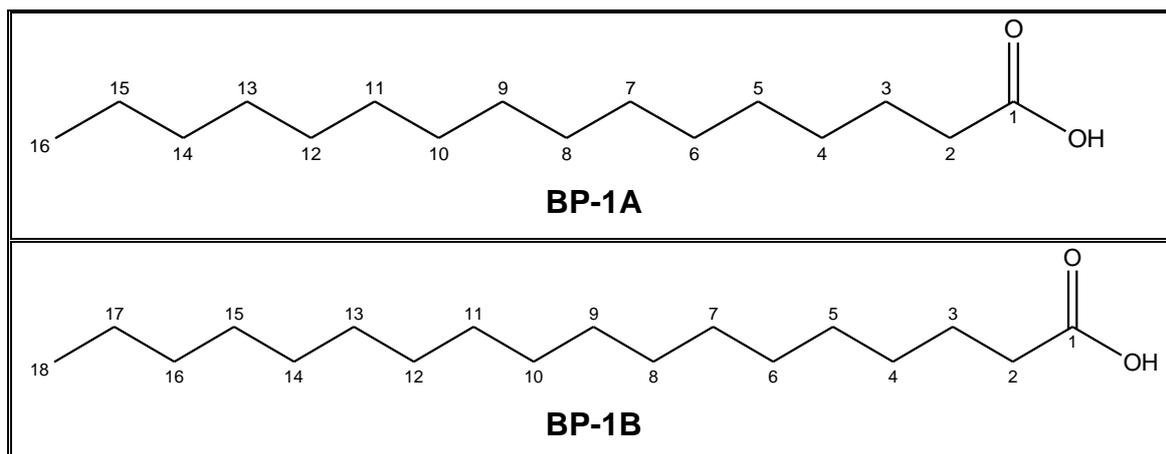
A fração EEBP(D) obtida do extrato EEBP após cromatografia em coluna forneceu 14 mg de um sólido amorfo branco, solúvel em clorofórmio, que foi denominado BP-1.

O espectro na região do infravermelho (**Fig. 44, p. 91**) apresentou bandas de absorção em: 1733 cm^{-1} referente a deformação axial de carbonila; 2917 e 2849 cm^{-1} de deformação axial de ligação C-H; 1463 e 1378 cm^{-1} de deformação angular de grupos metileno e metila, respectivamente; e absorções em 1215 e 1174 cm^{-1} de deformação axial de ligação C-O.

O espectro de RMN ^1H [300 MHz, CDCl_3] (**Fig. 45, p. 91**) mostrou vários sinais sobrepostos na região entre δ_{H} 0,90 e 1,70 ppm, com destaques para um sinal simples e intenso em δ_{H} 1,26 [(CH_2) n], além de um tripleto em δ_{H} 2,30, característico de grupo CH_2 alfa à carbonila, propondo que trata-se de uma substância alifática de cadeia longa, provavelmente, um ácido graxo.

A análise dos espectros de RMN ^{13}C -CPD e DEPT 135° [75 MHz, CDCl_3] (**Fig. 46 e 47, p. 92**) evidenciou sinais de carbonos metilênicos em δ_{C} 22,9-35,1 ppm, de carbono metílico em δ_{C} 14,3 e de carbono carbonílico em δ_{C} 173,8 (**Tab. 5, p. 90**).

A análise por CG-EM revelou a presença de dois componentes principais através dos picos com tempos de retenção (TR) 17,966 e 19,113 min, como pode ser visto no cromatograma (**Fig. 48, p. 93**). Os espectros de massas (**Fig. 49 e 50, p. 93**) destes componentes exibiram íons moleculares em m/z 257 e 285 ($[\text{M} + \text{H}]^+$) Daltons, e permitiram identificar os ácidos palmítico (**1**, 53,34%) e esteárico (**2**, 24,94%), com fórmulas moleculares $\text{C}_{16}\text{H}_{32}\text{O}_2$ e $\text{C}_{18}\text{H}_{36}\text{O}_2$, respectivamente, e IDH=1. Estes ácidos graxos estão sendo isolados e identificados pela primeira vez na espécie *B. pentandra*.

**Tabela 5** Deslocamentos químicos (δ) de RMN ^{13}C (CDCl_3) de BP-1

C	Palmítico (53,34%)		Esteárico (24,94%)	
	BP-1A	Lit.* (CDCl_3)	BP-1B	Lit.* (CDCl_3)
	δ_c	δ_c	δ_c	δ_c
1	173,8	180,2	173,8	180,2
2	35,1	34,1	35,1	34,1
3	25,4	24,7	25,4	24,7
4-13	29,4 - 29,9	29,1 - 29,7	29,4 - 29,9	29,1 - 29,7
14	32,1	31,9	29,4 - 29,9	29,1 - 29,7
15	22,9	22,7	29,4 - 29,9	29,1 - 29,7
16	14,3	14,1	32,1	31,9
17	-	-	22,9	22,7
18	-	-	14,3	14,1

Deslocamentos químicos (δ_c) em ppm
* (MONTRUCCHIO *et al.*, 2005)

Figura 44 Espectro na região do infravermelho de BP-1

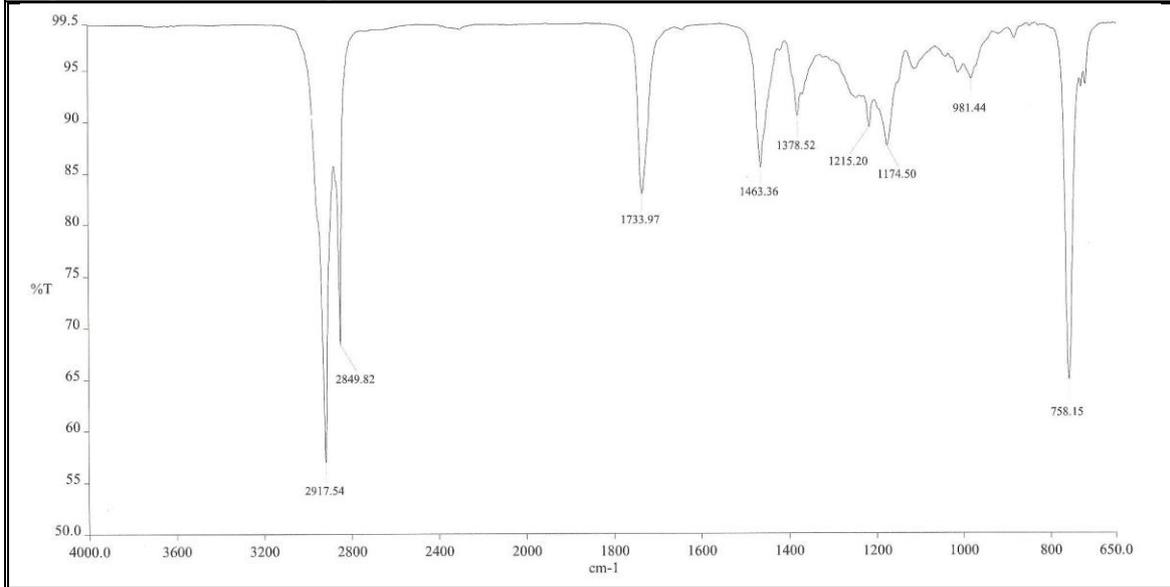


Figura 45 Espectro de RMN ¹H [300 MHz, CDCl₃] de BP-1

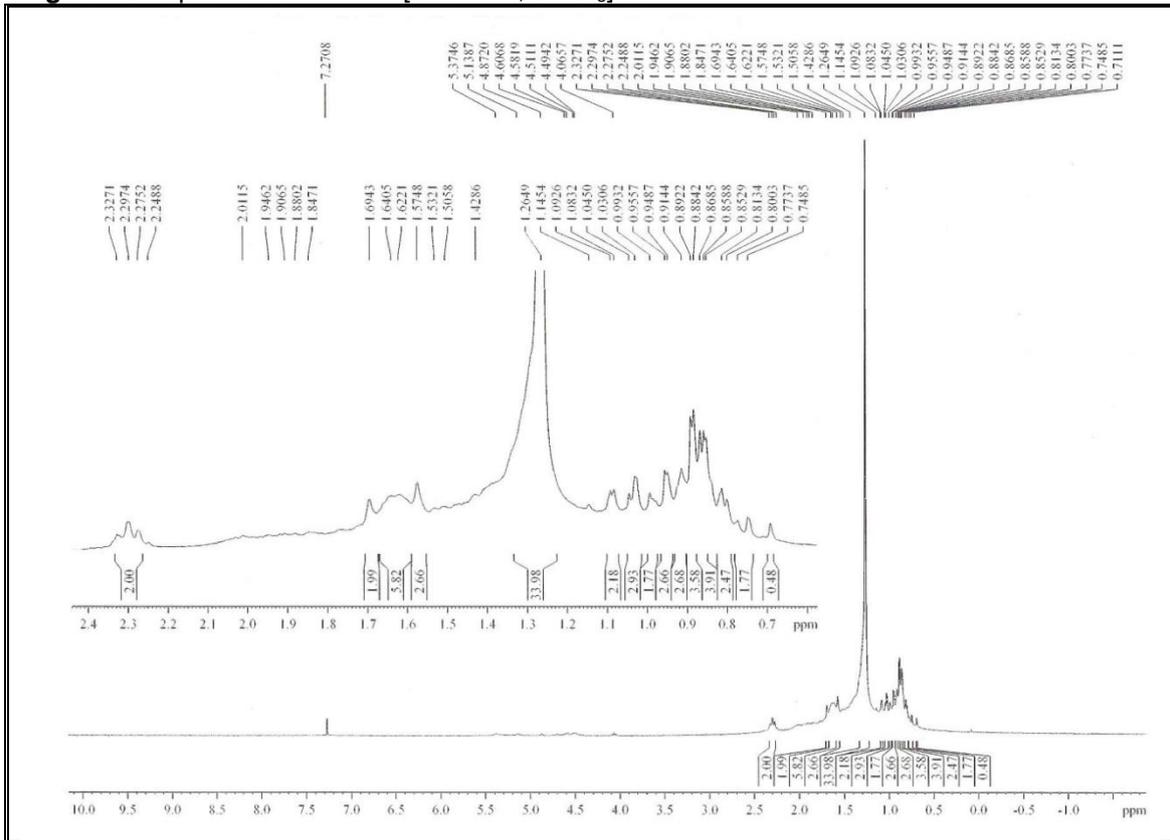


Figura 46 Espectro de RMN ^{13}C -CPD [75 MHz, CDCl_3] de BP-1

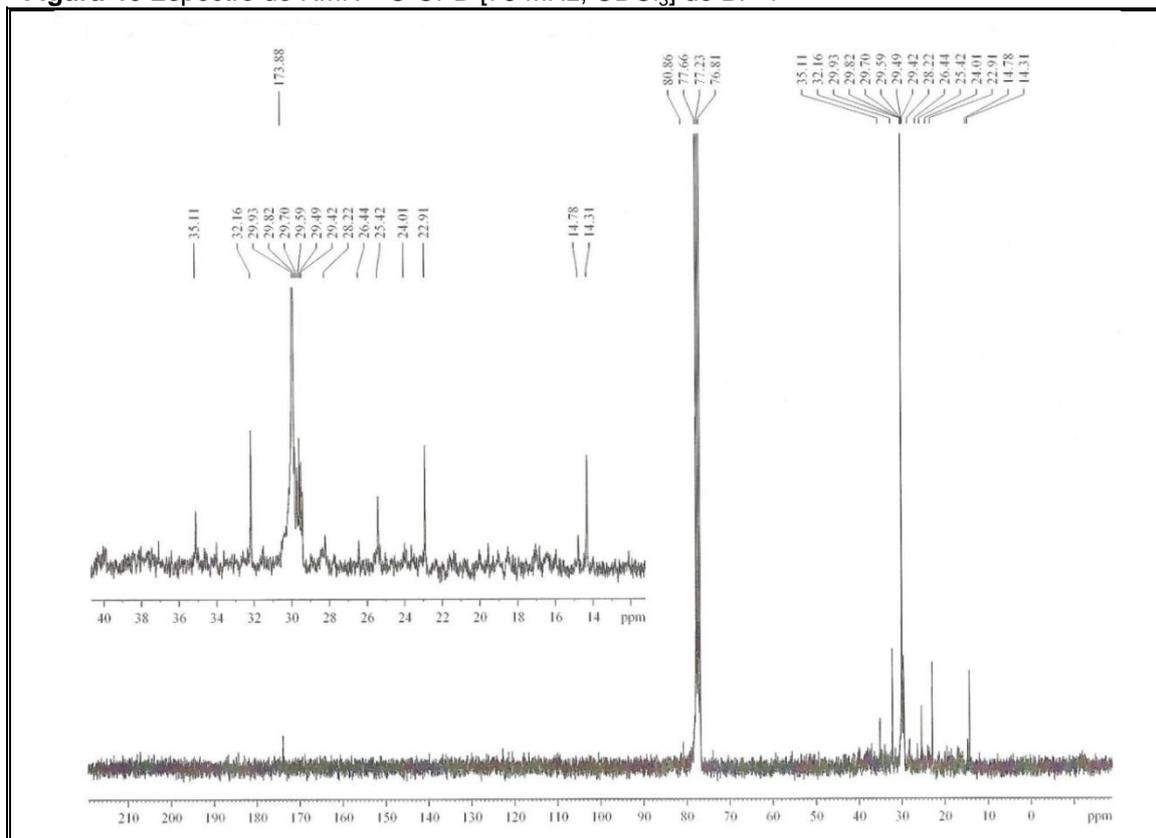


Figura 47 Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° [75 MHz, CDCl_3] de BP-1

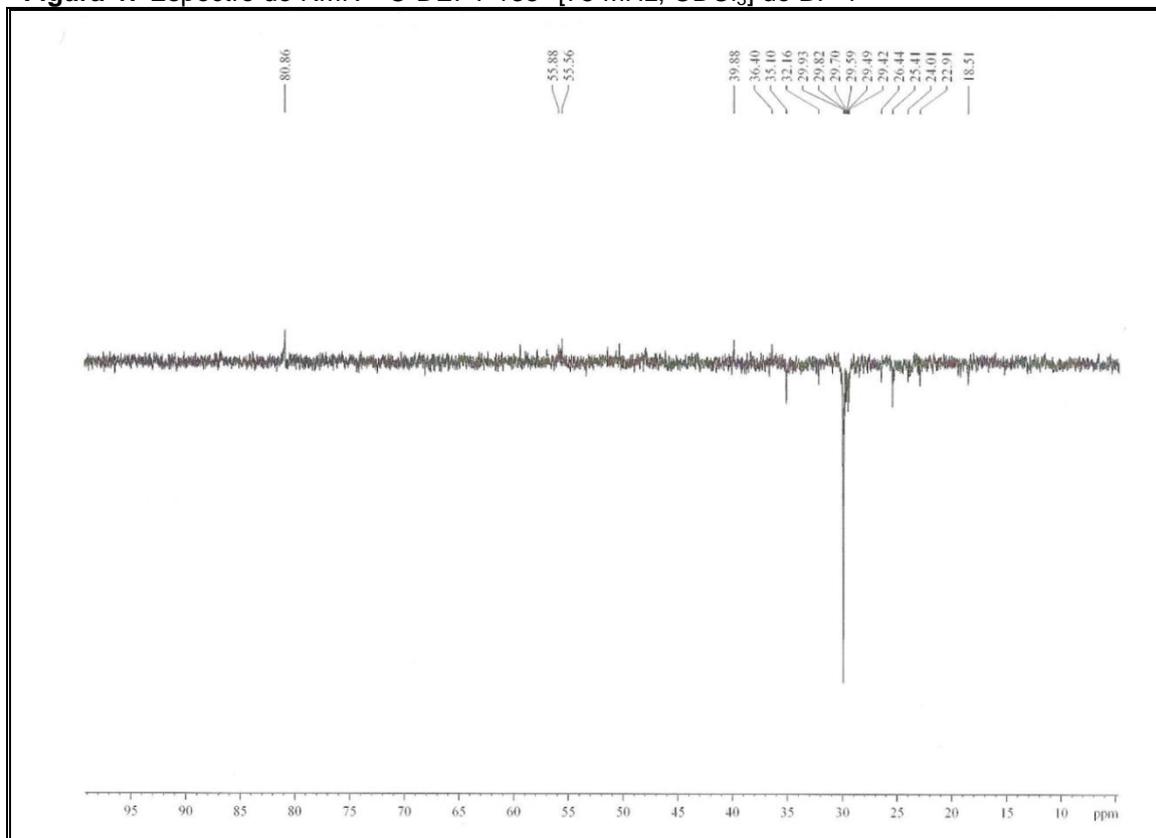


Figura 48 Cromatograma obtido por CG-EM para BP-1

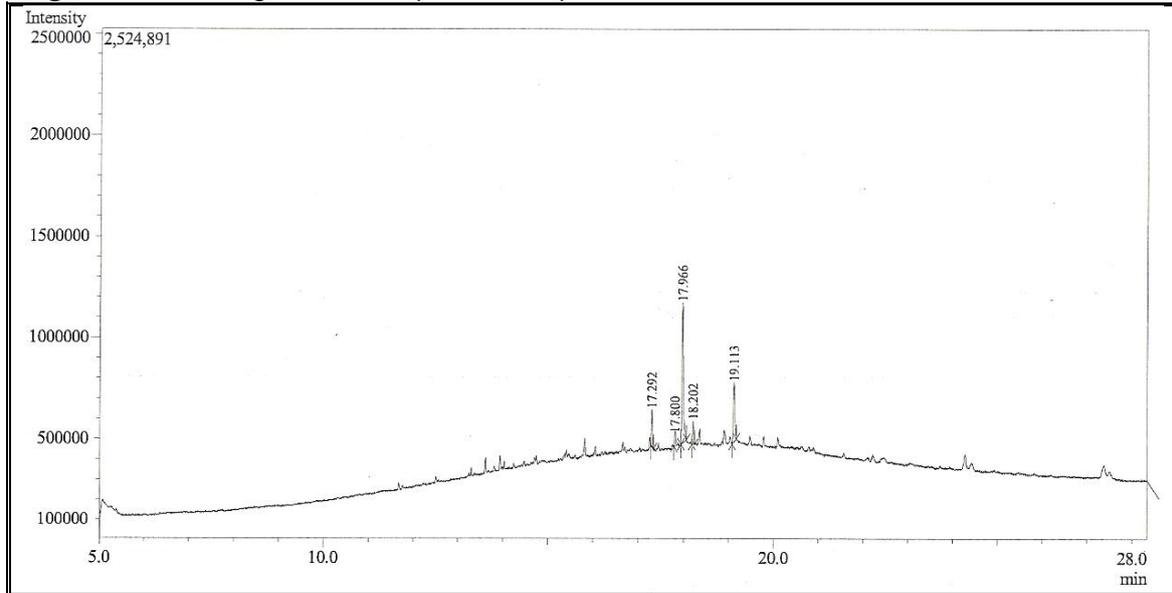


Figura 49 Espectro de massas do componente com TR 17,966 min: BP-1A (ácido palmítico)

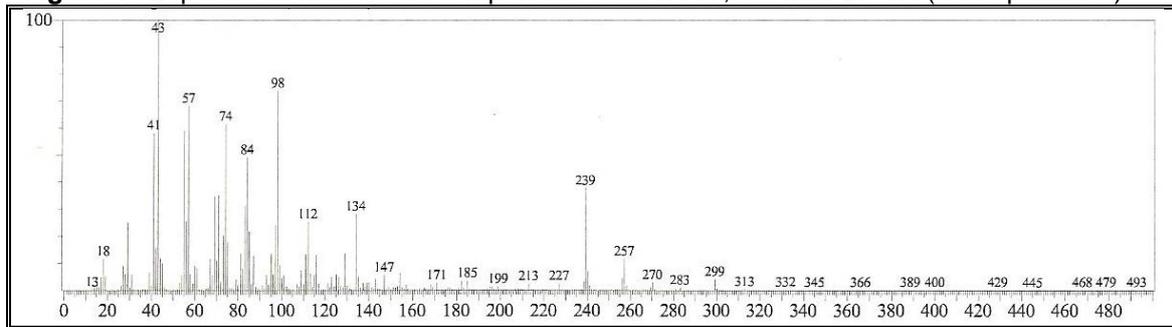
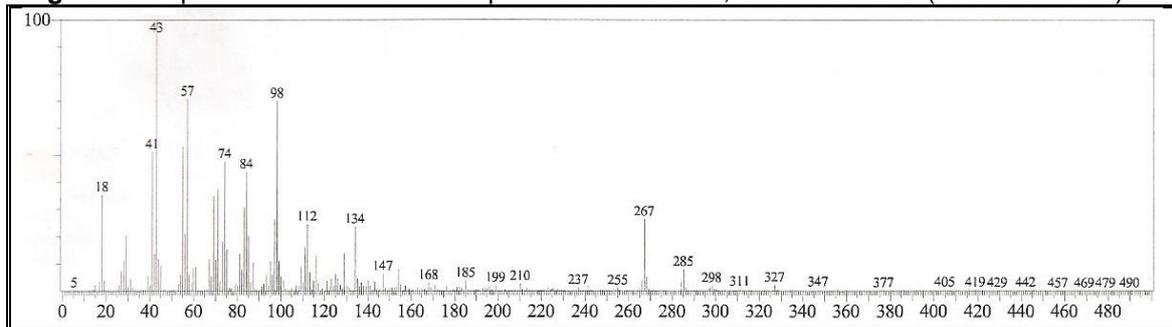


Figura 50 Espectro de massas do componente com TR 19,113 min: BP-1B (ácido esteárico)



4.4.2 Determinação estrutural de BP-2

A fração EEBP(D) proveniente do extrato EEBP, após ser submetida a coluna cromatográfica, forneceu 22,6 mg de um sólido cristalino branco, solúvel em clorofórmio, que foi denominado BP-2.

O espectro na região do infravermelho (**Fig. 51, p. 97**) apresentou bandas de absorção em: 3361 cm^{-1} referente a deformação axial de ligação O–H; 2929 e 2867 cm^{-1} de deformação axial de ligação C–H; 1463 e 1377 cm^{-1} de deformação angular de grupos CH_2 e CH_3 , respectivamente; além de absorções em 1056 e 1022 cm^{-1} de deformação axial de ligação C–O.

O espectro de RMN ^1H [300 MHz, CDCl_3] (**Fig. 52 e 53, p. 97 e 98**) revelou sinais de hidrogênio ligado a carbono olefínico em δ_{H} 5,35 (m, H-6), de hidrogênio ligado a carbono carbinólico em δ_{H} 3,55 (m, H-3), de hidrogênios metílicos, metilênicos e metínicos em δ_{H} 0,66-2,30 ppm, além de sinais em δ_{H} 5,16 (dd, $J=8,4$ e 15,2 Hz, H-22) e 5,02 (dd, $J=8,4$ e 15,2 Hz, H-23) de hidrogênios de carbonos olefínicos com estereoquímica *trans*.

O espectro de RMN ^{13}C -CPD [75 MHz, CDCl_3] (**Fig. 54, p. 98**) mostrou 36 linhas espectrais, onde foram observados sinais em δ_{C} 141,0 e 121,9, correspondentes aos carbonos da ligação dupla entre C-5 e C-6 dos esteroides sitosterol e estigmasterol. Ainda nessa região observou-se a presença de dois sinais de menor intensidade em δ_{C} 138,5 e 129,5, característicos da ligação dupla entre C-22 e C-23 do estigmasterol. O sinal observado em δ_{C} 72,0 foi atribuído ao carbono carbinólico C-3 de ambos os esteroides (**Tab. 6, p. 96**).

Com base nos dados obtidos e comparação com dados espectrais registrados na literatura (KOJIMA *et al.*, 1990, **Tab. 6, p. 96**), concluiu-se que a substância BP-2 trata-se da mistura dos esteroides sitosterol (**1**) e estigmasterol (**2**), nas proporções de 80% e 20%, respectivamente. As percentagens aproximadas dos dois componentes da mistura foram calculadas através das integrações dos sinais de hidrogênios H-6 (área: 1,00, sitosterol + estigmasterol) e H-22 (área: 0,20, estigmasterol). A mistura de esteroides já foi isolada anteriormente da espécie *B. pentandra* (LINS, 2008).

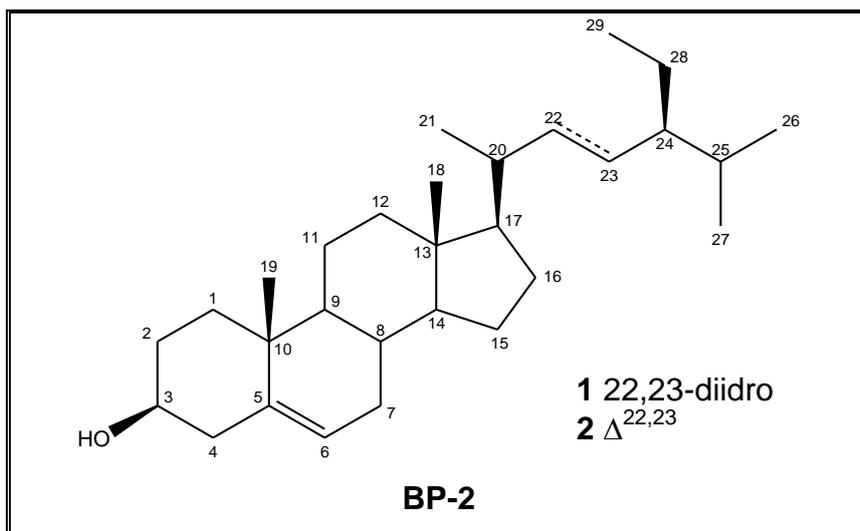


Tabela 6 Deslocamentos químicos (δ) de RMN ^{13}C (CDCl_3) de BP-2

C	Sitosterol (80%)		Estigmasterol (20%)	
	BP-2A	Lit.* (CDCl_3)	BP-2B	Lit.* (CDCl_3)
	δ_c	δ_c	δ_c	δ_c
1	37,5	37,2	37,5	37,2
2	31,9	31,6	31,9	31,6
3	72,0	71,8	72,0	71,8
4	42,5	42,3	42,5	42,3
5	141,0	140,7	141,0	140,7
6	121,9	121,7	121,9	121,7
7	32,1	31,9	32,1	31,9
8	32,1	31,9	32,1	31,9
9	50,3	50,1	50,3	50,1
10	36,7	36,5	36,7	36,5
11	21,3	21,1	21,3	21,1
12	40,0	39,8	40,0	39,7
13	42,5	42,3	42,5	42,2
14	57,0	56,8	57,0	56,8
15	24,5	24,3	24,5	24,4
16	28,4	28,2	29,1	28,9
17	56,3	56,0	56,3	55,9
18	12,0	11,9	12,0	12,0
19	19,6	19,4	19,6	19,4
20	36,3	36,1	40,6	40,5
21	19,0	18,8	21,4	21,2
22	34,2	33,9	138,5	138,3
23	26,3	26,0	129,5	129,2
24	46,1	45,8	51,4	51,2
25	29,4	29,1	29,9	31,9
26	20,0	19,8	20,0	21,1
27	19,2	19,0	19,2	19,0
28	23,3	23,0	25,6	25,4
29	12,2	12,0	12,2	12,3

Deslocamentos químicos (δ_c) em ppm * (KOJIMA *et al.*, 1990)

Figura 51 Espectro na região do infravermelho de BP-2

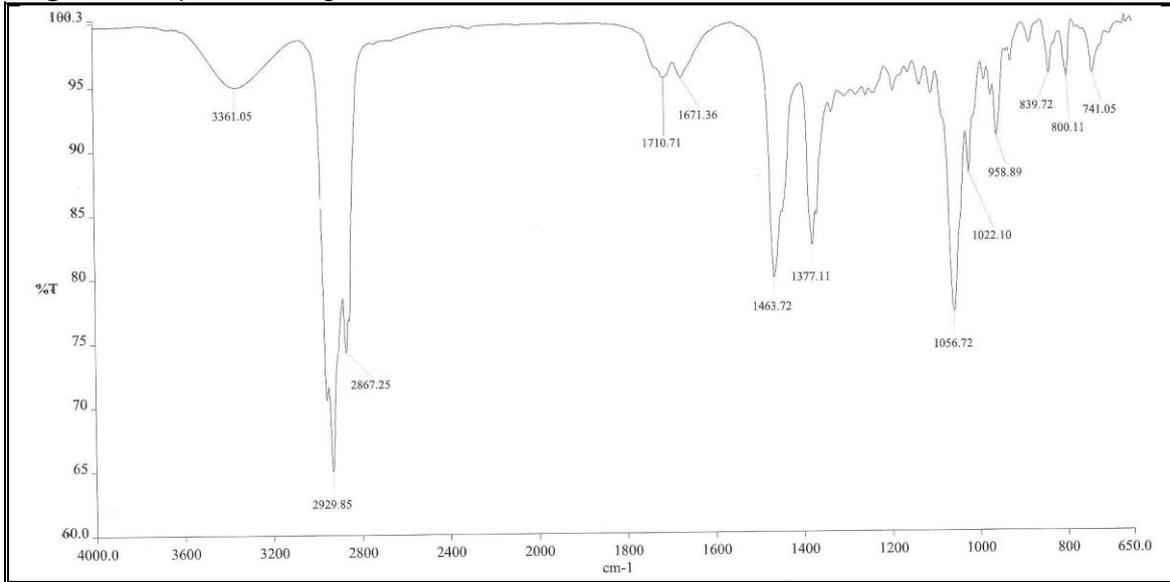


Figura 52 Espectro de RMN ¹H [300 MHz, CDCl₃] de BP-2

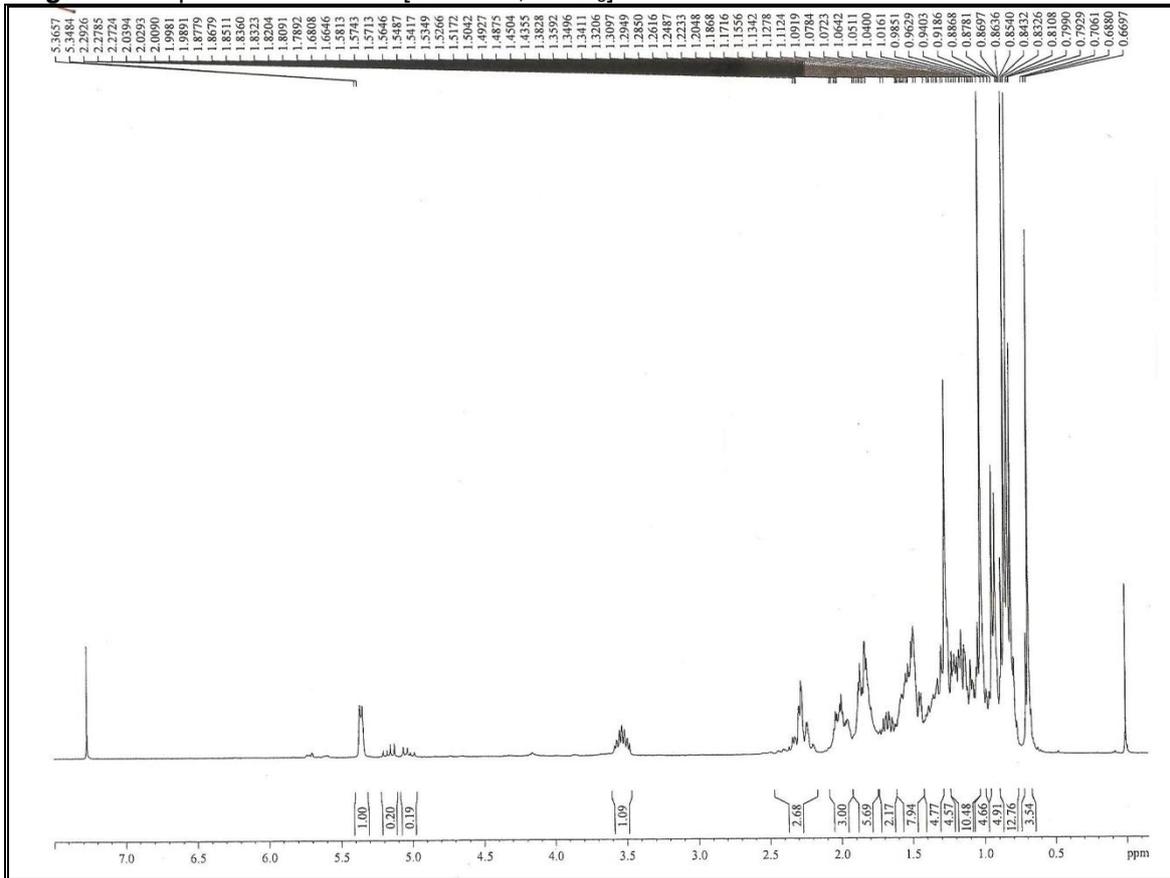


Figura 53 Expansão do espectro de RMN ^1H [300 MHz, CDCl_3] de BP-2

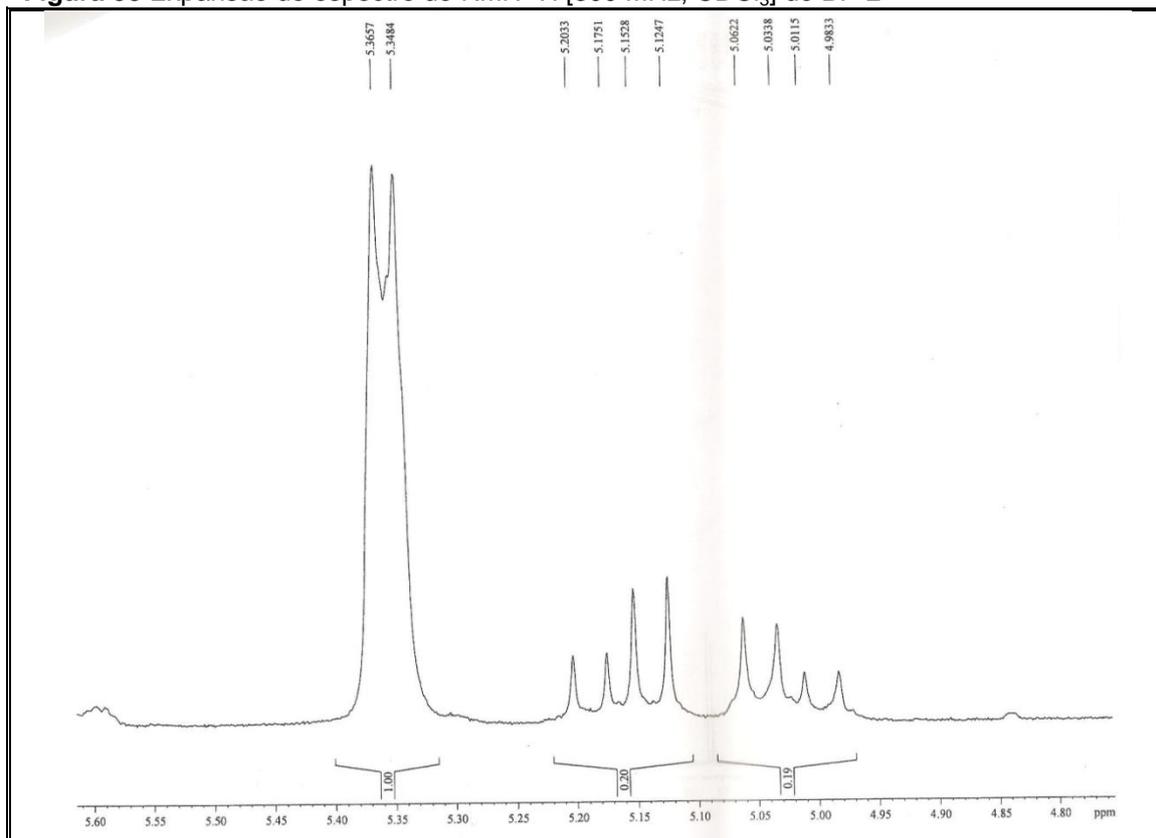


Figura 54 Espectro de RMN ^{13}C -CPD [75 MHz, CDCl_3] de BP-2

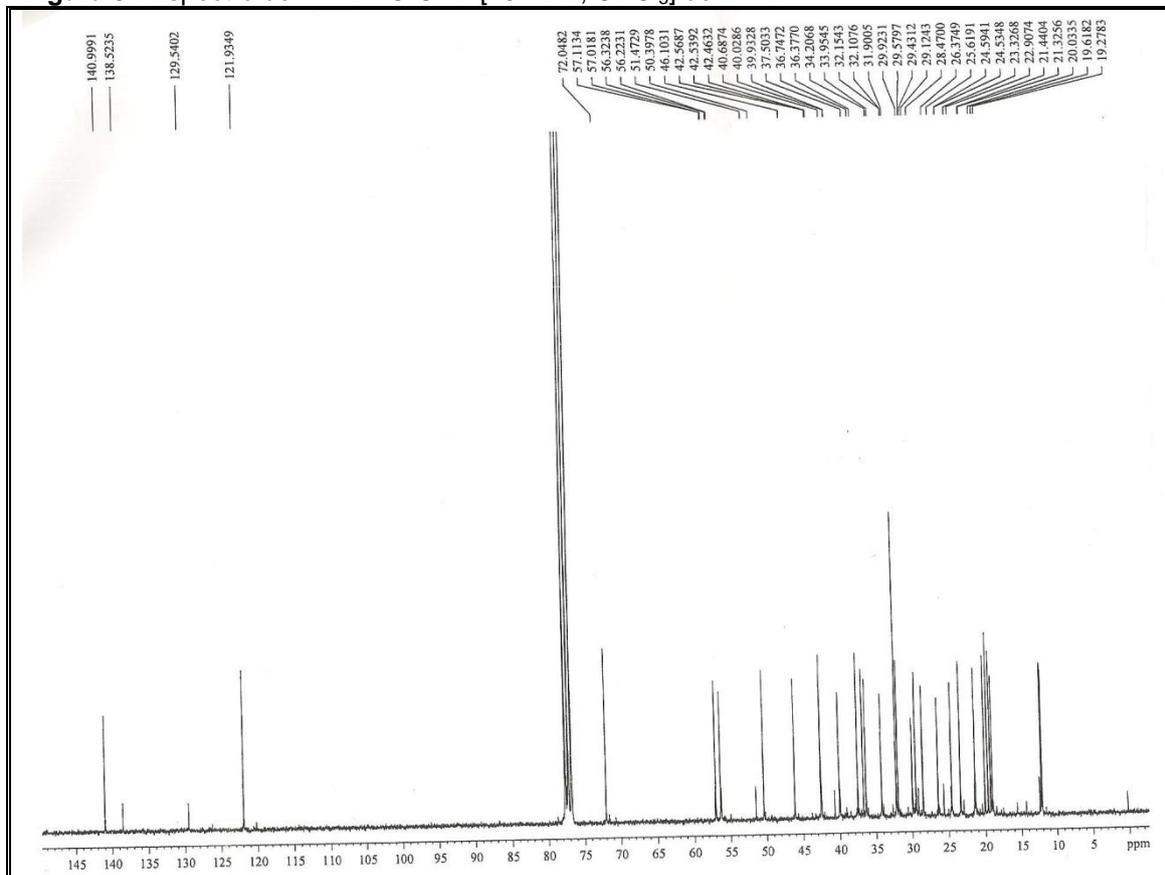
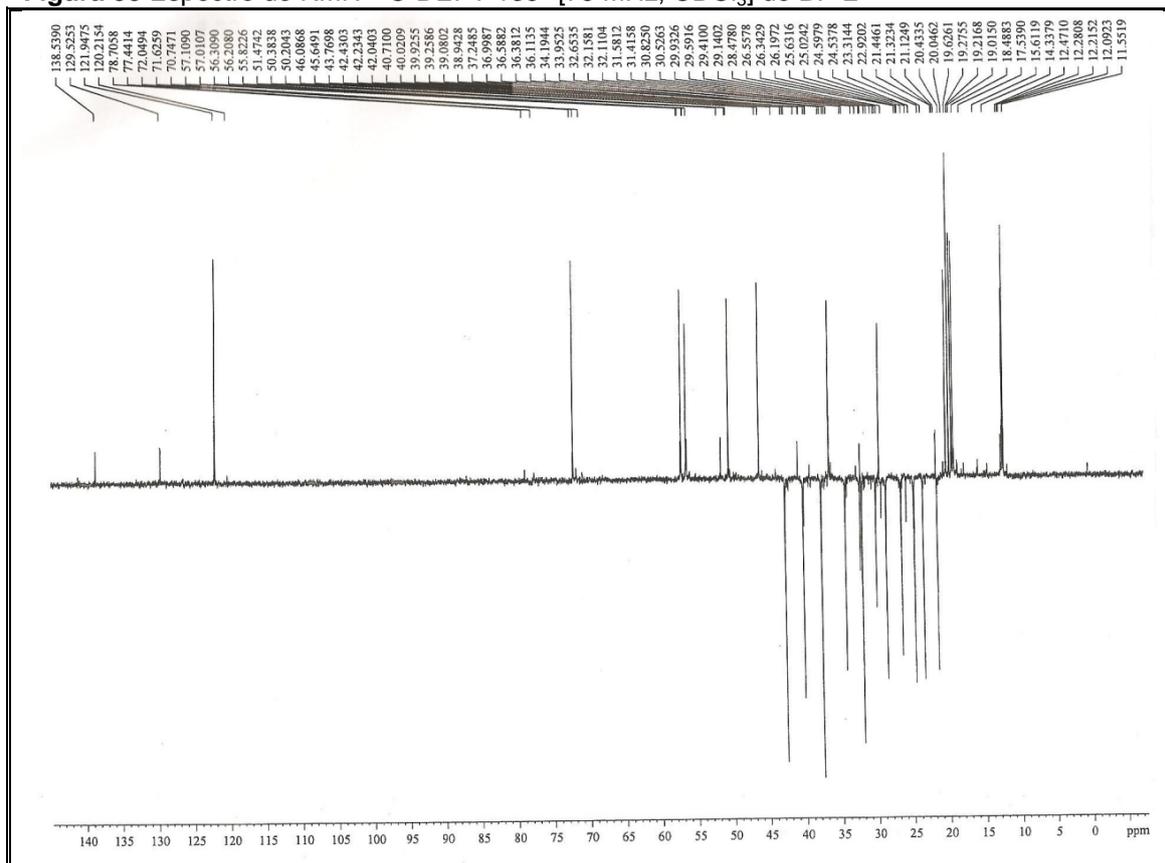


Figura 55 Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° [75 MHz, CDCl_3] de BP-2

4.4.3 Determinação estrutural de BP-3

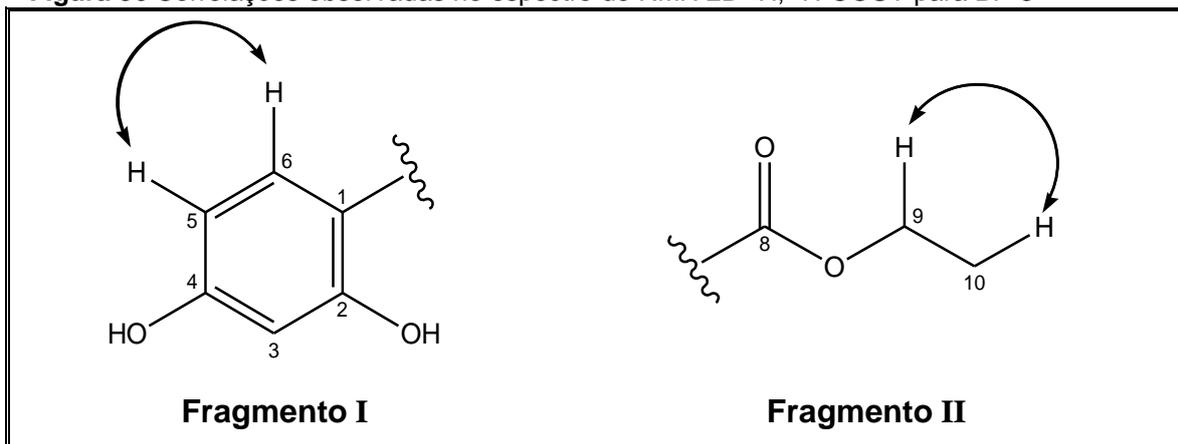
A fração EEBP(A) obtida do extrato EEBP após cromatografia em coluna forneceu 13,4 mg de um líquido viscoso de cor marrom, solúvel em CHCl_3 , que foi denominado BP-3.

O espectro na região do infravermelho (**Fig. 58, p. 105**) revelou bandas de absorção em: 3343 cm^{-1} característica de ligação O–H; 2983 cm^{-1} relacionada à ligação C–H; 1705 cm^{-1} de carbonila; 1608 , 1522 e 1460 cm^{-1} referentes à ligação C=C de anel aromático; e em 1162 e 1100 cm^{-1} de ligação C–O.

O espectro de RMN ^1H [300 MHz, CDCl_3] (**Fig. 59 e 60, p. 105 e 106**) exibiu sinais em δ_{H} 6,33 (dd, $J=8,1$ e $1,5$ Hz, 1H), 6,38 (sl, 1H) e 6,91 (d, $J=8,1$ Hz, 1H) compatíveis com um sistema benzênico trissubstituído. O espectro apresentou ainda três simpletos em δ_{H} 3,58 (2H), 3,59 (2H) e 3,73 (3H), atribuídos, respectivamente, a dois grupos metileno (CH_2) e a um grupo metoxila (CH_3O), além de um tripleto em δ_{H} 1,28 ($J=7,1$ Hz, 3H) e um quarteto em δ_{H} 4,19 ($J=7,1$ Hz, 2H), referentes a um grupo etoxila ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$). O deslocamento químico do sinal em δ_{H} 4,19 (q) dos hidrogênios metilênicos oxigenados indicou a proximidade com um grupo carbonila, permitindo expandir o segmento estrutural etoxila para carboetoxila ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OC}=\text{O}$).

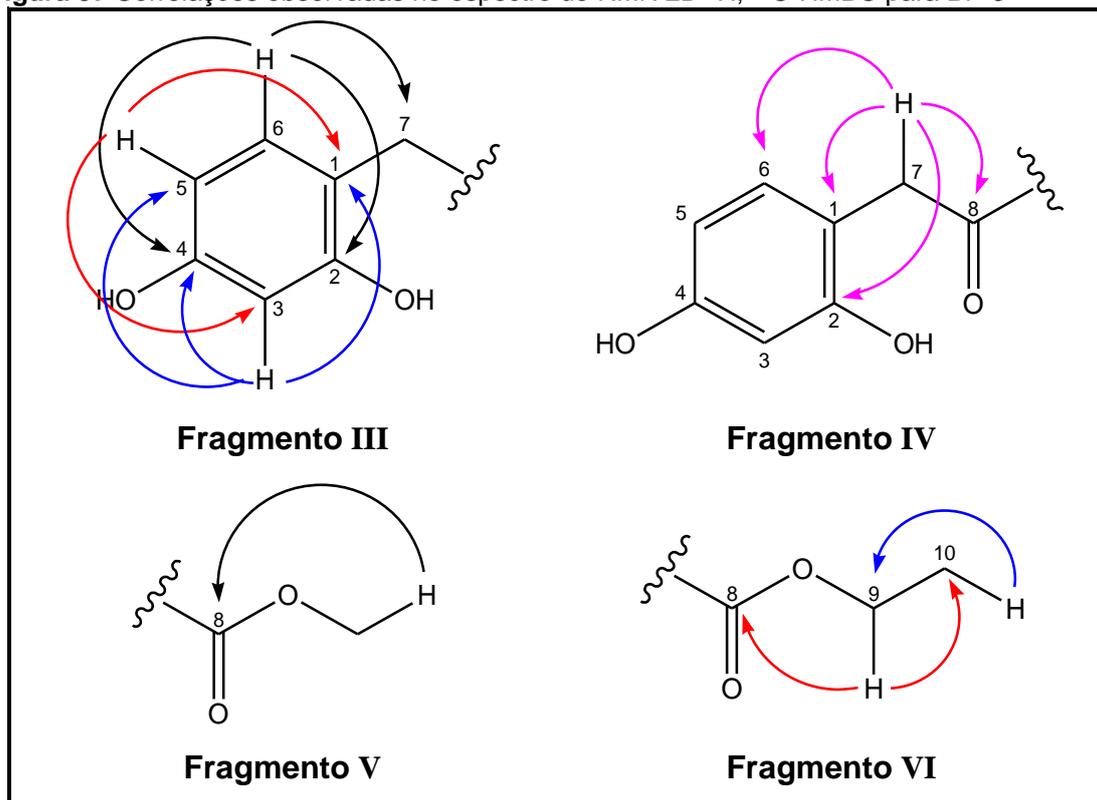
O espectro de RMN ^{13}C CPD [75 MHz, CDCl_3] (**Fig. 61, p. 106**) revelou seis sinais de carbonos aromáticos, incluindo três quaternários, dos quais dois são oxigenados (δ_{C} 156,2 e 156,7), além de duas carbonilas (δ_{C} 175,1 e 174,8). Foram observados ainda cinco sinais na região de carbonos sp^3 , sendo dois oxigenados (δ_{C} 52,9 e 62,1). Análise comparativa entre os espectros de RMN ^{13}C -CPD e DEPT 135° (**Fig. 62, p. 107**), registrou a presença de quatro carbonos metínicos (CH), três carbonos metilênicos (CH_2), um carbono metílico (CH_3) e cinco carbonos não hidrogenados (C).

O espectro de RMN 2D ^1H , ^1H -COSY (**Fig. 63, p. 107**) mostrou acoplamento *orto* entre os sinais de hidrogênios em δ_{H} 6,91 (d, $J=8,1$ Hz, H-6) com δ_{H} 6,33 (dd, $J=8,1$ e $1,5$ Hz, H-5) (**Fragmento I, Fig. 56, p. 101**) e acoplamento vicinal entre os átomos de hidrogênios em δ_{H} 4,19 (q, $J=7,1$ Hz, H-9) com δ_{H} 1,28 (t, $J=7,1$ Hz, H-10) (**Fragmento II, Fig. 56, p. 101**).

Figura 56 Correlações observadas no espectro de RMN 2D ^1H , ^1H -COSY para BP-3

O espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HSQC (Fig. 64, p. 108) permitiu correlacionar, a uma ligação, os sinais de hidrogênios em δ_{H} 6,91; 6,38; 6,33; 4,19; 3,73; 3,59; 3,58 e 1,28 com os de carbonos em δ_{C} 131,9; 104,8; 108,2; 62,1; 52,9; 37,2; 36,7 e 14,2, respectivamente.

O espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HMBC (Fig. 65 e 66, p. 108 e 109) possibilitou correlacionar os sinais de hidrogênios em: δ_{H} 6,91 (H-6) com os carbonos em δ_{C} 156,7 (C-2), 156,2 (C-4) e 37,2 (C-7); δ_{H} 6,33 (H-5) com δ_{C} 113,0 (C-1) e 104,8 (C-3); e δ_{H} 6,38 (H-3) com δ_{C} 156,2 (C-4), 113,0 (C-1) e 108,2 (C-5), confirmando a estrutura de um sistema benzênico trissubstituído (Fragmento III, Fig 57, p. 102). Observou-se também a correlação dos hidrogênios em δ_{H} 3,59 (2H-7) com os carbonos em δ_{C} 156,2 (C-2), 131,9 (C-6), 113,0 (C-1) e 175,1 (C-8), o que caracteriza a presença de hidrogênios benzílicos alfa a carbonila (Fragmento IV, Fig 57, p. 102); do hidrogênio em δ_{H} 3,73 (MeO-8) com o carbono em δ_{C} 174,8 (C-8), caracterizando a existência de um grupo carbometoxila (Fragmento V, Fig 57, p. 102); além dos hidrogênios em δ_{H} 4,19 (H-9) com os carbonos em δ_{C} 174,8 (C-8) e 14,2 (C-10), e δ_{H} 1,28 (H-10) com δ_{C} 62,1 (C-9), confirmando a presença de um substituinte carboetoxila (Fragmento VI, Fig 57, p. 102).

Figura 57 Correlações observadas no espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HMBC para BP-3

Os espectros de RMN bi-dimensionais ^1H , ^1H -COSY (**Fig. 63, p. 107**) e ^1H , ^{13}C -HMBC (**Fig. 65 e 66, p. 108 e 109**) mostraram picos transversais correspondentes aos acoplamentos observados e que justificaram o assinalamento dos átomos de hidrogênio e carbono (**Tab. 7, p. 104**). Conforme visto nas correlações indicadas nos fragmentos estruturais (I-VI) e, em acordo com os picos de íons moleculares em m/z 167,0342 ($[\text{M} - \text{H}]^-$, **A**, calc 167,0344), 195,0653 ($[\text{M} - \text{H}]^-$, **B**, calc 195,0657) e 181,0499 ($[\text{M} - \text{H}]^-$, **C**, calc 181,0501) revelados pelos espectros de massas de alta resolução (modo negativo) (**Fig. 67, 68 e 69, p. 109 e 110**), foi possível deduzir as fórmulas moleculares $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_4$, $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_4$ e $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_4$ para **A**, **B** e **C**, respectivamente, e IDH=5. Os espectros de massas de alta resolução da mistura BP-3 contribuíram para definir as estruturas dos componentes através das propostas de fragmentação (**Fig. 70, p. 110**).

Assim, todos os dados em conjunto revelaram BP-3 como uma mistura de substâncias de estruturas semelhantes, identificadas como ácido 2,4-diidroxifenilacético (**BP-3A**), 2,4-diidroxifenilacetato de etila (**BP-3B**) e 2,4-diidroxifenilacetato de metila (**BP-3C**) nas proporções de 48,31%, 32,85% e 18,84%, respectivamente. As percentagens aproximadas dos três

componentes foram calculadas com base no espectro de RMN ^1H (**Fig. 59, p. 105**) através das integrações dos sinais dos hidrogênios 2H-9 (δ_{H} 4,19 de BP-3B, área=1,36/2 = 0,68/H), MeO-8 (δ_{H} 3,73 de BP-3C, área=1,18/3 = 0,39/H) e 2H-7 (δ_{H} 3,58 e 3,59 dos três componentes, área=2,07), logo $2,07 - 0,68$ (1H de BP-3B) - $0,39$ (1H de BP-3C) = $1,00$ (1H de BP-3A). Assim, foi possível a obtenção das seguintes percentagens aproximadas:

$$2,07 = 100\% \text{ (BP-3A, BP-3B e BP-3C)}$$

$$1,00 = 48,31\% \text{ (BP-3A)}$$

$$0,68 = 32,85\% \text{ (BP-3B)}$$

$$0,39 = 18,84\% \text{ (BP-3C)}$$

A análise por CG-EM (**Fig. 71, p. 111 e 112**) confirmou a presença dos três componentes, revelando percentagens diferentes em consonância com as correspondentes características experimentais (RMN e CG-EM). A **Figura 71** contempla também propostas de fragmentação para os componentes da mistura BP-3.

Estas três substâncias naturais estão sendo relatadas pela primeira vez no gênero *Bauhinia*.

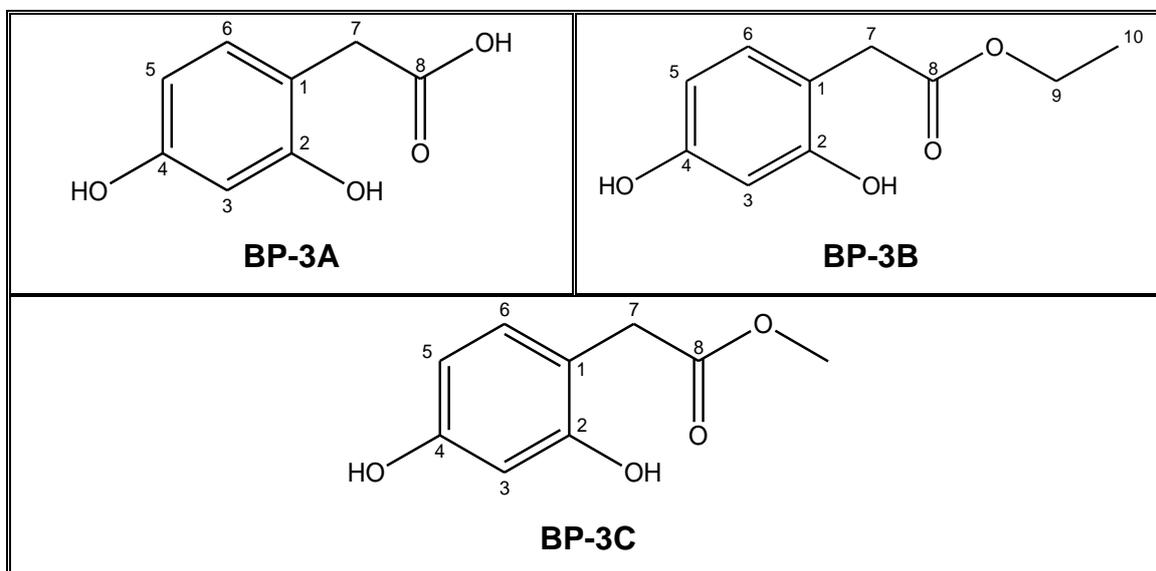


Tabela 7 Dados de RMN ^1H e ^{13}C de BP-3A, BP-3B e BP-3C, incluindo correlação heteronuclear através de uma ligação (HSQC: $^1J_{\text{CH}}$) e a longa distância (HMBC: $^nJ_{\text{CH}}$, $n=2$ e 3), em CDCl_3 como solvente

C	BP-3A (48,31%)					BP-3B (32,85%)					BP-3C (18,84%)				
	HSQC		HMBC		Lit.*	HSQC		HMBC		Lit.*	HSQC		HMBC		Lit.*
	δ_{C}	δ_{H}	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$		δ_{C}	δ_{H}	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$		δ_{C}	δ_{H}	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	
1	113,0	-	2H-7	H-3; H-5	113,7	112,9	-	2H-7	H-3; H-5	112,9	-	2H-7	H-3; H-5	113,7	
2	156,2	-		H-6; 2H-7	158,7	156,0	-		H-6; 2H-7	156,0	-		H-6; 2H-7	158,7	
3	104,8	6,38 (sl)		H-5	103,3	104,7	6,38 (sl)		H-5	104,7	6,38 (sl)		H-5	103,3	
4	156,7	-	H-3; H-5	H-6	157,5	156,7	-	H-3; H-5	H-6	156,7	-	H-3; H-5	H-6	157,5	
5	108,2	6,33 (dd, $J=8,1$ e $1,5$)		H-3	107,4	108,2	6,33 (dd, $J=8,1$ e $1,5$)		H-3	108,2	6,33 (dd, $J=8,1$ e $1,5$)		H-3	107,4	
6	131,9	6,91 (d, $J=8,1$)		2H-7	132,4	131,9	6,91 (d, $J=8,1$)		2H-7	131,9	6,91 (d, $J=8,1$)		2H-7	132,4	
7	36,7	3,59 (s)		H-6	35,9	37,2	3,58 (s)		H-6	37,2	3,58 (s)		H-6	35,8	
8	175,1	-	2H-7		175,5	174,8	-	2H-7	2H-9	174,8	-	2H-7	MeO-8	175,2	
9	-	-	-	-	-	62,1	4,19 (q, $J=7,1$)	3H-10		-	-	-	-	-	
10	-	-	-	-	-	14,2	1,28 (t, $J=7,1$)	2H-9		-	-	-	-	-	
MeO	-	-	-	-	-	-	-	-	-	52,9	3,73 (s)			52,3	

Deslocamentos químicos (δ_{C} e δ_{H}) em ppm e constante de acoplamento (J) em Hz

* (NAHAR *et al.*, 2005) em CD_3OD

Figura 58 Espectro na região do infravermelho de BP-3

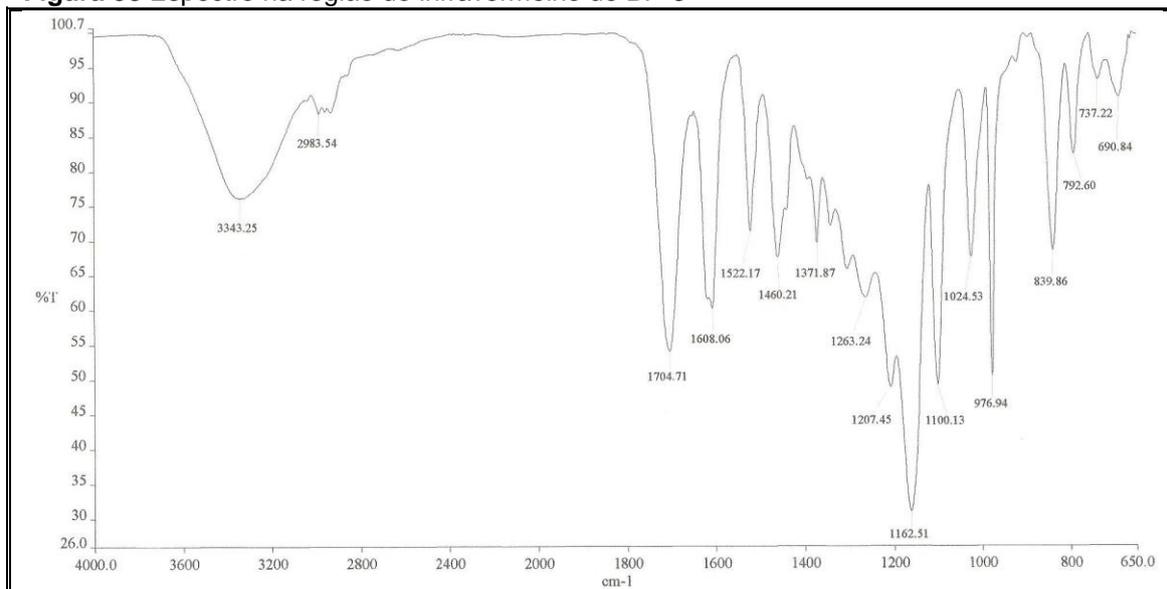


Figura 59 Espectro de RMN ¹H [300 MHz, CDCl₃] de BP-3

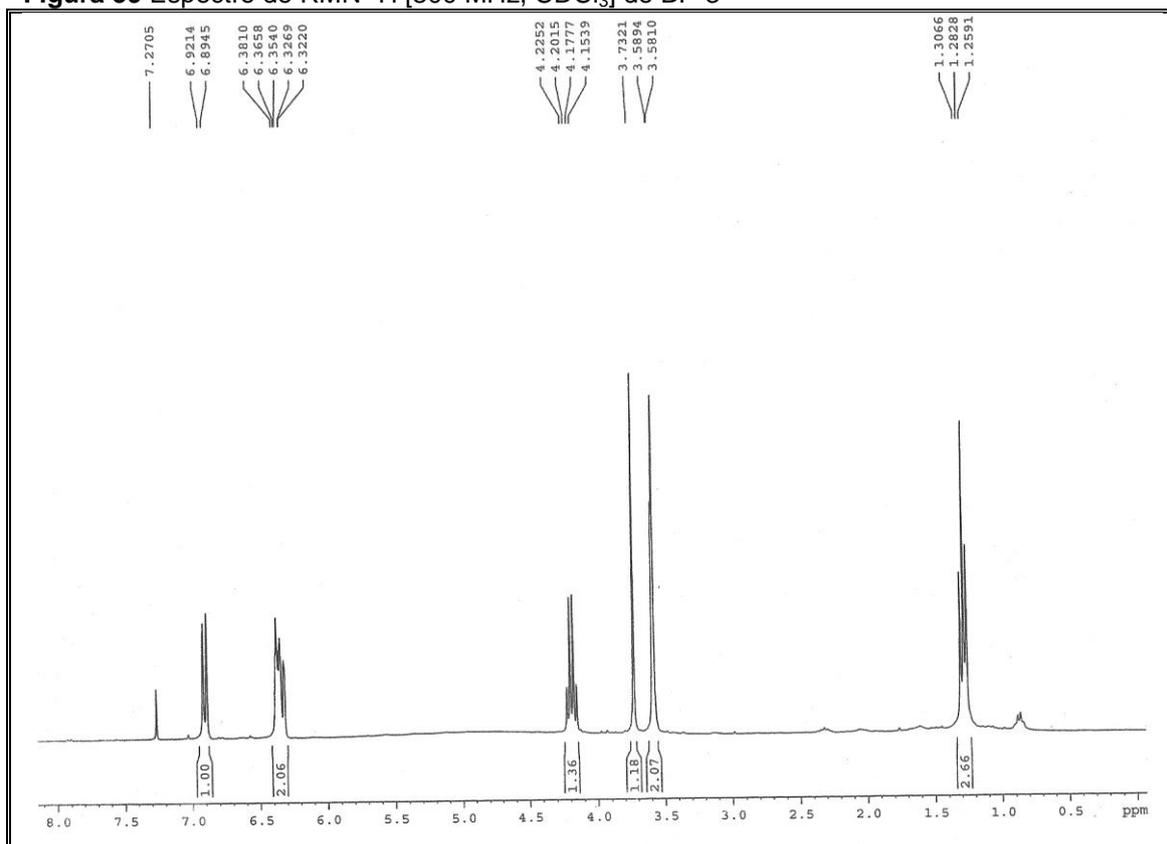


Figura 60 Expansão do espectro de RMN ^1H [300 MHz, CDCl_3] de BP-3

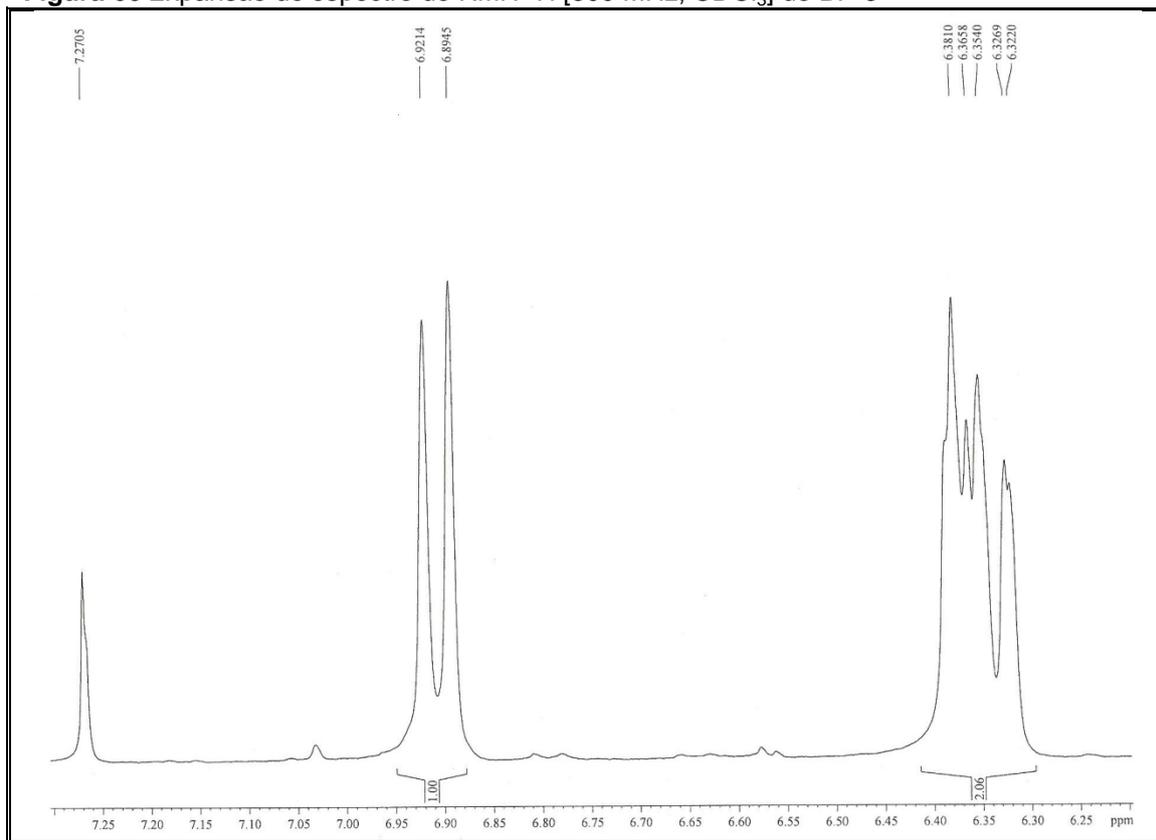


Figura 61 Espectro de RMN ^{13}C -CPD [75 MHz, CDCl_3] de BP-3

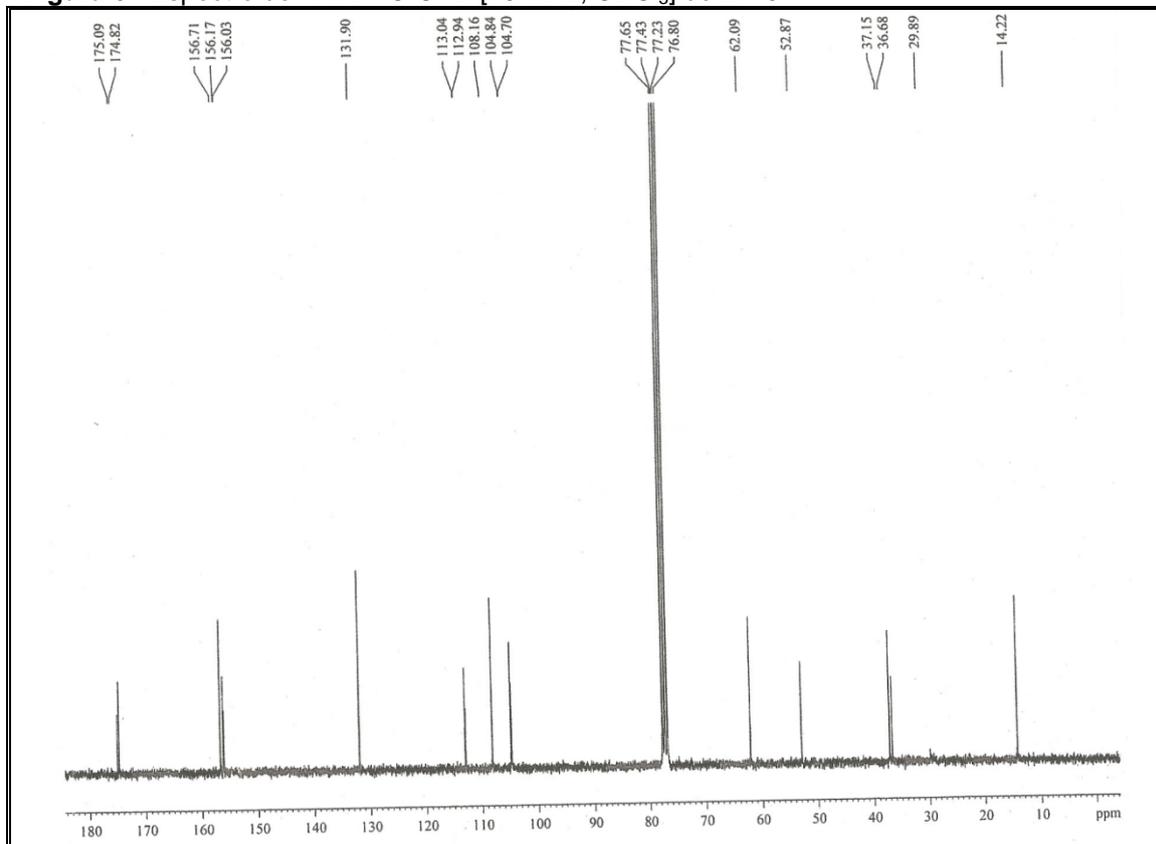


Figura 62 Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° [75 MHz, CDCl_3] de BP-3

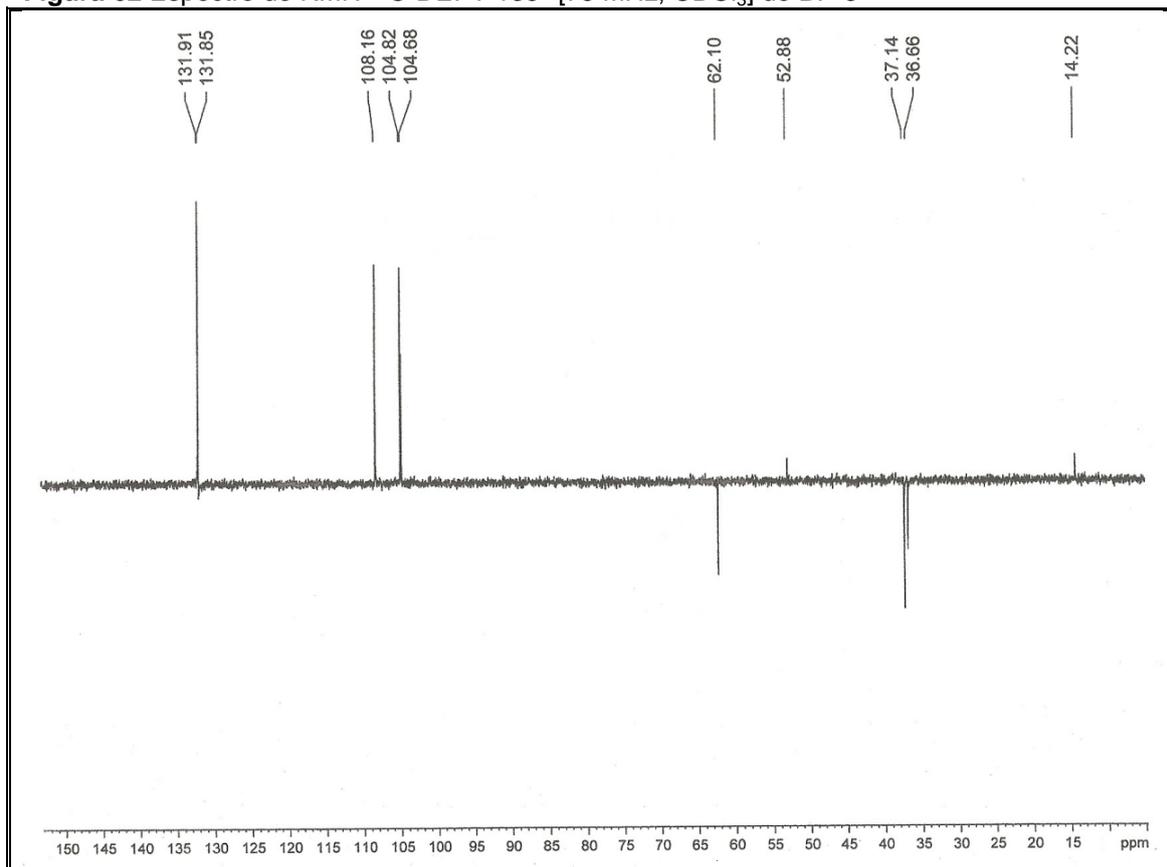


Figura 63 Espectro de RMN 2D ^1H , ^1H -COSY [300 x 300 MHz, CDCl_3] de BP-3

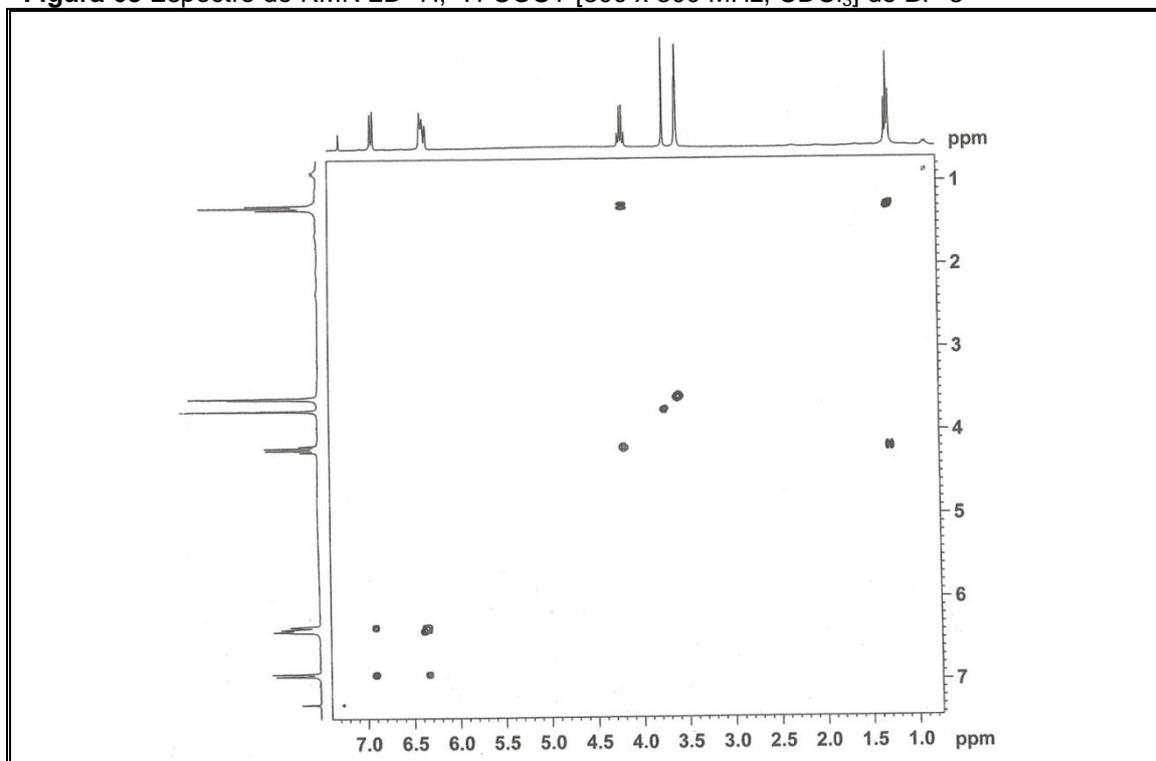


Figura 64 Espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HSQC [300 x 75 MHz, CDCl_3] de BP-3

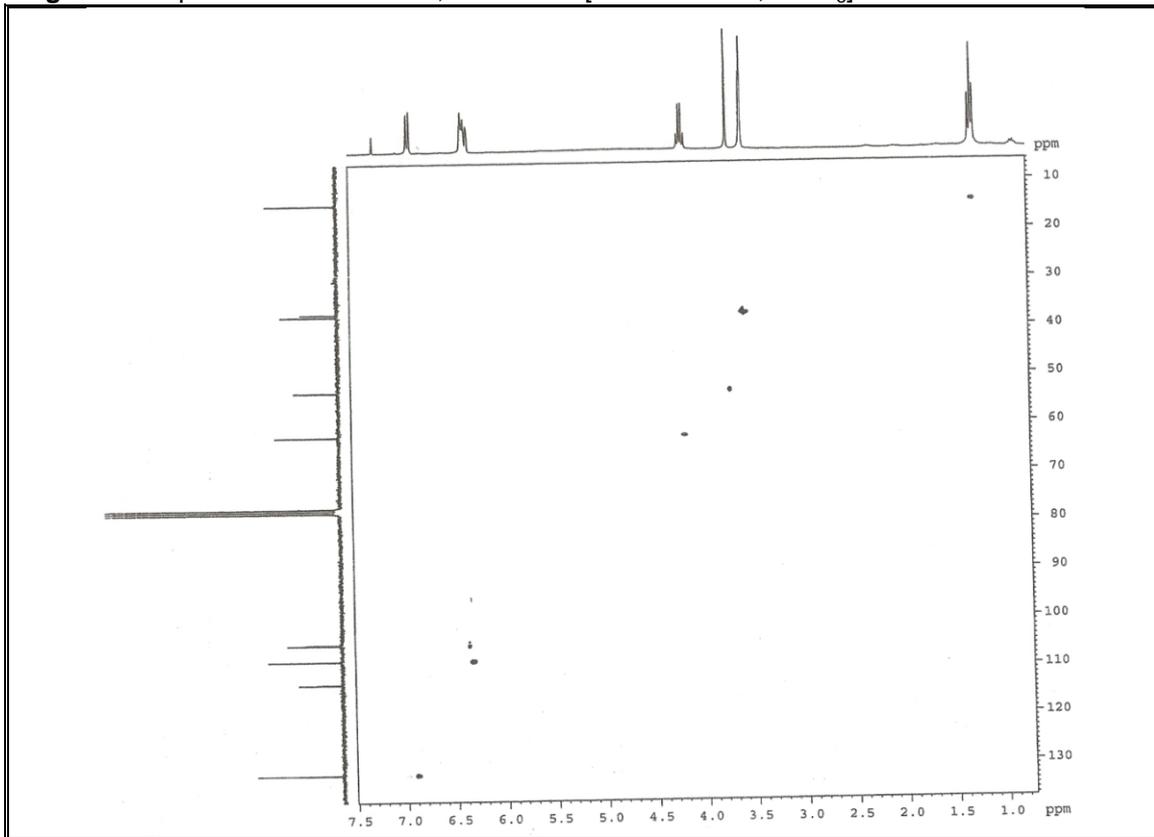


Figura 65 Espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HMBC [300 x 75 MHz, CDCl_3] de BP-3

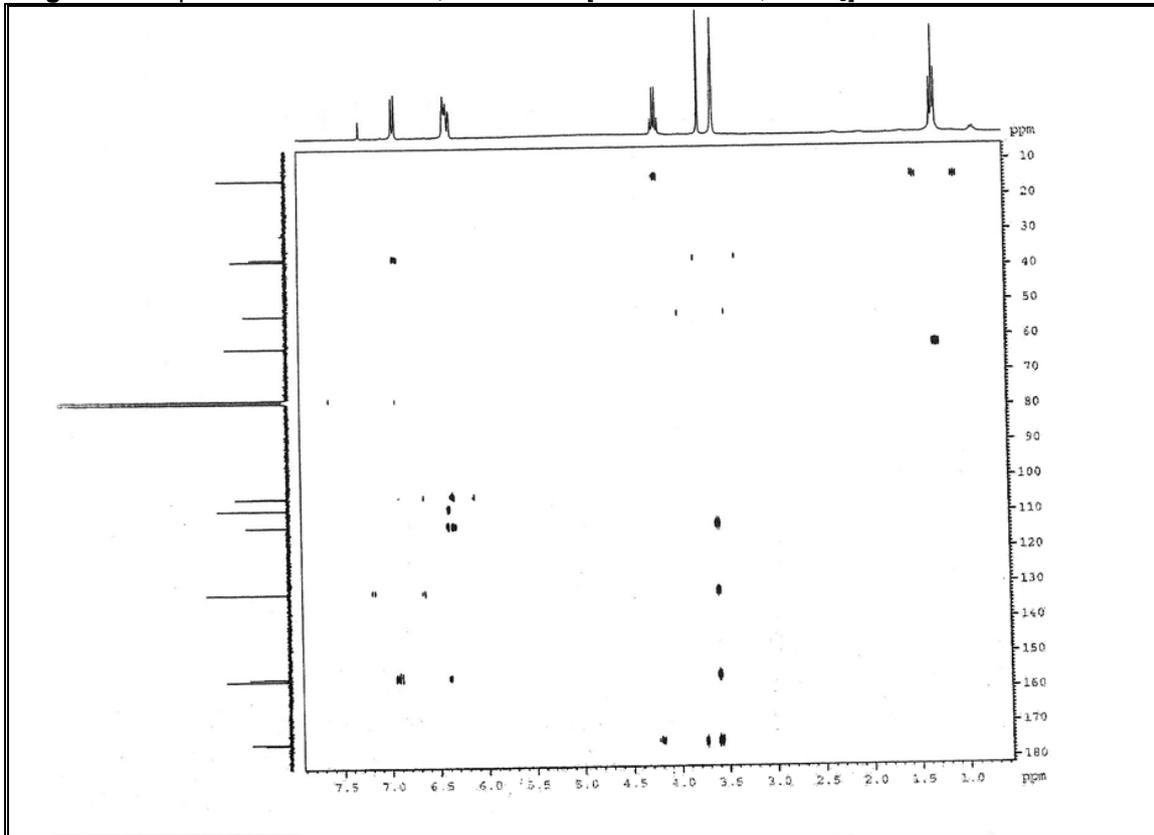


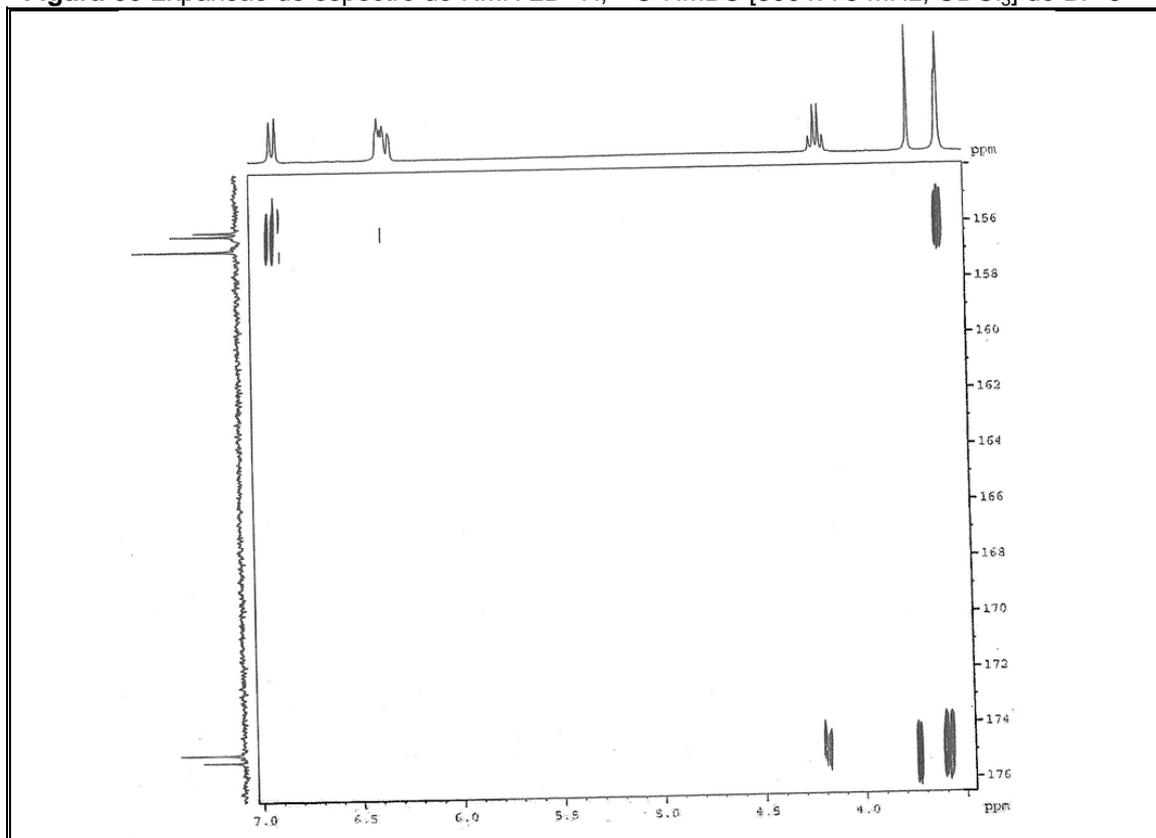
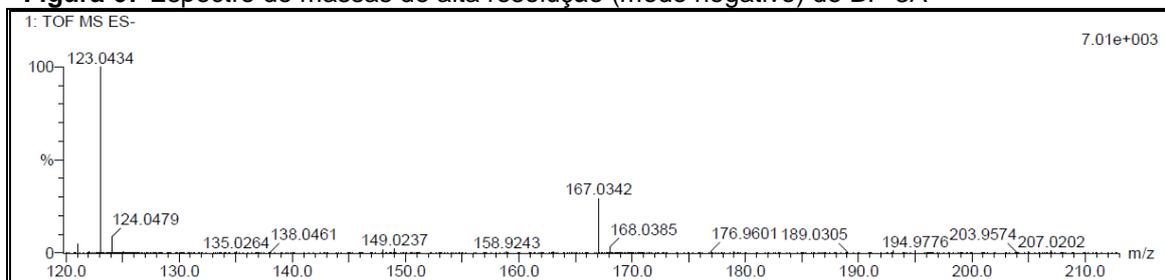
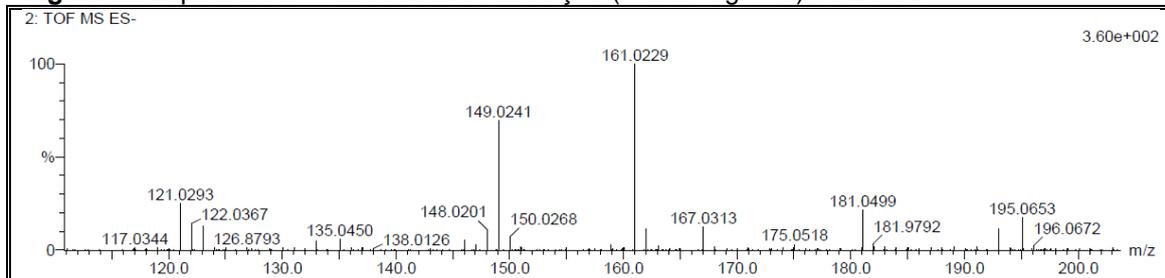
Figura 66 Expansão do espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HMBC [300 x 75 MHz, CDCl_3] de BP-3**Figura 67** Espectro de massas de alta resolução (modo negativo) de BP-3A**Figura 68** Espectro de massas de alta resolução (modo negativo) de BP-3B

Figura 69 Espectro de massas de alta resolução (modo negativo) de BP-3C

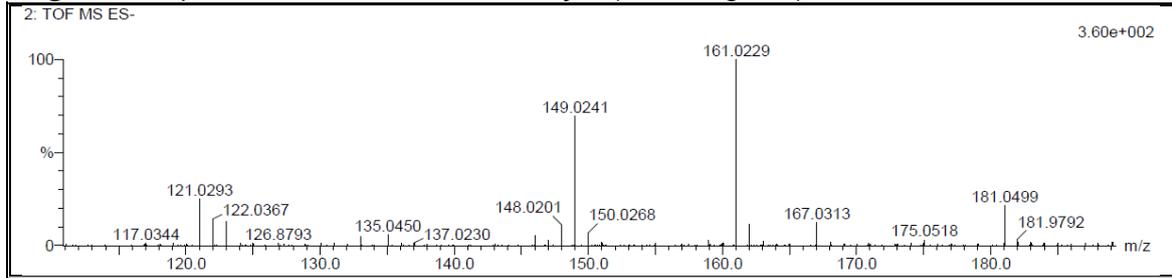


Figura 70 Proposta mecanística que justifica fragmentos registrados nos espectros de massas de alta resolução de BP-3A, BP-3B e BP-3C

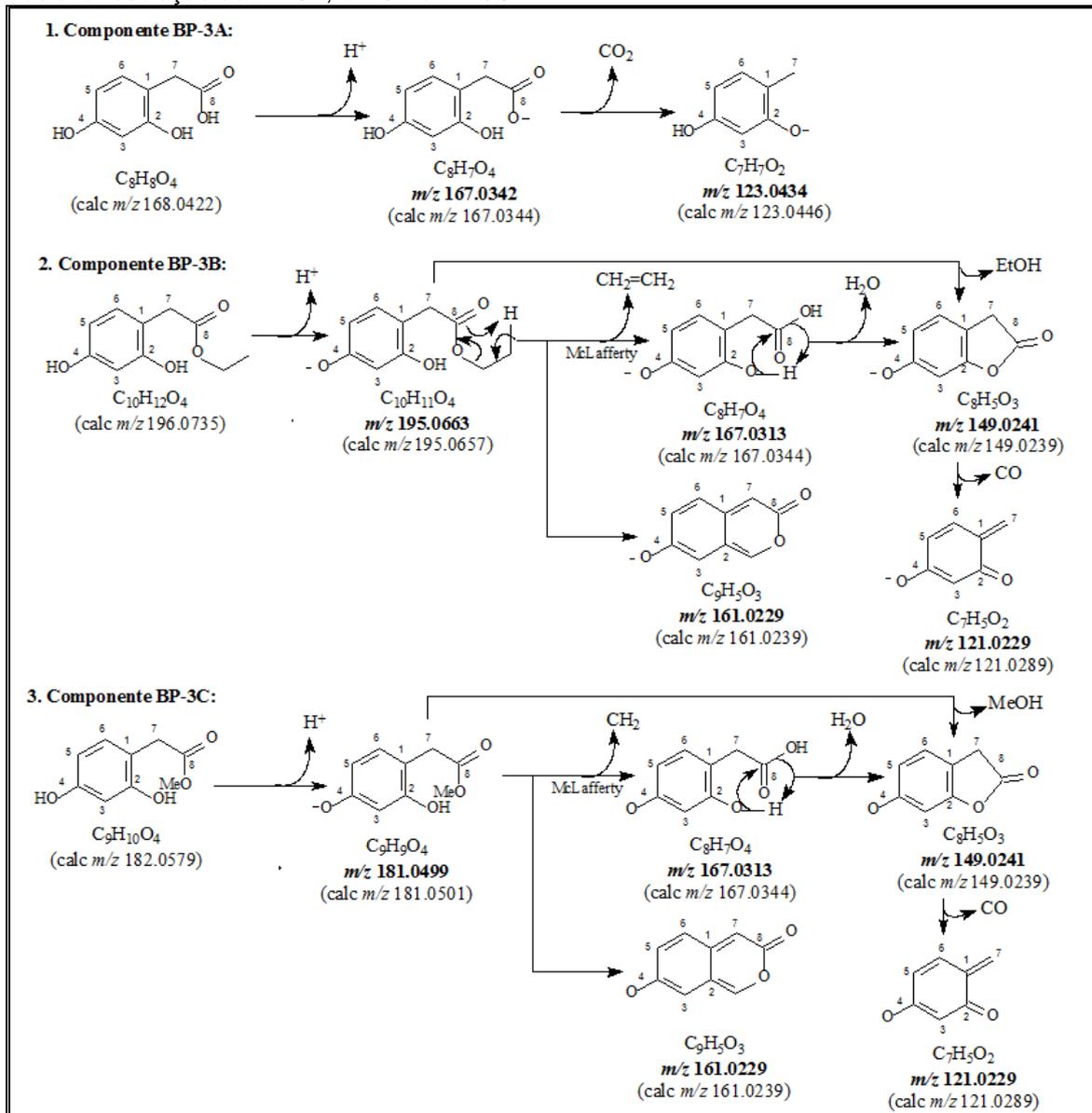
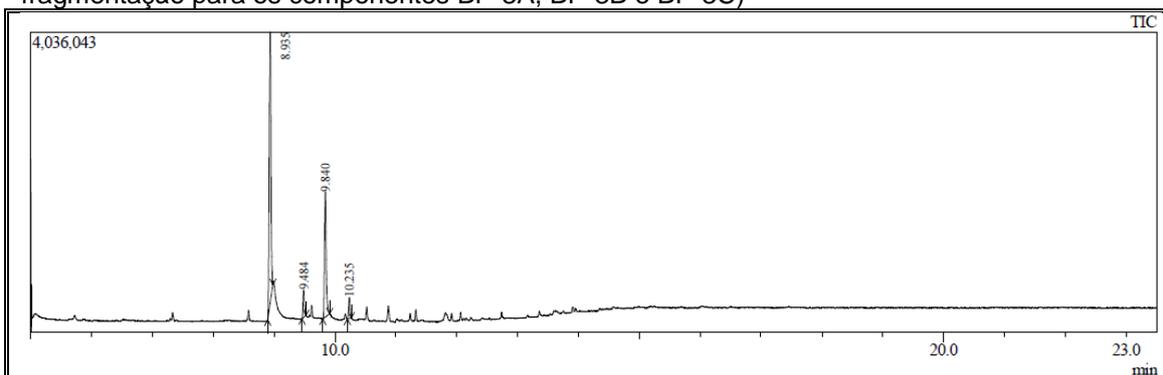
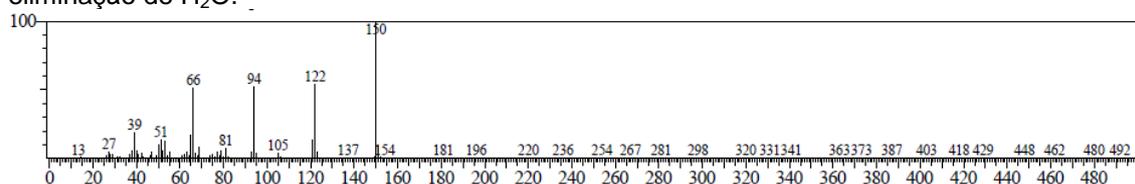


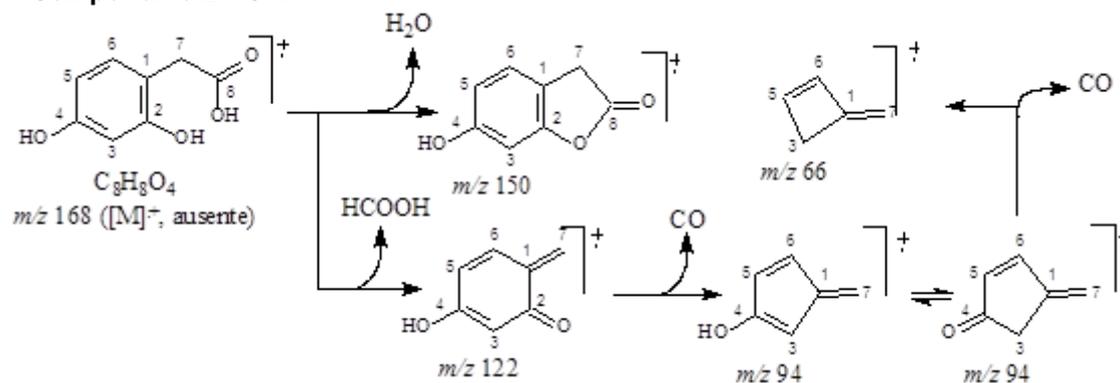
Figura 71 CG-EM de BP-3 (Cromatograma, espectros de massas e propostas de fragmentação para os componentes BP-3A, BP-3B e BP-3C)



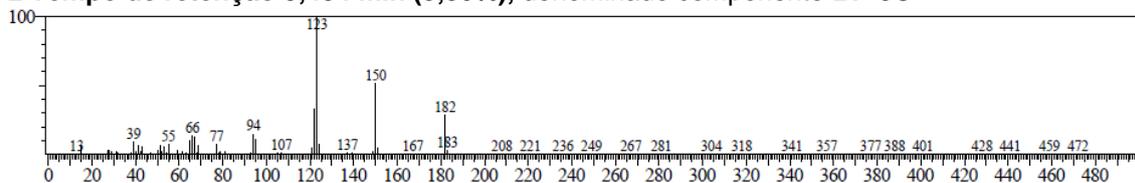
1 Tempo de retenção 8,935 min (61,93%), denominado componente **BP-3A**. Observa-se a ausência do pico correspondente ao ion molecular, compatível com a relativa facilidade pra eliminação de H₂O.



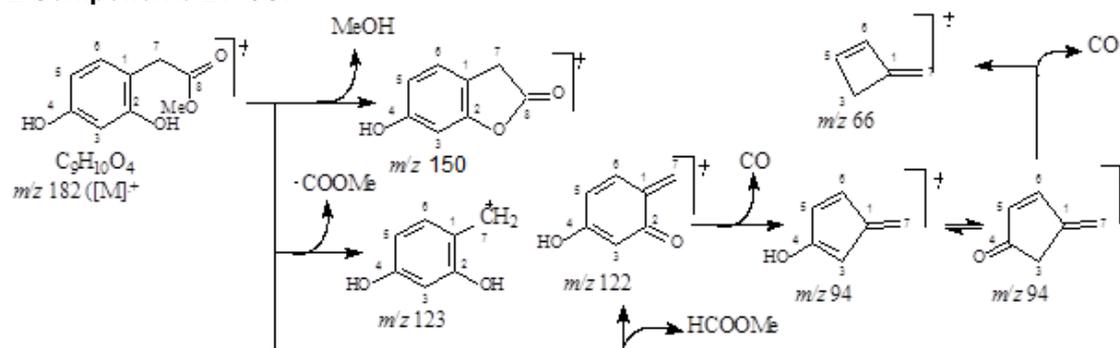
1 Componente BP-3A:



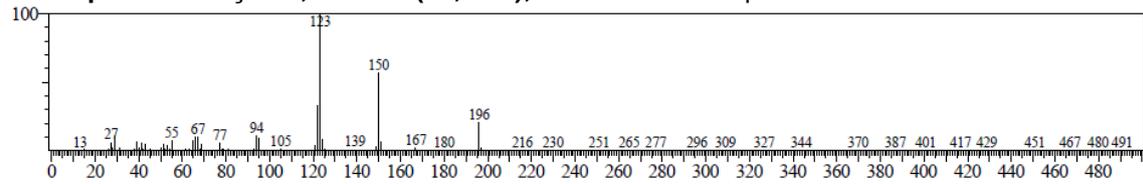
2 Tempo de retenção 9,484 min (5,80%), denominado componente **BP-3C**



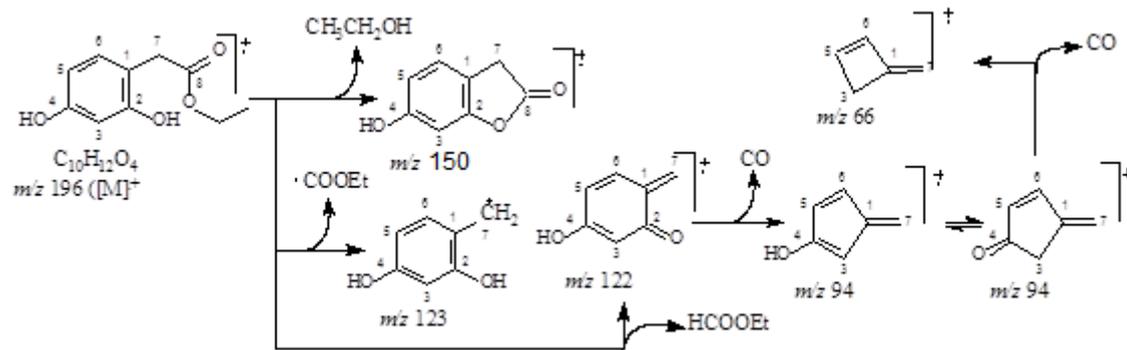
2 Componente BP-3C:



3 Tempo de retenção 9,840 min (28,09%), denominado componente BP-3B



3 Componente BP-3B:



4.4.4 Determinação estrutural de BP-4

Da fração EEBP(M) oriunda do extrato EEBP, após ser cromatografada em coluna, foi possível isolar 30 mg de um líquido viscoso amarelado, solúvel em metanol, com rotação específica $[\alpha]_D^{22.5} + 32,67$ (*c* 2,0, MeOH), que foi denominado BP-4.

O espectro na região do infravermelho (**Fig. 74, p. 117**) revelou bandas de absorção em: 3392 cm^{-1} , característica de deformação axial de ligação O–H; 2933 cm^{-1} relacionada à ligação C–H; e 1070 cm^{-1} referente a ligação C–O.

O espectro de RMN ^1H [300 MHz, CD_3OD] (**Fig. 75 e 76, p. 117 e 118**) apresentou sinais de hidrogênios metínicos, com absorções em δ_{H} 3,25 (dd, $J=9,6$ e $9,2$ Hz, H-3), 3,74 (dd, $J=9,7$ e $2,5$ Hz, H-2), 3,70 (dd, $J=9,7$ e $2,5$ Hz, H-5), 3,89 (d, $J=2,5$ Hz, H-1, H-6) e 3,59 (t, $J=9,8$ Hz, H-4), além de um simpleto em δ_{H} 3,61 de hidrogênios oximetílicos.

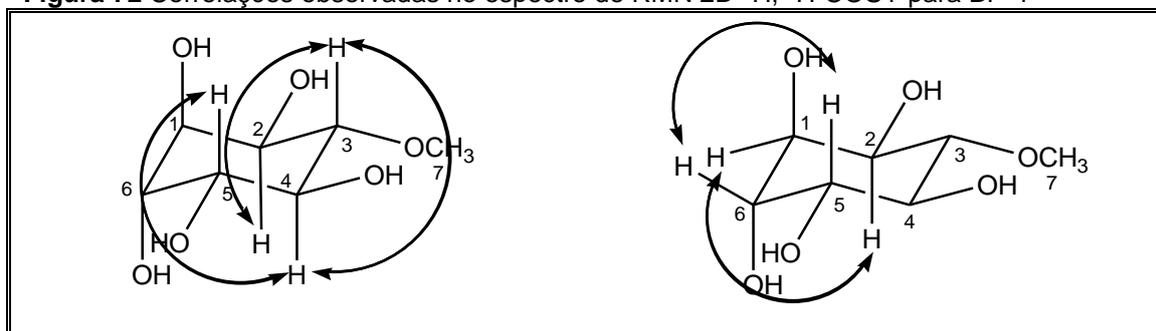
O espectro de RMN ^{13}C -CPD [75 MHz, CD_3OD] (**Fig. 77, p. 118**) registrou um total de sete linhas espectrais, todas na região de carbono sp^3 oxigenado. Entre os carbonos foi observado um sinal referente a carbono metoxílico em δ_{C} 60,9. Depois de analisar e comparar os espectros de RMN ^{13}C -CPD e DEPT 135° (**Fig. 78, p. 119**), verificou-se a presença de seis carbonos metínicos (CH) e um metílico (CH_3), conforme dispostos na **Tabela 8**.

Tabela 8 Padrão de hidrogenação determinado através da comparação dos espectros de RMN ^{13}C -CPD e DEPT 135° de BP-4

CH	CH_3	Fórmula molecular
72,19 (C–OH)	60,94	
72,73 (C–OH)		
73,61 (C–OH)		
73,92 (C–OH)		
74,47 (C–OH)		
85,07 (C–O)		
$\text{C}_6\text{H}_{11}\text{O}_6$	CH_3	$\text{C}_7\text{H}_{14}\text{O}_6$

O espectro de RMN 2D ^1H , ^1H -COSY (Fig. 79, p. 119) mostrou acoplamento axial-axial entre os sinais de hidrogênios metínicos em δ_{H} 3,74 (dd, $J=9,7$ e $2,5$ Hz, H-2) com δ_{H} 3,25 (dd, $J=9,6$ e $9,2$ Hz, H-3), δ_{H} 3,25 (dd, $J=9,6$ e $9,2$ Hz, H-3) com δ_{H} 3,59 (t, $J=9,8$ Hz, H-4), δ_{H} 3,59 (t, $J=9,8$ Hz, H-4) com δ_{H} 3,70 (dd, $J=9,7$ e $2,5$ Hz, H-5) (Fig. 72); e acoplamento axial-equatorial entre os hidrogênios em δ_{H} 3,89 (d, $J=2,5$ Hz, H-1) com δ_{H} 3,74 (dd, $J=9,7$ e $2,5$ Hz, H-2), δ_{H} 3,70 (dd, $J=9,7$ e $2,5$ Hz, H-5) com δ_{H} 3,89 (d, $J=2,5$ Hz, H-6) (Fig. 72).

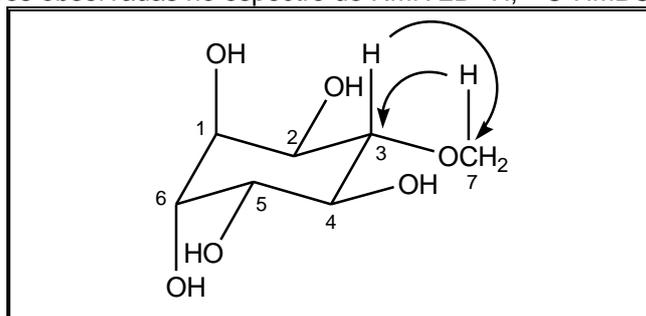
Figura 72 Correlações observadas no espectro de RMN 2D ^1H , ^1H -COSY para BP-4



No espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HSQC (Fig. 80, p. 120) foram observadas as correlações dos sinais de hidrogênios em δ_{H} 3,25; 3,59; 3,61; 3,70; 3,74 com os sinais de carbonos em δ_{C} 85,0; 74,4; 60,9; 72,7; 72,2, respectivamente, e os hidrogênios em δ_{H} 3,89 com os carbonos em δ_{C} 73,6 e 73,9 (Tab. 9, p. 116).

O espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HMBC (Fig. 81, p. 120) definiu a posição do grupo metoxila em C-3 através da correlação, a três ligações ($^3J_{\text{CH}}$), do hidrogênio em δ_{H} 3,25 (H-3) com o carbono em δ_{C} 60,9 (C-7) e dos hidrogênios metílicos em δ_{H} 3,61 (3H-7) com o carbono em δ_{C} 85,0 (C-3) (Fig. 73).

Figura 73 Correlações observadas no espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HMBC para BP-4



Com base na discussão exposta e com dados da literatura (IGNOATO *et al.*, 2012, **Tab. 9, p. 116**) chegou-se à conclusão que BP-4 trata-se do derivado metilado do inositol, (+)-3-O-metil-D-*qui*ro-inositol (D-pinitol), que está sendo relatado pela primeira vez na espécie *B. pentandra*. O D-pinitol apresenta ação semelhante à insulina, em alguns ensaios (KERNTOPF; NASCIMENTO; FONTELES, 2013).

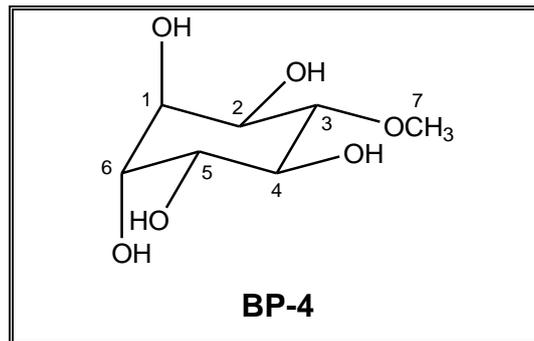


Tabela 9 Dados de RMN ^1H e ^{13}C de BP-4, incluindo correlação heteronuclear através de uma ligação (HSQC: $^1J_{\text{CH}}$) e a longa distância (HMBC: $^nJ_{\text{CH}}$, $n=2$ e 3), em CD_3OD como solvente

C	BP-4					
	HSQC		HMBC		Lit.* (CD_3OD)	
	δ_{C}	δ_{H}	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	δ_{C}	δ_{H}
1	73,9	3,89 (d, $J=2,5$)	H-6		73,4	3,88 (d, $J=2,4$)
2	72,2	3,74 (dd, $J=9,7$ e $2,5$)	H-3		72,0	3,74 (dd, $J=9,9$ e $2,4$)
3	85,0	3,25 (dd, $J=9,6$ e $9,2$)		H-1, MeO	84,8	3,25 (dd, $J=9,6$ e $9,0$)
4	74,4	3,59 (t, $J=9,8$)	H-3	H-2	74,2	3,59 (t, $J=9,9$)
5	72,7	3,70 (dd, $J=9,7$ e $2,5$)	H-4	H-1	72,5	3,69 (dd, $J=9,9$ e $2,4$)
6	73,6	3,89 (d, $J=2,5$)	H-1		73,7	3,88 (d, $J=2,4$)
7	60,9	3,61 (s)		H-3	60,8	3,60 (s)

Deslocamentos químicos (δ_{C} e δ_{H}) em ppm e constante de acoplamento (J) em Hz

* (IGNOATO *et al.*, 2012)

Figura 74 Espectro na região do infravermelho de BP-4

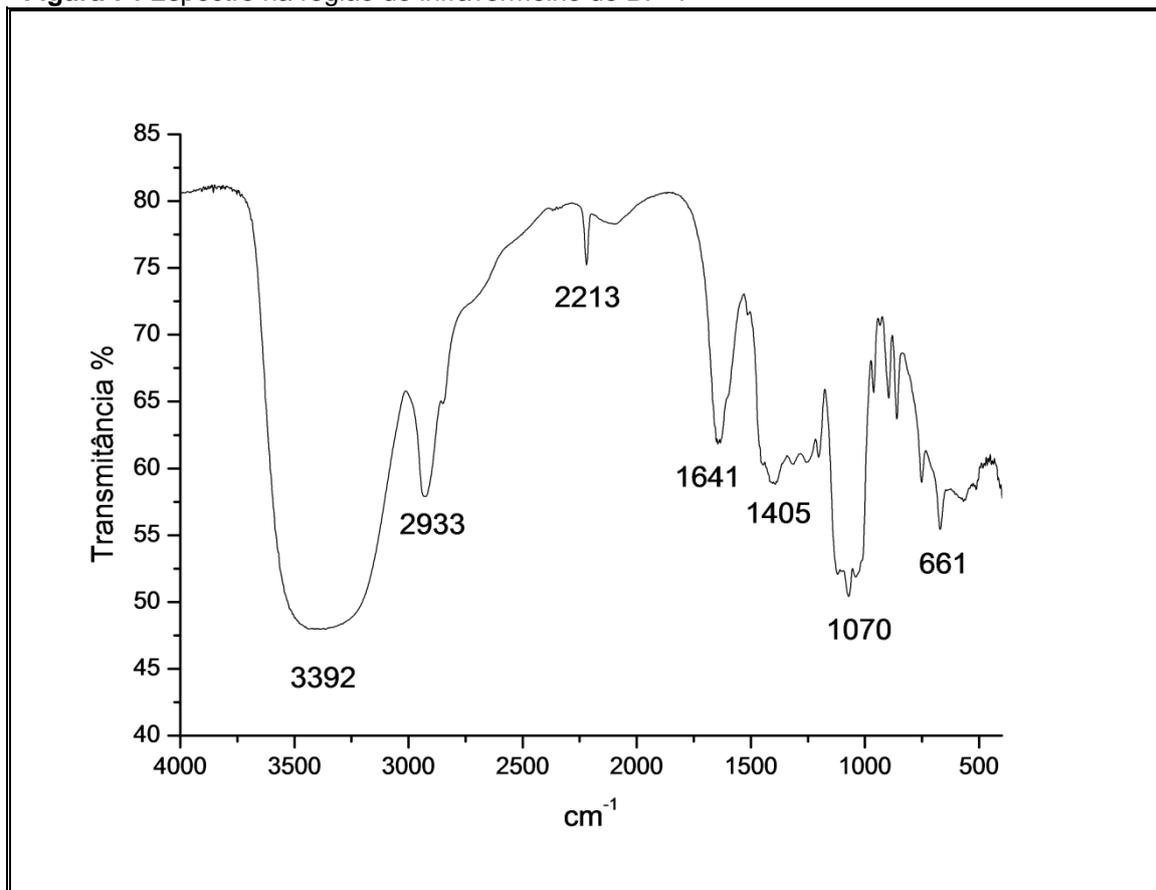


Figura 75 Espectro de RMN ¹H [300 MHz, CD₃OD] de BP-4

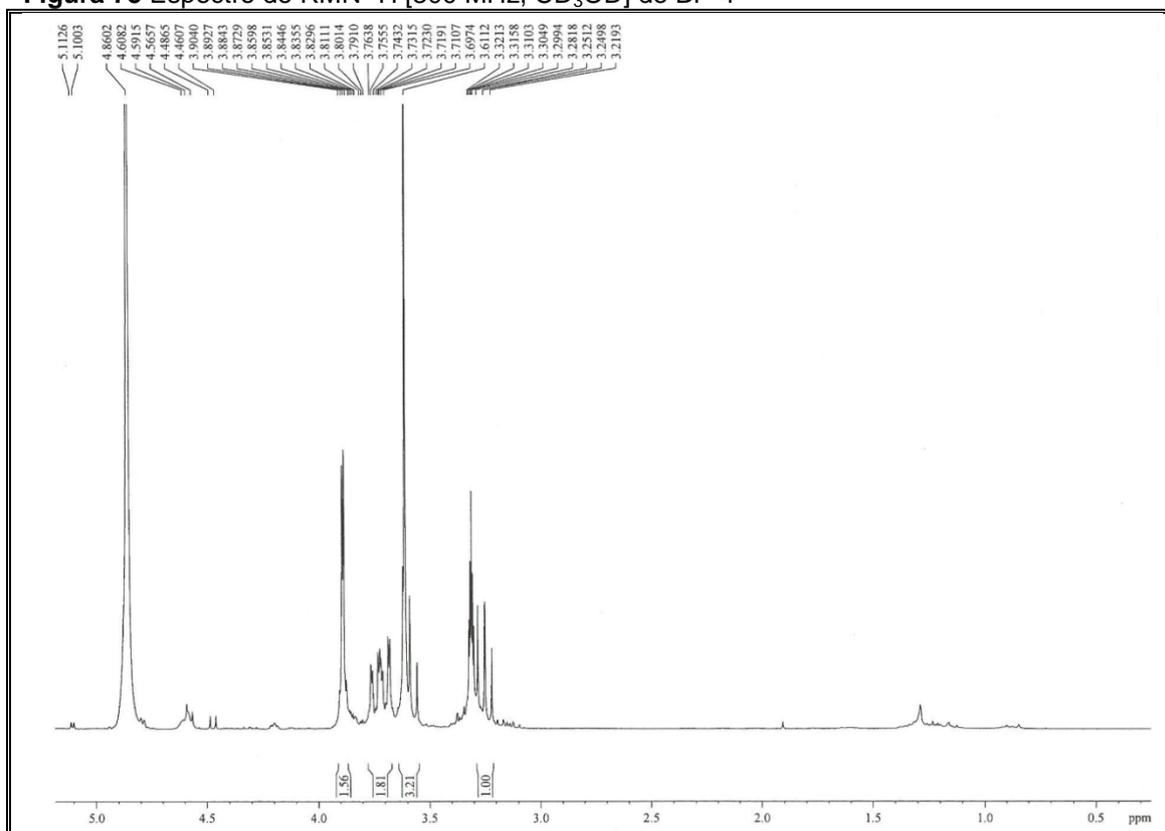


Figura 76 Expansão do espectro de RMN ^1H [300 MHz, CD_3OD] de BP-4

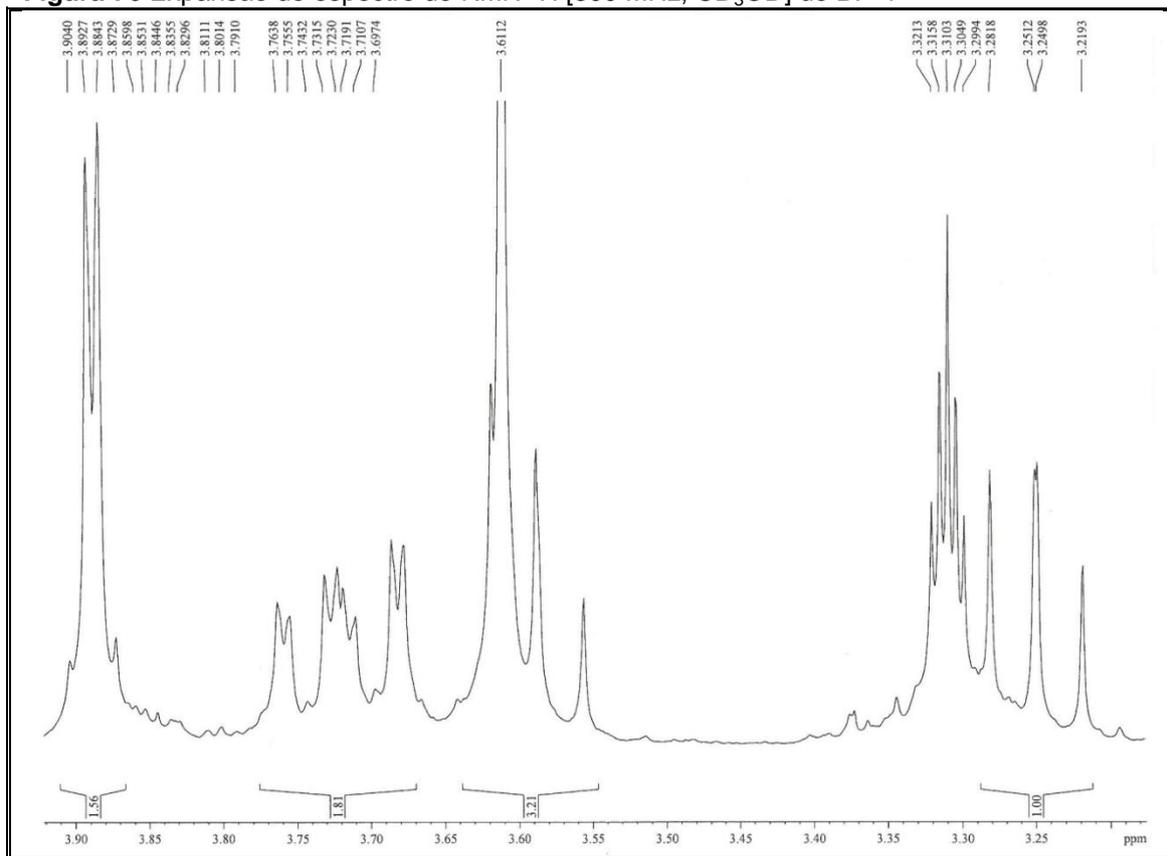


Figura 77 Espectro de RMN ^{13}C -CPD [75 MHz, CD_3OD] de BP-4

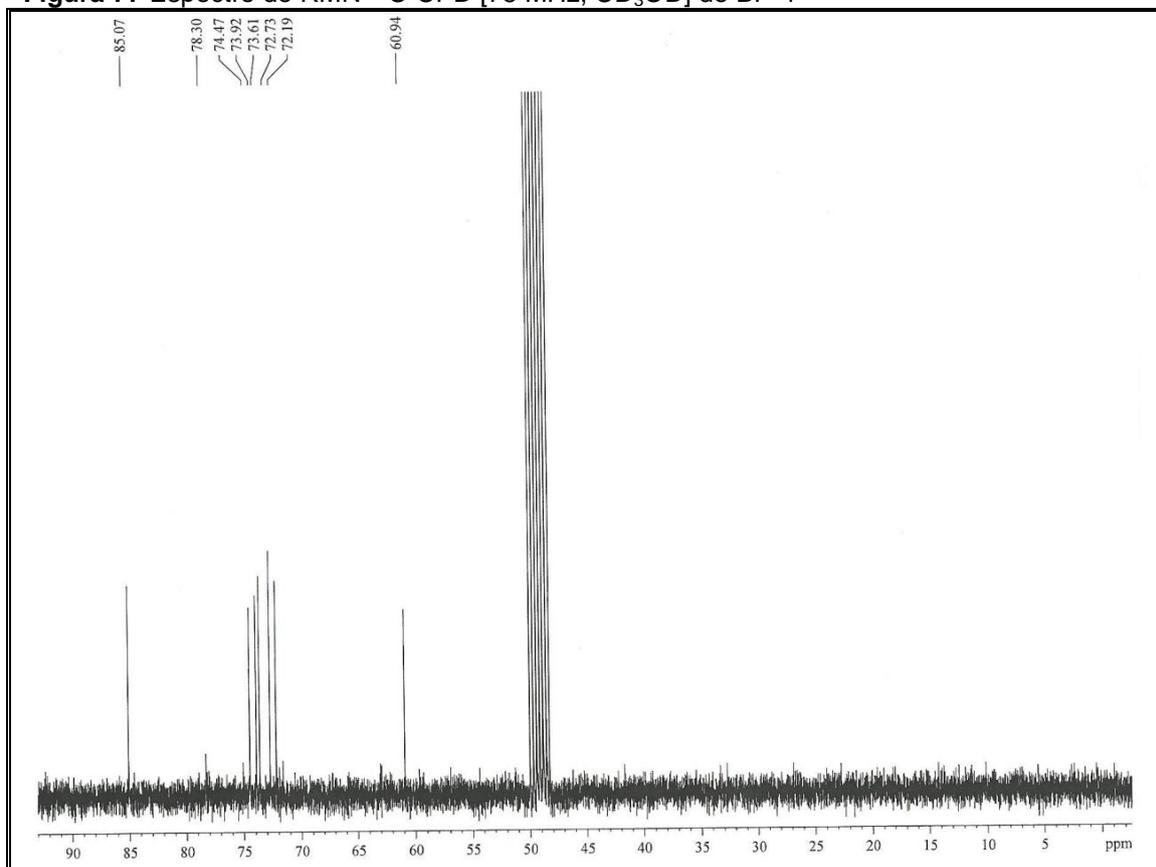


Figura 78 Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° [75 MHz, CD_3OD] de BP-4

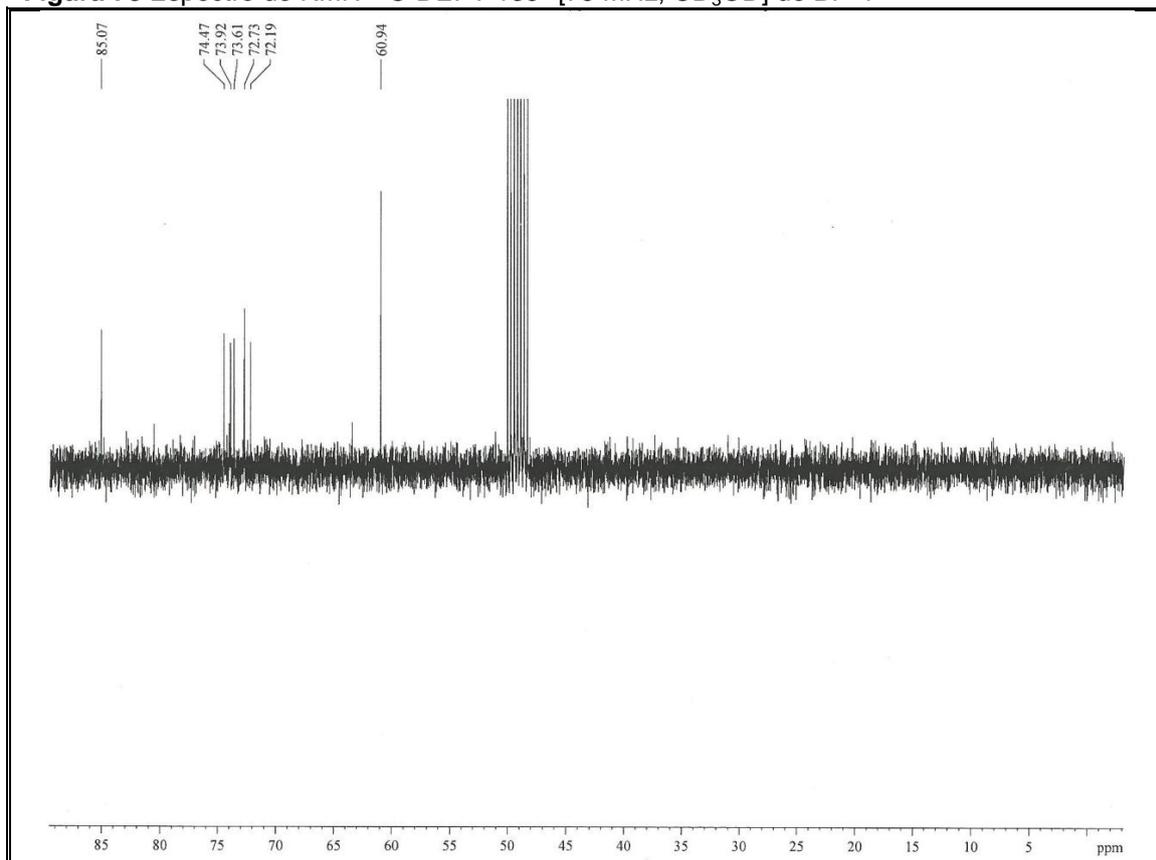


Figura 79 Espectro de RMN 2D ^1H , ^1H -COSY [300 x 300 MHz, CD_3OD] de BP-4

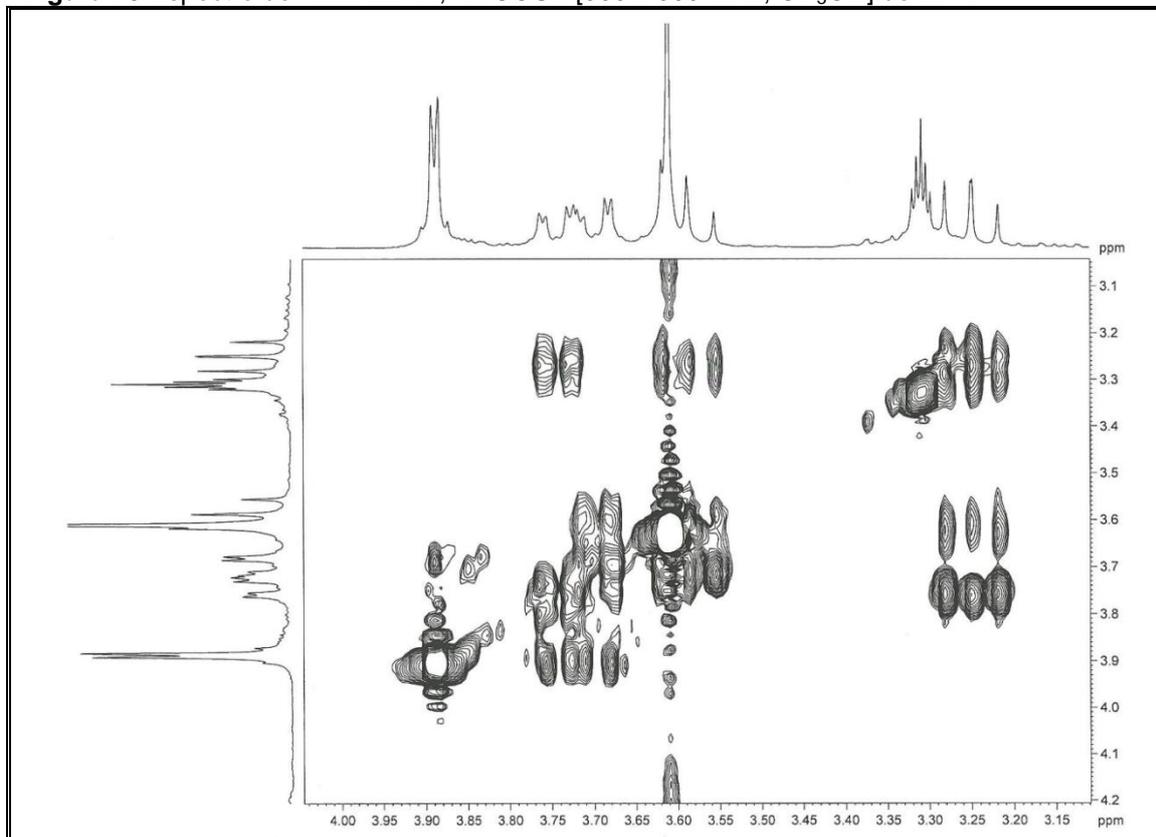


Figura 80 Espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HSQC [300 x 75 MHz, CD_3OD] de BP-4

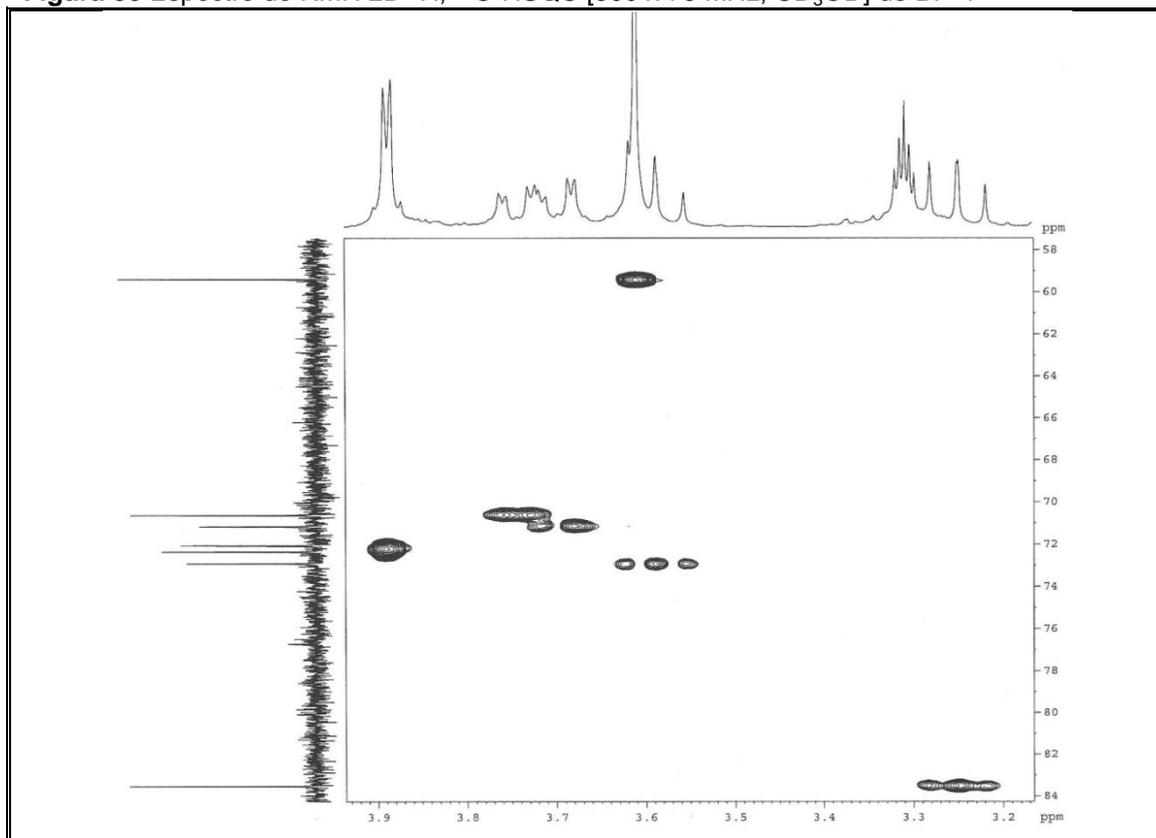
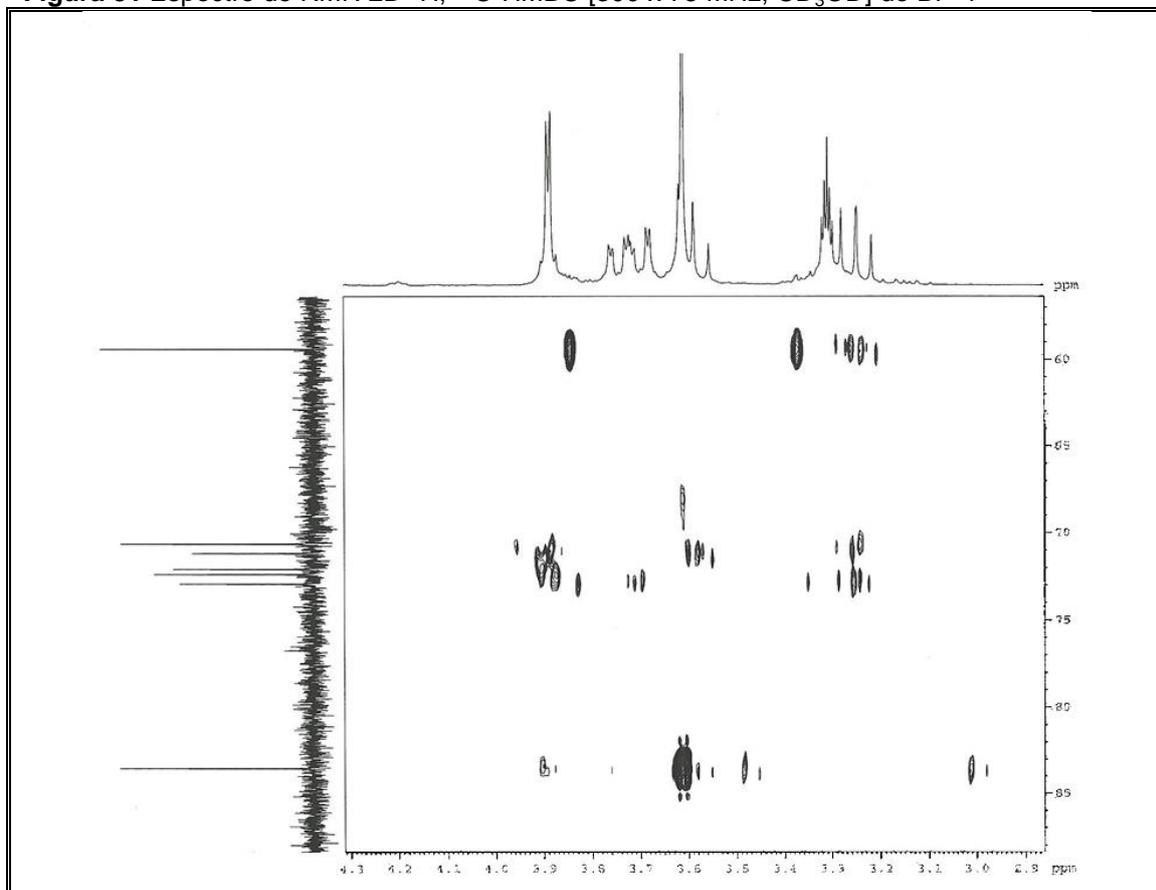


Figura 81 Espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HMBC [300 x 75 MHz, CD_3OD] de BP-4



4.4.5 Determinação estrutural de BP-5

A F 60-69 obtida da fração acetato de etila que, por sua vez, foi obtida a partir de coluna filtrante a vácuo do extrato EEBP, após ser cromatografada por CLAE, forneceu 15,5 mg de uma resina de cor laranja, com solubilidade em metanol e rotação específica $[\alpha]_D^{22} - 3,11$ (c 0,14, MeOH).

O espectro na região do infravermelho (**Fig. 85, p. 126**) revelou bandas de absorção em: 3402 cm^{-1} de grupo hidroxílico (OH), 2924 cm^{-1} de ligação C–H, 1723 cm^{-1} de carbonila de lactona e 1634 cm^{-1} de ligação C=C olefínica.

O espectro de RMN ^1H [300 MHz, CD_3OD] (**Fig. 86, p. 126**) mostrou sinais em δ_{H} 6,63 (dd, $J=10,0$ e $2,5$ Hz, H-4), 6,16 (d, $J=10,0$ Hz, H-5) e 5,89 (s, H-2) relacionados a hidrogênios ligados a carbonos olefínicos. Mostrou ainda simpletos largos em δ_{H} 5,11 (sl, H-8), 4,52 (sl, H-6) e 4,49 (sl, H-7).

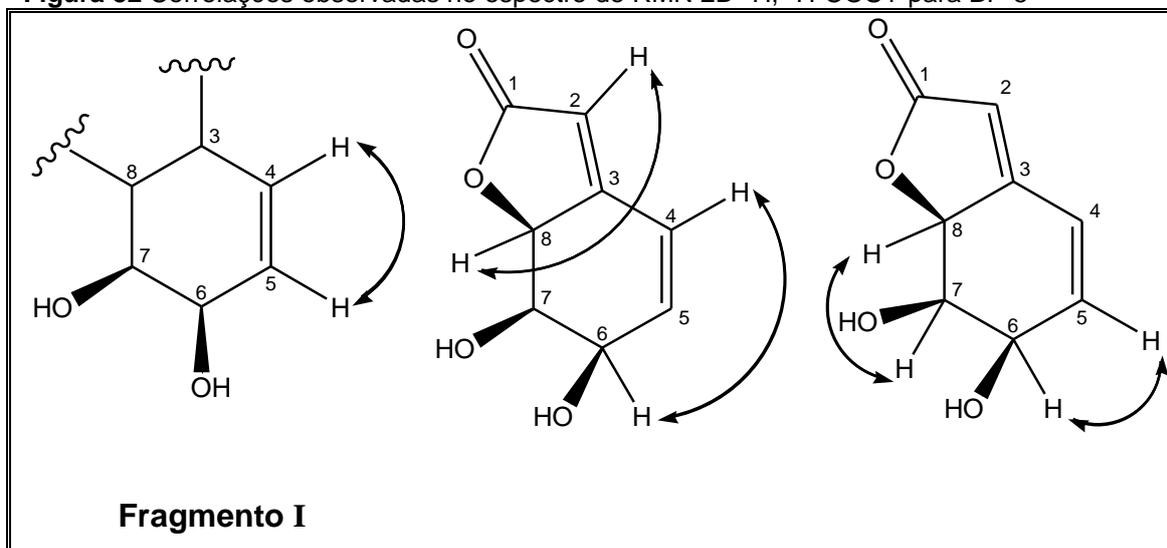
O espectro de RMN ^{13}C -CPD [75 MHz, CD_3OD] (**Fig. 87, p. 127**) exibiu oito linhas espectrais, três na região de carbonos sp^3 oxigenados (δ_{C} 83,5; 72,8 e 70,1), e cinco na região de carbonos sp^2 , sendo um de carbonila (δ_{C} 176,7). Os sinais em δ_{C} 176,7 e 83,5 sugerem a presença de um anel lactônico. Análise comparativa entre os espectros de RMN ^{13}C -CPD e DEPT 135° (**Fig. 88, p. 127**), registrou a presença de seis carbonos metínicos (CH), três sp^3 e três sp^2 e dois carbonos não hidrogenados (C) sp^2 , conforme dispostos na **Tabela 10**.

Tabela 10 Padrão de hidrogenação determinado através da comparação dos espectros de RMN ^{13}C -CPD e DEPT 135° de BP-5

C	CH	Fórmula molecular
176,73 (C=O)	143,05	
163,33	121,02	
	113,27	
	83,51 (C–O)	
	72,77 (C–OH)	
	70,08 (C–OH)	
C₂O	C₆H₈O₃	C₈H₈O₄

O espectro de RMN 2D ^1H , ^1H -COSY (Fig. 89, p. 128) mostrou acoplamento entre os átomos de hidrogênios vinílicos em δ_{H} 6,63 (dd, $J=10,0$ e 2,5 Hz, H-4) com δ_{H} 6,16 (d, $J=10,0$ Hz, H-5) (Fragmento I, Fig. 82). Foram observados também acoplamentos alílicos entre os hidrogênios em δ_{H} 6,63 (dd, $J=10,0$ e 2,5 Hz, H-4) com δ_{H} 4,52 (sl, H-6), e δ_{H} 5,89 (s, H-2) com 5,11 (sl, H-8) (Fig. 82), além de acoplamentos vicinais entre os hidrogênios em δ_{H} 6,16 (d, $J=10,0$ Hz, H-5) com δ_{H} 4,52 (sl, H-6), e δ_{H} 5,11 (sl, H-8) com δ_{H} 4,49 (sl, H-7) (Fig. 82).

Figura 82 Correlações observadas no espectro de RMN 2D ^1H , ^1H -COSY para BP-5

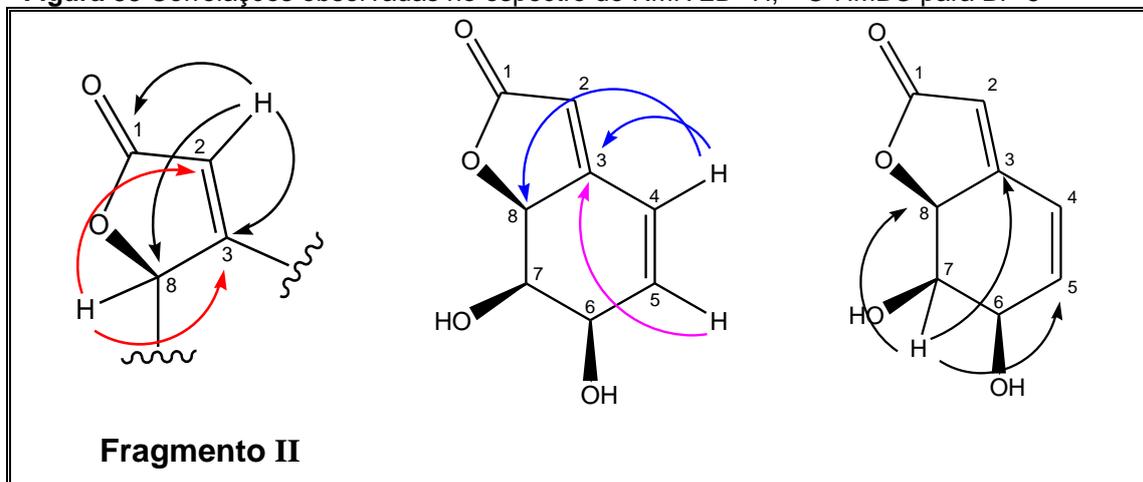


No espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HSQC (Fig. 90, p. 128) foi possível visualizar as correlações dos sinais de hidrogênios em δ_{H} 6,63; 6,16; 5,89; 5,11; 4,52; 4,49 com os sinais de carbonos em δ_{C} 121,0; 143,0; 113,3; 83,5; 70,1; 72,8, respectivamente (Tab. 11, p. 125).

O espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HMBC (Fig. 91, p. 129) confirmou a existência de uma lactona α,β -insaturada através da correlação do hidrogênio em δ_{H} 5,89 (s, H-2) com os carbonos em δ_{C} 176,7 (C-1), 163,3 (C-3) e 83,5 (C-8), e do hidrogênio em δ_{H} 5,11 (sl, H-8) com os carbonos em δ_{C} 163,3 (C-3) e 113,3 (C-2) (Fragmento II, Fig. 83, p. 123). A correlação do hidrogênio vinílico em δ_{H} 6,63 (dd, $J=10,0$ e 2,5 Hz, H-4) com os carbonos em δ_{C} 163,3 (C-3) e 83,5 (C-8), bem como do hidrogênio em δ_{H} 6,16 (d, $J=10,0$ Hz, H-5) com o carbono em δ_{C} 163,3 (C-3) sugere a presença de um cicloexeno fundido ao

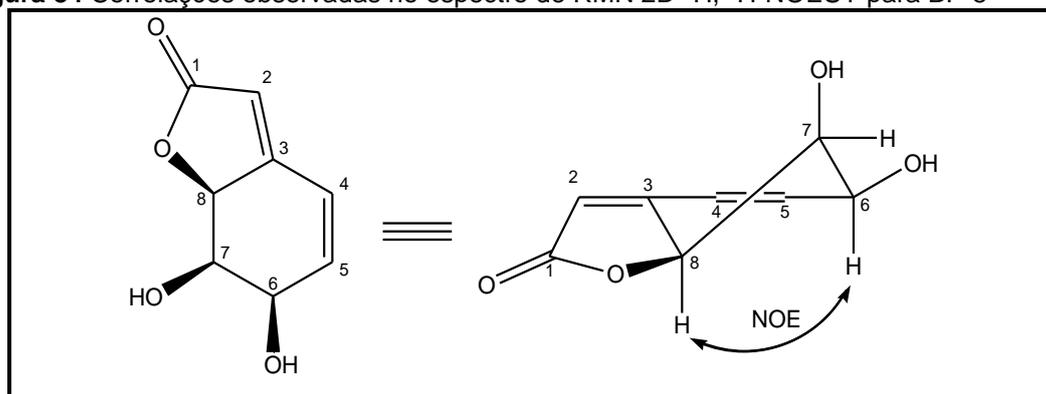
anel lactônico (**Fig. 83**). Outras correlações também foram observadas, como entre o hidrogênio carbinólico em δ_H 4,49 (sl, H-7) com os carbonos em δ_C 163,3 (C-3), 143,0 (C-5) e 83,5 (C-8) (**Fig. 83**).

Figura 83 Correlações observadas no espectro de RMN 2D 1H , ^{13}C -HMBC para BP-5



A estereoquímica relativa de BP-5 foi determinada com a ajuda do espectro de RMN 2D 1H , 1H -NOESY (**Fig. 92**, p. 129). O sinal NOE entre os átomos de hidrogênios H-6 (δ_H 4,52) e H-8 (δ_H 5,11) mostrou a proximidade espacial entre eles (**Fig. 84**). O espectro de RMN 1H não mostrou sinal com constante de acoplamento (J) compatível com interação spin-spin pseudo *axial-axial*.

Figura 84 Correlações observadas no espectro de RMN 2D 1H , 1H -NOESY para BP-5



O espectro de massas de alta resolução (modo positivo) (**Fig. 93**, p. 130) revelou o pico do íon molecular em m/z 169,0504 ($[M + H]^+$, calc 169,0501), confirmando a fórmula molecular $C_8H_8O_4$ para BP-5 e IDH=5. A

Figura 94, p. 130, mostra uma proposta mecanística que justifica os fragmentos registrados no espectro.

De acordo com a discussão exposta e comparação com dados da literatura relatados para grifonilida (WU *et al.*, 1979, **Tab. 11, p. 125**), chegou-se à conclusão que BP-5 trata-se da nova lactona (6*R*,7*R*,7*aS*)-7,7*a*-diidro-6,7-diidroxibenzofuran-2(6H)-ona (7-*epi*-grifonilida), que está sendo relatada pela primeira vez na literatura.

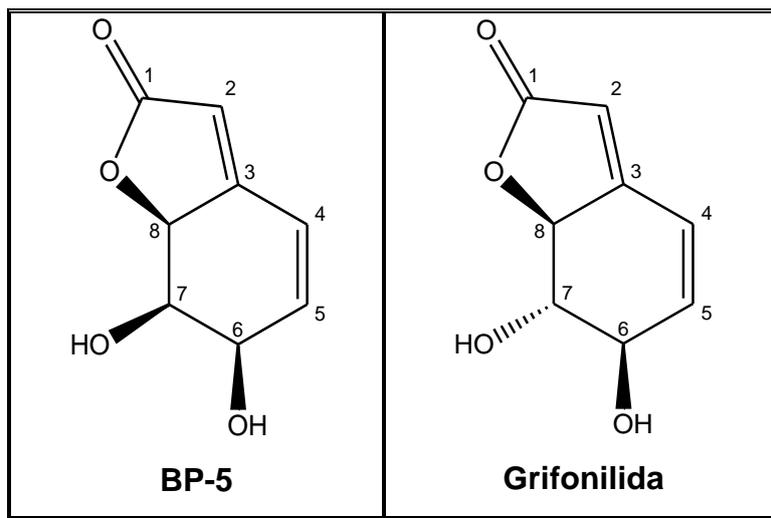


Tabela 11 Dados de RMN ^1H e ^{13}C de BP-5, incluindo correlação heteronuclear através de uma ligação (HSQC: $^1J_{\text{CH}}$) e a longa distância (HMBC: $^nJ_{\text{CH}}$, $n=2$ e 3), em CD_3OD como solvente

C	BP-5					
	HSQC		HMBC		Grifonilida (CD_3OD)	
	δ_{C}	δ_{H}	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	δ_{C}	δ_{H}
1	176,7	-	H-2		175,8	-
2	113,3	5,89 (s)		H-8	112,5	5,89 (d, ~ 2)
3	163,3	-	H-2; H-4; H-8	H-5; H-7	164,7	-
4	121,0	6,63 (dd, $J=10,0$ e $2,5$)		H-2	120,6	6,62 (dd, $9,5$; $2,5$)
5	143,0	6,16 (d, $J=10,0$)		H-7	144,2	6,27 (dd, $9,5$; $1,9$)
6	70,1	4,52 (sl)		H-4	73,6	4,33 (dt, $7,6$; $2,5$; $1,9$)
7	72,8	4,49 (sl)		H-5	80,0	3,53 (dd, $10,8$; $7,6$)
8	83,5	5,11 (sl)	H-7	H-2; H-4	85,1	4,90 (dd, $10,8$; $1,9$)

Deslocamentos químicos (δ_{C} e δ_{H}) em ppm e constante de acoplamento (J) em Hz

* (WU *et al.*, 1979)

Figura 85 Espectro na região do infravermelho de BP-5

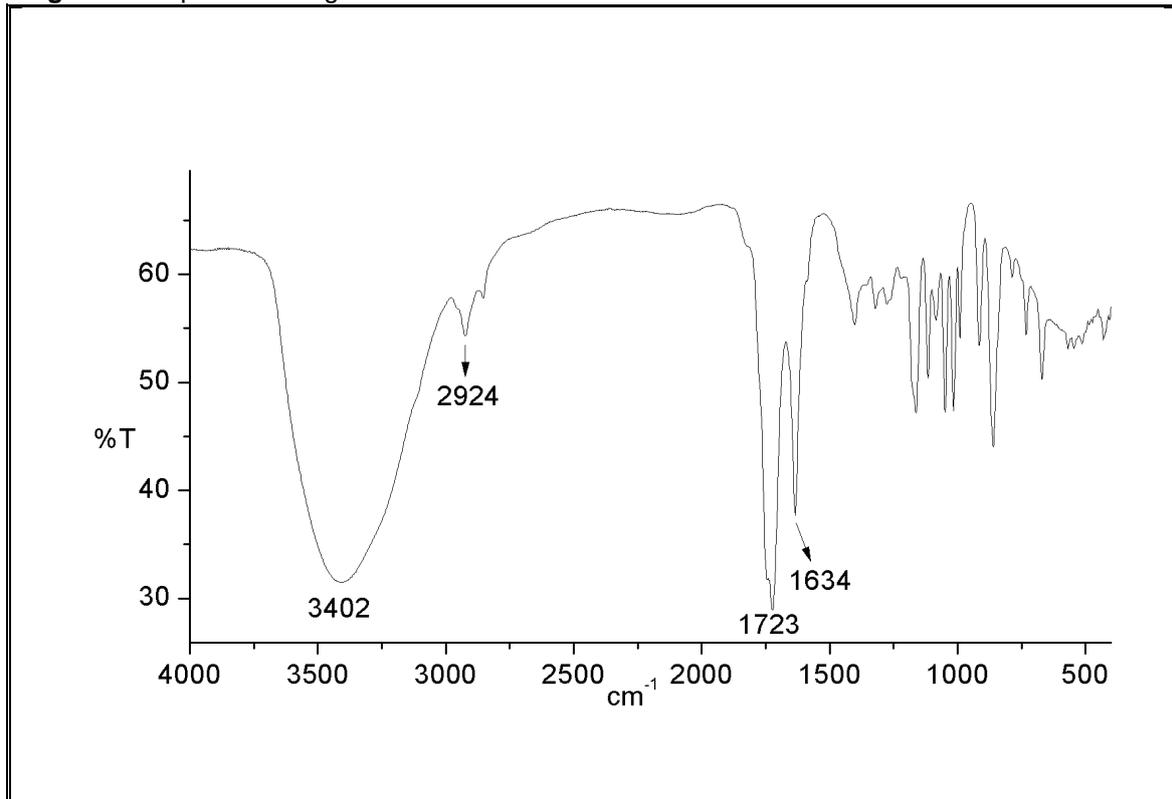


Figura 86 Espectro de RMN ¹H [300 MHz, CD₃OD] de BP-5

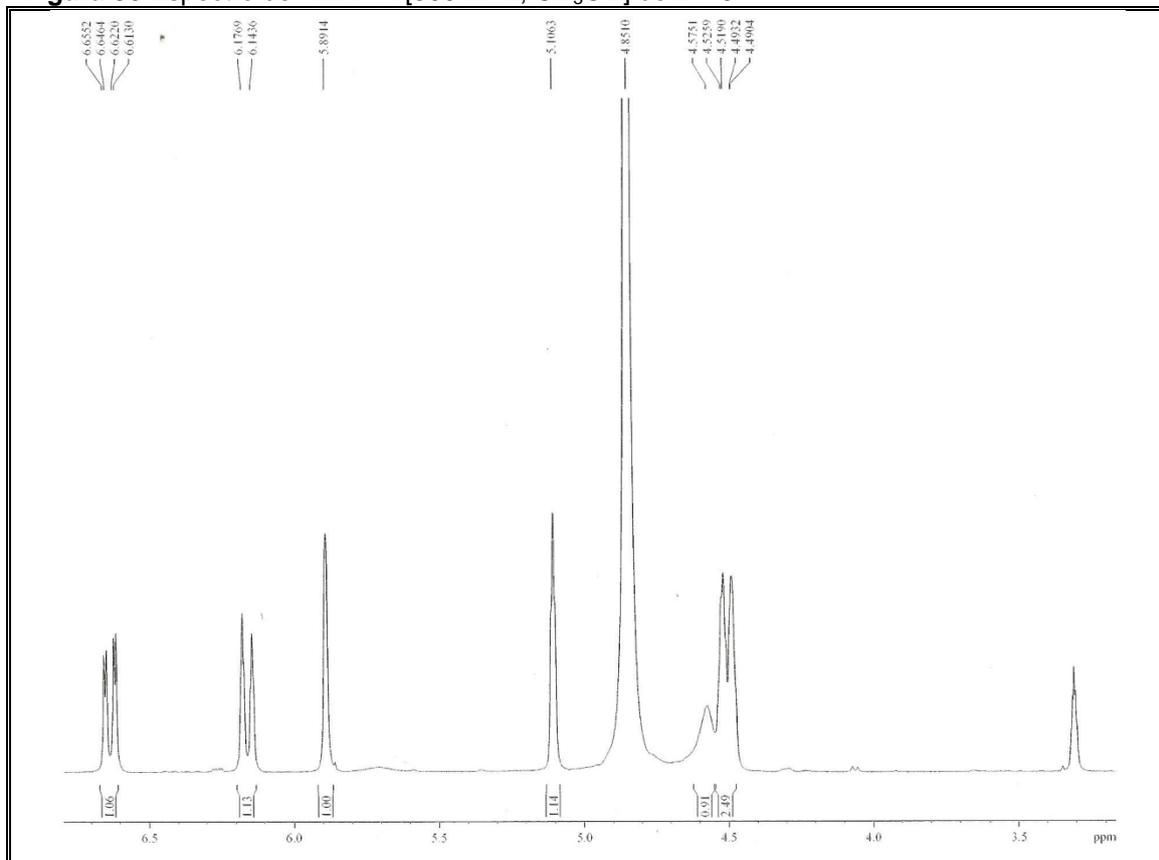


Figura 87 Espectro de RMN ^{13}C -CPD [75 MHz, CD_3OD] de BP-5

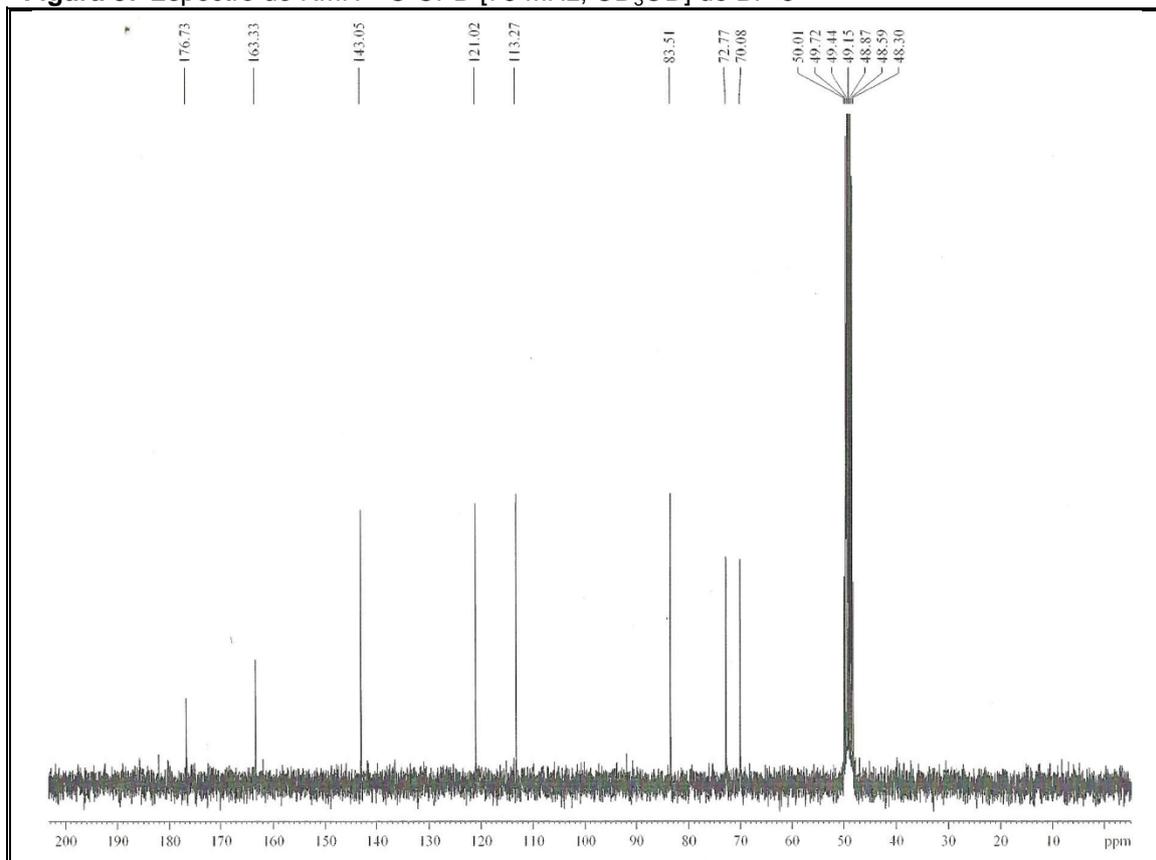


Figura 88 Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° [75 MHz, CD_3OD] de BP-5

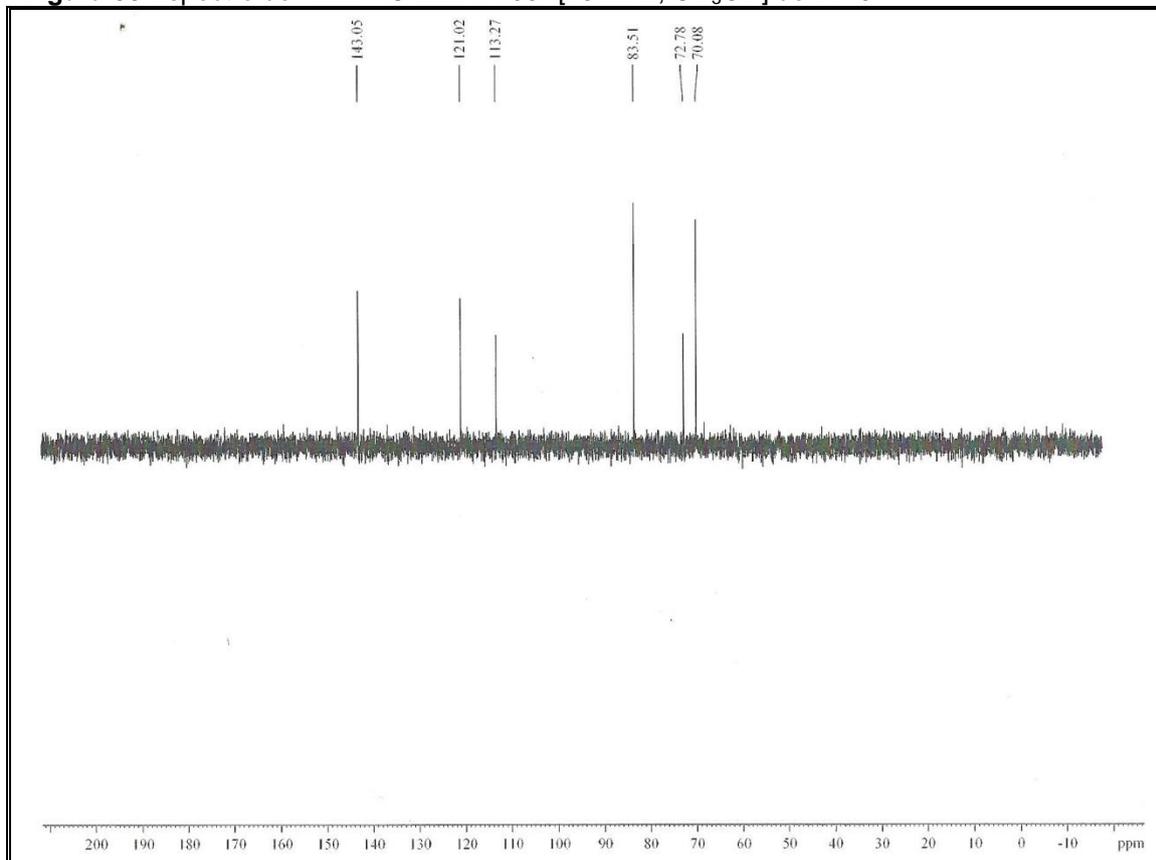


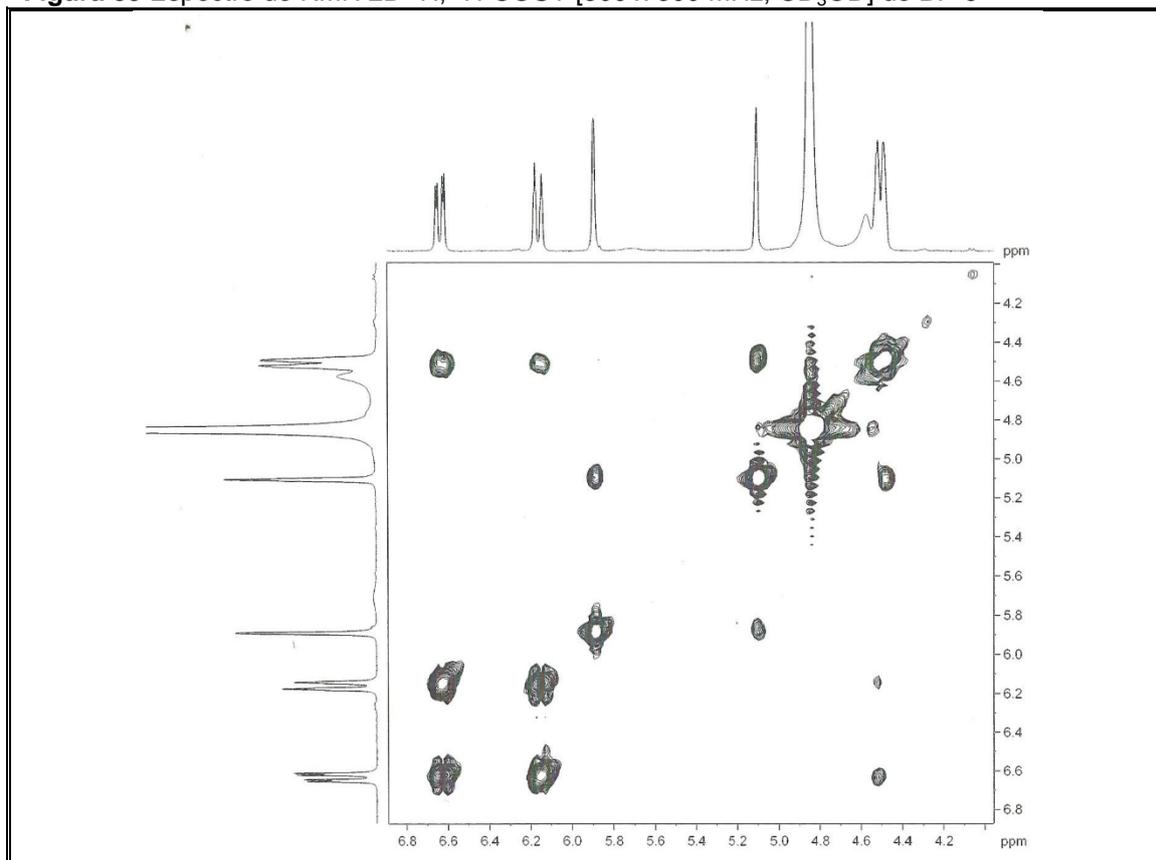
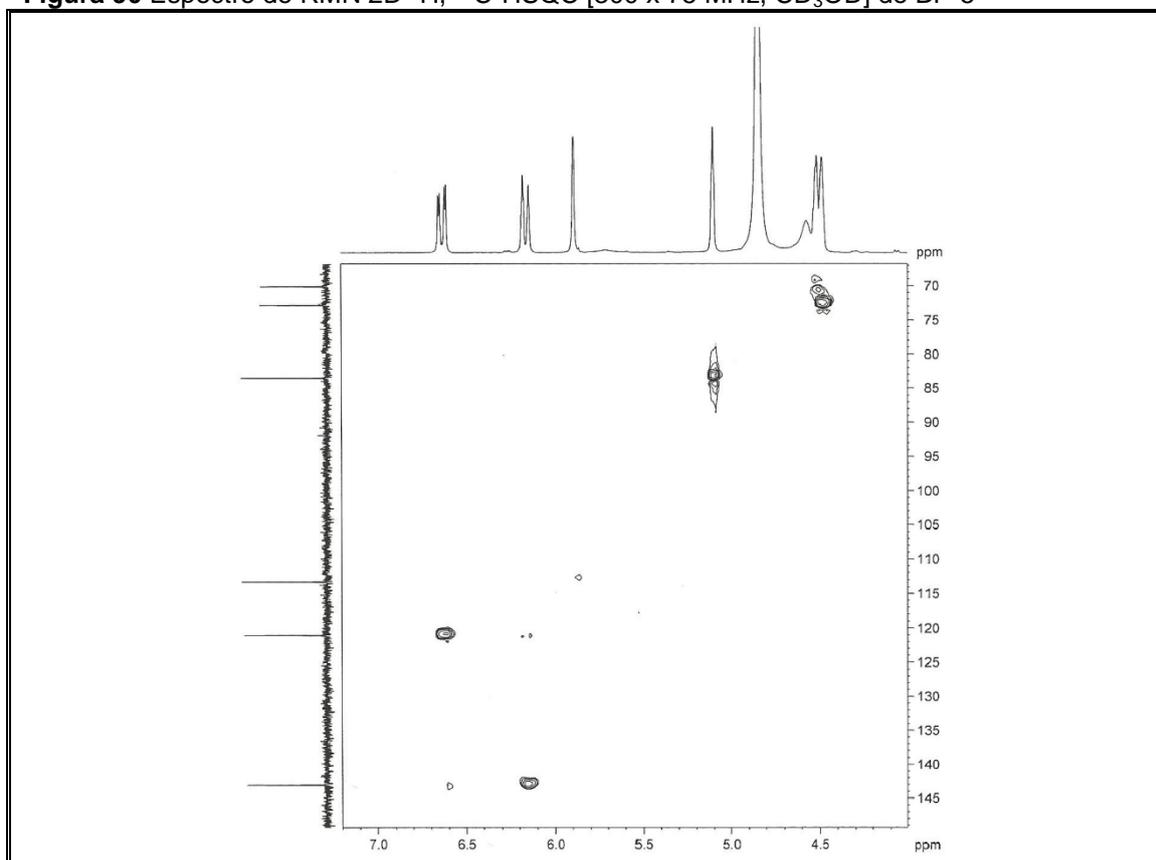
Figura 89 Espectro de RMN 2D ^1H , ^1H -COSY [300 x 300 MHz, CD_3OD] de BP-5**Figura 90** Espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HSQC [300 x 75 MHz, CD_3OD] de BP-5

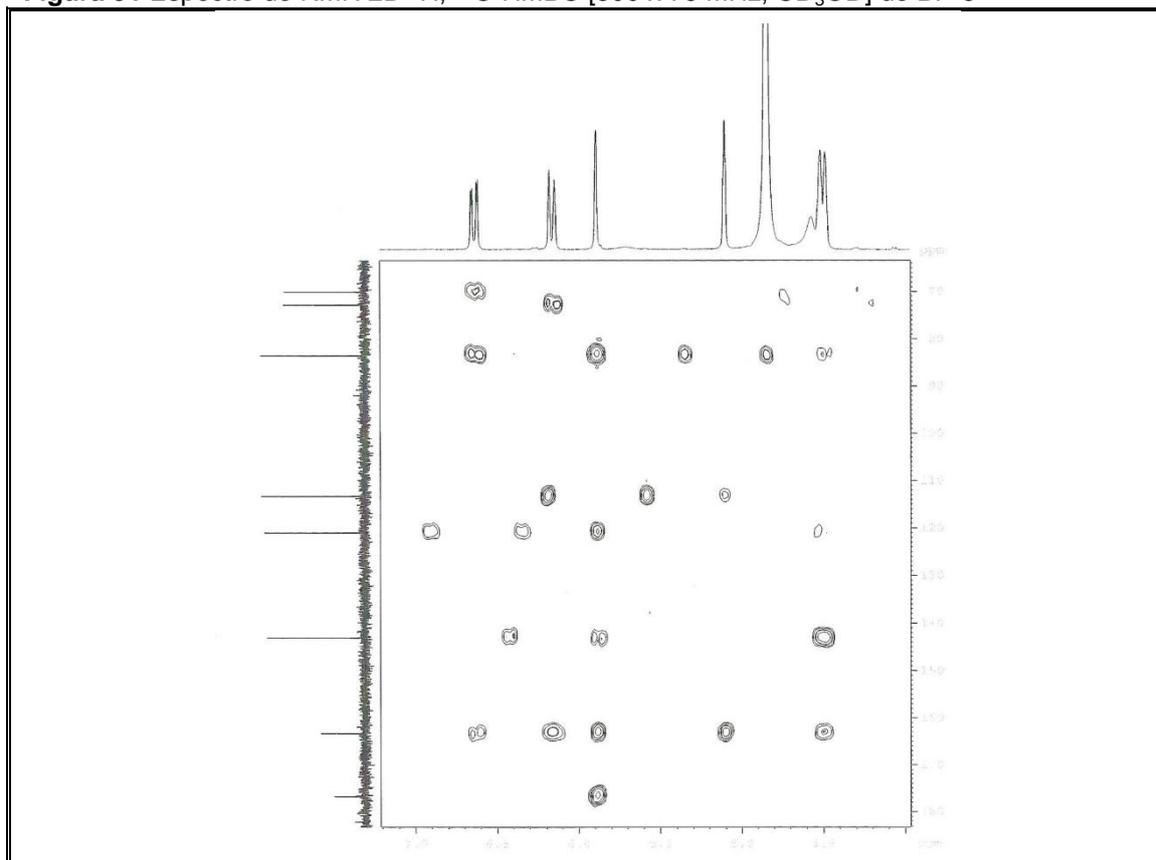
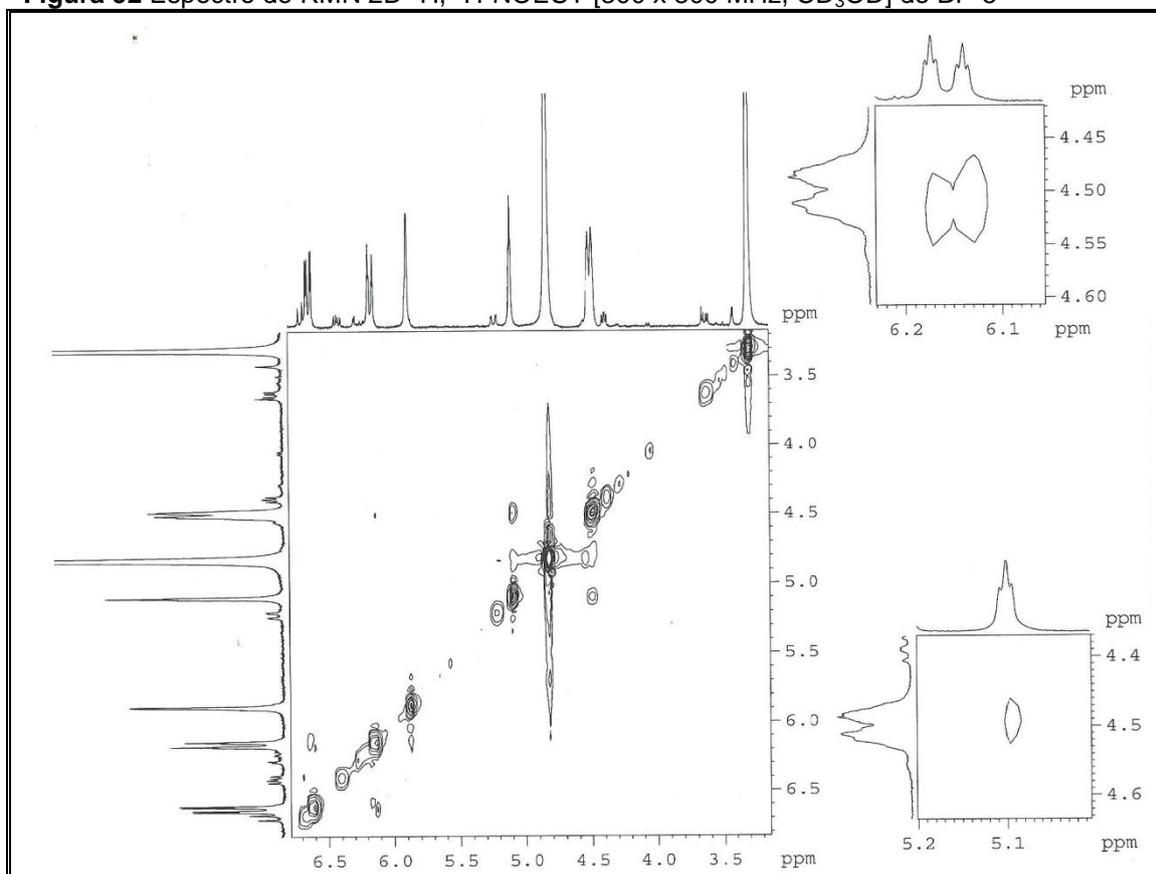
Figura 91 Espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HMBC [300 x 75 MHz, CD_3OD] de BP-5**Figura 92** Espectro de RMN 2D ^1H , ^1H -NOESY [300 x 300 MHz, CD_3OD] de BP-5

Figura 93 Espectro de massas de alta resolução (modo positivo) de BP-5

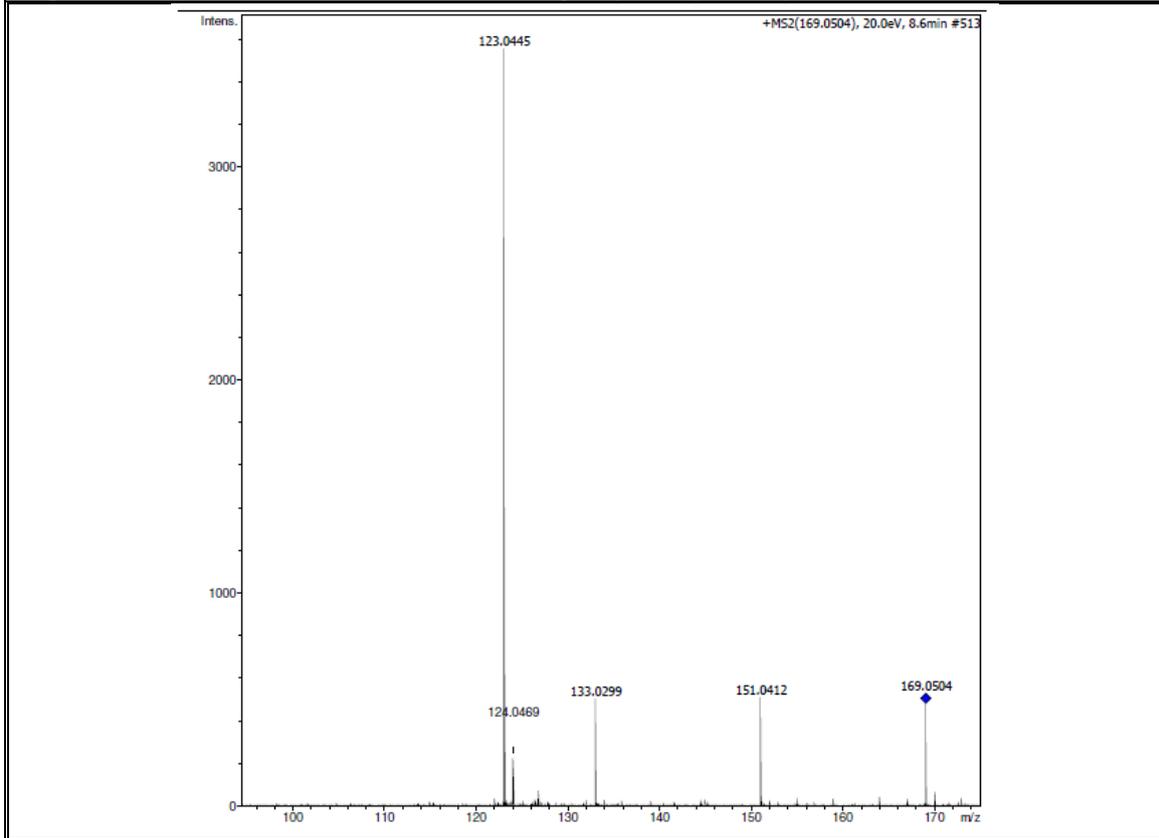
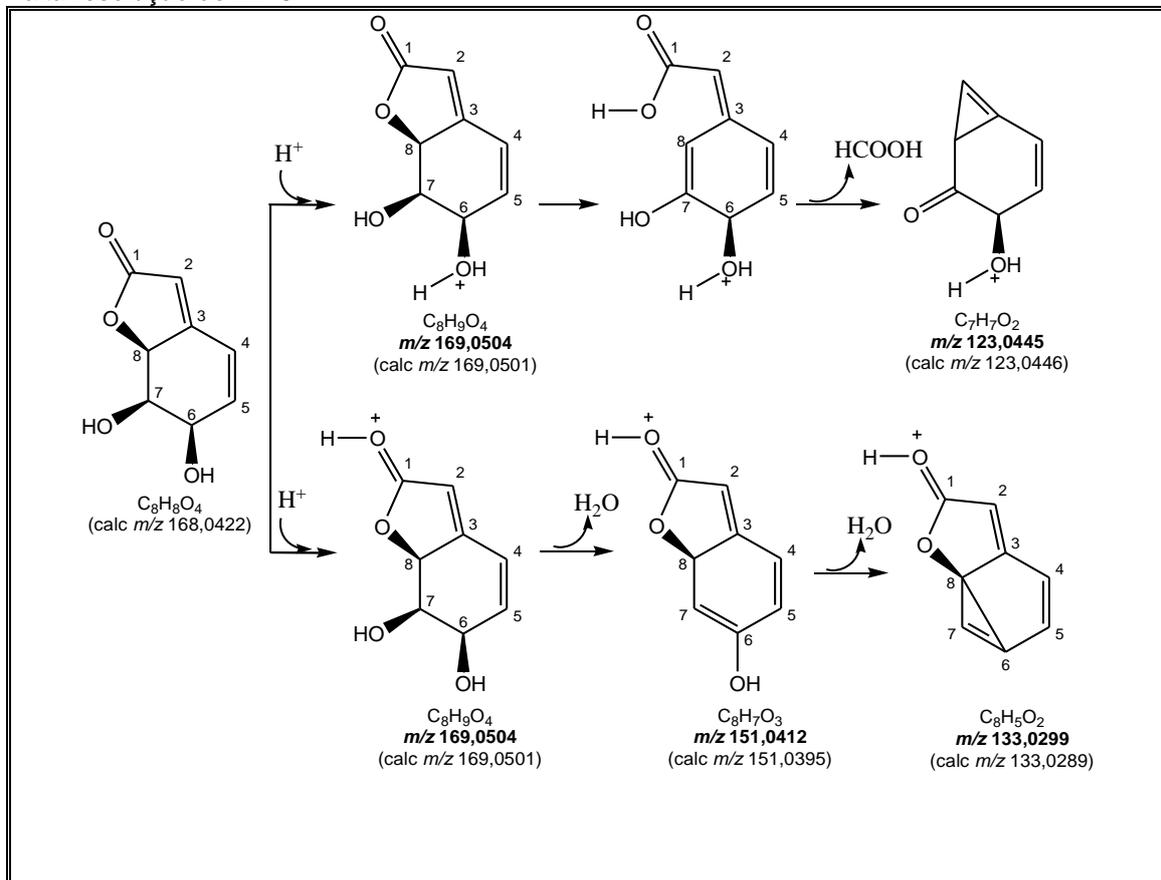


Figura 94 Proposta mecanística que justifica fragmentos registrados no espectro de massas de alta resolução de BP-5



4.4.6 Determinação estrutural de BP-6

O composto BP-6 (10,7 mg), assim como BP-5, também foi obtido a partir da F 60-69 por CLAE, apresentando-se como uma resina de cor laranja, com solubilidade em metanol e rotação específica $[\alpha]_D^{22} + 129,31$ (*c* 0,1, MeOH).

O espectro na região do infravermelho de BP-6 apresentou-se muito semelhante ao de BP-5 (**Fig. 98, p. 136**), revelando bandas de absorção em: 3398 cm^{-1} de função hidroxila (OH), 2918 cm^{-1} de ligação C–H, 1740 cm^{-1} de carbonila de lactona e 1638 cm^{-1} de ligação C=C olefínica.

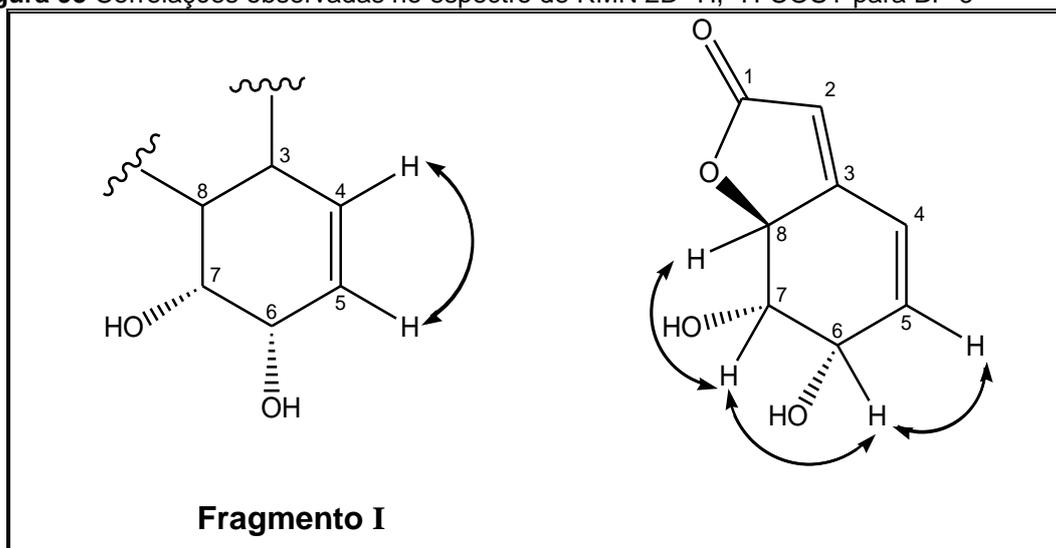
O espectro de RMN ^1H [300 MHz, CD_3OD] (**Fig. 99, p. 136**) exibiu sinais relacionados a hidrogênios ligados a carbonos olefínicos com absorções em δ_{H} 6,70 (d, $J=9,6$ Hz, H-4), 6,42 (dd, $J=9,6$ e 5,5 Hz, H-5) e 5,90 (d, $J=1,8$ Hz, H-2), além de duplo dupletos em δ_{H} 5,23 (dd, $J=10,4$ e 1,7 Hz, H-8), 4,40 (dd, $J=5,3$ e 4,4 Hz, H-6) e 3,64 (dd, $J=10,4$ e 4,2 Hz, H-7). Estes sinais, quando comparados com os de BP-5, apresentaram deslocamentos químicos similares, com mudanças nas multiplicidades e nas constantes de acoplamentos. Isto sugere que BP-6 seja um diastereoisômero de BP 5, sendo que os valores de acoplamentos de spins de prótons podem ser usados para designar a estereoquímica.

O espectro de RMN ^{13}C -CPD [75 MHz, CD_3OD] (**Fig. 100, p. 137**) mostrou-se equivalente ao espectro da substância BP-5, apresentando um total de oito linhas espectrais, três na região de carbonos sp^3 oxigenados (δ_{C} 83,5; 74,5 e 68,7), e cinco na região de carbonos sp^2 , sendo um de carbonila (δ_{C} 176,7). As maiores mudanças foram observadas nos deslocamentos químicos de C-4 (δ_{C} 123,4), C-5 (δ_{C} 139,8), C-6 (δ_{C} 68,7) e C-7 (δ_{C} 74,5). A comparação entre os espectros de RMN ^{13}C -CPD e DEPT 135° (**Fig. 101, p. 137**) registrou a presença de seis carbonos metínicos (CH) e dois carbonos não hidrogenados (C), conforme dispostos na **Tabela 12, p. 132**.

Tabela 12 Padrão de hidrogenação determinado através da comparação dos espectros de RMN ^{13}C -CPD e DEPT 135° de BP-6

C	CH	Fórmula molecular
176,73 (C=O)	139,79	
164,52	123,40	
	113,41	
	83,49 (C–O)	
	74,51 (C–OH)	
	68,75 (C–OH)	
C₂O	C₆H₈O₃	C₈H₈O₄

O espectro de RMN 2D ^1H , ^1H -COSY (**Fig. 102**, p. 138) mostrou acoplamento entre os átomos de hidrogênios vinílicos em δ_{H} 6,70 (d, $J=9,6$ Hz, H-4) com δ_{H} 6,42 (dd, $J=9,6$ e 5,5 Hz, H-5) (**Fragmento I**, **Fig. 95**). Foram observados também acoplamentos vicinais entre os hidrogênios em δ_{H} 6,42 (dd, $J=9,6$ e 5,5 Hz, H-5) com δ_{H} 4,40 (dd, $J=5,3$ e 4,4 Hz, H-6), δ_{H} 4,40 (dd, $J=5,3$ e 4,4 Hz, H-6) com δ_{H} 3,64 (dd, $J=10,4$ e 4,2 Hz, H-7), e δ_{H} 3,64 (dd, $J=10,4$ e 4,2 Hz, H-7) com δ_{H} 5,23 (dd, $J=10,4$ e 1,7 Hz, H-8) (**Fig. 95**).

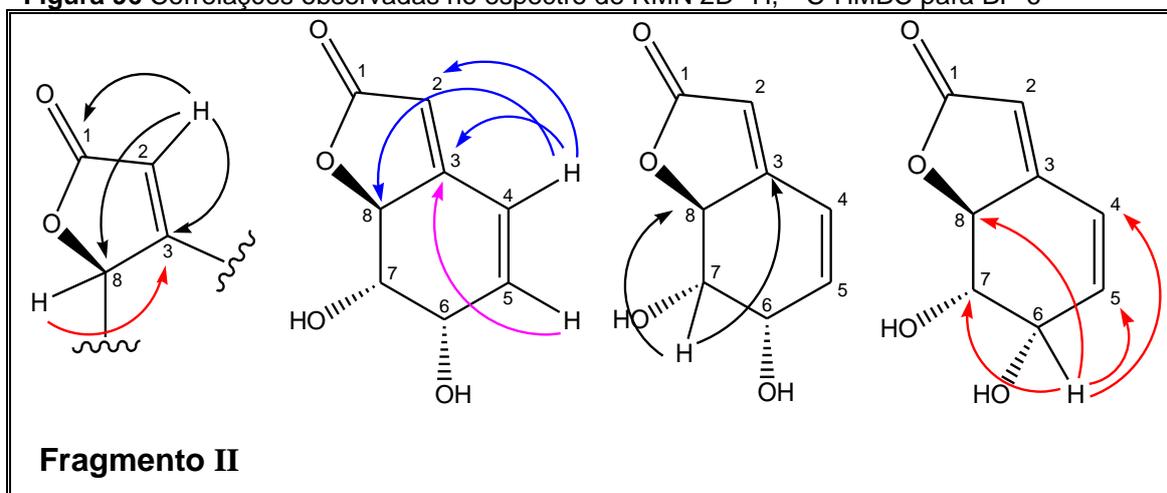
Figura 95 Correlações observadas no espectro de RMN 2D ^1H , ^1H -COSY para BP-6

No espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HSQC (**Fig. 103**, p. 138) foram observadas as correlações dos sinais de hidrogênios em δ_{H} 6,70; 6,42; 5,90;

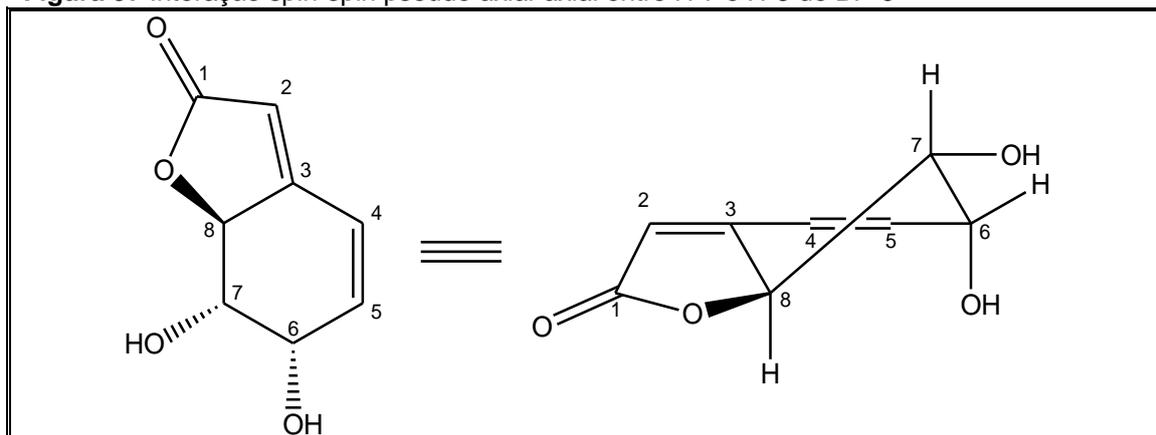
5,23; 4,40; 3,64 com os sinais de carbonos em δ_C 123,4; 139,8; 113,4; 83,5; 68,7; 74,5, respectivamente (**Tab. 13, p. 135**).

O espectro de RMN 2D 1H , ^{13}C -HMBC (**Fig. 104, p. 139**) confirmou a existência da lactona α,β -insaturada através da correlação do hidrogênio em δ_H 5,90 (s, H-2) com os carbonos em δ_C 176,7 (C-1), 164,5 (C-3) e 83,5 (C-8), e do hidrogênio em δ_H 5,23 (dd, $J=10,4$ e $1,7$, H-8) com o carbono em δ_C 164,5 (C-3) (**Fragmento II, Fig. 96**). Confirmou-se também a presença do cicloexeno fundido ao anel lactônico através da correlação do hidrogênio vinílico em δ_H 6,70 (d, $J=9,6$, H-4) com os carbonos em δ_C 164,5 (C-3), 83,5 (C-8) e 113,4 (C-2), bem como do hidrogênio em δ_H 6,42 (dd, $J=9,6$ e $5,5$, H-5) com o carbono em δ_C 164,5 (C-3) (**Fig. 96**). Além destas, outras correlações foram observadas, como entre os hidrogênios carbinólicos em: δ_H 3,64 (dd, $J=10,4$ e $4,2$, H-7) com os carbonos em δ_C 164,5 (C-3) e 83,5 (C-8) (**Fig. 96**); e δ_H 4,40 (dd, $J=5,3$ e $4,4$, H-6) com δ_C 139,8 (C-5), 123,4 (C-4), 83,5 (C-8) e 74,5 (C-7) (**Fig. 96**).

Figura 96 Correlações observadas no espectro de RMN 2D 1H , ^{13}C -HMBC para BP-6



Contrariamente a BP-5, no espectro de RMN 2D 1H , 1H -NOESY de BP-6 (**Fig. 105, p. 139**) não foi observado sinal NOE entre os hidrogênios H-6 (δ_H 4,40) e H-8 (δ_H 5,23). A interação spin-spin pseudo *axial-axial* entre H-7 (δ_H 3,64) e H-8 (δ_H 5,23) foi deduzida pela constante de acoplamento $J=10,4$ Hz envolvendo estes dois átomos de hidrogênios (**Fig. 97, p. 134**).

Figura 97 Interação spin-spin pseudo *axial-axial* entre H-7 e H-8 de BP-6

O pico do íon molecular em m/z 169,0504 ($[M + H]^+$, calc 169,0501), bem como o aduto de sódio em m/z 191,0320 ($[M + Na]^+$, calc 191,0320) revelados pelo espectro de massas de alta resolução (modo positivo) (**Fig. 106, p. 140**), confirmaram a fórmula molecular $C_8H_8O_4$ para BP-6 e IDH=5. A **Figura 107, p. 140**, mostra uma proposta mecanística que justifica os fragmentos registrados no espectro.

Baseando-se nas informações espectrais obtidas e nos dados da literatura (WU *et al.*, 1979, **Tab. 13, p. 135**) concluiu-se que BP-6 trata-se da lactona (6*S*,7*S*,7*aS*)-7,7*a*-diidro-6,7-diidrobenzofuran-2(6*H*)-ona (dasicarponilida), que está sendo registrada pela primeira vez no gênero *Bauhinia*.

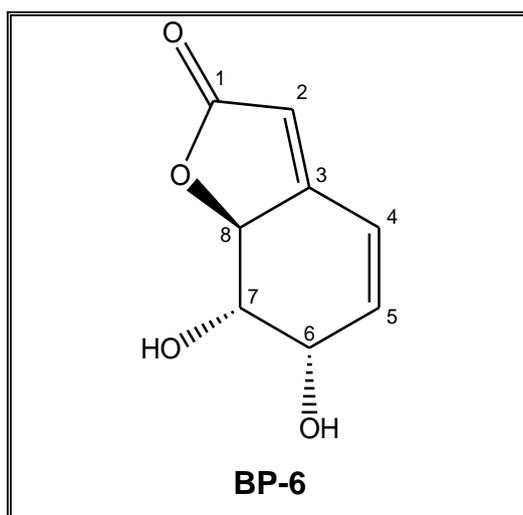


Tabela 13 Dados de RMN ^1H e ^{13}C de BP-6, incluindo correlação heteronuclear através de uma ligação (HSQC: $^1J_{\text{CH}}$) e a longa distância (HMBC: $^nJ_{\text{CH}}$, $n=2$ e 3), em CD_3OD como solvente

C	BP-6					
	HSQC		HMBC		Lit.* (CD_3OD)	
	δ_{C}	δ_{H}	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	δ_{C}	δ_{H}
1	176,7	-	H-2		175,8	-
2	113,4	5,90 (d, $J=1,8$)		H-4	113,3	5,90 (d, $J=1,9$)
3	164,5	-	H-2; H-4; H-8	H-5; H-7	164,3	-
4	123,4	6,70 (d, $J=9,6$)	H-5	H-6; H-2	123,3	6,69 (d, $J=9,5$)
5	139,8	6,42 (dd, $J=9,6$ e $5,5$)	H-4; H-6		139,7	6,41 (dd, $J=9,5$ e $5,4$)
6	68,7	4,40 (dd, $J=5,3$ e $4,4$)	H-5	H-4	68,7	4,39 (dd, $J=5,4$ e $4,1$)
7	74,5	3,64 (dd, $J=10,4$ e $4,2$)	H-8; H-6	H-5	74,4	3,63 (dd, $J=10,5$ e $4,1$)
8	83,5	5,23 (dd, $J=10,4$ e $1,7$)	H-7	H-6; H-2; H-4	83,4	5,22 (dd, $J=10,5$ e $1,9$)

Deslocamentos químicos (δ_{C} e δ_{H}) em ppm e constante de acoplamento (J) em Hz

* (WU *et al.*, 1979)

Figura 98 Espectro na região do infravermelho de BP-6

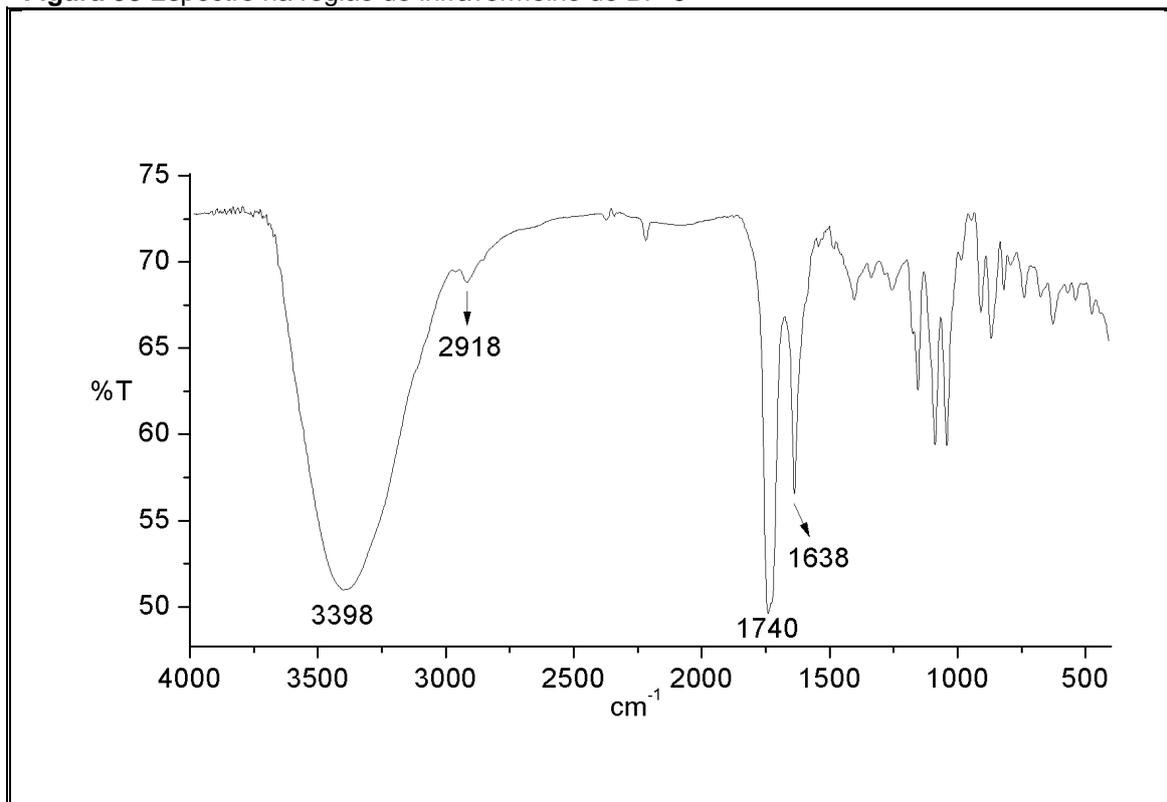


Figura 99 Espectro de RMN ¹H [300 MHz, CD₃OD] de BP-6

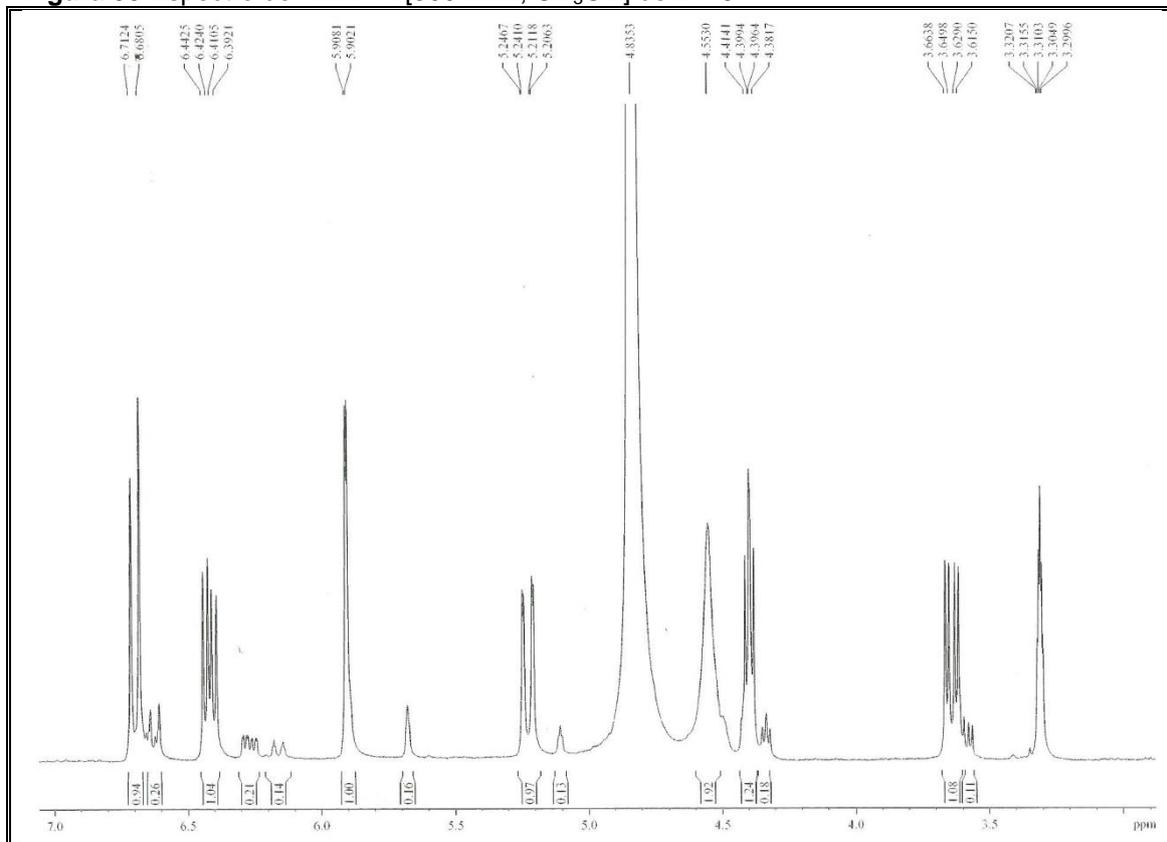


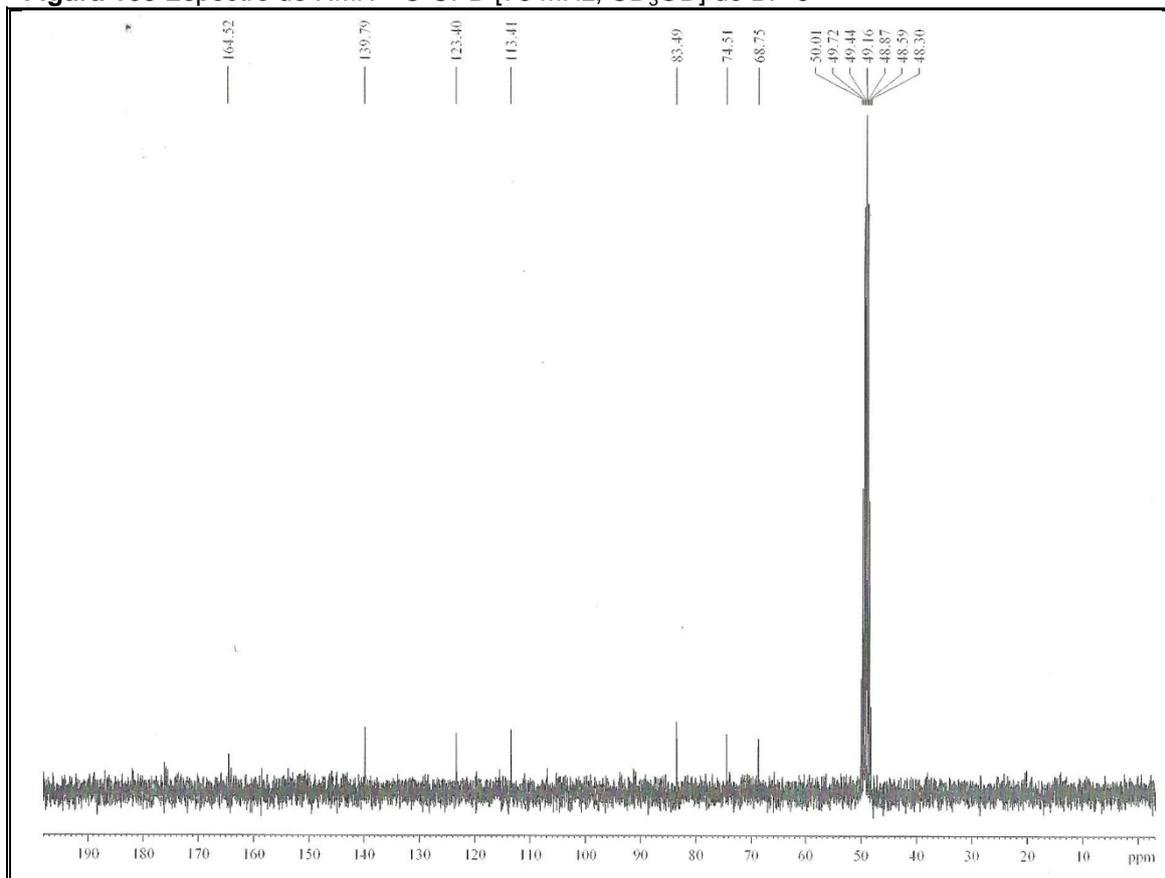
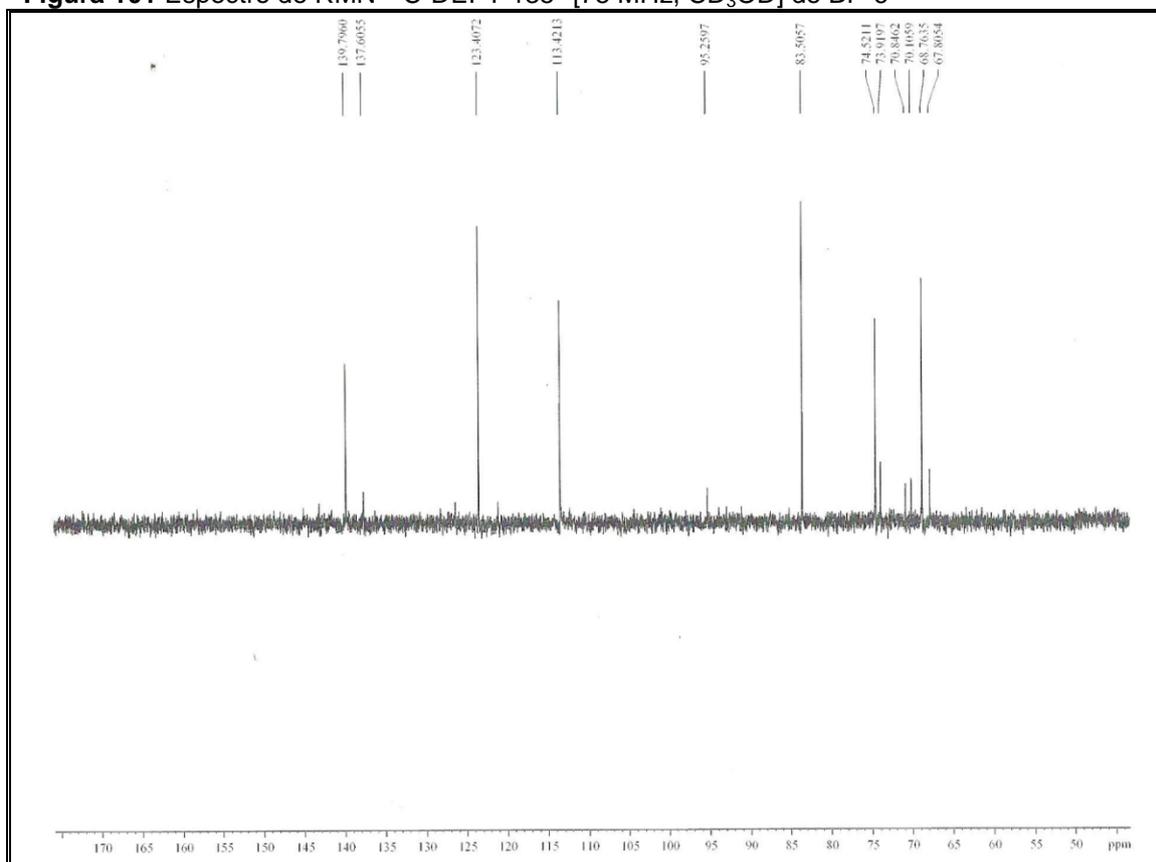
Figura 100 Espectro de RMN ^{13}C -CPD [75 MHz, CD_3OD] de BP-6**Figura 101** Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° [75 MHz, CD_3OD] de BP-6

Figura 102 Espectro de RMN 2D ^1H , ^1H -COSY [300 x 300 MHz, CD_3OD] de BP-6

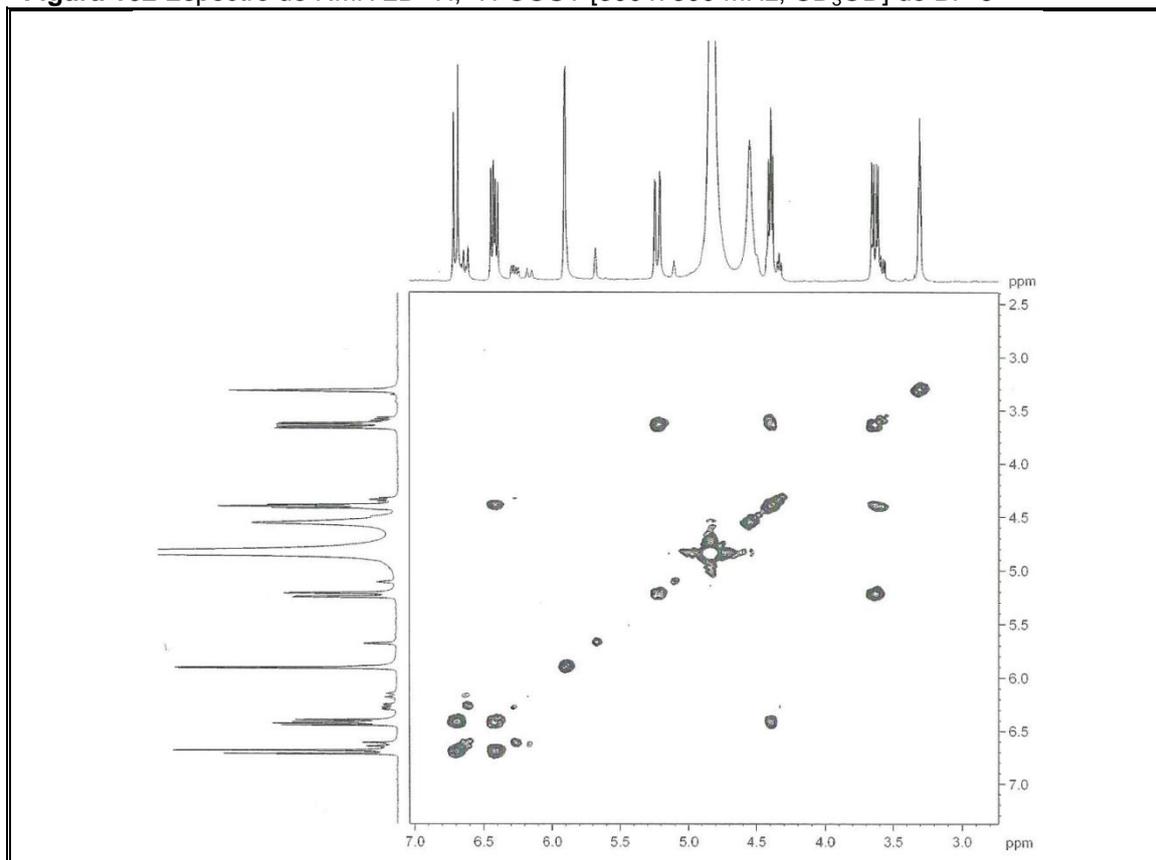


Figura 103 Espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HSQC [300 x 75 MHz, CD_3OD] de BP-6

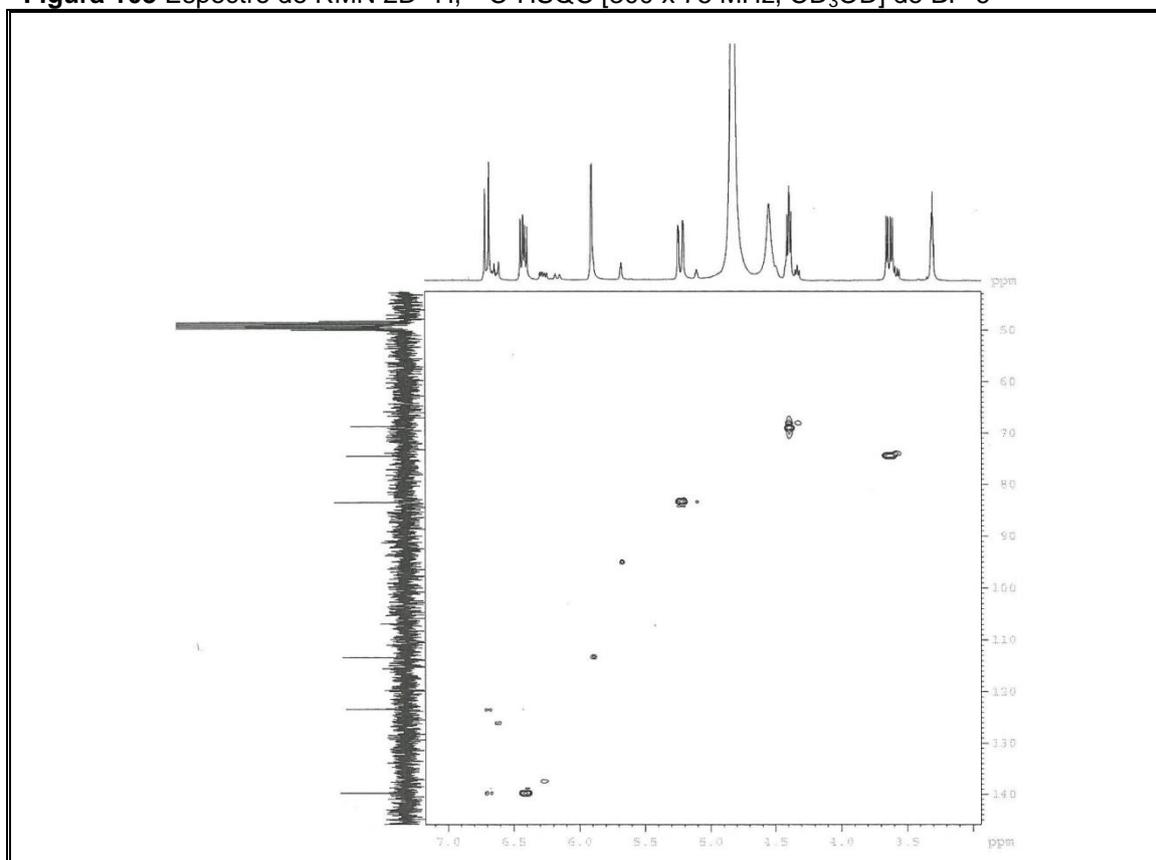


Figura 104 Espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HMBC [300 x 75 MHz, CD_3OD] de BP-6

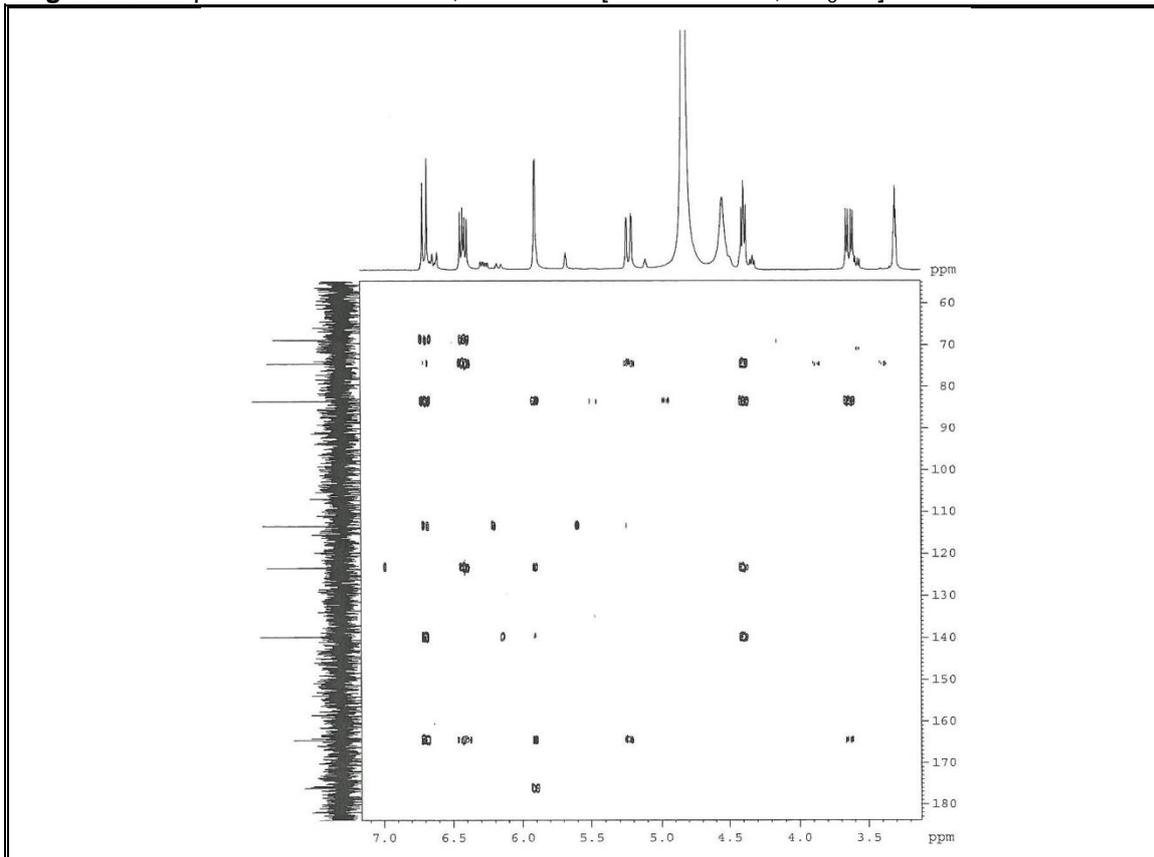


Figura 105 Espectro de RMN 2D ^1H , ^1H -NOESY [300 x 300 MHz, CD_3OD] de BP-6

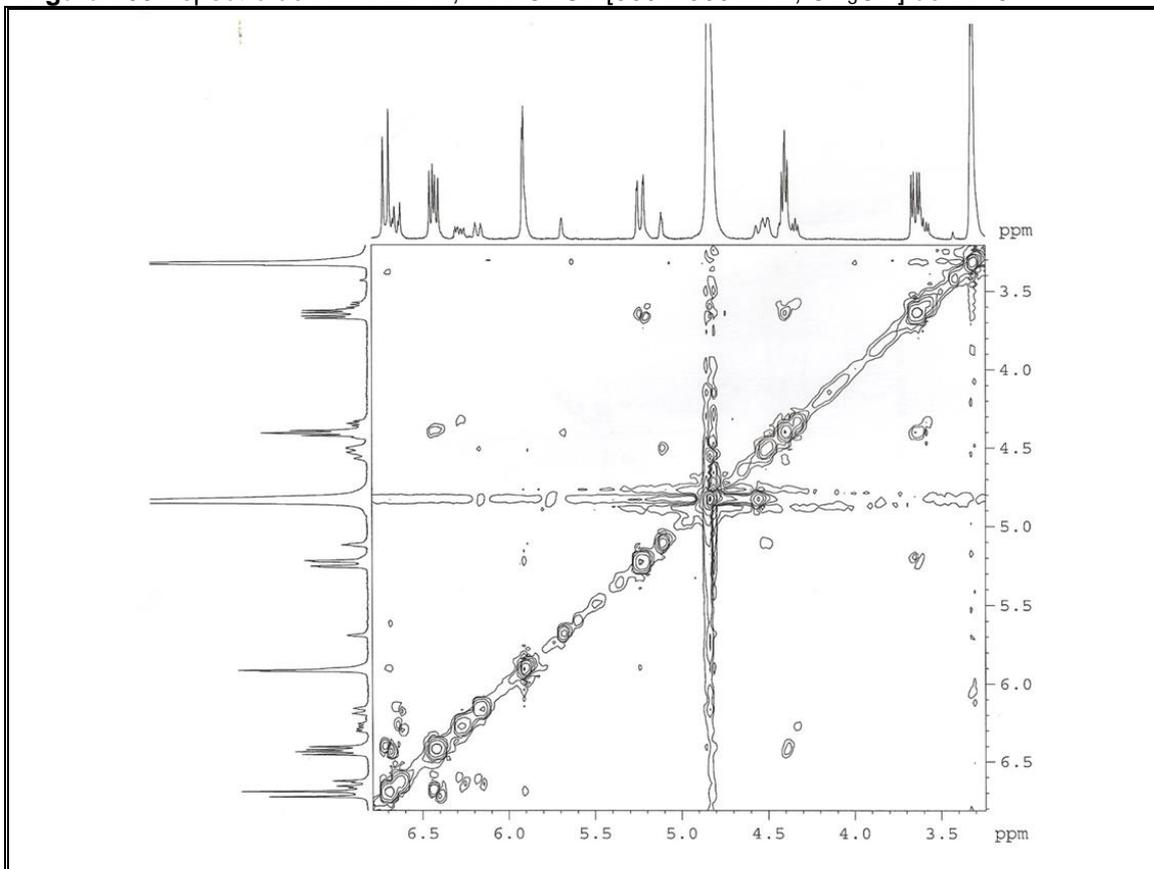


Figura 106 Espectro de massas de alta resolução (modo positivo) de BP-6

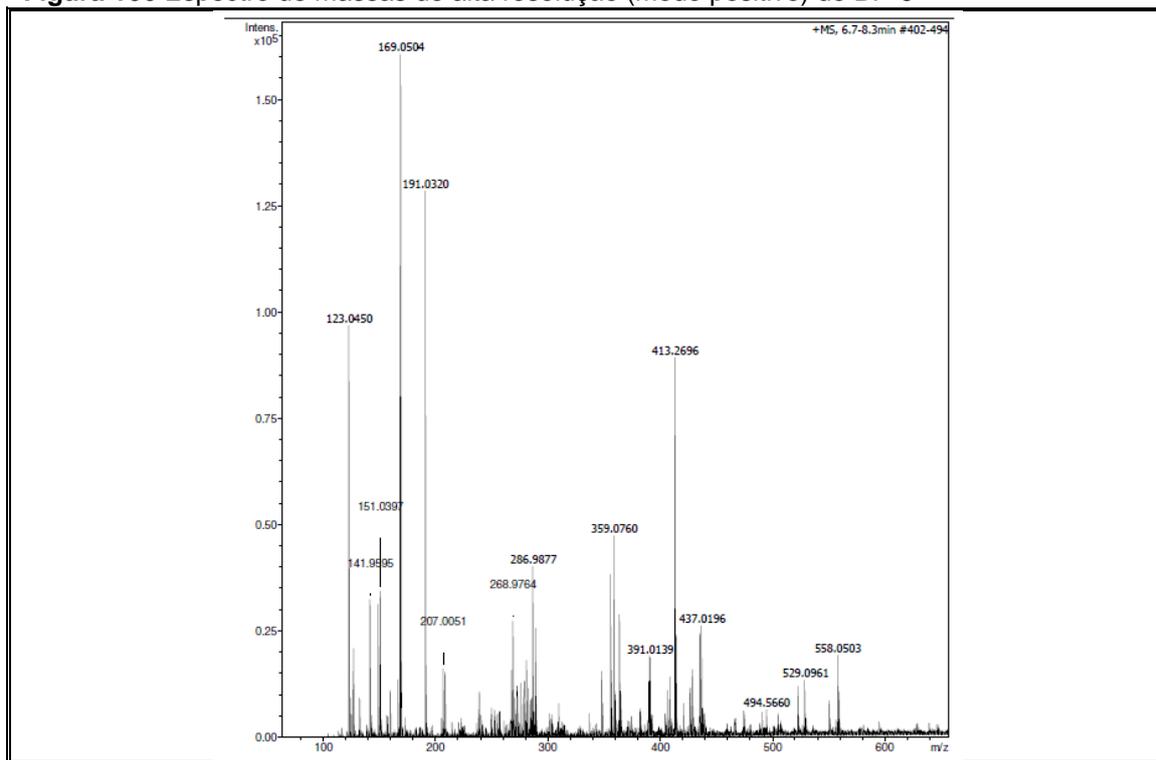
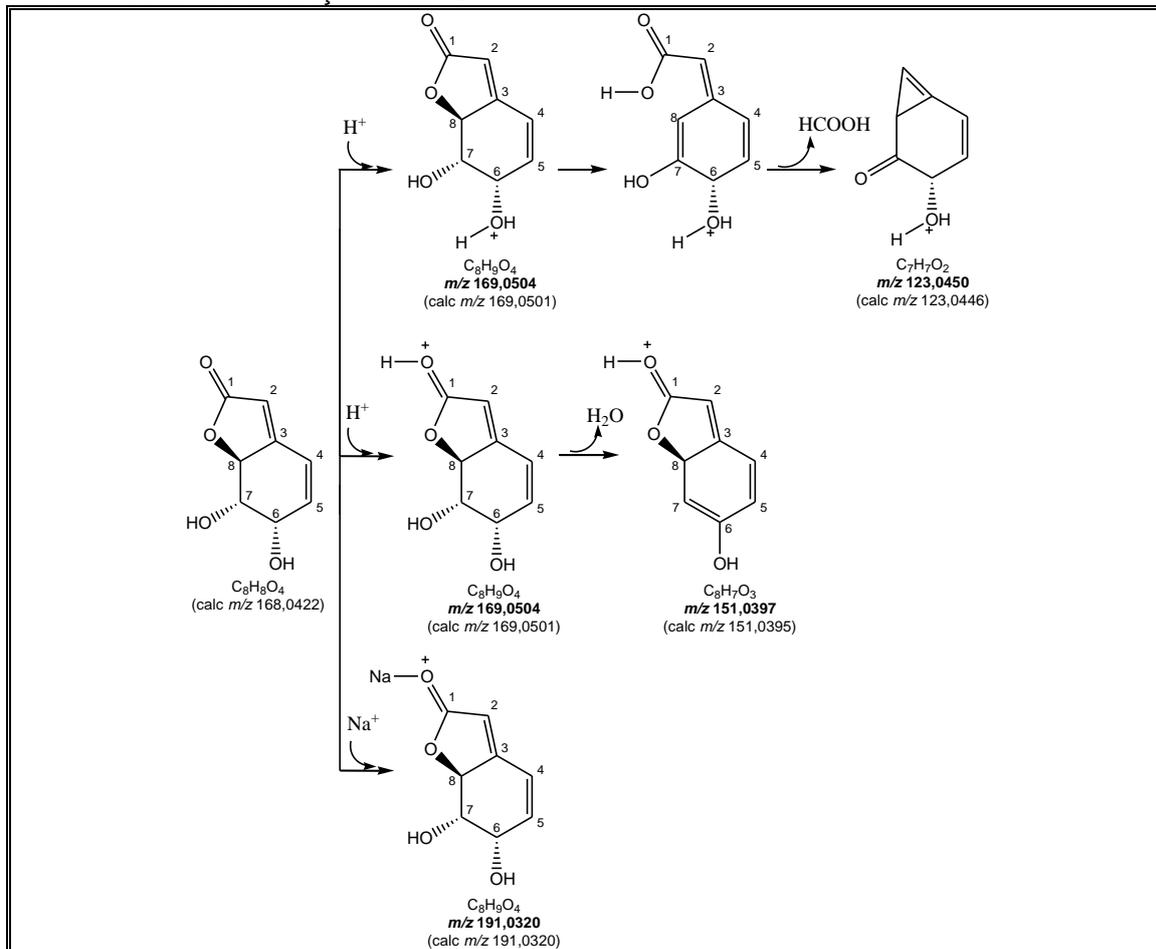


Figura 107 Proposta mecanística que justifica os principais fragmentos registrados no espectro de massas de alta resolução de BP-6



4.4.7 Determinação estrutural de BP-7

A F 80-92 proveniente da fração acetato de etila que, por sua vez, foi obtida a partir da partição líquido-líquido do extrato EEBP, após fracionamento cromatográfico por CLAE, proporcionou o isolamento de 5,3 mg de uma resina de coloração marrom, com solubilidade em metanol.

O espectro na região do infravermelho (**Fig. 111, p. 146**) revelou bandas de absorção em: 3441 cm^{-1} de grupo hidroxila, 2922 cm^{-1} de ligação C–H, 1737 cm^{-1} sugestivo de carbonila lactônica, 1368 cm^{-1} de deformação angular de ligação O–H e 1230 cm^{-1} de ligação C–O.

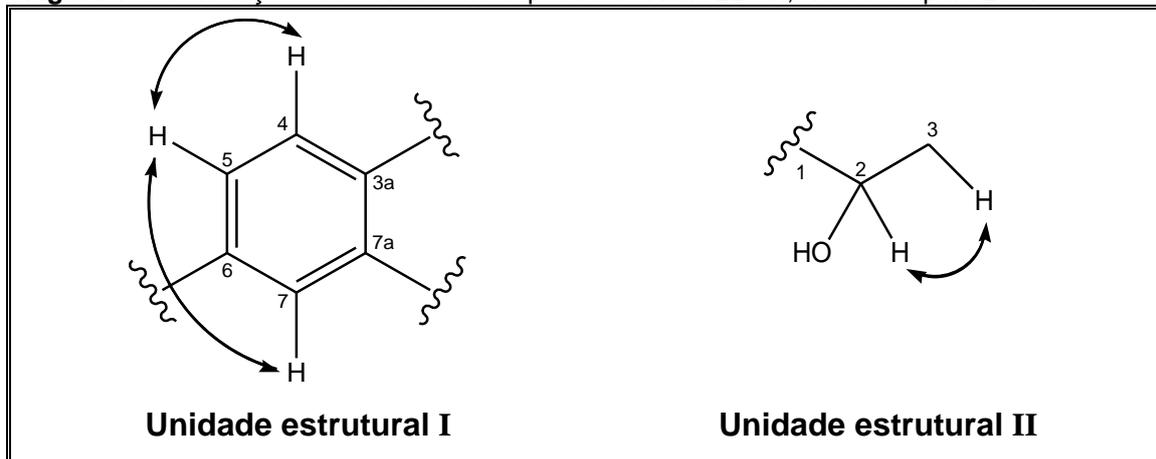
O espectro de RMN ^1H [500 MHz, CD_3OD] (**Fig. 112, 113 e 114, p. 146 e 147**) exibiu sinais em δ_{H} 6,86 (d, $J=8,1$ Hz, H-5'/H4), 6,82 (sl, H-2'), 6,74 (dd, $J=8,1$, H-6'), δ_{H} 6,29 (d, $J=2,2$ Hz, H-7) e 6,23 (dd, $J=8,1$ e 2,2, Hz, H-5), compatíveis com a presença de dois sistemas aromáticos 1,2,4-trissubstituídos. Observou-se ainda um multiplete em δ_{H} 3,93 (H-2) referente a hidrogênio oximetínico; dois simpletos característicos de grupos metoxílicos em δ_{H} 3,82 (s, MeO-3') e 3,80 (s, MeO-4'); um simpleto em δ_{H} 3,42 (s, 2H-3) de hidrogênios metilênicos; dois duplo dupletos em δ_{H} 2,72 (dd, $J=13,4$ e 6,6, H-1a) e 2,59 (dd, $J=13,4$ e 6,3, H-1b) de hidrogênios metilênicos diastereotópicos; e um duplete em δ_{H} 1,14 (d, $J=6,2$, 3H-3) de átomos de hidrogênio metílico.

O espectro de RMN ^{13}C -CPD [125 MHz, CD_3OD] (**Fig. 115, p. 148**) exibiu uma série de sinais entre δ_{C} 105,0-158,4 referentes a carbonos aromáticos, alguns dos quais oxigenados. Os sinais observados em δ_{C} 56,5; 56,7 e 70,0 foram atribuídos a átomos de carbono sp^3 oxigenados, sendo dois correspondentes a grupos metoxílicos. Outros sinais característicos de carbonos metílicos e metilênicos não oxigenados também foram observados em δ_{C} 23,0; 42,0 e 46,2. A análise comparativa dos espectros de RMN ^{13}C -CPD e DEPT 135° (**Fig. 116, p. 148**) permitiu reconhecer sinais correspondentes à presença de sete carbonos metínicos [(CH) $_7$: seis sp^2 e um sp^3 oxigenado], dois carbonos metilênicos [(CH $_2$) $_2$: todos sp^3], três carbonos metílicos [(CH $_3$) $_3$, sendo dois de grupos metoxílicos] e seis carbonos não hidrogenados [(C) $_6$].

O espectro de RMN 2D ^1H , ^1H -COSY (**Fig. 117 e 118, p. 149**) mostrou picos transversais correspondentes a acoplamentos *orto* e *meta* do H-5 (δ_{H}

6,23, dd, $J=8,1$ e $2,2$ Hz) com H-4 (δ_H 6,85, d, $J=8,1$ Hz) e com H-7 (δ_H 6,29, d, $J=2,2$ Hz), permitindo postular a **Unidade estrutural I (Fig. 108)**, e *vicinal* entre os hidrogênios representados pelos sinais em δ_H 1,14 (d, $J=6,2$ Hz, 3H-3) e δ_H 3,93 (m, H-2), compatíveis com a **Unidade estrutural II (Fig. 108)**.

Figura 108 Correlações observadas no espectro de RMN 2D 1H , 1H -COSY para BP-7

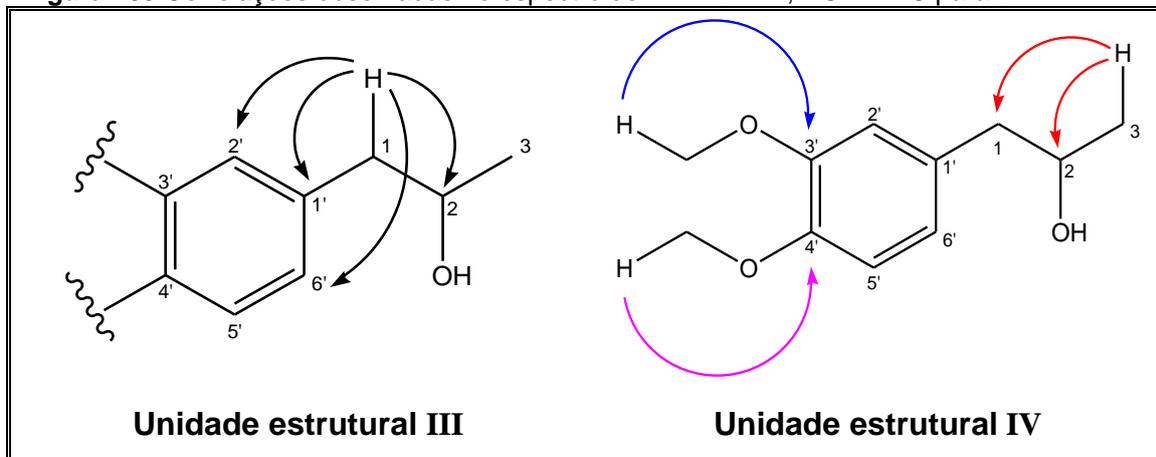


No espectro de RMN 2D de correlação heteronuclear através de uma ligação 1H , ^{13}C -HSQC- $^1J_{CH}$ (Fig. 119, 120 e 121, p. 150 e 151) não foi possível visualizar todas as correlações diretas de carbono-hidrogênio, recorrendo-se aos espectros 1H , 1H -COSY e 1H , ^{13}C -HMBC- $^nJ_{CH}$ ($n=2$ e 3), auxiliares nesta determinação.

O espectro de RMN 2D 1H , ^{13}C - $^nJ_{CH}$ ($n=2$ e 3 , HMBC, Fig. 122, 123, 124 e 125, p. 151, 152 e 153) mostrou correlações entre os sinais correspondentes aos hidrogênios metilênicos diastereotópicos em δ_H 2,72 (dd, $J=13,5$ e $6,6$, H-1a) e δ_H 2,59 (dd, $J=13,5$ e $6,3$, H-1b) com os carbonos aromáticos em δ_C 133,5 (C-1', $^2J_{CH}$), 114,6 (C-2', $^3J_{CH}$) e 123,0 (C-6', $^3J_{CH}$), e com o carbono carbinólico em δ_C 70,0 (CH-2, $^2J_{CH}$) (Unidade estrutural III, Fig. 109, p. 143); também foram observadas interações heteronucleares a longa distância ($^2J_{CH}$ e $^3J_{CH}$) entre os hidrogênios metílicos representados pelo sinal em δ_H 1,14 (d, $J=6,1$, 3H-3) com os carbonos em δ_C 70,0 (CH-2, $^2J_{CH}$) e 46,2 (CH₂-1, $^3J_{CH}$), permitindo postular a **Unidade estrutural IV (Fig. 109, p. 143)**. Assim, foi possível deduzir a estrutura **BP-7B** do tipo fenilpropanóide. As correlações a três ligações dos hidrogênios dos grupos metoxílicos em δ_H 3,82 (s, MeO-3') e 3,80 (s, MeO-4') com os carbonos em δ_C 150,3 (C-3') e 149,0 (C-4'), respectivamente, permitiu

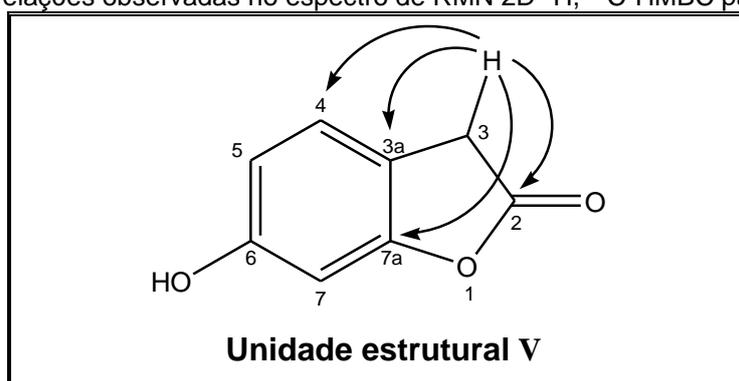
definir a localização destes substituintes nos carbonos aromáticos C-3' e C-4' (**Unidade estrutural IV, Fig. 109**).

Figura 109 Correlações observadas no espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HMBC para BP-7B



Foram verificadas também correlações dos sinais dos hidrogênios metilênicos em δ_{H} 3,42 (s, 2H-3) com os carbonos em δ_{C} 116,6 (C-3a, $^2J_{\text{CH}}$), 132,2 (CH-4, $^3J_{\text{CH}}$), 158,4 (C-7a, $^3J_{\text{CH}}$) e 183,0 (C-2, $^2J_{\text{CH}}$). O sinal deste último carbono não foi observado no espectro de RMN ^{13}C . Estas correlações sugeriram a estrutura de uma benzofuranona (**Unidade estrutural V, Fig. 110**) oxigenada no carbono 6 para atender os deslocamentos químicos dos átomos de hidrogênio e carbono do anel aromático.

Figura 110 Correlações observadas no espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HMBC para BP-7A



O espectro de massas de alta resolução (modo positivo, **Fig. 126, p. 153**) da mistura **BP-7** revelou os picos dos íons moleculares em m/z 179,1029 ($[\text{M} + \text{N}_2 + \text{H}]^+$, **A**, calc 179,0457) e m/z 219,0921 ($[\text{M} + \text{Na}]^+$, **B**, calc 219,0997), compatíveis com as fórmulas moleculares $\text{C}_8\text{H}_6\text{O}_3$ e $\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{O}_3$ para BP-7A e

BP-7B, com IDH=6 e 4, respectivamente. Mesmo considerando-se todos os dados de 1D e 2D de RMN compatíveis com a presença de um grupo hidroxílico no átomo de carbono 6, o espectro de massas de alta resolução de **BP-7A** revelou resultados com diferenças preocupantes, postulando-se, inclusive, a possibilidade da presença de um aduto (complexo) com uma molécula de nitrogênio, conforme descreveu-se na proposta de fragmentação resumida na **Figura 127, p. 154**. Os picos principais registrados no espectro de massas de **BP-7B** estão justificados pela proposta de fragmentação resumida na **Figura 128, p. 154**.

Com base na discussão exposta e com dados da literatura para BP-7B (MESSIANO, 2010, **Tab. 14 e 15, p. 145**) chegou-se à conclusão que **BP-7** trata-se de uma mistura de 6-hidroxibenzofuran-2(3H)-ona (**BP-7A**) e do fenilpropanóide 1-(3',4'-dimetoxifenil)-2-propanol (**BP-7B**), nas proporções de 62,1% e 37,9%, respectivamente. As percentagens aproximadas dos dois componentes da mistura foram calculadas através da integração dos sinais de hidrogênios H-5 de A (δ_H 6,23, dd, 1H=1,00) e H-6' de B (δ_H 6,74, dd, 1H=0,61). Os dois compostos estão sendo relatados pela primeira vez no gênero *Bauhinia*.

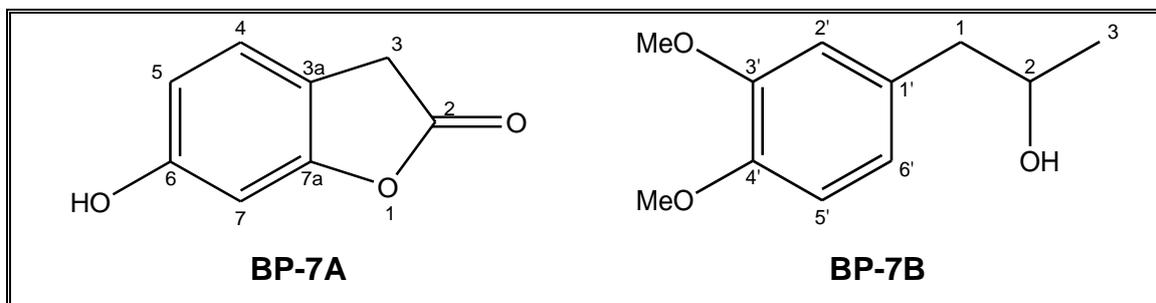


Tabela 14 Dados de RMN ^1H e ^{13}C de BP-7A, incluindo correlação heteronuclear através de uma ligação (HSQC: $^1J_{\text{CH}}$) e a longa distância (HMBC: $^nJ_{\text{CH}}$, $n=2$ e 3), em CD_3OD como solvente

C	HSQC BP-7A		HMBC BP-7A	
	δ_{C}	δ_{H}	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$
2	183,0	-	2H-3	
3	42,0	3,42 (s)		H-4
3a	116,6	-	2H-3	H-5
4	132,2	6,85 (d, $J=8,1$)		2H-3
5	107,9	6,23 (dd, $J=8,1$ e $2,2$)		
6	158,2	-	H-5	H-4
7	105,0	6,29 (d, $J=2,2$)		
7a	158,4	-		2H-3; H-4
8	158,2	-		

Deslocamentos químicos (δ_{C} e δ_{H}) em ppm e constante de acoplamento (J) em Hz

Tabela 15 Dados de RMN ^1H e ^{13}C de BP-7B, incluindo correlação heteronuclear através de uma ligação (HSQC: $^1J_{\text{CH}}$) e a longa distância (HMBC: $^nJ_{\text{CH}}$, $n=2$ e 3), em CD_3OD como solvente

C	HSQC BP-7B		HMBC BP-7B		Lit.* (CDCl_3)	
	δ_{C}	δ_{H}	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	δ_{C}	δ_{H}
1	46,2	2,59 (dd, $J=13,4$ e $6,3$) 2,72 (dd, $J=13,4$ e $6,6$)		3H-3	45,2	2,61 (dd, $J=13,5$ e $8,0$) 2,72 (dd, $J=13,5$ e $4,5$)
2	70,0	3,93 (m)	2H-1; 3H-3		68,8	3,98 (m)
3	23,0	1,14 (d, $6,2$)			22,6	1,23 (d, $J=6,5$)
1'	133,5	-	2H-1		131,0	-
2'	114,6	6,82 (sl)		2H-1	112,6	6,73 (sl)
3'	149,0	-		MeO-3	147,7	-
4'	150,3	-		MeO-4	148,9	-
5'	113,2	6,85 (d, $J=8,1$)			111,4	6,81 (d, $J=8,5$)
6'	122,9	6,74 (dd, $J=8,1$)		2H-1	121,3	6,74 (dd, $J=2,0$ e $8,5$)
MeO-3'	56,7	3,82 (s)			55,8	3,86 (s)
MeO-4'	56,8	3,80 (s)			55,9	3,84 (s)

Deslocamentos químicos (δ_{C} e δ_{H}) em ppm e constante de acoplamento (J) em Hz
* (MESSIANO, 2010)

Figura 111 Espectro na região do infravermelho de BP-7

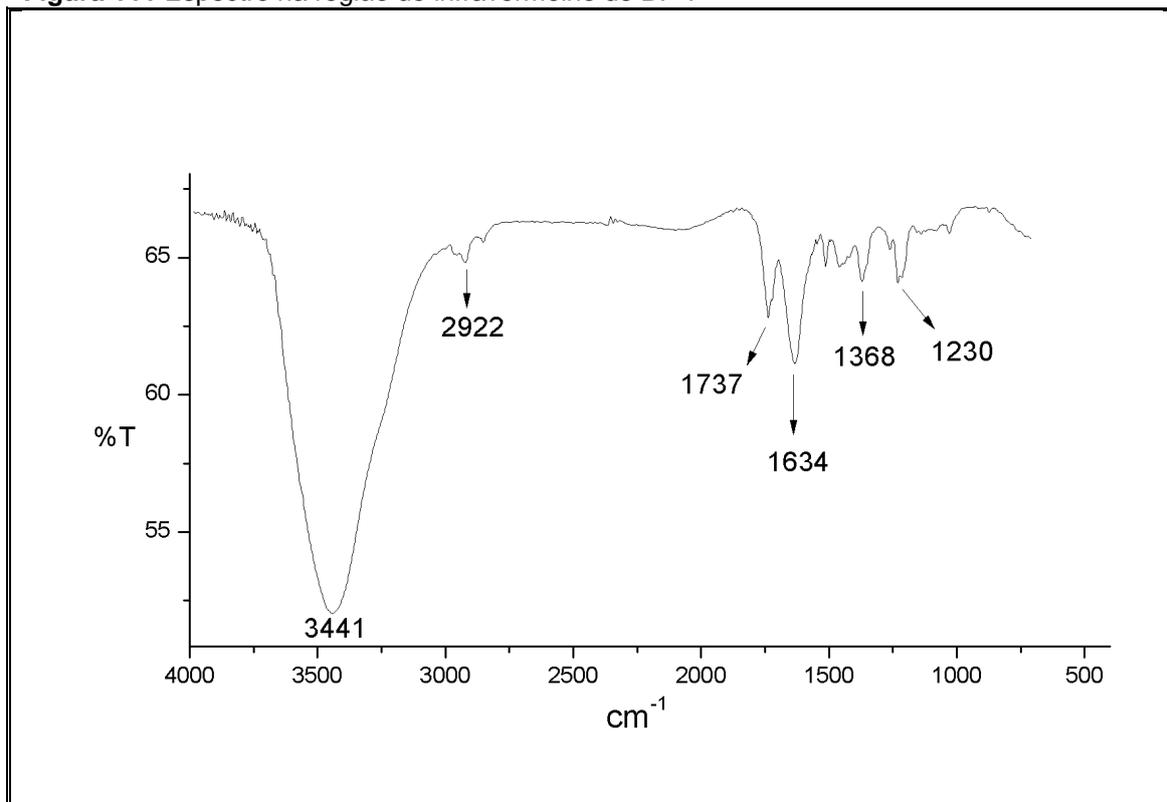


Figura 112 Espectro de RMN ¹H [500 MHz, CD₃OD] de BP-7

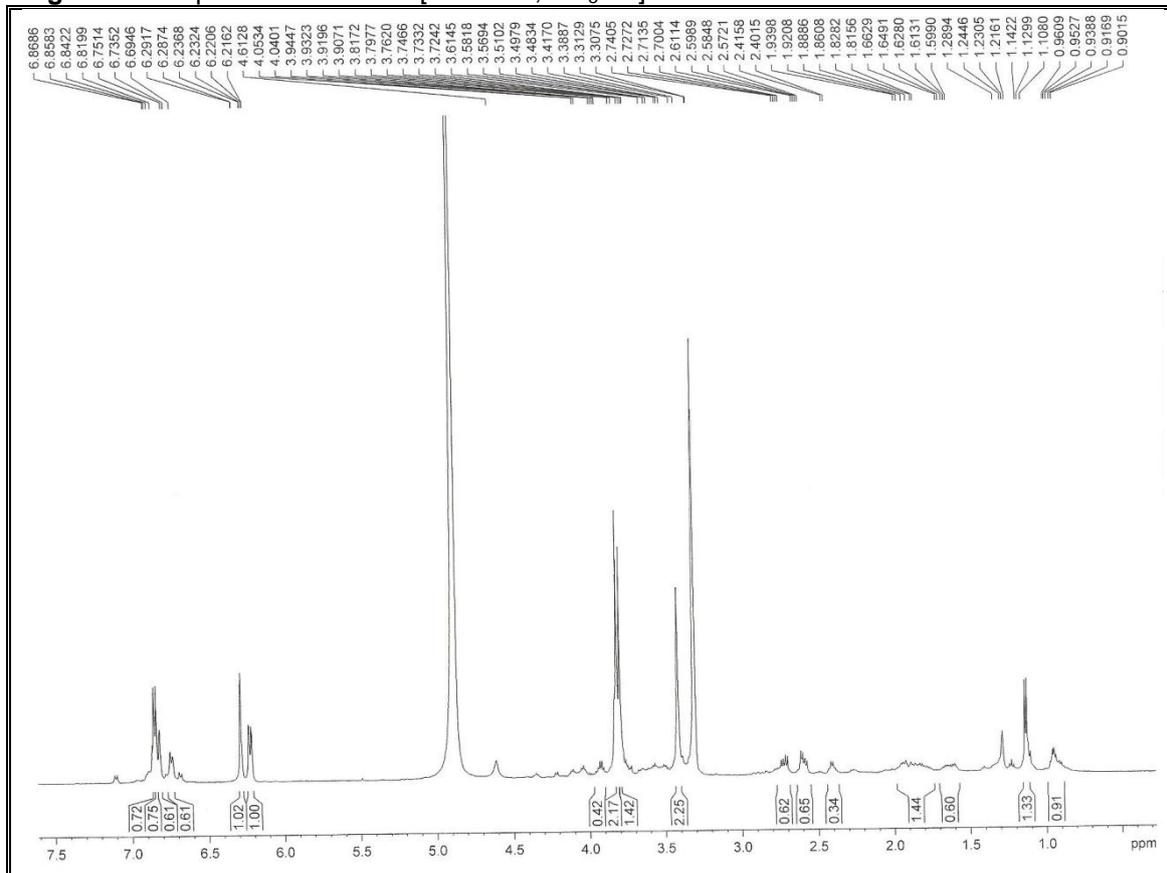


Figura 113 Expansão do espectro de RMN ^1H [500 MHz, CD_3OD] de BP-7

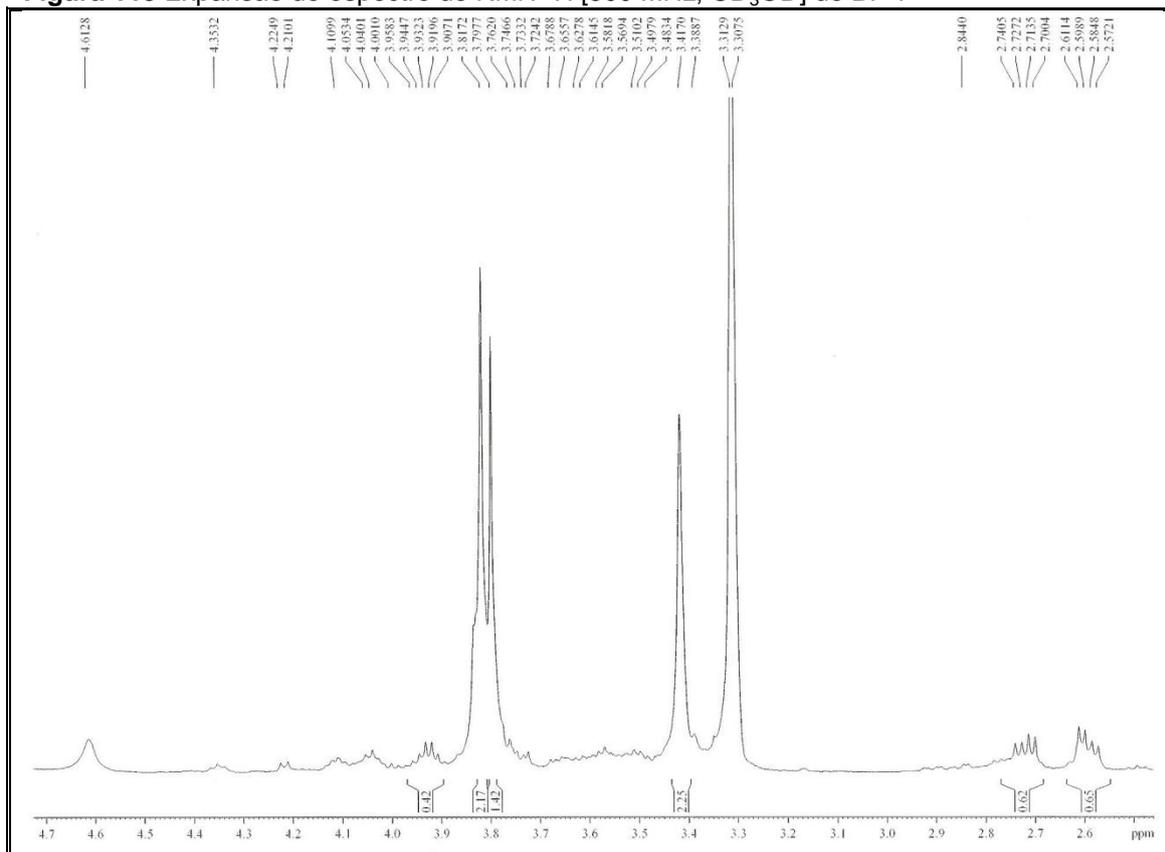


Figura 114 Expansão do espectro de RMN ^1H [500 MHz, CD_3OD] de BP-7

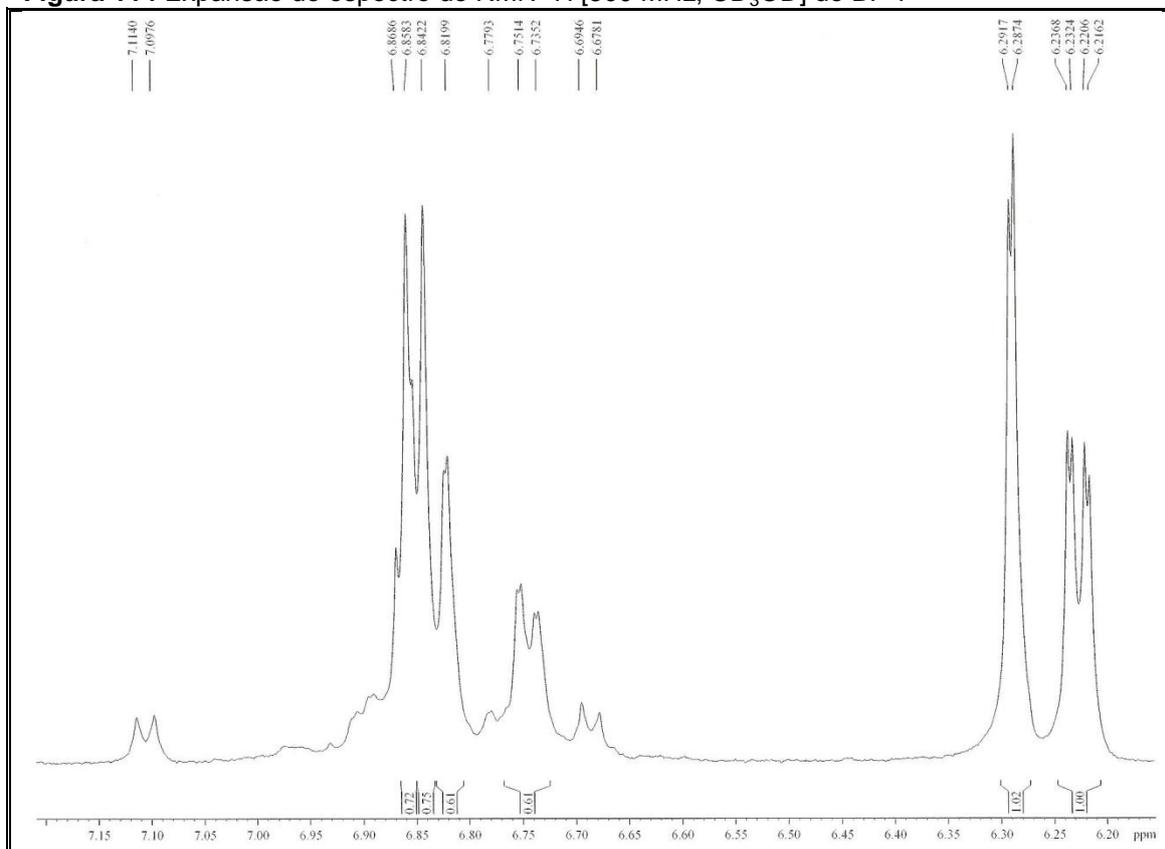


Figura 115 Espectro de RMN ^{13}C -CPD [125 MHz, CD_3OD] de BP-7

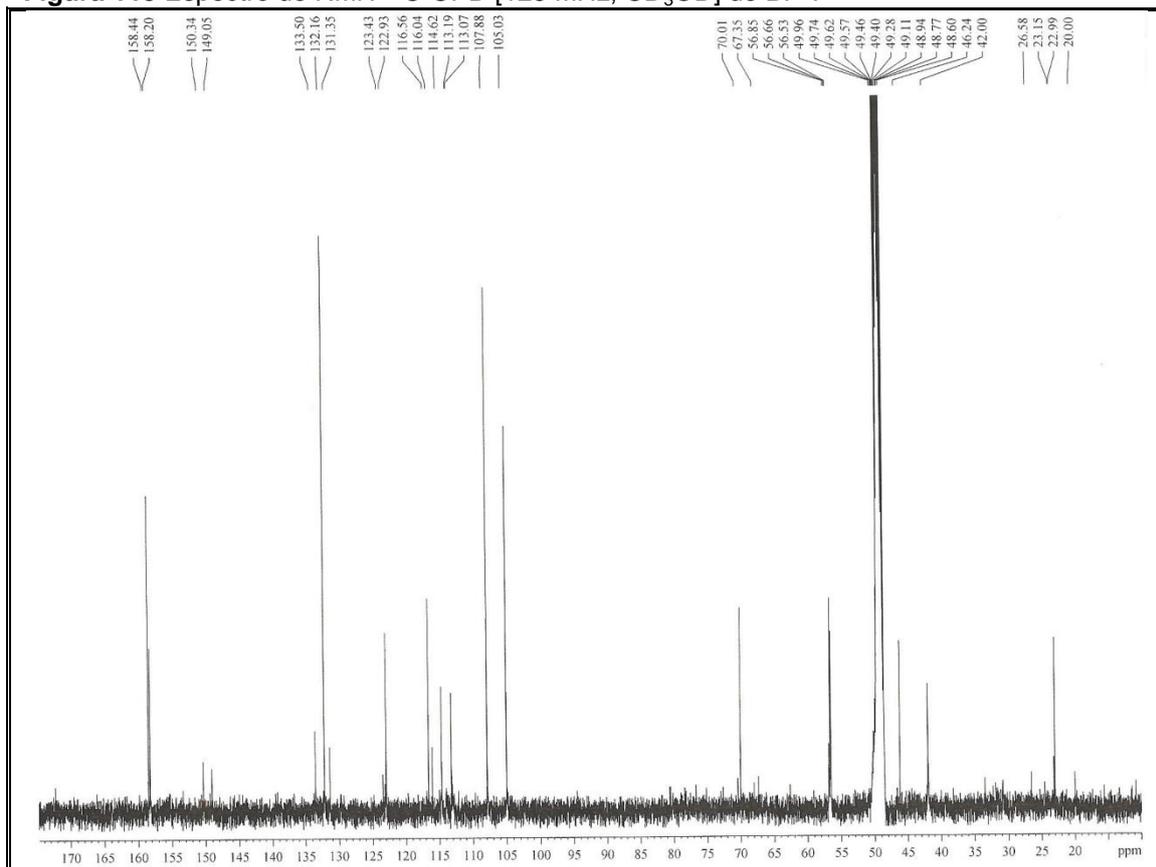


Figura 116 Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° [125 MHz, CD_3OD] de BP-7

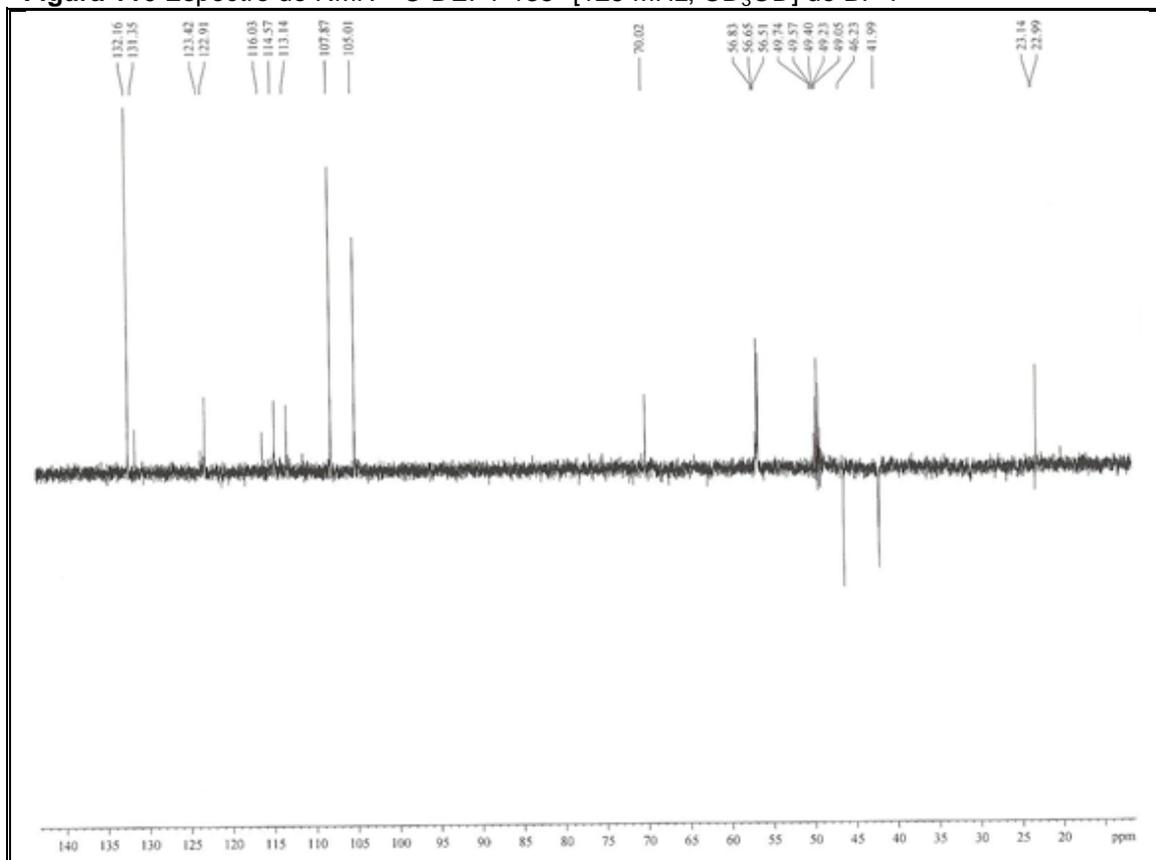


Figura 117 Espectro de RMN 2D ^1H , ^1H -COSY [500 x 500 MHz, CD_3OD] de BP-7

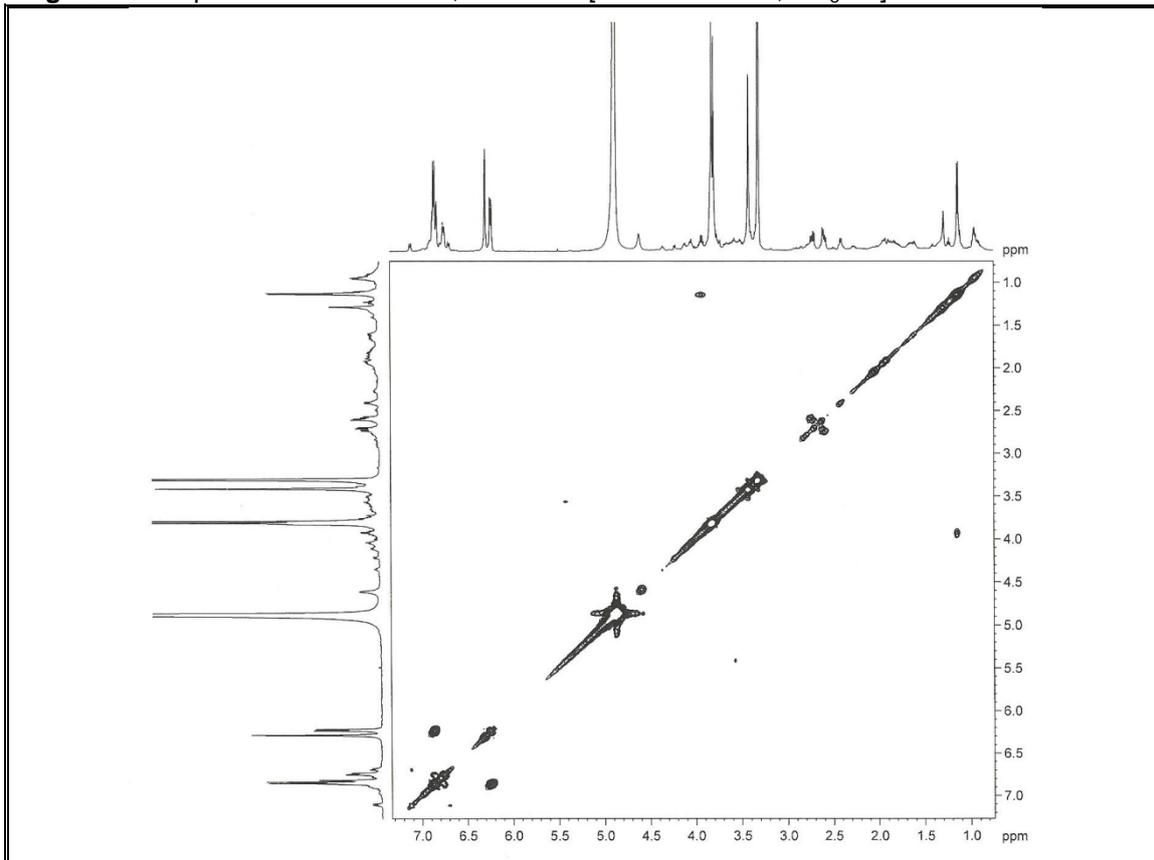


Figura 118 Expansão do espectro de RMN 2D ^1H , ^1H -COSY [500 x 500 MHz, CD_3OD] de BP-7

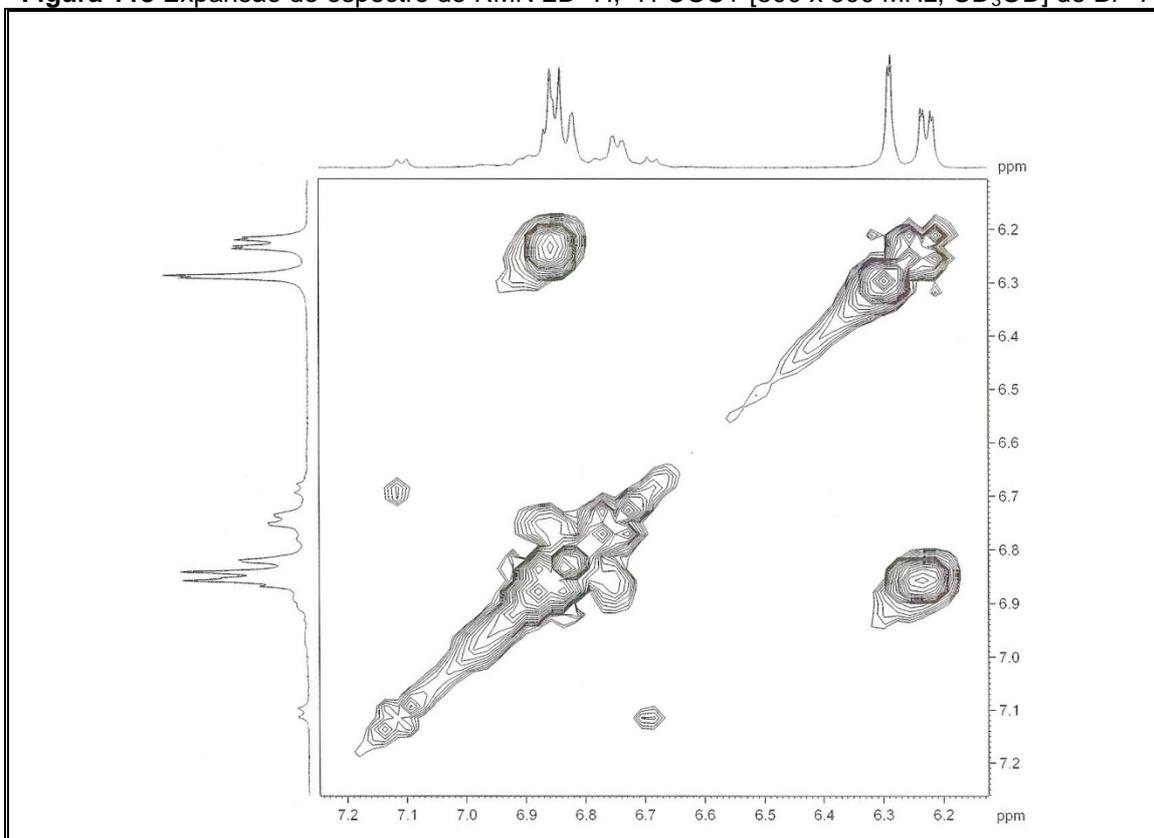


Figura 119 Espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HSQC [500 x 125 MHz, CD_3OD] de BP-7

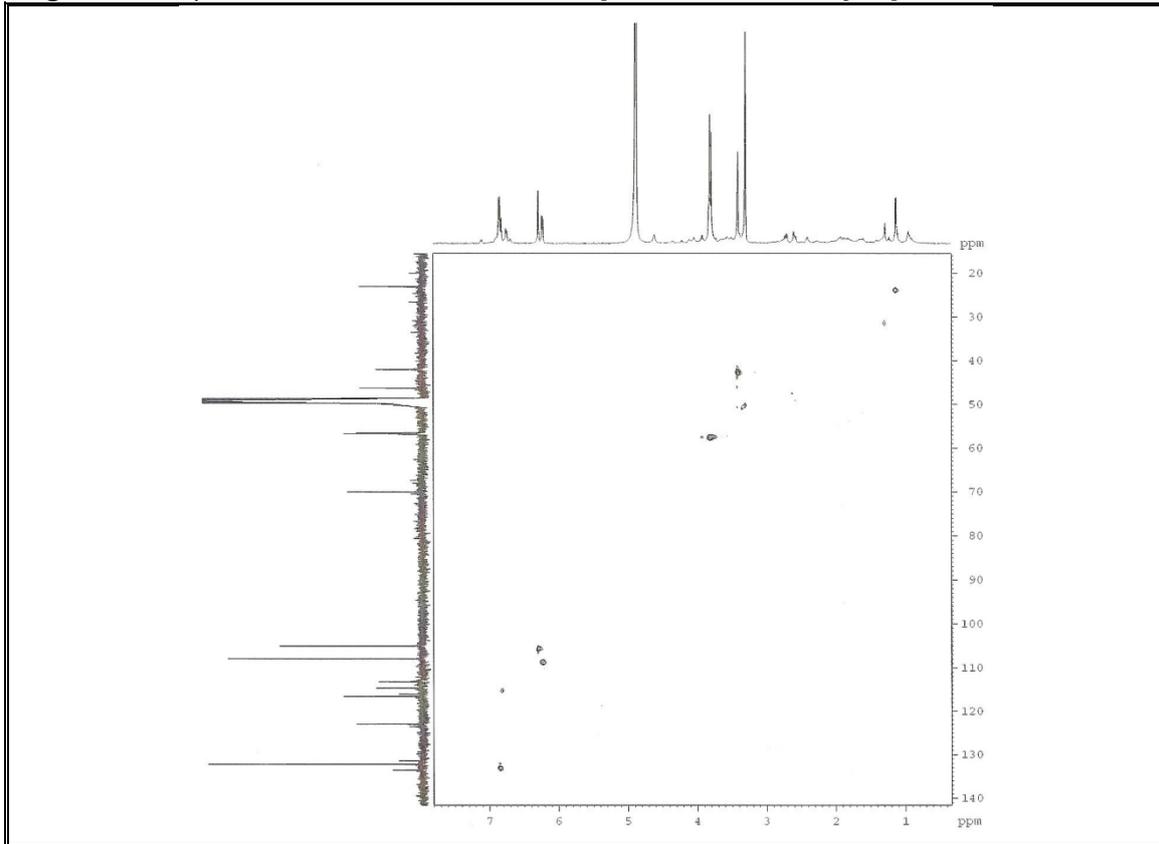


Figura 120 Expansão do espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HSQC [500 x 125 MHz, CD_3OD] de BP-7

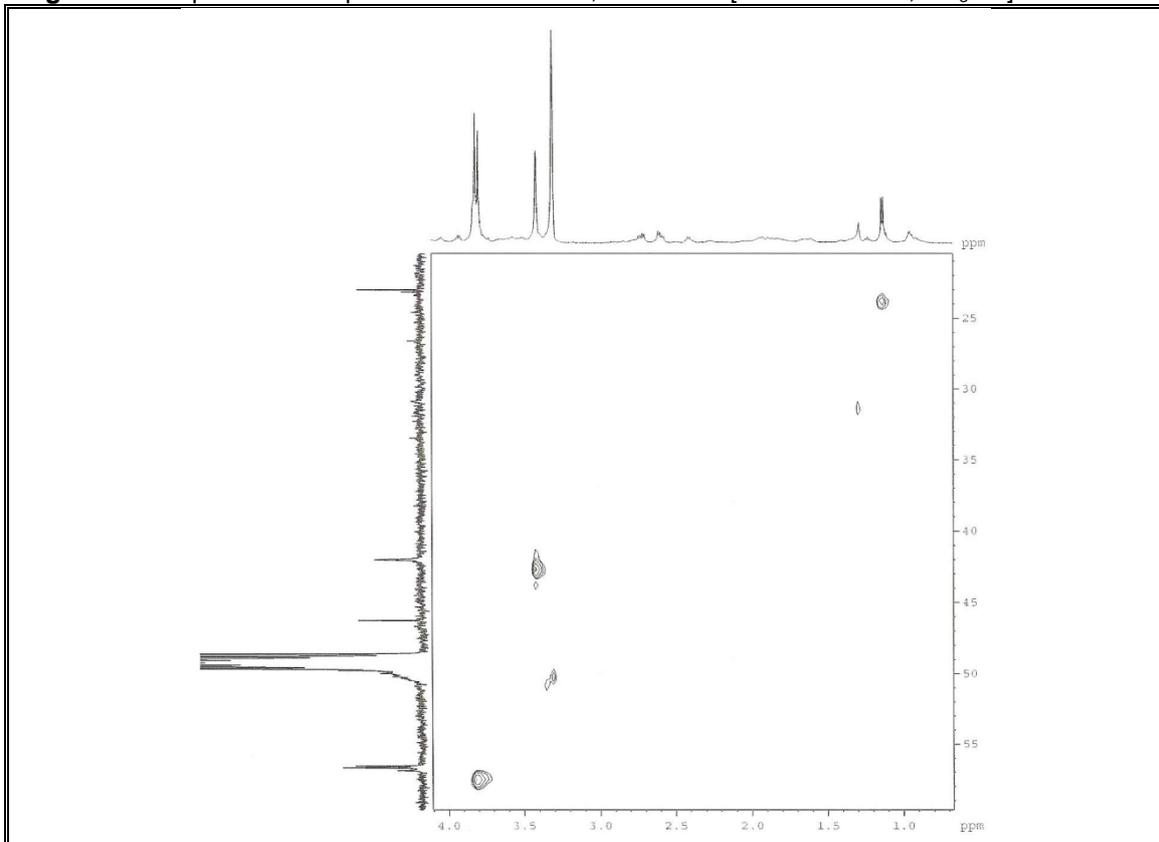


Figura 121 Expansão do espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HSQC [500 x 125 MHz, CD_3OD] de BP-7

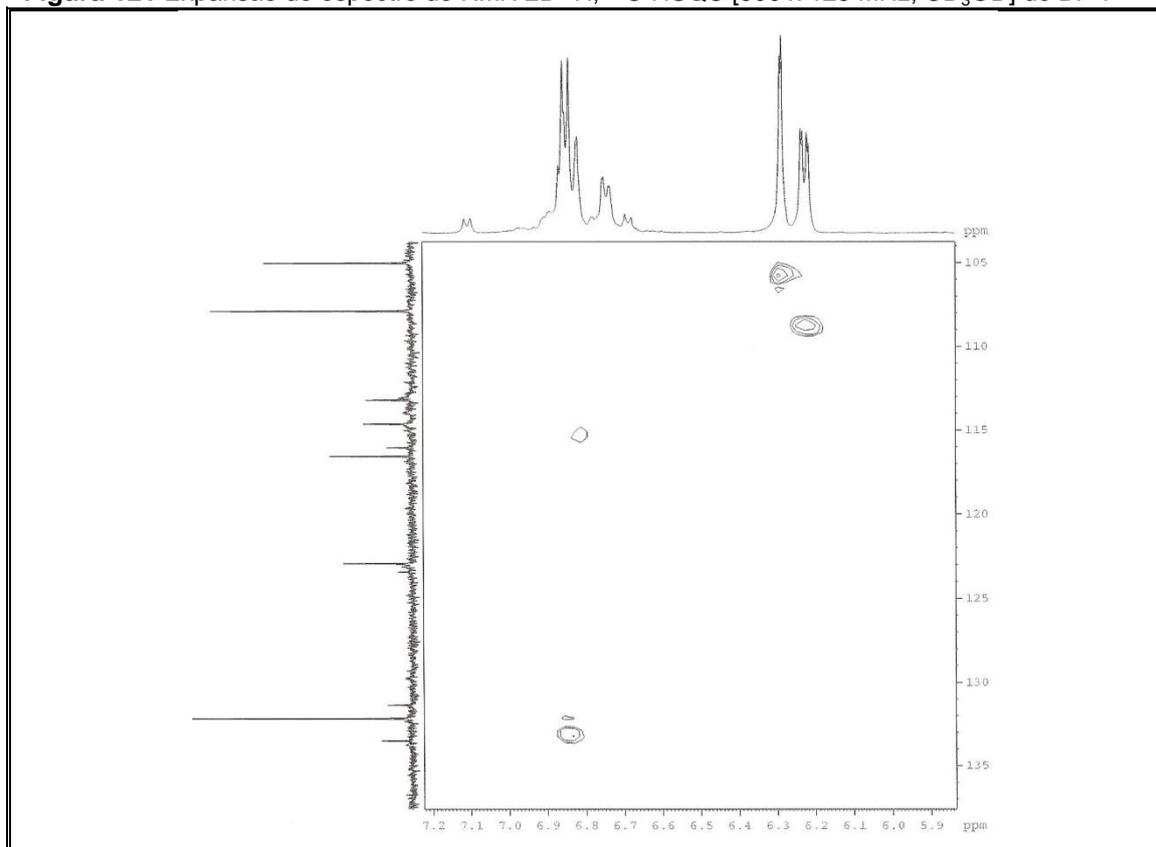


Figura 122 Espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HMBC [500 x 125 MHz, CD_3OD] de BP-7

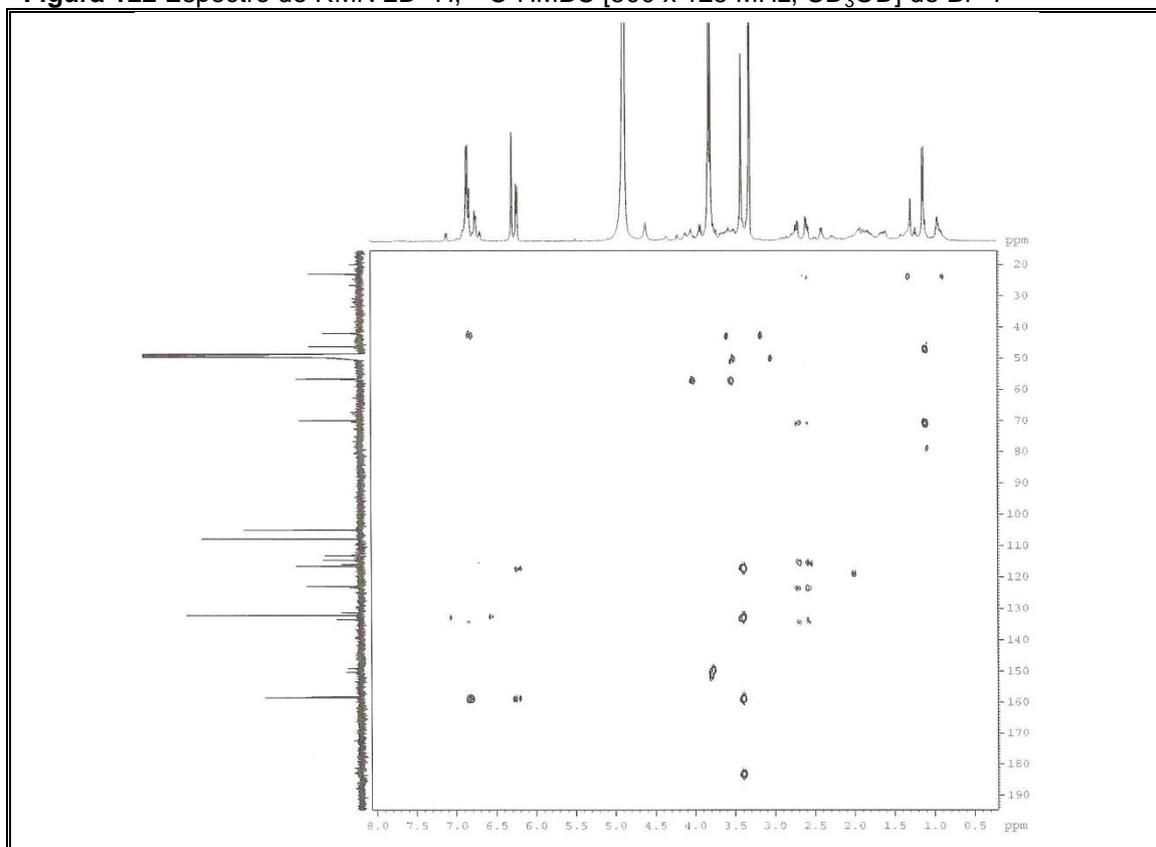


Figura 123 Expansão do espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HMBC [500 x 125 MHz, CD_3OD] de BP-7

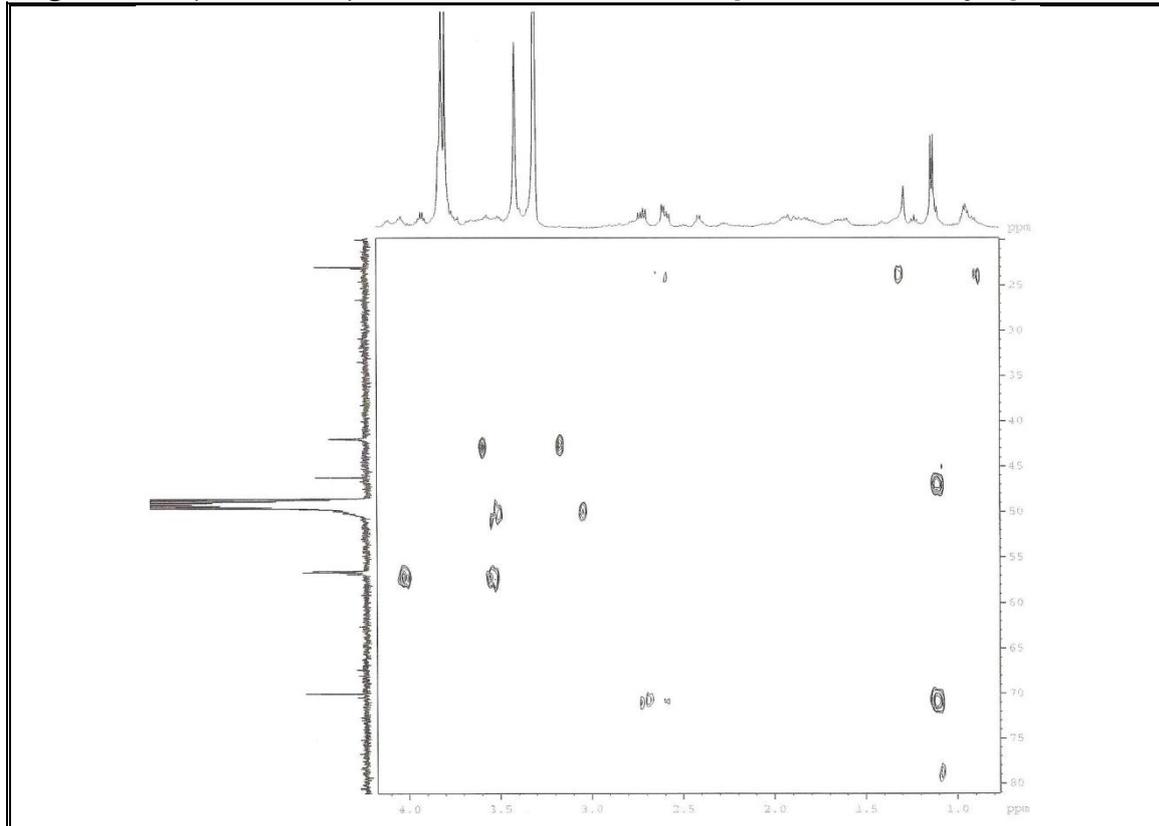


Figura 124 Expansão do espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HMBC [500 x 125 MHz, CD_3OD] de BP-7

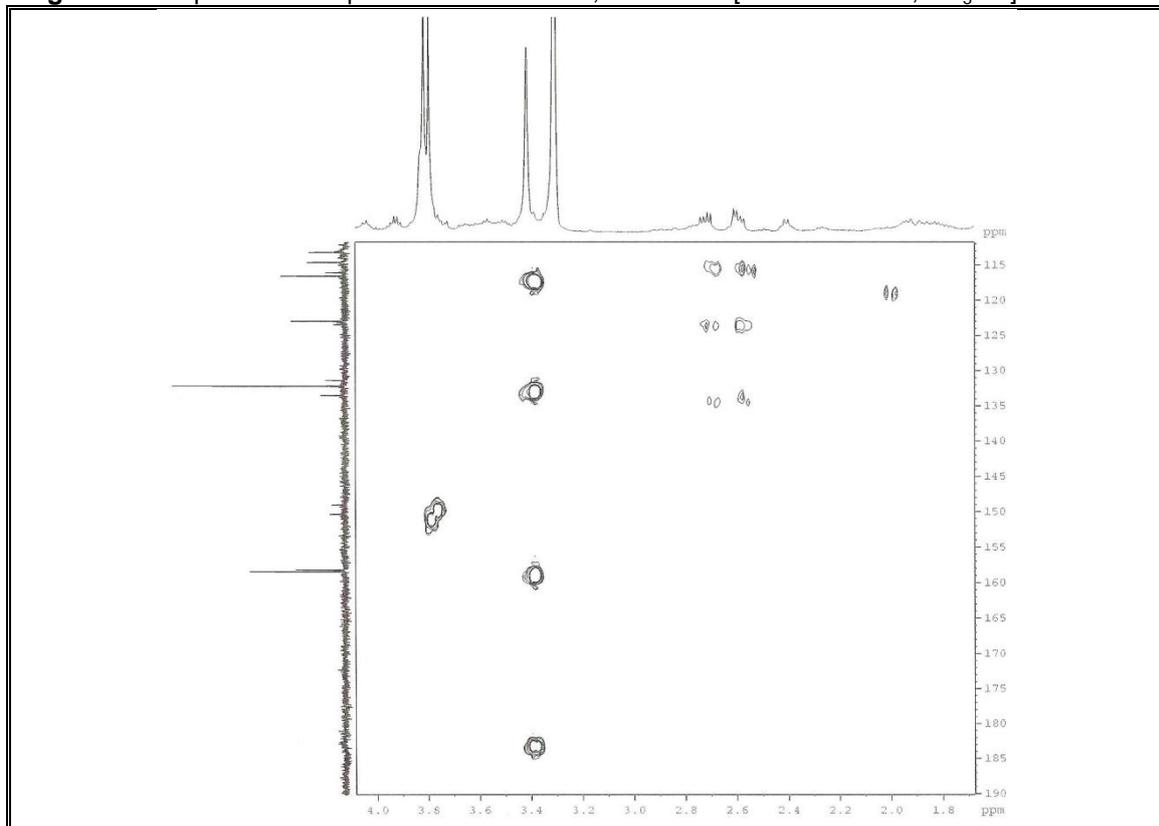


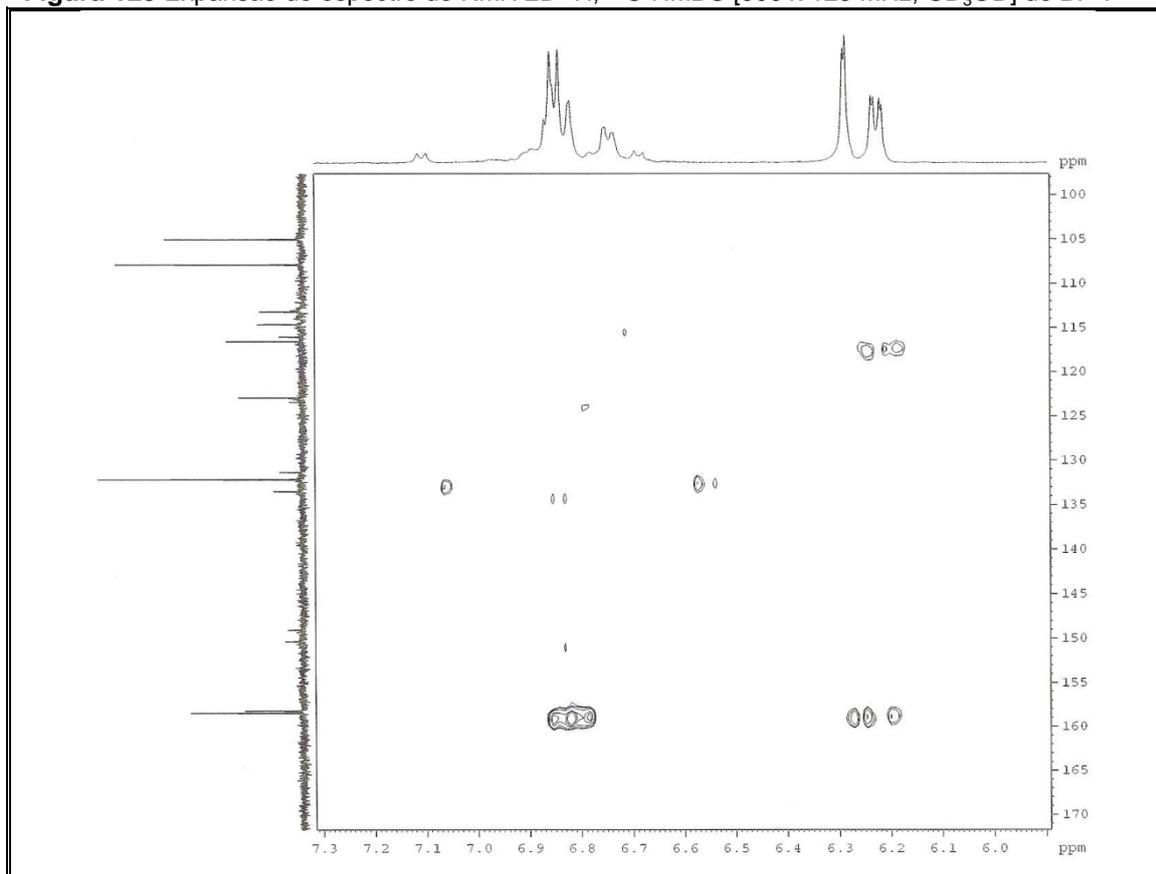
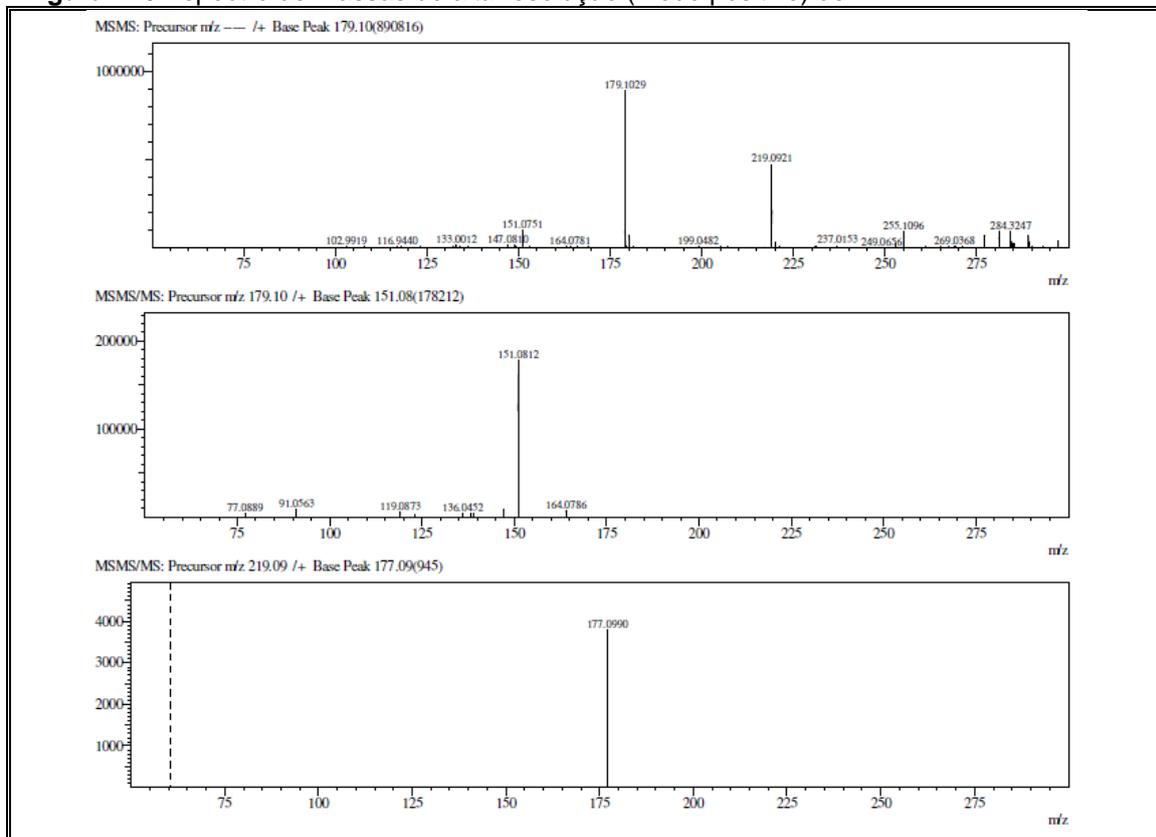
Figura 125 Expansão do espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HMBC [500 x 125 MHz, CD_3OD] de BP-7**Figura 126** Espectro de massas de alta resolução (modo positivo) de BP-7

Figura 127 Proposta mecanística que justifica os principais fragmentos registrados no espectro de massas de alta resolução de BP-7A

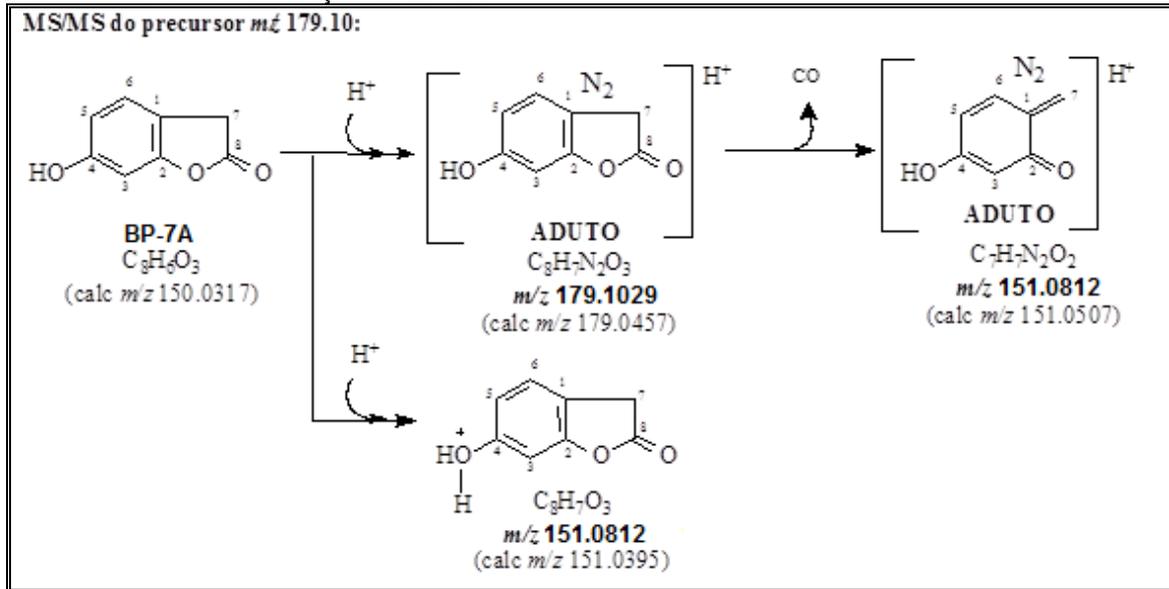
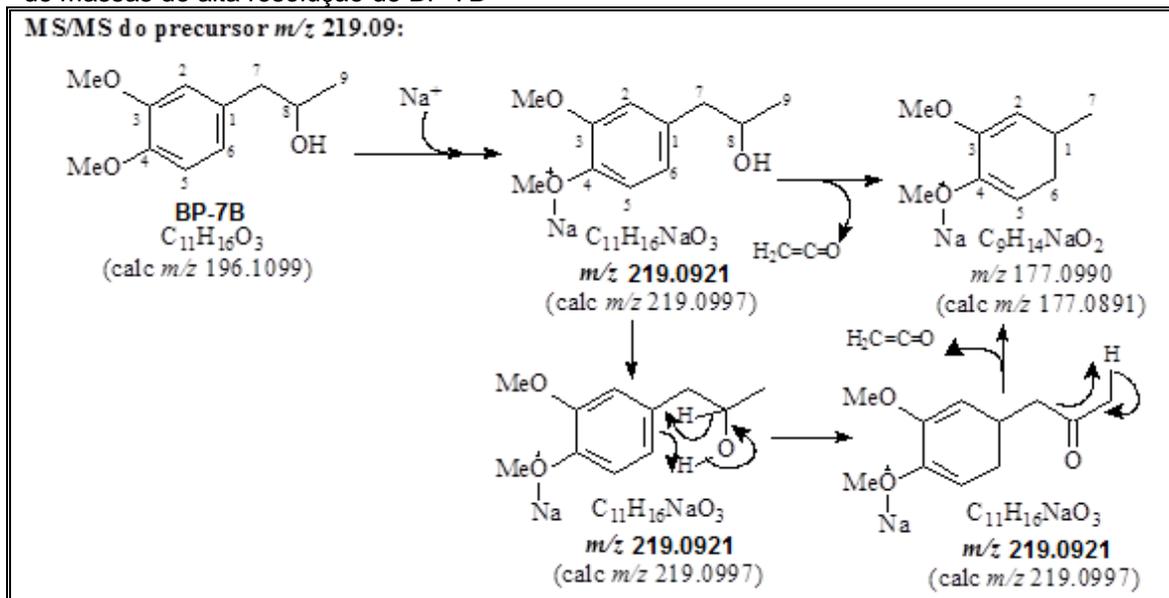


Figura 128 Proposta mecanística que justifica os principais fragmentos registrados no espectro de massas de alta resolução de BP-7B



4.4.8 Determinação estrutural de BP-8

O composto BP-8 (9,3 mg), assim como BP-7, também foi obtido a partir da F 80-92 por CLAE, apresentando-se na forma de resina de coloração marrom, com solubilidade em metanol.

O espectro na região do infravermelho (**Fig. 132, p. 160**) mostrou banda de absorção em 3417 cm^{-1} e 2222 cm^{-1} , que foram atribuídas a presença de grupos hidroxila e nitrila, respectivamente. Foi observada também uma banda característica de ligação olefínica em 1627 cm^{-1} , além de absorções em 2924 cm^{-1} relacionada à deformação axial de ligação C–H, e em 1060 cm^{-1} , referente à deformação axial de ligação C–O.

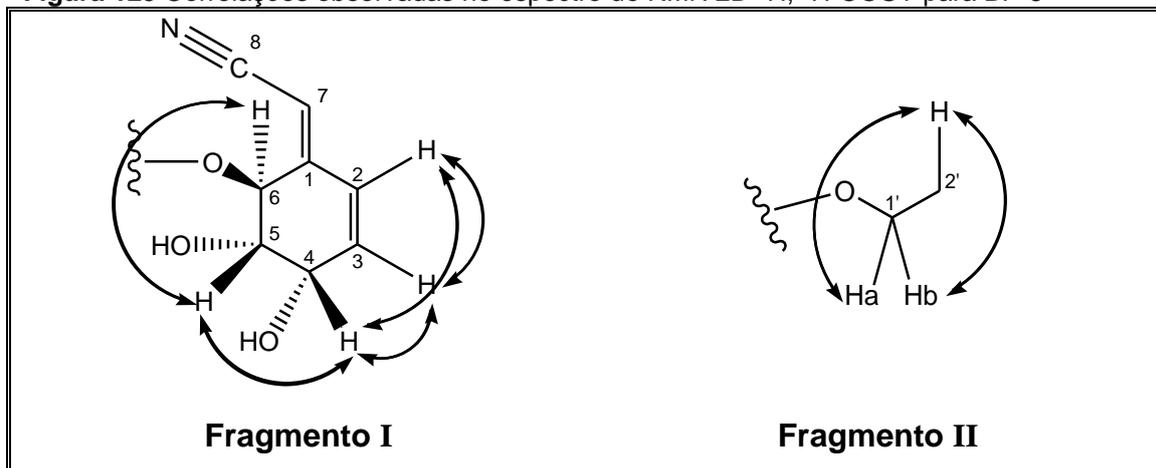
O espectro de RMN ^1H [300 MHz, CD_3OD] (**Fig. 133, 134 e 135, p. 160 e 161**) apresentou vários sinais com deslocamentos químicos muito próximos, alguns, praticamente superpostos na região entre δ_{H} 3,20 e 3,40 ppm, referentes a hidrogênios oximetínicos característicos de açúcares. Neste espectro [com o auxílio dos experimentos de correlações homonuclear (^1H – ^1H) e heteronuclear (^1H – ^{13}C , $^1J_{\text{CH}}$)], foi possível detectar a presença de grupos de sinais devido a hidrogênios metilênicos em δ_{H} 3,86 (H-6a'/H-6a)/3,69 (H-6'b/H-6b) e em δ_{H} 3,96 (H-1'a) /3,62 (H-1'b), além de sinais em δ_{H} 4,60 (d, $J=7,8\text{ Hz}$, H-1') e 4,28 (d, $J=7,8\text{ Hz}$, H-1) atribuídos a hidrogênios anoméricos, sugerindo a presença de duas unidades de glicose. Em adição, o espectro mostrou também três sinais de hidrogênios ligados a carbonos olefínicos em δ_{H} 6,28 (d, $J=10,9\text{ Hz}$, H-2), 6,02 (d, $J=10,1\text{ Hz}$, H-3), e 5,62 (s, H-7), outros três de hidrogênios cabinólicos em δ_{H} 4,81 (d, $J=4,7\text{ Hz}$, H-6), 4,22 (m, H-5) e 4,63 (m, H-4), e sinal de um grupo metila em δ_{H} 1,25 (t, $J=7,1\text{ Hz}$, 3H-2'). O sinal do grupo metila como um tripleto, indicou a existência de segmento etoxila na estrutura de BP-8, ou seja, os hidrogênios metílicos vicinais a um grupo metileno oxigenado, no caso, os hidrogênios 2H-1' (CH_2O : δ_{H} 3,96/3,62).

O espectro de RMN ^{13}C -CPD [75 MHz, CD_3OD] (**Fig. 136 e 137, p. 162**) exibiu sinais em δ_{C} 104,6 e 104,2, que são típicos de carbonos anoméricos de glicosídeos, além de uma série de sinais duplicados entre δ_{C} 62,9-78,2, o que reforça a idéia de que o composto contém duas porções de glicose (β -glicopirranose). A presença do sinal em δ_{C} 118,5 foi atribuído a um carbono de

grupo nitrila, o que revelou-se em acordo com a absorção em 2222 cm^{-1} no espectro de IV. Outros sinais foram observados em δ_{C} 66,3; 67,3; 70,6 e 78,0, correspondentes a carbonos sp^3 oxigenados, em δ_{C} 100,2; 127,2; 139,2 e 155,5, característicos de carbonos sp^2 , e em δ_{C} 15,6 de carbono sp^3 . Análise comparativa entre os espectros de RMN ^{13}C -CPD e DEPT 135° (**Fig. 138, p. 163**), levando em consideração a intensidade dos sinais, registrou a presença de dezesseis carbonos metínicos (CH), três carbonos metilênicos (CH_2), um carbono metílico (CH_3) e dois carbonos não hidrogenados (C).

O espectro de RMN 2D ^1H , ^1H COSY (**Fig. 139 e 140, p. 163 e 164**) mostrou acoplamento entre os átomos de hidrogênios vinílicos em δ_{H} 6,28 (d, $J=10,9$ Hz, H-2) com δ_{H} 6,02 (d, $J=10,1$ Hz, H-3), e destes com δ_{H} 4,63 (m, H-4) (**Fragmento I, Fig. 129**). Foram observados também acoplamentos vicinais entre os hidrogênios em δ_{H} 4,63 (m, H-4) com δ_{H} 4,22 (m, H-5), e em δ_{H} 4,22 (m, H-5) com δ_{H} 4,81 (d, $J=4,7$ Hz, H-6) (**Fragmento I, Fig. 129**), além de acoplamento vicinal entre os hidrogênios metílicos em δ_{H} 1,25 (t, $J=7,1$ Hz, 3H-2') com os hidrogênios metilênicos em δ_{H} 3,96 (m, H-1'a) e δ_{H} 3,62 (m, H-1'b) (**Fragmento II, Fig. 129**).

Figura 129 Correlações observadas no espectro de RMN 2D ^1H , ^1H -COSY para BP-8

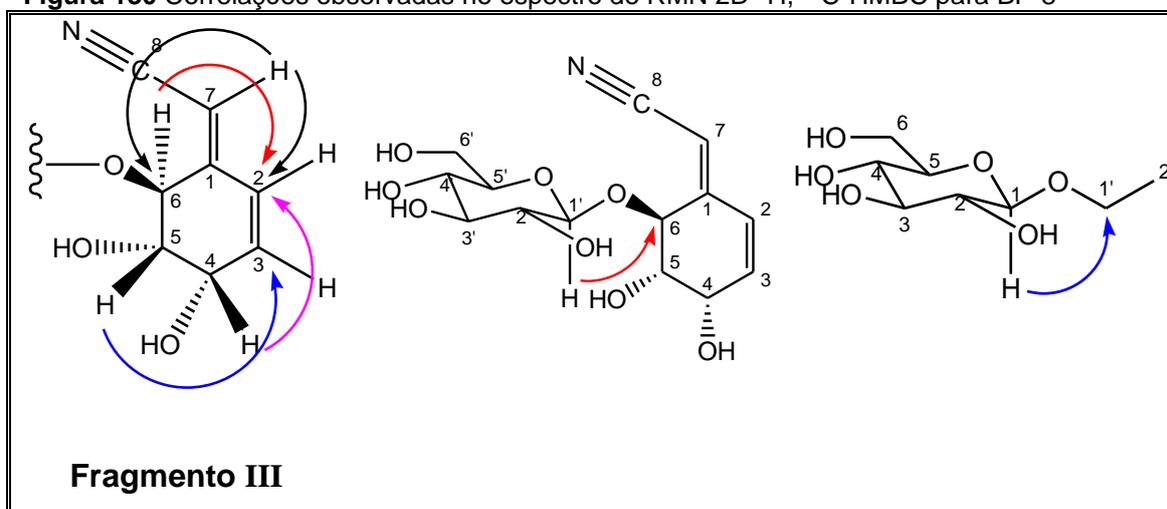


O espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HSQC (**Fig. 141 e 142, p. 164 e 165**) permitiu correlacionar os sinais de hidrogênio ao seu respectivo carbono (**Tab. 16 e 17, p. 159**).

O espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HMBC (**Fig. 143, 144 e 145, p. 165 e 166**) exibiu correlação de longo alcance entre o hidrogênio em δ_{H} 5,62 (s, H-7)

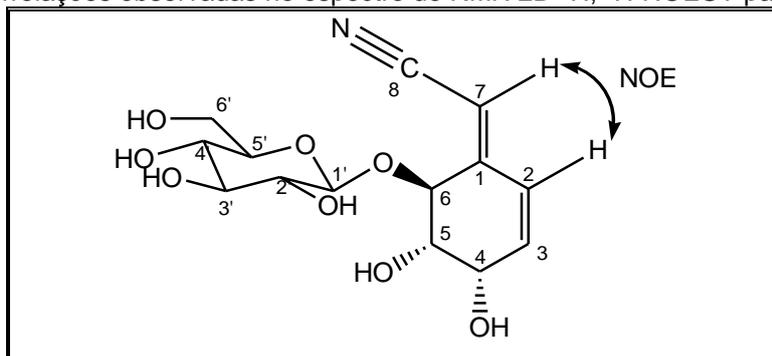
com os carbonos em δ_C 127,2 (C-2) e 78,0 (C-6), os hidrogênios em δ_H 4,63 (m, H-4) e 4,81 (d, $J=4,7$ Hz, H-6) com o carbono em δ_C 127,2 (C-2) e o hidrogênio em δ_H 4,22 (m, H-5) com o carbono em δ_C 139,2 (C-3) (**Fragmento III, Fig. 130**). Outras correlações de longa distância foram observadas entre o hidrogênio em δ_H 4,60 (d, $J=7,8$ Hz, H-1') com o carbono em δ_C 78,0 (C-6) (**Fig. 130**), o que permitiu definir a localização da unidade glicosídica no C-6, e entre o hidrogênio em δ_H 4,28 (d, $J=7,8$ Hz, H-1) com o carbono em δ_C 66,3 (C-1') (**Fig. 130**), confirmando a presença de duas unidades de glicose.

Figura 130 Correlações observadas no espectro de RMN 2D 1H , ^{13}C -HMBC para BP-8



As estereoquímicas dos carbonos quirais C-4, C-5 e C-6 foram atribuídas em comparação com dados da literatura (WU *et al.*, 1979). Em adição, o sinal NOE registrado entre os hidrogênios H-7 (δ_H 5,62) e H-2 (δ_H 6,28) (**Fig. 131**) no espectro NOESY (**Fig. 146, p. 167**) indicaram a configuração *Z* para a ligação dupla C₁-C₇, sendo BP-8 um esteroisômero de riachina, isolado de *B. pentandra* por Silva *et al.* (2013).

Figura 131 Correlações observadas no espectro de RMN 2D 1H , 1H -NOESY para BP-8



Estes dados, juntamente com os picos dos íons moleculares em m/z 352,1021 ($[M + Na]^+$, calc 352,1008) e m/z 231,0822 ($[M + Na]^+$, calc 231,0844), revelados pelo espectro de massas de alta resolução (modo positivo, **Fig. 147, p. 167**), permitiram confirmar a fórmula molecular $C_{14}H_{19}NO_8$ e $C_8H_{16}O_6$ para BP-8A e BP-8B, com IDH=5 e 1 respectivamente.

Baseando-se em todas as informações espectrais obtidas, foi possível caracterizar o composto BP-8 como sendo uma mistura do cianoglicosídeo (4*S*, 5*S*,6*S*)-(Z)-6-(β-D-glicopiranosiloxi)-4,5-diidroxio-2-ciclohexen-1-ilideno-Δ^{1,α}-acetonitrila (dasicarponina, BP-8A) e do glicopiranosídeo de etila (BP-8B), nas proporções de 39,2% e 60,8%, respectivamente. As percentagens aproximadas dos dois componentes da mistura foram calculadas através da integração dos sinais de hidrogênios H-7 de A (δ_H 5,62, s, 1H=1,00) e 3H-2' de B (δ_H 1,25, t, 3H=4,64/3). Os dois compostos são inéditos no gênero *Bauhinia*.

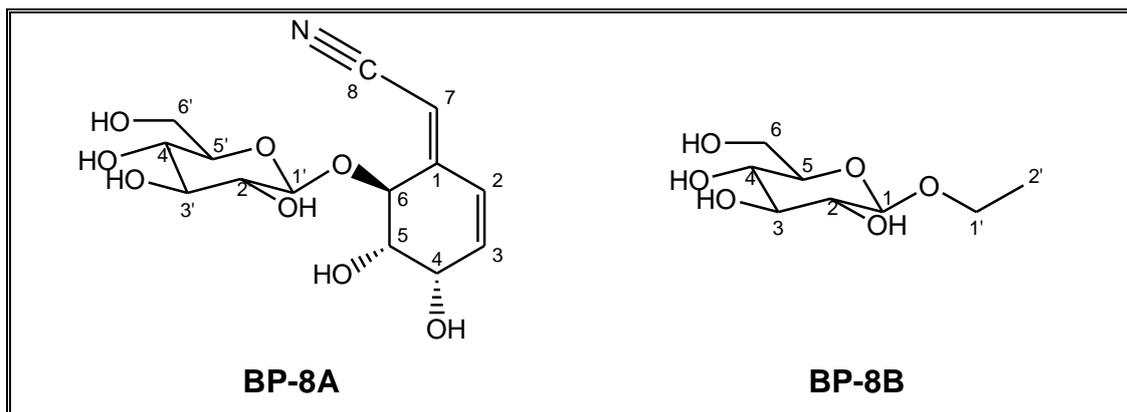


Tabela 16 Dados de RMN ^1H e ^{13}C de BP-8A, incluindo correlação heteronuclear através de uma ligação (HSQC: $^1J_{\text{CH}}$) e a longa distância (HMBC: $^nJ_{\text{CH}}$, $n=2$ e 3), em CD_3OD como solvente

C	HSQC BP-8A		HMBC BP-8A		Lit.* (D_2O)	
	δ_{C}	δ_{H}	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	δ_{C}	δ_{H}
1	155,5	-	H-2; H-8	H-7	155,4	-
2	127,2	6,28 (d, $J=10,9$)	H-5	H-2; H-6; H-8	128,5	6,35 (dl, $J=10,5$)
3	139,2	6,02 (d, $J=10,9$)	H-4; H-6	H-7	139,8	6,05 (dl, $J=10,5$)
4	67,3	4,63 (m)	H-7	H-8	68,1	4,28 (m)
5	70,6	4,22 (m)	H-8		79,4	4,6-5,0
6	78,0	4,81 (d, $J=4,7$)	H-7	H-2; H-6; H-1'	72,0	4,6-5,0
7	100,2	5,62 (s)		H-8	102,5	5,70 (s)
8	118,5	-	H-2		120,1	-
1'	104,6	4,60 (d, $J=7,8$)	H-2'	H-8	105,3	3,1-4,0
2'	75,0	3,19 (m)	H-3'		75,6	3,1-4,0
3'	78,2	3,3-3,4	H-2'; H-4'	H-5'	78,6	3,1-4,0
4'	71,6	3,3-3,4	H-3'; H-5'	H-6'	71,3	3,1-4,0
5'	78,2	3,3-3,4	H-4'; H-6'		78,3	3,1-4,0
6'	62,9	3,86 (m) 3,69 (m)			63,2	3,1-4,0

Deslocamentos químicos (δ_{C} e δ_{H}) em ppm e constante de acoplamento (J) em Hz
* (WU *et al.*, 1979)

Tabela 17 Dados de RMN ^1H e ^{13}C de BP-8B, incluindo correlação heteronuclear através de uma ligação (HSQC: $^1J_{\text{CH}}$) e a longa distância (HMBC: $^nJ_{\text{CH}}$, $n=2$ e 3), em CD_3OD como solvente

C	HSQC BP-8B		HMBC BP-8B		Lit.* (D_2O)
	δ_{C}	δ_{H}	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	δ_{H}
1	104,2	4,28 (d, $J=7,8$)	H-2	H-1'	4,47 (d, $J=8,0$)
2	75,2	3,19 (m)	H-3		3,25 (dd, $J=8,0; 9,3$)
3	78,2	3,3-3,4	H-2; H-4	H-5	3,50 (t, $J=9,1$)
4	71,8	3,3-3,4	H-3; H-5	H-6	3,38 (dd, $J=9,5$)
5	78,2	3,3-3,4	H-4; H-6		3,47 (ddd, $J=2,2; 5,8; 9,8$)
6	62,9	3,86 (m) 3,69 (m)		H-4	3,92 (dd, $J=2,2; 12,3$)
1'	66,3	3,96 (m) 3,62 (m)	H-2'	H-1	3,96 (dq, $J=7,1; 9,8$)
2'	15,6	1,25 (t, $J=7,1$)	H-1'		1,23 (t, $J=7,1$)

Deslocamentos químicos (δ_{C} e δ_{H}) em ppm e constante de acoplamento (J) em Hz
* (KORTESNIEMI *et al.*, 2014)

Figura 132 Espectro na região do infravermelho de BP-8

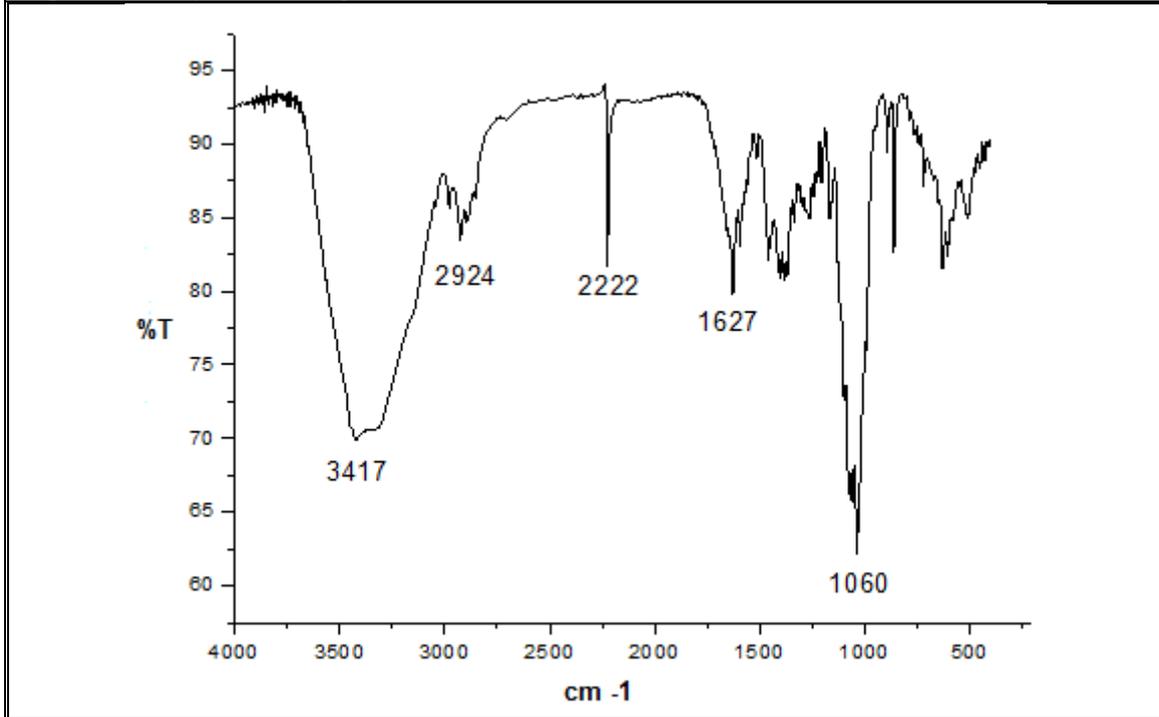


Figura 133 Espectro de RMN ¹H [300 MHz, CD₃OD] de BP-8

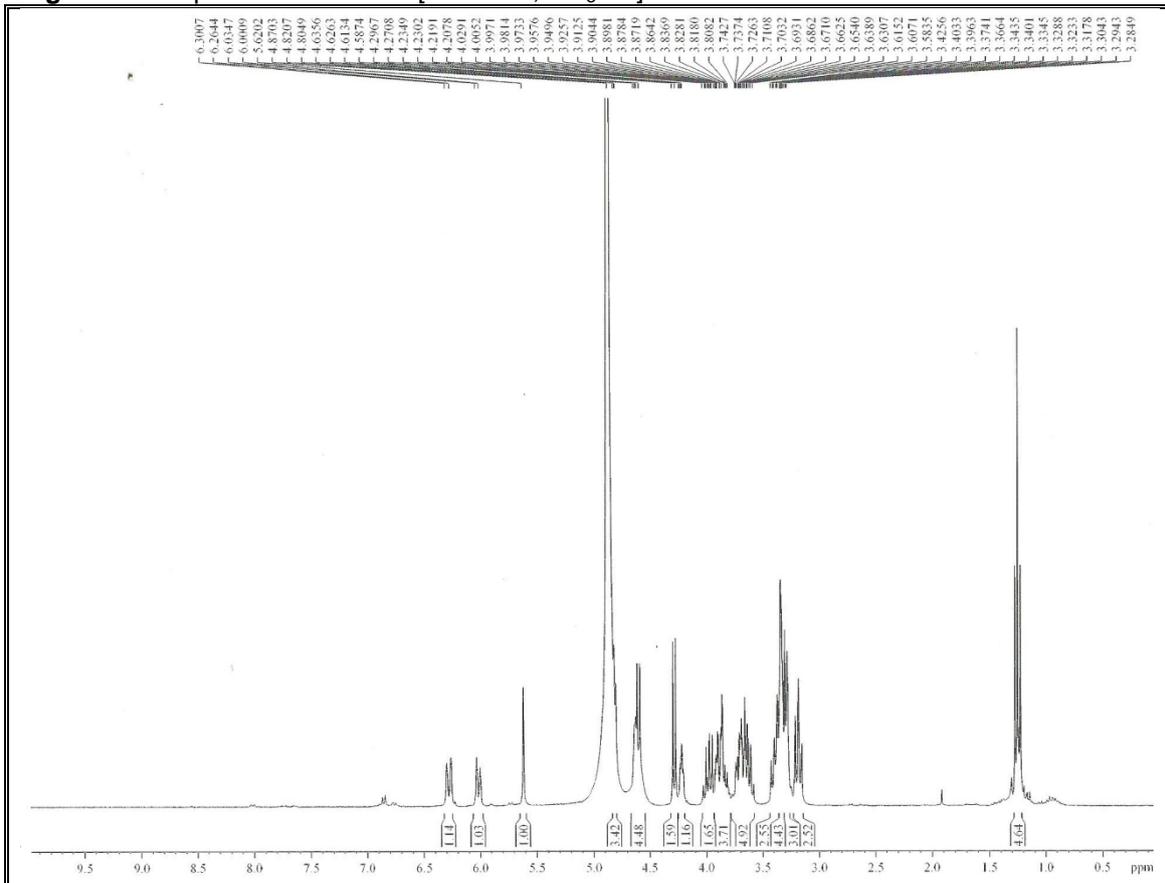


Figura 134 Expansão do espectro de RMN ¹H [300 MHz, CD₃OD] de BP-8

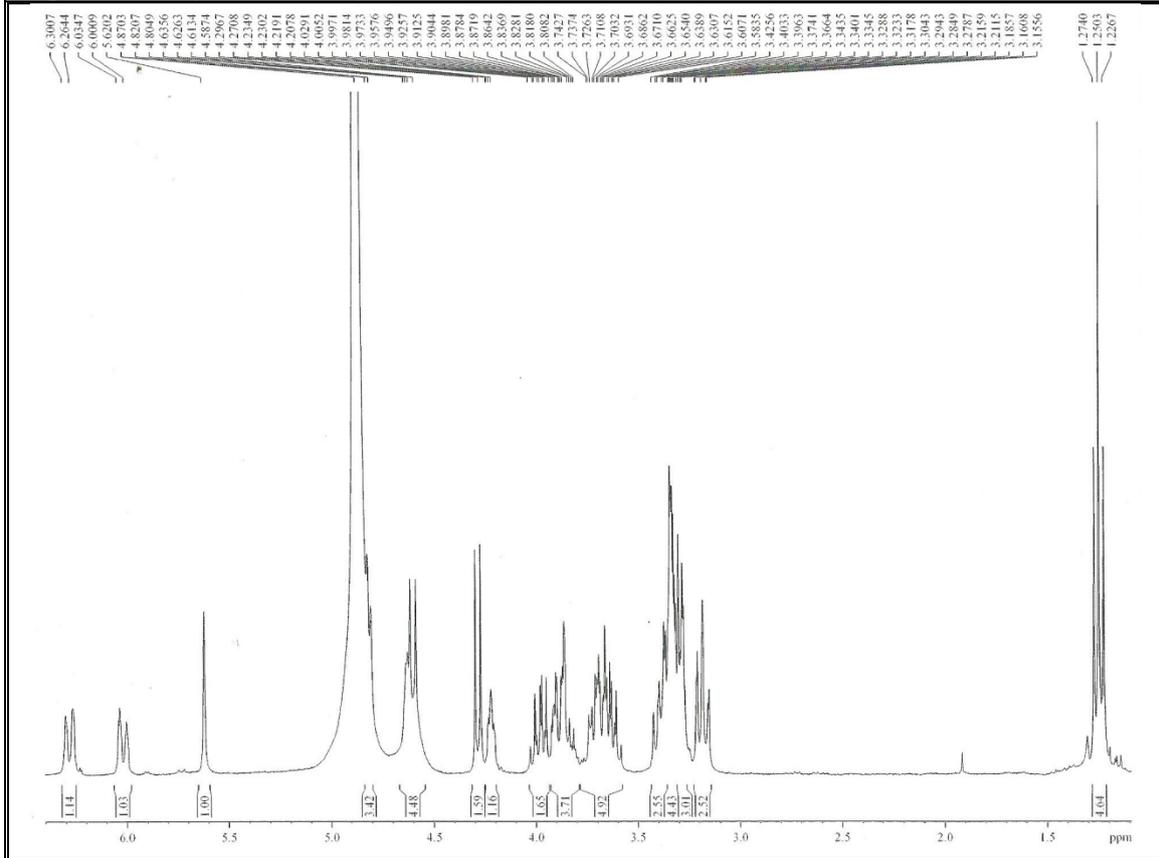


Figura 135 Expansão do espectro de RMN ¹H [300 MHz, CD₃OD] de BP-8

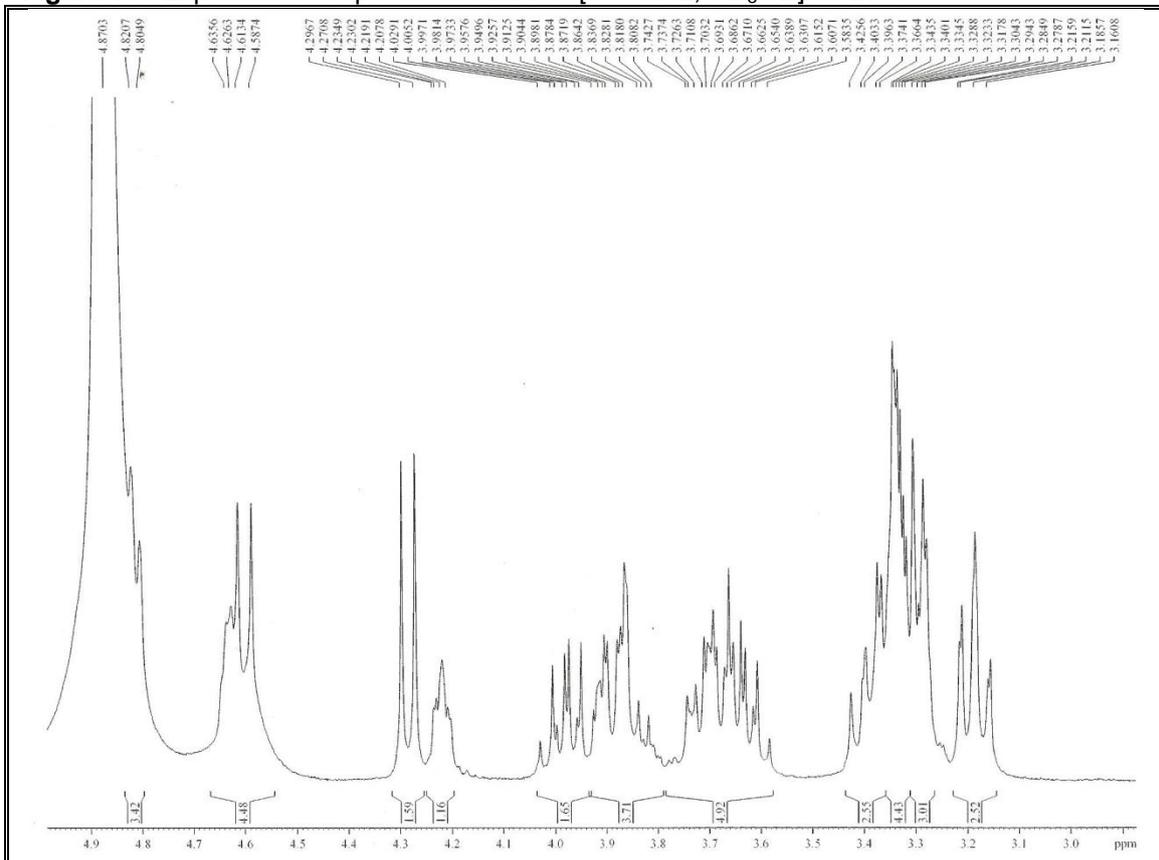


Figura 136 Espectro de RMN ^{13}C -CPD [75 MHz, CD_3OD] de BP-8

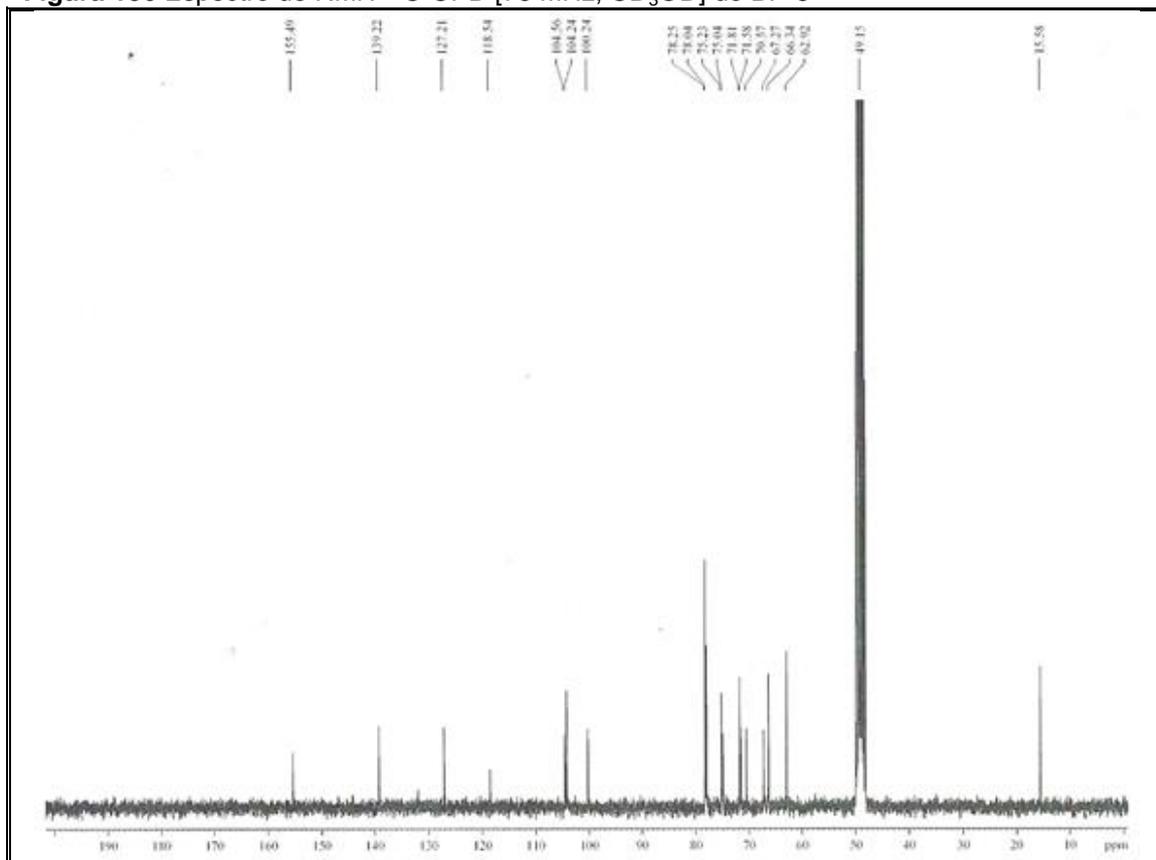


Figura 137 Expansão do espectro de RMN ^{13}C -CPD [75 MHz, CD_3OD] de BP-8

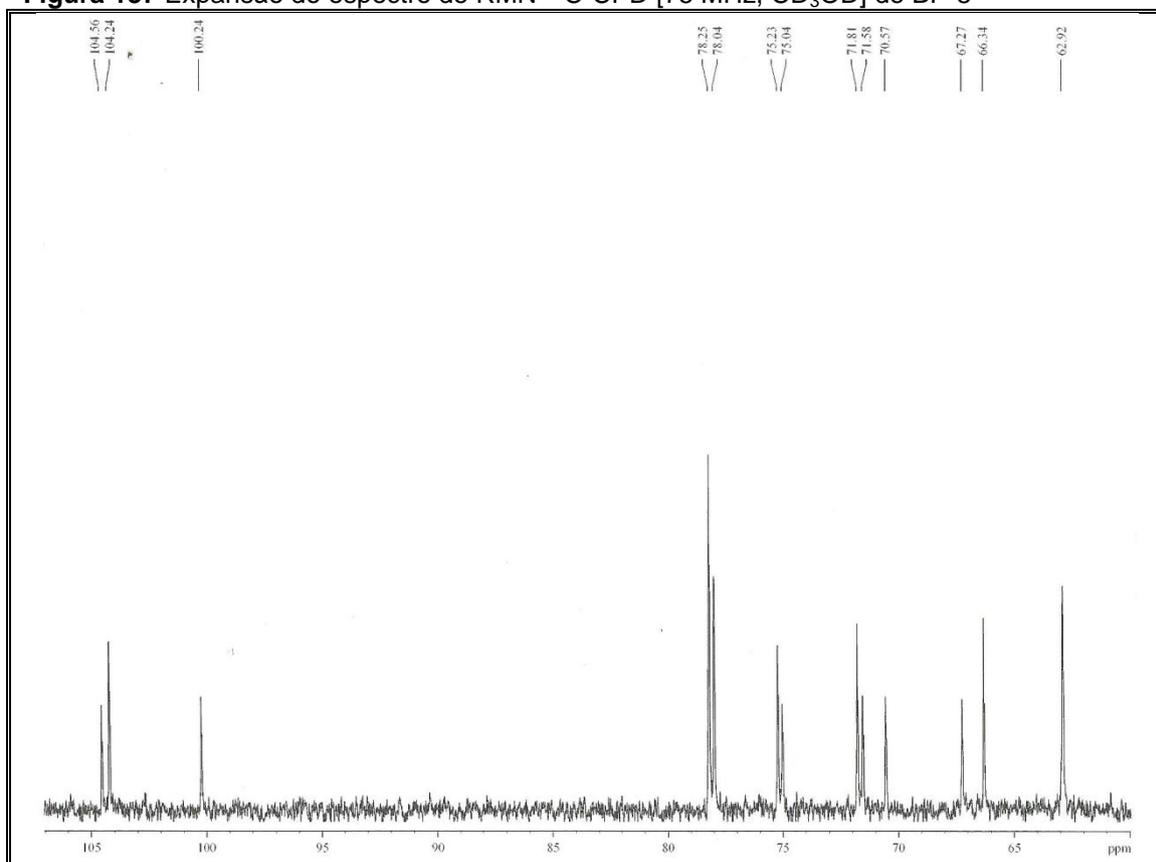


Figura 138 Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° [75 MHz, CD_3OD] de BP-8

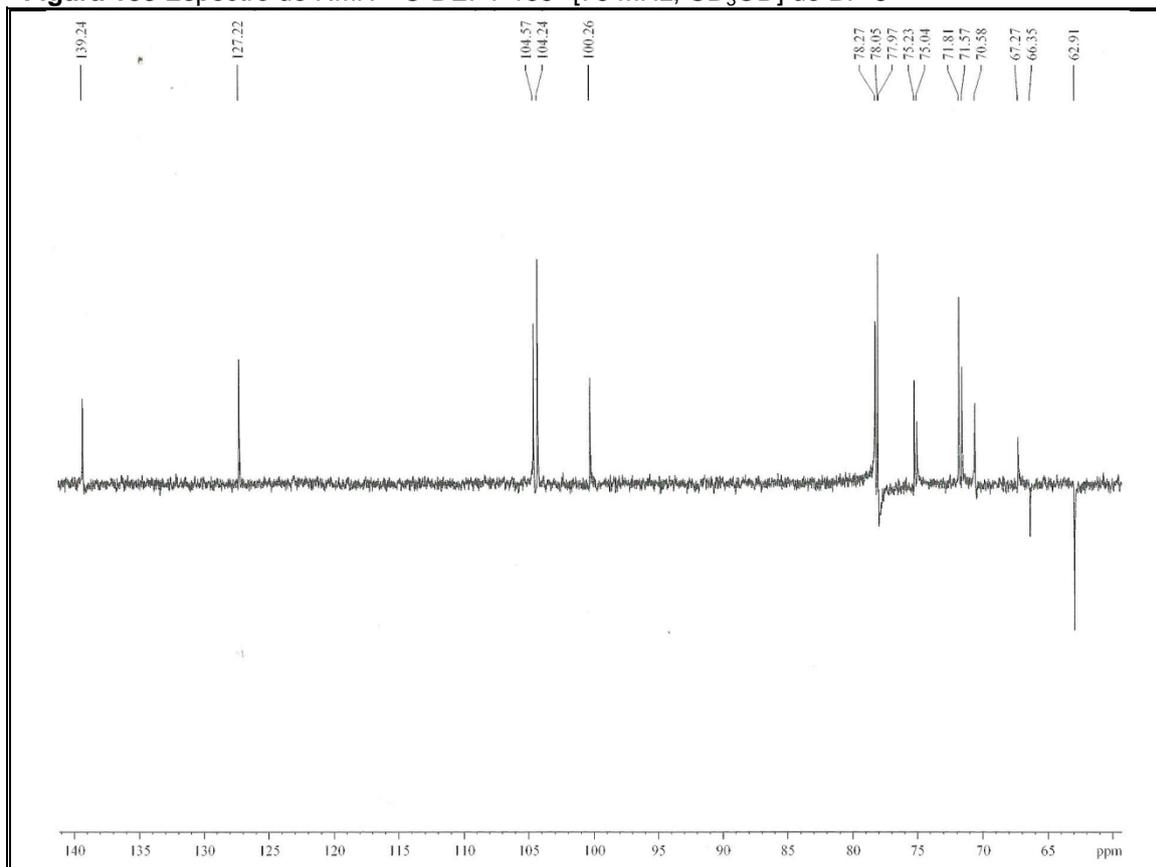


Figura 139 Espectro de RMN 2D ^1H , ^1H -COSY [300 x 300 MHz, CD_3OD] de BP-8

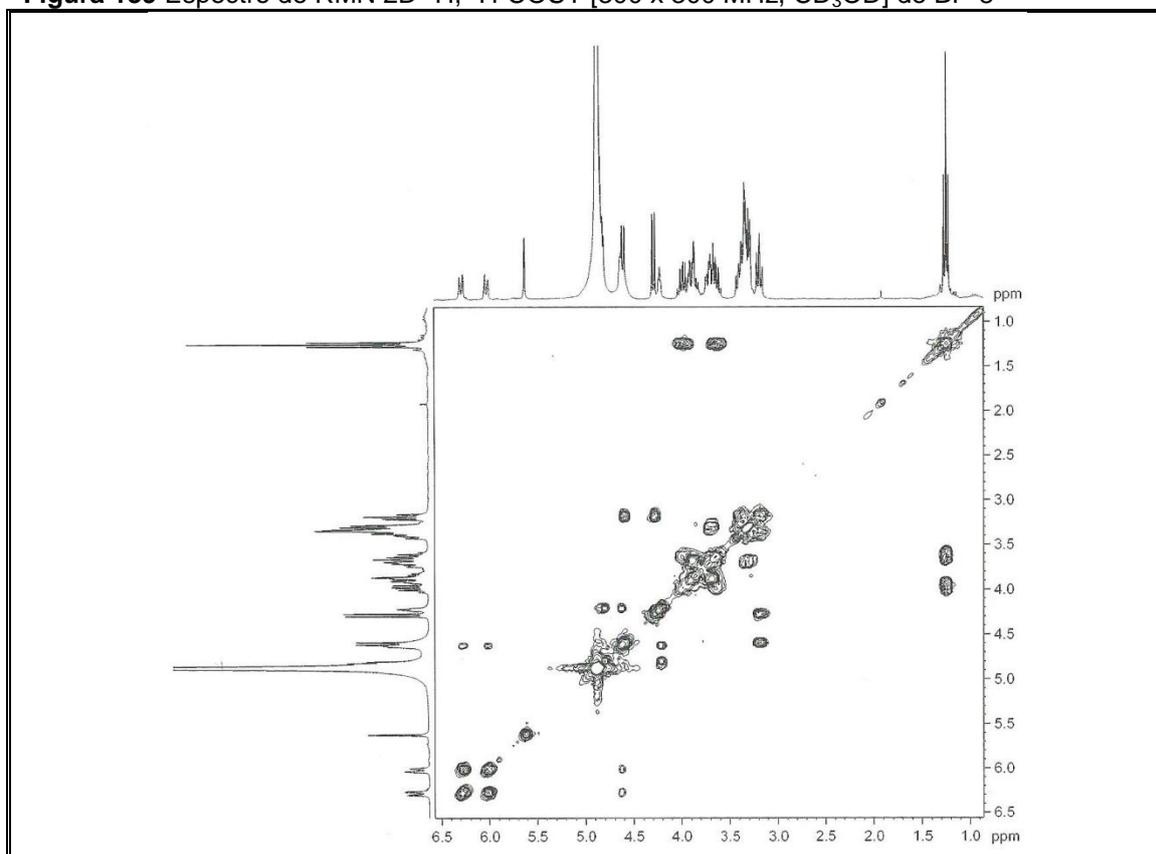


Figura 140 Expansão do espectro de RMN 2D ^1H , ^1H -COSY [300 x 300 MHz, CD_3OD] de BP-8

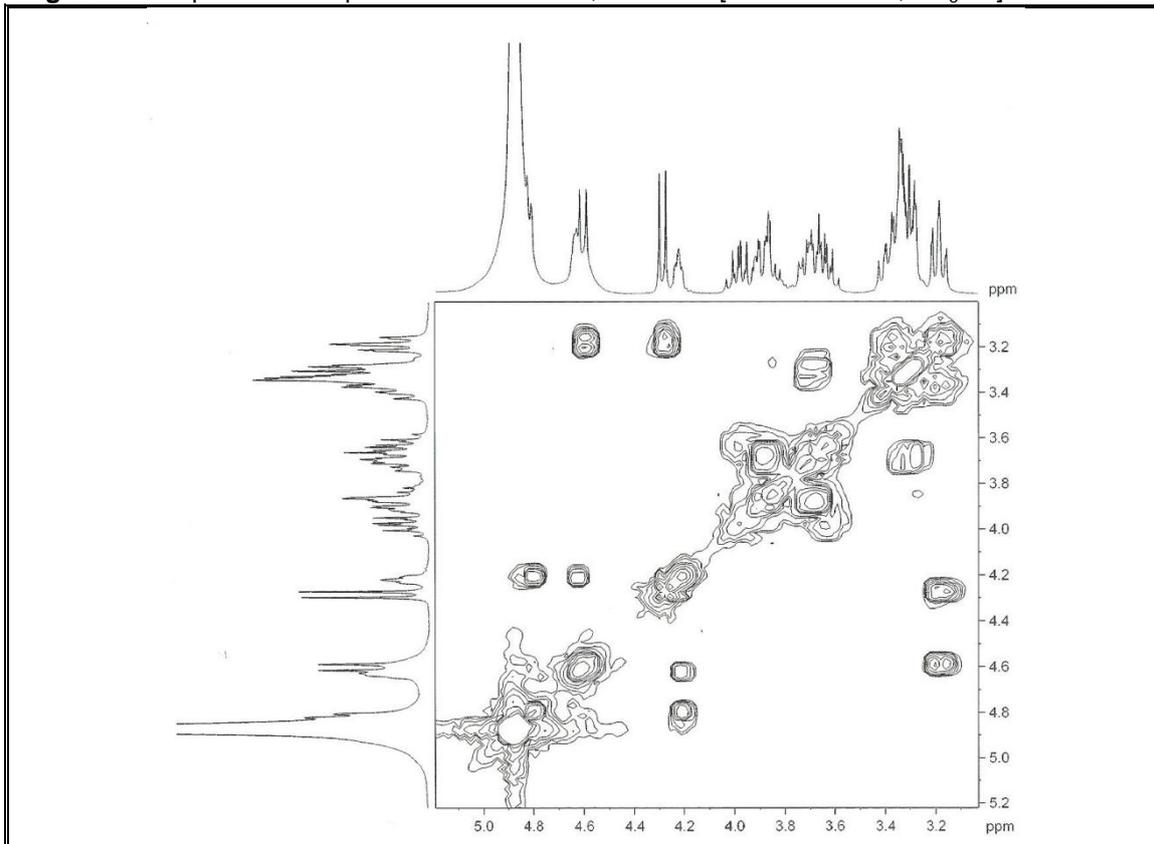


Figura 141 Espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HSQC [300 x 75 MHz, CD_3OD] de BP-8

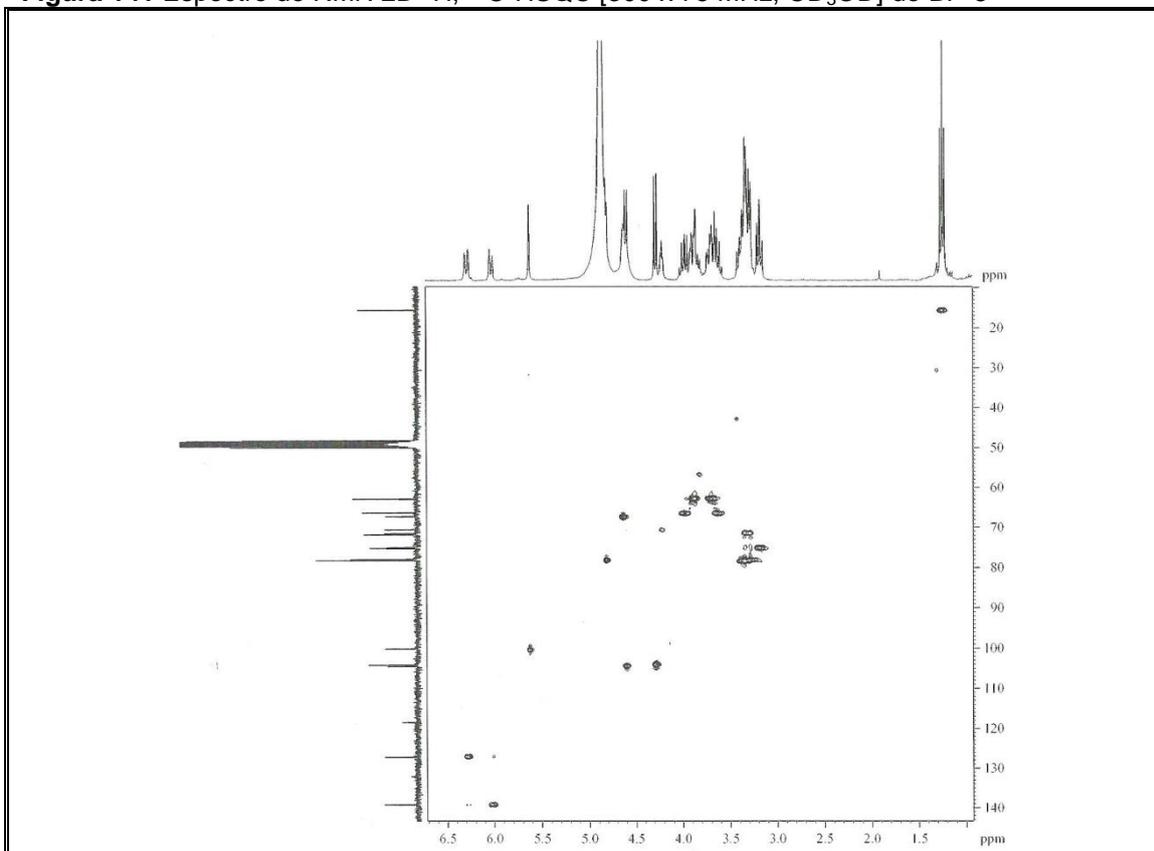


Figura 142 Expansão do espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HSQC [300 x 75 MHz, CD_3OD] de BP-8

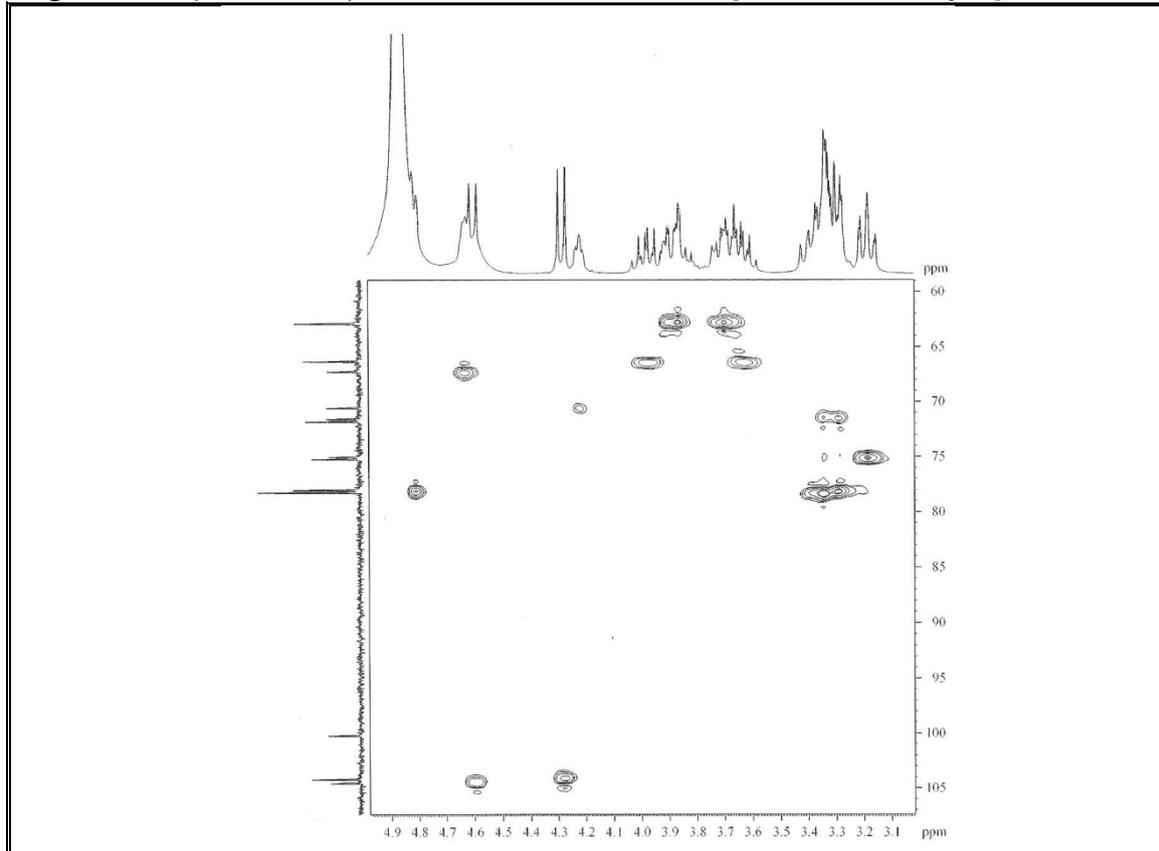


Figura 143 Espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HMBC [300 x 75 MHz, CD_3OD] de BP-8

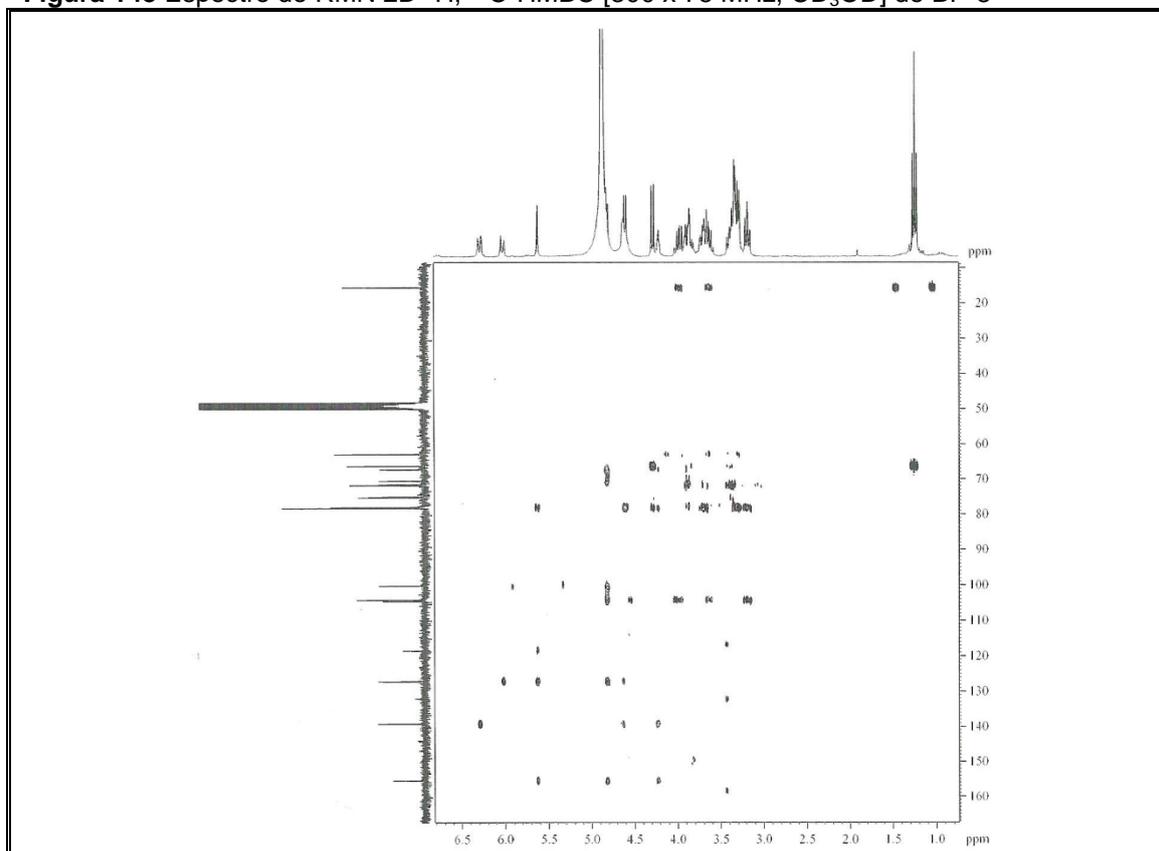


Figura 144 Expansão do espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HMBC [300 x 75 MHz, CD_3OD] de BP-8

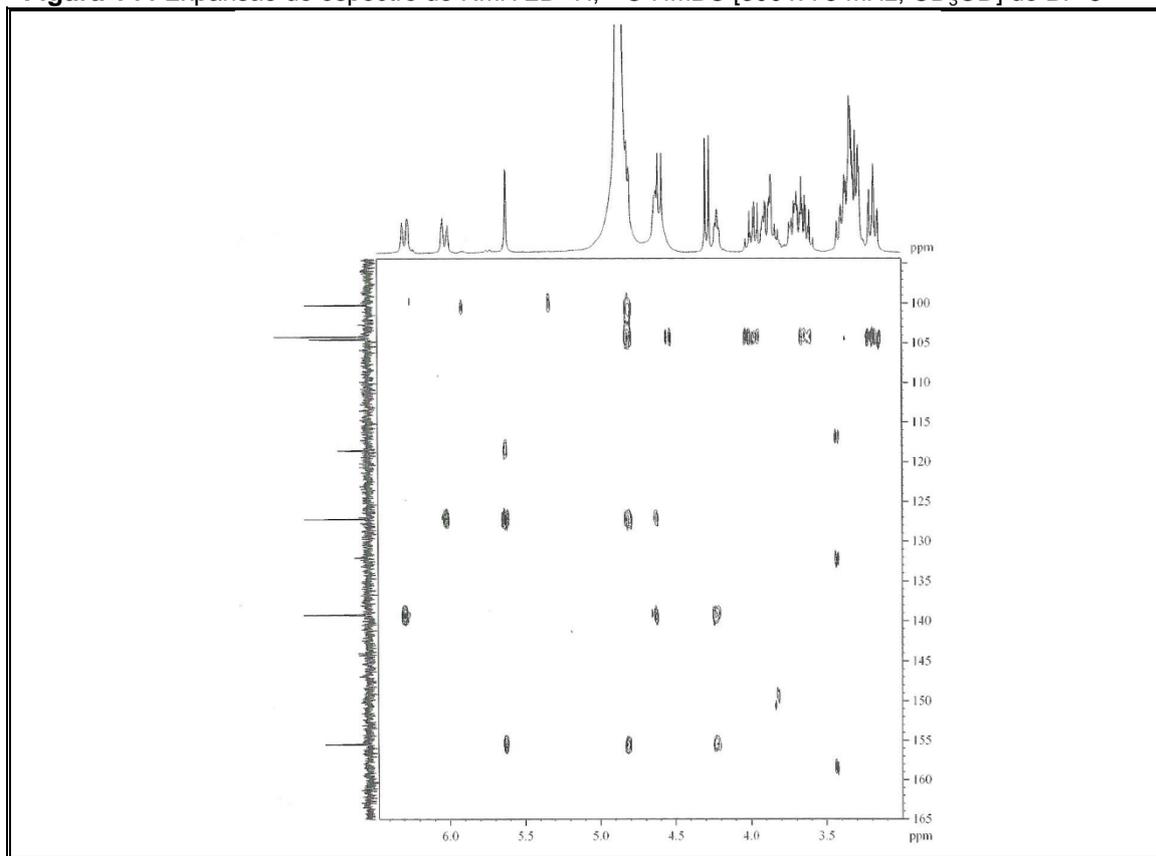


Figura 145 Expansão do espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HMBC [300 x 75 MHz, CD_3OD] de BP-8

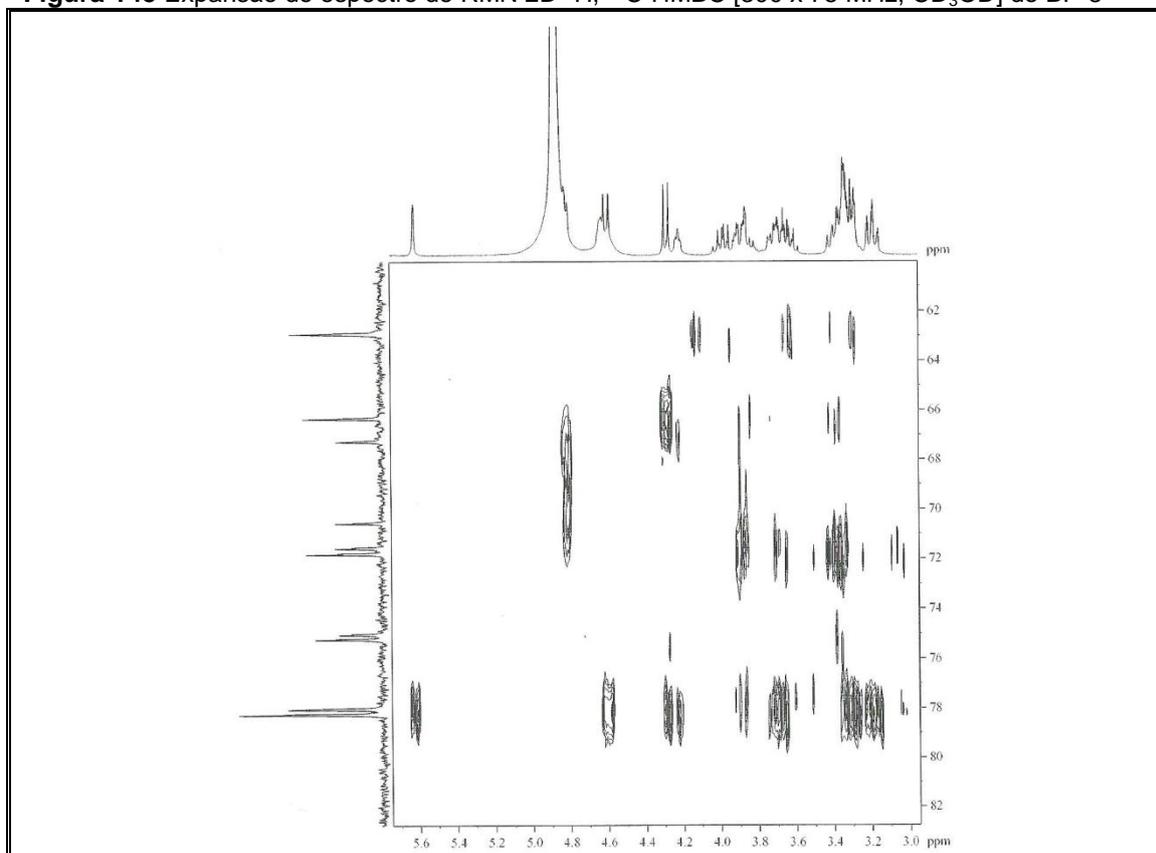


Figura 146 Espectro de RMN 2D ^1H , ^1H -NOESY [300 x 300 MHz, CD_3OD] de BP-8

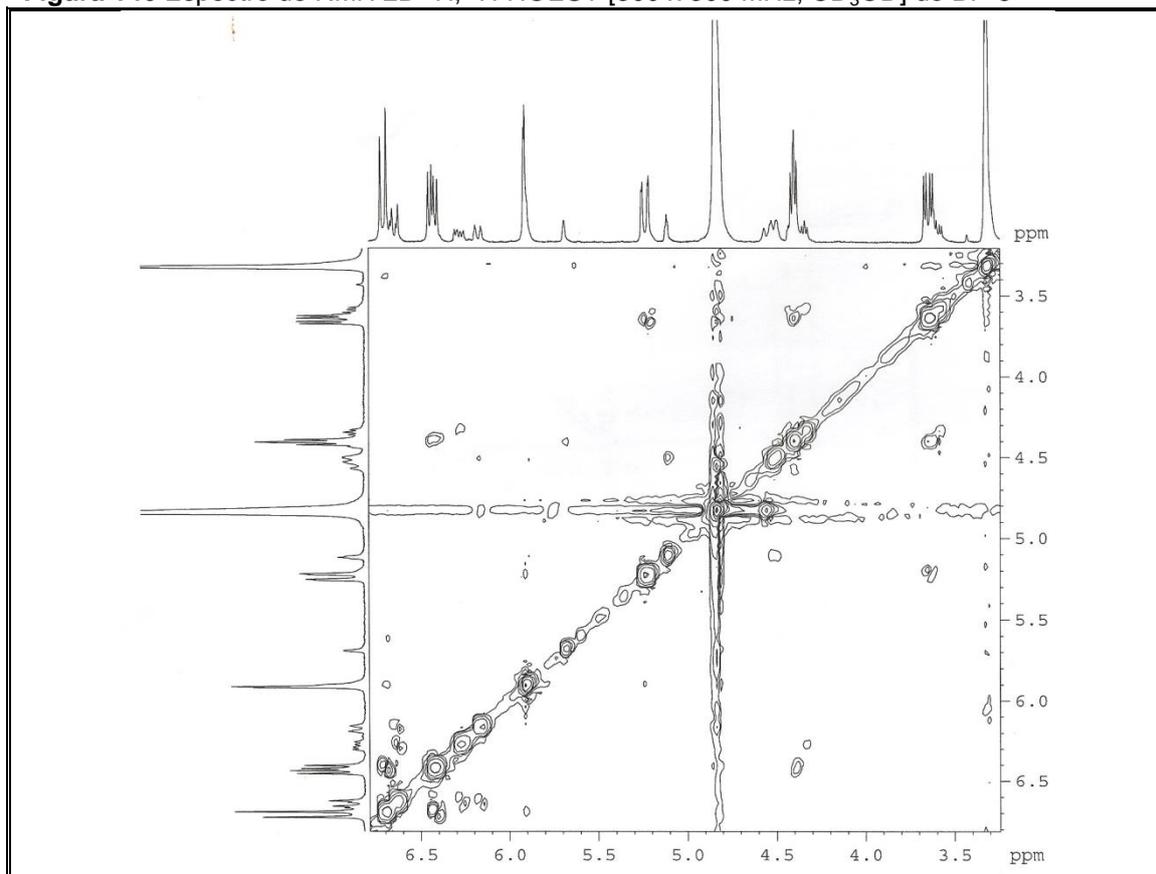
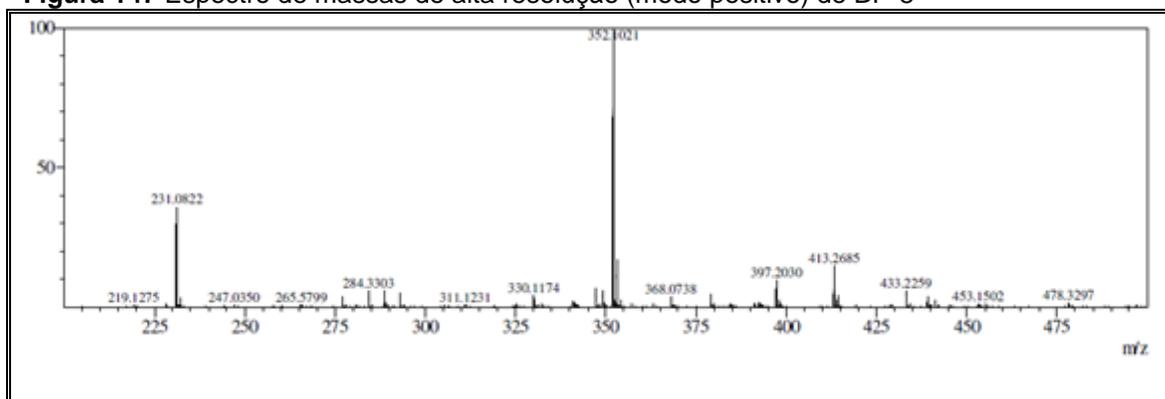


Figura 147 Espectro de massas de alta resolução (modo positivo) de BP-8



4.5 Estudo dos constituintes fixos de *B. monandra*

4.5.1 Determinação estrutural de BM-1

A fração acetato de etila obtida a partir de coluna filtrante a vácuo do extrato EEBM, após ser submetida a algumas cromatografias em coluna, resultou na F 29-32, que foi cromatografada por CLAE, fornecendo 15,7 mg de um óleo amarelo, com solubilidade em clorofórmio.

O espectro na região do infravermelho (**Fig. 148, p. 170**) apresentou bandas de absorção em: 1734 cm^{-1} , referente a deformação axial de carbonila; 2919 e 2850 cm^{-1} de ligação C–H; 1264 e 1177 cm^{-1} de ligação C–O; além de absorções de deformação angular de grupos metileno e metila em 1463 e 1376 cm^{-1} , respectivamente.

O espectro de RMN ^1H [300 MHz, CDCl_3] (**Fig. 149, p. 170**) indicou a presença de um segmento carboetoxila através dos sinais em δ_{H} 4,17 (q, $J=7,1$ Hz, 2H-1') e 1,30 (t, $J=7,0$ Hz, 3H-2'); de hidrogênios metílicos em δ_{H} 0,93 (t, 3H-16/3H-18) e de hidrogênios metilênicos em δ_{H} 2,33 (t, 2H-2), vicinal a um grupo carbonila. Em adição, vários sinais na região entre δ_{H} 0,98 e 2,10 ppm, propondo que trata-se de uma substância alifática de cadeia longa, provavelmente um éster etílico de ácido graxo.

A análise comparativa dos espectros de RMN ^{13}C -CPD e DEPT 135° [75 MHz, CDCl_3] (**Fig. 150, 151 e 152, p. 171 e 172**) permitiu atribuir as absorções em δ_{C} 174,1 à carbonila do éster, δ_{C} 60,4 a carbono metilênico oxigenado, δ_{C} 14,3 e 14,5 a carbonos metílicos e vários sinais de carbonos metilênicos em δ_{C} 22,9-34,6 ppm (**Tab. 18, p. 169**).

A análise por CG-EM demonstrou a presença majoritária de dois ésteres de ácidos graxos identificados como palmitato de etila (**1**, 67,21%) e estearato de etila (**2**, 17,75%), com tempos de retenção (TR) de 11,463 e 12,364 min, respectivamente, como pode ser visto no cromatograma (**Fig. 153, p. 172**).

Os espectros de massas do palmitato de etila (**Fig. 154, p. 173**) e do estearato de etila (**Fig. 155, p. 173**) revelaram os picos dos íons moleculares em m/z 284 e 312 Daltons, confirmando as fórmulas moleculares $\text{C}_{18}\text{H}_{36}\text{O}_2$ e

$C_{20}H_{40}O_2$, respectivamente, e IDH=1. Estes derivados de ácidos graxos estão sendo isolados e identificados pela primeira vez no gênero *Bauhinia*.

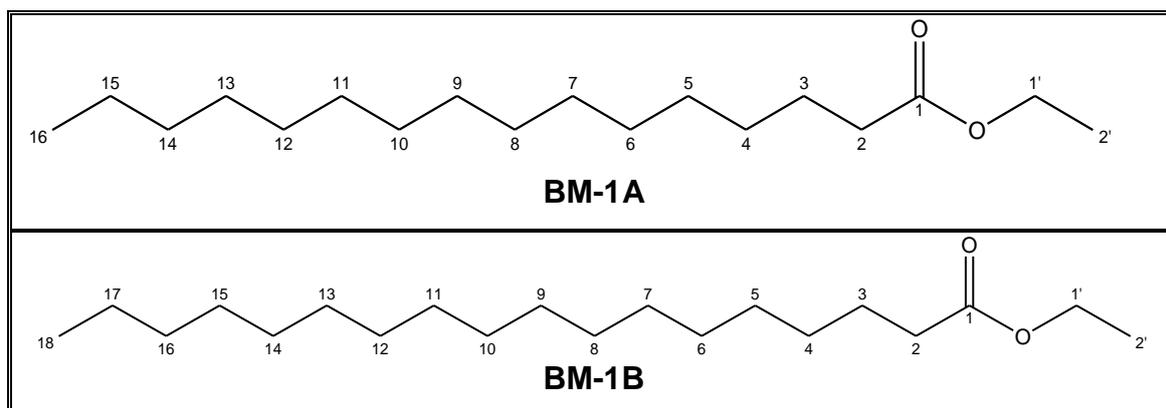


Tabela 18 Deslocamentos químicos (δ) de RMN ^{13}C ($CDCl_3$) de BM-1

C	Palmitato de etila (67,21%)		Estearato de etila (17,75%)	
	BM-1A	Lit.* ($CDCl_3$)	BM-1B	Lit.* ($CDCl_3$)
	δ_c	δ_c	δ_c	δ_c
1	174,1	174,3	174,1	174,3
2	34,6	34,8	34,6	34,8
3	25,2	25,4	25,2	25,4
4-13	29,4 - 29,9	29,5 - 30,1	29,4 - 29,9	29,5 - 30,1
14	32,2	32,3	29,4 - 29,9	29,5 - 30,1
15	22,9	23,0	29,4 - 29,9	29,5 - 30,1
16	14,3	14,5	32,2	32,3
17	-	-	22,9	23,0
18	-	-	14,3	14,5
1'	60,4	60,5	60,4	60,5
2'	14,5	14,6	14,5	14,6

Deslocamentos químicos (δ_c) em ppm

* (FEITOSA *et al.*, 2007)

Figura 148 Espectro na região do infravermelho de BM-1

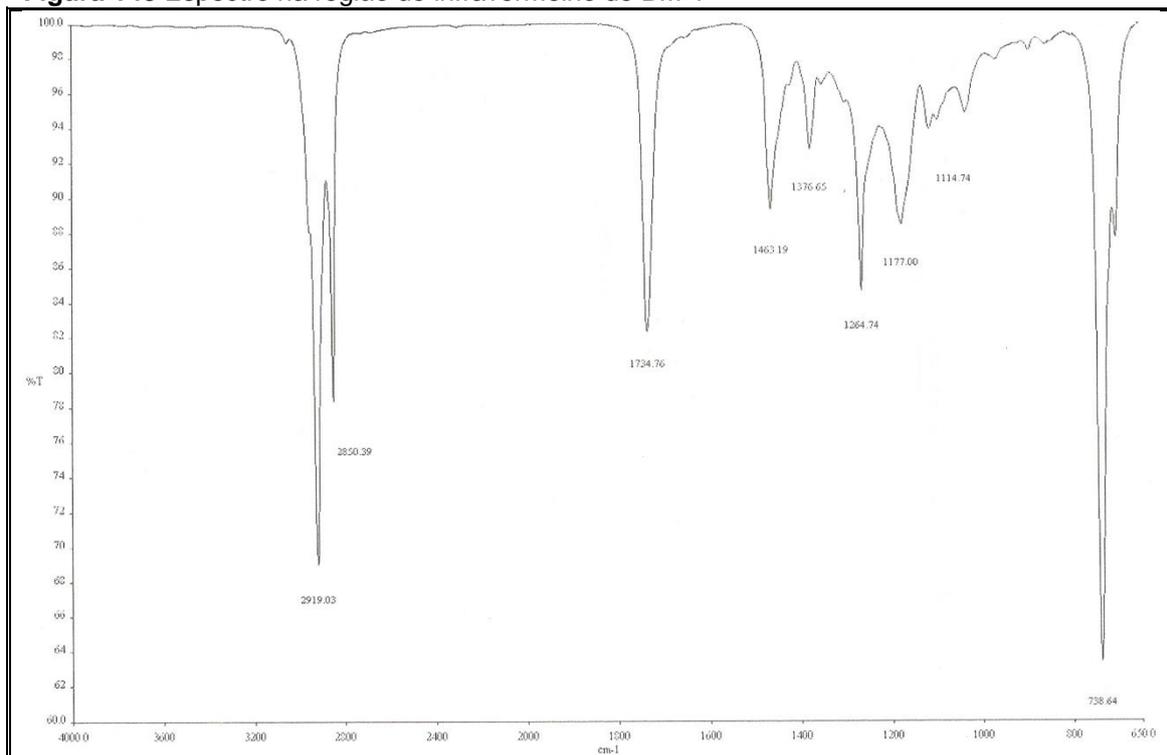


Figura 149 Espectro de RMN ¹H [300 MHz, CDCl₃] de BM-1

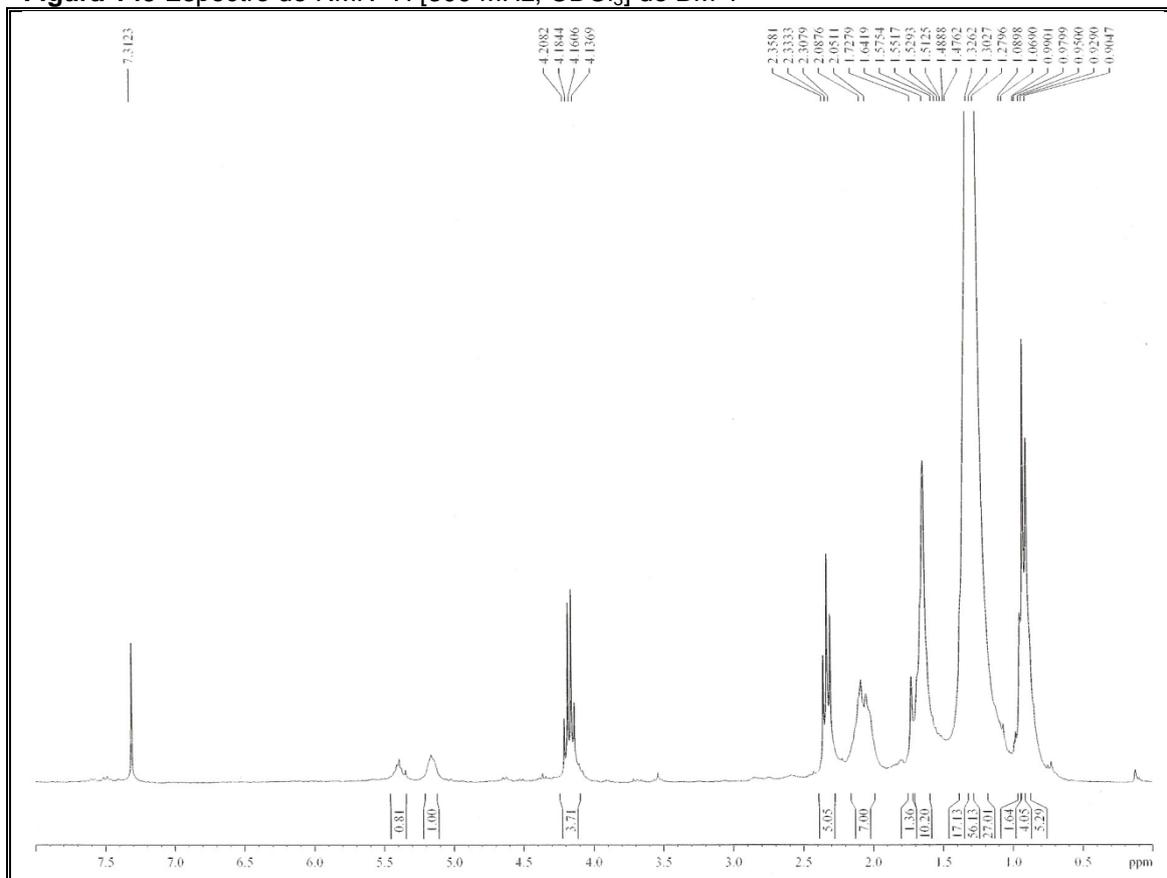


Figura 150 Espectro de RMN ^{13}C -CPD [75 MHz, CDCl_3] de BM-1

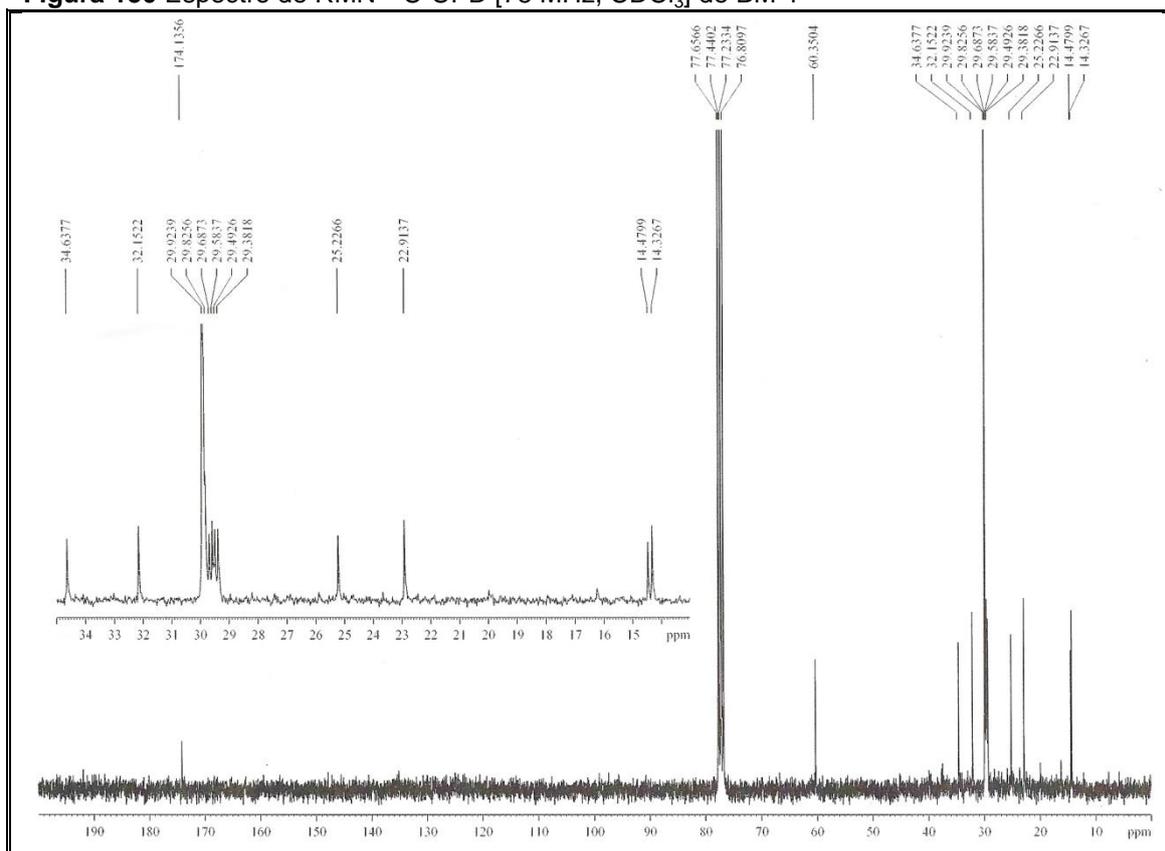


Figura 151 Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° [75 MHz, CDCl_3] de BM-1

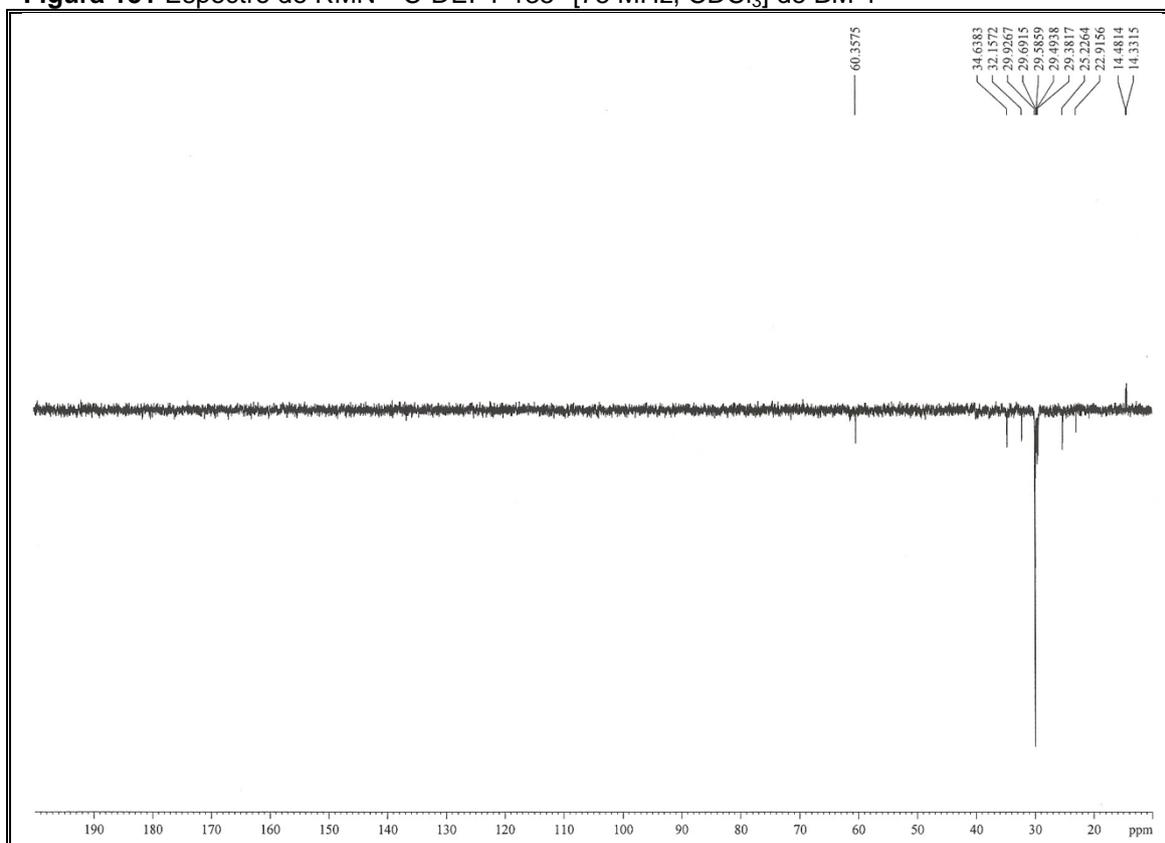


Figura 152 Expansão do espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° [75 MHz, CDCl_3] de BM-1

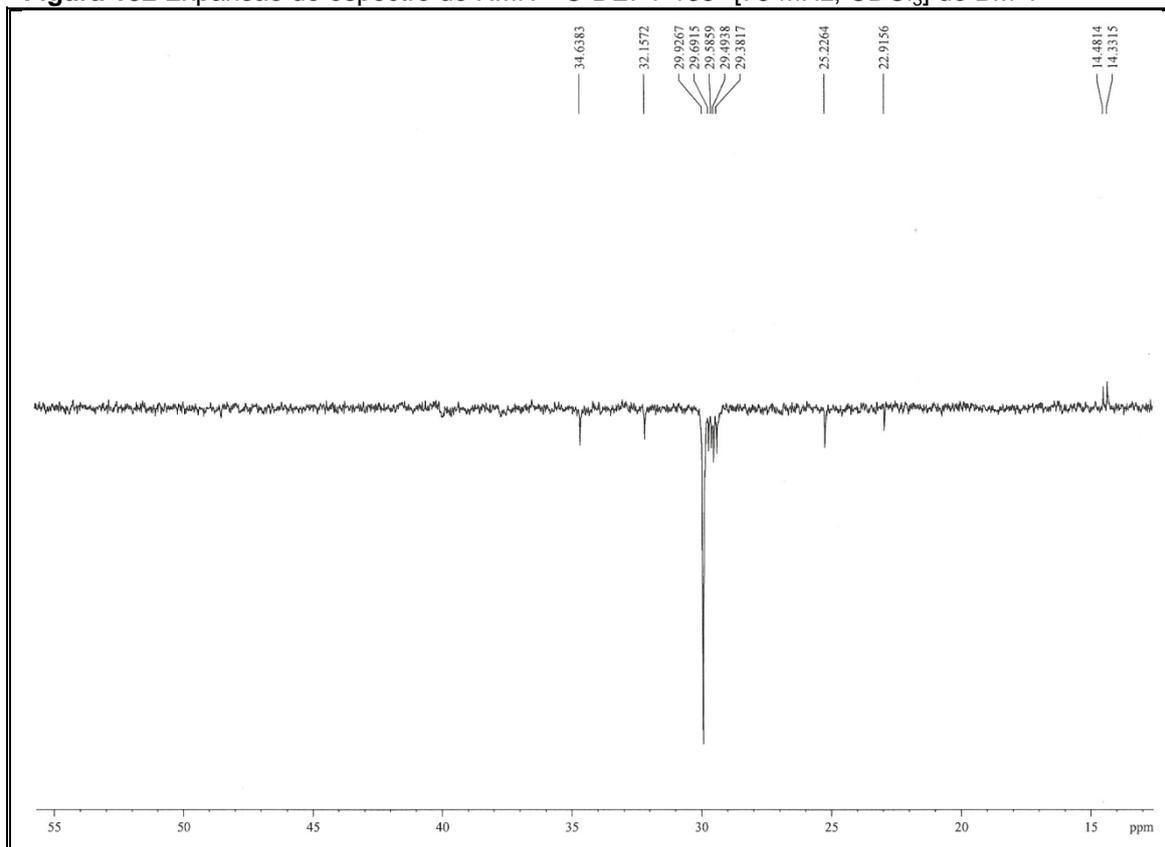


Figura 153 Cromatograma obtido por CG-EM para BM-1

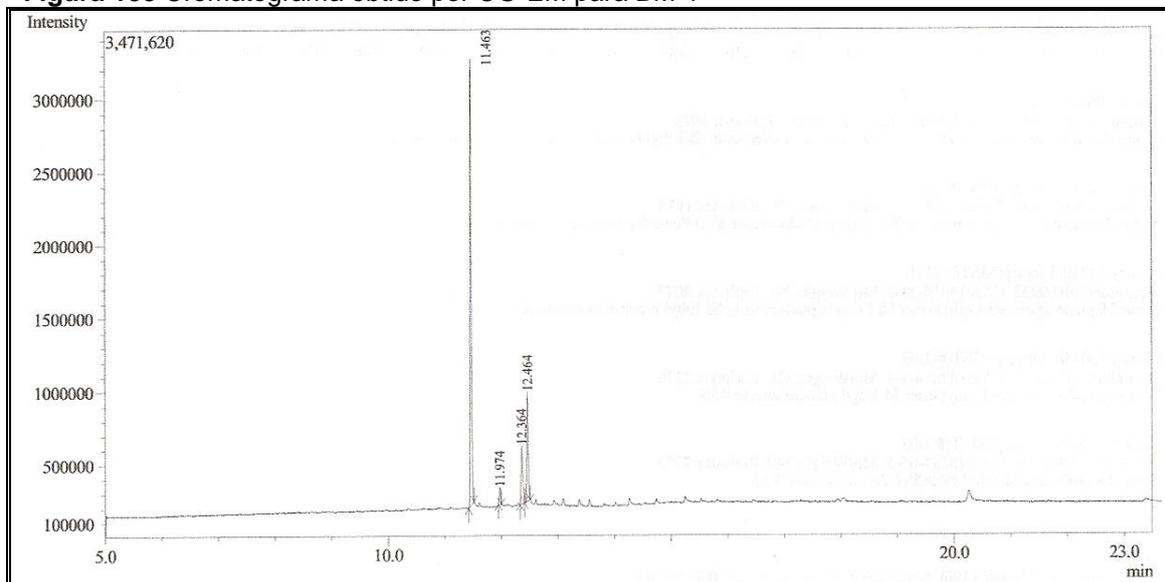


Figura 154 Espectro de massas do componente com TR 11,463 min: BM-1A (palmitato de etila)

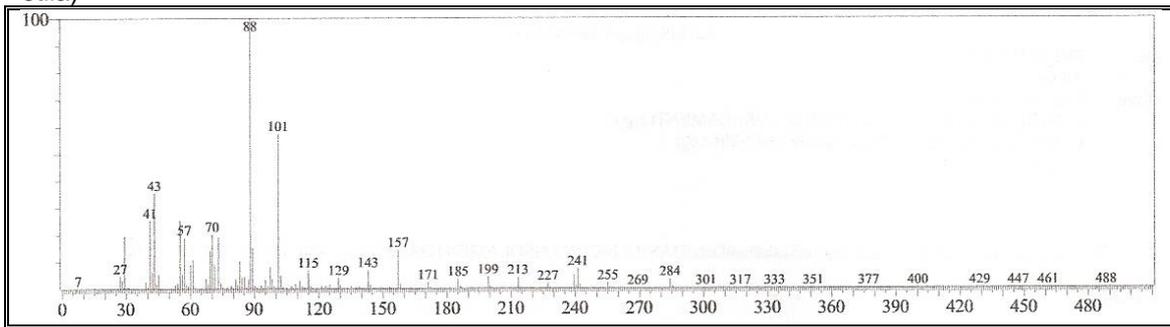
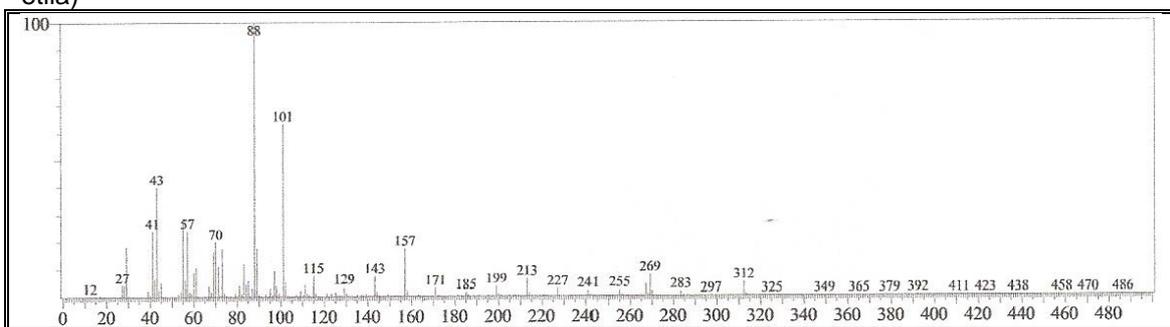


Figura 155 Espectro de massas do componente com TR 12,364 min: BM-1B (estearato de etila)



4.5.2 Determinação estrutural de BM-2

O composto BM-2 (18,0 mg) também foi obtido a partir da F 29-32 através do fracionamento cromatográfico por CLAE, apresentando-se como um óleo amarelo, com solubilidade em clorofórmio.

O espectro na região do infravermelho (**Fig. 156, p. 176**) apresentou uma banda de absorção em 3484 cm^{-1} , referente a deformação axial de ligação O–H, absorções de deformação axial de ligação C–H em 2924 e 2856 cm^{-1} , absorções em 1086 , 1158 e 1261 cm^{-1} de deformação axial de ligação C–O, além de absorções de deformação angular de grupos metileno e metila em 1459 e 1377 cm^{-1} , respectivamente.

O espectro de RMN ^1H [300 MHz, CDCl_3] (**Fig. 157 e 158, p. 176 e 177**) mostrou sinais em δ_{H} 0,88 (d, $J=6,7$ Hz, H-12'a/H-13'), 0,85 (d, H-4'a/H-8'a) 2,12 (s, H-5a/H-7a), 2,17 (s, H-8a), 1,24 (s, H-2a), 2,61 (t, $J=6,7$ Hz, H-4), 1,78 (m, H-3), característicos do α -tocoferol.

Os espectros de RMN ^{13}C -CPD e DEPT 135° [75 MHz, CDCl_3] (**Fig. 159, 160 e 161, p. 177 e 178**) exibiram vários sinais na região de carbonos sp^3 , sendo um oxigenado (δ_{H} 74,7), e seis na região de carbonos sp^2 , sendo dois oxigenados (δ_{H} 144,8 e 145,8) (**Tab. 19, p. 175**). Estes sinais estão de acordo com os dados espectrométricos do α -tocoferol (vitamina-E).

O espectro de massas (**Fig. 162, p. 179**) revelou o pico do íon molecular em m/z 430 Daltons, confirmando a fórmula molecular $\text{C}_{29}\text{H}_{50}\text{O}_2$ e IDH=5. A **Figura 163, p. 179**, mostra uma proposta mecanística que justifica os fragmentos registrados no espectro.

A vitamina-E está sendo registrada pela primeira vez no gênero *Bauhinia*.

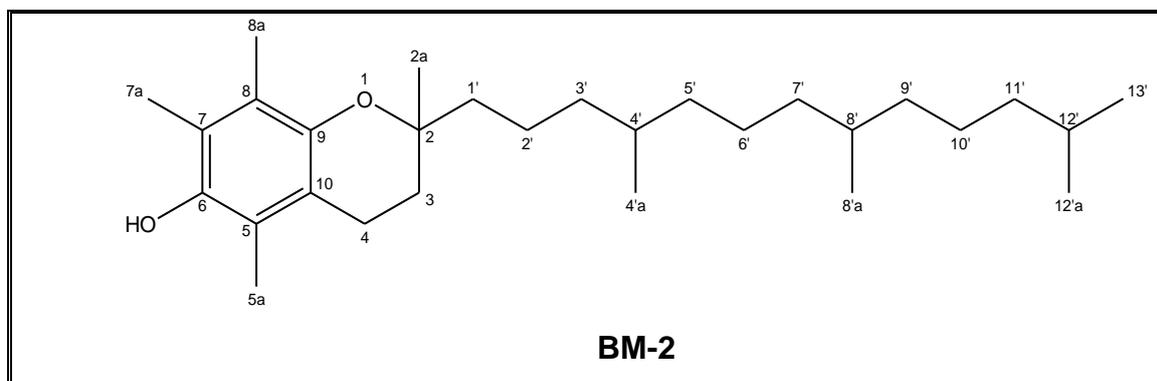


Tabela 19 Deslocamentos químicos (δ) de RMN ^1H e ^{13}C (CDCl_3) de BM-2

C	BM-2		Lit.* (CDCl_3)
	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
2	74,7	-	74,3
2a	24,0	1,24 (s)	23,8
3	31,8	1,78 (m)	31,6
4	21,0	2,61 (t, $J=6,7$)	20,8
5	118,7	-	118,5
5a	11,5	2,12 (s)	11,2
6	144,8	-	144,4
7	121,2	-	121,0
7a	12,4	2,12 (s)	12,1
8	122,8	-	122,3
8a	12,0	2,17 (s)	11,8
9	145,8	-	145,4
10	117,6	-	117,0
1'	40,0	1,00-1,70 (m)	39,8
2'	21,3	1,00-1,70 (m)	21,0
3'	37,5	1,00-1,70 (m)	37,5
4'	32,9	1,00-1,70 (m)	32,7
4'a	19,9	0,85 (d)	19,7
5'	37,5	1,00-1,70 (m)	37,5
6'	24,7	1,00-1,70 (m)	24,5
7'	37,7	1,00-1,70 (m)	37,5
8'	33,0	1,00-1,70 (m)	32,7
8'a	20,0	0,85 (d)	19,7
9'	37,7	1,00-1,70 (m)	37,5
10'	25,0	1,00-1,70 (m)	24,8
11'	39,6	1,00-1,70 (m)	39,4
12'	28,2	1,00-1,70 (m)	28,0
12'a	22,8	0,88 (d, $J=6,7$)	22,6
13'	22,9	0,88 (d, $J=6,7$)	22,6

Deslocamentos químicos (δ_{C}) em ppm
* (MATSUO; URANO, 1976)

Figura 156 Espectro na região do infravermelho de BM-2

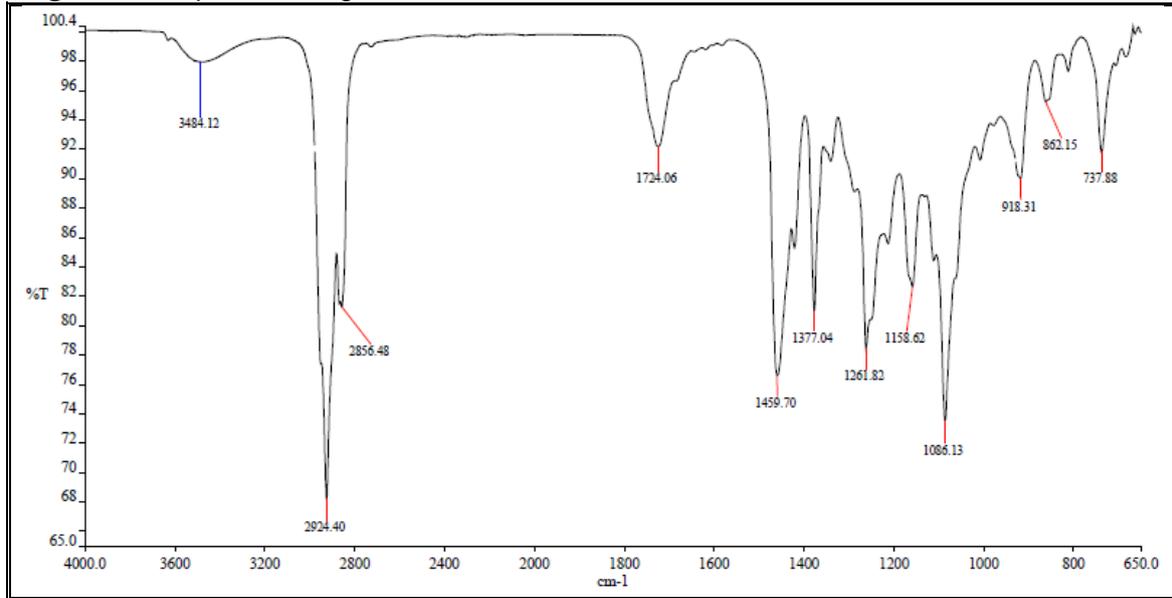


Figura 157 Espectro de RMN ¹H [300 MHz, CDCl₃] de BM-2

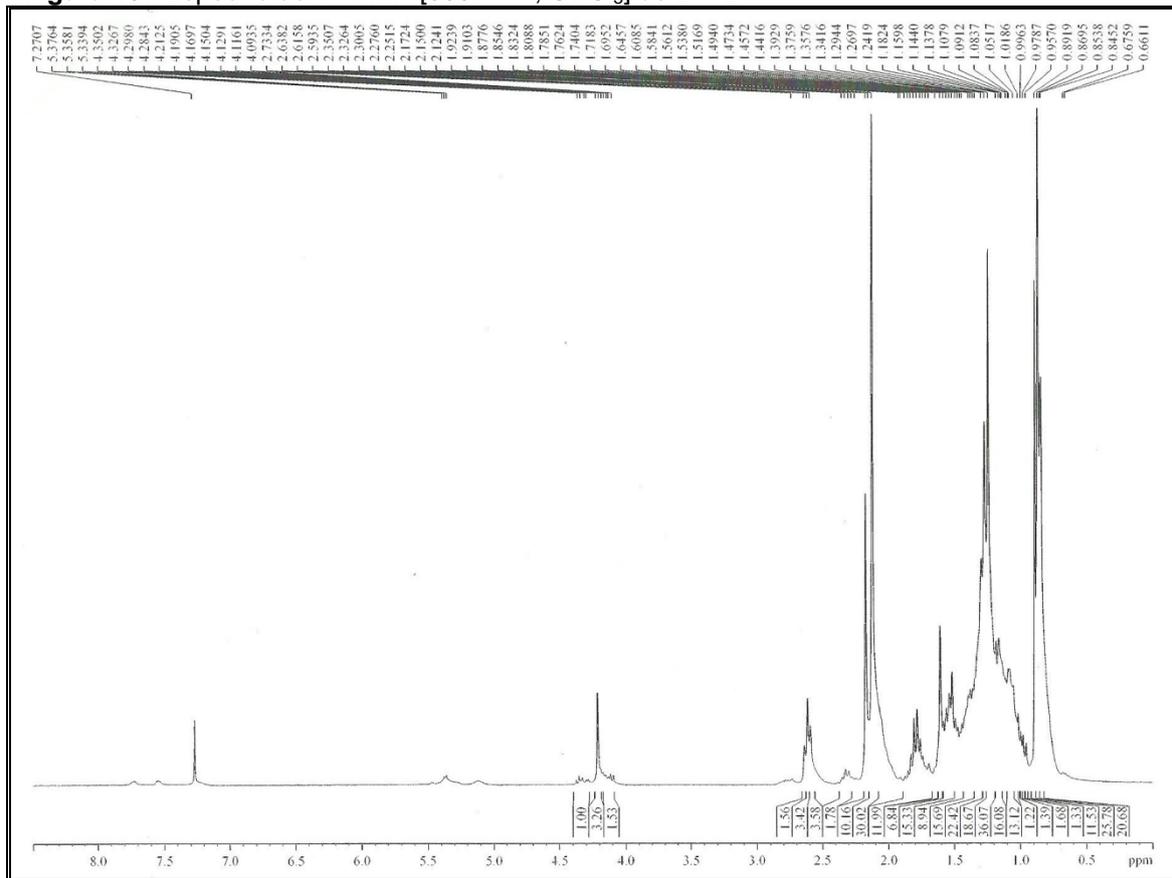


Figura 158 Expansão do espectro de RMN ^1H [300 MHz, CDCl_3] de BM-2

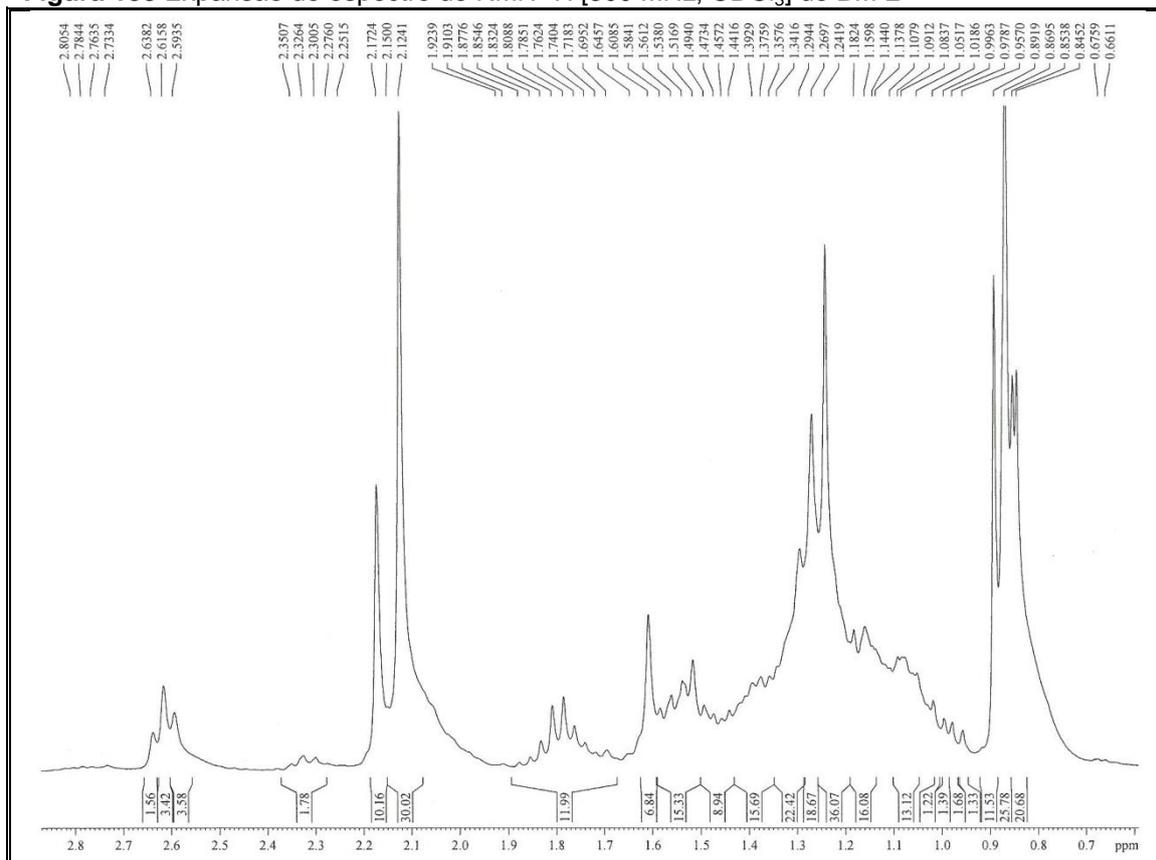


Figura 159 Espectro de RMN ^{13}C -CPD [75 MHz, CDCl_3] de BM-2

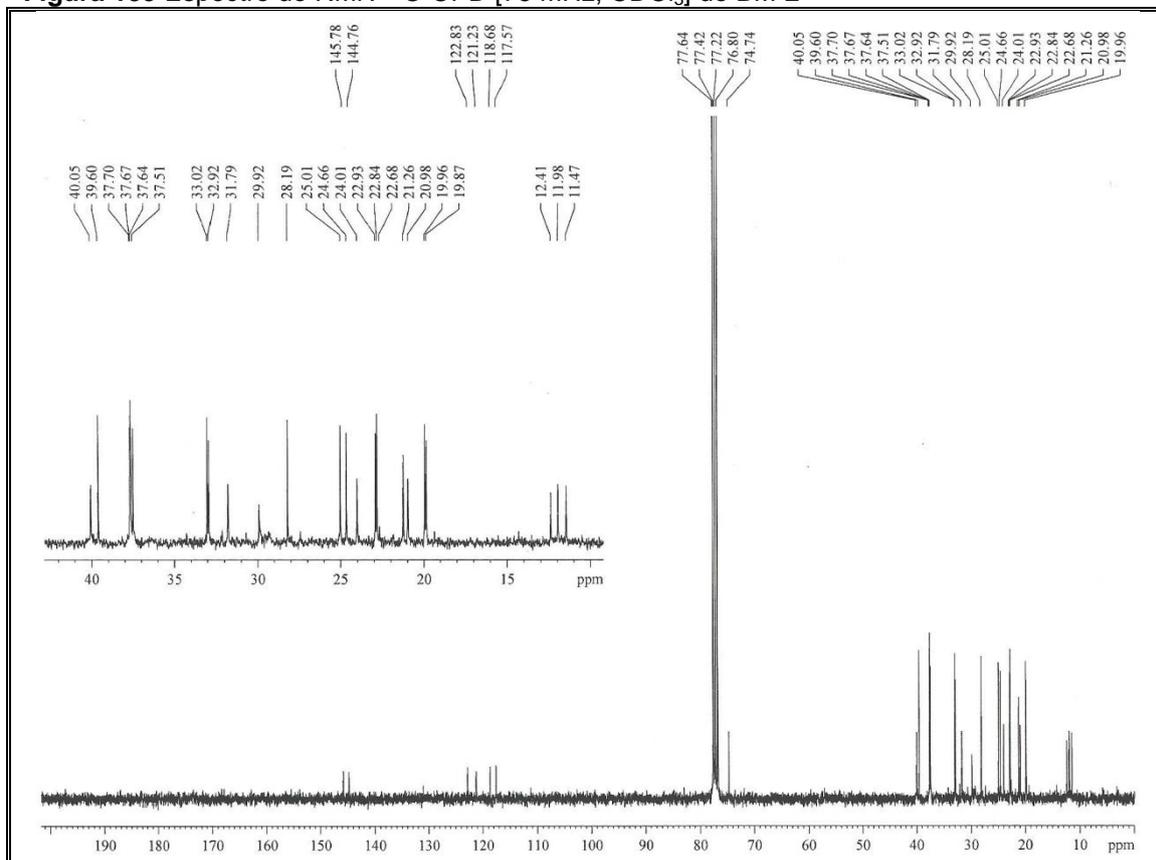


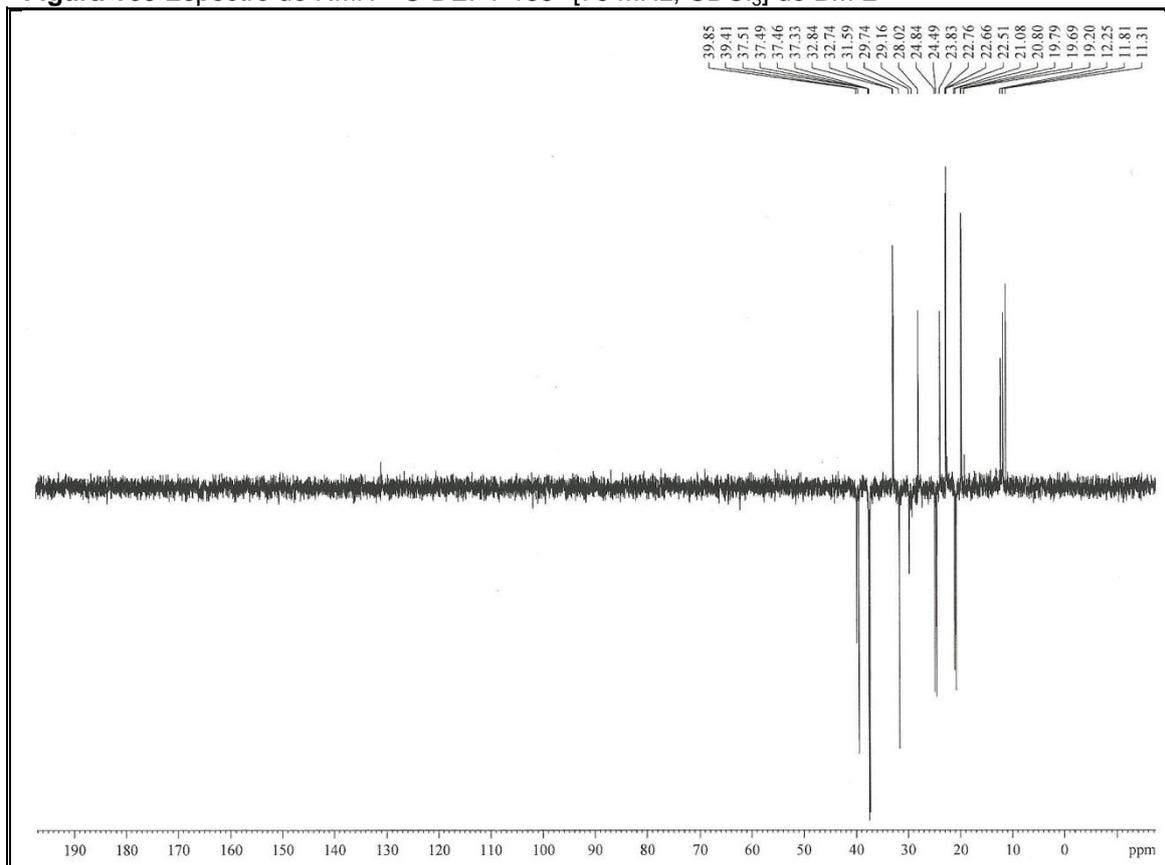
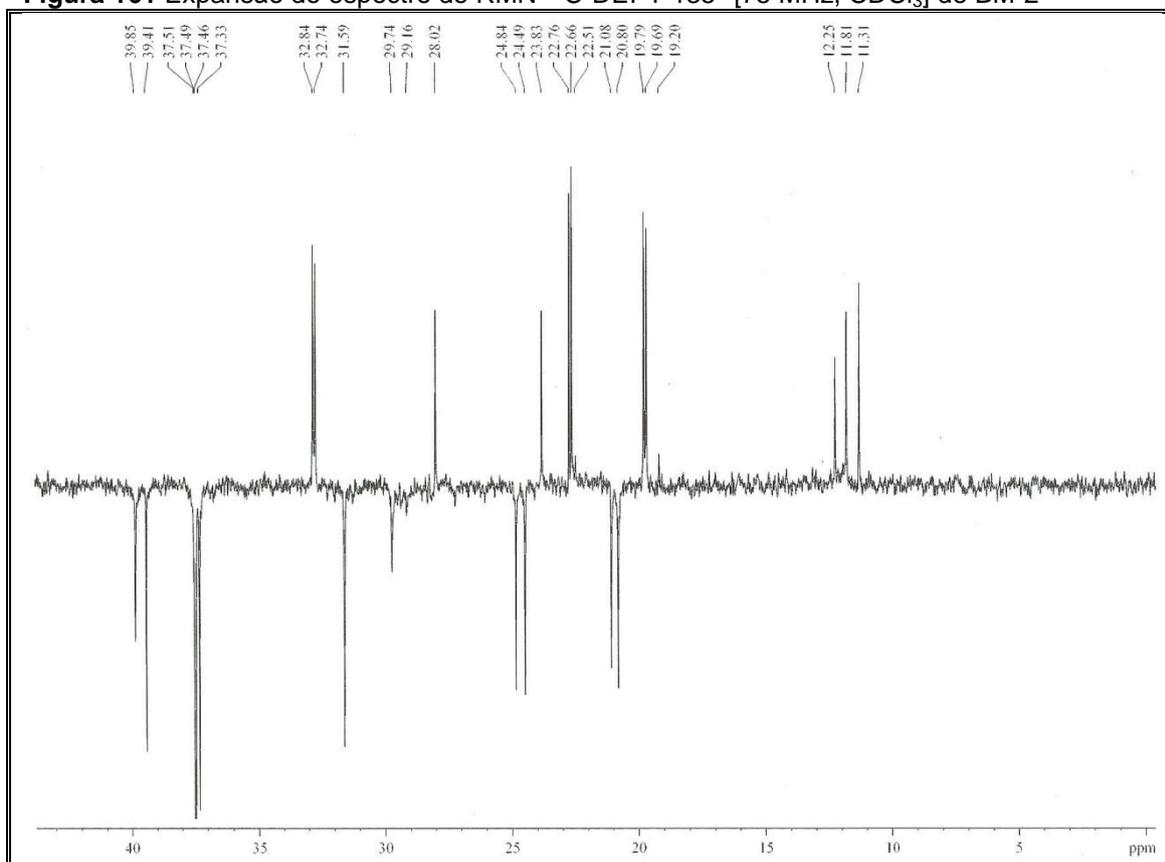
Figura 160 Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° [75 MHz, CDCl_3] de BM-2**Figura 161** Expansão do espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° [75 MHz, CDCl_3] de BM-2

Figura 162 Espectro de massas de BM-2

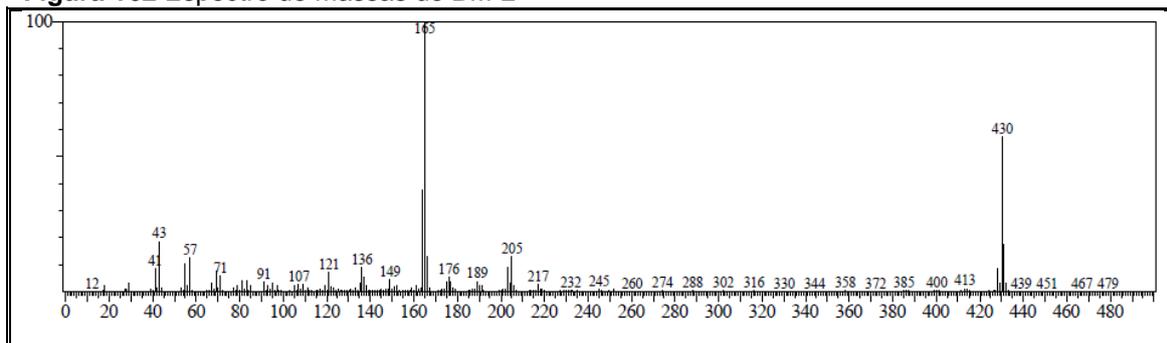
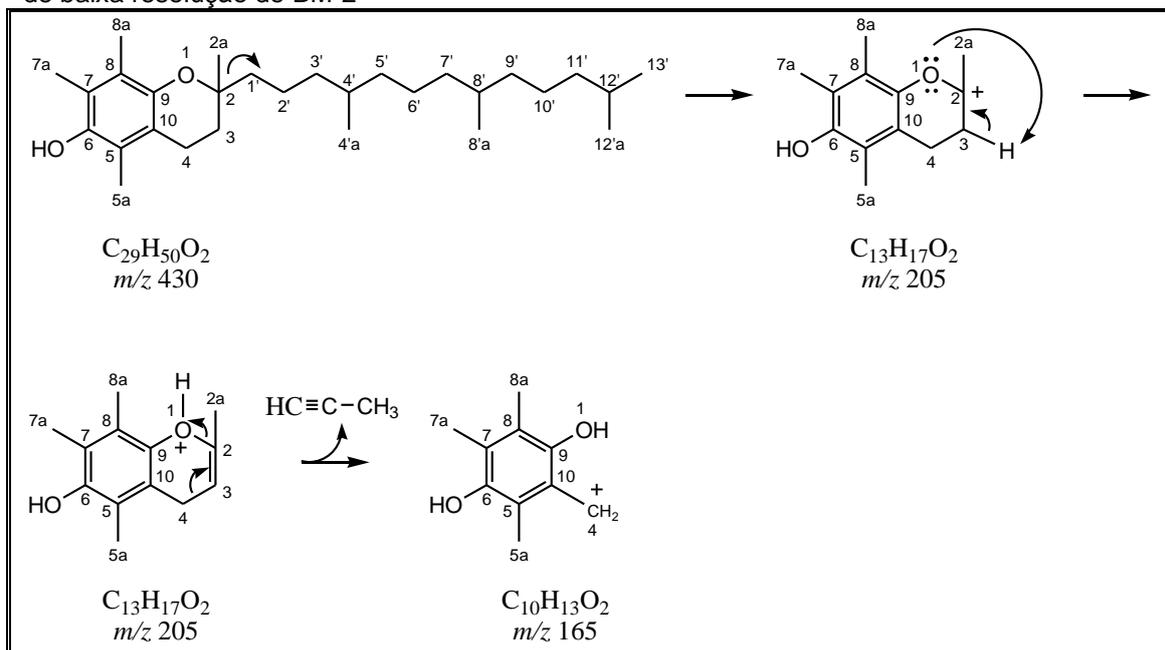


Figura 163 Proposta mecânica que justifica fragmentos registrados no espectro de massas de baixa resolução de BM-2



4.5.3 Determinação estrutural de BM-3

A fração acetato de etila proveniente de coluna filtrante a vácuo do extrato EEBM, após várias cromatografias em coluna, forneceu 7,3 mg de um óleo incolor, solúvel em clorofórmio.

O espectro de RMN ^1H [300 MHz, CDCl_3] (**Fig. 166, p. 183**) apresentou sinais característicos do fitol, como um duplete em δ_{H} 4,16 (d, $J=6,9$ Hz, 2H-1) referente a hidrogênios oximetilênicos; um tripleto em δ_{H} 5,42 (t, $J=6,9$ Hz, H-2) referente a hidrogênio ligado a carbono olefínico; além de um tripleto em δ_{H} 2,00 (t, $J=7,5$ Hz, 2H-4) atribuído a hidrogênios alílicos e um simpleto em δ_{H} 1,67 (s, 3H-3a), devido o grupo metil vinílico.

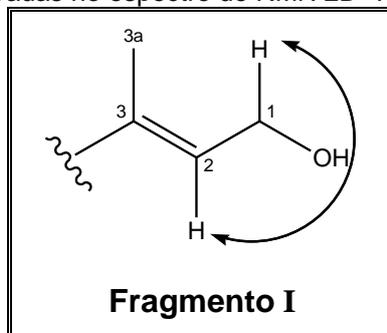
O espectro de RMN ^{13}C -CPD [75 MHz, CDCl_3] (**Fig. 167 e 168, p. 183 e 184**) exibiu vinte linhas espectrais, sendo dezoito na região de carbono sp^3 , incluindo um oxigenado (δ_{C} 59,6) e dois na região de carbono sp^2 . Análise comparativa entre os espectros de RMN ^{13}C -CPD e DEPT 135° (**Fig. 169, p. 184**) registrou a presença de quatro carbonos metínicos (CH), três sp^3 e um sp^2 , dez carbonos metilênicos (CH_2) sp^3 , cinco carbonos metílicos (CH_3) e um carbono não hidrogenados (C) sp^2 , conforme dispostos na **Tabela 20**.

Tabela 20 Padrão de hidrogenação determinado através da comparação dos espectros de RMN ^{13}C -CPD e DEPT 135° de BM-3

C	CH	CH_2	CH_3	Fórmula molecular
140,53 (C=C)	28,20 (C-H)	24,69	16,39	
	32,92 (C-H)	25,01	19,93	
	33,02 (C-H)	25,37	19,97	
	123,33 (C=C)	29,91	22,84	
		36,89	22,93	
		37,52		
		37,59		
		37,66		
		40,09		
		59,65 (C-OH)		
C	C_4H_4	$\text{C}_{10}\text{H}_{21}\text{O}$	C_5H_{15}	$\text{C}_{20}\text{H}_{40}\text{O}$

O espectro de RMN 2D ^1H , ^1H -COSY (Fig. 170 e 171, p. 185) de BM-1 mostrou acoplamento vicinal entre os átomos de hidrogênios em δ_{H} 4,16 (d, $J=6,9$ Hz, 2H-1) com δ_{H} 5,42 (t, $J=6,9$ Hz, H-2) (Fragmento I, Fig. 164).

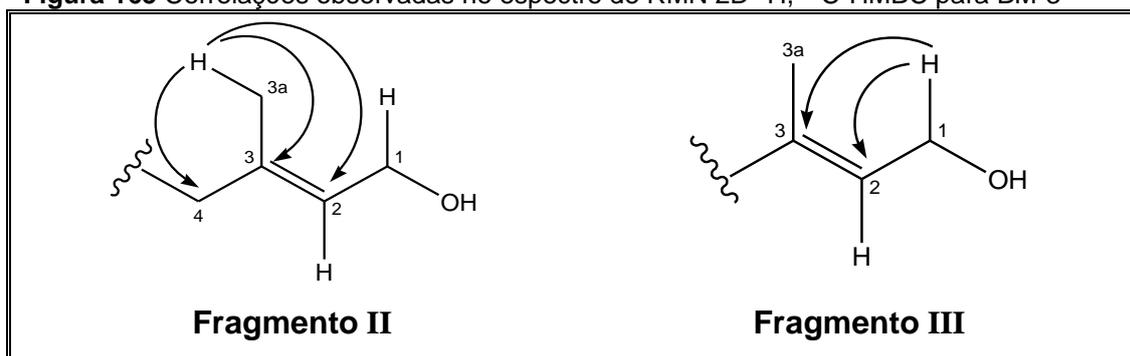
Figura 164 Correlações observadas no espectro de RMN 2D ^1H , ^1H -COSY para BM-3



O espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HSQC (Fig. 172 e 173, p. 186) permitiu correlacionar os sinais de hidrogênio ao seu respectivo carbono (Tab. 21, p. 182).

O espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HMBC (Fig. 174 e 175, p. 187) possibilitou correlacionar os sinais de hidrogênios metílicos em δ_{H} 1,67 (3H-3a) com os carbonos em δ_{C} 140,5 (C-3), 123,3 (C-2) e 40,0 (C-4) (Fragmento II, Fig. 165), e os hidrogênios metilênicos em δ_{H} 4,16 (2H-1) com os carbonos em δ_{C} 123,3 (C-2) e 140,5 (C-3) (Fragmento III, Fig. 165).

Figura 165 Correlações observadas no espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HMBC para BM-3



O espectro de massas (Fig. 176, p. 188) obtido apresentou o pico do íon molecular em m/z 296 Daltons, confirmando a fórmula molecular $\text{C}_{20}\text{H}_{40}\text{O}$ e $\text{IDH}=1$. A Figura 177, p. 188, mostra uma proposta mecanística que justifica os fragmentos registrados no espectro.

Através das informações discutidas e comparação com dados da literatura (ROSA, 2009) (**Tab. 21**), concluiu-se que BM-3 trata-se do diterpeno fitol, já presente no óleo essencial de *Bauhinia purpurea*, *B. scandens*, *B. malabarica*, *B. acuminata* (VASUDEVAN; MATHEW; BABY, 2014; VASUDEVAN; MATHEW; BABY, 2013) e *B. pentandra*.

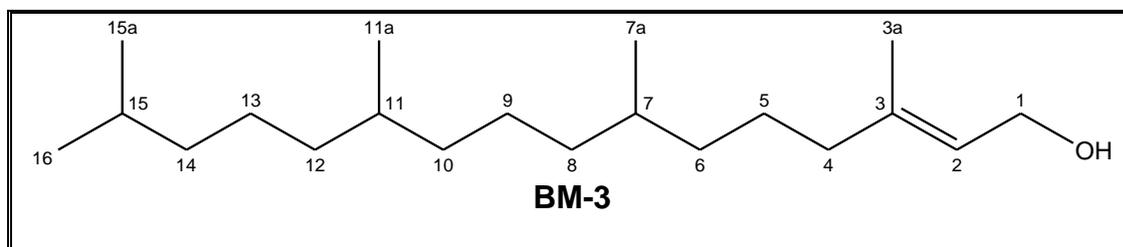


Tabela 21 Dados de RMN ^1H e ^{13}C de BM-3, incluindo correlação heteronuclear através de uma ligação (HSQC: $^1J_{\text{CH}}$) e a longa distância (HMBC: $^nJ_{\text{CH}}$, $n=2$ e 3), em CDCl_3 como solvente

C	HSQC BM-3		HMBC BM-3		Lit.* (CDCl_3)
	δ_{C}	δ_{H}	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	δ_{C}
1	59,6	4,16 (d, $J=6,9$)			59,7
2	123,3	5,42 (t, $J=6,9$)	2H-1	3H-3a, H-4	123,3
3	140,5	-	3H-3a, H-4	2H-1	140,5
3a	16,4	1,67 (s)		H-2, H-4	16,4
4	40,1	2,00 (t, $J=7,5$)		3H-3a, H-2	39,6
5	25,4	1,0-1,6 (m)	H-4		25,4
6	36,9	1,0-1,6 (m)		H-4	36,9
7	32,9	1,0-1,6 (m)			33,0
7a	19,9	0,87 (d, $J=6,6$)			20,0
8	37,7	1,0-1,6 (m)			37,5
9	24,7	1,0-1,6 (m)			24,7
10	37,6	1,0-1,6 (m)			37,6
11	33,0	1,0-1,6 (m)			32,9
11a	20,0	0,87 (d, $J=6,6$)			20,0
12	37,5	1,0-1,6 (m)			37,7
13	25,0	1,0-1,6 (m)			25,0
14	39,6	1,0-1,6 (m)			39,6
15	28,2	1,0-1,6 (m)			28,2
15a	22,8	0,87 (d, $J=6,6$)			22,9
16	22,9	0,87 (d, $J=6,6$)			23,0

Deslocamentos químicos (δ_{C} e δ_{H}) em ppm e constante de acoplamento (J) em Hz
* (ROSA, 2009)

Figura 166 Espectro de RMN ¹H [300 MHz, CDCl₃] de BM-3

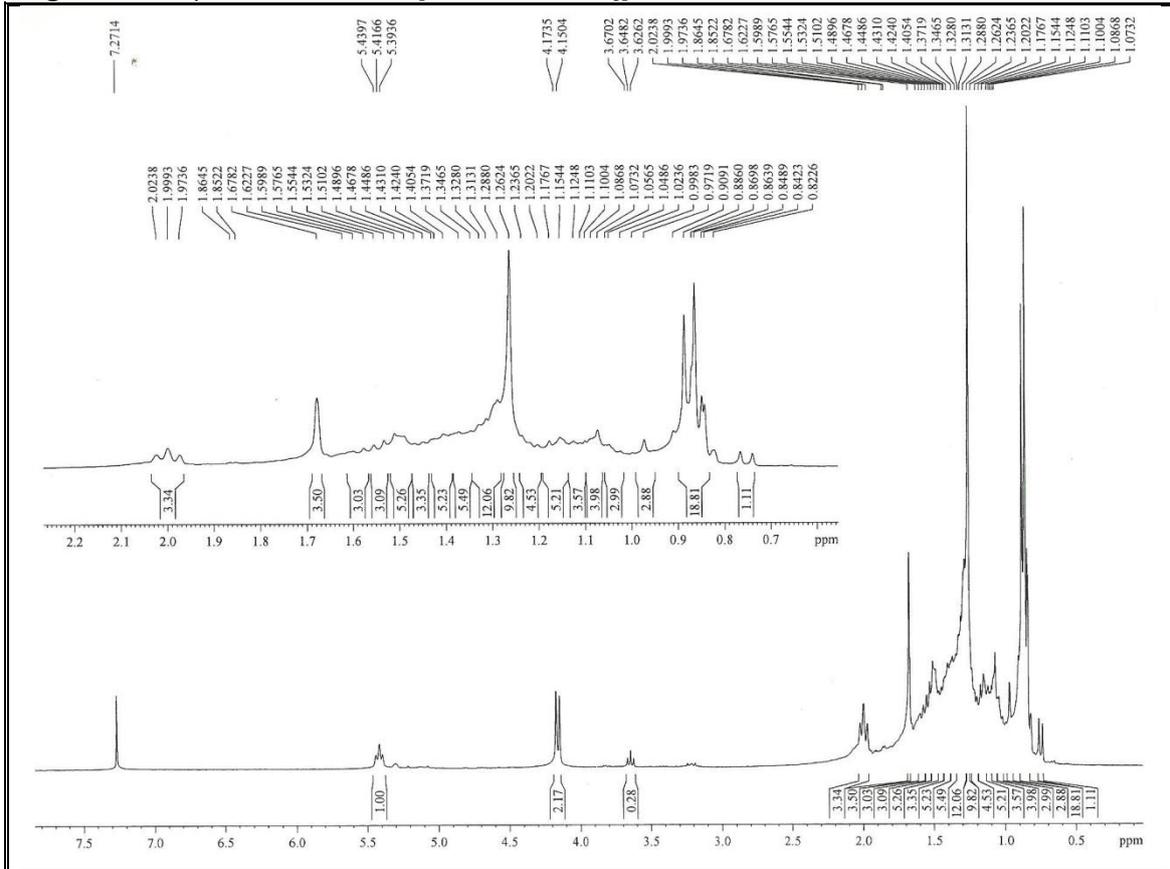


Figura 167 Espectro de RMN ¹³C-CPD [75 MHz, CDCl₃] de BM-3

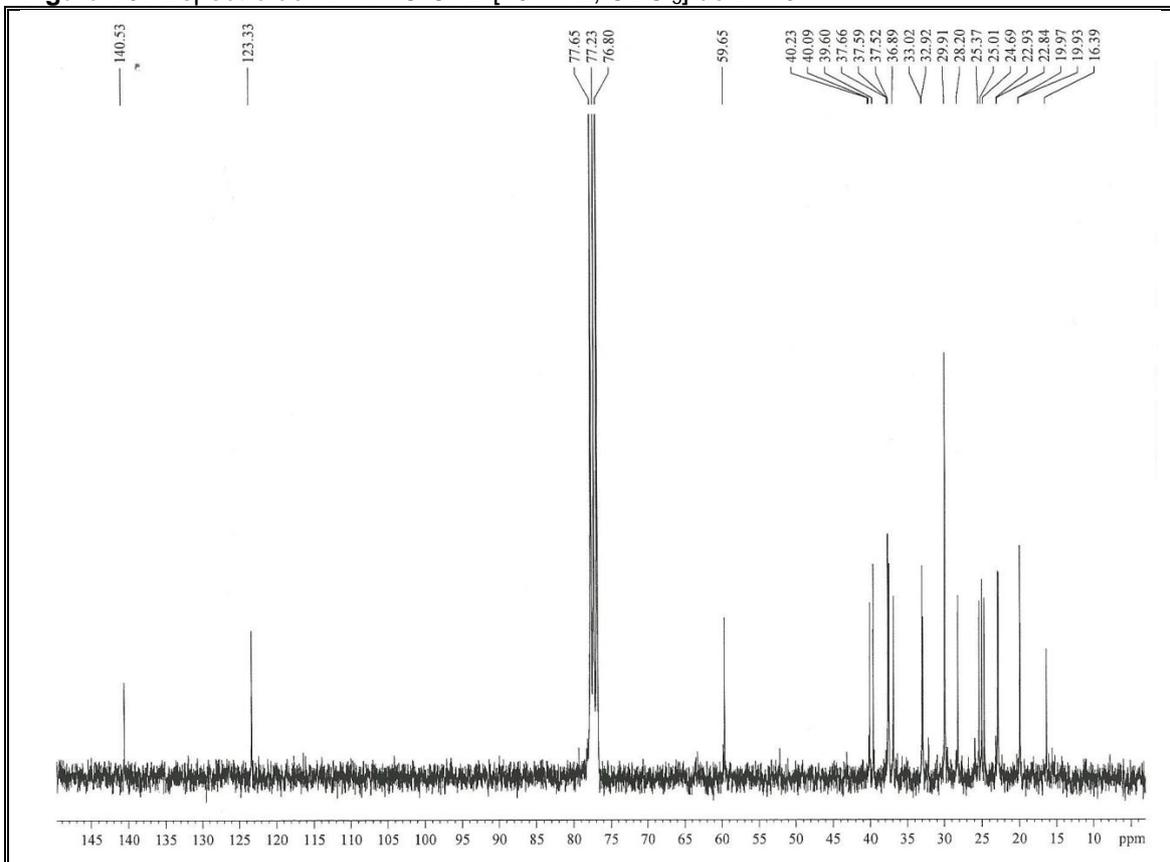


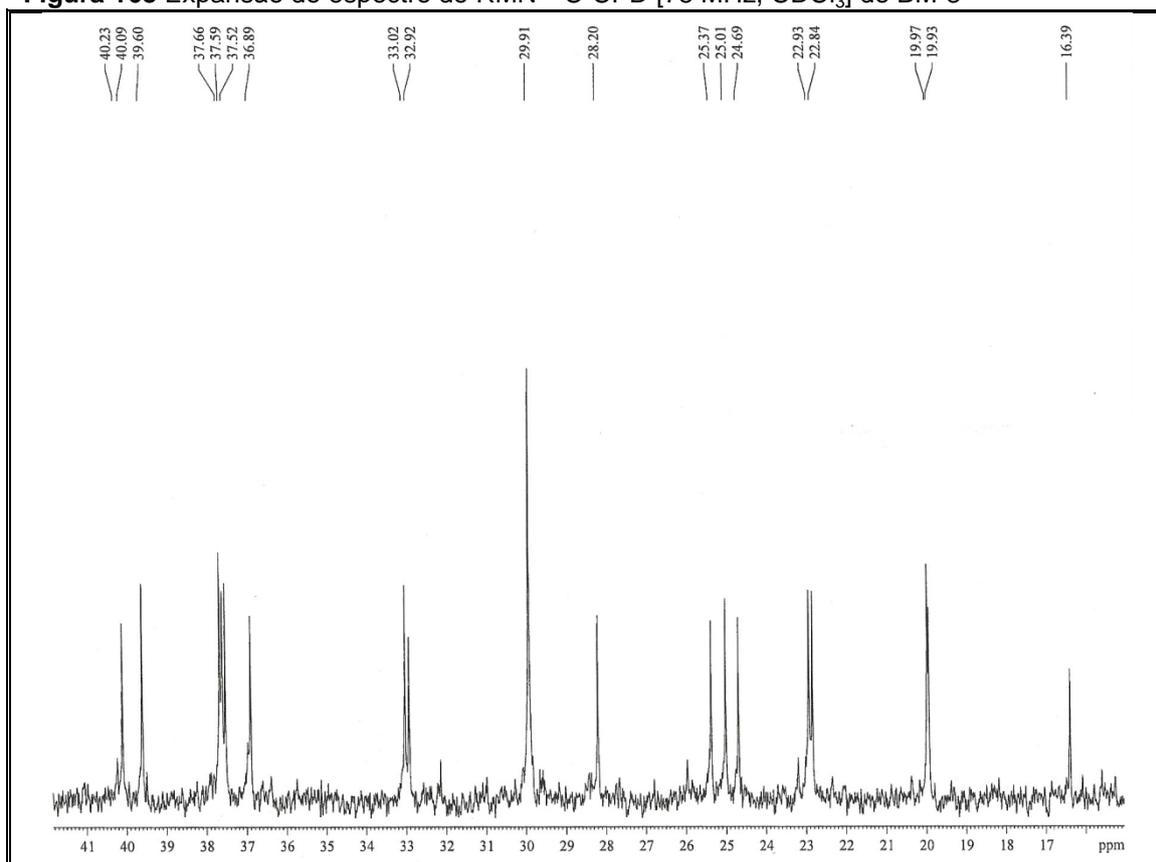
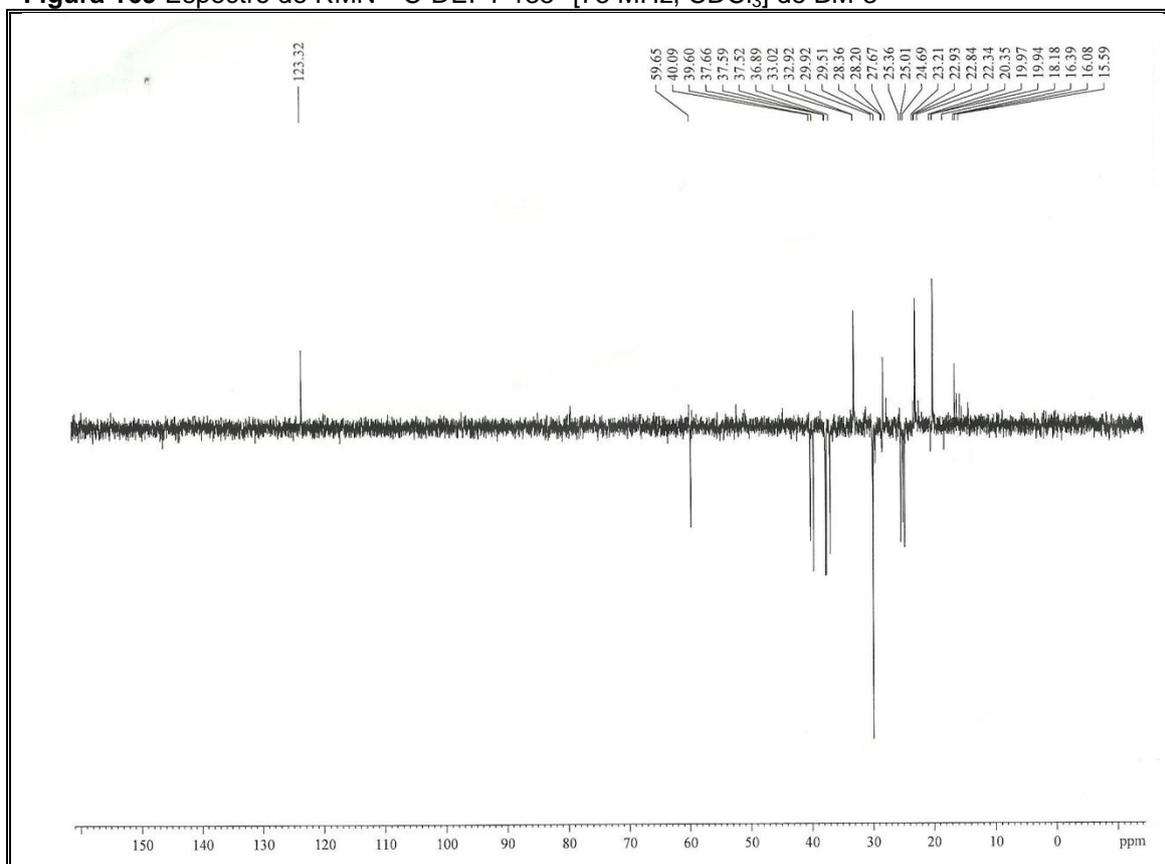
Figura 168 Expansão do espectro de RMN ^{13}C -CPD [75 MHz, CDCl_3] de BM-3**Figura 169** Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° [75 MHz, CDCl_3] de BM-3

Figura 170 Espectro de RMN 2D ^1H , ^1H -COSY [300 x 300 MHz, CDCl_3] de BM-3

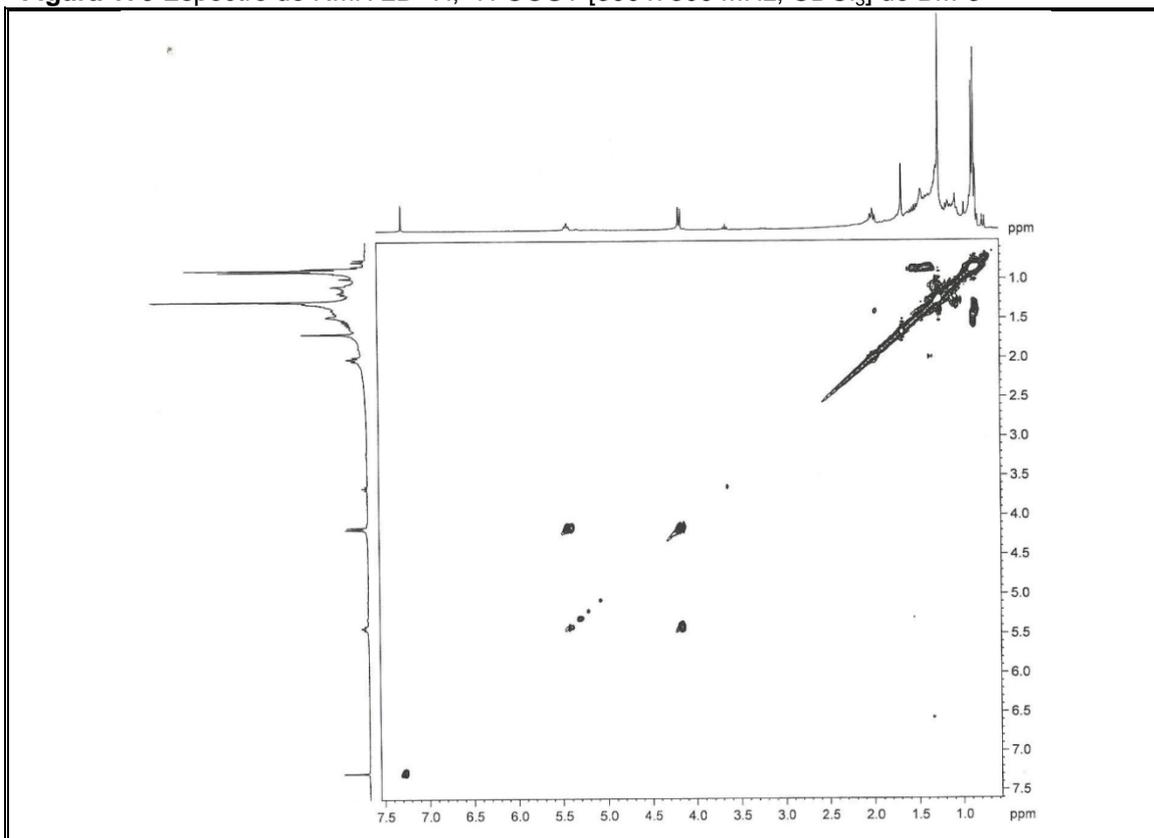


Figura 171 Expansão do espectro de RMN 2D ^1H , ^1H -COSY [300 x 300 MHz, CDCl_3] de BM-3

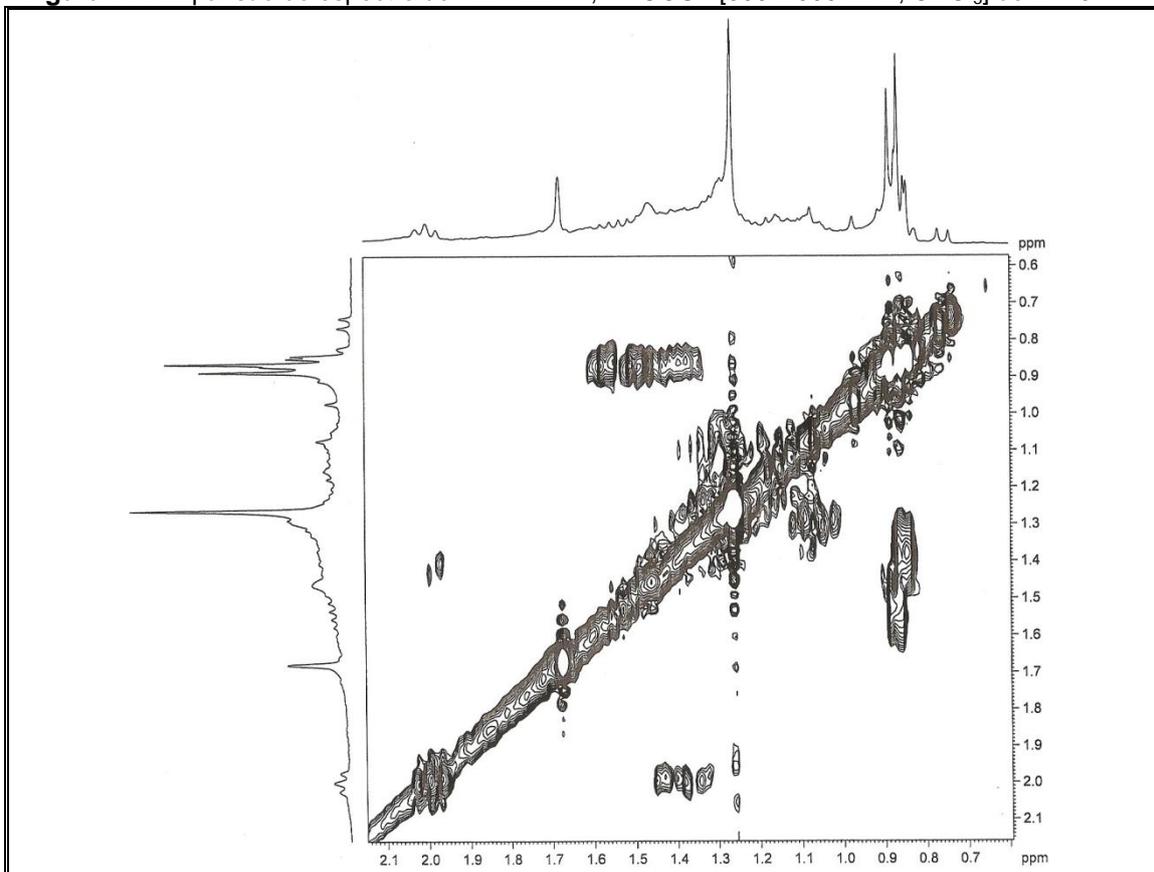


Figura 172 Espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HSQC [300 x 75 MHz, CDCl_3] de BM-3

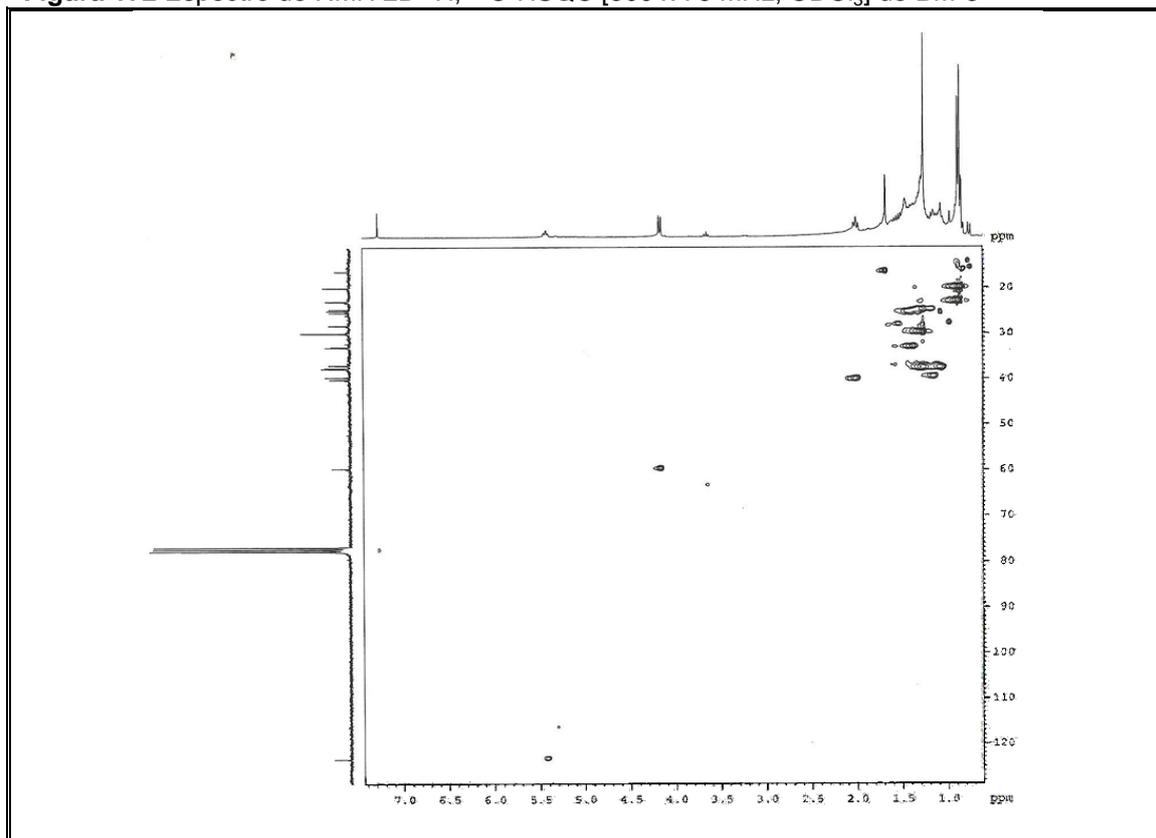


Figura 173 Expansão do espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HSQC [300 x 75 MHz, CDCl_3] de BM-3

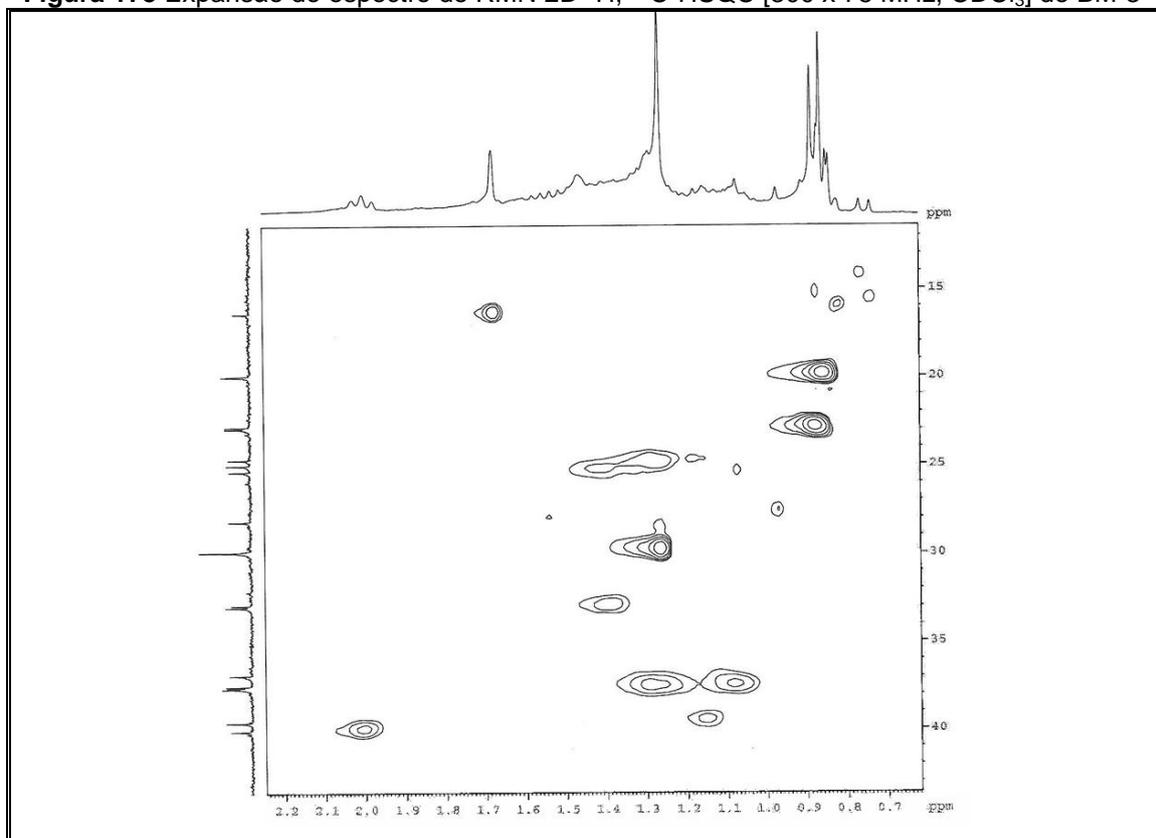


Figura 174 Espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HMBC [300 x 75 MHz, CDCl_3] de BM-3

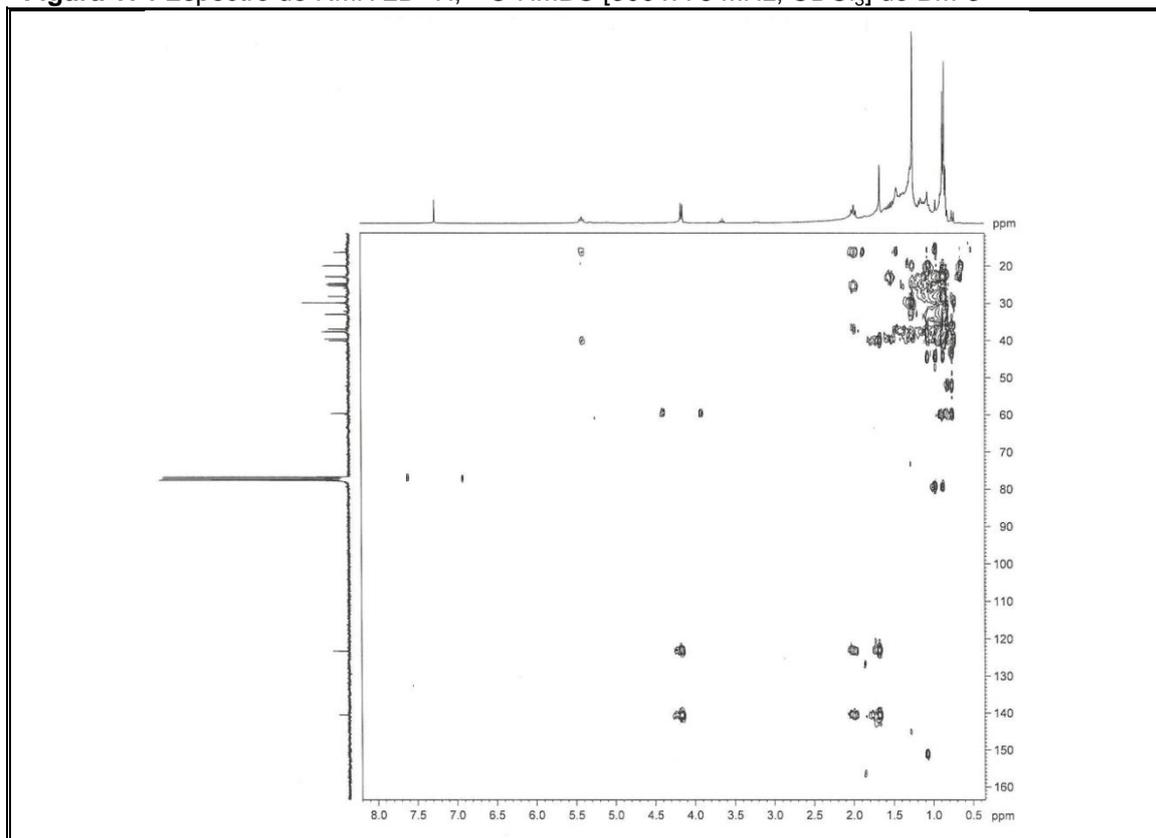


Figura 175 Expansão do espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HMBC [300 x 75 MHz, CDCl_3] de BM-3

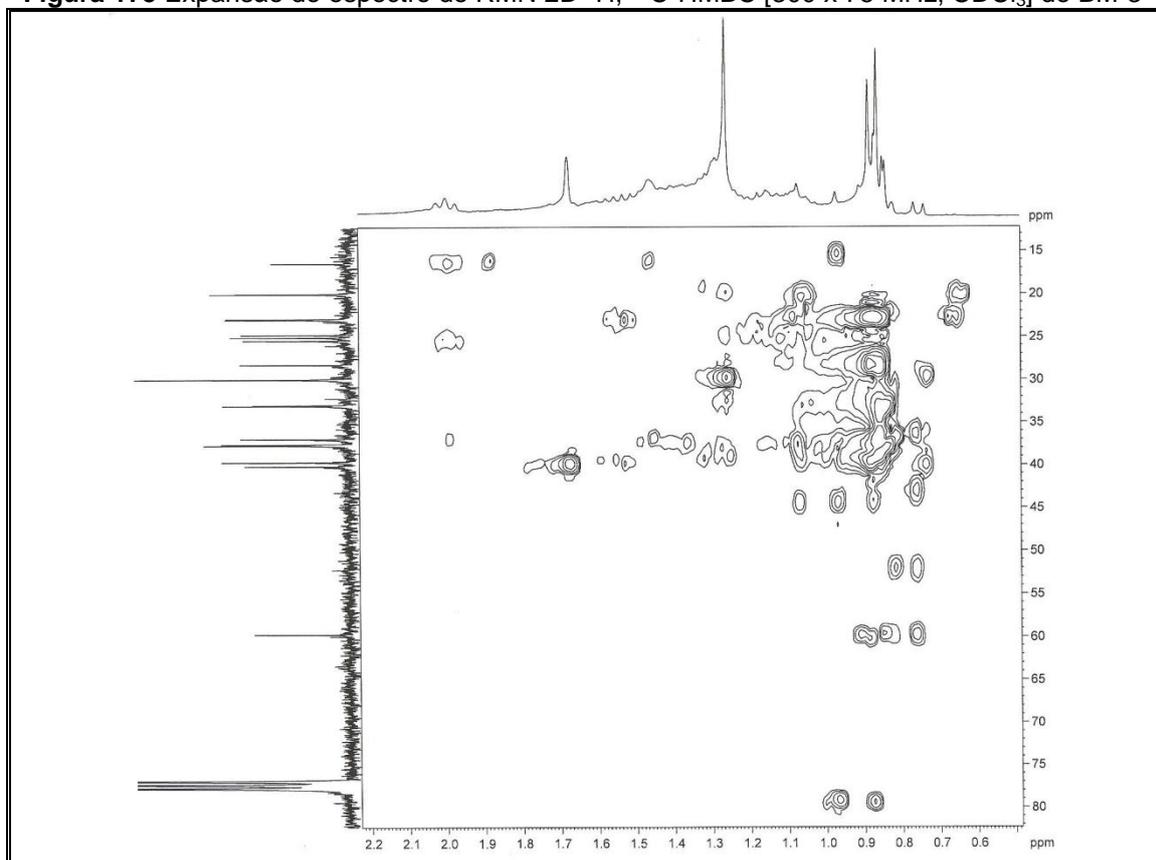


Figura 176 Espectro de massas de BM-3

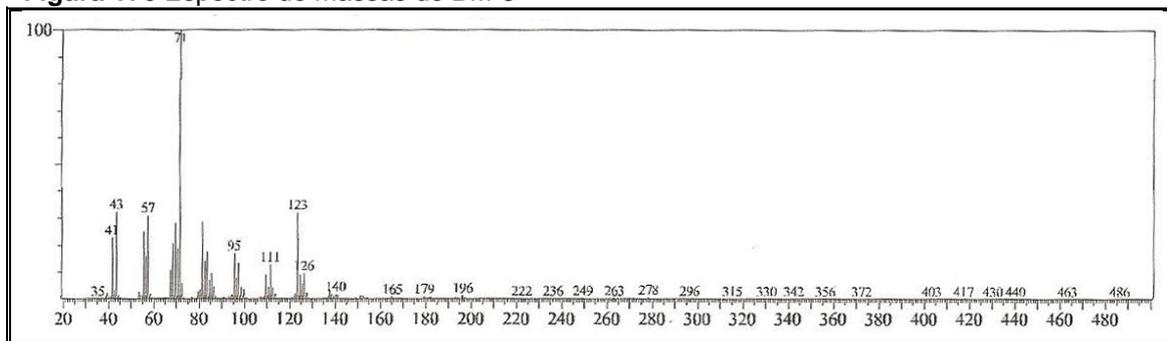
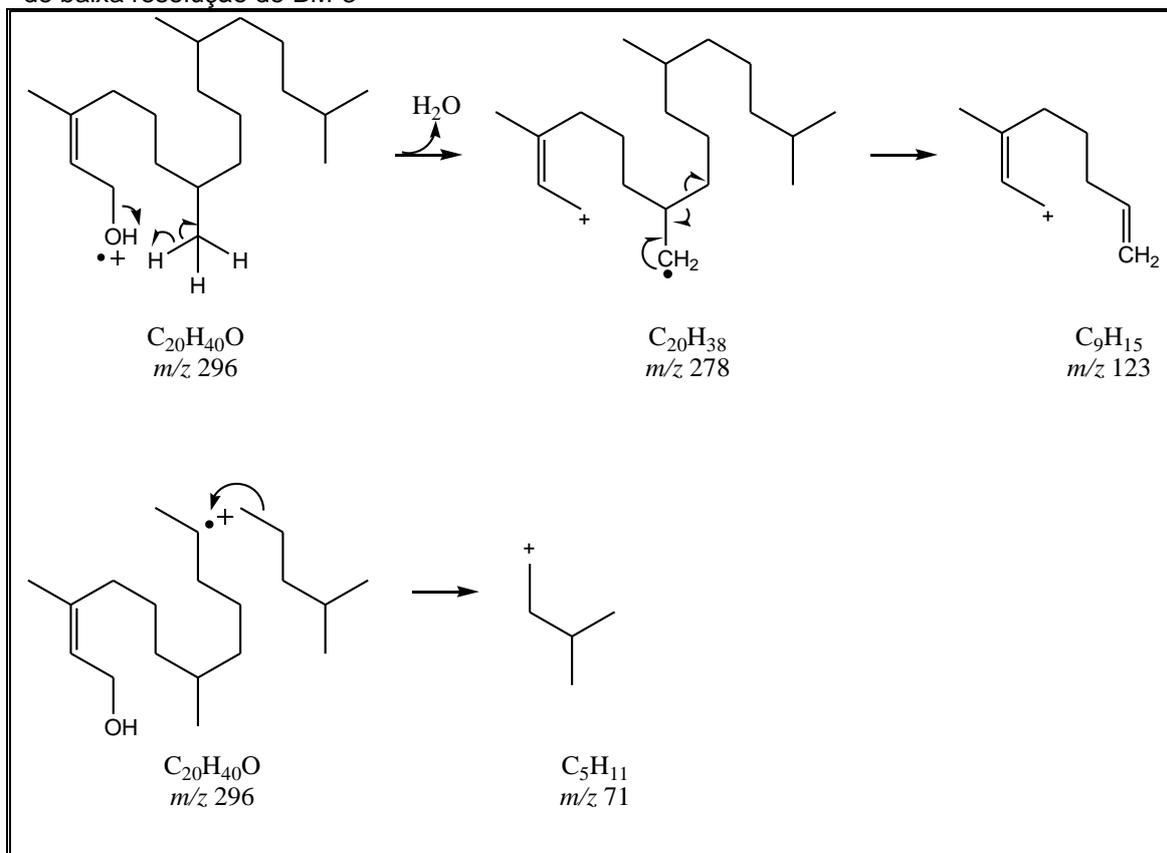


Figura 177 Proposta mecânica que justifica fragmentos registrados no espectro de massas de baixa resolução de BM-3



4.5.4 Determinação estrutural de BM-4

A F 3-17 obtida da fração metanólica que, por sua vez, foi obtida a partir de coluna filtrante a vácuo do extrato EEBM, após ser cromatografada por CLAE, forneceu 18,6 mg de uma resina de coloração marrom, com solubilidade em metanol.

O espectro na região do infravermelho (**Fig. 182, p. 195**) mostrou banda de absorção em 3377 e 2266 cm^{-1} , que foram atribuídas a presença de grupos hidroxila e nitrila, respectivamente. Foi observada também uma banda característica de deformação axial de ligação C=C em 1636 cm^{-1} , além de absorção em 2920 cm^{-1} relacionada à deformação axial de ligação C-H, e em 1073 cm^{-1} referente à deformação axial de ligação C-O.

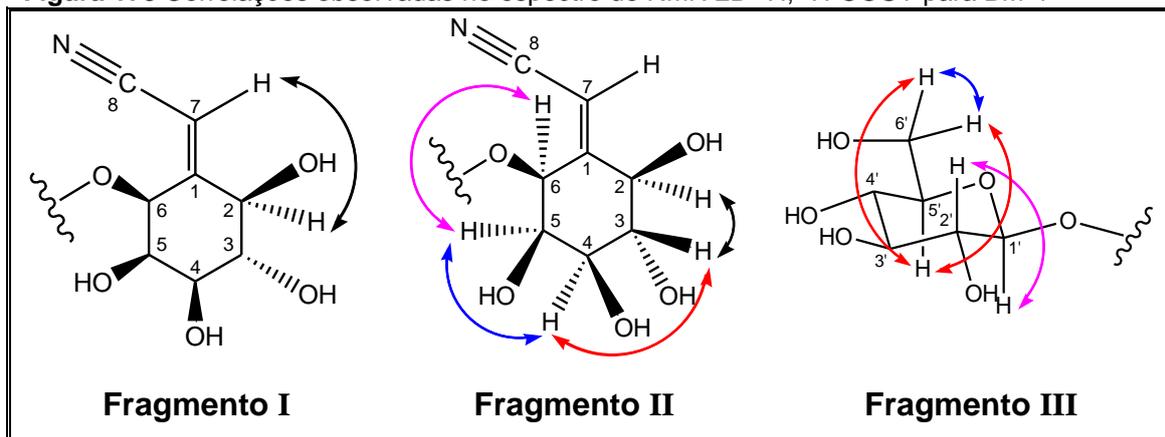
O espectro de RMN ^1H [500 MHz, CD_3OD] (**Fig. 183 e 184, p. 195 e 196**) apresentou vários sinais com deslocamentos químicos próximos e também superpostos na região entre δ_{H} 3,28 e 3,40, referentes a hidrogênios oximetínicos característicos de açúcares; sinais em δ_{H} 3,87 (d, $J=10,1$ Hz, H-6'a) e 3,70 (m, H-6'b) atribuídos a um grupo metileno, além de sinal em δ_{H} 4,49 (d, $J=7,4$ Hz, H-1') atribuído a hidrogênio anomérico. O espectro mostrou também um simpleto em δ_{H} 5,75 (s, H-7) de hidrogênio ligado a carbono olefínico, e cinco sinais de hidrogênios cabinólicos em δ_{H} 4,72 (d, $J=4,2$ Hz, H-6), 4,08 (m, H-5), 3,97 (m, H-4), 3,67 (m, H-3) e 4,52 (d, $J=7,4$ Hz, H-2).

O espectro de RMN ^{13}C -CPD [125 MHz, CD_3OD] (**Fig. 185, p. 196**) exibiu um sinal típico de carbono anomérico de glicosídeo em δ_{C} 105,4, além de uma série de sinais entre δ_{C} 62,8-81,8, característicos de carbonos carbinólicos. A presença do sinal em δ_{C} 117,9 foi atribuído a um carbono de nitrila α,β -insaturada. Outros sinais foram observados em δ_{C} 97,8 e 164,6, correspondentes aos carbonos olefínicos alfa e beta ao grupo ciano, respectivamente. Análise comparativa entre os espectros de RMN ^{13}C -CPD e DEPT 135° (**Fig. 186, p. 197**) registrou a presença de onze carbonos metínicos (CH), um carbono metilênico (CH_2) e dois carbonos não hidrogenados (C), conforme dispostos na **Tabela 22, p. 190**.

Tabela 22 Padrão de hidrogenação determinado através da comparação dos espectros de RMN ^{13}C -CPD e DEPT 135° de BM-4

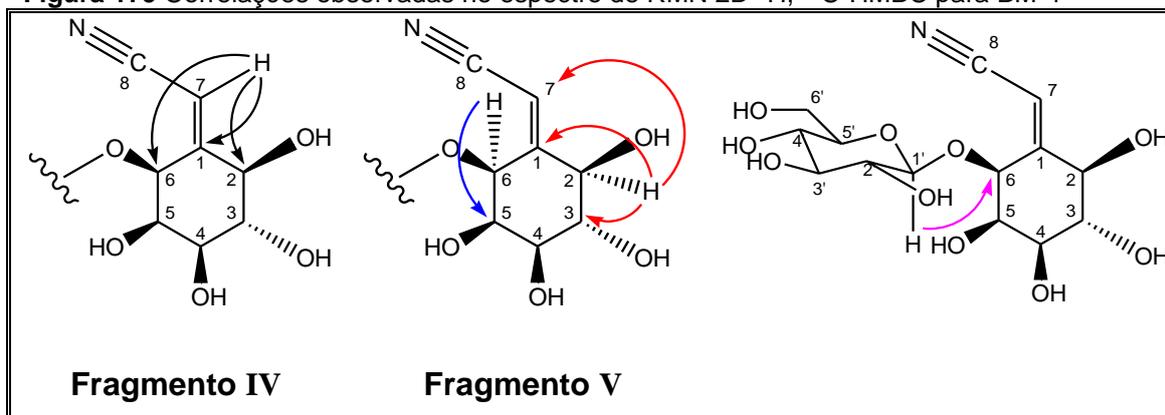
C	CH	CH ₂	Fórmula molecular
117,88 (CN)	105,39 (C–O)	62,77 (C–OH)	
164,63	97,83		
	81,78 (C–O)		
	78,38		
	77,95 (C–OH)		
	74,84 (C–OH)		
	74,84 (C–OH)		
	74,34 (C–OH)		
	73,04 (C–OH)		
	72,65 (C–OH)		
	71,48 (C–OH)		
C₂N	C₁₁H₁₈O₉	CH₃O	C₁₄H₂₁NO₁₀

O espectro de RMN 2D ^1H , ^1H -COSY (**Fig. 187, p. 197**) mostrou acoplamento alílico entre os átomos de hidrogênios em δ_{H} 5,75 (s, H-7) com δ_{H} 4,52 (d, H-2) (**Fragmento I, Fig. 178, p. 191**). Foram observados também acoplamentos vicinais entre os hidrogênios em δ_{H} 4,72 (d, H-6) com δ_{H} 4,08 (m, H-5), δ_{H} 4,52 (d, H-2) com δ_{H} 3,67 (m, H-3), δ_{H} 3,67 (m, H-3) com δ_{H} 3,97 (m, H-4), e δ_{H} 3,97 (m, H-4) com δ_{H} 4,08 (m, H-5) (**Fragmento II, Fig. 178, p. 191**). Acoplamentos vicinais também foram observados entre os hidrogênios oximetínicos em δ_{H} 4,49 (d, H-1') com δ_{H} 3,33 (m, H-2'), δ_{H} 3,28 (m, H-5') com δ_{H} 3,87 (d, H-6'a) e δ_{H} 3,70 (m, H-6'b), além de acoplamento geminal entre os hidrogênios metilênicos δ_{H} 3,87 (d, H-6'a) com δ_{H} 3,70 (m, H-6'b) (**Fragmento III, Fig. 178, p. 191**).

Figura 178 Correlações observadas no espectro de RMN 2D ^1H , ^1H -COSY para BM-4

O espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HSQC (**Fig. 188 e 189, p. 198**) permitiu correlacionar os sinais de hidrogênios aos seus respectivos carbonos (**Tab. 24, p. 194**).

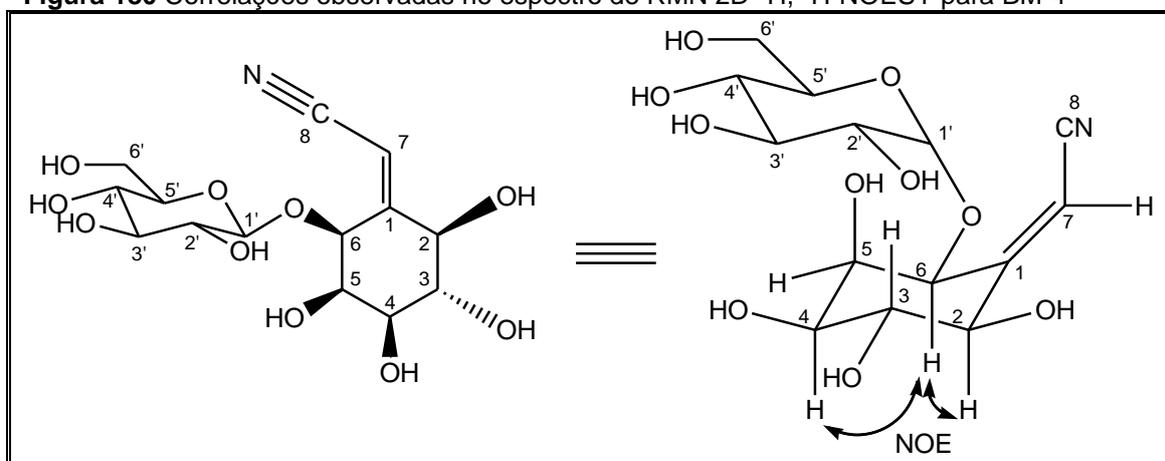
O espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HMBC (**Fig. 190 e 191, p. 199**) exibiu correlação de longo alcance entre o hidrogênio em δ_{H} 5,75 (s, H-7) com os carbonos em δ_{C} 164,6 (C-1), 72,6 (C-2) e 81,8 (C-6) (**Fragmento IV, Fig. 179**). Outras correlações foram observadas entre o hidrogênio em δ_{H} 4,52 (d, H-2) com os carbonos em δ_{C} 164,6 (C-1), 97,8 (C-7) e 74,8 (C-3), e entre δ_{H} 4,72 (d, H-6) com δ_{C} 73,0 (C-5) (**Fragmento V, Fig. 179**). A correlação do hidrogênio em δ_{H} 4,49 (d, H-1') com o carbono em δ_{C} 81,8 (C-6) permitiu definir a localização da unidade glicosídica no C-6 (**Fig. 179**).

Figura 179 Correlações observadas no espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HMBC para BM-4

No espectro NOESY (**Fig. 192 e 193, p. 200**) foram observadas correlações que justificam as configurações atribuídas aos centros assimétricos C-2, C-4 e C-6. Assim, as interações dipolares do átomo de hidrogênio H-2 (δ_{H}

4,52) com H-6 (δ_H 4,72) e do H-4 (δ_H 3,97) com H-6 (δ_H 4,72), indicam que eles estão espacialmente próximos, conforme observado na **Figura 180**. O valor de $J=7,4$ Hz no sinal de H-2 (δ_H 4,52) correspondente a interação spin-spin com H-3 (δ_H 3,67) é compatível com acoplamento *axial-axial* entre estes átomos de hidrogênios. O valor de $J=4,2$ Hz observado no sinal H-6 (em orientação *axial* deduzida através da interação dipolar com H-2 e H-4) correspondente a interação spin-spin com H-5 (δ_H 4,08) é compatível com acoplamento *axial-equatorial* entre estes átomos de hidrogênios.

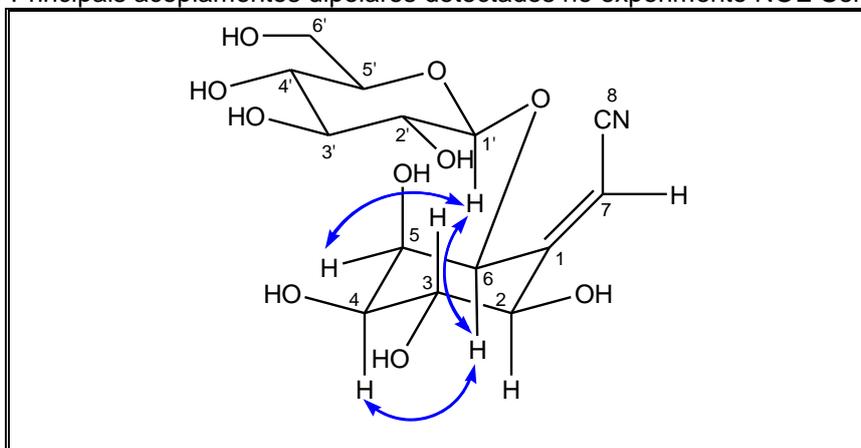
Figura 180 Correlações observadas no espectro de RMN 2D 1H , 1H -NOESY para BM-4



O espectro de NOE Seletivo de BM-4 com irradiação no hidrogênio em δ 3,97 (H-4) (**Fig. 194, p. 201**) exibiu acoplamento deste com o hidrogênio em δ 4,72 (H-6). A irradiação no hidrogênio em δ 4,08 (H-5) (**Fig. 195, p. 201**) exibiu acoplamentos com os hidrogênios em δ 4,72 (H-6) e 4,49 (H-1'). Irradiando-se o hidrogênio em δ 4,72 (H-6) (**Fig. 196, p. 202**) foram observadas interações espaciais deste com os hidrogênios em δ 4,49 (H-1'), 4,08 (H-5) e 3,97 (H-4). E a irradiação no hidrogênio em δ 5,75 (H-7) (**Fig. 197, p. 202**) mostrou interações com os hidrogênios em δ 4,52 (H-2) e 4,72 (H-6). A partir desses acoplamentos dipolares (**Tab. 23, p. 193**) determinou-se que o composto apresentava os hidrogênios H-2, H-4, H-5 e H-6 em configuração α e o hidrogênio H-3 em configurações β (**Fig. 181, p. 193**).

Tabela 23 Acoplamentos dipolares observados no experimento NOE Seletivo através da irradiação dos hidrogênios H-4, H-5, H-6 e H-7

Irradiado	δ_H	NOE	δ_H
H-4	3,97	H-6	4,72
H-5	4,08	H-6	4,72
		H-1'	4,49
H-6	4,72	H-1'	4,49
		H-5	4,08
		H-4	3,97
H-7	5,75	H-2	4,52
		H-6	4,72

Figura 181 Principais acoplamentos dipolares detectados no experimento NOE Seletivo

O espectro de massas de alta resolução (modo positivo) (**Fig. 198, p. 203**) revelou o pico do íon molecular em m/z 386,1100 ($[M + Na]^+$, calc 386,1063), que confirma a fórmula molecular $C_{14}H_{21}NO_{10}$ para BM-4, com IDH=4.

Baseando-se em todas as informações espectrais obtidas, foi possível caracterizar o composto BM-4 como sendo o cianoglicosídeo (2*R*,3*S*,4*R*,5*R*,6*S*)-(Z)-6-(β -D-glicopiranosiloxi)-2,3,4,5-tetraidroxiciclohexilideno- $\Delta^{1,\alpha}$ -acetonitrila, que está sendo descrito pela primeira vez na literatura.

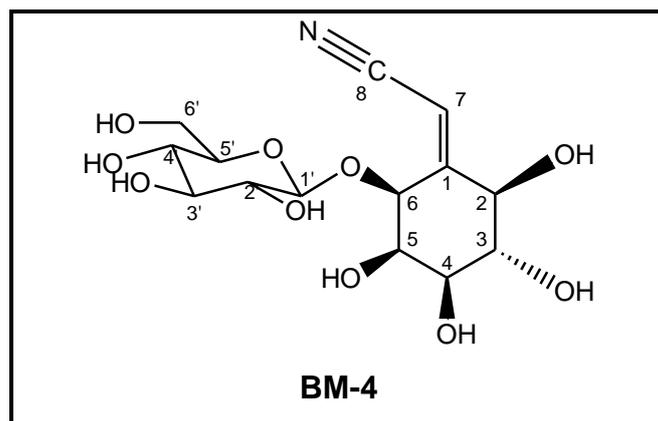


Tabela 24 Dados de RMN ^1H e ^{13}C de BM-4, incluindo correlação heteronuclear através de uma ligação (HSQC: $^1J_{\text{CH}}$) e a longa distância (HMBC: $^nJ_{\text{CH}}$, $n=2$ e 3), em CD_3OD como solvente

C	HSQC BM-4		HMBC BM-4	
	δ_{C}	δ_{H}	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$
1	164,6	-	H-2; H-7	
2	72,6	4,52 (d, $J=7,4$)		H-7
3	74,8	3,67 (m)	H-2	
4	74,3	3,97 (m)		
5	73,0	4,08 (m)	H-6	
6	81,8	4,72 (d, $J=4,2$)		H-7; H-1'
7	97,8	5,75 (s)		H-2
8	117,9	-		
1'	105,4	4,49 (d, $J=7,4$)	H-2'	
2'	74,8	3,33 (m)	H-3'	
3'	77,9	3,38 (m)	H-4'	
4'	71,5	3,31 (m)	H-3'	
5'	78,4	3,28 (m)	H-4'	
6'	62,8	3,87 (d, $J=10,1$) 3,70 (m)		

Deslocamentos químicos (δ_{C} e δ_{H}) em ppm e constante de acoplamento (J) em Hz

Figura 182 Espectro na região do infravermelho de BM-4

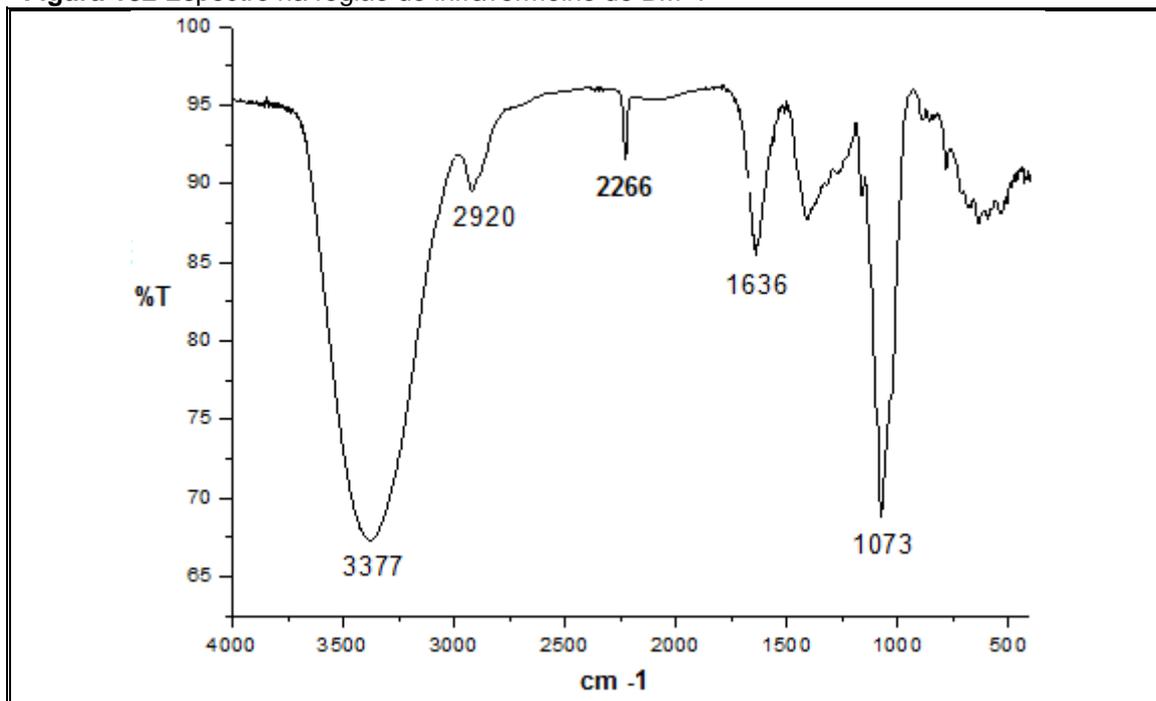


Figura 183 Espectro de RMN ¹H [500 MHz, CD₃OD] de BM-4

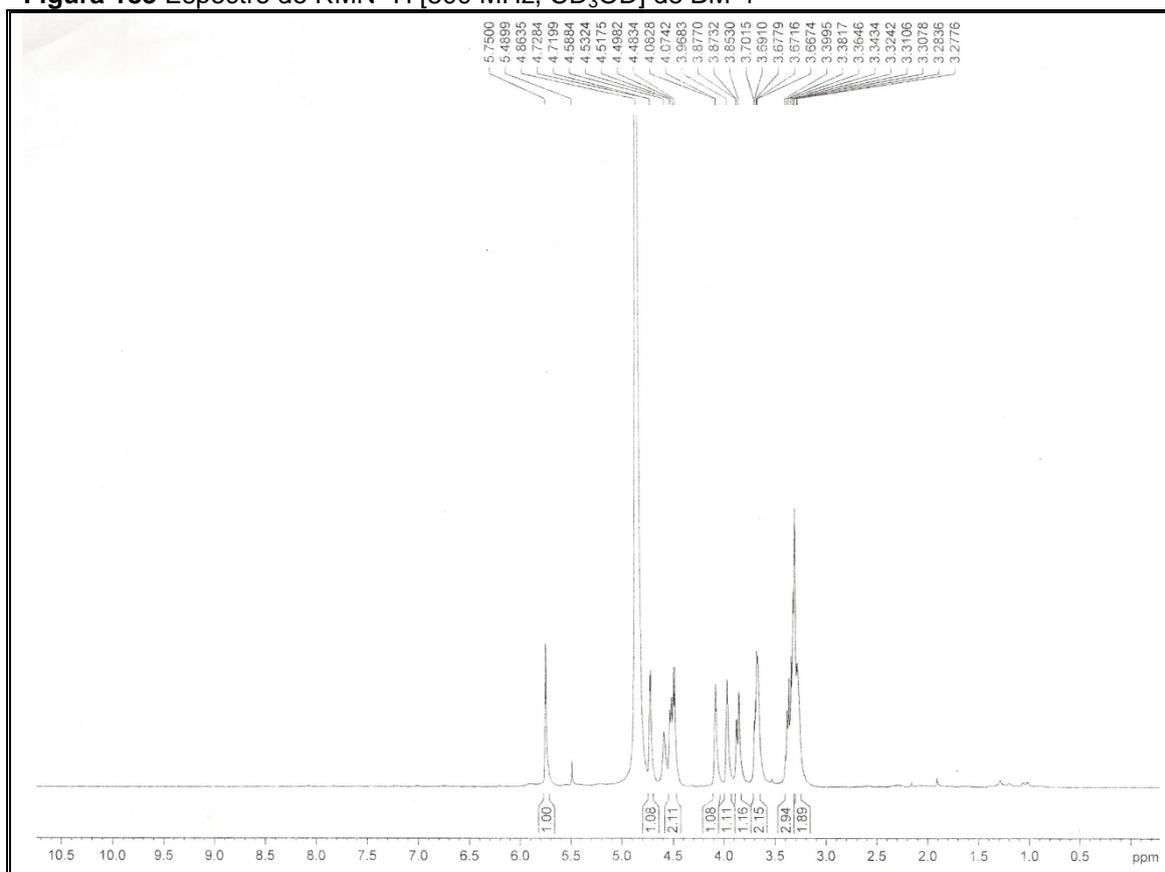


Figura 184 Expansão do espectro de RMN ^1H [500 MHz, CD_3OD] de BM-4

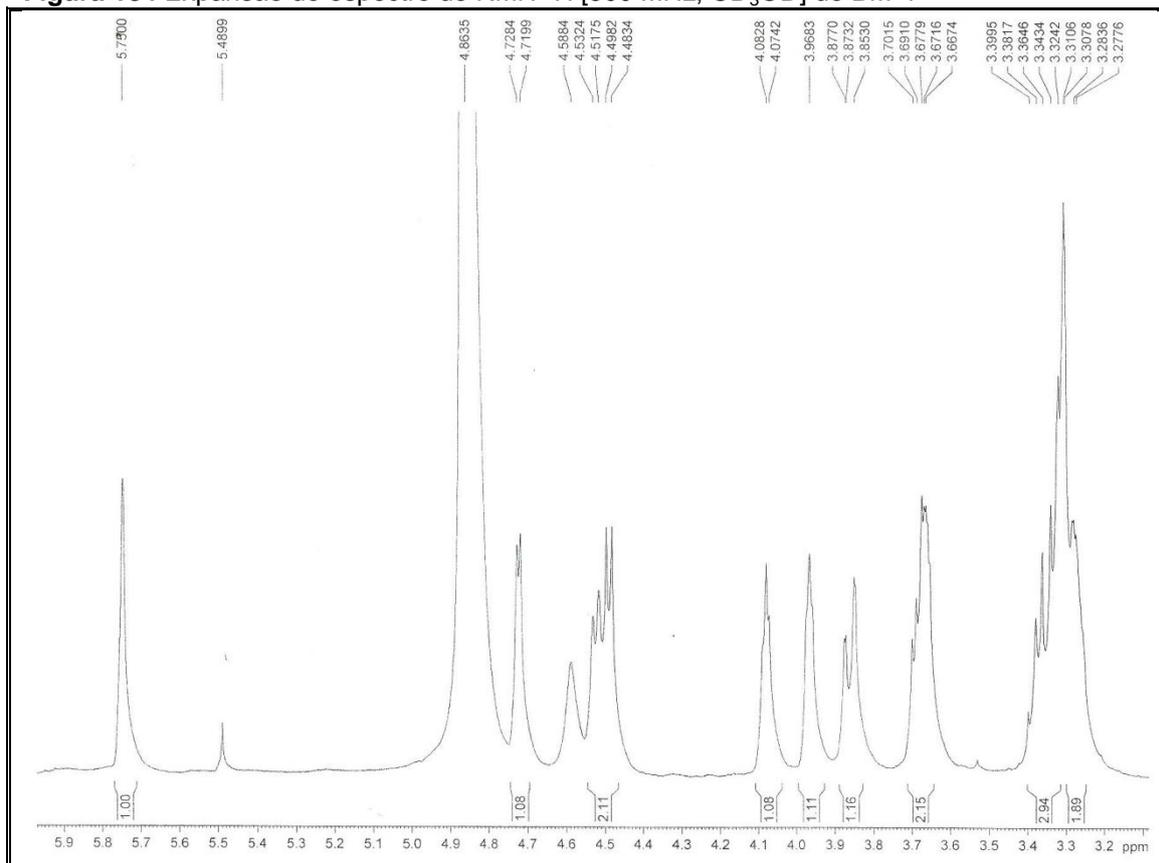


Figura 185 Espectro de RMN ^{13}C -CPD [125 MHz, CD_3OD] de BM-4

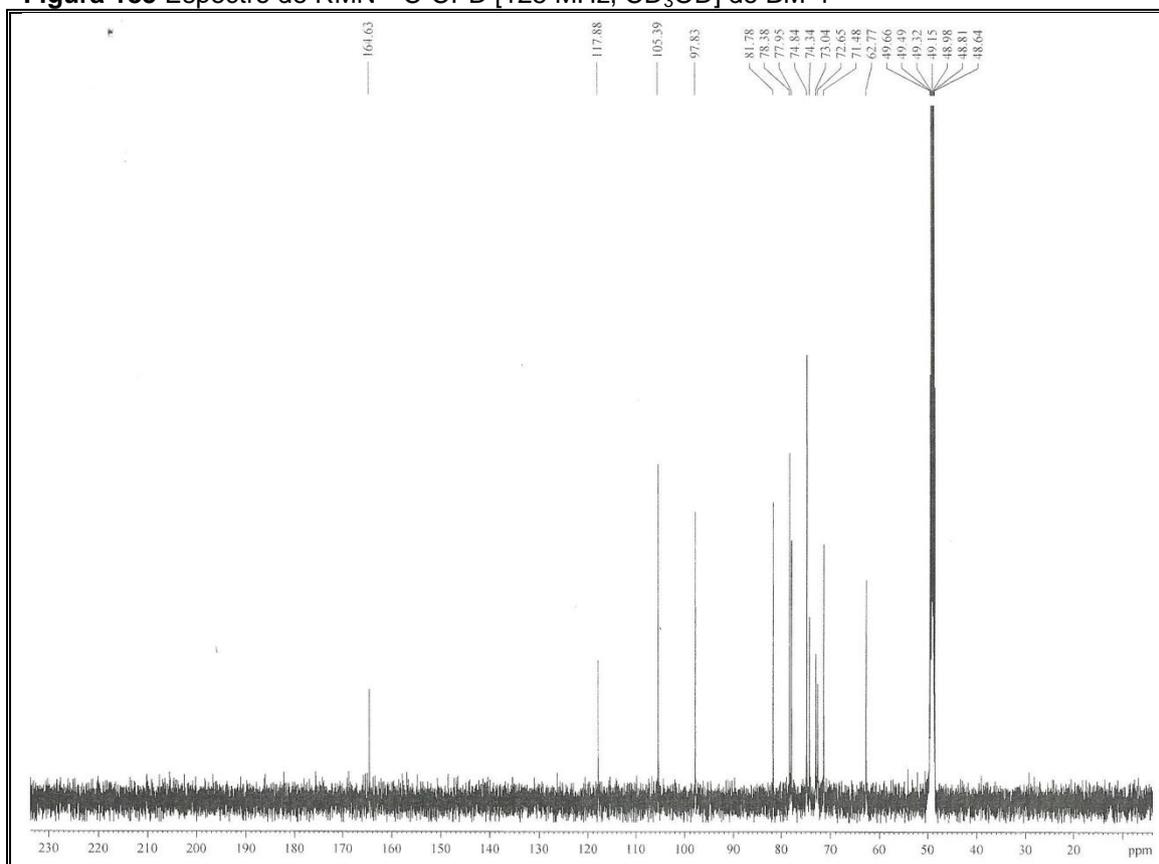


Figura 186 Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° [125 MHz, CD_3OD] de BM-4

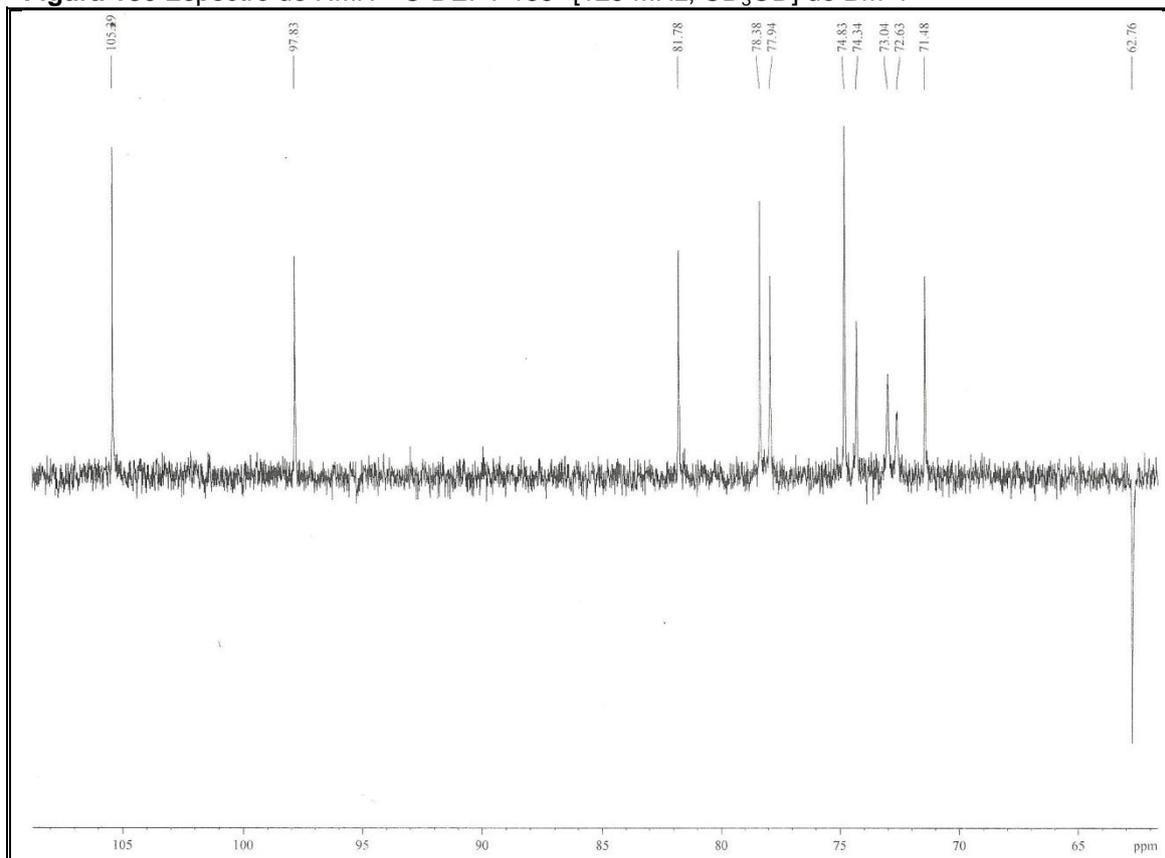


Figura 187 Espectro de RMN 2D ^1H , ^1H -COSY [500 x 500 MHz, CD_3OD] de BM-4

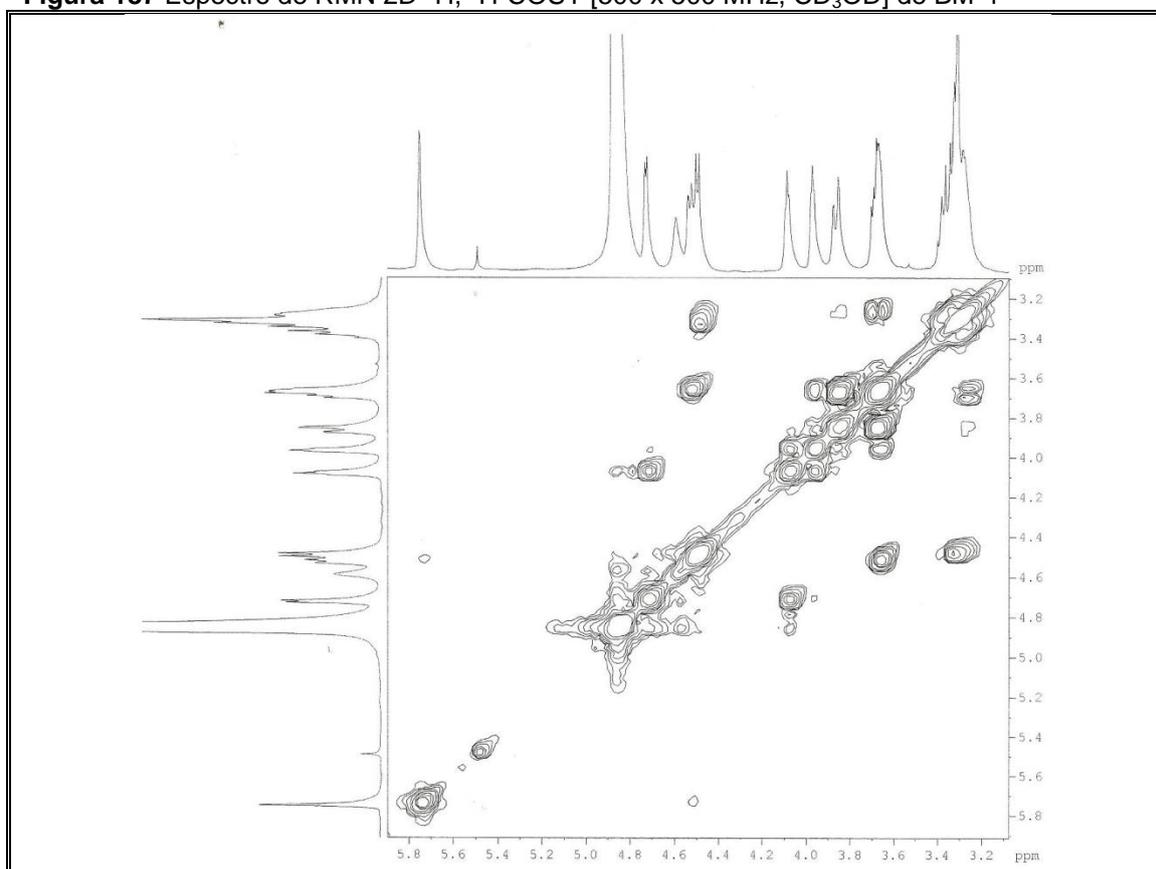


Figura 188 Espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HSQC [500 x 125 MHz, CD_3OD] de BM-4

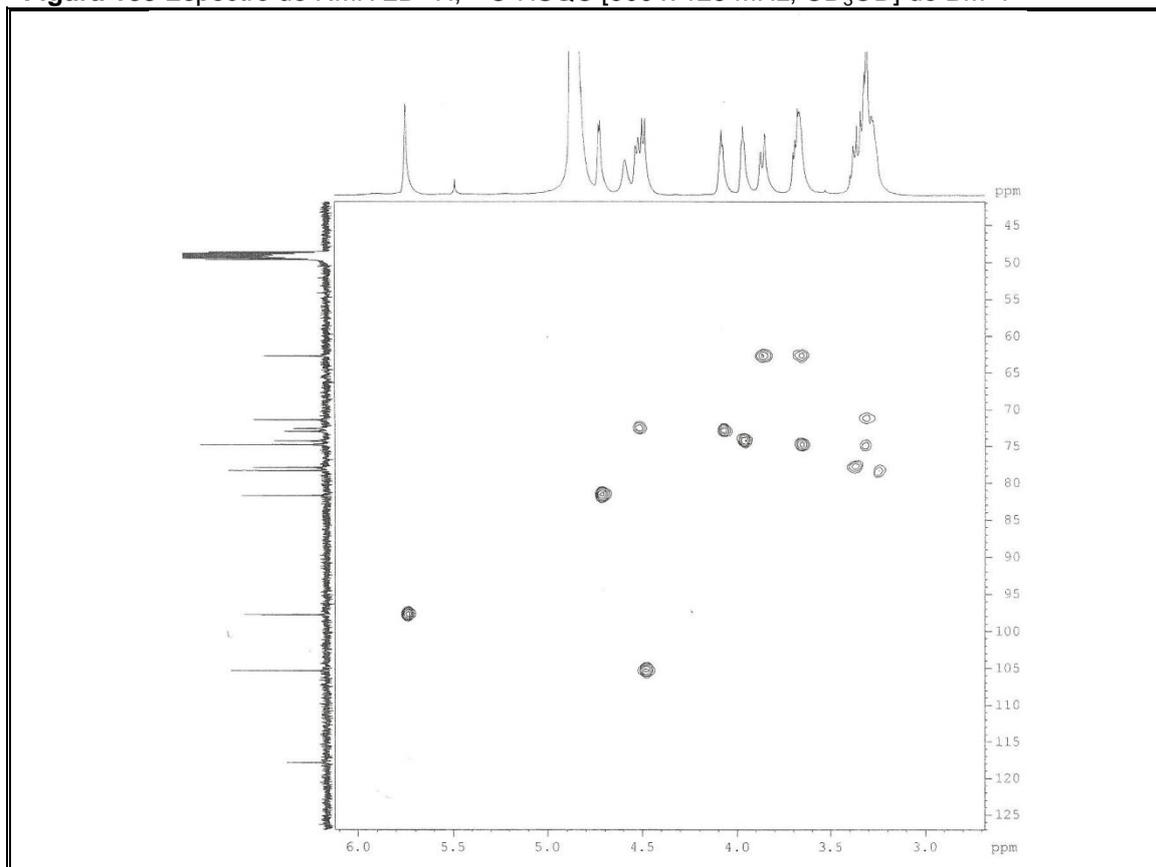


Figura 189 Expansão do espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HSQC [500 x 125 MHz, CD_3OD] de BM-4

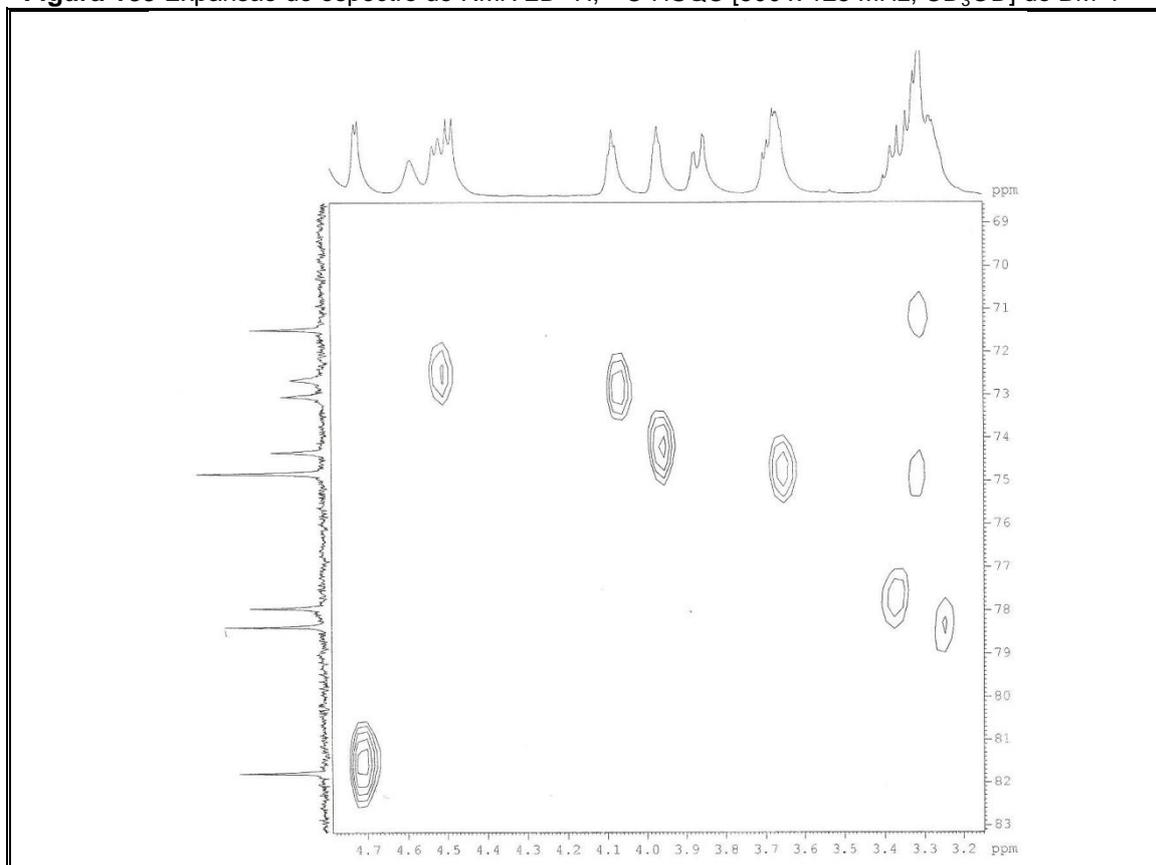


Figura 190 Espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HMBC [500 x 125 MHz, CD_3OD] de BM-4

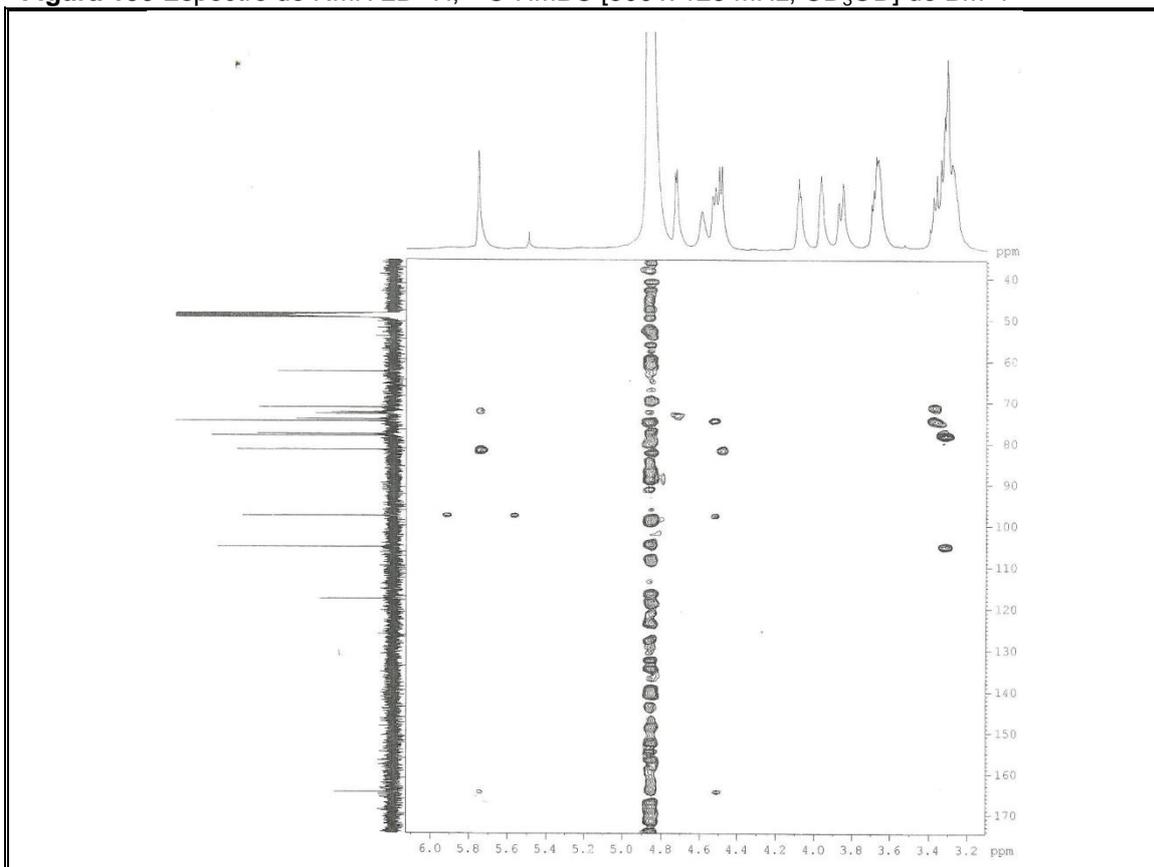


Figura 191 Expansão do espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HMBC [500 x 125 MHz, CD_3OD] de BM-4

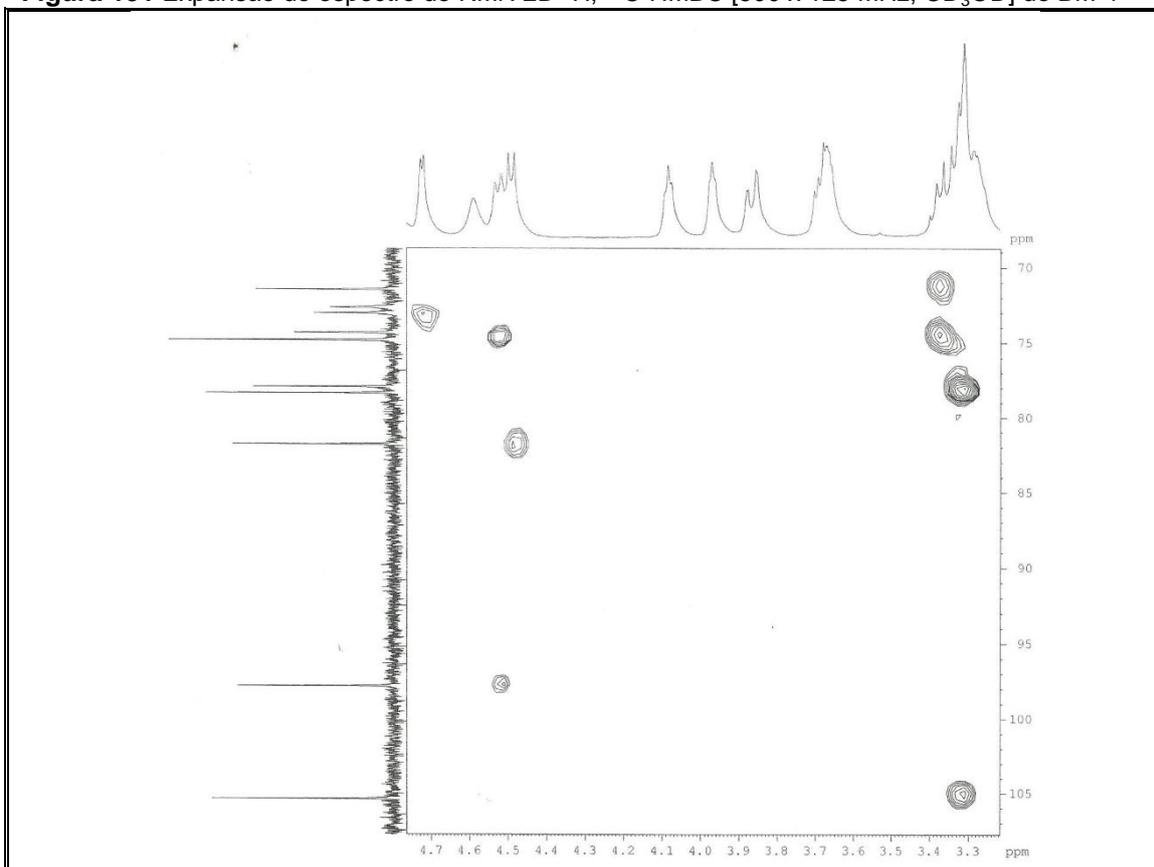


Figura 192 Espectro de RMN 2D ^1H , ^1H -NOESY [300 x 300 MHz, CD_3OD] de BM-4

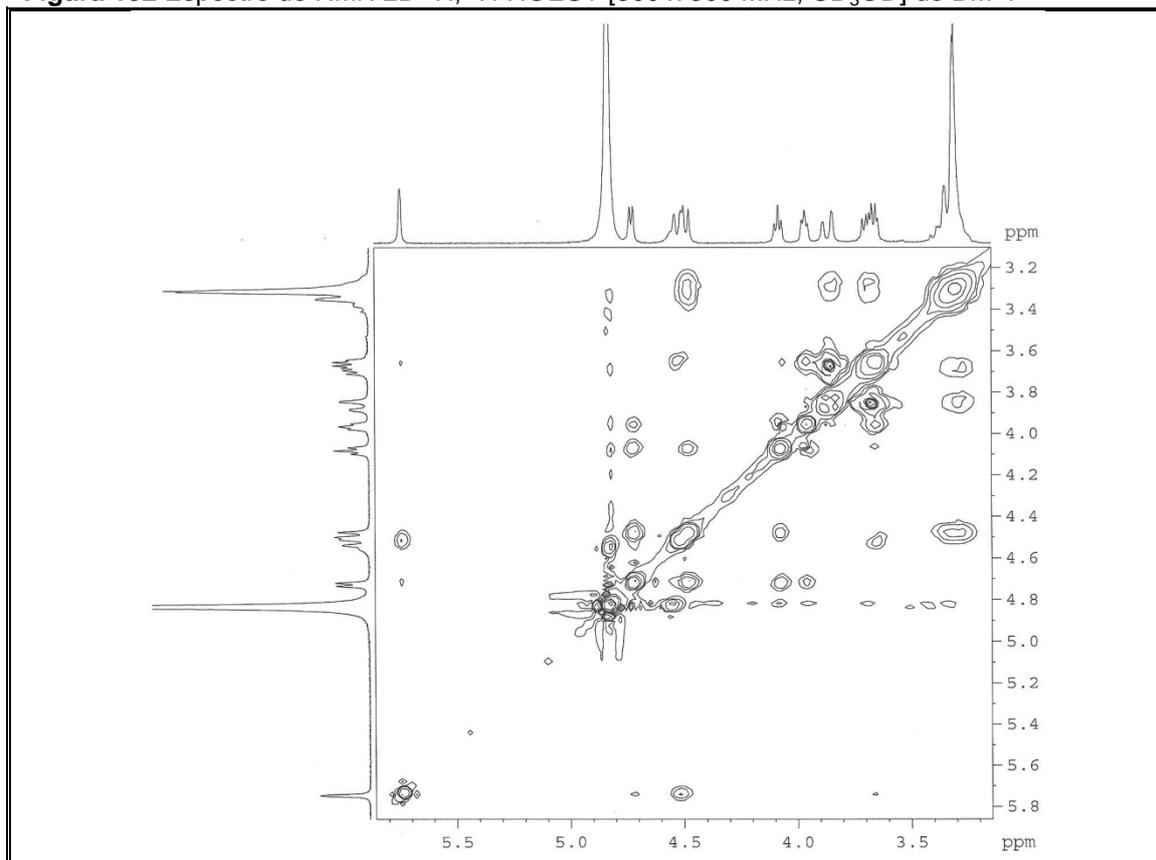


Figura 193 Expansão do espectro de RMN 2D ^1H , ^1H -NOESY [300 x 300 MHz, CD_3OD] de BM-4

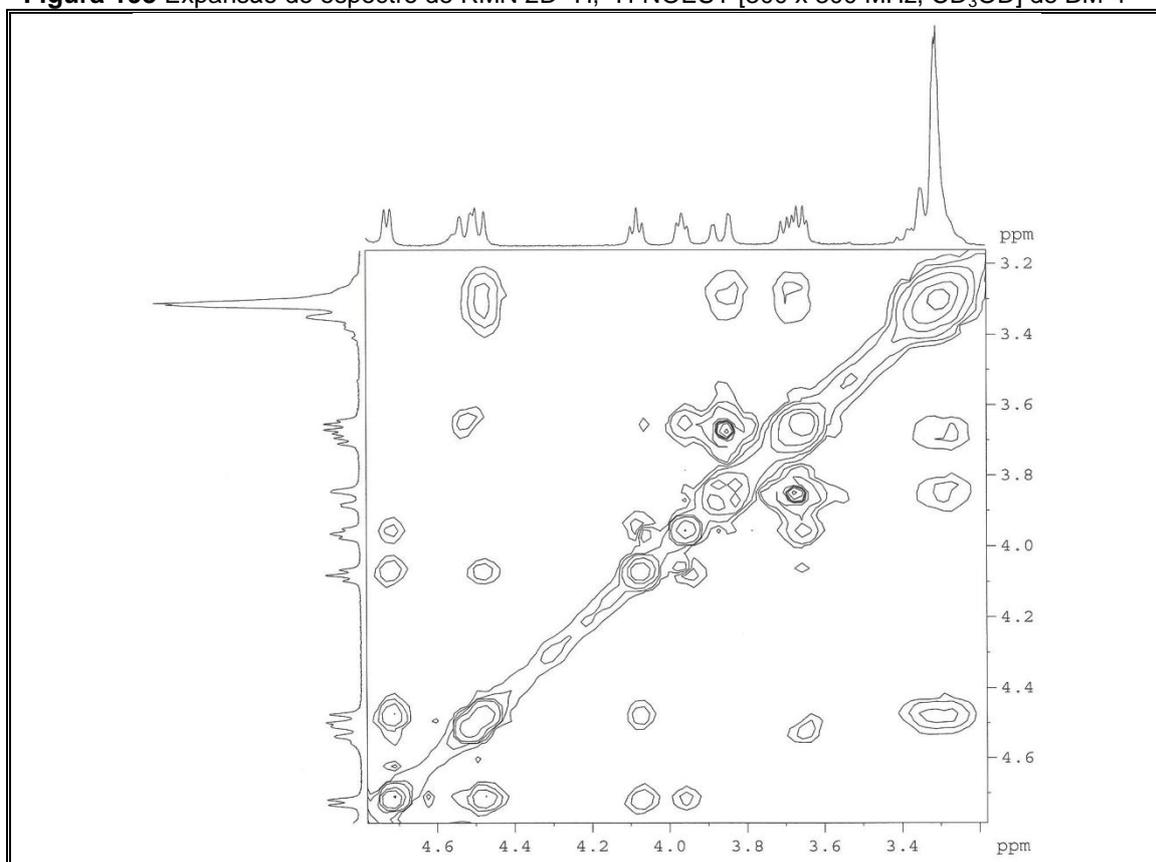


Figura 194 Espectro de NOE Seletivo obtido por irradiação no hidrogênio em δ_H 3,97 (H-4) (CD_3OD , 300 MHz) de BM-4

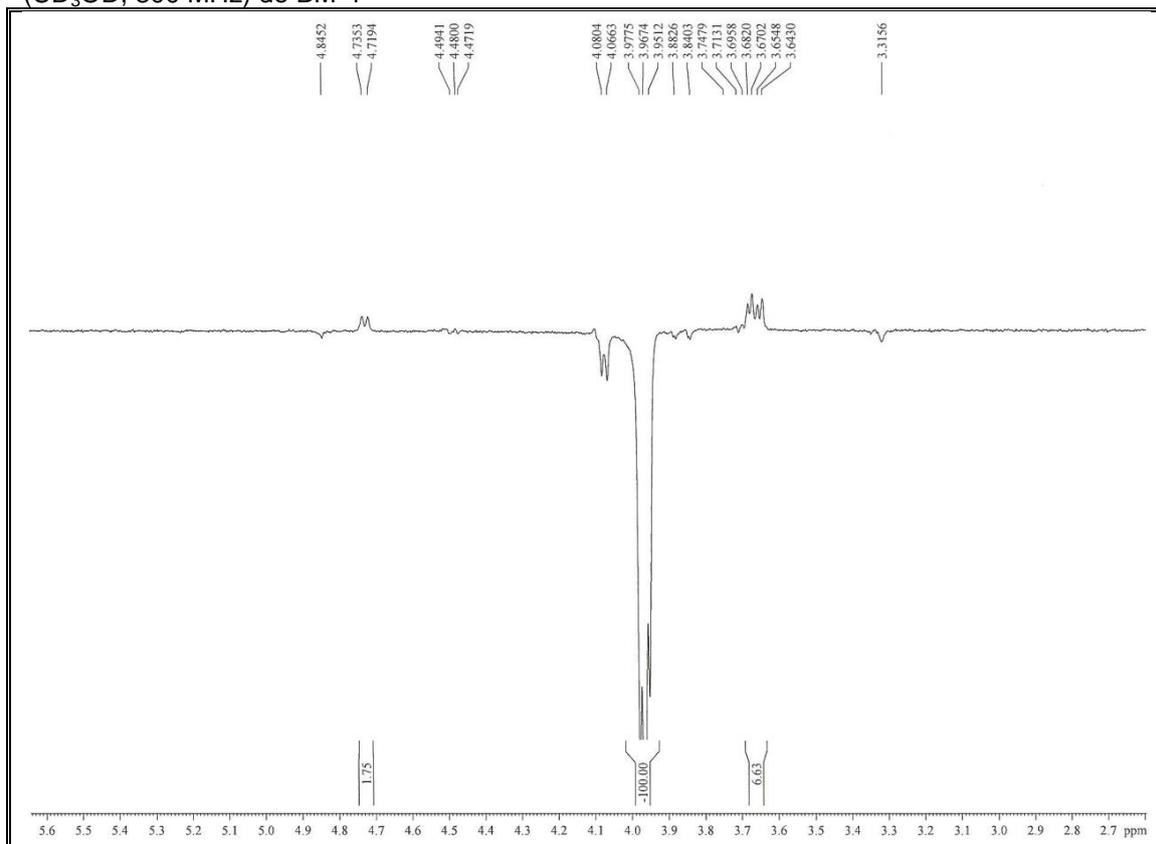


Figura 195 Espectro de NOE Seletivo obtido por irradiação no hidrogênio em δ_H 4,08 (H-5) (CD_3OD , 300 MHz) de BM-4

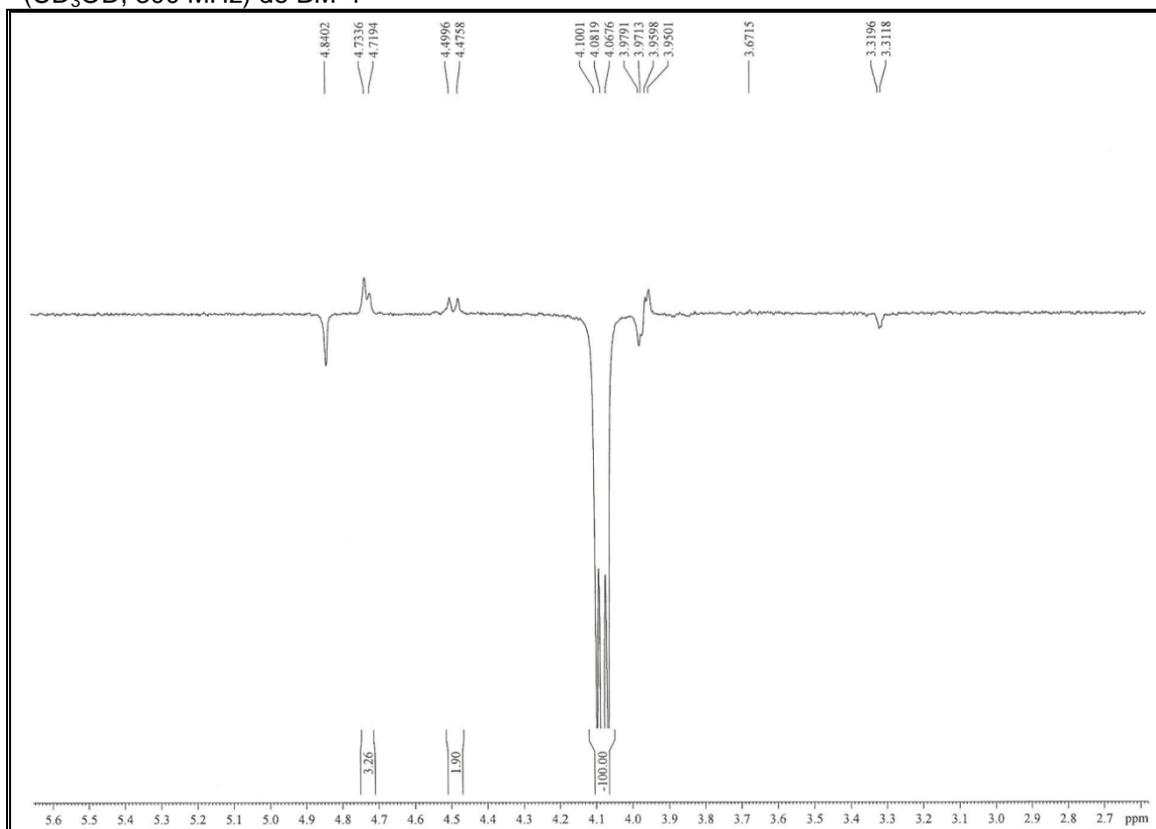


Figura 196 Espectro de NOE Seletivo obtido por irradiação no hidrogênio em δ_H 4,72 (H-6) (CD₃OD, 300 MHz) de BM-4

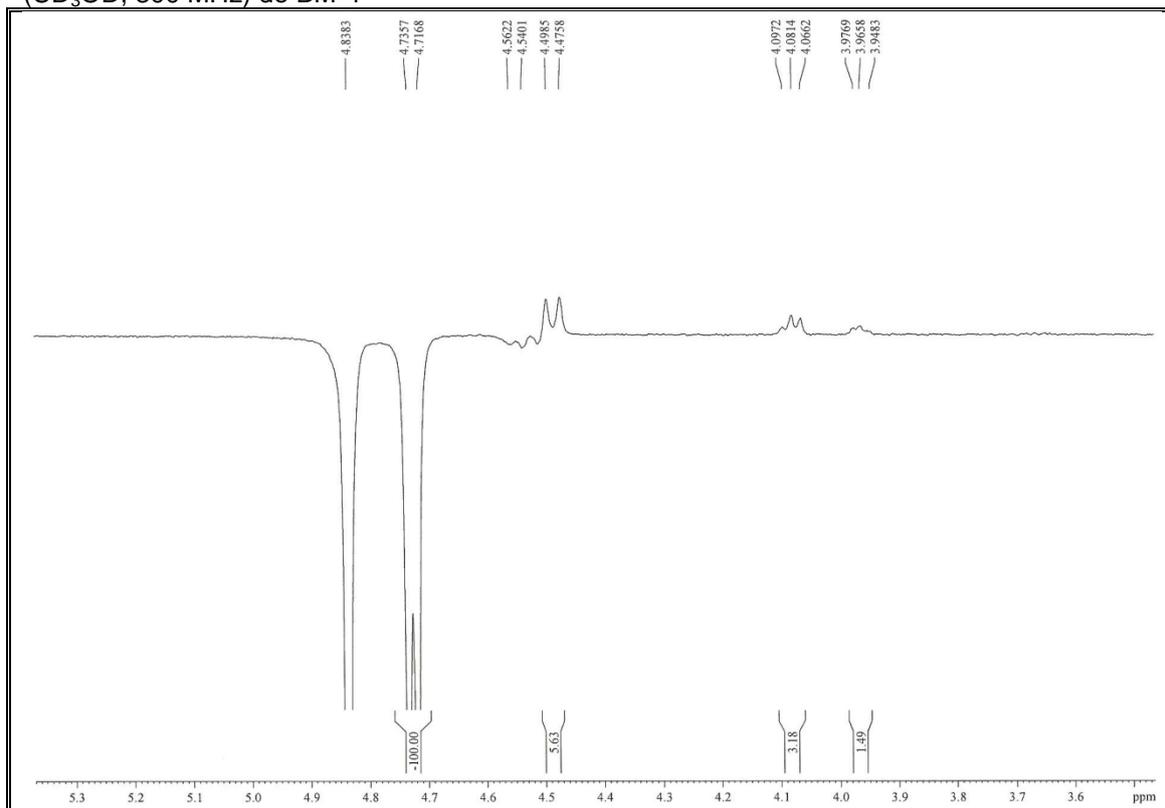


Figura 197 Espectro de NOE Seletivo obtido por irradiação no hidrogênio em δ_H 5,75 (H-7) (CD₃OD, 300 MHz) de BM-4

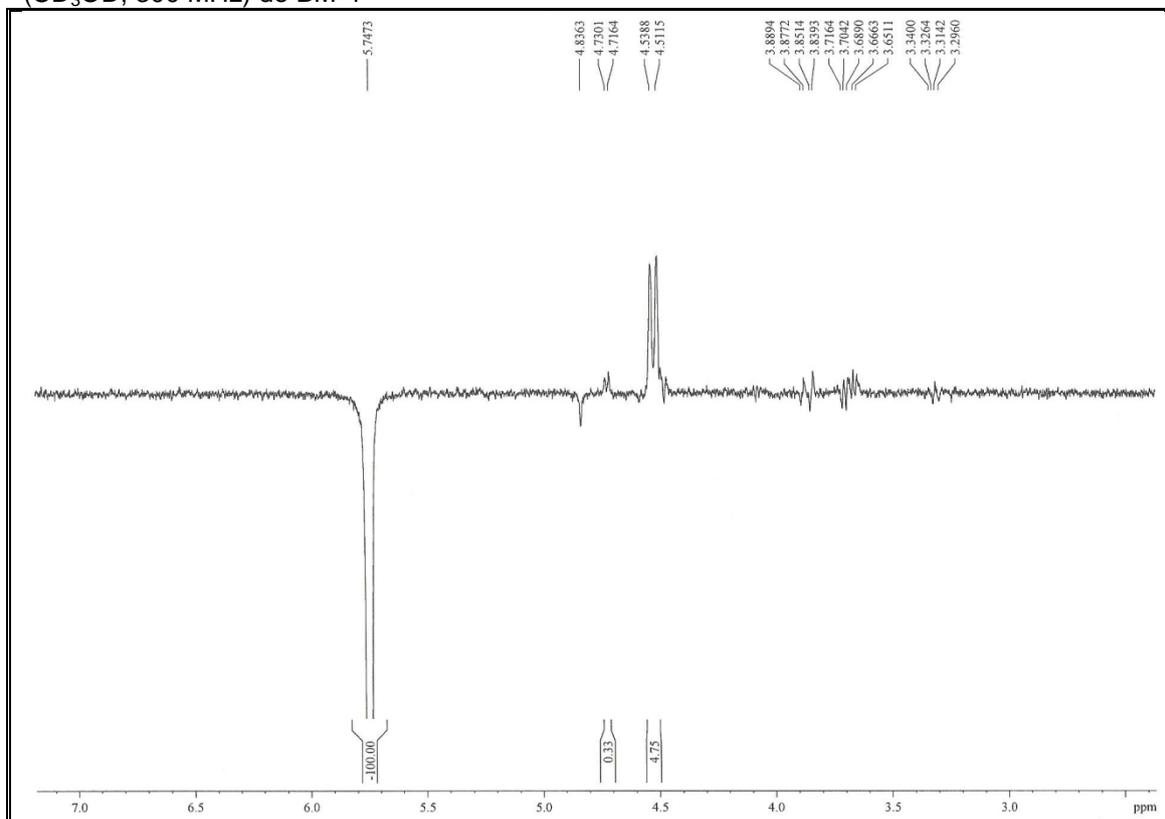
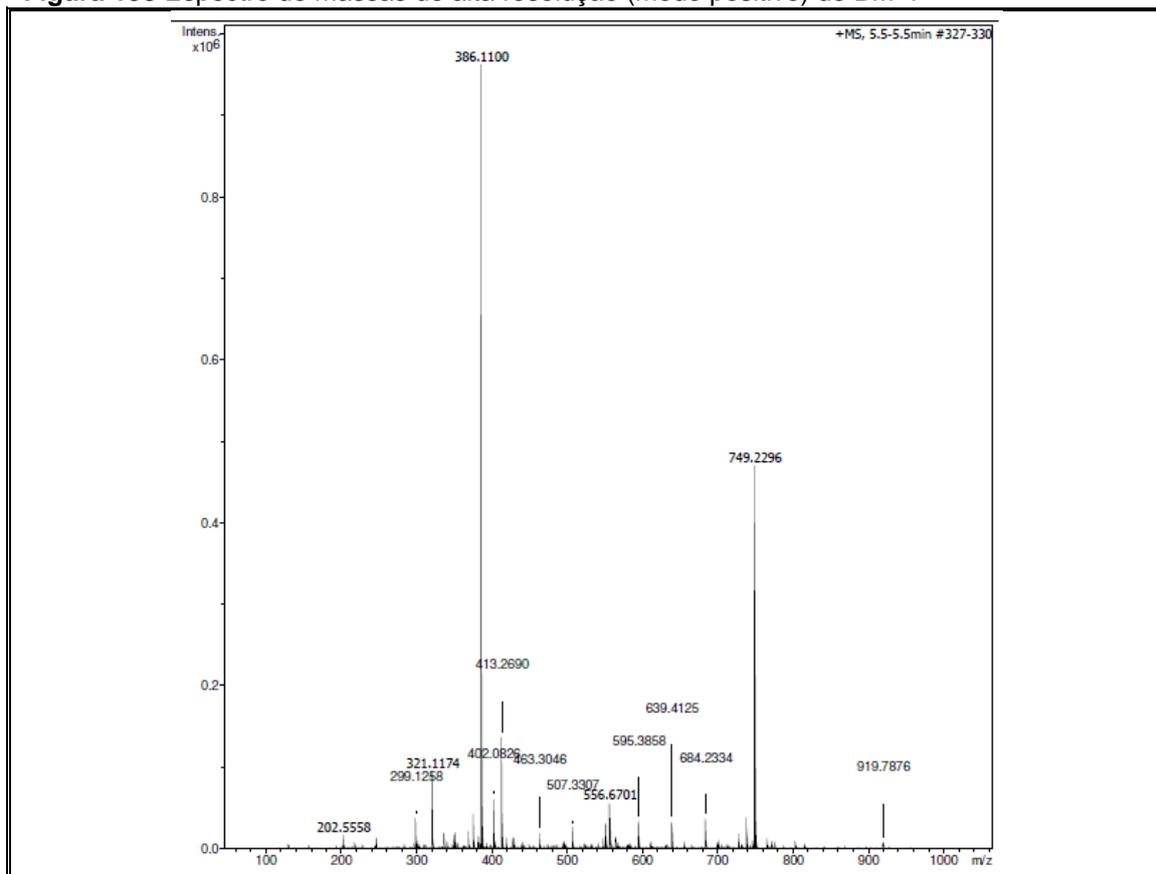


Figura 198 Espectro de massas de alta resolução (modo positivo) de BM-4



4.5.5 Determinação estrutural de BM-5

O composto BM-5 (4,8 mg), assim como BM-4, também foi obtido a partir do fracionamento cromatográfico da F 3-17 por CLAE, apresentando-se como uma resina de coloração marrom, com solubilidade em metanol.

O espectro na região do infravermelho (**Fig. 202, p. 209**) mostrou banda de absorção em 3396 e 2224 cm^{-1} , que foram atribuídas a presença de grupos hidroxila e nitrila, respectivamente. Foi observada também uma banda característica de deformação axial de ligação C=C em 1638 cm^{-1} , além de absorção em 2922 cm^{-1} relacionada à deformação axial de ligação C-H, e em 1077 cm^{-1} referente à deformação axial de ligação C-O.

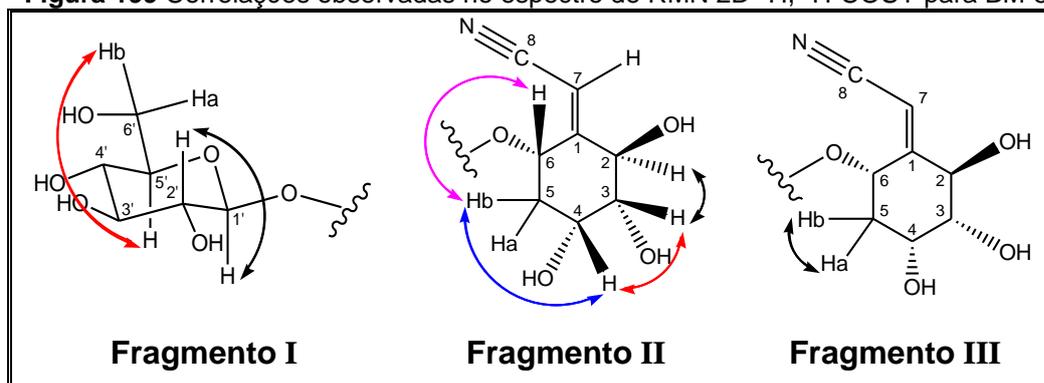
O espectro de RMN ^1H [300 MHz, CD_3OD] (**Fig. 203, p. 209**) de BM-5 mostrou-se muito semelhante ao de BM-4, apresentando sinais em: δ_{H} 3,18-3,42, referente aos hidrogênios oximetínicos de açúcares; δ_{H} 3,84 (dd, $J=12,0$ e 2,2 Hz, H-6'a) e 3,70 (dd, $J=12,0$ e 4,8 Hz, H-6'b) de hidrogênios metilênicos; e δ_{H} 4,41 (d, $J=7,7$ Hz, H-1') do hidrogênio anomérico. O espectro apresentou também um duplete em δ_{H} 5,70 (d, $J=2,0$ Hz, H-7) de hidrogênio ligado a carbono olefínico, quatro sinais de hidrogênios cabinólicos em δ_{H} 4,9 (H-6), 4,70 (dd, $J=9,6$ e 1,8 Hz, H-2), 4,09 (d, $J=3,2$ Hz, H-4), 3,31 (m, H-3). Além destes, foram observados dois duplo tripletos em δ_{H} 2,44 (dt, $J=15,5$ e 3,1 Hz, H-5a) e 1,80 (dt, $J=15,5$ e 3,7 Hz, H-5b) atribuídos a hidrogênios metilênicos diastereotópicos, os quais não foram detectados em BM-4.

O espectro de RMN ^{13}C -CPD [75 MHz, CD_3OD] (**Fig. 204, p. 210**) foi bastante similar ao de BM-4, exibindo sinais em: δ_{C} 104,6 típico de carbono anomérico de glicosídeo; δ_{C} 62,6-78,3 característicos de carbonos carbinólicos; δ_{C} 117,6 atribuído ao carbono de nitrila α,β -insaturada; e em δ_{C} 94,8 e 164,6 dos carbonos olefínicos alfa e beta ao grupo ciano, respectivamente. A diferença observada em relação ao espectro de BM-4 foi o surgimento do sinal de carbono sp^3 em δ_{C} 35,4. A análise comparativa entre os espectros de RMN ^{13}C -CPD e DEPT 135° (**Fig. 205, p. 210**) registrou a presença de dez carbonos metínicos (CH), dois carbonos metilênicos (CH_2) e dois carbonos não hidrogenados (C), conforme dispostos na **Tabela 25, p. 205**.

Tabela 25 Padrão de hidrogenação determinado através da comparação dos espectros de RMN ^{13}C -CPD e DEPT 135° de BM-5

C	CH	CH ₂	Fórmula molecular
117,60 (CN)	104,62 (C–O)	62,58 (C–OH)	
166,99	94,76	35,37	
	78,28 (C–O)		
	78,22 (C–OH)		
	78,16		
	77,99 (C–OH)		
	74,98 (C–OH)		
	71,45 (C–OH)		
	71,36 (C–OH)		
	70,66 (C–OH)		
C₂N	C₁₀H₁₆O₈	C₂H₅O	C₁₄H₂₁NO₉

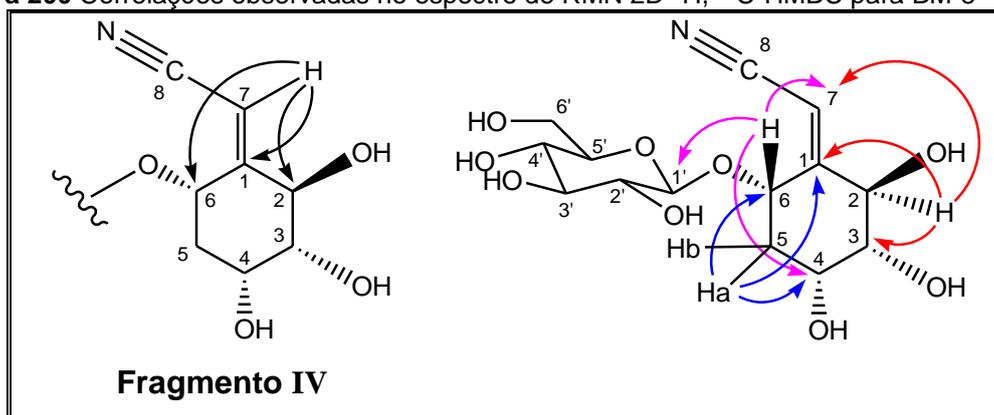
O espectro de RMN 2D ^1H , ^1H -COSY (Fig. 206, p. 211) mostrou acoplamentos vicinais entre os hidrogênios em δ_{H} 4,41 (d, $J=7,7$ Hz, H-1') com δ_{H} 3,21 (m, H-2'), e δ_{H} 3,70 (dd, $J=12,0$ e $4,8$ Hz, H-6'b) com δ_{H} 3,26 (m, H-5') (Fragmento I, Fig. 199). Acoplamentos vicinais também foram observados entre os hidrogênios em δ_{H} 4,70 (dd, $J=9,6$ e $1,8$ Hz, H-2) com δ_{H} 3,31 (m, H-3), δ_{H} 3,31 (m, H-3) com δ_{H} 4,09 (d, $J=3,2$ Hz, H-4), δ_{H} 4,09 (d, $J=3,2$ Hz, H-4) com δ_{H} 1,80 (dt, $J=15,5$ e $3,7$ Hz, H-5b), δ_{H} 1,80 (dt, $J=15,5$ e $3,7$ Hz, H-5b) com δ_{H} 4,9 (H-6) (Fragmento II, Fig. 199), além de acoplamento geminal entre os hidrogênios metilênicos δ_{H} 1,80 (dt, $J=15,5$ e $3,7$ Hz, H-5b) com δ_{H} 2,44 (dt, $J=15,5$ e $3,1$ Hz, H-5a) (Fragmento III, Fig. 199).

Figura 199 Correlações observadas no espectro de RMN 2D ^1H , ^1H -COSY para BM-5

No espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HSQC (**Fig. 207**, p. 211) não foi possível visualizar duas correlações carbono-hidrogênio, contudo o espectro HMBC, bem como dados da literatura auxiliaram nesta determinação.

O espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HMBC (**Fig. 208 e 209**, p. 212) apresentou correlação entre o hidrogênio em δ_{H} 5,70 (d, H-7) com os carbonos em δ_{C} 167,0 (C-1), 71,3 (C-2) e 78,1 (C-6) (**Fragmento IV**, **Fig. 200**). Outras correlações foram observadas entre o hidrogênio em δ_{H} 4,70 (dd, H-2) com os carbonos em δ_{C} 167,0 (C-1), 94,8 (C-7) e 78,2 (C-3), e entre δ_{H} 4,9 (H-6) com δ_{C} 94,8 (C-7), 70,7 (C-4) e 104,6 (C-1') (**Fig. 200**). Esta última correlação definiu a posição da unidade glicosídica no C-6. A correlação do hidrogênio em δ_{H} 2,44 (dt, H-5a) com os carbonos em δ_{C} 167,0 (C-1), 70,7 (C-4) e 78,1 (C-6) (**Fig. 200**) confirma a presença de hidrogênios metilênicos diastereotópicos, os quais estão posicionados no C-5, e o que diferencia BM-5 de BM-4.

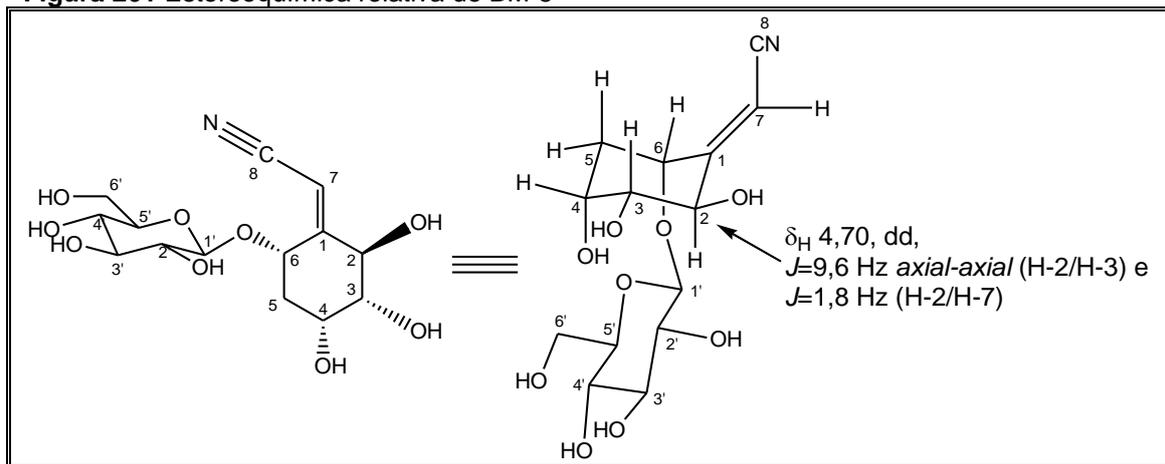
Figura 200 Correlações observadas no espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HMBC para BM-5



A estereoquímica relativa da unidade ciclohexânica de BM-5 (**Fig. 201**, p. 207) foi determinada com base nas constantes de acoplamentos (J) observadas nos sinais de átomos de hidrogênios. Assim, o hidrogênio H-2 exibiu sinal como um duplete de duplete ($J=9,6$ e $1,8$ Hz) em δ_{H} 4,70 devido aos acoplamentos *trans* axial-axial ($9,6$ Hz) com H-3 (δ_{H} 3,31), e alílico ($1,8$ Hz) com H-7 (δ_{H} 5,70). Os sinais correspondentes aos átomos de hidrogênios do grupo metilênico 2H-5 (obrigatoriamente um pseudoaxial e outro pseudoequatorial) revelaram-se como dois tripletos de dupletos (δ_{H} 2,44, dt, $J=15,5$ e $3,1$ Hz; δ_{H} 1,80, dt, $J=15,5$ e $3,7$ Hz) e não revelaram valor representando interação *axial-axial* (o valor $J=15,5$ Hz corresponde ao

acoplamento geminado envolvendo os dois 2H-5), permitindo deduzir que os átomos de hidrogênios H-4 e H-6 devem ser necessariamente localizados em posições equatoriais. O sinal do H-4 (*equatorial*) foi observado como um duplete ($J=3,2$ Hz) e, conseqüentemente, o acoplamento representado pelo valor de $J=3,7$ Hz observado em um dos sinais do 2H-5 deve ser atribuído a interação spin-spin envolvendo o H-6 (*equatorial*).

Figura 201 Estereoquímica relativa de BM-5



O espectro de massas de alta resolução (modo positivo) (**Fig. 210, p. 213**) revelou o pico do íon molecular em m/z 348,1296 ($[M + H]^+$, calc 348,1295), que confirma a fórmula molecular $C_{14}H_{21}NO_9$ para BM-5, com IDH=4.

A comparação dos dados espectrais de RMN 1H e ^{13}C de BM-5 com dados da literatura (BOVEN *et al.*, 1994) (**Tab. 26, p. 208**) permitiu identificá-la como sendo o raro cianoglicosídeo (2*S*,3*S*,4*S*,6*R*)-(Z)-6-(β-D-glicopiranosiloxi)-2,3,4-triidroxiciclohexilideno]-Δ^{1,α}-acetonitrila (didemetilsimmondsina), que está sendo registrado pela primeira vez no gênero *Bauhinia*.

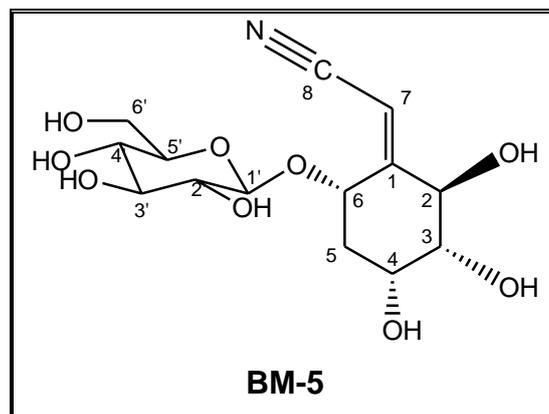


Tabela 26 Dados de RMN ^1H e ^{13}C de BM-5, incluindo correlação heteronuclear através de uma ligação (HSQC: $^1J_{\text{CH}}$) e a longa distância (HMBC: $^nJ_{\text{CH}}$, $n=2$ e 3), em CD_3OD como solvente

C	BM-5					
	HSQC		HMBC		Lit.* (CD_3OD)	
	δ_{C}	δ_{H}	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	δ_{C}	δ_{H}
1	167,0	-	H-2; H-7	H-5	166,8	-
2	71,3	4,70 (dd, $J=9,6$ e $1,8$)		H-4; H-7	71,15	4,69 (dd)
3	78,2	3,31 (m)	H-2	H-5	78,05	3,31 (dd)
4	70,7	4,09 (d, $J=3,2$)	H-5	H-6	70,5	4,08 (q)
5	35,4	2,44 (dt, $J=15,5$ e $3,1$) 1,80 (dt, $J=15,5$ e $3,7$)			35,2	2,42 (dt) 1,77 (dt)
6	78,1	4,90	H-5	H-2; H-4; H-7; H-1'	78,0	4,92 (t)
7	94,8	5,70 (d, $J=2,0$)		H-2; H-6	94,6	5,68 (d)
8	117,6	-			117,4	-
1'	104,6	4,41 (d, $J=7,7$)	H-2'	H-6	104,5	4,40 (d)
2'	75,0	3,21 (m)			74,8	3,20 (dd)
3'	78,0	3,39 (m)			77,8	3,39 (t)
4'	71,4	3,35 (m)	H-3'	H-6'	71,2	3,36 (t)
5'	78,3	3,26 (m)	H-4'		78,1	3,24 (m)
6'	62,6	3,84 (dd, $J=12,0$ e $2,2$) 3,70 (dd, $J=12,0$ e $4,8$)			62,4	3,82 (dd) 3,69 (dd)

Deslocamentos químicos (δ_{C} e δ_{H}) em ppm e constante de acoplamento (J) em Hz * (BOVEN *et al.*, 1994)

Figura 202 Espectro na região do infravermelho de BM-5

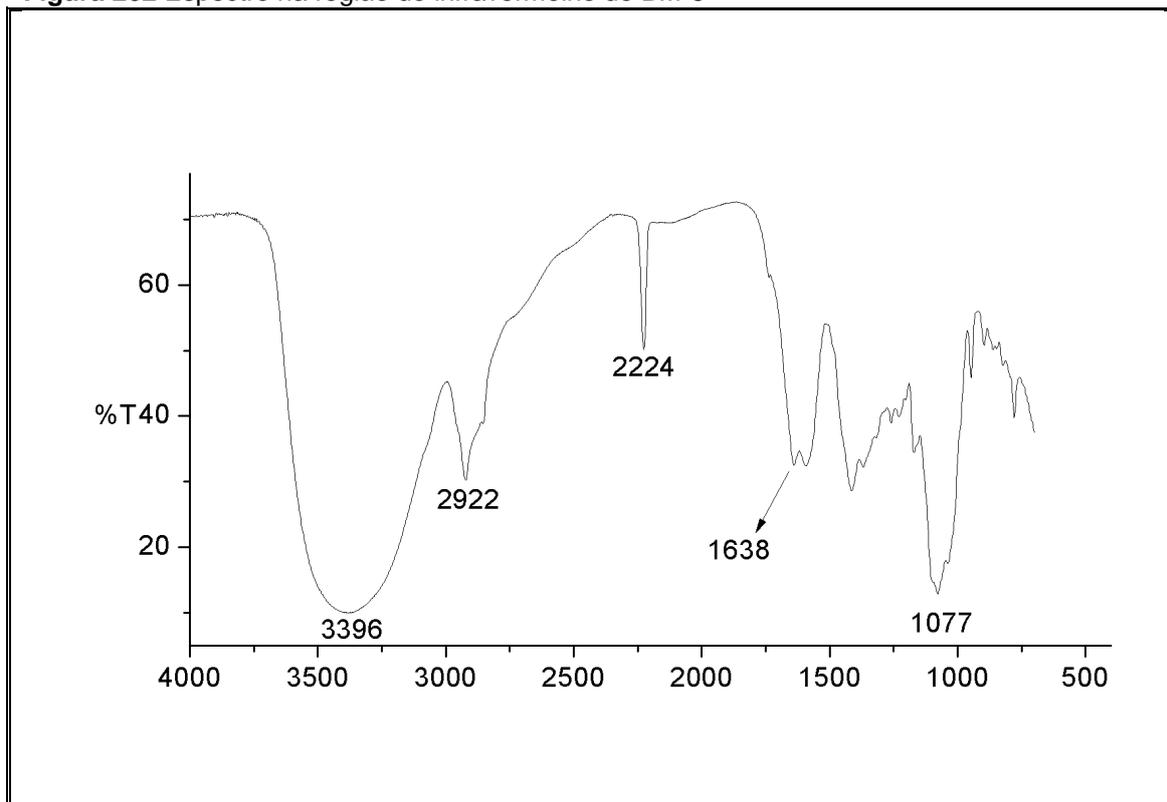


Figura 203 Espectro de RMN ¹H [300 MHz, CD₃OD] de BM-5

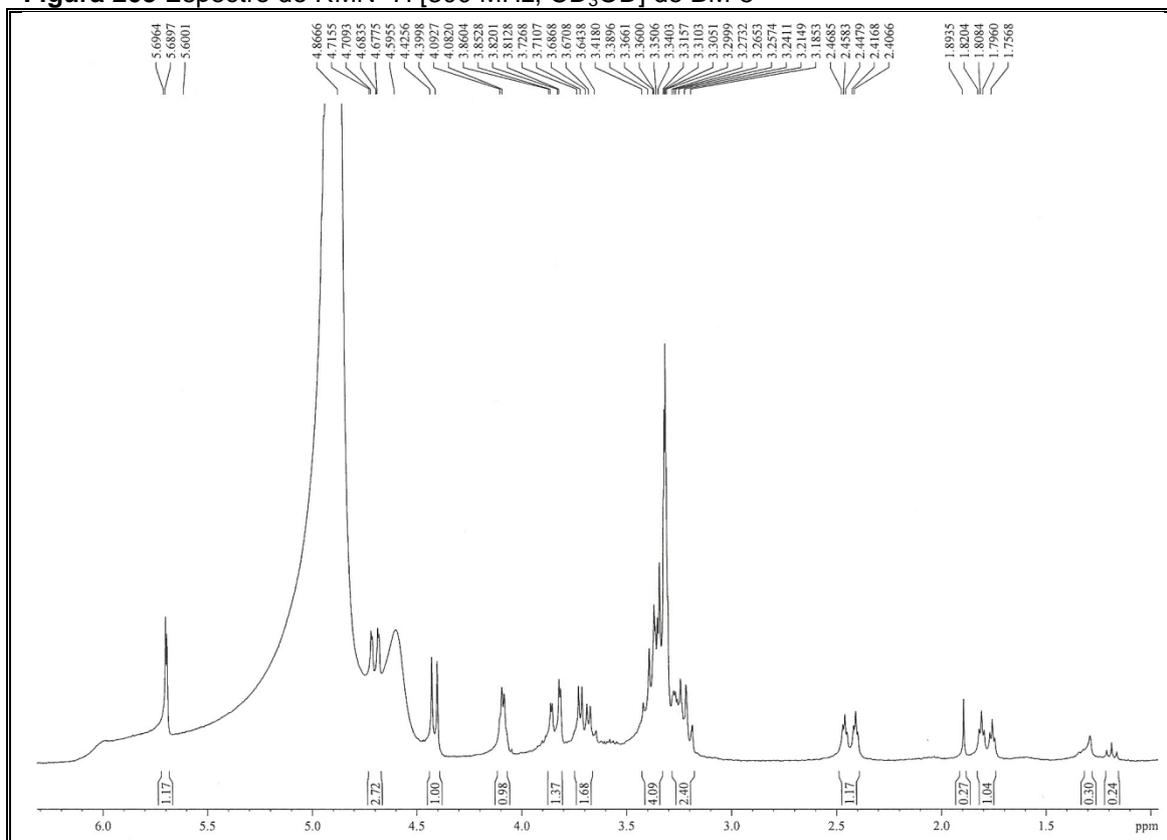


Figura 204 Espectro de RMN ^{13}C -CPD [75 MHz, CD_3OD] de BM-5

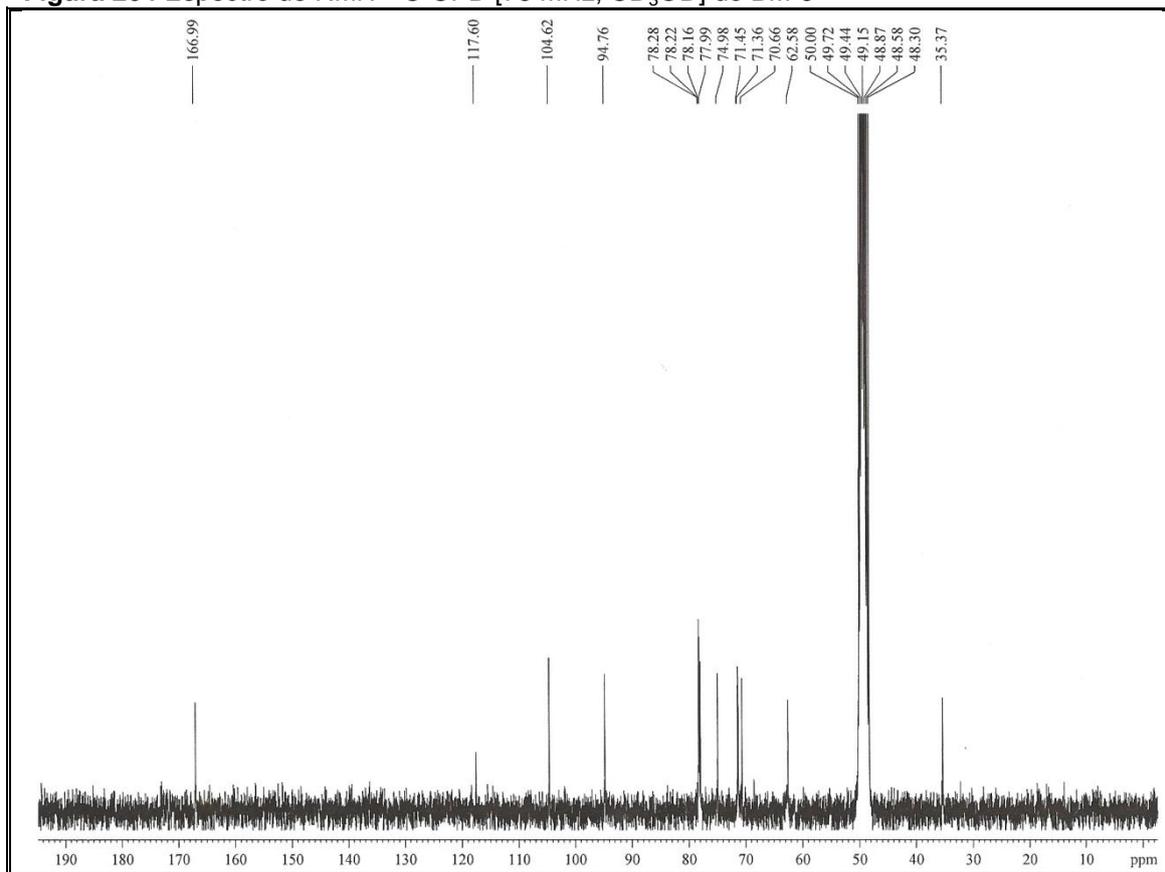


Figura 205 Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° [75 MHz, CD_3OD] de BM-5

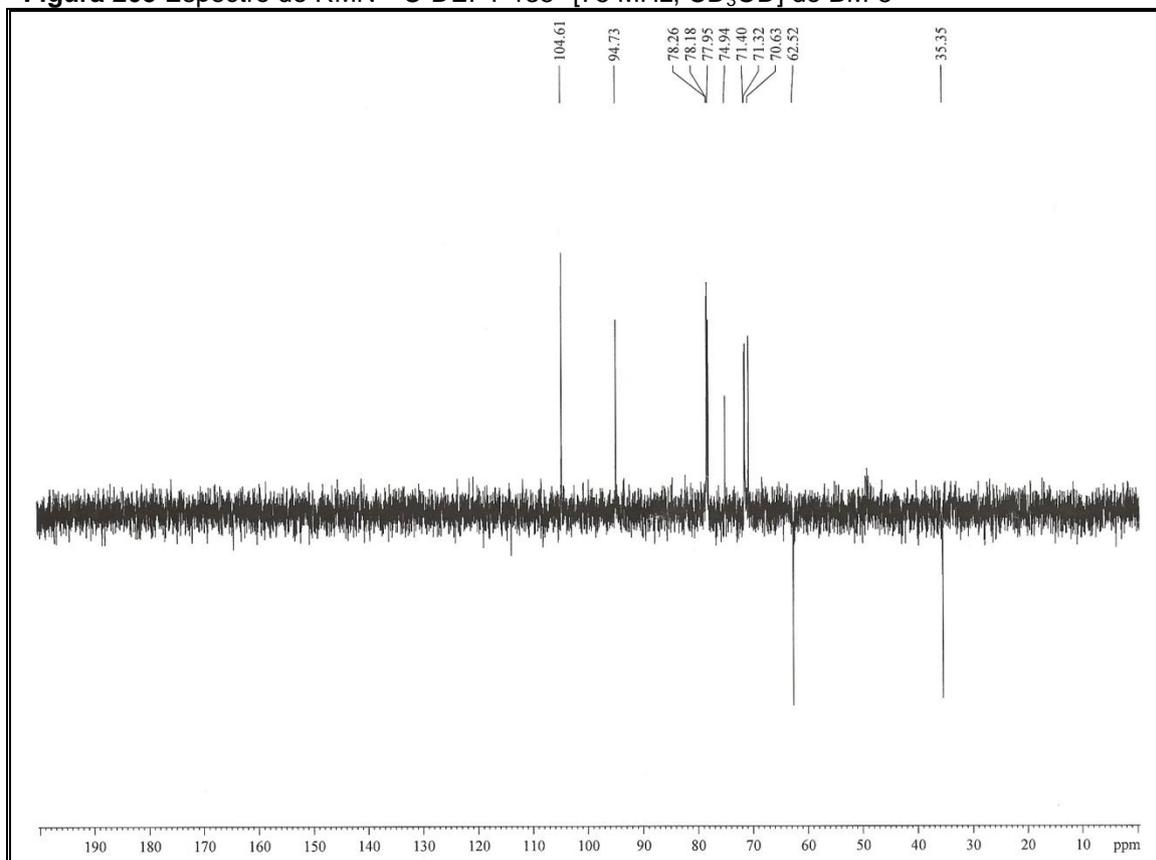


Figura 206 Espectro de RMN 2D ^1H , ^1H -COSY [300 x 300 MHz, CD_3OD] de BM-5

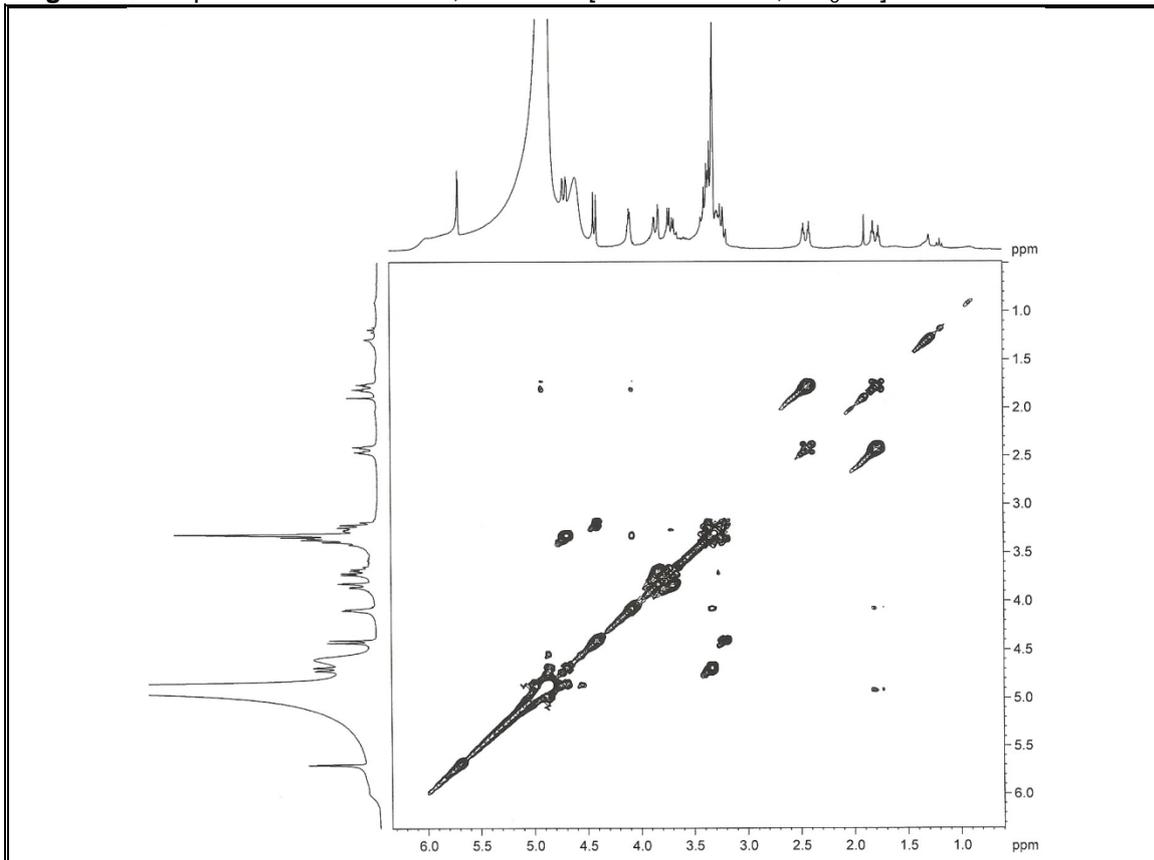


Figura 207 Espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HSQC [300 x 75 MHz, CD_3OD] de BM-5

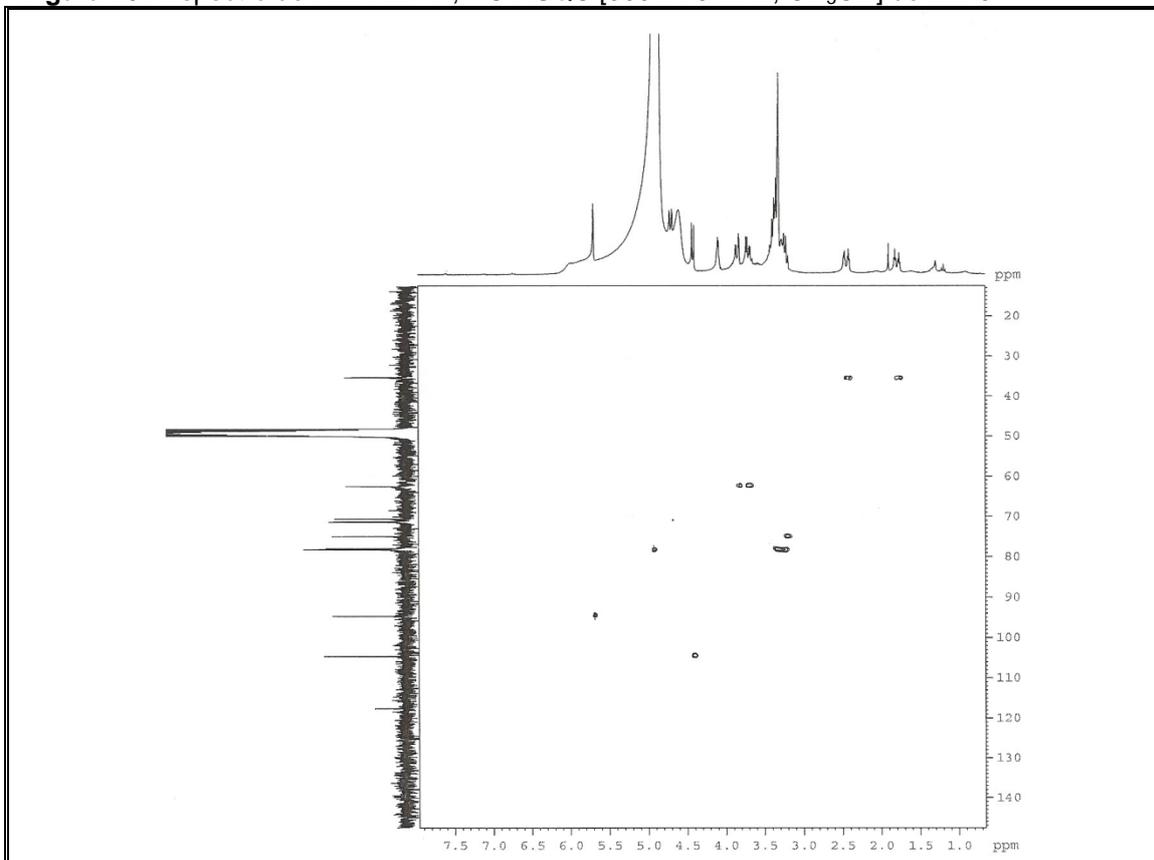


Figura 208 Espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HMBC [300 x 75 MHz, CD_3OD] de BM-5

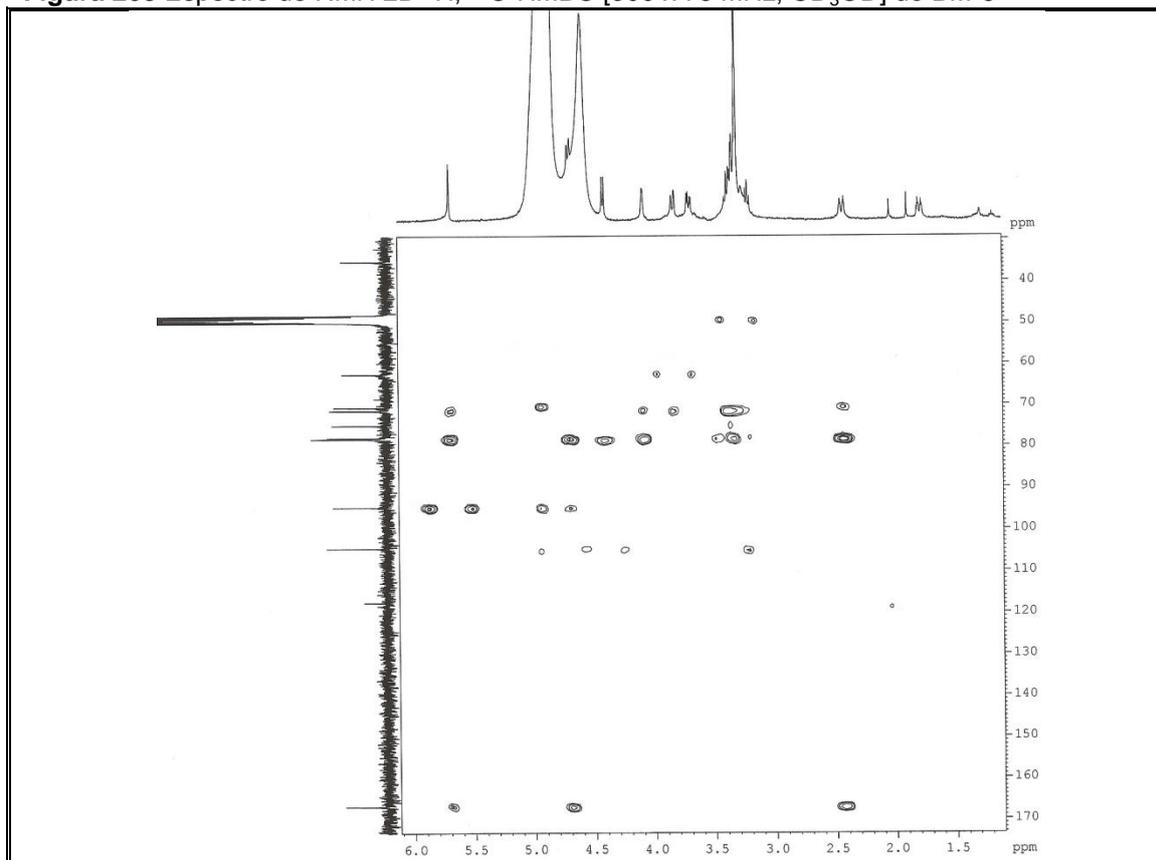


Figura 209 Expansão do espectro de RMN 2D ^1H , ^{13}C -HMBC [300 x 75 MHz, CD_3OD] de BM-5

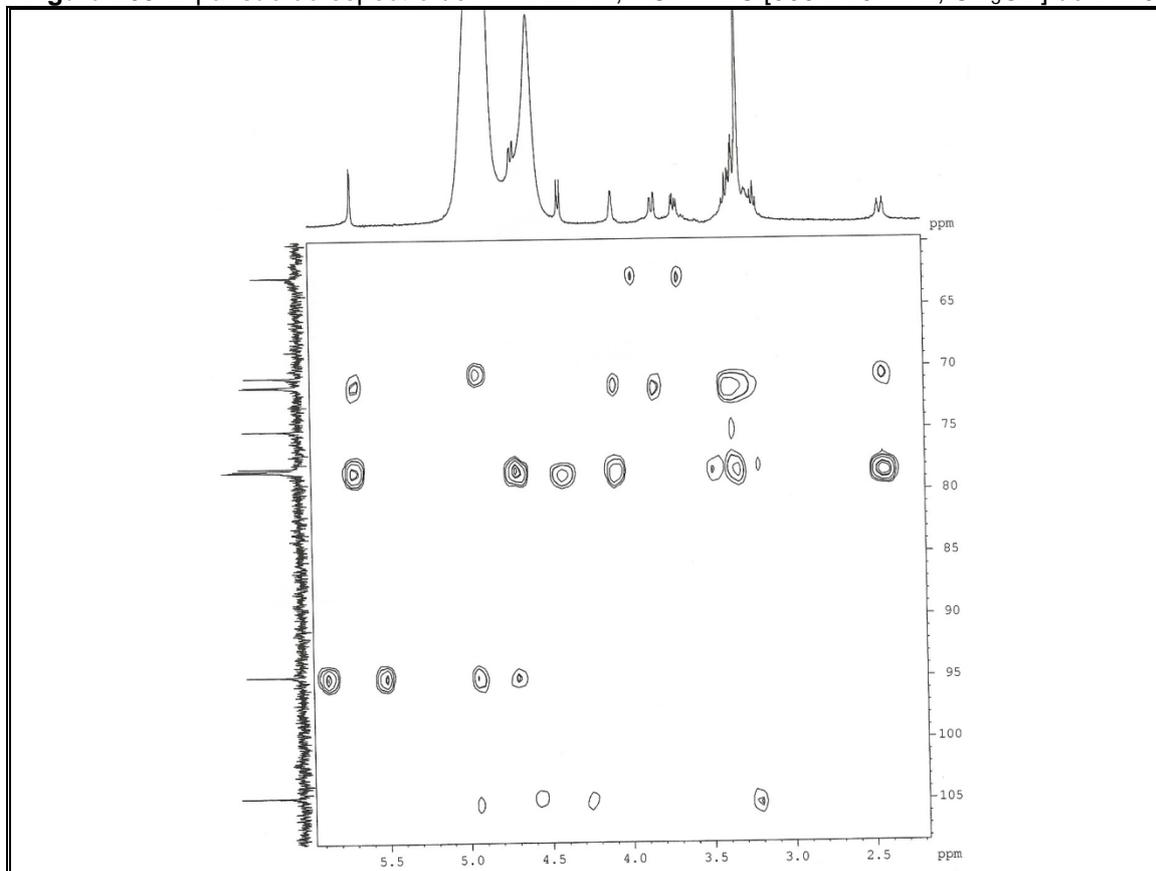
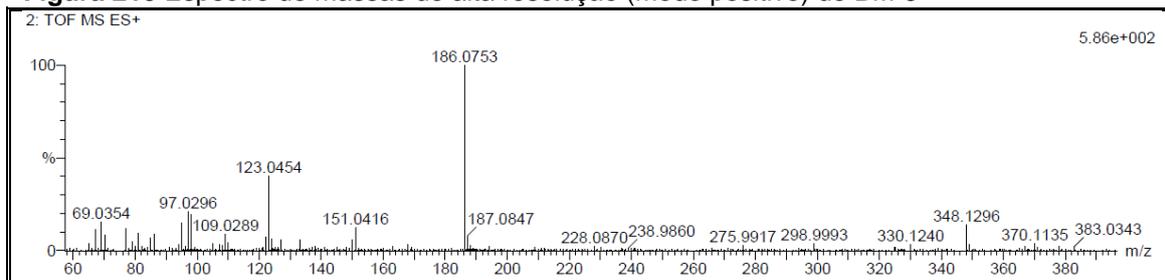


Figura 210 Espectro de massas de alta resolução (modo positivo) de BM-5



4.6 Atividade antioxidante

O extrato etanólico das folhas de *B. pentandra* (EEBP) e *B. monandra* (EEBM) foram submetidos ao teste de atividade antioxidante utilizando o método do sequestro do radical DPPH (HEGAZI; EL HADY, 2002). Através dessa metodologia foi observada atividade significativa para os dois extratos na concentração de 1 mg/mL com inibição de 99,8% de radicais. A **Tabela 27** mostra os resultados obtidos no ensaio antioxidante, juntamente com os valores de IC₅₀. Os dados mostram que o extrato que se revelou mais ativo foi o EEBP com IC₅₀ de $3,55 \times 10^{-2}$ mg/mL, resultado superior ao padrão Vitamina-C.

Tabela 27 Resultado do teste de atividade antioxidante

Amostras	Concentração (mg/mL)		IC ₅₀ (mg/mL)
	1,0	0,1	
EEBP	99,8%	94,7%	$3,55 \times 10^{-2} \pm 7,6 \times 10^{-4}$
EEBM	99,8%	92,7%	$4,46 \times 10^{-2} \pm 1,1 \times 10^{-4}$
Troxol	99,9%	99,8%	$2,6 \times 10^{-3} \pm 2,3 \times 10^{-4}$
Vitamina-C	99,8%	92,8%	$4,3 \times 10^{-2} \pm 1,9 \times 10^{-2}$

NA – não apresentou atividade

4.7 Atividade nematicida

O extrato etanólico das folhas de *B. pentandra* (EEBP) e *B. monandra* (EEBM) foram submetidos ao ensaio de atividade nematicida *in vitro* utilizando nematóides *Meloidogyne incognita* no segundo estágio (J2) obtidos a partir das massas extraídas das raízes de *Vernonia* sp cultivadas em casa de vegetação. As amostras não apresentaram percentual de mortalidade satisfatório na concentração de 1000 ppm. Portanto, pode-se concluir que o índice de mortalidade das amostras analisadas é maior que 1000 ppm. Os resultados de atividade nematicida dos extratos encontram-se na **Tabela 28, p. 215**, com seus respectivos percentuais de mortalidade.

Tabela 28 Resultado do ensaio de atividade nematicida

Amostras	Percentual de mortalidade dos juvenis J2 de <i>Meloidogyne incógnita</i>				
	%R1	%R2	%R3	%M	DP
EEBP	16,00	15,00	16,41	15,80	0,72
EEBM	0	0	0	0	0
* Branco	0	0	0	0	0

%R= Porcentagem da Repetição

%M = Média da Porcentagem

DP= Desvio Padrão

* Branco = DMSO 2

4.8 Atividade inibidora da enzima acetilcolinesterase (AChE)

Os extratos etanólicos das folhas de *B. pentandra* (EEBP) e *B. monandra* (EEBM) foram testados quanto a inibição da enzima AChE. Os dois extratos mostraram-se potentes, sendo observado através da placa de CCD a presença de halos brancos, indicando ação inibitória sobre a enzima AChE. Os halos de inibição (HI) dos dois extratos foram de 0,9 cm, resultado igual ao do controle positivo sal de Eserina (**Tab. 29**).

Tabela 29 Resultado do ensaio de inibição da enzima AChE

Amostras	HI (cm)	Resultado
Sal de Eserina	0,9	Positivo
EEBP	0,9	Positivo
EEBM	0,9	Positivo

4.9 Determinação de fenóis totais

O teor de fenóis foi determinado através da equação da reta e expresso em mg de equivalente de ácido gálico (EAG) por g de amostra. O conteúdo total de polifenóis presente nos extratos etanólicos das folhas de *B. pentandra* (EEBP) e *B. monandra* (EEBM) foi de $64,6 \pm 1,8$ e $49,1 \pm 0,2$ mg de EAG/g de amostra, respectivamente.

5 PARTE EXPERIMENTAL

5.1 Material vegetal

O trabalho de pesquisa realizado teve como objetivo o estudo fitoquímico de constituintes fixos e voláteis das espécies *Bauhinia pentandra* (Bong.) D.Dietr. e *Bauhinia monandra* Kurz. As folhas foram coletadas no Horto de Plantas Medicinais da Universidade Federal do Ceará (UFC). As exsiccatas devidamente determinadas encontram-se depositadas no Herbário Prisco Bezerra do Departamento de Biologia (UFC), onde foram identificadas e registradas sob os números 53444 e 53095, respectivamente.

5.2 Métodos cromatográficos

5.2.1 Cromatografia em coluna (CC)

As cromatografias de adsorção em coluna foram executadas utilizando gel de sílica 60, com granulometria de 70-230 mesh, da marca Vetec (cromatografia gravitacional). O comprimento e o diâmetro das colunas variaram de acordo com as quantidades das amostras a serem cromatografadas e com a quantidade de gel de sílica empregada.

Os solventes utilizados nos procedimentos cromatográficos foram: hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol, puros ou em misturas binárias em proporção crescente de polaridade. Os solventes utilizados nos procedimentos eram de qualidade P.A. A remoção dos solventes dos extratos e das frações resultantes das cromatografias foi realizada em evaporador rotativo BUCHI.

5.2.2 Cromatografia em coluna de fase reversa (C18)

As cromatografias em coluna de fase reversa C18 foram realizadas em cartuchos de octadecil-silica utilizando colunas Phenomenex.

5.2.3 Cromatografia em camada delgada (CCD)

Nas cromatografias em camada delgada (CCD) foram usadas cromatoplaças de gel de sílica 60, 2-25 μm , com indicador de fluorescência na faixa de 254 nm (Merck).

As revelações das substâncias nas cromatoplaças foram realizadas pela imersão em solução de vanilina ($\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_3$) e ácido perclórico (HClO_4) em etanol ($\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$), seguido de aquecimento com soprador térmico.

5.2.4 Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) foi realizada em equipamento da marca SHIMADZU, constituído por duas bombas de alta pressão, modelo LC-20AT, e detector UV-Vis, modelo SPD-M20A. Foram utilizadas colunas semi-preparativas de fase normal (gel de sílica, 250 x 10 mm, 5 μm) e de fase reversa (C18, 250 x 10 mm, 10 μm). Como fase móvel foram utilizados solventes com grau de pureza CLAE: hexano e acetato de etila para a coluna de fase normal, e metanol e água deionizada para a de fase reversa. Os solventes foram filtrados em membrana de nylon com poros de 0,45 μm . As amostras foram dissolvidas com os solventes usados na fase móvel e filtradas num sistema manual de membrana de teflon com poros de 0,45 μm .

5.3 Métodos espectroscópicos e espectrométricos

5.3.1 Espectroscopia na região do infravermelho (IV)

Os espectros de absorção na região do infravermelho foram registrados em espectrômetro Perkin-Elmer, modelo Spectrum 100 FT-IR usando o aparato UATR (Universal Attenuated Total Reflectance), pertencente ao Laboratório de Espectrometria de Massas do Nordeste, da Universidade Federal do Ceará (LEMANOR-UFC). Os experimentos foram realizados com as amostras sólidas ou dissolvidas em clorofórmio.

5.3.2 Espectrometria de massas (EM)

Os espectros de massas dos óleos essenciais e dos ésteres metílicos foram obtidos em cromatógrafo gasoso acoplado a espectrômetro de massa (CG-EM SHIMADZU, modelo QP2010), com injetor automático AOC-20i, coluna capilar RTX-5MS (5% fenil e 95% dimetilpolisiloxano, 30 m x 0,25 mm, 0,25 μ m) e tendo o hélio (He) como gás de arraste, com vazão de 1,0 mL/min para os óleos essenciais e 1,46 mL/min para os ésteres metílicos.

Para a análise dos óleos essenciais a temperatura do forno foi programada de 40-180°C a uma taxa de 4°C/min, depois de 180-280°C a uma taxa de 20°C/min e mantida a 280°C durante 10 min. A temperatura do injetor e do detector (ou interface) foi de 250 e 300°C, respectivamente.

Para a análise dos ésteres metílicos a temperatura do forno foi programada de 80-280°C a uma taxa de 5°C/min, depois de 280-300°C a uma taxa de 20°C/min e mantida a 300°C durante 5 min. A temperatura do injetor e do detector (ou interface) foi de 250 e 300 °C, respectivamente.

A identificação dos compostos foi feita através de comparação de seus espectros de massas com os da biblioteca NIST08, índices de retenção e dados publicados (ADAMS, 2007). As concentrações dos compostos foram calculadas a partir das áreas dos picos do cromatograma e dispostas por ordem de eluição.

O índice de Kovats (IK) é um índice de retenção que descreve o comportamento de retenção do composto comparativamente ao de uma mistura de alcanos de diferentes números de átomos de carbono. Este índice de retenção fornece informação sobre a sequência de eluição do composto e varia em função da fase estacionária e da temperatura, sendo independente das condições experimentais (JANZANTTI; FRANCO; WOSIACKI, 2003).

Para o cálculo do índice de retenção de Kovats foi necessária à injeção de uma solução padrão de n-alcanos (C7-C30 para os óleos essenciais, C13-C30 para os ésteres metílicos), servindo os tempos de retenção destes para a base de cálculo do índice de Kovats dos componentes do óleo essencial e dos ésteres metílicos.

$$IK = 100\left[n + (N - n) \frac{t'r(x) - t'r(n)}{t'r(N) - t'r(n)}\right]$$

Onde:

n: é o número de átomos de carbonos do alcano anterior ao composto desconhecido;

N: é o número de átomos de carbonos do alcano após o composto desconhecido;

t'r(x): é o tempo de retenção ajustado do composto desconhecido;

t'r(n): é o tempo de retenção ajustado do alcano anterior ao composto desconhecido;

t'r(N): é o tempo de retenção ajustado do alcano após o composto desconhecido.

Os espectros de massas de baixa resolução de BP-1, BP-3, BM-1, BM-2 e BM-3 foram obtidos em espectrômetro de massa modelo QP2010 da SHIMADZU, operando em impacto eletrônico (IE) de 70 eV.

Os espectros de massas de alta resolução de BP-3 e BM-5 foram obtidos usando um espectrômetro de massas Waters, modelo Xevo QTOF, equipado com fonte de ionização por *electrospray* (IES), pertencente à Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA).

Os espectros de massas de alta resolução de BP-7 e BP-8 foram obtidos usando um espectrômetro de massas Shimaduz, modelo LCMS-IT-TOF, equipado com fonte de ionização por *electrospray* (IES), pertencente ao Laboratório de Espectrometria de Massas do Nordeste, da Universidade Federal do Ceará (LAMANOR-UFC).

Os espectros de massas de alta resolução de BP-5, BP-6 e BM-4 foram obtidos usando um espectrômetro de massas micrOTOF Bruker, pertencente a Faculdade de Farmácia (USP-Ribeirão Preto), em colaboração com o Prof. Dr. Norberto Peporine e o técnico José Carlos Tomaz.

5.3.3 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN ^1H) e de carbono-13 (RMN ^{13}C)

Os espectros de RMN ^1H e de RMN ^{13}C , uni e bidimensionais, foram obtidos em espectrômetros Bruker, modelo Advance DPX-300 ou DRX-500, pertencentes ao Centro Nordestino de Aplicação e Uso da Ressonância Magnética Nuclear, da Universidade Federal do Ceará (CENAUREMN-UFC), operando na frequência do hidrogênio a 300 e 500 MHz, e na frequência do carbono a 75 e 125 MHz, respectivamente.

Os solventes deuterados utilizados na dissolução das amostras e obtenção dos espectros foram: clorofórmio (CDCl_3) e metanol (CD_3OD). Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em partes por milhão (ppm) e referenciados nos espectros de hidrogênio pelos picos dos hidrogênios pertencentes às moléculas residuais não deuteradas dos solventes deuterados utilizados: clorofórmio (δ_{H} , 7,26) e metanol (δ_{H} , 3,30). Nos espectros de carbono-13 os deslocamentos químicos foram referenciados pelos picos centrais dos carbonos-13 dos solventes: clorofórmio (δ_{C} , 77,0) e metanol (δ_{C} , 49,0).

As multiplicidades dos sinais de hidrogênio foram indicadas segundo a convenção: s (simpleto), sl (simpleto largo) d (duplete), dd (duplo duplete), t (triplete), dt (duplo triplete), q (quarteto) e m (multiplete).

O padrão de hidrogenação dos carbonos foi determinado através da técnica DEPT (Distortionless Enhancement by Polarization Transfer), com ângulo de nutação de 135° (CH e CH_3 com amplitude positiva em oposição aos CH_2), descrevendo os carbonos segundo a convenção: C (carbono não hidrogenado), CH (carbono metínico), CH_2 (carbono metilênico) e CH_3 (carbono metílico). Os carbonos não hidrogenados foram caracterizados pela subtração dos sinais do espectro DEPT 135° do espectro ^{13}C -CPD.

5.4 Métodos físicos

5.4.1 Rotação ótica

As medidas de rotação ótica foram obtidas em polarímetro Jasco, modelo P-2000, pertencente ao Laboratório de Espectrometria de Massa do Nordeste, da Universidade Federal do Ceará (LAMANOR-UFC), operando em comprimento de onda de 589 nm e temperatura de 22 °C.

5.5 Estudo dos constituintes voláteis de *B. pentandra*

5.5.1 Obtenção dos óleos essenciais de *B. pentandra* por hidrodestilação

Os óleos essenciais foram obtidos por hidrodestilação em aparelho do tipo Clevenger. O material utilizado (folhas frescas e secas) foi acondicionado em um balão de 5 L, juntamente com 3,0 L de água destilada e mantido sob refluxo durante 5,0 h. A mistura água/óleo coletada no doseador foi separada, o hidrolato foi desprezado e o óleo essencial foi seco com sulfato de sódio anidro, filtrado e, em seguida, analisado por CG-EM. Para obtenção dos óleos foram utilizados 140 g de folhas secas e 162 g de folhas frescas e obteve-se 0,043 e 0,018 g de óleo, com rendimentos de 0,03 e 0,01%, respectivamente.

5.5.2 Obtenção dos óleos essenciais de *B. pentandra* por microextração em fase sólida (MEFS)

As análises dos constituintes voláteis extraídos por microextração em fase sólida foram feitas no modo *headspace* (MEFS-HS) da seguinte maneira: folhas secas e frescas de *Bauhinia pentandra* (100 mg) foram acondicionadas em um frasco de vidro de 40 mL lacrado com septo de silicone e mantidos em banho-maria. Estudos de otimização do método foram realizados para investigação das condições ótimas de extração. Os parâmetros investigados foram temperatura (60 e 70°C) e tempo de extração (10 e 20 min). A extração ideal ocorreu a 70°C e 10 min, que foi o período que a fibra ficou exposta no headspace do frasco contendo a amostra. Os analitos voláteis extraídos foram

imediatamente analisados por CG-EM. As análises foram realizadas em duplicatas.

A fibra de extração utilizada foi de polidimetilsiloxano/divinilbenzeno (PDMS/DVB), a qual foi condicionada de acordo com as prescrições do fornecedor antes da utilização. Este experimento foi realizado em colaboração com o laboratório LABFITO (Laboratório de Fitoquímica Aplicada)-UFC.

5.6 Estudo dos constituintes fixos de *B. pentandra* e *B. monandra*

5.6.1 Preparação dos extratos

- **Extrato hexânico**

Folhas de *B. pentandra* e de *B. monandra* (55 e 210 g, respectivamente) foram secas a temperatura ambiente, trituradas e submetidas à extração com hexano. Em seguida, foram concentrados sob pressão reduzida, fornecendo os respectivos extratos (**Tab. 30**).

- **Extrato etanólico**

Folhas de *B. pentandra* e de *B. monandra* (507 e 225 g, respectivamente) foram secas a temperatura ambiente, trituradas e submetidas à extração com etanol. Em seguida, foram concentrados sob pressão reduzida, fornecendo os respectivos extratos (**Tab. 30**).

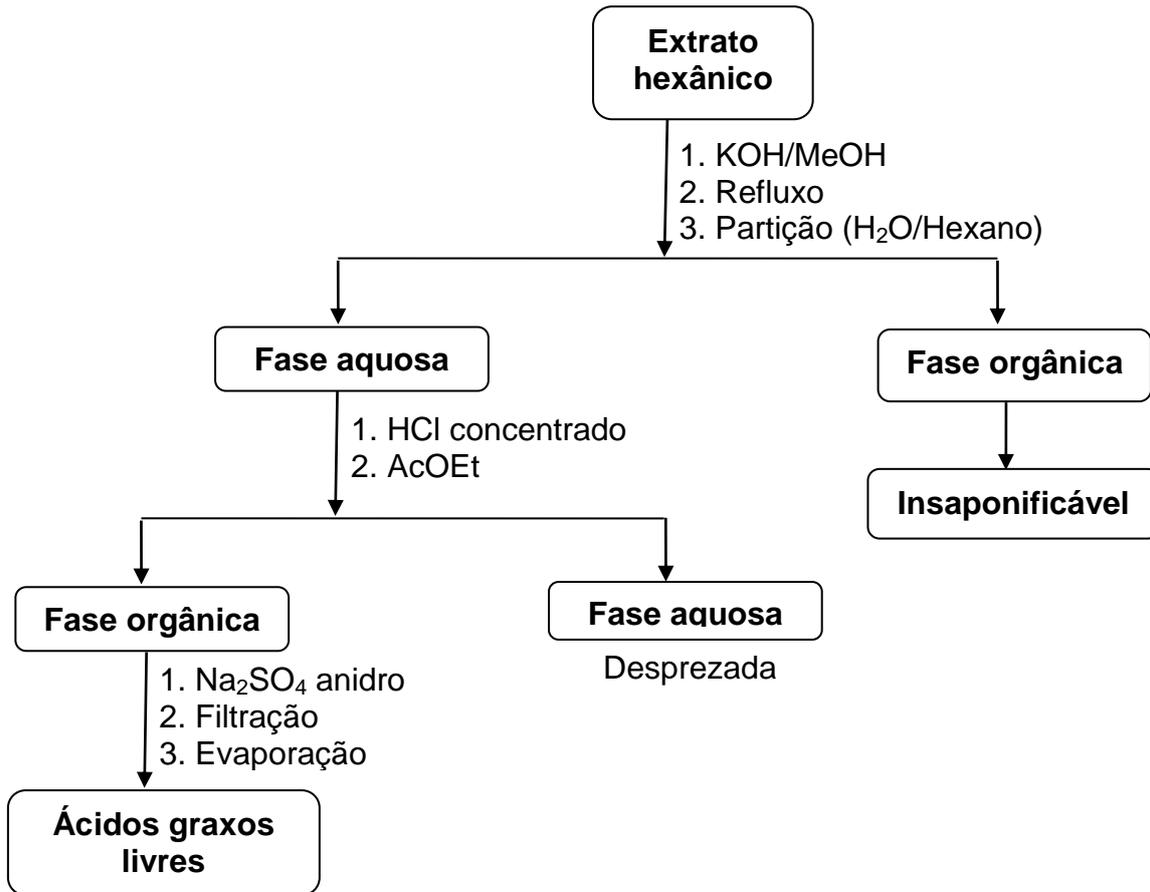
Tabela 30 Dados referentes aos extratos obtidos de *B. pentandra* e *B. monandra*

Extrato	Sigla	Massa (g)	Rendimento (%)
Hexânico <i>B. pentandra</i>	EHBP	0,924	1,68
Hexânico <i>B. monandra</i>	EHBM	2,39	1,14
Etanólico <i>B. pentandra</i>	EEBP	80,7	15,9
Etanólico <i>B. monandra</i>	EEBM	62,3	27,7

5.6.2 Perfil de ácidos graxos de *B. pentandra* e *B. monandra*

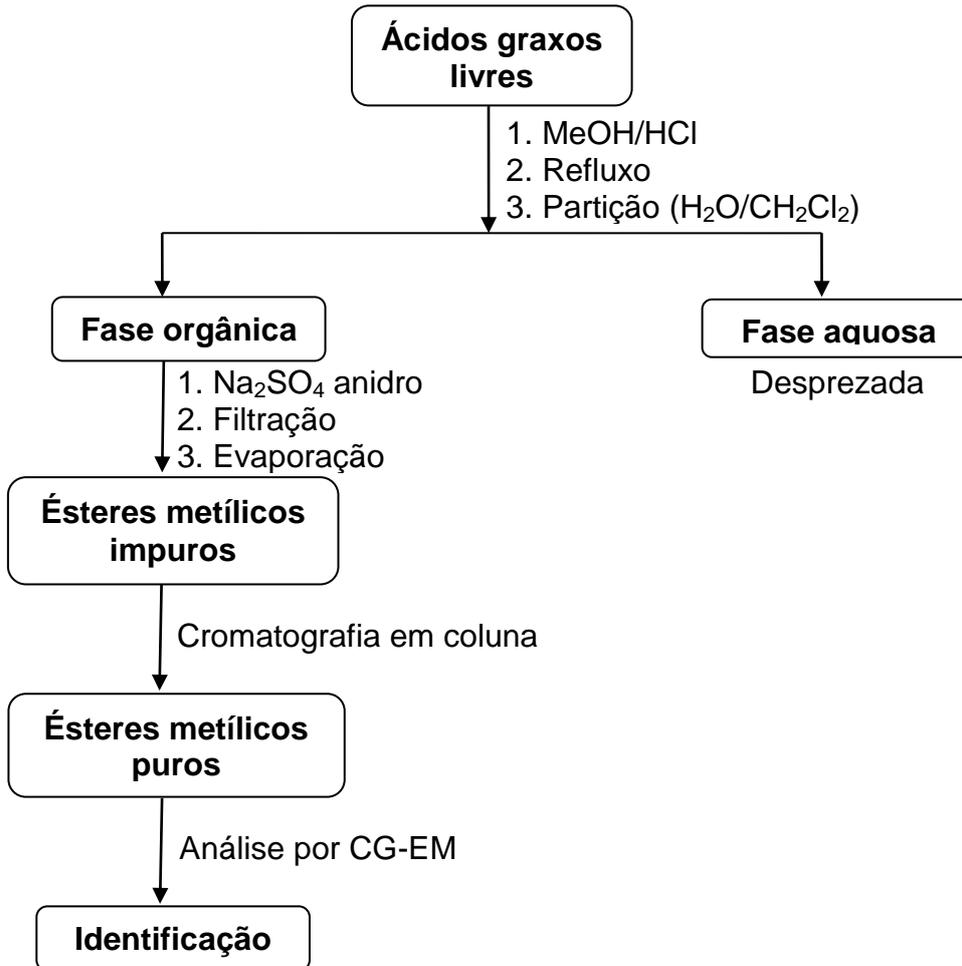
5.6.2.1 Reação de saponificação e obtenção dos ácidos graxos livres

Os extratos hexânicos de *B. pentandra* (EHBP, 924 mg) e de *B. monandra* (EHBM, 1,7 g) foram dissolvidos em 15 mL de MeOH e acondicionados em balões de 125 mL contendo hidróxido de potássio (924 mg para EHBP e 1,7 g para EHBM) e pedras de ebulição. As misturas reacionais foram mantidas sob refluxo durante 1 h para obtenção dos sais de ácidos graxos. Após este período, as misturas foram resfriadas a temperatura ambiente e transferidas para funis de separação, onde foram adicionados 40 mL de água destilada em cada e as fases orgânicas (soluções insaponificáveis) foram separadas através de extração com hexano (2x50 mL). As fases aquosas foram acidificadas com HCl concentrado até pH 3 e, em seguida, extraídas com AcOEt (2x50 mL). As frações orgânicas foram secas com sulfato de sódio anidro, filtradas e concentradas sob pressão reduzida, fornecendo 344,3 e 288,9 mg de ácidos graxos livres de *B. pentandra* e de *B. monandra*, respectivamente (**Flux. 1, p. 224**).

Fluxograma 1 Saponificação dos extratos hexânicos de *B. pentandra* e *B. monandra*

5.6.2.2 Reação de metilação e obtenção dos ésteres metílicos

Os ácidos graxos livres de *B. pentandra* (344,3 mg) e de *B. monandra* (288,9 mg) foram acondicionados em balões de 100 mL com 10 mL de MeOH e 1,0 mL de HCl concentrado, sendo submetidos a refluxo por 1 h. Após resfriamento em temperatura ambiente, as misturas reacionais foram transferidas para funis de separação, onde foram adicionados 30 mL de água destilada em cada e os ésteres metílicos dos ácidos graxos foram extraídos com CH₂Cl₂ (3x30 mL). As frações orgânicas foram secas com sulfato de sódio anidro, filtradas e concentradas sob pressão reduzida, fornecendo 221,7 e 332,1 mg de ésteres metílicos de *B. pentandra* e de *B. monandra*, respectivamente. Em seguida, foram purificados em coluna cromatográfica contendo gel de sílica como adsorvente e hexano e CH₂Cl₂ como eluentes. As frações obtidas da coluna foram analisadas por CCD e, em seguida, por CG-EM (Flux. 2, p. 225).

Fluxograma 2 Metilação dos ácidos graxos livres de *B. pentandra* e *B. monandra*

5.6.3 Fracionamento cromatográfico do extrato EEBP

12,7 e 20,0 g de EEBP foram, separadamente, adsorvidos em gel de sílica, pulverizados em gral de porcelana e submetidos à coluna gravitacional e a vácuo, respectivamente. Os eluentes utilizados foram: hexano, CH₂Cl₂, AcOEt e MeOH, puros em ordem crescente de polaridade. As frações coletadas foram concentradas sob pressão reduzida e as massas obtidas estão descritas nas **Tabelas 31 e 32, p. 226**.

Tabela 31 Dados referentes ao fracionamento cromatográfico gravitacional de EEBP

Eluente	Fração	Massa (g)
Hexano	EEBP-G(H)	0,009
Diclorometano	EEBP-G(D)	3,00
Acetato de etila	EEBP-G(AE)	0,448
Metanol	EEBP-G(M)	6,94
Total		10,4 g

Tabela 32 Dados referentes ao fracionamento cromatográfico a vácuo de EEBP

Eluente	Fração	Massa (g)
Hexano	EEBP-V(H)	1,01
Diclorometano	EEBP-V(D)	1,25
Acetato de etila	EEBP-V(AE)	1,97
Metanol	EEBP-V(M)	12,8
Total		17,0

Uma alíquota de EEBP (5,0 g) foi dissolvida em um sistema MeOH/H₂O 50% (100 mL) e então particionado em um funil de separação com solventes de polaridade crescente: hexano, CH₂Cl₂ e AcOEt (3x100 mL). As frações obtidas foram secas com sulfato de sódio anidro e concentradas em evaporador rotativo, fornecendo as massas descritas na **Tabela 33**. O resíduo da partição foi denominado de fração hidroalcoólica.

Tabela 33 Dados referentes à partição líquido-líquido de EEBP

Solvente	Fração	Massa (g)
Hexano	EEBP-P(H)	0,875
Diclorometano	EEBP-P(D)	0,494
Acetato de etila	EEBP-P(AE)	0,331
Hidroalcoólico	EEBP-P(HA)	2,80
Total		4,50 g

5.6.3.1 Fracionamento cromatográfico da fração EEBP-G(D)

A fração EEBP-G(D) (3,0 g) foi adsorvida em gel de sílica, pulverizada em gral de porcelana e acondicionada sobre gel de sílica para fracionamento

cromatográfico. Os solventes empregados na eluição das frações foram: hexano, CH₂Cl₂, AcOEt e MeOH, puros ou em misturas binárias aumentando gradativamente a polaridade. Foram obtidas 111 frações que foram reunidas após análise em CCD (**Tab. 34**).

Tabela 34 Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EEBP-G(D)

Eluente	Frações	Frações reunidas	Massa (g)
Hexano/CH ₂ Cl ₂ (80:20)	1-7	F 1-14	0,0306
Hexano/CH ₂ Cl ₂ (70:30)	8-19	F 15-21	0,0540
Hexano/CH ₂ Cl ₂ (60:40)	20-30	F 22-32	0,0400
Hexano/CH ₂ Cl ₂ (40:60)	31-41	F 33-39	0,0520
Hexano/CH ₂ Cl ₂ (20:80)	42-52	F 40-47	0,0745
CH ₂ Cl ₂	53-63	F 48-68	0,2210
CH ₂ Cl ₂ /AcOEt (50:50)	64-75	F 69-71	0,0263
AcOEt	76-86	F 72-73	0,6700
AcOEt/MeOH (50:50)	87-97	F 74-77	0,1266
MeOH	98-111	F 78-83	0,0838
		F 84-90	0,0831
		F 91-97	0,5778
		F 98-111	0,1527
Total			2,1924

5.6.3.2 Fracionamento cromatográfico da F 15-21 e isolamento de BP-1

A fração F 15-21 (54 mg) foi submetida a fracionamento cromatográfico em gel de sílica utilizando como eluentes hexano, CH₂Cl₂, AcOEt e MeOH em escala crescente de polaridade. Foram coletadas 85 frações que, após análise por CCD resultou no isolamento de 14 mg de um sólido amorfo branco, solúvel em CHCl₃, codificado de BP-1 (**Flux. 3, p. 235**).

5.6.3.3 Fracionamento cromatográfico da F 72-73

A fração F 72-73 (670 mg) foi submetida a tratamento cromatográfico em gel de sílica utilizando como solventes CH₂Cl₂, AcOEt e MeOH em ordem

crescente de polaridade. Foram coletadas 146 frações que, após análise em CCD foram reunidas de acordo com suas semelhanças (**Tab. 35**).

Tabela 35 Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de F 72-73

Eluente	Frações	Frações reunidas	Massa (g)
CH ₂ Cl ₂	1-14	F 1-20	0,0065
CH ₂ Cl ₂ /AcOEt (90:10)	15-27	F 21-24	0,3462
CH ₂ Cl ₂ /AcOEt (80:20)	28-40	F 25-34	0,1542
CH ₂ Cl ₂ /AcOEt (70:30)	41-54	F 35-59	0,0893
CH ₂ Cl ₂ /AcOEt (60:40)	55-65	F 60-146	0,0630
CH ₂ Cl ₂ /AcOEt (50:50)	66-75		
CH ₂ Cl ₂ /AcOEt (40:60)	76-85		
CH ₂ Cl ₂ /AcOEt (30:70)	86-95		
CH ₂ Cl ₂ /AcOEt (20:80)	96-105		
CH ₂ Cl ₂ /AcOEt (10:90)	106-115		
AcOEt	116-125		
AcOEt/MeOH (50:50)	126-135		
MeOH	136-146		
Total			0,6592

5.6.3.4 Fracionamento cromatográfico da F 25-34

A fração F 25-34 (154,2 mg) foi submetida a coluna cromatográfica em gel de sílica, a qual foi eluída com CH₂Cl₂, AcOEt e MeOH, aumentando gradativamente a polaridade e obtendo-se 112 frações. Após análise por CCD foi possível reunir as frações com mesmo perfil cromatográfico (**Tab. 36**).

Tabela 36 Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de F 25-34

Eluente	Frações	Frações reunidas	Massa (g)
CH ₂ Cl ₂	1-9	F 1-15	0,0021
CH ₂ Cl ₂ /AcOEt (95:05)	10-23	F 16-25	0,0575
CH ₂ Cl ₂ /AcOEt (90:10)	24-36	F 26-33	0,0257
CH ₂ Cl ₂ /AcOEt (85:15)	37-50	F 33-44	0,0202
CH ₂ Cl ₂ /AcOEt (80:20)	51-63	F 45-59	0,0106
CH ₂ Cl ₂ /AcOEt (75:25)	64-76	F 60-91	0,0125

CH ₂ Cl ₂ /AcOEt (70:30)	77-89	F 92-101	0,0070
CH ₂ Cl ₂ /AcOEt (60:40)	90-94	F 102-109	0,0075
CH ₂ Cl ₂ /AcOEt (50:50)	95-98	F 110-112	0,0080
CH ₂ Cl ₂ /AcOEt (20:80)	99-103		
AcOEt	104-107		
MeOH	108-112		
Total			0,1511

5.6.3.5 Fracionamento cromatográfico da F 16-25 e isolamento de BP-2

A fração F 16-25 (57,5 mg) foi recromatografada em gel de sílica utilizando como eluentes hexano, CH₂Cl₂, AcOEt e MeOH em escala crescente de polaridade. Neste fracionamento foram coletadas 105 frações que, após análise por CCD, resultou no isolamento de 22,6 mg de um sólido cristalino branco, solúvel em CHCl₃, codificado de BP-2 (**Flux. 3, p. 235**).

5.6.3.6 Fracionamento cromatográfico da fração EEBP-G(AE) e isolamento de BP-3

Parte da fração EEBP-G(AE) (72,4 mg), obtida do fracionamento cromatográfico do extrato EEBP, foi adsorvida em gel de sílica, pulverizada em gral de porcelana e devidamente acondicionada sobre gel de sílica em coluna cromatográfica. A eluição foi realizada empregando os solventes: CH₂Cl₂, AcOEt e MeOH, puros ou em misturas binárias em ordem crescente de polaridade. Foram coletadas um total de 52 frações que, depois de analisadas por CCD, resultou no isolamento de 13,4 mg de um líquido viscoso de cor marrom, solúvel em CHCl₃, codificado de BP-3 (**Flux. 3, p. 235**).

5.6.3.7 Fracionamento cromatográfico da fração EEBP-G(M)

Parte da fração EEBP-G(M) (601 mg), obtida do fracionamento cromatográfico do extrato EEBP, foi adsorvida em gel de sílica, pulverizada em gral de porcelana e acondicionada em coluna cromatográfica contendo gel de sílica. A eluição foi realizada empregando os solventes: CH₂Cl₂ e MeOH, puros

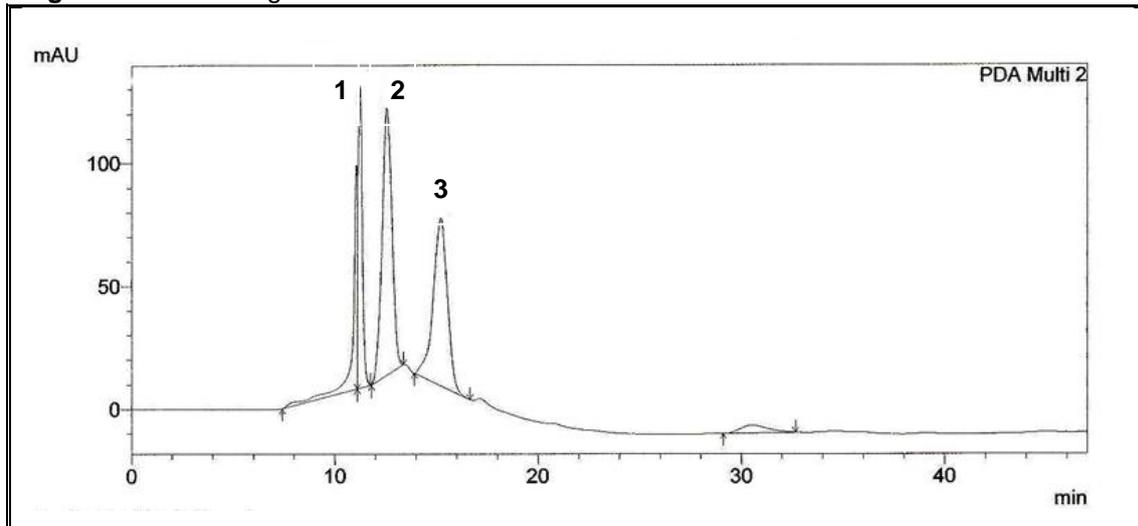
ou em misturas binárias em gradiente crescente de polaridade. Foram obtidas 84 frações que foram reunidas após análise em CCD (**Tab. 37**).

Tabela 37 Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EEBP-G(M)

Eluente	Frações	Frações reunidas	Massa (g)
CH ₂ Cl ₂ /MeOH (80:20)	1-16	F 1-10	0,0138
CH ₂ Cl ₂ /MeOH (60:40)	17-36	F 11-18	0,0593
CH ₂ Cl ₂ /MeOH (40:60)	37-56	F 19-23	0,0474
CH ₂ Cl ₂ /MeOH (20:80)	57-73	F 24-26	0,0606
MeOH	74-84	F 27-30	0,1414
		F 31-41	0,1179
		F 42-47	0,0346
		F 48-52	0,0143
		F 53-84	0,0380
Total			0,5273

5.6.3.8 Fracionamento cromatográfico da F 27-30 e isolamento de BP-4

A fração F 27-30 (141,4 mg) foi recromatografada em CLAE, onde foi solubilizada em 7 mL de metanol/água 1:1 e filtrada num sistema manual de filtros. Em seguida, 200 µL da amostra foi injetada em coluna semi-preparativa de C18 (250 x 10 mm, 10 µm), num sistema isocrático utilizando como fase móvel metanol/água 1:1, fluxo de 1,0 mL/min e temperatura de 30°C. O cromatograma (**Fig. 211, p. 231**) apresentou três picos referentes a três substâncias, que foram coletadas e concentradas em evaporador rotativo. A substância 2 forneceu 30 mg de um líquido viscoso de cor amarela, solúvel em MeOH, codificado de BP-4 (**Flux. 3, p. 235**). As substâncias 1 e 3 apresentaram baixa massa e/ou impureza, o que impossibilitou a obtenção dos espectros.

Figura 211 Cromatograma da substância BP-4

5.6.3.9 Fracionamento cromatográfico da fração EEBP-V(AE)

A fração EEBP-V(AE) (1,97 g) foi adsorvida em gel de sílica, pulverizada em gral de porcelana e acondicionada sobre coluna cromatográfica. Os solventes empregados na eluição das frações foram: hexano, AcOEt e MeOH, puros ou em misturas binárias aumentando gradativamente a polaridade. Foram obtidas 125 frações que foram reunidas após análise em CCD (**Tab. 38**).

Tabela 38 Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EEBP-V(AE)

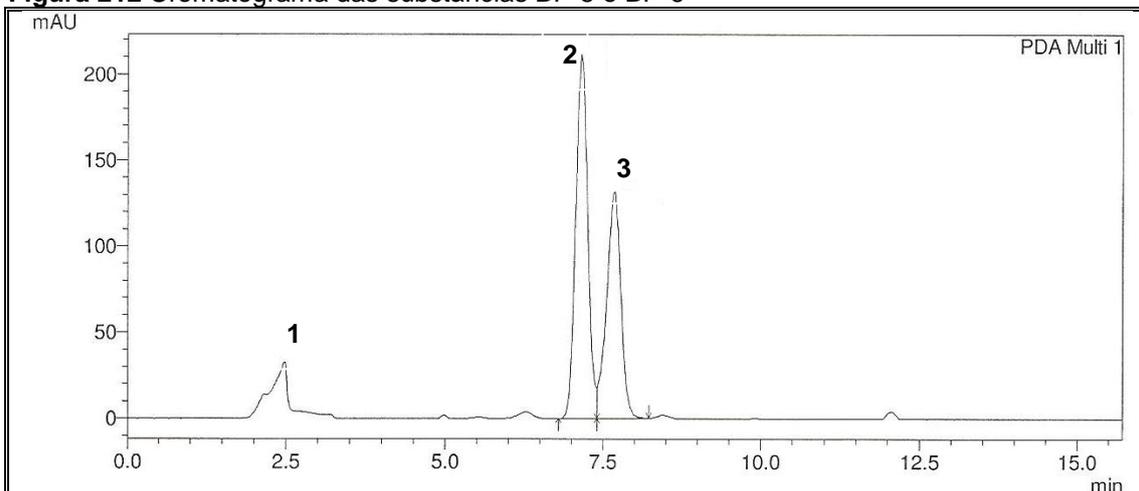
Eluente	Frações	Frações reunidas	Massa (g)
Hexano	1-5	F 1-15	0,0105
Hexano/AcOEt (80:20)	6-17	F 16-22	0,0125
Hexano/AcOEt (60:40)	18-29	F 23-27	0,0018
Hexano/AcOEt (40:60)	30-41	F 28-34	0,0144
Hexano/AcOEt (20:80)	42-53	F 35-36	0,0065
AcOEt	54-65	F 37-48	0,0649
AcOEt/MeOH (80:20)	66-77	F 49	0,0090
AcOEt/MeOH (60:40)	78-89	F 50-59	0,0775
AcOEt/MeOH (40:60)	90-101	F 60-69	0,0936
AcOEt/MeOH (20:80)	102-113	F 70-78	1,0428
MeOH	114-125	F 79-87	0,5147
		F 88-95	0,0461

	F 96-104	0,0316
	F 105-125	0,0186
Total		1,9445

5.6.3.10 Fracionamento cromatográfico da F 60-69 e isolamento de BP-5 e BP-6

A fração F 60-69 foi recromatografada em CLAE, onde 93,6 mg da amostra foi solubilizada em 4,7 mL de uma mistura de solventes metanol/água na proporção 1:9 e, em seguida, filtrada num sistema manual de filtros. Logo após, 200 µL da amostra foi injetada em coluna semi-preparativa de C18 (250 x 10 mm, 10 µm), num sistema isocrático utilizando como fase móvel metanol/água 1:9 e fluxo de 4,0 mL/min. Foram observados três picos no cromatograma (**Fig. 212**) referentes a três substâncias, as quais foram coletadas e concentradas sob pressão reduzida. As substâncias 2 e 3 forneceram 15,5 e 10,7 mg, respectivamente, e apresentaram-se como uma resina de coloração laranja, solúveis em MeOH, codificadas de BP-5 e BP-6 (**Flux. 4, p. 236**). A substância 1 apresentou-se impura.

Figura 212 Cromatograma das substâncias BP-5 e BP-6



5.6.3.11 Fracionamento cromatográfico da fração EEBP-P(AE)

A fração EEBP-P(AE) (331 mg) foi cromatografada em coluna contendo gel de sílica, a qual foi eluída com hexano, AcOEt e MeOH, aumentando

gradativamente a polaridade. Foram obtidas 92 frações que, após análise por CCD, foram reunidas (**Tab. 39**).

Tabela 39 Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EEBP-P(AE)

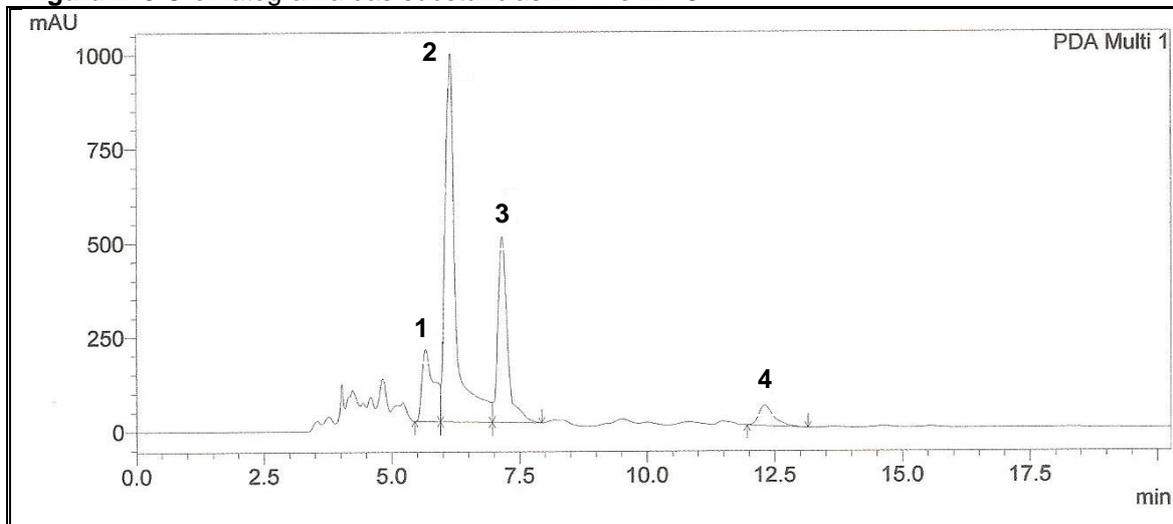
Eluente	Frações	Frações reunidas	Massa (g)
Hexano/AcOEt (80:20)	1-12	F 1-10	0,0033
Hexano/AcOEt (60:40)	13-24	F 11-14	0,0018
Hexano/AcOEt (50:50)	25-35	F 15-19	0,0029
Hexano/AcOEt (40:60)	36-46	F 20-24	0,0024
Hexano/AcOEt (30:70)	47-57	F 25-27	0,0021
Hexano/AcOEt (20:80)	58-63	F 28	0,0010
AcOEt	64-69	F 29-34	0,0042
AcOEt/MeOH (80:20)	70-81	F 35	0,0012
MeOH	82-92	F 36-40	0,0016
		F 41-44	0,0013
		F 45-75	0,0160
		F 76-77	0,0391
		F 78-79	0,0303
		F 80-92	0,1800
Total			0,2872

5.6.3.12 Fracionamento cromatográfico da F 80-92 e isolamento de BP-7 e BP-8

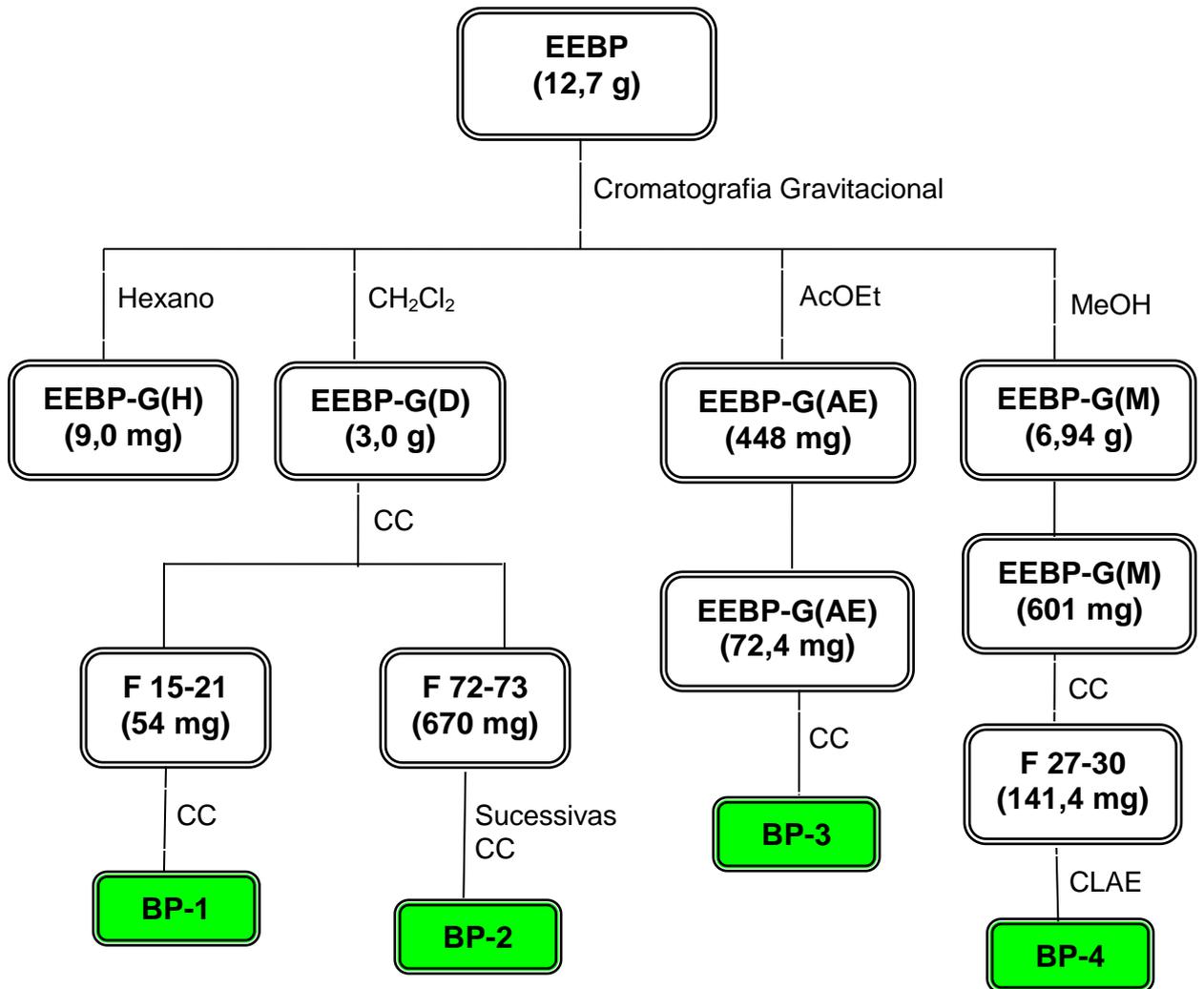
A fração F 80-92 (180 mg) foi recromatografada em CLAE, onde foi solubilizada em 9,0 mL de uma mistura de metanol/água na proporção 1:9 e filtrada num sistema manual de filtros. Em seguida, 200 µL da amostra foi injetada em coluna semi-preparativa de C18 (250 x 10 mm, 10 µm), num sistema isocrático utilizando como fase móvel metanol/água 1:9 e fluxo de 3,0 mL/min. No cromatograma (**Fig. 213, p. 234**) foram observados quatro picos referentes a quatro substâncias, as quais foram coletadas e concentradas sob pressão reduzida. As substâncias 2 e 3 forneceram 5,3 e 9,3 mg, respectivamente, e apresentaram-se como uma resina de coloração marrom, solúveis em MeOH, codificadas de BP-7 e BP-8 (**Flux. 5, p. 237**). As

substâncias 1 e 4 apresentaram baixa massa, impossibilitando a obtenção dos espectros.

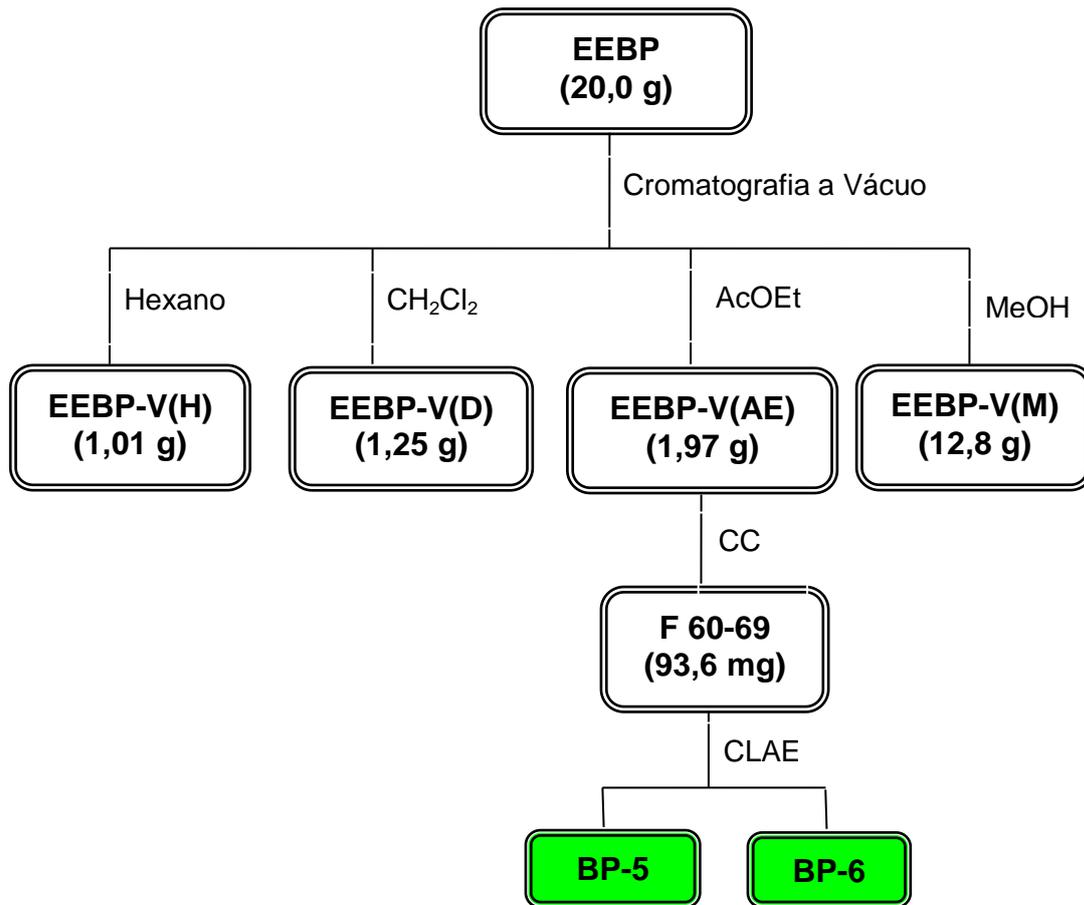
Figura 213 Cromatograma das substâncias BP-7 e BP-8



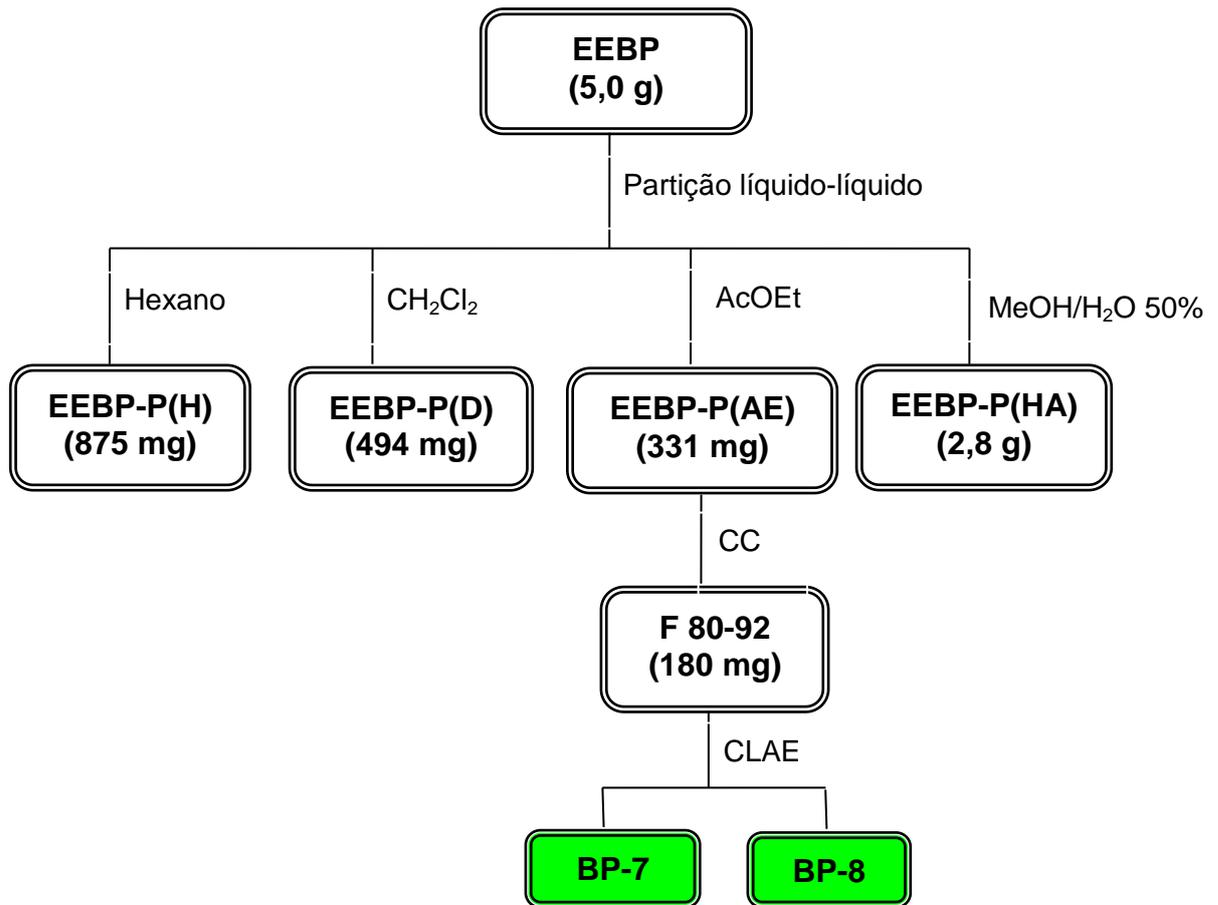
Fluxograma 3 Rota esquemática do isolamento das substâncias BP-1, BP-2, BP-3 e BP-4



Fluxograma 4 Rota esquemática do isolamento das substâncias BP-5 e BP-6



Fluxograma 5 Rota esquemática do isolamento das substâncias BP-7 e BP-8



5.6.4 Fracionamento cromatográfico do extrato EEBM

Parte do extrato EEBM (15 g) foi adsorvido em gel de sílica, pulverizado em gral de porcelana e submetido a fracionamento cromatográfico a vácuo utilizando como eluentes hexano, AcOEt e MeOH, puros em ordem crescente de polaridade. As frações coletadas foram concentradas sob pressão reduzida e as massas obtidas estão descritas na **Tabela 40**.

Tabela 40 Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EEBM

Eluente	Fração	Massa (g)
Hexano	EEBM(H)	1,13 g
Acetato de etila	EEBM(AE)	2,24 g
Metanol	EEBM(M)	8,61 g
Total		12,0 g

5.6.4.1 Fracionamento cromatográfico da fração EEBM(AE)

A fração EEBM(AE) (2,24 g), obtida do fracionamento cromatográfico do extrato EEBM, foi adsorvida em gel de sílica, pulverizada em gral de porcelana e submetida a coluna cromatográfica sobre gel de sílica. Os solventes usados na eluição foram: hexano, AcOEt e MeOH, puros ou em misturas binárias, aumentando gradativamente a polaridade, obtendo-se 156 frações. Após análise em CCD, as frações semelhantes foram reunidas (**Tab. 41**).

Tabela 41 Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EEBM(AE)

Eluente	Frações	Frações reunidas	Massa (g)
Hexano	1-50	F 1-61	0,0400
Hexano/AcOEt (80:20)	51-62	F 62-70	0,8500
Hexano/AcOEt (60:40)	63-73	F 71-80	0,4719
Hexano/AcOEt (40:60)	74-85	F 81-89	0,1230
Hexano/AcOEt (20:80)	86-97	F 90-97	0,1110
AcOEt	98-109	F 98-118	0,1093
AcOEt/MeOH (80:20)	110-121	F 119-148	0,5024
AcOEt/MeOH (50:50)	122-133	F 149-156	0,0182

AcOEt/MeOH (20:80)	134-144	
MeOH	145-156	
Total		2,2258

5.6.4.2 Fracionamento cromatográfico da F 62-70

A fração F 62-70 (850 mg) foi submetida a fracionamento cromatográfico em gel de sílica, utilizando como solventes hexano, AcOEt e MeOH, em escala crescente de polaridade. Foram obtidas 110 frações que foram reunidas após análise em CCD (**Tab. 42**).

Tabela 42 Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de F 62-70

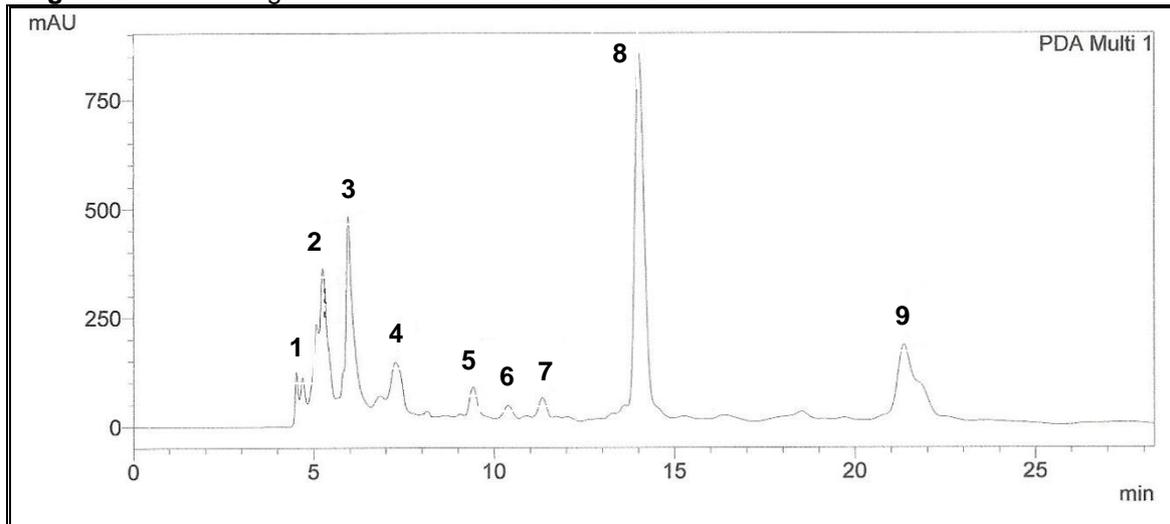
Eluente	Frações	Frações reunidas	Massa (g)
Hexano	1-21	F 1-28	0,0321
Hexano/AcOEt (95:05)	22-33	F 29-32	0,2580
Hexano/AcOEt (90:10)	34-46	F 33-35	0,0563
Hexano/AcOEt (85:15)	47-59	F 36-41	0,1000
Hexano/AcOEt (80:20)	60-72	F 42-50	0,0673
Hexano/AcOEt (70:30)	73-85	F 51-58	0,1119
Hexano/AcOEt (60:40)	86-97	F 59-68	0,0772
AcOEt	98-103	F 69-75	0,0272
MeOH	104-110	F 76-79	0,0143
		F 80-110	0,0211
Total			0,7654

5.6.4.3 Fracionamento cromatográfico da F 29-32 e isolamento de BM-1 e BM-2

A fração F 29-32 foi recromatografada em CLAE, sendo que 258 mg da amostra foi solubilizada em 12,9 mL de hexano/acetato de etila na proporção 95:5 e, em seguida, filtrada num sistema manual de filtros. Em seguida, 200 μ L da amostra foi injetada em coluna semi-preparativa de gel de sílica (250 x 10 mm, 5 μ m), num sistema isocrático utilizando como fase móvel hexano/acetato de etila 95:5 e fluxo de 3,0 mL/min. Foram observados no

cromatograma (**Fig. 214**) nove picos referentes a nove substâncias, as quais foram coletadas e concentradas sob pressão reduzida. As substâncias 3 e 8 forneceram 15,7 e 18,0 mg, respectivamente, e apresentaram-se como um líquido viscoso de cor amarelo, solúveis em CHCl_3 e codificadas de BM-1 e BM-2 (**Flux. 6, p. 243**). As demais substâncias coletadas apresentaram baixa massa e/ou características impuras.

Figura 214 Cromatograma das substâncias BM-1 e BM-2



5.6.4.4 Fracionamento cromatográfico da F 36-41 e isolamento de BM-3

A fração F 36-41 (100 mg) foi recromatografada em gel de sílica utilizando como eluentes hexano, CH_2Cl_2 , AcOEt e MeOH em ordem crescente de polaridade. Foram coletadas 90 frações que após análise por CCD forneceu 7,3 mg de um sólido branco, solúvel em CHCl_3 , codificado de BM-3 (**Flux. 6, p. 243**).

5.6.4.5 Fracionamento cromatográfico da fração EEBM(M)

Uma alíquota de 1,0 g de EEBM(M) foi dissolvida em 2,5 mL de água destilada e submetida a fracionamento cromatográfico em cartucho de SPE-C18. Os eluentes usados foram água e MeOH, seguindo um gradiente decrescente de polaridade. Deste procedimento foram obtidas 60 frações que após análise em CCD foram reunidas (**Tab. 43, p. 241**).

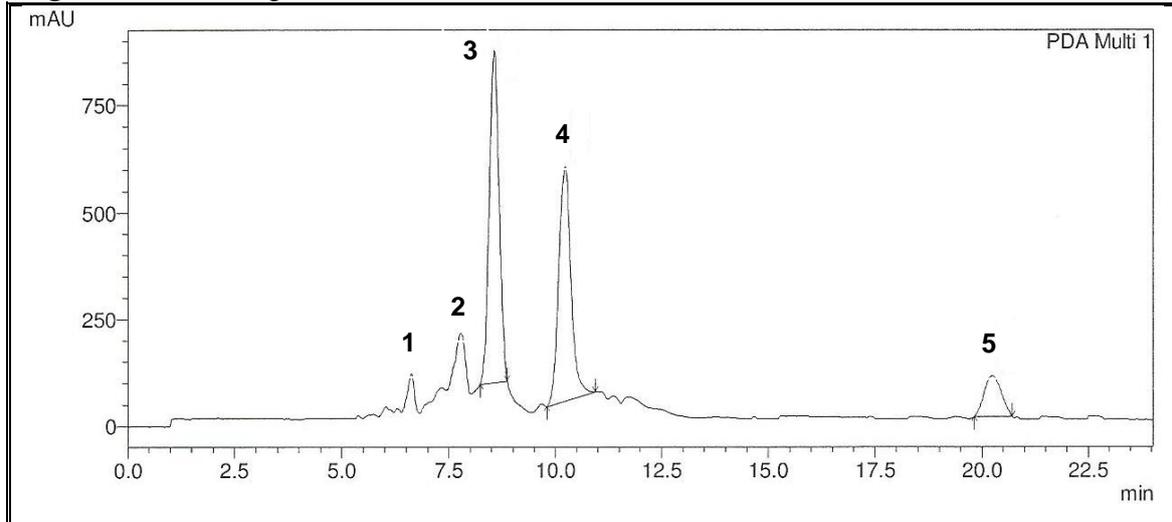
Tabela 43 Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EEBM(M)

Eluente	Frações	Frações reunidas	Massa (g)
Água	1-5	F 1-2	0,4594
Água/MeOH (80:20)	6-14	F 3-17	0,1486
Água/MeOH (60:40)	15-23	F 18-29	0,1321
Água/MeOH (40:60)	24-33	F 30-31	0,0132
Água/MeOH (20:80)	34-42	F 32-38	0,0221
MeOH	43-60	F 39-40	0,0066
		F 41-45	0,0080
		F 46-48	0,0153
		F 49-53	0,0103
		F 54-60	0,0295
Total			0,8451

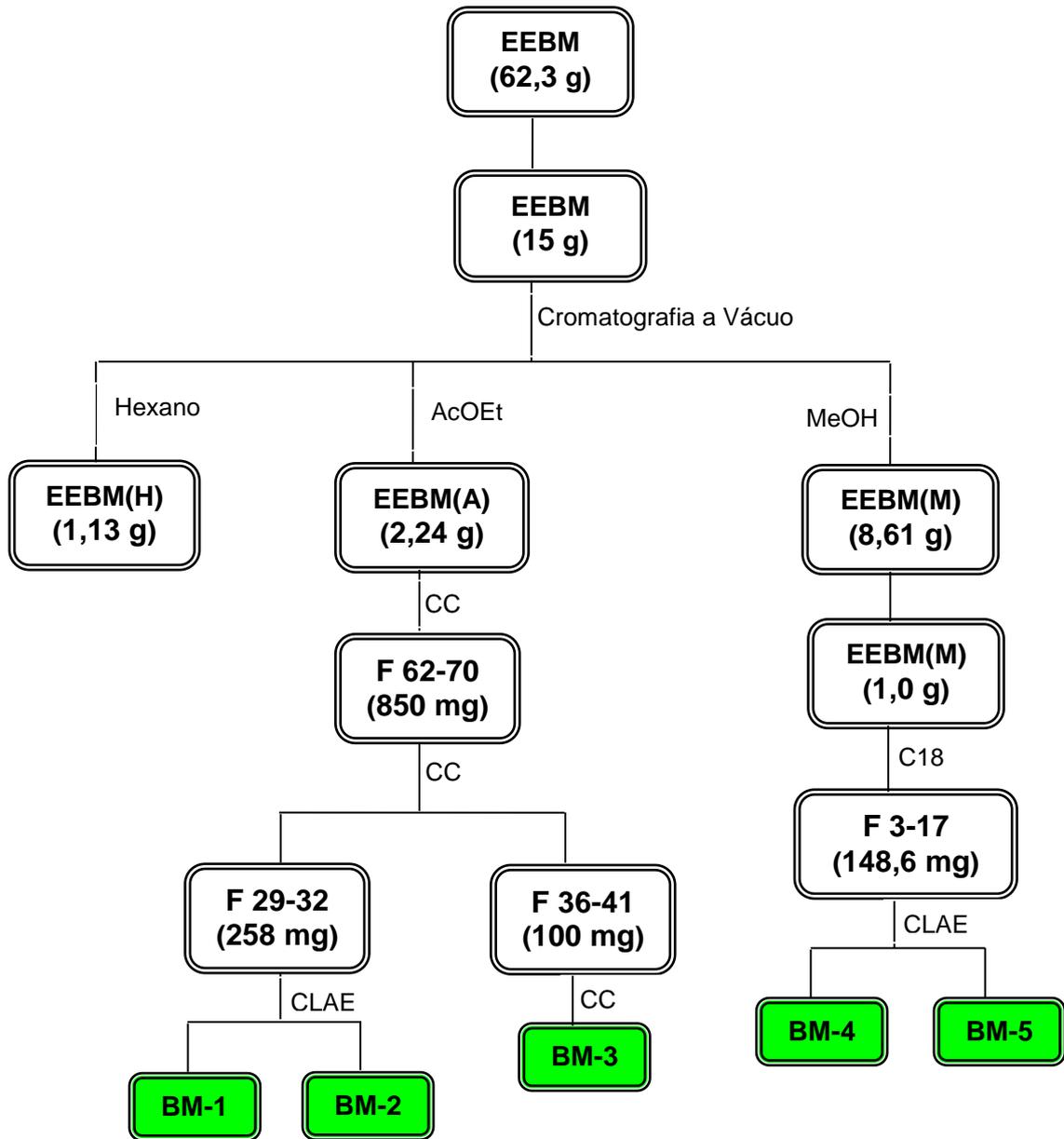
5.6.4.6 Fracionamento cromatográfico da F 3-17 e isolamento de BM-4 e BM-5

A fração F 3-17 foi recromatografada em CLAE, sendo que 148,6 mg da amostra foi solubilizada em 7,4 mL metanol/água na proporção 5:95 e, em seguida, filtrada num sistema manual de filtros. Em seguida, 200 μ L da amostra foi injetada em coluna semi-preparativa de C18 (250 x 10 mm, 10 μ m), num sistema isocrático utilizando como fase móvel metanol/água 5:95 e fluxo de 2,0 mL/min. Cinco picos referentes a cinco substâncias foram observados no cromatograma (**Fig. 215, p. 242**), que foram coletadas e concentradas sob pressão reduzida. As substâncias 4 e 5 forneceram 18,6 e 4,8 mg, respectivamente, as quais apresentaram características de uma resina de coloração marrom, solúveis em MeOH e codificadas de BM-4 e BM-5 (**Flux. 6, p. 243**). As demais apresentaram-se impuras e/ou com baixa massa.

Figura 215 Cromatograma das substâncias BM-4 e BM-5



Fluxograma 6 Rota esquemática do isolamento das substâncias BM-1, BM-2, BM-3, BM-4 e BM-5



5.7 Atividade antioxidante: método de seqüestro do radical DPPH

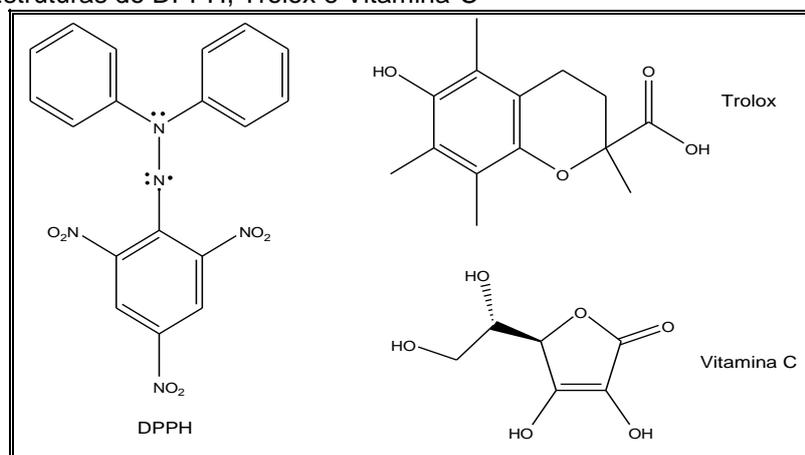
O extrato etanólico das folhas de *B. pentandra* (EEBP) e *B. monandra* (EEBM) foram submetidos ao teste de atividade antioxidante. A metodologia utilizada no teste foi a do seqüestro de radicais livres, semelhante a descrita por Hegazi e El Hady (2002), onde o radical utilizado foi o DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrazila, **Fig. 208**). Amostras nas concentrações de 0,001; 0,005; 0,01; 0,05; 0,1 e 1,0 mg/mL foram dissolvidas em metanol e 1,0 mL de cada foi adicionada a uma solução metanólica de DPPH (1,0 mL) na concentração de $60 \mu\text{mol.L}^{-1}$. Foram realizadas medidas de absorvância na faixa de 520 nm em espectrofotômetro de UV-VIS VARIAN Cary, após 30 min. A porcentagem de inibição (%) foi obtida por comparação da absorção da solução contendo amostra em relação a uma solução controle de DPPH sem amostra.

$$\%I = (1 - \text{Abs. da amostra}/\text{Abs. do DPPH}) \times 100$$

Após o cálculo, foi construído um gráfico de porcentagem de inibição versus a concentração. Para o cálculo do IC_{50} (concentração da amostra com capacidade de reduzir 50% do DPPH) foi utilizada a equação da reta, substituindo o valor de y por 50.

O teste foi realizado em triplicatas. Como padrões positivos de referência utilizaram-se Trolox (ácido 6-hidróxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico, **Fig. 208**) e Vitamina-C (ácido ascórbico, **Fig. 208**), adquiridos da Sigma Aldrich.

Figura 216 Estruturas do DPPH, Trolox e Vitamina-C



5.8 Atividade nematicida *in vitro*

O extrato etanólico das folhas de *B. pentandra* (EEBP) e *B. monandra* (EEBM) foram submetidos ao ensaio de atividade nematicida *in vitro*. Os bioensaios foram realizados em triplicatas com cerca de 100 juvenis de nematóides *Meloidogyne incognita* no segundo estágio (J2) acondicionados em placas de Elisa, juntamente com as amostras dissolvidas em uma solução de DMSO 2% a uma concentração inicial de 1000 ppm durante 24 h. Em seguida foram feitas leituras do índice de mortalidade ou inatividade através da contagem de nematóides com o auxílio de uma lupa. Os ensaios foram realizados no LABFITO (Laboratório de Fitoquímica Aplicada) pela estudante Roberta Rodrigues Rocha.

5.9 Ensaio para inibição da enzima acetilcolinesterase (AChE)

Este ensaio é baseado em procedimento descrito por Ellman *et al.* (1961), adaptado para CCD por Rhee *et al.* (2001). É considerado um método colorimétrico e que pode ser utilizado de forma qualitativa e quantitativa, mas nesse trabalho foi utilizada somente a forma qualitativa. É um método rápido e sensível para a seleção de amostras com ação anticolinesterásica.

A metodologia consiste em retirar uma alíquota de 5µl dos extratos (EEBP e EEBM) na concentração 10 mg/mL e aplicar em uma cromatoplaça. Após a evaporação do solvente, foi borrifado uma mistura (1:1) de iodeto de acetilcolina (ATCI) 1mmol.L⁻¹ com o reagente de Ellman (ácido 5,5' – Ditiobis-(2 –nitrobenzóico, DTNB, 1 mmol.L⁻¹), deixando em repouso por 3 min para a secagem da placa. Em seguida foi borrifado a enzima acetilcolinesterase (3U/ml). Após 10 minutos, ocorre o surgimento de uma coloração amarela, porém, onde há inibição da enzima, observa-se um halo branco em torno dos “spots” onde foram aplicadas as amostras. Em 20-30 min a coloração desaparece.

Como controle positivo, foi utilizado solução do padrão sal de Eserina (2 mg/mL) e como controle negativo, foram utilizados solventes. Os ensaios foram

realizados no LPNQUIMED (Laboratório de Produtos Naturais e Química Medicinal) pela pesquisadora Irvila Ricarte de Oliveira.

5.10 Determinação de fenóis totais

A quantificação do teor de compostos fenólicos presentes nos extratos (EEBP e EEBM) foi determinado pelo método de Folin-Ciocalteu com modificações (BONOLI *et al.*, 2004).

Uma curva analítica foi construída usando o ácido gálico, dissolvido em metanol, no intervalo de concentrações de 0,1 a 2,5 mg/L. Alíquotas de 100 µL da solução metanólica das amostras (1000 mg/L) foram transferidas para balões volumétricos de 10 mL. Em seguida, foram adicionados 500 µL do reagente Folin-Ciocalteu, 6 mL de água destilada e agitou-se por 1 min. Logo após, adicionaram-se 2 mL de Na₂CO₃ (15%) e agitou-se por 30 seg. O volume dos balões volumétricos foram completados com água destilada. O “branco” foi preparado concomitante. As absorbâncias das amostras foram medidas após 2 h de reação em espectrofotômetro de UV-VIS VARIAN Cary, no comprimento de onda de 750 nm.

O teor de fenóis totais foi determinado usando a curva analítica de ácido gálico e os valores foram expressos em miligrama de equivalente de ácido gálico por grama de amostra (mg EAG/g de amostra). A equação da reta foi $A=0,14737C - 0,00187$, onde A é a absorbância e C a concentração, com coeficiente de correlação linear $R=0,9985$. O teste foi realizado em triplicatas.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A análise do óleo essencial de *B. pentandra* obtido por hidrodestilação permitiu identificar como constituinte majoritário o β -cariofileno nas folhas secas e o fitol nas frescas, enquanto que o óleo obtido por MEFS apresentou como componente majoritário nas folhas secas o β -cariofileno e nas frescas os salicilatos de 2-etilhexila e de homomentila. Neste trabalho, de todos os constituintes identificados, quinze estão sendo relatados pela primeira vez no óleo essencial da espécie.

O estudo do perfil de ácidos graxos presentes nos extratos hexânicos apresentou como componentes majoritários os ácidos palmítico, linolênico e esteárico para *B. pentandra*, e os ácidos linolênico e linoléico para *B. monandra*. Este representa o primeiro registro dos componentes do óleo fixo destas espécies.

O estudo fitoquímico do extrato etanólico de *B. pentandra* resultou no isolamento e caracterização de quatorze metabólitos secundários, entre estes, misturas de ácidos graxos (palmítico e esteárico), de esteroides (sitosterol e estigmasterol), de derivados do ácido fenilacético (ácido 2,4-diidroxifenilacético, 2,4-diidroxifenilacetato de etila e 2,4-diidroxifenilacetato de metila), além de uma mistura de 6-hidroxibenzofuran-2(3H)-ona e 1-(3',4'-dimetoxifenil)-2-propanol, e uma mistura de dasicarponina e glicopiranosídeo de etila. Também foram isolados e identificados o (+)-3-O-metil-D-*qui*ro-inositol, 7-*epi*-grifonilida (iné dita) e dasicarponilida. O estudo do extrato etanólico de *B. monandra* possibilitou o isolamento e identificação de seis metabólitos secundários: vitamina-E, fitol, didemetilsimmondsina, (2*R*,3*S*,4*R*,5*R*,6*S*)-(Z)-6-(β -D-glicopiranosiloxi)-2,3,4,5-tetraidroxiciclohexilideno- $\Delta^{1,\alpha}$ -acetonitrila (iné dito) e a mistura de palmitato de etila e estearato de etila. Uma vez que estas espécies são utilizadas na medicina popular, recomenda-se cautela no consumo, devido à presença de cianoglicosídeos, que foram encontrados nas duas espécies.

Os extratos etanólicos (EEBP, EEEM) apresentaram significativa atividade antioxidante, com valores de IC₅₀ semelhantes ao padrão Vitamina-C, além de resultados positivos para a inibição da enzima AChE.

Os resultados apresentados neste trabalho motivam a continuação do estudo fitoquímico de *B. pentandra* e *B. monandra*, na busca de novos compostos com atividade farmacológica, visto que pouco se conhece a respeito destas espécies.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, R. P. **Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry**. 4.ed. Carol Stream: Allured Pub. Corp., 2007. 803 p.
- ADEROGBA, M. A.; MCGAW, L. J.; OGUNDAINI, A. O.; ELOFF, J. N. Antioxidant activity and cytotoxicity study of the flavonol glycosides from *Bauhinia galpinii*. **Natural Product Research**, v. 21, n. 7, p. 591-599, 2007.
- ADEROGBA, M. A.; OGUNDAINI, A. O.; ELOFF, J. N. Isolation of two flavonoids from *Bauhinia monandra* (Kurz) leaves and their antioxidative effects. **African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines**, v. 3, n. 4, p. 59-65, 2006.
- ARGOLO, A. C. C.; SANT'ANA, 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.
- ATHIKOMKULCHAI, S.; SRIUBOLMAS, N.; RUANGRUNGSI, N. Antibacterial activity of flavonoids from *Bauhinia sirindhorniae*. **Thai Journal of Health Research**, v. 19, n. 1, p. 13-18, 2005.
- BAI, H.; ZHAN, Q.; XIA, Z.; LAO, A. Study on chemical constituents in vine stem of *Bauhinia championii* Benth. **Zhongguo Zhongyao Zazhi**, v. 30, n. 1, p. 42-43, 2005.
- BAIMING, A.; REN, F.; YANG, Y.; ZHANG, Y.; QU, A.; ZHAO, Y. Chemical constituents of *Bauhinia glauca* (Wall. ex Benth.) Benth. subsp. hupehana (Craib) T. Chen. **Zhongguo Yaoxue Zazhi**, v. 47, n. 22, p. 1796-1798, 2012a.
- BAIMING, A.; REN, F.; YANG, Y.; ZHANG, Y.; QU, A.; ZHAO, Y. Studies on chemical constituents of *Bauhinia glauca*. **Guoji Yaoxue Yanjiu Zazhi**, v. 39, n. 1, p. 42-44, 2012b.
- BODAKHE, S. H.; RAM, A.; BODAKHE, K. S.; PANDEY, D. P. New polyphenolic aromatic glycoside from *Bauhinia variegata* L. stem bark. **Asian Journal of Chemistry**, v. 22, n. 5, p. 3549-3553, 2010.
- BONOLI, M.; VERARDO, V.; MARCONI, E.; CABONI, M. F. Antioxidant phenols in Barley (*Hordeum vulgare* L.) flour: comparative spectrophotometric study among extraction methods of free and bound phenolic compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 16, p. 5195-5200, 2004.
- 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.

BOVEN, M. V.; DAENENS, P.; COKELAERE, M. M.; JANSSENS, G. Isolation and structure elucidation of the major simmondsin analogues in Jojoba meal by two-dimensional NMR spectroscopy. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 42, p. 2684-2687, 1994.

CECHINEL FILHO, V. Chemical composition and biological potential of plants from the genus *Bauhinia*. **Phytotherapy Research**, v. 23, p. 1347-1354, 2009.

CHEW, Y. L.; LIM, Y. Y.; STANSLAS, J.; EE, G. C. L.; GOH, J. K. Bioactivity-guided isolation of anticancer agents from *Bauhinia kockiana* korth. **African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines**, v. 11, n. 3, p. 291-299, 2014.

CONNOR, K. F. *Bauhinia monandra* Kurz. In: VOZZO, J. A. **Tropical Tree Seed Manual**. Agric. Handbook 721. Washington, DC: U.S. Department of Agriculture, Forest Service, 2002. p. 324-326.

COSTA, J. P.; LOURENÇO, N. V.; SANTOS, C. C. M. P.; TOMÉ, A. R.; SOUSA, G. F.; SOUSA, D. P.; ALMEIDA, R. N.; FREITAS, R. M. Avaliação da toxicidade aguda e das alterações histopatológicas em camundongos tratados com fitol. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 33, n. 3, p. 421-428, 2012.

CRISÓSTOMO, C. V. **Polissacarídeo endospérmico de *Bauhinia pentandra* [manuscrito]: caracterização e estudo de interação com lectinas**. 2008. 100 f. Tese (Doutorado em Bioquímica) – Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2008.

DUARTE-ALMEIDA, J. M.; NEGRI, G.; SALATINO, A. Volatile oils in leaves of *Bauhinia* (Fabaceae Caesalpinioideae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 32, p. 747-753, 2004.

EL-DONDAITY, S. E.; MAHDY, M.; EL-HAMOULY, M.; AMMAR, H. Chemical and/or biological studies of *Bauhinia variegata* L. and *Cleome droserifolia* (Forssk.) Del. growing in Egypt. **Egyptian Journal of Biomedical Sciences**, v. 19, p. 181-203, 2005.

EL SAYED, Z. I. A.; HASSAN, W. H. B.; ATEYA, A. Novel propenyl flavonoids glycoside and antioxidant activity of egyptian *Bauhinia retusa*. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 6, n. 1, p. 478-484, 2015.

ELLMAN, G. L.; COURTNEY, K. D.; ANDRES JUNIOR, V.; FEATHERSTONE, R. M. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. **Biochemical Pharmacology**, v. 7, p. 88-95, 1961.

- ESTRADA, O.; HASEGAWA, M.; GONZALEZ-MUJÍCA, F.; MOTTA, N.; PERDOMO, E.; SOLORZANO, A.; MÉNDEZ, J.; MÉNDEZ, B.; ZEA, E. G. Evaluation of flavonoids from *Bauhinia megalandra* leaves as inhibitors of glucose-6-phosphatase system. **Phytotherapy Research**, v. 19, p. 859-863, 2005.
- FEITOSA, C. M.; BEZERRA, M. Z. B.; CITÓ, A. M. G. L.; COSTA JÚNIOR, J. S.; LOPES, J. A. D.; MOITA NETO, J. M. Constituintes químicos de *Philodendron imbe* Schott. **Química Nova**, v. 30, n. 1, p. 41-44, 2007.
- FENNELL, C. W.; LINDSEY, K. L.; MCGRAW, L.; SPARG, S. G.; STAFFORD, G. I.; ELGORASHI, E. E.; GRACE, O. M.; STADEN, J. Assessing African medicinal plants for efficacy and safety: pharmacological screening and toxicology. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 94, p. 205-217, 2004.
- GADOTTI, V. M.; SCHMELING, L. O.; MACHADO, C.; LIZ, F. H.; CECHINEL FILHO, V.; MEYRE-SILVA, C.; SANTOS, A. R. S. Antinociceptive action of the extract and the flavonoid quercitrin isolated from *Bauhinia microstachya* leaves. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 57, p. 1345-1351, 2005.
- GOIS, R. W. S. **Estudo fitoquímico e biológico de *Bauhinia acuruana* Moric.** 2010. 150 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.
- GÓIS, 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.
- HAYER, N. J. **Desenvolvimento, purificação e caracterização de IgG anti lectina de folha de *Bauhinia monandra*.** 2002. 95 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pernambuco, Recife, 2002.
- HAZRA, A. G.; CHATTERJEE, P. A nontoxic antitumour compound from the leaves of *Bauhinia scandens* characterized as 1-O-alkyl glycerol by gas-liquid chromatography and evaluation of its antitumour property by Brine Shrimp bioassay. **Industrial Crops and Products**, v. 27, p. 39-43, 2008.
- 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**, v. 57c, p. 395-402, 2002.
- IGNOATO, M. C.; FABRÃO, R. M.; SCHUQUEL, I. T. A.; BOTELHO, M. F. P.; SANTIN, S. M. O.; ARRUDA, L. L. M.; BERSANI-AMADO, C. A.; SOUZA, M. C. Estudo fitoquímico e avaliação da atividade anti-inflamatória de *Aeschynomene fluminensis* Vell. (Fabaceae). **Química Nova**, v. 35, n. 11, p. 2241-2244, 2012.

ILKIU-BORGES, F.; MENDONÇA, M. S. Morfo-anatomia da semente de *Bauhinia monandra* kurz. (Leguminosae-Caesalpinioideae). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 31, n. 4, p. 168-174, 2009.

JAIN, R.; SAXENA, U.; RATHORE, K.; JAIN, S. C. Bioactivities of polyphenolics from the roots of *Bauhinia racemosa*. **Archives of Pharmacal Research**, v. 31, n. 12, p. 1525-1529, 2008.

JAIN, R.; YADAV, N.; BHAGCHANDANI, T.; JAIN, S. C. A new pentacyclic phenol and other constituents from the root bark of *Bauhinia racemosa* Lamk. **Natural Product Research**, v. 27, n. 20, p. 1870-1876, 2013.

JAIN, S. A.; PATEL, A. D.; PRAJAPATI, N. K.; PRAJAPTI, S. P. Extraction of flavonoids of seed coat of *Bauhinia tomentosa*. **International Journal of Chemical Sciences**, v. 9, n. 2, p. 657-663, 2011.

JANZANTTI, N. S.; FRANCO, M. R. B.; WOSIACKI, G. Efeito do processamento na composição de voláteis de suco clarificado de maçã fuji. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n. 3, p. 523-528, 2003.

JASH, S. K.; ROY, R.; GORAI, D. Bioactive constituents from *Bauhinia variegata* Linn. **International Journal of Pharmaceutical and Biomedical Research**, v. 5, n. 2, p. 51-54, 2014.

JOSHI, A. B.; DESAI, R. R.; BHOBE, M. P. Phytochemical investigation of the hexane extract of stem bark of *Bauhinia purpurea* Linn. **Pharma Chemica**, v. 5, n. 3, p. 116-121, 2013.

JUDD, W. S.; CAMPBELL, C. S.; KELLOGG, E. A.; STEVENS, P. F.; DONOGHUE, M. J. **Sistemática vegetal: um enfoque filogenético**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 632 p.

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

KERNTOPF, M. R.; NASCIMENTO, N. R. F.; FONTELES, M. C. *Bauhinia unguolata* Linn. (pata-de-vaca). In: VIANA, G. S. B.; LEAL, L. K. A. M.; VASCONCELOS, S. M. M., (Org.). **Plantas Medicinais da Caatinga: Atividades Biológicas e Potencial Terapêutico**. Fortaleza: Expressão Gráfica e Editora, 2013. p. 93-123.

KOJIMA, H.; SATO, N.; HATANO, A.; OGURA, H. Sterol glucosides from *Prunella vulgaris*. **Phytochemistry**, v. 29, n. 7, p. 2351-2355, 1990.

KORTESNIEMI, M.; SINKKONEN, J.; YANG, B.; KALLIO, H. ¹H NMR spectroscopy reveals the effect of genotype and growth conditions on composition of sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L.) berries. **Food Chemistry**, v. 147, p. 138-146, 2014.

KUMAR, M. M. J. V.; ESWARAPPA, B.; BODKE, Y. D.; JAYADEVAIAH, K. V.; BASAVARAJA, H. S. Isolation of phytoconstituents from the stem bark of *Bauhinia variegata* Linn. **PharmaTutor Magazine**, v. 2, n. 9, p. 150-156, 2014.

LIAO, Y.; LI, R. Chemical constituents from flowers of *Bauhinia variegata* L. **Tianran Chanwu Yanjiu Yu Kaifa**, v. 25, n. 5, p. 634-636, 2013.

LINS, A. C. S. **Estudo químico e atividade antioxidante de *Bauhinia pentandra* (Bong.) Vog. ex Steud e avaliação da atividade inibitória da enzima DNA-topoisomerase II- α humana de substâncias naturais e semi-sintéticas**. 2008. 130 f. Dissertação (Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa.

MAHESWARA, M.; RAO, Y. K.; SIDDAIAH, V.; RAO, C. V. Isolation of new chalcone from the leaves of *Bauhinia variegata*. **Asian Journal of Chemistry**, v. 18, n. 1, p. 419-422, 2005.

MAIA NETO, M.; ANDRADE NETO, M.; 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.

MANSUR, M. C. P. P. R.; LEITAO, S. G.; LIMA, L. M. T. R.; RICCI-JUNIOR, E.; SOUZA, G. R.; BARBI, N. S.; MARTINS, T. S.; DELLAMORA-ORTIZ, G. M.; LEO, R. R. Evaluation of the antioxidant and phototoxic potentials of *Bauhinia microstachya* var. *massambabensis* vaz leaf extracts. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 31, n. 2, p. 200-206, 2012.

MATOS, F. J. A. **Farmácias Vivas: sistema de utilização de plantas medicinais projetado para pequenas comunidades**. 4.ed. Fortaleza: UFC, 2002. 267 p.

MATSUO, M; URANO, S. ^{13}C NMR spectra of tocopherols and 2,2-dimethylchromanols. **Tetrahedron**, v. 32, p. 229-231, 1976.

MENEZES, F. S.; MINTO, A. B. M.; RUELA, H. S.; KUSTER, R. M.; SHERIDAN, H.; FRANKISH, N. Hypoglycemic activity of two Brazilian *Bauhinia* species: *Bauhinia forficata* L. and *Bauhinia monandra* Kurz. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 1, p. 8-13, 2007.

MESSIANO, G. B. **Terpenos e lignanas de Aristolochiaceae**. 2010. 128 f. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Estadual Paulista, Araraquara.

MOHAMED, M. A.; MAMMOUD, M. R.; HAYEN, H. Evaluation of antinociceptive and anti-inflammatory activities of a new triterpene saponin from *Bauhinia variegata* leaves. **Zeitschrift für Naturforschung**, v. 64 c, p. 798-808, 2009.

MONTRUCCHIO, D. P.; MIGUEL, O. G.; MIGUEL, M. D.; MONACHE, F. D.; CARVALHO, J. L. S. Componentes químicos e atividade antimicrobiana de

Ptychopetalum olacoides Benth. **Visão Acadêmica**, v. 6, n. 2, p. 48-52, 2005.

NAHAR, L.; RUSSELL, W. R.; MIDDLETON, M.; SHOEB, M.; SARKER, S. D. Antioxidant phenylacetic acid derivatives from the seeds of *Ilex aquifolium*. **Acta Pharmaceutica**, v. 55, p. 187-193, 2005.

NOGUEIRA, A. C. O.; SABINO, C. V. S. Revisão do gênero *Bauhinia* abordando aspectos científicos das espécies *Bauhinia forficata* Link e *Bauhinia variegata* L. de interesse para a indústria farmacêutica. **Revista Fitos**, v. 7, n. 2, p. 77-84, 2012.

PAHWA, S.; MAZUMDER, R.; BHATTACHARYA, S. Isolation of coumarin compound from the bark of *Bauhinia purpurea*. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 6, n. 1, p. 267-272, 2015.

PARK, H. Y.; TOUME, K.; ARAI, M. A.; KOYANO, T.; KOWITHAYAKORN, T.; ISHIBASHI, M. 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.

PETTIT, G. R.; NUMATA, A.; IWAMOTO, C.; USAMI, Y.; YAMADA, T.; OHISHI, H.; CRAGG, G. M. Antineoplastic agents. 551. Isolation and structures of bauhiniastatins 1-4 from *Bauhinia purpurea*. **Journal of Natural Products**, v. 69, p. 323-327, 2006.

RAJKAPOOR, B.; MURUGESH, N.; KRISHNA, D. R. Cytotoxic activity of a flavanone from the stem of *Bauhinia variegata* Linn. **Natural Product Research**, v. 23, n. 15, p. 1384-1389, 2009.

RAO, Y. K.; FANG, S.; TZENG, Y. Antiinflammatory activities of flavonoids and a triterpene caffeate isolated from *Bauhinia variegata*. **Phytotherapy Research**, v. 22, p. 957-962, 2008.

RASHED, K.; BUTNARIU, M. Antimicrobial and antioxidant activities of *Bauhinia racemosa* Lam. and chemical content. **Iranian Journal of Pharmaceutical Research**, v. 13, n. 3, p. 1073-1080, 2014.

RHEE, I. K.; MEENT, M. V.; INGKANINAN, K.; VERPOORTE, R. Screening for acetylcholinesterase inhibitors from Amaryllidaceae using silica gel thin-layer chromatography in combination with bioactivity staining. **Journal Chromatography A**, v. 915, p. 217-223, 2001.

ROJAS, R.; BUSTAMANTE, B.; BAUER, J.; FERNÁNDEZ, I.; ALBÁN, J.; LOOCK, O. Antimicrobial activity of selected Peruvian medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 88, p. 199-204, 2003.

ROSA, E. A. **Contribuição ao estudo químico das espécies vegetais *Palicourea rígida* e *Palicourea coriacea* e avaliação das atividades antioxidante, antiinflamatória e moluscicida de *Palicourea rígida***. 2009.

216 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Centro de Ciências Exatas, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2009.

SAHA, S.; SUBRAHMANYAM, E. V. S.; KODANGALA, C.; SHASTRY, S. C. Isolation and characterization of triterpenoids and fatty acid ester of triterpenoid from leaves of *Bauhinia variegata*. **Der Pharma Chemica**, v. 3, n. 4, p. 28-37, 2011.

SASHIDHARA, K. V.; SINGH, S. P.; MISRA, S.; GUPTA, J.; MISRA-BHATTACHARYA, S. Galactolipids from *Bauhinia racemosa* as a new class of antifilarial agents against human lymphatic filarial parasite, *Brugia malayi*. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 50, p. 230-235, 2012.

SEMWAL, S.; SHARMA, R. K. Antibacterial sesquiterpene lactone glucoside from seed pods of *Bauhinia retusa*. **Journal of Asian Natural Products Research**, v. 13, n. 1, p. 75–79, 2011a.

SEMWAL, S.; SHARMA, R. K. A new lignan rhamnoside from *Bauhinia retusa* seed pods (Caesalpiniaceae). **Chinese Chemical Letters**, v. 22, p. 1081-1083, 2011b.

SHANG, X.; LI, S.; WANG, S.; YANG, Y.; SHI, J. Chemical constituents of *Bauhinia aurea*. **Journal of Asian Natural Products Research**, v. 14, n. 10, p. 966-972, 2012.

SHANG, X.; LI, S.; WANG, S.; YANG, Y.; SHI, J. Study on flavonoids from *Bauhinia aurea*. **Zhongcaoyao**, v. 40, n. 2, p. 196-199, 2009.

SHANG, X.; LI, S.; WANG, Y.; WANG, S.; YANG, Y.; SHI, J. Dihydroflavonol glycosides and flavan-3-ols from *Bauhinia aurea*. **Zhongguo Zhongyao Zazhi**, v. 32, n. 9, p. 815-818, 2007.

SHANG, X.; LI, S.; WANG, Y.; WANG, S.; YANG, Y.; SHI, J. Chemical constituents of *Bauhinia aurea*. **Zhongguo Zhongyao Zazhi**, v. 31, n. 23, p. 1953-1955, 2006.

SILVA, K. L.; CECHINEL FILHO, V. Plantas do gênero *Bauhinia*: composição química e potencial farmacológico. **Quimica Nova**, v. 25, n. 3, p. 449-454, 2002.

SILVA, T. M. S.; LINS, A. C. S.; SARMENTO-FILHA, M. J.; RAMOS, C. S.; AGRA, M. F.; CAMARA, C. A. Riachin, a new cyanoglucoside from *Bauhinia pentandra* and its antioxidant activity. **Chemistry of Natural Compounds**, v. 49, n. 4, p. 685-690, 2013.

SINGH, R. S.; SINHA, R.; PANDEY, H. S.; RAO, C. V. Four new aliphatic compounds from *Bauhinia variegata* pods. **Journal of Medicinal and Aromatic Plant Sciences**, v. 33, n. 2, p. 144-149, 2011.

SINGH, R. S.; PANDEY, H. S.; GHANSHYAM. Two new long chain compounds from *Bauhinia variegata* Linn. **Indian Journal of Chemistry, Section B**:

Organic Chemistry Including Medicinal Chemistry, v. 45B, n. 9, p. 2151-2153, 2006.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG III**. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2012. 768 p.

STEPP, J. R. The role of weeds as sources of pharmaceuticals. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 92, p. 163-166, 2004.

TANG, Y.; XING, Y.; MEN, R.; PAN, Y.; MENG, D.; LI, N. Bioactive constituents of *Bauhinia glauca* Benth. subsp. *pernervosa*. **Shenyang Yaoke Daxue Xuebao**, v. 31, n. 3, p. 188-190, 2014.

TANJUNG, M.; SAPUTRI, R. D.; TJAHAJANDARIE, T. S. Antioxidant activity of two isomeric benzoxepin derivatives from the stem bark of *Bauhinia aculeata* L. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, v. 6, n. 1, p. 705-708, 2014.

USMAN, H.; ABDULRAHMAN, F. I.; AHMED, I. A.; KAITA, A. H.; KHAN, I. Z. Antibacterial effects of cyanogenic glucoside isolated from the stem bark of *Bauhinia rufescens* Lam. **International Journal of Biological and Chemical Sciences**, v. 7, n. 5, p. 2139-2150, 2013.

VASUDEVAN, V.; MATHEW, J.; BABY, S. Chemical profiles of essential oils of *Bauhinia* species from south India. **Asian Journal of Chemistry**, v. 26, n. 8, p. 2204-2206, 2014.

VASUDEVAN, V.; MATHEW, J.; BABY, S. Chemical composition of essential oil of *Bauhinia acuminata* leaves. **Asian Journal of Chemistry**, v. 25, n. 4, p. 2329-2330, 2013.

VAZ, A. M. S. F.; TOZZI, A. M. G. A. Sinopse de *Bauhinia* sect. *Pauletia* (Cav.) DC. (Leguminosae: Caesalpinioideae: Cercideae) no Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 28, n. 3, p. 477-491, 2005.

VERMA, T.; CHANDRASHEKAR, K. S.; JOSHI, A. B. α -Amyrin caprylate - a new triterpene isolated from the leaf of *Bauhinia purpurea* linn. **Asian Journal of Research in Chemistry**, v. 2, n. 4, p. 569-570, 2009.

WRIGHT, C. R.; SETZER, W. N. Volatile compositions of two cactus species growing in the Sonoran Desert of southern Arizona. **American Journal of Essential Oils and Natural Products**, v. 1, n. 1, p. 41-47, 2013.

WU, J.; FAIRCHILD, E. H.; BEAL, J. L.; TOMIMATSU, T.; DOSKOTCH, R. W. Lithospermoside and dasycarponin, cyanoglucosides from *Thalictrum*. **Journal of Natural Products**, v. 42, n. 5, p. 500-511, 1979.

- WU, Z.; ZHAO, Y.; YANG, X.; LIANG, H. Flavonoids from *Bauhinia glauca* subsp. *pernervosa*. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 57, n. 6, p. 628-631, 2009a.
- WU, Z.; WANG, B.; ZHAO, Y.; YANG, X.; LIANG, H. Chalcones from *Bauhinia glauca* subsp. *pernervosa*. **Zhongguo Zhongyao Zazhi**, v. 34, n. 13, p. 1676-1678, 2009b.
- XU, J.; ZHAO, Q.; WEI, L.; YANG, Y.; XU, R.; YU, N.; ZHAO, Y. Phytochemical composition and antinociceptive activity of *Bauhinia glauca* subsp. *hupehana* in rats. **PloS one**, v. 10, n. 2, p. 1-13, 2015.
- XU, W.; LI, H.; CHU, K.; ZHANG, Y.; CHEN, L.; SHA, M. Studies on chemical constituents of *Bauhinia championii*(benth.)benth. **Tianran Chanwu Yanjiu Yu Kaifa**, v. 25, n. 9, p. 1209-1211, 2013.
- YADAV, S.; VERMA, D. L. Antioxidative flavonoids from the leaves of *Bauhinia retusa* Roxb. **Journal of Medicinal and Aromatic Plant Sciences**, v. 32, n. 1, p. 16-19, 2010.
- YADAVA, R. N.; CHAKRAVARTY, A. New potential allelochemical from *Bauhinia racemosa* Lam. **World Journal of Pharmaceutical Research**, v. 3, n. 9, p. 668-676, 2014.
- 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.
- ZHANG, L.; ZHAO, Q.; LIANG, R.; CEN, Y. Chemical constituents of *Bauhinia brachycarpa*. **Tianran Chanwu Yanjiu Yu Kaifa**, v. 24, n. 6, p. 754-756, 2012.
- ZHAO, Q.; WU, Z.; ZHENG, Z.; LU, X.; LIANG, H.; CHENG, W.; ZHANG, Q.; ZHAO, Y. Phenolic acid derivatives from *Bauhinia glauca* subsp. *pernervosa*. **Yaoxue Xuebao**, v. 46, n. 8, p. 946-950, 2011.
- ZHAO, Y.; CUI, C.; CAI, B.; HAN, B.; SUN, Q. A new phenanthraquinone from the stems of *Bauhinia variegata* L. **Journal of Asian Natural Products Research**, v. 7, n. 6, p. 835-838, 2005a.
- ZHAO, Y.; CUI, C.; CAI, B.; SUN, Q. Chemical constituents from *Bauhinia variegata* L. **Zhongguo Yaowu Huaxue Zazhi**, v. 15, n. 5, p. 302-304, 2005b.