



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS**  
**DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÂNICA E INORGÂNICA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**ANA MARIA AMARAL SILVA**

**INVESTIGAÇÃO QUÍMICA E BIOLÓGICA DE *BAUHINIA CHEILANTHA* (BONG.)  
STEUD**

**FORTALEZA**  
**2018**

ANA MARIA AMARAL SILVA

INVESTIGAÇÃO QUÍMICA E BIOLÓGICA DE *BAUHINIA CHEILANTHA* (BONG.)  
STEUD

Dissertação submetida à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Ceará como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Química com Área de Concentração em Química Orgânica.

**Orientadora:** Profa. Dra. Gilvandete Maria Pinheiro Santiago

FORTALEZA  
2018

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)

---

- S578i Silva, Ana Maria Amaral.  
Investigação química e biológica de Bauhinia cheilantha (Bong.) Steud / Ana Maria Amaral Silva. – 2018.  
176 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Programa de Pós-Graduação em Química, Fortaleza, 2018.  
Orientação: Profa. Dra. Gilvandete Maria Pinheiro Santiago.
1. Bauhinia cheilantha. 2. óleo essencial. 3. oxepinas. 4. triterpenos. 5. bibenzis. I. Título.
- CDD 540
-

ANA MARIA AMARAL SILVA

INVESTIGAÇÃO QUÍMICA E BIOLÓGICA DE *Bauhinia cheilantha* (Bong.) Steud

Dissertação apresentada ao programa de pós-graduação em Química da Universidade Federal do Ceará requisitos parcial a obtenção do título de Mestre em Química. Área de concentração Química Orgânica.

Dissertação aprovada em: 18/05/2018

BANCA EXAMINADORA

---

Profa. Dra. Gilvandete Maria Pinheiro Santiago (Orientadora)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Profa. Dra. Maria Teresa Sales Trevisan  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Profa. Dra. Antônia Torres Ávila Pimenta  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dedico esse trabalho aos meus pais Antônio Geraldo e Lucia Amaral (*in memoriam*), à minha irmã Cristiane Amaral e ao meu esposo Aurelio Monteiro.

## AGRADECIMENTOS

Deve existir uma força mística superior a todos nós, que tantos nomes recebe, dependendo da cultura, que dita a hora certa das coisas acontecerem, as experiências que devemos passar, as pessoas que devemos conhecer ao longo da jornada e, ao escrever essas linhas para concluir este trabalho, meu sentimento é de plena gratidão espiritual.

Ao meu pai, que trabalhou com afinco todos os dias que foram possíveis, com imenso amor pelo seu ofício e sua família, para que eu pudesse ter as melhores condições de estudo, saúde e lazer na infância.

À minha mãe, que me ensinou a ser forte e que mesmo sem estudo encheu a nossa casa de livros, me estimulando a buscar o conhecimento que liberta, a não parar de estudar e seguir em frente.

À minha irmã que é minha inspiração direta de vida e consolida todos os dias esse caminho que foi aberto pela minha mãe.

Ao meu esposo Aurelio Monteiro, por esses cinco anos de convivência que mudaram minha vida para melhor, convivendo com sua alegria, doçura, por tudo que me ensinaste, seja partilhando nossa profissão em comum, seja me ensinando a ser um ser humano melhor.

Aos amigos que conquistei na UFC, Horlando Carlota, Leôncio Mesquita, Valdeline Sousa, Denise Ramos, Camila Peixoto, Mário Rodas, assim como Kelly Ruivo, Jéssica Ribeiro, Eduardo Maia e outros, cujos momentos de lazer e estudo foram fundamentais para a manutenção da minha saúde mental, o meu agradecimento e carinho por vocês.

Aos professores das disciplinas que eu participei Telma Leda, Marcos Carlos, Mary Anne, Nilce Viana e Adriana Correia, pelo aprendizado e acolhimento. À professora Teresa Trevisan e ao professor Jair Mafezoli pelas valiosas contribuições ofertadas no exame de qualificação. À professora Antônia Pimenta pela amizade e pela análise na CLAE que fizemos juntas, a minha gratidão pela disposição e conhecimento compartilhado.

Aos colegas do LSO Erivaldo Silva, Ítalo Gomes e Dilaíson Carlos, pela boa convivência ao longo dos dias de trabalho. Aos colegas do LAFIPLAM I, Francisco das Chagas e Alison Batista, pelas análises físicas realizadas e pelo conhecimento compartilhado comigo. Vale mencionar o Horlando Carlota novamente pelas análises de atividade larvicida realizadas e a Jéssica Ribeiro pelas análises de FTIR.

Ao Prof. Dr. Péricles B. Alves (UFS), pelas análises de CG/EM e CG/DIC, assim como à Profa. Dra. Gardênia C. G. Militão (UFPE) pela parceria disponibilizada quanto às análises de citotoxicidade e ao Prof. Dr. Rodrigo Ramos Catharino (Unicamp) quanto a gentil análise de EM-ASR para contribuir com este trabalho.

À Professora Gilvandete, com muito carinho, toda a minha gratidão pela oportunidade de desenvolver este trabalho sob seus cuidados, que com certeza fizeram diferença para muito melhor na minha vida profissional e também como ser humano.

Aos órgãos NUVET e CNPq, aos laboratórios LPT, LABS, LEMANOR e ao CENAUREMN, pelo apoio técnico cedido ao longo destes dois anos, muito obrigada.

## RESUMO

O presente trabalho relata o estudo químico e biológico do óleo essencial das folhas frescas (**OEBC**) e do extrato etanólico das raízes de *Bauhinia cheilantha* (**EEBCR**). Do óleo essencial (**OEBC**), obtido por hidrodestilação, foram identificados 97,84% dos seus constituintes, sendo o (*E*)-cariofileno (21,65%) e  $\alpha$ -pineno (11,74%), os constituintes majoritários. O estudo dos constituintes fixos resultou no isolamento e determinação estrutural de nove metabólitos secundários: os derivados oxepínicos pacharina (**BCR-1**) e bauhiniastatina 1 (**BCR-2**), os triterpenos cicloartenona (**BCR-3**) e taraxerol (**BCR-6**), os flavonóides fisetinidol (**BCR-5**) e a mistura de diidroquercetina e de 2-(3',4'-diidroxifenil)-5-metoxicromano-3,7-diol (**BCR-4**) e os bibenzis 3,5-dimetoxi-4-metil-2'-hidroxibenzil (**BCR-7**) e 3,5,6-trimetoxi-4-metil-2'-hidroxibenzil (**BCR-8**). Vale ressaltar que **BCR-3** está sendo descrita pela primeira vez no gênero *Bauhinia* e **BCR-8** está sendo relatada pela primeira vez na literatura. As estruturas dos metabólitos secundários isolados foram elucidadas por RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ ; IV e EM, juntamente com a comparação com os dados descritos na literatura. As frações hexânica (**FHBCR**), diclorometano (**FDBCR**), acetato de etila (**FABCR**) e metanólica (**FMBCR**), obtidas do tratamento cromatográfico do extrato etanólico das raízes (**EEBCR**), assim como o óleo essencial das folhas frescas de *B. cheilantha* (**OEBC**) foram avaliadas quanto à citotoxicidade sobre as linhagens tumorais humanas HL-60 (leucemia promielocítica), NCI-H292 (carcinoma de pulmão) e MCF-7 (carcinoma de mama), sendo obtidos valores de  $\text{CI}_{50}$ , com seus respectivos intervalos de confiança iguais a 8,6 (5,9 – 12,6), 33,08 (29,1 – 37,5), e 18,3 (16,0 – 21,0) para o **OEBC** e 7,6 (6,1 – 9,4), 5,4 (4,2 – 6,9) e 2,7 (1,9 – 3,7) para a **FDBCR**, únicas amostras ativas. O extrato etanólico das raízes (**EEBCR**), as quatro frações citadas (**FHBCR**, **FDBCR**, **FABCR** e **FMBCR**) e o óleo essencial (**OEBC**) foram submetidos à avaliação da atividade sobre larvas de terceiro estágio de *Aedes aegypti*, no entanto, somente o óleo essencial (**OEBC**) mostrou-se ativo, com valor de  $\text{CL}_{50}$  correspondente a  $40,84 \pm 0,87 \mu\text{g/mL}$ .

**Palavras-chave:** *Bauhinia cheilantha*. Óleo essencial. Oxepinas. Triterpenos. Flavonóides. Bibenzis. Atividade larvicida. Atividade citotóxica.

## ABSTRACT

The present work reports the chemical and biological study of the fresh leaves essential oil (**OEBC**) and the ethanolic extract from the roots of *Bauhinia cheilantha* (**EEBCR**). The essential oil (**OEBC**) has been obtained by hydrodistillation, and 97.84% of its constituents were identified. (*E*)-cariophyllene (21.65%) and  $\alpha$ -pinene (11.74%) were the major constituents. The study of the fixed constituents resulted in the isolation and structural determination of nine secondary metabolites: the oxepinic derivatives pacharina (**BCR-1**) and bauhiniastatin 1 (**BCR-2**), the triterpenes cycloartenone (**BCR-3**) and taraxerol (**BCR-6**), the flavonoids fisetinidol (**BCR-5**) and the mixture of dihydroquercetin and 2-(3',4'-dihydroxyphenyl)-5-methoxychroman-3,7-diol (**BCR-4**) and the bibenzis 3,5-dimethoxy-4-methyl-2'-hydroxybibenzyl (**BCR-7**) and 3,5,6-trimethoxy-4-methyl-2'-hydroxybibenzyl (**BCR-8**). It is noteworthy that **BCR-3** is being described for the first time in the *Bauhinia* genus and **BCR-8** is being reported for the first time in the literature. Structures of isolated secondary metabolites were elucidated by  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR, IR and MS, together with the comparison with the data described in the literature. The hexane (**FHBCR**), dichloromethane (**FDBCR**), ethyl acetate (**FABCR**) and methanolic (**FMBCR**) fractions, obtained from the chromatographic treatment of the ethanolic extract from roots (**EEBCR**), as well as the essential oil of the fresh leaves of *B. cheilantha* (**OEBC**) were evaluated for their cytotoxicity on human tumor cell lines HL-60 (promyelocytic leukemia), NCI-H292 (lung carcinoma) and MCF-7 (breast carcinoma), and  $\text{IC}_{50}$  values were obtained with their respective confidence intervals 8.6 (5.9 – 12.6), 33.08 (29.1 – 37.5), and 18.3 (16.0 – 21.0) for the **OEBC** and 7.6 (6.1 – 9.4), 5.4 (4.2 – 6.9) and 2.7 (1.9 – 3.7) for **FDBCR**, the active samples. The ethanolic extract from roots (**EEBCR**), the four fractions mentioned (**FHBCR**, **FDBCR**, **FABCR** and **FMBCR**) and essential oil (**OEBC**) were submitted to evaluation of the activity on third stage larvae of *Aedes aegypti*, however, only the essential oil (**OEBC**) showed to be active, with a  $\text{LC}_{50}$  value corresponding to  $40.84 \pm 0.87 \mu\text{g} / \text{mL}$ .

**Key-words:** *Bauhinia cheilantha*. Essential oil. Oxepins. Triterpens. Flavonoids. Bibenzys. Larvicidal activity. Cytotoxicity activity.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Ciclo biossintético dos metabólitos secundários .....	32
Figura 2 – Representação esquemática da formação dos fenilpropanóides .....	34
Figura 3 – Esqueleto de um derivado oxepínico .....	41
Figura 4 – Esquema de biossíntese dos isoprenos biológicos difosfato de isopentenila (IPP) difosfato de dimetilalila (DMAPP) .....	44
Figura 5 – Biossíntese de triterpenos a partir dos isoprenos biológicos .....	45
Figura 6 – Estrutura do racemosol .....	51
Figura 7 – Biossínteses de bauhinioxepinas e racemosol a partir de bibenzis precursores em espécies de <i>Bauhinia</i> .....	51
Figura 8 – Cromatograma de OEBC obtido por CG/EM.....	55
Figura 9 – Cromatograma de OEBC obtido por CG/DIC .....	55
Figura 10 – Estrutura do ( <i>E</i> )-cariofileno .....	56
Figura 11 – Estrutura do $\alpha$ -pineno .....	56
Figura 12 – Espectro de massas do triciclono .....	59
Figura 13 – Espectro de massas do $\alpha$ -pineno .....	59
Figura 14 – Espectro de massas do canfeno.....	60
Figura 15 – Espectro de massas do sabineno .....	60
Figura 16 – Espectro de massas do $\beta$ -pineno .....	60
Figura 17 – Espectro de massas do mirceno .....	60
Figura 18 – Espectro de massas do limoneno .....	61
Figura 19 – Espectro de massas do terpinen-4-ol .....	61
Figura 20 – Espectro de massas do $\alpha$ -terpineol.....	61
Figura 21 – Espectro de massas do $\delta$ -elemeno.....	61

Figura 22 – Espectro de massas do $\alpha$ -ylangeno .....	62
Figura 23 – Espectro de massas do $\alpha$ -copaeno.....	62
Figura 24 – Espectro de massas do $\beta$ -elemeno .....	62
Figura 25 – Espectro de massas do $\alpha$ -gurjuneno.....	62
Figura 26 – Espectro de massas do ( <i>E</i> )-cariofileno.....	63
Figura 27 – Espectro de massas do $\beta$ -gurjuneno.....	63
Figura 28 – Espectro de massas do $\alpha$ -guaieno .....	63
Figura 29 – Espectro de massas do aromadendreno .....	63
Figura 30 – Espectro de massas do $\alpha$ -humuleno .....	64
Figura 31 – Espectro de massas do allo-aromadendreno .....	64
Figura 32 – Espectro de massas do $\gamma$ -muuroleno .....	64
Figura 33 – Espectro de massas do germacreno D.....	64
Figura 34 – Espectro de massas do viridifloreno .....	65
Figura 35 – Espectro de massas do biciclogermacreno.....	65
Figura 36 – Espectro de massas do trans- $\beta$ -guaieno .....	65
Figura 37 – Espectro de massas do $\gamma$ -cadineno.....	65
Figura 38 – Espectro de massas do $\delta$ -cadineno.....	66
Figura 39 – Espectro de massas do elemol .....	66
Figura 40 – Espectro de massas do $\beta$ -colacoreno .....	66
Figura 41 – Espectro de massas do maaliol .....	66
Figura 42 – Espectro de massas do espatulenol .....	67
Figura 43 – Espectro de massas do óxido de cariofileno .....	67
Figura 44 – Espectro de massas do globulol .....	67

Figura 45 – Espectro de massas do viridiflorol.....	67
Figura 46 – Espectro de massas do epóxido de humuleno.....	68
Figura 47 – Espectro de massas do <i>trans</i> -isolongifolanona.....	68
Figura 48 – Espectro de massas do <i>epi</i> -cubenol .....	68
Figura 49 – Espectro de massas do $\gamma$ -eudesmol.....	68
Figura 50 – Espectro de massas do $\alpha$ -muurolol .....	69
Figura 51 – Espectro de massas do cubenol.....	69
Figura 52 – Espectro de massas do ( <i>E</i> )-bisabol-11-ol.....	69
Figura 53 – Espectro de massas do bulnesol.....	69
Figura 54 – Espectro de massas do 2,3-diidrofarnesol.....	70
Figura 55 – Espectro de massas do fitol.....	70
Figura 56 – Espectro na região do IV (em ATR) de <b>BCR-1</b> .....	71
Figura 57 – Espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de <b>BCR-1</b> .....	72
Figura 58 – Espectro de RMN <sup>13</sup> C – BB e DEPT 135° (125 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de <b>BCR-1</b> .....	73
Figura 59 – Esqueleto básico de um derivado oxepínico.....	74
Figura 60 – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear por coerência quântica simples <sup>13</sup> C x <sup>1</sup> H – HSQC de <b>BCR-1</b> .....	74
Figura 61 – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear por ligações múltiplas <sup>13</sup> C x <sup>1</sup> H – HMBC de <b>BCR-1</b> .....	76
Figura 62 – Espectro bidimensional de correlação homonuclear <sup>1</sup> H x <sup>1</sup> H – COSY de <b>BCR-1</b> .....	77
Figura 63 – Estrutura da pacharina .....	78
Figura 64 – Espectro na região do IV (em ATR) de <b>BCR-2</b> .....	80
Figura 65 – Espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de <b>BCR-2</b> .....	81

Figura 66 – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear por coerência quântica simples $^{13}\text{C} \times ^1\text{H}$ – HSQC de <b>BCR-2</b> .....	83
Figura 67 – Esqueleto básico de <b>BCR-2</b> .....	83
Figura 68 – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear por ligações múltiplas $^{13}\text{C} \times ^1\text{H}$ – HMBC de <b>BCR-2</b> .....	85
Figura 69 – Espectro bidimensional de correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ – COSY de <b>BCR-2</b> .....	86
Figura 70 – Estrutura da bauhiniastatina 1 .....	86
Figura 71 – Espectro na região do IV (em ATR) de <b>BCR-3</b> .....	87
Figura 72 – Espectro de RMN $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>BCR-3</b> .....	88
Figura 73 – Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>BCR-3</b> .....	89
Figura 74 – Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – DEPT $135^\circ$ de <b>BCR-3</b> .....	90
Figura 75 – Esqueleto do tipo cicloartano .....	91
Figura 76 – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear por coerência quântica simples $^{13}\text{C} \times ^1\text{H}$ - HSQC de <b>BCR-3</b> .....	92
Figura 77 – Espectro de correlação heteronuclear por ligações múltiplas $^{13}\text{C} \times ^1\text{H}$ – HMBC de <b>BCR-3</b> .....	94
Figura 78 – Espectro bidimensional de correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ – COSY de <b>BCR-3</b> .....	94
Figura 79 – Expansão do espectro bidimensional de correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ – COSY de <b>BCR-3</b> .....	95
Figura 80 – Mapa de relevo da expansão do espectro bidimensional de correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ – COSY de <b>BCR-3</b> .....	95
Figura 81 – Estrutura da cicloartenona .....	96
Figura 82 – Espectro na região do IV (em ATR) de <b>BCR-4</b> .....	98
Figura 83 – Espectro de RMN $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de <b>BCR-4</b> .....	99
Figura 84 – Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de <b>BCR-4</b> .....	100

Figura 85 – Esqueleto flavonoídico .....	100
Figura 86 – Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -APT (75 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de <b>BCR-4</b> .....	101
Figura 87 – Espectro de correlação heteronuclear por coerência quântica simples $^{13}\text{C} \times ^1\text{H}$ – HSQC de <b>BCR-4</b> .....	102
Figura 88 – Espectro de correlação heteronuclear por ligações múltiplas $^{13}\text{C} \times ^1\text{H}$ – HMBC de <b>BCR-4</b> .....	105
Figura 89 – Espectro bidimensional de correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ – COSY de <b>BCR-4</b> .....	106
Figura 90 – Estrutura de 2-(3',4'-diidroxifenil)-5-metoxicromano-3,7-diol .....	107
Figura 91 – Estrutura da 3,3',4',5,7-pentaidroxiflavanona (diidroquercetina) .....	107
Figura 92 – Espectro na região do IV (em ATR) de <b>BCR-5</b> .....	110
Figura 93 – Espectro de RMN $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de <b>BCR-5</b> .....	111
Figura 94 – Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de <b>BCR-5</b> .....	112
Figura 95 – Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -DEPT $135^\circ$ (75 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de <b>BCR-5</b> .....	113
Figura 96 – Esqueleto básico de um flavan-3-ol.....	114
Figura 97 – Espectro de correlação heteronuclear por coerência quântica simples $^{13}\text{C} \times ^1\text{H}$ – HSQC de <b>BCR-5</b> .....	114
Figura 98 – Espectro de correlação heteronuclear por ligações múltiplas $^{13}\text{C} \times ^1\text{H}$ – HMBC de <b>BCR-5</b> .....	116
Figura 99 – Espectro bidimensional de correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ – COSY de <b>BCR-5</b> .....	117
Figura 100 – Estrutura do fisetinidol.....	118
Figura 101 – Espectro na região do IV (em ATR) de <b>BCR-6</b> .....	120
Figura 102 – Espectro de RMN $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>BCR-6</b> .....	121
Figura 103 – Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>BCR-6</b> .....	122

Figura 104 – Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – APT de <b>BCR-6</b> .....	123
Figura 105 – Esqueleto triterpênico do tipo taraxerano .....	124
Figura 106 – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear por coerência quântica simples $^{13}\text{C}$ x $^1\text{H}$ - HSQC de <b>BCR-6</b> .....	125
Figura 107 – Espectro de correlação heteronuclear por ligações múltiplas $^{13}\text{C}$ x $^1\text{H}$ – HMBC de <b>BCR-3</b> .....	126
Figura 108 – Estrutura do taraxerol.....	127
Figura 109 – Espectro na região do IV (em ATR) de <b>BCR-7</b> .....	129
Figura 110 – Espectro de RMN $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>BCR-7</b> .....	130
Figura 111 – Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ - BB (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>BCR-7</b> .....	131
Figura 112 – Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ - APT (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>BCR-7</b> .....	131
Figura 113 – Esqueleto básico de um bibenzil.....	132
Figura 114 – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear por coerência quântica simples $^{13}\text{C}$ x $^1\text{H}$ - HSQC de <b>BCR-7</b> .....	133
Figura 115 – Espectro de correlação heteronuclear por ligações múltiplas $^{13}\text{C}$ x $^1\text{H}$ – HMBC de <b>BCR-7</b> .....	135
Figura 116 – Estrutura do 3,5-dimetoxi-4-metil-2'-hidroxibibenzil.....	135
Figura 117 – Espectro na região do IV (em ATR) de <b>BCR-8</b> .....	137
Figura 118 – Espectro de RMN $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>BCR-8</b> .....	138
Figura 119 – Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ - BB (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>BCR-8</b> .....	139
Figura 120 – Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – DEPT $135^\circ$ (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>BCR-8</b> .....	139
Figura 121 – Espectro de massas de alta resolução para <b>BCR-8</b> ( $\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{O}_4$ ).....	141
Figura 122 – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear por coerência quântica simples $^{13}\text{C}$ x $^1\text{H}$ - HSQC de <b>BCR-8</b> .....	141

Figura 123 – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear por ligações múltiplas $^{13}\text{C} \times$ $^1\text{H}$ – HMBC de <b>BCR-8</b> .....	143
Figura 124 – Mapa de relevo do espectro bidimensional de correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ – COSY de <b>BCR-8</b> .....	144
Figura 125 – Estrutura do 2,3,5-trimetoxi-4-metil-2'-hidroxibenzil .....	144
Figura 126 – Cromatograma referente ao isolamento de <b>BCR-5</b> .....	161
Figura 127 – Metabólitos secundários isolados de <i>Bauhinia cheilantha</i> .....	167

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Constituintes químicos presentes em óleos voláteis de espécies de <i>Bauhinia</i> .....	35
Tabela 2 – Oxepinas isoladas de espécies do gênero <i>Bauhinia</i> .....	42
Tabela 3 – Triterpenos isolados de espécies do gênero <i>Bauhinia</i> .....	46
Tabela 4 – Bibenzis isolados de espécies do gênero <i>Bauhinia</i> .....	52
Tabela 5 – Constituintes químicos do óleo essencial das folhas frescas de <i>B. cheilantha</i> .....	57
Tabela 6 – Dados de deslocamentos químicos ( $\delta$ ) de carbono-13 para <b>BCR-1</b> , obtidos por comparação entre os espectros de RMN $^{13}\text{C}$ -BB e RMN $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° .....	73
Tabela 7 – Dados espectroscópicos de <b>BCR-1</b> comparados com dados descritos na literatura (GÓIS <i>et al.</i> , 2013).....	79
Tabela 8 – Dados espectroscópicos de RMN de <b>BCR-2</b> comparados com os dados descritos na literatura (PETTIT <i>et al.</i> , 2006) para a Bauhiniastatina 1 .....	82
Tabela 9 – Dados de deslocamentos químicos ( $\delta$ ) de carbono-13 para <b>BCR-3</b> , obtidos por comparação entre os espectros de RMN $^{13}\text{C}$ -BB e RMN $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° .....	90
Tabela 10 – Dados espectroscópicos de <b>BCR-3</b> comparados com dados descritos na literatura (GANDHE <i>et. al.</i> , 2013) .....	97
Tabela 11 – Dados de deslocamentos químicos ( $\delta$ ) de carbono-13 para <b>BCR4-A</b> , obtidos por comparação entre os espectros de RMN $^{13}\text{C}$ -BB e RMN $^{13}\text{C}$ -APT.....	101
Tabela 12 – Dados de deslocamentos químicos ( $\delta$ ) de carbono-13 para <b>BCR4-B</b> , obtidos por comparação entre os espectros de RMN $^{13}\text{C}$ -BB e RMN $^{13}\text{C}$ -APT.....	102
Tabela 13 – Dados espectroscópicos de <b>BCR4-A</b> comparados com dados descritos na literatura (GÓIS, 2014).....	108
Tabela 14 – Dados espectroscópicos de <b>BCR4-B</b> comparados com dados descritos na literatura (SHEN; CHANG; HO, 1993) .....	109
Tabela 15 – Dados de deslocamentos químicos ( $\delta$ ) de carbono-13 para <b>BCR-5</b> , obtidos por comparação entre os espectros de RMN $^{13}\text{C}$ -BB e RMN $^{13}\text{C}$ -APT.....	113

Tabela 16 – Dados espectroscópicos de <b>BCR-5</b> comparados com dados descritos na literatura (IMAI <i>et al.</i> , 2008) .....	119
Tabela 17 – Dados de deslocamentos químicos ( $\delta$ ) de carbono-13 para <b>BCR-6</b> , obtidos por comparação entre os espectros de RMN $^{13}\text{C}$ -BB e RMN $^{13}\text{C}$ -APT .....	123
Tabela 18 – Dados espectroscópicos de <b>BCR-6</b> comparados com os dados descritos na literatura para 13a-metil-27-norolean-14-en-3b-ol (HERNÁNDEZ-CHÁVEZ <i>et al.</i> , 2012).....	128
Tabela 19 – Dados de deslocamentos químicos ( $\delta$ ) de carbono-13 para <b>BCR-7</b> , obtidos por comparação entre os espectros de RMN $^{13}\text{C}$ -BB e RMN $^{13}\text{C}$ -APT .....	132
Tabela 20 – Dados espectroscópicos de <b>BCR-7</b> comparados com dados descritos na literatura (DE SOUSA <i>et al.</i> , 2016b).....	136
Tabela 21 – Dados de deslocamentos químicos ( $\delta$ ) de carbono-13 para <b>BCR-8</b> , obtidos por comparação entre os espectros de RMN $^{13}\text{C}$ -BB e RMN $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° .....	140
Tabela 22 – Dados espectroscópicos de <b>BCR-8</b> .....	145
Tabela 23 – Valores de $\text{CI}_{50}$ das amostras e seus respectivos intervalos de confiança 95% .	147
Tabela 24 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de <b>EEBCR</b> (Czero).....	153
Tabela 25 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico C1 .....	153
Tabela 26 – Dados referentes ao sistema de frações resultantes da coluna C1 .....	154
Tabela 27 – Dados referentes ao sistema de frações resultantes da coluna C2.....	155
Tabela 28 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico C5 .....	155
Tabela 29 – Dados referentes ao sistema de frações resultantes da coluna C5.....	156
Tabela 30 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico C6 .....	156
Tabela 31 – Dados referentes ao sistema de frações resultantes da coluna C6.....	157
Tabela 32 – Dados referentes ao sistema de frações resultantes da coluna C7.....	157
Tabela 33 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico C8 .....	158

Tabela 34 – Dados referentes ao sistema de frações resultantes da coluna C8.....	158
Tabela 35 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico C11 .....	159
Tabela 36 – Dados referentes ao sistema de frações resultantes da coluna C11.....	160
Tabela 37 – Dados referentes ao sistema de frações resultantes da coluna C12.....	160
Tabela 38 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico C13 .....	162
Tabela 39 – Dados referentes ao sistema de frações resultantes da coluna C13.....	162
Tabela 40 – Dados referentes ao sistema de frações resultantes da coluna C15.....	163
Tabela 41 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico C14 .....	163
Tabela 42 – Dados referentes ao sistema de frações resultantes da coluna C14.....	164
Tabela 43 – Dados referentes ao sistema de frações resultantes da coluna C16.....	164
Tabela 44 - Dados referentes ao sistema de frações resultantes da coluna C17 .....	165

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BB	<i>Broad Band</i>
CCD	Cromatografia em camada delgada
CENAUREMN	Centro Nordestino de Aplicação e Uso da Ressonância Magnética Nuclear
CG-DIC	Cromatografia gasosa com detector de ionização de chama
CG-EM	Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas
CHIKV	Vírus da Chikungunya
CI <sub>50</sub>	Concentração Inibitória de 50%
CL <sub>50</sub>	Concentração Letal de 50%
COSY	<i>Correlation Spectroscopy</i>
<i>d</i>	Dupleto
<i>dd</i>	Duplo dupleto
<i>ddd</i>	Duplo dupleto de dupleto
DENV	Vírus da dengue
DEPT	<i>Distortionless Enhancement by Polarization Transfer</i>
EEBCR	Extrato etanólico das raízes de <i>Bauhinia cheilantha</i>
EM	Espectrometria de Massas
EM-ASR	Espectro de massas de alta resolução
FABCR	Fração acetato de etila do extrato etanólico das raízes de <i>Bauhinia cheilantha</i>
FAMBCR	Fração acetato de etila/metanol do extrato etanólico das raízes de <i>Bauhinia cheilantha</i>
FDBCRCR	Fração diclorometano do extrato etanólico das raízes de <i>Bauhinia cheilantha</i>
FHBCR	Fração hexânica do extrato etanólico das raízes de <i>Bauhinia cheilantha</i>
FMBCR	Fração metanólica do extrato etanólico das raízes de <i>Bauhinia cheilantha</i>
HMBC	<i>Heteronuclear Multiple Bond Connectivity</i>
HSQC	<i>Heteronuclear Single Quantum Coherence</i>
IK	Índice de Kovatz
IV	Infravermelho
<i>J</i>	Constante de acoplamento

L	Comprimento
<i>m</i>	Multiplete
<i>m/z</i>	Razão massa/carga
MAYV	Vírus Mayaro
MHz	Mega hertz
MTT	3-(4,5-dimetil-2-tiazol)-2,5-difenil-2-H-brometo de tetrazolio
OEBC	Óleo essencial de <i>Bauhinia cheilantha</i>
ppm	Partes por milhão
RMN <sup>13</sup> C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono-13
RMN <sup>1</sup> H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
<i>s</i>	Simpleto
<i>sl</i>	Simpleto largo
<i>t</i>	Triplete
UHPLC-APPI-	<i>Ultrahigh Pressure Liquid Chromatography-Atmospheric Pressure</i>
MS/MS	<i>Photoionization-Tandem Mass Spectrometry</i>
V	Volt
VEEV	Vírus da encefalite equina venezuelana
YFV	Vírus da febre amarela
ZIKV	Vírus da Zika

## LISTA DE SÍMBOLOS

$\Phi$	Diâmetro
$\alpha$	Alfa
$\beta$	Beta
$\delta$	Deslocamento Químico
$[\alpha]_D$	Rotação Óptica Específica
®	Marca Registrada

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	25
<b>1.1</b>	<b>Extratos de plantas e óleos essenciais com potencial atividade larvicida sobre <i>Aedes aegypti</i></b> .....	26
<b>1.2</b>	<b>Considerações botânicas</b> .....	28
<b>1.2.1</b>	<b><i>A família Fabaceae e a subfamília Caesalpinioideae</i></b> .....	28
<b>1.2.2</b>	<b><i>O gênero Bauhinia e a espécie Bauhinia cheilantha</i></b> .....	28
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	30
<b>2.1</b>	<b>Objetivo geral</b> .....	30
<b>2.2</b>	<b>Objetivos específicos</b> .....	30
<b>3</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	31
<b>3.1</b>	<b>Óleos essenciais</b> .....	33
<b>3.2</b>	<b>Oxepinas e derivados</b> .....	41
<b>3.3</b>	<b>Triterpenoides</b> .....	44
<b>3.4</b>	<b>Bibenzis</b> .....	50
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	55
<b>4.1</b>	<b>Identificação dos constituintes químicos do óleo essencial das folhas frescas de <i>Bauhinia cheilantha</i></b> .....	55
<b>4.2</b>	<b>Determinação estrutural dos constituintes químicos não voláteis isolados do extrato etanólico das raízes de <i>Bauhinia cheilantha</i></b> .....	71
<b>4.2.1</b>	<b><i>Determinação estrutural de BCR-1</i></b> .....	71
<b>4.2.2</b>	<b><i>Determinação estrutural de BCR-2</i></b> .....	80
<b>4.2.3</b>	<b><i>Determinação estrutural de BCR-3</i></b> .....	87
<b>4.2.4</b>	<b><i>Determinação estrutural de BCR-4</i></b> .....	98
<b>4.2.5</b>	<b><i>Determinação estrutural de BCR-5</i></b> .....	110
<b>4.2.6</b>	<b><i>Determinação estrutural de BCR-6</i></b> .....	120
<b>4.2.7</b>	<b><i>Determinação estrutural de BCR-7</i></b> .....	129
<b>4.2.8</b>	<b><i>Determinação estrutural de BCR-8</i></b> .....	137
<b>4.3</b>	<b>Ensaio Biológicos</b> .....	146
<b>4.3.1</b>	<b><i>Atividade larvicida sobre Aedes aegypti</i></b> .....	146
<b>4.3.2</b>	<b><i>Atividade citotóxica</i></b> .....	146
<b>5</b>	<b>PARTE EXPERIMENTAL</b> .....	148

<b>5.1</b>	<b>Material vegetal</b> .....	148
<b>5.2</b>	<b>Métodos analíticos</b> .....	148
<b>5.2.1</b>	<b>Métodos cromatográficos</b> .....	148
5.2.1.1	<i>Cromatografia em camada delgada e cromatografia em coluna gravitacional</i> .....	148
5.2.1.2	<i>Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)</i> .....	149
<b>5.2.2</b>	<b>Métodos físicos de análise</b> .....	149
5.2.2.1	<i>Espectroscopia de absorção no infravermelho com transformada de Fourier (IVFT)</i> ..	149
5.2.2.2	<i>Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN)</i> .....	150
5.2.2.3	<i>Espectrometria de massas (EM)</i> .....	150
5.2.2.3	<i>Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG/EM) e cromatografia gasosa acoplada ao detector de ionização de chama (CG/DIC)</i> .....	151
5.2.2.4	<i>Ponto de fusão</i> .....	151
5.2.2.5	<i>Rotação óptica específica</i> .....	152
<b>5.3</b>	<b>Estudo dos constituintes de <i>Bauhinia cheilantha</i></b> .....	152
<b>5.3.1</b>	<b>Obtenção do óleo essencial das folhas de <i>Bauhinia cheilantha</i> Bong. Steud</b> .....	152
<b>5.3.2</b>	<b>Obtenção do extrato etanólico das raízes de <i>Bauhinia cheilantha</i> (EERBC)</b> .....	152
5.3.2.1	<i>Fracionamento cromatográfico do extrato etanólico das raízes de <i>Bauhinia cheilantha</i> (EERBC)</i> .....	153
5.3.2.2	<i>Fracionamento cromatográfico da fração acetato de etila (FABCR) do EEBCR</i> .....	153
5.3.2.3	<i>Tratamento cromatográfico de FA3BCR e isolamento de BCR-1</i> .....	155
5.3.2.4	<i>Tratamento cromatográfico de FA1BCR e isolamento de BCR-2</i> .....	156
5.3.2.5	<i>Tratamento cromatográfico de FA1BCR e isolamento de BCR-3</i> .....	158
5.3.2.6	<i>Tratamento cromatográfico de FA9RBC e isolamento de BCR-4</i> .....	159
5.3.2.7	<i>Tratamento cromatográfico de FA9RBC e isolamento de BCR-5</i> .....	161
5.3.2.8	<i>Tratamento cromatográfico de FDBCR e isolamento de BCR-6</i> .....	162
5.3.2.9	<i>Tratamento cromatográfico de FHBCR e isolamento de BCR-7</i> .....	163
5.3.2.10	<i>Tratamento cromatográfico de 44 – 61 (C15) e isolamento de BCR-8</i> .....	165
<b>5.4</b>	<b>Ensaio Biológicos</b> .....	167
<b>5.4.1</b>	<b>Atividade larvicida sobre <i>Aedes aegypti</i></b> .....	168
<b>5.4.2</b>	<b>Atividade citotóxica</b> .....	168
<b>6</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	169
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	170

## 1 INTRODUÇÃO

A ampla diversidade química de plantas tem sido explorada durante séculos por seres humanos para diminuir e prevenir a dor, para confecção de abrigo, para uso em cerimônias religiosas, para a produção de prazer e para curar várias doenças humanas (DE LUCA *et al.*, 2012; GEORGIEV, 2012 apud GEORGIEV, 2014). Sem dúvida, os produtos naturais são produzidos como resultado de milhões de anos de evolução dos organismos terrestres e aquáticos adaptando-se a diferentes estresses bióticos e abióticos. Eles são, portanto, codificados para serem bioativos e por anos tem sido utilizados no tratamento de diversas doenças, sendo um reservatório de fármacos em potencial (LAMOTTKE; RIPOLL; WALCZAK, 2011 apud DAVID; WOLFENDER; DIAS, 2014).

Medicamentos à base de plantas apresentam taxas de crescimento anuais e representam uma parte significativa do mercado da indústria farmacêutica mundial (KARTAL, 2007 apud NAOGHARE; SONG, 2010). O aumento relatado pode ser devido à utilização dos fitofármacos no tratamento de doenças psicossomáticas, distúrbios metabólicos e sintomas menores. Para algumas pessoas, os fármacos sintéticos causam efeitos secundários nocivos e são caros quando comparados com os produtos tradicionais à base de plantas que são amplamente utilizados, desde os tempos antigos, como medicamentos, produtos dietéticos e suplementos nutricionais. Alguns países como China, Índia e Alemanha ainda ensinam fitoterapia nas escolas e nas práticas médicas (DAVID; WOLFENDER; DIAS, 2014).

Produtos naturais na forma de moléculas não modificadas, moléculas modificadas ou drogas botânicas apresentam um potencial de opções terapêuticas disponibilizadas pela indústria farmacêutica. Por exemplo, a FDA aprovou recentemente Fulyzaq®, medicamento obtido a partir da seiva de *Croton lechleri*, um fitomedicamento com atividade anti-diarréica em pacientes com HIV. Fulyzaq® é, de fato, o segundo fitomedicamento aprovado pelo mesmo após Veregen®, que é obtido do extrato de folhas de chá verde. Além disso, a Organização Mundial de Saúde (OMS) estima que pelo menos 80% da população residente em países em desenvolvimento ainda se baseia exclusivamente na medicina tradicional para as suas necessidades de cuidados de saúde primários (GEORGIEV, 2014).

Com os avanços no campo da Química no início do século XIX, as plantas foram examinadas atentamente para se entender seu potencial terapêutico (BEUTLER, 2009). Em meados do século XX, as formulações de fitomedicamentos parcialmente purificadas

tornaram-se típicas antes da difusão dos medicamentos de única molécula (MISHRA; TIWARI, 2011). Ocorreu ainda a descoberta da penicilina que abriu espaço para a introdução de outros fármacos de origem microbiana. Com os avanços em técnicas de mergulho nos anos 1970, o oceano, até então negligenciado como uma fonte de produtos naturais, pode ser explorado, se tornando, então, relevante na busca de moléculas bioativas. (BLUNT *et al.*, 2013).

A síntese química deslocou o foco dos esforços de descoberta de fármacos de origem natural para a bancada de laboratório no final de 1980 (CRAGG; NEWMAN, 2013). Dos 1562 novos medicamentos aprovados entre 1981-2014, 36% apresentam produtos naturais, derivados de produtos naturais ou moléculas sintéticas baseadas em produtos naturais como princípio ativos (NEWMAN; CRAGG, 2016). A pesquisa de produtos naturais biologicamente ativos fornece, então, moléculas-modelo para a produção de outras moléculas, em maior escala, destinadas à comercialização em setores como farmacêutico, cosmético e agrônômico, etc.

Como parte do processo de descoberta de fármacos se baseia no acaso, importantes descobertas foram iniciadas com o uso tradicional de plantas medicinais e subsequente isolamento dos seus componentes bioativos. Benefícios para o desenvolvimento de melhores medicamentos e novos fármacos podem surgir a partir da ligação entre ferramentas poderosas de análise etnomedicinais e etnobotânicas de remédios tradicionais (NGO; OKOGUN; FOLK, 2013), tornando esse ramo de pesquisa um aliado importante no direcionamento investigativo de potenciais fármacos oriundos da biodiversidade.

### **1.1 Extratos de plantas e óleos essenciais com potencial atividade larvicida sobre *Aedes aegypti***

Doenças transmitidas por mosquitos estão entre as principais causas de mortalidade e morbidade em seres humanos. A globalização das viagens e do comércio, a urbanização não planejada e mudanças ambientais tem tido um impacto significativo sobre a transmissão das mesmas nos últimos anos (ARAUJO *et al.*, 2015). Diante desse cenário, dez arbovírus foram recentemente revistos como importantes agentes emergentes de doenças no Brasil, dos quais o *Aedes aegypti* pode transmitir o vírus da dengue (DENV), vírus da febre amarela (YFV), vírus Chikungunya (CHIKV), vírus da encefalite equina venezuelana (VEEV) e vírus Mayaro (MAYV) e Zika vírus (ZIKV) (MARCONDES; XIMENES, 2016).

O risco crescente de aumento de casos de arboviroses, não apenas em regiões tropicais, mas em outras partes do planeta como o continente europeu, é particularmente alarmante, pois não existe tratamento específico para estas doenças. Historicamente, as principais estratégias para a eliminação de adultos, larvas, pupas e ovos de *A. aegypti* envolveu o uso de organoclorados, tais como DDT, hexacloro de benzeno, dieldrina, organofosforados, carbamatos ou piretróides. No entanto, o desenvolvimento da resistência por mosquitos exigiu aplicação mais freqüente desses inseticidas com aumento na dose empregada. Assim, o controle efetivo do mosquito tornou-se dependente do restrito número de inseticidas sintéticos disponíveis e limitado pelos efeitos deletérios de tais compostos no ecossistema e na saúde humana (DA SILVA *et al.*, 2015).

Muitos pesquisadores estão desenvolvendo novas estratégias para controlar e reduzir o uso de produtos tóxicos. Uma alternativa é o uso de um inseticida natural que seja sustentável e menos tóxico do que inseticidas sintéticos para combater o *A. aegypti*. Desta forma, produtos naturais representam importantes fontes alternativas de agentes inseticidas no controle do *Aedes aegypti*. Dentre os produtos naturais de origem vegetal avaliados sobre *Aedes aegypti* podem ser destacados extratos de folhas, sementes ou frutos de muitas espécies vegetais, tais como *Curcuma heyneana* (SOFIAN *et al.*, 2017), *Dysoxylum binectariferum* (MASUR; KUMAR; KUMAR, 2015), *Cipadessa baccífera* (RAMKUMAR; KARTHI, 2015) e *Callistemon rigidus* (PIERRE; OKECHUKWUC; NCHIWAN, 2014).

Óleos essenciais de plantas são bons candidatos a agentes larvicidas, uma vez que são, em alguns casos, altamente ativos, prontamente disponíveis em países tropicais e economicamente viáveis (SILVA *et al.*, 2008). Uma revisão abrangente descreveu a bioatividade de óleos essenciais contra o *Aedes aegypti*, mostrando que aproximadamente 27% das plantas estudadas para a sua atividade larvicida foram coletadas no Brasil (DIAS; MORAIS, 2014). O estudo da espécie *Bauhinia unguolata* revelou que o óleo essencial apresenta atividade sobre *Aedes aegypti*, onde o mesmo apresentou uma concentração alta de compostos sesquiterpênicos (DE SOUSA *et al.*, 2016a). Muitos estudos tem mostrado que uma alta concentração de sesquiterpenos na composição do óleo essencial contribui para aumentar a atividade larvicida (MAGALHÃES *et al.*, 2010), tais como as substâncias espatulenol (GÓIS *et al.*, 2011), óxido de cariofileno e (*E*)-cariofileno (DE SOUSA *et al.*, 2016a).

## 1.2 Considerações botânicas

### 1.2.1 A família Fabaceae e a subfamília Caesalpinioideae

As espécies da família Fabaceae compõem um importante grupo de plantas e representam a maior parte da diversidade florística da região Nordeste do Brasil e do Domínio da Caatinga, onde já foram registradas 603 espécies (BFG, 2015). É a terceira maior família dentre as Angiospermas, com número de espécies estimado entre 18000 e 20000 (VEITCH, 2013). É dividida em três subfamílias: Caesalpinioideae, Faboideae e Mimosoideae e apresenta distribuição cosmopolita, podendo ser encontrada em praticamente todos os ambientes terrestres, com exceção das regiões polares (LPWG, 2013).

Caesalpinioideae é uma subfamília que compreende quatro tribos: Cercideae, Detarieae, Cassieae e Caesalpineae. Consiste de 179 gêneros e 2.250 espécies amplamente distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais do globo. A tribo Cercideae abriga um dos maiores gêneros de sua subfamília, *Bauhinia* L. (TOZZI *et al.*, 2016).

### 1.2.2 O gênero *Bauhinia* e a espécie *Bauhinia cheilantha*

O gênero *Bauhinia* consiste de aproximadamente 500 espécies, nas quais são comumente conhecidas por “pata de vaca” devido ao formato bilobado de suas folhas. São amplamente distribuídas em regiões tropicais, incluindo África, Ásia e América do Sul (CECHINEL-FILHO, 2009; SOARES; SCARMINIO, 2008). Botanicamente, é classificado como pertencente aos clados: Angiospermas, Eudicotiledôneas, Eudicotiledôneas core, Rosídeas, Fabídeas; ordem Fabales e família Fabaceae (SOUZA; LORENZI, 2012).

Espécies do gênero *Bauhinia* são amplamente utilizadas na indústria de celulose, caixotaria, como planta apícola, na produção de mel, na alimentação animal, na ornamentação de ruas e praças e na preparação de medicamentos (CARVALHO, 2003). Propriedades antifúngicas, antibacterianas e antidiabéticas são também atribuídas a estas espécies (CECHINEL-FILHO, 2009).

*Bauhinia cheilantha* (ao lado) é uma árvore de caule duro, com cascas fibrosas e com ausência de espinhos (LORENZI; MATOS, 2008). Apresenta porte pequeno, chegando a atingir até 3,5 m de altura, folhas com lóbulos arredondados, cartáceas a subcoriáceas, apresentando pecíolo com 2-3 cm de comprimento, suas inflorescências chegam a atingir cerca de 5,0 cm de comprimento, apresentando pétalas brancas e os frutos são do tipo legume deiscente (QUEIROZ, 2009).



Essa espécie tem importância econômica diversificada, sendo explorada pelo valor madeireiro e ornamental; as folhas e ramos novos são forrageiros, excelentes para a alimentação de rebanhos (CAMPANHA; ARAÚJO, 2010). Também é usada na produção de remédios caseiros com ação antiinflamatória, sedativa, antiparasitária, para distúrbios digestivos, asma e tosse e para uso alimentar como bebida, a partir de suas sementes torradas (ALBUQUERQUE *et al*, 2007).

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral

Contribuir para o conhecimento químico e biológico de *Bauhinia cheilantha* Bong. Steud.

### 2.2 Objetivos específicos

- Extrair o óleo essencial das folhas frescas;
- Identificar e quantificar os constituintes químicos do óleo essencial;
- Preparar o extrato etanólico das raízes (**EEBCR**);
- Obter as frações hexânica, diclorometano, acetato de etila e metanólica do extrato etanólico das raízes;
- Isolar e purificar, através de técnicas cromatográficas os constituintes químicos de EEBCR;
- Caracterizar estruturalmente os metabólitos secundários isolados através de técnicas espectroscópicas e espectrométricas tais como IV, RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  (uni e bidimensional);
- Avaliar a atividade larvicida sobre *Aedes aegypti* do óleo essencial, dos extratos e das frações obtidas;
- Avaliar a citotoxicidade *in vitro* dos extratos, suas frações e o óleo essencial sobre as linhagens tumorais humanas HL-60 (leucemia promielocítica), NCIH-292 (carcinoma de pulmão), HEP-2 (carcinoma de cérvix uterino) e MCF-7 (carcinoma de mama).

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

Os produtos naturais, ainda que conhecidos como metabólitos secundários, tem funções múltiplas no ciclo de vida das plantas. Estas funções estão associadas às interações da planta com o meio ambiente, incluindo as interações planta-micro-organismo planta-inseto e planta-planta (DIXON; STRACK, 2003; SUMNER; MENDES; DIXON, 2003 apud FURLAN *et al.*, 2014).

No passado, alguns autores lançaram a hipótese de que os metabólitos secundários nada mais eram do que subprodutos do metabolismo primário. Entretanto, o fato do vegetal utilizar rotas biossintéticas elaboradas, com elevados gastos de energia, conduz à hipótese mais aceita hoje de que os vegetais consomem essa energia para sintetizar compostos necessários à sua sobrevivência e preservação (MASON; BERNARDO; SINGER, 2014).

A quimiotaxonomia fundamenta-se na classificação de vegetais a partir de suas propriedades similares, especificamente na presença de substâncias do metabolismo secundário, como compilado nos trabalhos de Hegnauer (*chemotaxonomie der Pflanzen*, 1962-1994), R. Dahlgren (1975 e 1980) e G. Dahlgren em 1989, cujos trabalhos sugerem modificações diretas nos sistemas de classificação vegetal (VON POSER, 2017).

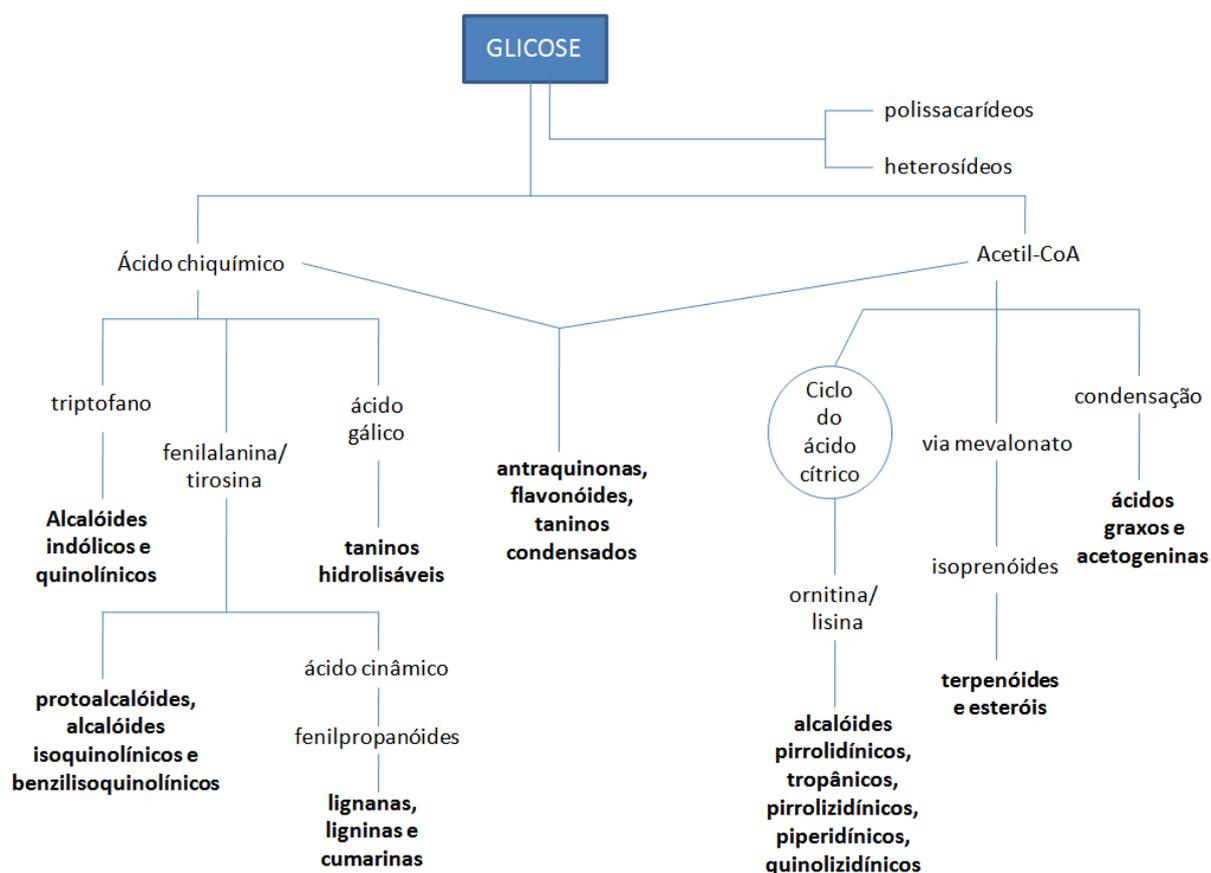
Embora estudos filogenéticos que utilizam seqüenciamento de DNA estejam se tornando mais numerosos, os produtos do metabolismo secundário continuam sendo utilizados em estudos visando ao estabelecimento de relações filogenéticas. A presença de certos metabólitos secundários indica claramente que as espécies que os sintetizam possuem uma rota biossintética específica e um gene ou conjunto de genes específicos controlando essa rota, o que é de grande importância nos estudos sobre evolução (VON POSER, 2017).

Os metabólitos secundários, também chamados de metabólitos especiais, têm muitas vezes, uma grande variabilidade química e estrutural. Uma hipótese muito difundida para explicar a diversidade do metabolismo especial tem como base o modelo da coevolução química, que sugere que cada metabólito secundário teve ou tem uma atividade biológica ao longo da evolução. Paralelamente, existe a hipótese da seleção por triagem, que se fundamenta no fato de que organismos com potência metabólica alta mantêm a diversidade de formação de metabólitos especiais, o que gera uma vantagem evolutiva (FIRN, 2009 apud KREIS; MUNKERT; DE PÁDUA, 2017). A hipótese da seleção por triagem permite que

muitos metabólitos secundários não tenham efeito benéfico algum para o organismo produtor (KREIS; MUNKERT; DE PÁDUA, 2017).

A origem de todos os metabólitos secundários pode ser resumida a partir do metabolismo da glicose, via dois intermediários principais, o ácido chiquímico e o acetato (Fig. 1). O ácido chiquímico origina os aminoácidos aromáticos, precursores da maioria dos metabólitos secundários aromáticos. Alguns metabólitos secundários não derivam apenas de um desses intermediários, mas são resultantes de uma combinação de uma unidade de ácido chiquímico e uma ou mais unidades de acetato ou derivados deste, como é o caso das antraquinonas, dos flavonóides e dos taninos condensados (DOS SANTOS, 1999).

Figura 1 – Ciclo biossintético dos metabólitos secundários



Fonte: Adaptado de DOS SANTOS, 1999

Por outro lado, os derivados do acetato podem ser classificados, segundo a via metabólica, em derivados do acetato, via do ácido cítrico, derivados do acetato, via mevalonato e produtos da condensação do acetato. Além disso, os metabólitos secundários

podem ser encontrados na forma livre, sendo denominados genericamente de agliconas, ou estar ligados a uma ou mais unidades de açúcar, formando o que se denomina de heterosídeos (DOS SANTOS, 1999).

### 3.1 Óleos essenciais

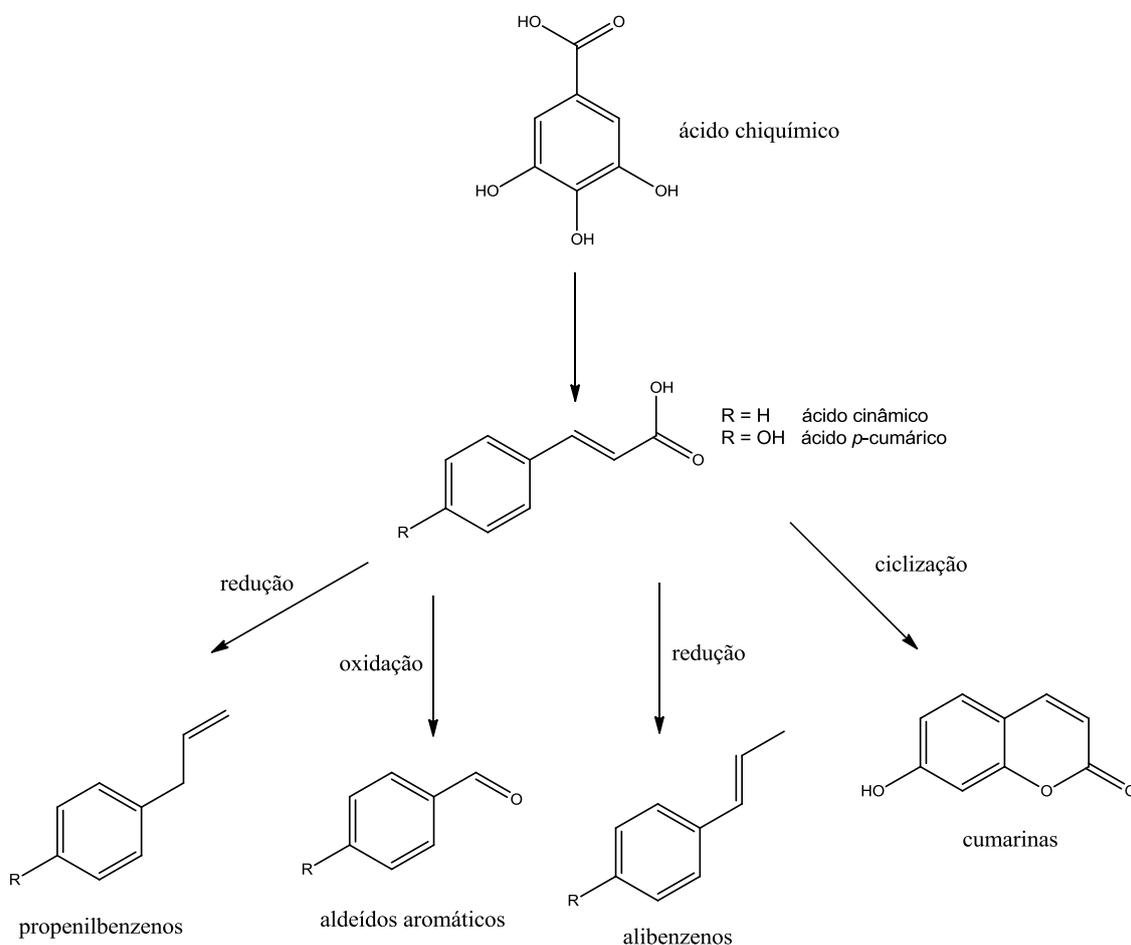
Óleos voláteis, também chamados de óleos etéreos ou essências, são misturas complexas de substâncias voláteis lipofílicas, em geral odoríferas e líquidas, obtidas de matérias primas vegetais (HEINZMANN; SPITZER; SIMÕES, 2017). Esse material pode ser obtido através da hidrodestilação ou arraste por vapor d'água a partir de folhas, flores, cascas, troncos ou raízes, bem como pela prensagem dos pericarpos dos frutos cítricos. Em água, sua solubilidade é limitada, formando misturas conhecidas como hidrolatos.

O número de constituintes de um óleo volátil pode variar de 20 a 200, sendo conhecidos de acordo com a concentração na mistura por constituintes majoritários (de 20 a 90%), constituintes secundários (de 1 a 20%) e componentes-traço (abaixo de 1%). São constituídos de hidrocarbonetos terpênicos, alcoóis simples e terpênicos, aldeídos, cetonas, fenóis, ésteres, éteres, óxidos, peróxidos, furanos, ácidos orgânicos, lactonas, cumarinas e até compostos com enxofre (STICHER, 2015 apud HEINZMANN; SPITZER; SIMÕES, 2017).

Quimicamente, a grande maioria dos componentes dos óleos voláteis apresenta estrutura terpenoide ou fenilpropanoide. Neste último caso, são diferentes aminoácidos aromáticos, entre eles fenilalanina, tirosina e diidroxifenilalanina, que inicialmente originam o ácido chiquímico. A partir deste, originam-se os ácidos cinâmico e *p*-cumárico que, por sua vez, por meio de enzimas específicas podem sofrer redução, oxidação ou ciclização, como esquematizado na Figura 2 (p. 32).

Diferentes funções biológicas/ecológicas têm sido atribuídas aos óleos voláteis. Entre as mais importantes podem ser citadas proteção contra herbívoros, defesa contra patógenos, atração de polinizadores, proteção contra perda de água/aumento de temperatura, proteção contra estresse oxidativo, sinalização entre órgãos vegetais distintos, comunicação entre indivíduos da mesma espécie e efeito alelopático (GLINWOOD; NINKOVIC; PETTERSON, 2011; UNSICKER; KURNERT; GERSHENZON, 2009 apud HEINZMANN; SPITZER; SIMÕES, 2017).

Figura 2 – Representação esquemática da formação dos fenilpropanóides



Fonte: Adaptado de DOS SANTOS, 1999

Os óleos essenciais são bastante estudados quanto às suas propriedades biológicas/farmacológicas, incluindo a toxicidade. No gênero *Bauhinia*, o óleo volátil de *B. acuruana* apresentou atividade larvicida sobre *Aedes aegypti* (GÓIS *et al.*, 2011), assim como os óleos voláteis das espécies *B. pulchella* e *B. unguata* (DE SOUSA *et al.*, 2016a), os quais também se mostraram citotóxicos para linhagens de células tumorais humanas.

A seguir, tem-se a Tabela 1 (p. 33) que descreve os componentes então relatados em óleos essenciais extraídos de espécies de *Bauhinia* a partir dos trabalhos de DUARTE-ALMEIDA; NEGRI; SALATINO (2004) para *B. aculeata*, *B. brevipes*, *B. forficata*, *B. longifolia*, *B. pentandra*, *B. rufa*, de GÓIS *et al.*, (2011) para *B. acuruana*, de VASUDEVAN; MATHEW; BABY (2013) para *B. acuminata*, de DE SOUSA *et al.*, (2016a) para *B. pulchella* e *B. unguata* e SAHHO *et al.*, (2013) para *B. variegata* (flores).

Tabela 1 – Constituintes químicos presentes em óleos voláteis de espécies de *Bauhinia*

COMPONENTE	%										
	<i>B. aculeata</i>	<i>B. brevipes</i>	<i>B. forficata</i>	<i>B. longifolia</i>	<i>B. pentandra</i>	<i>B. rufa</i>	<i>B. acuruana</i>	<i>B. acuminata</i>	<i>B. pulchella</i>	<i>B. unguata</i>	<i>B. variegata</i>
<b>Monoterpenos</b>											
<b><math>\alpha</math>-pineno</b>	-	-	1,5	-	-	1,1	-	-	23,9	1,4	5,1
<b>sabineno</b>	-	-	traços	-	-	-	-	-	1,2	-	0,1
<b><math>\beta</math>-pineno</b>	-	-	traços	-	-	traços	-	-	12,2	-	2,2
<b><math>\beta</math>-ocimeno</b>	-	-	traços	-	-	-	-	-	-	-	-
<b><math>\alpha</math>-fencheno</b>	-	-	-	-	-	traços	-	-	-	-	-
<b>triciclono</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	7,3	-	-
<b>canfeno</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	2,2	-	0,3
<b>p-cimeno</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	0,9	-	-
<b>limoneno</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0	-	0,3
<b>1,8-cineol</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	0,5	-	-
<b>óxido de <math>\alpha</math>-pineno</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	1,9	-	-
<b>linalol</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	1,9	-	0,1
<b><i>trans</i>-pinocarveol</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	0,9	-	-
<b>pinocarvona</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	0,5	-	-
<b>terpinen-4-ol</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	0,8	-	-
<b><math>\alpha</math>-terpineol</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	0,6	-	0,1
<b><math>\alpha</math>-tujeno</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,3
<b>mirceno</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,4
<b><i>E</i>-<math>\beta</math>-ocimeno</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2
<b>hidrato de (<i>E</i>)-sabineno</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1
<b>Sesquiterpenos</b>											
<b><i>cis</i>-<math>\alpha</math>-bergamoteno</b>	traços	-	-	-	traços	-	0,3	-	-	-	-

Continua

Tabela 1 – Constituintes químicos presentes em óleos voláteis de espécies de *Bauhinia* (continuação)

COMPONENTE	%										
	<i>B. aculeata</i>	<i>B. brevipes</i>	<i>B. forficata</i>	<i>B. longifolia</i>	<i>B. pentandra</i>	<i>B. rufa</i>	<i>B. acuruana</i>	<i>B. acuminata</i>	<i>B. pulchella</i>	<i>B. unguata</i>	<i>B. variegata</i>
<i>trans- α-bergamoteno</i>	-	-	-	-	-	-	0,8	-	0,2	-	-
<i>α-copaeno</i>	-	3,4	5,6	-	-	-	0,4	-	1,3	7,2	0,5
<i>β-copaeno</i>	-	-	-	-	-	-	0,2	-	1,3	4,6	-
<i>β-bourboneno</i>	12,4	traços	-	-	-	-	-	-	0,5	1,4	0,1
<i>β-elemeno</i>	56,9	1,2	9,7	-	traços	-	2,3	-	1,1	4,9	2,6
<i>β-cariofileno</i>	traços	-	18,5	17,4	46,6	-	1,5	13,87	-	-	0,7
<i>α-cubebeno</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,6	-
<i>β-cubebeno</i>	-	1,47	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>isocariofileno</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>α-gurjuneno</i>	-	-	-	-	-	traços	-	-	-	-	-
<i>β-gurjuneno</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,3
<i>γ-gurjuneno</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,8
<i>allo-aromadendreno</i>	traços	2,7	-	-	-	1,2	0,7	-	0,4	3,2	1,0
<i>epóxido de isoaromadendreno</i>	-	-	-	-	-	-	-	0,11	-	-	-
<i>sinulareneno</i>	-	-	-	-	-	traços	-	-	-	-	-
<i>α-amorfeno</i>	-	4,8	-	-	-	6,6	-	-	-	-	-
<i>germacren-4-D-ol</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,5
<i>germacreno D</i>	-	7,7	-	9,0	-	7,2	0,7	-	-	-	1,1
<i>germacreno B</i>	-	-	-	-	-	7,1	0,7	-	-	-	-

Continua

Tabela 1 – Constituintes químicos presentes em óleos vegetais de espécies do gênero *Bauhinia* (continuação)

COMPONENTE	%										
	<i>B. aculeata</i>	<i>B. brevipes</i>	<i>B. forficata</i>	<i>B. longifolia</i>	<i>B. pentandra</i>	<i>B. rufa</i>	<i>B. acuruana</i>	<i>B. acuminata</i>	<i>B. pulchella</i>	<i>B. unguata</i>	<i>B. variegata</i>
<b>germacreno A</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2
<b>selina-3,7(11)-dieno</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,3
<b><math>\alpha</math>-selineno</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,9
<b>7-<i>epi</i>-<math>\alpha</math>-selineno</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,3
<b><math>\beta</math>-selineno</b>	-	1,5	-	-	-	-	0,4	-	1,3	1,4	0,3
<b><math>\gamma</math>-elemeno</b>	-	11,8	traços	-	17,5	-	-	-	-	-	19,0
<b><math>\delta</math>-elemeno</b>	-	-	-	-	-	-	0,3	-	-	-	-
<b>biciclogermacreno</b>	-	-	14,0	12,3	-	7,1	0,7	-	-	-	-
<b><math>\alpha</math>-cadineno</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,6
<b><math>\delta</math>-cadineno</b>	-	7,5	-	-	-	4,5	-	-	-	-	3,6
<b>viridiflorol</b>	-	2,8	-	-	-	26,0	1,6	-	-	-	-
<b>espatulenol</b>	-	15,9	-	27,0	-	14,1	23,4	-	2,9	1,8	-
<b>aromadendreno</b>	traços	7,0	-	5,6	-	traços	-	-	-	-	0,5
<b><math>\alpha</math>-cadinol</b>	-	7,4	-	-	-	9,1	-	0,40	0,7	1,0	4,6
<b><i>epi</i>-<math>\alpha</math>-cadinol</b>	-	-	-	-	-	-	20,7	-	-	-	0,6
<b><i>cis</i>-<math>\alpha</math>-bisaboleno</b>	-	-	-	-	-	9,1	-	-	-	-	-
<b>isoespatulenol</b>	-	-	-	10,8	-	-	-	-	-	-	-
<b><math>\gamma</math>-cadineno</b>	-	5,8	-	6,9	-	2,6	0,8	-	0,9	1,6	0,3
<b>globulol</b>	-	-	-	-	-	2,2	2,4	-	-	-	-
<b><math>\alpha</math>-elemeno</b>	-	-	-	-	22,6	-	-	-	-	-	-
<b>lepidozenol</b>	22,3	-	-	-	-	3,1	-	-	-	-	-
<b>óxido de cariofileno</b>	traços	-	-	-	13,3	-	16,4	3,15	22,4	23,0	-

Continua

Tabela 1 – Constituintes químicos presentes em óleos vegetais de espécies do gênero *Bauhinia* (continuação)

COMPONENTE	%										
	<i>B. aculeata</i>	<i>B. brevipes</i>	<i>B. forficata</i>	<i>B. longifolia</i>	<i>B. pentandra</i>	<i>B. rufa</i>	<i>B. acuruana</i>	<i>B. acuminata</i>	<i>B. pulchella</i>	<i>B. unguata</i>	<i>B. variegata</i>
<b>(E)-cariofileno</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	2,2	14,5	-
<b>14-hidroxi-9-epi(E)-cariofileno</b>	-	-	-	-	-	-	0,6	-	-	-	-
<b>ledeno</b>	traços	traços	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b><math>\alpha</math>-humuleno</b>	-	traços	11,8	-	traços	-	0,6	1,76	-	6,6	0,5
<b>epóxido de humuleno II</b>	-	-	-	-	-	-	2,2	0,35	1,7	4,6	-
<b>14-hidroxi-<math>\alpha</math>-humuleno</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,9
<b>copaeno isomérico</b>	-	-	28,8	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>valenceno</b>	traços	3,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>eremofileno</b>	8,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>farnesol</b>	-	-	-	-	-	-	-	0,24	-	-	-
<b><math>\alpha</math>-farneseno</b>	-	-	-	-	-	-	-	0,10	-	-	-
<b>(E)-<math>\beta</math>-farneseno</b>	-	-	-	-	-	-	0,4	-	-	-	-
<b>2,3-diidro-farnesol</b>	-	-	-	-	-	-	1,4	-	-	-	-
<b><math>\beta</math>-sesquifelandreno</b>	-	-	-	-	-	-	1,8	-	-	-	-
<b>elemol</b>	-	-	-	-	-	-	0,1	-	-	-	-
<b>nerolidol</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>(E)-nerolidol</b>	-	-	-	-	-	-	2,4	-	-	-	-
<b><math>\gamma</math>-eudesmol</b>	-	-	-	-	-	-	1,0	-	-	-	0,6
<b><math>\alpha</math>-murulol</b>	-	-	-	-	-	-	0,4	0,32	-	-	-
<b><math>\alpha</math>-muroleno</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	0,7	2,8	0,5

Continua

Tabela 1 – Constituintes químicos presentes em óleos vegetais de espécies do gênero *Bauhinia* (continuação)

COMPONENTE	%										
	<i>B. aculeata</i>	<i>B. brevipes</i>	<i>B. forficata</i>	<i>B. longifolia</i>	<i>B. pentandra</i>	<i>B. rufa</i>	<i>B. acuruana</i>	<i>B. acuminata</i>	<i>B. pulchella</i>	<i>B. unguata</i>	<i>B. variegata</i>
<b><math>\gamma</math>-muroleno</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1
<b>valerianol</b>	-	-	-	-	-	-	5,7	-	-	-	-
<b><i>trans</i>-calamenen-10-ol</b>	-	-	-	-	-	-	0,5	-	-	-	-
<b>isometil-<math>\alpha</math>-ionona</b>	-	-	-	-	-	-	-	0,17	-	-	-
<b><math>\beta</math>-ionona</b>	-	-	-	-	-	-	-	0,10	-	-	-
<b>1,6,10-dodecatrien-3-ol</b>	-	-	-	-	-	-	-	0,26	-	-	-
<b>3-hexen-1-ol</b>	-	-	-	-	-	-	-	0,24	-	-	-
<b>Cariofila-4(12),8(13)-dien-5<math>\alpha</math>-ol</b>	-	-	-	-	-	-	-	0,22	-	-	-
<b>Cariofila-4(12),8(13)-dien-5<math>\beta</math>-ol</b>	-	-	-	-	-	-	-	1,00	-	-	-
<b>1-octadeceno</b>	-	-	-	-	-	-	-	0,26	-	-	-
<b>esclareolídeo</b>	-	-	-	-	-	-	-	0,24	-	-	-
<b>ciclosativeno</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,2	-
<b>cipereno</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	2,2	-	-
<b><math>\alpha</math>-guaieno</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,6	-
<b>6,9-guaiadieno</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,8	-
<b><math>\alpha</math>-calacoreno</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,8	-
<b>junenol</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,8	-
<b>cubenol</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,1	1,6

Continua

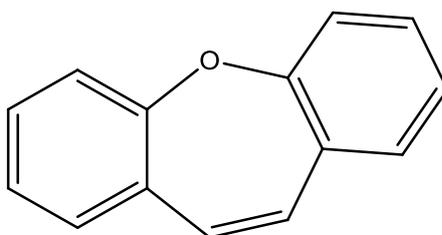
Tabela 1 – Constituintes químicos presentes em óleos vegetais de espécies do gênero *Bauhinia* (continuação)

COMPONENTE	%										
	<i>B. aculeata</i>	<i>B. brevipes</i>	<i>B. forficata</i>	<i>B. longifolia</i>	<i>B. pentandra</i>	<i>B. rufa</i>	<i>B. acuruana</i>	<i>B. acuminata</i>	<i>B. pulchella</i>	<i>B. unguata</i>	<i>B. variegata</i>
<i>epi-cubenol</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2
<b>1,10-di-<i>epi-cubenol</i></b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,4
<b>cubebol</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,8
<b>isocomeno</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1
<b>ocidentalol</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,3
<b><i>cis-murrol-5-en-4-<math>\alpha</math>-ol</i></b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	24,4
<b>5-cedranona</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,4
<b>juniper camphor</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,7
<i>Diterpeno</i>											
<b>fitol</b>	-	-	-	-	-	-	-	65,90	-	-	-
<i>Sesterpeno</i>											
<b>octacosano</b>	-	-	-	-	-	-	-	0,21	-	-	-

### 3.2 Oxepinas e derivados

Derivados oxepínicos constituem uma classe de metabólitos secundários extremamente rara na natureza (PETTIT *et al.*, 2006), cujo esqueleto básico está representado na Figura 3. Estes compostos foram isolados das espécies *B. racemosa* (ANJANEYULU *et al.*, 1984), *B. saccocalyx* (KITTAKOOP *et al.*, 2004 apud PETTIT *et al.*, 2006). De *B. purpurea*, seis derivados oxepínicos foram isolados, caracterizados e avaliados quanto à inibição do crescimento de células cancerígenas, exibindo resultados positivos (PETTIT *et al.*, 2006). Uma oxepina foi avaliada quanto à capacidade de inibição de prostaglandinas, onde foi verificado um resultado satisfatório (MUHAMMAD; SIRAT, 2013).

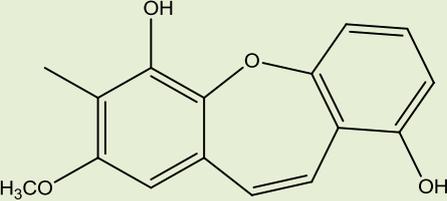
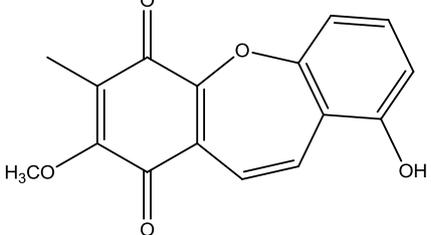
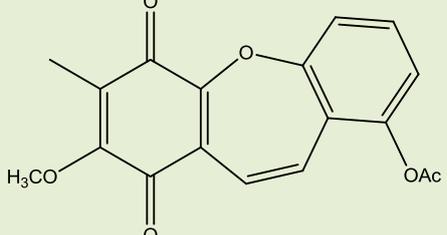
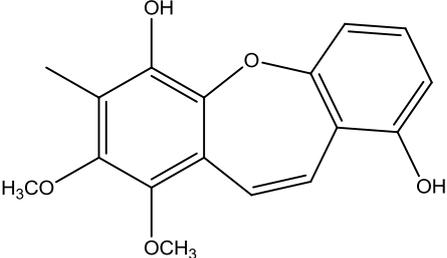
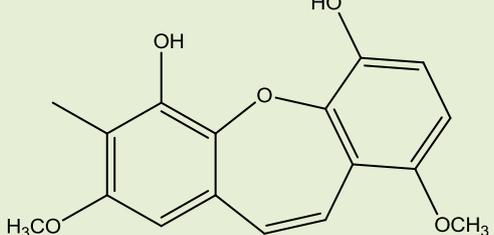
Figura 3 – Esqueleto de um derivado oxepínico



Por outro lado, duas oxepinas foram isoladas de *B. aculeata* e avaliadas quanto à sua atividade antioxidante frente ao radical DPPH, apresentando, portanto, resultado positivo (TANJUNG; SAPUTRI; TJAJANDARIE, 2014). Em *B. acuruana* (GÓIS *et al.*, 2013) e *B. ungulata* (DE SOUSA *et al.*, 2016b), a presença da substância pacharina se configura como um marcador quimiotaxonômico importante do gênero *Bauhinia*.

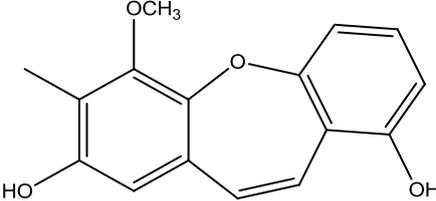
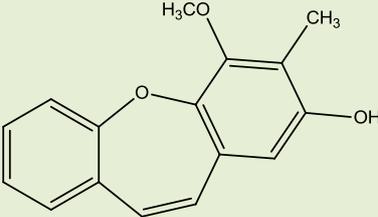
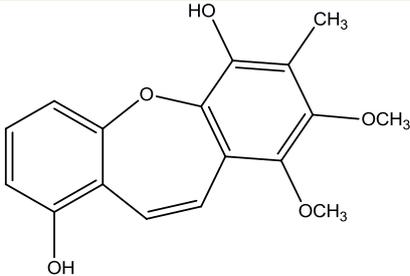
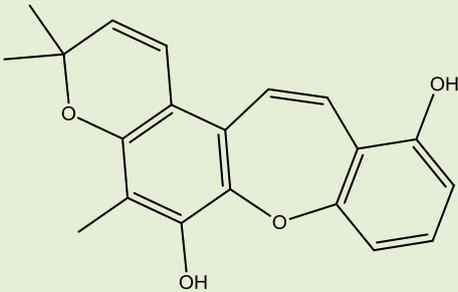
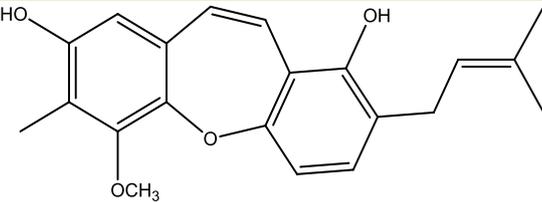
A Tabela 2 (p. 40) mostra as estruturas de oxepinas e derivados oxepínicos identificados no gênero *Bauhinia*, acompanhadas do nome usual ou sistemático e da referência bibliográfica, cuja pesquisa se baseou nos dados da plataforma Scifinder<sup>®</sup>, utilizando como palavras-chave “oxepin” e “Bauhinia”, sem a aplicação de um filtro de período. Um pouco sobre biossíntese de oxepinas e derivados será discutido no item 3.5, “Bibenzis” (p. 48).

Tabela 2 – Oxepinas isoladas de espécies do gênero *Bauhinia*

NOME	ESTRUTURA	REFERÊNCIA
<b>pacharina</b>		PETTIT <i>et al.</i> , 2006 TANJUNG; SAPUTRI; TAJANDARIE, 2014 DE SOUSA <i>et al.</i> , 2016b GÓIS <i>et al.</i> , 2013 ANJANEYULU <i>et al.</i> , 1984
<b>bauhiastatina 1</b>		PETTIT <i>et al.</i> , 2006 GÓIS, 2014
<b>acetato de bauhiniastatina 1</b>		PETTIT <i>et al.</i> , 2006
<b>bauhiastatina 2</b>		PETTIT <i>et al.</i> , 2006
<b>bauhiastatina 3</b>		PETTIT <i>et al.</i> , 2006

Continua

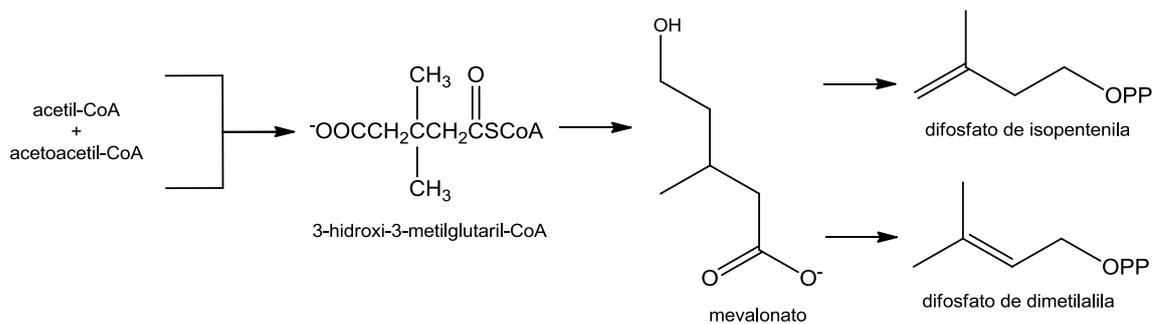
Tabela 3 – Oxepinas isoladas de espécies do gênero *Bauhinia* (continuação)

NOME	ESTRUTURA	REFERÊNCIA
<b>bauhiastatina 4</b>		PETTIT <i>et al.</i> , 2006 TANJUNG; SAPUTRI; TAJANDARIE, 2014
<b>6-metóxi-7-metil-8-hidroxidibenz[b,f]oxepina</b>		MUHAMMAD; SIRAT, 2013
<b>5,6-dihidro-1,7-dihidroxi-3,4-dimetoxi-2-metildibenz[b,f]oxepina</b>		REDDY <i>et al.</i> , 2003
<b>bauhinioxepina A</b>		KITTAKOOP <i>et al.</i> , 2004
<b>bauhinioxepina B</b>		KITTAKOOP <i>et al.</i> , 2004

### 3.3 Triterpenoides

Os triterpenoides fazem parte da grande classe de substâncias conhecidas como terpenos. A característica estrutural que distingue os terpenos dos outros produtos naturais é a unidade de isopreno. De acordo com Otto Wallach, um triterpeno possui seis unidades de isopreno, com ligações do tipo cabeça-cauda. Com o passar do tempo, a regra do isopreno original de Wallach foi refinada, principalmente por Leopold Ruzicka do Instituto Federal de Tecnologia Suíço (Zurique), que criou uma regra do isopreno biológico, na qual ele conectou as diversas classes de terpenos de acordo com seus precursores biológicos assim como esquematizado na Figura 4 (CAREY; GIULIANO, 2011).

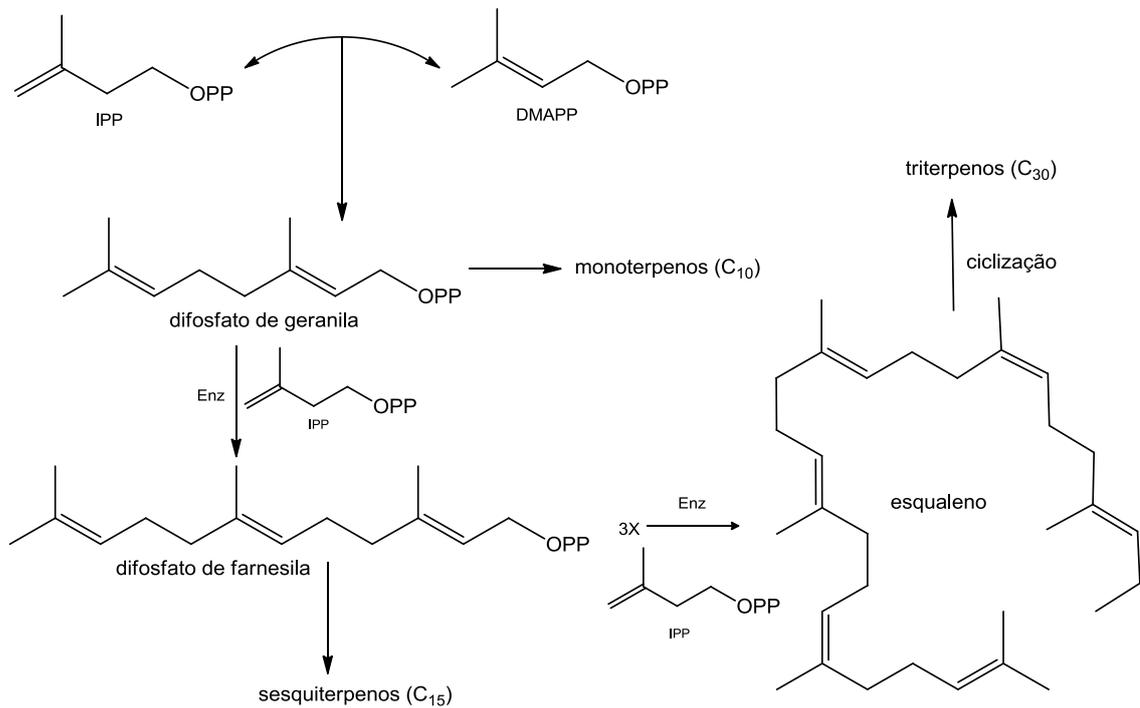
Figura 4 – Esquema de biossíntese dos isoprenos biológicos difosfato de isopentenila (IPP) difosfato de dimetilalila (DMAPP)



Fonte: Adaptado de CAREY, GIULIANO, 2011

Os triterpenos ( $\text{C}_{30}$ ) originam-se da ciclização do esqualeno (Fig. 5, p. 43), enquanto os esteróides ( $\text{C}_{27}$ ) podem ser considerados metabólitos dos triterpenos, uma vez que se originam do cicloartenol, com a perda de três grupos metila (DOS SANTOS, 1999).

Figura 5 – Biossíntese de triterpenos a partir dos isoprenos biológicos



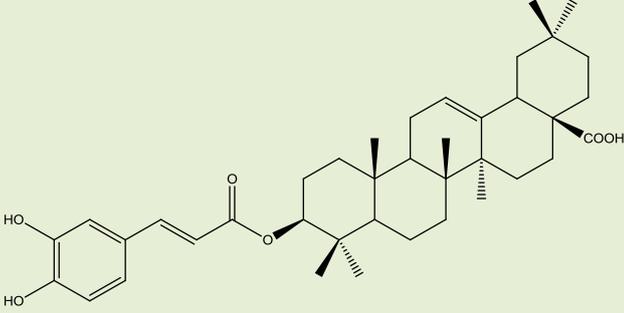
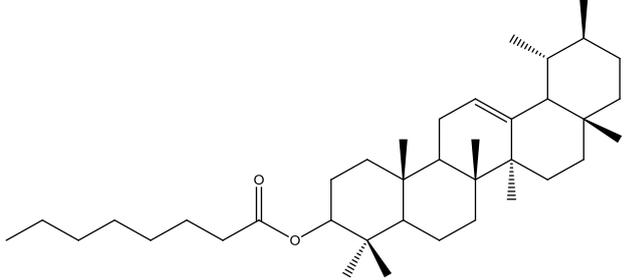
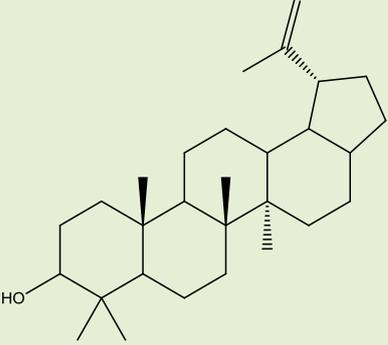
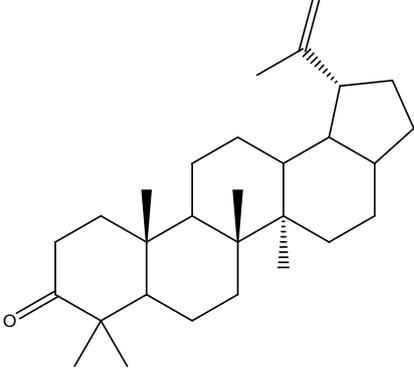
Fonte: Adaptado de CAREY; GIULIANO, 2011

A presença do triterpeno lupeol foi freqüente em muitos dos trabalhos consultados para esse subcapítulo (DE SOUSA *et al.*, 2016b; SAHA *et al.*, 2011; KALIYAPERUMAL; MISHRA; GAUTAM, 2016). Entre os trabalhos verificados, um observou-se o isolamento do cafeato de triterpeno a partir de *Bauhinia variegata* e que este éster triterpênico apresentou valores satisfatórios quanto à ação antiinflamatória, inibindo algumas funções de macrófagos envolvidas nesse processo (RAO; FANG; TZENG, 2008).

Uma saponina triterpênica isolada das folhas de *B. variegata* exibiu significativa atividade antiinflamatória e antinoceptiva (MOHAMED; MAMMOUD; HAYEN, 2009). A partir de análises por UHPLC-APPI-MS/MS foi observada a presença de triterpenos em extratos em acetato de etila e em clorofórmio das espécies *B. variegata* e *B. variegata* var. *candida* Voigt. (SCHIMIDT *et al.*, 2017).

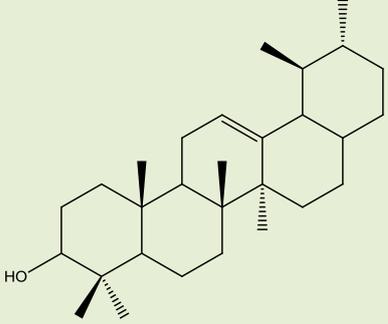
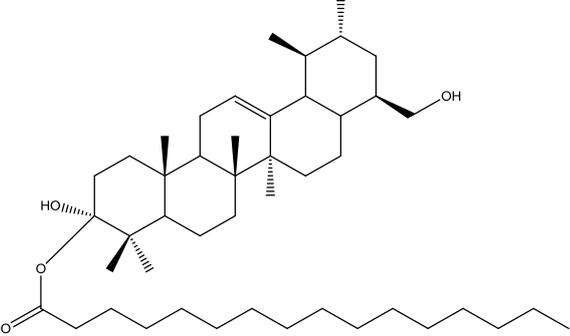
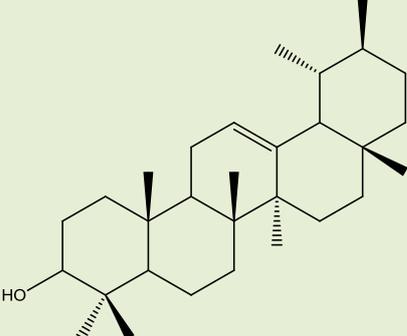
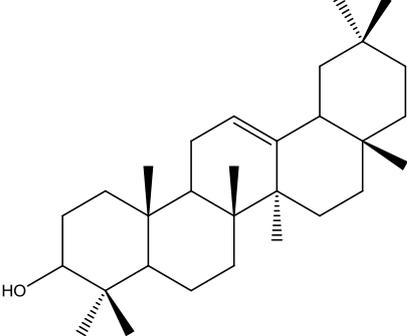
A Tabela 3 (p. 44) mostra as estruturas de triterpenos identificados no gênero *Bauhinia*, acompanhadas do nome usual ou sistemático e da referência bibliográfica, cuja pesquisa se baseou nos dados da plataforma Scifinder<sup>®</sup>, utilizando como palavras-chave “triterpenoid” e “Bauhinia”, sem a aplicação de um filtro de período.

Tabela 4 – Triterpenos isolados de espécies do gênero *Bauhinia*

NOME	ESTRUTURA	REFERÊNCIA
<p><b>ácido 3<math>\beta</math>-<i>trans</i>- (3,4- dihidroxicinnamoi loxi)-olean-12-en- 28-oico</b></p>		<p>RAO; FANG; TZENG, 2008</p>
<p><b>caprilato de <math>\alpha</math>- amirina</b></p>		<p>SAHA <i>et al.</i>, 2011</p>
<p><b>lupeol</b></p>		<p>SAHA <i>et al.</i>, 2011 SCHIMIDT <i>et al.</i>, 2017 JAIN <i>et al.</i>, 2013 KUO; YEH, 1997 KALIYAPERUM AL; MISHRA; GAUTAM, 2016</p>
<p><b>lupenona</b></p>		<p>KUO; YEH, 1997</p>

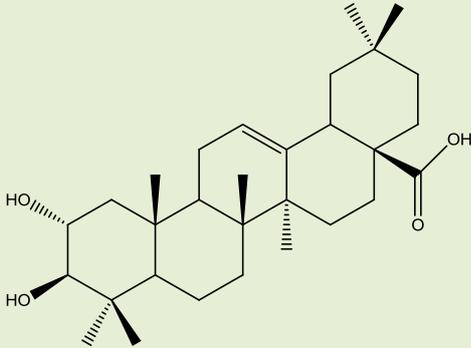
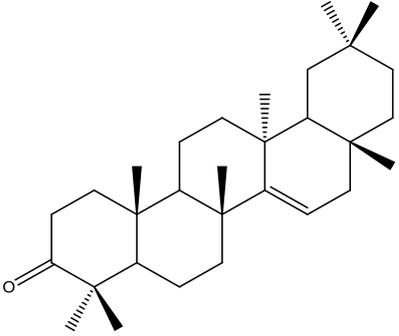
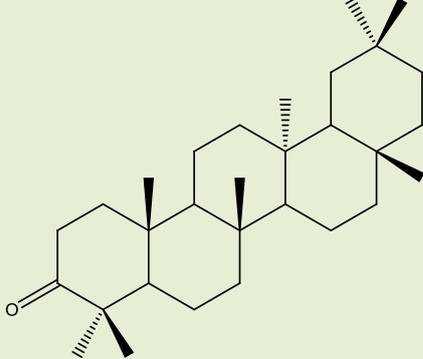
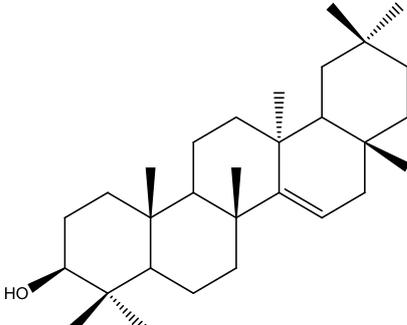
Continua

Tabela 5 – Triterpenos isolados de espécies do gênero *Bauhinia* (continuação)

NOME	ESTRUTURA	REFERÊNCIA
<b><i>nor-α</i>-amirina</b>		SAHA <i>et al.</i> , 2011
<b>palmitato de 3β-28-diidroxi-olean-12-enila</b>		SAHA <i>et al.</i> , 2011
<b><i>α</i>-amirina</b>		SCHIMIDT <i>et al.</i> , 2017
<b><i>β</i>-amirina</b>		SCHIMIDT <i>et al.</i> , 2017

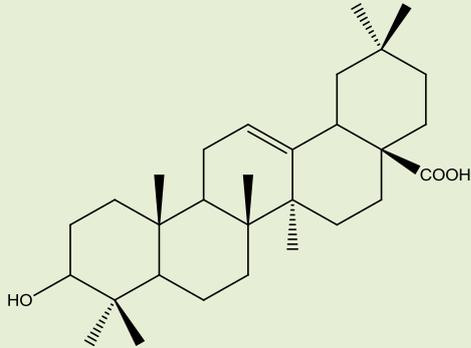
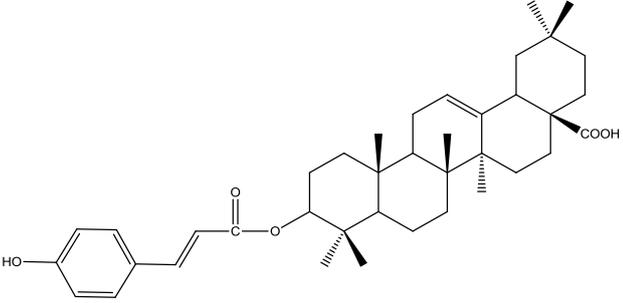
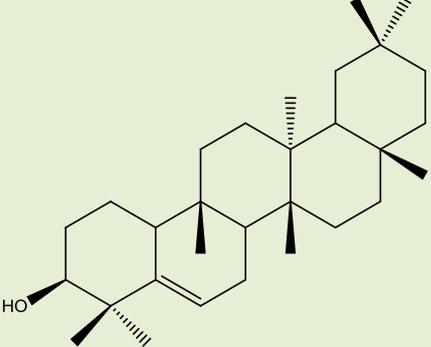
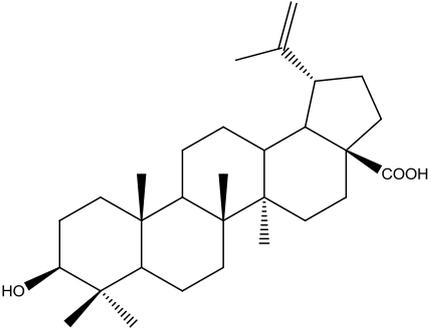
Continua

Tabela 6 – Triterpenos isolados de espécies do gênero *Bauhinia* (continuação)

NOME	ESTRUTURA	REFERÊNCIA
<b>ácido maslínico</b>		SCHIMIDT <i>et al.</i> , 2017
<b>taraxerona</b>		CARVALHO, 2014
<b>14<math>\alpha</math>-taraxeran-3-ona</b>		KUO; CHU, 2002
<b>taraxerol</b>		DE SOUSA <i>et al.</i> , 2016b

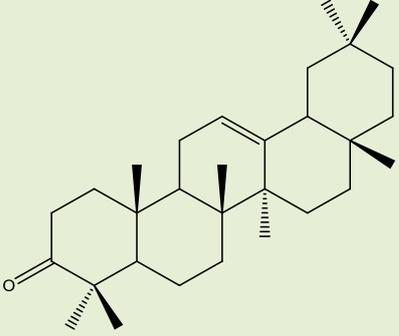
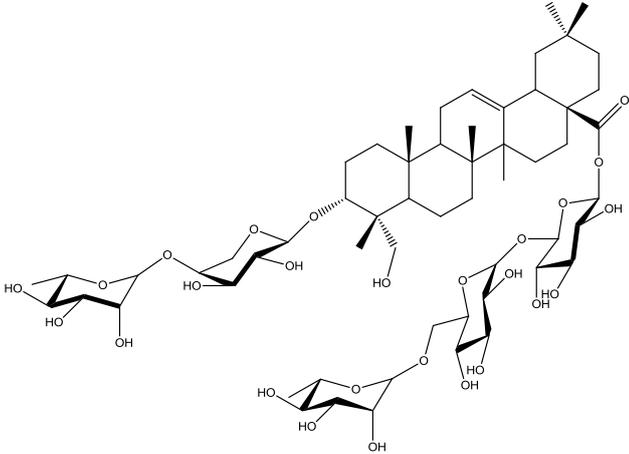
Continua

Tabela 7 – Triterpenos isolados de espécies do gênero *Bauhinia* (continuação)

NOME	ESTRUTURA	REFERÊNCIA
<b>ácido oleanólico</b>		KUO; CHU, 2002
<b>ácido 3<math>\beta</math>-<i>p</i>-(<i>E</i>)-cumaroil-oleanólico</b>		KUO; CHU, 2002
<b>glutinol</b>		DE SOUSA <i>et al.</i> , 2016b
<b>ácido betulínico</b>		DE SOUSA <i>et al.</i> , 2016b KUO; CHU, 2002

Continua

Tabela 8 – Triterpenos isolados de espécies do gênero *Bauhinia* (continuação)

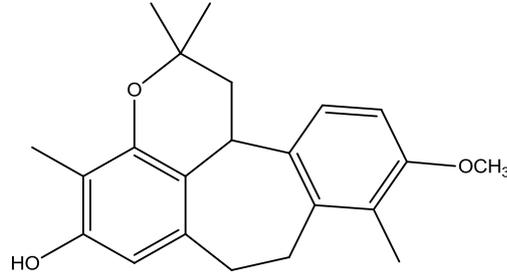
NOME	ESTRUTURA	REFERÊNCIA
<b><math>\beta</math>-amirenona</b>		CARVALHO, 2014
<b>23-hidroxi-3<math>\alpha</math>-[O-  <math>\alpha</math>-L-<sup>1</sup>C<sub>4</sub>-  ramnopiranosil-  (1''<math>\rightarrow</math>4')-O-<math>\alpha</math>-L-  <sup>4</sup>C<sub>1</sub>-  arabinopiranosil-  oxi]olean-12-en-  28-oato de O-<math>\alpha</math>-L-  <sup>1</sup>C<sub>4</sub>-  ramnopiranosil-  (1''''<math>\rightarrow</math>4'''')-O-<math>\beta</math>-  D-<sup>4</sup>C<sub>1</sub>-  glicopiranosil-  (1''''<math>\rightarrow</math>6''')-O-<math>\beta</math>-  D-<sup>4</sup>C<sub>1</sub>-  glicopiranosila</b>		MOHAMED; MAMMOUD; HAYEN, 2009

### 3.4 Bibenzis

A estrutura básica de bibenzis envolve a união de dois anéis aromáticos, A e B, através de dois carbonos metilênicos. Curiosamente, as espécies de *Bauhinia* são capazes de produzir compostos cíclicos com um anel central de sete membros fundido entre os anéis A e B, onde entre os representantes dessa classe estão as oxepinas e derivados e o racemosol (Fig.

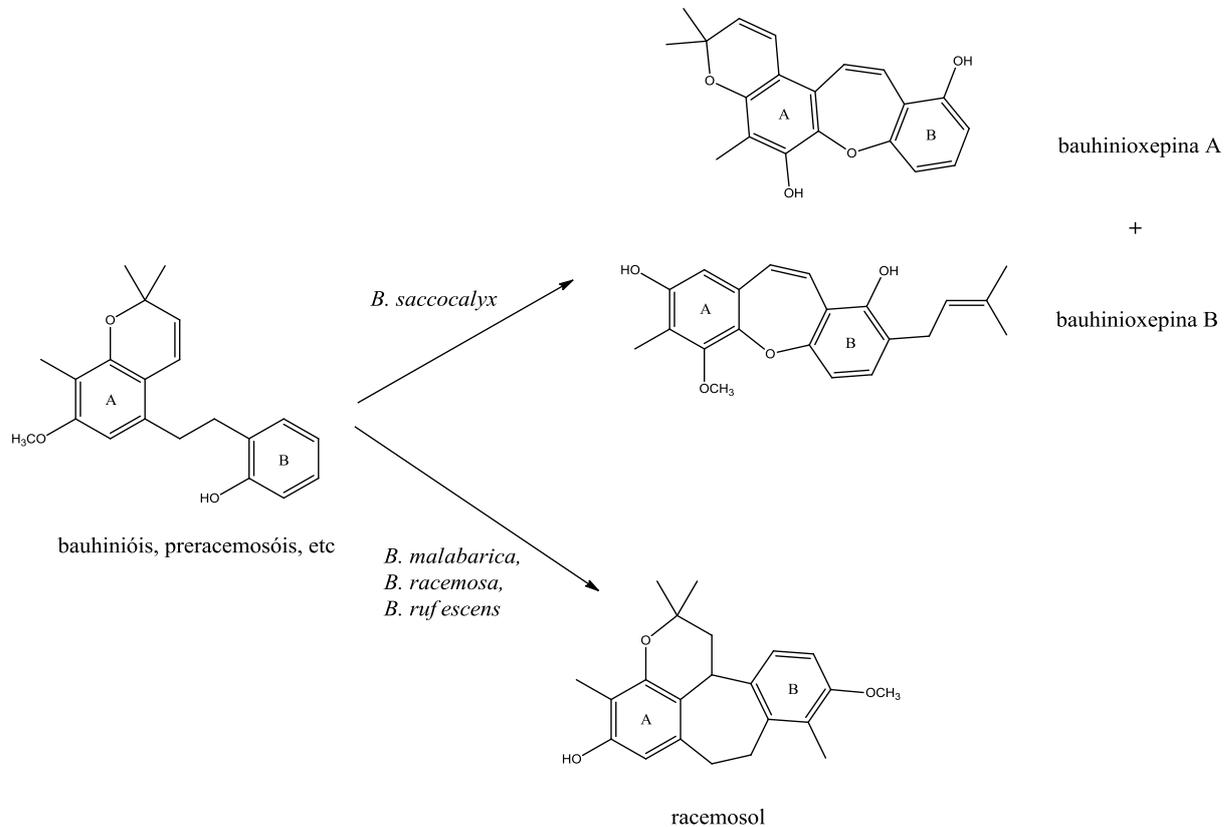
6, pág. 49), encontrado em espécies como *B. malabarica*, *B. racemosa* e *B. rufescens* (APISANTIYAKOM *et al.*, 2004).

Figura 6 – Estrutura do racemosol



A proposta para a biossíntese do racemosol pode ser encontrada na literatura a partir de espécies precursoras bibenzílicas como bauhinióis e preracemosóis. A coexistência estrutural de bauhinióis e suas dibenzoxepinas na espécie *Bauhinia saccocalyx* sugeriu que bibenzis podem ser os precursores das bauhinioxepinas A e B (Figura 7) (KITTAKOOP *et al.*, 2000; MAILLARD *et al.*, 1991 apud APISANTIYAKOM *et al.*, 2004).

Figura 7 – Biossínteses de bauhinioxepinas e racemosol a partir de bibenzis precursoras em espécies de *Bauhinia*



Fonte: Adaptado de APISANTIYAKOM *et al.*, 2004

Compostos bibenzílicos estão associados a algumas atividades biológicas interessantes. Nas raízes da espécie *Stemona tuberosa* foram isolados e caracterizados três bibenzis glicosilados que apresentaram atividade favorável no combate ao Mal de Parkinson. Esses compostos conhecidos como *stilbostemins* protegeram o neuroblastoma humano contra a toxicidade provocada por 6-OHDA (LEE; SUNG; KIM, 2006 apud RAHMAN, 2018). 2'-hidroxi-3,5-dimetoxi-4-metilbibenzil, isolado de *Bauhinia unguolata*, apresentou atividade citotóxica frente a células HL-60 (leucemia pró-mielocítica) e HEP-2 (adenocarcinoma cervical) (DE SOUSA *et al.*, 2016b).

A Tabela 4 mostra as estruturas de bibenzis identificados no gênero *Bauhinia*, acompanhadas do nome usual ou sistemático e da referência bibliográfica, cuja pesquisa se baseou nos dados da plataforma Scifinder<sup>®</sup>, utilizando como palavras-chave “bibenzyl” e “Bauhinia”, sem a aplicação de um filtro de período.

Tabela 9 – Bibenzis isolados de espécies do gênero *Bauhinia*

NOME	ESTRUTURA	REFERÊNCIA
<b>2-hidroxi-2', 3', 5'- trimetoxibibenzil</b>		GÓIS <i>et al.</i> , 2017
<b>2-hidroxi-3',5'- dimetoxibibenzil</b>		GÓIS, 2014; DE SOUSA <i>et al.</i> , 2016b

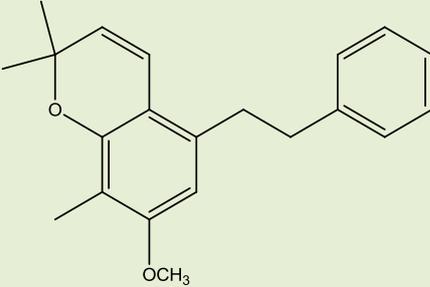
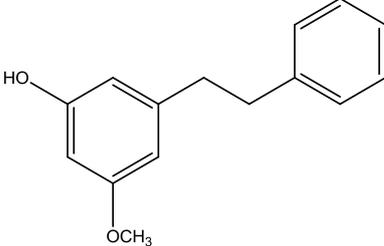
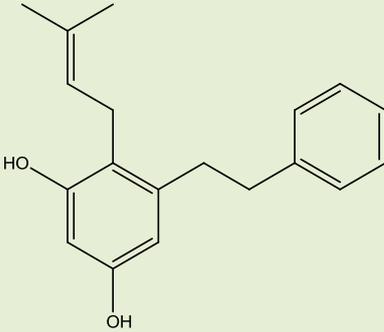
Continua

Tabela 10 – Bibenzis isolados de espécies do gênero *Bauhinia* (continuação)

NOME	ESTRUTURA	REFERÊNCIA
<b>2'-hidroxi-3,5-dimetoxi-4-metilbibenzil</b>		DE SOUSA <i>et al.</i> , 2016b
<b>2-[2-(7-metoxi-2,2,8-trimetil-2H-1-benzopiran-5-il)-etil]fenol</b>		APISANTIYAKON <i>et al.</i> , 2004
<b>3-[2-(2-hidroxifenil)etil]-5-metoxi-6-metil-2-(3-metilbut-2-enil)fenol</b>		APISANTIYAKON <i>et al.</i> , 2004
<b>3-metoxi-2-metil-5-(2-feniletil)fenol</b>		APISANTIYAKON <i>et al.</i> , 2004

Cotninua

Tabela 11 – Bibenzis isolados de espécies do gênero *Bauhinia* (continuação)

NOME	ESTRUTURA	REFERÊNCIA
<b>2,2,8-trimetil-5-(2-feniletil)-2H-1-benzopiran-7-ol</b>		APISANTIYAKON <i>et al.</i> , 2004
<b>3-metoxi-5-hidroxi-5-(2-feniletil)fenol</b>		APISANTIYAKON <i>et al.</i> , 2004
<b>2'-(3-metilbut-2-enil)-2-hidroxi-3',5'-dihidroxibenzil</b>		APISANTIYAKON <i>et al.</i> , 2004

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Identificação dos constituintes químicos do óleo essencial das folhas frescas de *Bauhinia cheilantha*

O estudo da composição química do óleo essencial das folhas frescas de *Bauhinia cheilantha* (OEBC) foi realizado por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG/EM) na análise qualitativa e por cromatografia gasosa acoplada a detector de ionização por chama (CG/DIC) na análise quantitativa. Os cromatogramas obtidos por ambas as técnicas são mostrados nas Figuras 8 e 9, respectivamente.

Figura 8 – Cromatograma de OEBC obtido por CG/EM

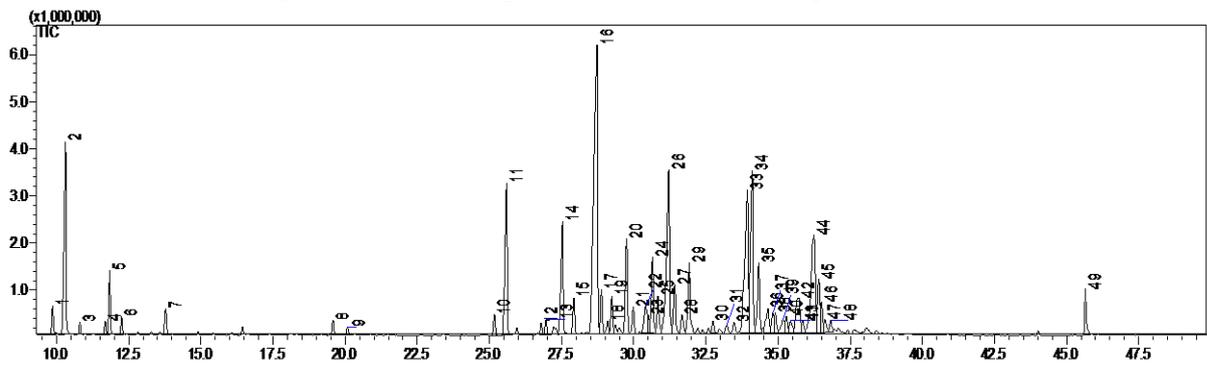
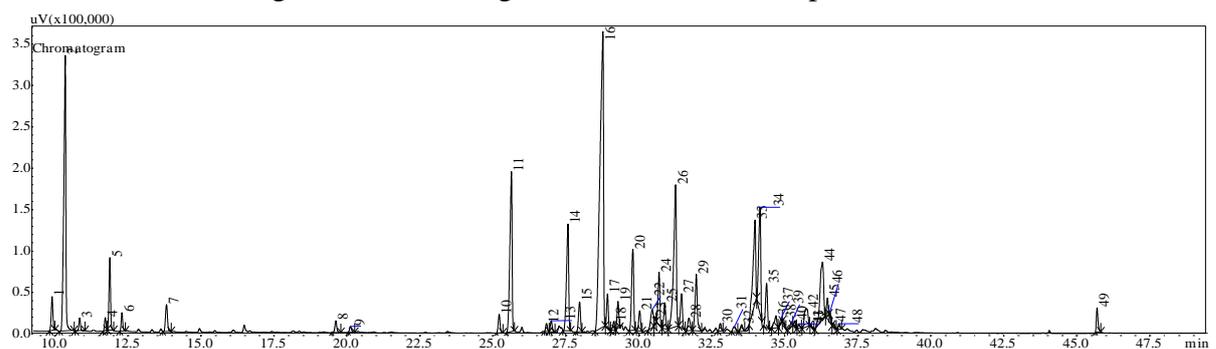


Figura 9 – Cromatograma de OEBC obtido por CG/DIC



A composição química do óleo essencial de *Bauhinia cheilantha* (OEBC) foi constatada por comparação de seus respectivos espectros de massas com espectros já registrados na literatura (ADAMS, 2007), com espectros dos bancos de dados NIST 21, NIST 107 e Willey 8 do próprio equipamento e também pela comparação dos índices de retenção de cada substância com outros da literatura. Os índices de retenção de Kovats (IK) foram determinados pela utilização de uma série homóloga de *n*-alcanos (de C<sub>8</sub>-C<sub>18</sub>) injetados nas

mesmas condições cromatográficas da amostra, tomando como base a equação de Van den Dool e Kratz (VAN DEN DOOL; KRATZ, 1963). Esse método permitiu a identificação de 97,91% da composição química do **OEBC** (Tab. 5, p. 55), constituída de quarenta e quatro constituintes, dentre os quais (*E*)-cariofileno (21,65%) e  $\alpha$ -pineno (11,74%), cujas estruturas estão mostradas nas Figuras 10 e 11, respectivamente, são os constituintes majoritários.

Figura 10 – Estrutura do (*E*)-cariofileno

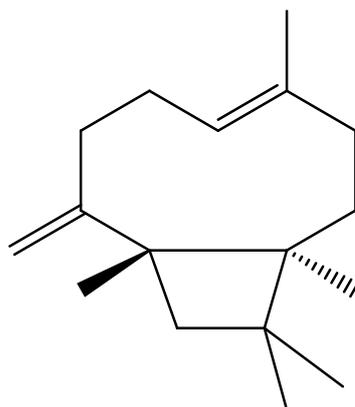
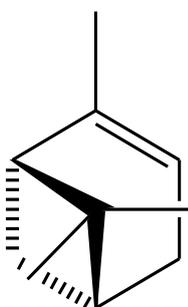


Figura 11 – Estrutura do  $\alpha$ -pineno



A porção constituída de monoterpenos, um conjunto de nove substâncias, apresentou apenas dois constituintes oxigenados, terpinen-4-ol e  $\alpha$ -terpineol, enquanto que dos trinta e quatro compostos classificados como sesquiterpenos, quinze possuem estruturas oxigenadas. Conclui-se que, de um total de 44 constituintes identificados no óleo essencial, 20,68% deles são oxigenados, sem levar em consideração as que não foram identificadas pelo método, que consistiram em 1,61% do **OEBC**.

Tabela 12 – Constituintes químicos do óleo essencial das folhas frescas de *B. cheilantha*

Pico	Tempo de Retenção (min)	Constituinte	% (CG/FID)	IK (experimental)
1	7,185	dimetilsulfóxido	0,1505	-
2	9,863	tricicleno	1,15	922
3	10,314	$\alpha$ -pineno	11,74	936
4	10,805	canfeno	0,38	950
5	11,683	sabineno	0,39	975
6	11,840	$\beta$ -pineno	2,40	979
7	12,252	mirceno	0,58	991
8	13,780	limoneno	1,15	1030
9	19,577	terpinen-4-ol	0,47	1174
10	20,074	$\alpha$ -terpineol	0,24	1195
11	25,173	não identificado	0,71	1333
12	25,594	$\delta$ -elemeno	7,38	1344
13	26,794	$\alpha$ -ylangeno	0,29	1379
14	26,953	$\alpha$ -copaeno	0,43	1383
15	27,530	$\beta$ -elemeno	4,85	1398
16	27,927	$\alpha$ -gurjuneno	1,22	1406
17	28,728	( <i>E</i> )-cariofileno	21,65	1415
18	28,881	$\beta$ -gurjuneno	1,19	1424
19	29,098	$\alpha$ -guaiano	0,30	1430
20	29,242	aromadendreno	0,94	1434
21	29,751	$\alpha$ -humuleno	3,56	1450
22	29,984	allo-aromadendreno	0,80	1459
23	30,414	$\gamma$ -muurolo	1,00	1478
24	30,500	não identificado	0,22	1482
25	30,649	germacreno D	1,97	1489
26	30,841	viridifloreno	1,00	1496
27	31,212	biciclogermacreno	8,19	1506
28	31,418	<i>trans</i> - $\beta$ -guaiano	1,42	1512
29	31,667	$\gamma$ -cadineno	0,62	1520
30	31,925	$\delta$ -cadineno	2,66	1526
31	32,744	elemol	0,32	1549
32	33,215	$\beta$ -colacoreno	0,29	1561
33	33,473	maaliol	0,31	1568
34	33,935	espatulenol	4,84	1579
35	34,108	óxido de cariofileno	4,62	1582
36	34,331	globulol	1,82	1593
37	34,651	viridiflorol	0,65	1604
38	34,820	epóxido de humuleno II	0,17	1611
39	34,905	não identificado	0,12	1615
40	35,178	<i>trans</i> -isolongifolanona	0,12	1625
41	35,294	1- <i>epi</i> -cubenol	0,18	1630
42	35,437	$\gamma$ -eudsmol	0,18	1636
43	35,719	$\alpha$ -muurolol	1,40	1644
44	35,852	cubenol	0,07	1651
45	36,245	( <i>E</i> )-bisabolen-11-ol	3,80	1667

Continua

Tabela 13 – Constituintes químicos do óleo essencial das folhas frescas de *B. cheilantha* (continuação)

46	36,411	<i>não identificado</i>	0,56	1674
47	36,504	<i>bulnesol</i>	0,16	1677
48	36,622	<i>não identificado</i>	0,15	1683
49	36,819	2,3-diidro-farnesol	0,19	1690
50	45,648	Fitol	0,82	2064
			<b>Monoterpenos</b>	<b>18,50%</b>
			<b>Sesquiterpenos</b>	<b>78,59%</b>
			<b>Diterpenos</b>	<b>0,82%</b>
<b>Total identificado</b>				<b>97,91%</b>

A predominância de sesquiterpenos no **OEBC** está de acordo com dados descritos na literatura sobre a composição dos óleos essenciais das folhas de *B. aculeata*, *B. brevipes*, *B. longifolia*, *B. pentandra*, *B. rufa*, *B. variegata*, *B. forficata*, *B. unguolata* e *B. acuruana* (DUARTE-ALMEIDA; NEGRI; SALATINO, 2004; SARTORELLI; CORREA, 2007; GRAMOSA *et al.*, 2009; GOIS *et al.*, 2011; DE SOUSA *et al.*, 2016a), parecendo, portanto, que a ocorrência de sesquiterpenos como constituintes predominantes nos óleos de folhas de espécies de *Bauhinia* é uma característica química deste gênero.

Outras espécies do gênero *Bauhinia*, coletadas no estado do Ceará, tiveram os óleos essenciais das folhas frescas extraídos pelo mesmo método. A análise dos constituintes voláteis de *Bauhinia pentandra* (Bong.) D. Dietr revelou o fitol como componente principal do óleo essencial de suas folhas frescas, perfazendo 58,78% do total de 95,95% dos voláteis analisados (DE ALMEIDA *et al.*, 2015). É válido salientar que no óleo essencial das folhas frescas de *B. cheilantha*, esta substância ocorre em pequeno percentual (0,82%) na constituição do **OEBC**.

Na espécie *Bauhinia acuruana* (Moric) foram observados como componentes majoritários o espatulenol (23,4%), *epi- $\alpha$ -cadinol* (20,7 %) e óxido de cariofileno (16,4%) (GÓIS *et al.*, 2011). Com exceção do *epi- $\alpha$ -cadinol*, os outros componentes também integram o conjunto de substâncias presentes no **OEBC**, e embora não sejam majoritários, aparecem com quase 5% em relação ao percentual total de compostos.

Em relação à espécie *Bauhinia unguolata* L., óxido de cariofileno e (*E*)-cariofileno apresentaram-se como constituintes majoritários, com 23,0 e 14,5%, respectivamente, do total dos constituintes voláteis. Por outro lado, o estudo do óleo das folhas frescas de *Bauhinia pulchella* Benth. apresentou 23,9% de  $\alpha$ -pineno, 22,4% de óxido de cariofileno e 12,2% de  $\beta$ -pineno em sua constituição química (DE SOUSA *et al.*, 2016a), o que caracteriza o material como rico em compostos monoterpênicos, ao contrário do **OEBC**.

Ao se comparar a composição química do **OEBC** com o óleo essencial extraído de folhas secas de espécies de *Bauhinia* coletadas na região Sudeste do Brasil, observou-se, ainda, a predominância de sesquiterpenos na composição química dos óleos essenciais das espécies estudadas (DUARTE-ALMEIDA; NEGRI; SALATINO, 2004), com destaque para  $\beta$ -cariofileno, espatulenol, e  $\gamma$ -elemeno.

Flores de *Bauhinia variegata* coletadas na Índia mostraram grande percentual de *cis*-murrrol-5-em-4- $\alpha$ -ol (24,4%) e  $\gamma$ -elemeno (19,0%) na composição de seu óleo essencial (SAHOO *et al.*, 2013), enquanto o óleo essencial das folhas frescas de *Bauhinia acuminata* oriundas da mesma região apresentou 65,90% de fitol, além de 13,87% de  $\beta$ -cariofileno (VASUDEVAN; MATHEW; BABY, 2013). É possível observar a semelhança, ainda que discreta, do perfil do **OEBC** com o padrão quimiotaxonômico de espécies do mesmo gênero que não se desenvolveram em território brasileiro.

As Figuras 12 a 55 apresentam os espectros de massas dos constituintes identificados presentes no OEBC, obtidos por impacto eletrônico a 70 eV.

Figura 12 – Espectro de massas do tricicleno

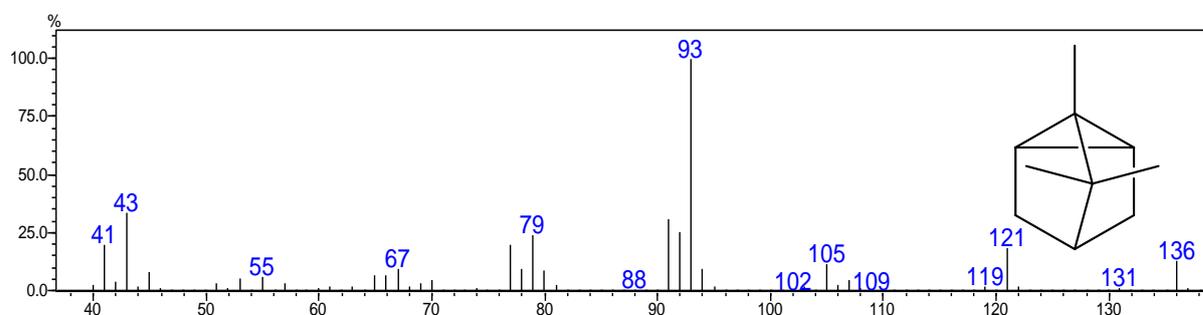


Figura 13 – Espectro de massas do  $\alpha$ -pineno

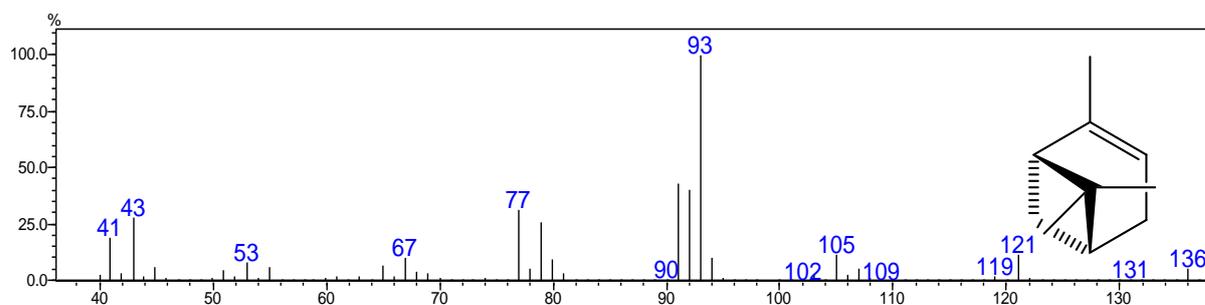


Figura 14 – Espectro de massas do canfeno

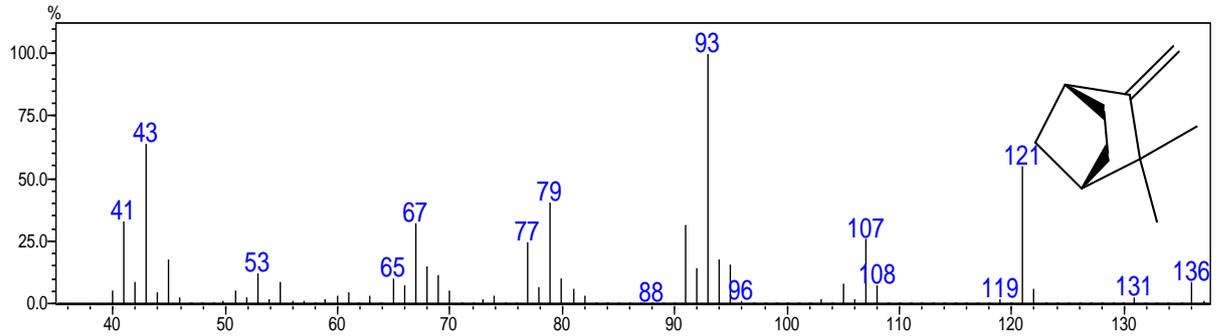


Figura 15 – Espectro de massas do sabineno

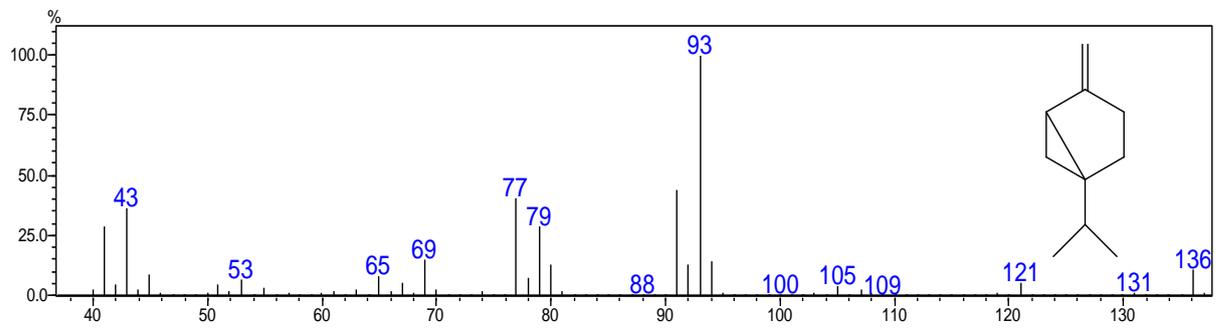
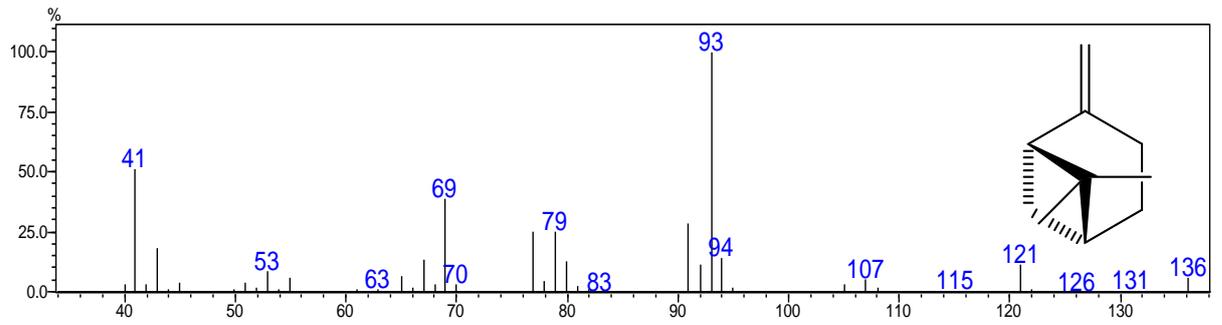
Figura 16 – Espectro de massas do  $\beta$ -pineno

Figura 17 – Espectro de massas do mirceno

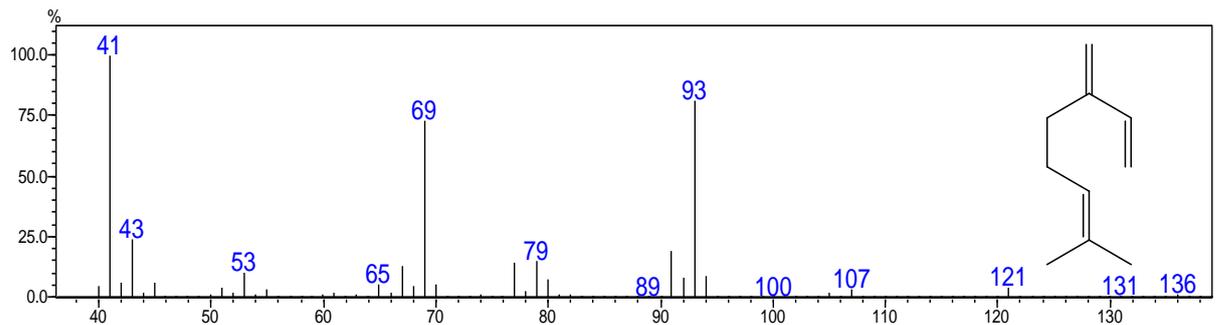


Figura 18 – Espectro de massas do limoneno

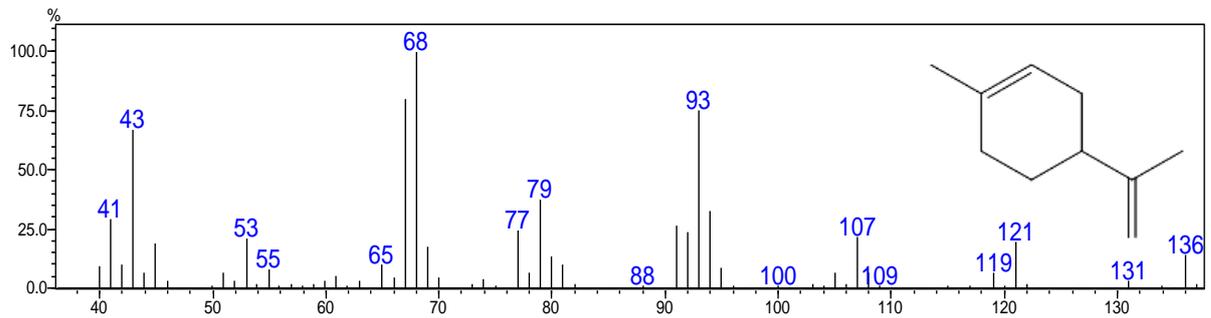


Figura 19 – Espectro de massas do terpinen-4-ol

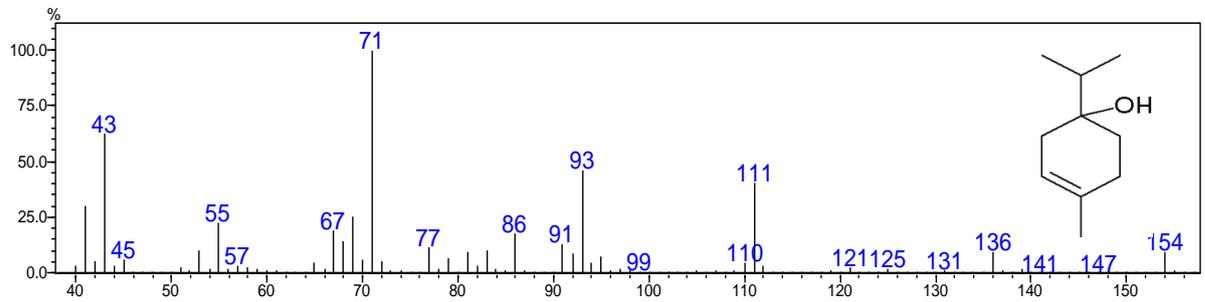
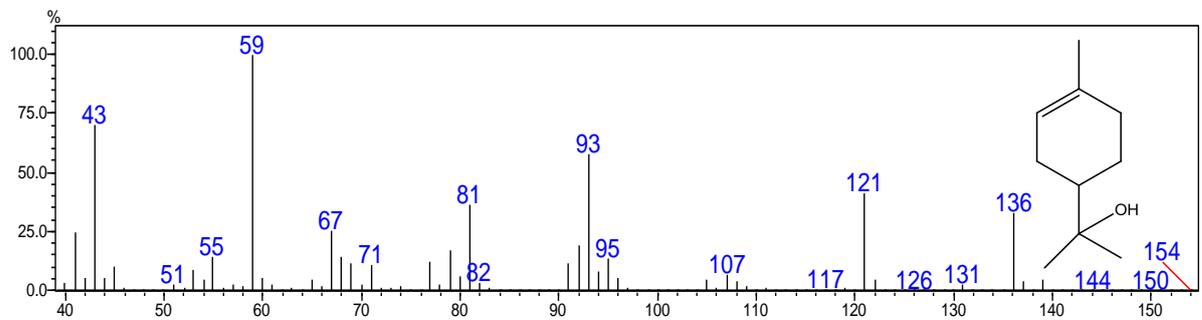
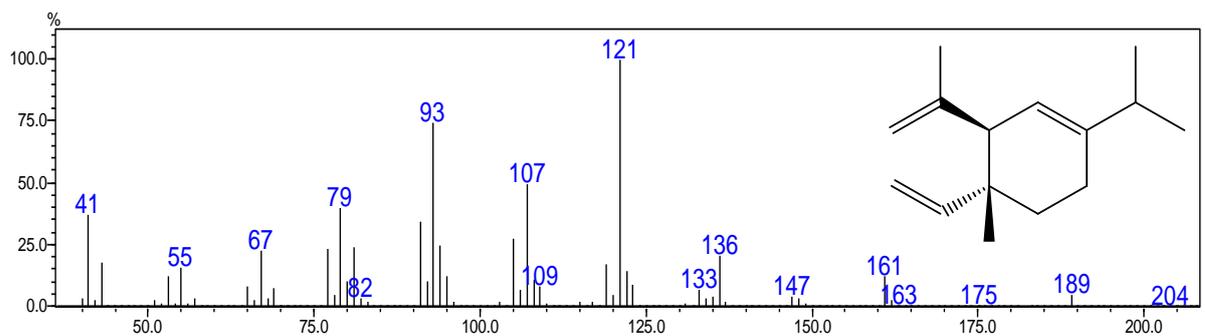
Figura 20 – Espectro de massas do  $\alpha$ -terpineolFigura 21 – Espectro de massas do  $\delta$ -elemeno

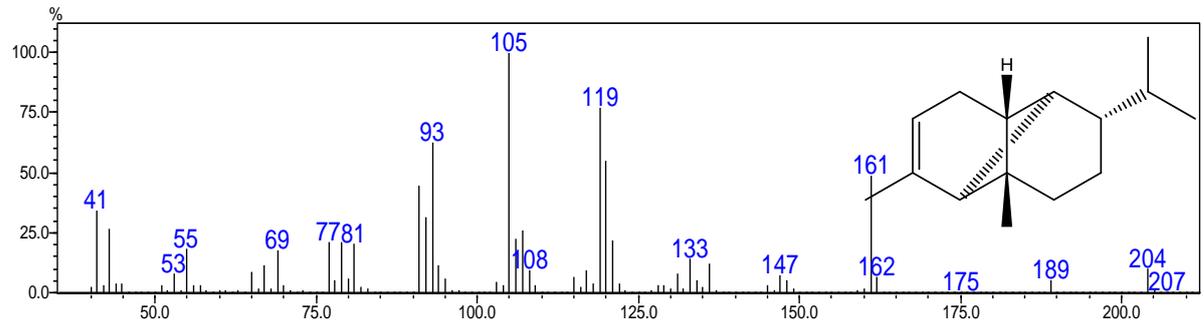
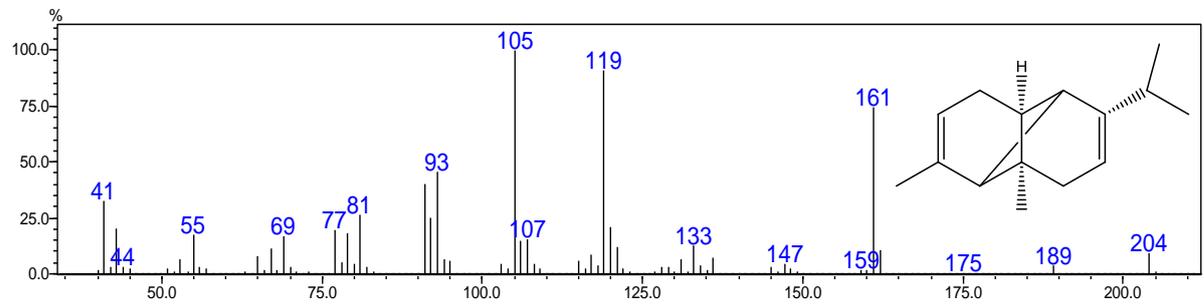
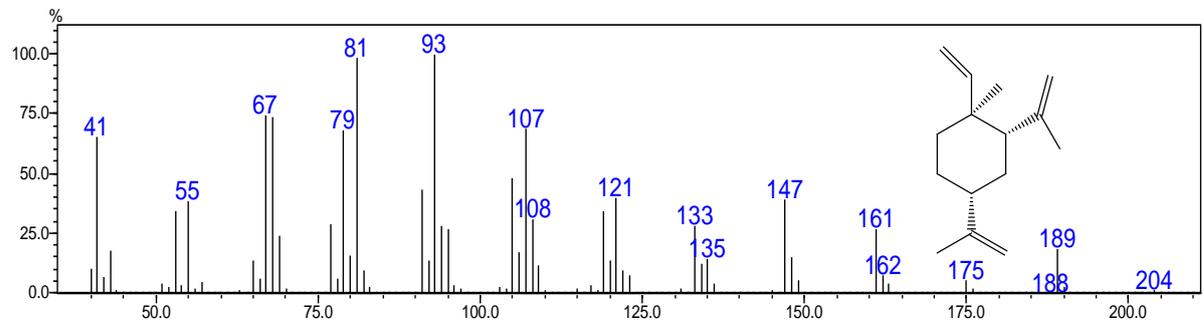
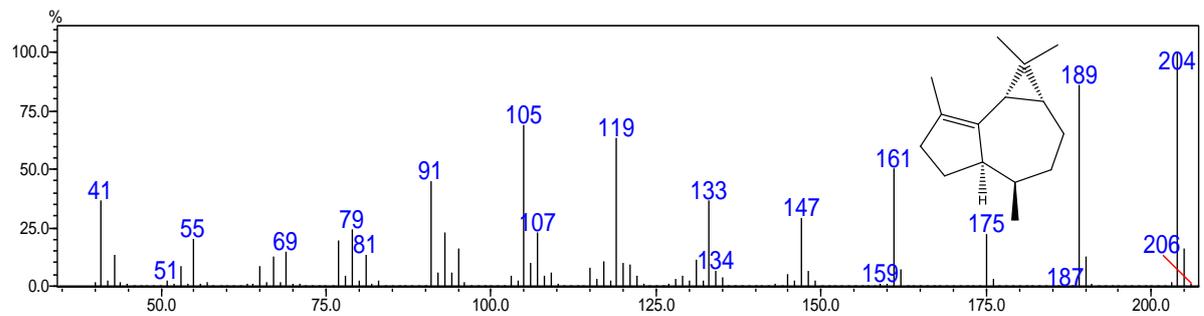
Figura 22 – Espectro de massas do  $\alpha$ -ylangenoFigura 23 – Espectro de massas do  $\alpha$ -copaenoFigura 24 – Espectro de massas do  $\beta$ -elemenoFigura 25 – Espectro de massas do  $\alpha$ -gurjuneno

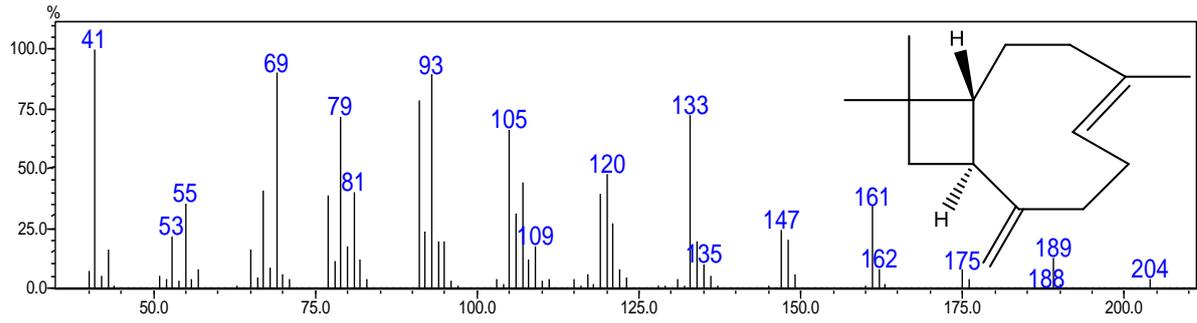
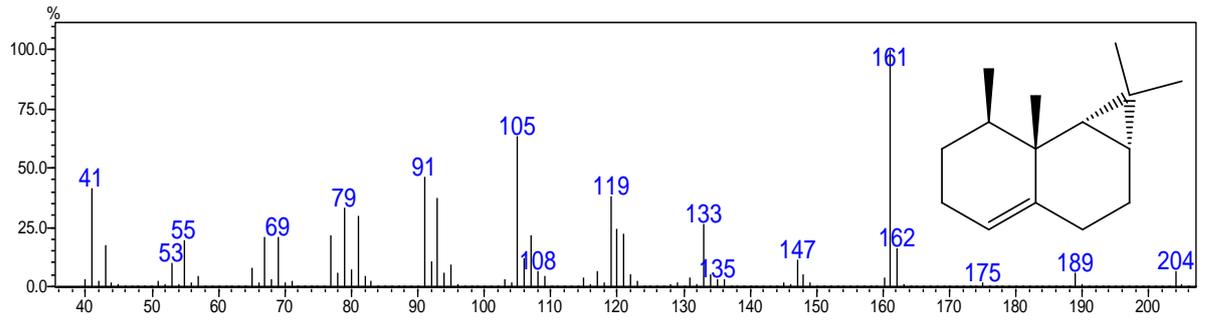
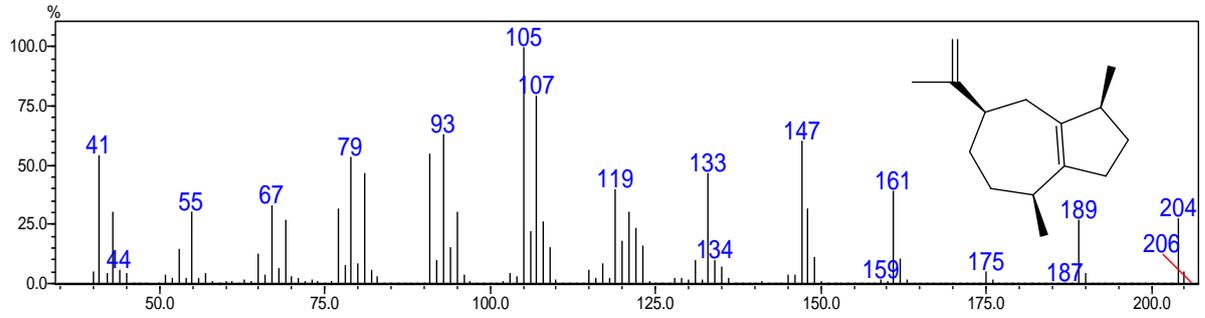
Figura 26 – Espectro de massas do (*E*)-cariofilenoFigura 27 – Espectro de massas do  $\beta$ -gurjunenoFigura 28 – Espectro de massas do  $\alpha$ -guaiano

Figura 29 – Espectro de massas do aromadendreno

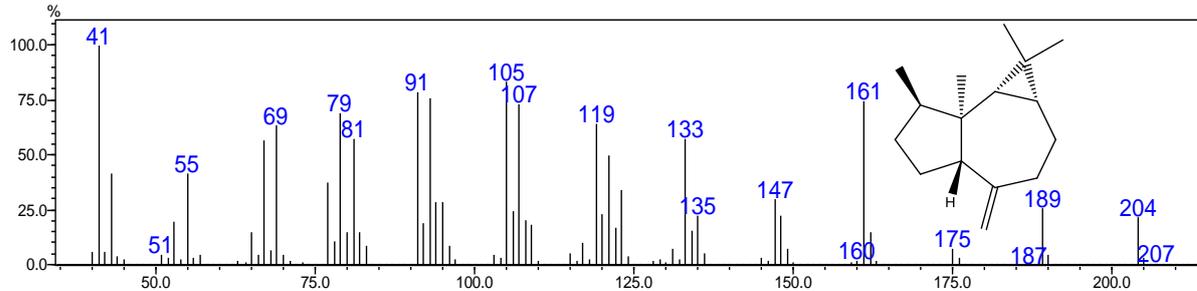


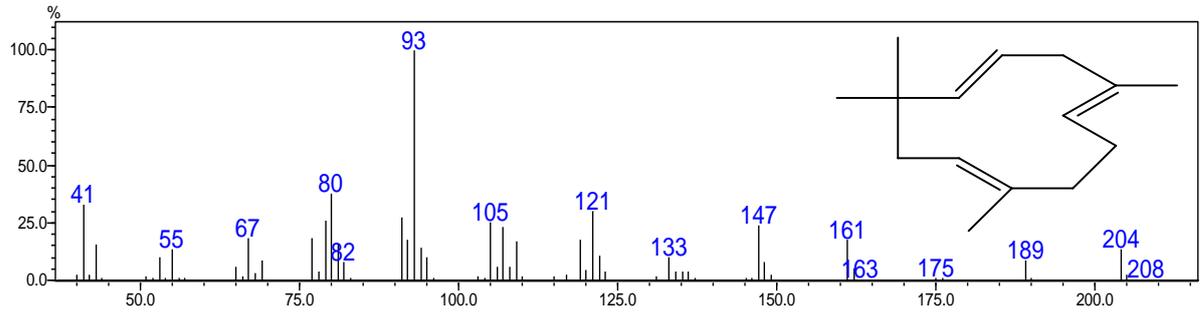
Figura 30 – Espectro de massas do  $\alpha$ -humuleno

Figura 31 – Espectro de massas do allo-aromadendreno

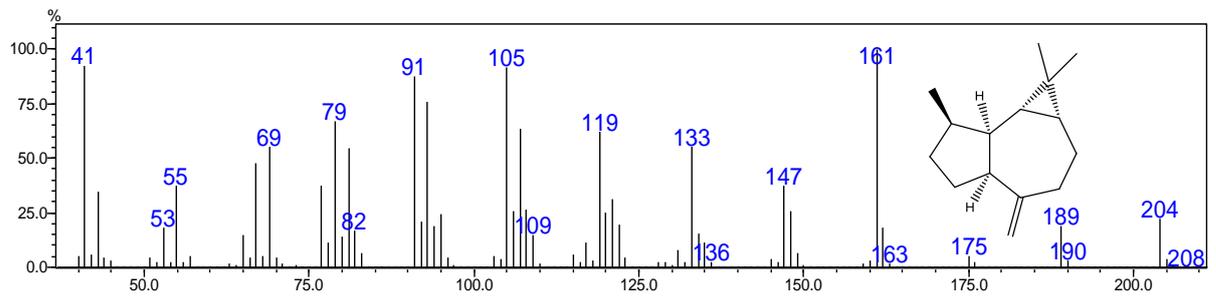
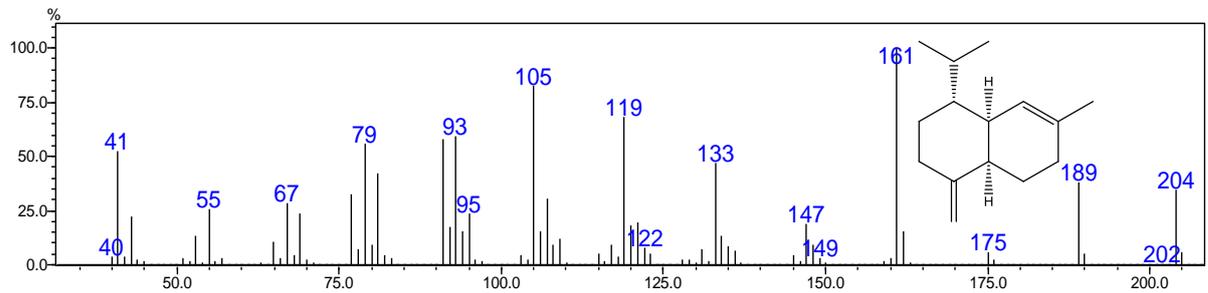
Figura 32 – Espectro de massas do  $\gamma$ -muuroleno

Figura 33 – Espectro de massas do germacreno D

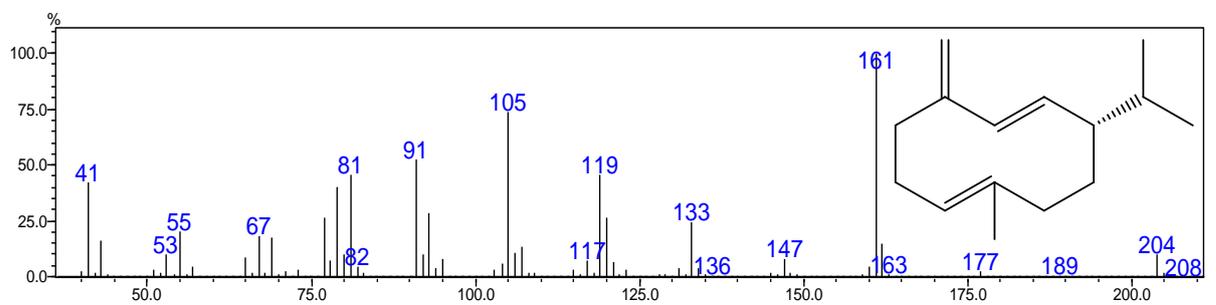


Figura 34 – Espectro de massas do viridifloreno

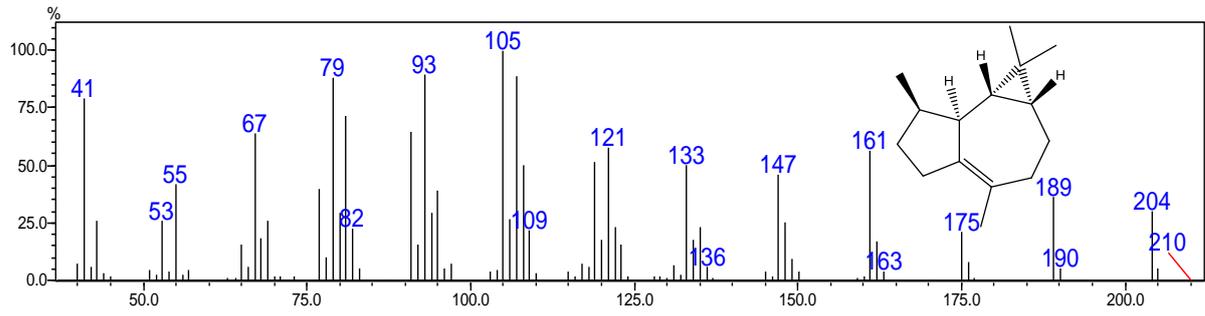


Figura 35 – Espectro de massas do biciclogermacreno

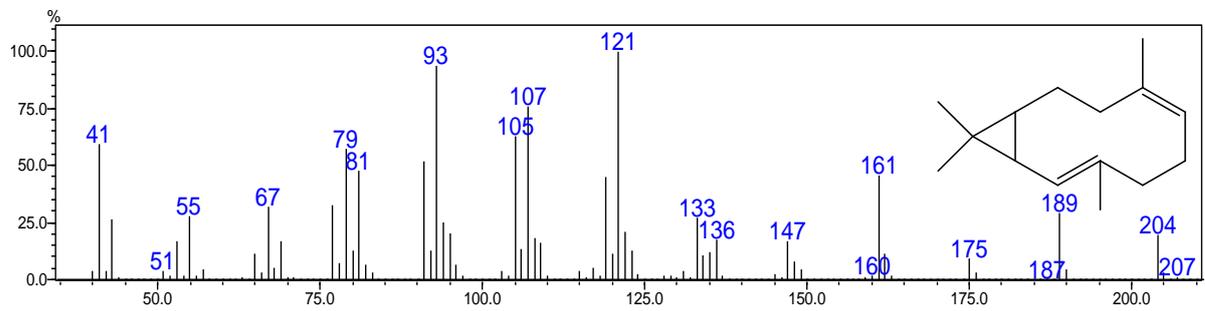


Figura 36 – Espectro de massas do trans-β-guaieno

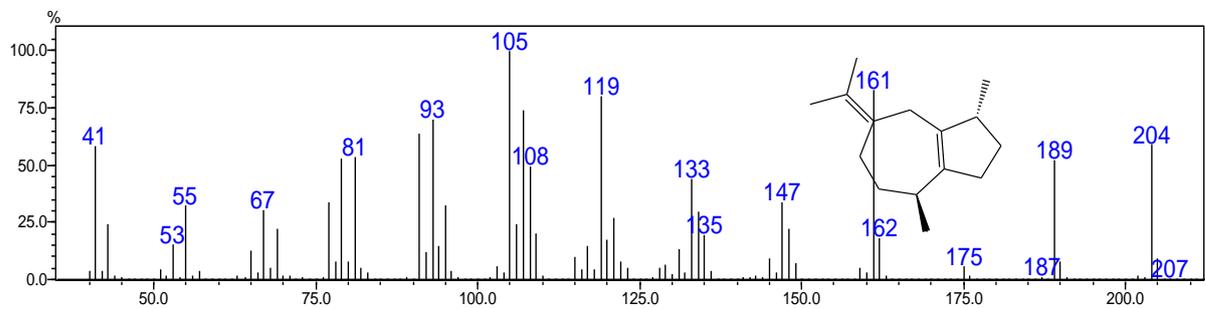


Figura 37 – Espectro de massas do γ-cadineno

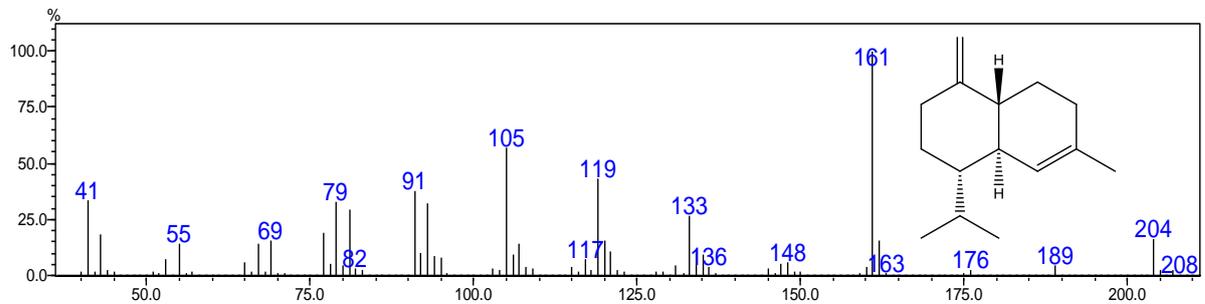


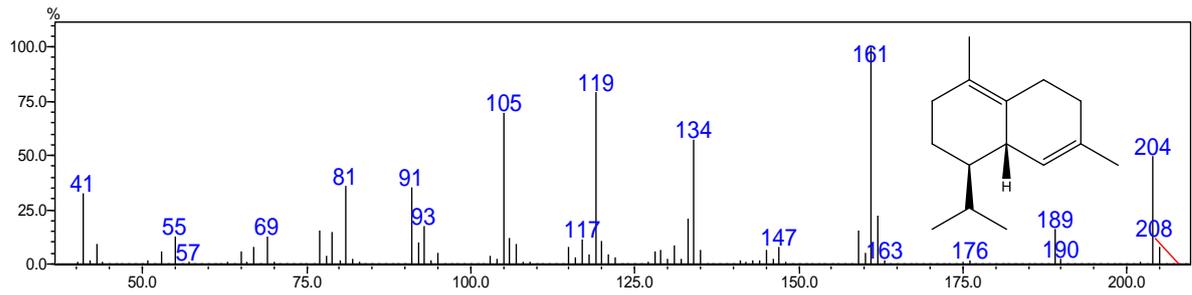
Figura 38 – Espectro de massas do  $\delta$ -cadineno

Figura 39 – Espectro de massas do elemol

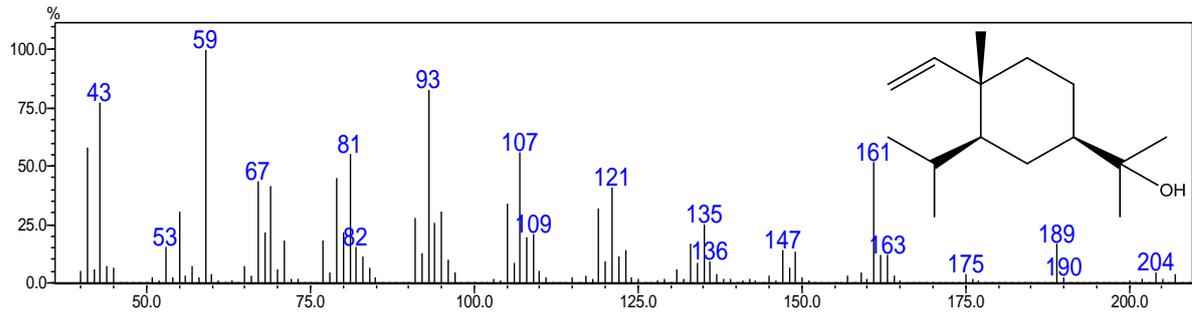
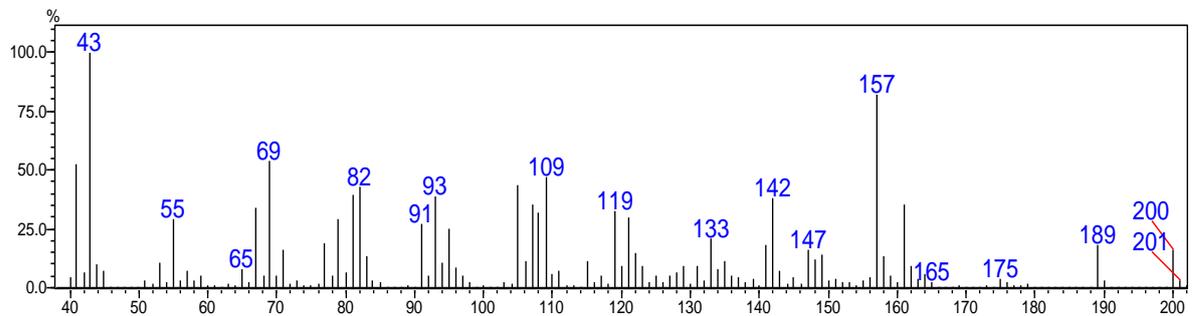
Figura 40 – Espectro de massas do  $\beta$ -colacoreno

Figura 41 – Espectro de massas do maaliol

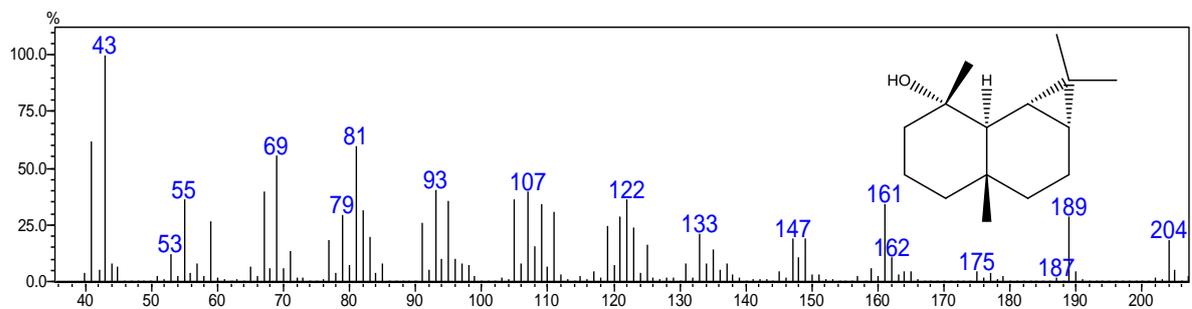


Figura 42 – Espectro de massas do espatulenol

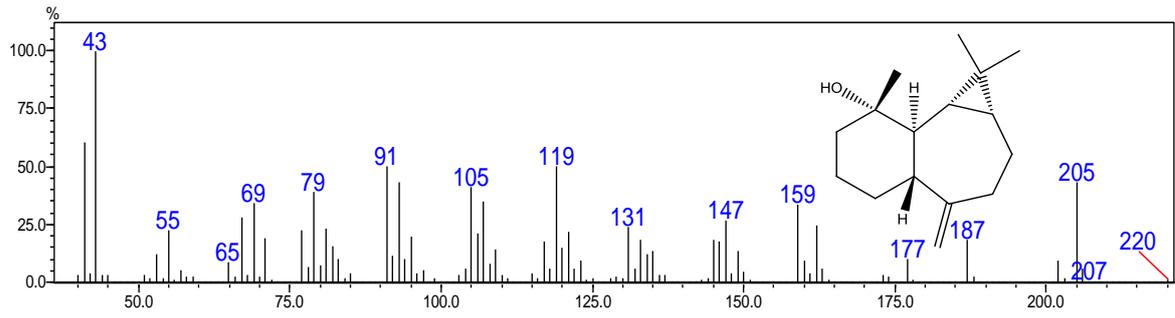


Figura 43 – Espectro de massas do óxido de cariofileno

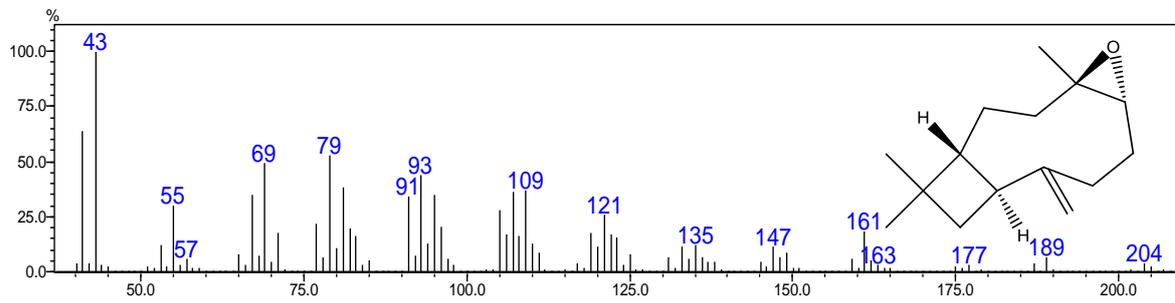


Figura 44 – Espectro de massas do globulol

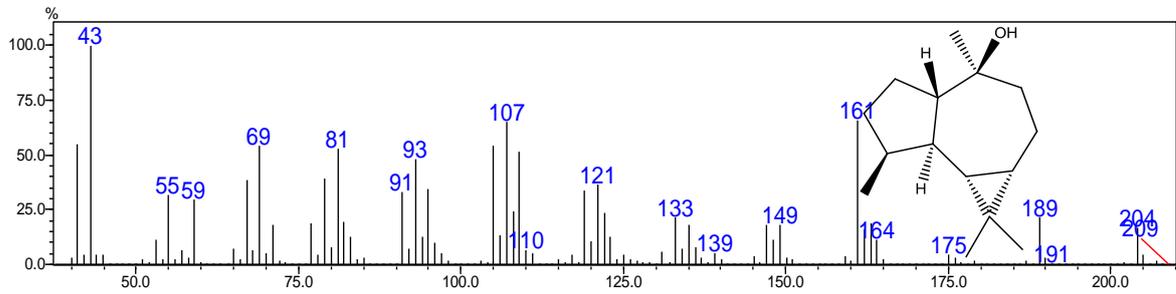


Figura 45 – Espectro de massas do viridiflorol

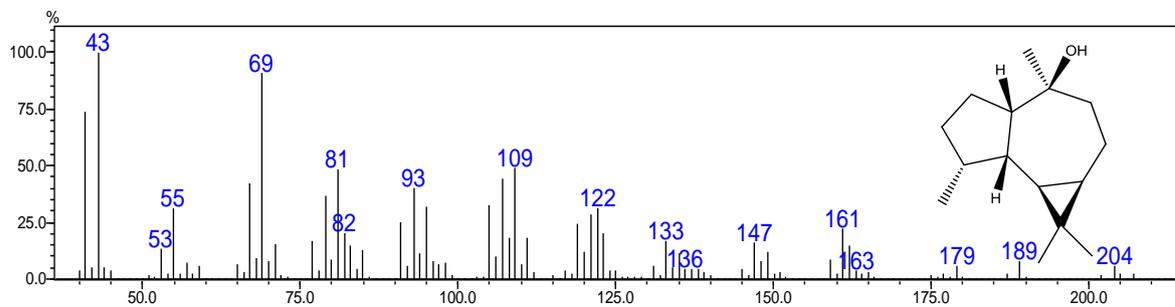


Figura 46 – Espectro de massas do epóxido de humuleno

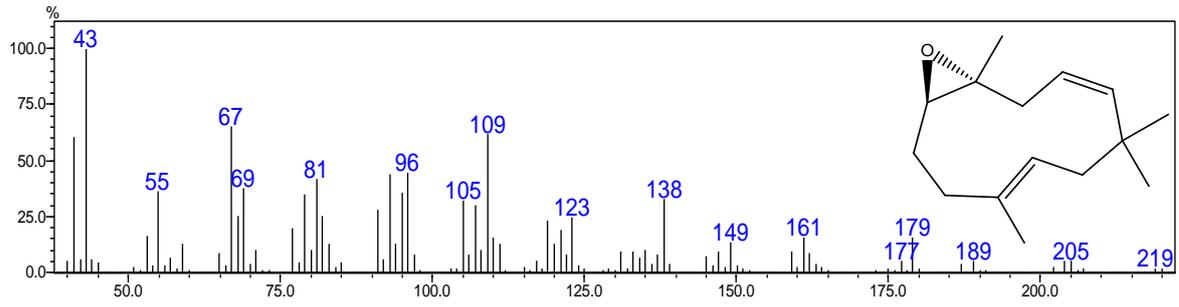
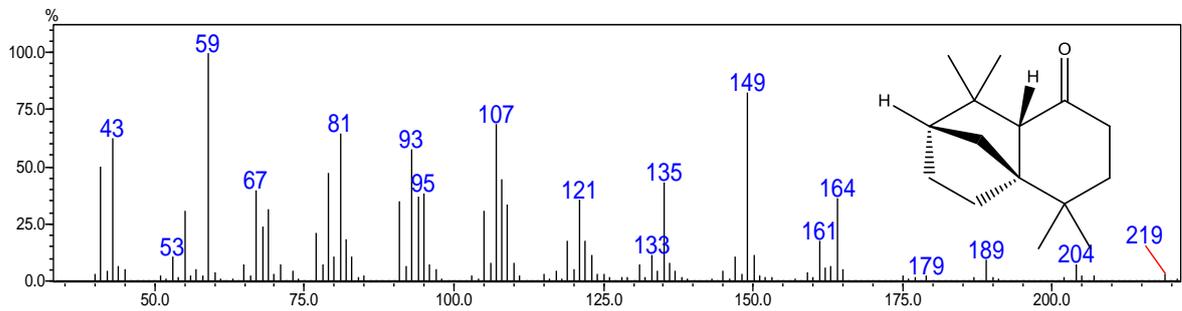
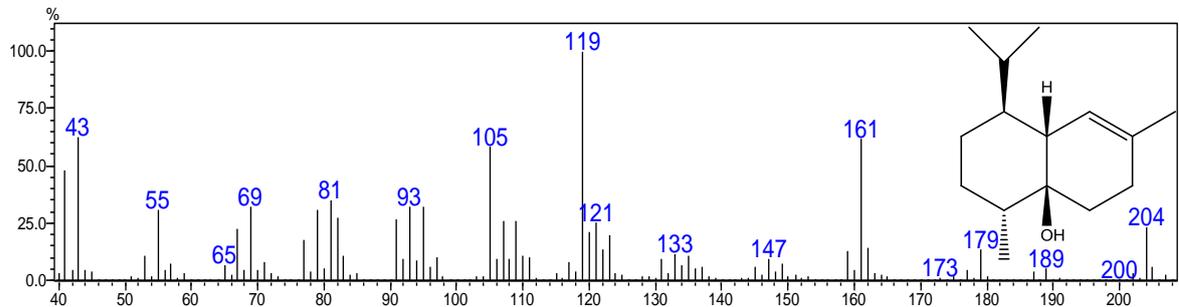
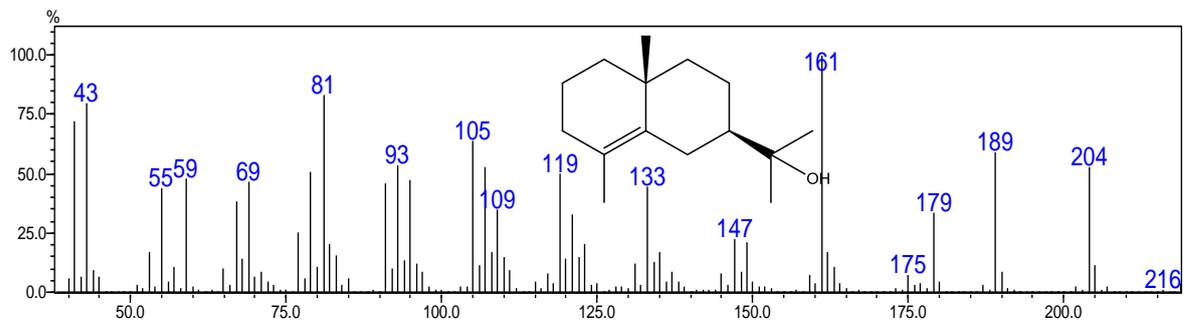
Figura 47 – Espectro de massas do *trans*-isolongifolanonaFigura 48 – Espectro de massas do *epi*-cubenolFigura 49 – Espectro de massas do  $\gamma$ -eudesmol

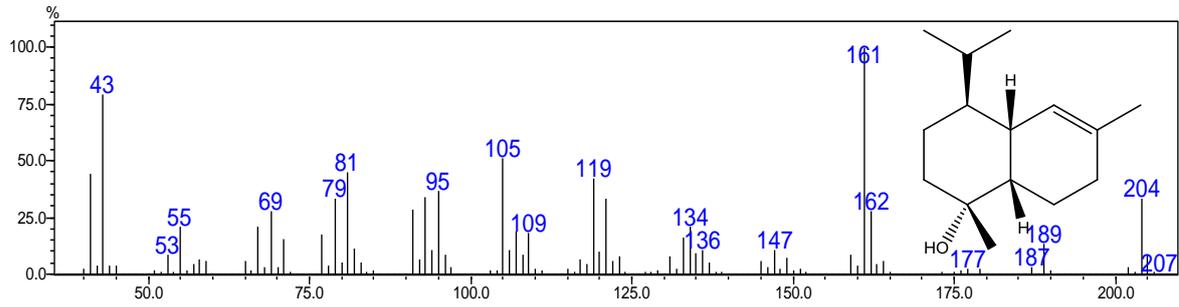
Figura 50 – Espectro de massas do  $\alpha$ -muurolol

Figura 51 – Espectro de massas do cubenol

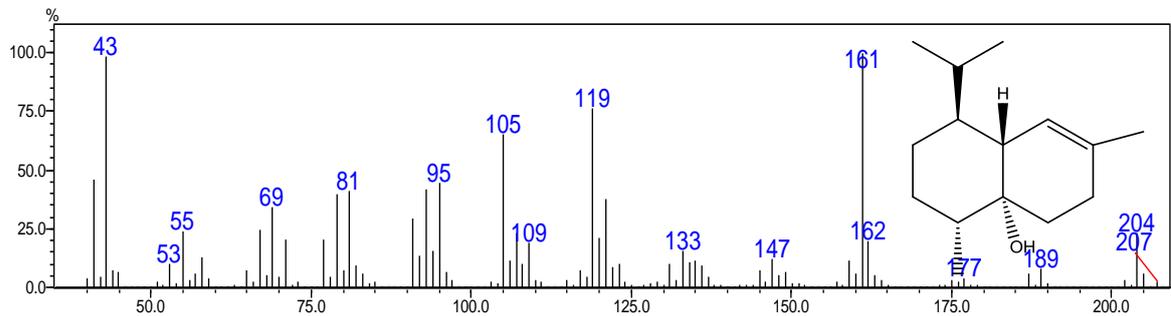
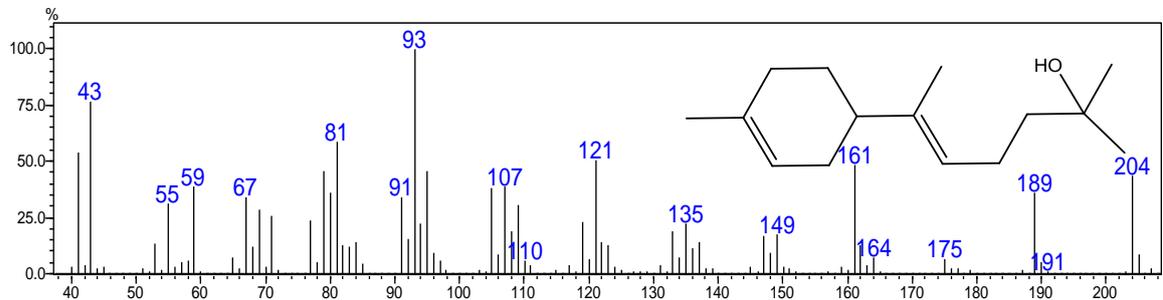
Figura 52 – Espectro de massas do (*E*)-bisabol-11-ol

Figura 53 – Espectro de massas do bulnesol

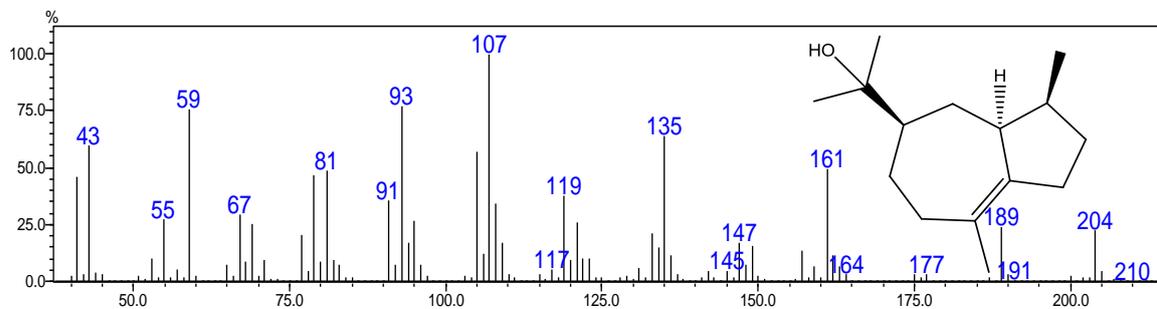


Figura 54 – Espectro de massas do 2,3-diidro-farnesol

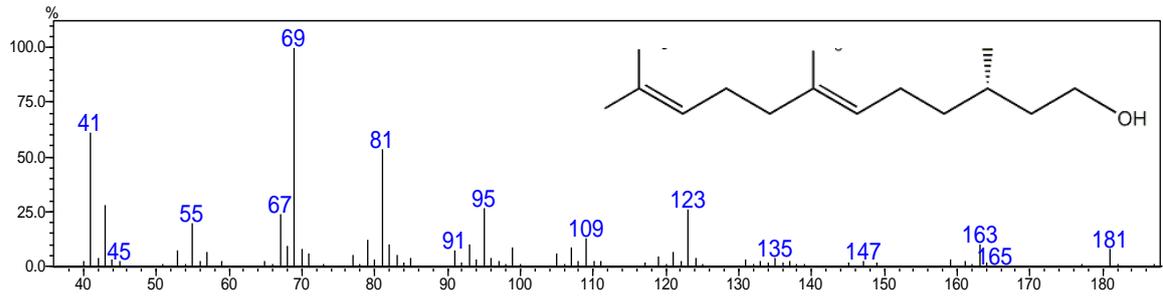
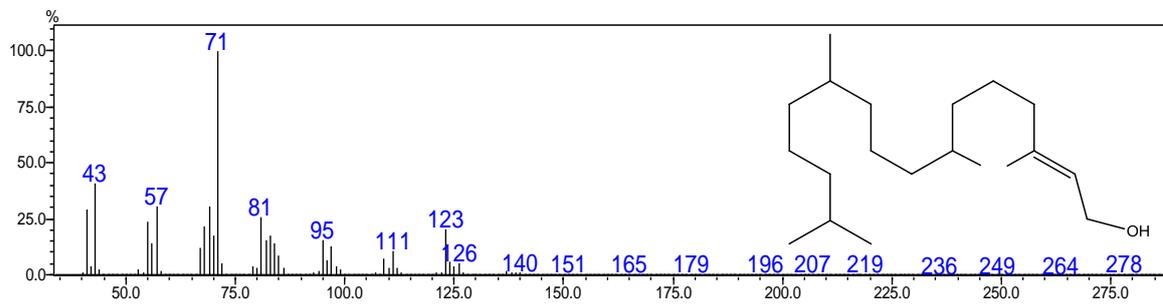


Figura 55 – Espectro de massas do fitol



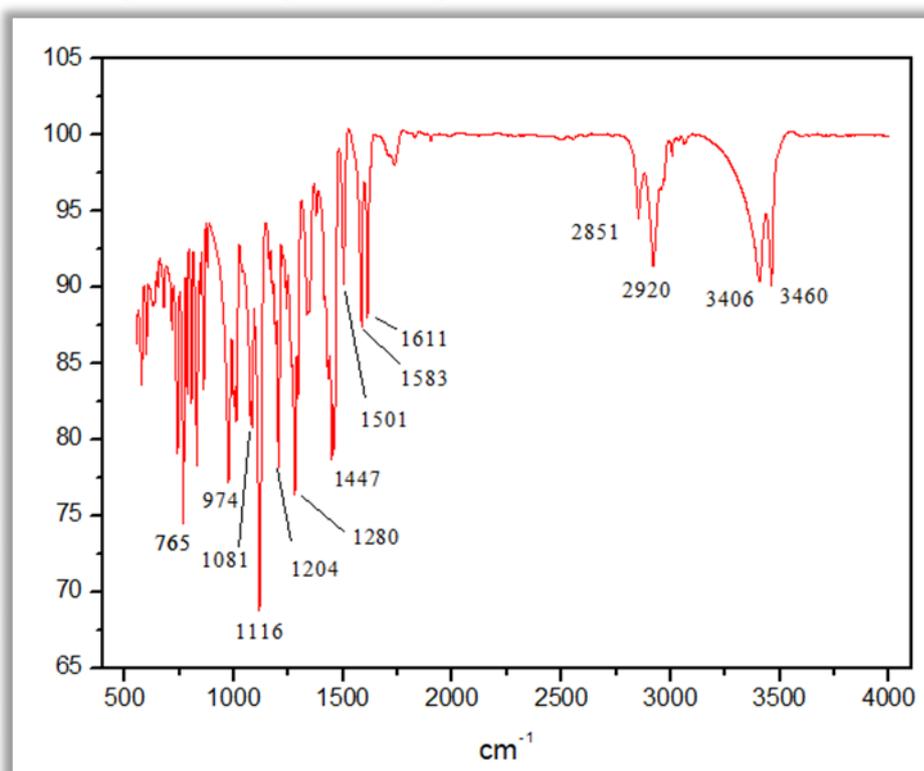
## 4.2 Determinação estrutural dos constituintes químicos não voláteis isolados do extrato etanólico das raízes de *Bauhinia cheilantha*

### 4.2.1 Determinação estrutural de BCR-1

O tratamento cromatográfico da **FA3RBC** em gel de sílica resultou, conforme procedimento descrito no item 5.3.2.3, p.153, na precipitação de 11,8 mg de um sólido amorfo de cor branca, solúvel em metanol, com ponto de fusão 216 °C (P.F. literatura = 211 – 213 °C; PETTIT *et al.*, 2006), que foi denominado **BCR-1**.

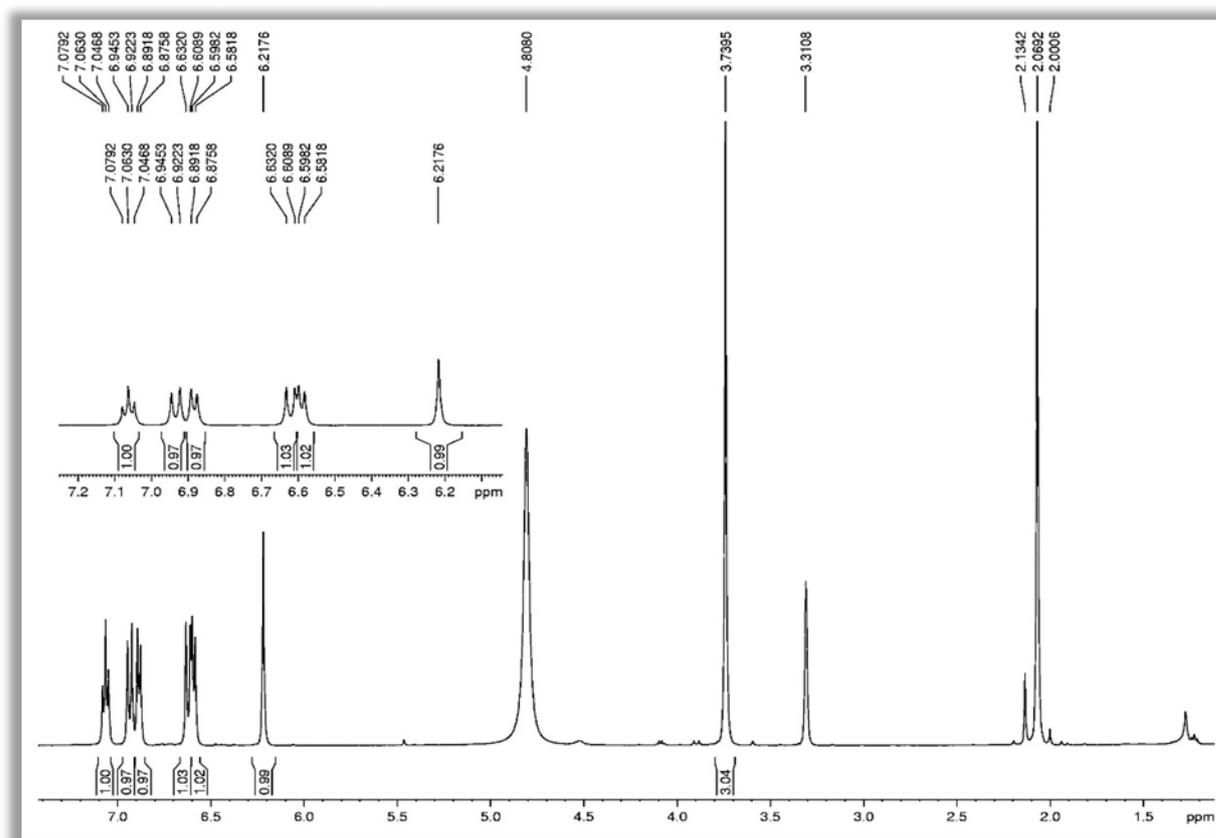
O espectro de absorção na região do infravermelho de **BCR-1** (Fig. 56) apresentou duas bandas de absorção em 3406  $\text{cm}^{-1}$  e em 3460  $\text{cm}^{-1}$  que foram relacionadas à deformação axial de ligação O-H; duas bandas de absorção em 2851  $\text{cm}^{-1}$  e em 2920  $\text{cm}^{-1}$  associadas à deformação axial de ligação C-H de carbono com configuração  $sp^3$ ; duas bandas de absorção em 1583  $\text{cm}^{-1}$  e em 1611  $\text{cm}^{-1}$  que se correlacionam com deformação axial de ligação C=C; além de uma banda fina e intensa em torno de 1116  $\text{cm}^{-1}$  compatível com deformação axial de ligação C-O. Banda específica de deformação axial C=C em anéis aromáticos foi observada em 1447  $\text{cm}^{-1}$  (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2007, PAVIA *et al.*, 2010).

Figura 56 – Espectro na região do IV (em ATR) de **BCR-1**



A análise do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de **BCR-1** (Fig. 57) indicou a presença de sinais na região entre  $\delta_{\text{H}}$  7,08 – 6,22, sugerindo a presença de hidrogênios ligados a átomos de carbono insaturados. Os sinais em  $\delta_{\text{H}}$  7,07 (1H, *t*,  $J = 8,1$  Hz),  $\delta_{\text{H}}$  6,89 (1H, *d*,  $J = 8,0$  Hz) e  $\delta_{\text{H}}$  6,59 (1H, *d*,  $J = 8,1$  Hz) foram relacionados a hidrogênios *orto* posicionados. Ainda nessa região, os dupletos em  $\delta_{\text{H}}$  6,94 (1H,  $J = 11,5$  Hz) e  $\delta_{\text{H}}$  6,63 (1H,  $J = 11,5$  Hz) indicaram a presença de hidrogênios ligados a carbonos de dupla ligação com configuração *cis*. Foi observado, ainda, um simpleto em  $\delta_{\text{H}}$  6,21 (1H). Outros sinais em  $\delta_{\text{H}}$  3,73 (3H, *s*) e  $\delta_{\text{H}}$  2,06 (3H, *s*) foram atribuídos aos hidrogênios de grupo metoxila e de grupo metila, respectivamente (PAVIA *et al.*, 2010).

Figura 57 – Espectro de RMN $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de **BCR-1**



A análise do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) (Fig. 58, p. 71) revelou 16 linhas espectrais. Através da comparação dos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  – BB e RMN  $^{13}\text{C}$  – DEPT 135 foi possível a atribuição de dois sinais referentes a carbonos metílicos ( $\text{CH}_3$ ), seis sinais referentes a carbonos metínicos ( $\text{CH}$ ) e oito sinais para carbonos desidrogenados ( $\text{C}$ ), sendo cinco deles associados a carbonos ligados a oxigênio, de acordo com a teoria do deslocamento químico (Tab. 6, p. 71).

Figura 58 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – BB e DEPT 135° (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de **BCR-1**

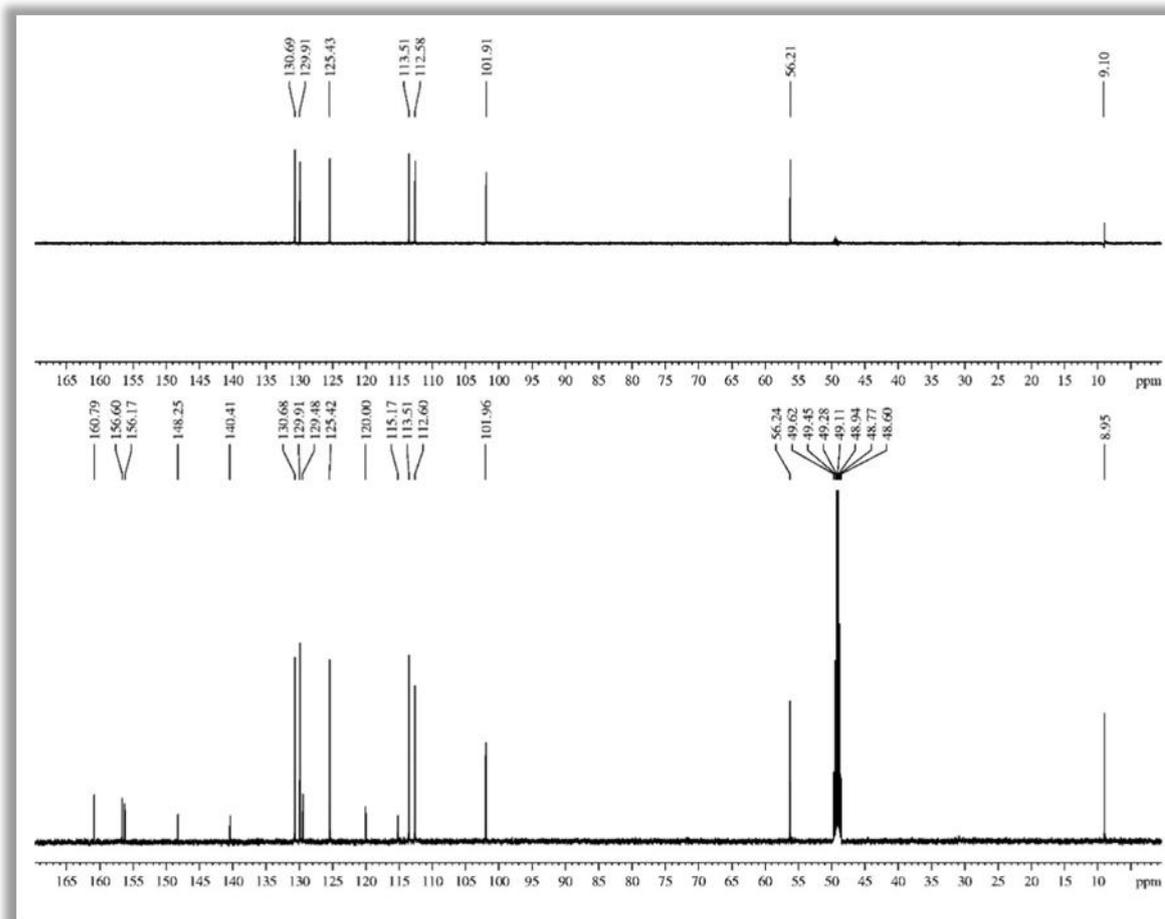


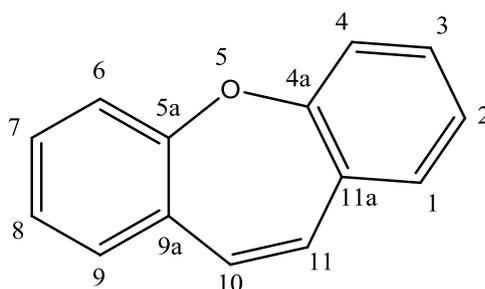
Tabela 14 – Dados de deslocamentos químicos ( $\delta$ ) de carbono-13 para **BCR-1**, obtidos por comparação entre os espectros de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB e RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT 135°

C	CH	CH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>
160,70 (C-OH)	130,69	-	56,24
156,60 (C-O)	129,91	-	8,95
156,17 (C-O)	125,43	-	
148,25 (C-OH)	113,51	-	
140,41 (C-O)	112,60	-	
129,48	101,96	-	
120,00		-	
115,17		-	
<b>8 C</b>	<b>6 CH</b>	-	<b>2 CH<sub>3</sub></b>

**Fórmula molecular estimada: C<sub>16</sub>H<sub>14</sub>O<sub>4</sub>**

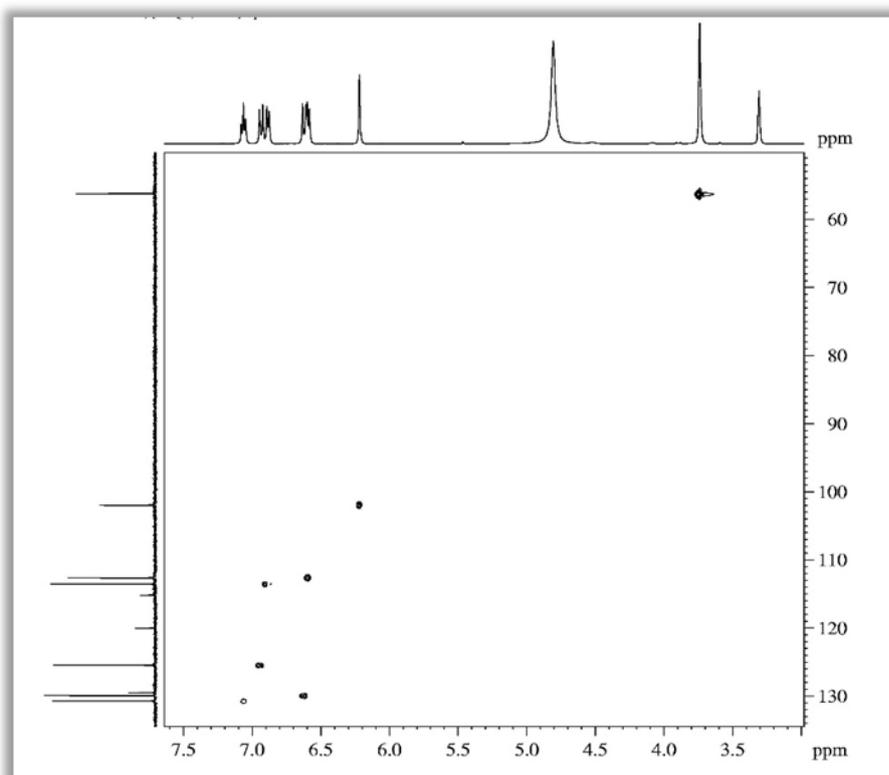
A fórmula molecular estimada de **BCR-1**,  $C_{16}H_{14}O_4$ , apresenta índice de deficiência de hidrogênio (IDH) igual a dez. Esta informação, aliada aos dados espectroscópicos já observados, levou à sugestão de que **BCR-1** pertença ao grupo dos derivados oxepínicos, classe de metabólitos secundários de ocorrência rara na natureza (PETTIT *et al.*, 2006), cujo esqueleto básico está mostrado abaixo (Figura 59).

Figura 59 – Esqueleto básico de um derivado oxepínico

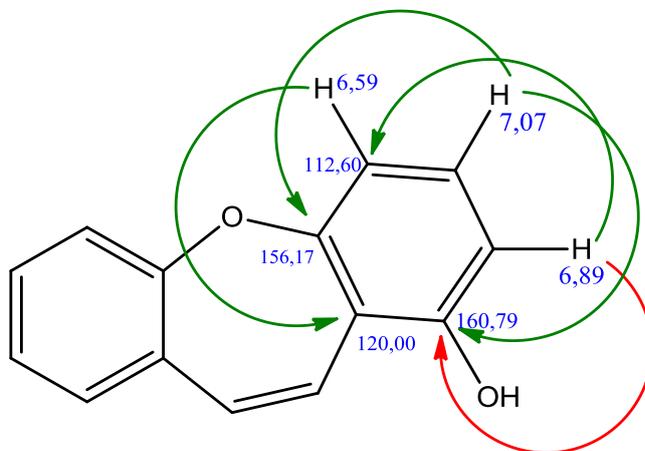


O espectro bidimensional de correlação heteronuclear por coerência quântica simples  $^{13}C \times ^1H$  - HSQC de **BCR-1** (Fig. 60) permitiu verificar a associação direta entre os hidrogênios e seus respectivos carbonos conforme mostrado na Tabela 7 (p. 77).

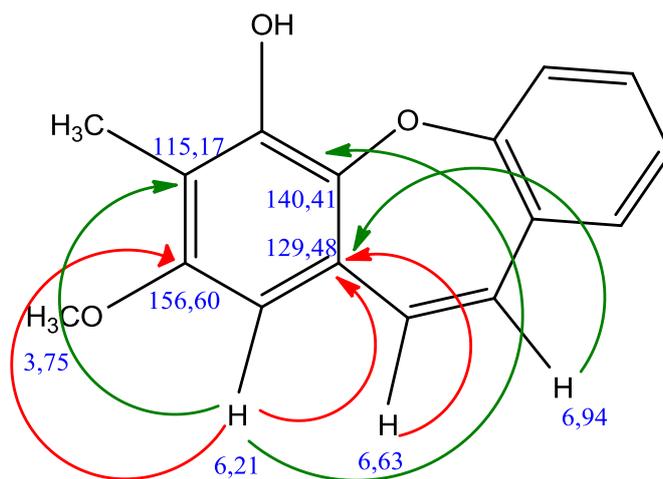
Figura 60 – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear por coerência quântica simples  $^{13}C \times ^1H$  - HSQC de **BCR-1**



Através da análise do espectro bidimensional de correlação heteronuclear por ligações múltiplas  $^{13}\text{C} \times ^1\text{H}$  – HMBC de **BCR-1** (Fig. 61, p. 76) foi possível atribuir as posições dos substituintes ligados ao esqueleto do derivado dibenzo[b,f]oxepínico. Foi possível observar a correlação a três ligações ( $^3J_{\text{CH}}$ ) entre o sinal do hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  6,89 (H-2) com o carbono em  $\delta_{\text{C}}$  112,60 (C-4) e a correlação a duas ligações ( $^2J_{\text{CH}}$ ) entre esse mesmo hidrogênio e o carbono em  $\delta_{\text{C}}$  160,79 (C-1). Associado a esse último carbono (C-1), tem-se uma correlação do tipo  $^3J_{\text{CH}}$  entre ele e o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  7,07 (H-3), o que é um indicador importante da posição de uma das hidroxilas fenólicas na estrutura. Esse mesmo hidrogênio apresenta correlação do tipo  $^3J_{\text{CH}}$  com o carbono em  $\delta_{\text{C}}$  156,17 (C-4a), que está ligado ao oxigênio que caracteriza o esqueleto oxepínico. Um *crosspeak* no espectro apresenta também a correlação do tipo  $^3J_{\text{CH}}$  entre o hidrogênio H-4 ( $\delta_{\text{H}}$  6,59) e o carbono em  $\delta_{\text{C}}$  120,00 (C-11a), que, junto com a localização do carbono 4a, indicam a fronteira entre um dos anéis benzênicos da oxepina e o anel central da mesma.



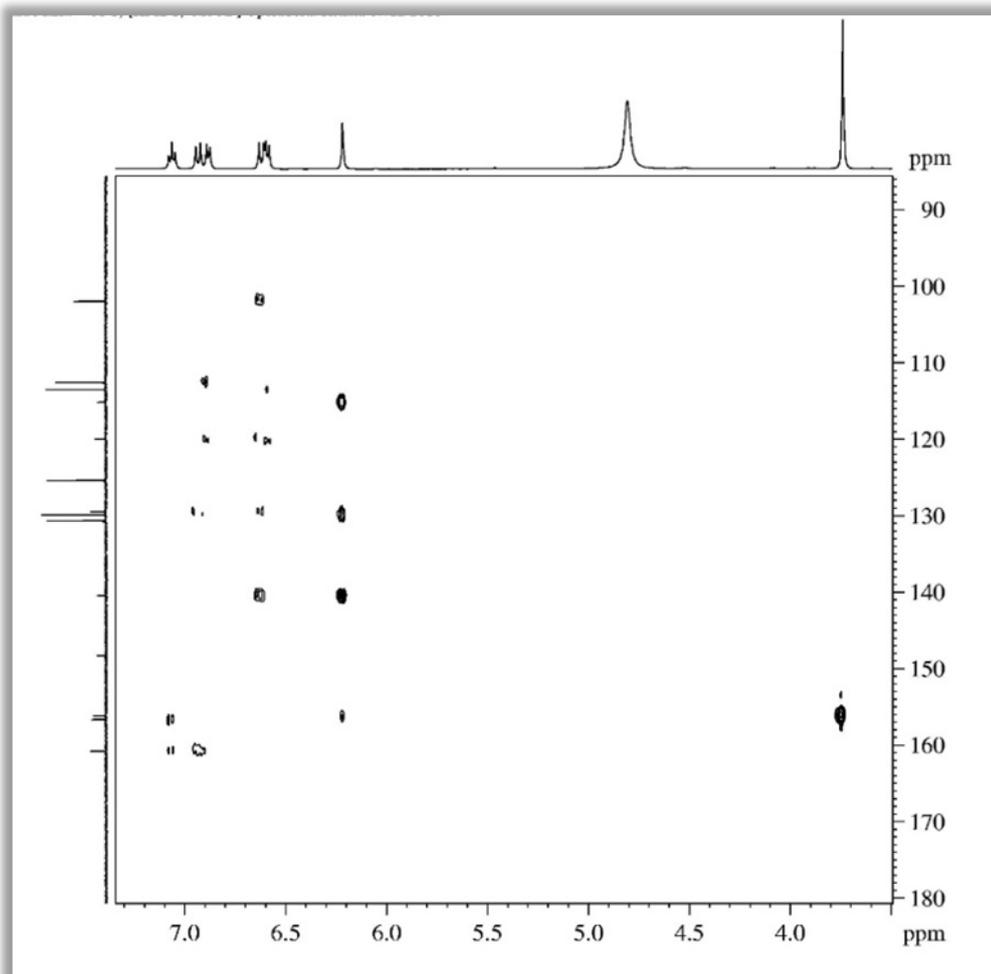
As posições dos grupos metila, metoxila e da segunda hidroxila fenólica foram determinadas analisando o outro grupo de correlações heteronucleares à longa distância, partindo-se dos *crosspeaks* associados ao hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  6,21 (H-9). Este correlaciona-se por  $^2J_{\text{CH}}$  ao carbono em  $\delta_{\text{C}}$  129,48 (C-9a), que pertence ao anel central oxepínico e ao segundo anel



aromático do grupo, assim como correlaciona-se por  $^3J_{\text{CH}}$  ao carbono em  $\delta_{\text{C}}$  140,41 (C-5a), que se liga ao átomo de oxigênio da oxepina que estabelece a estrutura do anel central da substância. Além dessas duas correlações, o mesmo H-9 relaciona-se com o carbono em  $\delta_{\text{C}}$  156,60 (C-8) por  $^2J_{\text{CH}}$  e com o carbono em  $\delta_{\text{C}}$  115,17 (C-7) por  $^3J_{\text{CH}}$ , apresentando dados para a atribuição da posição dos grupos metoxila e metila. Para o primeiro, uma correlação do tipo

$^3J_{CH}$  entre os hidrogênios em  $\delta_H$  3,75 e o carbono em  $\delta_C$  156,60 reforça a posição da metoxila no esqueleto oxepínico. Adicionalmente, outras correlações à longa distância foram observadas a partir dos hidrogênios ligados aos carbonos olefinicos. O hidrogênio em  $\delta_H$  6,94 (H-11) correlaciona-se a três ligações com o carbono em  $\delta_C$  129,48 (C-9a). Com este carbono, há também uma correlação, mas agora a duas ligações, com o hidrogênio em  $\delta_H$  6,63 (H-10), ficando estabelecida a posição do H-10 e H-11.

Figura 61 – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear por ligações múltiplas  $^{13}C \times ^1H$  – HMBC de **BCR-1**



Os dados do espectro bidimensional de correlação homonuclear  $^1\text{H} \times ^1\text{H}$  – COSY (Fig. 62) que mostram a correlação entre os hidrogênios ligados aos carbonos olefínicos, aliada aos valores de  $J$  de seus sinais no espectro de RMN  $^1\text{H}$  que é 11,5 Hz, sugeriram, inicialmente, esse posicionamento. Além disso, esses últimos dados corroboram com as vizinhanças previamente sugeridas pelos dados de HMBC. Foram verificadas correlações entre os hidrogênios H-2 ( $\delta$  6,89) e H-3 ( $\delta$  7,07) *orto* posicionados, assim como indicado pelos valores de  $J$  ( $\approx$  8,0 Hz) e os hidrogênios H-3 ( $\delta$  7,07) e H-4 ( $\delta$  6,59), também *orto* posicionados ( $J \approx$  8,0 Hz).

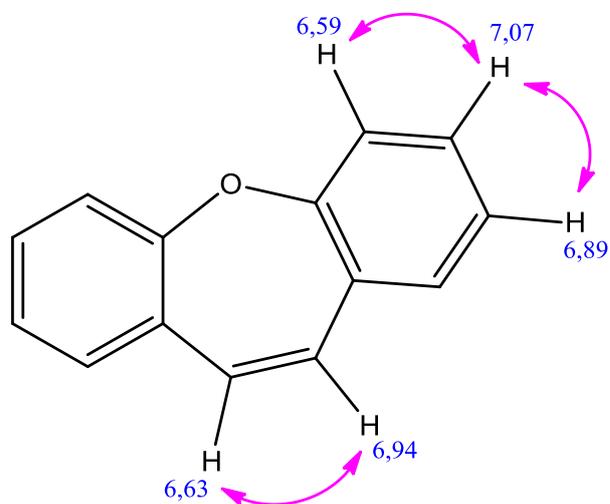
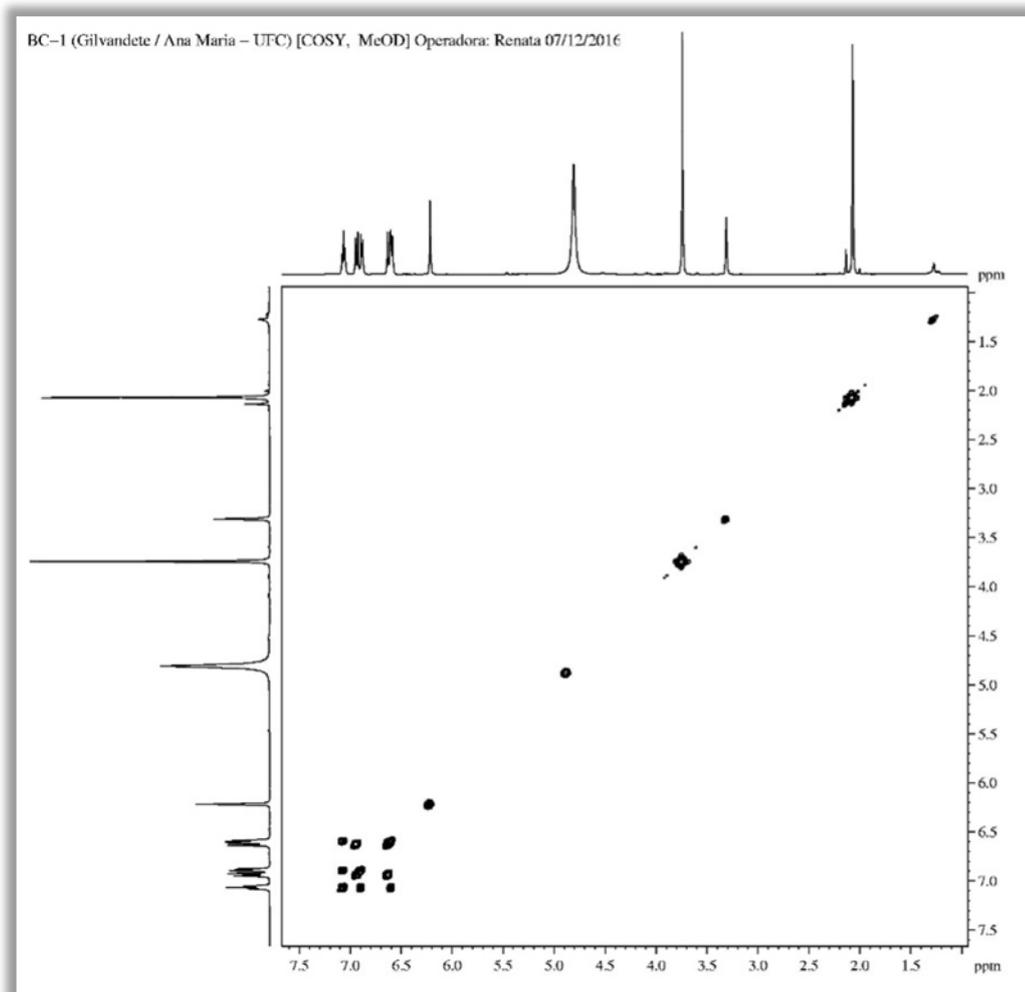
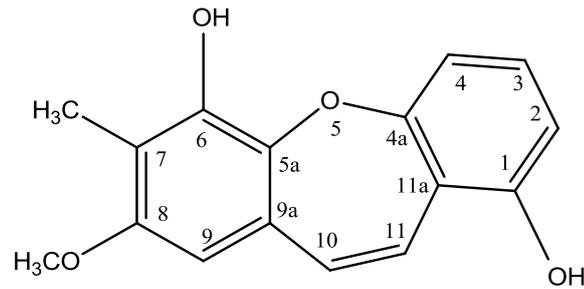


Figura 62 – Espectro bidimensional de correlação homonuclear  $^1\text{H} \times ^1\text{H}$  – COSY de **BCR-1**



A análise dos dados espectroscópicos e posterior comparação com dados descritos na literatura (GÓIS *et al.*, 2013) permitiram identificar **BCR-1** como uma substância da classe das oxepinas denominada 8-metóxi-1,6-diidróxi-7-metil-dibenzo[b,f]oxepina, conhecida vulgarmente como pacharina (Fig. 63).

Figura 63 – Estrutura da pacharina



Pacharina é uma substância que já foi isolada de outras espécies do gênero *Bauhinia* tais como *B. acuruana*, cujos autores relataram também atividade larvívica sobre *Aedes aegypti* (GÓIS *et al.*, 2013), *B. unglata* (DE SOUSA *et al.*, 2016b), *B. aculeata* (TANJUNG; SAPUTRI; TJAHJANDARIE, 2014), onde se descreve ação antioxidante sobre o padrão DPPH, *B. purpurea* (PETTIT *et al.*, 2006) e *B. racemosa* (ANJANEYULU *et al.*, 1984; AZIZUR *et al.*, 2015).

Tabela 15 – Dados espectroscópicos de **BCR-1** comparados com dados descritos na literatura (GÓIS *et al.*, 2013)

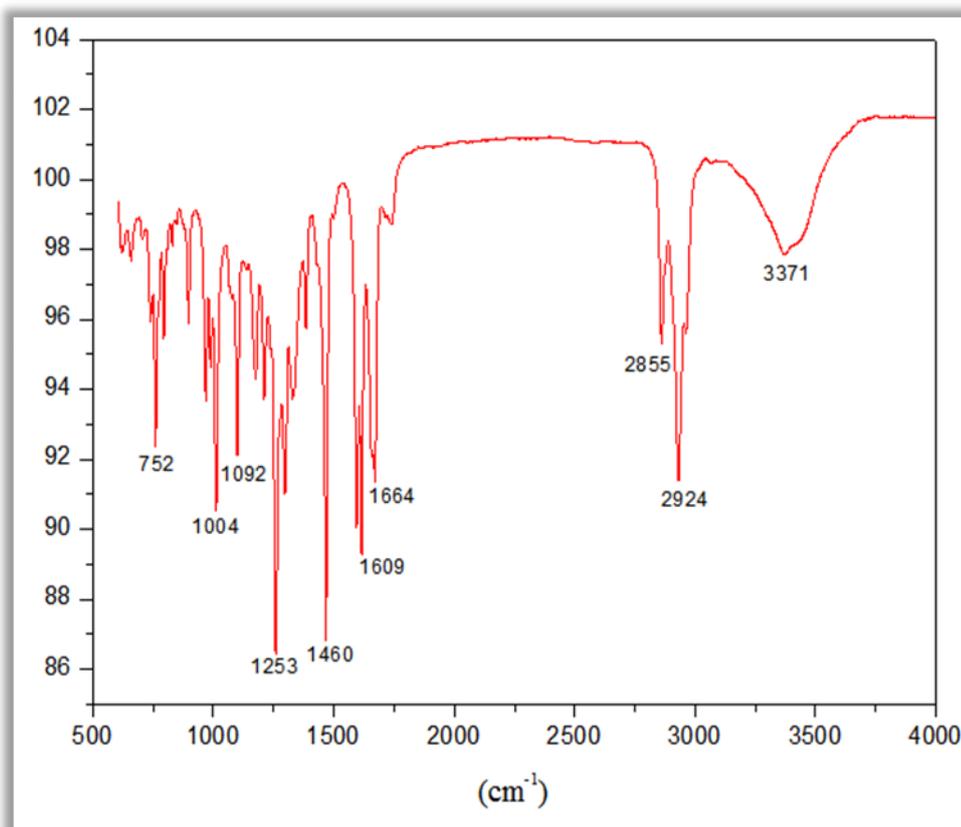
	BCR-1 (CD <sub>3</sub> OD)		HMBC		LITERATURA (CD <sub>3</sub> OD)	
	$\delta_C$ (ppm)	$\delta_H$ (ppm, multip., <i>J</i> Hz)	$^2J_{CH}$	$^3J_{CH}$	$\delta_C$ (ppm)	$\delta_H$ (ppm, multip., <i>J</i> Hz)
<b>C</b>						
<b>1</b>	160,79		H-2	H-3	160,84	
<b>4a</b>	156,17			H-3	156,21	
<b>5a</b>	140,41			H-9, H-10	140,45	
<b>6</b>	148,25				148,31	
<b>7</b>	115,17			H-9	115,19	
<b>8</b>	156,60		H-9	8-OCH <sub>3</sub>	156,65	
<b>9a</b>	129,48		H-9, H-10	H-11	129,53	
<b>11a</b>	120,00		H-11	H-10, H-4	120,04	
<b>CH</b>						
<b>2</b>	113,51	6,89 ( <i>d</i> , 8,0)		H-4	113,56	6,89 ( <i>d</i> , 8,1)
<b>3</b>	130,68	7,07 ( <i>t</i> , 8,1)			130,73	7,06 ( <i>d</i> , 8,1)
<b>4</b>	112,60	6,59 ( <i>d</i> , 8,1)		H-2	112,62	6,59 ( <i>d</i> , 8,1)
<b>9</b>	101,96	6,21 ( <i>s</i> )		H-10	101,96	6,22 ( <i>s</i> )
<b>10</b>	129,91	6,63 ( <i>d</i> , 11,5)			129,95	6,62 ( <i>d</i> , 11,5)
<b>11</b>	125,42	6,94 ( <i>d</i> , 11,5)			125,48	6,93 ( <i>d</i> , 11,5)
<b>CH<sub>3</sub></b>						
<b>8-</b>	56,24	3,75 ( <i>s</i> )			56,26	3,75 ( <i>s</i> )
<b>OCH<sub>3</sub></b>						
<b>7-CH<sub>3</sub></b>	8,95	2,06 ( <i>s</i> )			9,01	2,07 ( <i>s</i> )

#### 4.2.2 Determinação estrutural de BCR-2

O procedimento descrito no item 5.3.2.4. (p. 154) resultou na precipitação de um sólido amorfo de cor vermelha escura, solúvel em metanol, com ponto de fusão 191°C °C (P.F.literatura = 200 – 202 °C, PETTIT *et al.*, 2006), que foi denominado de **BCR-2**.

O espectro de absorção na região do infravermelho de **BCR-2** (Fig. 64) apresentou uma banda larga centrada em 3371 cm<sup>-1</sup> indicando deformação axial de ligação O-H; banda intensa em 2924 cm<sup>-1</sup> relativa à deformação axial de ligação C-H em carbono com hibridação sp<sup>3</sup>; uma banda em 1664 cm<sup>-1</sup> relacionada à deformação axial de ligação C=O; uma banda em 1460 cm<sup>-1</sup> característica de deformação axial de ligação C=C e uma banda intensa em 1253 cm<sup>-1</sup> relacionada à deformação axial de ligação C-O (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2007; PAVIA *et al.*, 2010).

Figura 64 – Espectro na região do IV (em ATR) de **BCR-2**

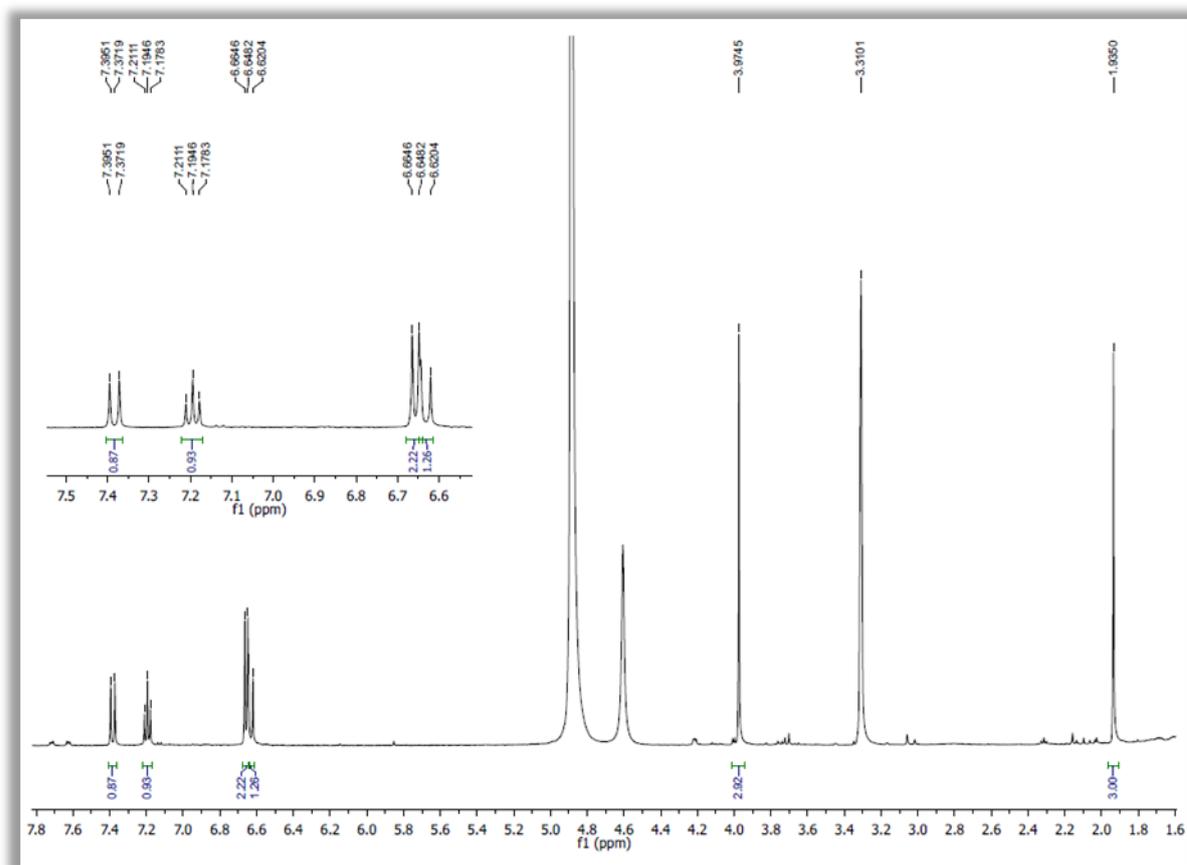


A análise do espectro de RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD<sub>3</sub>) de **BCR-2** (Fig. 65, p. 79) revelou a presença de sinais na região entre δ<sub>H</sub> 7,38 e δ<sub>H</sub> 6,63, indicando a presença de hidrogênios ligados a carbonos insaturados. Os dupletos em δ<sub>H</sub> 7,38 (1H, J = 11,6 Hz) e em δ<sub>H</sub> 6,63 (1H, J = 11,8 Hz) sugerem a existência de hidrogênios ligados a carbonos olefínicos

*cis* posicionados. Um tripleto em  $\delta_H$  7,19 (1H,  $J = 8,2$  Hz) e um duplete em  $\delta_H$  6,66 (2H,  $J = 8,2$  Hz) estão relacionados a hidrogênios pertencentes a anel aromático em posicionamento *orto*.

Um sinal em  $\delta_H$  3,97 (3H, *s*) indica a presença de hidrogênios pertencentes a carbono  $sp^3$  ligado a oxigênio, provavelmente, de grupo metoxila. Outro simpleto em  $\delta_H$  1,93 (3H) está relacionado a hidrogênios pertencentes a um grupo metila. São observados outros sinais em região abaixo de  $\delta_H$  1,5 que estão relacionados à presença de impurezas na amostra.

Figura 65 – Espectro de RMN  $^1H$  (500 MHz,  $CD_3OD$ ) de **BCR-2**

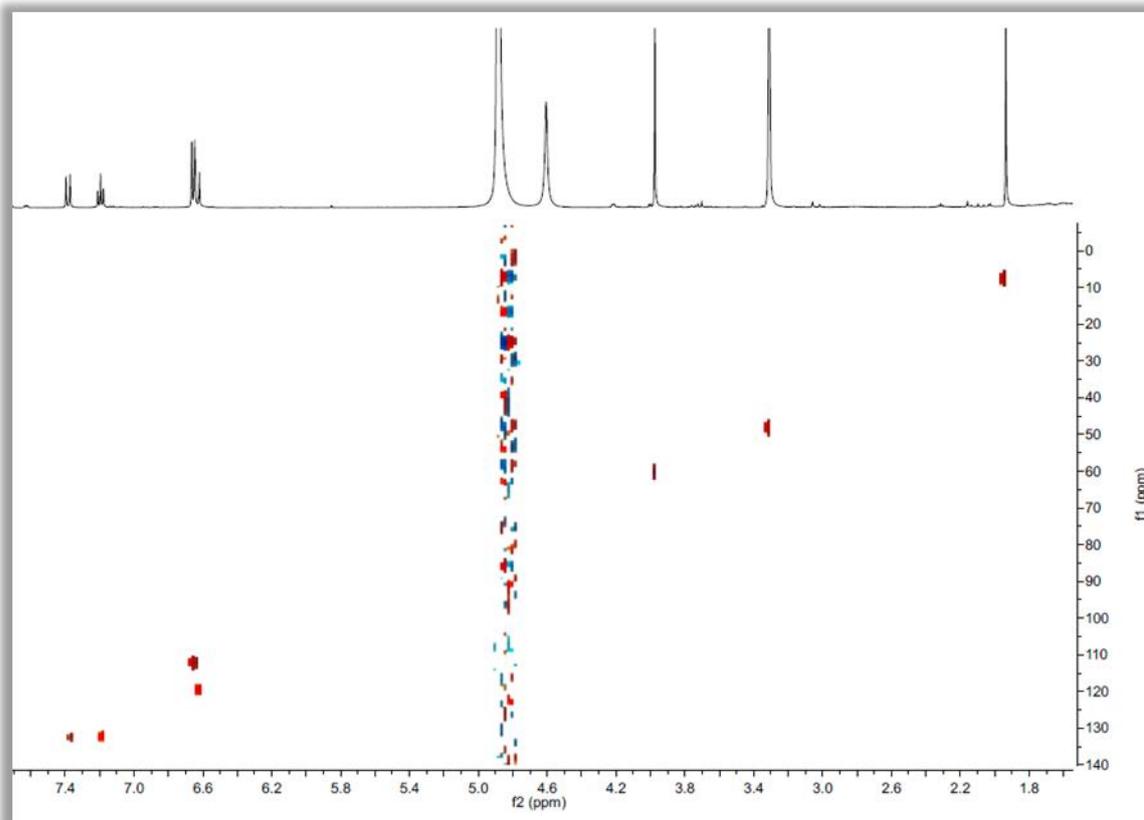


Não foi possível obter dados de RMN  $^{13}C$  de **BCR-2** pela técnica de RMN  $^{13}C$  BB e/ou RMN  $^{13}C$  – DEPT 135. A análise do espectro de bidimensional de correlação heteronuclear por coerência quântica simples  $^{13}C \times ^1H$  – HSQC (Fig. 66, p. 81) e do espectro bidimensional de correlação heteronuclear por ligações múltiplas  $^{13}C \times ^1H$  – HMBC (Fig. 68, p. 83) de **BCR-2** permitiu ter acesso aos valores de alguns deslocamentos químicos de carbonos diretamente ligados a hidrogênios e de acoplamentos à longa distância, o que permitiu construir a Tabela 8 (pág. 80).

Tabela 16 – Dados espectroscópicos de RMN de **BCR-2** comparados com os dados descritos na literatura (PETTIT *et al.*, 2006) para a Bauhiniastatina 1

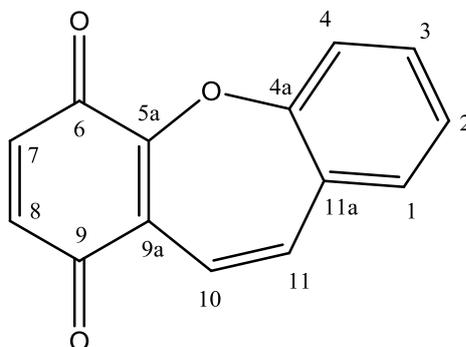
	BCR-2 (CD <sub>3</sub> OD)		HMBC		LITERATURA (CDCl <sub>3</sub> )	
	δ <sub>C</sub> (ppm)	δ <sub>H</sub> (ppm, multip., J Hz)	<sup>2</sup> J <sub>CH</sub>	<sup>3</sup> J <sub>CH</sub>	δ <sub>C</sub> (ppm)	δ <sub>H</sub> (ppm, multip., J Hz)
<b>C</b>						
<b>1</b>	156,80		H – 2	H – 11	157,1	
<b>4a</b>	155,24			H – 3	153,8	
<b>5a</b>	150,08			H – 10	150,6	
<b>6</b>	181,92			CH <sub>3</sub> – 7	182,0	
<b>7</b>	128,37		CH <sub>3</sub> – 7		128,4	
<b>8</b>	156,04		OCH <sub>3</sub> – 8	CH <sub>3</sub> – 7	155,4	
<b>9</b>	182,06			H – 10	182,5	
<b>9a</b>	127,34			H – 11	128,6	
<b>11a</b>	118,11			H – 4	118,5	
				H – 10		
<b>CH</b>						
<b>2</b>	112,30	6,66 ( <i>d</i> ; 8,2)			114,1	6,85 ( <i>dd</i> ; 8,3, 0,9)
<b>3</b>	132,60	7,19 ( <i>t</i> ; 8,2)			132,2	7,22 ( <i>t</i> ; 8,3)
<b>4</b>	111,76	6,66 ( <i>d</i> ; 8,2)		H – 2	112,8	6,63 ( <i>dd</i> ; 8,3, 0,9)
<b>10</b>	119,62	6,63 ( <i>d</i> ; 11,8)			121,1	6,74 ( <i>d</i> ; 11,7)
<b>11</b>	132,46	7,38 ( <i>d</i> ; 11,6)			131,7	7,37 ( <i>d</i> ; 11,7)
<b>CH<sub>3</sub></b>						
<b>CH<sub>3</sub> - 7</b>	7,29	1,93 ( <i>s</i> )			8,8	1,98, <i>s</i>
<b>OCH<sub>3</sub> - 8</b>	60,26	3,97 ( <i>s</i> )			61,1	3,99, <i>s</i>

Figura 66 – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear por coerência quântica simples  $^{13}\text{C} \times ^1\text{H}$  – HSQC de **BCR-2**

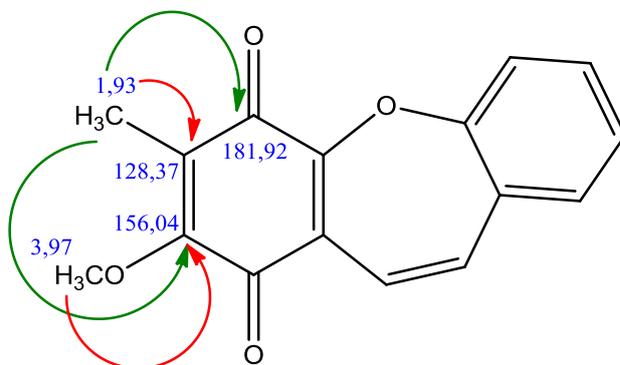


A partir da análise descrita acima, pode-se obter como fórmula molecular sugerida de  $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_5$ . O valor do IDH calculado igual a dez, destacando os sinais para hidrogênios ligados a carbonos olefínicos em posição *cis*, juntamente com a revisão de literatura, permitiu concluir que **BCR-2** tratava-se também de um derivado oxepínico, diferindo de **BCR-1** pela presença de um anel ciclo-hexadienona. A Figura 67 mostra o esqueleto básico de **BCR-2**.

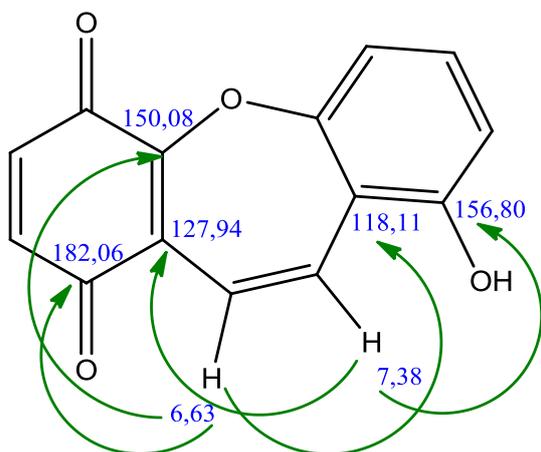
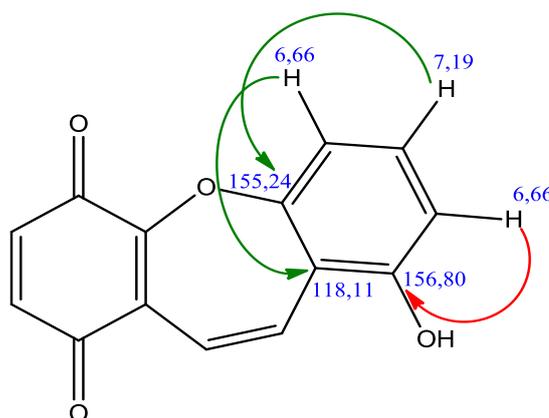
Figura 67 – Esqueleto básico de **BCR-2**



A interpretação do espectro bidimensional de correlação heteronuclear por ligações múltiplas  $^{13}\text{C} \times ^1\text{H} - \text{HMBC}$  de **BCR-2** (Fig. 68, p. 83) permitiu observar acoplamentos a longa distância nos três anéis que compõem o esqueleto da substância. Na ciclo-hexadienona, verificou-se correlações do tipo  $^3J$  entre os hidrogênios do grupo metila ( $\delta_{\text{H}}$  1,93) e os carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  181,92 (C-6), correspondente a uma carbonila, e em  $\delta_{\text{C}}$  156,04 (C-8), um carbono oxigenado. Os mesmos hidrogênios estão correlacionados a duas ligações de distância ao carbono em  $\delta_{\text{C}}$  128,37 (C-7), informação que confirma a posição da metila nesse esqueleto. Os hidrogênios pertencentes ao grupo metoxila ( $\delta_{\text{H}}$  3,97) realizam acoplamento do tipo  $^3J$  com o carbono C-8 ( $\delta_{\text{C}}$  156,04), atestando o posicionamento deste grupo no esqueleto de **BCR-2**.



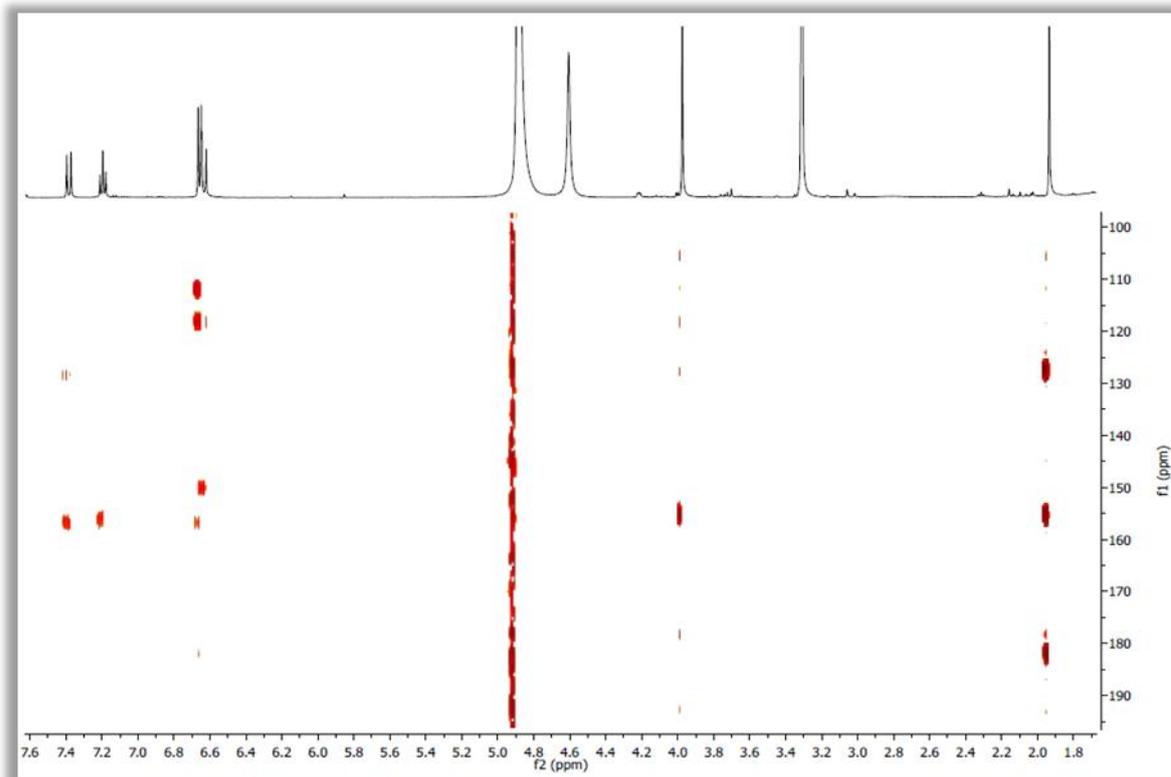
No anel aromático, correlações envolvendo os hidrogênios *ortho* são observadas. H-2, em  $\delta_{\text{H}}$  6,66, está correlacionado a duas ligações de distância ao carbono oxigenado em  $\delta_{\text{C}}$  156,80 (C-1), sugerindo, portanto, a posição do grupo hidroxila adjacente ao anel central oxepínico. O hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  7,19 (H-3) correlaciona-se com o carbono em  $\delta_{\text{C}}$  155,24 (C-4a) a três ligações de distância, que está na fronteira entre os dois anéis da estrutura. O hidrogênio 4, em  $\delta_{\text{H}}$  6,66, realiza acoplamento do tipo  $^3J$  com o carbono olefínico em  $\delta_{\text{C}}$  118,11 (C-11a) pertencente ao anel oxepínico.



No centro do esqueleto, os hidrogênios pertencentes aos carbonos olefínicos 10 e 11 mostram correlações que comprovam a estrutura de **BCR-2**. O hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  6,63 (H-10) faz acoplamentos do tipo  $^3J$  com o carbono em  $\delta_{\text{C}}$  150,08 (C-5a) e com o carbono em  $\delta_{\text{C}}$  118,11 (C-11a). O mesmo hidrogênio apresenta correlação com o carbono em  $\delta_{\text{C}}$

182,06 (C-9) a três ligações, confirmando, portanto, a posição da segunda carbonila na estrutura. O hidrogênio em  $\delta_H$  7,38 (C-11) correlaciona-se a três ligações de distância do carbono 1 ( $\delta_C$  156,80) que sustenta o grupo hidroxila e também com o carbono 9a ( $\delta_C$  127,94), vizinho a uma das carbonilas do anel ciclo-hexadienona.

Figura 68 – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear por ligações múltiplas  $^{13}\text{C} \times ^1\text{H}$  – HMBC de **BCR-2**



O espectro bidimensional de correlação homonuclear  $^1\text{H} \times ^1\text{H}$  – COSY de **BCR-2** (Fig. 69, p. 84) mostrou uma correlação que associa os hidrogênios em  $\delta_H$  7,38 (H-11) e em  $\delta_H$  6,63 (H-10), ressaltando suas configurações relativas *cis* e outros *croospeaks* que envolviam os hidrogênios em  $\delta_H$  7,19 (H-3) e em  $\delta_H$  6,66 (H-4 e/ou H-2), complementando o fato de que eles estão em posicionamento *orto* no anel aromático.

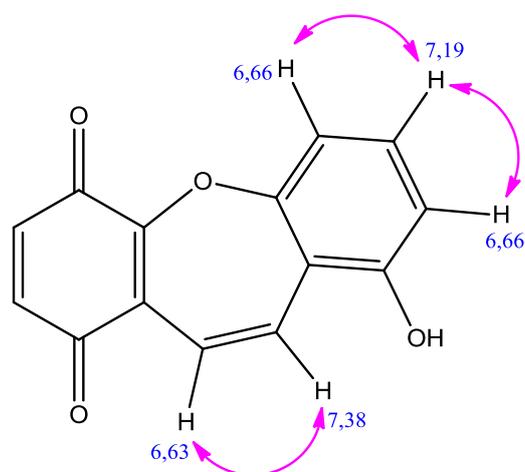
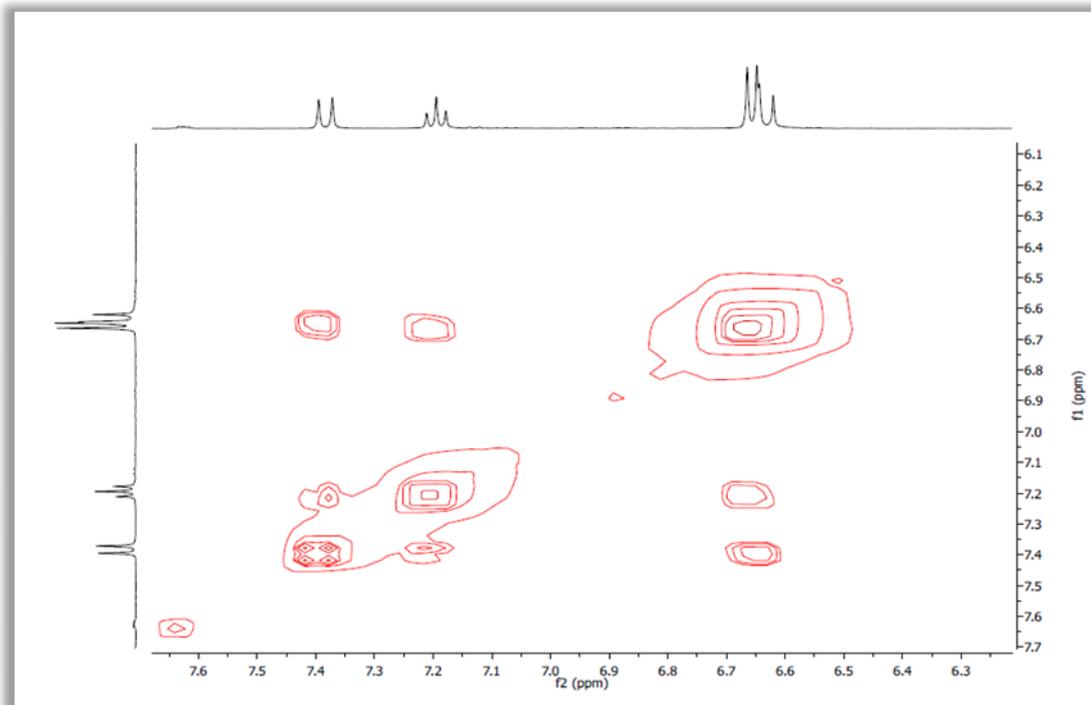
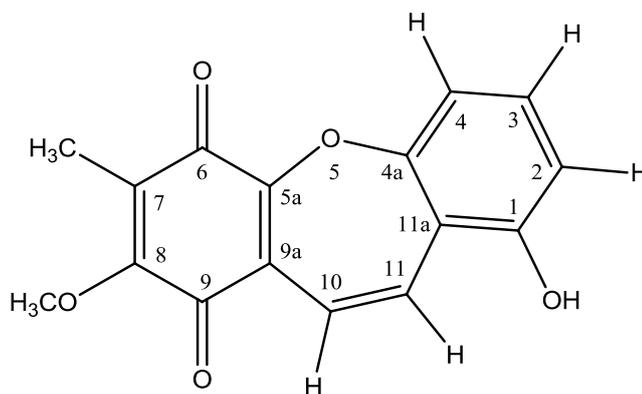


Figura 69 – Espectro bidimensional de correlação homonuclear  $^1\text{H} \times ^1\text{H}$  – COSY de **BCR-2**



A reunião dos dados espectroscópicos e posterior comparação com dados descritos na literatura permitiram a identificação de **BCR-2** como sendo 8-metoxi-1-hidroxi-7-metil-benzo[b,f]oxepina-6,9-diona, conhecida, vulgarmente como bauhiniastatina 1 (Fig. 70). Essa substância foi previamente isolada de *B. purpurea* (PETTIT *et al.*, 2006) e *B. acuruana* (GÓIS, 2014), sendo isolada a primeira vez em *B. cheilantha*. Vale ressaltar que essa substância já apresentou atividade frente a algumas linhagens de células neoplásicas incluindo a P388, um tipo de leucemia (PETTIT *et al.*, 2006).

Figura 70 – Estrutura da bauhiniastatina 1

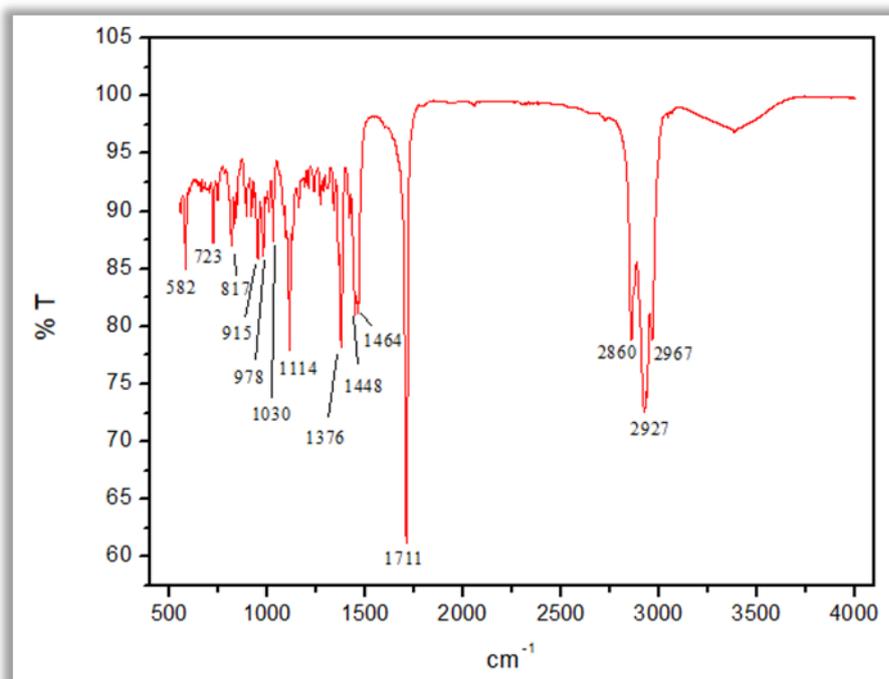


### 4.2.3 Determinação estrutural de BCR-3

O tratamento cromatográfico de **FA1BCR**, conforme procedimento descrito no item 5.3.2.5 (p. 156), resultou na precipitação de 6,3 mg de um sólido branco, solúvel em diclorometano, com rotação óptica específica  $[\alpha]_D^{20} + 25,1^\circ$  ( $c$  0,1;  $\text{CHCl}_3$ ), (lit.  $[\alpha]_D^{20} + 24^\circ$ ; ( $c$  0,31;  $\text{CHCl}_3$ ) (BARTON, 1951)) e ponto de fusão  $95^\circ\text{C}$  ((P.F.literatura =  $109^\circ\text{C}$ ; BARTON, 1951), que foi denominado **BCR-3**.

O espectro de absorção na região do infravermelho de **BCR-3** (Fig. 71) apresentou bandas em  $2860\text{ cm}^{-1}$  e  $2967\text{ cm}^{-1}$  que se relacionam com deformação axial de ligação C-H de carbono com hibridação  $sp^3$ ; uma banda intensa em  $1711\text{ cm}^{-1}$ , associada à deformação axial de ligação C=O; uma banda estreita em  $1448\text{ cm}^{-1}$  compatível com deformação angular de C-H em cicloalcanos e uma banda em  $1114\text{ cm}^{-1}$ , característica de deformações axial e angular de C-CO-C (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2007; PAVIA *et al.*, 2010).

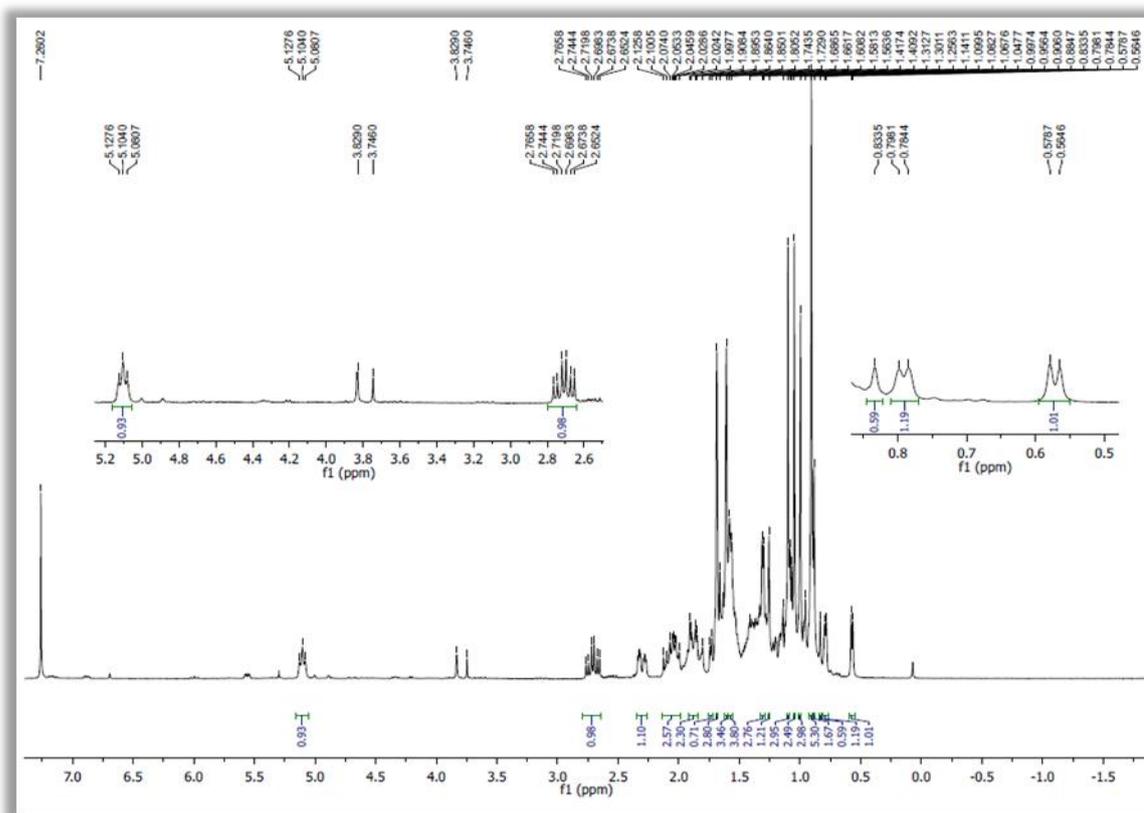
Figura 71 – Espectro na região do IV (em ATR) de BCR-3



A análise do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **BCR-3** (Fig. 72, p. 86) revelou vários sinais na região entre  $\delta_{\text{H}}$  0,56 e  $\delta_{\text{H}}$  2,29, onde destacam-se seis simpletos intensos, que se referem a hidrogênios de grupos metila, com dois deles em região de maior desproteção em relação aos demais ( $\delta_{\text{H}}$  1,61 e  $\delta_{\text{H}}$  1,69). O sinal em  $\delta_{\text{H}}$  0,91, que de acordo

com a integração, faz referência a seis átomos de hidrogênio, é, portanto, atribuído a hidrogênios de dois grupos metila. Salienta-se a existência de dois dupletos blindados, em  $\delta_H$  0,58 (1H,  $J = 4,2$  Hz) e em  $\delta_H$  0,80 (1H,  $J = 4,0$  Hz) que indicam a presença de hidrogênios metilênicos de ciclopropano (GANDHE *et al.*, 2013). Um tripleto de duplete em  $\delta_H$  2,71 (1H,  $J = 13,8$  e 6,4 Hz) e um duplo duplete de duplete em  $\delta_H$  2,30 (1H,  $J = 14,0$ ; 4,2 e 2,7 Hz) incita informações a respeito de hidrogênios em posição  $\alpha$  a átomo de carbono carbonílico em relação às suas posições, perante o cone de proteção carbonílico. A existência de um sinal em  $\delta_H$  5,13 (1H,  $J = 7,0$  Hz) propõe a presença de um hidrogênio ligado a carbono olefínico (CAMARGO *et al.*, 2013) e a multiplicidade deste sinal ( $t$ ) indica que este acopla com hidrogênios vicinais, pertencendo a uma porção olefínica trissubstituída.

Figura 72 – Espectro de RMN  $^1H$  (300 MHz,  $CDCl_3$ ) de **BCR-3**



anteriormente pelo espectro de absorção na região do infravermelho. A Tabela 9 (p. 88) dispõe das informações descritas acima.

Figura 73 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **BCR-3**

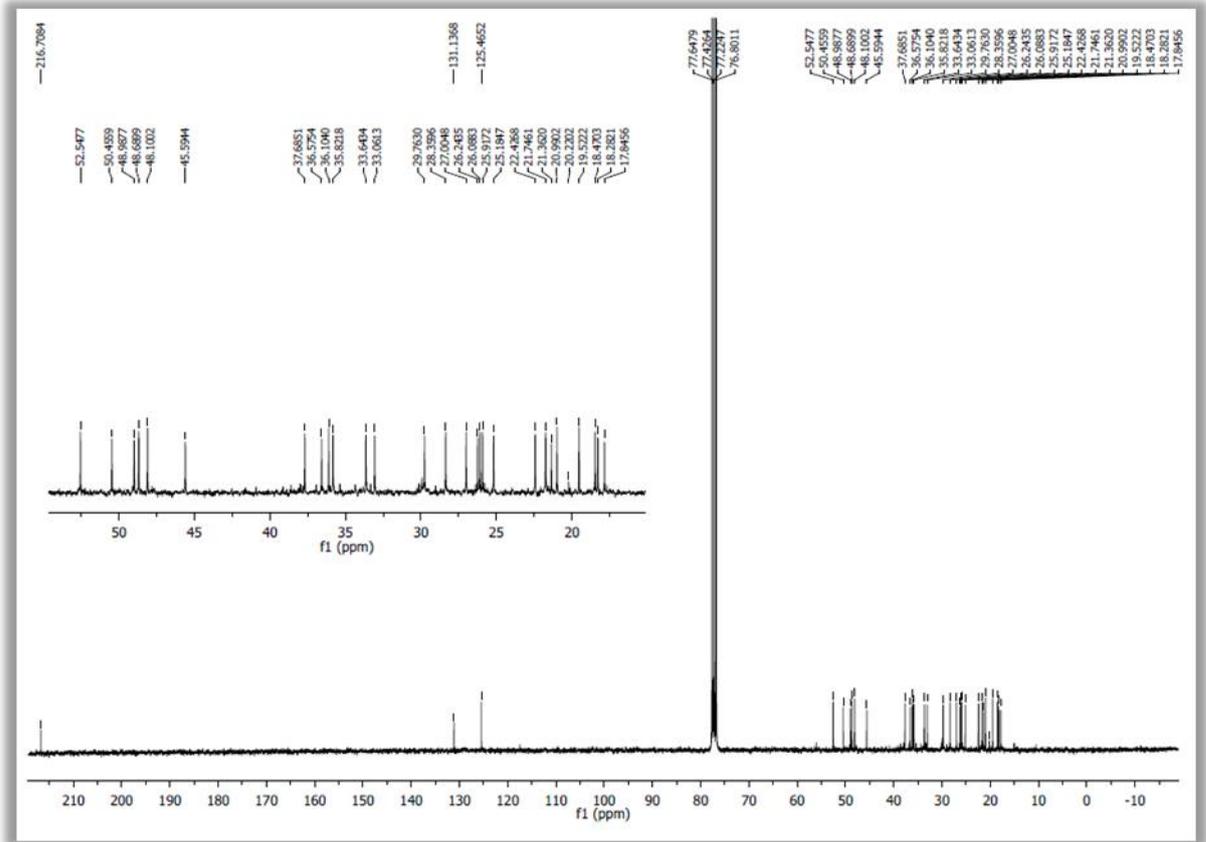
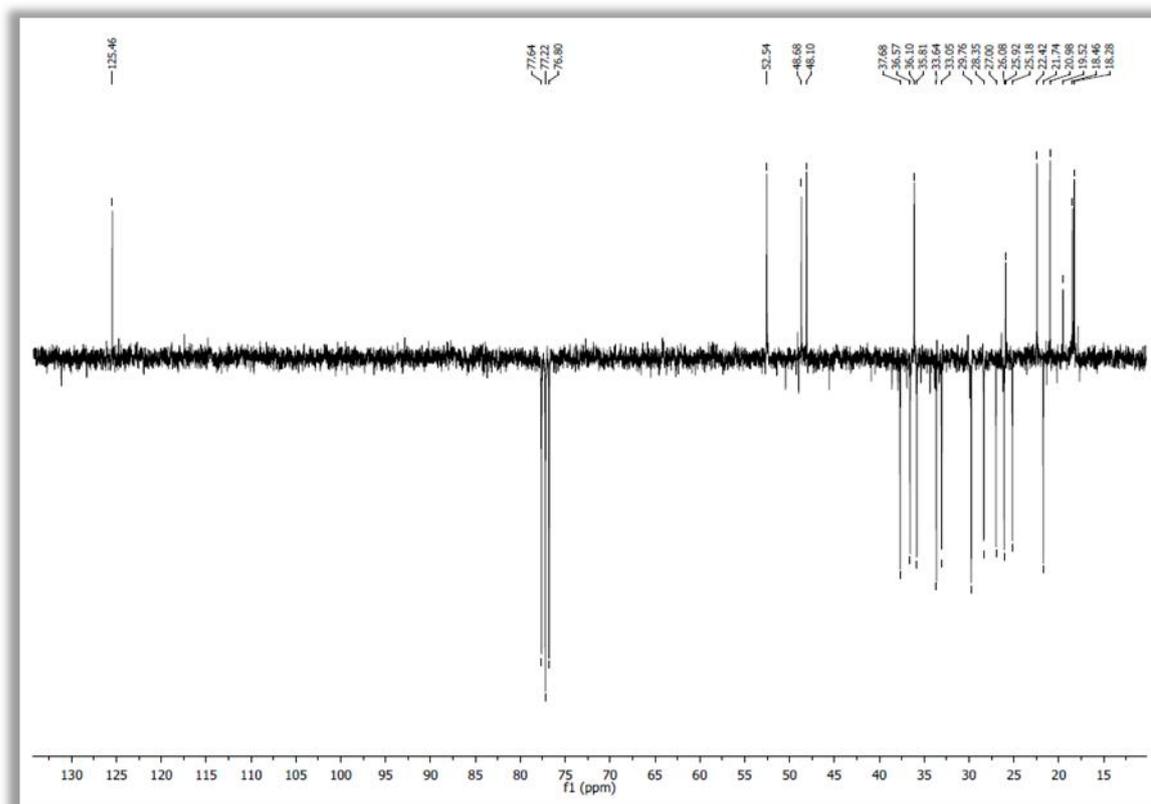
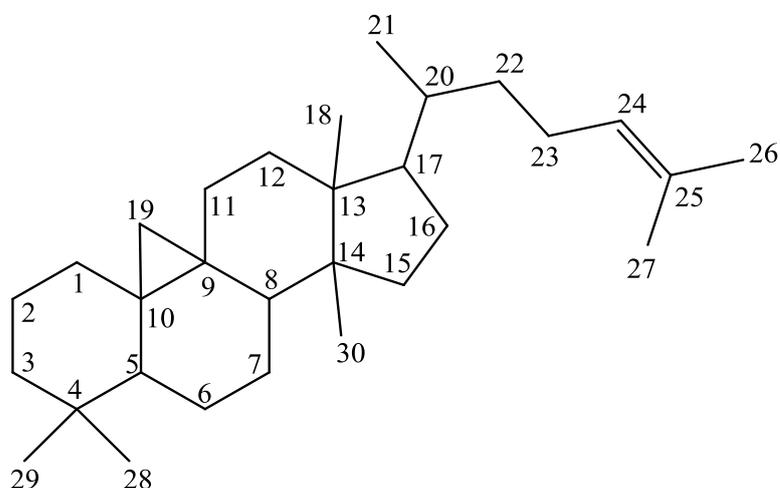


Figura 74 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – DEPT 135° de **BCR-3**Tabela 17 – Dados de deslocamentos químicos ( $\delta$ ) de carbono-13 para **BCR-3**, obtidos por comparação entre os espectros de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB e RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT 135°

C	CH	CH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>
216,71 (C=O)	125,47	37,69	25,92
131,14	52,55	36,58	22,43
50,46	48,70	35,83	21,75
48,99	48,11	33,65	21,00
45,60	36,11	33,07	19,53
26,25	-	29,93	18,48
21,37	-	29,77	18,29
-	-	28,37	-
-	-	27,01	-
-	-	26,09	-
-	-	25,19	-
<b>7 C</b>	<b>5 CH</b>	<b>11 CH<sub>2</sub></b>	<b>7 CH<sub>3</sub></b>
<b>Fórmula molecular estimada: C<sub>30</sub>H<sub>48</sub>O</b>			

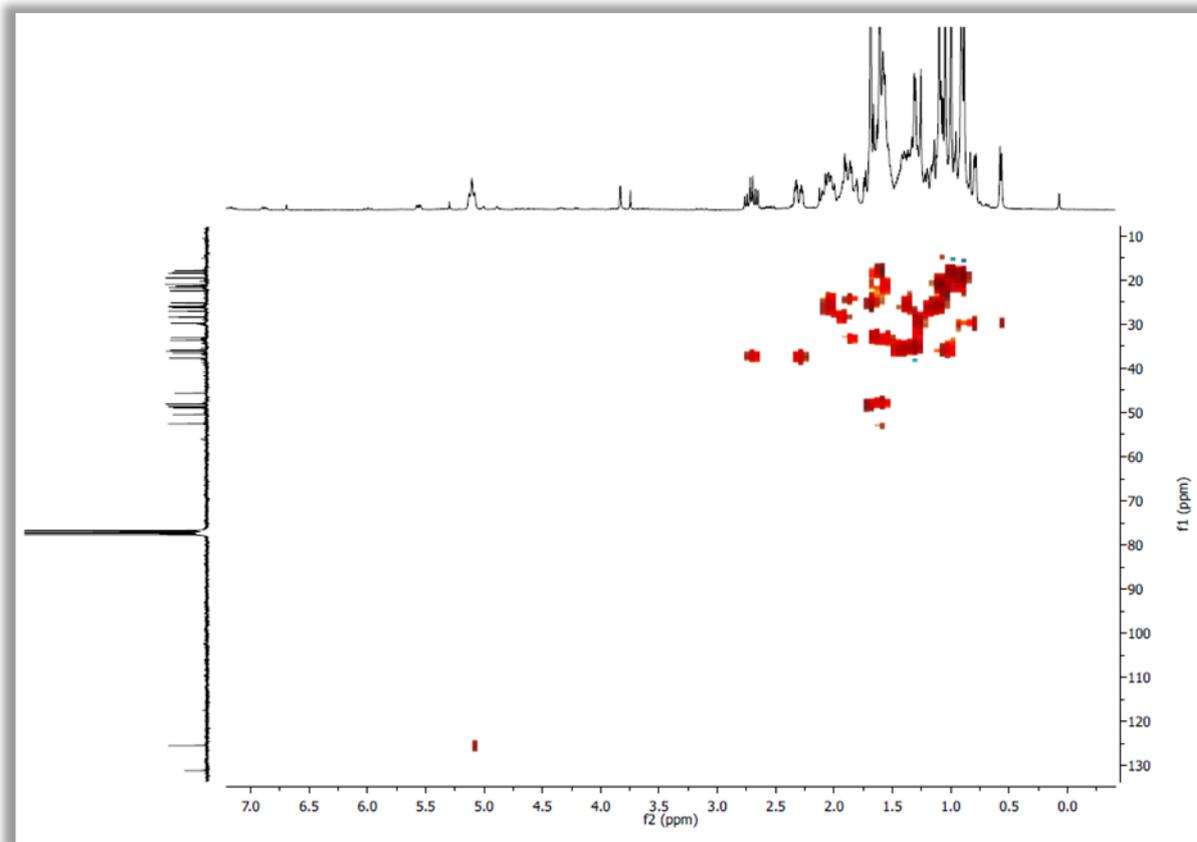
Com base nos dados descritos anteriormente, foi possível estimar a fórmula molecular  $C_{30}H_{48}O$ , cujo índice de deficiência de hidrogênios (IDH) é igual a sete, compatível com uma estrutura contendo um esqueleto triterpênico pentacíclico, uma carbonila e uma ligação dupla. A partir da observação dos sinais de carbono em  $\delta_C$  131,14 e  $\delta_C$  125,47 em comparação com dados descritos na literatura (OLEA; ROQUE, 1990), juntamente com os sinais em  $\delta_H$  0,58 e  $\delta_H$  0,82 atribuídos aos hidrogênios metilênicos do ciclopropano, foi possível estabelecer que **BCR-3** tratava-se de uma substância com esqueleto triterpênico da classe dos 9,19-ciclolanostan-24-eno, também conhecidos como cicloartanos (Fig. 75).

Figura 75 – Esqueleto do tipo cicloartano

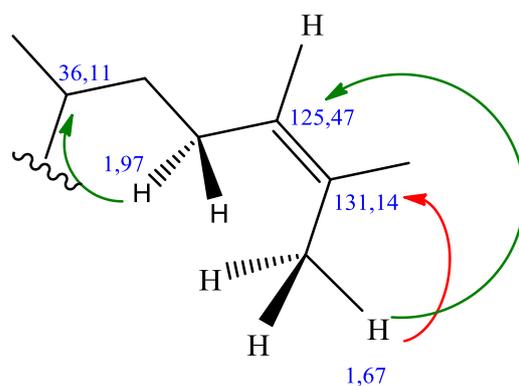


O espectro bidimensional de correlação heteronuclear por coerência quântica simples  $^{13}C \times ^1H$  - HSQC de **BCR-3** (Fig. 76, p. 90) apresentou a associação direta entre os hidrogênios e seus respectivos carbonos conforme mostrado na Tabela 10 (p. 95).

Figura 76 – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear por coerência quântica simples  $^{13}\text{C} \times ^1\text{H}$  - HSQC de **BCR-3**

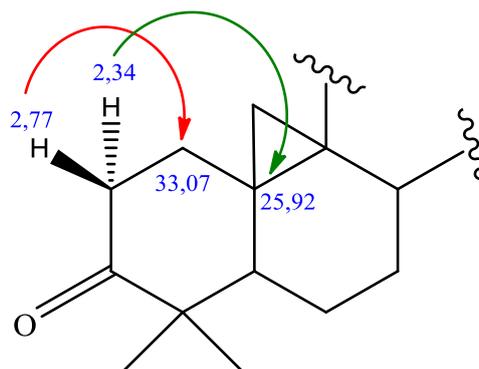


Pela análise do espectro de correlação heteronuclear por ligações múltiplas  $^{13}\text{C} \times ^1\text{H}$  - HMBC (Fig. 77, p. 92) foi possível observar algumas correlações que comprovam a existência desse esqueleto para **BCR-3**. Na porção acíclica da estrutura, o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  1,97 (H-23a) correlaciona-se com o carbono em  $\delta_{\text{C}}$  36,11 (C-20) a três

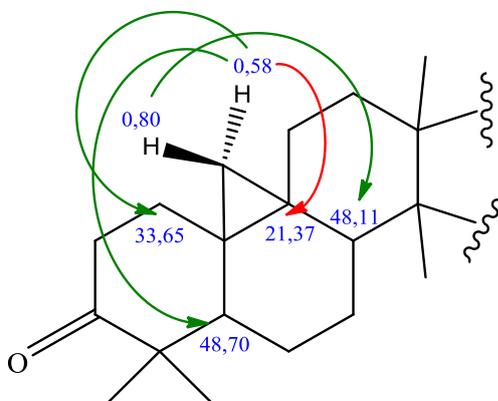


ligações de distância. Correlações envolvendo os carbonos olefínicos são observadas a partir de um *croospeak* envolvendo os hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  1,67 (H-27) e os carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  125,47 (C-24) e em  $\delta_{\text{C}}$  131,14 (C-25) a três e duas ligações de distância, respectivamente.

No anel A do esqueleto triterpênico, o hidrogênio em  $\delta_H$  2,77 (H-2 $ax$ ) realiza acoplamento do tipo  $^2J$  com o carbono em  $\delta_C$  33,07 (C-1) e o hidrogênio em  $\delta_H$  2,34 (H-2 $eq$ ) apresenta acoplamento com o carbono em  $\delta_C$  25,92 (C-10) do tipo  $^3J$ .



Os hidrogênios ciclopropânicos (H-19) apresentam correlações relevantes. Aquele com sinal em  $\delta_H$  0,80 correlaciona-se com o carbono em  $\delta_C$  48,11 (C-8) e o outro em  $\delta_H$  0,58 correlaciona-se com o carbono em  $\delta_C$  48,70 (C-5) e com o carbono em  $\delta_C$  33,65 (C-1), todas do tipo  $^3J$ . Esse último hidrogênio também exibe uma associação, a duas ligações de distância, com o carbono em  $\delta_C$  21,37 (C-9).



O espectro bidimensional de correlação homonuclear  $^1H \times ^1H$  – COSY (Fig. 78, p. 92, Fig. 79 e Fig. 80, p. 93)

mostrou correlações entre os

hidrogênios em  $\delta_H$  5,13 ( $t$ ,  $J = 7,0$  Hz, H-24) e o hidrogênio vicinal  $\delta_H$  1,97 ( $m$ , H-23b). Os hidrogênios geminais em  $\delta_H$  2,77 ( $td$ ,  $J = 13,8$  e 6,4, H-2a) e em  $\delta_H$  2,34 ( $ddd$ ,  $J = 14,0$ ; 4,2 e 2,7, H-2b) tem sua correlação apresentada como um *crosspeak* no espectro. O valor de  $J$  para H-2a é motivado pela existência de acoplamento do tipo *axial-axial* com um hidrogênio vicinal do anel A triterpênico na posição 1 e para H-2b, as constantes de acoplamento manifestam a presença de acoplamento com hidrogênios vicinais em posição equatorial do anel ciclohexânico. Os hidrogênios metilênicos do ciclopropano,  $\delta_H$  0,58 ( $d$ ,  $J = 4,2$  Hz, H-19a) e  $\delta_H$  0,80 ( $d$ ,  $J = 4,2$  Hz, H-19b) exibem acoplamento geminal no mapa de COSY como insinuado pelo valor da constante de acoplamento.

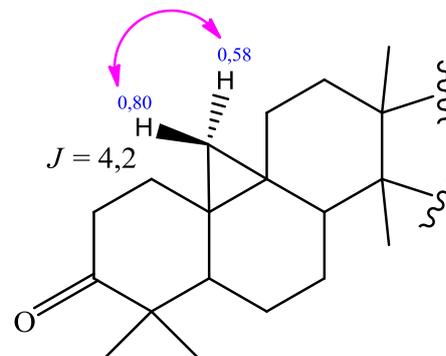
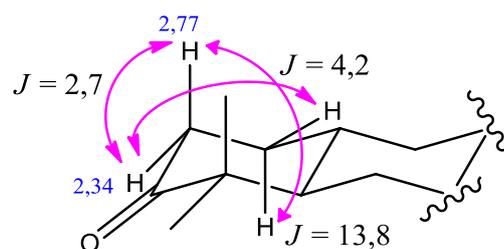
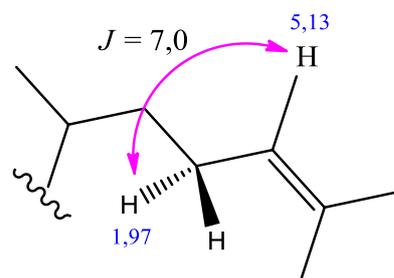


Figura 77 – Espectro de correlação heteronuclear por ligações múltiplas  $^{13}\text{C} \times ^1\text{H}$  – HMBC de **BCR-3**

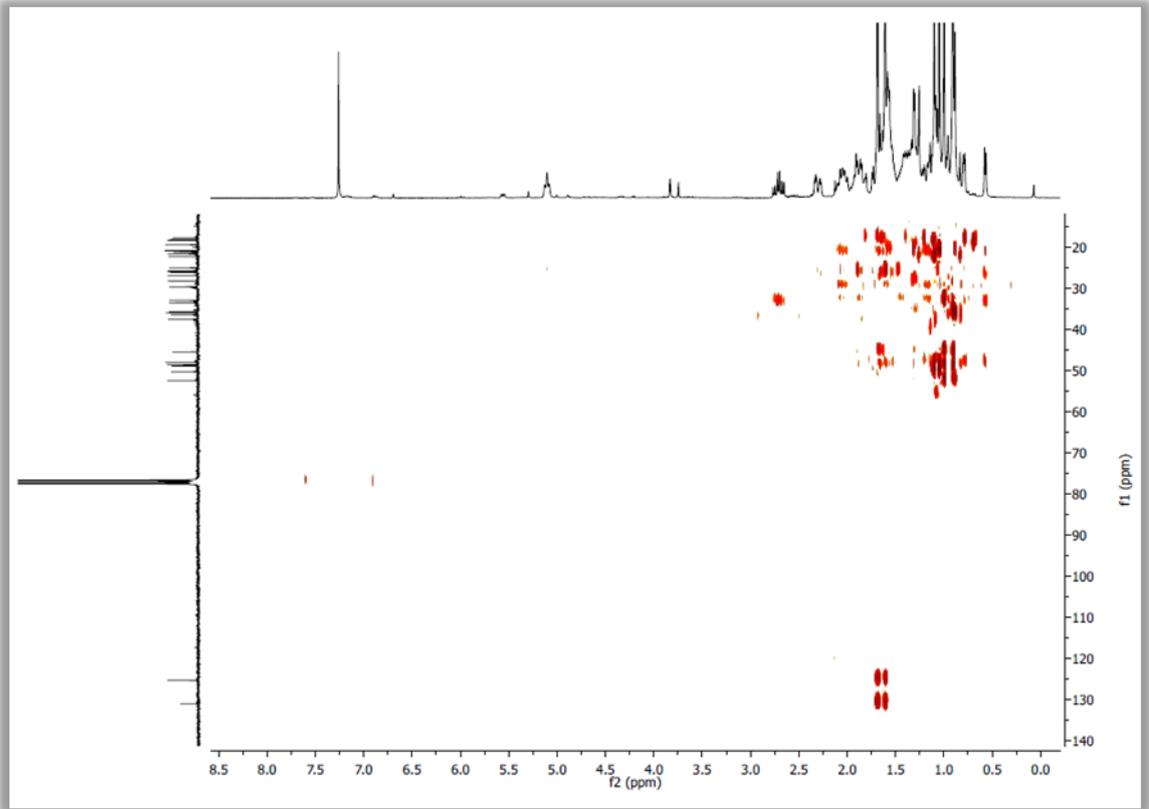


Figura 78 – Espectro bidimensional de correlação homonuclear  $^1\text{H} \times ^1\text{H}$  – COSY de **BCR-3**

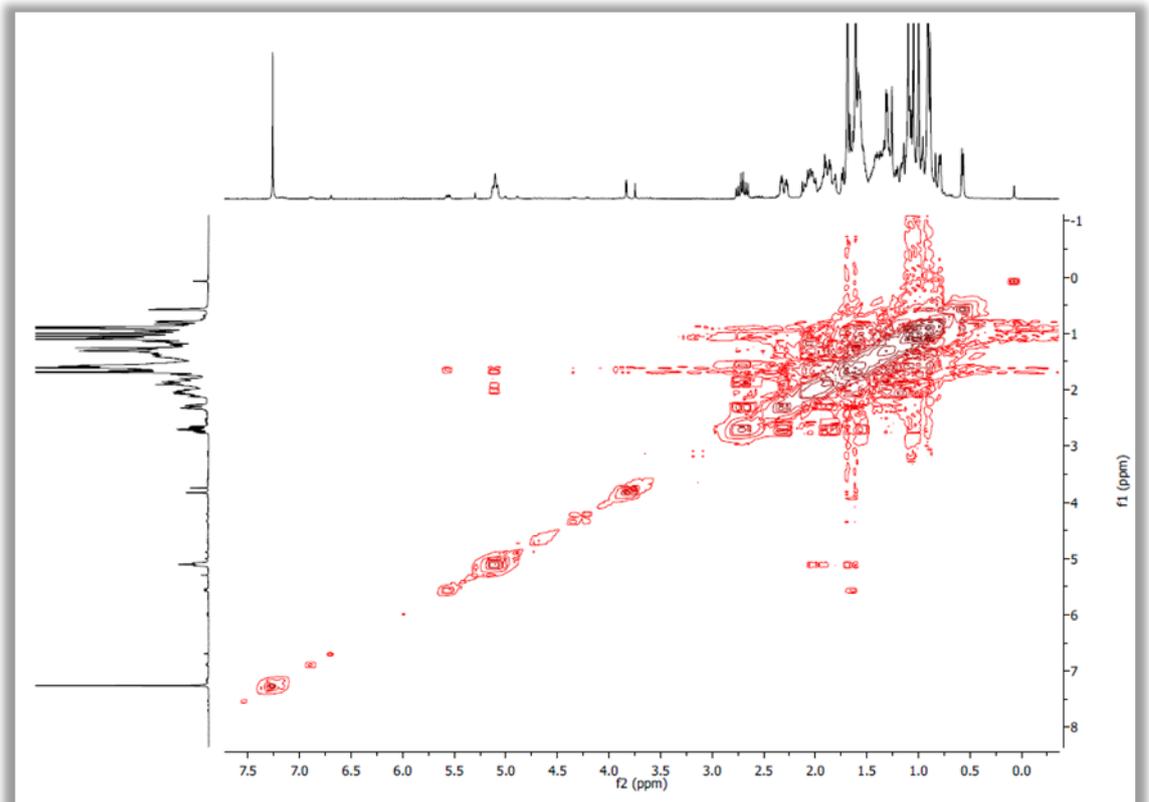


Figura 79 – Expansão do espectro bidimensional de correlação homonuclear  $^1\text{H} \times ^1\text{H}$  – COSY de **BCR-3**

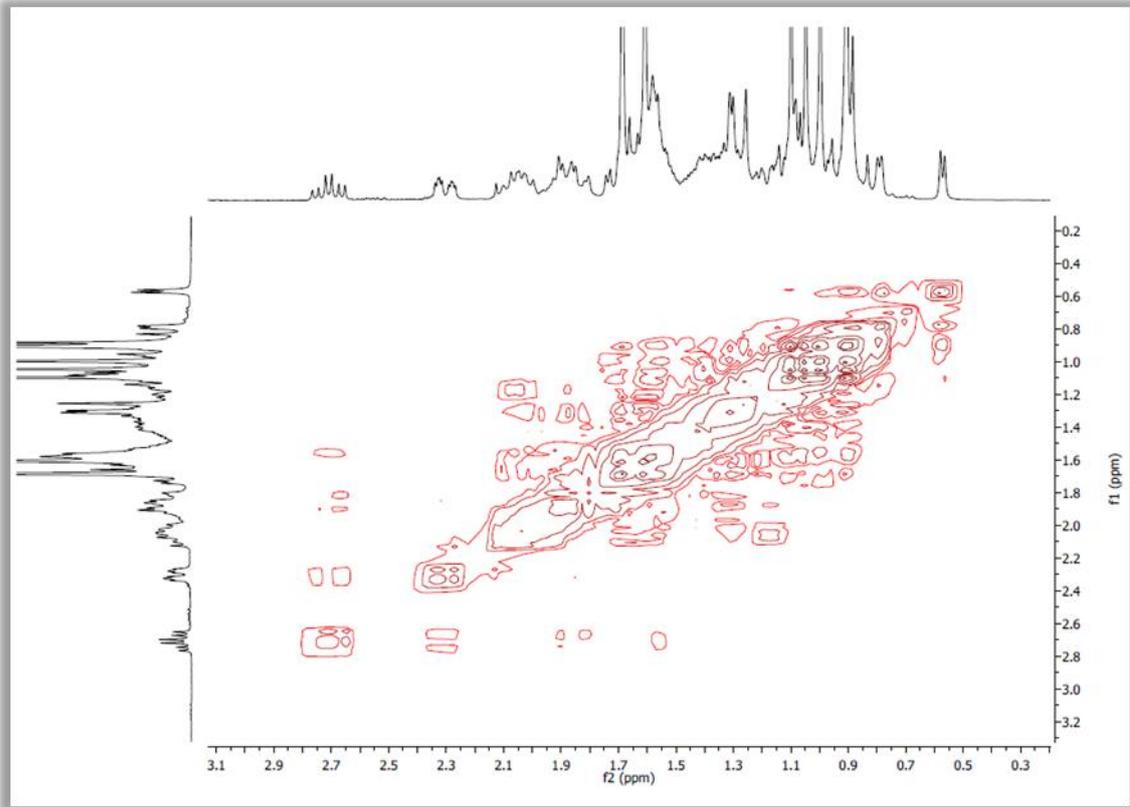
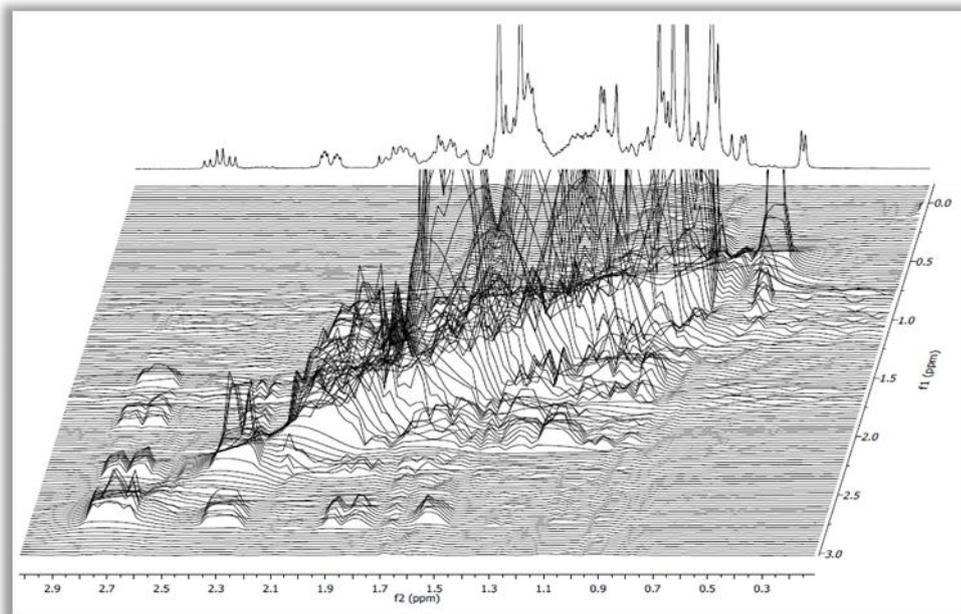


Figura 80 – Mapa de relevo da expansão do espectro bidimensional de correlação homonuclear  $^1\text{H} \times ^1\text{H}$  – COSY de **BCR-3**



Pela exploração dos dados realizada e através de comparação com dados descritos na literatura (GANDHE *et. al.*, 2013) concluiu-se que **BCR-3** trata-se da substância

denominada 9,19-ciclolanost-24-en-3-ona, também conhecida como cicloartenona, cuja estrutura está mostrada na Figura 81. Vale salientar que esta substância está sendo descrita pela primeira vez no gênero *Bauhinia* e que já são descritas na literatura sua ação quimiopreventiva para o câncer e sua capacidade indutora de apoptose (KIKUCHI *et al.*, 2014).

Figura 81 – Estrutura da cicloartenona

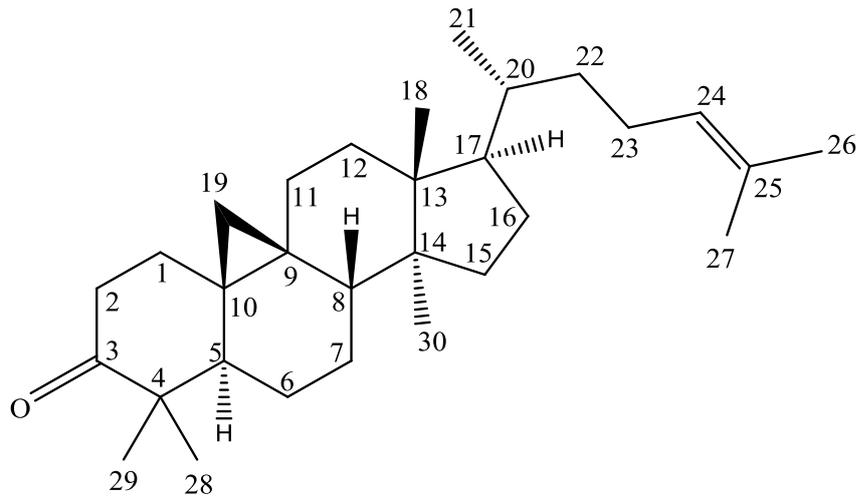


Tabela 18 – Dados espectroscópicos de **BCR-3** comparados com dados descritos na literatura (GANDHE *et. al.*, 2013)

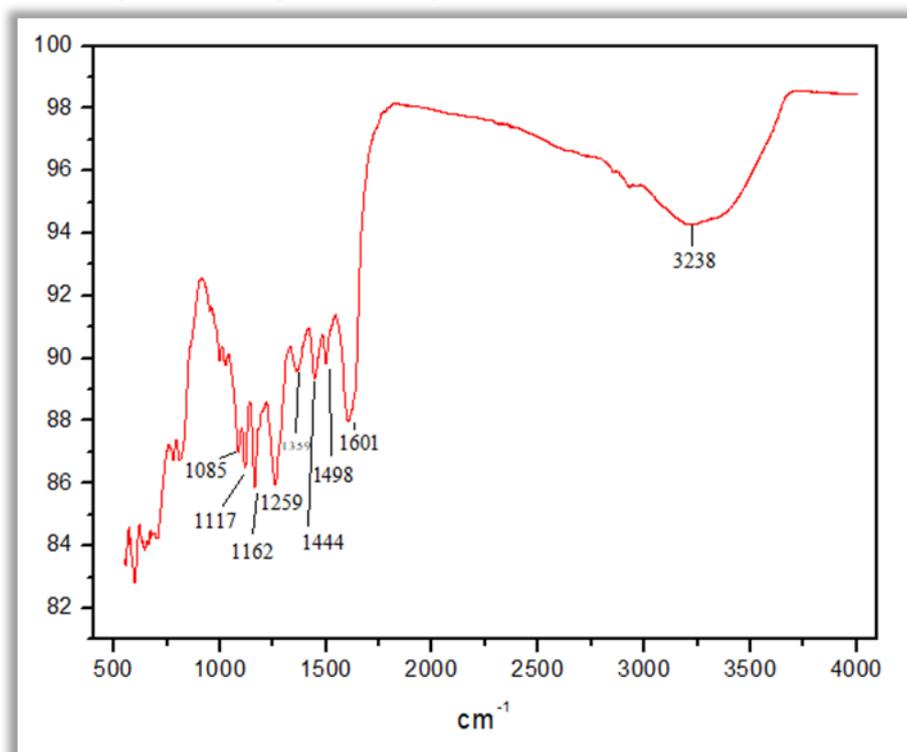
	BCR-3 (CDCl <sub>3</sub> )		LITERATURA (C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) (600 MHz)	
	δ <sub>C</sub> (ppm)	δ <sub>H</sub> (ppm, multip., J Hz)	δ <sub>C</sub> (ppm)	δ <sub>H</sub> (ppm, multip., J Hz)
<b>C</b>				
<b>3</b>	216,71		215,1	
<b>4</b>	50,46		50,2	
<b>9</b>	21,37		21,6	
<b>10</b>	25,92		26,1	
<b>13</b>	45,60		45,5	
<b>14</b>	48,99		48,9	
<b>25</b>	131,14		130,9	
<b>5</b>	48,70		48,5	
<b>8</b>	48,11		47,9	
<b>17</b>	52,55		52,6	
<b>20</b>	36,11		36,1	
<b>24</b>	125,47	5,13 ( <i>t</i> , <i>J</i> = 7,0)	125,8	5,28; <i>t</i> , <i>J</i> = 6,8
<b>1</b>	33,65		33,4	
<b>2</b>	37,69	2,77 ( <i>td</i> , <i>J</i> = 13,8 e 6,4); 2,34 ( <i>ddd</i> , <i>J</i> = 14,0; 4,2 e 2,7)	37,6	2,70 ( <i>td</i> , <i>J</i> = 14,0; 6,2); 2,36 ( <i>dt</i> , <i>J</i> = 14,4; 2,9)
<b>6</b>	21,75		22,6	
<b>7</b>	28,36		28,4	
<b>11</b>	26,25		26,0	
<b>12</b>	33,07		33,1	
<b>15</b>	35,83		35,8	
<b>16</b>	27,00		26,7	
<b>19</b>	29,93	0,58 ( <i>d</i> , <i>J</i> = 4,2); 0,80 ( <i>d</i> , <i>J</i> = 4,0)	29,3	0,64 ( <i>d</i> , <i>J</i> = 3,8); 0,48 ( <i>d</i> , <i>J</i> = 3,8)
<b>22</b>	36,58		36,7	
<b>23</b>	25,19	2,13 ( <i>m<sub>c</sub></i> ); 1,97 ( <i>m</i> )	25,3	2,16 ( <i>m</i> ); 2,00 ( <i>m<sub>c</sub></i> )
<b>18</b>	19,53	0,91 ( <i>s</i> )	19,4	1,02 ( <i>s</i> )
<b>21</b>	17,85	0,91 ( <i>s</i> )	18,4	0,98 ( <i>d</i> , <i>J</i> = 6,4)
<b>26</b>	18,48	1,61 ( <i>s</i> )	17,7	1,66 ( <i>s</i> )
<b>27</b>	26,09	1,69 ( <i>s</i> )	25,8	1,72 ( <i>s</i> )
<b>28</b>	18,29	1,00 ( <i>s</i> )	18,4	0,91 ( <i>s</i> )
<b>29</b>	20,99	1,10 ( <i>s</i> )	21,0	1,16 ( <i>s</i> )
<b>30</b>	22,43	1,05 ( <i>s</i> )	22,7	1,07 ( <i>s</i> )

#### 4.2.4 Determinação estrutural de BCR-4

Conforme procedimento descrito no item 5.3.2.6 (p. 157), as frações 54-59 (4,5 mg) apresentaram, em cromatoplaça, apenas uma mancha de cor vermelha uniforme. Foram então, denominadas inicialmente de **BCR-4** e analisadas posteriormente por métodos físicos.

O espectro de absorção na região do infravermelho (Fig. 82) apresentou uma banda larga centrada em  $3238\text{ cm}^{-1}$  que indica deformação axial de ligação O-H. Uma banda discreta em torno de  $1601\text{ cm}^{-1}$  está associada à deformação axial de ligação C=O, provavelmente, em conjugação. Bandas entre  $1000\text{ cm}^{-1}$  e  $1200\text{ cm}^{-1}$  indicam deformação axial de ligação C-O-C (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2007; PAVIA *et al.*, 2010).

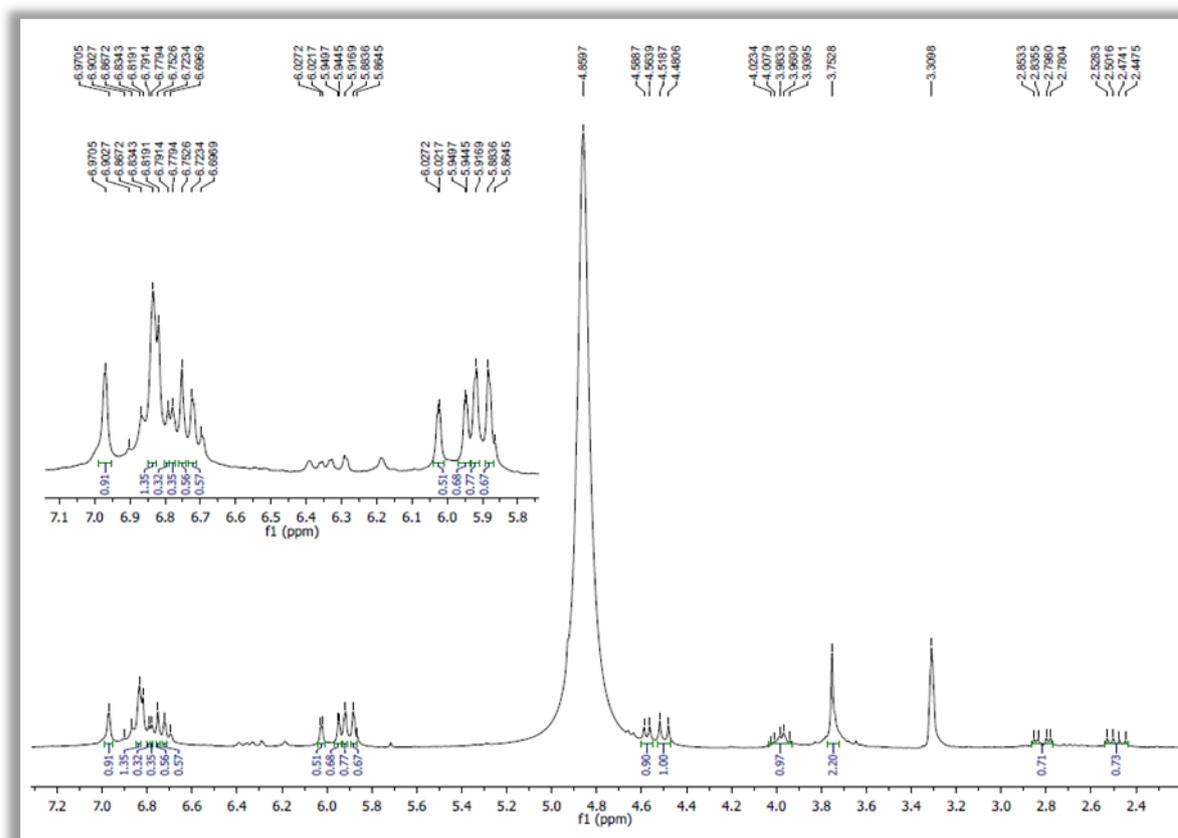
Figura 82 – Espectro na região do IV (em ATR) de **BCR-4**



O espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) (Fig. 83, p. 97) apresentou sinais entre as regiões de  $\delta_{\text{H}}$  5,88 a  $\delta_{\text{H}}$  6,97, característicos de hidrogênios ligados a carbonos aromáticos. O tratamento do FID pelo *Software* MestReNova 6.0 permitiu a identificação de simpletos em  $\delta_{\text{H}}$  6,97 (1H),  $\delta_{\text{H}}$  6,83 (1H),  $\delta_{\text{H}}$  6,79 (1H),  $\delta_{\text{H}}$  6,78 (1H),  $\delta_{\text{H}}$  6,75 (1H),  $\delta_{\text{H}}$  6,72 (1H),  $\delta_{\text{H}}$  5,92 (1H) e  $\delta_{\text{H}}$  5,88 (1H). Foram observados ainda dupletos em  $\delta_{\text{H}}$  6,02 (1H,  $J = 1,6$  Hz), em  $\delta_{\text{H}}$  5,95 (1H,  $J = 1,6$  Hz), cujas constantes de acoplamento sugerem que existem hidrogênios *meta* posicionados.

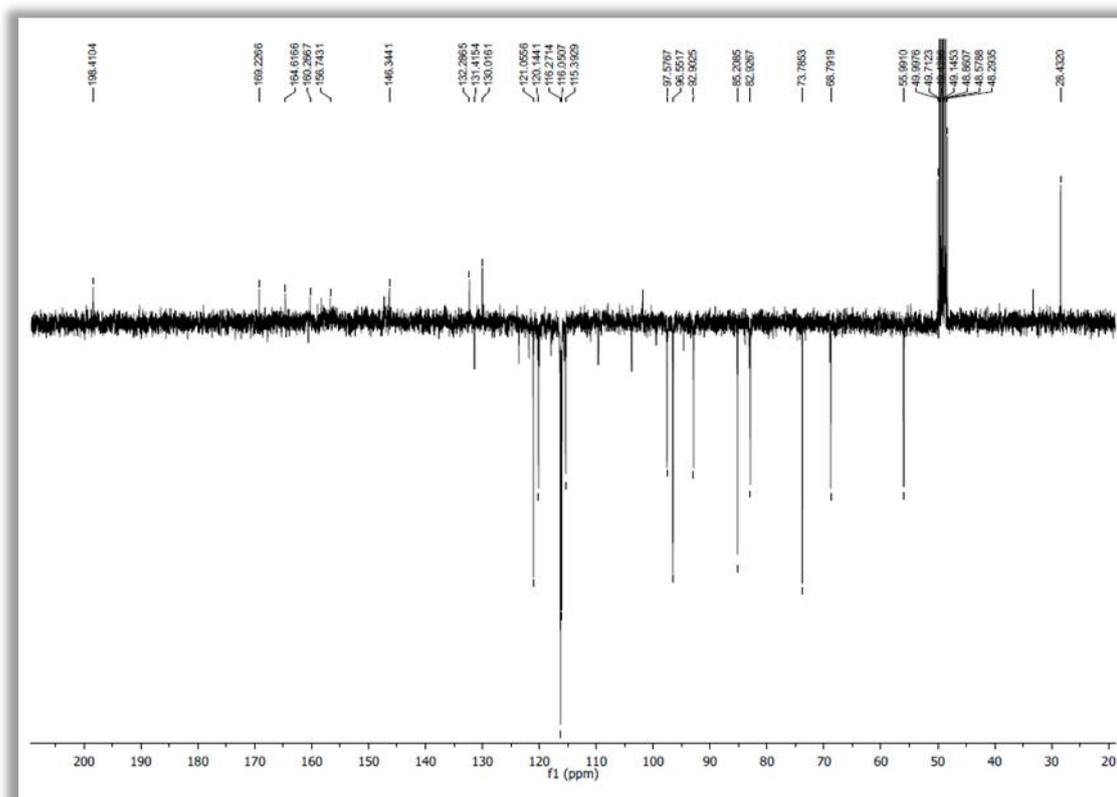
Outros sinais observáveis situam-se entre as regiões de  $\delta_H$  2,49 a  $\delta_H$  4,58. Dois duplos dupletos foram observados em  $\delta_H$  2,82 (1H,  $J = 16,6$  e  $5,3$  Hz) e em  $\delta_H$  2,49 (1H,  $J = 16,3$  e  $8,0$  Hz) sugerindo a presença de hidrogênios benzílicos. Pode-se destacar um sinal intenso em  $\delta_H$  3,75 (3H,  $s$ ) que indica a presença de uma metoxila. Um duplete de triplete foi observado em  $\delta_H$  3,98 (1H,  $J = 13,1$  e  $6,8$  Hz) e, próximo ao sinal referente aos hidrogênios da água, tem-se um duplete em  $\delta_H$  4,58 (1H,  $J = 7,4$  Hz) e outro em  $\delta_H$  4,50 (1H,  $J = 11,5$  Hz), o que indica a existência de hidrogênios ligados a carbonos oxigenados.

Figura 83 – Espectro de RMN  $^1H$  (300 MHz,  $CD_3OD$ ) de **BCR-4**



O espectro de RMN  $^{13}C$  (75 MHz,  $CD_3OD$ ) (Fig. 84, p. 98) exibiu uma série de sinais característicos de um esqueleto flavonoídico (Fig. 85, p. 98), alguns dos quais apareceram em duplicata, sugerindo que **BCR-4** seria uma mistura de compostos. Entre os sinais de carbonos foram observados uma metoxila ( $\delta_C$  56,01), quatro carbonos  $sp^3$  oxigenados ( $\delta_C$  82,95,  $\delta_C$  68,81,  $\delta_C$  85,23 e  $\delta_C$  73,81) e onze carbonos  $sp^2$  oxigenados, incluindo uma carbonila ( $\delta_C$  198,43). A análise comparativa entre os espectros de RMN  $^{13}C$ -BB e RMN  $^{13}C$ -APT (Fig. 86, p. 99), levando em consideração a intensidade dos sinais e a teoria do deslocamento químico, permitiu a construção das Tabelas 11 (p. 99) e 12 (p. 100),



Figura 86 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -APT (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de **BCR-4**Tabela 19 – Dados de deslocamentos químicos ( $\delta$ ) de carbono-13 para **BCR4-A**, obtidos por comparação entre os espectros de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB e RMN  $^{13}\text{C}$ -APT

C	CH	CH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>
160,29 (C-O)	120,16	28,45	56,01
158,35 (C-OH)	116,29	-	-
156,77 (C-O)	115,42	-	-
146,44 (C-OH)	96,57	-	-
146,37 (C-OH)	92,93	-	-
132,31	82,95 (C-O)	-	-
101,84	68,81 (C-OH)	-	-
<b>7 C</b>	<b>7 CH</b>	<b>1 CH<sub>2</sub></b>	<b>1 CH<sub>3</sub></b>
<b>Fórmula molecular estimada: C<sub>16</sub>H<sub>16</sub>O<sub>7</sub></b>			

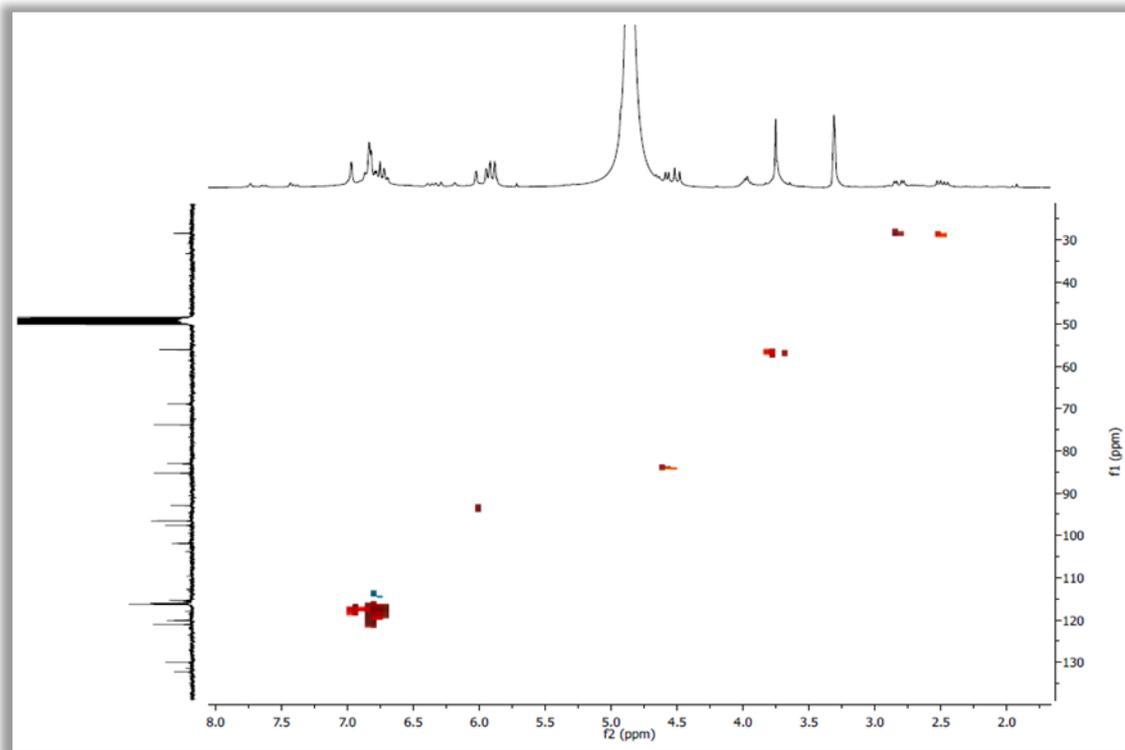
Tabela 20 – Dados de deslocamentos químicos ( $\delta$ ) de carbono-13 para **BCR4-B**, obtidos por comparação entre os espectros de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB e RMN  $^{13}\text{C}$ -APT

C	CH	CH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>
198,43 (C=O)	121,08	-	-
169,24 (C-OH)	116,27	-	-
165,44 (C-OH)	116,07	-	-
164,64 (C-O)	101,84	-	-
147,27 (C-OH)	97,60	-	-
146,39 (C-OH)	85,23 (C-O)	-	-
130,04	73,81 (C-OH)	-	-
101,90	-	-	-
<b>8 C</b>	<b>7 CH</b>	-	-

**Fórmula molecular estimada: C<sub>15</sub>H<sub>12</sub>O<sub>8</sub>**

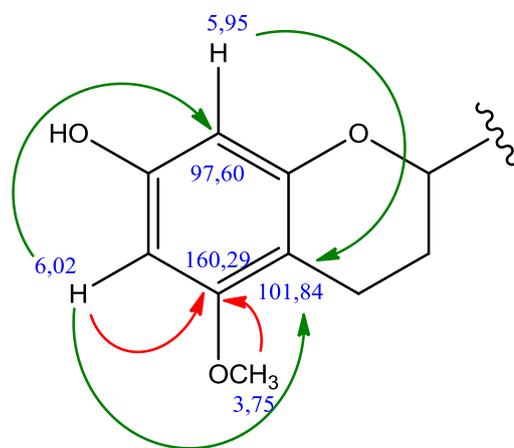
O espectro de correlação heteronuclear por coerência quântica simples  $^{13}\text{C} \times ^1\text{H}$  - HSQC (Fig. 87) de **BCR-4** apresentou alguns *crosspeaks* que permitiram, juntamente com a revisão de literatura, a elaboração das Tabelas 13 (p. 106) e 14 (p. 107).

Figura 87 – Espectro de correlação heteronuclear por coerência quântica simples  $^{13}\text{C} \times ^1\text{H}$  - HSQC de **BCR-4**

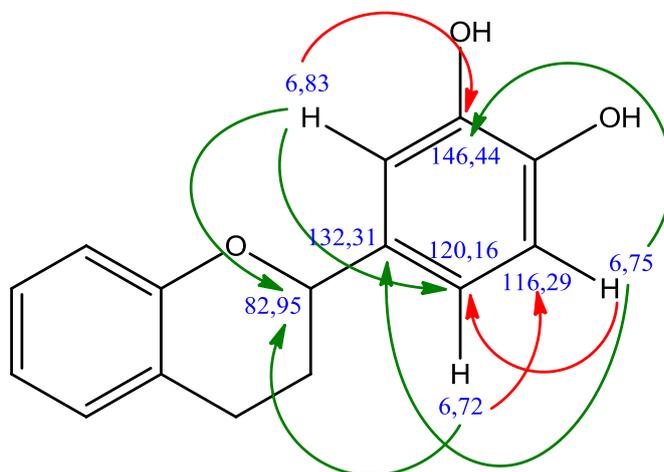


Na análise do espectro de correlação heteronuclear por ligações múltiplas  $^{13}\text{C} \times ^1\text{H}$  – HMBC (Fig. 88, p. 103) foi observada a presença de um sinal sobreposto pelo sinal em  $\delta_{\text{H}}$  4,86 (*sl*), indicativo da presença de água no momento da aquisição do perfil espectral da amostra no equipamento. Tal sinal em  $\delta_{\text{H}}$  4,90 aponta um hidrogênio ligado a carbono oxigenado. Além disso, foi possível observar, após o exame das correlações exibidas dos espectros bidimensionais, a existência de outros sinais referentes a uma terceira substância não identificável presente na mistura, cujo espectro de hidrogênio, com alguns sinais extras aos anteriormente abordados, já indicavam esta possibilidade.

Em relação à **BCR-4A**, começando pelo anel A do esqueleto flavanoídico, podem-se destacar correlações envolvendo o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  6,02 (H-6) com o carbono em  $\delta_{\text{C}}$  97,60 (C-8) e com o carbono em  $\delta_{\text{C}}$  101,84 (C-10) a três ligações de distância e com o carbono em  $\delta_{\text{C}}$  160,29 (C-5) a duas ligações de distância. O hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  5,95 (H-8) também se correlaciona com o carbono em  $\delta_{\text{C}}$  101,84 (C-10) a  $^3J_{\text{CH}}$ . O sinal em  $\delta_{\text{H}}$  3,75 ( $\text{OCH}_3$ -5), correspondente ao grupo metoxila, associa-se ao carbono em  $\delta_{\text{C}}$  160,29 (C-5), confirmando, dessa forma, a posição deste grupo na estrutura de **BCR-4A**.

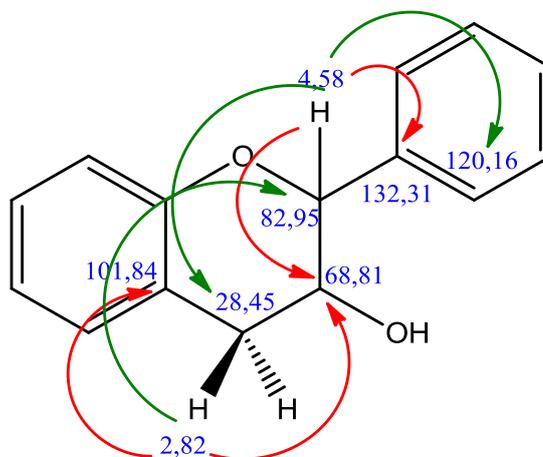


No anel B dessa estrutura, observam-se correlações envolvendo o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  6,83 (H-2') e os carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  82,95 (C-2) e em  $\delta_{\text{C}}$  120,16 (C-6'), que são do tipo  $^3J_{\text{CH}}$ , e desse mesmo hidrogênio com o carbono em  $\delta_{\text{C}}$  146,44 (C-3') do tipo  $^2J_{\text{CH}}$ . O hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  6,75 (H-5') está associado ao carbono em  $\delta_{\text{C}}$  120,16 (C-6') a duas ligações de distância e aos carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  132,31 (C-1') e em  $\delta_{\text{C}}$  146,44 (C-3') a três ligações de distância, indicando a posição de uma das hidroxilas fenólicas em relação ao carbono que conecta os anéis B e C do esqueleto. O hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  6,72 (H-6') apresenta correlação com os carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  82,95 (C-2) e com o carbono em  $\delta_{\text{C}}$  116,29 (C-5') dos tipos

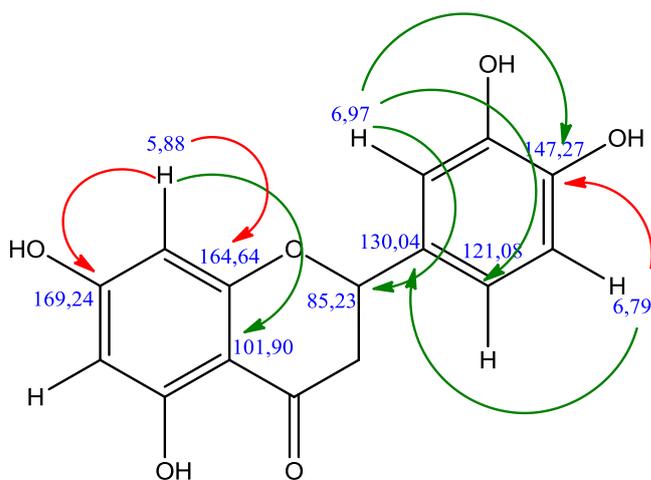


$^3J_{CH}$  e  $^2J_{CH}$ , respectivamente.

No anel C de **BCR-4A**, o hidrogênio em  $\delta_H$  4,58 (H-2) correlaciona-se com o carbono em  $\delta_C$  120,16 (C-6') e ao carbono em  $\delta_C$  28,45 (C-4) a três ligações de distância e com o carbono em  $\delta_C$  68,81 (C-3) e em  $\delta_C$  132,31 (C-1') a duas ligações de distância. O hidrogênio metilênico em  $\delta_H$  2,82 (H-4a) está associado aos carbonos em  $\delta_C$  101,84 (C-10) e em  $\delta_C$  68,81 (C-3) por  $^2J_{CH}$  e ao carbono em  $\delta_C$  82,95 (C-2) por  $^3J_{CH}$ .



Para **BCR-4B**, as correlações observadas para o anel A envolvem o hidrogênio em  $\delta_H$  5,88 (H-8) e os carbonos em  $\delta_C$  169,24 (C-7) e em  $\delta_C$  164,64 (C-9) a duas ligações de distância e o mesmo hidrogênio e o carbono em  $\delta_C$  101,90 (C-10) a três ligações de distância.



Para o anel B, o hidrogênio em  $\delta_H$  6,97 (H-2') realiza acoplamentos a três ligações de distância com os carbonos em  $\delta_C$  85,23 (H-2), em  $\delta_C$  121,08 (C-6') e em  $\delta_C$  147,27 (C-4'). As correlações descritas no anel B, contribuem para informar a posição de uma das hidroxilas fenólicas dessa porção da molécula. O hidrogênio em  $\delta_H$  6,79 (H-5') relaciona-se com o carbono em  $\delta_C$  147,27 (C-4') a

duas ligações de distância e ao carbono em  $\delta_C$  130,04 (C-1') a três ligações de distância.

No anel central de **BCR-4B**, o hidrogênio em  $\delta_H$  4,88 (H-2) está a duas ligações de distância do carbono em  $\delta_C$  73,81 (C-3) e do carbono em  $\delta_C$  130,04 (C-1'). O mesmo hidrogênio, por  $^3J_{CH}$ , associa-se aos carbonos em  $\delta_C$  121,08 (C-6') e em  $\delta_C$  116,07 (C-2'), além do carbono em  $\delta_C$  198,43 (C-4), corroborando para a conclusão de que **BCR-4B** pertence à classe das flavanonas.

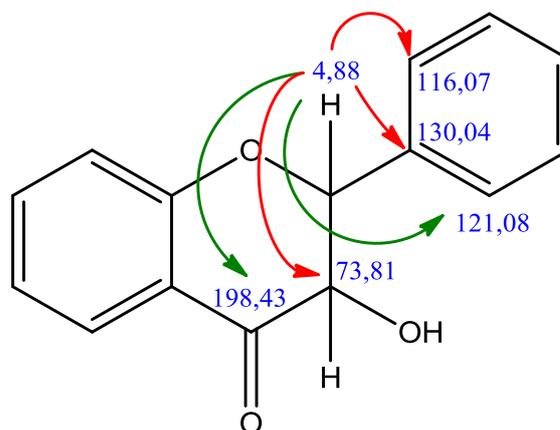
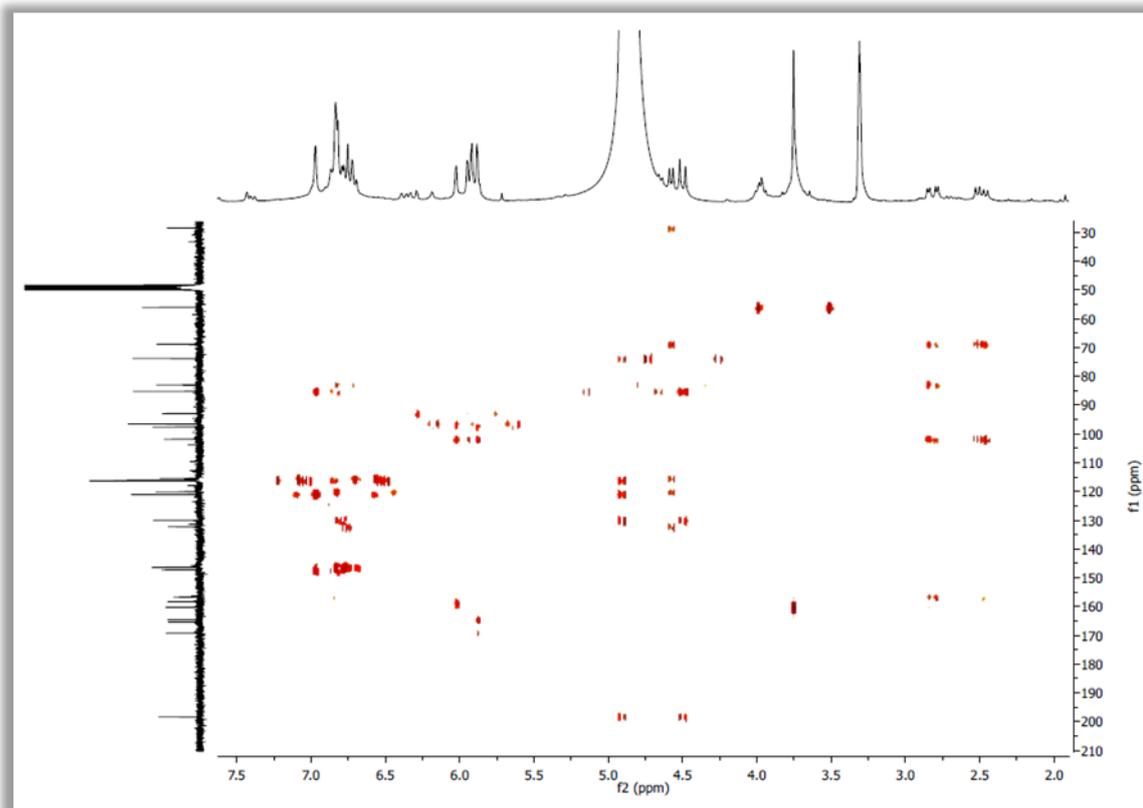


Figura 88 – Espectro de correlação heteronuclear por ligações múltiplas  $^{13}\text{C} \times ^1\text{H}$  – HMBC de **BCR-4**



A análise do espectro bidimensional de correlação homonuclear  $^1\text{H} \times ^1\text{H}$  – COSY (Fig. 89, p. 104) mostra correlações especialmente para os hidrogênios H-2 ( $\delta_{\text{H}}$  4,58) e H-3 ( $\delta_{\text{H}}$  3,98) de **BCR4-A**. Os valores das constantes de acoplamento ( $J = 7,4$  Hz para H-2 e  $J = 8,8$  Hz para H-3) sugerem que esses hidrogênios possam estar posicionados na forma *axial-axial*. O hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  2,49 (H-4b) apresenta um dos valores de  $J$  de 8,0 Hz, realizando, portanto, acoplamento com H-3 do tipo *axial-axial*, enquanto o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  2,82 (H-4a), por um dos valores de  $J$  (5,3 Hz), situa-se na posição equatorial do anel C, propondo um acoplamento do tipo *axial-equatorial* com um hidrogênio na posição 3.

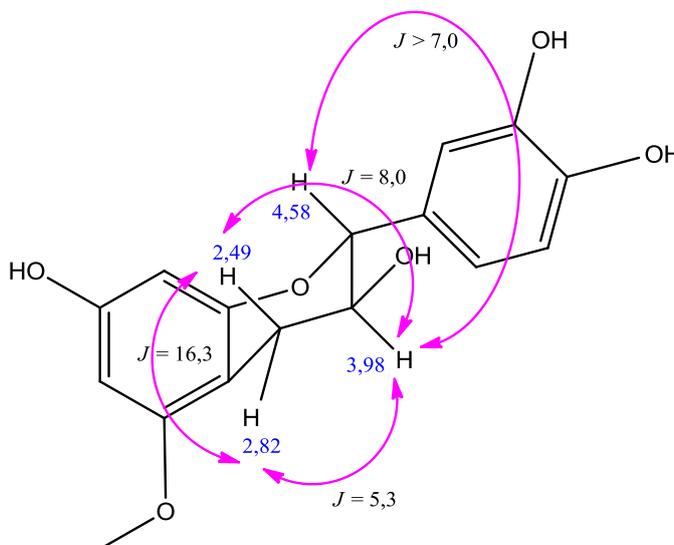
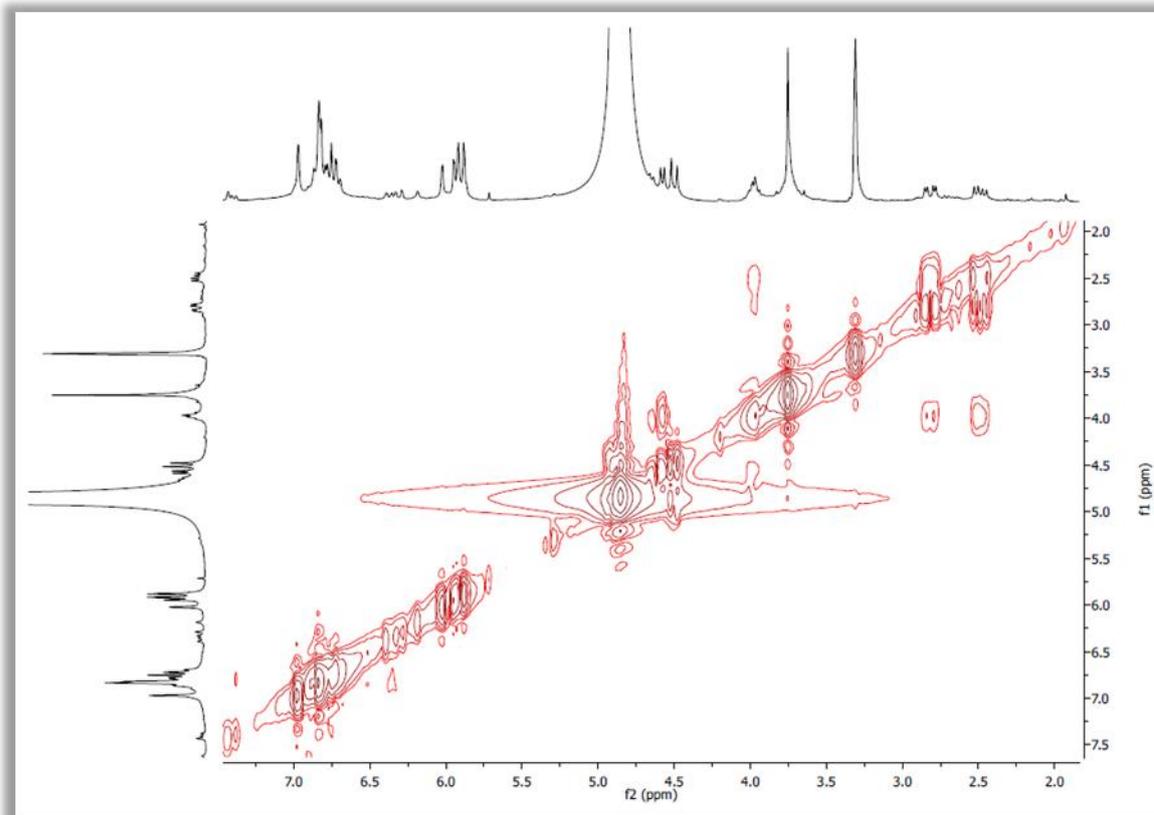


Figura 89 – Espectro bidimensional de correlação homonuclear  $^1\text{H} \times ^1\text{H}$  – COSY de **BCR-4**



Com base nas informações discutidas acima aliadas à revisão bibliográfica, concluiu-se que apesar das limitações, **BCR-4** é uma mistura de flavonoides. **BCR4-A** pertence à classe das flavanas-3-ol denominada 2-(3',4'-diidroxifenil)-5-metoxicromano-3,7-diol (Fig. 90, p. 105), previamente isolada da espécie *Bauhinia acuruana* (GÓIS, 2014). **BCR4-B** é uma flavanona identificada como 3,3',4',5,7-pentaidroxiflavanona, conhecida vulgarmente como diidroquercetina (Fig. 91, p. 105). Por se tratar de uma mistura e haver a presença de água na amostra, além de uma terceira substância não identificada, não foi possível estimar a proporção entre os dois flavonoides majoritários na amostra, nem estabelecer a configuração relativa dos carbonos assimétricos.

Figura 90 – Estrutura de 2-(3',4'-diidroxifenil)-5-metoxicromano-3,7-diol

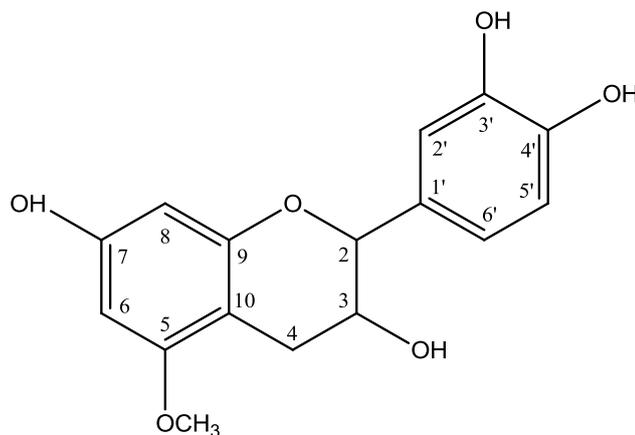
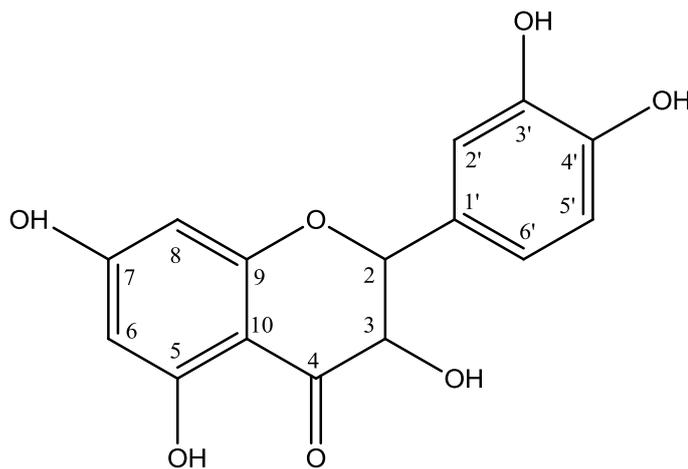


Figura 91 – Estrutura da 3,3',4',5,7-pentaidroxiflavanona (diidroquercetina)



A substância diidroquercetina também é conhecida como taxifolina. É válido salientar que estudos citam sua atividade anti-inflamatória (KAWABATA *et al.*, 2015), antioxidante (TOPAL *et al.*, 2016) e inibidora da enzima conversora da angiotensina para formação de espécies oxigenadas e nitrogenadas em ratos (ARUTYUNYAN *et al.*, 2013).

Tabela 21 – Dados espectroscópicos de **BCR4-A** comparados com dados descritos na literatura (GÓIS, 2014)

	BCR4-A (CD <sub>3</sub> OD)		HMBC		LITERATURA (CD <sub>3</sub> OD)	
	$\delta_C$ (ppm)	$\delta_H$ (ppm, multip., J Hz)	$^2J_{CH}$	$^3J_{CH}$	$\delta_C$ (ppm)	$\delta_H$ (ppm, multip., J Hz)
<b>C</b>						
<b>5</b>	160,29		H-6 OCH <sub>3</sub> -5		160,52	
<b>7</b>	158,35				158,41	
<b>9</b>	156,77				156,84	
<b>10</b>	101,84		H-4A H-4B	H-6 H-8	101,76	
<b>1'</b>	132,31		H-2	H-5'	132,48	
<b>3'</b>	146,44		H-2'	H-5'	146,32	
<b>4'</b>	146,37				146,32	
<b>CH</b>						
<b>2</b>	82,95	4,58 ( <i>d</i> , <i>J</i> = 7,4)	H-6'	H-2' H-4A	82,97	4,57 ( <i>d</i> , <i>J</i> = 7,5)
<b>3</b>	68,81	3,98 ( <i>dt</i> , <i>J</i> = 13,1; 6,8)	H-2 H-4A H-4B		68,81	3,96 ( <i>m</i> )
<b>6</b>	92,93	6,02 ( <i>d</i> , <i>J</i> = 1,6)			92,84	6,02 ( <i>d</i> , <i>J</i> = 1,8)
<b>8</b>	96,57	5,95 ( <i>d</i> , <i>J</i> = 1,6)		H-6	96,49	5,94 ( <i>d</i> , <i>J</i> = 1,9)
<b>2'</b>	115,42	6,83 ( <i>s</i> )			115,36	6,83 ( <i>sl</i> )
<b>5'</b>	116,29	6,75 ( <i>s</i> )	H-6'		116,23	6,76 ( <i>d</i> , <i>J</i> = 8,1)
<b>6'</b>	120,16	6,72 ( <i>s</i> )	H-5'	H-2' H-2	120,12	6,71 ( <i>d</i> , <i>J</i> = 8,1)
<b>CH<sub>2</sub></b>						
<b>4</b>	28,45	2,82 (A - <i>dd</i> , <i>J</i> = 16,6; 5,3) 2,49 (B - <i>dd</i> , <i>J</i> = 16,3; 8,0)		H-2	28,39	2,82 ( <i>dd</i> , <i>J</i> = 16,4, 5,4) 2,49 ( <i>dd</i> , <i>J</i> = 16,4; 8,0)
<b>CH<sub>3</sub></b>						
<b>OCH<sub>3</sub>- 5</b>	56,01	3,75 ( <i>s</i> )			55,97	3,78 ( <i>s</i> )

Tabela 22 – Dados espectroscópicos de **BCR4-B** comparados com dados descritos na literatura (SHEN; CHANG; HO, 1993)

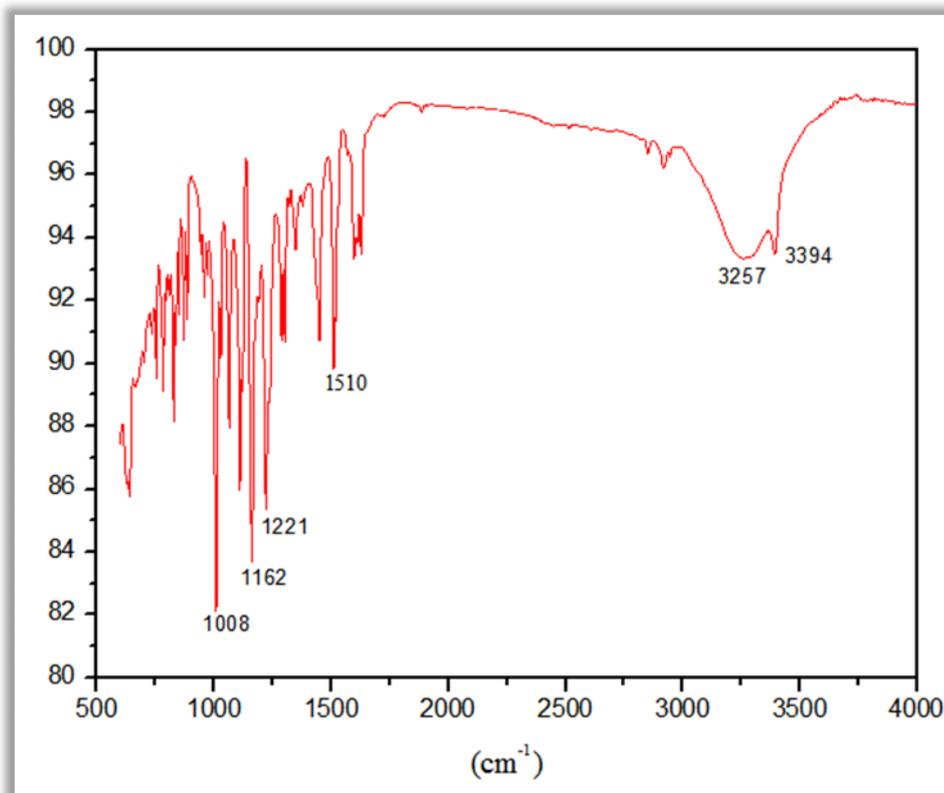
	BCR3-B (CD <sub>3</sub> OD)		HMBC		LITERATURA (DMSO)	
	$\delta_C$ (ppm)	$\delta_H$ (ppm, multip., J Hz)	$^2J_{CH}$	$^3J_{CH}$	$\delta_C$ (ppm)	$\delta_H$ (ppm, multip., J Hz)
<b>C</b>						
<b>4</b>	198,41			H-2	197,5	
<b>5</b>	165,42				163,3	
<b>7</b>	169,22		H-8		166,8	
<b>9</b>	164,62		H-8		162,5	
<b>10</b>	101,89			H-8	100,5	
<b>1'</b>	130,02		H-2	H-5'	128,1	
<b>3'</b>	146,37				144,9	
<b>4'</b>	147,25		H-5'	H-2'	145,7	
<b>CH</b>						
<b>2</b>	85,21	4,88		H-2'	83,1	4,99 ( <i>d</i> , <i>J</i> = 11,0)
<b>3</b>	73,79	4,50 ( <i>d</i> , <i>J</i> = 11,5)	H-2		71,6	4,49 ( <i>d</i> , <i>J</i> = 11,0)
<b>6</b>	101,82	5,92 ( <i>s</i> )			96,0	5,92 ( <i>d</i> , <i>J</i> = 2,1)
<b>8</b>	97,58	5,88 ( <i>s</i> )			95,0	5,87 ( <i>d</i> ; <i>J</i> = 2,1)
<b>2'</b>	116,05	6,97 ( <i>s</i> )		H-2	115,4	6,89 ( <i>s</i> )
<b>5'</b>	116,27	6,78 ( <i>s</i> )			115,2	6,76 ( <i>s</i> )
<b>6'</b>	121,06	6,79 ( <i>s</i> )		H-2'	119,4	6,76 ( <i>s</i> )
				H-2		

#### 4.2.5 Determinação estrutural de BCR-5

O procedimento descrito no item 5.3.2.7 (p. 158) resultou na precipitação de um sólido avermelhado, solúvel em metanol, cuja placa cromatográfica revelada em vanilina apresentava uma única mancha central de cor marrom-avermelhada, com ponto de fusão 193,7°C (P.F.<sub>literatura</sub> = 208°C – 209°C (SURESH *et al.*, 2012)) e rotação óptica específica  $[\alpha]_D^{20} = -24,5^\circ$  (*c* 0,1; CH<sub>3</sub>OH; (lit.  $[\alpha]_D^{20} = -9,5^\circ$  (*c* 1; CH<sub>3</sub>OH (SURESH *et al.*, 2012))), foi denominada de **BCR-5** e analisada por métodos físicos.

O espectro de absorção na região do infravermelho de **BCR-5** (Fig. 92) apresentou uma banda larga centrada em 3257 cm<sup>-1</sup> relacionada à deformação axial de ligação O-H; uma banda em 1510 cm<sup>-1</sup> refere-se à deformação axial de ligação C=C e bandas em 1221 cm<sup>-1</sup>, em 1162 cm<sup>-1</sup> e em 1008 cm<sup>-1</sup> são referentes à deformação axial de ligação C-O (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2007; PAVIA *et al.*, 2010).

Figura 92 – Espectro na região do IV (em ATR) de **BCR-5**

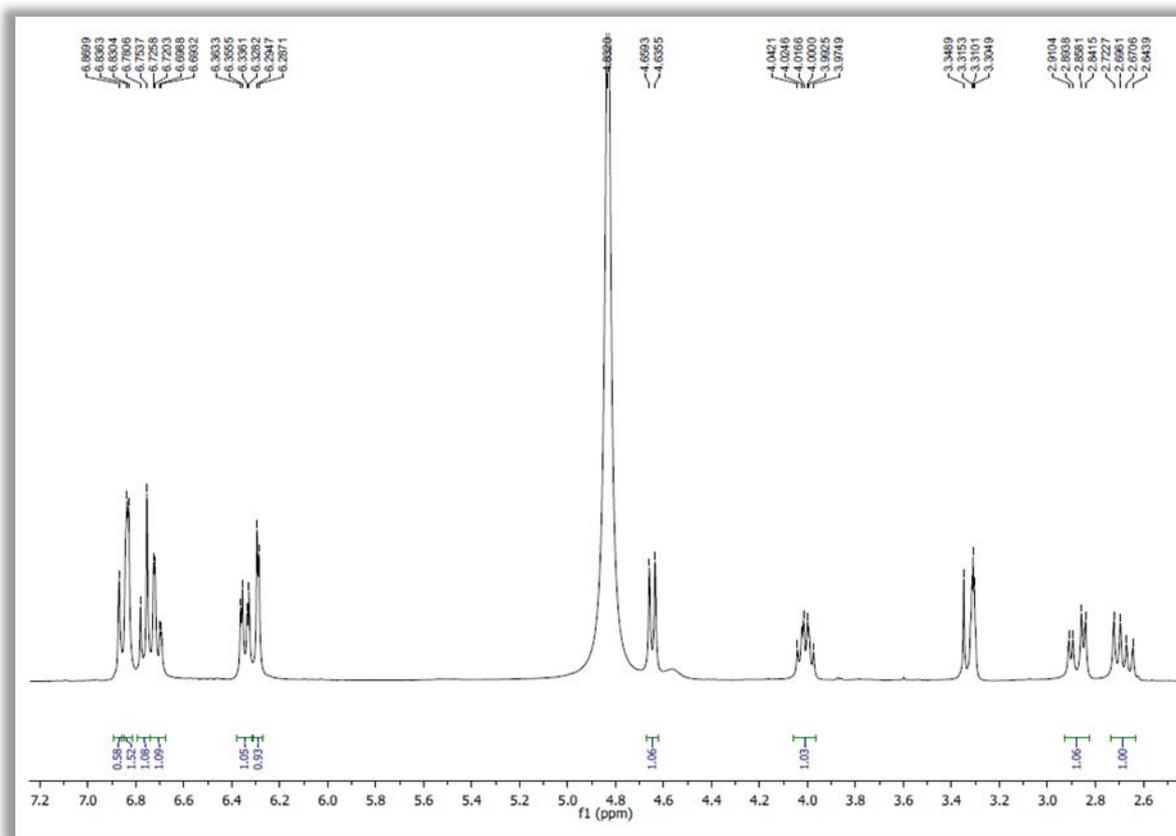


A análise do espectro de RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD) de **BCR-5** (Fig. 93, p. 109) relevou a presença de sinais entre as regiões de  $\delta_H$  6,87 a  $\delta_H$  6,29, indicando a presença de hidrogênios ligados a carbonos aromáticos. Entre eles, um simpleto em  $\delta_H$  6,87 (1H), três

dupletos em  $\delta_H$  6,83 (1H,  $J = 1,8$  Hz) e  $\delta_H$  6,77 (1H,  $J = 8,1$  Hz), em  $\delta_H$  6,29 (1H,  $J = 2,3$  Hz); dois duplos dupletos em  $\delta_H$  6,71 (1H,  $J = 8,1$  e  $1,7$  Hz) e em  $\delta_H$  6,35 (1H,  $J = 8,2$  e  $2,4$  Hz). Os valores das constantes de acoplamento dos sinais múltiplos levam a conclusão da presença de hidrogênios em posicionamento *orto* e *meta*.

Observou-se, ainda, um duplete em  $\delta_H$  4,65 (1H,  $J = 7,2$  Hz) e um triplete de duplete em  $\delta_H$  4,01 (1H,  $J = 7,6$  e  $5,3$  Hz), indicando a presença de hidrogênios ligados a carbonos oxigenados. Também foi verificada a existência de dois dupletos de dupletos em  $\delta_H$  2,88 (1H,  $J = 15,7$  e  $5,0$  Hz) e em  $\delta_H$  2,68 (1H,  $J = 15,7$  e  $8,0$  Hz), sinalizando a presença de hidrogênios benzílicos.

Figura 93 – Espectro de RMN  $^1H$  (300 MHz,  $CD_3OD$ ) de **BCR-5**



O espectro de RMN  $^{13}C$  (75 MHz,  $CD_3OD$ ) de **BCR-5** (Fig. 94, p. 110) apresentou quatorze linhas espectrais, sendo, uma delas, em  $\delta_C$  146,27, com maior intensidade que as demais, atribuída a dois átomos de carbono. A análise comparativa entre os espectros de RMN  $^{13}C$ -BB e RMN  $^{13}C$ -APT (Figura 95, p. 111) permitiu a identificação de seis carbonos desidrogenados (C), quatro deles ligados a oxigênio, oito carbonos metínicos (CH), sendo dois oxigenados e um carbono metilênico ( $CH_2$ ). Essas informações estão descritas na

Tabela 15 (p. 111), que aponta os carbonos oxigenados de acordo com a teoria do deslocamento químico.

Figura 94 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de **BCR-5**

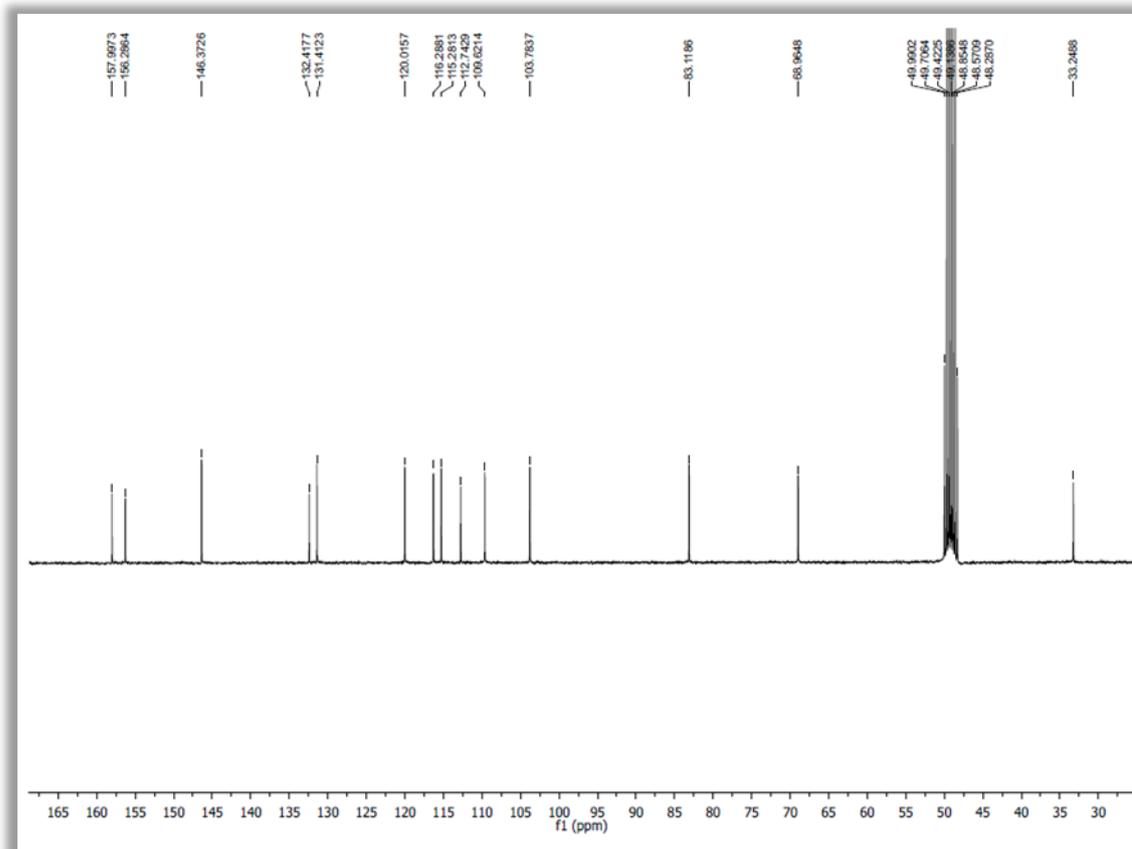
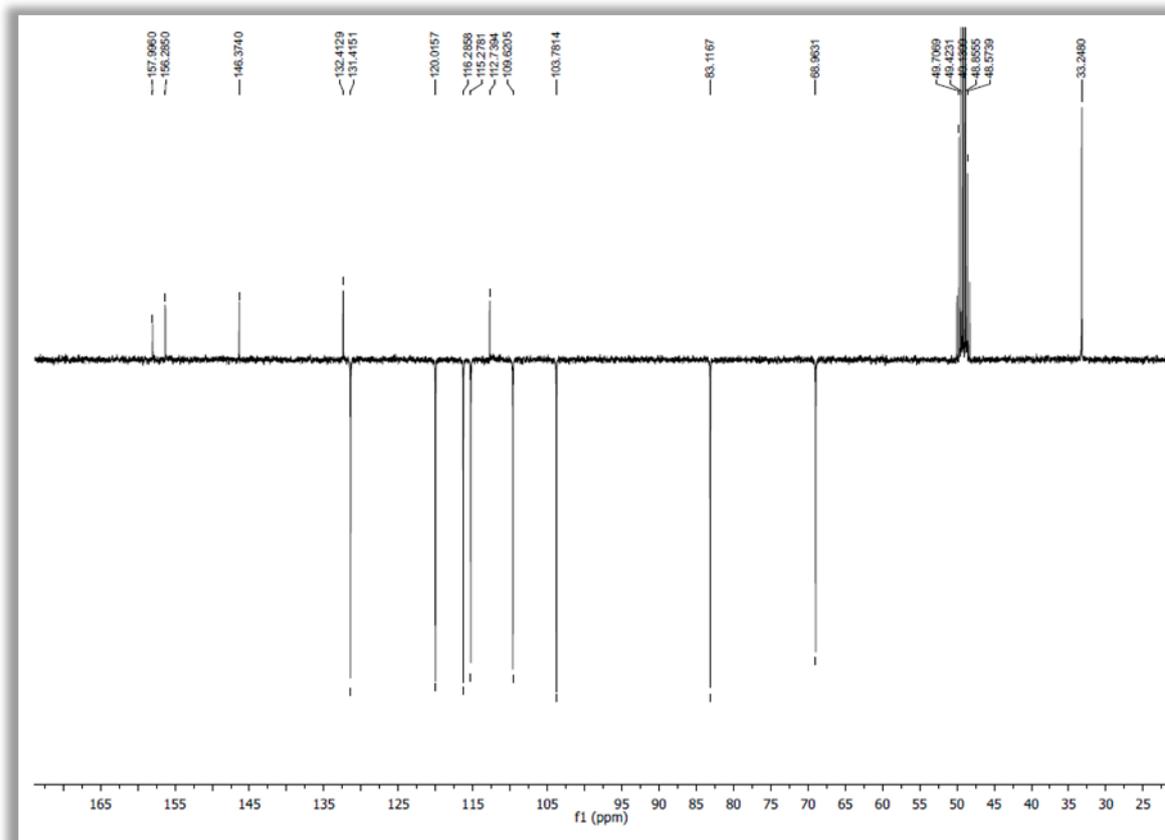


Figura 95 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de **BCR-5**Tabela 23 – Dados de deslocamentos químicos ( $\delta$ ) de carbono-13 para **BCR-5**, obtidos por comparação entre os espectros de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB e RMN  $^{13}\text{C}$ -APT

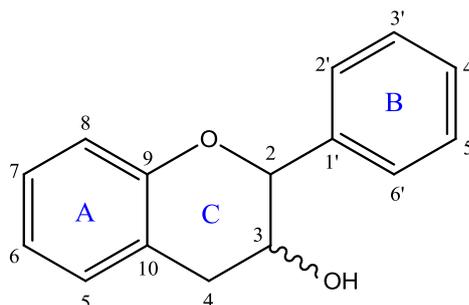
C	CH	CH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>
157,99 (C-OH)	131,41	33,24	-
156,26 (C-O)	120,01	-	-
146,37 (C-OH)	116,28	-	-
146,37 (C-OH)	115,27	-	-
132,41	109,62	-	-
112,74	103,78	-	-
	83,11 (C-O)	-	-
	68,96 (C-OH)	-	-
<b>6 C</b>	<b>8 CH</b>	<b>1 CH<sub>2</sub></b>	<b>-</b>

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

A análise do perfil de hidrogenação dos carbonos de **BCR-5** permitiu sugerir a fórmula molecular  $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_5$ , cujo índice de deficiência de hidrogênio é igual a nove. A ausência de sinal de absorção de carbonila, a existência de dois sinais relativos a carbonos

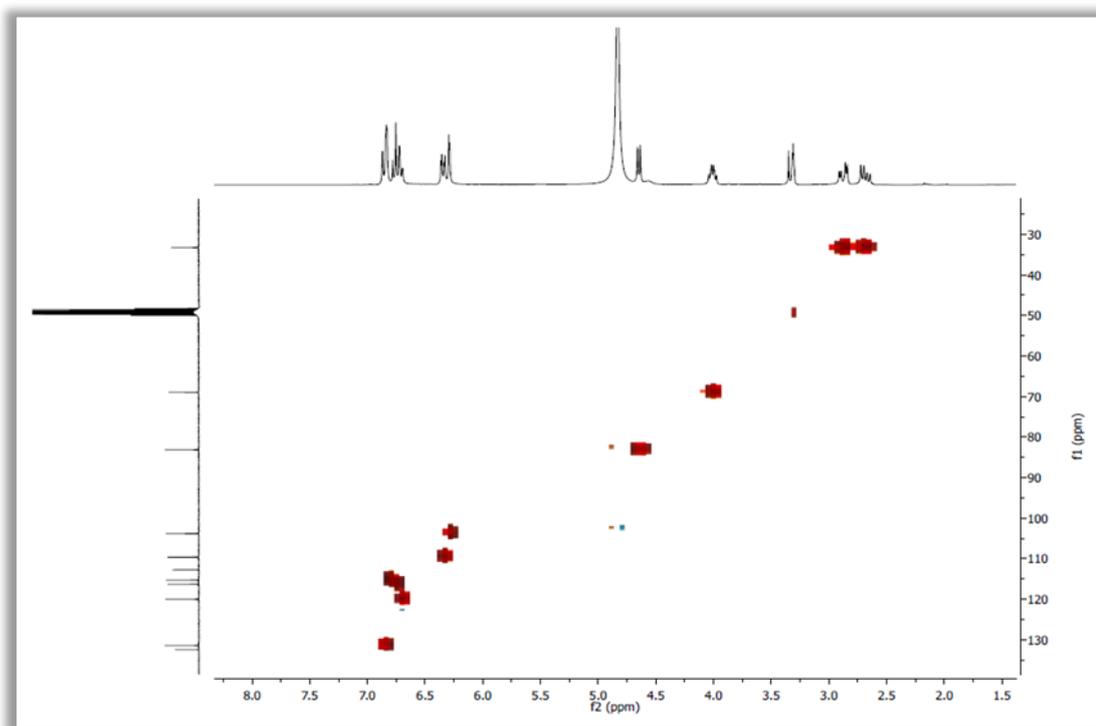
oximetínicos ( $\delta_C$  68,81 e  $\delta_C$  82,96) e um sinal relacionado a carbono metilênico ( $\delta_C$  33,10) observados no espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB foram importantes para determinar a classe a qual pertence BCR-5, um flavonoide do tipo flavan-3-ol (AGRAWAL, 1989), cuja estrutura básica está mostrada na Figura 96. Salientando, portanto, que essa proposta de esqueleto é compatível com o valor de IDH.

Figura 96 – Esqueleto básico de um flavan-3-ol

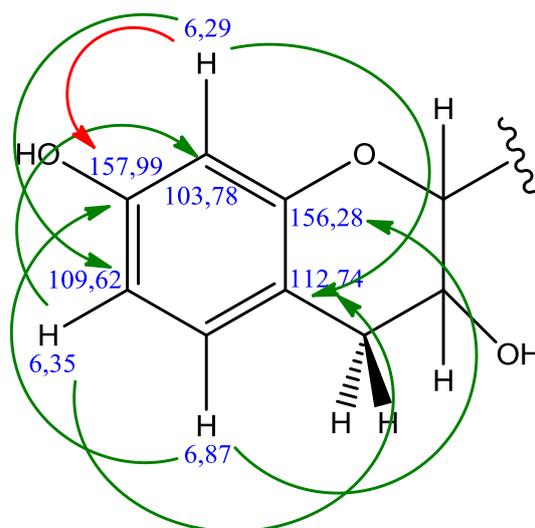


O espectro bidimensional de correlação heteronuclear por coerência quântica simples  $^{13}\text{C} \times ^1\text{H}$  – HSQC (Fig. 97) permitiu estabelecer a conexão direta entre os carbonos e os hidrogênios de **BCR-5**, o que possibilitou a construção da Tabela 16 (p. 117).

Figura 97 – Espectro de correlação heteronuclear por coerência quântica simples  $^{13}\text{C} \times ^1\text{H}$  – HSQC de **BCR-5**

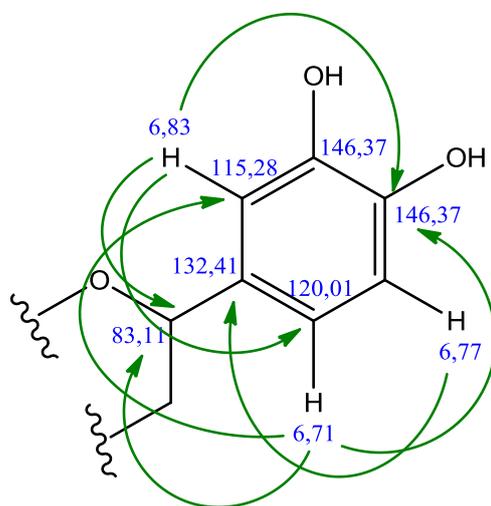


Na análise do espectro de correlação heteronuclear por ligações múltiplas  $^{13}\text{C} \times ^1\text{H}$  – HMBC (Fig. 98, p. 114) de **BCR-5** é possível observar correlações envolvendo os três anéis que compõem o esqueleto flavanoídico. Para o anel **A**, verifica-se que o hidrogênio na posição 5 ( $\delta_{\text{H}}$  6,87) correlaciona-se aos carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  157,99 (C-7) e em  $\delta_{\text{C}}$  156,28 (C-9) a três ligações de distância. Essa informação sugere a posição relativa



de uma das hidroxilas fenólicas presentes na estrutura, no carbono 7 do esqueleto de **BCR-5**. O hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  6,35 (H-6) está, também correlacionado, a três ligações de distância dos carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  112,74 (C-10) e em  $\delta_{\text{C}}$  103,78 (C-8). O hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  6,29 (H-8) correlaciona-se por  $^3J_{\text{CH}}$  aos carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  109,62 (C-6) e  $\delta_{\text{C}}$  112,74 (C-10) e por  $^2J_{\text{CH}}$  ao carbono em  $\delta_{\text{C}}$  156,28 (C-9), completando as informações sobre o anel A da estrutura dessa substância.

A respeito do anel B, é possível observar correlações entre o hidrogênio  $\delta_{\text{H}}$  6,83 (H-2') e os carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  146,37 (C-4'), em  $\delta_{\text{C}}$  120,01 (C-6') e em  $\delta_{\text{C}}$  83,11 (C-2) do tipo  $^3J_{\text{CH}}$  com o carbono em  $\delta_{\text{C}}$  146,37 (C-3') a duas ligações de distância, sugerindo, desta forma, a posição relativa da outra hidroxila fenólica perante a ligação entre o anel C e o anel B. Por outro lado, o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  6,77 (H-5') está três ligações de distância do carbono  $\delta_{\text{C}}$  132,41 (C-1'). O hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  6,71 (H-6') correlaciona-se por  $^3J_{\text{CH}}$  com os carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  146,37 (C-4'), em  $\delta_{\text{C}}$  115,28 (C-2') e em  $\delta_{\text{C}}$  83,11 (C-2), posicionando a última hidroxila fenólica no esqueleto de **BCR-5**.



(H-  
e  
a  
(C-

No anel central, as correlações envolvendo o hidrogênio em  $\delta_H$  4,65 (H-2) a duas ligações com os carbonos em  $\delta_C$  132,41 (C-1') e em  $\delta_C$  68,96 (C-3) e a três ligações com os carbonos em  $\delta_C$  115,28 (C-2'), em  $\delta_C$  120,01 (C-6') e em  $\delta_C$  33,24 (C-4), forneceram informações da conectividade dos anéis B e C. O hidrogênio em  $\delta_H$  4,01 (H-3) faz uma correlação do tipo  $^3J_{CH}$  com o carbono em  $\delta_C$  112,74 (C-10) e os hidrogênios na posição 4 ( $\delta_H$  2,88 e  $\delta_H$  2,68) fazem as mesmas correlações: a duas ligações de distância com os carbonos em  $\delta_C$  112,74 (C-10) e em  $\delta_C$  68,96 (C-3) e a três ligações de distância com os carbonos em  $\delta_C$  156,28 (C-9) e  $\delta_C$  131,41 (C-5) do anel A e em  $\delta_C$  83,11 (C-2) do anel C.

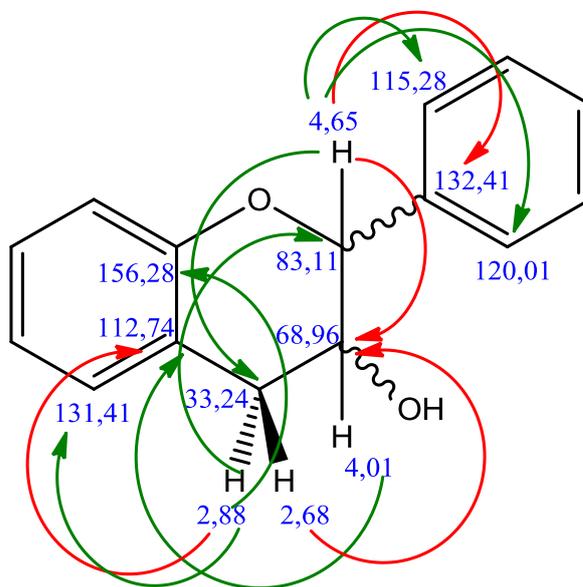
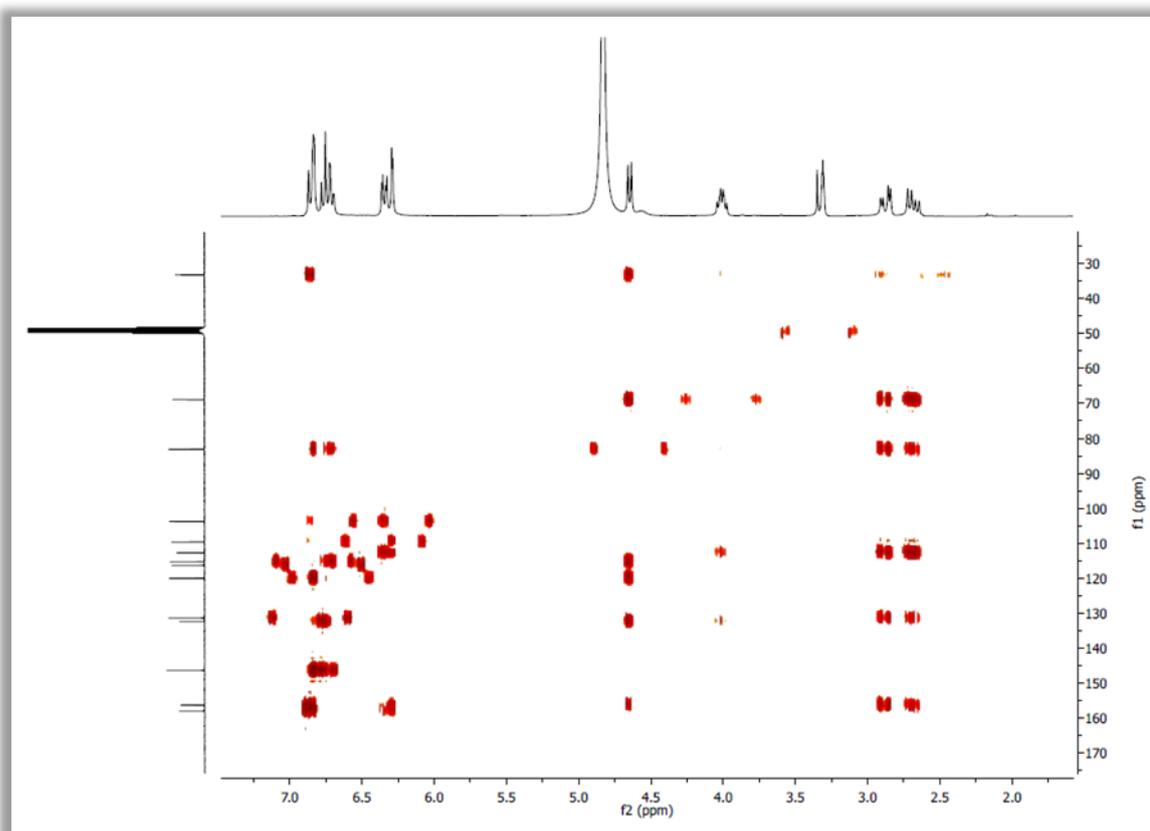
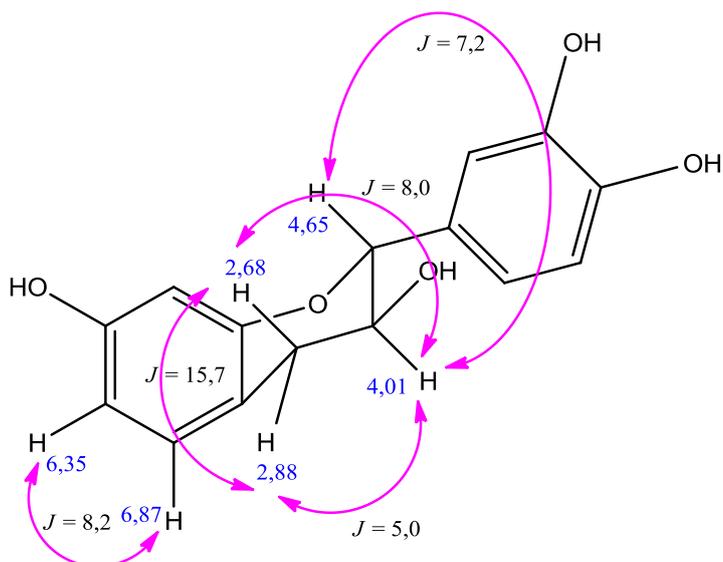


Figura 98 – Espectro de correlação heteronuclear por ligações múltiplas  $^{13}C \times ^1H$  – HMBC de **BCR-5**

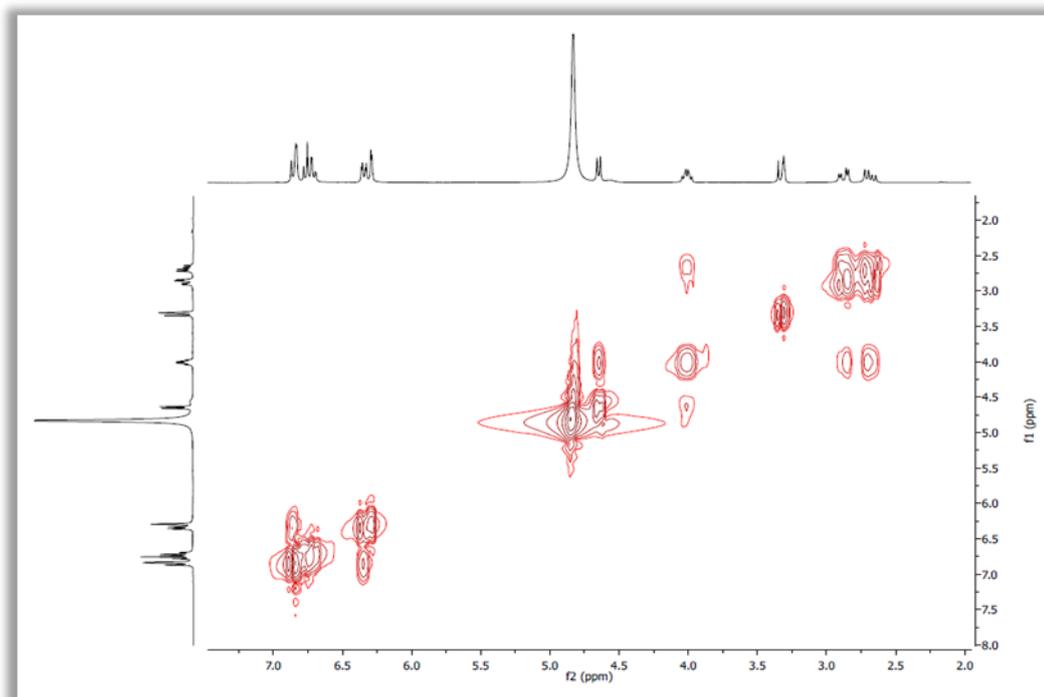


O espectro bidimensional de correlação homonuclear  $^1\text{H} \times ^1\text{H}$  – COSY (Fig. 99) de **BCR-5** mostrou correlações entre os hidrogênios *orto* em  $\delta_{\text{H}}$  6,87 (H-5) e em  $\delta_{\text{H}}$  6,35 (H-6), este último, como sugerido pela multiplicidade e constante de acoplamento deste sinal. Outro *crosspeak* é verificado para os hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  4,65 (H-2) e em



$\delta_{\text{H}}$  4,01 (H-3) e, a análise dos valores de  $J$  indica que estes átomos de hidrogênio realizam acoplamento do tipo *axial-axial*. Uma correlação homonuclear entre o H-3 ( $\delta_{\text{H}}$  4,01) e os hidrogênios na posição 4 ( $\delta_{\text{H}}$  2,88 e  $\delta_{\text{H}}$  2,68) indica os acoplamentos existentes: *axial-axial* entre H-3 e o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  2,68 (H-4b), pois este apresenta um dos valores de  $J$  como 8,0 Hz e *axial-equatorial* entre H-3 e o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  2,88 (H-4a), devido à magnitude dos valores de  $J$  igual a 5,0 Hz.

Figura 99 – Espectro bidimensional de correlação homonuclear  $^1\text{H} \times ^1\text{H}$  – COSY de **BCR-5**



A análise dos dados espectroscópicos obtidos e a comparação com dados descritos na literatura (IMAI *et al.*, 2008), permitiram identificar **BCR-5** como o flavonóide da classe das flavanas-3-ol denominado 2-(3',4'-diidroxifenil)-cromano-3,7-diol, conhecido vulgarmente como fisetinidol (Fig. 100). A comparação do valor de rotação óptica específica com dados descritos na literatura (SURESH *et al.*, 2012) permitiu a atribuição da configuração absoluta 2*R*,3*S*. Essa substância já foi isolada anteriormente de *B. acuruana* (GÓIS, 2014), de *B. unguata* (DE SOUSA *et al.*, 2016b), *B. pulchella* (CARVALHO, 2014) e está sendo relatada pela primeira vez em *Bauhinia cheilantha*.

Figura 100 – Estrutura do fisetinidol

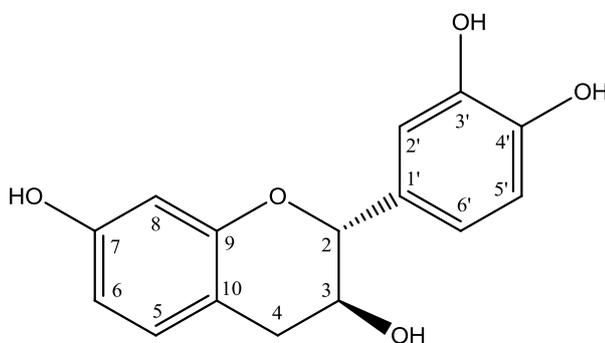


Tabela 24 – Dados espectroscópicos de **BCR-5** comparados com dados descritos na literatura (IMAI *et al.*, 2008)

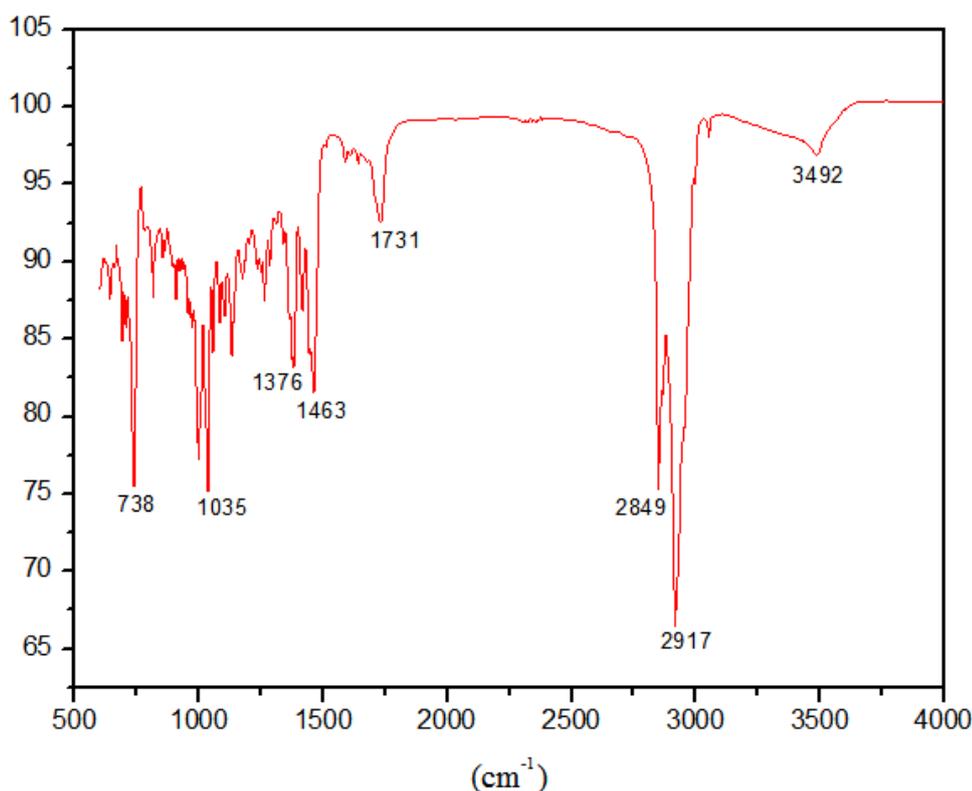
	BCR-5 (CD <sub>3</sub> OD)		HMBC		LITERATURA (CD <sub>3</sub> OD)	
	$\delta_C$ (ppm)	$\delta_H$ (ppm, multip., J Hz)	$^2J_{CH}$	$^3J_{CH}$	$\delta_C$ (ppm)	$\delta_H$ (ppm, multip., J Hz)
<b>C</b>						
<b>7</b>	157,99			H-5	155,6	
<b>9</b>	156,28		H-8	H-5 H-4A H-4B	154,9	
<b>10</b>	112,74		H-4A H-4B	H-6 H-8 H-3	111,2	
<b>1'</b>	132,41		H-2	H-5'	131,0	
<b>3'</b>	146,37		H-2'		145,0	
<b>4'</b>	146,37			H-2' H-6'	145,0	
<b>CH</b>						
<b>2</b>	83,11	4,65 ( <i>d</i> , 7,2)		H-2' H-6' H-4A H-4B	81,7	4,64 ( <i>d</i> , 7,1)
<b>3</b>	68,96	4,01 ( <i>td</i> , 7,6; 5,3)	H-2 H-4A H-4B		67,5	4,02 ( <i>m</i> )
<b>5</b>	131,41	6,87 ( <i>s</i> )		H-4A H-4B	130,0	6,88 ( <i>d</i> , 7,9)
<b>6</b>	109,62	6,35 ( <i>dd</i> , 8,2; 2,4)		H-8	108,2	6,36 ( <i>dd</i> , 8,1, 2,4)
<b>8</b>	103,78	6,29 ( <i>d</i> , 2,3)		H-6	102,3	6,31 ( <i>d</i> , 2,4)
<b>2'</b>	115,28	6,83 ( <i>d</i> , 1,8)		H-6' H-2	113,8	6,85 ( <i>d</i> , 1,5)
<b>5'</b>	116,28	6,77 ( <i>d</i> , 8,1)			114,8	6,78 ( <i>d</i> , 9,3)
<b>6'</b>	120,01	6,71 ( <i>dd</i> , 8,1; 1,7)		H-2' H-2	118,3	6,73 ( <i>dd</i> , 9,4, 1,7)
<b>CH<sub>2</sub></b>						
<b>4</b>	33,24	2,88 (a - <i>dd</i> , 15,7; 5,0) 2,68 (b - <i>dd</i> , 15,7; 8,0)		H-5 H-2	31,9	2,70 ( <i>dd</i> , 16,0, 7,6) 2,89 ( <i>dd</i> , 16,0, 4,8)

#### 4.2.6 Determinação estrutural de BCR-6

O tratamento cromatográfico descrito no item 5.3.2.8 (p. 159) resultou na precipitação de um sólido cristalino de cor branca, solúvel em diclorometano, com ponto de fusão 249 °C (P.F.<sub>literatura</sub> = 260 °C – 261 °C (KURTH; BECKER, 1953)) e rotação óptica específica  $[\alpha]_D^{20} = + 17,7^\circ$  ( $c$  0,1; CHCl<sub>3</sub> (lit.  $[\alpha]_D^{20} = + 8,1^\circ$ ;  $c$  0,04; CHCl<sub>3</sub>, JUTIVIBOONSUK *et al.*, 2007) que foi denominado de **BCR-6** e submetido à análise por métodos físicos.

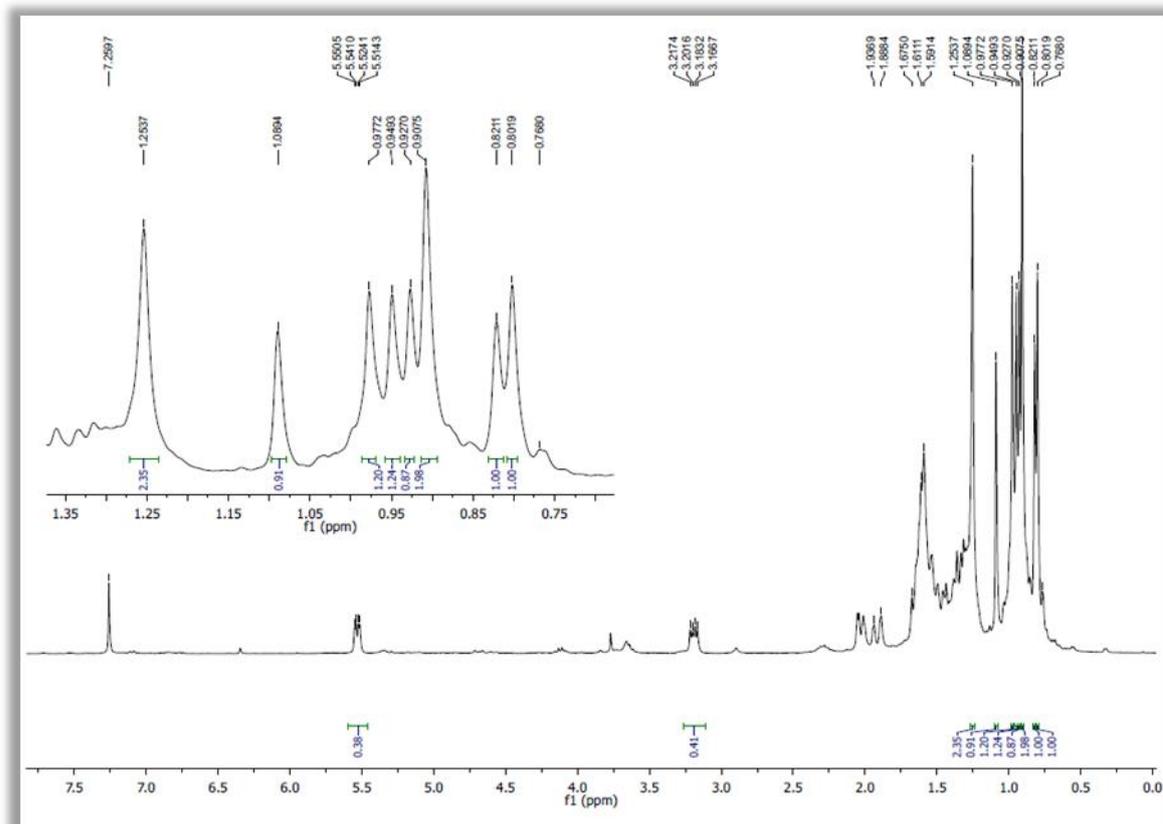
A análise do espectro de absorção na região do infravermelho de **BCR-6** (Fig. 101) revelou a presença de uma banda larga centrada em 3492 cm<sup>-1</sup> relacionada à deformação axial de ligação O-H; duas bandas intensas em 2917 cm<sup>-1</sup> e em 2849 cm<sup>-1</sup> indicativas de deformação axial de ligação C-H em carbono com hibridação  $sp^3$ ; uma pequena banda em 1731 cm<sup>-1</sup> compatível com deformação axial de ligação C=C; duas bandas em 1463 cm<sup>-1</sup> e em 1376 cm<sup>-1</sup> relacionadas com deformação angular de CH<sub>2</sub> e CH<sub>3</sub> e uma banda em 1035 cm<sup>-1</sup> indicativa de deformação axial de ligação C-O SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2007; PAVIA *et al.*, 2010).

Figura 101 – Espectro na região do IV (em ATR) de **BCR-6**



A análise do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , Fig. 102) de **BCR-6** permitiu identificar dois duplos dupletos, um em  $\delta_{\text{H}}$  5,54 (1H,  $J = 8,0$  e  $2,9$  Hz), típico de hidrogênio ligado a carbono olefínico (CAMARGO *et al.*, 2013) e outro em  $\delta_{\text{H}}$  3,20 (1H,  $J = 10,4$  e  $4,8$  Hz) atribuído a um hidrogênio ligado a carbono carbinólico em configuração relativa *3a-axial* (ARAÚJO; CHAVES, 2005; LEMES; FERRI; LOPES, 2011). Também foram observados múltiplos sinais na região entre  $\delta_{\text{H}}$  2,06 a  $\delta_{\text{H}}$  0,77, onde se destacam sete simpletos em  $\delta_{\text{H}}$  1,10,  $\delta_{\text{H}}$  0,99,  $\delta_{\text{H}}$  0,96,  $\delta_{\text{H}}$  0,94,  $\delta_{\text{H}}$  0,92,  $\delta_{\text{H}}$  0,83 e  $\delta_{\text{H}}$  0,81 atribuídos aos hidrogênios de oito grupos metila, levando-se em consideração que o sinal em  $\delta_{\text{H}}$  0,92 apresentou integração para seis átomos de hidrogênios, sendo, portanto, atribuído a dois grupos metila.

Figura 102 – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **BCR-6**



O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , Fig. 103, p. 120) de **BCR-6** mostrou a presença de 31 linhas espectrais. A análise comparativa destes dados com o espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$ -APT (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , Fig. 104, p. 121) possibilitou identificar a presença de sete átomos de carbono não hidrogenados, cinco carbonos metínicos, dez carbonos metilênicos e oito carbonos metílicos. Vale salientar que o sinal em  $\delta_{\text{C}}$  29,71

provavelmente é de alguma impureza da amostra. A Tabela 17 (p. 121) dispõe esses dados de forma organizada.

Figura 103 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **BCR-6**

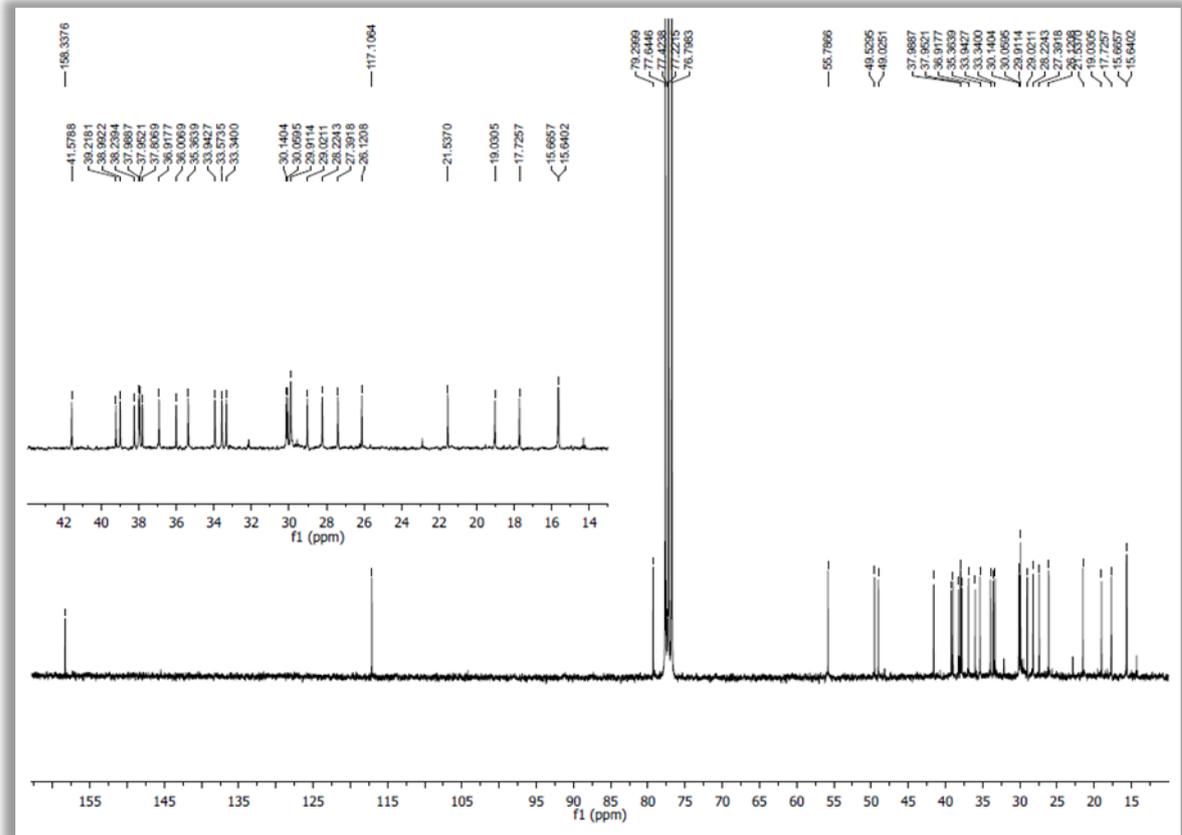
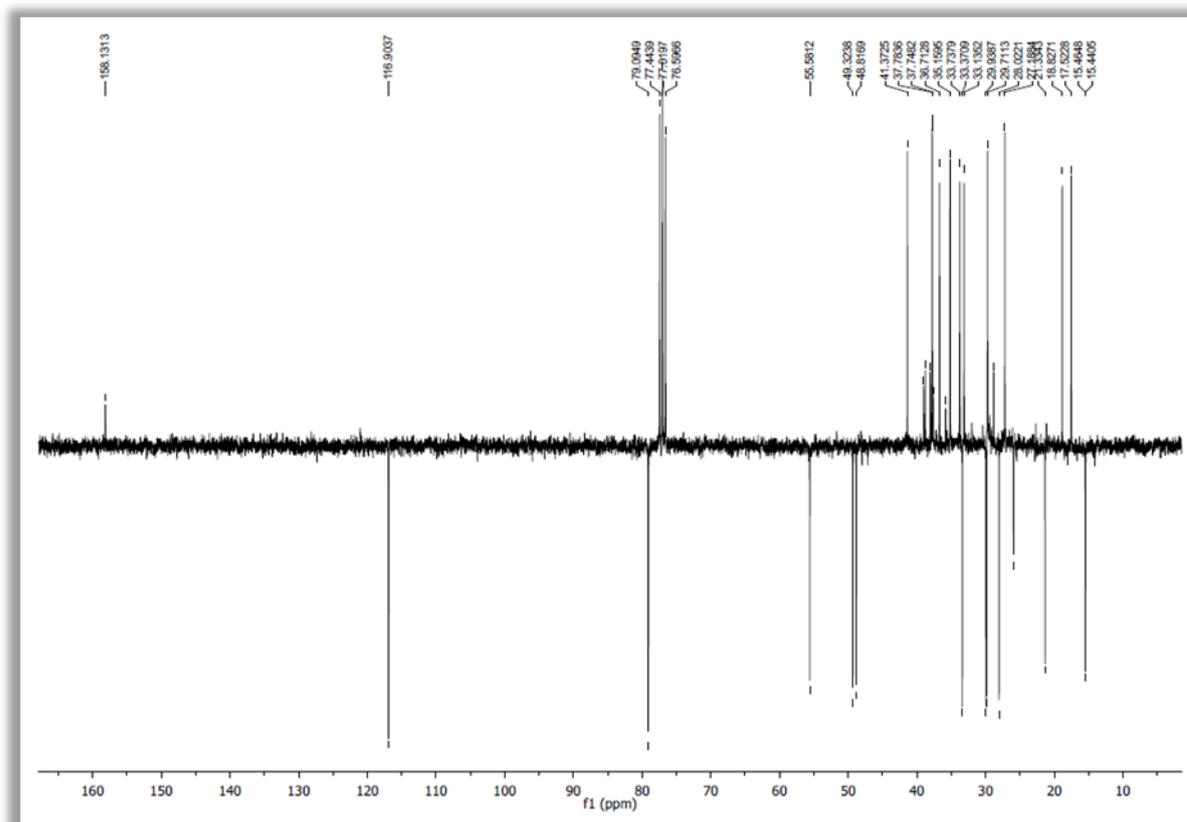


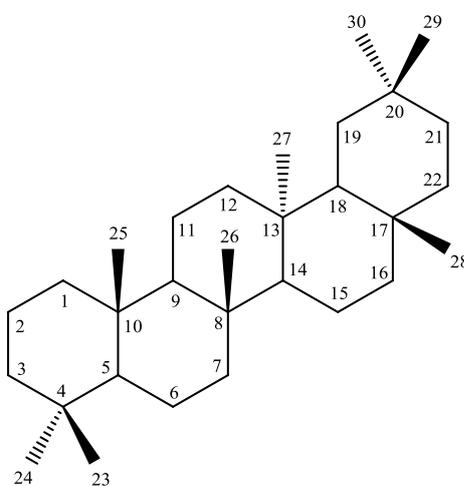
Figura 104 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – APT de **BCR-6**Tabela 25 – Dados de deslocamentos químicos ( $\delta$ ) de carbono-13 para **BCR-6**, obtidos por comparação entre os espectros de RMN  $^{13}\text{C}$ –BB e RMN  $^{13}\text{C}$ –APT

C	CH	CH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>
158,13	116,90	41,37	33,37
39,01	79,09	37,78	29,94
38,79	55,58	37,75	29,86
38,03	49,32	36,71	28,02
37,60	48,82	35,16	25,92
35,80	-	33,74	21,33
28,82	-	33,14	15,46
-	-	27,19	15,44
-	-	18,83	
-	-	17,52	
<b>7 C</b>	<b>5 CH</b>	<b>10 CH<sub>2</sub></b>	<b>8 CH<sub>3</sub></b>
<b>Fórmula molecular estimada: C<sub>30</sub>H<sub>50</sub>O</b>			

Pela análise dos dados foi possível estimar a fórmula molecular C<sub>30</sub>H<sub>50</sub>O. O IDH calculado para a mesma foi de seis, compatível com um esqueleto triterpênico pentacíclico

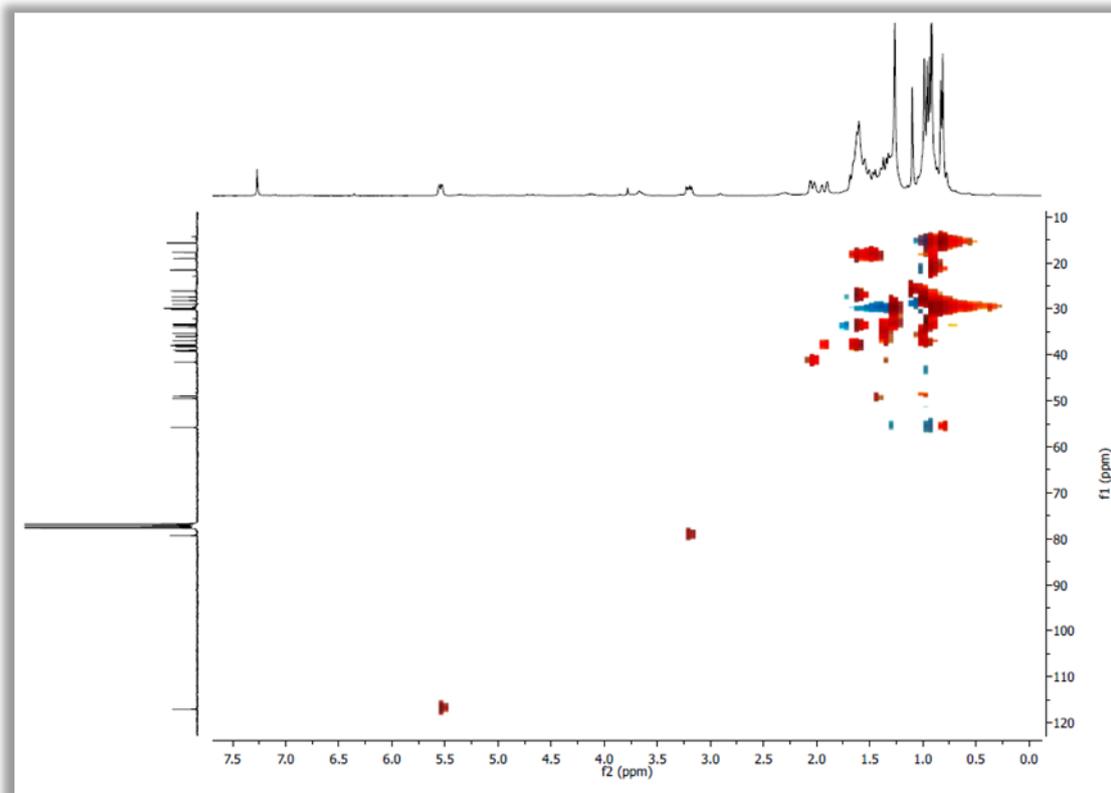
com uma ligação dupla. A presença das metilas ( $\text{H}_3\text{C}-29$ ) e ( $\text{H}_3\text{C}-30$ ) ligadas no mesmo átomo de carbono (C-20) corroboraram para a ocorrência de triterpeno pentacíclico da série taraxerano (MAHATO; KUNDU, 1994; LEMES; FERRI; LOPES, 2011) (Fig. 105). O sinal em  $\delta_{\text{H}}$  5,54, pelos valores das suas constantes de acoplamento, juntamente com os dois sinais característicos de deslocamento químicos de carbonos olefínicos em  $\delta_{\text{C}}$  116,90 (CH) e  $\delta_{\text{C}}$  158,13 (C), constituem indícios da presença de uma ligação dupla endocíclica nesse esqueleto.

Figura 105 – Esqueleto triterpênico do tipo taraxerano

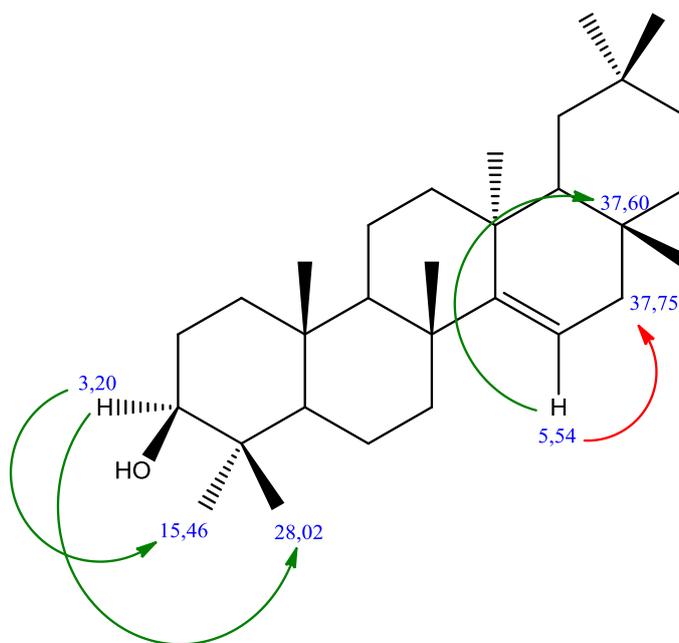


O espectro bidimensional de correlação heteronuclear por coerência quântica simples  $^{13}\text{C} \times ^1\text{H}$  - HSQC de **BCR-6** (Fig. 106, p. 123) apresentou a associação direta entre os hidrogênios e seus respectivos carbonos conforme mostrado na Tabela 18 (p. 126).

Figura 106 – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear por coerência quântica simples  $^{13}\text{C} \times ^1\text{H}$  - HSQC de **BCR-6**



Pela análise do espectro de correlação heteronuclear por ligações múltiplas  $^{13}\text{C} \times ^1\text{H}$  – HMBC (Fig. 107, p. 124) foi possível observar um *crosspeak* entre o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  5,54 (H-15) e os carbonos em torno de  $\delta_{\text{C}}$  37, sugerindo uma correlação do tipo  $^2J_{\text{CH}}$  entre esse hidrogênio e o carbono na posição 16 ( $\delta_{\text{C}}$  37,75) ou do tipo  $^3J_{\text{CH}}$  com o carbono na posição 17 ( $\delta_{\text{C}}$  37,60), ou ambas as correlações detectadas pelo aparelho



durante o experimento. No anel A do esqueleto triterpênico, é possível observar um sinal que correlaciona o hidrogênio ligado ao carbono carbinólico em  $\delta_{\text{H}}$  3,20 com os carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  15,46 (C-24) e em  $\delta_{\text{C}}$  28,02 (C-23), ambos a três ligações de distância.

A configuração relativa da hidroxila do carbono C-3 na posição *equatorial* foi confirmada através dos valores de  $J$  para o hidrogênio na posição 3 indicam os acoplamentos existentes entre o mesmo e os hidrogênios na posição 2, sendo dos tipos *axial-axial* ( $J = 10,4$ ) e *axial-equatorial* ( $J = 4,8$ ).

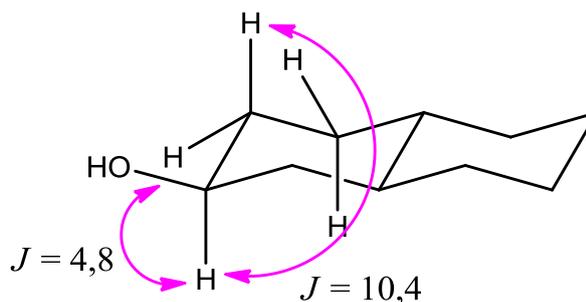
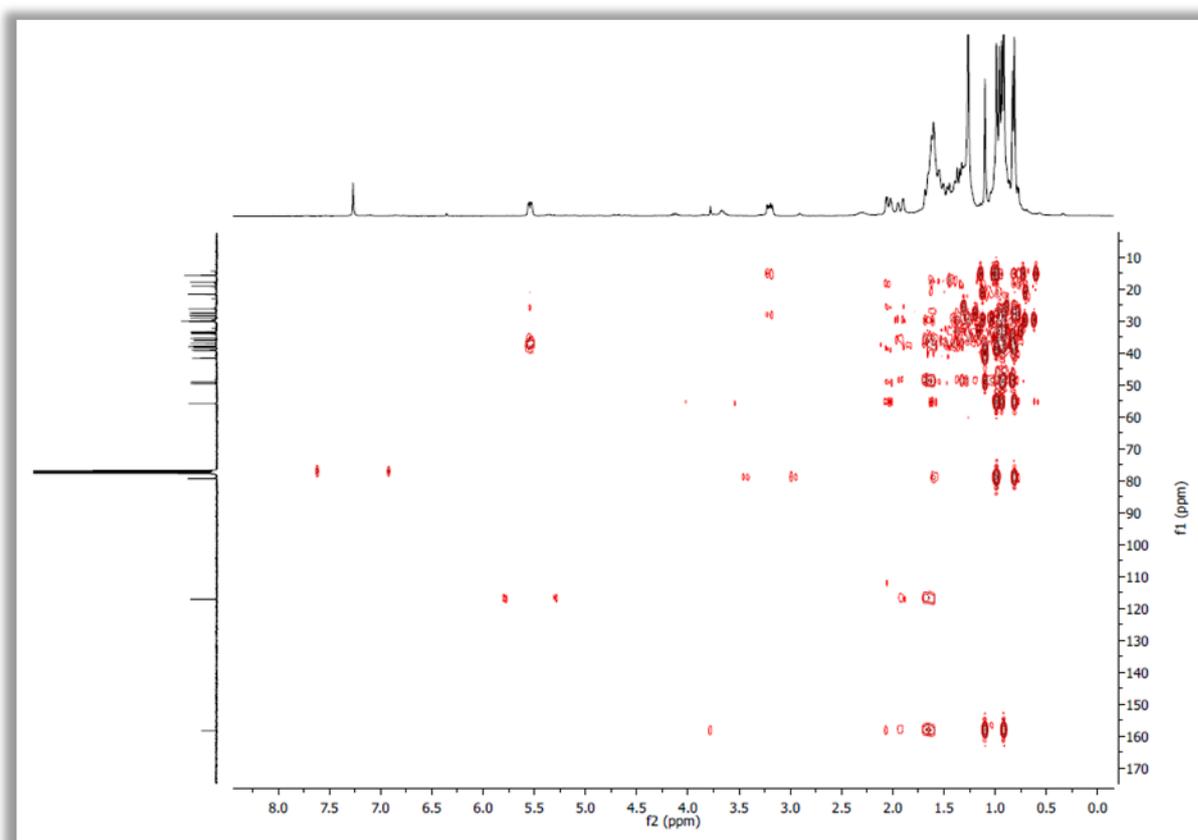
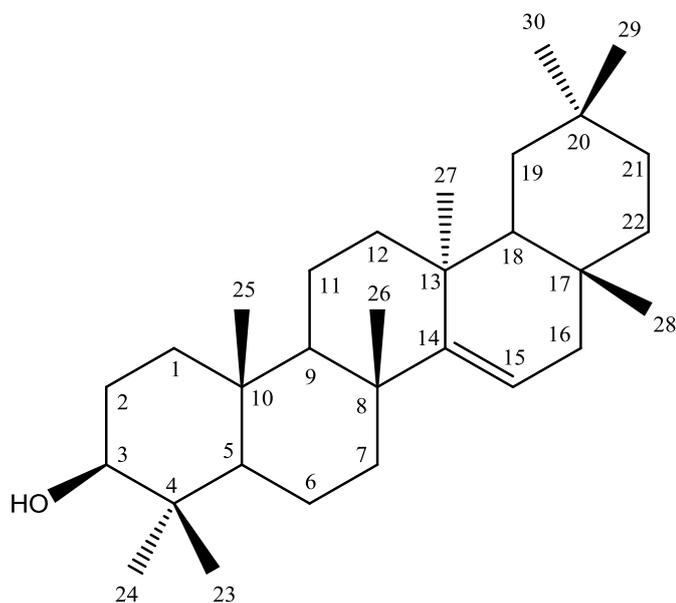


Figura 107 – Espectro de correlação heteronuclear por ligações múltiplas  $^{13}\text{C} \times ^1\text{H}$  – HMBC de **BCR-3**



A análise dos dados espectroscópicos obtidos e a posterior comparação com dados registrados na literatura (HERNÁNDEZ-CHÁVEZ *et al.*, 2012) permitiram identificar **BCR-6** como sendo o triterpeno  $13\alpha$ -metil-27-norolean-14-en-3 $\beta$ -ol, também conhecido de taraxerol, cuja estrutura está mostrada na Fig. 108 (p. 125).

Figura 108 – Estrutura do taraxerol



Taraxerol é conhecido por suas atividades biológicas como indutor de apoptose (XIANGYANG *et al.*, 2017), inibidor da acetilcolinesterase (LEE *et al.*, 2004) e sobre diabetes (KHANRA *et al.*, 2017). Esta substância já foi relatada em *Bauhinia unguolata* (DE SOUSA *et al.*, 2016b) e está sendo relatada pela primeira vez em *Bauhinia cheilantha*.

Tabela 26 – Dados espectroscópicos de **BCR-6** comparados com os dados descritos na literatura para 13a-metil-27-norolean-14-en-3b-ol (HERNÁNDEZ-CHÁVEZ *et al.*, 2012)

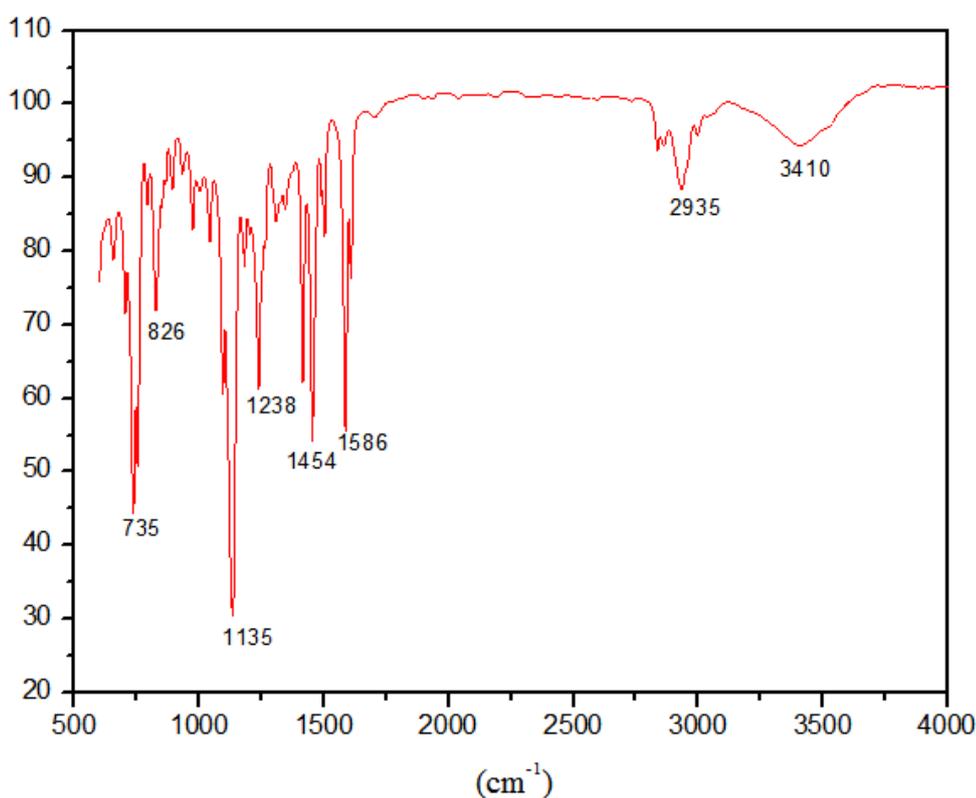
	BCR-2 (CDCl <sub>3</sub> )		LITERATURA (CDCl <sub>3</sub> ) (250/300 MHz)	
	$\delta_C$ (ppm)	$\delta_H$ (ppm, multip., J Hz)	$\delta_C$ (ppm)	$\delta_H$ (ppm, multip., J Hz)
<b>C</b>				
<b>4</b>	38,79		30,0	
<b>8</b>	38,03		38,7	
<b>10</b>	35,80		35,7	
<b>13</b>	39,01		37,6	
<b>14</b>	158,13		158,1	
<b>17</b>	37,60		37,7	
<b>20</b>	28,82		28,8	
<b>CH</b>				
<b>3</b>	79,09	3,20 ( <i>dd</i> , 10,4; 4,8)	79,1	3,24 ( <i>dd</i> , 11,1, 4,7)
<b>5</b>	55,58		55,5	
<b>9</b>	48,82		48,7	
<b>15</b>	116,90	5,54 ( <i>dd</i> ; 8,0; 2,9)	116,9	5,53 ( <i>dd</i> , 8,2, 3,2)
<b>18</b>	49,32		49,2	
<b>CH<sub>2</sub></b>				
<b>1</b>	37,78		38,0	
<b>2</b>	27,19		27,1	
<b>6</b>	18,83		18,8	
<b>7</b>	35,16		35,1	
<b>11</b>	17,52		17,5	
<b>12</b>	36,71		35,8	
<b>16</b>	37,75		36,6	
<b>19</b>	41,37		41,3	
<b>21</b>	33,74		33,7	
<b>22</b>	33,14		33,1	
<b>CH<sub>3</sub></b>				
<b>23</b>	28,02	0,99 ( <i>s</i> )	28,0	0,98 ( <i>s</i> )
<b>24</b>	15,46	0,81 ( <i>s</i> )	15,4	0,80 ( <i>s</i> )
<b>25</b>	15,44	0,94 ( <i>s</i> )	15,4	0,93 ( <i>s</i> )
<b>26</b>	29,94	0,92 ( <i>s</i> )	29,8	0,91 ( <i>s</i> )
<b>27</b>	25,92	1,10 ( <i>s</i> )	25,9	1,09 ( <i>s</i> )
<b>28</b>	29,86	0,83 ( <i>s</i> )	29,9	0,82 ( <i>s</i> )
<b>29</b>	33,37	0,96 ( <i>s</i> )	33,3	0,95 ( <i>s</i> )
<b>30</b>	21,33	0,92 ( <i>s</i> )	21,3	0,90 ( <i>s</i> )

#### 4.2.7 Determinação estrutural de BCR-7

O tratamento cromatográfico descrito no item 5.3.2.9 (p. 160) resultou no isolamento de um material oleoso, transparente, solúvel em diclorometano que foi denominado inicialmente de **BCR-7** e analisado por métodos físicos.

A análise do espectro de absorção na região do infravermelho de **BCR-7** (Fig. 109) revelou uma banda de absorção em  $3410\text{ cm}^{-1}$  relativa à deformação axial de ligação O-H; uma banda em  $2935\text{ cm}^{-1}$ , associada à deformação axial de ligação C-H em carbono com hibridação  $sp^3$ ; bandas em  $1586\text{ cm}^{-1}$  e em  $1454\text{ cm}^{-1}$  indicativas de deformação no eixo de ligação C=C e bandas em  $1238\text{ cm}^{-1}$  e em  $1135\text{ cm}^{-1}$  características de deformação axial típica de ligação C-O SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2007; PAVIA *et al.*, 2010).

Figura 109 – Espectro na região do IV (em ATR) de **BCR-7**

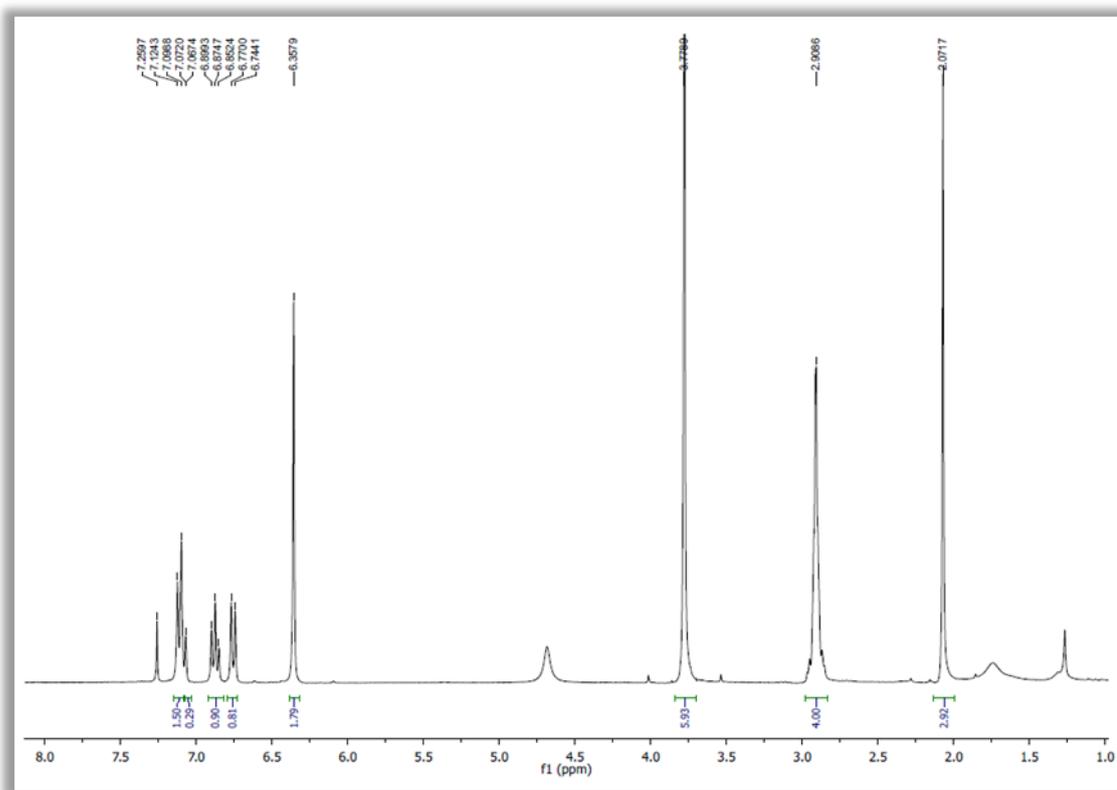


O espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , Fig. 110, p. 128) de **BCR-7** revelou a presença de sinais na região entre  $\delta_{\text{H}}$  7,11 a  $\delta_{\text{H}}$  6,36, característicos de hidrogênios ligados a carbonos de anéis aromáticos. Entre eles, observa-se um simpleto intenso em  $\delta_{\text{H}}$  6,36 (2H) sugerindo a presença de um anel aromático 1, 3, 4, 5-tetrassubstituído. Foram observados, ainda, três dupletos em  $\delta_{\text{H}}$  7,11 (1H,  $J = 7,6\text{ Hz}$ ), em  $\delta_{\text{H}}$  7,07 (1H,  $J = 1,4\text{ Hz}$ ) e em  $\delta_{\text{H}}$  6,76

(1H,  $J = 7,8$  Hz), além de um tripleto em  $\delta_H$  6,88 (1H,  $J = 7,0$  Hz) levaram a sugerir, devido à multiplicidade dos sinais e valores de constante de acoplamento, a presença de outro anel aromático 1,3-dissubstituído nessa estrutura.

Adicionalmente, foram observados um simpleto em  $\delta_H$  3,78 (6H), associado aos hidrogênios de dois grupos metoxila; um simpleto largo em  $\delta_H$  2,91 (4H) atribuído aos quatro átomos de hidrogênio, possivelmente, de uma unidade  $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$  de compostos bibenzílicos (APISANTIYAKOM *et al.*, 2004; ZHANG; ZHANG; TAO, 2007; XIAO *et al.*, 2008) e um simpleto em  $\delta_H$  2,07 (3H) que sugerem a presença de hidrogênios metílicos em **BCR-7**.

Figura 110 – Espectro de RMN<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de **BCR-7**



A análise do espectro de RMN <sup>13</sup>C – BB (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>, Fig. 111, p. 129) de **BCR-7** revelou a presença de 14 linhas espectrais. A comparação desse espectro com os dados de RMN <sup>13</sup>C – APT (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>, Fig. 112, p. 129) permitiu a identificação de cinco carbonos não hidrogenados (C), seis carbonos metínicos (CH), dois carbonos metilênicos (CH<sub>2</sub>) e dois carbonos metílicos (CH<sub>3</sub>). Deve-se ressaltar que, os sinais com deslocamento químico em  $\delta_C$  158,49, em  $\delta_C$  104,21 e em  $\delta_C$  55,94 foram atribuídos, cada um deles, a dois átomos de carbono, devido às suas intensidades quando comparados aos demais

com o mesmo padrão de hidrogenação. Dessa forma, a estrutura de **BCR-7** contém dezessete átomos de carbono, conforme descrito na Tabela 19 (p. 130).

Figura 111 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  - BB (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **BCR-7**

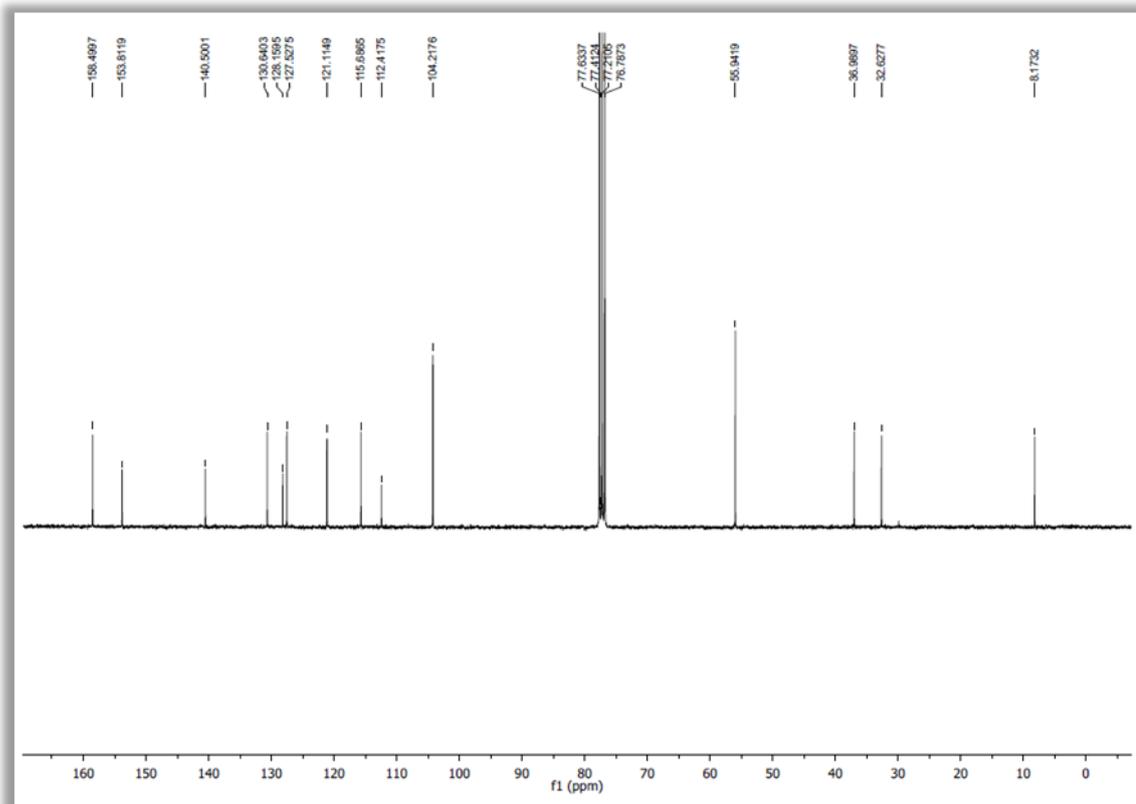


Figura 112 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  - APT (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **BCR-7**

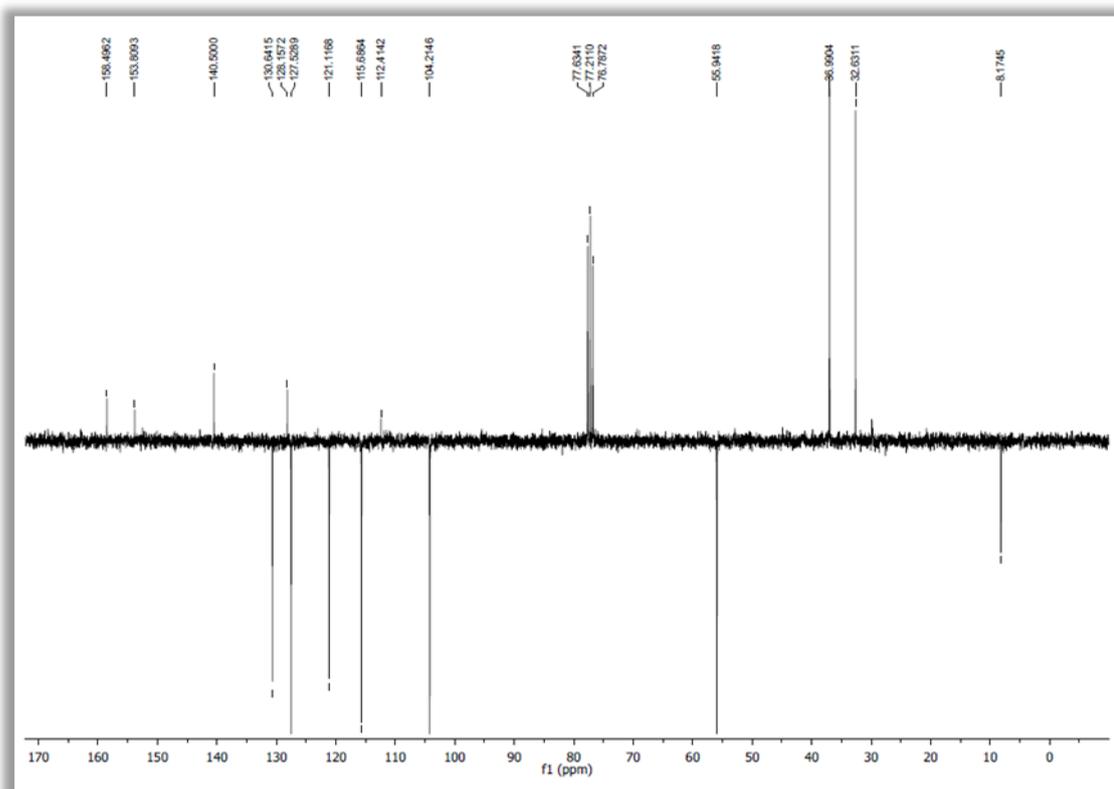


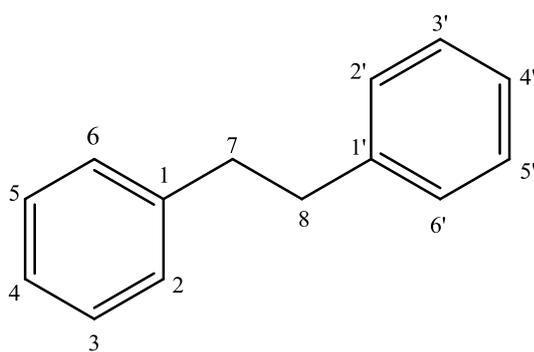
Tabela 27 – Dados de deslocamentos químicos ( $\delta$ ) de carbono-13 para **BCR-7**, obtidos por comparação entre os espectros de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB e RMN  $^{13}\text{C}$ -APT

C	CH	CH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>
158,49 (C-O)	130,64	36,99	55,94
158,49 (C-O)	127,62	32,63	55,94
153,80 (C-OH)	121,11	-	8,17
140,50	115,68	-	
128,15	104,21	-	
112,41	104,21	-	
<b>6 C</b>	<b>6 CH</b>	<b>2 CH<sub>2</sub></b>	<b>3 CH<sub>3</sub></b>

**Fórmula molecular estimada: C<sub>17</sub>H<sub>20</sub>O<sub>3</sub>**

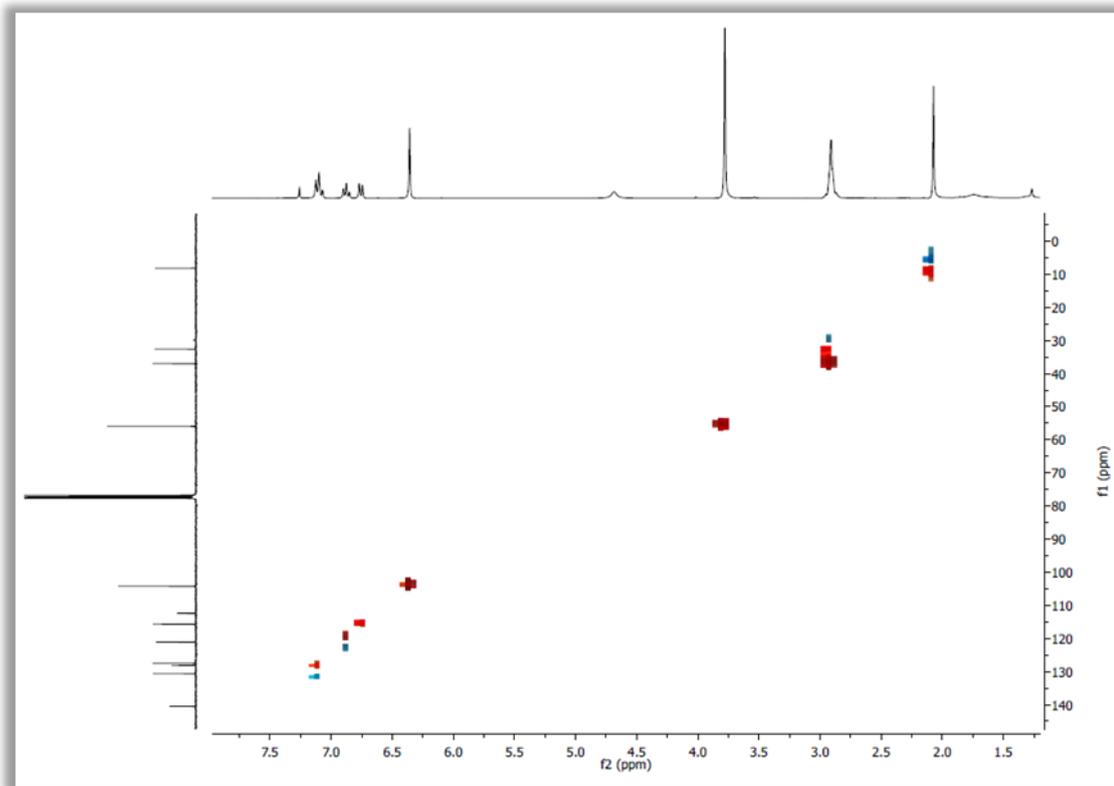
Através da análise da fórmula molecular sugerida, C<sub>17</sub>H<sub>20</sub>O<sub>3</sub>, foi possível calcular o IDH para **BCR-7** que foi igual a oito. Vale ressaltar que este valor de IDH, a presença dos sinais correspondentes aos dois átomos de carbono metilênicos (CH<sub>2</sub>), juntamente com os sinais de doze átomos de carbono, com deslocamentos químicos na faixa entre  $\delta_{\text{C}}$  104,21-158,48, corroboram para a identificação dessa substância como um composto da classe dos bibenzis, cuja estrutura básica está mostrada na Figura 113 (p. 125) (APISANTIYAKOM *et al.*, 2004; ZHANG; ZHANG; TAO, 2007; XIAO *et al.*, 2008).

Figura 113 – Esqueleto básico de um bibenzil

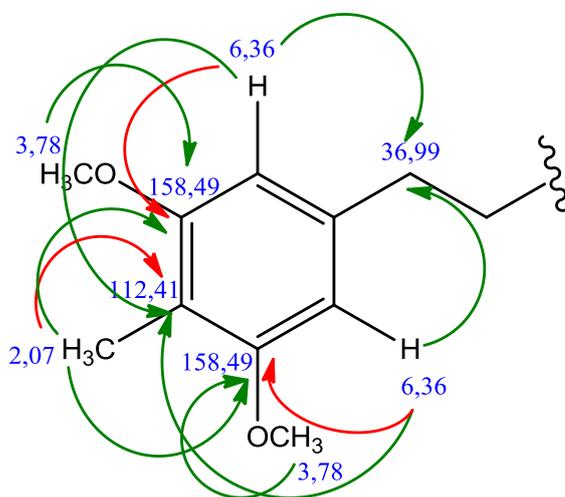


O espectro bidimensional de correlação heteronuclear por coerência quântica simples  $^{13}\text{C} \times ^1\text{H}$  - HSQC de **BCR-7** (Fig. 114, p. 131) deixou clara a associação direta entre os hidrogênios e seus respectivos carbonos conforme mostrado na Tabela 20 (p. 134).

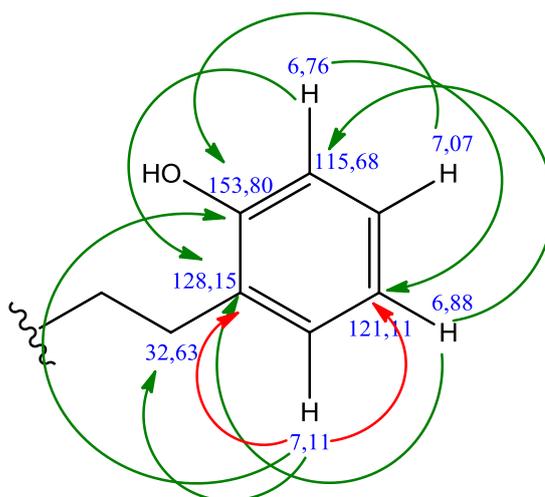
Figura 114 – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear por coerência quântica simples  $^{13}\text{C} \times ^1\text{H}$  - HSQC de **BCR-7**



Através da análise do espectro bidimensional de correlação heteronuclear por ligações múltiplas  $^{13}\text{C} \times ^1\text{H}$  – HMBC de **BCR-7** (Fig. 115, p. 133) foi possível observar associações entre os hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  6,36 (H-2 e H-6) e os carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  158,49 (C-3 e C-5) a duas ligações de distância, confirmando a posição destes carbonos oxigenados, e a três ligações de distância com o carbono em  $\delta_{\text{C}}$  112,41 (C-4) e com o carbono em  $\delta_{\text{C}}$  36,99 (C-7). Os hidrogênios do grupo metila em  $\delta_{\text{H}}$  2,07 correlacionam por  $^2J_{\text{CH}}$  com o carbono em  $\delta_{\text{C}}$  112,41 (C-4), fixando a posição deste substituinte no esqueleto bibenzílico, assim também acontece com os hidrogênios dos grupos metoxila em  $\delta_{\text{H}}$  3,78 quando se associam por  $^3J_{\text{CH}}$  com os carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  158,49 (C-3 e C-5). Os mesmos hidrogênios metílicos em  $\delta_{\text{H}}$  2,07 também estão correlacionados a três ligações de distância aos carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  158,49 (C-3 e C-5).



No outro anel benzênico, correlações a três ligações entre o hidrogênio em  $\delta_H$  6,76 (H-3') e os carbonos em  $\delta_C$  128,15 (C-1') e em  $\delta_C$  121,11 (C-5') são observadas. O hidrogênio na posição 4' ( $\delta_H$  7,07) está correlacionado a três ligações de distância em relação ao carbono em  $\delta_C$  153,80 (C-2'), informando sobre a posição da hidroxila nesta estrutura. Na posição 5', o hidrogênio em  $\delta_H$  6,88 está a  $^3J_{CH}$  dos carbonos em  $\delta_C$  128,15 (C-1') e em  $\delta_C$  115,68 (C-3') e o hidrogênio em  $\delta_H$  7,11 (H-6') realiza o maior número de acoplamentos a longa distância: com os carbonos em  $\delta_C$  128,15 (C-1') e em  $\delta_C$  121,11 (C-5') a  $^2J_{CH}$  e com os carbonos em  $\delta_C$  32,63 (C-8) e em  $\delta_C$  153,80 (C-2') a três ligações de distância.



Na porção central do esqueleto bibenzílico são observadas correlações envolvendo os hidrogênios em  $\delta_H$  2,91 (H-7 e H-8) e os carbonos em  $\delta_C$  140,50 (C-1) e em  $\delta_C$  128,15 (C-1') por duas e três ligações de distância. Correlações do tipo  $^2J_{CH}$  são observadas através de *crosspeaks* isolados envolvendo esses mesmos hidrogênios e os carbonos em  $\delta_C$  36,99 (C-7) e em  $\delta_C$  32,63 (C-8). O hidrogênio na posição 7 ( $\delta_H$  2,91) realiza acoplamento com os carbonos em  $\delta_C$  104,21 (C-2 e C-6) por  $^3J_{CH}$ , assim como o hidrogênio na posição 8 ( $\delta_H$  2,91) está para os carbonos em  $\delta_C$  153,80 (C-2') e em  $\delta_C$  130,64 (C-6').

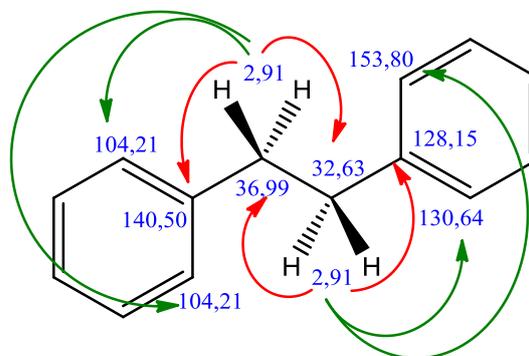
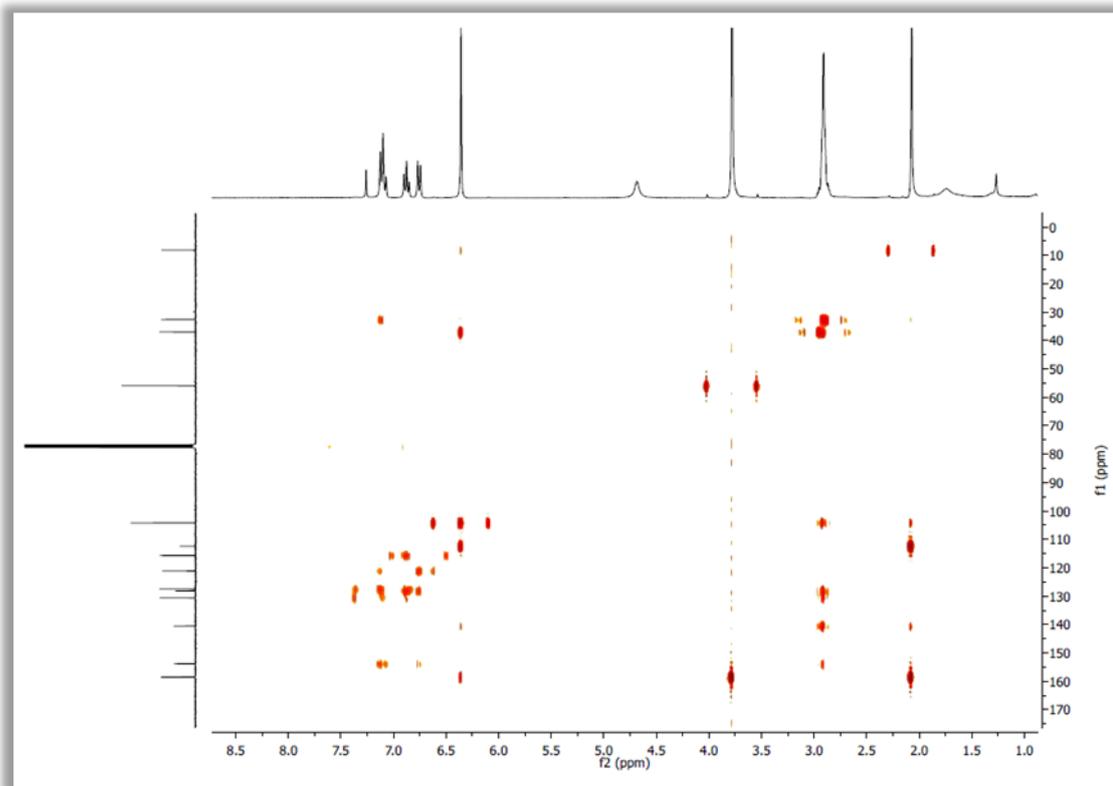


Figura 115 – Espectro de correlação heteronuclear por ligações múltiplas  $^{13}\text{C} \times ^1\text{H}$  – HMBC de **BCR-7**



A análise dos dados espectroscópicos obtidos, permitiram identificar **BCR-7** como sendo uma substância pertencente à classe dos bibenzis (APISANTIYAKOM *et al.*, 2004; ZHANG; ZHANG; TAO, 2007; XIAO *et al.*, 2008) denominado 3,5-dimetoxi-4-metil-2'-hidroxibenzil (Fig. 116), cujo isolamento foi descrito pela primeira vez na literatura a partir de *Bauhinia unguolata* (DE SOUSA *et al.*, 2016b) e está sendo descrita pela primeira vez em *Bauhinia cheilantha*.

Figura 116 – Estrutura do 3,5-dimetoxi-4-metil-2'-hidroxibenzil

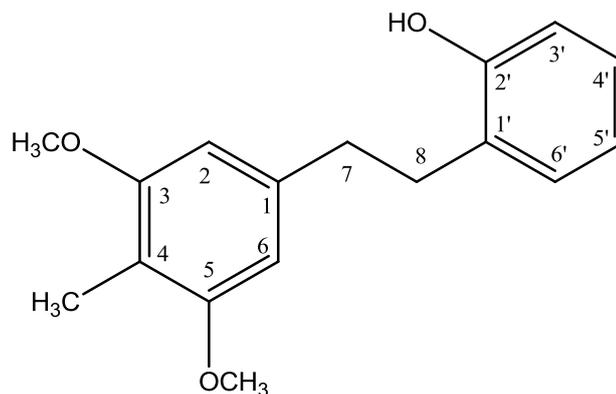


Tabela 28 - Dados espectroscópicos de **BCR-7** comparados com dados descritos na literatura (DE SOUSA *et al.*, 2016b)

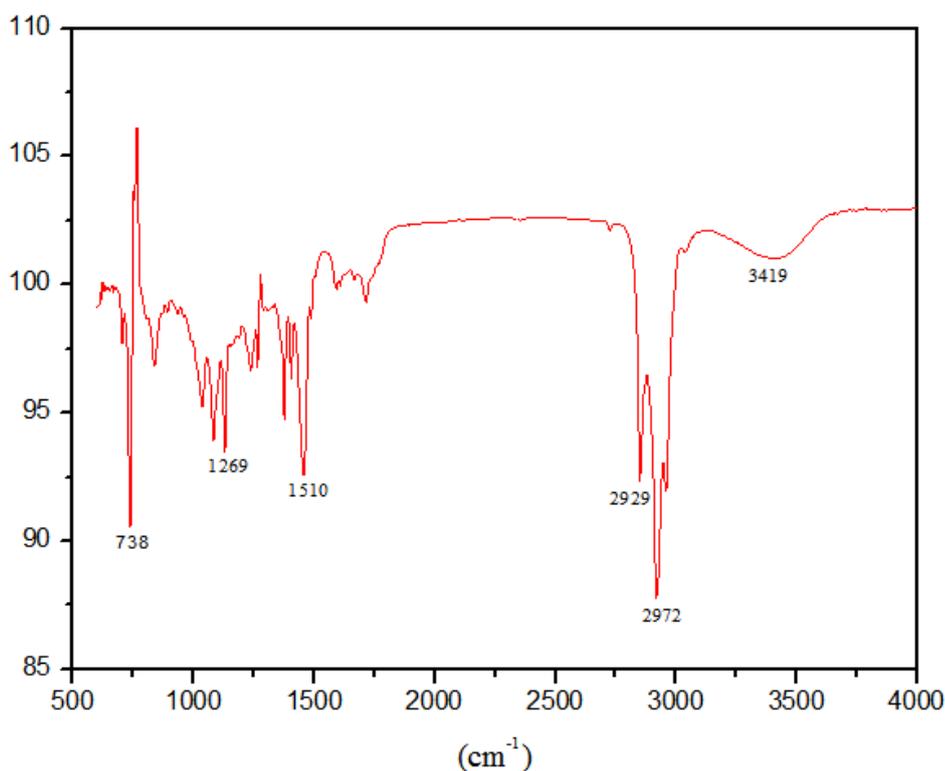
	BCR-1 (CD <sub>3</sub> OD)		HMBC		LITERATURA (CD <sub>3</sub> OD)	
	$\delta_C$ (ppm)	$\delta_H$ (ppm, multip., <i>J</i> Hz)	$^2J_{CH}$	$^3J_{CH}$	$\delta_C$ (ppm)	$\delta_H$ (ppm, multip., <i>J</i> Hz)
<b>C</b>						
<b>1</b>	140,50		H-7	H-8	140,53	
<b>3</b>	158,49		H-2	4-CH <sub>3</sub> 3-OCH <sub>3</sub>	158,48	
<b>4</b>	112,41		4-CH <sub>3</sub>	H-2 H-6	112,38	
<b>5</b>	158,49		H-6	4-CH <sub>3</sub> 5-OCH <sub>3</sub>	158,48	
<b>1'</b>	128,15		H-8 H-6'	H-7 H-5' H-3'	128,18	
<b>2'</b>	153,80			H-8 H-6' H-4'	153,83	
<b>CH</b>						
<b>2</b>	104,21	6,36 ( <i>s</i> )		H-7	104,21	6,45 ( <i>s</i> )
<b>6</b>	104,21	6,36 ( <i>s</i> )		H-7	104,21	6,45 ( <i>s</i> )
<b>3'</b>	115,68	6,76 ( <i>d</i> ; 7,8)		H-5'	115,67	6,77 ( <i>d</i> , 7,8)
<b>4'</b>	127,52	7,07 ( <i>d</i> ; 1,4)			127,54	7,08 ( <i>d</i> , 1,5)
<b>5'</b>	121,11	6,88 ( <i>t</i> ; 7,0)	H-6'	H-3'	121,09	6,88 ( <i>t</i> , 7,4)
<b>6'</b>	130,64	7,11 ( <i>d</i> ; 7,6)		H-8	130,65	7,12 ( <i>d</i> , 7,8)
<b>CH<sub>2</sub></b>						
<b>7</b>	36,99	2,91 ( <i>sl</i> )	H-8	H-2 H-6	36,99	2,86–2,98 ( <i>m</i> )
<b>8</b>	32,63	2,91 ( <i>sl</i> )	H-7	H-6'	32,65	2,86–2,98 ( <i>m</i> )
<b>CH<sub>3</sub></b>						
<b>3-OCH<sub>3</sub></b>	55,94	3,78 ( <i>s</i> )			55,95	3,82 ( <i>s</i> )
<b>5-OCH<sub>3</sub></b>	55,94	3,78 ( <i>s</i> )			55,95	3,82 ( <i>s</i> )
<b>4-CH<sub>3</sub></b>	8,17	2,07 ( <i>s</i> )			8,19	2,17 ( <i>s</i> )

#### 4.2.8 Determinação estrutural de BCR-8

O procedimento descrito no item 5.3.2.10 (p. 161) resultou no isolamento de um material oleoso, solúvel em diclorometano, que foi denominado de **BCR-8** e levado a análise por métodos físicos.

A análise do espectro de absorção na região do infravermelho de **BCR-8** (Fig. 117) revelou a presença de uma banda larga centrada em  $3419\text{ cm}^{-1}$  relacionada à deformação no eixo da ligação O-H; bandas em  $2972\text{ cm}^{-1}$  e em  $2929\text{ cm}^{-1}$  referentes à deformação axial de ligação C-H em carbonos  $sp^3$ ; banda em  $1510\text{ cm}^{-1}$  associada à deformação axial de ligação C=C e em  $1269\text{ cm}^{-1}$  indicativa de deformação no eixo da ligação C-O (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2007; PAVIA *et al.*, 2010).

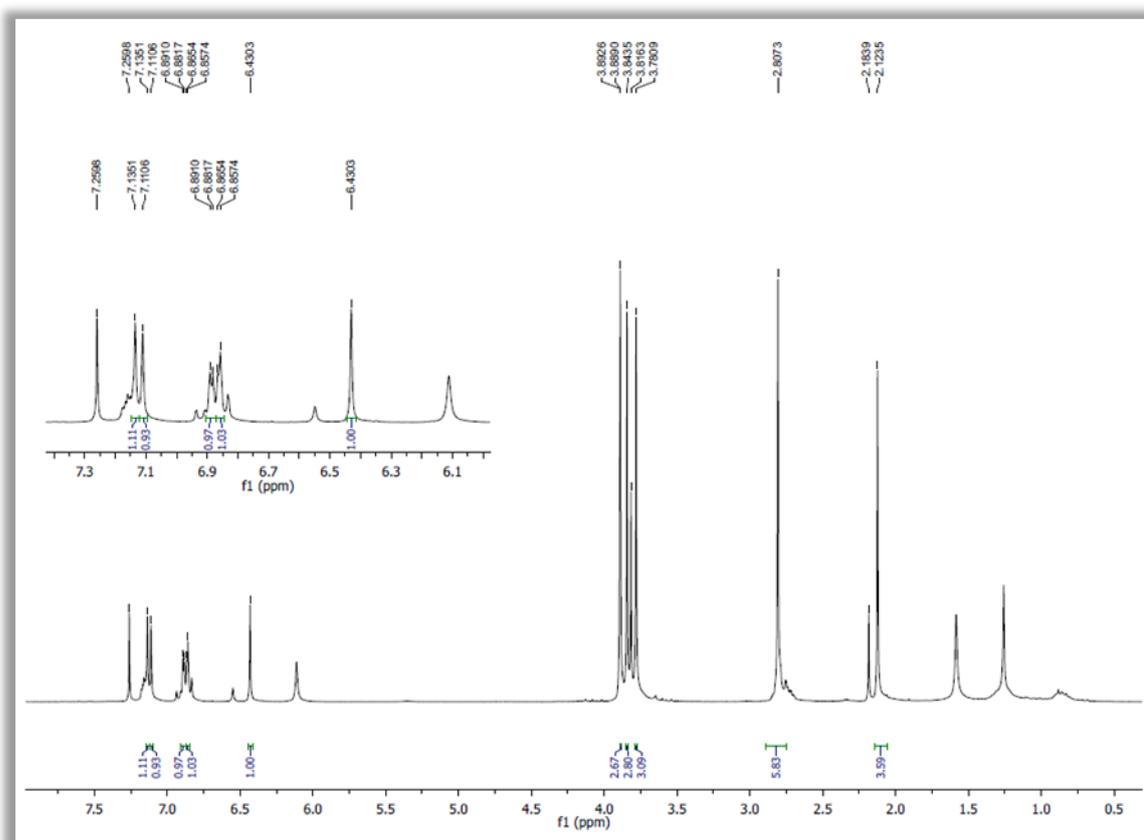
Figura 117 – Espectro na região do IV (em ATR) de **BCR-8**



O espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , Fig. 118, p. 136) de **BCR-8** apresentou uma série de sinais na região entre  $\delta_{\text{H}} 7,14$  a  $\delta_{\text{H}} 6,43$ , característicos de hidrogênios ligados a carbonos aromáticos. Verifica-se um simpleto em  $\delta_{\text{H}} 6,43$  (1H), dupletos em  $\delta_{\text{H}} 6,85$  (1H,  $J = 7,4\text{ Hz}$ ), e em  $\delta_{\text{H}} 6,89$  (1H,  $J = 2,8\text{ Hz}$ ) e dois simpletos em  $\delta_{\text{H}} 7,11$  (1H) e  $\delta_{\text{H}} 7,14$  (1H). O simpleto em  $\delta_{\text{H}} 6,45$  sugere a existência de um anel aromático pentassubstituído, e os outros sinais sugerem a hidrogênios realizando acoplamentos do tipo *orto* e *meta*.

Foram observados ainda observa quatro sinais referentes a hidrogênios pertencentes a grupos metoxilas, mas somente três deles com integração para três hidrogênios em  $\delta_H$  3,89, em  $\delta_H$  3,84 e em  $\delta_H$  3,78. Verifica-se também um simpleto largo em  $\delta_H$  2,81 (4H) atribuído aos quatro átomos de hidrogênio, provavelmente, de uma unidade  $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$  de compostos bibenzílicos (APISANTIYAKOM *et al.*, 2004; ZHANG; ZHANG; TAO, 2007; XIAO *et al.*, 2008). Um sinal em  $\delta_H$  2,12 (s, 3H) indica a presença de hidrogênios pertencentes a um grupo metila na estrutura.

Figura 118 – Espectro de RMN<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de **BCR-8**



O espectro de RMN <sup>13</sup>C – BB (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>, Fig. 119, p. 137) de **BCR-8** apresentou 18 linhas espectrais. A análise comparativa com o espectro de RMN <sup>13</sup>C – DEPT 135° (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>, Fig. 120, p. 137) permitiu a identificação de sete carbonos desidrogenados (C), cinco carbonos metínicos (CH), dois carbonos metilênicos (CH<sub>2</sub>) e quatro carbonos metílicos (CH<sub>3</sub>). Essas informações estão descritas na Tabela 21 (p. 138).

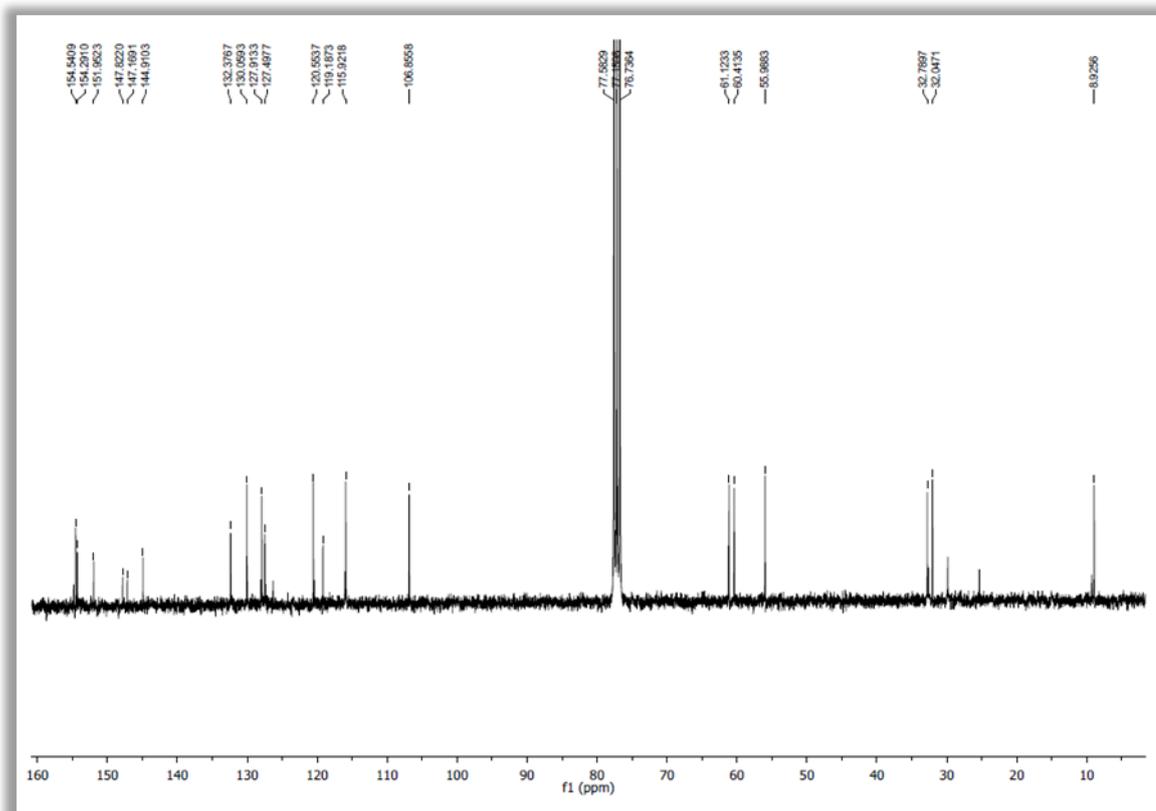
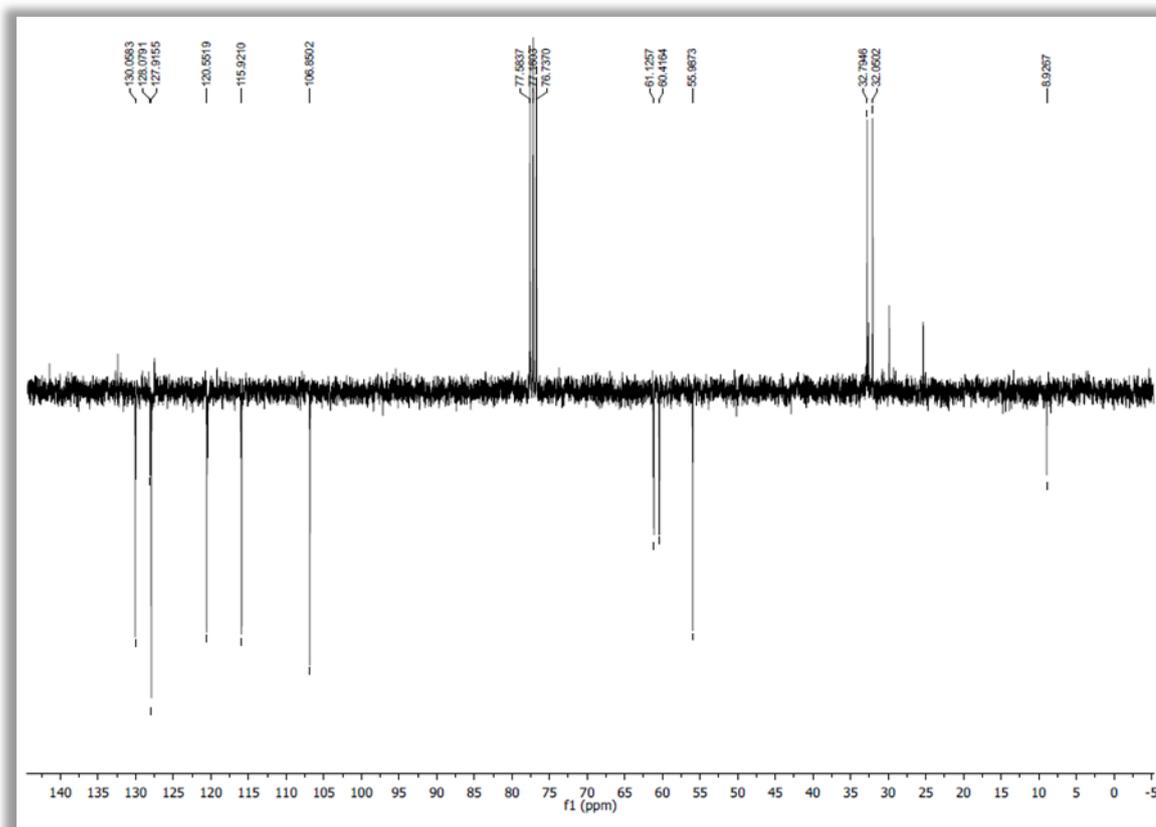
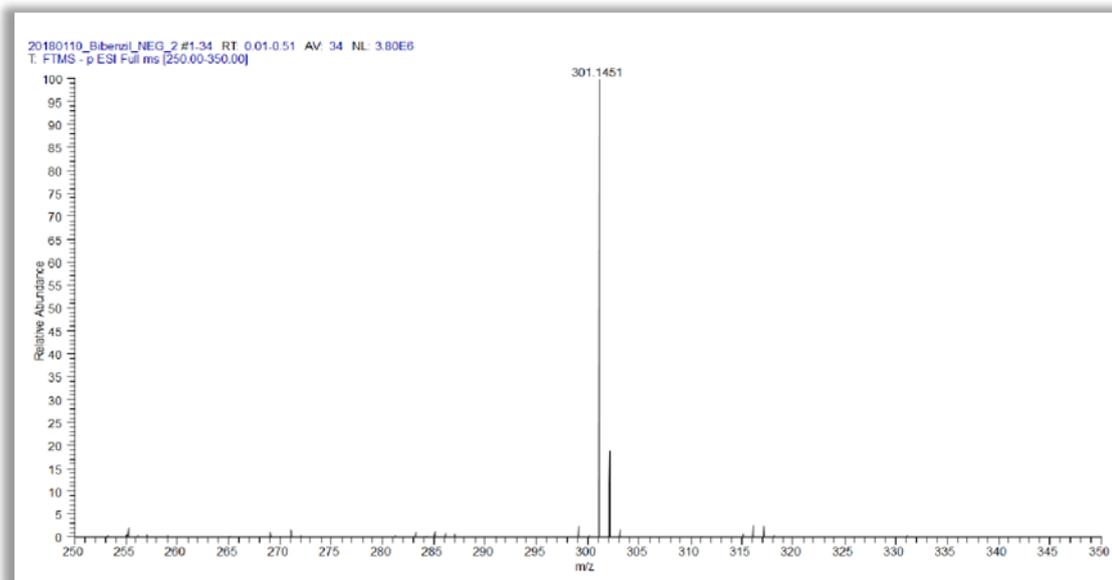
Figura 119 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  - BB (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **BCR-8**Figura 120 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  - DEPT 135° (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **BCR-8**

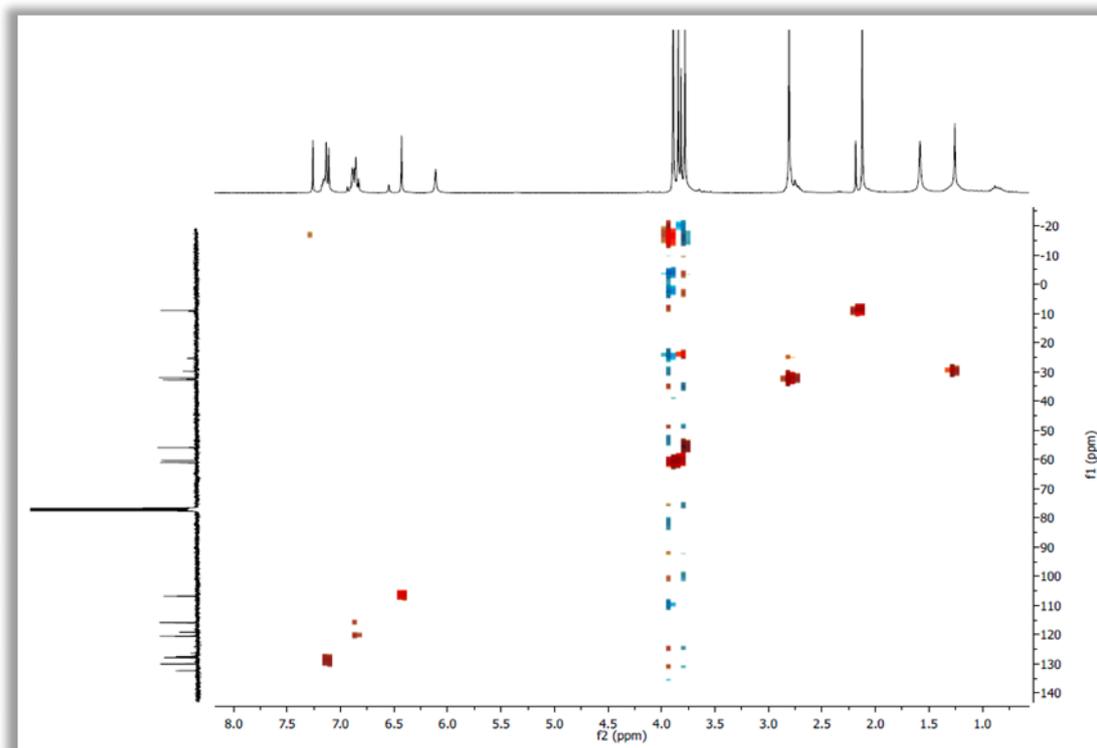
Tabela 29 - Dados de deslocamentos químicos ( $\delta$ ) de carbono-13 para **BCR-8**, obtidos por comparação entre os espectros de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB e RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT 135°

C	CH	CH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>
154,54 (C-O)	130,05	32,79	61,12
154,29 (C-O)	127,91	32,05	60,41
151,95 (C-O)	120,55	-	55,98
144,91 (C-OH)	115,92	-	8,92
132,37	106,85	-	-
127,49	-	-	-
119,18	-	-	-
<b>7 C</b>	<b>5 CH</b>	<b>2 CH<sub>2</sub></b>	<b>4 CH<sub>3</sub></b>
<b>Fórmula molecular estimada: C<sub>18</sub>H<sub>22</sub>O<sub>4</sub></b>			

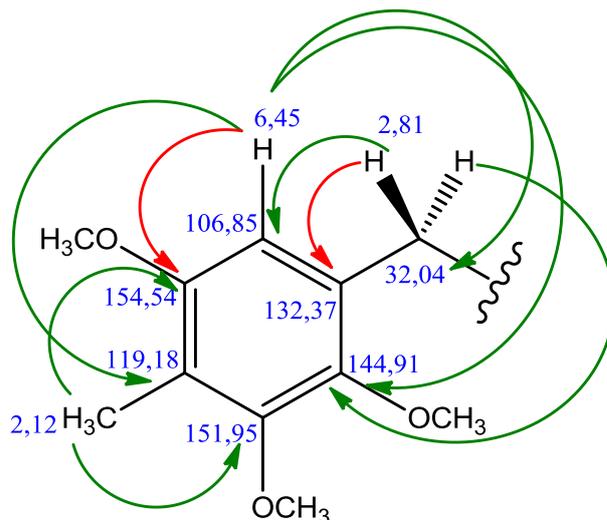
A análise do padrão de hidrogenação dos carbonos levou à fórmula molecular C<sub>18</sub>H<sub>22</sub>O<sub>4</sub>, com IDH igual a oito, compatível com o pico do íon pseudomolecular [M+H]<sup>+</sup> no modo positivo em  $m/z$  303,1596 daltons (303,3737 daltons calculada para [C<sub>18</sub>H<sub>22</sub>O<sub>4</sub> + H]<sup>+</sup>), observada no espectro de massas de alta resolução (Fig. 121, p. 141). Vale ressaltar que de forma semelhante aos dados obtidos para **BCR-7**, o valor de IDH, a presença dos sinais correspondentes aos dois átomos de carbono metilênicos (CH<sub>2</sub>), juntamente com os doze átomos de carbono, com deslocamentos químicos na faixa entre  $\delta_{\text{C}}$  106,85-158,54, corroboram para a identificação dessa substância como um composto da classe dos bibenzis (APISANTIYAKOM *et al.*, 2004; ZHANG; ZHANG; TAO, 2007; XIAO *et al.*, 2008).

Figura 121 – Espectro de massas de alta resolução para **BCR-8** ( $C_{18}H_{22}O_4$ )

O espectro bidimensional de correlação heteronuclear por coerência quântica simples  $^{13}C \times ^1H$  - HSQC de **BCR-7** (Fig. 122) mostrou conectividade entre os hidrogênios e seus respectivos carbonos conforme mostrado na Tabela 22 (p. 143).

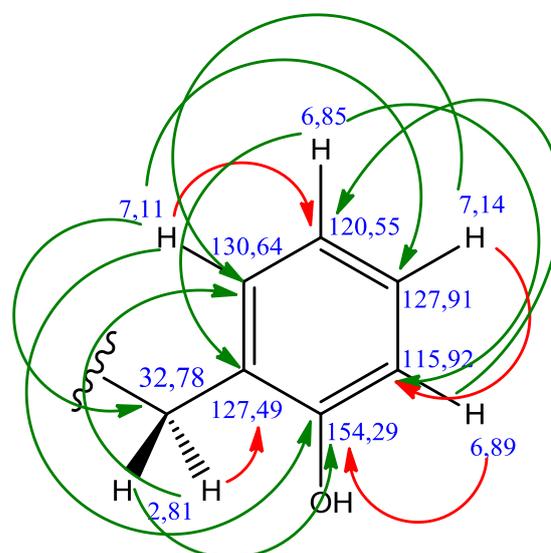
Figura 122 – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear por coerência quântica simples  $^{13}C \times ^1H$  - HSQC de **BCR-8**

Através da análise do espectro bidimensional de correlação heteronuclear por ligações múltiplas  $^{13}\text{C} \times ^1\text{H}$  – HMBC de **BCR-8** (Fig. 123, p. 141), foi possível observar algumas correlações que confirmaram as posições dos substituintes no esqueleto bibenzílico. Na primeira porção do mesmo, muitas correlações envolvem o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  6,45 (H-6), ou seja, foram observadas as correlações a duas ligações de distância do carbono em  $\delta_{\text{C}}$  154,54 (C-5) e a três ligações de distância dos carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  119,18 (C-4), em  $\delta_{\text{C}}$  144,91 (C-2), apontando informações a respeito das posições do grupo metílico e de uma das metoxilas, além de estar a três ligações de distância também do carbono característico de grupo bibenzílico, em  $\delta_{\text{C}}$  32,04 (C-7). Os hidrogênios metílicos em  $\delta_{\text{H}}$  2,12 correlacionam-se, de maneira equidistante, a  $^3J$ , aos carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  151,95 (C-3) e em  $\delta_{\text{C}}$  154,54 (C-5), confirmando, dessa forma, a das outras duas metoxilas presentes na estrutura.



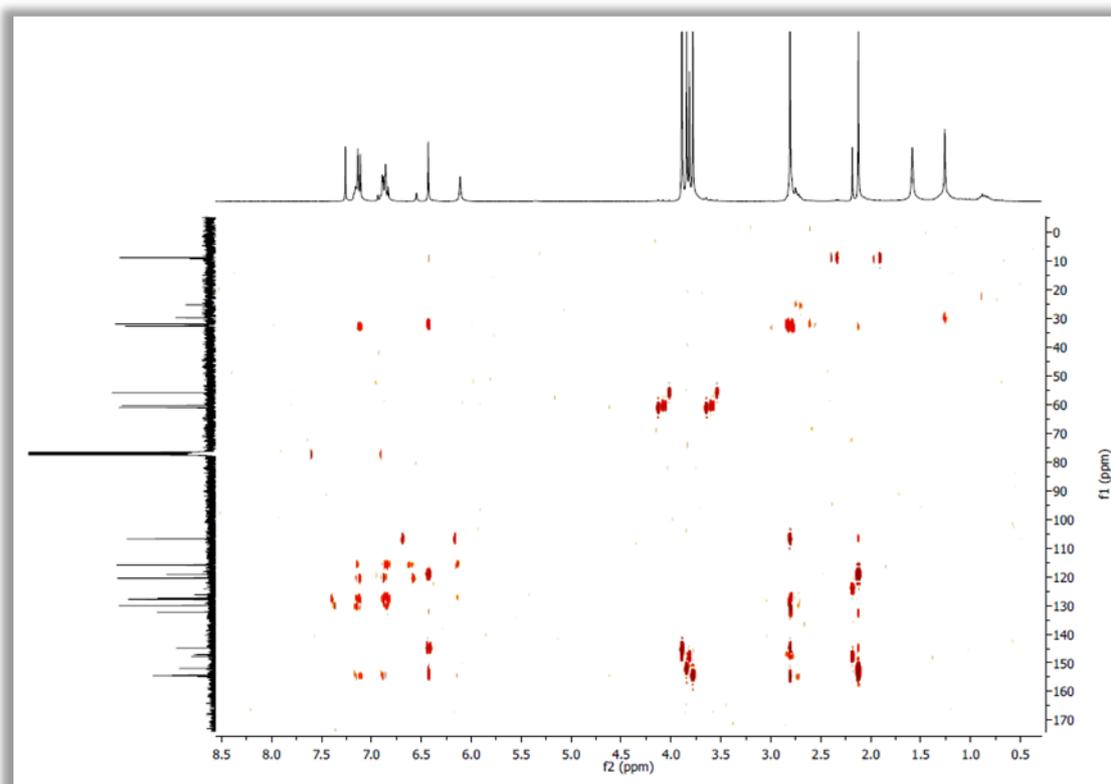
É importante ressaltar que os hidrogênios pertencentes aos grupos metoxilas em  $\delta_{\text{H}}$  3,78,  $\delta_{\text{H}}$  3,84 e  $\delta_{\text{H}}$  3,89 estão relacionados a *crosspeaks* específicos que, nesse caso, indicam as suas posições no esqueleto bibenzílico, por estarem, esses hidrogênios correlacionados a três ligações de distância com os respectivos carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  154,54,  $\delta_{\text{C}}$  151,95 e  $\delta_{\text{C}}$  144,91. Ainda envolvendo o mesmo anel, os hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  2,81 (H-7) estão correlacionando a  $^3J$  com os carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  106,85 (C-6) e em  $\delta_{\text{C}}$  144,91 (C-2) e a  $^2J$  com o carbono em  $\delta_{\text{C}}$  132,37 (C-1).

Na porção benzílica oposta, as correlações envolvendo o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  7,11 (H-6') são a três ligações de distância com os carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  127,91 (C-4'), em  $\delta_{\text{C}}$  154,29 (C-2') e com o carbono benzílico em  $\delta_{\text{C}}$  32,78 (C-8), além de estar a duas ligações de distância do carbono em  $\delta_{\text{C}}$  120,55 (C-5'). Por outro lado, o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  6,85 (H-



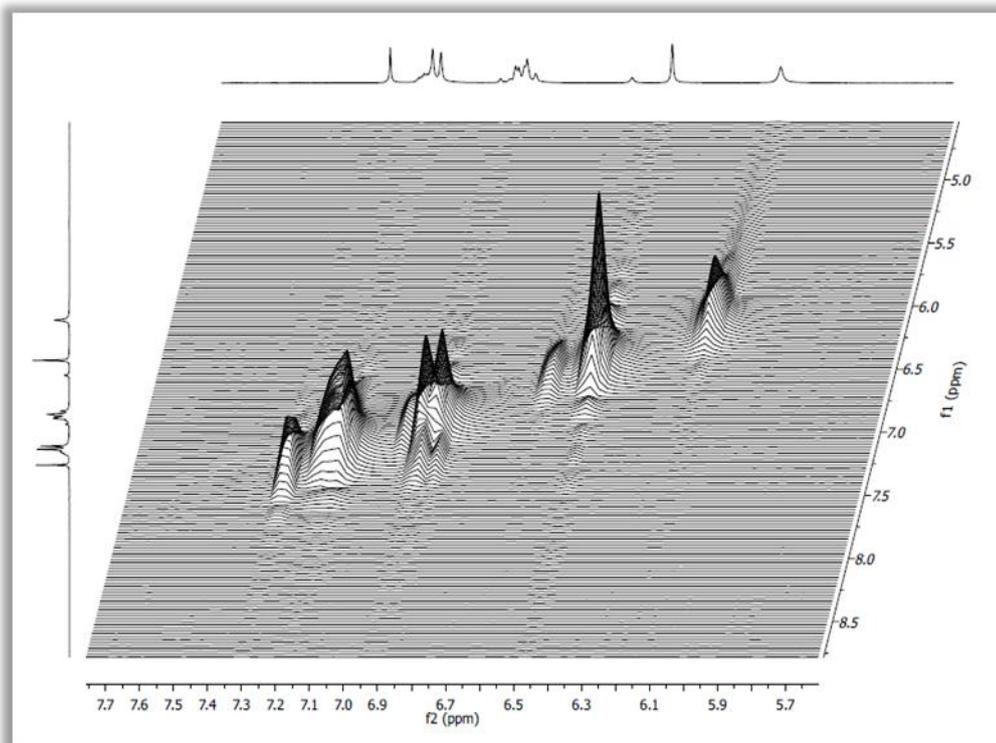
5') está correlacionado a  $^3J$  com os carbonos em  $\delta_C$  127,49 (C-1') e em  $\delta_C$  115,92 (C-3'). O hidrogênio em  $\delta_H$  7,14 (H-4') está a duas ligações de distância do carbono em  $\delta_C$  115,92 (C-3') e a três ligações de distância do carbono em  $\delta_C$  130,64 (C-6'), informando que este anel é um sistema 1,2-dissubstituído. O hidrogênio na posição 3' ( $\delta_H$  6,89) correlaciona a  $^2J$  com o carbono em  $\delta_C$  154,29 (C-2'), localizando-o claramente, a hidroxila neste segundo anel. O hidrogênio em  $\delta_H$  2,81, agora na posição 8, realiza acoplamentos de longa distância com os carbonos em  $\delta_C$  154,29 (C-2') e  $\delta_C$  130,64 (C-6') a três ligações e ao carbono em  $\delta_C$  127,49 (C-1') a duas ligações de distância.

Figura 123 – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear por ligações múltiplas  $^{13}C \times ^1H$  – HMBC de **BCR-8**



A análise do espectro bidimensional de correlação homonuclear  $^1H \times ^1H$  – COSY (mapa de relevo) de **BCR-8** (Fig. 124, p. 142), pela sua projeção em forma de mapa de relevo, mostrou *crosspeaks* relacionados aos hidrogênios ligados aos carbonos aromáticos correlacionados em posicionamento *orto*.

Figura 124 – Mapa de relevo do espectro bidimensional de correlação homonuclear  $^1\text{H} \times ^1\text{H}$  – COSY de **BCR-8**



Pela análise dos dados exposta, conclui-se que **BCR-8** trata-se de um bibenzil até então não relatado na literatura, cujo nome proposto é 2,3,5-trimetoxi-4-metil-2'-hidroxibibenzil, cuja estrutura está mostrada na Figura 125. Dessa forma, está sendo reforçada a presença desta classe de metabólito secundário no gênero *Bauhinia*, visto que outros bibenzis inéditos foram isolados de outras espécies do gênero coletadas no estado do Ceará (DE SOUSA *et al.*, 2016b; GÓIS *et al.*, 2017). A coexistência estrutural de bibenzis e oxepinas na espécie *Bauhinia cheilantha* reforça a hipótese de que esses bibenzis possam ser espécies precursoras dos derivados oxepínicos.

Figura 125 – Estrutura do 2,3,5-trimetoxi-4-metil-2'-hidroxibibenzil

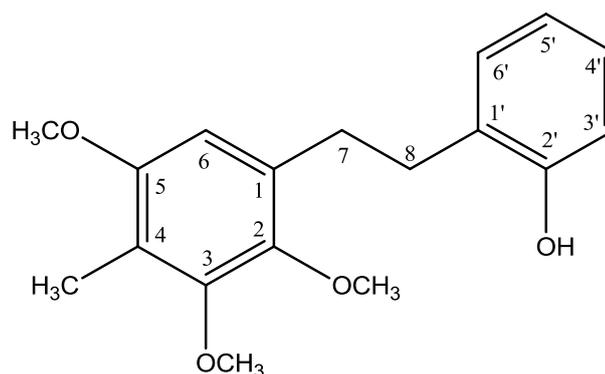


Tabela 30 - Dados espectroscópicos de **BCR-8**

	BCR-8 (CDCl <sub>3</sub> )		HMBC	
	$\delta_C$ (ppm)	$\delta_H$ (ppm, multip., <i>J</i> Hz)	$^2J_{CH}$	$^3J_{CH}$
<b>C</b>				
<b>1</b>	132,37		H-7	H-8
<b>2</b>	144,91			H-6 H-7 2-OCH <sub>3</sub>
<b>3</b>	151,95			4-CH <sub>3</sub> 3-OCH <sub>3</sub>
<b>4</b>	119,18		4-CH <sub>3</sub>	H-6
<b>5</b>	154,54		H-6	4-CH <sub>3</sub> 5-OCH <sub>3</sub>
<b>1'</b>	127,49		H-8	H-7 H-5'
<b>2'</b>	154,29		H-3'	H-8 H-6'
<b>CH</b>				
<b>6</b>	106,85	6,45 ( <i>s</i> )		H-7
<b>3'</b>	115,92	6,89 ( <i>d</i> , 2,8)	H-4'	H-5'
<b>4'</b>	127,91	7,14 ( <i>s</i> )		H-6'
<b>5'</b>	120,55	6,85 ( <i>d</i> , 7,4)	H-6'	H-3'
<b>6'</b>	130,64	7,11 ( <i>s</i> )		H-8 H-4'
<b>CH<sub>2</sub></b>				
<b>7</b>	32,04	2,81 ( <i>sl</i> )	H-8	H-6
<b>8</b>	32,78	2,81 ( <i>sl</i> )	H-7	H-6'
<b>CH<sub>3</sub></b>				
<b>2-OCH<sub>3</sub></b>	61,12	3,89 ( <i>s</i> )		
<b>3-OCH<sub>3</sub></b>	60,41	3,84 ( <i>s</i> )		
<b>4-CH<sub>3</sub></b>	8,92	2,12 ( <i>s</i> )		
<b>5-OCH<sub>3</sub></b>	55,98	3,78 ( <i>s</i> )		

### 4.3 Ensaios Biológicos

#### 4.3.1 Atividade larvicida sobre *Aedes aegypti*

Como parte dos ensaios biológicos com a espécie em estudo foram realizadas avaliações do potencial larvicida sobre *Aedes aegypti* do óleo essencial das folhas frescas de *B. cheilantha* (**OEBC**), do extrato etanólico das raízes (**EEBCR**) e de suas respectivas frações hexânica (**FHBCR**), diclorometano (**FDBCR**), acetato de etila (**FABCR**) e metanólica (**FMBCR**). De todas as amostras avaliadas, apenas o óleo essencial das folhas frescas apresentou atividade significativa, com valor de  $CL_{50}$  de  $40,845 \pm 0,87 \mu\text{g/mL}$ , visto que de acordo com a literatura, amostras apresentando valores de  $CL_{50}$  menores do que  $100 \mu\text{g/mL}$  podem ser consideradas ativas e constituem bons agentes larvicidas (CHENG *et al.*, 2003).

Existem relatos na literatura sobre a atividade larvicida sobre *Aedes aegypti* de óleos essenciais de espécies do gênero *Bauhinia*, dentre estes podem ser destacados os óleos essenciais das folhas frescas de *B. acuruana* (GÓIS *et al.*, 2011), *B. pulchella* (DE SOUSA *et al.*, 2016a) e *B. unguolata* (DE SOUSA *et al.*, 2016a) que apresentaram valores de  $CL_{50}$  iguais a  $56,2 \pm 0,4 \mu\text{g/mL}$ ,  $105,9 \pm 1,5 \mu\text{g/mL}$  e  $75,1 \pm 2,8 \mu\text{g/mL}$ , respectivamente. O valor de  $CL_{50}$  para *B. cheilantha* tem relação evidente com sua constituição química, pois muitos estudos tem mostrado que óleos essenciais com alta concentração de sesquiterpenos na composição química apresentam boa atividade larvicida (MAGALHÃES *et al.*, 2010).

#### 4.3.2 Atividade citotóxica

O extrato etanólico das raízes (**EEBCR**) e suas respectivas frações hexânica (**FHBCR**), diclorometano (**FDBCR**), acetato de etila (**FABCR**) e metanólica (**FMBCR**) foram avaliadas, assim como o óleo essencial das folhas frescas *cheilantha* (**OEBC**), quanto à citotoxicidade sobre as linhagens tumorais humanas HL-60 (leucemia promielocítica), NCI-H292 (carcinoma de pulmão), HEP-2 (carcinoma de cérvix uterino) e MCF-7 (carcinoma de mama), no entanto, somente a fração diclorometano (**FDBCR**) e o óleo essencial (**OEBC**) foram ativos. O método utilizado foi por conversão do sal de MTT em azul de formazan, a partir de enzimas mitocondriais presentes somente nas células metabolicamente ativas. O controle positivo foi realizado pela doxorrubicina (MOSSMAN, 1983).

Resultados relevantes foram apresentados apenas pela fração diclorometano do extrato etanólico das raízes (**FDBCR**) e pelo óleo essencial das folhas frescas (**OEBC**), tendo

em vista que segundo critérios estabelecidos pelo *National Cancer Institute* (NCI, USA), o valor limite de  $CI_{50}$  para extratos é de 30  $\mu\text{g/mL}$  (COSTA-LOTUFO *et al.*, 2005). Os valores de  $CI_{50}$  das amostras estão descritos na Tabela 23.

Tabela 31 – Valores de  $CI_{50}$  das amostras e seus respectivos intervalos de confiança 95%

AMOSTRAS	$CI_{50}$ ( $\mu\text{g/ml}$ )			
	HL-60	NCI-H292	MCF-7	HEP-2
<b>FDBCR</b>	7,6 (6.1 - 9.4)	5.4 (4.2 - 6.9)	2.7 (1.9 - 3.7)	>50
<b>OEBC</b>	8,6 (5.9 - 12.6)	33.08 (29.1 - 37.5)	18.3 (16.0 - 21.0)	>50
<b>DOX</b>	0,03 (0,01-0,03)	0,3 (0,1-0,4)	0,3 (0,19-0,53)	0,7 (0,3-1,7)

A fração diclorometano (**FDBCR**) sofreu um tratamento cromatográfico que resultou no isolamento de dois metabólitos da classe dos bibenzis. **BCR-7**, que já teve comprovada atividade citotóxica frente às linhagens HL-60, NCI-H292 e HEP-2 (DE SOUSA *et al.*, 2016b) e o outro bibenzil, **BCR-8**, que está sendo relatado pela primeira vez na literatura. Desta forma, a presença destas substâncias podem estar relacionadas com a atividade citotóxica desta fração, visto que a literatura já relata outros bibenzis com a mesma atividade biológica, inclusive no gênero *Bauhinia*, como o 2 –hidroxi-2,3,5-trimetoxibibenzil, encontrado em *Bauhinia acuruana* (GÓIS *et al.*, 2017).

## 5 PARTE EXPERIMENTAL

### 5.1 Material vegetal

Raízes, caules, folhas e ramos de *Bauhinia cheilantha* foram coletados na localidade de Sítios Novos, no município de Caucaia, Ceará. A coleta foi realizada no dia 06 de abril de 2016, no período da manhã, sob as coordenadas geográficas 3°46'11''S 38°56'27''O, que foram registradas com o Sistema de Processamento Global (GPS) presente no celular modelo Iphone 5S. A equipe técnica responsável pela coleta foi coordenada pelo Dr. Francisco José Teixeira Gonçalves.

Uma exsicata de *B. cheilantha* encontra-se depositada no Herbário Prisco Bezerra da Universidade Federal do Ceará, sob o número de registro 59293. A identificação foi realizada pelo servidor Luis Wilson Lima-Verde em 21 de junho de 2016.

### 5.2 Métodos analíticos

#### 5.2.1 Métodos cromatográficos

##### 5.2.1.1 Cromatografia em camada delgada e cromatografia em coluna gravitacional

Nas cromatografias de adsorção em coluna (CC) utilizou-se gel de sílica 60 ( $\Phi$  mm 0,063–0,200) e gel de sílica ( $\Phi$   $\mu$ m 35-70) para cromatografia do tipo *flash*, ambas das marcas Vetec® e Macherey-Nagel® e para a cromatografia de exclusão molecular utilizou-se Sephadex LH-20. As análises cromatográficas em camada delgada foram efetuadas em gel de sílica G60 da marca Vetec® sobre suporte de vidro e em gel de sílica 60 F<sub>254</sub> sobre alumínio da Silicycle®.

As revelações das substâncias nas cromatoplacas analíticas foram realizadas por três métodos: exposição das mesmas à irradiação ultravioleta (UV) em dois comprimentos de onda (254 e 365 nm), emitidos por lâmpada modelo VL-4.LC da Vilber Lourmat, por imersão em solução de vanilina (C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>O<sub>3</sub>) 5g/100mL em ácido perclórico (HClO<sub>4</sub>) 0,75M/100mL de etanol, seguido de aquecimento em chapa aquecedora da Fisatom Modelo 752A por aproximadamente 80° C durante alguns segundos, ou exposição em atmosfera saturada de vapor de iodo ressublimado da marca Dinâmica®, também por alguns segundos.

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

Foram utilizados solventes de qualidade PA das marcas Synth®, Neon®, Vetec® e Dinâmica®, tais como hexano, clorofórmio, diclorometano, acetato de etila e metanol, de forma isocrática ou em misturas, seguindo ordem crescente de gradiente de polaridade. A remoção dos solventes de extratos e das frações resultantes das cromatografias foi realizada em evaporador rotatório BÜCHI Rotavapor *Waterbath* modelo B-480 e R-114, sob pressão reduzida.

#### *5.2.1.2 Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)*

Como parte do procedimento de separação de compostos também foi utilizada cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) realizada em um equipamento constituído de uma bomba ternária Shimadzu LC-20AT e um detector Shimadzu SPD-M20A, utilizando coluna Phenomenex RP-18 (250 x 10 mm, 5µm). Os solventes empregados apresentaram grau de pureza HPLC (MeOH-Tedia) e foram filtrados através de membrana de nylon com poros 0,45 µm (Phenomenex), seguido de gaseificação a vácuo durante 5 min. As amostras foram dissolvidas nas fases móveis empregadas em cada análise, e filtradas através de membranas de teflon com poros de 0,4 µm (Waters).

### **5.2.2 Métodos físicos de análise**

#### *5.2.2.1 Espectroscopia de absorção no infravermelho com transformada de Fourier (IVFT)*

Para aquisição dos espectros foi utilizado espectrômetro Perkin Elmer, modelo FT-IR/NIR FRONTIER, usando acessório de refletância total atenuada (ATR) com superfície de cristal de seleneto de zinco (ZnSe), e resolução de 4 cm<sup>-1</sup> usando a média aritmética de quatro varreduras, na faixa de número de ondas de 4000-550 cm<sup>-1</sup>, situado no Laboratório de Tecnologia de Processos (LPT) do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica do Centro de Ciências da Universidade Federal do Ceará.

### 5.2.2.2 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN)

Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN  $^1\text{H}$ ) e de carbono-13 (RMN  $^{13}\text{C}$ ), uni e bidimensionais, foram obtidos em espectrômetros da marca Bruker®, modelos Avance DPX-300 e DRX-500 pertencentes ao Centro Nordestino de Aplicação e Uso de Ressonância Magnética Nuclear (CENAUREMN) da Universidade Federal do Ceará, operando nas frequências de 300 e 500 MHz para hidrogênio, e de 75 e 125 MHz para carbono-13, respectivamente.

Os solventes utilizados na dissolução das amostras foram clorofórmio ( $\text{CDCl}_3$ ) e metanol ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ) deuterados. Os deslocamentos químicos ( $\delta$ ) foram expressos em partes por milhão (ppm) e referenciados nos espectros de RMN  $^1\text{H}$  pelos sinais dos hidrogênios das moléculas residuais não deuteradas em  $\delta_{\text{H}}$  7,27 e  $\delta_{\text{H}}$  3,31, para clorofórmio e metanol, respectivamente. Nos espectros de carbono-13, os deslocamentos químicos ( $\delta$ ) foram referenciados pelos sinais de carbono-13 em  $\delta_{\text{C}}$  77,23 e  $\delta_{\text{C}}$  49,1 para os solventes citados acima, respectivamente.

A multiplicidade das absorções foi indicada como simpleto (*s*); duplete (*d*); duplete de duplete (*dd*), tripleto (*t*), tripleto de duplete (*td*) e multiplete (*m*). O padrão de hidrogenação dos carbonos foi determinado através da técnica DEPT (*Distortionless Enhancement by Polarization Transfer*) com ângulo de nutação de  $135^\circ$ , gerando sinais para CH e  $\text{CH}_3$  em oposição no plano ao  $\text{CH}_2$ , onde os carbonos não hidrogenados foram caracterizados pela subtração dos sinais observados no espectro BB (Broad Band) e também por APT (*Attached Proton Test*), gerando sinais para C e  $\text{CH}_2$  em oposição no plano ao CH e  $\text{CH}_3$ .

### 5.2.2.3. Espectrometria de massas (EM)

A análise por espectrometria de massas de alta resolução se deu num equipamento do tipo ESI-LTQ-XL Orbitrap Discovery (Thermo Scientific, Bremen, Germany), com resolução nominal de 30000 FWHM. A faixa de massas foi de 250-350 Da, com infusão direta da amostra, diluída a 1% em metanol-água (1:1), modos positivo e negativo. As análises foram realizadas pela Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual de Campinas, sob supervisão do Prof. Dr. Rodrigo Ramos Catharino.

### 5.2.2.3 Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG/EM) e cromatografia gasosa acoplada ao detector de ionização de chama (CG/DIC)

A identificação e quantificação dos constituintes químicos do óleo essencial das folhas de *B. cheilantha* foram realizadas em cromatógrafo CG-EM/DIC, da Shimadzu®, modelo QP2010 Ultra, equipado com um autoinjeter AOC-20i Shimadzu® e coluna capilar de sílica fundida da Rtx®-5MS Restek (5%-difenil-95%-dimetilpolisiloxano), com 30 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e filme de 0,25 µm, onde o gás de arraste é o hélio num fluxo de 1,2 mL/min. Um volume de injeção de 0,5 mL (5 mg.mL<sup>-1</sup>) foi utilizado, com uma razão de divisão de 1:10. A temperatura do forno foi programada para manter 50°C por 1,5 minutos e ter um aumento progressivo de 4°C por minuto até atingir 200°C, em seguida ter um aumento progressivo de 10°C por minuto até atingir 250°C, temperatura que ficou constante durante 5 minutos.

Os dados de EM e DIC foram simultaneamente adquiridos empregando um Sistema de Detecção de Divisão; a relação de divisão de fluxo foi de 4: 1 (EM: DIC). Um tubo restritor de 0,62 m de comprimento e 0,15 mm de diâmetro interno (coluna capilar) foi utilizado para conectar o divisor ao detector de EM; e um tubo restritor de 0,74 m de comprimento e 0,22 mm de diâmetro interno foi utilizado para conectar o divisor ao detector DIC.

Os dados de EM foram adquiridos no modo de varredura completa ( $m/z$  de 40-350), a uma velocidade de varredura de 0,3 scans por segundo, usando a ionização de elétrons (IE) de 70 eV. A temperatura do injetor foi 250°C e a temperatura da fonte de íons foi 250°C. A temperatura do DIC foi definida para 250°C, e os suprimentos de gás para o DIC foram hidrogênio, ar e hélio em vazões de 30, 300 e 30 mL por minuto, respectivamente. As concentrações dos compostos foram calculadas a partir das áreas dos picos obtidos por CG/DIC e estão colocadas dispostas em ordem de eluição de CG.

As análises de CG/DIC e CG/EM foram realizadas no Departamento de Química da Universidade Federal de Sergipe (UFS).

### 5.2.2.4 Ponto de fusão

Os pontos de fusão das amostras sólidas, com exceção de **BCR-4**, foram determinados em um equipamento da marca Microquímica, modelo MQAPF – 302,

localizado no Laboratório de Biotecnologia e Síntese Orgânica (LABS), do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará.

#### 5.2.2.5 Rotação ótica específica

Para a realização das medidas de rotação específica foi utilizado um polarímetro JASCO modelo P-2000, com lâmpada de I-W com filtro de 589 nm a 20°C, localizado no Laboratório de Espectrometria de Massa do Nordeste (LEMANOR) na Universidade Federal do Ceará.

### 5.3 Estudo dos constituintes de *Bauhinia cheilantha*

#### 5.3.1 Obtenção do óleo essencial das folhas de *Bauhinia cheilantha* Bong. Steud

Para a obtenção do óleo essencial foi utilizado um sistema de hidrodestilação do tipo Clevenger modificado por Gottlieb (GOTTLIEB; MAGALHÃES, 1960). As folhas frescas trituradas de *B. cheilantha* (3,406 kg) foram adicionadas, de forma fracionada, em um balão de 5 L de capacidade. Em seguida, foram adicionados 2500 mL de água destilada. Após três horas sob refluxo, separou-se a mistura óleo/água no doseador. A fase orgânica foi tratada com sulfato de sódio anidro e submetida a filtração. Foram realizadas nove extrações seguidas, o que resultou em 810,4 mg de um óleo de coloração levemente amarelada. Foi obtido, portanto, um rendimento de 0,024%. O óleo essencial foi armazenado sob refrigeração e, posteriormente, submetido à análise por CG-EM e CG-DIC.

#### 5.3.2 Obtenção do extrato etanólico das raízes de *Bauhinia cheilantha* (EERBC)

As raízes de *B. cheilantha* foram secadas à sombra em temperatura ambiente e posteriormente trituradas. Selecionou-se 3,00 kg desse material para três extrações a frio utilizando aproximadamente 6 L de etanol bruto. Após filtração e concentração sob pressão reduzida, obteve-se 226,52 g de extrato etanólico da raiz de *Bauhinia cheilantha* (EERBC), obtendo-se um rendimento de 7,55%.

### 5.3.2.1 Fracionamento cromatográfico do extrato etanólico das raízes de *Bauhinia cheilantha* (EERBC)

Uma porção de **EERBC** (125 g) foi submetida a uma coluna filtrante, denominada de **Czero**, (L = 8,0 cm e  $\phi$  = 15,0 cm), utilizando 350 g de gel de sílica. A eluição foi realizada com o uso sequencial de hexano, diclorometano, acetato de etila, mistura de acetato de etila/metanol e metanol. As frações tiveram seus solventes evaporados sob pressão reduzida e resultou nas frações mostradas na Tabela 24.

Tabela 32 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EEBCR (Czero)

FRAÇÕES	CÓDIGO	VOLUME (mL)	MASSA (g)
Hexano	<b>FHBCR</b>	1100	2,9288
Diclorometano	<b>FDBCR</b>	1600	2,0466
Acetato de Etila	<b>FABCR</b>	2500	9,3519
Acetato de Etila/Metanol	<b>FAMBCR</b>	600	26,6550
Metanol	<b>FMBCR</b>	3500	44,3918
	<b>TOTAL</b>		85,3741

### 5.3.2.2 Fracionamento cromatográfico da fração acetato de etila (FABCR) do EEBCR

Uma porção da fração acetato de etila (**FABCR**) (6,8023 g) foi submetida a um fracionamento em uma coluna denominada **C1** (L = 11,0 cm e  $\phi$  = 6,0 cm), utilizando 114,20 g de gel de sílica como fase estacionária. Os eluentes utilizados neste procedimento seguiram a ordem crescente de polaridade, conforme mostrado na Tabela 25.

Tabela 33 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico C1

FRAÇÕES	ELUENTE	VOLUME (mL)
1 – 20	Hexano/Acetato de etila 20%	500
21 – 27	Hexano/Acetato de etila 30%	200
28 – 37	Hexano/Acetato de etila 40%	400
38 – 46	Hexano/Acetato de etila 50%	200
47 – 74	Hexano/Acetato de etila 70%	450

Continua

Tabela 34 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico C1 (Continuação)

75 – 77	Hexano/Acetato de etila 90%	100
78 – 132	Acetato de etila	800
133 – 140	Acetato de etila/Metanol 5%	100
141 – 148	Acetato de etila/Metanol 15%	100
149 – 190	Acetato de etila/Metanol 30%	300
191	Metanol	400 mL

Após a análise das frações por cromatografia em camada delgada (CCD) foi possível analisar o perfil das frações coletadas e reuni-las, resultando em dezoito frações devidamente codificadas, descritas na Tabela 26.

Tabela 35 – Dados referentes ao sistema de frações resultantes da coluna C1

<b>FRAÇÕES REUNIDAS</b>	<b>CÓDIGO</b>	<b>MASSA (g)</b>
1 – 5	<b>FA1BCR</b>	0,043
6 – 15	<b>FA2BCR</b>	0,1602
16 – 27	<b>FA3BCR</b>	0,3243
28 – 33	<b>FA4BCR</b>	0,1251
34 – 37	<b>FA5BCR</b>	0,0346
38 – 45	<b>FA6BCR</b>	0,1139
46 – 51	<b>FA7BCR</b>	0,1726
52 – 53	<b>FA8BCR</b>	0,0821
54 – 61	<b>FA9BCR</b>	0,9622
62 – 73	<b>FA10BCR</b>	0,3640
74 – 83	<b>FA11BCR</b>	0,1464
84 – 90	<b>FA12BCR</b>	0,2474
91 – 95	<b>FA13BCR</b>	0,2628
96 – 107	<b>FA14BCR</b>	0,6403
108 – 121	<b>FA15BCR</b>	0,4997
122 – 127	<b>FA16BCR</b>	0,1295
128 – 150	<b>FA17BCR</b>	0,1300
151 – 190	<b>FA18BCR</b>	0,6981
<b>TOTAL</b>		<b>4,8888</b>

### 5.3.2.3 Tratamento cromatográfico de FA3BCR e isolamento de BCR-1

A fração denominada **FA3BCR** (342,3 mg) foi submetida a um tratamento cromatográfico em uma coluna de gel de sílica (48 g) sob média pressão ( $L = 29,0$  cm e  $\phi = 2,0$  cm), denominada **C2**. O fracionamento foi realizado com eluição isocrática, utilizando-se uma mistura de diclorometano/metanol 4%. Ao final da análise das 74 frações coletadas por CCD, foram obtidas cinco frações reunidas cujas massas estão descritas na Tabela 27.

Tabela 36 – Dados referentes ao sistema de frações resultantes da coluna C2

<b>FRAÇÕES REUNIDAS</b>	<b>MASSA (g)</b>
1 – 6	0,0020
7 – 16	0,0099
17 – 38	0,1172
39 – 58	0,0383
59 – 74	0,0045
<b>TOTAL</b>	<b>0,1719</b>

A fração reunida **17 – 38 (C2)** (117,2 mg) foi submetida a um fracionamento denominado **C5**. Para realizá-lo, uma coluna ( $L = 29,0$  cm e  $\phi = 2,0$  cm) contendo 39,3613 g de gel de sílica foi executada, utilizando os eluentes descritos na Tabela 28.

Tabela 37 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico C5

<b>FRAÇÕES</b>	<b>ELUENTE</b>	<b>VOLUME (mL)</b>
1 – 125	Diclorometano	650
126 – 186	Diclorometano/Metanol 2%	300

As frações coletadas foram analisadas por cromatografia em camada delgada e aquelas que apresentaram o mesmo perfil foram reunidas, resultando em onze frações descritas na Tabela 29 (p. 154).

Tabela 38 – Dados referentes ao sistema de frações resultantes da coluna C5

FRAÇÕES REUNIDAS	MASSA (g)
1 – 18	0,0090
<b>21 – 36</b>	<b>0,0118</b>
38 – 55	0,0052
57 – 64	0,0030
70 – 94	0,0037
95 – 130	0,0070
131 – 136	0,0073
137 – 157	0,0239
158 – 174	0,0025
TOTAL	0,0734

A fração reunida **21 – 36 (C5)** (11,8 mg) se apresentou na cromatoplaça como uma única mancha de cor marrom quando revelada em solução de vanilina e precipitou como um sólido cristalino de cor branca. Foi, então, denominada de **BCR-1**, armazenada sob refrigeração e proteção da luz e, posteriormente submetida às devidas análises espectrais.

#### 5.3.2.4 Tratamento cromatográfico de FA1BCR e isolamento de BCR-2

A fração denominada **FA4BCR** (125,1 mg) foi submetida a um tratamento cromatográfico em uma coluna de gel de sílica (L = 28,5 cm e  $\phi$  = 1,5 cm, 14,9 g) a um fracionamento inicial denominado **C6**, cujo sistema de solventes utilizado está descrito na Tabela 30.

Tabela 39 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico C6

FRAÇÕES	ELUENTE	VOLUME (mL)
1 – 150	Hexano/Acetato de etila 20%	500
151 – 174	Hexano/Acetato de etila 50%	200
175 – 186	Acetato de etila	100
187	Metanol	100

A análise das frações coletadas resultou em oito frações reunidas, de acordo com o perfil de corrida na placa cromatográfica, assim como descrito na Tabela 31.

Tabela 40 – Dados referentes ao sistema de frações resultantes da coluna C6

<b>FRAÇÕES REUNIDAS</b>	<b>MASSA (g)</b>
1 – 31	0,0059
32 – 72	0,0202
73 – 91	0,0104
92 – 113	0,0324
114 – 144	0,0166
145 – 150	0,0055
151 – 189	0,0276
190	0,0201
<b>TOTAL</b>	<b>0,138,7</b>

A fração reunida **32 – 72 (C6)** (20,2 mg) foi submetida a um tratamento cromatográfico denominado C7, cuja coluna de dimensões  $L = 27$  cm e  $\phi = 2,0$  cm, preenchida com 26,7 g de sílica gel e trabalhada de modo isocrático, utilizando diclorometano como solvente. A Tabela 32 reúne os dados referentes a análise das frações coletadas e a reunião, *a posteriori*, daquelas com perfil cromatográfico semelhante.

Tabela 41 – Dados referentes ao sistema de frações resultantes da coluna C7

<b>FRAÇÕES REUNIDAS</b>	<b>MASSA (g)</b>
1 – 25	0,0026
26 – 59	0,0006
60 – 90	0,0013
91 – 95	0,0002
96 – 114	0,0002
115 – 124	0,0003
<b>125 – 190</b>	<b>0,0037</b>
191 – 199	0,0002
200	0,0131
<b>TOTAL</b>	<b>0,0734</b>

A fração reunida **125 – 190 (C7)** (3,7 mg) apresentou uma única mancha de cor rosa claro na cromatoplaça revelada com solução de vanilina. A fração precipitou como um sólido amorfo de cor preta. Foi denominada de **BCR-2**, armazenada protegida da luz e do calor e submetida a métodos físicos de análise.

### 5.3.2.5 Tratamento cromatográfico de FAIBCR e isolamento de BCR-3

**FAIRBC** (43,1 mg) foi fracionada em uma coluna intitulada de **C8**, cujas dimensões foram de L = 30 cm e  $\phi = 1,5$  cm, contendo 14,6382 g de gel de sílica como fase fixa. O sistema de eluição dos solventes seguiu a metodologia descrita na Tabela 33.

Tabela 42 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico C8

FRAÇÕES	ELUENTE	VOLUME (mL)
1 – 107	Hexano/Acetato de etila 2%	850
108 – 151	Hexano/Acetato de etila 5%	350
152 – 169	Hexano/Acetato de etila 10%	150
170 – 184	Hexano/Acetato de etila 15%	100
185 – 198	Acetato de etila	100
199	Metanol	200

A análise das frações coletadas por CCD resultou em 18 frações reunidas com perfil semelhante, cujo mapeamento está descrito na Tabela 34.

Tabela 43 – Dados referentes ao sistema de frações resultantes da coluna C8

FRAÇÕES REUNIDAS	MASSA (g)
1 – 4	0,0037
5 – 6	0,0058
7 – 8	0,0038
9 – 13	0,0018
<b>14 – 18</b>	<b>0,0063</b>
19 – 23	0,0023
24 – 26	0,0009

Continua

Tabela 44 – Dados referentes ao sistema de frações resultantes da coluna C8 (continuação)

27 – 30	0,0004
31 – 36	0,0008
37 – 42	0,0014
43 – 52	0,0023
53 – 77	0,0071
78 – 85	0,0001
86 – 115	0,0013
116 – 119	0,0045
120 – 122	0,0027
123 – 198	0,1824
TOTAL	0,2276

A fração reunida **14 – 18 (C8)** exibiu uma única mancha de coloração azul escura na cromatoplaça e precipitou como um sólido branco cristalino. Ela foi denominada **BCR-3** e armazenada ao abrigo da luz e do calor e, posteriormente, submetida à análise por métodos físicos.

#### 5.3.2.6 Tratamento cromatográfico de FA9RBC e isolamento de BCR-4

O fracionamento de **FA9BCR** (962,2 mg) foi efetuado em uma coluna denominada **C11** (L = 28,5 cm e  $\phi$  = 2,5 cm) tendo como fase estacionária 65,13 g de gel de sílica. A eluição seguiu ordem crescente de polaridade, como indica a Tabela 35.

Tabela 45 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico C11

FRAÇÕES	ELUENTE	VOLUME (mL)
1 – 71	Diclorometano/Metanol 8%	600
72 – 94	Diclorometano/Metanol 12%	200
95 – 106	Diclorometano/Metanol 20%	100
107 – 133	Diclorometano/Metanol 50%	200
134	Metanol	150

Após a análise por placas cromatográficas, agrupou-se em 10 frações resultantes as coletas com semelhante perfil cromatográfico, como mostrado na Tabela 36 (p. 158).

Tabela 46 – Dados referentes ao sistema de frações resultantes da coluna C11

<b>FRAÇÕES REUNIDAS</b>	<b>MASSA (g)</b>
1 – 5	0,0029
6 – 8	0,0055
9 – 12	0,0079
13 – 21	0,2535
22 – 26	0,0367
27 – 31	0,0942
32 – 43	0,4982
44 – 45	0,0068
46 – 53	0,0280
54 – 61	0,0010
62 – 70	0,0076
71 – 105	0,0066
106 – 133	0,0113
<b>TOTAL</b>	<b>0,9692</b>

O fracionamento da fração reunida **32 – 43 (C11)** foi realizado em uma coluna ( $L = 25,5$  cm e  $\phi = 2,5$  cm) contendo como fase fixa Sephadex LH-20 e metanol como fase móvel, denominada de **C12**. Foram coletadas 80 frações, cuja análise por placas cromatográficas resultou nas frações reunidas por fatores de retenção semelhantes, conforme descrito na Tabela 37.

Tabela 47 – Dados referentes ao sistema de frações resultantes da coluna C12

<b>FRAÇÕES REUNIDAS</b>	<b>MASSA (g)</b>
1 – 5	0,0016
6 – 8	0,0038
9 – 17	0,0089
18 – 23	0,0054
24 – 27	0,0367
28 – 33	0,0401

Continua

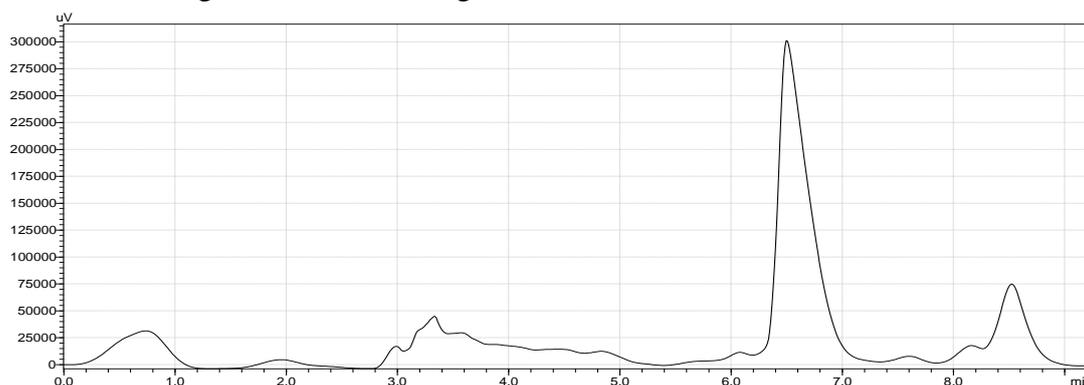
Tabela 48 – Dados referentes ao sistema de frações resultantes da coluna C12 (continuação)

34 – 40	0,2535
41 - 53	0,0068
54 – 59	0,0045
60 – 65	0,0030
66 – 74	0,0029
75 – 80	0,0037
<b>TOTAL</b>	<b>0,3709</b>

A fração reunida **54 – 59 (C12)** apresentou uma única mancha visível no comprimento de onda de 354 nm, revelada por vapor de iodo ressublimado. Apresentou-se como um sólido vermelho amorfo e foi denominada de **BCR-4**. A amostra foi armazenada a baixa temperatura, guardada da luz e analisada posteriormente por métodos físicos de análise de compostos orgânicos.

### 5.3.2.7 Tratamento cromatográfico de FA9RBC e isolamento de BCR-5

A fração reunida **34 – 40 (C12)** foi solubilizada em MeOH/H<sub>2</sub>O (40:60), filtrada e analisada por CLAE num sistema isocrático MeOH/H<sub>2</sub>O (40:60), com fluxo de 4,00 mL/min e com tempo de eluição de 12 minutos. Foram coletados dois picos com tempo de retenção de aproximadamente 7 minutos, conforme a Figura 126. Do experimento, a amostra referente ao pico de maior intensidade precipitou na forma de um sólido amorfo avermelhado, cuja placa cromatográfica revelada com solução de vanilina apresentava uma única mancha central de cor vermelha. Foi denominada de **BCR-5**, guardada sob proteção da luz e do calor e levada para análise por métodos físicos.

Figura 126 – Cromatograma referente ao isolamento de **BCR-5**

### 5.3.2.8 Tratamento cromatográfico de FDBCR e isolamento de BCR-6

A fração diclorometano, oriunda da coluna filtrante (Czero), foi submetida a uma coluna cromatográfica, denominada **C13**. As dimensões da coluna foram  $L = 26$  cm e  $\phi = 3,0$  cm, na qual continha uma massa de 57,4 g de sílica gel como fase estacionária. O sistema de eluentes utilizado está detalhado na Tabela 38.

Tabela 49 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico C13

FRAÇÕES	ELUENTE	VOLUME (mL)
1 – 4	Hexano	100
5 – 10	Hexano/Diclorometano 50%	200
11 – 13	Diclorometano	100
14 – 19	Diclorometano/Acetato de etila 5%	200
20 – 22	Diclorometano/Acetato de etila 15%	100
23 – 27	Diclorometano/Acetato de etila 25%	100
28	Metanol	200

As frações coletadas foram analisadas quanto ao perfil cromatográfico em CCD e, em seguida, foram reunidas em quatro frações descritas na Tabela 39.

Tabela 50 – Dados referentes ao sistema de frações resultantes da coluna C13

FRAÇÕES REUNIDAS	MASSA
1 – 11	0,0594 g
12 – 15	0,2712 g
16 – 22	0,3021 g
23 – 28	0,2064 g

A fração reunida **12 – 15 (C13)** (271,2 mg) foi escolhida para dar continuidade ao fracionamento. Uma coluna denominada **C15** foi realizada, então, com as dimensões de  $L = 27$  cm e  $\phi = 2,0$  cm, contendo uma massa de 25,7 g de sílica gel. De maneira isocrática, utilizando diclorometano, coletou-se as frações eluídas, analisou-se o perfil cromatográfico e reuniu-se aquelas que apresentavam semelhança, assim como mostrado na Tabela 40 (p. 161).

Tabela 51 – Dados referentes ao sistema de frações resultantes da coluna C15

FRAÇÕES REUNIDAS	MASSA (g)
1 – 5	0,0013
6 – 11	0,0090
12 – 15	0,0021
16 – 23	0,0035
<b>24 – 28</b>	<b>0,0173</b>
30 – 31	0,0039
32 – 33	0,0015
34 – 39	0,0129
40 – 43	0,0088
44 – 61	0,1243
62 – 65	0,0099
66 – 76	0,0287

O conteúdo da fração reunida **24 – 28 (C15)** (17,3 mg), um óleo viscoso transparente, apresentou uma única mancha central de cor rosa escuro quando eluída em diclorometano, foi denominada de **BCR-6** e acondicionada sob proteção da luz e do calor e analisada por métodos físicos.

#### 5.3.2.9 Tratamento cromatográfico de FHBCR e isolamento de BCR-7

Uma porção de 1,0324 g da fração hexânica da coluna filtrante, **FHBCR**, foi submetida a um tratamento cromatográfico denominado **C14**. As dimensões da coluna eram L = 17 cm e  $\phi$  = 3,0 cm e foram utilizados 42,9 g de gel de sílica como fase estacionária. Os eluentes usados em gradiente de polaridade estão descritos na Tabela 41.

Tabela 52 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico C14

FRAÇÕES	ELUENTE	VOLUME (mL)
1 – 3	Hexano/Diclorometano 15%	100
4 – 6	Hexano/Diclorometano 25%	100
7 – 13	Hexano/Diclorometano 40%	200

Continua

Tabela 53 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico C14 (continuação)

14 – 19	Hexano/Diclorometano 70%	200
20 – 24	Diclorometano	100
25 – 26	Metanol	100

Após a análise das frações coletadas e reunião daquelas com semelhante perfil cromatográfico, foi possível a obtenção de quatro frações reunidas e a elaboração da Tabela 42.

Tabela 54 – Dados referentes ao sistema de frações resultantes da coluna C14

FRAÇÕES REUNIDAS	MASSA (g)
1 – 7	0,1131
8 – 10	0,0576
11 – 19	0,1143
20 – 26	0,1439

Continuou-se o tratamento para a fração reunida **11 – 19 (C14)** (114,3 mg) com o uso de uma coluna (L = 28 cm e  $\phi$  = 2,0 cm), preenchida com 26 g de gel de sílica, denominada **C16**. A mesma foi eluída de forma isocrática utilizando 150 mL de hexano/diclorometano 70%. Após a análise das frações coletadas, foi possível reunir aquelas de perfil cromatográfico similar, o que possibilitou a construção da Tabela 43.

Tabela 55 – Dados referentes ao sistema de frações resultantes da coluna C16

FRAÇÕES REUNIDAS	MASSA (g)
1 – 17	0,0038
18 – 20	0,0028
21 – 36	0,0067
<b>37 – 52</b>	<b>0,0155</b>
53 – 77	0,0281
78 – 106	0,0228
TOTAL	0,0797

A fração reunida **37 – 52 (C16)** (15,5 mg) precipitou como um sólido cristalino branco. A placa cromatográfica, revelada em solução de vanilina, se apresentou com uma

única mancha central de cor azul. Foi denominada **BCR-7**, armazenada ao abrigo da luz e calor e levada para análise por métodos físicos.

#### 5.3.2.10 Tratamento cromatográfico de 44 – 61 (C15) e isolamento de BCR-8

A fração **44 – 61 (C15)** (124,3 mg) foi submetida a um tratamento cromatográfico denominado **C17**. As dimensões da coluna foram de  $L = 26,5$  cm e  $\phi = 2,0$  cm, contendo 25,1 g de gel de sílica, eluída de forma isocrática utilizando hexano/acetato de etila 10%. Após a análise das frações coletadas, foi possível reunir aquelas de perfil cromatográfico similar, o que possibilitou a construção da Tabela 44.

Tabela 56 - Dados referentes ao sistema de frações resultantes da coluna C17

FRAÇÕES REUNIDAS	MASSA (g)
18 – 26	0,0014
27 – 31	0,0017
32 – 34	0,0016
35 – 56	0,0029
57 – 59	0,0015
<b>60 – 67</b>	<b>0,0063</b>
68 – 99	0,0574
100 – 110	0,0044
111 – 115	0,0027
116 – 132	0,0173
133	0,0038

A fração reunida **60 – 67 (C17)** (6,3 mg), um óleo transparente, se apresentou com uma única mancha central de cor rosa claro quando analisada por CCD e revelada em solução de vanilina,. Foi denominada **BCR-8**, armazenada longe de luz e calor e levada para análise por métodos físicos.

As etapas do fracionamento cromatográfico do extrato etanólico (**EEBCR**) estão esquematizadas no Fluxograma 1 (p. 165) e as estruturas dos metabólitos secundários isolados de *B. cheilantha* estão mostradas na Figura 127 (p. 165).

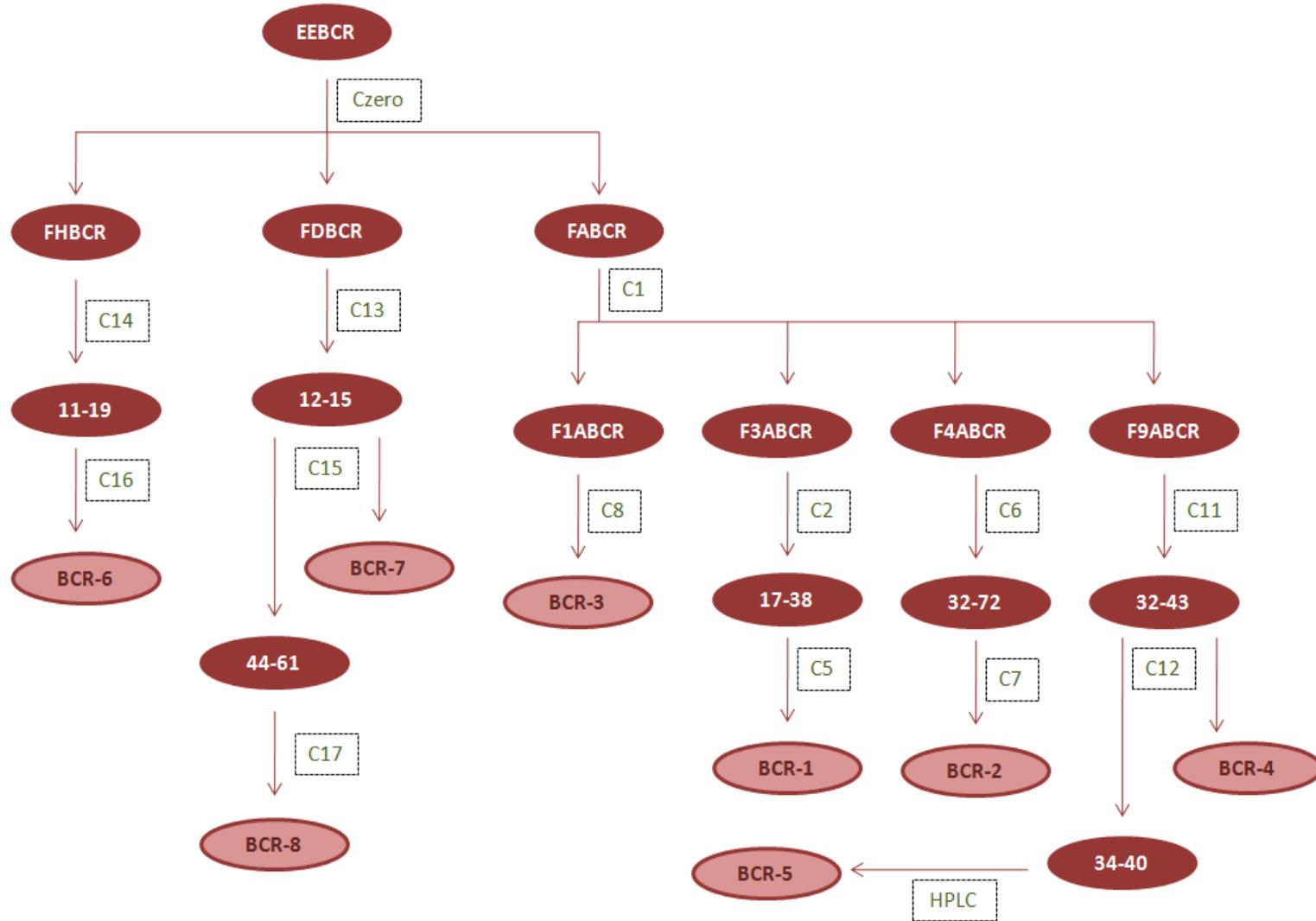
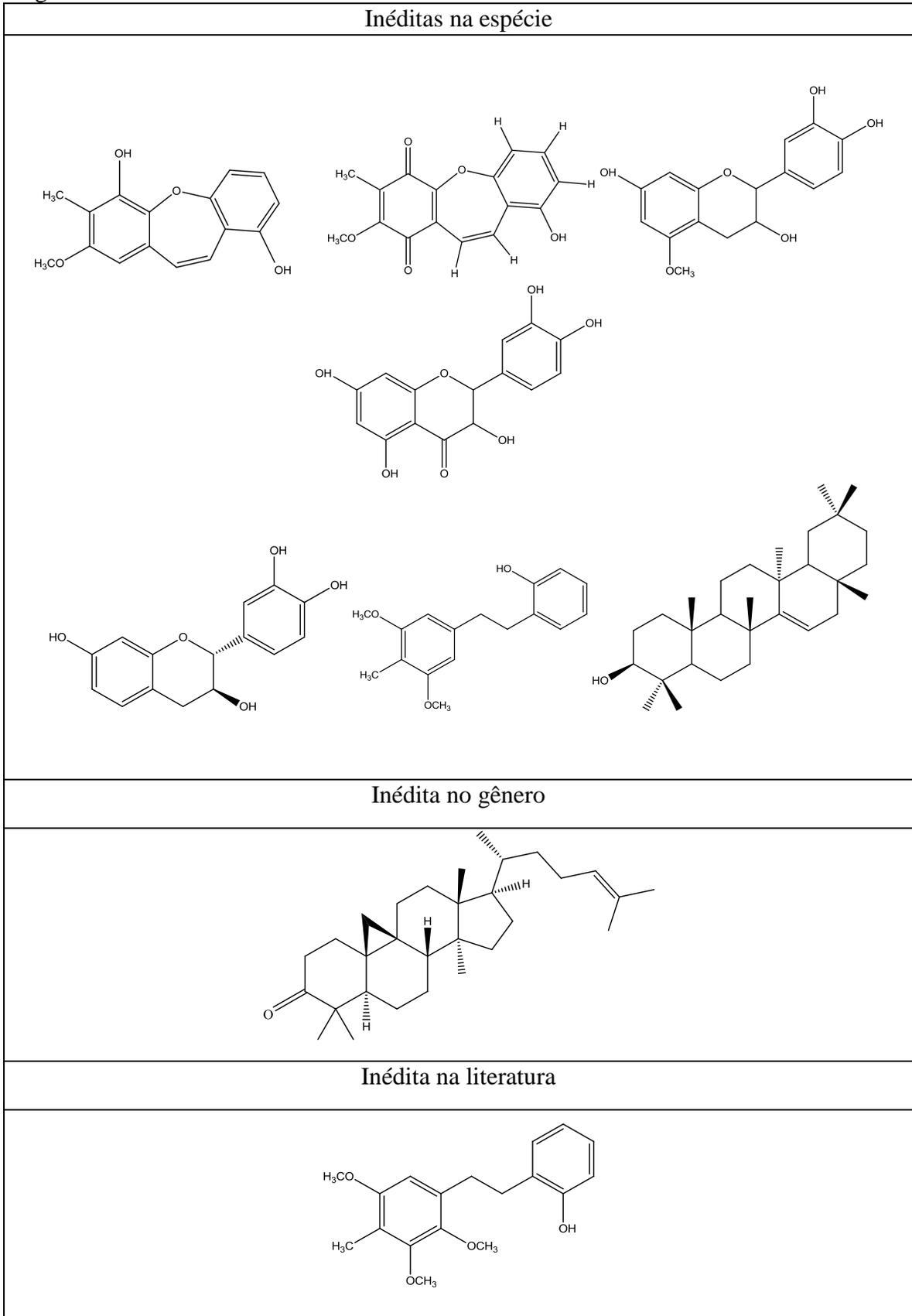
Fluxograma 1 – Fracionamento cromatográfico do extrato etanólico das raízes de *Bauhinia cheilantha* **EEBCR**)

Figura 127 – Metabólitos secundários isolados de *Bauhinia cheilantha*

## 5.4 Ensaios Biológicos

### 5.4.1 Atividade larvicida sobre *Aedes aegypti*

Alíquotas de 1 mg, 2 mg, 5 mg e 10 mg, em triplicata, do óleo essencial das folhas *Bauhinia cheilantha* (OEBC) e das frações hexânica, diclorometano, acetato de etila e metanólica foram, inicialmente, dissolvidas em 0,3 mL de dimetilsulfóxido e transferidas para um béquer de 50 mL. Posteriormente, foram adicionadas 50 larvas de terceiro estágio de *Aedes aegypti* (GADELHA; TODA, 1985) juntamente com 19,7 mL de água. Paralelamente, foram feitos testes em branco, utilizando-se água e DMSO a 1,5%. Após 24 horas foi realizada a contagem das larvas exterminadas e calculada a CL<sub>50</sub> (OLIVEIRA *et al.*, 2002).

### 5.4.2 Atividade citotóxica

As linhagens celulares humanas utilizadas no estudo foram HL-60 (leucemia pró-mielocítica), NCI-H292 (carcinoma de pulmão), MCF-7 (adenocarcinoma de mama) e HEP-2 (adenocarcinoma cervical), obtidas do banco de células do Rio de Janeiro, foram cultivadas em meio RPMI 1640 ou DMEN, suplementados com 10% de soro fetal bovino e 1% de antibióticos, mantidas em estufa a 37 °C e sob atmosfera de 5% de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) e as amostras foram diluídas em dimetilsulfóxido (DMSO) puro e estéril.

As linhagens NCI-H292 (carcinoma de pulmão), MCF-7 (adenocarcinoma de mama) e HEP-2 (adenocarcinoma cervical) foram plaqueadas na concentração de 1 x 10<sup>5</sup> células/mL e a de HL-60 (leucemia pro-mielocítica) foi plaqueada na concentração de 0,3 x 10<sup>6</sup>. As amostras de óleo essencial das folhas frescas de *B. cheilantha* e as frações hexânica, diclorometano, acetato de etila e metanólica foram previamente dissolvidas em DMSO, e em seguida diluídos no meio RPMI para obtenção das concentrações finais e posteriormente, adicionados em placa de 96 poços. As placas foram incubadas por 72 horas em estufa a 5% de CO<sub>2</sub> a 37°C. Em seguida, foram adicionados 25 µL da solução de MTT (sal de tetrazolio) e as placas foram incubadas por 3 horas. A absorbância de cada uma das amostras foi lida após dissolução do precipitado com DMSO puro em espectrofotômetro de placa a 595 nm.

A concentração inibitória em 50% (CI<sub>50</sub>) e respectivos intervalos de confiança das referidas amostras foram calculados por regressão não linear no programa GraphPad Prism. Cada amostra foi testada em duplicata, utilizando a doxorrubicina como controle positivo.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

No óleo essencial das folhas frescas de *Bauhinia cheilantha* (OEBC) foram identificados 97,84% dos seus constituintes, com predominância de sesquiterpenos, sendo o (*E*)-cariofileno (21,65%) e  $\alpha$ -pineno (11,74%) os componentes majoritários. Analisando seu perfil como larvicida sobre *Aedes aegypti*, o OEBC apresentou atividade significativa, com valor de CL<sub>50</sub> de 40,845  $\pm$  0,87  $\mu$ g/mL, considerado ativo e bom agente. O mesmo também foi testado frente às seguintes linhagens de células tumorais humanas: HL-60 (leucemia promielocítica), NCI-H292 (carcinoma de pulmão), HEP-2 (carcinoma de cérvix uterino) e MCF-7 (carcinoma de mama). O valor da CI<sub>50</sub> para leucemia promielocítica foi o mais baixo e, conseqüentemente, mais promissor resultado para o OEBC, que foi de 8,6  $\mu$ g/mL, assim como mostrou ter atividade para as linhagens de carcinoma de pulmão e carcinoma de mama. Este constitui o primeiro relato da investigação da atividade larvicida e citotóxica do óleo essencial de folhas de *B. cheilantha*.

O estudo químico dos constituintes não voláteis do extrato etanólico das raízes de *Bauhinia cheilantha* permitiu o isolamento e determinação estrutural de nove metabólitos secundários, sendo classificados em quatro classes distintas: duas oxepinas (**BCR-1** e **BCR-2**), dois triterpenos (**BCR-3** e **BCR-6**), sendo um deles inédito no gênero, um flavonóide isolado (**BCR-5**) e uma mistura de flavonóides (**BCR-4**) e dois bibenzis (**BCR-7** e **BCR-8**), sendo um deles descrito pela primeira vez na literatura.

A ocorrência de derivados oxepínicos, triterpenos, flavonóides e bibenzis é comum em espécies do gênero *Bauhinia*, estando, dessa forma, o presente estudo fitoquímico da espécie de acordo com o perfil quimiotaxonômico do mesmo.

A atividade citotóxica do extrato etanólico das raízes de *Bauhinia cheilantha* (**EEBCR**) e das frações hexânica (**FHBCR**), diclorometano (**FDBCR**), acetato de etila (**FABCR**) e metanólica (**FMBCR**) foi avaliada frente às linhagens de células tumorais humanas HL-60 (leucemia promielocítica), NCI-H292 (carcinoma de pulmão), HEP-2 (carcinoma de cérvix uterino) e MCF-7 (carcinoma de mama). A fração diclorometano se mostrou ativa, e tal atividade e pode estar relacionada à presença de compostos bibenzílicos nesta fração, como os metabólitos secundários isolados e caracterizados **BCR-7** e **BCR-8**.

A investigação da espécie *Bauhinia cheilantha* se mostrou satisfatória, se apresentando como uma fonte potencial de compostos bioativos, sendo a continuidade de seu estudo químico e biológico bastante promissora.

## REFERÊNCIAS

- ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy**. Carol Stream: Allured Publishing Corporation, 4. ed. 2007.
- AGRAWAL, P. K. **Carbon-13 NMR of flavonoids**. Elsevier (Ed.), Nova York, 39, p. 436, 1989.
- ALBUQUERQUE, U. P.; DE MEDEIROS, P. M.; DE ALMEIDA, A. L. S.; MONTEIRO, J. M.; NETO, E. M. F. L.; DE MELO, J. G.; DOS SANTOS, J. P. Medicinal plants of the caatinga (semi-arid) vegetation of NE Brazil: A quantitative approach. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 114, p. 325–354, 2007.
- ANJANEYULU, A. S. R.; REDDY, A. V. R.; REDDY, D. S. K.; WARD, R. S.; ADHIKESAVALU, D.; CAMERON, T. S. Pacharin: A new dibenzo(2,3-6,7)oxepin derivate from *Bauhinia racemosa* Lamk. **Tetrahedron**, v. 40, p. 4245-4252, 1984.
- APISANTIYAKOM, S.; KITTAKOOP, P.; MANYUM, T.; KIRTIKARA, K.; BREMNER, J. B.; THEBTARANONTH, Y. Novel biologically active bibenzyls from *Bauhinia saccocalyx* Pierre. **Chemistry & Biodiversity**, v. 1, p. 1694-1701, 2004.
- ARAÚJO, H. R. C.; CARVALHO, D. O.; IOSHINO, A. L. C. S.; CAPURRO, M. L. *Aedes aegypti* control strategies in Brazil: incorporation of new technologies to overcome the persistence of dengue epidemics. **Insect**, v. 6, p. 576-594, 2015.
- ARAÚJO, D. S.; CHAVES, M. H. Triterpenoides pentacíclicos das folhas de *Terminalia brasiliensis*. **Química Nova**, v. 28, p. 996-999, 2005.
- ARUTYUNYAN, T. V.; KORYSTOYA, A. F.; KUBLIK, L. N.; LEVITMAN, M. K.; SHAPOSHNIKOVA, V. V.; KORYSTOY, Y. N. Effects of taxifolin on the activity of angiotensin-converting enzyme and reactive oxygen and nitrogen species in the aorta of aging rats and rats treated with the nitric oxide synthase inhibitor and dexamethasone. **American Aging Association**, v. 35, p. 2089–2097, 2013.
- AZIZUR, R. M. D.; MEHNAZ, K.; ARSHAD, H.; MUHAMMAD, A.; MOHD, K. Phytochemistry and pharmacology of traditionally used tropical medicinal plant *Bauhinia racemosa* Lamk. **The Pharma Research**, v. 13, p. 26-41, 2015.
- BARTON, D. H. R.; Triterpenoids: Part 111. Cycloartenone, a triterpenoid ketone. **Journal of the Chemical Society**, p. 1444-1451, 1951.
- BEUTLER J. A. Natural products as a foundation for drug discovery. **Current Protocols Toxicology Supplement** 46:9.11.1–9.11.21, 2009.
- BFG. Growing knowledge: an overview of seed plant diversity in Brazil. **Rodriguésia** v. 66, p. 1085-1113, 2015.
- BLUNT, J. W., COPP, B. R., KEYZERS, R. A., MUNRO, M. H., PRINSEP, M. R. Marine natural products. **Natural Products Report**, v. 30, p. 237-323, 2013.

CAMARGO, M. J.; MIRANDA, M.; LAZARO, D.; KAGAMIDA, C. M.; RODRIGUES, E. D.; GARCEZ, F. R.; GARCEZ, W. S. Sesquiterpenos de *Ocotea lancifolia* (Lauraceae). **Química Nova**, v. 36, p. 1008-1013, 2013.

CAMPANHA, M. M.; ARAÚJO, F. S. **Árvores e arbustos do sistema agrossilvipastoril Caprinos e Ovinos**. Sobral: Embrapa Caprinos e Ovinos, p. 32 (Documentos, 96), 2010.

CAREY, F.; GIULIANO, R. M. **Organic Chemistry**. 8 ed. New York, McGraw-Hill, 2011.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies arbóreas brasileiras**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 1039 p., 2003.

CARVALHO, J. L. de. Estudo químico e biológico de *Bauhinia pulchella* Benth. (Mestrado em Química) Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Ceará, 2014.

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

CHENG, S. S.; CHANG, H. T.; CHANG, S. T.; TSAI, K. H.; CHEN, W. J. Bioactivity of selected plant essential oils against the yellow fever mosquito *Aedes aegypti* larvae. **Bioresource Technology**, v. 89, p. 99-102, 2003.

COSTA-LOTUFO, L. V.; KHAN, M. T. H.; ATHER, A.; WILKE, D. V.; JIMENEZ, P. C.; PESSOA, C.; MORAES, M. E. A.; MORAES, M. O. Studies of anticancer potential of plants used in Bangladeshi folk medicine. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 99, p. 21-30, 2005.

CRAGG, G. M.; NEWMAN, D. J. Natural products: a continuing source of novel drug leads. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1830, p. 3670–3695, 2013.

DA SILVA, R. C. S.; MILET-PINHEIRO, P.; BEZERRA DA SILVA, P. C.; DA SILVA, A. G.; DA SILVA, M. V.; NAVARRO, D. M. A. F.; DA SILVA, N. H. (*E*)-caryophyllene and  $\alpha$ -humulene: *Aedes aegypti* oviposition deterrents elucidated by gas chromatography-electrophysiological assay of *Commiphora leptophloeos* leaf oil. **PLoS ONE** v. 10(12): e0144586, 2015.

DAVID, B.; WOLFENDER, J. L.; DIAS, D.A. The pharmaceutical industry and natural products: historical status and new trends. **Phytochemistry Reviews**, v. 14, p. 299–315, 2014.

DE ALMEIDA, M. C. S.; SOUSA, L. G. S.; FERREIRA, D. A.; MONTE, F. J. Q.; BRAZ-FILHO, R.; LEMOS, T. L. G. Chemical composition of the essential oil and fixed oil *Bauhinia pentandra* (Bong.) D. Dietr. **Pharmacognosy Magazine**, v. 11, Suppl S2, p. 362-364, 2015.

DE LUCA, V.; SALIM, V.; ATSUMI, S. M.; YU, F. Mining the biodiversity of plants: a revolution in the making. **Science**, v. 336, p. 1658–1661, 2012.

DE SOUSA, L. M.; CARVALHO, J. L.; GOIS, R. W. S.; DA SILVA, H. C.; SANTIAGO, G. M. P.; LEMOS, T. L. G.; ARRIAGA, A. M. C.; ALVES, P. B.; DE MATOS, I. L.; MILITÃO, G. C. G.; DA SILVA, P. B. N.; DA SILVA, T. G. Chemical composition,

larvicidal and cytotoxic activities of the essential oils from two *Bauhinia* species. **Records of Natural Products**, v. 10, p. 341-348, 2016a.

DE SOUSA, L. M.; CARVALHO, J. L.; DA SILVA, H. C.; LEMOS, T. L. G.; ARRIAGA, A. M. C.; BRAZ-FILHO, R.; MILITÃO, G. C. G.; SILVA, T. D. S.; RIBEIRO, P. R. V.; SANTIAGO, G. M. P. New cytotoxic bibenzyl and other constituents from *Bauhinia unguolata* L. (Fabaceae). **Chemistry & Biodiversity**, v. 13, p. 1630–1635, 2016b.

DIAS, C. N.; MORAES, F. C. Essential oils and their compounds as *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae) larvicides: Review. **Parasitology Research**, v. 113, p. 565–592, 2014.

DIXON, R. A.; STRACK, D. Phytochemistry meets genome analysis, and beyond. **Phytochemistry**, v. 62, p. 815-816, 2003.

DOS SANTOS, R. I. Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; MELLO, J. C. P., MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre: UFRGS: p.403-434, 1999.

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

FIRN, R. **Nature's chemicals: the natural products that shaped our world**. Oxford: OUP; 2009.

FURLAN, M.; BERGAMO, A. C. B.; MOREIRA, T. M. S.; BATISTA, A. N. L.; KATO, M. J. Biossíntese de produtos naturais: atualidades e perspectivas no desenvolvimento de novos fármacos. In: YUNES, A. R.; CECHINEL-FILHO, V. **Química de Produtos Naturais: Novos fármacos e a moderna farmacognosia**. Itajaí: Univali, p.87-108, 2014.

GADELHA, D. P.; TODA, A. T. Biologia e comportamento do *Aedes aegypti*. **Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais**, v. 37, p. 29-36, 1985.

GANDHE, S.; LAKAVATH, S.; PALATHEEYA, S.; SCHUEHLY, W.; AMANCHA, K.; NALLAMADDI, R. K. R.; PALEPU, A.; THAKUR, Y; BELVOTAGI, V. R. A. R.; BOBBALA, R. K.; ACHANTA, V. N. A. R.; KUNERT, O. Cycloartanes from the gum resin of *Gardenia gummifera* L. **Chemistry & Biodiversity**, v. 10, p. 1613-1622, 2013.

GEORGIEV M. I. Coming back to nature: plants as a vital source of pharmaceutically important metabolites – Part II A. **Current Medical Chemistry**, v. 19, p. 2059-2060, 2012.

GEORGIEV M.I. Natural products utilization. **Phytochemistry Reviews**, v. 13, p. 339–341, 2014

GLINWOOD, R.; NINKOVIC, V.; PETTERSON, J. Chemical interaction between undamaged plants: effects on herbivores and natural enemies. **Phytochemistry**, v. 72, p. 1683-1689, 2011.

GÓIS, R.W.S. **Estudo Químico e Avaliação Biológica de *Bauhinia acuruana* Moric**. Tese (Doutorado em Química), Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2014.

GOIS, R. W. S.; DE 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.

GOIS, R. W. S.; DE SOUSA, L. M.; LEMOS, T. L. G.; ARRIAGA, A. M. C.; ANDRADE-NETO, M.; SANTIAGO, G. M. P.; FERREIRA, Y. S.; ALVES, P. B.; DE JESUS, H. C. R. Chemical composition and larvicidal effects of essential oil from *Bauhinia acuruana* (Moric) against *Aedes aegypti*. **Journal of Essential Oil Research**, v. 23, p. 59-62, 2011.

GOIS, R. W. S.; DE SOUSA, L. M.; DA SILVA, H. C.; DA SILVA, F. E. F.; PIMENTA, A. T. A.; LIMA, M. A. S.; ARRIAGA, A. M. C.; LEMOS, T. L. G.; BRAZ-FILHO, R.; MILITÃO, G. C. G.; DA SILVA, P. B. N.; GONÇALVES, F. J. T.; SANTIAGO, G. M. P. Chemical constituents from *Bauhinia acuruana* and their cytotoxicity. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 27, p. 711-715, 2017.

GOTTLIEB, O. R.; MAGALHÃES, M. T. Modified distillation trap. **Chemical Analyst**, v. 49, p. 114, 1960.

GRAMOSA, N. V.; DE FREITAS, J. V. B.; NETO, M. A. L.; SILVEIRA, E. R.; NUNES, E. P. Volatile Components of the essential oil from *Bauhinia unguolata* L. **Journal of Essential Oil Research**, v. 21, p. 495-496, 2009.

HEINZMANN, B. M.; SPITZER, V.; SIMÕES, C. M. O. Óleos Voláteis. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; MELLO, J. C. P., MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. Porto Alegre: Artmed: p.23-28, 2017.

HERNÁNDEZ-CHÁVEZ, I.; TORRES-TAPIA, L. W.; SIMÁ-POLANCO, P.; CEDILLORIVERA, R.; MOO-PUC, R.; PERAZA-SÁNCHEZ, S. R. Antigiardial activity of *Cupania dentata* bark and its constituents. **Journal of the Mexican Chemical Society**, v. 56, p. 105-108, 2012.

IMAI, T.; INOUE, S.; OHDAIRA, N.; MATSUSHITA, Y.; SUSUKI, R.; SAKURAY, M.; DE JESUS, J. M. H.; OZAKI, S. K.; FINGER, Z.; FUKUSHIMA, K. Heartwood extractives from the amazonian trees *Dipterys odorata*, *Hymenaea courbaril* and *Astronium lecointei* and their antioxidant activities. **Journal of Wood Science**, v. 54, p. 470-475, 2008.

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, p. 1870-1876, 2013.

JUTIVIBOONSUK, A.; ZHANG, H.; KONDRATYUK, T. P.; HERUNSALEE, A.; CHAUKU, W.; PEZZUTO, J. M.; FONG, H. H. S.; BUNYAPRAPHATSARA, N. Isolation and characterization of cancer chemopreventive compounds from *Barringtonia maunwongyathiae*. **Pharmaceutical Biology**, v. 45, p. 185-194, 2007.

KALIYAPERUMAL, S.; MISHRA, P. K.; GAUTAM, G. K. Isolation and characterization of palmitic acid, 2-(tetradecyloxy) ethyl ester and beta sitosterol from methanolic extract of

*Bauhinia purpurea* leaves. **European Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences**, v. 3, p. 264-268, 2016.

KARTAL, M. Intellectual property protection in the natural product drug discovery, traditional herbal medicine and herbal medicinal products. **Phytotherapy Research**, v. 21, p. 113-119, 2007.

KAWABATA, K.; KATO Y.; SAKANO, T.; BABA, N.; HAGIWARA, K.; TAMURA, A.; BABA, S.; NATSUME, M.; OHIGASHI, H. Effects of phytochemicals on in vitro anti-inflammatory activity of *Bifidobacterium adolescentis*, **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, v. 79, p. 799-807, 2015.

KHANRA, R.; BHATTACHARJEE, N.; DUA, T. K.; NANDY, A.; SAHA, A.; KALITA, J.; MANNA, P.; DEWANJEE, S. Taraxerol, a pentacyclic triterpenoid, from *Abroma augusta* leaf attenuates diabetic nephropathy in type 2 diabetic rats. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 94, p. 726-741, 2017.

KIKUCHI, T.; ISHIIA, K.; OGIHARAA, E.; ZHANGA, J.; UKIYAA, M.; TOKUDAC, H.; IIDAD, T.; TANAKAB, R.; AKIHISA, T. Cytotoxic and apoptosis-inducing activities, and anti-tumor-promoting effects of cyanogenated and oxygenated triterpenes. **Chemistry & Biodiversity**, v. 11, p. 491-504, 2014.

KITTA KOOP, P.; KIRTIKARA, K.; TANTICHAROEN, M.; THEBTARANONTH, Y. Antimalarial preracemosols A and B, possible biogenetic precursors of racemosol from *Bauhinia malabarica* Roxb. **Phytochemistry** (55) 349-352, 2000.

KITTA KOOP, P.; NOPICHAJ, S.; THONGON, N.; CHAROENCHAI, P.; THEBTARANONTH, Y. Bauhinioxepins A and B: new Antimycobacterial Dibenzo[*b,f*]oxepins from *Bauhinia saccocalyx*. **Helvetica Chimica Acta**, v. 87, p. 175-179, 2004.

KREIS, W.; MUNKERT, J.; DE PÁDUA, R. M. Biossíntese de metabólitos primários e secundários. In: : SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; MELLO, J. C. P., MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. Porto Alegre: Artmed: p. 23-28, 2017.

KUO, Y.; CHU, P. Studies on the constituents from the bark of *Bauhinia purpurea*. **Journal of the Chinese Chemical Society**, v. 49, p. 269-274, 2002.

KUO, Y.; YEH, M. Chemical constituents of heartwood of *Bauhinia purpurea*. **Journal of the Chinese Chemical Society**, v. 44, p. 379-383, 1997.

KURTH, E. F.; BECKER, E. L. The chemical nature of the extractives from red alder. **Tappi**, v. 36, p. 461-466, 1953.

LAMOTTKE, K.; RIPOLL, C.; WALCZAK, R. The roots of innovation. **European Biopharmaceutical Review**, v. 15, p. 52-56, 2011.

LEE, K. Y.; SUNG, S. H.; KIM, Y. C. Neuroprotective bibenzyl glycosides of *Stemona tuberosa* roots, **Journal of Natural Products**, v. 69, p. 679-681, 2006.

- LEE, J. H.; LEE, K. T.; YANG, J. H.; BAEK, N. I.; KIM, D. K. Acetylcholinesterase inhibitors from the twigs of *Vaccinium oldhami* Miquel. **Archives of Pharmacol Research**, v. 27, p. 53-56, 2004.
- LEMES, G. F.; FERRI, P. H.; LOPES, M. N. Constituintes químicos de *Hyptidendron canum* (Pohl ex Benth.) R. Harley (Lamiaceae). **Química Nova**, v. 34, p. 39-42, 2011.
- LPWG. Legume phylogeny and classification in the 21st century: Progress, prospects and lessons for other species-rich clades. **Taxonomy**, v. 62, p. 217-248, 2013.
- LORENZI, H.; MATOS, F.J. de A. **Plantas Mediciniais no Brasil: Nativas e exóticas**. 2.ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 544 p., 2008.
- MAGALHÃES, L. A. M.; LIMA, M. P.; MARQUES, M. O. M.; FACANALI R.; PINTO, A. C. S.; TADEI, W. P. Chemical composition and larvicidal activity against *Aedes aegypti* of essential oils from four *Guarea* species, **Molecules** v. 15, p. 5734-5741, 2010.
- MAHATO, S. B.; KUNDU, A. P. <sup>13</sup>C NMR spectra of pentacyclic triterpenoids – a compilation and some salient features. **Phytochemistry**, v. 37, p. 1517-1575, 1994.
- MAILLARD, M. P.; RECIO-IGLESIAS, M.; SAADOU, M.; STOECKLI-EVANS, H.; HOSTETTMANN, K. Novel antifungal tetracyclic compounds from *Bauhinia rufescens* Lam. **Helvetica Chimica Acta**, v. 74, p. 791-799, 1991.
- MARCONDES, C. B.; XIMENES, M. F. F. M. Zika virus in Brazil and the danger of infestation by *Aedes (Stegomyia)* mosquitoes. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** v. 49, p. 4-10, 2016.
- MASON, P. A.; BERNARDO, M. A.; SINGER, M. S. A mixed diet of toxic plants enables increased feeding and anti-predator defense by an insect herbivore. **Oecologia**. v. 176, p. 477-86, 2014.
- MASUR, U.; KUMAR, H.; KUMAR, A. Evaluation of larvicidal effect of *Dysoxylum binectariferum* hook against *Anopheles stephensi* liston, *Culex quinquefasciatus* say and *Aedes aegypti* L. **International Journal of Bioassays**, v. 4, p. 4685-4688, 2015.
- MISHRA, B. B.; TIWARI, V. K. Natural products: an evolving role in future drug discovery. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 46, p. 4769–4807, 2011.
- 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 fur Naturforschung**, v. 64C, p. 798-808, 2009.
- MOSSNAM, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application and cytotoxicity assays. **Journal of Immunological Methods**, v. 65, p. 1467-1486, 1983.
- MUHAMMAD, A.; SIRAT, H. M. Cox-2 inhibitors from stem bark of *Bauhinia rufescens* Lam. (Fabaceae). **Experimental and Clinical Sciences Journal**, v. 12, p. 824-830, 2013.

NAOGHARE, P. K.; SONG, J. M. Chip-based high throughput screening of herbal medicines. **Combinatorial Chemistry High Throughput Screening**, v. 13, p. 923–931, 2010.

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

NGO, L. T.; OKOGUN, J. I.; FOLK, W. R. 21st century natural product research and drug development and traditional medicines. **Natural Products Report**, v. 30, p. 584–592, 2013.

OLEA, R. S. G.; ROQUE, N. F. Análise de mistura de triterpenos por RMN de  $^{13}\text{C}$ . **Química Nova**. v. 13, p. 278, 1990.

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

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

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.

PIERRE, D. Y. S.; OKECHUKWU, E. C.; NCHIWAN, N. E. Larvicidal and phytochemical properties of *Callistemon rigidus* R. Br. (Myrtaceae) leaf solvent extracts against three vector mosquitoes. **Journal of Vector Borne Diseases**, v. 51, p. 216–223, 2014.

QUEIROZ, L. P. **Leguminosas da Caatinga**. Feira de Santana: Universidade Estadual de Feira de Santana, 467p, 2009.

RAHMAN, A. **Studies in natural products chemistry**. v. 56, Elsevier, 2018.

RAMKUMAR, G.; KARTHI, S. Adulticidal landsmoke toxicity of *Cipadessa baccifera* (Roth) plant extracts against *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti*, and *Culex quinquefasciatus*. **Parasitology Research**, v. 114, p. 167–173, 2015.

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.

REDDY, M. V. B; REDDY, M. K.; GUNASEKAR, D.; CAUX, C.; BODO, B. A flavanone and a dihydrodibenzoxepin from *Bauhinia variegata*. **Phytochemistry**, v. 64 p. 879–882, 2003.

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, p. 28-37, 2011.

SAHOO, D.; AHMAD, A.; AHMAD, J.; TANDON, S. Chemical composition of the essential oil from flowers of *Bauhinia variegata* (Kachnar) of Northern India. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v. 16, p. 636-640, 2013.

SARTORELLI, P.; CORREA, D. S. Constituents of essential oil from *Bauhinia forficata* Link. **Journal of Essential Oil Research**, v. 19, p. 468-469, 2007.

SCHIMIDT, M. E. P.; PIRES, F. B.; BRESSAN, L. P.; SILVA JR.; F. V.; LAMEIRA, O.; DA ROSA, M. B. Some triterpenic compounds in extracts of *Cecropia* and *Bauhinia* species for different sampling years. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 28, p. 21-26, 2017.

SHEN, C.; CHANG, Y.; HO, L. Nuclear magnetic resonance studies of 5,7-dihydroxyflavonoids. **Phytochemistry**, v. 34, p. 843-845, 1993.

SILVA, W. J.; DÓRIA, G. A. A.; MAIA, R. T.; NUNES, R. S.; CARVALHO, G. A.; BLANK, A. F.; ALVES, P. B.; MARÇAL, R. M.; CAVALCANTI, S. C. H. Effects of essential oils on *Aedes aegypti* larvae: Alternatives to environmentally safe insecticides. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 3251-3255, 2008.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. 7. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2007.

SOARES, P. K.; SCARMINIO, I. S. Multivariate chromatographic fingerprint preparation and authentication of plant material from the genus *Bauhinia*. **Phytochemistry Analysis**. v. 19, p. 78-85, 2008.

SOFIAN, F. F.; TAMBA, L.; SUSILAWATI, Y.; RUNADI, D.; TJITRARESMI, A.; RAMADHANIA, Z. M.; WARDOJO, M. M. Larvicidal activity of *Curcuma heyneana* Val. & v. *Zizip Rhizome* against *Aedes aegypti* larvae. **Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences**, v. 8, p. 80-88, 2017.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática: guia ilustrado para a identificação das famílias de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil**. 3. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora. 768 p., 2012.

STICHER, O. Ätherische Öle und Drogen, die ätherisches Öl enthalten. In: STICHER O, HEILMANN J, ZÚNDORF I. **Hänsel/Sticher Pharmakognosie Phytopharmazie**. 10. Aufl. Stuttgart: Wissenschaftliche; p. 663-740, 2015.

SUMNER, L. W.; MENDES, P.; DIXON, R. A. Plant metabolomics: large-scale phytochemistry in the functional genomics era. **Phytochemistry**, v. 62, p. 817-836, 2003.

SURESH, G.; TIWARI, A. K.; M. MURTHY, R. K.; KUMAR, D. A.; K. PRASAD, R.; RAO, R. R.; ALI, A. Z.; BABU, K. S. New advanced glycation end-products inhibitors from *Dichrostachys cinerea* Wight & Arn. **Journal of Natural Medicines**, v. 66, p. 213-216, 2012.

TANJUNG, M.; SAPUTRI, D. R.; TIAHJANDARIE, 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, p. 705-708, 2014.

TOPAL, F.; NAR, M.; GOCER, H.; KALIN, P.; KOCYIGIT, U. M.; GÜLÇİN, I.; ALWASEL, S. H. Antioxidant activity of taxifolin: an activity–structure relationship. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, v. 31, p. 674–683, 2016.

TOZZI, A. M. G. A.; MELHEM, T. S.; FORERO, E.; FORTUNA-PEREZ, A. P.; WANDERLEY, M. G. L.; MARTINS, S. E.; ROMANINI, R. P. ; PIRANI, J.R.; FIUZA DE MELO, M. M. R.; KIRIZAWA, M.; YANO, O.; CORDEIRO, I. (eds.) **Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo**, v. 8, p. 22-83, 2016.

UNSICKER, S. B.; KUNERT, G.; GERSHENZON, J. Protective perfumes: the role of vegetative volatiles in plant defense against herbivores. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 12, p. 479-485, 2009.

VAN DEN DOLL, H.; KRATZ, P. D. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **Journal of Chromatography**, v. 11, p. 463-471, 1963.

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

VEITCH, N. C. Isoflavonoids of the Leguminosae. **Natural Product Reports**, London, v. 30, n. 7, p. 988-1027, 2013.

VON POSER, G. L. A quimiotaxonomia na sistemática dos seres vivos. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. Porto Alegre: Artmed: p.23-28, 2017.

XIANGYANG, Y.; CHAOTIAN, L.; QIN, B.; BINYU, L.; DAZHONG, Y.; HUI, X. Taraxerol induces cell apoptosis through a mitochondria-mediated pathway in HeLa Cells. **Cell Journal**, v. 19, p. 512-519, 2017.

XIAO, K.; ZHANG, H. J.; XUAN, L. J.; ZHANG, J.; XU, Y. M.; BAI, D. L. Stilbenoids: chemistry and bioactivities. **Studies in Natural Products Chemistry**, v. 34, p. 453-646, 2008.

ZHANG, T.; ZHANG, Y. Z.; TAO, J. S. Antibacterial constituents from *Stemona sessilifolia*. **Journal of Asian Natural Products Research**, v. 9, p. 509–515, 2007.