



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA FUNDAMENTAL  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

SONIA PEREIRA CABRERA

**ESTUDO QUÍMICO DE FLORES VISITADAS POR ABELHAS DO SERTÃO  
PARAIBANO**

Recife  
2019

SONIA PEREIRA CABRERA

**ESTUDO QUÍMICO DE FLORES VISITADAS POR ABELHAS DO SERTÃO  
PARAIBANO**

Tese apresentada à Coordenação  
do Curso de Pós-Graduação em Química  
do Departamento de Química  
Fundamental da Universidade Federal de  
Pernambuco, como parte dos requisitos  
necessários para a obtenção do título de  
Doutor em Química.

Área de concentração: Química Orgânica

Orientadora: Dra. Tania Maria Sarmento da Silva

Recife  
2019

Catalogação na fonte  
Bibliotecária Arabelly Ascoli CRB4-2068

C117e    Cabrera, Sonia Pereira  
          Estudo químico de flores visitadas por abelhas do sertão  
          paraibano / Sonia Pereira Cabrera. – 2019.  
          194 f.: il., fig., tab.

          Orientadora: Tania Maria Sarmento da Silva  
          Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco.  
          CCEN. Química. Recife, 2019.  
          Inclui referências.

          1. Química dos produtos naturais. 2. Caatinga. 3. Flores. 4.  
          Abelhas. I. Silva, Tania Maria Sarmento da (orientadora). II.  
          Título.

540

CDD (22. ed.)

UFPE-FQ 2019-87

SONIA PEREIRA CABRERA

**ESTUDO QUÍMICO DE FLORES VISITADAS POR ABELHAS DO SERTÃO  
PARAIBANO**

Tese apresentada à Coordenação do  
Curso de Pós-Graduação em Química do  
Departamento de Química Fundamental da  
Universidade Federal de Pernambuco, como  
parte dos requisitos necessários para a  
obtenção do título de Doutor em Química

Aprovado em:11/10/2019

**BANCA EXAMINADORA**

---

**Profa. Tania Maria Sarmiento da Silva (Orientadora)**

Departamento de Química  
Universidade Federal Rural de Pernambuco

---

**Profa. Marcia Silva do Nascimento**

Departamento de Antibióticos  
Universidade Federal de Pernambuco

---

**Profa. Janaina Versiani dos Anjos**

Departamento de Química-  
Fundamental-Universidade Federal de Pernambuco

---

**Prof. Kristerson Reinaldo de Luna Freire**

Departamento de Biotecnologia-  
Universidade Federal da Paraíba

---

**Prof. Celso de Amorim Camara**

Departamento de Química  
Universidade Federal Rural de Pernambuco



Dedico este trabalho a minha filha Maribella Destrade Pereira, meu presente de Deus, por todo amor, compreensão e força para superar a distância que nos separa.

## AGRADECIMENTOS

À minha orientadora Dra. **Tania Maria Sarmento da Silva** pela oportunidade, paciência, amizade, confiança, incentivo, por todas as críticas e sugestões que contribuíram em minha formação acadêmica. Muito obrigada!

A todos os amigos do Laboratório de Bioprospecção Fitoquímica (LaBioFito), em especial a **Girliane Regina, Telma Guedes, Ayala Pereira, Amanda Bispo e Helter** pelo apoio incondicional em todos os momentos, pela amizade, carinho e contribuição de todos.

À **Universidade Federal de Pernambuco** e ao **Programa de Pós-Graduação em Química da UFPE** pela oportunidade.

À **Banca Examinadora**, por aceitar o convite.

A minha filha **Maribella Destrade Pererira** pela paciência, carinho e compreensão.

Ao meus pais **Lucrecia Cabrera e Angel**, pela educação, amor e por servir de exemplo, onde por maior que sejam as dificuldades imposta pela vida nós podemos supera-las e vence-las.

A toda minha família em especial a meus irmãos **Marbelia, Juan Enrrique** e cunhado **Carlos Cruz** pelo apoio, carinho e ajuda nessa caminhada.

À senhora Maria José sarmento da Silva e ao senhor José Francisco da Silva pelo carinho.

À Eva, Maria, Gorete, Francisco, Aldair e Neisa pelos momentos de descontração ao longo desses anos.

Ao Prof. Dr. Celso Amorin Camara pelo ensinamento transmitido

Ao **CENAPESP** pelo apoio estrutural, em especial a **Patrícia**, pela disponibilidade sempre que precisei.

Ao **CNPq** (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico), pela bolsa de estudo concedida.

Aos funcionários da secretaria do Programa de Pós-graduação em Química em especial a Patricia por ser tão atenciosa.

A todos que me ajudaram cada um do seu modo, de maneira direta ou indireta. O meu carinho e gratidão pela força e confiança. Que Deus abençoe a todos!

Obrigada.

“Quem planta flores, planta beleza e perfumes para alguns dias. Quem planta árvores, planta sombra e frutos por anos, talvez séculos. Mas quem planta ideias verdadeiras, planta para a eternidade” (THOMAZ, 2018).

## RESUMO

A região semiárida do Nordeste Brasileiro é rica em espécies vegetais endêmicas e principalmente abelhas nativas. Os insetos e as flores coevoluíram com benefícios para os dois lados. No caso das abelhas, visitantes florais especializados, essa troca é obrigatória, pois as abelhas obtêm todo o seu alimento das flores, as quais se beneficiam desta interação produzindo frutos com maior diversidade genética. O presente trabalho teve como objetivo estudar as flores visitadas por abelhas do sertão Paraibano. As flores foram extraídas com solventes orgânicos e analisadas por UPLC-DAD-ESI-TOF-MS/MS e submetidas aos testes antirradicais. O perfil químico foi obtido para as espécies vegetais: *Croton heliotropiifolius*, *C. blanchetianus*, *Aspidosperma pyrifolium* Mart, *Combretum leprosum* Mart, *Mimosa tenuiflora* (Willd) Poir, *Geoffroea spinosa* Jacq, *Boerhavia diffusa* L, *Cleome spinosa* (Jacq.) Raf. e *Jatropha mollissima* (Pohl) Baill. As frações acetato de etila de *C. heliotropiifolius* e *C. blanchetianus* e a fração alcaloidal de *A. pyrifolium* foram submetidas ao fracionamento cromatográfico para o isolamento das principais substâncias. De *C. heliotropiifolius* e *C. sonderianus* foram isolados e identificados os flavonoides rutina, hiperina, quercitrina, isoquercitrina, canferol-6"-O-*p*-coumaroil-3-O- $\beta$ -D-galactosídeo, tilirosídeo e 3'-metoxi-tilirosídeo. De *C. sonderianus* foram isolados ainda 3,7-dimetoxi-quercetina e 3,7,3'-trimetoxi-quercetina. Da fração alcaloidal das flores de *A. pyrifolium* foram isolados os alcaloides indólicos pirifolina, 15-metoxi-*N*-formilaspidofractinina (alcaloide inédito), aspidospermina e 15-metoxi-aspidospermina. As estruturas das substâncias foram estabelecidas por RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , incluindo 2D, e HR-ESI-MS. A atividade antirradicalar foi observada em todos os extratos das flores, destacando-se *C. heliotropiifolius*, *C. blanchetianus*, *B. diffusa* e *J. mollissima*. As espécies vegetais apresentaram em comum flavonoides glicosilados e todas mostraram a presença de outras substâncias que são comuns para os gêneros. Este trabalho contribui para o conhecimento da constituição química das flores visitadas por abelhas na região da Caatinga, Nordeste do Brasil.

Palavras-chave: Caatinga. Flores. Estudo químico. Abelhas.

## ABSTRACT

The semiarid region of northeastern Brazil is rich in endemic plant species and mainly native bees. Insects and flowers coevolved with benefits for both sides. In the case of bees, specialized floral visitors, this exchange is obligatory, as bees get all their food from the flowers, which benefit from this interaction producing fruits with greater genetic diversity. The present work aimed to study the flowers visited by bees in the Caatinga region. The flowers were extracted, analyzed by UPLC-DAD-ESI-TOF-MS/MS and submitted to antiradical tests. The chemical profile was obtained for the plant species: *Croton heliotropiifolius*, *Croton blanchetianus*, *Aspidosperma pyrifolium* Mart, *Combretum leprosum* Mart, *Mimosa tenuiflora* Poir, *Geoffroea spinosa* Jacq, *Boerhavia diffusa* L., *Cleome spinosa* (Jacq.) Raf. and *Jatropha mollissima* (Pohl) Baill. The ethyl acetate fractions of *C. heliotropiifolius* and *C. blanchetianus* and the alkaloid fraction of *A. pyrifolium* were submitted to chromatographic fractionation to isolate the main substances. From *C. heliotropiifolius* and *C. sonderianus* the flavonoids rutin, hyperine, quercitrin, isoquercitrin, kaemferol-6"-O-*p*-coumaroil-3-O- $\beta$ -D-galactoside, tiliroside and 3'-methoxy-tiliroside were isolated and identified. From *C. sonderianus* beyond, were isolated 3,7-dimethoxy quercetin and 3,7,3'-trimethoxy quercetin and from the alkaloid fraction of *A. pyrifolium* flowers were isolated. indolic alkaloids pyrifoline and 15-methoxy-N-formilaspidofractinine (unpublished alkaloid), aspidospermine and 15-methoxy-aspidospermine. The structures of the substances were established by  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR, including 2D, and HR-ESI-MS. Antiradical activity was observed in all flower extracts, especially *C. heliotropiifolius*, *C. blanchetianus*, *B. diffusa* *J. mollissima*. The plant species presented in common glycosylated flavonoids and all showed the presence of other substances that are common to the genera. This work contributes to the knowledge of the chemical constitution of the flowers visited by bees in the Caatinga region, northeastern Brazil.

Keywords: Caatinga. Flowers. Chemical study. Bees.

## LISTA DE FIGURAS

|            |                                                                                                                                                     |    |
|------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1–  | Mapa de Localização do domínio do bioma Caatinga na região do semiárido brasileiro                                                                  | 21 |
| Figura 2–  | <i>Croton heliotropiifolius</i> Willd                                                                                                               | 23 |
| Figura 3–  | <i>Croton blanchetianus</i> Baill                                                                                                                   | 24 |
| Figura 4–  | <i>Jatropha molissima</i> (Pohl) Baill.                                                                                                             | 25 |
| Figura 5–  | <i>Geoffroea spinosa</i> Jacq.                                                                                                                      | 27 |
| Figura 6–  | <i>Mimosa tenuiflora</i> (Willd) Poir                                                                                                               | 29 |
| Figura 7–  | <i>Boerhavia diffusa</i> L                                                                                                                          | 30 |
| Figura 8–  | <i>Combretum leprosum</i> Mart                                                                                                                      | 32 |
| Figura 9–  | <i>Cleome spinosa</i> (Jacq.) Raf                                                                                                                   | 33 |
| Figura 10– | Cromatograma (CLAE-DAD) (A) e espectros UV (254 nm) (B) dos picos correspondentes da fração <i>C. heliotropiifolius</i>                             | 42 |
| Figura 11– | Cromatograma (CLAE-DAD) (A) e espectros UV (254 nm) (B) dos picos correspondentes da fração AcOEt de <i>C. blanchetianus</i>                        | 43 |
| Figura 12– | Espectro de IV da mistura <b>V.2 (4a, 5a e 6a)</b> em pastilha de KBr                                                                               | 49 |
| Figura 13– | Espectro de RMN <sup>1</sup> H (A) e expansões (B) da mistura <b>V.2 (4a, 5a e 6a)</b> em DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> (500 MHz)                     | 49 |
| Figura 14– | Espectro de APT (A) e expansão na região 78-59 ppm (B) da mistura <b>V.2 (4a, 5a e 6a)</b> em DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> (75 MHz)                  | 50 |
| Figura 15– | Cromatograma UPLC-DAD (A) e ESI pico íon base (BPI) (B) de <b>V.2 (4a, 5a e 6a)</b> analisadas por UPLC-QTOF-MS                                     | 51 |
| Figura 16– | Espectro de íons produtos para <i>m/z</i> 463,0867 (isoquercetina) isolados no extrato acetato de etila das flores de <i>C. heliotropiifolius</i> . | 52 |
| Figura 17– | Espectro de IV da substância <b>10a</b> (quercitrina) em pastilha de KBr                                                                            | 55 |
| Figura 18– | Espectro de RMN de <sup>1</sup> H (A) e expansões (B) da substância <b>10a</b> (quercitrina) em DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> (500 MHz)               | 55 |
| Figura 19– | Espectro de APT da substância <b>10a</b> (quercitrina) em DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> (75 MHz)                                                      | 56 |
| Figura 20– | Cromatograma UPLC-DAD (320 nm) (A) e ESI pico íon base (BPI) (B) de <b>10a</b> (quercitrina) analisadas por UPLC-QTOF-MS                            | 57 |

|            |                                                                                                                                                       |    |
|------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 21– | Espectro de íons produtos para $m/z$ 447,0892 (quercitrina) isolado do extrato acetato de etila das flores de <i>C. heliotropiifolius</i>             | 57 |
| Figura 22– | Espectro de IV da mistura <b>V.4 (12a,13a e 14a)</b> em pastilha de KBr                                                                               | 63 |
| Figura 23– | Espectro de RMN <sup>1</sup> H (A) e expansão (B) na região de 9-4 ppm da mistura <b>V.4 (12a,13a e 14a)</b> em DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> (300 MHz) | 63 |
| Figura 24– | Espectro de APT(A) e expansão na região de 76-55 ppm (B) da mistura <b>V.4 (12a,13a e 14a)</b> em DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> (75 MHz)                | 64 |
| Figura 25– | Cromatograma UPLC-DAD (A) e ESI pico íon base (BPI) (B) da mistura <b>V.4 (12a,13a e 14a)</b> analisadas por UPLC-QTOF-MS                             | 65 |
| Figura 26– | Espectro de íons produtos para $m/z$ 593,1249 isolados no extrato acetato de etila das flores de <i>C. heliotropiifolius</i>                          | 66 |
| Figura 27– | Espectro de íons produtos para $m/z$ 623,1335 isolados no extrato acetato de etila das flores de <i>C. heliotropiifolius</i>                          | 66 |
| Figura 28– | Espectro de IV da substância <b>16a</b> (3,7-dimetoxiquercetina) em pastilha de KBr                                                                   | 69 |
| Figura 29– | RMN de <sup>1</sup> H da substância <b>16a</b> (3,7-dimetoxiquercetina) em DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> (300MHz).                                      | 69 |
| Figura 30– | Espectro de APT (A) e expansões (B) da substância <b>16a</b> (3,7-dimetoxiquercetina) em DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> (75 MHz)                         | 70 |
| Figura 31– | Cromatograma UPLC-DAD (320 nm) (A) e ESI pico íon base (BPI) (B) de <b>16a</b> (3,7-dimetoxiquercetina) analisadas por UPLC-QTOF-MS                   | 71 |
| Figura 32– | Espectro de íons produtos para $m/z$ 329,0610 (3,7-dimetoxiquercetina) isolado no extrato acetato de etila das flores de <i>C. blanchetianus</i>      | 71 |
| Figura 33– | Espectro de IV da substância <b>17a</b> (pachipodol) em pastilha de KBr                                                                               | 74 |
| Figura 34– | Espectro de RMN de <sup>1</sup> H (A) e expansões (B e C) da substância <b>17a</b> (pachipodol) em DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> (300 MHz)              | 74 |
| Figura 35– | Espectro de RMN APT (A) e expansões (B e C) da substância <b>17a</b> (pachipodol) em DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> (75 MHz)                             | 76 |
| Figura 36– | Cromatograma UPLC-DAD (A) e ESI pico íon base (BPI) (B) de <b>17a</b> (pachipodol) analisadas por UPLC-QTOF-MS                                        | 77 |

|            |                                                                                                                                                        |     |
|------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Figura 37– | Espectro de íons produtos para $m/z$ 343,0974 (pachipodol) isolados no extrato acetato de etila das flores de <i>C. blanchetianus</i>                  | 78  |
| Figura 38– | Cromatograma UPLC-DAD (284 nm) (A) e ESI pico íon base (BPI) (B) da fração acetato de etila de <i>C. heliotropiifolius</i> analisadas por UPLC-QTOF-MS | 83  |
| Figura 39– | Cromatograma UPLC-DAD (284 nm) (A) e ESI pico íon base (BPI) (B) da fração acetato de etila de <i>C. blanchetianus</i> analisadas por UPLC-QTOF-MS     | 84  |
| Figura 40– | Cromatograma UPLC-DAD (284 nm) (A) e ESI pico íon base (BPI) (B) da fração acetato de etila de <i>J. mollissima</i> analisadas por UPLC-QTOF-MS        | 89  |
| Figura 41– | Íons produtos propostos para a molécula desprotonada $m/z$ 633.0806 $[M-H]^-$ por ESI (-) -MS /MS                                                      | 92  |
| Figura 42– | Cromatograma UPLC-DAD (284 nm) (A) e ESI pico íon base (BPI) (B) da fração acetato de etila de <i>Geoffroea spinosa</i> analisadas por UPLC-QTOF-MS    | 95  |
| Figura 43– | Espectro de absorção UV das substâncias <b>8c-11c</b> ( $N^1, N^5, N^{10}$ -tri- <i>p</i> -coumaroilespermidina isômeros).                             | 98  |
| Figura 44– | Espectro de massas do composto <b>5a</b> (hiperina).                                                                                                   | 98  |
| Figura 45– | Espectro de massa do composto <b>6a</b> (isoquercetina).                                                                                               | 99  |
| Figura 46– | Espectro de massa do composto <b>11c</b> [ $N^1, N^5, N^{10}$ -tri- <i>p</i> -coumaroilespermidina isômero-( <i>EEE</i> )]                             | 99  |
| Figura 47– | Cromatograma UPLC-DAD (284 nm) (A) e ESI pico íon base (BPI) (B) da fração acetato de etila de <i>Mimosa tenuiflora</i> analisadas por UPLC-QTOF-MS    | 102 |
| Figura 48– | Cromatograma do íon pico base obtido por $MS^E$ (UPLC-qTOF/ $MS^E$ ) em modo negativo da fração SPE metanólica (amostra 3) do mel de abelha branca     | 103 |
| Figura 49– | Cromatograma UPLC-DAD (284 nm) (A) e ESI pico íon base (BPI) (B) da fração acetato de <i>C. spinosa</i> analisadas por UPLC-QTOF- $MS^E$               | 108 |



|            |                                                                                                                                                                                     |     |
|------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Figura 50– | Cromatograma UPLC-DAD (320 nm) (A) e ESI pico íon base (BPI) (B) da fração acetato de etila de <i>C. leprosum</i> analisadas por UPLC-QTOF-MS <sup>E</sup>                          | 112 |
| Figura 51– | Cromatograma UPLC-DAD (320 nm) (A) e ESI pico íon base (BPI) (B) da fração acetato de etila de <i>B. diffusa</i> analisadas por UPLC-QTOF-MS <sup>E</sup>                           | 117 |
| Figura 52– | Núcleo básico dos alcaloides indólicos                                                                                                                                              | 142 |
| Figura 53– | Espécie <i>Aspidosperma pyrifolium</i>                                                                                                                                              | 144 |
| Figura 54– | Alcaloides indolicos isolados das folhas, raízes e casca do caule de <i>Aspidosperma pyrifolium</i>                                                                                 | 146 |
| Figura 55– | Cromatogramas UPLC-DAD (254 nm) (A) e ESI pico íon base (BPI) (B) da fração alcaloidal obtido das flores de <i>Aspidosperma pyrifolium</i> analisadas por UPLC-QTOF-MS <sup>E</sup> | 153 |
| Figura 56– | Proposta de fragmentação MS/MS para o pico em <i>m/z</i> 383.2323, alcaloide plumerano hexacíclico pirifolina ( <b>13</b> )                                                         | 156 |
| Figura 57– | Proposta de fragmentação MS/MS para o pico em <i>m/z</i> 355.2380, alcaloide plumerano pentacíclico aspidospermina ( <b>16</b> )                                                    | 157 |
| Figura 58– | Espectro UV do composto <b>8</b> ( <i>N</i> -formil-15-metoxi-aspidofractinina)                                                                                                     | 161 |
| Figura 59– | Espectro de IV do composto <b>8</b> ( <i>N</i> -formil-15-methoxi-aspidofractinina) em pastilhas de KBr                                                                             | 161 |
| Figura 60– | Espectro de RMN de <sup>1</sup> H (A) e expansão (B) de <i>N</i> -formil-15-metoxi-aspidofractinina em CDCl <sub>3</sub> (500 MHz)                                                  | 162 |
| Figura 61– | Espectro de APT de <i>N</i> -formil-15-metoxi-aspidofractinina em CDCl <sub>3</sub> (125 MHz)                                                                                       | 163 |
| Figura 62– | Espectro de RMN 2D <sup>1</sup> H- <sup>13</sup> C-HSQC (A) e expansões (B,C,D) de <i>N</i> -formil-15-methoxi-aspidofractinina (500 MHz)                                           | 163 |
| Figura 63– | Espectro de RMN 2D <sup>1</sup> H, <sup>1</sup> H- COSY (A) e expansões (B e C) de <i>N</i> -formil-15-metoxi-aspidofractinina (500 MHz)                                            | 165 |
| Figura 64– | Espectro de RMN 2D <sup>1</sup> H- <sup>13</sup> C-HMBC (A) e expansões (B e C) de <i>N</i> -formil-15-methoxi-aspidofractinina (500 MHz)                                           | 167 |
| Figura 65– | Estruturas de <i>N</i> -formil-15-methoxi-aspidofractinina com setas duplas mostrando os acoplamentos dipolares detectados no experimento NOESY                                     | 169 |

|            |                                                                                                                                                                                                      |     |
|------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Figura 66– | Fragmentação MS/MS no modo positivo de <i>N</i> -formil-15-metoxi-aspidofractinina                                                                                                                   | 170 |
| Figura 67– | Espectro de IV do composto <b>13</b> (pirifolina) em pastilha de KBr                                                                                                                                 | 174 |
| Figura 68– | Espectro de RMN <sup>1</sup> H (A) e expansão(B) de <b>13</b> (pirifolina) em CDCl <sub>3</sub> (500 MHz)                                                                                            | 174 |
| Figura 69– | Espectro de APT de <b>13</b> (pirifolina) em CDCl <sub>3</sub> (125 MHz)                                                                                                                             | 175 |
| Figura 70– | Espectro de RMN 2D <sup>1</sup> H- <sup>13</sup> C-HSQC (A) e expansões( B e C) de <b>13</b> (pirifolina) (500 MHz)                                                                                  | 176 |
| Figura 71– | Espectro de RMN 2D <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C-HMBC (A) e expansões (B e C) de <b>13</b> (pirifolina) (500 MHz)                                                                                  | 177 |
| Figura 72– | Espectro de RMN 2D <sup>1</sup> H, <sup>1</sup> H- COSY (A) e expansões (B e C) de <b>13</b> (pirifolina) (500 MHz)                                                                                  | 179 |
| Figura 73– | Cromatograma de UPLC-MS em modo positivo de <b>13</b> (pirifolina)                                                                                                                                   | 180 |
| Figura 74– | Espectro de IV do compostos <b>16</b> (aspidospermina) e <b>17</b> (15-metoxiaspidospermina) em pastilhas de KBr                                                                                     | 184 |
| Figura 75– | Espectro de RMN <sup>1</sup> H dos compostos <b>16</b> (aspidospermina) e <b>17</b> (15-metoxiaspidospermina) em CDCl <sub>3</sub> (500 MHz)                                                         | 184 |
| Figura 76– | Espectro de RMN APT (A) e expansões correspondente às regiões entre 75-50 ppm (B) e 40-50 ppm (C) de <b>16</b> (aspidospermina) e <b>17</b> (15-metoxiaspidospermina) em CDCl <sub>3</sub> (125 MHz) | 185 |
| Figura 77– | Espectro de RMN 2D <sup>1</sup> H- <sup>13</sup> C-HSQC (A) e expansões (B e C) de <b>16</b> (aspidospermina) e <b>17</b> (15-metoxiaspidospermina) (500 MHz)                                        | 186 |
| Figura 78– | Espectro de RMN 2D <sup>1</sup> H- <sup>13</sup> C-HMBC(A) e expansão (B) de <b>16</b> (aspidospermina) e <b>17</b> (15-metoxiaspidospermina) (500 MHz)                                              | 188 |
| Figura 79– | Espectro de RMN 2D <sup>1</sup> H, <sup>1</sup> H- COSY (A) e expansões (B e C) de <b>16</b> (aspidospermina) e <b>17</b> (15-metoxiaspidospermina) (500 MHz)                                        | 189 |
| Figura 80– | Compostos isolados da fração alcaloidal das flores de <i>Aspidosperma pyrifolium</i>                                                                                                                 | 190 |

## LISTA DE ESQUEMAS

|            |                                                                                                 |     |
|------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Esquema 1– | Isolamento dos constituintes químicos da fração AcOEt das flores de <i>C. heliotropiifolius</i> | 38  |
| Esquema 2– | Isolamento dos constituintes químicos da fração AcOEt das flores de <i>C. blanchetianus</i>     | 38  |
| Esquema 3– | Marcha para extração dos alcaloides das flores de <i>A. pyriformium</i>                         | 149 |
| Esquema 4– | Isolamento das substâncias presentes na fração alcaloidal das flores de <i>A. pyriformium</i>   | 149 |

## LISTA DE TABELAS

|             |                                                                                                                                                                                                           |     |
|-------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Tabela 1–   | Espécies vegetais coletadas e número das exsicatas                                                                                                                                                        | 36  |
| Tabela 2–   | Pesos das flores frescas, extrato, rendimento, extrato utilizado para partição e frações                                                                                                                  | 37  |
| Tabela 3–   | Dados de RMN de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ -APT (500 e 75 MHz, DMSO- $d_6$ ) da substância <b>4a</b> (rutina). dados da literatura em (DMSO- $d_6$ )                                                  | 46  |
| Tabela 4–   | Dados de RMN de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ -APT (500 e 75 MHz, DMSO- $d_6$ ) da substância <b>5a</b> (3-O- $\beta$ -D-galactopiranosil quercetina ou hiperina). dados da literatura em (DMSO- $d_6$ ) | 47  |
| Tabela 5–   | Dados de RMN de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ -APT (500 e 75 MHz, DMSO- $d_6$ ) da substância <b>6a</b> (isoquercetina). dados da literatura em (DMSO- $d_6$ )                                           | 48  |
| Tabela 6–   | Dados de RMN $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ -APT (500 e 75 MHz DMSO- $d_6$ ) da substância <b>10a</b> (quercitrina). dados da literatura em (DMSO- $d_6$ )                                                | 54  |
| Tabela 7–   | Dados de RMN $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ -APT (500 e 75 MHz, DMSO- $d_6$ ) da substância <b>12a</b> (6"-O-p-hidroxycoumaroil- $\beta$ -galactopiranosil-canferol). dados da literatura em (MeOD)       | 60  |
| Tabela 8–   | Dados de RMN $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ -APT (500 e 75 MHz, DMSO- $d_6$ ) da substância <b>13a</b> (tilirosídeo). dados da literatura em (DMSO- $d_6$ )                                               | 61  |
| Tabela 9–   | Dados de RMN $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ -APT (500 e 75 MHz, DMSO- $d_6$ ) da substância <b>14a</b> (metoxi-tilirosídeo). dados da literatura em (MeOD)                                                | 62  |
| Tabela 10–  | Dados de RMN $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ -APT (500 e 75 MHz, DMSO- $d_6$ ) da substância <b>16a</b> (3,7-dimetoxiquercetina). dados da literatura em (DMSO- $d_6$ )                                    | 68  |
| Tabela 11–  | Dados de RMN $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ -APT (500 e 75 MHz, DMSO- $d_6$ ) da substância <b>17a</b> pachipodol. dados da literatura em ( $\text{CDCl}_3$ )                                             | 73  |
| Tabela 12–  | Identificação dos compostos das flores de <i>C. heliotropiifolius</i> e <i>C. blanchetianus</i> por UPLC/QTOF-MS <sup>E</sup>                                                                             | 85  |
| Tabela 13–  | Identificação dos compostos das flores de <i>J. mollissima</i> por UPLC/QTOF-MS <sup>E</sup>                                                                                                              | 90  |
| Tabelas 14– | Identificação dos compostos das flores de <i>G. spinosa</i> por UPLC-DAD-QTOF- MS <sup>E</sup>                                                                                                            | 96  |
| Tabela 15–  | Identificação dos compostos das flores de <i>M. tenuiflora</i> por UPLC-DAD-QTOF- MS <sup>E</sup>                                                                                                         | 104 |

|            |                                                                                                                                                 |     |
|------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Tabela 16– | Identificação dos compostos das flores de <i>C. spinosa</i> por UPLC-DAD-QTOF- MS <sup>E</sup>                                                  | 109 |
| Tabela 17– | Identificação dos compostos das flores de <i>C. leprosum</i> por UPLC-DAD-QTOF- MS <sup>E</sup>                                                 | 113 |
| Tabela 18– | Identificação dos compostos das flores de <i>B. diffusa</i> por UPLC-DAD-QTOF- MS <sup>E</sup>                                                  | 118 |
| Tabela 19– | Teor de fenóis totais dos extratos e frações obtido das flores de plantas da Caatinga                                                           | 119 |
| Tabela 20– | Atividade antioxidante dos extratos brutos e frações obtido das flores de plantas da Caatinga avaliada pelo método do sequestro do radical DPPH | 120 |
| Tabela 21– | Atividade antioxidante dos extratos brutos e frações obtido das flores de plantas da Caatinga avaliada pelo método do sequestro do radical ABTS | 121 |
| Tabela 22– | Identificação dos alcaloides indólicos do tipo plumeranos de flores de <i>Aspidosperma pyrifolium</i> por UPLC/QTOF-MSE                         | 154 |
| Tabela 23– | Dados de RMN <sup>1</sup> H e <sup>13</sup> C (500 e 125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de <b>8</b> (N-formil-15-metoxi-aspidofractinina)             | 160 |
| Tabela 24– | Dados de RMN de <sup>1</sup> H e <sup>13</sup> C (500 e 125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de <b>13</b> (+ pirifolina)                                | 173 |
| Tabela 25– | Dados de RMN de <sup>1</sup> H e <sup>13</sup> C (500 e 125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de <b>16</b> (aspidospermina)                              | 182 |
| Tabela 26– | Dados de RMN de <sup>1</sup> H e <sup>13</sup> C (500 e 125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de <b>17</b> (15-metoxiaspidospermina)                     | 183 |

## SUMÁRIO

|          |                                                                                                                                                               |           |
|----------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1</b> | <b>ESTUDO QUÍMICO DAS FLORES DE ESPÉCIES DA CAATINGA VISITADAS POR ABELHAS</b>                                                                                | <b>19</b> |
| 1.1      | INTRODUÇÃO                                                                                                                                                    | 19        |
| 1.1.1    | A família Euphorbiaceae                                                                                                                                       | 21        |
| 1.1.2    | A família Leguminosae (Fabaceae)                                                                                                                              | 26        |
| 1.1.3    | A família Nyctaginaceae                                                                                                                                       | 29        |
| 1.1.4    | A família Combretaceae                                                                                                                                        | 31        |
| 1.1.5    | A família Cleomaceae                                                                                                                                          | 32        |
| 1.2      | OBJETIVOS                                                                                                                                                     | 35        |
| 1.2.1    | Geral                                                                                                                                                         | 35        |
| 1.2.2    | Específicos                                                                                                                                                   | 35        |
| 1.3      | MATERIAIS E MÉTODOS                                                                                                                                           | 36        |
| 1.3.1    | Equipamentos e reagentes                                                                                                                                      | 36        |
| 1.3.2    | Obtenção e fracionamento dos extratos das flores                                                                                                              | 37        |
| 1.3.3    | Isolamento e identificação dos constituintes químicos da fração acetato de etila das flores de <i>Croton heliotropiifolius</i> e <i>Croton blanchetianus</i>  | 38        |
| 1.3.4    | Teor de fenólicos totais                                                                                                                                      | 39        |
| 1.3.5    | Avaliação do potencial antioxidante                                                                                                                           | 39        |
| 1.3.5.1  | Avaliação da atividade sequestradora do radical DPPH                                                                                                          | 39        |
| 1.3.5.2  | Avaliação da atividade sequestradora do cátion radical ABTS <sup>•+</sup>                                                                                     | 40        |
| 1.3.6    | Análises estatísticas                                                                                                                                         | 41        |
| 1.4      | RESULTADOS E DISCUSSÃO                                                                                                                                        | 42        |
| 1.4.1    | Análise por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE–DAD) das frações AcOEt das flores de <i>Croton heliotropiifolius</i> e <i>Croton blanchetianus</i> | 42        |
| 1.4.2    | Identificação estrutural das substâncias isoladas                                                                                                             | 44        |
| 1.4.2.1  | Determinação estrutural da mistura V.2 (4a, 5a e 6a), isolada da fração AcOEt das flores <i>C. heliotropiifolius</i>                                          | 44        |
| 1.4.2.2  | Determinação estrutural da substância V.3 (10a), isolada da fração AcOEt das flores de <i>C. heliotropiifolius</i>                                            | 52        |
| 1.4.2.3  | Determinação estrutural da mistura V.4 (12a,13a e 14a), isolada da fração AcOEt das flores de <i>C. heliotropiifolius</i>                                     | 58        |
| 1.4.2.4  | Determinação estrutural da substância M.3 (16a) isolada da fração AcOEt das flores de <i>C. blanchetianus</i>                                                 | 67        |
| 1.4.2.5  | Determinação estrutural da substância 17a isolada da fração AcOEt das flores de <i>C. blanchetianus</i>                                                       | 72        |
| 1.4.3    | Caraterização dos compostos por UPLC-DAD-QTOF MS                                                                                                              | 78        |

|              |                                                                                                                                                                                                                 |            |
|--------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 1.4.3.1      | Análises por UPLC-PDA-qTOF-MS/MS da fração acetato de etila das flores das espécies da família Euphorbiaceae ( <i>C. heliotropiifolius</i> , <i>C. blanchetianus</i> e <i>J. mollissima</i> )                   | 79         |
| 1.4.3.2      | Análises por UPLC-PDA-qTOF-MS/MS da fração acetato de etila das flores das espécies da família Leguminosae ( <i>G. spinosa</i> e <i>M. tenuiflora</i> )                                                         | 93         |
| 1.4.3.3      | Análises por UPLC-PDA-qTOF-MS/MS da fração acetato de etila das flores das famílias Cleomaceae ( <i>Cleome spinosa</i> ), Combretaceae ( <i>Combretum leprosum</i> ) Nyctaginaceae ( <i>Boerhavia diffusa</i> ) | 106        |
| <b>1.4.4</b> | <b>Determinação do teor de fenólicos totais</b>                                                                                                                                                                 | <b>119</b> |
| <b>1.4.5</b> | <b>Atividade antirradicalar</b>                                                                                                                                                                                 | <b>119</b> |
| 1.5          | CONCLUSÃO                                                                                                                                                                                                       | 123        |
|              | REFERÊNCIAS                                                                                                                                                                                                     | 124        |
| <b>2</b>     | <b>ALCALOIDES INDÓLICOS DO TIPO PLUMERANO IDENTIFICADOS NAS FLORES DE ASPIDOSPERMA PYRIFOLIUM MART (PEREIRO)</b>                                                                                                | <b>142</b> |
| 2.1          | INTRODUÇÃO                                                                                                                                                                                                      | 142        |
| 2.2          | OBJETIVOS                                                                                                                                                                                                       | 147        |
| <b>2.2.1</b> | <b>Geral</b>                                                                                                                                                                                                    | <b>147</b> |
| <b>2.2.2</b> | <b>Específico</b>                                                                                                                                                                                               | <b>147</b> |
| 2.3          | MATERIAIS E MÉTODOS                                                                                                                                                                                             | 148        |
| <b>2.3.1</b> | <b>Material vegetal e extração dos alcaloides</b>                                                                                                                                                               | <b>148</b> |
| 2.3.1.1      | Material vegetal                                                                                                                                                                                                | 148        |
| 2.3.1.2      | Extração dos alcaloides                                                                                                                                                                                         | 148        |
| <b>2.3.2</b> | <b>Análises por UPLC-PDA-qTOF-MS/MS</b>                                                                                                                                                                         | <b>150</b> |
| 2.4          | RESULTADOS E DISCUSSÃO                                                                                                                                                                                          | 151        |
| <b>2.4.1</b> | <b>Caracterização de compostos por UPLC-DAD-QTOF-MS/MS</b>                                                                                                                                                      | <b>151</b> |
| <b>2.4.2</b> | <b>Determinação estrutural dos compostos isolados</b>                                                                                                                                                           | <b>158</b> |
| 2.5          | CONCLUSÕES                                                                                                                                                                                                      | 191        |
|              | REFERÊNCIAS                                                                                                                                                                                                     | 192        |

## **1 ESTUDO QUÍMICO DAS FLORES DE ESPÉCIES DA CAATINGA VISITADAS POR ABELHAS**

### **1.1 INTRODUÇÃO**

As angiospermas são espécies vegetais caracterizadas pela presença das flores e surgiram na terra há mais de 120 milhões de anos. Oferecem recursos alimentares abundantes como néctar e pólen que são utilizados por visitantes florais como pássaros e insetos, sendo o néctar da flor uma fonte açucarada de alimento e os grãos de pólen utilizados como fonte de proteínas (MAIA-SILVA et al., 2012). A presença das flores indica que a planta alcançou a maturidade sexual e está apta a reprodução de novos indivíduos, atendendo a necessidade essencial para perpetuação das espécies. As plantas desenvolveram uma série de estratégias de polinização (transferência do pólen de uma antera para o estigma) que resulta em flores de cores variadas, tamanhos, formas, dentre outras características (CASTRO; CAVALCANTE, 2010).

O aroma, sabor e a coloração de substâncias presentes nas flores são utilizados para chamar a atenção de mamíferos, insetos e aves. Várias classes de substâncias podem colaborar para a coloração das flores, destacando-se as porfirinas, carotenoides e flavonoides, sendo este último um dos principais agentes cromóforos. Estes compostos são subdivididos em grupos de substâncias, cada qual apresentando colorações características (COUTO; RAMOS; CAVALHEIRO, 1998).

O Brasil tem a flora mais rica do mundo, com mais de 56.000 espécies de plantas, o que corresponde cerca de 19% da flora mundial. As angiospermas, comumente chamadas de plantas com flores, são as espécies com maior número (GIULIETTI et al., 2005) e distribuídas nos 5 biomas brasileiros (Amazônia, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica, Pampas e Pantanal). Dentre estes, o bioma Caatinga merece destaque e cobre aproximadamente 12% do território nacional, está distribuído em 844 mil km<sup>2</sup> com ocorrência exclusivamente na região Nordeste do Brasil. Ocupa os estados de Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Bahia, Sergipe, Alagoas, Maranhão e Minas Gerais (SANTOS; ANDRADE; SILVA, 2018) (Figura 1). É um bioma que apresenta uma grande variedade de espécies da fauna e flora, sendo uma boa parte destas endêmicas, considerado rico em biodiversidade (ALMEIDA et



al., 2015; DOS SANTOS et al., 2014; DRUMOND et al., 2012; LEAL; TABARELLI; SILVA, 2003).

A região Nordeste exhibe vegetação com diferenças sazonais de florescimento, uma estação chuvosa com alta diversidade de espécies floríferas, em contraste com a estação seca. Esse gradiente temporal pode favorecer, ou não, a heterogeneidade dos recursos florais explorados pelas abelhas (DOS SANTOS et al., 2014; LORENZON; MATRANGOLO; SCHOEREDER, 2003). A vegetação da Caatinga é bastante diversificada sendo representada por aproximadamente 3.150 espécies, distribuídas em 950 gêneros e tem aproximadamente 152 famílias de angiospermas. Esse bioma exclusivamente brasileiro, apresenta cerca de 1.012 espécies de angiospermas, das quais 318 foram consideradas endêmicas (RAMALHO et al., 2009). Nesse ambiente podemos encontrar várias famílias de plantas de interesse científico. As famílias mais diversas são Leguminosae e Euphorbiaceae (FERNANDES; QUEIROZ, 2018), sendo atribuídas diversas utilidades, além de apresentarem uma grande importância biológica e consideradas como plantas de grande potencial econômico com espécies que podem ser utilizadas como forrageiras, frutíferas, madeireiras, alimento para abelhas, extração de cera, látex e de uso medicinal (DE SOUZA et al., 2017).

Na Caatinga já foram registradas mais de 180 espécies de abelhas, onde as mais abundantes são as abelhas sociais nativas sem ferrão, chamadas comumente de meliponíneos, como a jandaíra (*Melipona subnitida*), jataí (*Tetragonisca angustula*), moça-branca (*Frieseomelitta doederleini*), irapuá (*Trigona spinipes*), cupira (*Partamona cupira*), mandaçaia (*Melipona quadrifasciata*), munduri (*Melipona marginata*) e a espécie introduzida *Apis mellifera*, também conhecida como abelha de mel, abelha europa ou abelha africanizada. Os meliponíneos são os principais responsáveis pela polinização de muitas espécies arbóreas da Caatinga (MAIA-SILVA et al., 2012). Algumas espécies de árvores nativas do semiárido florescem durante o período da seca e servem de alimentação para esses meliponíneos como o pereiro (*Aspidosperma pyrifolium*), feijão de boi (*Cynophalla flexuosa*), craibeira (*Tabebuia aurea*) e umbuzeiro (*Spondias tuberosa*) e existem algumas espécies que se destacam pela produção de néctar e pólen, como por exemplo o marmeleiro (*Croton sonderianus*), catingueira (*Caesalpinia pyramidalis* TUL.), maniçoba (*Manihot caerulescens* POHL.), mussambê (*Cleome spinosa*), mofumbo (*Combretum leprosum*), capa bode (*Bauhinia mollis*), dentre tantas outras (ROMERO, 2009).

Figura 1- Mapa de Localização do domínio do bioma Caatinga na região do semiárido brasileiro



Fonte:(LOIOLA; ROQUE; OLIVEIRA, 2012)

#### 1.1.1 A família Euphorbiaceae

Entre as grandes famílias que engloba as angiospermas, podemos destacar a família Euphorbiaceae que é dividida em 4 subfamílias: Phyllanthoideae, Crotonoideae, Paranteroideae e Ricinocarpoideae. Essa família apresenta mais de 300 gêneros e 8000 espécies que podem ser encontradas como árvores, arbustos, subarbustos, trepadeiras e ervas, distribuídas especialmente nos trópicos, sendo uma das maiores, mais complexa e diversificada família das Angiospermas (MAIA-SILVA et al., 2012; TRINIDADE; LAMEIRA, 2014). No Brasil ocorrem 72 gêneros e cerca de 1100 espécies, dentre esses destacam-se, seja pelo número de espécies ou pela sua utilidade, os seguintes: *Euphorbia* (2400), *Croton* (1300), *Acalypha* (400), *Macaranga* (250), *Manihot* (150), *Tragia* (150), *Jatropha* (150) (LOPES et al., 2012).

##### - O gênero *Croton*

É o segundo gênero mais abundante da família Euphorbiaceae, compreendendo cerca de 1300 espécies de arbustos, subarbustos, ervas e raramente lianas (trepadeiras), distribuídas nos trópicos e subtropicais de ambos os hemisférios

(SALATINO; SALATINO; NEGRI, 2007). Taxonomicamente este gênero é de difícil classificação devido ao seu elevado número de espécies, encontrando problemas de delimitação específica, nomenclatura e polimorfia de seus representantes (LIMA et al., 2008). Aproximadamente 400 espécies de *Croton* são encontradas no Brasil (ZEVALLOS-POLLITO; FILHO, 2007).

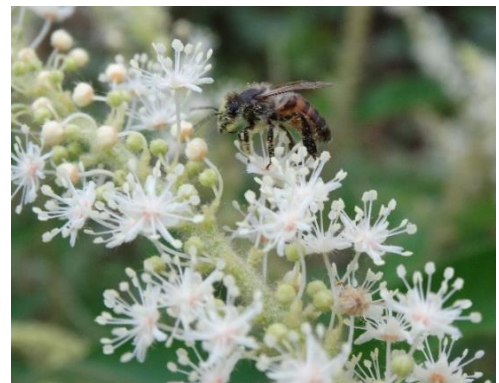
A química do gênero *Croton* é muito diversa. Os triterpenos são relatados frequentemente nesse gênero (LOPES et al., 2012). Os constituintes fenólicos, como flavonas, flavonoides glicosilados, canferol, miricetina e galocatequinas são encontrados em algumas espécies deste gênero (BARRERA; GÓMEZ; CASTIBLANCO, 2016) como nas espécies *Croton pedicellatus*, *Croton cajucara* e *Croton adenocalyx* (LIMA et al., 2010; LOPES et al., 2012; MACIEL et al., 2009).

### **A espécie *Croton heliotropiifolius* Willd**

É uma espécie endêmica do Nordeste do Brasil, popularmente conhecida como “velame”, “velaminho” ou velame-de-cheiro” (Figura 1.2). É encontrada, frequentemente na Caatinga, embora também ocorra em brejos, restingas e cerrados. É um arbusto com cerca de 0,7-2,5 m, com ramos verdes e folhas alternas. O fruto é uma cápsula com sementes de cor castanho a preto. As flores estão dispostas em inflorescências terminais. As flores são melíferas e originam um mel claro. Floresce em maio, junho, julho e novembro e frutifica em maio e junho (CASTRO; CAVALCANTE, 2010; SILVA et al., 2017).

Na medicina popular a planta é utilizada para o tratamento da tosse e gripe, dor de estômago, vômitos, diarreia com sangue, para atenuar a febre (SILVA et al., 2017), tem uso externo contra afecções da pele, úlceras e sífilis (CASTRO; CAVALCANTE, 2010).

Figura 2- *Croton heliotropiifolius* Willd



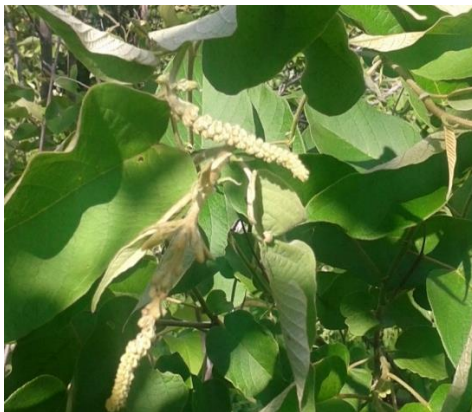
Fonte: Silva T. M S. (2018)

### A espécie *Croton blanchetianus* Baill

Espécie nativa brasileira, cresce de forma silvestre nos estados de Alagoas, Bahia, Ceará, Minas Gerais, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Rio Grande do Norte e Sergipe. Popularmente é conhecida como marmeleiro (Figura 1.3). Possui porte variável com até 6,0 m de altura, folhas simples, com aroma que lembra o óleo de pinho. As flores são pequenas, esbranquiçadas com espigas terminais. O fruto apresenta cápsula de deiscência explosiva, com sementes oleaginosas e brilhantes (ALVES et al., 2014). O marmeleiro é utilizado na medicina popular no alívio de dores estomacais e cólicas intestinais, vômito, diarreia e hemorragia uterina (ANGÉLICO et al., 2011). A casca do caule em decocção é usada contra diabetes e em banhos contra doenças venéreas (AGRA et al., 2008).

O néctar das flores do marmeleiro é responsável pela produção de mel com sabor muito apreciado e com alto valor comercial para os criadores de abelha do Nordeste, sendo considerado uma das principais fontes de néctar da Caatinga (MAIA-SILVA et al., 2012).

Figura 3- *Croton blanchetianus* Baill



Fonte: Silva T. M S. (2018)

#### - O gênero *Jatropha*

É um gênero com cerca de 175 plantas suculentas, incluindo árvores, arbustos e ervas, com distribuição nas regiões semiáridas tropicais da África e das Américas. As espécies deste gênero são conhecidas por serem muito tóxicas e pela atividade purgativa do óleo de suas sementes. O gênero *Jatropha* é um grupo de grande importância econômica, principalmente pela presença de várias espécies referidas por suas propriedades medicinais, como cicatrizante, purgante, analgésico, antitussígeno, antimicrobiano e anticoagulante e ainda são utilizadas como espécies ornamentais, também como cercas-vivas em várias partes do mundo (SILVA et al., 2013b).



### A espécie *Jatropha mollissima* (Pohl) Baill

A espécie *Jatropha mollissima* conhecida popularmente como Pinhão-de-purga ou pião (Figura 1.4) é encontrada na Caatinga sendo endêmica deste bioma. É um arbusto com látex avermelhado de 2,0 a 3,0 m de altura, de caule ereto, liso, pouco ramificado, com casca verde-cúprea, de cor cinza-acastanhada quando seca. Possui folhas alternas, as flores podem variar a coloração que vai do vermelho ao laranja/salmão, até o branco-avermelhado. Seu fruto é em forma de cápsulas verdes, contendo 3 sementes castanho-escuro-avermelhadas. O látex “*in natura*” é empregado na medicina popular como antiofídico (LEAL; AGRA, 2005).

Figura 4- *Jatropha mollissima* (Pohl) Baill



**Fonte:** Silva T. M S. (2018)

O óleo extraído da semente tem uso veterinário, como purgante (LEAL; AGRA, 2005). Alguns estudos realizados demonstraram que esta espécie apresenta efeito

antibacteriano, hipotensor e estimulante dos músculos lisos do intestino e do útero (RIBEIRO et al., 2014) e atividade antioxidante (MELO et al., 2010).

### 1.1.2 A família Leguminosae (Fabaceae)

É a terceira maior família das Angiospermas, incluem cerca de 751 gêneros e 19.000 espécies conhecidas (7% das angiospermas) sendo os 5 maiores gêneros: *Astragalus* (mais de 3.000 espécies), *Acacia* (mais de 1000 espécies), *Indigofera* (cerca de 700 espécies), *Crotalaria* (cerca de 700 espécies) e *Mimosa* (cerca de 500 espécies) (AMORIM et al., 2016; MELLO; DUARTES; NETO, 2015). Ela é dividida em 6 subfamílias com características morfológicas muito distintas: Durpaquetioideae, Cercidoideae, Detarioidea, Caesalpinioideae, Dialioideae e Papilionoideae (LPWG, 2017).

As leguminosas ocorrem em quase todas as regiões do mundo, exceto nas regiões árticas e antárticas e em algumas ilhas. No Brasil é a família mais bem representada com 2.807 espécies agrupadas em 222 gêneros (15 endêmicos) abundantes em quase todos os biomas e ecossistemas do país (AMORIM et al., 2016; SARTORI et al., 2018). Na região Nordeste ocorrem 168 gêneros e 1.083. espécies. Na vegetação de Caatinga foram registrados 127 gêneros e 593 espécies, das quais 149 são endêmicas (FERREIRA; TROVÃO; MELO, 2015).

A subfamília Papilionoideae. está representada por 503 gêneros e 14000 espécies (LPWG, 2017). No Brasil são 88 gêneros e 180 espécies nativas (DUTRA; GARCIA; LIMA, 2009), dentre estes encontra-se o gênero *Geoffroea*.

#### -O gênero *Geoffroea* spp.

É um gênero pequeno, composto por apenas cinco espécies (*Geoffroea decorticans* (Hook. & Arn.) Burkart, *Geoffroea horsfieldii* (Lesch.) Oken, *Geoffroea jamaicensis* (W. Wright) Urb., *Geoffroea spinosa* Jacq. e *Geoffroea violacea* (Aubl.) Pers.) (GEOFFROEA -THE PLANT LIST, [s.d.]). É um gênero não endêmico, encontra-se distribuído no Nordeste e Centro Oeste do Brasil (FABACEAE IN FLORA DO BRASIL 2020).

### **A espécie *Geoffroea spinosa* Jacq**

*Geoffroea spinosa* é distribuída pela América do Sul. No Brasil é conhecido como “umari” ou “marizeira” (Figura I.5), e é encontrado no Nordeste e Centro-Oeste do Brasil, freqüentemente em solo alagado ou próximo à água (IRELAND; PENNINGTON, 1999). As flores de *G. spinosa* são amplamente visitadas pelas abelhas, especialmente as nativas.

Figura 5- *Geoffroea spinosa* Jacq



**Fonte:** Silva T. M S. (2018)

O chá das folhas da *G. spinosa* é usado pela população sertaneja como antidiarreico e também é usado no controle hormonal. Os frutos são ingeridos cozidos ou em forma de mingau, por ocasião da seca serve de alimento para população do sertão. Os nativos têm o hábito de agregá-lo a sua alimentação. Na ornamentação urbana encanta pelas suas flores pequenas e amareladas com um odor intenso. A madeira serve para lenha, carvão e também para fabricação de móveis por ser pesada e bastante resistente (CAETANO et al., 2012; SOUZA et al., 2011).

A subfamília Caesalpinioideae é constituída por 148 gêneros e aproximadamente 4400 espécies, distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais. Predominam árvores e arbustos, raramente ervas, as folhas são pinadas ou bipinadas



e suas flores são grandes (LPWG, 2017). Dentre desses é encontrado o gênero *Mimosa*.

### **- O gênero *Mimosa***

O gênero distribui-se na região Neotropical, com cerca de 500 táxons endêmicos dos neotrópicos e 40 espécies são nativas do Velho Mundo (SIMON et al., 2011). As espécies podem ser encontradas em Savanas, Campos e caatingas. No Brasil está representado por cerca de 320 espécies das quais 38 ocorrem na Caatinga (DOURADO; CONCEIÇÃO; SANTOS-SILVA, 2014), sendo a maioria endêmica (68%) (LIMA; SILVA; SANTOS, 2008). Entre as espécies do gênero que ocorrem na Caatinga, está a *Mimosa tenuiflora* (WILLD.) POIR.

### **A espécie *Mimosa tenuiflora* (Willd) Poir**

Conhecida popularmente como jurema-preta (Figura 1.6), ocorre desde a Caatinga até o Cerrado. É uma árvore de 5-7 m de altura com caule ereto ou levemente inclinado, casca de cor castanha muito escura, às vezes acinzentada. Ramificação abundante de cor castanho-avermelhados, folhas compostas. O fruto é uma vagem pequena, 2,5 a 5 cm de comprimento, casca muito fina e quebradiça quando maduro. Contém de 4-6 sementes pequenas de cor castanho-claro. Flores muito pequenas, dispostas em espigas isoladas, de cor brancas e suavemente perfumadas que fornecem recursos florais, pólen e néctar, para muitas espécies de abelhas, vespas, moscas e outros insetos (COSTA et al., 2002; MAIA-SILVA et al., 2012). É utilizada para a produção estacas, peças de resistência e móveis rústicos. Fornece também lenha e carvão de alto poder de combustão. Na medicina popular, a casca da planta é utilizada em tratamentos de queimaduras, acne e defeitos da pele, devido ao seu valor antimicrobiano, analgésico e regenerador de células. Funciona ainda como febrífugo e adstringente peitoral. O extrato de raízes é atribuído propriedades como o fortalecimento do couro cabeludo e rejuvenescimento da pele (BEZERRA et al., 2009). As cascas do caule e folhas em decocção são utilizadas contra bronquite, tosse e úlceras externas (AGRA et al., 2008). Na medicina veterinária é utilizada como cicatrizante e para lavagens contra parasitas, mas o consumo excessivo das folhas pode causar cegueira noturna aos animais. Na manutenção da biodiversidade e funcionamento do ecossistema é doadora de pólen

e néctar, recursos florais explorados por muitas abelhas e insetos da Caatinga. Apresenta valor forrageiro (BEZERRA et al., 2009).

Figura 6- *Mimosa tenuiflora* (Willd) Poir



Fonte: Silva T. M S. (2018)

### 1.1.3 A família Nyctaginaceae

Possui uma distribuição pantropical, ocorrendo em todos os trópicos do globo e provavelmente presente em todo o México, América Central, América do Sul, Antilhas e partes mais quentes do Velho Mundo, pertence à ordem de plantas angiospérmicas Caryophyllales. Contém 37 gêneros e cerca de 400 espécies que incluem ervas, árvores, arbustos com flores vistosas de grande potencial ornamental e medicinal, destacando-se os gêneros *Boerhaavia*, *Bougainvillea* e *Mirabilis*. No Brasil, ocorrem aproximadamente 11 gêneros e cerca de 48 espécies (MARCHIORETTO et al., 2011).

### A espécie *Boerhavia diffusa* L

Conhecida como pega-pinto (Figura 1.8) e pertence ao gênero *Boerhavia*. Inclui aproximadamente 50 espécies vegetais. É nativa do Brasil e apresenta distribuição pantropical, sendo encontrada nas Américas Central e do Sul. No Brasil, ocorre na Amazônia, região Sul e Nordeste. Apresenta distribuição desde Amazonas até São Paulo e Minas Gerais. Trata-se de uma herbácea bienal ou perene, suculenta, medindo de 50 cm a 1,0 m de altura, com muitos ramos vegetativos rasteiros e poucos ramos eretos de onde partem folhas pequenas de coloração verde claro na face inferior. Flores pequenas de coloração esbranquiçadas ou vermelhas, dispostas bem acima da folhagem (KUMAR et al., 2018; MARCHIORETTO; LIPPERT; SILVA, 2011).

*Boerhavia diffusa* apresenta atividade antibacteriana, principalmente contra bactérias Gram-negativas. É utilizada como antiespasmódica, contra acidentes epilépticos, para a histeria e como expectorantes. Essa espécie possui propriedades estomáquicas, diuréticas, estimula a função do coração e rins, específica para diabetes, é rejuvenescedora, usada contra dores abdominais, otite e tratamento de doenças renais (KUMAR et al., 2018; THIRUNAVOUKKARASU, 2016). No Brasil, principalmente a raiz é usada em problemas da vesícula biliar, gonorréia, hepatite, hipertensão, distúrbios renais, distúrbios hepáticos e mordida de cobra, a infusão das folhas para expulsão de vermes (lombrigas).

Figura 7- *Boerhavia diffusa* L



Fonte: Silva T. M S. (2018)

#### 1.1.4 A família Combretaceae

Pertencente à ordem Myrtales que inclui 20 gêneros e cerca de 600 espécies. No Brasil, encontram-se 5 gêneros, dentre estes *Combretum* e *Terminalia*, 64 espécies sendo 13 endêmicas, 2 subespécies e 2 variedades. Distribuem-se em regiões tropicais e subtropicais. No Brasil, distribuem-se por todas as regiões, sendo a Norte e Nordeste as que apresentam as maiores concentrações, respectivamente (LOIOLA et al., 2009).

##### **A espécie *Combretum leprosum* Mart**

*Combretum leprosum*, conhecida popularmente como mofumbo (Figura 1.9). Ocorre nos biomas da Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica e Amazônia (LOIOLA et al., 2009). O tronco a 60 cm de diâmetro e sua copa é globosa. Na Caatinga e no Cerrado seco, seu tamanho é tão pequeno quanto um arbusto pode alcançar cerca de 5 metros de altura (PAULINO et al., 2013). As inflorescências são grandes, compostas por muitas flores amareladas, pequenas e muito perfumadas dispostos em racemos. O fruto é de cor amarelada, chegando a marrom quando secos, possuindo uma só semente por fruto e folhas simples (PAULINO et al., 2013).

O mofumbo é uma espécie muito resistente e de crescimento rápido. Recomenda-se o seu uso em programas de recomposição de áreas degradadas e também em arborização paisagística. Além disso, suas flores são bastante perfumadas e produzem bastante néctar, o principal recurso coletado pelas abelhas nativas e outros insetos como borboletas, mariposas e vespas (HORINOUCI et al., 2013).

Várias partes desta planta, como as folhas e as flores, são usadas na medicina popular como agente de cura, para a prevenção de erupções cutâneas e para limpeza de feridas (HORINOUCI et al., 2013). As raízes em forma de infuso, decocto ou o xarope são usadas para tosses e coqueluches, as sementes em forma de chá como anti-hemorragico e contra retenção de placenta, as cascas em infusão são usadas como hemostáticas, sudoríficas e calmantes, os frutos são antiasmáticas (PASSARINI et al., 2017). Além disso, a planta também é usada para contenção de hemorragias e como sedativo, antidiarreico, expectorante e antitusivo também é popularmente usado como uma planta medicinal para tratar problemas de pele. As populações locais na



região Nordeste do Brasil usam algumas de suas partes como expectorantes para tratar a tosse e parar o sangramento (PASSARINI et al., 2017).

Figura 8- *Combretum leprosum* Mart



Fonte: **Fonte:** Silva T. M S e autor (2018)

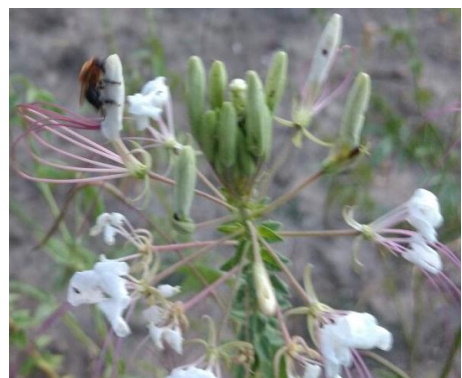
#### 1.1.5 A família Cleomaceae

Atualmente é composta por 18 gêneros e 350 espécies. Seus representantes apresentam distribuição pantropical, ocorrendo com mais frequência nas regiões tropicais e subtropicais dos neotrópicos. No Brasil, a família está representada por oito gêneros e 29 espécies ocorrendo em todo território brasileiro (MOREIRA; BRAGAÇA, 2011). O gênero *Cleome* possui aproximadamente 200 espécies, distribuídas por regiões tropicais e subtropicais, ocorrendo por todo o Brasil e sendo menos frequente em regiões temperadas (AKEMI-BORGES; PIRANI, 2017).

### A espécie *Cleome spinosa* (Jacq.) Raf

Conhecido popularmente como Mussambê (Figura I.9) é um subarbusto perene de 0,50 a 1,5 m. Folhas alternas e compostas, inflorescência em corimbo terminal, fruto seco do tipo siliqua, flores de coloração branca, com estames de filetes róseos. Apresenta caule cilíndrico, verde, bastante ramificado, (NETO, 2017). Ocorre principalmente em áreas inundadas com solos arenosos, está presente no bioma Caatinga. As flores apresentam grande produção de néctar e muitas espécies de abelhas nativas visitam suas flores como, por exemplo, a abelha jandaíra (*Melipona subnitida*) e também as abelhas do gênero *Bombus* (mamangavas-de-chão) (MAIA-SILVA et al., 2012). É utilizado na medicina alternativa como tônico digestivo e dor de cabeça, a raiz no tratamento de doenças respiratórias como asma, bronquite, tosse e também em otite supurada (MOREIRA; BRAGAÇA, 2011).

Figura 9- *Cleome spinosa* (Jacq.) Raf



Fonte: Silva T. M S. (2018)

A escolha destas espécies foi feita pela ampla ocorrência no bioma Caatinga, e também porque são flores visitadas por abelhas principalmente nativas. Todas são espécies bastante conhecidas e difundidas no Brasil e, sobretudo, no Nordeste brasileiro. As espécies *C. heliotropiifolius* e *C. blanchetianus* foram escolhidas para o isolamento das substâncias principais já que são espécies endêmicas, os dados foram comparados entre espécies da mesma família. Os estudos químicos das flores de 7 destas espécies estão sendo realizados pela primeira vez. Para a espécie *C. leprosum* existem estudos do extrato etanólico obtido das flores (FACUNDO et al., 2008; VIAU et al., 2014), mas não foram encontrados estudos com a fração acetato de etila. Os poucos relatos na literatura de estudo de flores de plantas, impulsionou a investigação da composição química. Este trabalho visa contribuir com o estudo químico dessa espécie através do isolamento e identificação dos constituintes por meio de técnicas cromatográficas e espectroscópicas, bem como avaliar o potencial antioxidante, uma vez que as espécies vegetais descritas neste trabalho, apresentam grande importância para a flora melífera do Sertão Paraibano.

## 1.2 OBJETIVOS

### 1.2.1 Geral

Analisar o perfil químico das flores das espécies: *Combretum leprosum* Mart, *Mimosa tenuiflora* (Willd) Poir, *Boerhavia diffusa* L, *Croton heliotropiifolius* Kunth, *Croton blanchetianus* Baill, *Jatropha mollissima* (Pohl) Baill, *Geoffroea spinosa* Jacq e *Cleome spinosa* (Jacq) Raf., visitadas por abelhas coletadas no Sertão Paraibano.

### 1.2.2. Específicos

- Obter os extratos e frações das flores das plantas em estudo;
- Isolar os principais constituintes químicos das flores de *Croton heliotropiifolius* (velame) e *Croton blanchetianus* (marmeleiro) por cromatografia clássica e moderna (CLAE-DAD) e identificar os compostos isolados por métodos espectroscópicos (Infravermelho e Ressonância Magnética Nuclear de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ );
- Analisar por CLAE-DAD-qTOF-MS/MS as frações acetato de etila das flores de *Combretum leprosum*, *Mimosa tenuiflora*, *Boerhavia diffusa*, *Croton heliotropiifolius*, *Croton blanchetianus*, *Jatropha mollissima*, *Geoffroea spinosa* e *Cleome spinosa*
- Determinar o teor de fenólicos totais e avaliar o potencial antioxidante dos extratos e frações obtidos das flores.



### 1.3 MATERIAIS E MÉTODOS

As amostras das flores de oito espécies vegetais foram coletadas no Sítio Riacho, município de Vieiraópolis, Paraíba nos anos de 2016 e 2017. Uma exsiccata de cada uma das espécies encontra-se depositada no Herbário Vasconcelos Sobrinho, Universidade Federal Rural de Pernambuco (Tabela 1.1). As espécies foram cadastradas no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético (SisGen) com número A0492CA.

Tabela 1- Espécies vegetais coletadas e número das exsicatas

| Número da exsiccata | Família        | Nome científico                 | Nome popular |
|---------------------|----------------|---------------------------------|--------------|
| 54001               | Euphorbiaceae. | <i>Croton heliotropiifolius</i> | Velame       |
| 53997               | Euphorbiaceae. | <i>Croton blanchetianus</i>     | Marmeleiro   |
| 53999               | Euphorbiaceae  | <i>Jatropha mollissima</i>      | Pião         |
| 54002               | Leguminosae    | <i>Geoffroea spinosa</i>        | Marizeira    |
| 53530               | Leguminosae    | <i>Mimosa tenuiflora</i>        | Jurema preta |
| 53998               | Cleomaceae     | <i>Cleome spinosa</i>           | Mussambê     |
| 53528               | Combretaceae   | <i>Combretum leprosum</i>       | Mofumbo      |
| 54000               | Nyctaginaceae  | <i>Boerhavia diffusa</i>        | Pega-pinto   |

Fonte: A autora (2019)

#### 1.3.1 Equipamentos e reagentes

Os espectros de infravermelho foram registrados em pastilhas de KBr usando um espectrofotômetro Varian 640 FTIR (Varian, Palo Alto, CA, EUA) com um acessório PIKE ATR operando na faixa de 4000-400  $\text{cm}^{-1}$ . Os espectros de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  foram obtidos usando um espectrometro Bruker DPX300 (300 MHz para  $^1\text{H}$  e 75 MHz para  $^{13}\text{C}$ ) em DMSO- $d_6$ . O UPLC-ESI-qTOF-MS/MS foi obtido no modo negativo de ionização, utilizando-se um cromatógrafo líquido de ultra eficiência ACQUITY UPLC H-Class (Waters Corporation, Milford, MA, EUA) acoplado a um espectrômetro de massas XEVO-G2XSQTOF (Waters, Manchester, UK) com ionização por eletrospray (ESI) no modo negativo. O detector analítico foi um Waters Acquity PDA, ajustado para uma faixa de comprimento de onda de 200-800 nm. A separação cromatográfica dos compostos foi realizada utilizando uma coluna Acquity BEH C18 (50 mm x 2,1 mm i.d., tamanho de partícula 1,7  $\mu\text{m}$ ) (Waters, Milford, MA, EUA). A temperatura da coluna foi mantida a 40 °C. As fases móveis consistiam em água com ácido fórmico a 0,1% (solvente A) e acetonitrila com ácido fórmico a 0,1% (solvente

B) foram bombeadas a uma fluxo de 0,4 mL.min<sup>-1</sup>. O programa de eluição com gradiente foi o seguinte: 0-5 min, 5-10% B; 5-9 min, 10-95% B. Para o isolamento dos compostos foi usado o Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência (CLAE-DAD) Shimadzu Prominence modelo CMB-20A (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japão) equipado com um detector UV-Vis (SPD-20A), forno de coluna (CTO-20A), bomba de solvente (LC-20AD) e coluna Luna Phenomenex C-18 (250 mm x 21,2 mm x 4 µm) com uma fluxo de 16 mL.min<sup>-1</sup>. Os solventes H<sub>2</sub>O Mili-Q (A) e metanol: acetonitrila grau HPLC (1: 1, B) foram utilizados como fases móveis nos seguintes gradientes de eluição: 1-10 min, 50-100%; B 10-25 min, 100% B. Foram usados filtros 0,45 µm de diâmetro (Supelco) para filtração das amostras e dos solventes. Para a realização dos testes antioxidantes e teor de fenólicos totais foram utilizados os reagentes Sigma-Aldrich: DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila), Trolox (6-hidroxi- 2, 5, 7, 8-tetrametilcromano-2-ácido carboxílico 97%), Folin-Ciocalteu e Merck: ABTS [2,2'-azinobis- (ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico)]

### 1.3.2 Obtenção e fracionamento dos extratos das flores

As flores frescas foram maceradas e submetidas a extração com etanol em banho de ultrassom. As soluções extrativas obtidas foram filtradas e concentradas em rotaevaporador sob pressão reduzida à temperatura de 40 °C. Parte dos extratos etanólicos de cada espécie foi dissolvido em uma mistura de MeOH/H<sub>2</sub>O (1:1) e posteriormente fracionado usando n-hexano (3 x 100 mL) e acetato de etila (3 x 100 mL). As fases obtidas foram concentradas em rotaevaporador, obtendo-se as frações hexânica, acetato de etila e MeOH/H<sub>2</sub>O (Tabela 2).

Tabela 2- Pesos das flores frescas, extrato, rendimento, extrato utilizado para partição e frações

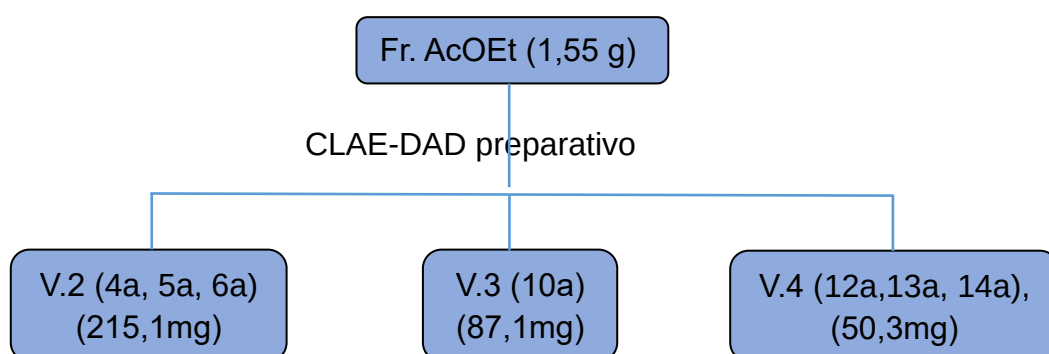
| Espécie                     | Flores (g) | Ext. EtOH (g) | Rto % | Ext. EtOH (Part.g) | Fr. Hex (g) | Fr. AcOEt (g) | Fr. MeOH/H <sub>2</sub> O (g) |
|-----------------------------|------------|---------------|-------|--------------------|-------------|---------------|-------------------------------|
| <i>C. heliotropiifolius</i> | 265,0      | 10,85         | 4,08  | 5,25               | 0,82        | 2,06          | 1,69                          |
| <i>C. blanchetianus</i>     | 260,0      | 12,08         | 4,64  | 5,03               | 1,28        | 1,27          | 1,98                          |
| <i>J. mollissima</i>        | 320,0      | 18,14         | 5,66  | 5,00               | 0,25        | 1,35          | 0,27                          |
| <i>G. spinosa</i>           | 300,0      | 17,31         | 5,77  | 5,01               | 0,51        | 0,50          | 0,43                          |
| <i>M. tenuiflora</i>        | 89,0       | 5,89          | 6,61  | 3,07               | 0,72        | 1,48          | 0,79                          |
| <i>C. spinosa</i>           | 90,0       | 4,06          | 4,61  | 2,68               | 0,21        | 0,91          | 1,55                          |
| <i>C. leprosum</i>          | 279,0      | 33,80         | 12,11 | 5,03               | 0,32        | 3,89          | 0,80                          |
| <i>B. diffusa</i>           | 195,0      | 9,60          | 4,92  | 5,00               | 0,56        | 0,92          | 0,39                          |

**Fonte:** A autora (2019) -Ext: extrato; Rto: rendimento; Part: partição; Fr: fração.

### 1.3.3 Isolamento e identificação dos constituintes químicos da fração acetato de etila das flores de *Croton heliotropiifolius* e *Croton blanchetianus*

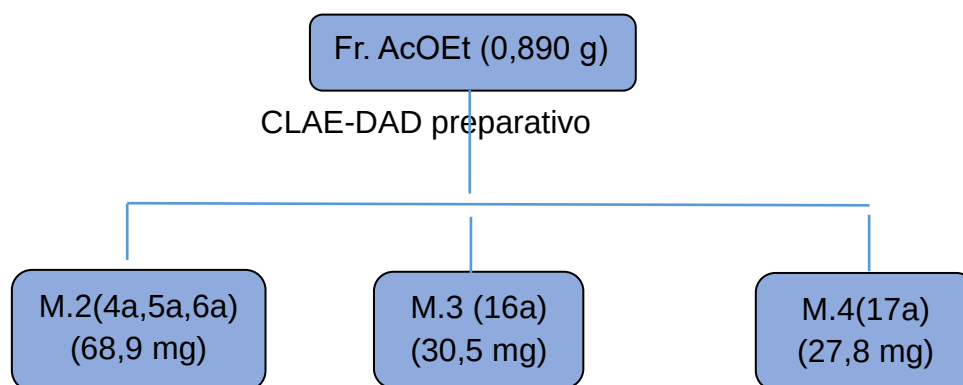
O isolamento dos compostos da fração acetato de etila das flores de *C. heliotropiifolius* (1,55 g) e *C. blanchetianus* (0,89 g) foi realizado em CLAE-DAD semipreparativo. Após a coleta dos picos o solvente foi evaporado com o auxílio de rotaevaporador (Esquemas 1 e 2), (4a,5a,6a,10a,12a,13a,14a,16a e 17a, são os números dessas substâncias no cromatograma de massas).

Esquema 1- Isolamento dos constituintes químicos da fração AcOEt das flores de *C. heliotropiifolius*



**Fonte:** A autora (2019)

Esquema 2- Isolamento dos constituintes químicos fração AcOEt das flores de *C. blanchetianus*



**Fonte:** A autora (2019)

As estruturas dos compostos isolados denominados **V<sub>2</sub> (4a, 5a e 6a)**, **V<sub>3</sub> (10a)**, **V<sub>4</sub> (12a,13a e 14a)**, **M<sub>2</sub>**, **M<sub>3</sub> (16a)** e **M<sub>4</sub> (17a)**, foram estabelecidas com base nos dados obtidos por espectroscopia de RMN de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C em modo APT, análises de MS e MS/MS de alta resolução e comparação com dados da literatura. As substâncias

presentes na fração AcOEt de todas as espécies em estudos foram tentativamente identificadas utilizando a análise por UPLC-PAD-TOF-MS.

#### **1.3.4 Teor de fenólicos totais**

O teor de fenólicos totais do extrato bruto e das frações hexânica, AcOEt e MeOH:H<sub>2</sub>O de cada uma das amostras das flores foi determinado pelo método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu (SINGLETON et al.,1999; SLINKARD et al., 1977) com modificações, empregando-se o ácido gálico como composto fenólico padrão. Inicialmente o extrato foi solubilizado em EtOH com concentração final de 5,0 mg/mL. Uma alíquota de 10 µL da solução do extrato foi transferida para um Eppendorf, adicionando-se 10 µL do reagente de Folin-Ciocalteu e 450 µL de água destilada, agitando-se por 1 min. Em seguida, 30 µL de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (15%) foram acrescentados a mistura e agitados por 30 segundos, resultando na concentração final de 100 µg/mL. Após duas horas, a absorbância de cada amostra foi medida em espectrofotômetro de Elisa UV-Vis em 760 nm, empregando-se placas de 96 poços. As análises foram realizadas em triplicata e o teor de fenólicos totais (FT) foi determinado por interpolação da absorbância das amostras contra uma curva de calibração construída com soluções do padrão do ácido gálico em várias concentrações (1 a 12,5 µg/mL) e expressos como miligrama equivalente ao ácido gálico por grama de extrato (mg EAG/g), considerando-se o erro padrão da média (E. P. M.). A equação da curva de calibração do ácido gálico foi:  $y = 0,0659x + 0,2086$ , com o coeficiente de correlação de  $R^2 = 0,9551$ , onde x é a concentração do ácido gálico e Y é a absorbância a 760 nm.

#### **1.3.5 Avaliação do potencial antioxidante**

##### **1.3.5.1 Avaliação da atividade sequestradora do radical DPPH**

A atividade foi realizada seguindo-se a metodologia descrita por (SILVA et al., 2006a). A solução estoque foi preparada nas concentrações de 0,1; 0,5; 1,0 e 5,0 mg/mL. Através de análise preliminar quantidades apropriadas das soluções estoque e da solução de DPPH (23,6 µg/mL em EtOH) foram transferidas para eppendorfs de 0,5 mL e o volume foi completado para 500 µL com EtOH. Cada concentração foi

analisada em triplicata. Após 30 minutos de agitação em aparelho de ultrassom a quantidade de radicais DPPH foi registrada em aparelho UV-Visível no comprimento de onda de 517 nm, utilizando-se placas de 96 poços. Foi utilizado como controle positivo o ácido ascórbico.

A percentagem de atividade sequestradora (% AS) foi calculada pela equação:

$$\% \text{ AS} = \frac{100 \times (\text{Abs}_{\text{controle}} - \text{Abs}_{\text{amostra}})}{\text{Abs}_{\text{controle}}}$$

Onde  $\text{Abs}_{\text{controle}}$  é a absorbância do controle, contendo apenas a solução do radical DPPH em EtOH e  $\text{Abs}_{\text{amostra}}$  é a absorbância do radical na presença da amostra ou do controle positivo. A eficiência antirradicalar foi estabelecida utilizando a análise de regressão linear no intervalo de confiança de 95% ( $p < 0,05$ ) obtido pelo programa estatístico GraphPad Prism 5.0 (DEMO). Os resultados foram expressos através da concentração da amostra necessária para obter metade da atividade sequestradora dos radicais DPPH mais ou menos o erro padrão médio ( $\text{CE}_{50} \pm \text{E.P.M.}$ ).

#### 1.3.5.2 Avaliação da atividade sequestradora do cátion radical ABTS<sup>•+</sup>

A análise foi realizada de acordo com a metodologia de RE et al., (1999). A solução do cátion radical ABTS<sup>•+</sup> foi preparada pela mistura de uma solução de ABTS (7,0 mM) com uma solução de persulfato de potássio (140,0 mM), ambas em água destilada. A solução foi mantida sob abrigo da luz à temperatura ambiente durante um período de 14 horas antes do uso. Em seguida a solução do radical ABTS<sup>•+</sup> foi diluída com etanol (1:100 v/v, aproximadamente) até uma absorbância (A) de  $0,7 \pm 0,05$  no comprimento de onda de 734 nm, em UV-Visível, a uma temperatura de 30 °C. As soluções estoque dos extratos e frações das amostras das flores foram preparadas em EtOH nas concentrações 0,1; 0,5; 1,0 e 5 mg/mL. Através de triagem preliminar quantidades apropriadas das soluções das amostras das flores e da solução de ABTS<sup>•+</sup> foram transferidas para Eppendorfs de 0,5 mL e o volume foi completado para 500 µL com EtOH. As concentrações finais variaram de 1,0 a 150,0 µg/mL. O trolox, um análogo da vitamina E, solúvel em água, foi utilizado como composto padrão. Cada concentração foi testada em triplicata. As soluções foram agitadas e, após 6 minutos

de reação, a absorbância das amostras e do padrão foram medidas em um espectrofotômetro de UV-visível em comprimento de onda de 734 nm. A percentagem de atividade sequestradora (% AS) foi calculada pela equação:

$$\% \text{ AS} = \frac{100 \times (\text{Abs}_{\text{controle}} - \text{Abs}_{\text{amostra}})}{\text{Abs}_{\text{controle}}}$$

Onde  $\text{Abs}_{\text{controle}}$  é a absorbância do controle, contendo apenas a solução alcoólica do radical  $\text{ABTS}^{\cdot+}$ , e  $\text{Abs}_{\text{amostra}}$  é a absorbância do radical na presença resina ou do padrão. A eficiência antirradicalar foi estabelecida utilizando a análise de regressão linear no intervalo de confiança de 95% ( $p < 0,05$ ) obtido pelo programa estatístico GraphPad Prism 5.0 (DEMO). Os resultados foram expressos através da  $\text{CE50} \pm \text{E.P.M.}$

### 1.3.6 Análises estatísticas

Todas as amostras foram analisadas em triplicata e os dados foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão da média. As amostras foram submetidas a análises de variância (ANOVA), as diferenças com  $p < 0.05$  foram consideradas significantes.

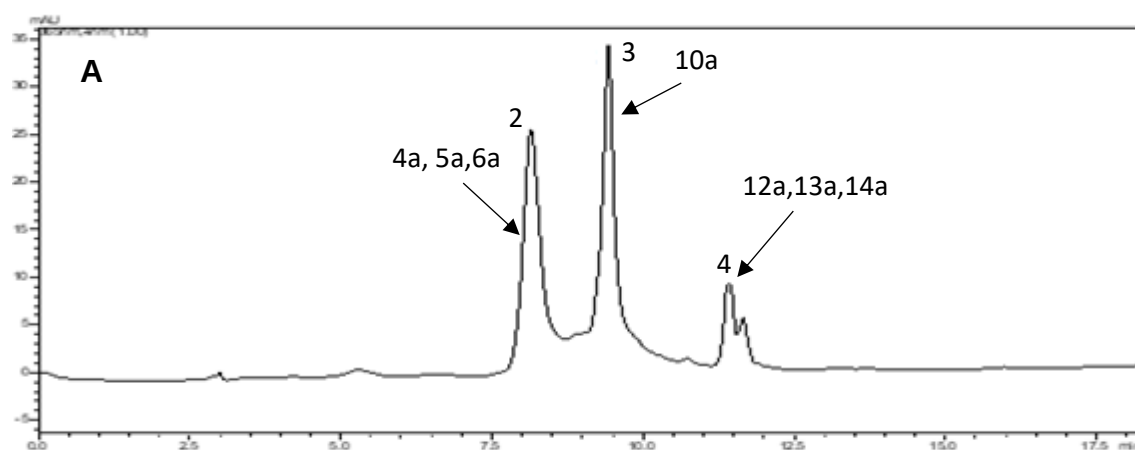
## 1.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

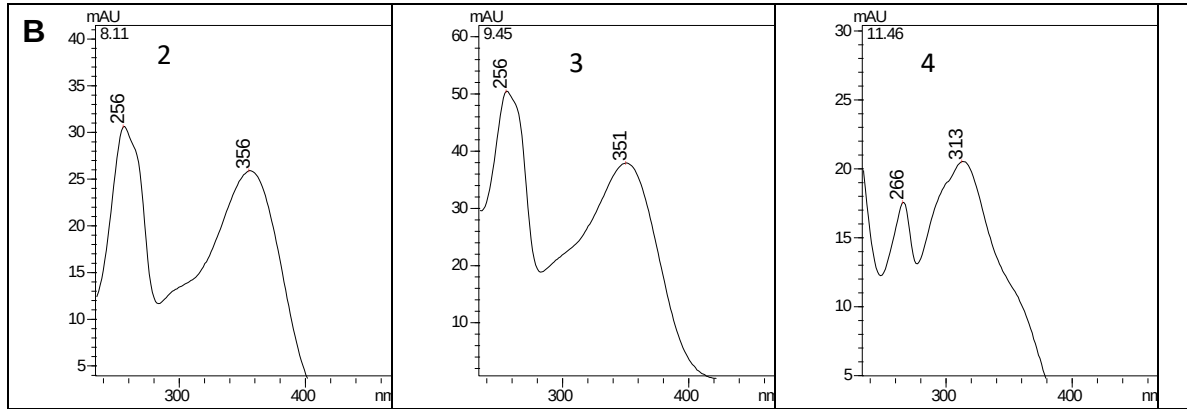
Foram analisadas as frações acetato de etila das flores de 8 espécies de plantas distribuídas em 5 famílias: *C. heliotropiifolius*, *C. blanchetianus* e *J. mollissima* (Euphorbiaceae), *G. spinosa* e *M. tenuiflora* (Leguminosae), *C. spinosa* (Cleomaceae), *C. leprosum* (Combretaceae) e *B. diffusa* (Nyctaginaceae). A fração acetato de etila foi escolhida como fração de trabalho por apresentar maior variedade de compostos de alta a média polaridade. Além disso, o maior rendimento calculado também foi considerado na escolha.

### 1.4.1 Análise por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE–DAD) das frações AcOEt das flores de *Croton heliotropiifolius* e *Croton blanchetianus*

A análise dos cromatogramas obtidos por CLAE–DAD analítico e os espectros de ultravioleta (Figuras I.10 e I.11) mostram que o extrato AcOEt das espécies *C. heliotropiifolius* e *C. blanchetianus* apresenta a presença de flavonoides, uma vez que foi possível visualizar bandas de absorção na região de UV entre 305-390 nm e 220-300 nm, características destes compostos (LIN et al., 2012).

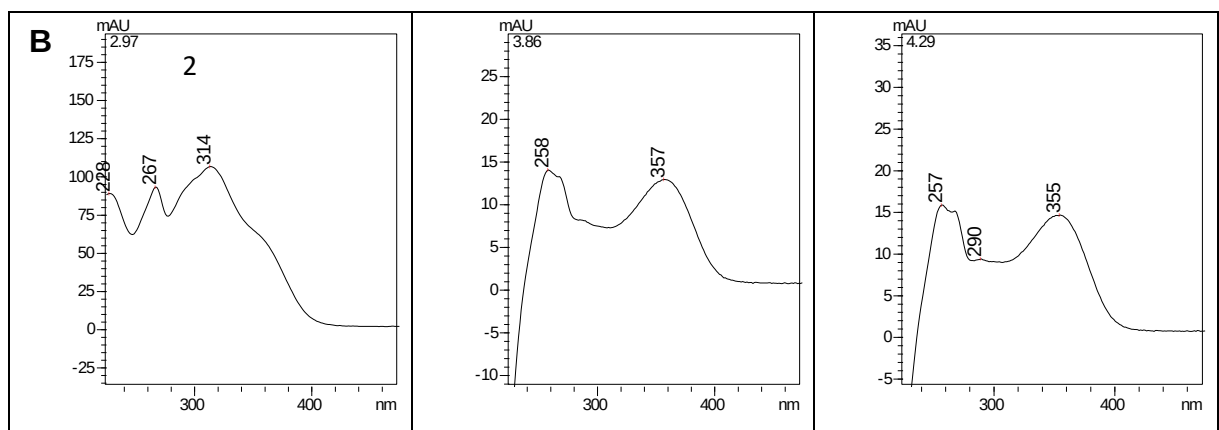
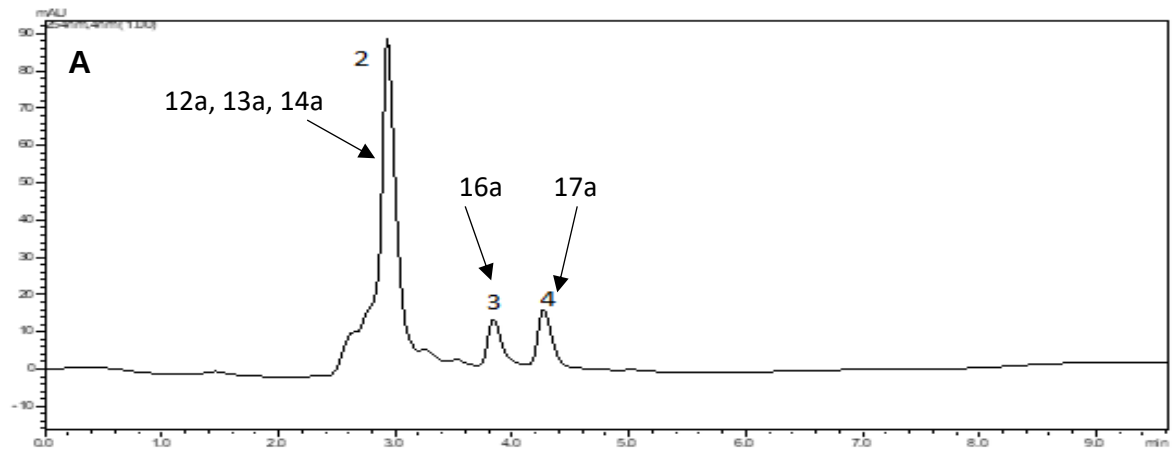
Figura 10- Cromatograma (CLAE-DAD) (A) e espectros de UV (254 nm) (B) dos picos obtidos da fração AcOEt de *C. heliotropiifolius*





Fonte: A autora (2019)

Figura 11- Cromatograma (CLAE-DAD) (A) e espectros de UV (254 nm) (B) dos picos obtidos da fração AcOEt de *C. blanchetianus*



Fonte: A autora (2019)



### 1.4.2 Identificação estrutural das substâncias isoladas

Após análise por CLAE-DAD analítico, as frações AcOEt das flores de *Croton heliotropiifolius* (velame) e *Croton blanchetianus* (marmeleiro) foram submetidas as análises por CLAE-DAD semipreparativo para o isolamento das principais substâncias, com isto foram isolados os compostos: V.2 em mistura [rutina (**4a**), hiperina (**5a**) e isoquercetina (**6a**)], V.3: quercitrina (**10a**), V.4 em mistura 6"-O-*p*-hidroxicoumaroil- $\beta$ -galactopiranosil-canferol (**12a**), tilirosídeo (**13a**) e metoxitilirosídeo (**14a**), para *C. heliotropiifolius* e M.2 em mistura que resultou ser igual que V.4, M.3: 3,7-dimetilquercetina (**16a**), M.4: pachipodol (**17a**) para *C. blanchetianus*. A determinação estrutural dessas substâncias foi realizada com base nas técnicas de RMN unidimensionais ( $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ -APT), ESI-MS e comparação com dados da literatura.

#### 1.4.2.1 Determinação estrutural da mistura V.2 (4a, 5a e 6a), isolada da fração AcOEt das flores *C. heliotropiifolius*

A fração denominada V.2 foi isolada como uma mistura de substâncias, obtida como um sólido amorfo amarelo-claro. O espectro de infravermelho (Figura 12) mostrou uma banda em  $3369\text{ cm}^{-1}$ , sugerindo grupo OH fenólico e/ou de álcool. Esta absorção foi corroborada pelo pico em  $1202\text{ cm}^{-1}$ , típico de deformação axial de C-O. Absorções para deformação axial de C=C de aromáticos foram observadas entre  $1606$  e  $1448\text{ cm}^{-1}$ . Uma absorção em  $1656\text{ cm}^{-1}$  permitiu inferir sobre a presença de carbonila conjugada ou formando ponte de hidrogênio (PAVIA et al, 2010).

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 13) mostrou sinais em  $\delta_{\text{H}}$  12,65-12,60, característicos de um grupo hidroxila em C-5 em unidade de flavonol e a existência de dupletos com integração para um hidrogênio cada, em  $\delta_{\text{H}}$  6,20-6,41 (1H,d,J=2,0), característico de hidrogênios meta-acoplados, típicos do anel A. Também foi observada um conjunto de sinais na região de hidrogênios aromáticos, que foram atribuídos ao sistema ABX de um anel aromático tri substituído (anel B). Além disso, o espectro apresentou um conjunto de sinais na região entre 3,0 e 4,0 ppm, característicos de unidades glicosídicas (hidrogênios ligados a carbonos oxigenados) além dos sinais em  $\delta_{\text{H}}$  0,99 o que indica a presença de ramnose como unidade glicosídica. Os dupletos em  $\delta_{\text{H}}$  5,46 e 5,38 (1H, J= 7,2 Hz) característicos de hidrogênio anomérico

de  $\beta$ -glicosídeo (PEREIRA et al., 2012). Estes dados sugerem que a mistura de compostos são flavonoides glicosilados.

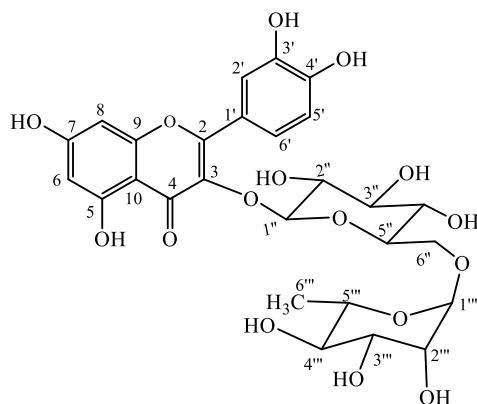
O espectro de APT (Figura 14) corroborou a proposta de natureza glicosídica. Apresentou sinais de carbono carbonílico em  $\delta_c$  177,5 e 177,7 referentes ao C-4 e sinais de carbonos não hidrogenados respectivamente. Além disso, observou-se a presença de sinais de carbonos oxigenados na região entre  $\delta_c$  61,4 – 78,0 bem como, um sinal em  $\delta_c$  100-102 atribuído ao carbono anomérico de unidade glicosídica, também foi observada sinais em  $\delta_c$  17,7 característicos do C-6 da ramnose, os açúcares glicose e galactose foram identificadas pelos deslocamentos químicos dos C-4.

O valor do deslocamento observado para o C-3 permitiu determinar a posição da ligação glicosídica em C-3 (DA ROSA et al., 2010). Os valores obtidos nos espectros de RMN estão nas Tabelas 3, 4, 5.

O espectro de massas de alta resolução (Figura 15), obtido por ionização por eletrospray, operando em modo negativo, corroborou a presença da mistura de compostos e exibiu picos das moléculas desprotonadas em  $m/z$  463,0882; 463,0883  $[M-H]^-$  compatível com a fórmula  $C_{21}H_{20}O_{12}$  e  $m/z$  609,1462 indicando a fórmula molecular  $C_{27}H_{30}O_{16}$ . Os compostos com  $m/z$  463 apresentaram íon produto em  $m/z$  301.0345 formado pela perda de uma unidade de açúcar (Figura 16), no caso do composto 609 gerou fragmentos em  $m/z$  463 e 301 indicando as perdas de glicose (162 Da) e ramnose (146 Da). Os dados são compatíveis com a hiperina (3-O- $\beta$ -D-galactopiranosil quercetina), isoquercetina (quercetina-3-O- $\beta$ -D-glicosídeo) e rutina (quercetina-3-O-ramnosilglicosídeo).

A ocorrência destes flavonoides já foi anteriormente relatada para outras espécies vegetais, hiperina foi isolada do extrato butanólico da parte aérea de *Croton campestris* (SANTOS; SCHRIPSEMA; KUSTER, 2005), isoquercetina isolada de folhas *Croton pedicellatus* (LOPES et al., 2012)

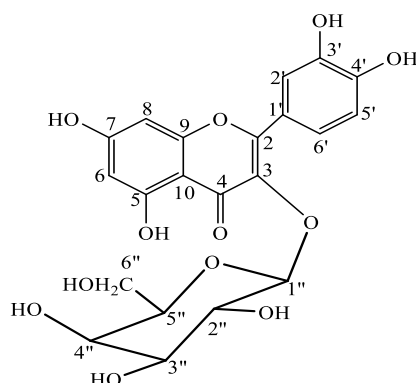
Tabela 3- Dados de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ -APT (500 e 75 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) da substância **4a** (rutina). dados da literatura em ( $\text{DMSO-}d_6$ )



| C    | $\delta^{13}\text{C}$ | $\delta^1\text{H}$ | * $\delta^{13}\text{C}$ | * $\delta^1\text{H}$ |
|------|-----------------------|--------------------|-------------------------|----------------------|
| 2    | 156,2                 |                    | 156,5                   |                      |
| 3    | 133,5                 |                    | 133,2                   |                      |
| 4    | 177,5                 |                    | 177,3                   |                      |
| 5    | 161,2                 |                    | 161,2                   |                      |
| 6    | 98,7                  | 6,20 (d;2,5)       | 98,7                    | 6,20 (d;2,1)         |
| 7    | 164,1                 |                    | 164,5                   |                      |
| 8    | 93,5                  | 6,40 (d; 2.1)      | 93,6                    | 6,40(d, 2,1)         |
| 9    | 156,4                 |                    | 156,4                   |                      |
| 10   | 102,0                 |                    | 103,7                   |                      |
| 1'   | 121,1                 |                    | 121,5                   |                      |
| 2'   | 116,2                 | 7,51(d;2,4)        | 116,2                   | 7,52 (d, 2,0)        |
| 3'   | 115,2                 |                    | 115,2                   |                      |
| 4'   | 148,5                 |                    | 148,5                   |                      |
| 5'   | 115,4                 | 6,82 (d; 8,7)      | 115,2                   | 6,83 (d, 9,0)        |
| 6'   | 121,6                 | 7,68 (dd; 2,2;7,9) | 121,0                   | 7,75 (dd, 2,4;7,8)   |
| 1''  | 100,8                 | 5,46 (d; 7,2)      | 101,2                   | 5,44 (d, 7,2)        |
| 2''  | 76,5                  |                    | 75,8                    |                      |
| 3''  | 73,5                  |                    | 74,4                    |                      |
| 4''  | 69,9                  |                    | 69,9                    |                      |
| 5''  | 77,6                  |                    | 76,4                    |                      |
| 6''  | 65,1                  |                    | 66,9                    |                      |
| 1''' | 100,8                 | 4,44               | 100,7                   | 4,38 (d;1,0)         |
| 2''' | 70,6                  |                    | 70,5                    |                      |
| 3''' | 70,0                  |                    | 70,3                    |                      |
| 4''' | 71,2                  |                    | 71,8                    |                      |
| 5''' | 68,3                  |                    | 68,2                    |                      |
| 6''' | 17,7                  | 1,0 (d;6,1)        | 17,6                    | 0,99 (d;6,0)         |

**Fonte:** A autora (2019)-\*Deslocamentos químicos da literatura (MOURA; VILEGAS; SANTOS, 2011)

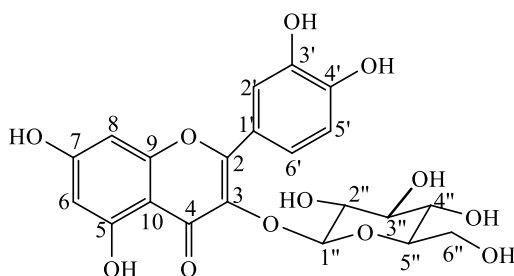
Tabela 4- Dados de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ -APT (500 e 75 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) da substância **5a** (quercetina-3-O- $\beta$ -galactosídeo ou hiperina). dados da literatura em ( $\text{DMSO-}d_6$ )



| C     | $\delta^{13}\text{C}$ | $\delta^1\text{H}$ | * $\delta^{13}\text{C}$ | * $\delta^1\text{H}$ |
|-------|-----------------------|--------------------|-------------------------|----------------------|
| 2     | 156,4                 |                    | 156,8                   |                      |
| 3     | 133,5                 |                    | 134,1                   |                      |
| 4     | 177,7                 |                    | 178,0                   |                      |
| 5     | 161,2                 |                    | 161,7                   |                      |
| 6     | 98,7                  | 6,21 (d;1,9)       | 99,2                    | 6,20 (d;1,8)         |
| 7     | 164,1                 |                    | 164,8                   |                      |
| 8     | 93,5                  | 6,41 (d;1,9)       | 94,0                    | 6,41(d, 1,8)         |
| 9     | 156,4                 |                    | 156,7                   |                      |
| 10    | 104,0                 |                    | 104,3                   |                      |
| 1'    | 121,1                 |                    | 121,6                   |                      |
| 2'    | 115,9                 | 7,54(d;2,2)        | 116,5                   | 7,54 (d, 2,2)        |
| 3'    | 145,2                 |                    | 145,3                   |                      |
| 4'    | 148,5                 |                    | 149,3                   |                      |
| 5'    | 115,2                 | 6,82 (d; 8,7)      | 115,6                   | 6,82 (d, 8,4)        |
| 6'    | 122,0                 | 7,66 (dd;2,1;8,3)  | 122,5                   | 7,66 (dd, 2,2;8,8)   |
| 1''   | 102,0                 | 5,38 (d; 7,6)      | 102,3                   | 5,37 (d, 7,5)        |
| 2''   | 71,2                  | 3,57 (m)           | 71,7                    | 3,57 (m)             |
| 3''   | 73,2                  | 3,37 (m)           | 73,7                    | 3,38 (m)             |
| 4''   | 68,0                  | 3,66 (m)           | 68,4                    | 3,66 (m)             |
| 5''   | 75,8                  | 3,27 (m)           | 76,2                    | 3,34 (m)             |
| 6''   | 60,1                  | 3,45 (m)           | 60,4                    | 3,31 e 3,46 (m)      |
| 5(OH) |                       | 12,64              |                         |                      |

Fonte: A autora (2019)-\*Deslocamento químico da literatura (RODRIGUES et al., 2009),

Tabela 5- Dados de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ -APT (500 e 75 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) da substância **6a** (isoquercetina). dados da literatura em ( $\text{DMSO-}d_6$ )



| C     | $\delta^{13}\text{C}$ | $\delta^1\text{H}$ | $^*\delta^{13}\text{C}$ | $^*\delta^1\text{H}$ |
|-------|-----------------------|--------------------|-------------------------|----------------------|
| 2     | 156,3                 |                    | 156,4                   |                      |
| 3     | 133,5                 |                    | 133,3                   |                      |
| 4     | 177,5                 |                    | 177,5                   |                      |
| 5     | 161,2                 |                    | 161,3                   |                      |
| 6     | 98,7                  | 6,20 (d; 2,5)      | 98,7                    | 6,20 (d; 2,1)        |
| 7     | 164,1                 |                    | 164,2                   |                      |
| 8     | 93,5                  | 6,40 (d; 2,14)     | 93,6                    | 6,41 (d; 2,1)        |
| 9     | 156,3                 |                    | 156,3                   |                      |
| 10    | 104,0                 |                    | 104,1                   |                      |
| 1'    | 121,1                 |                    | 121,3                   |                      |
| 2'    | 116,2                 | 7,56(d; 2,1)       | 116,3                   | 7,57 (d; 2,2)        |
| 3'    | 144,8                 |                    | 144,8                   |                      |
| 4'    | 148,5                 |                    | 148,5                   |                      |
| 5'    | 115,4                 | 6,84 (d; 8,7)      | 115,3                   | 6,84 (d; 8,0)        |
| 6'    | 121,6                 | 7,58 (dd; 2,1;8,8) | 121,6                   | 7,58 (dd; 2,2;8,0)   |
| 1''   | 101,8                 | 5,46 (d; 7,4)      | 101,0                   | 5,45 (d; 7,5)        |
| 2''   | 74,1                  | 3,24 (m)           | 74,2                    | 3,23 (m)             |
| 3''   | 76,5                  | 3,24 (m)           | 76,6                    | 3,23 (m)             |
| 4''   | 70,0                  | 3,08 (m)           | 70,0                    | 3,09 (m)             |
| 5''   | 77,6                  | 3,32 (m)           | 77,5                    | 3,32(d; 11,4)        |
| 6''   | 60,9                  | 3,57 (m)           | 61,0                    | 3,57 (d; 11,4)       |
| 5(OH) |                       | 12,65              |                         | 12,64                |

Fonte: A autora (2019)-\*Deslocamentos químicos da literatura (RODRIGUES et al., 2009).

Figura 12- Espectro de IV da mistura **V.2 (4a, 5a e 6a)** em pastilha de KBr

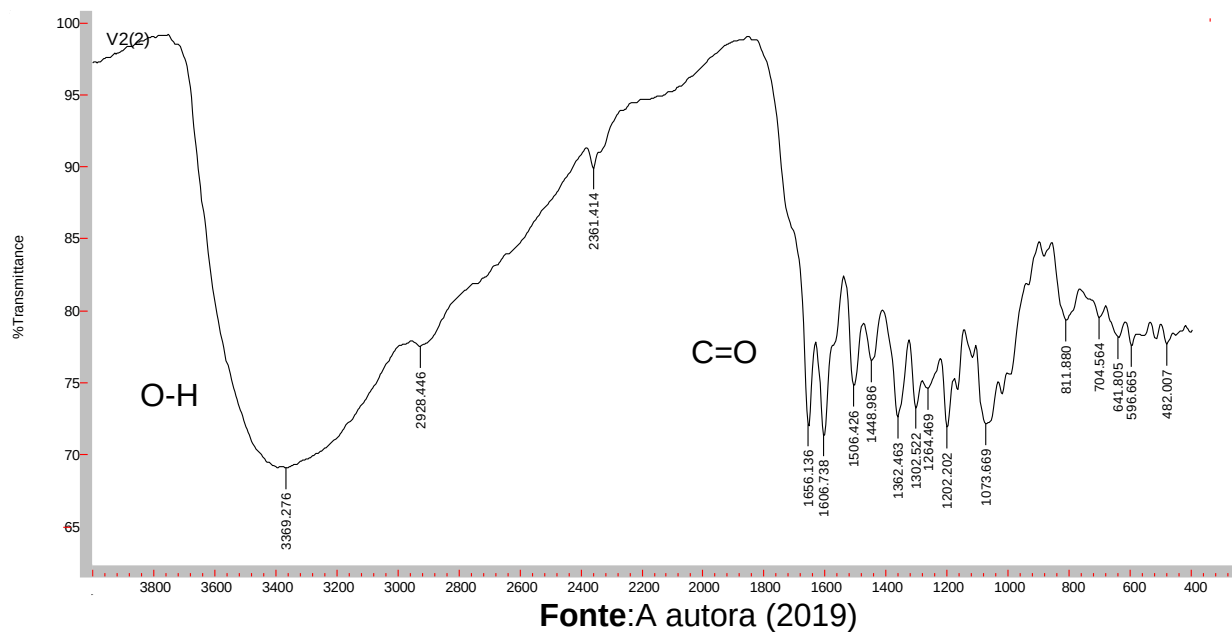
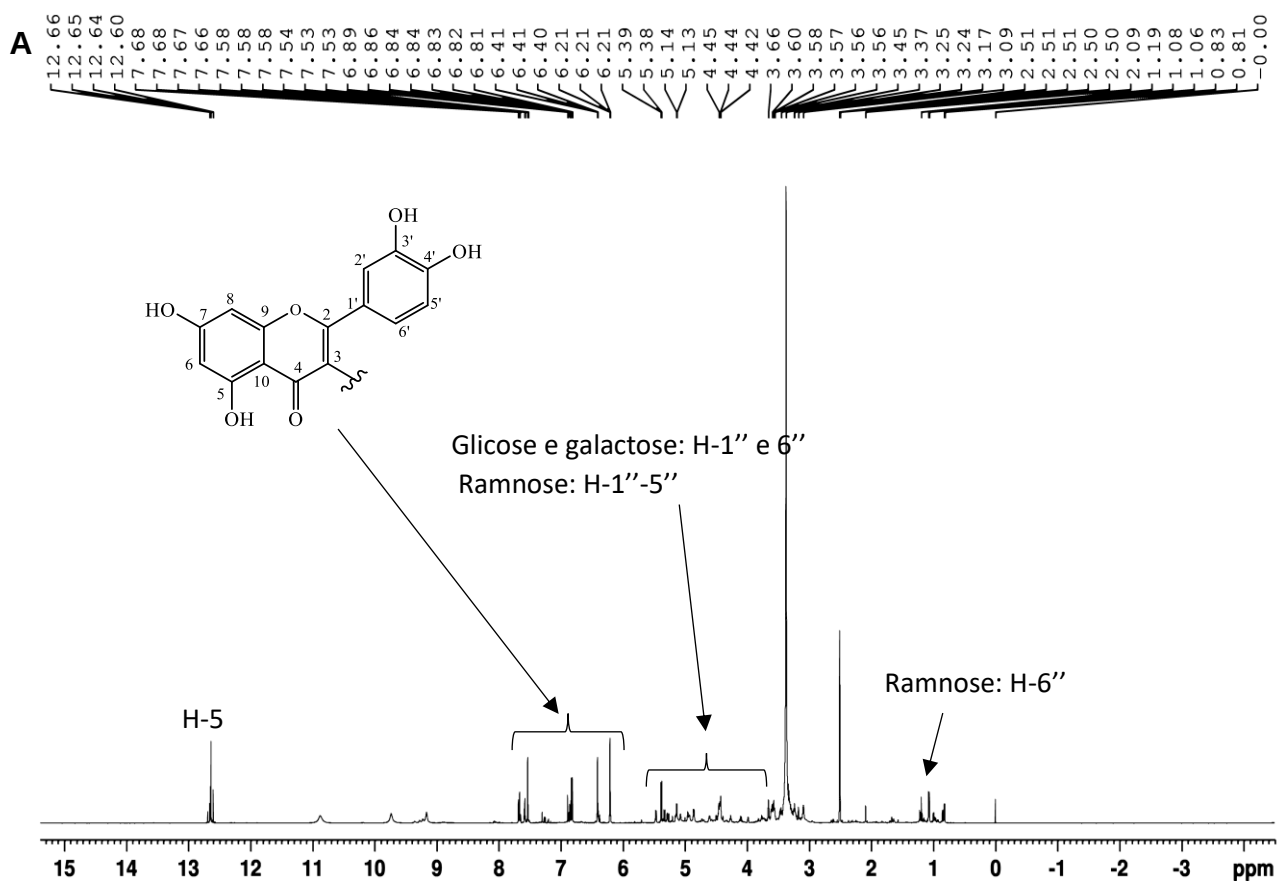
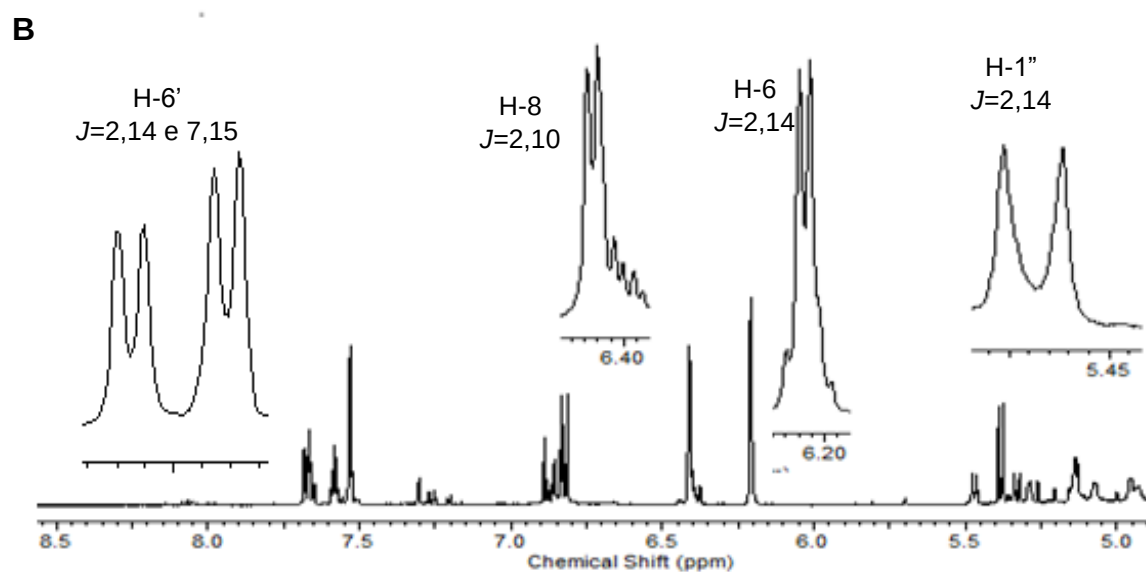


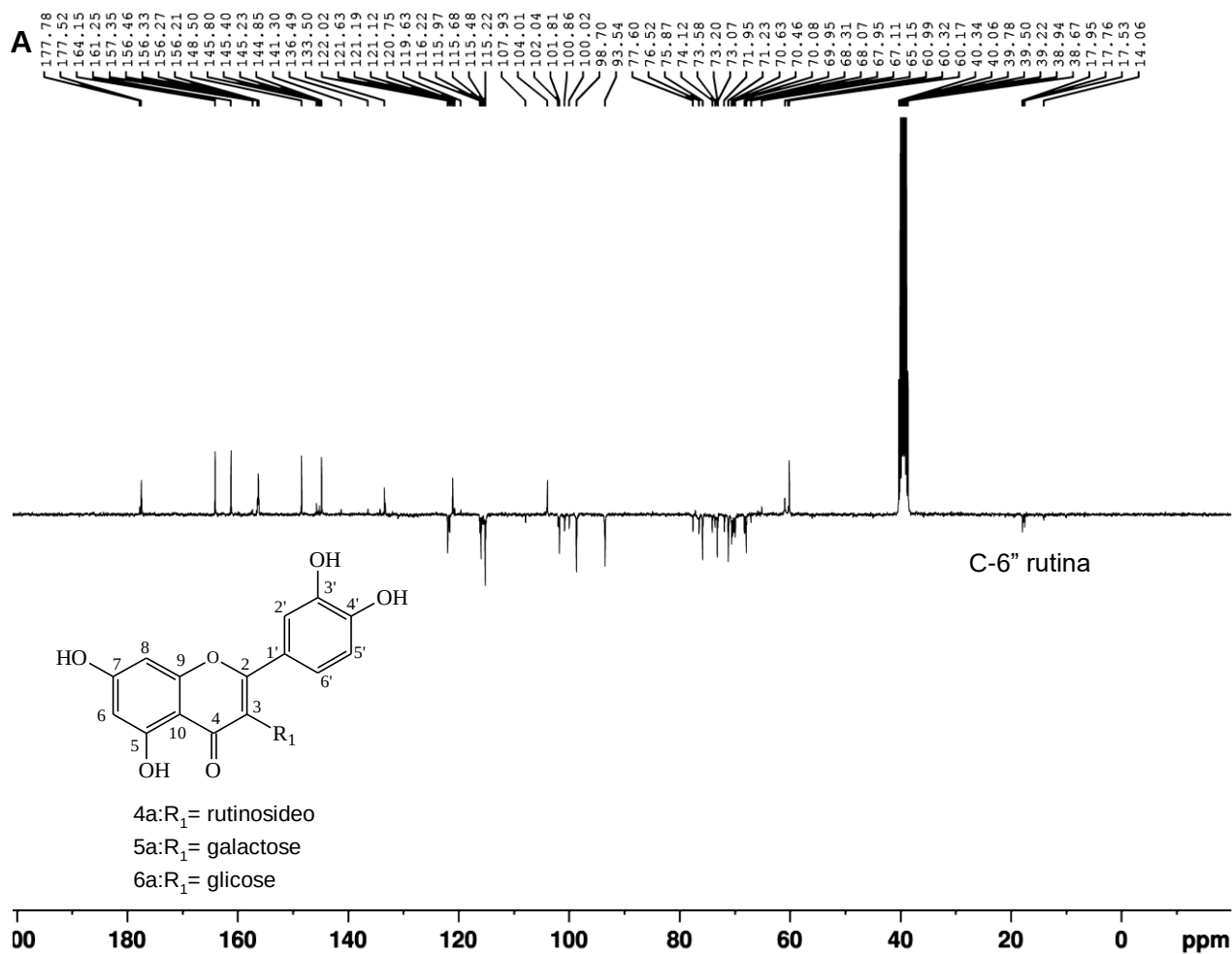
Figura 13- Espectro de RMN<sup>1</sup>H (A) e expansões (B) da mistura **V.2 (4a, 5a e 6a)** em DMSO-*d*<sub>6</sub> (500 MHz)



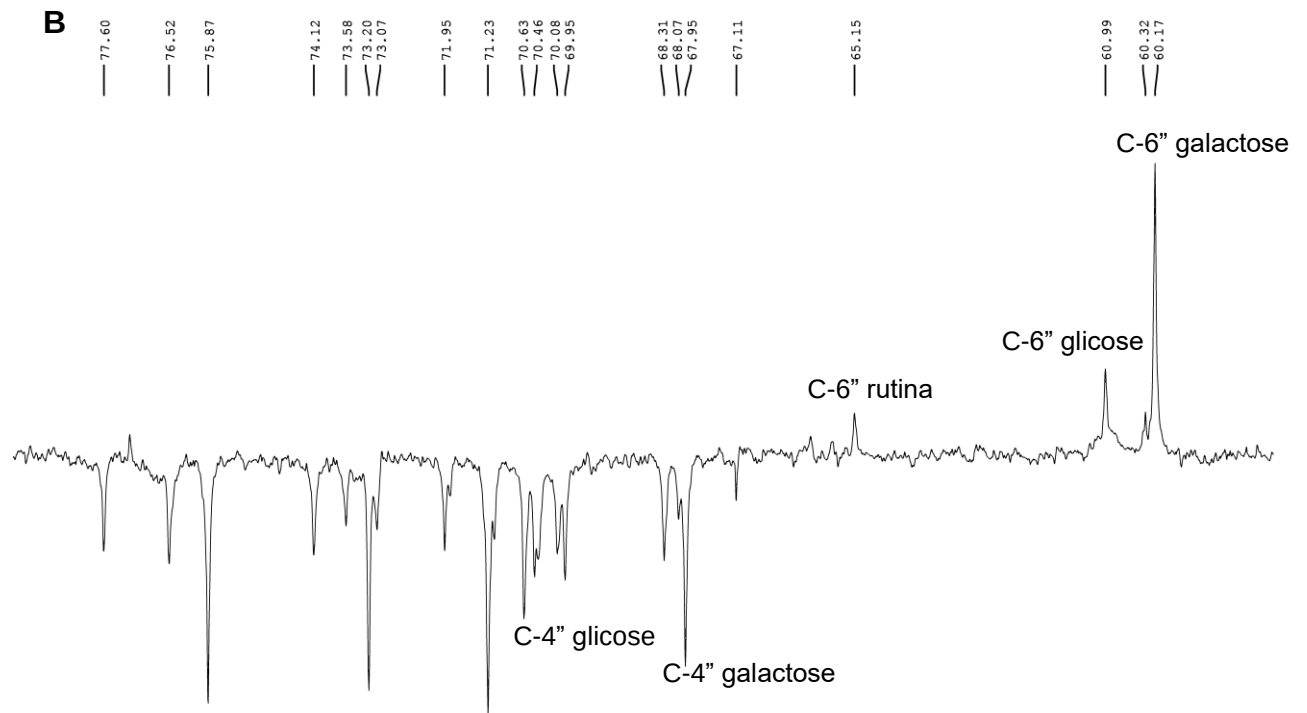


Fonte:A autora (2019)

Figura 14- Espectro de APT (A) e espação na região 78-59 ppm (B) da mistura **V.2** (**4a**, **5a** e **6a**) em DMSO- $d_6$  (75 MHz)

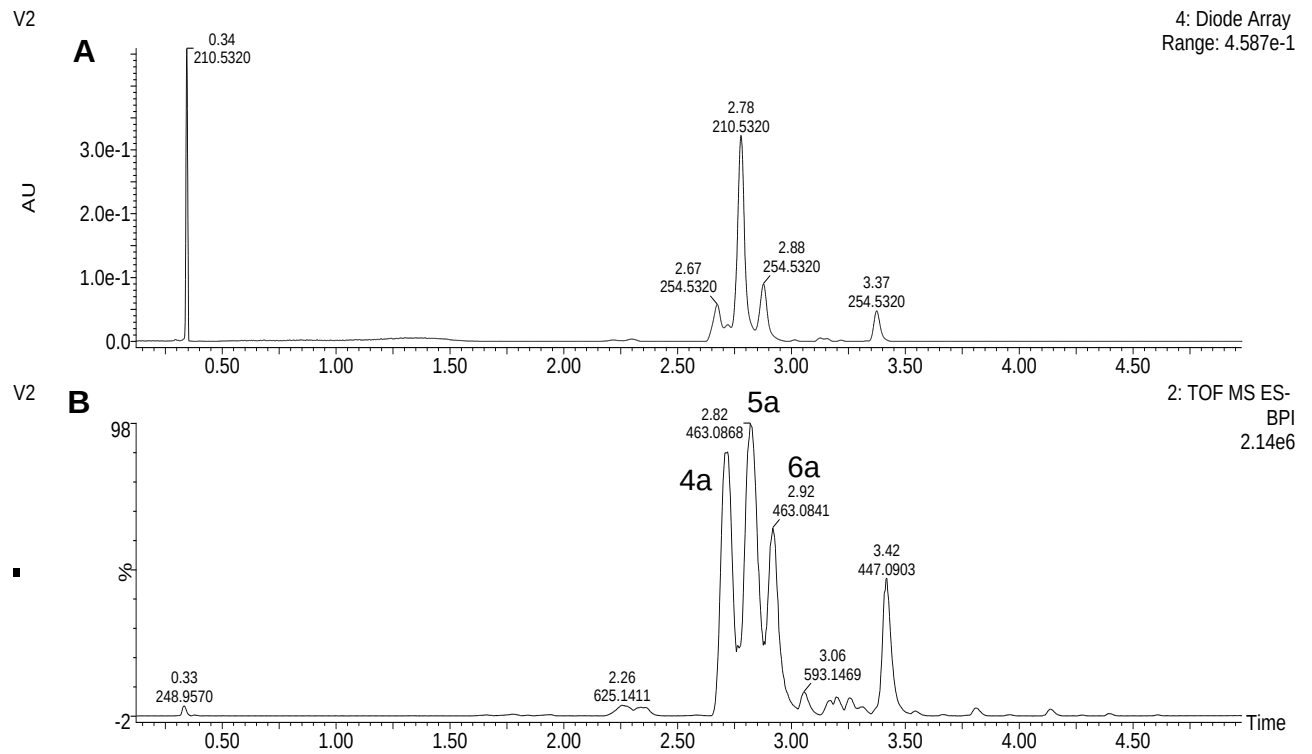


Fonte:A autora (2019)



Fonte:A autora (2019)

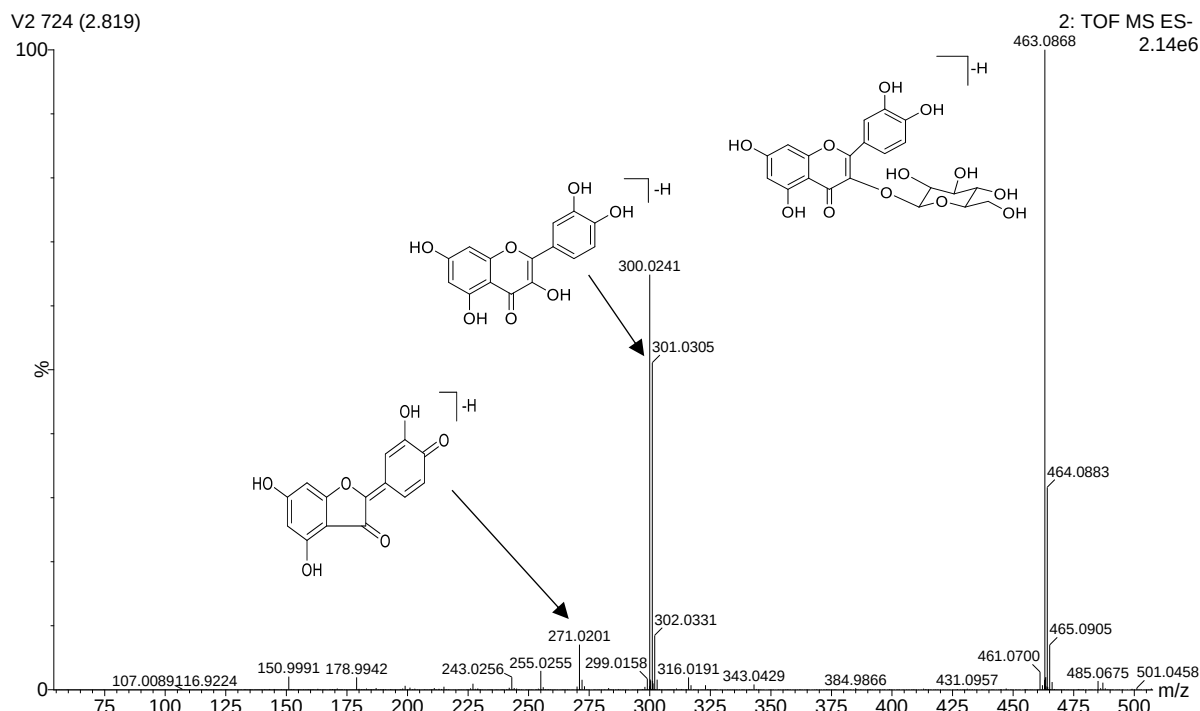
Figura 15- Cromatograma UPLC-DAD (A) e ESI pico íon base (BPI) (B) de **V.2 (4a, 5a e 6a)** analisadas por UPLC-QTOF-MS



Fonte:A autora (2019)



Figura 16- Espectro de íons produtos para  $m/z$  463,0867 **6a** (Isoquercetina) isolados no extrato acetato de etila das flores de *C. heliotropiifolius*



Fonte: A autora (2019)

#### 1.4.3.2 Determinação estrutural da substância V.3 (10a), isolada da fração AcOEt das flores de *C. heliotropiifolius*

A substância **10a** foi obtida como um sólido amorfo amarelo. A análise do espectro de infravermelho desta substância (Figura 17) apresentou uma banda em  $3367\text{ cm}^{-1}$  característica de grupos hidroxila (OH) e em  $1655\text{ cm}^{-1}$  para estiramento C=O de carbonila, além dos estiramentos em  $1605$ ,  $1508$  e  $1449\text{ cm}^{-1}$  para a ligação C=C de aromático e em  $1201\text{ cm}^{-1}$  atribuível ao C-O.

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  em  $\text{DMSO}-d_6$  (Figura 18) apresentaram sinais característicos de flavonoides. O sinal em  $\delta_{\text{H}}$  12,65 é característico de ligação de hidrogênio da hidroxila em C-5 com o carbono em C-4. A natureza aromática foi verificada pela presença dos sinais na região de  $\delta_{\text{H}}$  6,20 a 7,30 no espectro de RMN de  $^1\text{H}$  e  $\delta_{\text{C}}$  104,00 a  $\delta_{\text{C}}$  178,00 no espectro APT (Figura 19) (SANTOS; SCHRIPEMA; KUSTER, 2005).

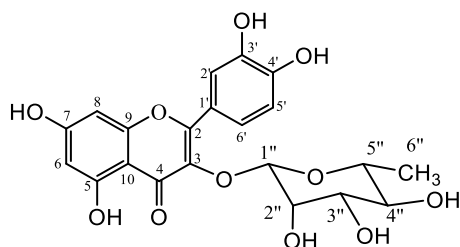
Os sinais em  $\delta_{\text{H}}$  7,29 (*d*,  $J=2,2\text{ H-2'}$ ),  $\delta_{\text{H}}$  6,86 (*d*,  $J=8,4\text{ H-5'}$ ) e  $\delta_{\text{H}}$  7,25 (*dd*,  $J=2,2$ ;  $8,4\text{ H-6'}$ ) mostraram um sistema de acoplamento com característica de um anel B

substituído em 3', 4'. Os prótons aromáticos meta-acoplados de um anel A-5,7-substituído a  $\delta_H$  6,20 (d,  $J=2,0$ ) e  $\delta_H$  6,38 (d,  $J=2,0$ ) referentes a H-6 e H-8 do respectivamente confirma a identidade da porção flavonoide principal como quercetina (DEVI; KUMAR, 2018). A presença da unidade glicosídica foi confirmada pelo conjunto de sinais entre  $\delta_H$  5,24 e  $\delta_H$  0,81 sendo o sinal em  $\delta_H$  5,24 (1H, d,  $J = 1,44$ ) característico do hidrogênio anomérico H-1'' correspondendo à configuração  $\alpha$  para o carbono anomérico (AGRAWAL, 1992). A presença do sinal em  $\delta_H$  0,81 (3H, d,  $J = 6,0$ ) referente ao H-6'' indicam que a unidade glicosídica presente na molécula é a ramnose, quando a ramnose ocorre na posição 3, o valor de deslocamento químico dos hidrogênios metílicos e anoméricos ficam entre  $\delta_H$  0,72-0,86 e  $\delta_H$  4,96-5,36, respectivamente (SILVA et al., 2005). Os demais sinais entre  $\delta_H$  3,0 e  $\delta_H$  4,0 são referentes aos demais hidrogênios.

O espectro de APT (Figura 19) mostrou sinais para 21 carbonos, sendo 15 para a unidade de flavonoide e 6 para a unidade glicosídica. O sinal em  $\delta_C$  177,7 foi atribuído ao carbono da carbonila C-4 e o sinal em  $\delta_C$  101,8 ao carbono anomérico. Os demais sinais em torno de  $\delta_C$  70,0 são característicos da ramnose.

O espectro de ESI-MS (Figura 20) apresentou um pico de íon molecular  $m/z$  447,0937  $[M-H]^-$  compatível com a fórmula  $C_{21}H_{20}O_{11}$  e fragmento em  $m/z$  300,022 corresponde à perda de uma unidade de ramnose (Figura 21). Com base nos dados obtidos e comparação com os dados da literatura (Tabela 6), foi possível identificar a substância como quercitrina (SILVA et al., 2005), isolada do extrato acetato de etila da partes aéreas de *Bidens sulphurea* (RODRIGUES et al., 2009) e do extrato butanólico da parte aérea de *Croton campestris* (SANTOS; SCHRIPSEMA; KUSTER, 2005).

Tabela 6- Dados de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ -APT (500 e 75 MHz  $\text{DMSO-}d_6$ ) da substância **10a** (quercitrina). dados da literatura em ( $\text{DMSO-}d_6$ )



| C   | $\delta^{13}\text{C}$ | $\delta^1\text{H}$  | * $\delta^{13}\text{C}$ | * $\delta^1\text{H}$ |
|-----|-----------------------|---------------------|-------------------------|----------------------|
| 2   | 156,5                 |                     | 156,8                   |                      |
| 3   | 134,3                 |                     | 134,7                   |                      |
| 4   | 177,8                 |                     | 178,2                   |                      |
| 5   | 161,3                 |                     | 161,8                   |                      |
| 6   | 98,7                  | 6,21(d, 2,14)       | 99,3                    | 6,20(d, 2,2)         |
| 7   | 164,2                 |                     | 164,9                   |                      |
| 8   | 93,7                  | 6,40(d,1,98)        | 94,2                    | 6,38(d, 2,2)         |
| 9   | 157,3                 |                     | 157,0                   |                      |
| 10  | 104,1                 |                     | 104,5                   |                      |
| 1'  | 120,7                 |                     | 121,3                   |                      |
| 2'  | 115,6                 | 7,31(d, 2,14)       | 116,2                   | 7,29(d, 2,2)         |
| 3'  | 145,3                 |                     | 145,7                   |                      |
| 4'  | 148,5                 |                     | 149,0                   |                      |
| 5'  | 115,5                 | 6,88(d,8,39)        | 116,0                   | 6,88(d, 8,0)         |
| 6'  | 121,2                 | 7,27(dd, 2,14;8,24) | 121,7                   | 7,25(dd, 2,2;8,0)    |
| 1'' | 101,8                 | 5,26(d, 1,22)       | 102,4                   | 5,28(d,1,14)         |
| 2'' | 70,1                  | 3,98m               | 70,6                    | 3,98m                |
| 3'' | 70,4                  | 3,85m               | 71,7                    | 3,75m                |
| 4'' | 71,2                  | 3,21m               | 71,1                    | 3,21m                |
| 5'' | 70,6                  | 3,52(d, 8,7)        | 70,9                    | 3,50m                |
| 6'' | 17,5                  | 0,82(d, 6,1)        | 18,0                    | 0,80s                |

**Fonte:**A autora (2019)-\*Deslocamento químico da literatura (RODRIGUES et al., 2009).

Figura 17- Espectro de IV da substância **10a** (quercitrina) em pastilha de KBr

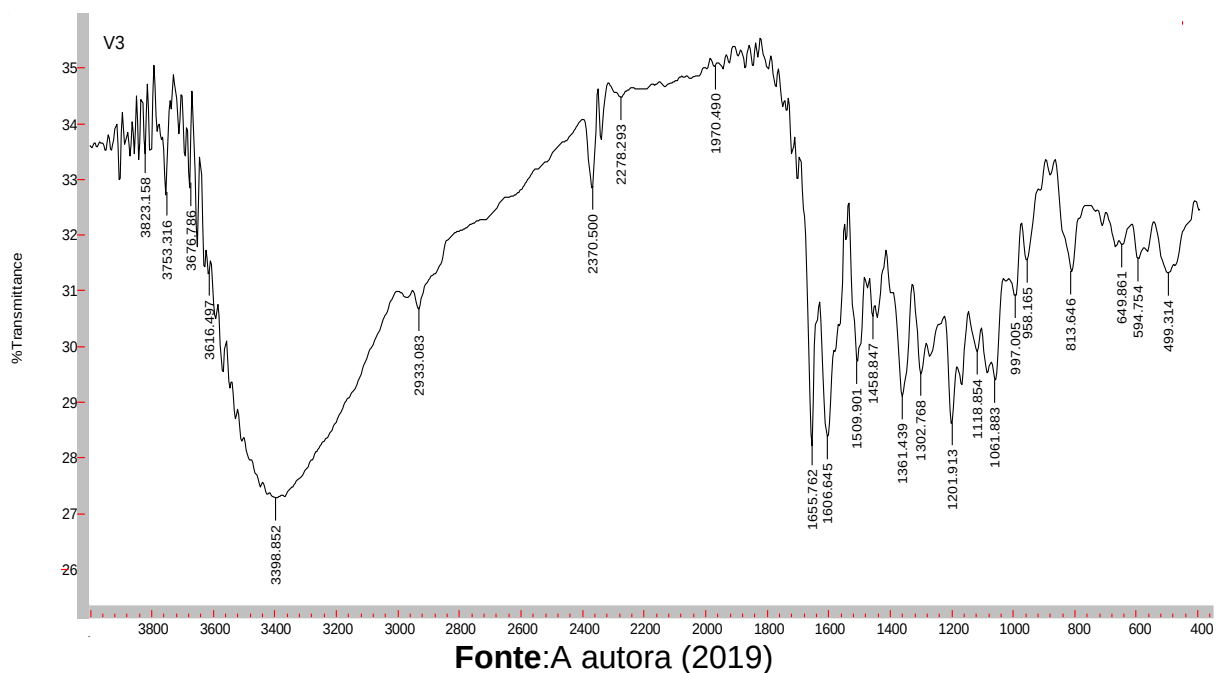
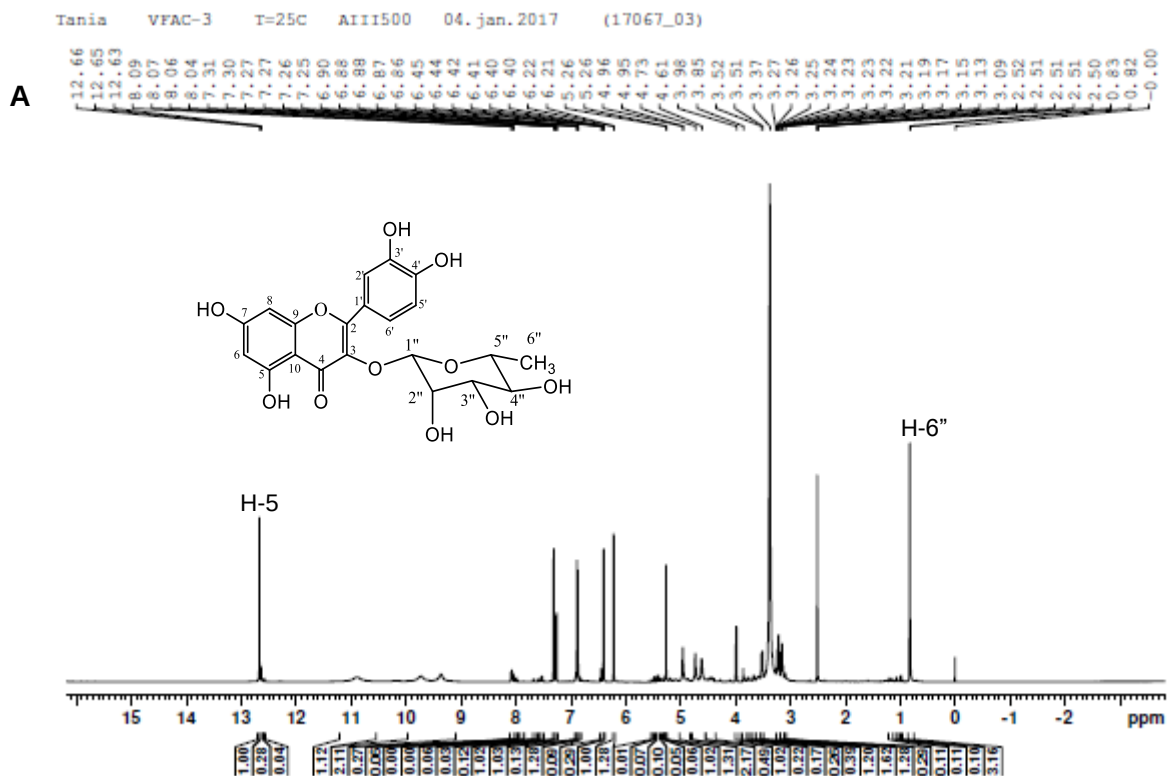
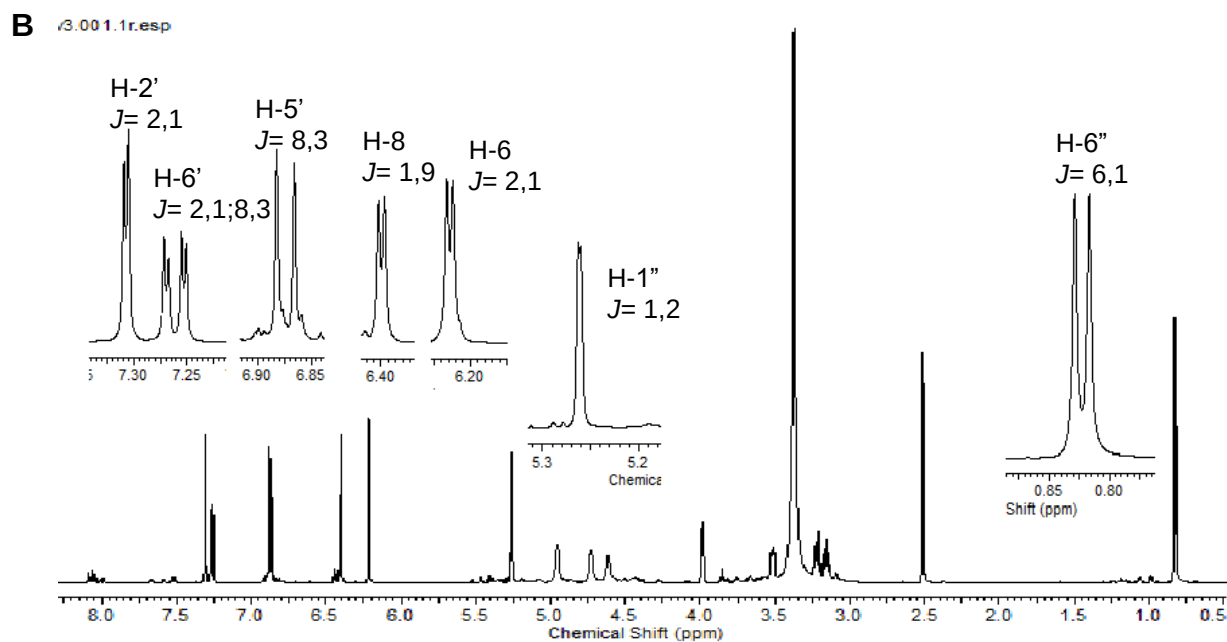


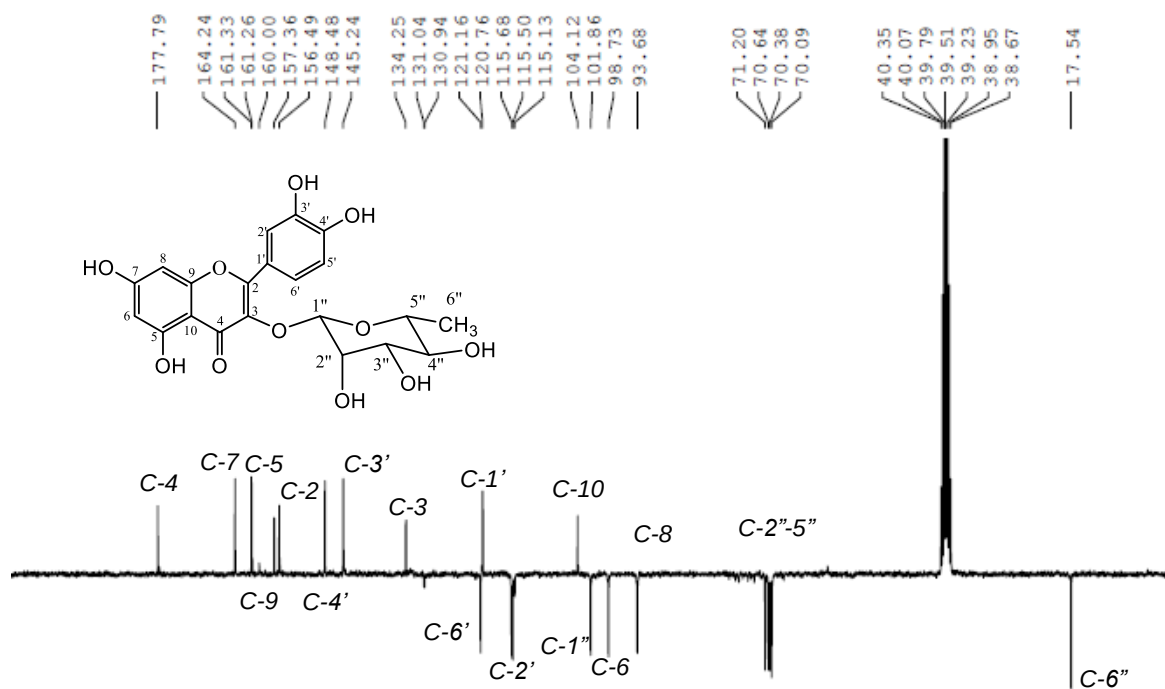
Figura 18- Espectro de RMN<sup>1</sup>H (A) e expansões (B) da substância **10a** (quercitrina) em DMSO-*d*<sub>6</sub> (500 MHz)





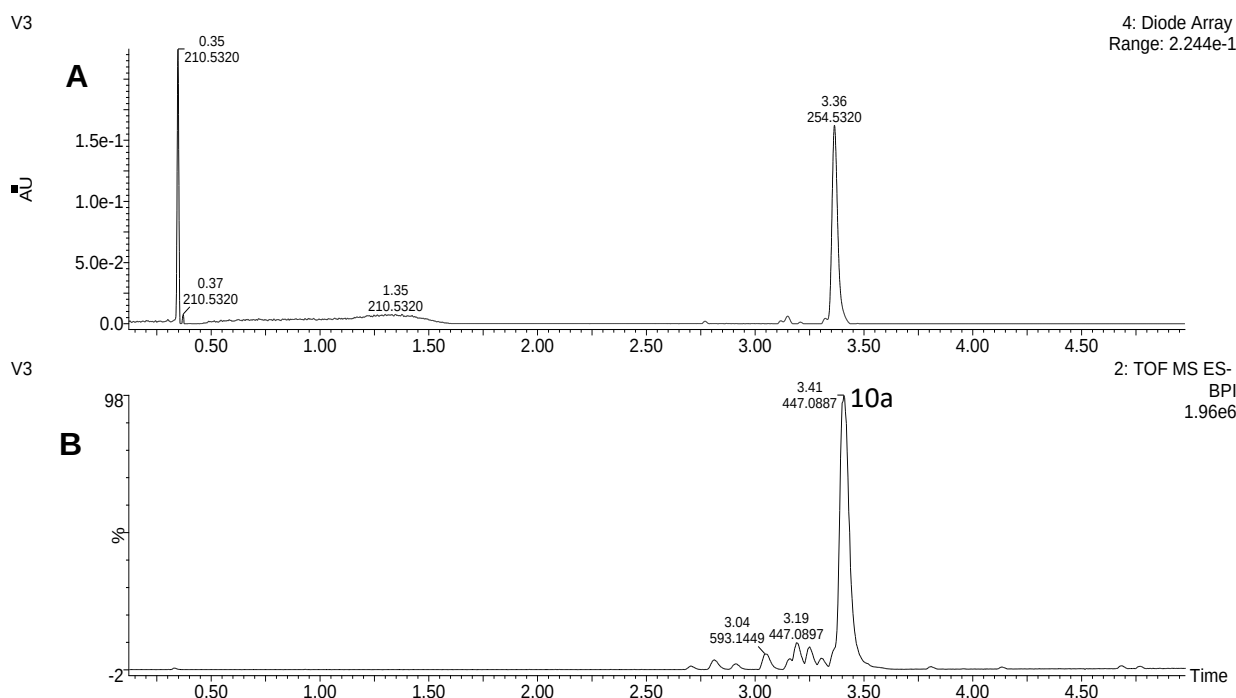
Fonte:A autora (2019)

Figura 19- Espectro de APT da substância **10a** (quercitrina) em DMSO- $d_6$  (75 MHz)



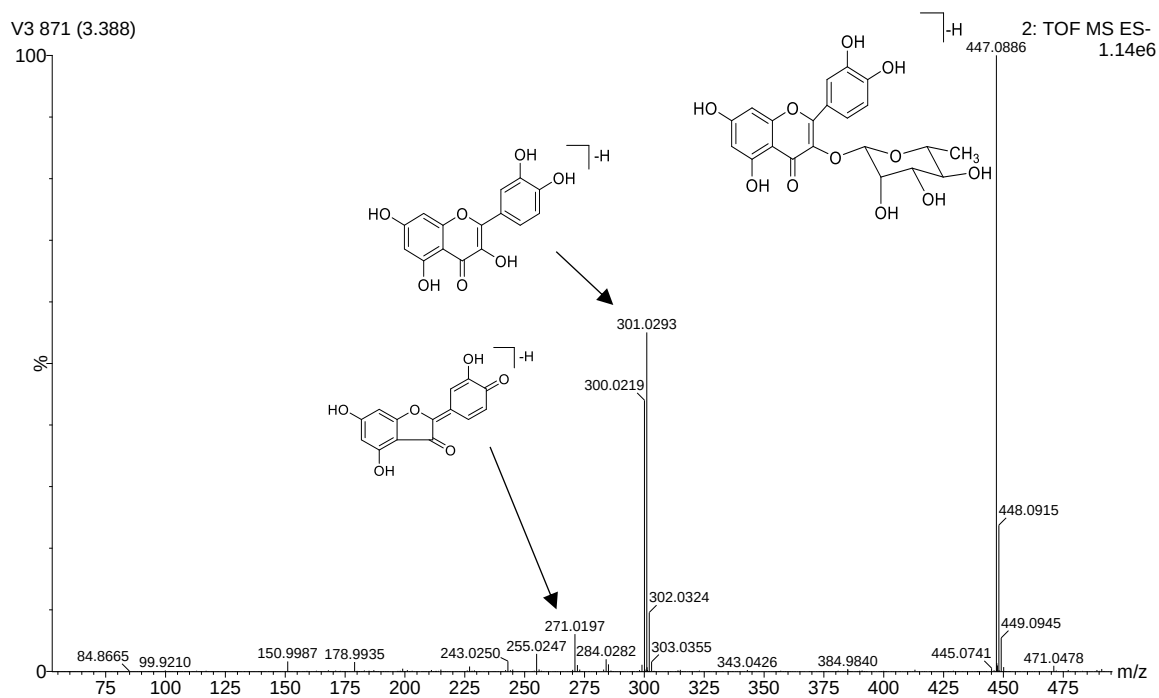
Fonte:A autora (2019)

Figura 20- Cromatograma UPLC-DAD (320 nm) (A) e ESI pico íon base (BPI) (B) da **10a** (quercitrina) analisadas por UPLC-QTOF-MS



Fonte: A autora (2019)

Figura 21- Espectro de íons produtos para  $m/z$  447,0892 (quercitrina) isolado do extrato acetato de etila das flores de *C. heliotropiifolius*



Fonte: A autora (2019)

#### 1.4.2.3 Determinação estrutural da mistura V.4 (12a,13a e 14a), isolada da fração AcOEt das flores de *C. heliotropiifolius*

O composto foi obtido em mistura, como um sólido amorfo amarelo. O espectro de absorção na região do infravermelho (Figura 22) apresentou bandas características de deformação axial de grupos hidroxila ( $3461\text{ cm}^{-1}$ ), carbonila  $1710\text{ cm}^{-1}$  ( $\text{C}=\text{O}$ ) e bandas a  $1606$  e  $1500\text{ cm}^{-1}$  ( $\text{C}=\text{C}$  de aromático).

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Figura 23) (500 MHz) mostra grupo de sinais na região aromática entre 6-8 ppm que em conjunto com a senai em 12,60 ppm sugerem estrutura de polifenóis, o sinal a  $\delta_{\text{H}}$  12,60 ppm é característico de um grupo hidroxila C-5 quelado em uma estrutura de tipo flavonol (RODRIGUES et al., 2009). Além do duplete em  $\delta_{\text{H}}$  7,35 (H-7'') e 5,89 (H-8'') com  $J = 15,6\text{ Hz}$ , caraterístico de hidrogênio olefínico em configuração *trans*, em sistemas carbonílico  $\alpha$ ,  $\beta$  insaturado que em conjunto com os sinais em  $\delta$  7,26 (1H, *d*,  $J = \text{Hz}$ , H-2''/6'') e 6,69 (1H, *d*,  $J = \text{Hz}$ , H-3''/5''), indicaram uma unidade *p*-cumaroil. Os sinais em  $\delta$  6,12 (1H, *d*,  $J = 7,7\text{ Hz}$ , H-1'), 4,80 (1H, *t*,  $J = 9,2\text{ Hz}$ , H-2'), 4,43 (1H, *m*, H-4'), 4,32 (2H, *m*, H-3''/5''), 4,94 (1H, *dd*,  $J = 11,0$  e  $7,6\text{ Hz}$ , H-6''a) e 4,82 (1H, *dd*,  $J = 11,0$  e  $4,5\text{ Hz}$ , H-6''b), mostraram a presença de uma unidade de açúcar (ADEROGBA et al., 2011; LOPES et al., 2012) que após a comparação com dados da literatura foi identificado como a glicose e galactose. O acoplamento diaxial ( $J = 7,7\text{ Hz}$ ) entre prótons H-1' e H-2' sugeriram uma configuração  $\beta$  para o resíduo de açúcar (AGRAWAL, 1992; DEVI; KUMAR, 2018)

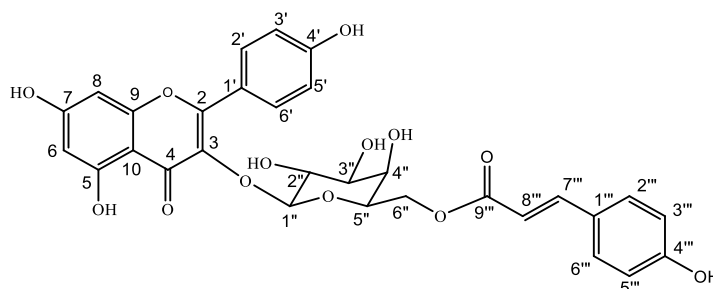
O espectro de RMN de APT (75 MHz) (Figura 24) mostrou sinais característicos para uma flavona glicosilada, além destes sinais, observa-se um sinal em  $\delta 145,07$  característicos de carbono  $\beta$  carbonílico. A sinal do C-6'' mostrou-se desprotegido sugerindo uma substituição neste carbono em comparação com dados da literatura (SILVA et al., 2006b). Também foi observado a presença de metoxila, em  $\delta_{\text{H}}$  3,81 e  $\delta_{\text{H}}$  55,7 respectivamente, o que indica composto com grupo metoxila, cuja posição foi definida através dos deslocamentos químicos do C-3'. Os valores de deslocamento químico em entre 69,9-70 e 68 caraterísticos de C-4 do açúcar, foi útil para diferenciar a glicose e galactose

O espectro de massas de alta resolução obtido com ionização por eletrospray (ESI-MS) no modo negativo mostra pico de íons moleculares em  $m/z$  593,1223 e 593,1249  $[\text{M}-\text{H}]^-$  e  $m/z$  623,1223, consistente com a fórmula molecular  $\text{C}_{30}\text{H}_{26}\text{O}_{13}$  e  $\text{C}_{31}\text{H}_{28}\text{O}_{14}$  (Figura 25) o que indica uma mistura de substâncias. Estes dados

espectrais apresentados e na comparação com os dados literatura (Tabela 7, 8 e 9), permitiram determinar a mistura como sendo canferol-3-O-(6"-O-E-*p*-coumaroil)- $\beta$ -D-glucopiranosídeo, conhecido como tilirosídeo, 3'-metoxi-tilirosídeo, isolados da fração acetato de etila das folhas de *Croton zambesicus* (ADEROGBA et al., 2011) e do extrato EtOH das folhas de *C. pedicellatus* (LOPES et al., 2012), canferol-3-O-(6"-O-E-*p*-coumaroil)- $\beta$ -D-galactopiranosídeo, também isolado das folhas de *C. pedicellatus* e (LOPES et al., 2012) e *Rubus idaeus* (GUDEJ, 2003). Os espectros de íons produtos do tilirosídeo e metoxi-tilirosídeo são mostrados nas figuras (I.30 e I.31).



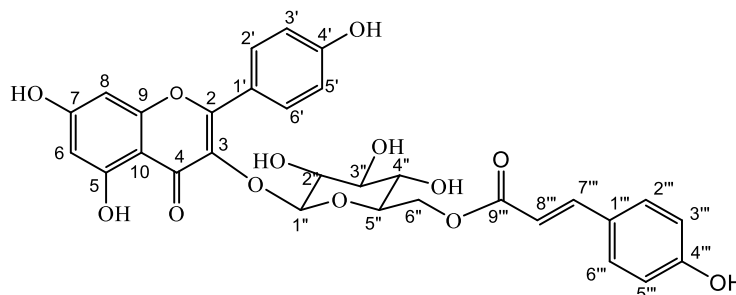
Tabela 7- Dados de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ -APT (500 e 75 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ) da substância **12a** (6''-O-*p*-hidroxicoumaroil- $\beta$ -galactopiranosil-canferol), dados da literatura em (MeOD)



| C         | $\delta^{13}\text{C}$ | $\delta^1\text{H}$ | * $\delta^{13}\text{C}$ | * $\delta^1\text{H}$ |
|-----------|-----------------------|--------------------|-------------------------|----------------------|
| 2         | 160,0                 |                    | 159,1                   |                      |
| 3         | 135,7                 |                    | 133,5                   |                      |
| 4         | 175,8                 |                    | 179,7                   |                      |
| 5         | 161,1                 |                    | 161,6                   |                      |
| 7         | 164,1                 |                    | 166,1                   |                      |
| 9         | 156,2                 |                    | 158,4                   |                      |
| 10        | 103,8                 |                    | 105,5                   |                      |
| 1'        | 122,2                 |                    | 122,6                   |                      |
| 4'        | 160,0                 |                    | 161,2                   |                      |
| 1'''      | 124,9                 |                    | 127,1                   |                      |
| 4'''      | 159,8                 |                    | 161,2                   |                      |
| 9'''      | 166,1                 |                    | 168,7                   |                      |
| CH        |                       |                    |                         |                      |
| 6         | 98,7                  | 6,78               | 100,1                   | 6,71                 |
| 8         | 93,6                  | 6,77               | 94,8                    | 6,73                 |
| 2',6'     | 132,6                 | 8,05 (d;8,8)       | 132,2                   | 8,48 (d;8,6)         |
| 3',5'     | 115,1                 | 7,26 (d;8,9)       | 116,0                   | 7,19 (d;8,6)         |
| 1''       | 103,8                 | 6,19 (d;7,7)       | 105,0                   | 6,12 (d;7,7)         |
| 2''       | 71,0                  | 4,84               | 72,9                    | 4,81                 |
| 3''       | 72,9                  | 4,06               | 74,9                    | 4,33(m)              |
| 4''       | 68,2                  | 4,30               | 70,6                    | 4,43                 |
| 5''       | 72,8                  | 4,02               | 74,8                    | 4,32                 |
| 2''',6''' | 130,6                 | 7,52 (d;8,0)       | 127,1                   | 7,52 (d;8,9)         |
| 3''',5''' | 115,7                 | 7,19 (d;8,6)       | 116,7                   | 7,16 (d;8,9)         |
| 7'''      | 144,6                 | 7,87 (d;15,7)      | 146,7                   | 7,84 (d;15,8)        |
| 8'''      | 114,6                 | 6,67 (d;15,1)      | 114,9                   | 6,48 (d;15,8)        |
| CH2       |                       |                    |                         |                      |
| 6''       | 63,2                  | 4,97               | 64,4                    | 4,95(dd;10,9;7,7)    |
|           |                       | 4,81               |                         | 4,83(dd; 10,9;4,5)   |

Fonte: A autora (2019)-\*Deslocamento químico da literatura (VEGA et al., 2007).

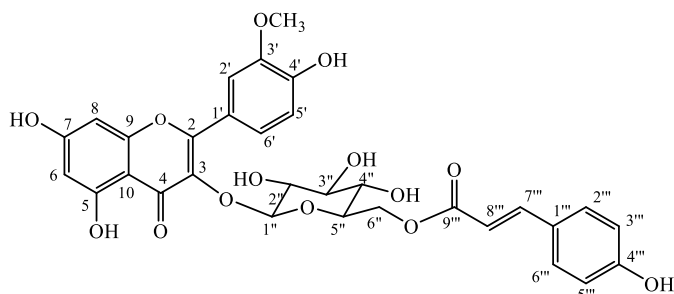
Tabela 8- Dados de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ -APT (500 e 75 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ) da substância **13a** (tilirosídeo). dados da literatura em ( $\text{DMSO}-d_6$ )



| C          | $\delta^{13}\text{C}$ | $\delta^1\text{H}$ | * $\delta^{13}\text{C}$ | * $\delta^1\text{H}$ |
|------------|-----------------------|--------------------|-------------------------|----------------------|
| 2          | 156,3                 |                    | 156,4                   |                      |
| 3          | 133,2                 |                    | 133,7                   |                      |
| 4          | 177,4                 |                    | 177,4                   |                      |
| 5          | 161,1                 |                    | 161,1                   |                      |
| 7          | 164,1                 |                    | 164,1                   |                      |
| 9          | 156,3                 |                    | 156,3                   |                      |
| 10         | 103,8                 |                    | 103,8                   |                      |
| 1'         | 129,3                 |                    | 129,7                   |                      |
| 4'         | 160,0                 |                    | 160,0                   |                      |
| 1''        | 124,9                 |                    | 124,9                   |                      |
| 4''        | 159,8                 |                    | 159,8                   |                      |
| 9''        | 166,1                 |                    | 166,2                   |                      |
| <b>CH</b>  |                       |                    |                         |                      |
| 6          | 98,7                  | 6,16 (d;2,1)       | 98,7                    | 6,14 (d, 2,0)        |
| 8          | 93,6                  | 6,40 (d;2,1)       | 93,4                    | 6,38 (d; 2,0)        |
| 2',6'      | 130,8                 | 7,99 (d;8,8)       | 130,8                   | 7,98 (d;8,7)         |
| 3',5'      | 115,1                 | 6,86 (d;8,8)       | 115,1                   | 6,85 (d;8,7)         |
| 1''        | 100,9                 | 5,43 (d.7,6)       | 100,9                   | 5.44 (d,5)           |
| 2''        | 74,2                  |                    | 74,4                    |                      |
| 3''        | 76,2                  |                    | 76,2                    |                      |
| 4''        | 69,9                  |                    | 69,9                    |                      |
| 5''        | 74,1                  |                    | 74,1                    |                      |
| 2'',6''    | 130,1                 | 7,38 (d;8,5)       | 130,1                   | 7,36 (d;8,7)         |
| 3'',5''    | 115,7                 | 6,79 (d;8,8)       | 115,7                   | 6,78 (d;8,7)         |
| 7''        | 144,6                 | 7,35 (d;16,4)      | 144,6                   | 7,33 (d;15,9)        |
| 8''        | 113,6                 | 6,10 (d;15,9)      | 113,6                   | 6,10 (d;15,9)        |
| <b>CH2</b> |                       |                    |                         |                      |
| 6''        | 62,9                  |                    | 62,9                    |                      |

Fonte: A autora (2019)-\*Deslocamento químico da literatura (GUDEJ, 2003).

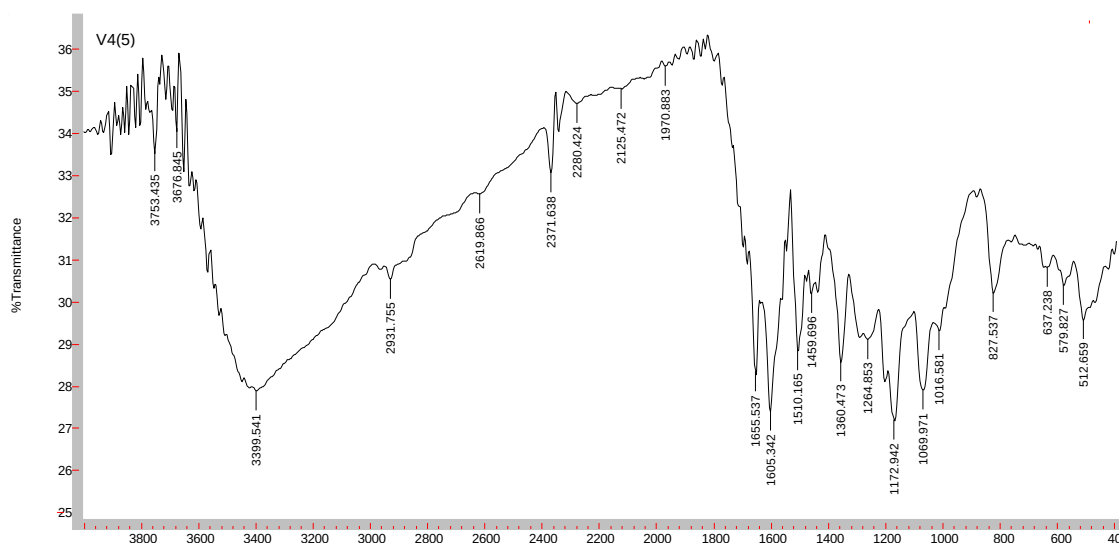
Tabela 9- Dados de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ -APT (500 e 75 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ) da substância **14a** (metoxi-tilirosídeo). dados da literatura em (MeOD)



| C         | $\delta^{13}\text{C}$ | $\delta^1\text{H}$ | * $\delta^{13}\text{C}$ | * $\delta^1\text{H}$ |
|-----------|-----------------------|--------------------|-------------------------|----------------------|
| 2         | 158,7                 |                    | 157,3                   |                      |
| 3         | 133,0                 |                    | 133,9                   |                      |
| 4         | 177,5                 |                    | 177,9                   |                      |
| 5         | 160,7                 |                    | 161,5                   |                      |
| 7         | 163,8                 |                    | 164,5                   |                      |
| 9         | 156,4                 |                    | 156,9                   |                      |
| 10        | 103,0                 |                    | 104,2                   |                      |
| 1'        | 121,9                 |                    | 122,5                   |                      |
| 3'        | 146,8                 |                    | 146,8                   |                      |
| 4'        | 149,5                 |                    | 149,4                   |                      |
| 1'''      | 125,3                 |                    | 125,6                   |                      |
| 4'''      | 160,0                 |                    | 159,7                   |                      |
| 9'''      | 165,3                 |                    | 167,4                   |                      |
| CH        |                       |                    |                         |                      |
| 6         | 98,1                  | 6,13 (d;2,1)       | 98,8                    | 6,13 (d, 2,1)        |
| 8         | 93,3                  | 6,21 (d;2,0)       | 93,5                    | 6,28 (d,1,7)         |
| 2'        | 113,5                 | 7,87 (d;2,1)       | 112,8                   | 7,86 (d,2,1)         |
| 5'        | 114,7                 | 6,84 (d;8,8)       | 114,5                   | 6,84 (d,8,8)         |
| 6'        | 121,0                 | 7,55 (dd,2,1, 8,3) | 121,7                   | 7,55 (dd,2,1, 8,4)   |
| 1''       | 101,5                 | 5,37(d, 7,6)       | 102,6                   | 5,37 (d,7.8)         |
| 2''       | 74,2                  |                    | 74,5                    | 3,53-4,30            |
| 3''       | 76,2                  |                    | 76,6                    |                      |
| 4''       | 70,0                  |                    | 70,4                    |                      |
| 5''       | 74,1                  |                    | 74,4                    |                      |
| 2''',6''' | 129,3                 | 7,26 (d,8,9)       | 129,8                   | 7,28 (d,8,7)         |
| 3''',5''' | 115,6                 | 6,80 (d;8,6)       | 115,4                   | 6,80 (d,8,4)         |
| 7'''      | 144,6                 | 7,38 (d; 16,6)     | 145,2                   | 7,40 (d,15,9)        |
| 8'''      | 113,3                 | 6,12 (d;15,7)      | 113,3                   | 6,09 (d,15,9)        |
| CH2       |                       |                    |                         |                      |
| 6''       | 62,9                  | 3,53-4,30          | 62,9                    | 3.53–4.30            |
| MeO- 4'   | 55,7                  | 3,81               | 55,3                    | 3,80                 |

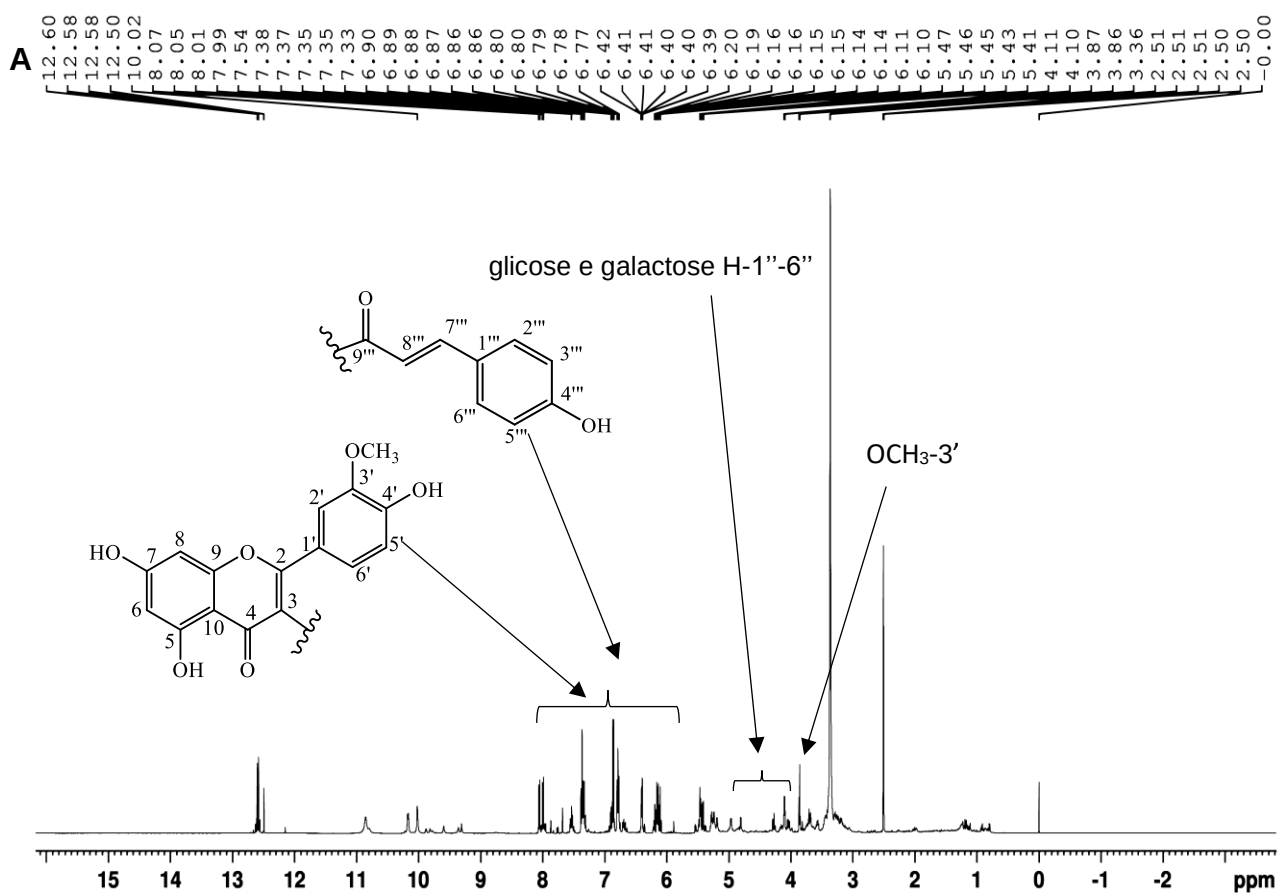
Fonte:A autora (2019)-\*Deslocamento químico da literatura (ADEROGBA et al., 2011).

Figura 22- Espectro de IV da mistura V.4 (12a,13a e 14a) em pastilha de KBr

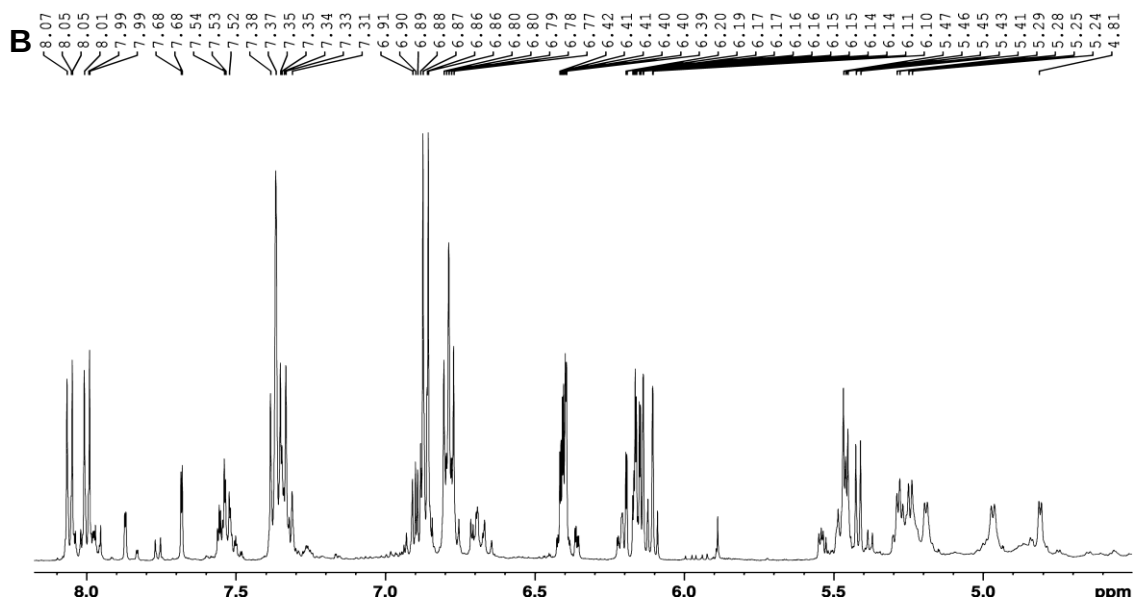


Fonte:A autora (2019)

Figura 23- Espectro de RMN<sup>1</sup>H(A) e expansão(B) na região de 9-4 ppm da mistura V.4 (12a,13a e 14a) em DMSO-*d*<sub>6</sub> (300 MHz)

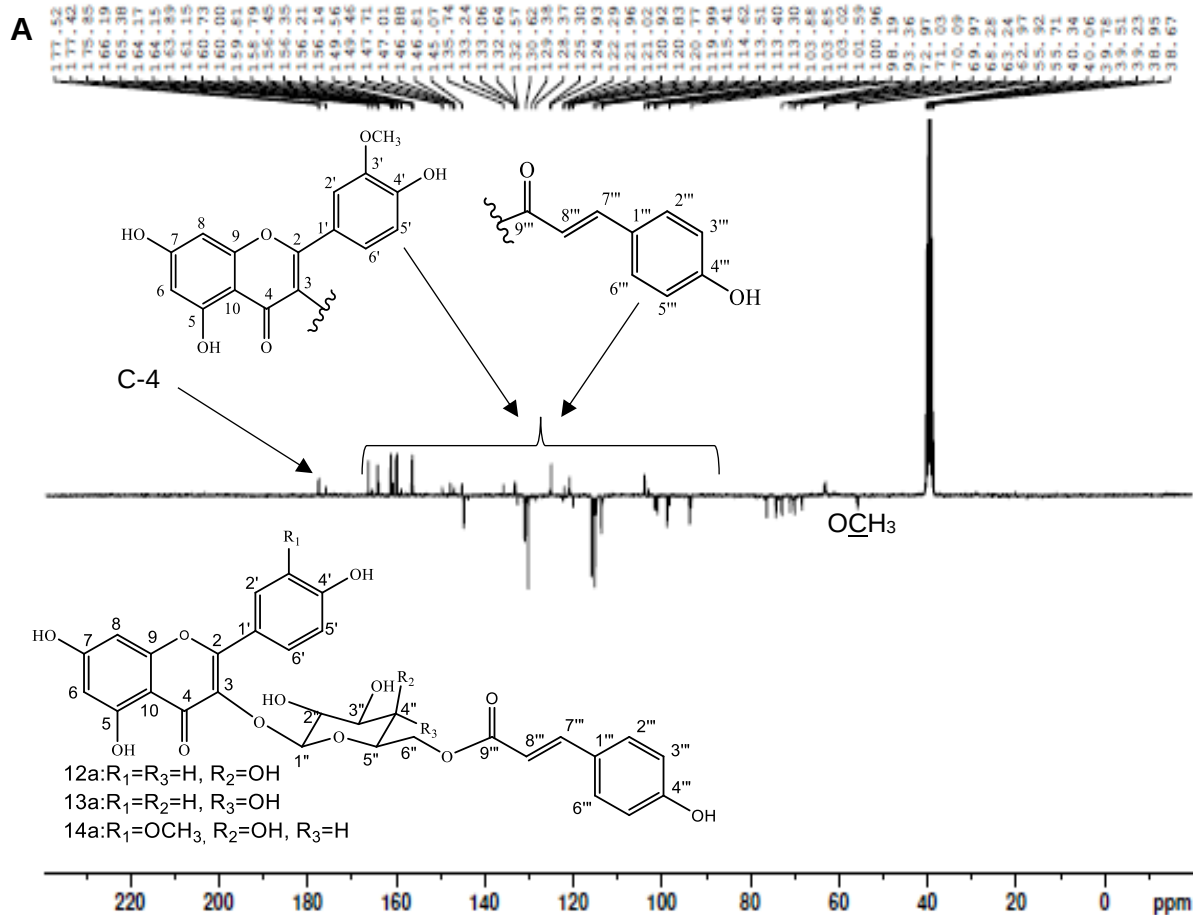


Fonte:A autora (2019)

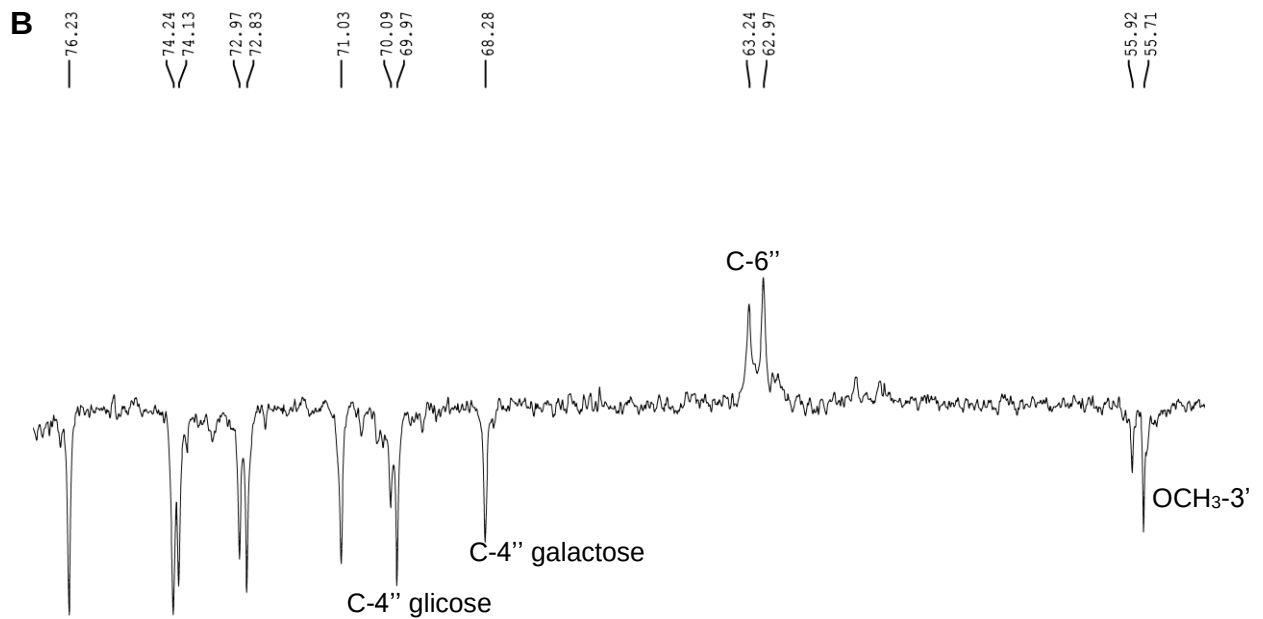


Fonte:A autora (2019)

Figura 24- Espectro de APT(A) e expansão na região de 76-55 ppm (B) da mistura V.4 (12a,13a e 14a) em DMSO- $d_6$  (75 MHz)

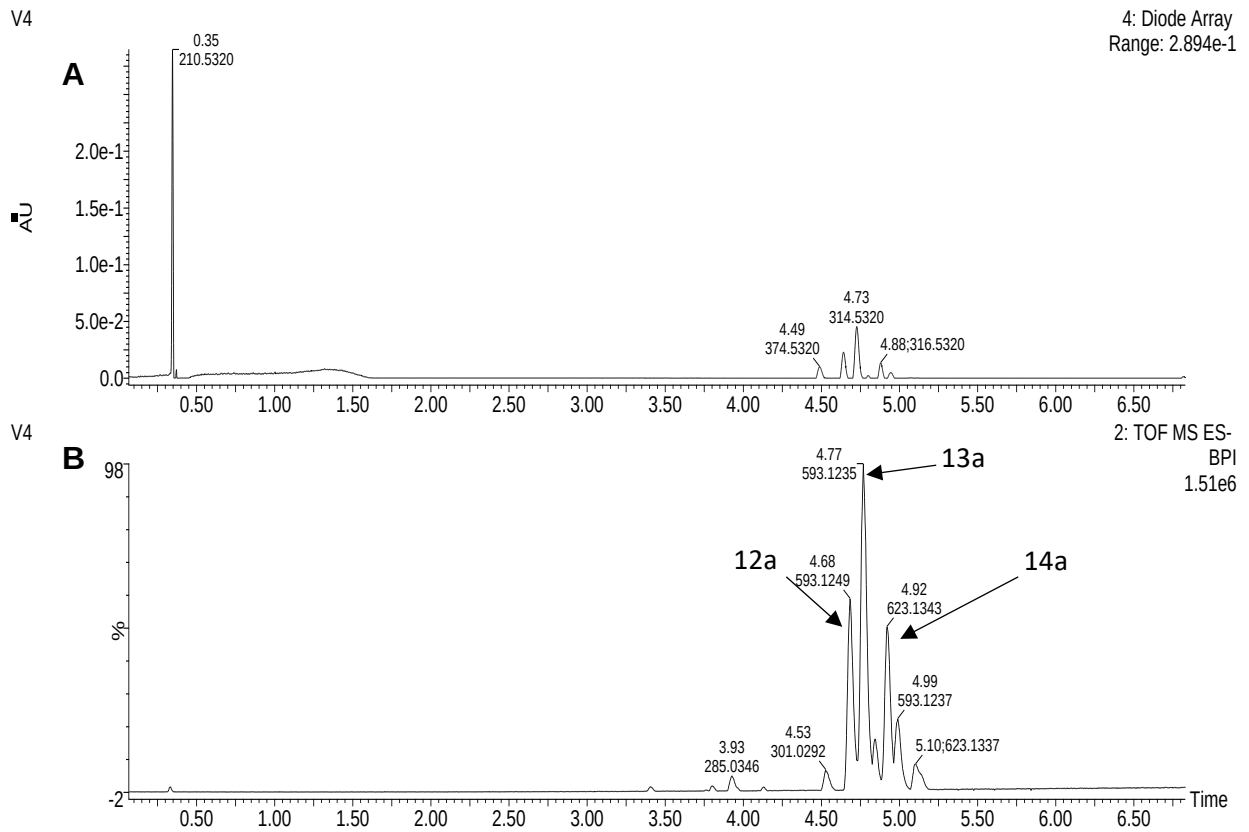


Fonte:A autora (2019)



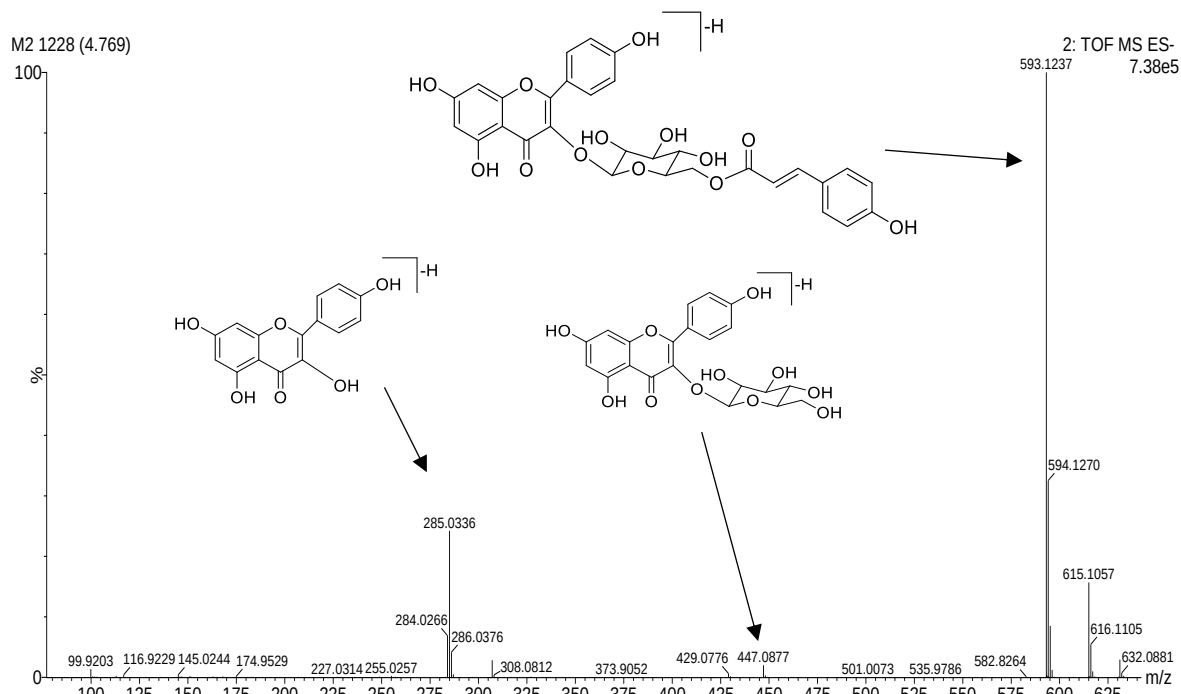
Fonte:A autora (2019)

Figura 25- Cromatograma UPLC-DAD (A) e ESI pico íon base (BPI) (B) da mistura **V.4** (**12a,13a e 14a**) analisadas por UPLC-QTOF-MS



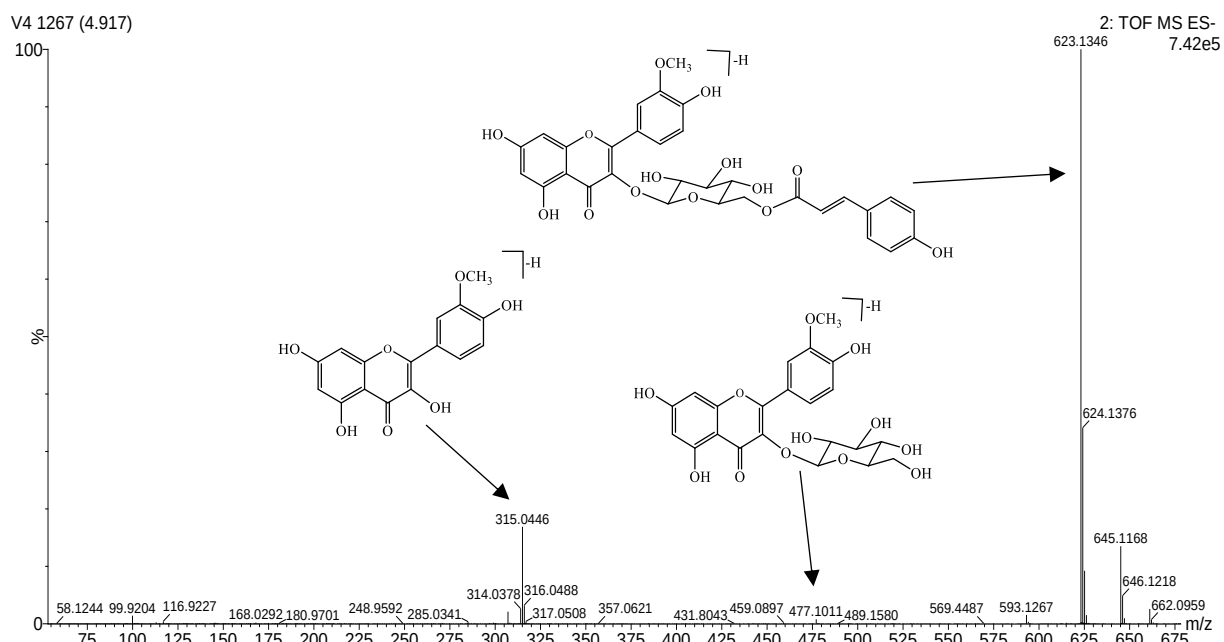
Fonte:A autora (2019)

Figura 26- Espectro de íons produtos para  $m/z$  593,1249 isolados no extrato acetato de etila das flores de *C. heliotropiifolius*



Fonte: A autora (2019)

Figura 27- Espectro de íons produtos para  $m/z$  623,1335 isolados no extrato acetato de etila das flores de *C. heliotropiifolius*



Fonte: A autora (2019)

#### 1.4.2.4 Determinação estrutural da substância M.3 (16a) isolada da fração AcOEt das flores de *C. blanchetianus*

O composto **16a** foi obtido como um sólido amorfo amarelo. O espectro de absorção na região do infravermelho IV (Figura 28) exibiu uma banda em  $3669\text{ cm}^{-1}$  indicativa de deformação axial de O-H. A banda em  $2931\text{ cm}^{-1}$  e  $2949\text{ cm}^{-1}$  indica deformação axial de ligação C-H, também foi observado uma banda em  $1657\text{ cm}^{-1}$  relacionada à deformação axial de ligação de C=O, provavelmente de carbonila conjugada. A banda em  $1479\text{ cm}^{-1}$  relaciona-se à deformação axial de ligação de C=C de anel aromático e bandas em 1165, 1006 e  $850\text{ cm}^{-1}$  são indicativas de deformações angulares de ligação C-H de anel aromático.

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 29) mostrou sinais na região aromáticos equivalentes a  $\delta_{\text{H}}$  6,37 e  $\delta_{\text{H}}$  6,71,  $\delta_{\text{H}}$  7,48,  $\delta_{\text{H}}$  6,90 e  $\delta_{\text{H}}$  7,59. Duas absorções em  $\delta_{\text{H}}$  3,86 e  $\delta_{\text{H}}$  3,80 confirmaram a presença de dois grupamentos metoxilas e observou-se também, sinal em  $\delta_{\text{H}}$  12,96 típica de uma hidroxila fenólica na posição C-5. Com isto pode-se concluir que é um flavonoide dimetoxilado derivado da quercetina (SANTOS; SCHRIPEMA; KUSTER, 2005).

O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 30) revelou ressonâncias de 17 carbonos, correspondentes a dez átomos de carbono não hidrogenados, cinco mono hidrogenados e dois de grupamentos metoxilas. Os sinais em  $\delta_{\text{C}}$  177,75 indicam a presença de carbono de grupos carbonila de cetonas conjugadas; confirmando a sugestão fornecida através de dados obtidos no espectro na região do infravermelho, as metoxila foram ligadas de acordo com o descrito por SILVA et al. 2009, onde carbonos metoxílicos localizados em sistemas aromáticos com impedimento estérico aparecem em torno de  $\delta_{\text{CH}_3}$  60, revelando diferença quando se compara com valores em torno de  $\delta_{\text{CH}_3}$  56 observados quando se encontram em posições livres de influência estérica (sem substituintes nas duas posições orto). o sinal em  $\delta_{\text{CH}_3}$  59,6 foi consistente com a metoxilação no C-3 e em  $\delta_{\text{CH}_3}$  55,6 definida para a posição C-7.

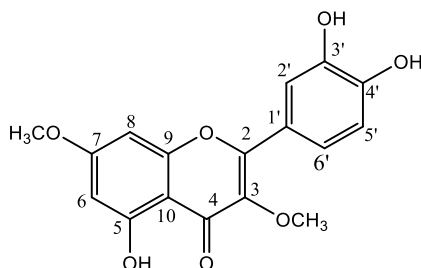
O espectro de massas de alta resolução obtido com ionização por eletrospray (ESI-MS) (Figura 31) no modo negativo mostra pico de íon molecular em  $m/z$  329,0615  $[\text{M-H}]^-$  compatível com uma massa molecular  $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{O}_7$  e íons fragmentos em  $m/z$  314,0660  $[\text{M-H-CH}_3]^-$ , 299,0191  $[\text{M-H-2CH}_3]^-$ , 271,0231  $[\text{M-H-2CH}_3\text{-CO}]^-$  (Figura 32).

Baseados nos dados espectrais apresentados e na comparação com os dados descritos na literatura (Tabela 10), foi possível concluir que **M3** tratava-se de um



derivado dimetoxilado da quercetina denominado 3,7-dimetoxiquercetina, já isolado anteriormente da planta *Lurreea cuneifolia* (VALESI et al., 1972) e partes aéreas de *Heliotropium taltalense* (BRITO et al., 2016).

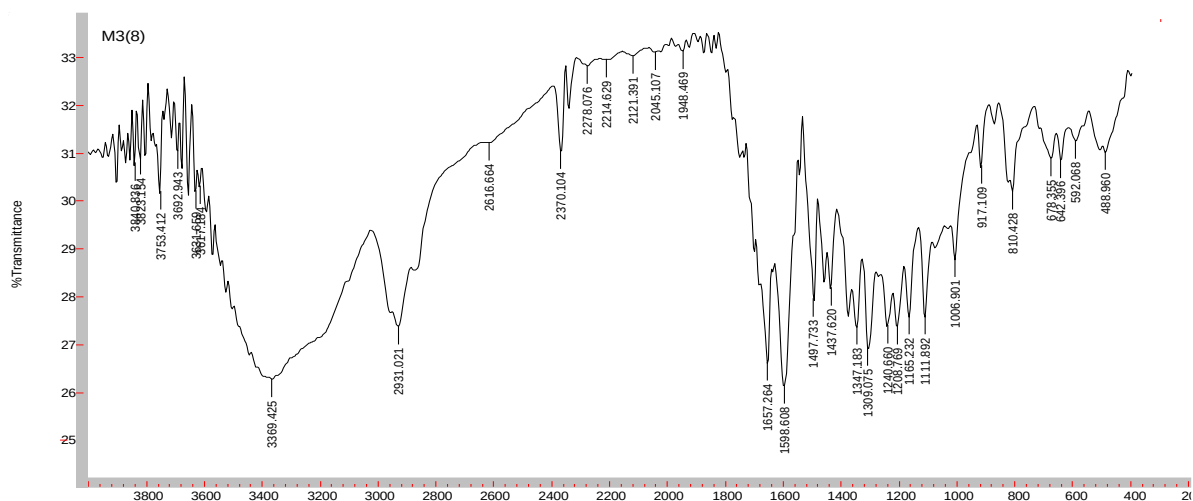
Tabela 10- Dados de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ -APT (500 e 75 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ) da substância **16a** (3,7-dimetoxiquercetina). dados da literatura em ( $\text{DMSO}-d_6$ )



| C     | $\delta^{13}\text{C}$ | $\delta^1\text{H}$ | * $\delta^{13}\text{C}$ | * $\delta^1\text{H}$ |
|-------|-----------------------|--------------------|-------------------------|----------------------|
| 2     | 156,2                 |                    | 156,2                   |                      |
| 3     | 136,6                 |                    | 137,8                   |                      |
| 4     | 177,7                 |                    | 177,9                   |                      |
| 5     | 160,9                 |                    | 160,9                   |                      |
| 7     | 165,1                 |                    | 165,00                  |                      |
| 9     | 155,9                 |                    | 155,9                   |                      |
| 10    | 105,2                 |                    | 105,1                   |                      |
| 1'    | -                     |                    | 120,4                   |                      |
| 3'    | 145,3                 |                    | 145,3                   |                      |
| 4'    | 148,9                 |                    | 149,0                   |                      |
| CH    |                       |                    |                         |                      |
| 6     | 97,8                  | 6,37s              | 97,6                    | 6,37s                |
| 8     | 92,4                  | 6,71s              | 92,1                    | 6,71s                |
| 2'    | 115,5                 | 7,48s              | 115,4                   | 7,49s                |
| 5'    | 115,7                 | 6,90(d,8,4)        | 115,6                   | 6,91(d,8,3)          |
| 6'    | 120,6                 | 7,59(dd,8,4)       | 120,6                   | 7,59(dd;8,3)         |
| MeO-3 | 59,6                  | 3,80               | 59,6                    | 3,80                 |
| MeO-7 | 55,6                  | 3,86               | 56,0                    | 3,87                 |
| OH-5  |                       | 12,66              |                         | 12,68                |

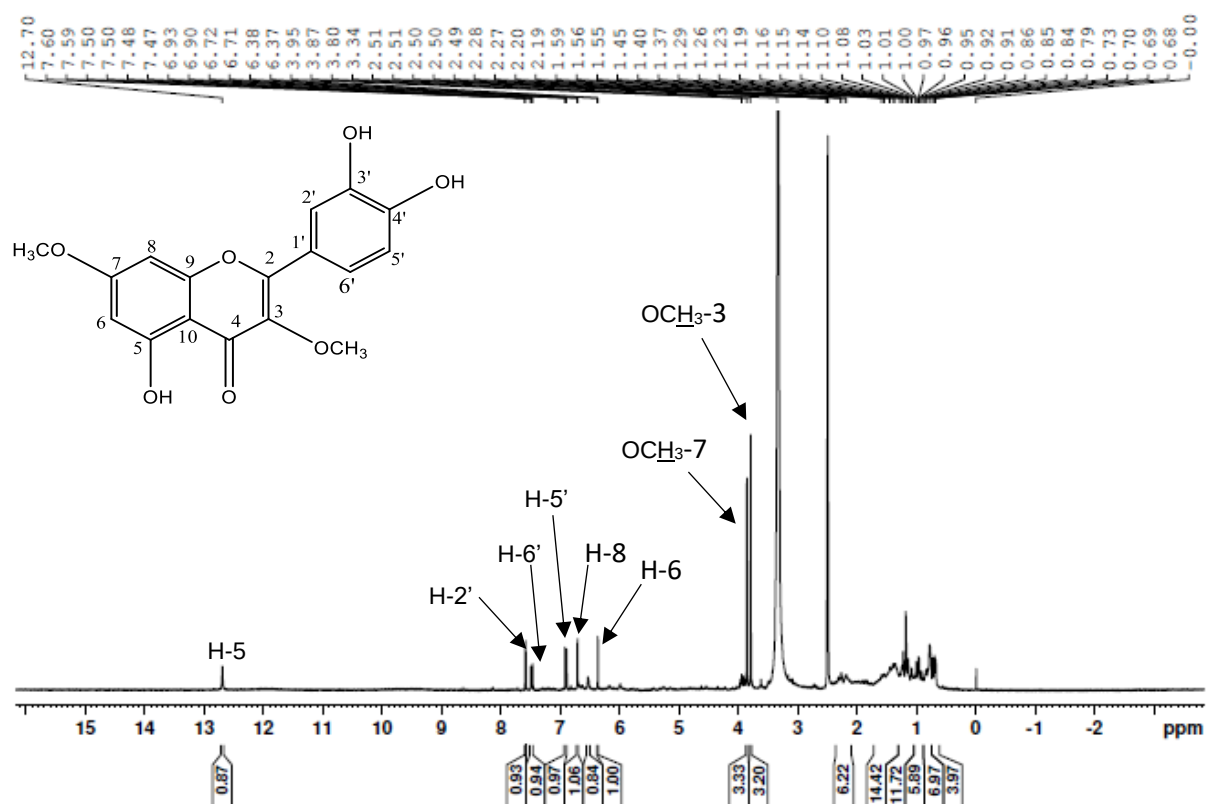
Fonte: A autora (2019)-\*Deslocamento químico da literatura (BRITO et al., 2016).

Figura 28- Espectro de IV da substância **16a** (3,7-dimetoxiquercetina) em pastilha de KBr



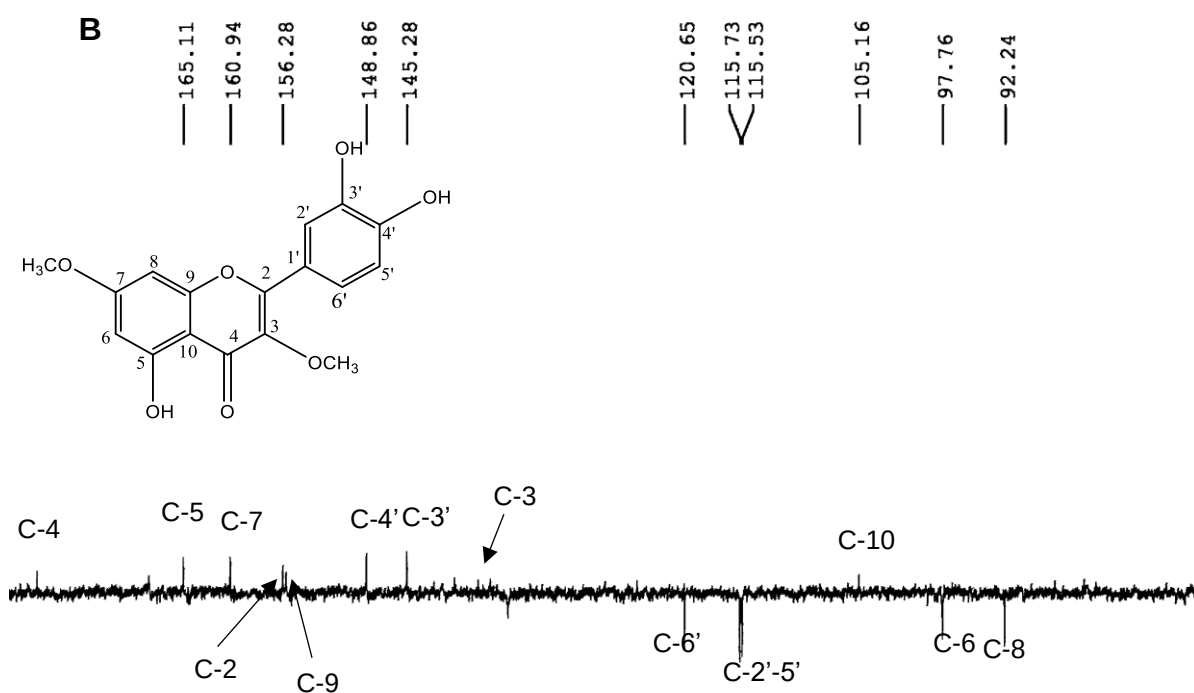
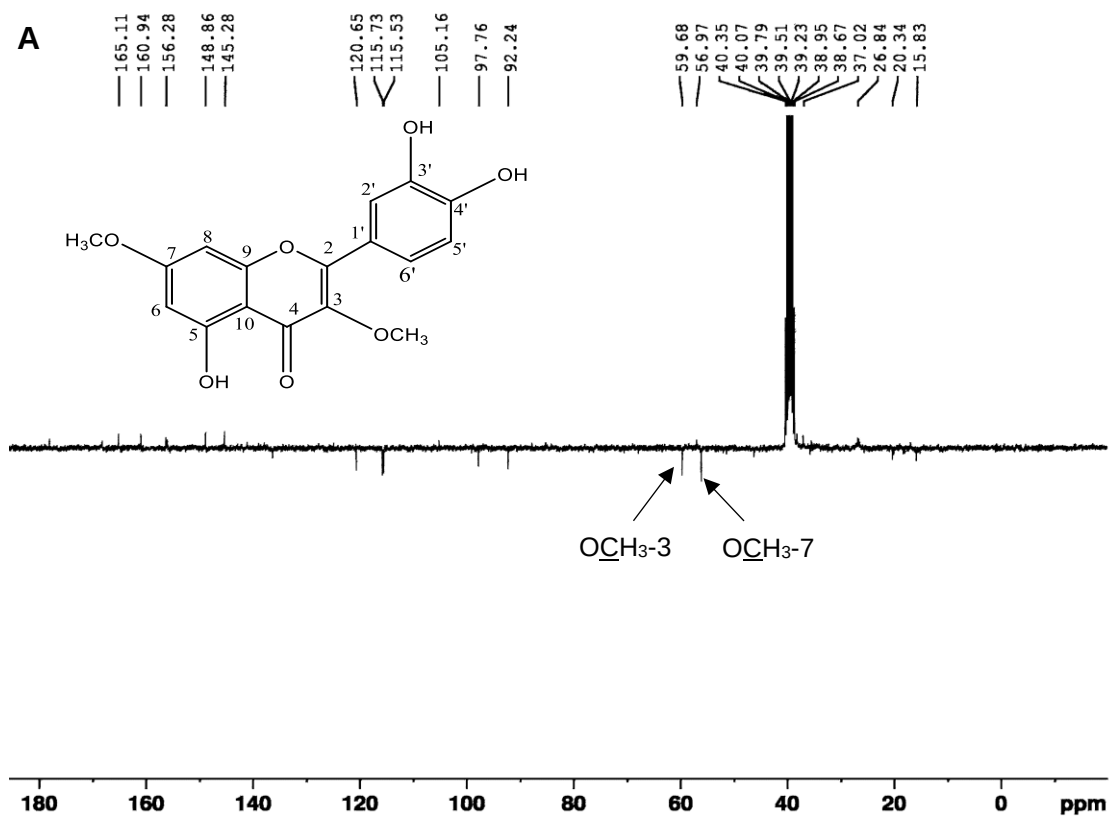
Fonte:A autora (2019)

Figura 29- RMN de  $^1\text{H}$  da substância **16a** (3,7-dimetoxiquercetina) em  $\text{DMSO}-d_6$  (300MHz)



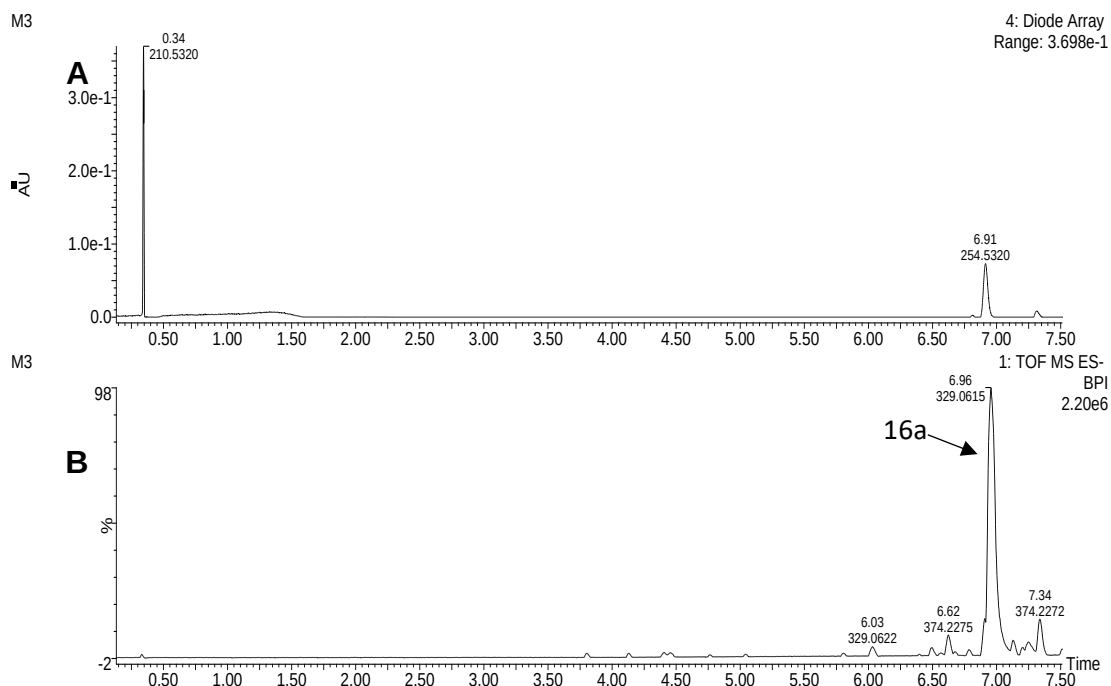
Fonte:A autora (2019)

Figura 30- Espectro de APT (A) e expansões (B) da substância **16a** (3,7-dimetoxiquercetina) em DMSO- $d_6$  (75 MHz)



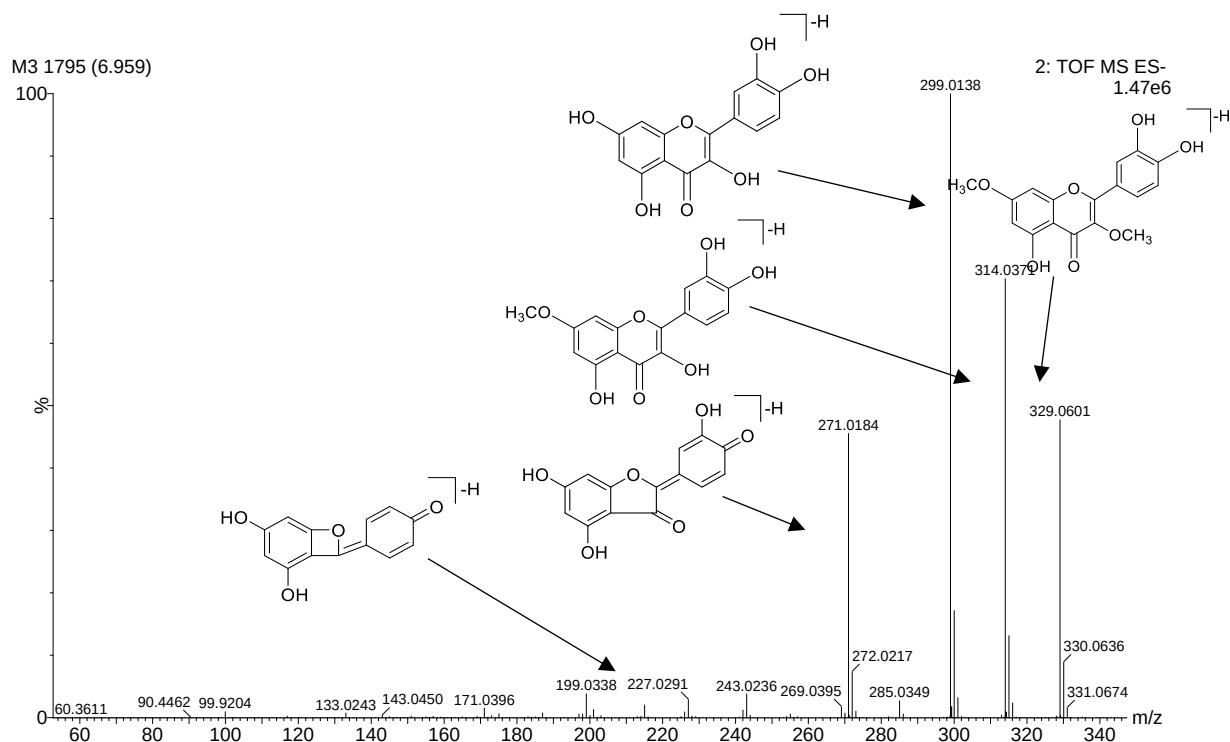
Fonte: A autora (2019)

Figura 31- Cromatograma UPLC-DAD (320 nm) (A) e ESI pico íon base (BPI) (B) de **16a** (3,7-dimetoxiquercetina) analisadas por UPLC-QTOF-MS



Fonte: A autora (2019)

Figura 32- Espectro de íons produtos para  $m/z$  329,0610 (3,7-dimetoxiquercetina) isolada da fração acetato de etila das flores de *C. blanchetianus*



Fonte: autor (2019)

#### 1.4.2.5 Determinação estrutural da substância 17a isolada da fração AcOEt das flores de *C. blanchetianus*

O espectro de absorção na região do infravermelho (Figura 33) apresentou banda intensa em  $3397\text{ cm}^{-1}$  relativa à deformação axial de O-H de fenol, a absorção em  $1659\text{ cm}^{-1}$  foi atribuída à carbonila conjugada, banda em  $2926$  referente à deformação axial das ligações C-H de carbono  $\text{sp}^3$ ; as bandas em  $1598$  e  $1500\text{ cm}^{-1}$  foram atribuídas a deformações axiais das ligações C=C de aromáticos. Ainda foi observada uma banda em  $1256\text{ cm}^{-1}$ , atribuída à deformação axial da ligação C-O de éteres aromáticos.

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Figura 34) apresentou um sinal em  $\delta_{\text{H}}$  12,65 característicos de hidrogênio de hidroxila em ponte com carbonila, observada normalmente em espectros de hidrogênio de flavonoides (SILVA et al., 2006b), sinais característicos de hidrogênios aromáticos na faixa de  $\delta_{\text{H}}$  6,36-7,71; bem como três sinais de hidrogênios metoxílicos em  $\delta_{\text{H}}$  3,81; 3,87; 3,93. Os dupletos em  $\delta_{\text{H}}$  6,37 e  $\delta_{\text{H}}$  6,45 correspondentes aos carbonos 6 e 8, são característicos de flavonas e que contêm substituição nos carbonos 5 e 7, também foram observadas um conjunto de sinais em  $\delta_{\text{H}}$  7,68 ( $J=8,5$ ; 1,9 Hz),  $\delta_{\text{H}}$  7,05 ( $J = 8,4$  Hz) e  $\delta_{\text{H}}$  7,71 ( $J = 1,8\text{Hz}$ ) sugerindo substituições nos carbonos 3' e 4' do anel B.

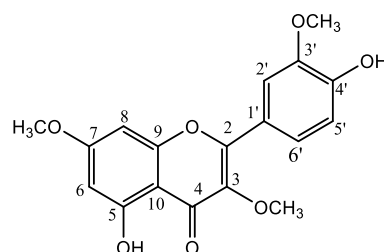
A análise do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -APT (Figura 35) mostrou picos específicos para flavonas substituídas na posição 3, os sinais foram:  $\delta_{\text{C}}$  138,3; 155,6; 178,1; referentes aos carbonos C-2, C-3 e C-4, respectivamente. Sendo assim, a estrutura se trata de uma trimetoxiflavona dihidroxilada. O espectro revelou a presença de 5 carbonos aromáticos (CH) e 3 carbonos metílicos ( $\text{CH}_3$ ) ligados a átomos de oxigênio, característicos de grupos metoxila ( $\delta_{\text{C}}$  59,7; 56,1 e 56,9). Por subtração dos sinais dos espectros, constatou-se a presença de 10 absorções relativas a carbonos não hidrogenados (C), dos quais o sinal em  $\delta_{\text{C}}$  178,14 foi atribuído a uma carbonila, enquanto que os sinais em  $\delta_{\text{C}}$  165,7; 162,3; 157,0; 156,2; 148,6; 146,6 e 139,1 são consistentes com carbonos oxigenados. As posições das metoxilas foram propostas de acordo com o descrito por SILVA et al., 2009 e partir dos deslocamentos químicos dos carbonos.

O espectro de ESI-MS do composto (Figura 36) revelou pico de íon molecular desprotonado em  $m/z$  343,0974  $[\text{M-H}]^-$ , correspondente à fórmula molecular  $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{O}_7$

e íons produtos em  $m/z$  328,0511,  $m/z$  313,0272 formados pela perda de  $\text{CH}_3$  e  $m/z$  285,0327  $[\text{M}-\text{H}-2\text{CH}_3-\text{CO}]^-$  (Figura 37).

De acordo com os resultados obtidos e comparação com os dados da literatura o composto foi identificado como 5,4'-dihidroxi-3,7,3'-trimetoxiflavona conhecido como pachipodol (Tabela 11) isolado anteriormente das partes aéreas de *Croton ciliatoglanduliferus* (GONZÁLEZ-VÁZQUEZ et al., 2006) e de *Ballota glandulosíssima* (ÇITOĞLU et al., 2003).

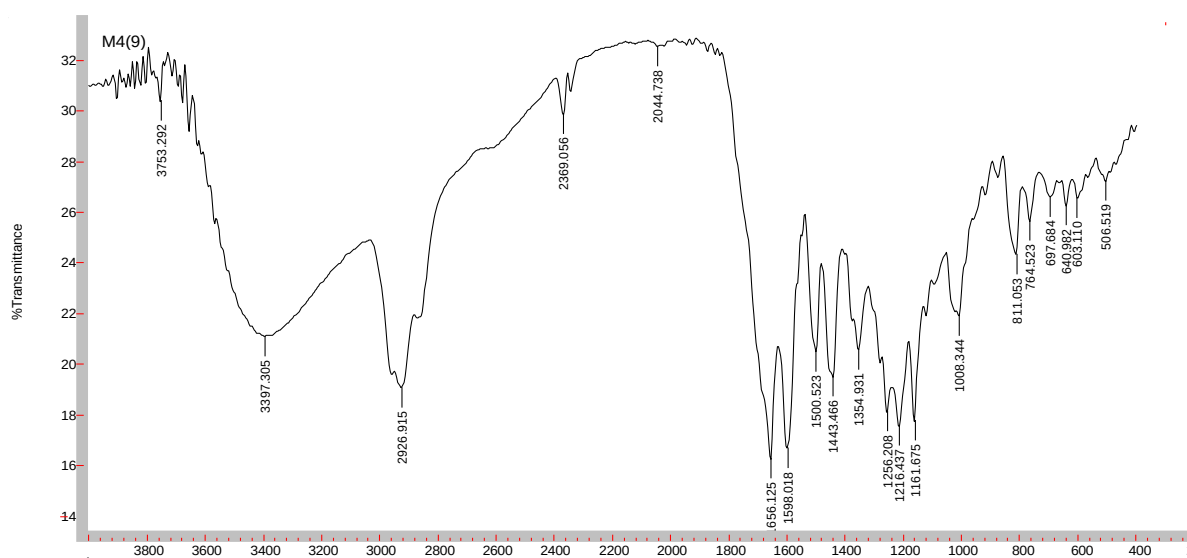
Tabela 11- Dados de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ -APT (500 e 75 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ) da substância **17a** (pachipodol). dados da literatura em ( $\text{CDCl}_3$ )



| C             | $\delta^{13}\text{C}$ | $\delta^1\text{H}$  | * $\delta^{13}\text{C}$ | * $\delta^1\text{H}$ |
|---------------|-----------------------|---------------------|-------------------------|----------------------|
| <b>2</b>      | 155,6                 |                     | 156,2                   |                      |
| <b>3</b>      | 138,3                 |                     | 139,1                   |                      |
| <b>4</b>      | 178,1                 |                     | 179,0                   |                      |
| <b>5</b>      | 160,9                 |                     | 162,3                   |                      |
| <b>7</b>      | 165,2                 |                     | 165,7                   |                      |
| <b>9</b>      | 156,3                 |                     | 157,0                   |                      |
| <b>10</b>     | 105,3                 |                     | 106,3                   |                      |
| <b>1'</b>     | 122,6                 |                     | 122,7                   |                      |
| <b>3'</b>     | 146,3                 |                     | 146,6                   |                      |
| <b>4'</b>     | 150,3                 |                     | 148,6                   |                      |
| <b>CH</b>     |                       |                     |                         |                      |
| <b>6</b>      | 97,8                  | 6,39(d,2,11)        | 98,1                    | 6,37(d, 2,11)        |
| <b>8</b>      | 92,3                  | 6,73(d,2,11)        | 92,4                    | 6,45(d, 2,11)        |
| <b>2'</b>     | 111,0                 | 7,73(d,1,38)        | 111,2                   | 7,71(d, 1,8)         |
| <b>5'</b>     | 114,4                 | 7,10(d,9,26)        | 114,8                   | 7,05(d, 8,4)         |
| <b>6'</b>     | 120,1                 | 7,61(dd, 2,20;8,71) | 122,9                   | 7,68(dd,1,9;8,5)     |
| <b>MeO-3</b>  | 59,7                  | 3,87                | 60,0                    | 3,87                 |
| <b>MeO-7</b>  | 56,1                  | 3,81                | 56,1                    | 3,88                 |
| <b>MeO-3'</b> | 56,9                  | 3,93                | 56,4                    | 3,99                 |
| <b>OH-5</b>   |                       | 12,66               |                         | 12,63                |

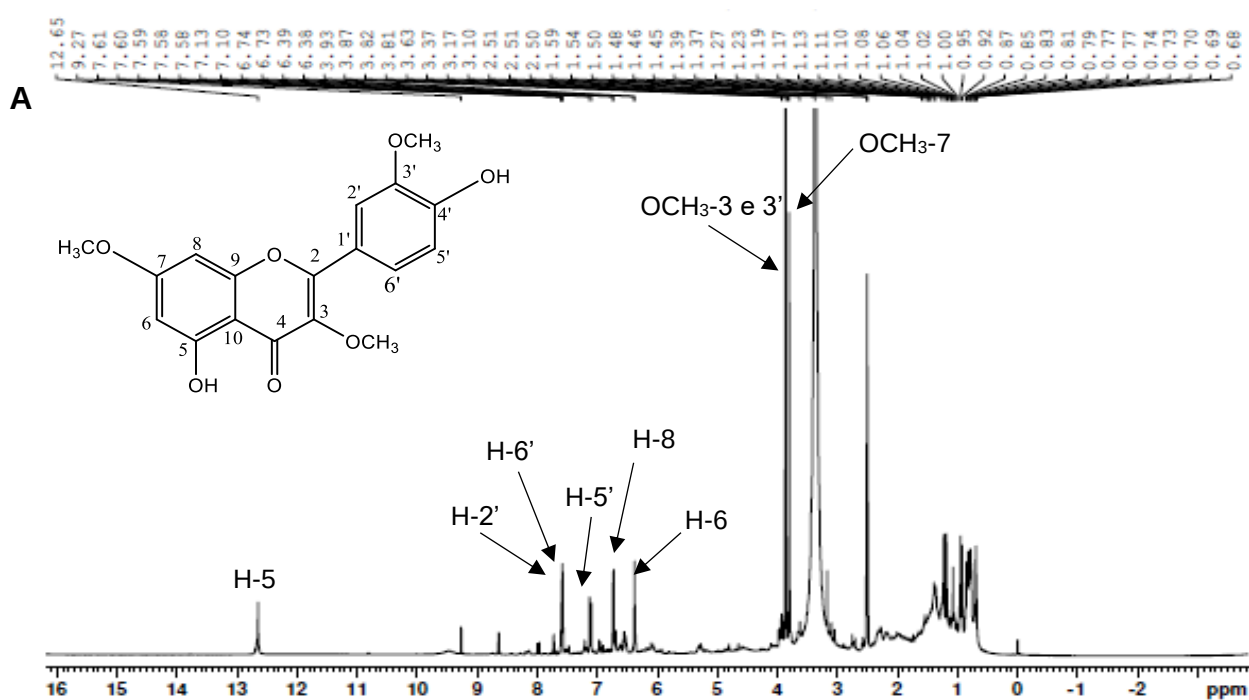
Fonte: A autora (2019)-\*Deslocamento químico da literatura (SILVA et al., 2006a).

Figura 33- Espectro de IV da substância **17a** (pachipodol) em pastilha de KBr

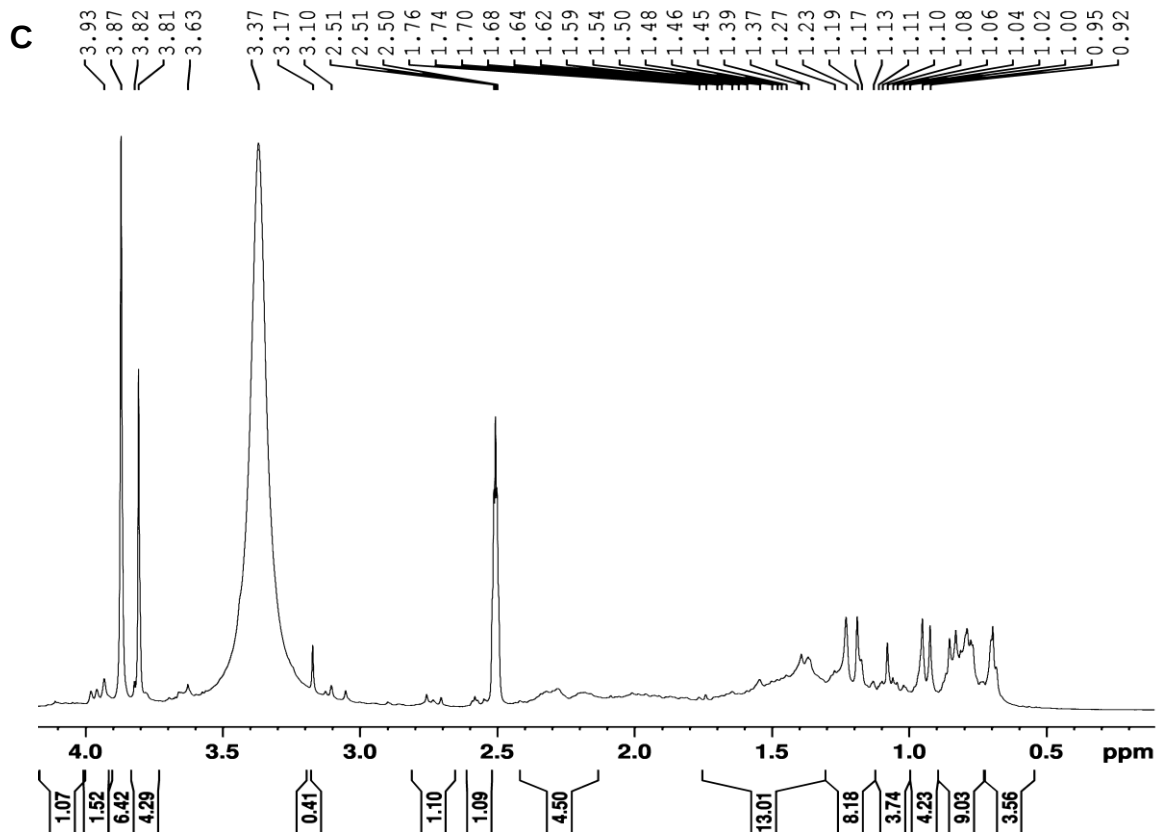
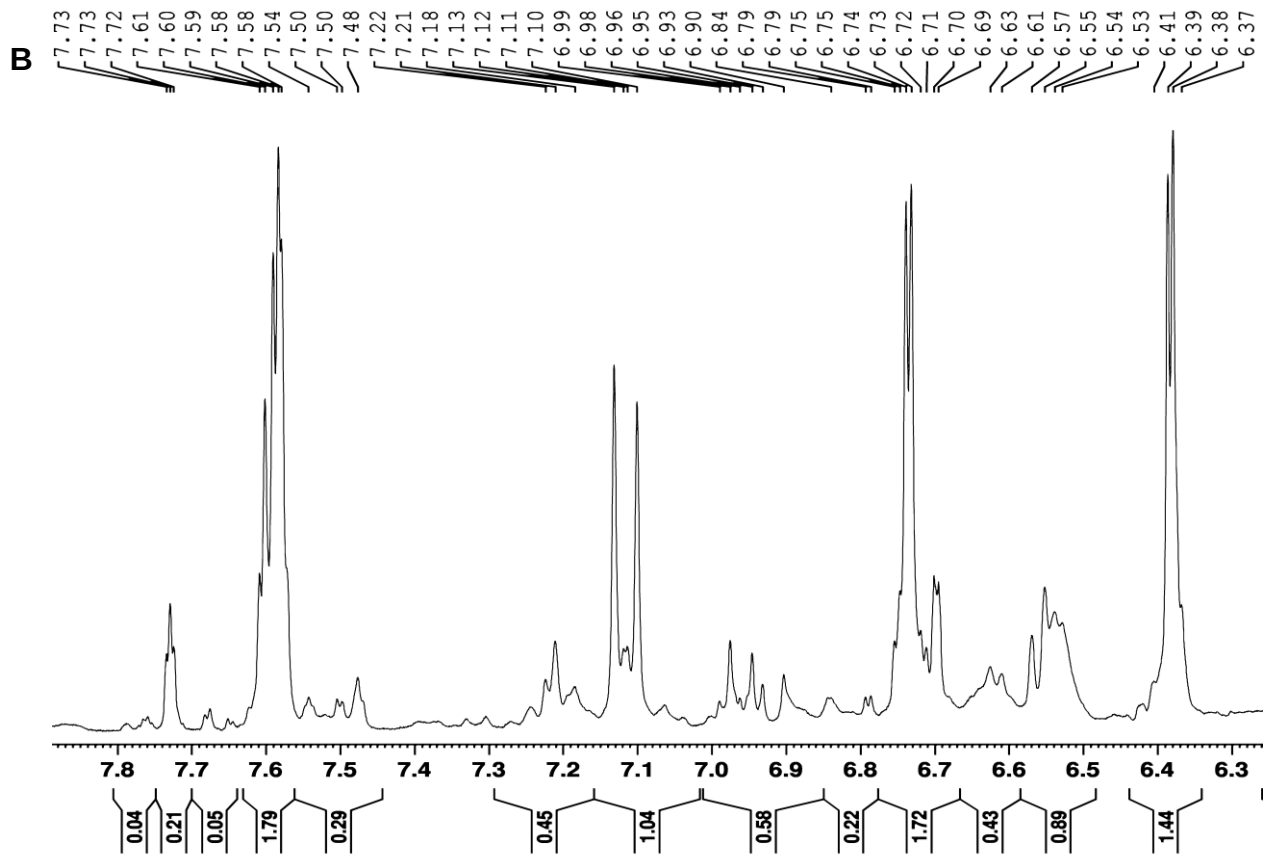


**Fonte:**A autora (2019)

Figura 34- Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (A) e expansões (B e C) da substância **17a** (pachipodol) em DMSO- $d_6$  (300 MHz)



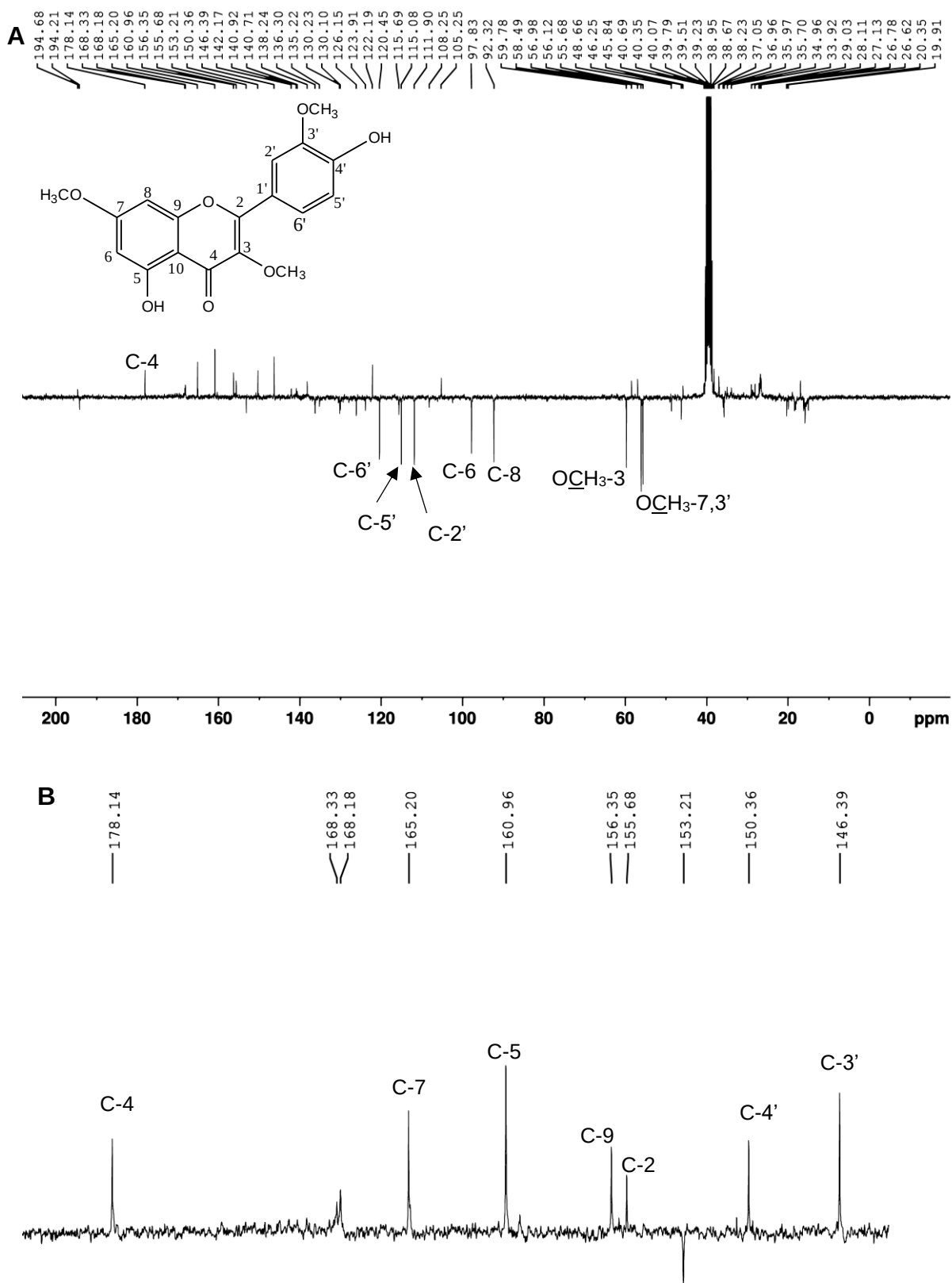
**Fonte:**A autora (2019)



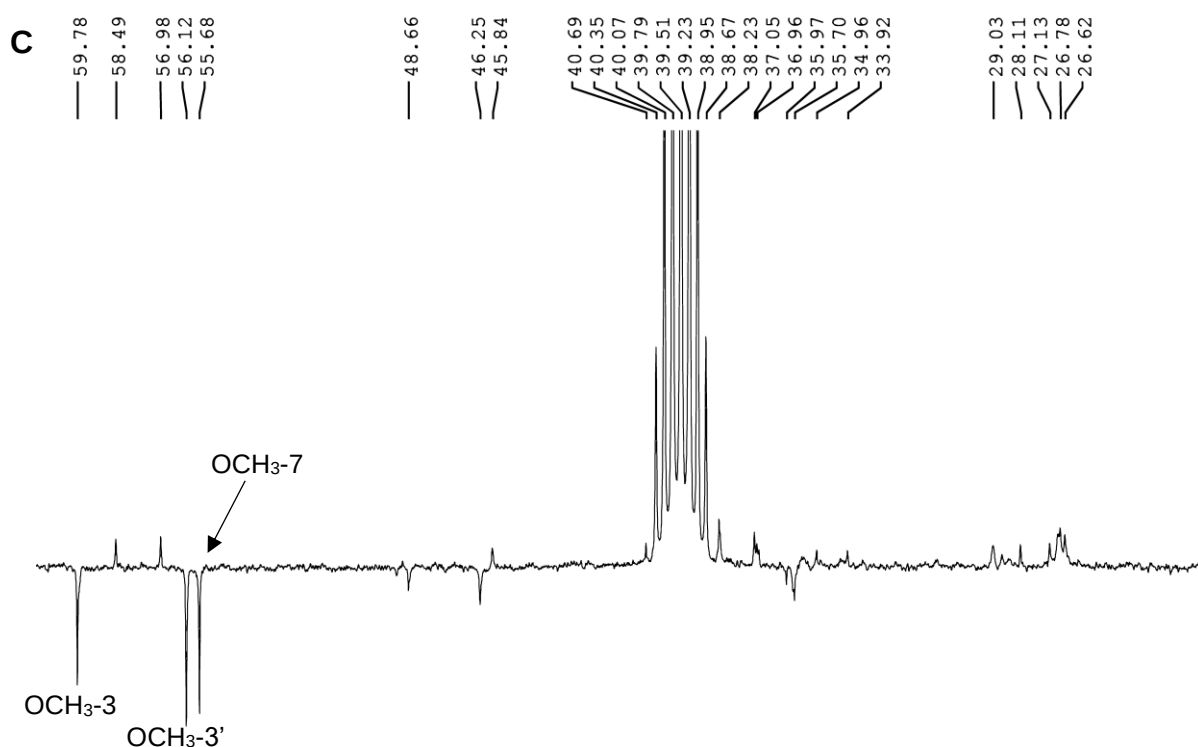
Fonte: A autora (2019)



Figura 35- Espectro de RMN APT (A) e expansões (B e C) da substância **17a** (pachipodol) em DMSO- $d_6$  (75 MHz)

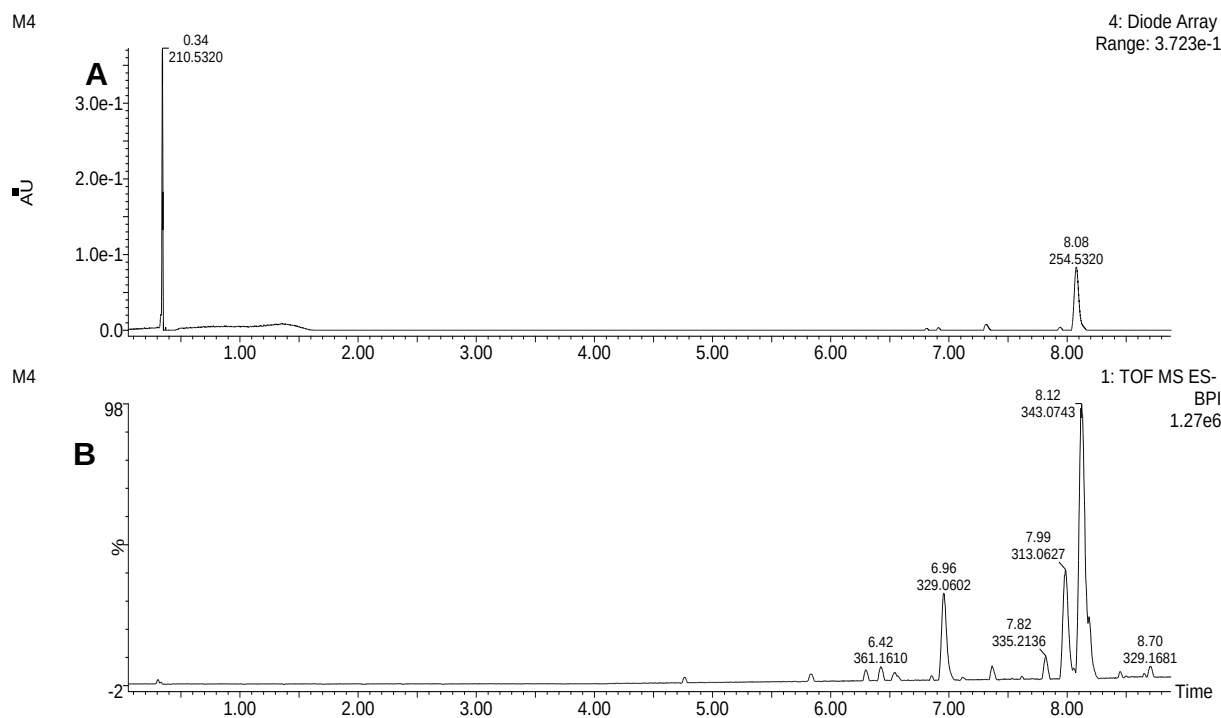


Fonte: A autora (2019)



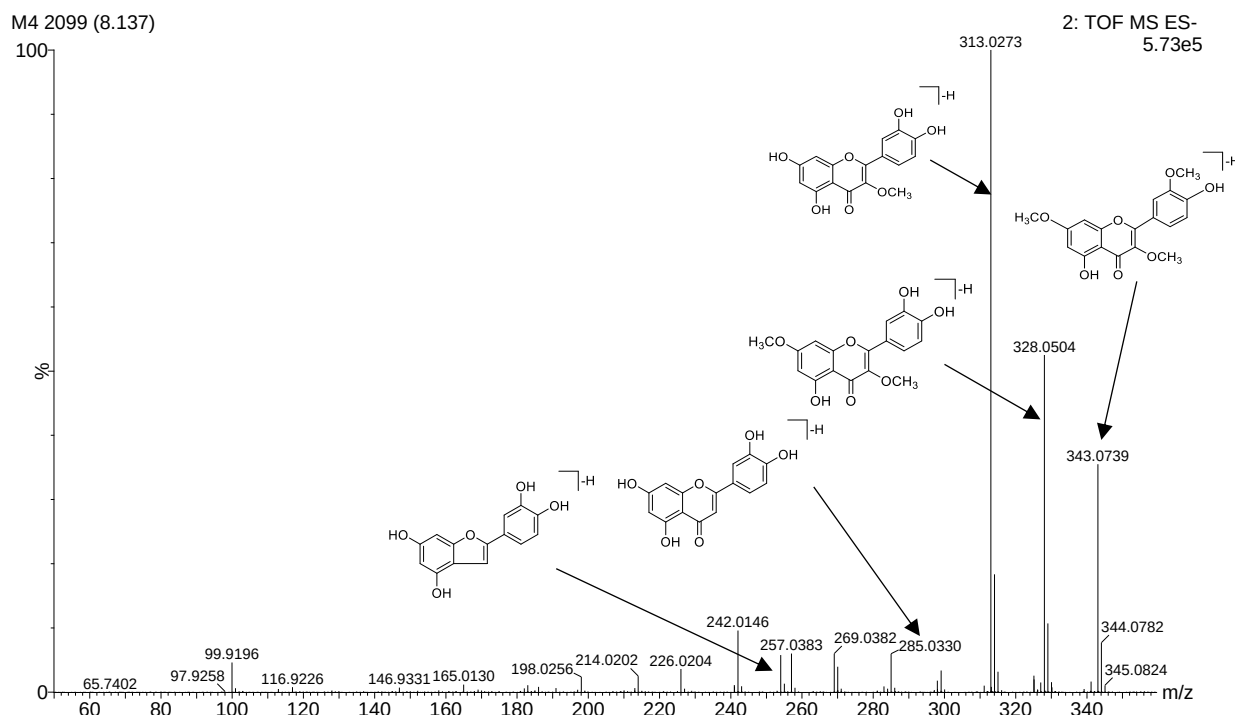
Fonte: A autora (2019)

Figura 36- Cromatograma UPLC-DAD (A) e ESI pico íon base (BPI) (B) de **17a** pachipodol analisadas por UPLC-QTOF-MS



Fonte: A autora (2019)

Figura 37- Espectro de íons produtos para  $m/z$  343,0974 (pachipodol) isolados no extrato acetato de etila das flores de *C. blanchetianus*



Fonte: A autora (2019)

Os compostos isolados da fração acetato de etila das flores das espécies *C. heliotropiifolius*, *C. blanchetianus* descritos neste trabalho estão sendo relatados pela primeira vez nestas espécies.

#### 1.4.3 Caracterização dos compostos por UPLC-DAD-QTOF MS

A Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência Acoplada ao Detector de Arranjo de Diodos e Espectrômetro de Massas por Tempo de Voo (UPLC-PDA-qTOF-MS/MS) em modo negativo foi utilizada para identificar os compostos das frações acetato de etila obtidas das flores. A identificação dos compostos foi possível, devido aos tempos de retenção ( $R_t$ ), absorções máximas no UV, valores de massa/carga ( $m/z$ ) dos íons moleculares desprotonados, íons produtos e comparação com dados publicados na literatura.

#### 1.4.3.1 Análises por UPLC-PDA-qTOF-MS/MS da fração acetato de etila das flores das espécies da família Euphorbiaceae (*C. heliotropiifolius*, *C. blanchetianus* e *J. mollissima*)

Os cromatogramas de UPLC-DAD a 320 nm e os cromatogramas dos picos íons base (BPI) das espécies *C. heliotropiifolius*, *C. blanchetianus* são mostrados nas Figuras (38 e 39) Os compostos tentativamente identificados em ambas espécies estão resumidos na (Tabela 12), a grande maioria são isômeros como: **1a** e **2a** (865 Da); **5a** e **6a** (463 Da); **7a,8a,12 a** e **13a** (593 Da); **9a** e **10a** (447 Da). As estruturas químicas dos flavonoides foram propostas mediante as análises dos íons produtos, para os compostos glicosilados foram observados picos formados pela perda de glicose (162 Da), ramnose (146 Da) e xilose (132 Da). Para os do tipo aglicona foram observados picos comuns derivados da perda neutra de pequenas moléculas ou íons como por exemplo CO (28 Da), H<sub>2</sub>O (18 Da) ou CH<sub>3</sub> (15 Da). Além da presença dos íons produtos resultantes da perda destas moléculas, em ambos tipos de flavonoides, também aparecem outros fragmentos resultantes da quebra do anel C dos flavonoides, clivagem retro Diels-Alder (RDA).

Os compostos **1a** e **2a** com pico de molécula desprotonada em  $m/z$  865,1966 [M-H]<sup>-</sup> e íons produtos em  $m/z$  577,1360 produzidos pela perda de uma unidade de catequina,  $m/z$  407,0772 [M-H-catequina-170 Da]<sup>-</sup>, formado pela fragmentação Retro Diels-Alder de uma unidade de catequina superior e perda do grupo B e eliminação de água, provavelmente na posição 3-OH do anel F e o fragmento em  $m/z$  289,0717 [M-H-2x(288 Da)] característico de perda de duas unidades de catequina, consistente com trímeros de procianidinas do tipo B, (LI et al., 2015). Os compostos foram identificados como sendo taninos condensados ou proantocianidinas formadas por tres unidades de catequinas. As unidades nucleares são ligadas por ligações carbono-carbono (proantocianidinas do tipo B) ou por uma ligação éter adicional O-7-C-2 (tipo A proantocianidinas). Pode-se formar por unidades monoméricas iguais ou diferentes, as unidades podem ser, catequina, epicatequina, epiafelocina, afzelechina, epigalocatequina, galocatequina epifisetinidol ,fisetinidol e epirobinetinidol e robinetinidol (ZHANG; SUN; CHEN, 2017).

Os picos de molécula desprotonada em  $m/z$  593,1301 [M-H]<sup>-</sup> (**12a e 13a**) e íon produto  $m/z$  447,0920 [M-H-coumaroil]<sup>-</sup>, 285,0327 [M-H-coumaroil-hexose]<sup>-</sup>, foram

identificados como 6"-O-*p*-coumaroil- $\beta$ -galactopiranosil-canferol e tilirosídeo. Os compostos com pico de molécula desprotonada em  $m/z$  623,1610  $[M-H]^-$  mostraram fragmento em  $m/z$  593.1971 produto da perda de grupo metoxi além dos íons produtos,  $m/z$  447,0901  $[M-H-coumaroil]^-$  e  $m/z$  315,0457  $[M-H-coumaroil-hexose]^-$ , com base dos fragmentos obtidos pode se determinar que eles apresentaram uma estrutura parecida com os compostos anteriores, com um grupo metoxila. Foram identificados como 3'-metoxi-tilirosídeo (**14a**) e metoxi coumaroil-flavona-hexosídeo. Os compostos **12a,13a** e **14a** foram isolados neste trabalho da espécie *C. heliotropiifolius* e *C. blanchetianus*.

Os compostos com molécula desprotonada em  $m/z$  609,1461 (**4a**), 463,0881(**5a** e **6a**) e 447,0939 (**9a** e **10a**) mostraram fragmentos característico pela perda de unidades de hexose, no caso dos composto **4a** os íons produtos em 447,0920  $[M-H-ramnose]^-$  e 301,0372  $[M-H-2xhexose]^-$ , formados pela perda consecutiva de unidades de açúcar o composto foi identificado como rutina. Os compostos (**5a** e **6a**), mostraram um fragmento principal em  $m/z$  301,0372 indicativos da perda de hexose estes compostos foram identificados como hiperina e isoquercetina, no composto **10a** foi observado íon produto em  $m/z$  301,0372 perdas de (146 Da), identificado como sendo a quercitrina, estes compostos foram isolado neste trabalho da espécie *C. heliotropiifolius*, o composto **9a** com íon produto em  $m/z$  285,0380 perdas de (162 Da), ele foi identificado como derivado glicosilado da luteolina, identificadas na espécie *Jatropha curcas* (LAMA et al., 2016).

O composto com pico de molécula desprotonada em  $m/z$  289,0718  $[M-H]^-$  e íons produtos em  $m/z$  271,0531  $[M-H-H_2O]^-$ ,  $m/z$  205,0483  $[M-H-C_4H_4O_2]^-$  e  $m/z$  109,0285  $[M-H-C_9H_8O_4]^-$  produzidos por clivagem e posterior RDA do anel C, ele foi tentativamente identificado como catequina, identificada anteriormente no latex das espécies *Croton lechleri* e *Croton panamensis* e na casca de *Croton urucurama* (BARRERA; GÓMEZ; CASTIBLANCO, 2016). Os picos **16a** e **17a** com  $m/z$  329,0660 e  $m/z$  343,0801  $[M-H]^-$  mostraram fragmentos devido à perda consecutivas de metilas (15 Da) e CO (28 Da), carasterístico de agliconas com grupos metoxilas (JUSTESEN, 2001). Estes compostos foram identificados como trihidroxi-dimetoxi-flavona e dihidroxi-trimetoxi-flavona, isolados da espécie *C. blanchetianus*.

Os flavonoides predominantes no gênero *Croton* parecem conter agliconas de flavonas e flavonoides sem oxigenação nas posições 6 ou 8. A maioria das agliconas metoxiladas reportadas até agora para o *Croton* também tem esse padrão de

oxigenação do anel-A. Tal é o caso do pachipodol (GONZÁLEZ-VÁZQUEZ et al., 2006), quercetina (SANTOS; SCHRIPEMA; KUSTER, 2005), tilirosídeo e rutina (ZOU et al., 2010).

Os constituintes químicos do gênero *Croton* incluem principalmente diterpenos (clerodanos, cembranóides, halimanos, cauranos, labdanos, ésteres de forbol, traquilobanos e sarcopetalanos), triterpenoides pentacíclicos, esteroides, óleos voláteis e algumas espécies contêm proantocianidinas, fenólicos e alcaloides (SALATINO; SALATINO; NEGRI, 2007). Poucos flavonoides foram identificados a partir da gênero *Croton*. Os óleos essenciais (ALENCAR FILHO et al., 2017; BRITO et al., 2018) e n-alcanos (COSTA-FILHO et al., 2012) foram identificados a partir das folhas de *C. heliotropiifolius*. Diterpenos foram isolados das raízes (FIRMINO et al., 2018) e óleos essenciais (ANGÉLICO et al., 2014) e n-alcanos (COSTA-FILHO et al., 2012) foram identificados em folhas de *Croton blanchetianus*. No entanto, não existe relato de estudos químicos sobre as flores dessas plantas.

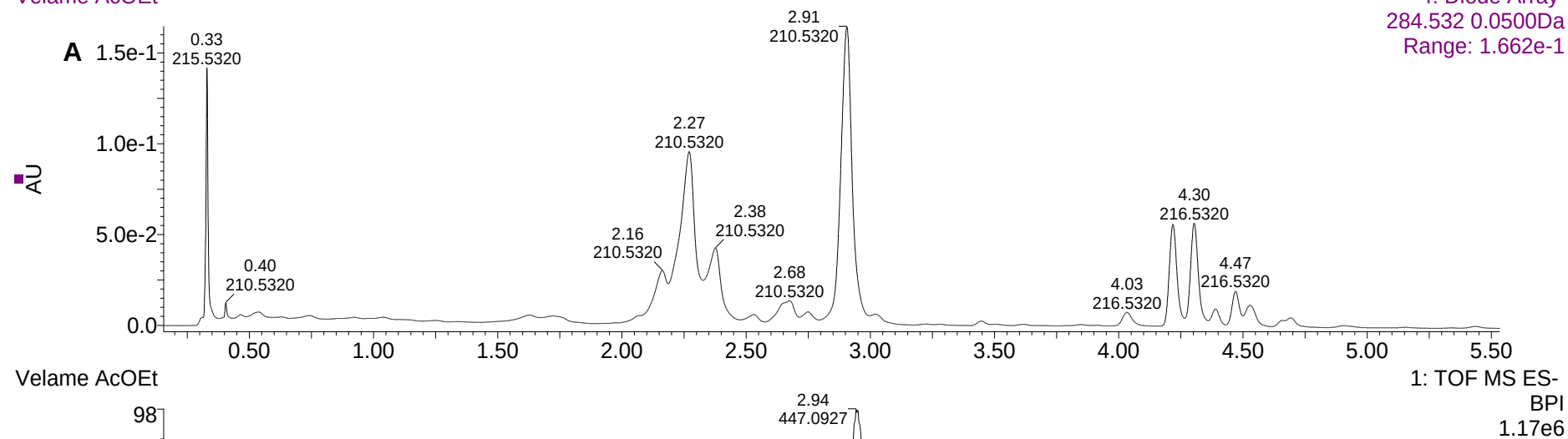
Neste estudo, todos os compostos de *C. heliotropiifolius* e *C. blanchetianus* foram identificados pela primeira vez nas flores destas espécies. Os flavonoides glicosilados foram isolados das duas espécies: rutina, isoquercetina, quercetina-3-O- $\beta$ -D-galactosídeo, quercitrina, 6"-O-p-coumaroil- $\beta$ -galactopiranosil-canferol, tilirosídeo, 3'-metoxi-tilirosídeo. O perfil químico para ambas espécies é semelhante, exceto para *C. blanchetianus*, que também mostrou a presença de catequina, trîmero de proantocianidina e dois flavonoides metoxilados, 3,7-dimetoxiquercetina e pachipodol. Portanto, um total de 12 e 14 flavonoides (incluindo flavonoides isolados) foram identificados por UPLC-DAD-QTOF-MS-MS das flores de *C. heliotropiifolius* e *C. blanchetianus*, respectivamente.

Relatos anteriores mostraram que as espécies do gênero *Croton* são ricas em diterpenoides como principais constituintes químicos. No entanto, a investigação química sistemática das flores de *C. heliotropiifolius* e *C. blanchetianus* que são visitadas por abelhas na região da Caatinga no Brasil, na fração AcOEt foram identificados principalmente flavonoides glicosilados, sendo consistente com alguns relatos, estes compostos também foram apresentados em *Croton campestris* (SANTOS; SCHRIPEMA; KUSTER, 2005), *Croton caudatus* (ZOU et al., 2010), *Croton glabellus* (NOVOA et al., 1985), *Croton gossypifolius* (SUÁREZ et al., 2013), *Croton pedicellatus* (LOPES et al., 2012) e *Croton tonkinensis* (GIANG; LEE; SOM, 2004). As flavonas metoxiladas foram identificadas em *Croton. ciliatoglanduliferus*

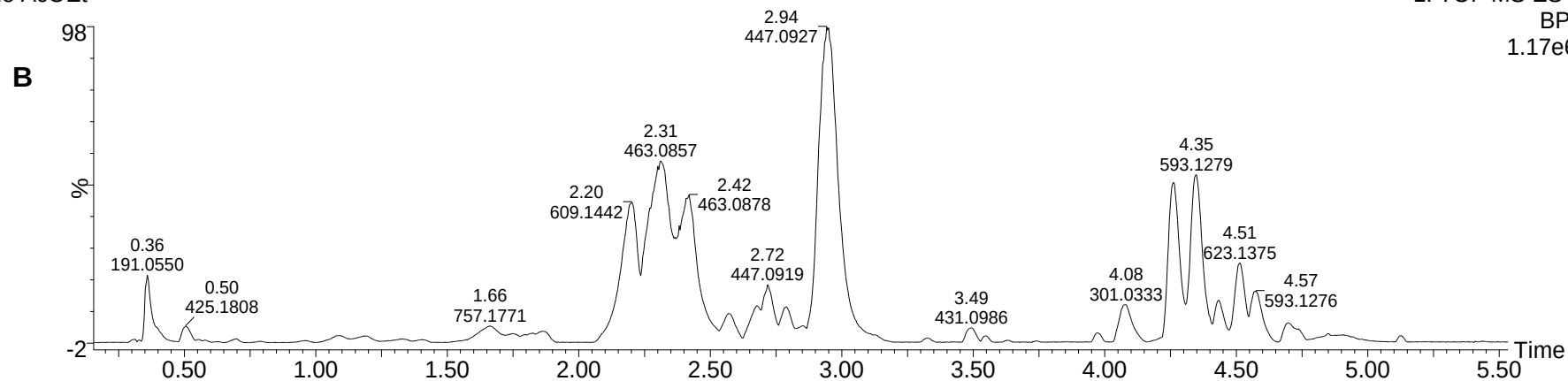
(NOVOA et al., 1985), *Croton brasiliensis* (PALMEIRA JR.; CONSERVA; SILVEIRA, 2005), *Croton cajucara* (MACIEL et al., 2000), *Croton rotocaudatus* (ZOU et al., 2010), *Croton muscicapa* (BARRETO et al., 2013) e *Croton schiedeianus* (GUERRERO et al., 2002). Com exceção das espécies coletadas na China (*C. caudatus*), todas as espécies de *Croton* estudadas com presença de flavonoides foram coletadas nas Américas Central (México) e Sul (Brasil, Colômbia e Venezuela). Assim, as flavonas glicosiladas e polimetoxiladas podem possivelmente servir como marcadores quimiotaxonômicos úteis para espécies deste gênero.

Figura 38- Cromatograma UPLC-DAD (284 nm) (A) e ESI pico íon base (BPI) (B) da fração acetato de etila de *C. heliotropiifolius* analisadas por UPLC-QTOF-MS

Velame AcOEt



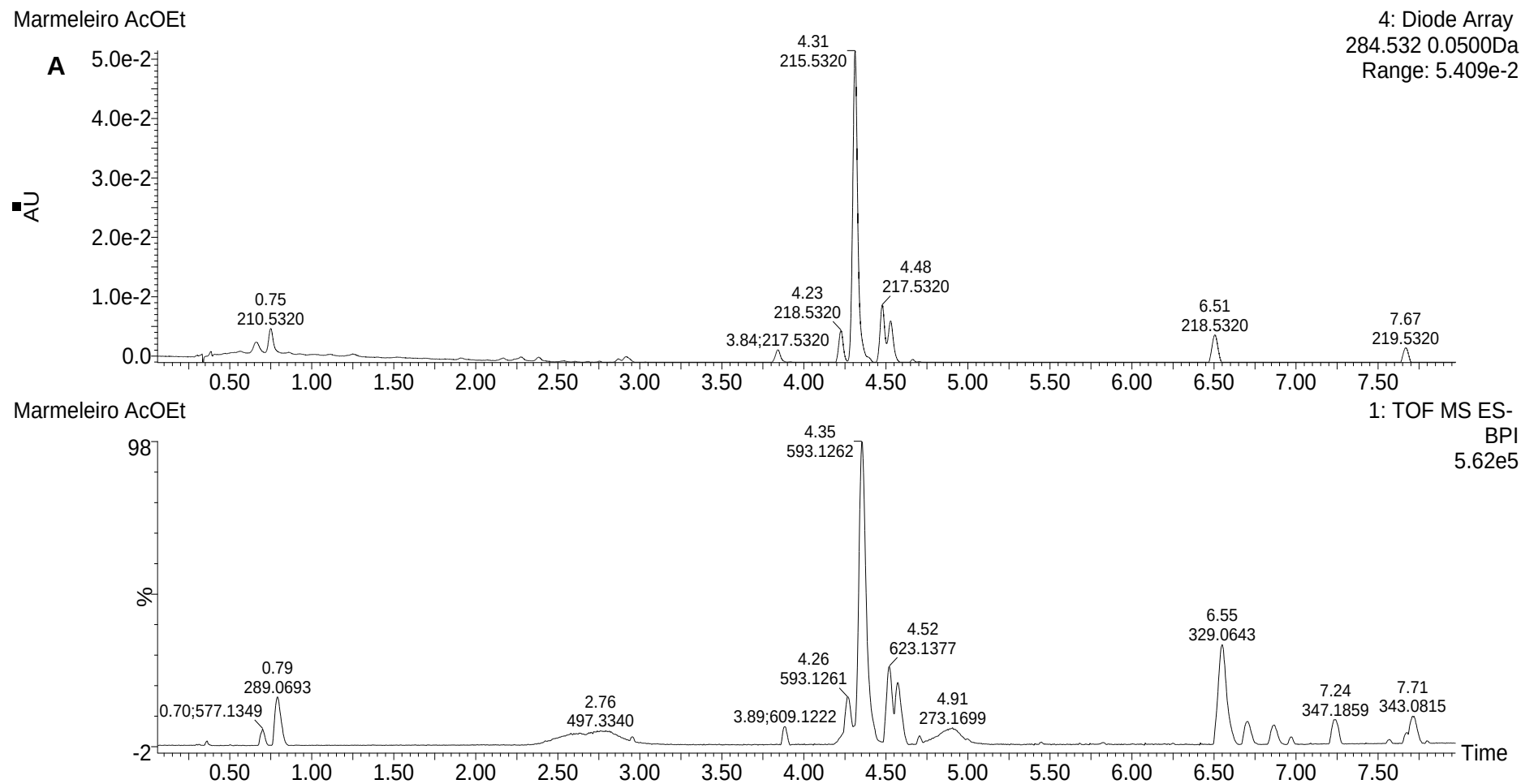
Velame AcOEt



Fonte: A autora (2019)



Figura 39- Cromatograma UPLC-DAD (284 nm) (A) e ESI pico íon base (BPI) (B) da fração acetato de etila de *C. blanchetianus* analisadas por UPLC-QTOF-MS



Fonte: A autora (2019)

Tabela 12- Identificação dos compostos das flores de *C. heliotropiifolius* e *C. blanchetianus* por UPLC/QTOF-MS<sup>E</sup>

| Comp | Tr<br>(min) | UV<br>$\lambda_{\text{max}}$<br>(nm) | [M-H] <sup>-</sup><br>(m/z) | [M-H] <sup>-</sup><br>(m/z)<br>Cald. | MS/MS                                                                                                                                                     | Tentativa de<br>identificação | <i>C.</i><br><i>heliotropiifolius</i> | <i>C.</i><br><i>blanchetianus</i> |
|------|-------------|--------------------------------------|-----------------------------|--------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|---------------------------------------|-----------------------------------|
| 1a   | 2,01        | 278                                  | 865,1966                    | 865,1965                             | 577,1360 [M-H- unid procian] <sup>-</sup> ,<br>407,0772 [M-H- unid procian –<br>anel B procian] <sup>-</sup><br>289,0719 [M-H-2unid procian] <sup>-</sup> | Procianidina<br>trímero       |                                       | ✓                                 |
| 2a   | 2,07        | 277                                  | 865,1966                    | 865,1965                             | 577,1360 [M-H- unid procian] <sup>-</sup> ,<br>407,0772 [M-H- unid procian-<br>galoil] <sup>-</sup> , 289.0719 [M-H-2unid<br>procian] <sup>-</sup>        | Procianidina<br>trímero       |                                       | ✓                                 |
| 3a   | 2,23        | 278                                  | 289,0718                    | 289,0718                             | 245,0819 [M-H-CO <sub>2</sub> ] <sup>-</sup> , 203,0713                                                                                                   | Catequina                     |                                       | ✓                                 |
| 4a   | 3,75        | 254,<br>353                          | 609,1462                    | 609,1461                             | 447,0920 [M-H-glicose] <sup>-</sup> , 301,0372<br>[M-H-glicose-ramnose] <sup>-</sup>                                                                      | Rutina*                       | ✓                                     | ✓                                 |
| 5a   |             | 353                                  | 463,0881                    | 463,0884                             | 301,0345 [M-H-galactose] <sup>-</sup> ,<br>300,0226 [M-2H-galactose] <sup>-</sup> ,<br>271.0204 [M-H-galactose-CH <sub>2</sub> O] <sup>-</sup>            | Hiperina*                     | ✓                                     | ✓                                 |
| 6a   | 4,01        | 254,<br>352                          | 463,0863                    | 463,0884                             | 301,0345 [M-H- glicose] <sup>-</sup> ,<br>300,0226 [M-2H- glicose] <sup>-</sup> ,<br>271,0204 [M-H-glucose-CH <sub>2</sub> O] <sup>-</sup>                | Isoquercetina*                | ✓                                     | ✓                                 |
| 7a   | 4,12        | 264,<br>346                          | 593,1475                    | 593,1300                             | 433,0744 [M-H-hexose] <sup>-</sup> , 301,0313<br>[M-H-hexose-pentose] <sup>-</sup>                                                                        | Quercetina<br>hexose pentose  | ✓                                     | ✓                                 |
| 8a   | 4,29        | 264,<br>350                          | 593,1472                    | 593,1300                             | 433,0744 [M-H-hexose] <sup>-</sup> , 301,0313<br>[M-H-hexose-pentose] <sup>-</sup>                                                                        | Quercetina<br>hexose pentose  | ✓                                     | ✓                                 |
| 9a   | 4,51        | 263,<br>346                          | 447,0934                    | 447,0934                             | 285,0380 [M-H-glicose] <sup>-</sup> , 284,0315<br>[M-2H- glicose] <sup>-</sup>                                                                            | Dihidroxi-<br>hexose-flavona  | ✓                                     | ✓                                 |
| 10a  | 4,59        | 254,<br>358                          | 447,0911                    | 447,0934                             | 301,0336 [M-H-ramnose] <sup>-</sup> ,<br>273.0247 [M-H-ramnose-CO] <sup>-</sup>                                                                           | Quercitrina*                  | ✓                                     | ✓                                 |

|     |      |         |          |          |                                                                                                                                                                                                                                     |                                                             |   |   |
|-----|------|---------|----------|----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|---|---|
| 11a | 5,16 | 262,345 | 431,0989 | 431,0984 | 285,0406 [M-H-hexose] <sup>-</sup>                                                                                                                                                                                                  | Luteolina hexosídeo                                         | ✓ | ✓ |
| 12a | 5,92 | 266,313 | 593,1301 | 593,1301 | 447,0920 [M-H-coumaroil] <sup>-</sup> , 285,0327[M-H-coumaroil-galactose] <sup>-</sup>                                                                                                                                              | 6"-O-p-hidroxycoumaroil-3-O-β-D-galactopiranosil-canferol * | ✓ | ✓ |
| 13a | 6,00 | 266,314 | 593,1301 | 593,1301 | 447,0920 [M-H-coumaroil] <sup>-</sup> , 285,0327 [M-H-coumaroil-glicose] <sup>-</sup>                                                                                                                                               | Tilirosídeo*                                                | ✓ | ✓ |
| 14  | 6,10 | 254,315 | 623,1400 | 623,1406 | 477,1068 [M-H-coumaroil] <sup>-</sup> , 315,0500 [M-H-coumaroil-galactose] <sup>-</sup>                                                                                                                                             | Metoxi-tilirosídeo isômero                                  | ✓ | ✓ |
| 15  | 6,16 | 255,314 | 623,1400 | 623,1406 | 477,1068 [M-H-coumaroil] <sup>-</sup> , 315,0500 [M-H-coumaroil-glicose] <sup>-</sup>                                                                                                                                               | 3'-Metoxi-tillirosídeo*                                     | ✓ | ✓ |
| 16  | 8,72 |         | 329,0660 | 329,0667 | 315,0660 [M-H-CH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup> , 299,0191 [M-H-2CH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup> , 271,0231[M-H-2CH <sub>3</sub> -CO] <sup>-</sup> , 227,0291 [M-H-2CH <sub>3</sub> -CO-CO <sub>2</sub> ] <sup>-</sup>                  | 3,7-Dimetoxiquercetina*                                     |   | ✓ |
| 17  | 9,94 |         | 343,0801 | 343,0823 | 328,0511 [M-H-CH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup> , 313,0272 [M-H-2CH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup> , 285,0327 [M-H-2CH <sub>3</sub> -OCH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup> , 257,0392 [M-H-2CH <sub>3</sub> -OCH <sub>3</sub> -CO] <sup>-</sup> | Pachipodol*                                                 |   | ✓ |

Fonte:A autora (2019)-\*compostos isolados e identificado por métodos espectroscópicos (RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C).

A espécie *J. mollissima* mostrou uma composição química diferente daquela apresentada por as espécies do gênero *Croton*. O cromatograma de UPLC-DAD e pico íon base (BPI) é mostrado na (Figura 40). Um total de 14 compostos foram tentativamente identificados (Tabela 13), destes, 7 derivados ácidos (**10b, 11b, 12b, 13b, 14b, 15b e 16b**), 5 taninos hidrolisados (**1b, 2b, 3b, 5b e 7b**), um derivado de flavonoide C-glicosilado (**4b**) e um triterpeno pentacíclico (**8b**).

O pico **1b** em  $m/z$  331,0673  $[M-H]^-$  foi identificado como ácido galoil hexose, os íons produtos em  $m/z$  271,0495  $[M-H-60]^-$  e  $m/z$  211,0237  $[M-H-120]^-$  foi devido a fragmentação do anel glicosídeo, o que é indicativo da ligação C-glicosídeo, os fragmentos em  $m/z$  169,0171 e  $m/z$  162,8382 são formados pela perda da ácido gálico e hexose.

O composto **2b** em  $m/z$  951,0747  $[M-H]^-$  e íons produtos em  $m/z$  933,0612,  $m/z$  613,0375 e  $m/z$  461,0312, produzidos pela perda subsequente de  $H_2O$ , HHDP (ácido hexa-hidroxidifênico) e uma unidade de galoil, o fragmento em  $m/z$  300,9978 foi obtido pela clivagem de três unidades trigaloil e a hexose (GU et al., 2013), os compostos **5b** e **7b** mostraram uma fragmentação muito parecida com o composto **2b** com a única diferença de perda de metoxi para formar o íon produto em  $m/z$  933,0632. Os compostos foram tentativamente identificados como trigaloil-HHDP-hexose (**2b**) e derivado metoxilado do trigaloil-HHDP-hexose (**5b** e **7b**). O pico **3b** apresenta pico da molécula desprotonada em  $m/z$  633,0734  $[M-H]^-$ , os íons produtos em  $m/z$  300,9970 (perda de galoil-glicose) e  $m/z$  463,0444 (perda de ácido gálico). A perda de ácido gálico indicou que a unidade de galoil estava ligada diretamente à glicose (AABY; EKEBERG; SKREDE, 2007) estes dados permitem a identificação do composto **3a** como sendo o galoil-HHDP-glicose. A Figura I.42 mostra os íons produtos propostos para a molécula.

Os flavonoides C-glicosídeos mostram uma série de fragmentos característicos em  $m/z$   $[M-H-18]^-$ ,  $[M-H-60]^-$ ,  $[M-H-90]^-$  e  $[M-H-120]^-$  devido a perda de água e fragmentação do anel da moléculas de glicosídeos. O pico **4b** com pico de molécula desprotonada em  $m/z$  447,0934, íons produtos em  $m/z$  357,0627  $[M-H-C_3H_6O_3]^-$ ,  $m/z$  327,0521  $[M-H-C_4H_8O_4]^-$ , que correspondem a  $[M-H-90]^-$  e  $[M-H-120]^-$ , respectivamente, a partir do fragmento principal (CHEN et al., 2016). Este flavonoide do tipo C-glicosilado foi identificado como

isoorientina, identificado no extrato aquoso de folhas de *J. mollissima* (GOMES et al., 2016) e *J. Gossypifolia* (FÉLIX-SILVA et al., 2014). O pico **8b** foi identificado como ácido acetil urônico, ele mostrou um pico de íon molecular desprotonado em  $m/z$  497,3633  $[M-H]^-$  e fragmentação específica em  $m/z$  469,0525,  $m/z$  454,0451 e  $m/z$  437,1105, formados pela perda de CO (28 Da), grupo acetil e H<sub>2</sub>O, além dos fragmentos em  $m/z$  301,0024  $[M-H-C_{12}H_{20}O_2]^-$  e  $m/z$  195,8097  $[M-H-C_{20}H_{29}O_2]^-$  característico da fragmentação dos anel (LI et al., 2014), identificado na espécie *Mallotus apelta* (RIVIÈRE et al., 2010).

Os picos **10b,11b,12b,13b,14b,15b e 16b** com pico de íon molecular desprotonado em  $m/z$  273,1704 (**10b** e **11b**),  $m/z$  329,2328 (**15b** e **16b**),  $m/z$  347,2439 (**12b**) e  $m/z$  345,2270 (**13b**)  $[M-H]^-$ , foram tentativamente identificados como ácidos graxos hidroxilados, ele mostraram o mesmo padrão de fragmentação, perda de CO (28 Da), perda dos grupos carboxila, H<sub>2</sub>O e parte da cadeia carbonada, eles foram identificados como derivados de ácido-hidroxitetradecanodióico (**10b** e **11b**), ácido-tetrahidroxioctadecanoico (**12b**) e ácido-dihidroxioctadecanodioico (**13b**) e ácido-trihidroxioctadecanióico (**14b,15b e 16b**) (JIMENEZ-SANCHEZ et al., 2016).

Estruturalmente os taninos hidrolisáveis, talvez sejam o grupo de substâncias mais complexas presente nas plantas, este é o grupo pouco estudado. Segundo Salminen; Karonen (2011) as espécies de Euphorbiaceae acumulam este tipo de substâncias, como derivados ésteres de dehidro-HHDP. Esses compostos já foram isolados das partes aéreas de *Euphorbia humifusa* (YOSHIDA et al., 1994) e *Euphorbia heterophylla* (TOSTES; SILVA; KUSTER, 2019). Estes estão sendo relatados pela primeira vez para a espécie *J. mollissima*. Ácidos graxos foram encontrados em óleo obtido de semente da espécie *J. curcas*, *J. mollissima* e *J. Gossypifolia* (BARROS et al., 2015), mas não tem reporte da presença em flores.

Figura 40- Cromatograma UPLC-DAD (284 nm) (A) e ESI pico íon base (BPI) (B) da fração acetato de etila de *J. molissima* analisadas por UPLC-QTOF-MS

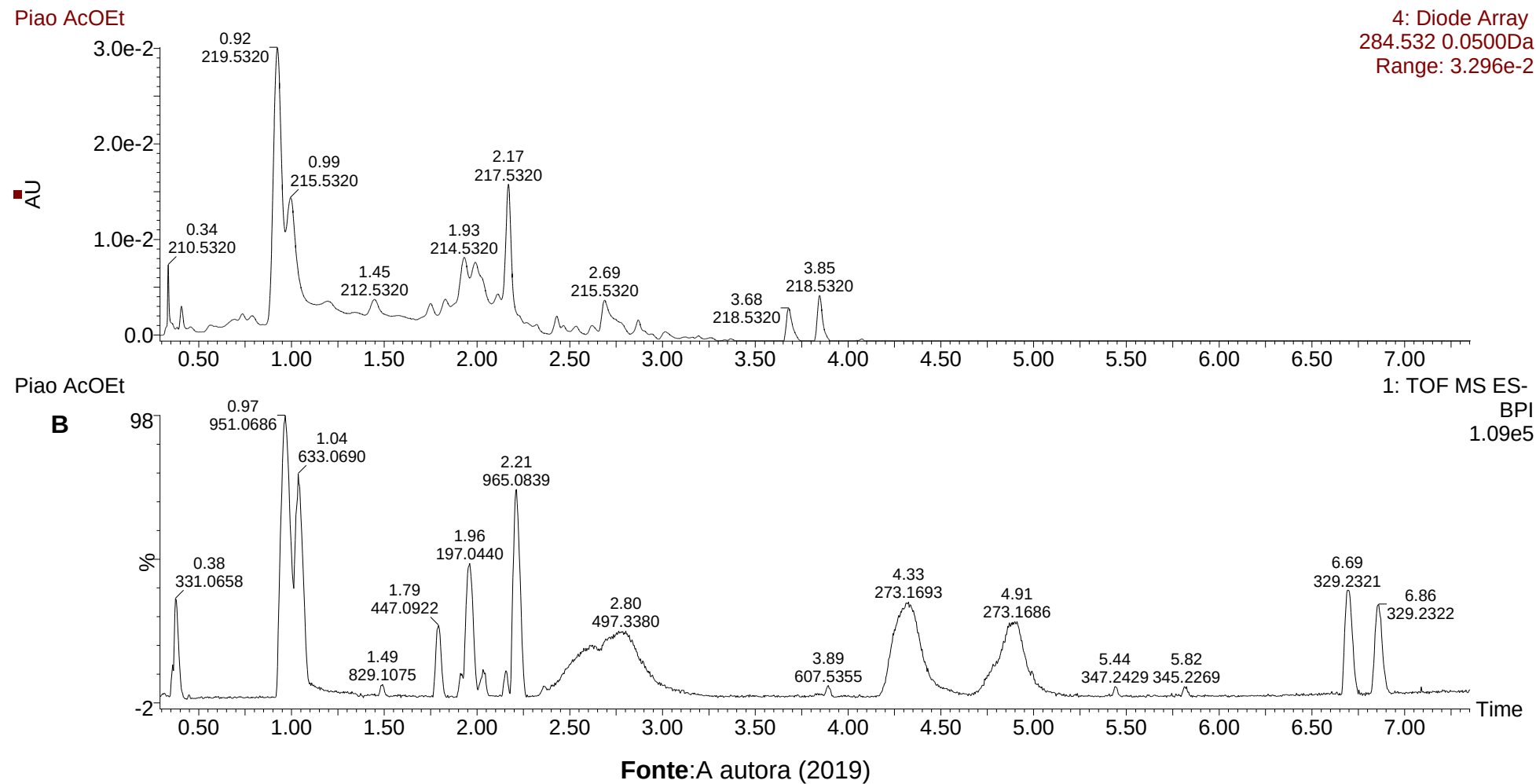


Tabela 13- Identificação dos compostos das flores de *J. mollissima* por UPLC/QTOF-MS<sup>E</sup>

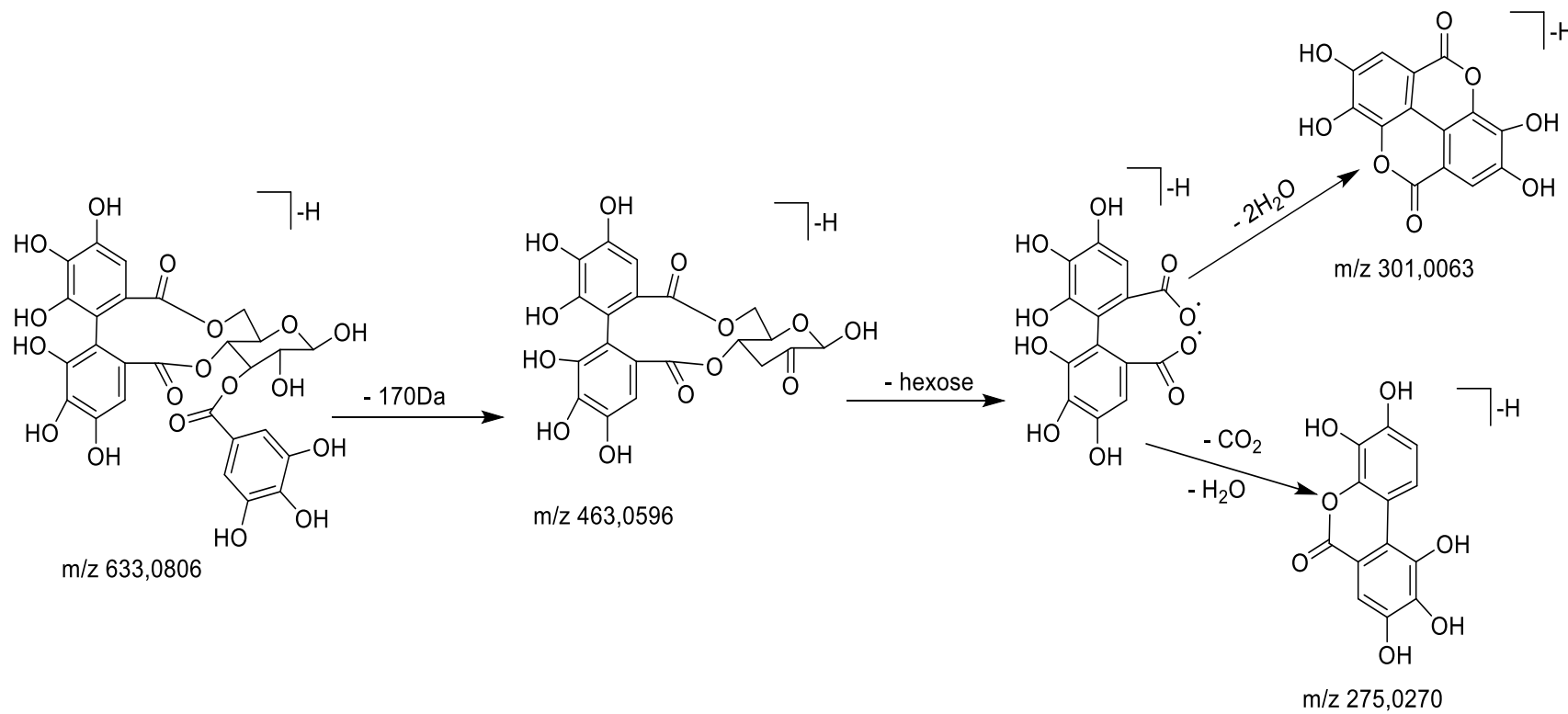
| Comp. | Tr<br>(min) | UV<br>$\lambda_{max}$<br>(nm) | [M-H] <sup>-</sup><br>(m/z) | [M-H] <sup>-</sup><br>(m/z)<br>calc | MS/MS                                                                                                                                                                                                                                                                                         | Tentativa de<br>identificação       |
|-------|-------------|-------------------------------|-----------------------------|-------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|
| 1b    | 0,37        | 274                           | 331,0673                    | 331,0671                            | 271,0495 [M-H-C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>-</sup> , 211,0237 [M-H-2C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>-</sup> ,<br>169,0171 [M-H-hexose] <sup>-</sup> , 162,8382 [M-H-ácido gálico] <sup>-</sup>                                                     | Ácido gálico-<br>hexosídeo          |
| 2b    | 1,08        | 275                           | 951,0747                    | 951,0745                            | 933,0612 [M-H-H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup> , 613,0375 [M-H-2H <sub>2</sub> O-HHDP] <sup>-</sup> ,<br>461,0312[M-H-2H <sub>2</sub> O-HHDP-galoil] <sup>-</sup> , 300,9978[M-H-<br>trigaloil-hexose] <sup>-</sup> , 169,0127 [M-H-2galoil-hexose-HHDP] <sup>-</sup>                           | Trigaloil-HHDP-<br>hexosídeo        |
| 3b    | 1,15        | 273                           | 633,0734                    | 633,0733                            | 463,0444 [M-H-ácido gálico] <sup>-</sup> , 300,9970 [M-H-galoil-<br>hexose] <sup>-</sup> , 162,8391[M-H-galoil-HHDP] <sup>-</sup> .                                                                                                                                                           | Galoil-HHDP-<br>hexosídeo           |
| 4b    | 1,79        | 347                           | 447,0939                    | 447,0933                            | 357,0608 [M-H-C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub> ] <sup>-</sup> , 327,0495 [M-H- C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>-</sup> ,<br>295,0285 [M-H- C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> O] <sup>-</sup>                                      | Isoorientina*                       |
| 5b    | 1,98        | 273                           | 965,0839                    | 965,0902                            | 933,0632 [M-2H-CH <sub>3</sub> O] <sup>-</sup> , 613,0375 [M-H- ácido gálico-<br>galoil] <sup>-</sup> ,], 300,9978[M-H-trigaloil-hexose] <sup>-</sup> , 169,0127 [M-H-<br>2galoil-hexose-HHDP] <sup>-</sup>                                                                                   | Trigaloil-metoxi-<br>HHDP-hexosídeo |
| 6b    | 2,03        |                               | 1147,1025                   |                                     |                                                                                                                                                                                                                                                                                               | NI                                  |
| 7b    | 2,21        | 273                           | 965,0839                    | 965,0802                            | 933,0632 [M-2H-CH <sub>3</sub> O] <sup>-</sup> , 613,0375 [M-H- ácido gálico-<br>galoil] <sup>-</sup> ,], 300,9978[M-H-trigaloil-hexose] <sup>-</sup> , 169,0127 [M-H-<br>2galoil-hexose-HHDP] <sup>-</sup>                                                                                   | Trigaloil-metoxi-<br>HHDP-hexosídeo |
| 8b    | 2,80        | 278                           | 497,3633                    | 497,3636                            | 469,0525 [M-H-CO] <sup>-</sup> , 454,0451 [M-H-acetil] <sup>-</sup> , 437,1105 [M-<br>H-acetil-H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup> , 301,0024 [M-H-C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>-</sup> , 195,8097 [M-H-<br>C <sub>20</sub> H <sub>29</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>-</sup> | Acetil-triterpeno<br>ácido          |
| 9b    | 3,89        | 378                           | 607.5347                    |                                     |                                                                                                                                                                                                                                                                                               | NI                                  |
| 10b   | 4,33        | 218                           | 273,1704                    | 273,1707                            | 245,1408[M-H-CO] <sup>-</sup> , 215,8917 [M-3H-2CO] <sup>-</sup> , 197,2072[M-<br>3H-2CO-H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup> , 125,8896 [ M-3H-2CO-H <sub>2</sub> O -C <sub>3</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>-</sup>                                                                   | Hidroxí-ácido<br>tetradecanodioico  |

|     |      |     |          |          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |                                  |
|-----|------|-----|----------|----------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------|
| 11b | 4,91 | 218 | 273,1704 | 273,1707 | 245,1408[M-H-CO] <sup>-</sup> , 215,8917 [M-3H-2CO] <sup>-</sup> , 197,2072[M-3H-2CO-H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup> , 125,8896 [M-3H-2CO-H <sub>2</sub> O-C <sub>3</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>-</sup>                                                                                                                                                                                                                   | Hidroxi- ácido tetradecanodioico |
| 12b | 5,44 | 219 | 347,2439 | 347,2439 | 273,1711 [M-H-COOH-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> ] <sup>-</sup> , 245,1387 [M-H-COOH-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> -C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> ] <sup>-</sup> , 215,8818 [M-H-COOH-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> -C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> -C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> ] <sup>-</sup>                                                                                                                                        | Tetrahidroxi-ácido octadecanoico |
| 13b | 5.82 | 219 | 345,2270 | 345,2283 | 273,1693 [M-H-COO-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> ] <sup>-</sup> , 245,1398 [M-H- COO-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> -C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> ] <sup>-</sup> , 199,8040 [M-2H- COO-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> -C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> -CHO <sub>2</sub> ] <sup>-</sup> , 116,9274 [M-2H- COO-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> -C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> -CHO <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> ] <sup>-</sup> | Dihidroxi-ácido octadecanodioico |
| 14b | 6.69 |     | 329,2321 | 329,2333 | 273,1669 [M-H-C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> ] <sup>-</sup> , 245,1987 [M-H- C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> -CO] <sup>-</sup> , 197,8065 [M-H- C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> -CO-H <sub>2</sub> O-C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> ] <sup>-</sup>                                                                                                                                                                                            | Trihidroxi-ácido octadeconoico   |
| 15b | 6.86 |     | 329,2322 | 329,2333 | 273,1669 [M-H-C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> ] <sup>-</sup> , 245,1987 [M-H- C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> -CO] <sup>-</sup> , 197,8065 [M-H- C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> -CO-H <sub>2</sub> O-C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> ] <sup>-</sup>                                                                                                                                                                                            | Trihidroxi-ácido octadeconoico   |
| 16b | 7.67 |     | 329,2321 | 329,2333 | 273,1669 [M-H-C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> ] <sup>-</sup> , 245,1987 [M-H- C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> -CO] <sup>-</sup> , 197,8065 [M-H- C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> -CO-H <sub>2</sub> O-C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> ] <sup>-</sup>                                                                                                                                                                                            | Trihidroxi-ácido octadeconoico   |

**Fonte:**A autora (2019)-NI: não identificado; HHDP:Ácido hexahidroxidifenico\*. comparação com padrão



Figura 41- Íons produtos propostos para a molécula desprotonada  $m/z$  633.0806  $[M-H]^-$  por ESI (-) -MS /MS



Fonte: A autora (2019)

#### 1.4.3.2 Análises por UPLC-PDA-qTOF-MS/MS da fração acetato de etila das flores das espécies da família Leguminosae (*G. spinosa* e *M. tenuiflora*)

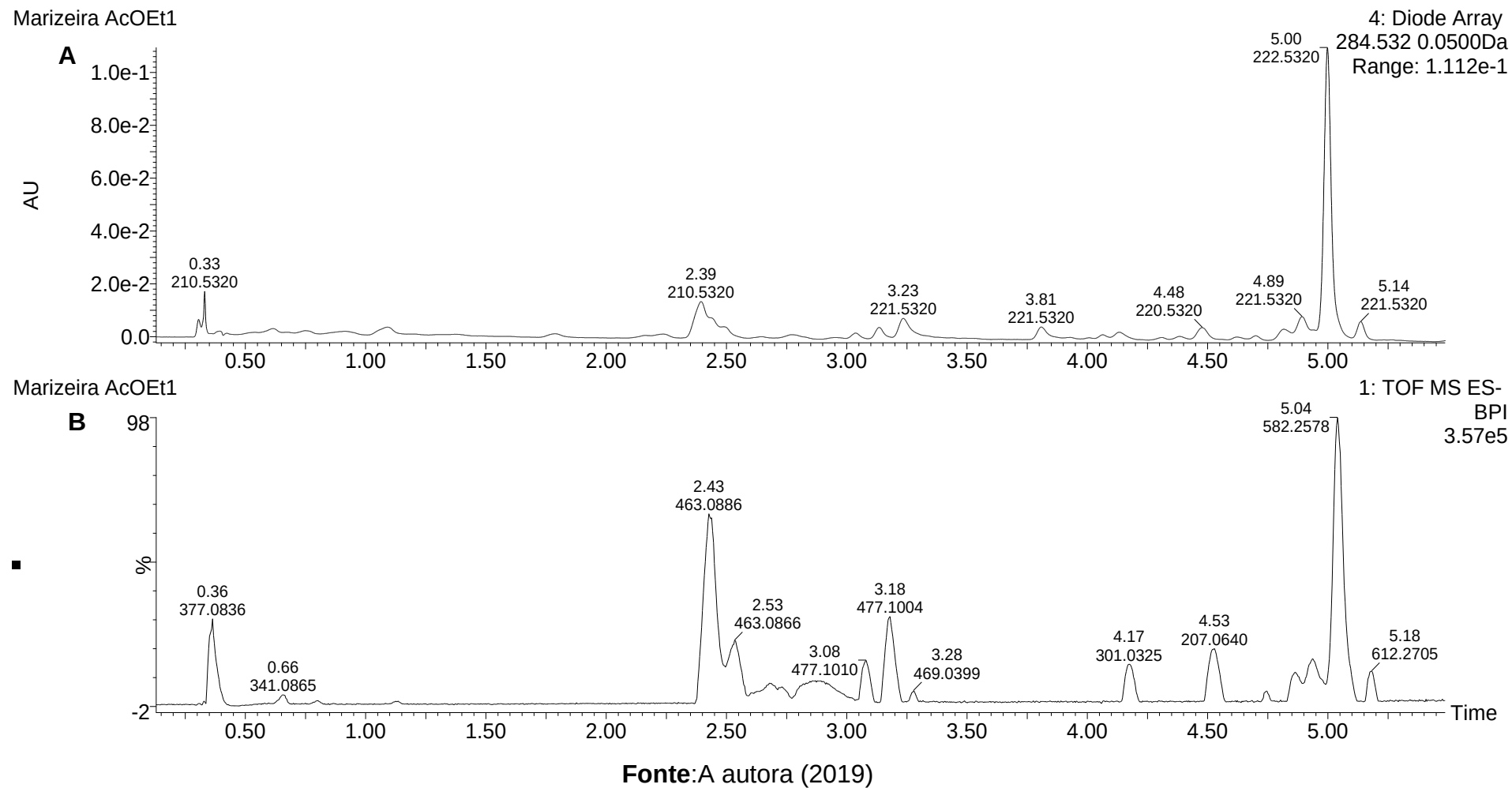
##### -*Geoffroea spinosa* (Marizeira)

O perfil fenólico de UPLC-PDA da fração de acetato de etila das flores de *G. spinosa* foi registrado a 284 nm (Figura 42) e os compostos foram identificados por UPLC-QTOF-MS/MS como flavonoides (**5a**, **3c**, **6a**, **4c**, **5c** e **6c**), derivados do ácido hidroxicinâmico (**1c**, **2c** e **7c**) e derivados de amida do ácido hidroxicinâmico (**8c-12c**) com base em seus picos característicos de espectros UV-vis e bem como na medição precisa da massa dos íons precursor e produto. Todos os compostos detectados estão listados na Tabela 14. Os compostos **5a**, **6a**, **6c** e **11c** foram comparados com amostras padrão autênticos. É interessante notar que todas as tri-*p*-coumaroilespermidinas identificadas (**8c-12c**) tinham a mesma fórmula molecular  $C_{34}H_{37}N_3O_6$ . Ao comparar os espectros de UV (Figura 43) com os derivados de tri-*p*-coumaroilespermidinas descritos por Mori et al. (2019), observa-se que o perfil dos espectros é semelhante. Os dados espectrais obtidos por Mori et al. (2019) sugeriram que os oito compostos identificados são possíveis isômeros *E* e *Z* da  $N^1$ ,  $N^5$ ,  $N^{10}$ -tri-*p*-coumaroilespermidina (*EEE*, *EEZ*, *EZE*, *ZEE*, *EZZ*, *ZEZ*, *ZEE* e *ZZZ*), em que ligações duplas estão presentes em cada uma das três porções *p*-coumaroil. Como a isomerização das ligações duplas olefínicas é catalisada pela luz, de acordo com esses dados, pode-se sugerir que os derivados de tri-*p*-coumaroilespermidinas (**8c-11c**) identificados em flores de *G. spinosa* também podem ser esses isômeros, mas para identificação é necessário o isolamento de compostos para elucidação estrutural completa. A fragmentação em modo negativo MS/MS dos compostos **5a** (hiperina), **6a** (isoquercetina) e **11c** [ $N^1$ ,  $N^5$ ,  $N^{10}$ -Tri-*p*-coumaroilespermidina (*EEE*)] está nas Figuras 44 - 46.

Os principais compostos **5a**, **6a** e **11c** são relatados pela primeira vez para *Geoffroea spinosa*, no entanto, os flavonoides (incluindo derivados glicosilados e prenilados) foram identificados na casca (JIMÉNEZ-ASPEE et al., 2017), casca de caule (VILA et al., 1998), flores (SILVA; RUIZ; RUIZ, 2004) e frutos (SILVA; RUIZ; RUIZ, 1999) de *Geoffroea decorticans*. Dos cinco derivados da amida do ácido hidroxicinâmico identificados, quatro são isômeros (**8c-11c**),

sendo o composto  $N^1$ ,  $N^5$ ,  $N^{10}$ -Tri-*p*-coumaroilspermidina (*EEE*) o principal constituinte das flores de *G. spinosa* (Figura 45). Os derivados da amida do ácido hidroxicinâmico são produtos naturais fenólicos presentes em sementes, raízes e órgãos reprodutivos das plantas (BASSARD et al., 2010). A presença dessas fenolamidas no gametófito masculino é uma característica constante. Em particular, conjugados di e tri-substituídos com hidroxicinamoíl são os principais metabólitos detectados nos grãos de pólen (FACCHINI; HAGEL; ZULAK, 2002) e nas anteras (MORI et al., 2019). No decorrer das investigações sobre a relação entre a fluorescência floral e o comportamento de forrageamento das abelhas Mori et al. (2019) observaram que oito isômeros *E-Z* de  $N^1$ ,  $N^5$ ,  $N^{10}$ -tri-*p*-coumaroilspermidina foram detectados em anteras não fluorescentes como constituintes principais das flores de *Prunus mume*. Como as flores de *G. spinosa* são frequentemente visitadas pelas abelhas no período seco da região da Caatinga, mais estudos são necessários para determinar se existe uma relação entre  $N^1$ ,  $N^5$ ,  $N^{10}$ -tri-*p*-coumaroilspermidina e isômeros com o efeito visual das abelhas.

Figura 42- Cromatograma UPLC-DAD (284 nm) (A) e ESI pico íon base (BPI) (B) da fração acetato de etila de *Geoffroea spinosa* analisadas por UPLC-QTOF-MS



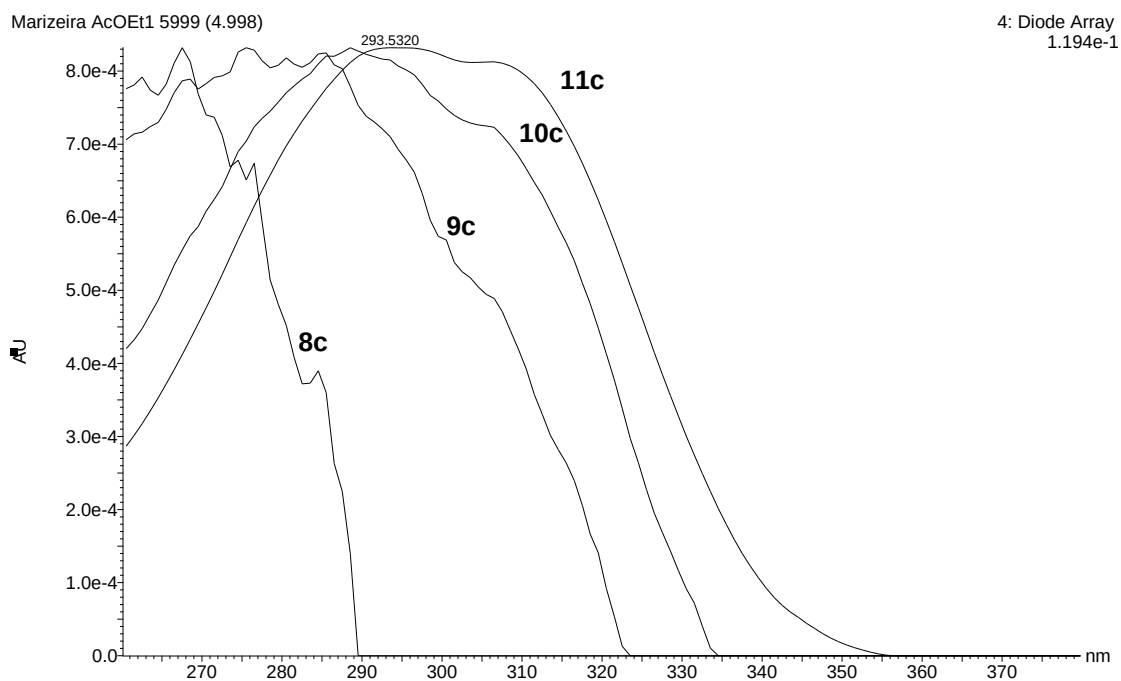
Tabelas 14- Identificação dos compostos das flores de *G. spinosa* por UPLC-DAD-QTOF- MS<sup>E</sup>

| Comp | Tr<br>(min) | UV $\lambda_{max}$<br>(nm) | [M-H] <sup>-</sup><br>(m/z) | [M-H] <sup>-</sup><br>(m/z)<br>Calc. | MS/MS                                                                                                                                             | Tentativa de identificação                                                              |
|------|-------------|----------------------------|-----------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------|
| 1c   | 0,66        | 329                        | 341,0876                    | 341,0878                             | 179,0328 [M-H-hexose] <sup>-</sup> , 162,8393 [M-H-cafeoil] <sup>-</sup>                                                                          | Cafeoil-hexosídeo                                                                       |
| 2c   | 0,80        | 329                        | 341,0876                    | 341,0878                             | 179,0328 [M-H-hexose] <sup>-</sup> , 162,8393 [M-H-cafeoil] <sup>-</sup>                                                                          | Cafeoil-hexosídeo                                                                       |
| 5a   | 2,43        | 254, 354                   | 463,0881                    | 463,0884                             | 301,0345 [M-H-galactose] <sup>-</sup> , 300,0226 [M-2H-galactose] <sup>-</sup> , 271,0204 [M-H-galactose-CH <sub>2</sub> O] <sup>-</sup>          | Hiperina*                                                                               |
| 3c   | 2,47        | 347                        | 477,0671                    | 477,0674                             | 301,0333 [M-H- ácido glucurônico] <sup>-</sup>                                                                                                    | Tetrahidroxi-flavona ácido glucurônico                                                  |
| 6a   | 2,53        | 253, 357                   | 463,0883                    | 463,0884                             | 301,0345 [M-H-glicose] <sup>-</sup> , 300,0226 [M-2H-glicose] <sup>-</sup> , 271,0204 [M-H-glicose-CH <sub>2</sub> O] <sup>-</sup>                | Isoquercetina*                                                                          |
| 4c   | 3,08        | 251, 355                   | 477,1035                    | 477,1039                             | 315,0550 [M-H-hexose] <sup>-</sup> , 300,0710 [M-H-hexose-CH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup> , 271,0311 [M-H-hexose-CH <sub>3</sub> -CO] <sup>-</sup> | Isoramnetina hexosídeo                                                                  |
| 5c   | 3,18        | 251, 356                   | 477,1034                    | 477,1039                             | 315,0550 [M-H-hexose] <sup>-</sup> , 300,0710 [M-H-hexose-CH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup> , 271,0311 [M-H-hexose-CH <sub>3</sub> -CO] <sup>-</sup> | Isoramnetina hexosídeo isômero                                                          |
| 6c   | 4,17        | 363                        | 301,0352                    | 301,0352                             | 273,0379 [M-H-CO] <sup>-</sup> , 255,0244 [M-H-CO-H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup>                                                                  | Quercetina*                                                                             |
| 7c   | 4,53        | 324                        | 207,0653                    | 207,0663                             | 193,0500 [M-H-CH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup> , 177,0550 [M-H-OCH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup>                                                      | Metil-éster-ácido ferulico                                                              |
| 8c   | 4,75        | 293                        | 582,2612                    | 582,2610                             | 462,2025 [M-H-(4-etenil-fenol)] <sup>-</sup> , 342,1445 [M-H-4x-etenil-fenol)] <sup>-</sup> , 162,8383 [M-H-dicoumaroil-espermidina] <sup>-</sup> | N <sup>1</sup> , N <sup>5</sup> , N <sup>10</sup> -Tri- <i>p</i> -coumaroileespermidina |
| 9c   | 4,86        | 293                        | 582,2612                    | 582,2610                             | 462,2025 [M-H-(4-etenil-fenol)] <sup>-</sup> , 342,1445 [M-H-4x-etenil-fenol)] <sup>-</sup> , 162,8383 [M-H-dicoumaroil-espermidina] <sup>-</sup> | N <sup>1</sup> , N <sup>5</sup> , N <sup>10</sup> -Tri- <i>p</i> -coumaroileespermidina |
| 10c  | 4,94        | 293                        | 582,2612                    | 582,2610                             | 462,2025 [M-H-(4-etenil-fenol)] <sup>-</sup> , 342,1445 [M-H-4x-etenil-fenol)] <sup>-</sup> , 162,8383 [M-H-dicoumaroil-espermidina] <sup>-</sup> | N <sup>1</sup> , N <sup>5</sup> , N <sup>10</sup> -Tri- <i>p</i> -coumaroileespermidina |

|     |      |     |          |          |                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                            |
|-----|------|-----|----------|----------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 11c | 5,04 | 293 | 582,2612 | 582,2610 | 462,2025 [M-H-(4-etenil-fenol)] <sup>-</sup> , 342.1445 [M-H-4x-etenil-fenol)] <sup>-</sup> , 162,8383 [M-H-dicoumaroil-espermidina] <sup>-</sup>                                | <i>N</i> <sup>1</sup> , <i>N</i> <sup>5</sup> , <i>N</i> <sup>10</sup> -Tri- <i>p</i> -coumaroilespermidina( <i>EEE</i> )* |
| 12c | 5,18 | 294 | 612,2719 | 612,2715 | 492,2128 [M-H-(4-etenil-fenol)] <sup>-</sup> , 462,2017 [M-H-(4-etenil-fenol)-CH <sub>2</sub> O] <sup>-</sup> , 342.1483 [M-H-2x(4-etenil-fenol)-CH <sub>2</sub> O] <sup>-</sup> | Feruloil-dicoumaroil-espermidina                                                                                           |

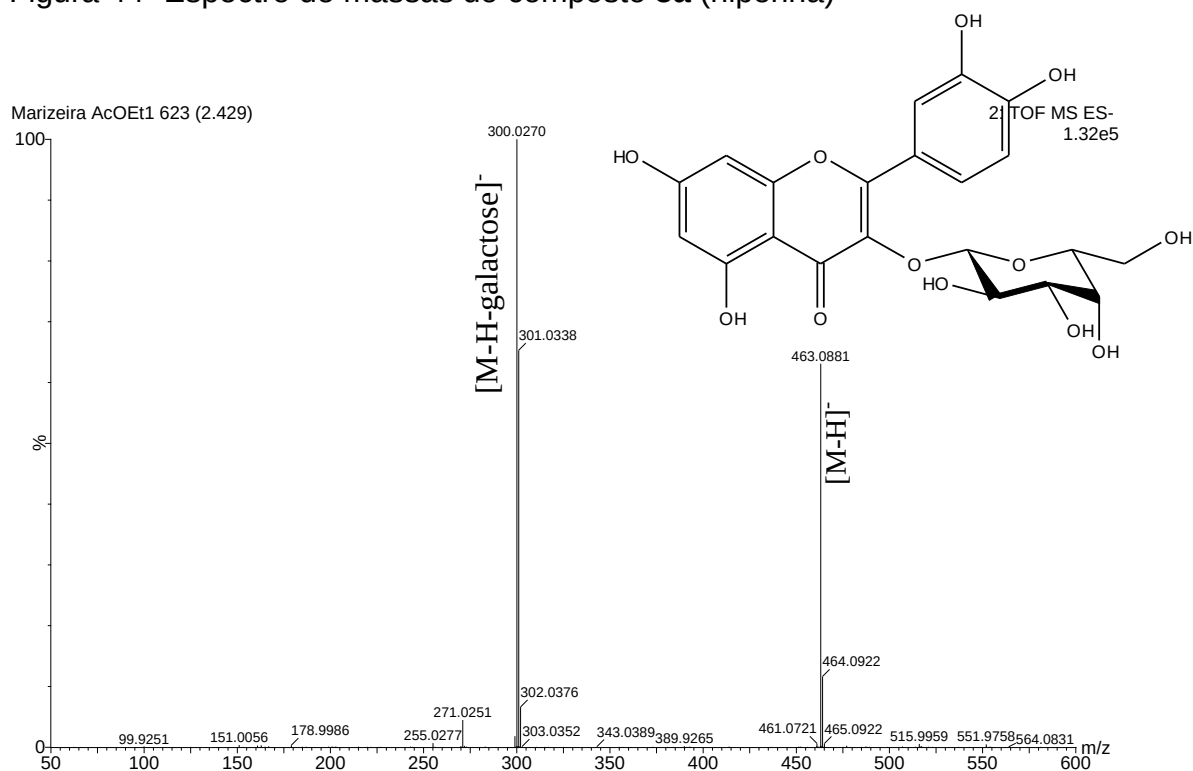
**Fonte:**A autora (2019)-\* comparação com padrão.

Figura 43- Espectro de absorção UV das substâncias **8c-11c** ( $N^1$ ,  $N^5$ ,  $N^{10}$ -tri-*p*-coumaroilespermidina isômeros)

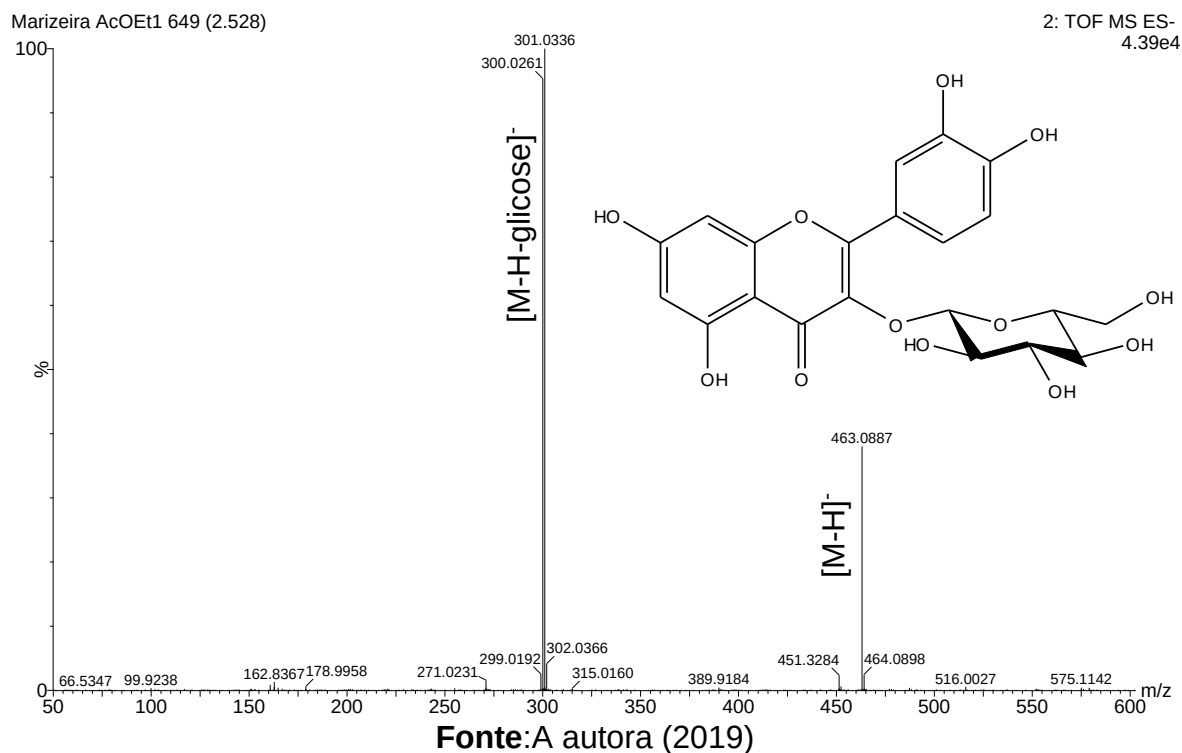
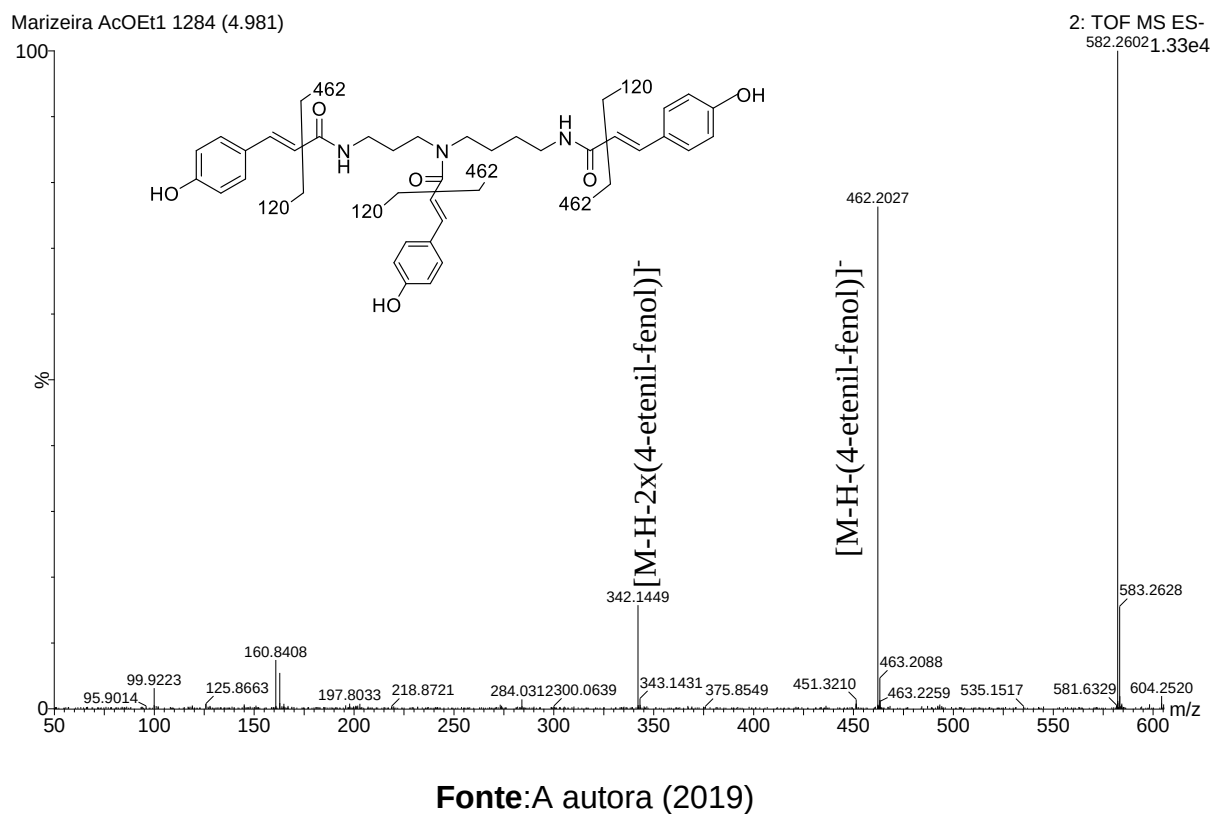


Fonte:A autora (2019)

Figura 44- Espectro de massas do composto **5a** (hiperina)



Fonte:A autora (2019)

Figura 45- Espectro de massas do composto **6a** (isoquercetina)Figura 46- Espectro de massas do composto **11c** [*N*<sup>1</sup>, *N*<sup>5</sup>, *N*<sup>10</sup>-tri-*p*-coumaroileespermidina isômero-(*EEE*)]



*-Mimosa tenuiflora (Jurema preta)*

Alguns compostos conhecidos presentes nas flores da Jurema preta foram identificados por comparação com padrões autênticos de acordo com os tempos de retenção, dados de ultravioleta (UV) e espectros de massas. Os compostos não conhecidos foram caracterizados pela análise dos íons produtos (espectros MS<sup>E</sup>) e pelos espectros de UV comparados com registros na literatura. Dos 30 compostos analisados e identificados (Tabela 15), os compostos **3d**, **4d**, **8d**, **9d** e **26d** foram comparados com padrões autênticos, todos são derivados fenólicos. Apenas um compostos não é flavonoide aglicona: **1d** (isoramnetina-glicosídeo). Dos 29 flavonoides agliconas identificados 21 são flavonas/flavonóis e 8 são flavanonas/flavanonóis. Os cromatogramas obtidos por UPLC-DAD e íon pico base (UPLC-qTOF/MS<sup>E</sup>) em modo negativo da fração acetato de etila das flores de jurema preta estão nas (Figuras 47).

Composto **1d** (isoramnetina-glicosídeo) com  $m/z$  477,2039 [M-H]<sup>-</sup> mostrou a perda de 162 Da, sugerindo a presença de uma hexose na estrutura. O fragmento em  $m/z$  315.0502 [M-H-hexose]<sup>-</sup> corresponde a molécula da isoramnetina (quercetina metilada) desprotonada.

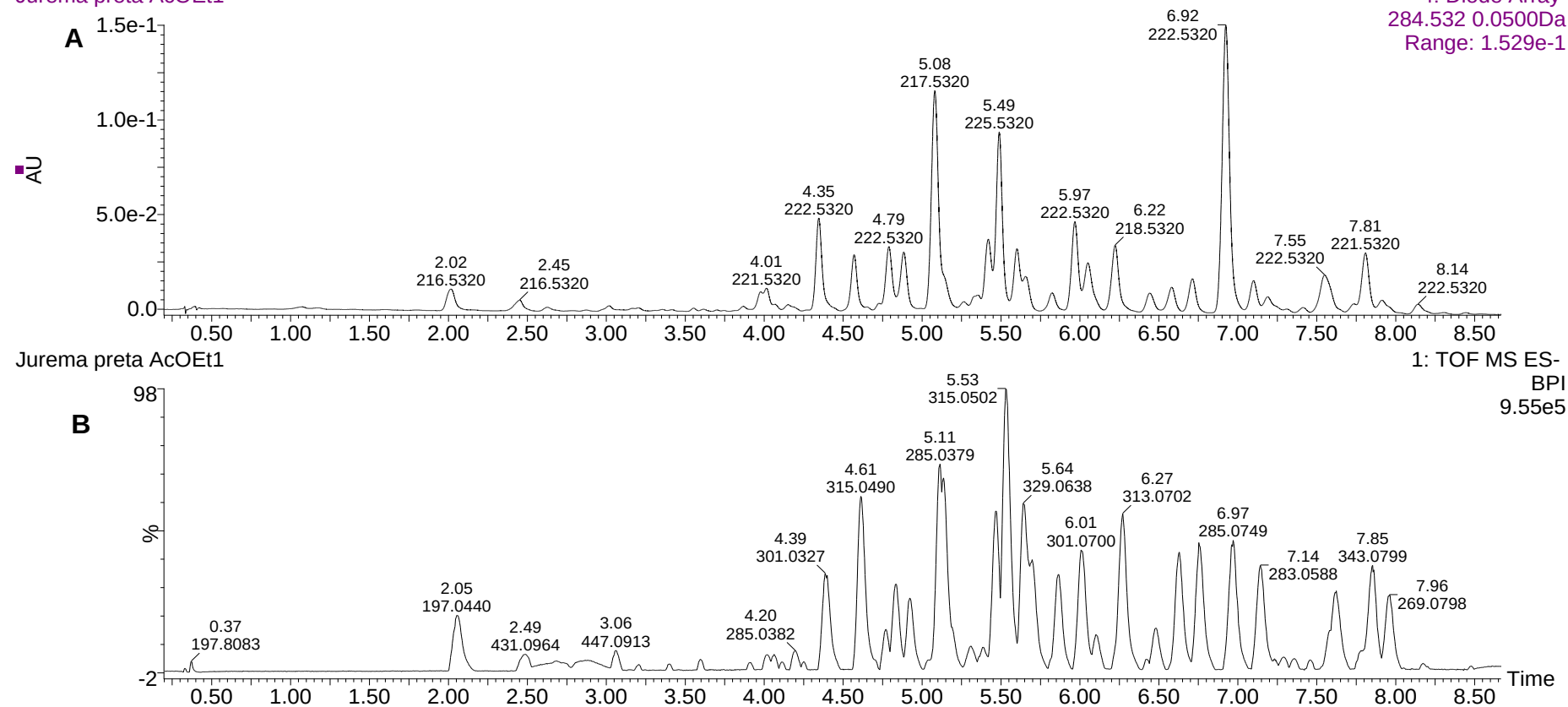
Os flavonoides agliconas foram separadas em dois grupos baseados nos valores das absorções no UV (em torno de 290 nm para flavanona/flavanonol e 345-360 nm para flavona/flavonol) e nos íons produtos obtidos nos espectros de massas, sendo a grande maioria isômeros como: **3d**, **26d** (285 Da); **4d,10d,11d,13d,20d** (301 Da); **22d, 28d, 29d** (313Da); **6d, 12d, 14d, 21d** (315 Da); **17d, 18d, 24d** (329 Da); **25d, 30d** (343 Da) **7d, 15d** (345 Da). Os picos mais comuns derivados da perda neutra de pequenas moléculas ou íons como por exemplo CO (28 Da), H<sub>2</sub>O (18 Da) ou CH<sub>3</sub> (15 Da) estão na Tabela I.15. Geralmente a presença dos íons produtos resultantes da perda destas moléculas, também aparecem outros fragmentos resultantes da quebra do anel C dos flavonoides, clivagem retro Diels-Alder (RDA), pois com o aumento da energia de colisão, ocorre uma completa fragmentação a partir da molécula desprotonada. A clivagem RDA resulta em fragmentos que revelam o padrão de substituição nos anéis A e B. Os fragmentos obtidos resultantes do anel A e B indicam um possível padrão de substituição nestes anéis relativo ao número de hidroxilas e metoxilas presentes, embora não possa indicar a posição exata destes grupos no anel. Isoramnetina é um flavonol

que apresenta o íon desprotonado em  $m/z$  315,0506  $[M-H]^-$ . O espectro de massas mostra a perda de metila em  $m/z$  300,0285  $[M-H-CH_3]^-$ , perda de água 283,0275  $[M-2H-CH_3-H_2O]^-$  e subseqüentes perdas de CO  $m/z$  271,0248  $[M-2H-CH_3-CO]^-$ ,  $m/z$  255,0310  $[M-2H-CH_3-H_2O-CO]^-$  e  $m/z$  227,0358  $[M-2H-CH_3-H_2O-2CO]^-$ , as flavonas metoxiladas primeiro perde a metila  $[M-H-CH_3]^-$ , depois ocorre a desidratação  $[M-2H-CH_3-H_2O]^-$  e a perda do grupo carbonila. A clivagem do anel C referente a RDA forneceu os íons produtos em  $m/z$  164,0111,  $m/z$  149,9961,  $m/z$  151,0025 respectivamente. O íon produto em  $m/z$  164,0111 demonstra que a metoxila está ligada no anel B. A 7-metoxi-naringenina, representante de uma flavanona apresentou o pico do íon desprotonado em  $m/z$  285,0762  $[M-H]^-$ . Os principais íons produtos formados foram  $m/z$  269,0383  $[M-2H-CH_3]^-$  e  $m/z$  252,0089  $[M-2H-CH_3-H_2O]^-$ , além dos íons referentes a RDA em  $m/z$  165,0467 e  $m/z$  119,0494. Compostos como apigenina, naringenina e outros derivados metoxilados de flavanonas e flavonas foram isolada das folhas e galhos de *Mimosa hostilis* (OHSAKI et al., 2006).

A análise melissopalínológica do méis de abelha branca mostrou uma maior porcentagem de pólen coletados da espécie *Mimosa tenuiflora* com o indicativo que as abelhas visitaram esta espécie vegetal com maior frequência (SANTISTEBAN et al., 2019), os méis de abelha branca foram coletados para extração e análise por UPLC-DAD-qTOF-MS/MS, os cromatogramas estão na (Figura 48). As análises dos cromatogramas mostraram que todos os flavonoides (5-34) presentes nos méis de abelha branca são os principais constituintes das flores da jurema preta, ou seja, em relação a estes compostos tanto os méis como a flor de jurema preta apresentam o mesmo perfil químico. Estes dados reforçam que os méis analisados apresentam a maior constituição do néctar coletado das flores desta espécie vegetal como mostrado na análise palinológica. Os dados obtidos neste trabalho mostram o forrageamento específico das abelhas nativas em espécies vegetais também nativas da caatinga brasileira, indicando que os meliponíneos não apenas interferem nos aspectos sociais e econômicos, mas também em processos ecológicos e no ecossistema. Neste sentido existe a necessidade de preservação para a manutenção da diversidade vegetal e da flora nativa aumentando os sítios de nidificação para as abelhas sem ferrão e manutenção do equilíbrio na região semiárida do Nordeste.

Figura 47- Cromatograma UPLC-DAD (284 nm) (A) e ESI pico íon base (BPI) (B) da fração acetato de etila de *Mimosa tenuiflora* analisadas por UPLC-QTOF-MS

Jurema preta AcOEt1



Fonte: A autora (2019)

Figura 48- Cromatograma do íon pico base obtido por MS<sup>E</sup> (UPLC-qTOF/MS<sup>E</sup>) em modo negativo da fração SPE metanólica (amostra 3) do mel de abelha branca

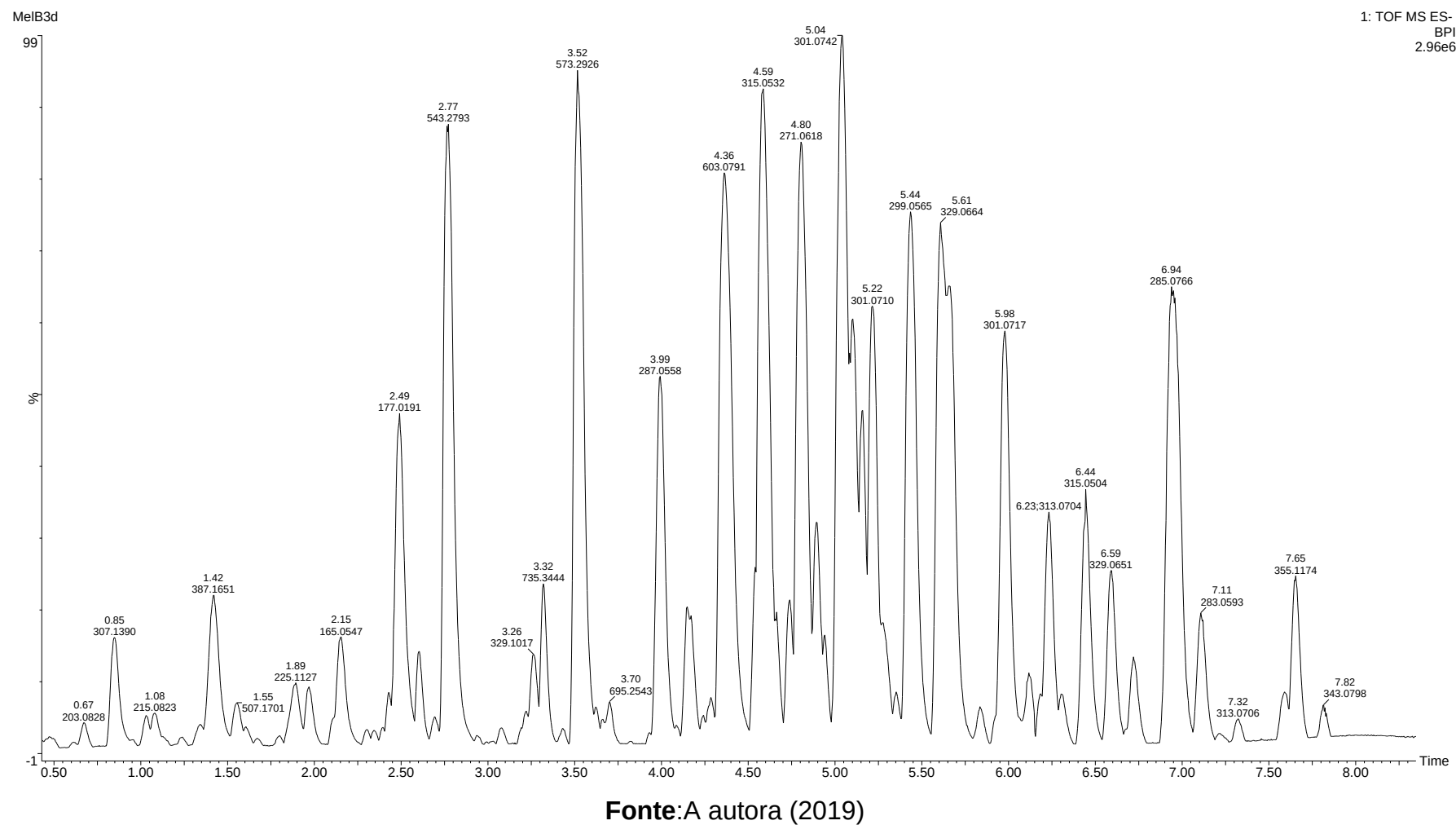


Tabela 15- Identificação dos compostos das flores de *M. tenuiflora* por UPLC-DAD-QTOF- MS<sup>E</sup>

|     | RT<br>(min) | $\lambda_{\max}$<br>(nm) | [M-H] <sup>-</sup><br>(m/z) | [M-H] <sup>-</sup><br>(m/z)<br>Calc. | MS/MS                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | Tentativa de identificação    |
|-----|-------------|--------------------------|-----------------------------|--------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|
| 1d  | 3,65        | 345                      | 477,1039                    | 477,1039                             | 315,0502 [M-H-glicose] <sup>-</sup>                                                                                                                                                                                                                                                                      | Isoramnetina-glicosídeo       |
| 2d  | 3,99        | 287                      | 287,0558                    | 287,0561                             | 259,9099 [M-H-CO] <sup>-</sup>                                                                                                                                                                                                                                                                           | Tetrahidroxi-flavanona        |
| 3d  | 4,15        | 359                      | 285,0400                    | 285,0405                             | 257,0378 [M-H-CO] <sup>-</sup>                                                                                                                                                                                                                                                                           | Luteolina*                    |
| 4d  | 4,36        | 345                      | 301,0305                    | 301,0353                             | 283,0178 [M-H-H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup> , 273,0399 [M-H-CO] <sup>-</sup>                                                                                                                                                                                                                            | Quercetina*                   |
| 5d  | 4,52        | 345                      | 331,0437                    | 331,0459                             | 316,0200 [M-H-CH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup> , 301,0304 [M-H-2CH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup> , 272,0483 [M-2H-2CH <sub>3</sub> -CO] <sup>-</sup>                                                                                                                                                         | Pentahidroxi-metoxi-flavona   |
| 6d  | 4,59        | 356                      | 315,0576                    | 315,0510                             | 300,0258 [M-H-CH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup> , 271,0230 [M-2H-CH <sub>3</sub> -CO] <sup>-</sup> , 272,0288 [M-H-CH <sub>3</sub> -CO] <sup>-</sup> , 255,0301 [M-2H-CH <sub>3</sub> -CO-H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup>                                                                                    | Tetra-hidroxi-metoxi-flavona  |
| 7d  | 4,74        | 358                      | 345,0608                    | 345,0608                             | 330,0374 [M-H-CH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup> , 315,0137 [M-H-2CH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup> , 287,0194 [M-H-2CH <sub>3</sub> -CO] <sup>-</sup>                                                                                                                                                          | Pentahidroxi-dimetoxi-flavona |
| 8d  | 4,80        | 288                      | 271,0606                    | 271,0611                             | 253,0455 [M-H-H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup>                                                                                                                                                                                                                                                             | Naringerina*                  |
| 9d  | 4,89        | 345                      | 269,0451                    | 269,0455                             | 241,3104 [M-H-CO] <sup>-</sup>                                                                                                                                                                                                                                                                           | Apigenina*                    |
| 10d | 5,04        | 290                      | 301,0790                    | 301,0716                             | 286,0473 [M-H-CH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup>                                                                                                                                                                                                                                                             | Trihidroxi-metoxi-flavanona   |
| 11d | 5,10        | 288                      | 301,0710                    | 301,0716                             | 285,0385 [M-2H-CH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup>                                                                                                                                                                                                                                                            | Trihidroxi-metoxi-flavanona   |
| 12d | 5,16        | 360                      | 315,0505                    | 315,0510                             | 300,0261 [M-H-CH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup> , 272,0299 [M-H-CH <sub>3</sub> -CO] <sup>-</sup> , 271,0230 [M-2H-CH <sub>3</sub> -CO] <sup>-</sup> , 243,0287 [M-2H-CH <sub>3</sub> -2CO] <sup>-</sup>                                                                                                    | Tetrahidroxi-metoxi-flavona   |
| 13d | 5,22        | 286                      | 301,0701                    | 301,0716                             | 286,0464 [M-H-CH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup>                                                                                                                                                                                                                                                             | Trihidroxi-metoxi-flavanona   |
| 14d | 5,28        | 345                      | 315,0506                    | 315,0510                             | 300,0238 [M-H-CH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup> , 283,0275 [M-H-CH <sub>3</sub> -H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup> , 271,0248 [M-2H-CH <sub>3</sub> -CO] <sup>-</sup> , 255,0301 [M-2H-CH <sub>3</sub> -CO-H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup> , 227,0358 [M-2H-CH <sub>3</sub> -H <sub>2</sub> O-2CO] <sup>-</sup> | Isoramnetina                  |
| 15d | 5,35        | 346                      | 329,0638                    | 329,0666                             | 314,0409 [M-H-CH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup> , 299,0177 [M-H-2CH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup> , 271,0231 [M-H-2CH <sub>3</sub> -CO] <sup>-</sup>                                                                                                                                                          | Tetrahidroxi-dimetoxi-flavona |

|     |      |     |          |          |                                                                                                                                                                                                       |                              |
|-----|------|-----|----------|----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------|
| 16d | 5,44 | 349 | 299,0558 | 299,0561 | 284,0302 [M-H-CH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup> , 255,0276 [M-2H-CH <sub>3</sub> -CO] <sup>-</sup> ,<br>227,0328 [M-2H-CH <sub>3</sub> -2CO] <sup>-</sup>                                                | Trihidroxi-metoxi-flavona    |
| 17d | 5,61 | 339 | 329,0663 | 329,0666 | 314,0415 [M-H-CH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup> , 299,0180 [M-H-2CH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup> , 271,0232<br>[M-H-2CH <sub>3</sub> -CO] <sup>-</sup>                                                    | Trihidroxi-dimetoxi-flavona  |
| 18d | 5,67 | 355 | 329,0663 | 329,0666 | 314,0394 [M-H-CH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup> , 299,0163 [M-H-2CH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup> ,<br>271,0261[M-H-2CH <sub>3</sub> -CO] <sup>-</sup> , 243,0272                                          | Trihidroxi-dimetoxi-flavona  |
| 19d | 5,84 | 346 | 359,0772 | 359,0772 | 344,0544 [M-H-CH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup> , 329,0302 [M-H-2CH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup> , 301,0359<br>[M-H-2CH <sub>3</sub> -CO] <sup>-</sup> , 286,0110 [M-H-3CH <sub>3</sub> -CO] <sup>-</sup> | Trihidroxi-trimetoxi-flavona |
| 20d | 5,98 | 286 | 301,0716 | 301,0716 | 283,0501 [M-H-H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup>                                                                                                                                                          | Trihidroxi-metoxi-flavanona  |
| 21d | 6,12 | 287 | 315,0878 | 315,0874 | 285,0410 [M-H-2CH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup>                                                                                                                                                         | Dihidroxi-metoxi-flavanona   |
| 22d | 6,23 | 333 | 313,0714 | 313,0717 | 298,0471 [M-H-CH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup> , 283,0235 [M-H-2CH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup> , 255, 0291<br>[M-H-2CH <sub>3</sub> -CO] <sup>-</sup>                                                   | Dihidroxi-dimetoxi-flavona   |
| 23d | 6,30 | 359 | 329,0666 | 329,0666 | 314,0435 [M-H-CH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup> , 299,0202 [M-H-2CH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup> , 271,0266<br>[M-H-2CH <sub>3</sub> -CO] <sup>-</sup>                                                    | Trihidroxi-dimetoxi-flavona  |
| 24d | 6,59 | 357 | 329,0655 | 329,0666 | 314,0415 [M-H-CH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup> , 299,0178 [M-H-2CH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup> , 271,0234<br>[M-H-2CH <sub>3</sub> -CO] <sup>-</sup>                                                    | Trihidroxi-dimetoxi-flavona  |
| 25d | 6,72 | 245 | 343,0808 | 343,0823 | 328,0567 [M-H-CH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup> , 313,0329 [M-H-2CH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup> , 298,0099<br>[M-H-3CH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup>                                                       | Dihidroxi-trimetoxi-flavona  |
| 26d | 6,94 | 287 | 285,0762 | 285,0768 | 269,0383 [M-2H-CH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup>                                                                                                                                                         | 7-metoxi-naringenina*        |
| 27d | 7,11 | 345 | 283,0610 | 283,0611 | 268,0362 [M-H-CH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup>                                                                                                                                                          | Dihidroxi-metoxi-flavona     |
| 28d | 7,32 | 346 | 313,0714 | 313,0718 | 298,0453 [M-H-CH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup> , 283,0211 [M-H-2CH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup> , 255, 0273<br>[M-H-2CH <sub>3</sub> -CO] <sup>-</sup>                                                   | Dihidroxi-dimetoxi-flavona   |
| 29d | 7,59 | 357 | 313,0694 | 313,0718 | 298,0453 [M-H-CH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup> , 283,0211 [M-H-2CH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup> , 255, 0267<br>[M-H-2CH <sub>3</sub> -CO] <sup>-</sup>                                                   | Dihidroxi-dimetoxi-flavona   |
| 30d | 7,82 | 345 | 343,0811 | 343,0813 | 328,0560 [M-H-CH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup> , 313,0325 [M-H-2CH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup> , 285,0378<br>[M-H-2CH <sub>3</sub> -CO] <sup>-</sup> , 270,0139 [M-H-3CH <sub>3</sub> -CO] <sup>-</sup> | Dihidroxi-trimetoxi-flavona  |

**Fonte:**A autora (2019)-\*Comparado com padrão autêntico.

#### 1.4.3.3 Análises por UPLC-PDA-qTOF-MS/MS da fração acetato de etila das flores das famílias Cleomaceae (*Cleome spinosa*), Combretaceae (*Combretum leprosum*) Nyctaginaceae (*Boerhavia diffusa*)

##### -*Cleome spinosa*

A análise por UPLC-PDA-qTOF-MS no modo negativo (Figura 49), possibilitou a identificação de 12 substâncias. A maior parte delas flavonoides glicosilados. Os compostos identificados estão resumidos na Tabela 16.

Os compostos **2e** e **3e** apresentaram pico da molécula desprotonada em  $m/z$  609,1462  $[M-H]^-$ , com íons produtos em  $m/z$  447,0920  $[M-H-hexose]$  perda de 162 Da,  $m/z$  301,0372  $[M-H-2hexose]$  perda de 146 Da, os compostos foram identificados como sendo derivados diglicosilados da quercetina, anteriormente relatados na espécie *Cleome droserifolia* (EL-ASKARY et al., 2019). Os compostos **4e** e **5e** apresentaram o pico  $m/z$  593,1512  $[M-H]^-$ , com padrões de fragmentação iguais característico de flavona glicosilada ligada a um derivado do ácido cumárico, os íons produtos em  $m/z$  447,0920 (perda da porção coumaroil) e  $m/z$  285,0327 (perda da porção coumaroil-hexose), sugerindo que os compostos sejam derivados do canferol-coumaroil-glicosídeo (AABY; EKEBERG; SKREDE, 2007). O pico **6e** exibiu um pico da molécula desprotonada em  $m/z$  463,0880  $[M-H]^-$  e um fragmento em  $m/z$  301,0276  $[M-H-162]$ , indicativo da perda da hexose, o composto foi identificado como um glicosilado da quercetina. O pico **7e** em  $m/z$  447,0933  $[M-H]^-$ , produziu os íons produtos 285,0381  $[M-H-hexose]^-$ , 255,0292  $[M-H-hexose-CO]^-$ , os dados de massas estão de acordo com os reportados na literatura, ele foi tentativamente identificado como um derivado glicosilado do canferol (CHEN et al., 2016). O composto **8e** com pico em  $m/z$  477,1039  $[M-H]^-$  foi identificado tentativamente como metil-hexosídeo trihidroxi-flavona e apresentou os íons produtos  $m/z$  315,0498  $[M-H-162 Da]^-$  representativo da perda de uma unidade de hexose e  $m/z$  285,0398  $[M-H-30]^-$ , que corresponde a perda de grupo metoxila. O composto **9e** com pico da molécula desprotonada em  $m/z$  815,2044  $[M-H]^-$ , foi caracterizado como cinamoil-dihexosídeo-trihidroxi-flavona de acordo com os fragmentos detectados. O espectro de massa mostraram os íons produtos  $m/z$  609,1520  $[M-H-206]^-$ , característico de perda de cinamoil,  $m/z$  447,0899  $[M-H-cinamoil-162]$  produzido pela perda de hexose e  $m/z$  285,0493  $[M-H-cinamoil-2xhexose]$ , formado pela perda de 162 Da, indicando a

existência de duas unidades de açúcar ligadas à aglicona (QUIRÓS-GUERRERO et al., 2019). O pico **10e** exibiu o íon molecular desprotonado em  $m/z$  489,1033[M-H]<sup>-</sup>, com íons produtos em  $m/z$  300,0238, indicando a perda do grupo acetil mais a hexose,  $m/z$  271,0205 e  $m/z$  197,8067 perdas de CO e C<sub>3</sub>H<sub>6</sub>O por clivagem característica de retro Diels-Alder (RDA) do anel C (AABY; EKEBERG; SKREDE, 2007; CHEN et al., 2016), ele foi identificado como acetil-hexosídeo-tetrahidroxi-flavona, reportados em flores de *Cleome viscosa* (SINGH; MISHRA; MISHRA, 2018). O composto **12e** apresentou pico de molécula desprotonada em  $m/z$  515,1191 [M-H]<sup>-</sup>, com íons produtos característicos em  $m/z$  497,3367 [M-H-18]<sup>-</sup>, referente a perda de água, 431,0850 [M-H-84 Da]<sup>-</sup>, indicando a perda de duas unidades acetil e 285,0389 [M-H-84-146]<sup>-</sup> exibindo a perda das duas unidades acetil mais a hexose o composto **12e** foi tentativamente identificado como sendo o diacetil-hexosídeo-trihidroxi-flavona.

Os flavonoides metilados e glicosilados são característicos nas espécies do gênero *Cleome* (SHARAF; EL-ANSARI; SALEH, 1997). Da parte aérea de sete espécies do gênero *Cleome* foram encontrados diferentes flavonoides metoxilados (WOLLENWEBER; VALANT-VETSCHERA; ROITMAN, 2007).



Figura 49- Cromatograma UPLC-DAD (284 nm) (A) e ESI pico íon base (BPI) (B) da fração acetato de *C. spinosa* analisadas por UPLC-QTOF-MS<sup>E</sup>

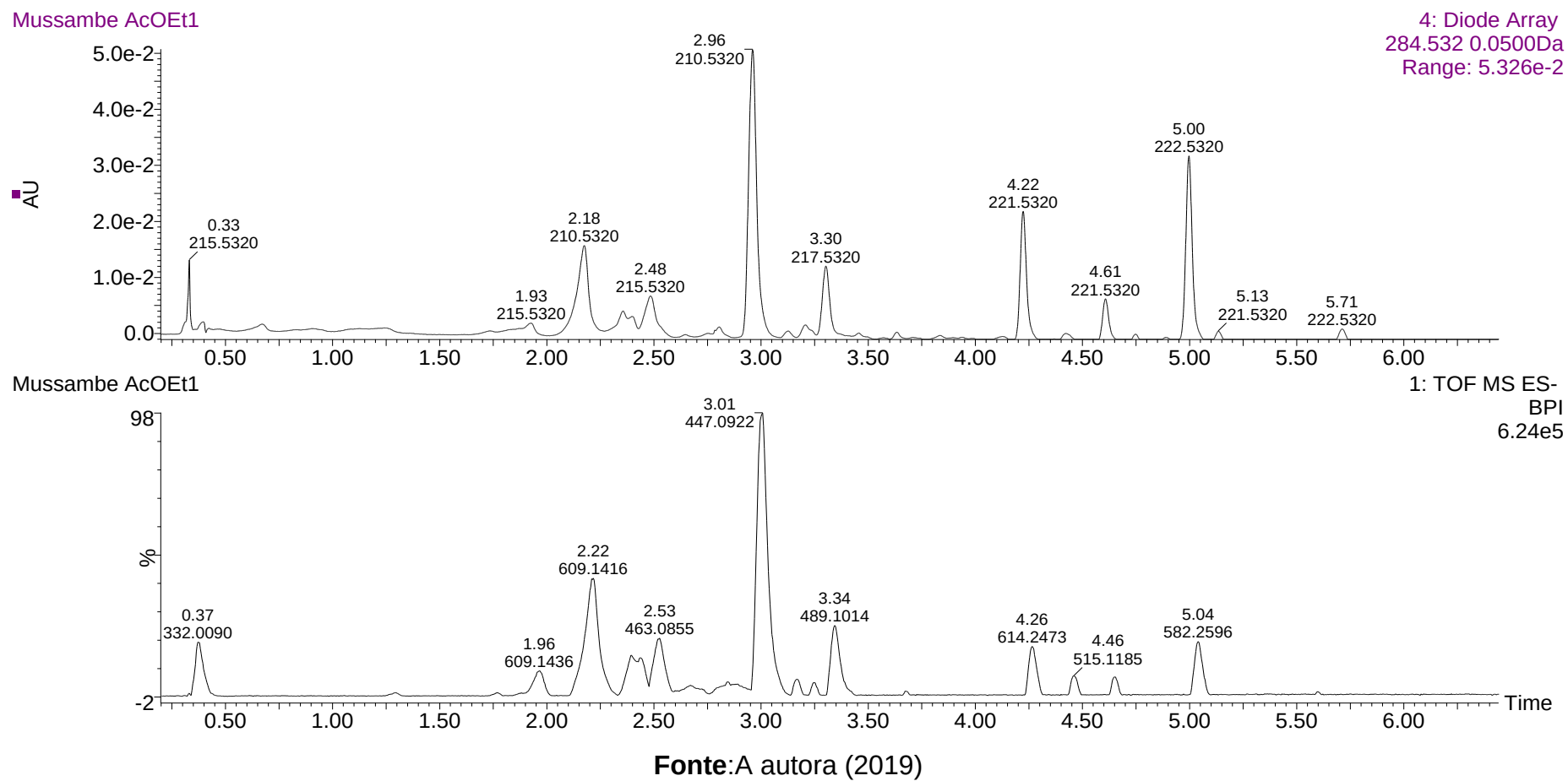


Tabela 16- Identificação dos compostos das flores de *C. spinosa* por UPLC-DAD-QTOF- MS<sup>E</sup>

| Comp. | Tr<br>(min) | UV<br>$\lambda_{max}(nm)$ | [M-H] <sup>-</sup><br>(m/z) | [M-H] <sup>-</sup><br>(m/z)Calc. | MS/MS                                                                                                                                                                             | Tentativa de<br>identificação                                                                        |
|-------|-------------|---------------------------|-----------------------------|----------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1e    | 0,37        | 210                       | 332,0090                    |                                  |                                                                                                                                                                                   | N.I                                                                                                  |
| 2e    | 1,96        | 353                       | 609,1462                    | 609,1461                         | 447,0920 [M-H-hexose] <sup>-</sup> , 301,0372 [M-H-2hexose] <sup>-</sup>                                                                                                          | Tetrahydroxi-flavona<br>dihexosídeo                                                                  |
| 3e    | 2,22        | 346                       | 609,1462                    | 609,1461                         | 447,0920 [M-H-hexose] <sup>-</sup> , 301,0372 [M-H-2hexose] <sup>-</sup>                                                                                                          | Tetrahydroxi-flavona-<br>dihexosídeo                                                                 |
| 4e    | 2,29        | 344                       | 593,1512                    | 593,1512                         | 447,0920 [M-H-cumaroil] <sup>-</sup> , 285,0327 [M-H-cumaroil-<br>hexose] <sup>-</sup>                                                                                            | Trihidroxi-cumaroil-<br>flavona-hexosídeo                                                            |
| 5e    | 2,33        | 344                       | 593,1512                    | 593,1512                         | 447,0920 [M-H-Cumaroil] <sup>-</sup> , 285,0327 [M-H-<br>cumaroil-hexose] <sup>-</sup>                                                                                            | Trihidroxi-cumaroil-<br>flavona-hexosídeo                                                            |
| 6 e   | 2,52        | 353                       | 463,0880                    | 463,0882                         | 301,0345 [M-H-hexose] <sup>-</sup> , 271,0248 [M-H-hexose-<br>CO] <sup>-</sup> , 255,0295 [M-H-Hexose- CO- H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup>                                         | Tetrahydroxi-flavona-<br>hexosídeo                                                                   |
| 7 e   | 3,01        | 347                       | 447,0932                    | 447,0933                         | 285,0381 [M-H-hexose] <sup>-</sup> , 255,0292 [M-H-hexose-<br>CO] <sup>-</sup>                                                                                                    | Tetrahydroxi-flavona-<br>hexosídeo                                                                   |
| 8 e   | 3,16        | 345                       | 477,1031                    | 477,1039                         | 447,1000 [M-H-CH <sub>2</sub> O] <sup>-</sup> , 315,0498 [M-H-hexose] <sup>-</sup> ,<br>, 285,0398 [M-H-hexose-CH <sub>2</sub> O] <sup>-</sup> ,                                  | Trihidroxi-metoxi-<br>flavona-hexosídeo                                                              |
| 9 e   | 3,28        | 319                       | 815,2044                    | 815,2048                         | 609,1520 [M-H-cinamoil] <sup>-</sup> , 447,0899 [M-H-cinamoil-<br>hexose] <sup>-</sup> , 285,0493 [M-H-cinamoil-2hexose] <sup>-</sup>                                             | Trihidroxi-cinamoil-<br>flavona-dihexosídeo                                                          |
| 10e   | 3,34        | 345                       | 489,1033                    | 489,1039                         | 300,0238 [M-H-acetil-hexose] <sup>-</sup> , 271,0205 [M-H-<br>acetil-hexose-CHO] <sup>-</sup> , 197,8067 [M-H-acetil-hexose-<br>CHO-C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O] <sup>-</sup> | Tetrahydroxi-acetil-<br>flavona-hexosídeo                                                            |
| 11e   | 4,26        | 315                       | 614,2506                    | 614,2502                         | 452,2070 [M-H-cafeoil] <sup>-</sup> , 332,1558 [M-H-cafeoil-<br>(etenil-fenol)] <sup>-</sup>                                                                                      | Coumaroil-Dicafeoil-<br>espermidina                                                                  |
| 12e   | 4,47        | 345                       | 515,1191                    | 515,1195                         | 497,3367 [M-H-H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup> , 431,0850 [M-H-2acetil] <sup>-</sup> ,<br>, 285,0389 [M-H-2acetil-Hexose] <sup>-</sup>                                              | Trihidroxi-diacetil-<br>flavona-hexosídeo                                                            |
| 11c   | 5,04        | 293                       | 582,2596                    | 582,2610                         | 462,2025 [M-H-(4-etenil-fenol)] <sup>-</sup> , 342,1445 [M-H-<br>4x-etenil-fenol)] <sup>-</sup> , 162,8383 [M-H-dicoumaroil-<br>espermidina] <sup>-</sup>                         | N <sup>1</sup> , N <sup>5</sup> , N <sup>10</sup> -Tri- <i>p</i> -<br>coumaroilespermidina<br>(EEE)* |

**Fonte:** A autora (2019)-\* comparação com padrões; NI: Não identificado.

*-Combretum leprosum*

Os cromatogramas de UPLC-DAD e dos picos íons base (BPI) mostrados na Figura 50. Os compostos tentativamente identificados estão resumidos na Tabela 17.

Nos compostos **1f**, **4f**, **5f**, **6f** e **7f** foi observado um íon produto referente a clivagem da ligação glicosídica e a perda das porções de açúcar, eles foram classificados como flavonoides O-glicosilados (PAREJO et al., 2004; SÁNCHEZ-RABANEDA et al., 2003). O composto **1f** apresentou fragmento em  $m/z$  271,0248 devido à perda de CO e o fragmento em  $m/z$  195,8300 obtido pela perda do anel B da estrutura da aglicona (FABRE et al., 2001). Os compostos **4f** e **5f** diferem apenas na posição do substituinte de açúcar e no tipo de ligação, em ambos os casos foi observada a perda do radical acetil e da unidade de hexose para formar os íons produtos  $m/z$  463,7742 e  $m/z$  300,0238 para ambos os compostos, além dos picos em  $m/z$  271,0205 e  $m/z$  197,8067 característicos de aglicona; no caso dos compostos **6f** e **7f** mostraram o mesmo padrão de fragmentação dos compostos anteriores só diferem na unidade de açúcar (perda de 146 Da).

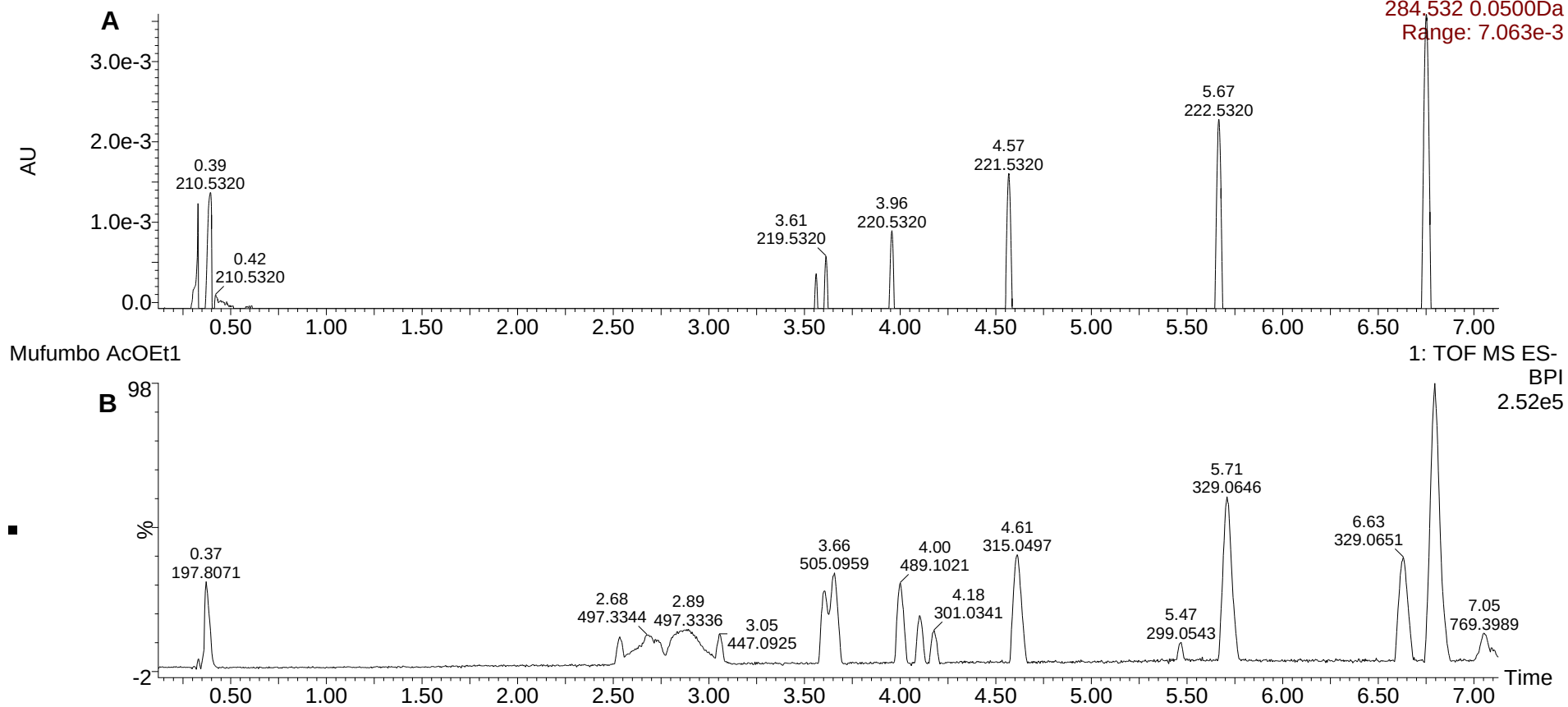
Os compostos **6c**, **6d**, **18d**, **24d**, **25d** e **29d** foram classificados como flavonas do tipo aglicona. O composto **6c** apresentou o pico da molécula desprotonada em  $m/z$  301,0352  $[M-H]^-$  com íons produtos  $m/z$  273,0379  $[M-H-CO]^-$ ,  $m/z$  255,0244  $[M-H-CO-H_2O]^-$ ,  $m/z$  193,0108  $[M-H-fragm\ anel\ B]^-$ , baseado nestes dados o composto foi tentativamente identificado como quercetina (FABRE et al., 2001). O composto **6d** detectado em  $m/z$  315,0500  $[M-H]^-$  exibiu uma fragmentação específica com a perda do radical  $CH_3$  da molécula de aglicona desprotonada, dando assim os íons produtos  $m/z$  300  $[M-H\ CH_3]^-$ ,  $m/z$  271,0260  $[M-H-CH_3-CO]^-$  e  $m/z$  197,8065  $[M-H-CH_3-CO-C_3H_6O_2]^-$  perda de parte do anel B, este composto foi identificado como um isômero da isoramnetina com base dos fragmentos de íons obtidos, os quais estavam totalmente em concordância com aqueles relatados na literatura (PAREJO et al., 2004; SÁNCHEZ-RABANEDA et al., 2003). Os espectros dos compostos **18d**, **24d** e **25d** revelaram íons produtos  $m/z$  315,0660 e  $m/z$  299,0191 (**18d** e **24d**);  $m/z$  328,0511 e  $m/z$  313,0272 (**25d**) pela perda de um ou dois radicais metila (15 Da), além dos  $m/z$  271,0231 e  $m/z$  285,0329 formado pela perda de CO (FABRE et

al., 2001), o composto **29d** mostrou um fragmento  $m/z$  283.0244 produto da perda de  $\text{OCH}_3$ , também foram observados os fragmentos  $m/z$  255,0287 e  $m/z$  197,8073 produto da perda de  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{OCH}_3$  e  $\text{CO}$  esta fragmentação é consistente com os reportados na literatura para agliconas metoxiladas (FABRE et al., 2001; JUSTESEN, 2001). Compostos do tipo aglicona de flavona já foram isolados das flores de *Combretum leprosum* (FACUNDO et al., 2008; PEREIRA et al., 2017).

Os compostos isômeros **2f** e **3f**  $[\text{M}-\text{H}]^-$   $m/z$  497,3336 produziram fragmentações semelhantes, os fragmentos  $m/z$  469,0525  $[\text{M}-\text{H}-28]^-$  referentes a perda de  $\text{CO}$  seguido da perda de unidades de radical  $\text{CH}_3$  (15 Da) e água (18 Da), para formar os íons produtos  $m/z$  467,1312 $[\text{M}-\text{H}-2\text{CH}_3]^-$ ,  $m/z$  437,1105  $[\text{M}-\text{H}-2\text{CH}_3-2\text{CH}_3]^-$ ,  $m/z$  374,2130 $[\text{M}-\text{H}-7\text{CH}_3-\text{H}_2\text{O}]$ , assim como  $m/z$  454,0451  $[\text{M}-\text{H}-\text{acetil}]^-$ , estes compostos foram classificados como derivados triterpenos pentacíclicos ácido acetilado, este tipo de triterpeno já foi isolado de folhas e flores de *Combretum leprosum* (FACUNDO et al., 2008) e das raízes do *Combretum racemosum* (GOSSAN et al., 2016).

Figura 50- Cromatograma UPLC-DAD (320 nm) (A) e ESI pico íon base (BPI) (B) da fração acetato de etila de *C. leprosum* analisadas por UPLC-QTOF-MS<sup>E</sup>

Mufumbo AcOEt1



Fonte: A autora (2019)

Tabela 17- Identificação dos compostos das flores de *C. leprosum* por UPLC-DAD-QTOF- MS<sup>E</sup>

| Comp. | Tr<br>(min) | UV<br>$\lambda_{max}$<br>(nm) | [M-H] <sup>-</sup><br>(m/z) | [M-H] <sup>-</sup><br>(m/z)<br>Calc. | MS/MS                                                                                                                                                                                                          | Tentativa de<br>identificação          |
|-------|-------------|-------------------------------|-----------------------------|--------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------|
| 1f    | 2,53        | 353                           | 463,0881                    | 463,0882                             | 301,0345 [M-H-hexose] <sup>-</sup> , 271,0248 [M-H-hexose-CO] <sup>-</sup> , 255,0295 [M-H-hexose-CO-H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup> , 195,830 [M-H-hexose-anel B] <sup>-</sup>                                 | Hexosídeo-tetrahydroxi-flavona         |
| 2 f   | 2,89        | 219                           | 497,3336                    | 497,3336                             | 469,0525 [M-H-CO] <sup>-</sup> ; 467,1312 [M-H-2CH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup> , 454,0451 [M-H-acetil] <sup>-</sup> , 437,1105 [M-H-2CH <sub>3</sub> -2CH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup>                          | Acetil-triterpeno ácido                |
| 3 f   | 2,70        | 217                           | 497,3336                    | 497,3336                             | 469,0525 [M-H-CO] <sup>-</sup> ; 467,1312 [M-H-2CH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup> , 454,0451 [M-H-acetil] <sup>-</sup> , 437,1105 [M-H-2CH <sub>3</sub> -2CH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup>                          | Acetil-triterpeno ácido                |
| 4 f   | 3,61        | 357                           | 505,0981                    | 505,0988                             | 463,7742 [M-H-acetil] <sup>-</sup> , 300,0238 [M-H-acetil-hexose] <sup>-</sup> , 271,0205 [M-H-acetil-hexose-CHO] <sup>-</sup> , 197,8067 [M-H-acetil-hexose-CHO-C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O] <sup>-</sup> | Acetil- hexosídeo-tetrahydroxi-flavona |
| 5 f   | 3,66        | 357                           | 505,0981                    | 505,0988                             | 463,7742 [M-H-acetil] <sup>-</sup> , 300,0238 [M-H-acetil-hexose] <sup>-</sup> , 271,0205 [M-H-acetil-hexose-CHO] <sup>-</sup> , 197,8067 [M-H-acetil-hexose-CHO-C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O] <sup>-</sup> | Acetil- hexosídeo-tetrahydroxi-flavona |
| 6 f   | 4,05        | 345                           | 489,1033                    | 489,1039                             | 447,0729 [M-H-acetil] <sup>-</sup> , 285,0291 [M-H-acetil-hexose] <sup>-</sup> , 255,0240 [M-H-acetil-hexose-CHO] <sup>-</sup> , 197,8067 [M-H-acetil-hexose-CHO-C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O] <sup>-</sup> | Acetil- hexosídeo-tetrahydroxi-flavona |
| 7 f   | 4,15        | 345                           | 489,1033                    | 489,1039                             | 447,0729 [M-H-acetil] <sup>-</sup> , 285,0291 [M-H-acetil-hexose] <sup>-</sup> , 255,0240 [M-H-acetil-hexose-CHO] <sup>-</sup> , 197,8067 [M-H-acetil-hexose-CHO-C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O] <sup>-</sup> | Acetil- hexosídeo-tetrahydroxi-flavona |
| 6c    | 4,17        | 372                           | 301,0352                    | 301,0354                             | 273,0379 [M-H-CO] <sup>-</sup> , 255,0244 [M-H-CO-H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup> , 193,0108 [M-H-fragm anel B] <sup>-</sup>                                                                                    | Quercetina*                            |
| 6d    | 4,61        | 356                           | 315,0500                    | 315,0510                             | 300,2030 [M-H-CH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup> , 271,0260 [M-H-CH <sub>3</sub> -CHO] <sup>-</sup> , 197,8065 [M-H-CH <sub>3</sub> -CHO-C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>-</sup>               | Tetrahydroxi-metoxi-flavona            |

|     |      |     |          |          |                                                                                                                                                                                                                                                      |                             |
|-----|------|-----|----------|----------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------|
| 18d | 5,71 | 357 | 329,0660 | 329,0667 | 315,0660 [M-H-CH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup> , 299,0191 [M-H-2CH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup> , 271,0231 [M-H-2CH <sub>3</sub> -CO] <sup>-</sup>                                                                                                      | Trihidroxi-dimetoxi-flavona |
| 24d | 6,63 | 357 | 329,0660 | 329,0667 | 315,0660 [M-H-CH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup> , 299,0191 [M-H-2CH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup> , 271,0231 [M-H-2CH <sub>3</sub> -CO] <sup>-</sup>                                                                                                      | Trihidroxi-dimetoxi-flavona |
| 25d | 6,80 | 355 | 343,0801 | 343,0823 | 328,0511 [M-H-CH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup> , 313,0272 [M-H-2CH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup> , 285,0327 [M-H-2CH <sub>3</sub> -CO] <sup>-</sup> , 199,8040 [M-H-2CH <sub>3</sub> -CO-CH <sub>3</sub> O-C <sub>3</sub> H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup> | Dihidroxi-trimetoxi-flavona |
| 29d | 7,50 | 350 | 313,0715 | 313,0718 | 283,0244 [M-H-CH <sub>3</sub> O] <sup>-</sup> , 255,0287 [M-H-CH <sub>3</sub> O-H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup> , 197,8073 [M-H-2CH <sub>3</sub> O-H <sub>2</sub> O-CO] <sup>-</sup>                                                                  | Dihidroxi-dimetoxi-flavona  |
| 8f  | 8,22 | 222 | 519,3293 |          |                                                                                                                                                                                                                                                      | N.I                         |

**Fonte:**A autora (2019)-\*Comparado com padrões.

*-Boerhavia diffusa*

A análise por UPLC-PDA-qTOF-MS (Figura 51), no modo negativo possibilitou a identificação de 12 substâncias, a maior parte sendo flavonoides. Os compostos identificados estão resumidos na Tabela 18.

O pico **1g** com pico de molécula desprotoda em a  $m/z$  191,0564  $[M-H]^-$  e íon produtos em  $m/z$  173,0461  $[M-H_2O]^-$ ,  $m/z$  127,0403  $[M-H_2O-CO]^-$  e  $m/z$  93,0344  $[M-3H_2O-CO]^-$ . Com base na interpretação dos fragmentos, o pico 1 foi identificado como o ácido quínico.

Oito compostos foram identificados como glicosídeos da quercetina (**2g**, **3g**, **4g**, **5g**, **5a**, **7a**, **9a** e **10a**), dois foram identificados como glicosídeos do canferol (**6g** e **8g**) e um como glicosídeo metoxilado do canferol (**11g**). A observação dos resíduos de glicosídeos arabinosil (132 Da), ramnosil (146 Da) e glucosil (162 Da) foram clivados sequencialmente e geraram fragmentos de agliconas característicos comparados com a literatura. Os isômeros **3g** e **5g** com pico de íon desprotonado em  $m/z$  609,1462  $[M-H]^-$ , com íons produtos  $m/z$  447,0920  $[M-H-162]^-$  e  $m/z$  301,0372  $[M-H-162-146]^-$ , o primeiro pela perda de uma unidade de hexose e o segundo referente a perda de duas unidades de hexose, foram identificados como quercetina-rutinosídeo, encontrados no caules de *Boerhavia erecta* (STINTZING et al., 2004) e *Hyptis suaveolens* (THOMFORD et al., 2018).

Os isômeros **7g** e **9g** com pico em  $m/z$  447,0932 e íon produto em  $m/z$  300,0273  $[M-H-146]^-$  formado pela perda da hexose; foram identificados como derivados de quercetina-ramnosídeo. Os compostos **2g**, **4g** e **5a** apresentaram os picos das moléculas desprotonadas em  $m/z$  755,2041  $[M-H]^-$ ,  $m/z$  595,1304  $[M-H]^-$  e  $m/z$  463,0882  $[M-H]^-$  respectivamente, eles mostraram um íon fragmento em  $m/z$  301,0354 devido a perda das unidades de hexose, esse fragmento corresponde a massa da quercetina, indicando que estes compostos são derivados tri,di glicosilados da quercetina, o composto **5a** identificado como hiperina, descrito anteriormente. A perda de unidades de hexose (146 Da e 162 Da) e unidades acetil (42 Da) foi observada para os picos **10g** e **11g**, no entanto, o pico **10** também mostrou pico de íon produto em  $m/z$  284,0326 formado pela perda do grupo metóxi, indicando que este pico é um derivado do canferol-acetil-hexosídeo e o composto **11g** é um derivado da quercetina-acetil-hexosídeo.



Os compostos **6g** e **7g** com pico em  $m/z$  593,1513[M-H]<sup>-</sup> e  $m/z$  623,1617 [M-H]<sup>-</sup> foram identificados como cumaroil-hexosídeo-canferol e cumaroil-hexosídeo-metoxicanferol. Ambos apresentaram um íon produto em  $m/z$  285,0327 resultado da perda [M-H-coumaroil-hexose] para o composto **6g** e [M-H-cumaroil-hexose-metoxi] para o composto **7g**.

Os flavonoides glicosilados derivados da quercetina e canferol foram isolados das folhas (MISHRA et al., 2014; THIRUNAVOUKKARASU, 2016) e raízes da planta *Boerhavia diffusa* (PEREIRA et al., 2017), além de ser encontrados em outras espécies do gênero *Boerhavia* (PATIL; BHALSING, 2016).

Figura 51- Cromatograma UPLC-DAD (320 nm) (A) e ESI pico íon base (BPI) (B) da fração acetato de etila de *B. diffusa* por UPLC-QTOF-MS<sup>E</sup>

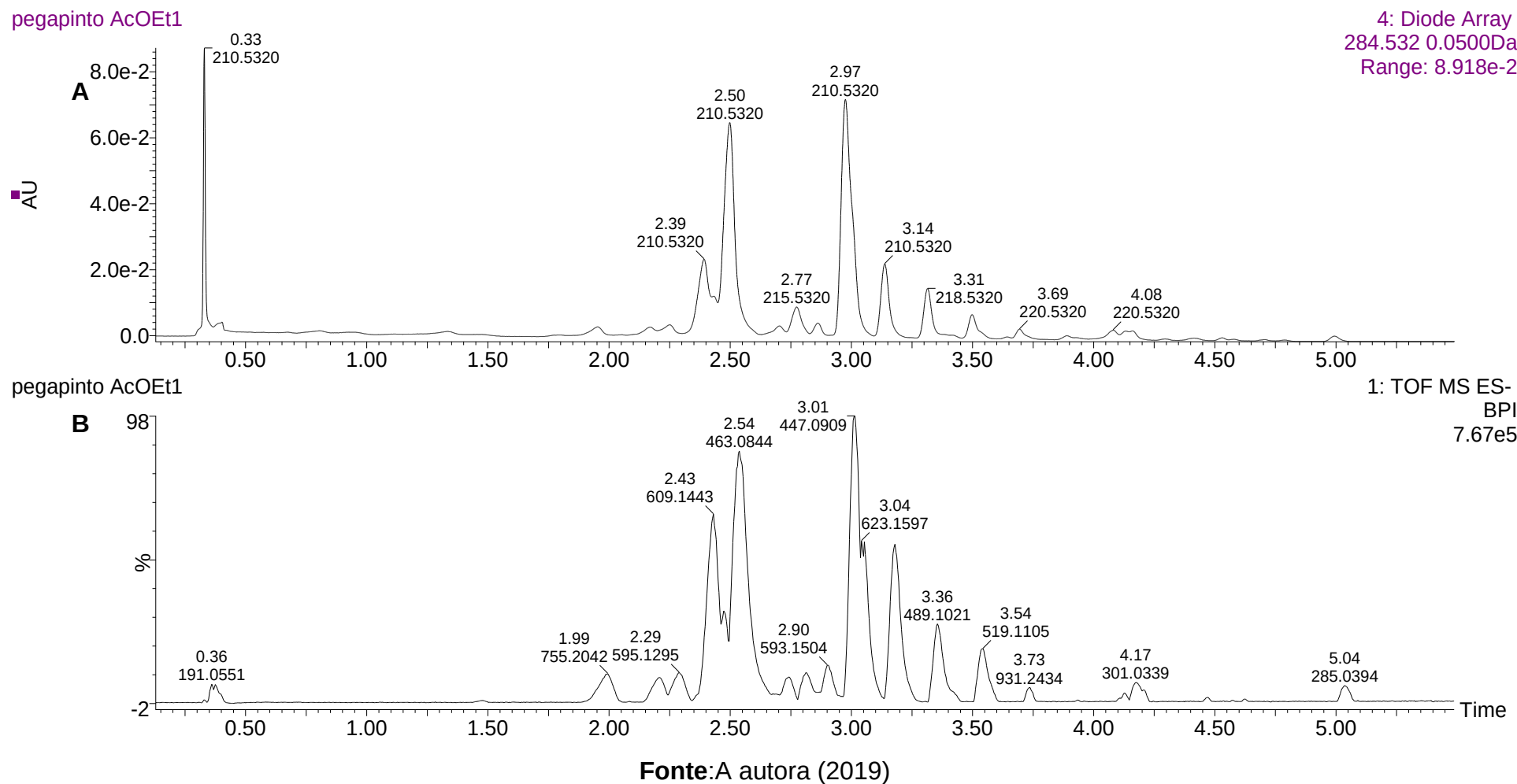


Tabela 18- Identificação dos compostos das flores de *B. diffusa* por UPLC-DAD-QTOF- MS<sup>E</sup>

| Comp . | Tr (min) | UV $\lambda_{max}$ (nm) | [M-H] <sup>-</sup> (m/z) | [M-H] <sup>-</sup> (m/z) Calc. | MS/MS                                                                                                                                                                     | Tentativa de identificação                    |
|--------|----------|-------------------------|--------------------------|--------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------|
| 1g     | 0,36     | 215                     | 191,0562                 | 191,0561                       | 173,0461 [M-H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup> ; 127,0403 [M-H <sub>2</sub> O-CO] <sup>-</sup> ; 93,0344 [M-3H <sub>2</sub> O-CO] <sup>-</sup>                                | Ácido quínico                                 |
| 2 g    | 1,89     | 356                     | 755,2041                 | 755,2040                       | 609,5953 [M-H-hexose] <sup>-</sup> ; 463,1030 [M-H-2 hexoses] <sup>-</sup> ; 301,0354 [M-H-3hexose] <sup>-</sup>                                                          | Tetrahidroxi-flavona-trihexosídeo             |
| 3 g    | 2,20     | 357                     | 609,1462                 | 609,1461                       | 447,0920 [M-H-hexose] <sup>-</sup> ; 301,0372 [M-H-2hexose] <sup>-</sup>                                                                                                  | Tetrahidroxi-flavona-dihexosídeo              |
| 4 g    | 2,29     | 350                     | 595,1304                 | 595,1305                       | 433,0882 [M-H-hexose] <sup>-</sup> ; 301,0354 [M-H-2hexose] <sup>-</sup>                                                                                                  | Tetrahidroxi-flavona-dihexosídeo              |
| 5 g    | 2,43     | 353                     | 609,1462                 | 609,1461                       | 447,0920 [M-H-hexose] <sup>-</sup> ; 301,0372 [M-H-2hexose] <sup>-</sup>                                                                                                  | Tetrahidroxi-flavona-dihexosídeo              |
| 5a     | 2,54     | 353                     | 463,0881                 | 463,0882                       | 301,0354 [M-H-hexose] <sup>-</sup> ; 271,0248 [M-H-hexose-CH <sub>2</sub> O] <sup>-</sup> ; 255,0295 [M-H-hexose-CO-H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup>                        | Hiperina*                                     |
| 6 g    | 2,90     | 346                     | 593,1513                 | 593,1512                       | 447,0920 [M-H-Cumaroil] <sup>-</sup> ; 285,0327 [M-H-cumaroil-hexose] <sup>-</sup>                                                                                        | Cumaroil- trihidroxi-flavona-hexosídeo        |
| 7 g    | 3,01     | 347                     | 447,0932                 | 447,0933                       | 300,0273 [M-H-hexose] <sup>-</sup> ; 271,0247 [M-H-hexose-CO] <sup>-</sup> ; 243,0298 [M-H-hexose-2CO] <sup>-</sup>                                                       | Tetrahidroxi-flavona-dihexosídeo              |
| 8g     | 3,04     | 350                     | 623,1617                 | 623,1618                       | 593,1971 [M-H-OCH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup> ; 285,0327 [M-H-CH <sub>3</sub> O- cumaroil-hexose] <sup>-</sup>                                                            | Metoxi-cumaroil- trihidroxi-flavona-hexosídeo |
| 9g     | 3,18     | 353                     | 447,0932                 | 447,0933                       | 300,0273 [M-H-hexose] <sup>-</sup> ; 271,0247 [M-H-hexose-CO] <sup>-</sup> ; 243,0298 [M-H-hexose-2CO] <sup>-</sup>                                                       | Tetrahidroxi-flavona-hexosídeo-               |
| 10 g   | 3,36     | 345                     | 489,1033                 | 489,1039                       | 300,0238 [M-H-acetil-hexose] <sup>-</sup> ; 271,0205 [M-H-acetil-hexose-CHO] <sup>-</sup> ; 197,8067 [M-H-acetil-hexose-CHO-C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O] <sup>-</sup> | Acetil- tetrahidroxi-flavona-hexosídeo        |
| 11 g   | 3,54     | 353                     | 519,1144                 | 519,1144                       | 315,0577 [M-H- acetil-hexose] <sup>-</sup> ; 284,0326 [M-H- acetil-hexose-CH <sub>2</sub> O] <sup>-</sup>                                                                 | Acetil-metoxi-trihidroxi-flavona-hexosídeo    |

**Fonte:**A autora (2019)-\*Comparação com padrão.

#### 1.4.4 Determinação do teor de fenólicos totais

Os compostos fenólicos são os maiores responsáveis do potencial antioxidante em frutos. Para que eles sejam considerados antioxidantes e possam exercer seu papel biológico é necessário que em baixas concentrações sejam capazes de impedir, retardar ou prevenir a auto oxidação ou oxidação mediada por radicais livres e que o produto formado após a reação seja estável (SOARES, 2008).

A análise do teor de fenóis totais pelo método de Folin-Ciocalteu dos extratos e frações das flores das plantas estudadas (Tabela 19), revelou que houve uma maior concentração de fenólicos para as frações acetato de etila das espécies *J. mollissima*, *C. heliotropiifolius*, *C. blanchetianus* e *B. diffusa*. Uma maior quantidade de fenólicos nem sempre irá apresentar uma maior quantidade de flavonoides, até porque há outras substâncias fenólicas de outras classes. Não foi encontrado na literatura nenhum relato a respeito do teor de fenólicos totais com as flores das plantas em estudo, sendo este resultado inédito.

Tabela 19- Teor de fenóis totais dos extratos brutos e frações obtido das flores de plantas da Caatinga

| Amostra                     | Fenólicos Totais (mg EAG/g) |              |               |              |
|-----------------------------|-----------------------------|--------------|---------------|--------------|
|                             | Ext. EtOH                   | Fr. Hex      | Fr. AcOEt     | Fr. MeOH     |
| <i>C. heliotropiifolius</i> | 98,25±20,34                 | 68,87±5,16   | 573,33±69,37  | 66,82±13,08  |
| <i>C. blanchetianus</i>     | 167,23±8,364                | 33,33±10,67  | 470,05±98,55  | 386,66±31,97 |
| <i>J. mollissima</i>        | 105,64±22,77                | 44,71±4,96   | 833,02±109,44 | 357,33±57,57 |
| <i>G. spinosa</i>           | 16,23±6,20                  | 4,46±1,08    | 263,89±24,36  | 170,56±22,49 |
| <i>M. tenuiflora</i>        | 82,00±5,46                  | 30,69±13,16  | 193,23±12,40  | 113,64±15,55 |
| <i>C. spinosa</i>           | 78,35±22,66                 | 10,41±3,54   | 53,53±2,51    | 112,51±1,97  |
| <i>C. leprosum</i>          | 83,38±6,06                  | 108,82±10,35 | 46,25±5,25    | 134,25±14,10 |
| <i>B. diffusa</i>           | 159,07±19,59                | 16,35±6,19   | 462,87±68,66  | 221,74±16,96 |

Fonte: A autora (2019)-Ext: extrato; Fr: fração

#### 1.4.5 Atividade antirradicalar

Na análise dos resultados do potencial antioxidante frente aos radicais DPPH (Tabela 20) e ABTS<sup>•+</sup> (Tabela 21) considerou-se como valor de referência a CE<sub>50</sub> de 8,470 ± 1,09 µg/mL<sup>-1</sup> do ácido ascórbico (controle positivo para DPPH) e CE<sub>50</sub> de 5,765

$\pm 0,094 \mu\text{g/mL}^{-1}$  do Trolox (controle positivo para  $\text{ABTS}^{\bullet+}$ ) para comparar com a atividade antioxidante dos extratos e frações.

A  $\text{CE}_{50}$  ( $\mu\text{g/mL}$ ) é concentração necessária para inibir num 50% a concentração inicial do radical DPPH e  $\text{ABTS}^{\bullet+}$ , levando em consideração que um  $\text{EC}_{50}$  baixo está diretamente associado a uma alta atividade antioxidante. Aqueles extratos ou substâncias com valores de  $\text{CE}_{50} < 65 \mu\text{g}$  apresentam uma boa atividade; atividade média ( $65 \mu\text{g} < \text{CE}_{50} < 152 \mu\text{g}$ ) e uma baixa atividade ( $\text{CE}_{50} > 152 \mu\text{g}$ ) (MELO et al., 2010).

Utilizando essa classificação, das 40 frações e extratos analisados para DPPH, 17 apresentaram boa atividade, 6 apresentaram atividade média, e as outras 17 apresentaram baixa atividade ou não foram ativas, e quanto a ABTS, 23 apresentaram boa atividade, 5 apresentaram atividade média e 3 apresentaram baixa atividade.

Tabela 20- Atividade antioxidante dos extratos brutos e frações obtido das flores de plantas da Caatinga avaliada pelo método do sequestro do radical DPPH

| Amostra                     | $\text{CE}_{50} \pm \text{E.P.M}(\mu\text{g/mL})$ |                                   |                   |                   |
|-----------------------------|---------------------------------------------------|-----------------------------------|-------------------|-------------------|
|                             | Ext. EtOH                                         | Fr. Hex                           | Fr. AcOEt         | Fr. MeOH          |
| <i>C. heliotropiifolius</i> | $17,14 \pm 1,17$                                  | $190,00 \pm 3,46$                 | $9,33 \pm 0,15$   | $47,21 \pm 2,47$  |
| <i>C. blanchetianus</i>     | $10,20 \pm 0,23$                                  | $141,30 \pm 22,07$                | $3,33 \pm 0,04$   | $8,04 \pm 0,16$   |
| <i>J. mollissima</i>        | $36,77 \pm 0,04$                                  | $7,53 \pm 0,08$                   | $4,35 \pm 0,04$   | $5,14 \pm 0,16$   |
| <i>G. spinosa</i>           | -                                                 | $477,73 \pm 5,51$                 | $29,63 \pm 0,70$  | $211,16 \pm 2,10$ |
| <i>M. tenuiflora</i>        | $70,26 \pm 1,86$                                  | -                                 | $49,54 \pm 1,81$  | $72,39 \pm 1,44$  |
| <i>C. spinosa</i>           | $533,66 \pm 17,82$                                | -                                 | $250,33 \pm 2,40$ | -                 |
| <i>C. leprosum</i>          | $166,16 \pm 2,63$                                 | -                                 | $183,93 \pm 2,06$ | $87,98 \pm 3,46$  |
| <i>B. diffusa</i>           | $30,27 \pm 1,89$                                  | $277,76 \pm 10,08$                | $5,60 \pm 0,65$   | $5,18 \pm 1,17$   |
| <b>Controle positivo</b>    |                                                   | $8,47 \pm 1,09$ (ácido ascórbico) |                   |                   |

**Fonte:** A autora (2019)- $\text{CE}_{50}$ : concentração mínima necessário para o antioxidante diminuir em 50% o radical; E.P.M: erro padrão da média; Ext: Extrato; Fr: Fração; espaços em branco indicam que as amostras não são ativas.

Tabela 21- Atividade antioxidante dos extratos brutos e frações obtido das flores de plantas da Caatinga avaliada pelo método do sequestro do radical ABTS

| Amostra                     | CE <sub>50</sub> ± E.P.M (µg/mL) |                      |               |               |
|-----------------------------|----------------------------------|----------------------|---------------|---------------|
|                             | Ext. EtOH                        | Fr. Hex              | Fr. AcOEt     | Fr. MeOH      |
| <i>C. heliotropiifolius</i> | 29,30 ± 1,13                     | 67,58 ± 1,50         | 8,10 ± 0,15   | 30,39 ± 0,50  |
| <i>C. blanchetianus</i>     | 10,15 ± 0,19                     | 56,08 ± 2,74         | 4,69 ± 0,07   | 5,29 ± 0,19   |
| <i>J. mollissima</i>        | 4,22 ± 0,10                      | 17,99 ± 0,08         | 2,13 ± 0,07   | 4,50 ± 0,15   |
| <i>G. spinosa</i>           | 65,45 ± 3,22                     | 35,04 ± 0,48         | 20,78 ± 0,18  | 38,33 ± 1,93  |
| <i>M. tenuiflora</i>        | 41,66 ± 0,49                     | 542,93 ± 12,81       | 39,54 ± 1,06  | 53,94 ± 1,86  |
| <i>C. spinosa</i>           | 68,47 ± 1,09                     | 562,73 ± 23,70       | 130,00 ± 4,62 | 111,80 ± 0,62 |
| <i>C. leprosum</i>          | 91,39 ± 2,40                     | 895,00 ± 64,68       | 87,09 ± 0,86  | 36,33 ± 0,77  |
| <i>B. diffusa</i>           | 78,27 ± 3,15                     | 54,18 ± 2,05         | 4,24 ± 0,15   | 28,68 ± 0,09  |
| <b>Controle positivo</b>    |                                  | 5,76 ± 0,09 (Trolox) |               |               |

**Fonte:** A autora (2019)-CE<sub>50</sub>: concentração mínima necessário para o antioxidante diminuir em 50% o radical; E.P.M: erro padrão da média; Ext: Extrato; Fr: Fração.

O potencial antioxidante dos extratos frente ao radical DPPH medida em CE<sub>50</sub> variaram entre 3,33 µg/mL e 533,66 µg/mL, sendo que a fração AcOEt de *C. blanchetianus* (3,33 µg/mL), *J. mollissima* (4,35 µg/mL) e *B. diffusa* (5,60 µg/mL), assim como a fração MeOH de *B. diffusa* (5,18 µg/mL), *J. mollissima* (5,14 µg/mL) e *C. blanchetianus* (8,04 µg/mL) e a fração hexânica de *J. mollissima* (7,53 µg/mL), mostraram uma maior atividade em comparação ao ácido ascórbico. Quanto à captura do radical ABTS• os valores de EC<sub>50</sub> variam entre 2,138 µg/mL e 895,00 µg/mL sendo que as frações AcOEt e MeOH de *J. mollissima* (2,13 µg/mL e 4,0 µg/mL) e *C. blanchetianus* (4,69 µg/mL e 5,29 µg/mL) assim como a fração AcOEt de *B. diffusa* 4,24 µg/mL mostraram maior atividade antirradicalar em comparação ao Trolox.

O bom potencial antioxidante apresentado por as espécies, possivelmente seja atribuída à presença e a concentração de compostos fenólicos como ácido fenólico, taninos e flavonoides cuja atividade antioxidante já é conhecida (ZHANG et al., 2016), estes tipos de metabolitos secundários estão presente nas amostras analisadas. Esses compostos derivados de plantas com atividades antioxidantes tem sido isolado das mais diversas famílias de plantas (AQUINO et al., 2017; MERINO et al., 2015; RAMOS et al., 2003), o potencial antioxidante é diferenciado, devido principalmente

ao número e posição de hidroxilas fenólicas livres presentes nas molécula (BANJARNAHOR; ARTANTI, 2014; MELO et al., 2008).

O potencial antioxidante tem sido descrito para as folhas de *C. blanchetianus* e *C. rhamnifolius* (AQUINO et al., 2017; MELO et al., 2010) e em algumas outras espécies de *Croton*, como na casca de caule de *C. cordiifolius* (ALVES et al., 2017), no extrato de *Croton bonplandianum* (QAISAR et al., 2013).

O potencial antioxidante da fração acetato de etila da espécie *J. mollissima* pode ser devido a presença de taninos, ácidos e flavonoides. Estudos fitoquímicos de *J. mollissima*, demonstraram a presença de flavonoides, esteroides, taninos e terpenos, corroborando com os dados encontrados neste trabalho (BRAQUEHAIS et al., 2016; MELO et al., 2010).

Foi determinado que as folhas, caules e raízes de *B. diffusa* exibe uma atividade antioxidante significativa frente ao radical DPPH (AKHTER et al., 2013; BHARDWAJ; YADAV; SHARMA, 2014).

A composição química dos produtos obtidos das abelhas como méis, própolis e geoprópolis é influenciada pela flora local. Em estudo da composição química destes derivados foram identificados compostos fenólicos (flavonóides, ácidos fenólicos e taninos) como um dos principais componentes e responsável pela atividade antioxidante de estes produtos.(ALVES; KUBOTA, 2013; SILVA et al., 2013a), Estes resultados corroboram a correlação existente entre abelhas e flor

## 1.5 CONCLUSÃO

A análise química mostrou que todas as espécies analisadas apresentaram a presença de compostos fenólicos do tipo flavonoides glicosilados.

Das flores das espécies *C. heliotropiifolius* e *C. blanchetianus* foram isolados os flavonoides glicosilados: rutina, isoquercetina, quercetina-3-O- $\beta$ -D-galactosídeo, quercitrina, 6"-O-*p*-coumaroil- $\beta$ -galactopiranosil-kaenferol, tilirosídeo, 3'-metoxi-tilirosídeo, sendo os flavonoides agliconas 3,7-dimetoxi-quercetina e pachipodol isolados apenas de *C. blanchetianus*.

A espécie *J. mollissima* mostrou a presença de taninos hidrolisáveis e ácidos graxos e *G. spinosa* além da presença de flavonoide foram encontrados derivados de espermidinas com ácidos cinâmicos, substancias comumente encontradas em polens apícolas.

Os principais flavonoides presentes nas flores da *Mimosa tenuiflora* também são os constituintes principais no mel de abelha branca, indicando o forrageamento específico das abelhas nativas por espécies vegetais nativas da Caatinga brasileira.

Os testes antirradicais (DPPH $\cdot$  e ABTS $^{+}$ ) das frações AcOEt e MeOH de *B. diffusa*, *C. blanchetianus*, *C. rhamnifolius* e *J. mollissima*, mostraram uma boa capacidade de sequestrar os radicais analisados sugerindo um relevante potencial antioxidante para as amostras.



## REFERÊNCIAS

AABY, K.; EKEBERG, D.; SKREDE, G. Characterization of phenolic compounds in Strawberry ( *Fragaria × ananassa* ) fruits by different HPLC detectors and contribution of individual compounds to total antioxidant Capacity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 4395–4406, 2007.

ADEROGBA, M. A.; MCGAW, L. J.; BEZABIH, M.; ABEGAZ, B. M. Isolation and characterisation of novel antioxidant constituents of *Croton zambesicus* leaf extract. **Natural Product Research**, v. 25, n. 13, p. 1224–1233, 2011.

AGRA, M. D. F.; DE FREITAS, P. F.; BARBOSA-FILHO, J. M. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 17, n. 1, p. 114–140, 2007.

AGRA, M. D. F.; SILVA, K. N.; BASÍLIO, I. J. L. D.; DE FREITAS, P. F.; BARBOSA-FILHO, J. M. Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 18, n. 3, p. 472–508, 2008.

AGRAWAL, P. K. NMR Spectroscopy in the structural elucidation Oligosaccharides and Glycosides. **Phytochemistry**, v. 31, n. 10, p. 3307–3330, 1992.

AKEMI-BORGES, I.; PIRANI, J. R. Flora da Serra do Cipó , Minas Gerais : *Cleomaceae*. **Boletim de Botânica da USP**, v. 35, p. 95–100, 2017.

AKHTER, F.; HASHIM, A.; KHAN, M. S.; AHMAD, S.; IQBAL, D.; SRIVASTAVA, A. K.; SIDDIQUI, M. H. Antioxidant,  $\alpha$ -amylase inhibitory and oxidative DNA damage protective property of *Boerhaavia diffusa* (Linn.) root. **South African Journal of Botany**, v. 88, p. 265–272, 2013.

ALENCAR FILHO, J. M. .; ARAÚJO, L. da C.; OLIVEIRA, A. P.; GUIMARÃES, A. L.; PACHECO, A. G. M.; SILVA, F. S.; CAVALCANTI, L. S.; LUCCHESI, A. M.; ALMEIDA, J. R. G. d. S.; ARAÚJO, E. C. d. C. Chemical composition and antibacterial activity of essential oil from leaves of *Croton heliotropiifolius* in different seasons of the year. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 27, n. 4, p. 440–444, 2017.

ALMEIDA, A. M. C. De; OLIVEIRA, E. De; CALEGARI, L.; MEDEIROS NETO, P. N.

de M.; PIMENTA, A. S. Avaliação físico-química e energética da madeira das espécies *Piptadenia stipulacea* (Benth.) Ducke e *Amburana cearensis* (Allemão) A. C. Smith de ocorrência no Semiárido Nordeste Brasileiro. **Ciência Florestal**, v. 25, n. 1, p. 165–173, 2015.

ALVES, G.; MAYRA, G. A.; MARTINS, L. R.; SOUSA, J.; SOUTO, J. S. Contribuição do *Croton blanchetianus* Baill na produção de serrapilheira e ciclagem de nutrientes em área do Seridó da Paraíba. **Revista Verde**, v. 9, n. 3, p. 50–57, 2014.

ALVES, I. A. B. dos S.; SANTOS, S. M. Dos; MENDES, R. F. V.; SILVA, J. W. Da; RODRIGUES, M. de F. De; RAMOS, B. de A.; SILVA, M. V.; CORREIA, M. T. dos S.; TENÓRIO, F. das C. A. M.; JORGE, R. J. B.; MARTINS, R. D.; ALBUQUERQUE, J. F. C. De; RANDAU, K. P.; XIMENES, R. M. Chemical composition, antioxidant and topical anti-inflammatory activities of *Croton cordiifolius* Baill. (Euphorbiaceae). **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 11, n. 2, p. 22–33, 2017.

ALVES, E.; KUBOTA, E. H. Conteúdo de fenólicos, flavonoides totais e atividade antioxidante de amostras de própolis comerciais. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 34, n. 1, p. 37–41, 2013.

AMORIM, L. D. M.; SOUSA, L. de O. F.; OLIVEIRA, F. F. M.; CAMACHO, R. G. V.; MELO, J. I. M. Fabaceae na Floresta Nacional (FLONA) de Assú, semiárido potiguar, nordeste do Brasil. **Rodriguesia**, v. 67, n. 1, p. 105–123, 2016.

ANGÉLICO, E. C.; RODRIGUES, J. G. M. C.; RODRIGUES, O. G.; LIMA, E. Q.; MEDEIROS, R. Composição química do óleo essencial das folhas de *Croton blanchetianus* (Baill): Resultados preliminares. **Revista de Biologia e Farmácia**, v. 5, n. 2, 2011.

ANGÉLICO, E. C.; RODRIGUES, O. G.; COSTA, J. G. M.; LUCENA, M. de F. A.; NETO, V. Q.; MEDEIROS, R. S. Chemical characterization and antimicrobial activity of essential oils and *Crotons varieties* modulator in the Brazilians Northeast semiarid. **African Journal of Plant Science**, v. 8, n. 7, p. 392–397, 2014.

AQUINO, V. V. F.; COSTA, J. G. M.; ANGÉLICO, E. C.; MEDEIROS, R. S.; LUCENA,

M. F. A.; RODRIGUES, O. G. Metabólitos Secundários e ação antioxidante de *Croton heliotripifolius* e *Croton blanchetianus*. **Acta Brasiliensis**, v. 1, n. 3, p. 28, 2017.

BANJARNAHOR, S. D. S.; ARTANTI, N. Antioxidant properties of flavonoids. **Medical Journal of Indonesia**, v. 23, n. 4, p. 239, 2014.

BARRERA, C. A. C.; GÓMEZ, D. C.; CASTIBLANCO, F. A. Importancia medicinal del género *Croton* (Euphorbiaceae). **Revista Cubana de Plantas Medicinales** 2, v. 21, n. 2, p. 234–247, 2016.

BARRETO, M. B.; GOMES, C. L.; DE FREITAS, J. V. B.; DAS CHAGAS L. PINTO, F.; SILVEIRA, E. R.; GRAMOSA, N. V.; TORRES, D. S. C. Flavonoides e terpenoides de *Croton muscicarpa* (Euphorbiaceae). **Quimica Nova**, v. 36, n. 5, p. 675–679, 2013.

BARROS, T. F. S.; ARRIEL, N. H. C.; QUEIROZ, M. F.; FERNANDES, P. D.; MENDONÇA, S.; RIBEIRO, J. A. A.; MEDEIROS, E. P. Fatty acid profiles of species of *Jatropha curcas* L., *Jatropha mollissima* (Pohl) Baill. and *Jatropha gossypifolia* L. **Industrial Crops and Products**, v. 73, p. 106–108, 2015.

BASSARD, J. E.; ULLMANN, P.; BERNIER, F.; WERCK-REICHHART, D. Phenolamides: Bridging polyamines to the phenolic metabolism. **Phytochemistry**, v. 71, n. 16, p. 1808–1824, 2010.

BEZERRA, D. A. C.; PEREIRA, A. V.; LÔBO, K. M. S.; RODRIGUES, O. G.; ATHAYDE, A. C. R.; MOTA, R. A.; MEDEIROS, E. S.; RODRIGUES, S. C. Atividade biológica da jurema-preta (*Mimosa tenuiflora* (Wild) Poir.) sobre *Staphylococcus aureus* isolado de casos de mastite bovina. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 4, p. 814–817, 2009.

BHARDWAJ, R.; YADAV, A.; SHARMA, R. phytochemicals and antioxidant activity in *Boerhavia diffusa*. **Internacional Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 6, n. 1, p. 344–348, 2014.

BRAQUEHAIS, I. D.; DA SILVA, A. R.; MAGALHÃES, F. E. A.; DE PAIVA, C. F.; RIBEIRO, A.; VASCONCELOS, F. R.; DE LIMA, D. R.; FRANCA, M. G. A.; GUADES, M. I. F. Estudo preliminar toxicológico, antibacteriano e fitoquímico do extrato etanólico das folhas de *Jatropha mollissima* (Pohl) Baill. (pinhão-bravo, Euphorbiaceae),

coletada no Município de Tauá, Ceará, Nordeste Brasileiro. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 18, n. 2 suppl 1, p. 582–587, 2016.

BRITO, I.; SIMIRGIOTIS, M.; JERZ, G.; WERNER, M. R.; BÓRQUES, J.; WINTERHALTER, P.; CÁRDENAS, A. Crystal structure of 3',4',5-trihydroxy-3,7-dimethoxyflavone, C<sub>17</sub>H<sub>14</sub>O<sub>7</sub>. **Zeitschrift fur Kristallographie - New Crystal Structures**, v. 231, n. 1, p. 113–115, 2016.

BRITO, S. S. da S.; SILVA, F.; MALHEIRO, R.; BAPTISTA, P.; PEREIRA, J. A. *Croton argyrophyllus* Kunth and *Croton heliotropiifolius* Kunth: Phytochemical characterization and bioactive properties. **Industrial Crops and Products**, v. 113, p. 308–315, 2018.

CAETANO, S.; CURRAT, M.; PENNINGTON, R. T.; PRADO, D.; EXCOFFIER, L.; NACIRI, Y. Recent colonization of the Galápagos by the tree *Geoffroea spinosa* Jacq. (Leguminosae). **Molecular Ecology**, v. 21, n. 11, p. 2743–2760, 2012.

CASTRO, A. S.; CAVALCANTE, A. **Flores da Caatinga**. In: Bilingue ed. campina Grande - PB. 2010

CHEN, G.; LI, X.; SALERI, F.; GUO, M. Analysis of Flavonoids in *Rhamnus davurica* and Its Antiproliferative Activities. **Molecules**, v. 21, p. 1275, 2016.

ÇITOĞLU, G. S.; SEVER, B.; ANTUS, S.; BAITZ-GÁCS, E.; ALTANLAR, N. Antifungal flavonoids from *Ballota glandulosissima*. **Pharmaceutical Biology**, v. 41, n. 7, p. 483–486, 2003.

COSTA-FILHO, L. O.; SILVA, M. H. de M.; ALMEIDA-CORTEZ, J. S.; SILVA, S. I.; OLIVEIRA, A. F. M. Foliar cuticular n-alkane of some *Croton* species from Brazilian semiarid vegetation. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 41, p. 13–15, 2012.

COSTA, A. J. S.; NUNES, T. S.; FERREIRA, A. P. L.; STRADMAN, M. T. S.; QUEIROZ, L. P. **Leguminosas Forrageiras da Caatinga: espécies importantes para as comunidades rurais do sertão da Bahia**. Feira de Santana: SASOP, 2002.

COUTO, A. B.; RAMOS, L. A.; CAVALHEIRO, E. T. G. Aplicação de pigmento de flores no ensino de química. **Química Nova**, v. 21, n. 2, p. 221–227, 1998.

DA ROSA, E. A.; E SILVA, B. C.; DA SILVA, F. M.; TANAKA, C. M. A.; PERALTA, R. M.; DE OLIVEIRA, C. M. A.; KATO, L.; FERREIRA, H. D.; DA SILVA, C. C. Flavonoides e atividade antioxidante em *Palicourea rigida* Kunth, Rubiaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 4, p. 484–488, 2010.

DE SOUZA, G. S.; BONILLA, O. H.; CHAVES, B. E.; DE LUCENA, E. M. P.; SILVA, C. de S. Potencial alelopático de seis espécies do gênero *Croton* L. na germinação de alface e tomate. **Iheringia - Serie Botanica**, v. 72, n. 2, p. 155–160, 2017.

DEVI, S.; KUMAR, V. Comprehensive structural analysis of cis- and trans-tiliroside and quercetrin from *Malvastrum coromandelianum* and their antioxidant activities. **Arabian Journal of Chemistry**, 2018.

DOS SANTOS, F. K. G.; FILHO, A. N. D.; LEITE, R. H. L.; AROUCHA, E. M. M.; SANTOS, A. G.; OLIVEIRA, T. A. Rheological and some physicochemical characteristics of selected floral honeys from plants of Caatinga. **Anais da Academia Brasileira de Ciencias**, v. 86, n. 2, p. 981–994, 2014.

DOURADO, D. A. O.; CONCEIÇÃO, A. de S.; SANTOS-SILVA, J. O gênero *Mimosa* L. (Leguminosae: Mimosoideae) na APA Serra Branca/Raso da Catarina, Bahia, Brasil. **Biota Neotropica**, v. 13, n. 4, p. 225–240, 2014.

DRUMOND, M. A.; SCHISTEK, H.; SEIFFARTH, J. A.; PIMENTEL, R. M. de M.; CASTRO, R.; SALES, M. T. B. F. Caatinga: um bioma exclusivamente brasileiro e o mais frágil. **Revista do Instituto Humanitas Unisinos**, v. 389, p. 11–12, 2012.

DUTRA, V. F.; GARCIA, F. C. P.; LIMA, H. C. *Papilionoideae* ( Leguminosae ) nos Campos Rupestres do Parque Estadual do Itacolomi, MG, Brasil. **Biologia**, v. 23, n. 1, p. 145–159, 2009.

EL-ASKARY, H.; HANDOUSSA, H.; BADRIA, F.; EL-KHATIB, A. H.; ALSAYARI, A.; LINSCHIED, M. W.; MOTAAL, A. A. Characterization of hepatoprotective metabolites from *Artemisia annua* and *Cleome droserifolia* using HPLC/PDA/ESI/MS–MS. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 29, n. 2, p. 213–220, 2019.

EVERETTE, J.; BRYANT, Q. M.; GREEN, A. M.; ABBEY, Yvonne A.; WANGILA, G. W.; WALKER, R. B. A thorough study of reactivity of various compound classes

towards the folin-ciocalteu reagent. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 14, p. 8139–8144, 2010.

**Fabaceae in Flora do Brasil 2020.** Disponível em: <<https://www.google.com/search?client=firefox-b-d&q=Fabaceae+in+Flora+do>>. Acesso em: 12 jul. 2019.

FABRE, N.; RUSTAN, I.; HOFFMANN, E.; QUETIN-LECLERCQ, J. Determination of Flavone, Flavonol, and Flavanone Aglycones by Negative Ion Liquid Chromatography Electrospray Ion Trap Mass Spectrometry. **Journal American Society for Mass Spectrometry**, v. 12, p. 707–715, 2001.

FACCHINI, P. J.; HAGEL, J.; ZULAK, K. G. Hydroxycinnamic acid amide metabolism: Physiology and biochemistry. **Canadian Journal of Botany**, v. 80, n. 6, p. 577–589, 2002.

FACUNDO, V. A.; RIOS, K. A.; MOREIRA, L. S.; MILITÃO, J. S. T.; STABELLI, R. G.; BRAZ-FILHO, R.; SILVEIRA, E. R. Two new Cycloartanes from *Combretum leprosum* Mart. (Combretaceae). **Revista Latinoamericana de Química**, v. 36, n. 3, p. 76–82, 2008.

FÉLIX-SILVA, J.; SOUZA, T.; MENEZES, Y. A. S.; CABRAL, B.; CÂMARA, R. B. G.; SILVA-JUNIOR, A. A.; ROCHA, H. A. O.; REBECCHI, I. M. M.; ZUCOLOTTI, S. M.; FERNANDES-PEDROSA, M. F. Aqueous leaf extract of *Jatropha gossypifolia* L. (Euphorbiaceae) inhibits enzymatic and biological actions of *Bothrops jararaca* snake venom. **PLoS ONE**, v. 9, n. 8, 2014.

FERNANDES, M. F.; QUEIROZ, L. P. De. Vegetação e flora da Caatinga. **Ciência e Cultura**, v. 70, n. 4, p. 51–56, 2018.

FERREIRA, P. S. M.; TROVÃO, D. M.B. M.; MELO, J. I. M. De. Leguminosae na APA do Cariri, Estado da Paraíba, Brasil. **Hoehnea**, v. 42, n. 3, p. 531–547, 2015.

FIRMINO, N. C. S.; ALEXANDRE, F. S. O.; VASCONCELOS, M. A.; CONRADO, A. J. S.; ARRUDA, F. V. S.; SILVEIRA, E. R.; TEIXEIRA, E. H. Antimicrobial Activity of 3,4-seco-Diterpenes Isolated from *Croton blanchetianus* against *Streptococcus mutans* and *Streptococcus parasanguinis*. **Journal Brazilian Chemical Society**, v.

29, n. 4, p. 814–822, 2018.

**Geoffroea -The Plant List.** Disponível em: <http://www.theplantlist.org/browse/A/Leguminosae/Geoffroea/>. Acesso em: 14 set. 2019.

GIANG, P. M.; LEE, J. J.; SOM, P. T. Flavonoid glucosides from the leaves of *Croton tonkinensi* gagnep., Euphorbiaceae. **Journal of chemistryjournal of chemistry**, v. 42, n. 1125–28, 2004.

GIULIETTI, A. M.; HARLEY, R. M.; QUEIROZ, L. P.; WANDERLEY, M. G. L.; VAN DEN BERG, C. Biodiversidade e conservação das plantas no Brasil. **Megadiversidade**, v. 1, n. 1, p. 52–61, 2005.

GOMES, J. A. dos S.; FELIX-SILVA, J.; FERNANDES, J. M.; AMARAL, J. G.; LOPEZ, N. P.; EGITO, E. S. T. Do; SILVA-JUNIOR, A. A.; ZUCOLOTTI, S. M.; FERNANDES-PEDROSA, M. Aqueous Leaf extract of *Jatropha mollissima* (Pohl) Bail Decreases Local Effects Induced by Bothropic Venom. **BioMed Research International**, p. 1–13, 2016.

GONZÁLEZ-VÁZQUEZ, R.; DÍAZ, B. K.; AGUILAR, M. I.; DIEGO, N.; LOTINA-HENNSSEN, B. Pachypodol from *Croton ciliatoglanduliferus* Ort. as water-splitting enzyme inhibitor on thylakoids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 4, p. 1217–1221, 2006.

GOSSAN, D. P. A.; MAGID, A. A.; YAO-KOUASSI, P. A.; JOSSE, J.; GANGLOFF, S. C.; MORJANI, H.; VOUTQUENNE-NAZABADIOKO, L. Antibacterial and cytotoxic triterpenoids from the roots of *Combretum racemosum*. **Fitoterapia**, v. 110, p. 89–95, 2016.

GU, D.; YANG, Y.; BAKRI, M.; CHEN, Q.; XIN, X.; AISA, H. A. A LC/QTOF-MS/MS application to investigate chemical compositions in a fraction with protein tyrosine phosphatase 1B inhibitory activity from *Rosa rugosa* flowers. **Phytochemical Analysis**, v. 24, n. 6, p. 661–670, 2013.

GUDEJ, J. Kaempferol and quercetin glycosides from *Rubus idaeus* L. leaves. **Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research**, v. 60, n. 4, p. 313–316, 2003.

GUERRERO, M. F.; PUEBLA, P.; CARRÓN, R.; MARTÍN, M. L.; ROMÁN, L. S. Quercetin 3,7-dimethyl ether: a vasorelaxant flavonoid isolated from *Croton schiedeana* Schlecht. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 54, n. 10, p. 1373–1378, 2002.

HORINOUCI, C. D. D. S.; MENDES, D. A. G. B.; SOLEY, B. D. S.; PIETROVSKI, E. F.; FACUNDO, V. A.; SANTOS, A. R. S.; CABRINI, D. A.; OTUKI, M. F. *Combretum leprosum* Mart. (Combretaceae): Potential as an antiproliferative and anti-inflammatory agent. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 145, n. 1, p. 311–319, 2013.

IRELAND, H.; PENNINGTON, R. T. A revision of *Geoffroea* (Leguminosae–Papilionoideae). **Edinburgh Journal of Botany**, v. 56, n. 3, p. 329–347, 1999.

JIMÉNEZ-ASPEE, F.; THEODULOZ, C.; SORIANO, M. del P. C.; UGALDE-ARBIZU, M.; ALBERTO, M. R.; ZAMPINI, I. C.; ISLA, M. I.; SIMIRIGIOTIS, M. J.; SCHMEDA-HIRSCHMANN, G. The native fruit *Geoffroea decorticans* from arid Northern Chile: Phenolic composition, antioxidant activities and in vitro inhibition of pro-inflammatory and metabolic syndrome-associated enzymes. **Molecules**, v. 22, n. 9, p. 1–18, 2017.

JIMENEZ-SANCHEZ, C.; SEGURA-CARRETERO, A.; FERNANDEZ-GUTIERREZ, A.; LOZANO-SÁNCHEZ, J.; RODRÍGUEZ-PÉREZ, C. Composition and Analysis Comprehensive, untargeted, and qualitative RP-HPLC-ESI-QTOF/MS<sup>2</sup> metabolite profiling of green asparagus ( *Asparagus officinalis* ). **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 46, p. 78–87, 2016.

JUSTESEN, U. Collision-induced fragmentation of deprotonated methoxylated flavonoids, obtained by electrospray ionization mass spectrometry. **journal of mass spectrometry**, v. 36, p. 169–178, 2001.

KUMAR, S.; SINGH, A.; SINGH, B.; MAURYA, R.; KUMAR, B. Structural characterization and quantitative determination of bioactive compounds in ethanolic extracts of *Boerhaavia diffusa* L. by liquid chromatography with tandem mass spectrometry . **Separation Science Plus**, v. 1, n. 9, p. 588–596, 2018.

LAMA, A. D.; KIM, J.; MARTISKAINEN, O.; KLEMOLA, T.; SALMINEN, J. P.; TYYSTJÄRVI, E.; NIEMELÄ, P.; VUORISALO, T. Impacts of simulated drought stress



and artificial damage on concentrations of flavonoids in *Jatropha curcas* L., a biofuel shrub. **Journal of Plant Research**, v. 129, n. 6, p. 1141–1150, 2016.

LEAL, C. K. A.; AGRA, M. D. F. Estudo farmacobotânico comparativo das folhas de *Jatropha molissima* (Pohl) Baill. e *Jatropha ribifolia* (Pohl) Baill. (Euphorbiaceae). **Acta Farmaceutica Bonaerense**, v. 24, n. 1, p. 5–13, 2005.

LEAL, I. R.; TABARELLI, M.; SILVA, J. M. C. **Ecologia e Conservação da Caatinga**. 2. ed. Recife: ED. Universitária, 2003.

LI, C.; HUANG, C.; LU, T.; WU, L.; DENG, S.; YANG, R.; LI, J. Tandem mass spectrometric fragmentation behavior of lignans, flavonoids and triterpenoids in *Streblus asper*. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 28, p. 2363–2370, 2014.

LIMA, L. C. L. e; SILVA, F. H. M. e; SANTOS, F. de A. R. Dos. Palinologia de espécies de *Mimosa* L. (Leguminosae - Mimosoideae) do Semi-Árido brasileiro. **Acta Botanica Brasilica**, v. 22, n. 3, p. 794–805, 2008.

LIMA, S.; CITÓ, A.; LOPES, J.; NETO, J.; CHAVES, M.; SILVEIRA, E. Fixed and volatile constituents of genus *Croton* plants: *Croton adenocalyx* baill - Euphorbiaceae. **Revista latinoamericana de química**, v. 38, n. 3, p. 133–144, 2010.

LIN, L. Z.; HARNLY, J.; ZHANG, R. W.; FAN, X. E.; CHEN, H. J. Quantitation of the hydroxycinnamic acid derivatives and the glycosides of flavonols and flavones by UV absorbance after identification by LC-MS. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 2, p. 544–553, 2012.

LOIOLA, M. I. B.; ROCHA, E. A.; BARACHO, G. S.; AGRA, M. de F. Flora da Paraíba, Brasil: Combretaceae. **Acta Botanica Brasileira**, v. 23, n. 2, p. 330–342, 2009.

LOIOLA, M. I. B.; ROQUE, A. de A.; OLIVEIRA, A. C. P. Caatinga : Vegetação do semiárido brasileiro. **Ecologia**, v. 19, p. 14–19, 2012.

LOPES, E. L.; NETO, M. A.; SILVEIRA, E. R.; PESSOA, O. D. L. Flavonoides e Sesquiterpenos de *Croton pedicellatus* Kunth. **Química Nova**, v. 35, n. 11, p. 3169–2172, 2012.

LORENZON, M. C. A.; MATRANGOLO, C. A. R.; SCHOEREDER, J. H. Flora visitada pelas abelhas eussociais (Hymenoptera, Apidae) na Serra da Capivara, em Caatinga do Sul do Piauí. **Neotropical Entomology**, v. 32, n. 1, p. 27–36, 2003.

LPWG. A new subfamily classification of the Leguminosae based on a taxonomically comprehensive phylogeny. **TAXON**, v. 66, n. 1, p. 44–77, 2017.

MACHATE, D. J.; ALVES, F. M.; FARINACCIO, M. A. *Aspidosperma* (Apocynaceae) no estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. **Rodriguesia**, v. 67, n. 4, p. 1011–1024, 2016.

MACIEL, M. A. M.; ANJOS, G. C.; GOMES, F. E. S.; DANTAS, T. N. C.; PINTO, A. C.; KAISER, C. R.; MIRANDA, A. F.; ECHEVARRIA, A. Estudo fitoquímico de folhas de *Croton cajucara* Benth e determinação da sua propriedade antioxidante. **Revista Fitos**, v. 4, p. 71–89, 2009.

MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; ARRUDA, A. C.; PAMPLONA, S. G. S. R.; VANDERLINDE, F. A.; LAPA, A. J.; ECHEVARRIA, A.; GRYNBERG, N. F.; CÔLUS, I. M. S.; FARIAS, R. A. F.; COSTA, A. M. L.; RAO, V. S. N. Ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacology: A successful combination in the study of *Croton cajucara*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 70, n. 1, p. 41–55, 2000.

MAIA-SILVA, C.; SILVA, C. I.; HRNCIR, M.; QUEIROZ, R. T.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. **Guia de plantas visitadas por abelhas na caatinga**. 1. ed. Fortaleza-CE: Editora Fundação Brasil Cidadão, 2012.

MARCHIORETTO, M. S.; LIPPERT, A. P. U.; SILVA, V. L. A família Nyctaginaceae Juss. no Rio Grande do Sul, Brasil. **Pesquisas Botânicas**, n. 62, p. 129–162, 2011.

MELLO, I. S.; DUARTES, G. S. D.; NETO, G. G. Sinopse de Fabaceae – Caesalpinioideae para a flora de Mato Grosso, Brasil. **Biodiversidade**, v. 14, n. 2, p. 43–49, 2015.

MELO, E. de A.; MACIEL, M. I. S.; LIMA, V. L. A. G.; NASCIMENTO, R. J. Capacidade antioxidante de frutas e hortaliças. **Revista Brasileira de Ciências farmacêuticas**, v. 44, n. 2, p. 193–201, 2008.

MELO, J. G.; ARAÚJO, T. A. de S.; CASTRO, V. T. N. de A.; CABRAL, D. L. de V.; RODRIGUES, M. do D.; NASCIMENTO, S. C.; AMORIM, E. L. C.; ALBUQUERQUE, U. P. Antiproliferative activity, antioxidant capacity and tannin content in plants of semi-arid northeastern Brazil. **Molecules**, v. 15, p. 8534–8542, 2010.

MERINO, F. J. Z.; OLIVEIRA, V. B.; PAULA, C. S.; CANSIAN, F. C.; SOUZA, A. M.; ZUCHETTO, M.; HIROTA, B. C. K.; DUARTE, A. F. S.; KULIK, J. D.; MIGUEL, M. D.; MIGUEL, O. G. Análise fitoquímica, potencial antioxidante e toxicidade do extrato bruto etanólico e das frações da espécie *Senecio westermanii* Dusén frente à *Artemia salina*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 4, p. 1031–1040, 2015.

MISHRA, S.; AERI, V.; GAUR, P. K.; JACHAK, S. M. Ethnopharmacological Overview for a Traditionally Important Herb: *Boerhavia diffusa* Linn . **BioMed Research International**, 2014.

MOREIRA, H. J. de C.; BRAGAÇA, H. B. N. **Manual de Identificação de Plantas Infestantes**. Campina -SP: Agricultural Productos, 2011.

MORI, S.; AKAMATSU, M.; FUKUI, H.; TSUKIOKA, J.; GOTO, K.; HIRAI, N. The unusual conformational preference of  $N^1$ ,  $N^5$ ,  $N^{10}$  -tri-p-coumaroylspermidine E-Z isomers from the Japanese apricot tree, *Prunus mume*, for the (ZZZ)-form. **Phytochemistry Letters**, v. 31, n.4, p. 131–139, 2019.

MOURA, A. C. da S.; VILEGAS, W.; SANTOS, L. C. Identificação de alguns constituintes químicos de *Indigofera hirsuta* linn. (Fabaceae) por CLAE-IES-EM (TOF) e avaliação da atividade antirradicalar. **Química Nova**, v. 34, n. 7, p. 1136–1140, 2011.

NETO, R. L. S. Flora das cangas da serra dos carajás, pará, brasil: Cannabaceae. **Rodriguesia**, v. 68, n. 3, p. 931–933, 2017.

NOVOA, B.; CÉSPEDES, A.; GARCÍA, L.; OLARTE, J. Quercitina: Un flavoide con actividad hipotensora, obtenido del *Croton glabellus*. **Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas**, v. 4, n. 2, p. 7–13, 1985.

OHSAKI, A.; YOKOYAMA, R.; MIYATAKE, H.; FUKUYAMA, Y. Two Diterpene Rhamnosides, Mimosasides B and C, from *Mimosa hostilis*. **Chemical &**

**Pharmaceutical Bulletin**, v. 54, n. 12, p. 1728–1729, 2006.

PALMEIRA JR., S. F.; CONSERVA, L. M.; SILVEIRA, E. R. Two clerodane diterpenes and flavonoids from *Croton brasiliensis*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 16, n. 6b, p. 1420–1424, 2005.

PAREJO, I.; JAUREGUI, O.; SÁNCHEZ-RABANEDA, F.; VILADOMAT, F.; BASTIDA, J.; CODINA, C. Separation and characterization of phenolic compounds in fennel (*Foeniculum vulgare*) using liquid chromatography-negative electrospray ionization tandem mass spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, , v. 52, n. 12, p. 3679–3687, 2004.

PASSARINI, G. M.; MEDEIROS, D. S.; MENEGUETTI, D. U. de O.; LIMA, R. A.; FACUNDO, V. A.; MEDEIROS, P. S. de M. in Vitro Antiplasmodial Activity of Flower Extracts From *Combretum Leprosum* Mart (Mofumbo). **Ciência e Natura**, v. 39, n. 1, p. 84, 2017.

PATIL, K. S.; BHALSING, S. R. Ethnomedicinal uses phytochemistry and pharmacological properties of the genus *Boerhavia*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 182, p. 200–220, 2016.

PAULINO, C.; FATIMA, M. De; COELHO, B.; PAULA, G.; AZEVEDO, D. S. Características biométricas e descrição morfológica de frutos , sementes e plântulas de *Combretum leprosum* Mart . Biometric characteristics and morphological description of fruits , seeds and seedlings of *Combretum leprosum* Mart . **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 8, n. 5, p. 48–57, 2013.

PEREIRA, C.; JÚNIOR, C. B. B.; KUSTER, R. M.; SIMAS, N. K.; SAKURAGUI, C. M.; PORZEL, A.; WESSJOHANN, L. Flavonoids and a neolignan glucoside from *Guarea macrophylla* (Meliaceae). **Química Nova**, v. 35, n. 6, p. 1123–1126, 2012.

PEREIRA, J. C. da S.; CÂMARA, C. C.; COELHO, L. C. B. B.; SILVA, M. D. C. Insights on Pharmacological Properties of *Combretum leprosum* Mart. **Biotechnology Journal International**, v. 17, n. 3, p. 1–13, 2017.

QAISAR, M. N.; CHAUDARY, B. A.; UZAIR, M.; HUSSAIN, S. N. Evaluation of Antioxidant and Cytotoxic Capacity of *Croton bonplandianum* Baill. **American Journal**

**of Plant Sciences**, v. 4, p. 1709–1712, 2013.

QUIRÓS-GUERRERO, L.; ALBERTAZZI, F.; ARAYA-VALVERDE, E.; ROMERO, R. M.; VILLALOBOS, H.; POVEDA, L.; CHAVARRÍA, M.; TAMAYO-CASTILLO, G. Phenolic variation among *Chamaecrista nictitans* subspecies and varieties revealed through UPLC-ESI(-)-MS/MS chemical fingerprinting. **Metabolomics**, v. 15, n. 2, 2019.

RAMALHO, C. I.; ANDRADE, A. P.; FÉLIX, L. P.; LACERDA, A. V.; MARACAJÁ, P. B. Flora Arbóreo-Arbustiva em áreas de Caatinga no Semi-Arido Baiano, Brazil. **Revista Caatinga**, v. 22, n. 3, p. 182–191, 2009.

RAMOS, A.; VISOZO, A.; PILOTO, J.; GARCÍA, A.; RODRÍGUEZ, C. A.; RIVERO, R. Screening of antimutagenicity via antioxidant activity in Cuban medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 87, n. 2–3, p. 241–246, 2003.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free radical biology & medicine**, v. 26, n. 9–10, p. 1231–7, 1999.

RIBEIRO, A. R. C.; DE ANDRADE, F. D.; DE MEDEIROS, M. do C.; CAMBOIM, A. da S.; PEREIRA, F. A.; ATHAYDE, A. C. R.; RODRIGUES, O. G.; SILVA, W. W. Estudo da atividade anti-helmíntica do extrato etanólico de *Jatropha mollissima* (Pohl) Baill. (Euphorbiaceae) sob *Haemonchus contortus* em ovinos no semiárido paraibano. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 34, n. 11, p. 1051–1055, 2014.

RIVIÈRE, C.; HONG, N. T.; HONG, T.; CHATAIGNÉ, G. N.; HOAI, N.; DEJAEGHER, B.; TISTAERT, C.; KIM, N. T.; HEYDEN, V.; VAN, C.; QUETIN-LECLERCQ, J. Mallotus species from Vietnamese mountainous areas: Phytochemistry and pharmacological activities. **Phytochemistry Reviews**, v. 9, n. 2, p. 217–253, 2010.

RODRIGUES, E. D.; DA SILVA, D. B.; DE OLIVEIRA, D. C. R.; DA SILVA, G. V. J. DOSY NMR applied to analysis of flavonoid glycosides from *Bidens sulphurea*. **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 47, n. 12, p. 1095–1100, 2009.

ROMERO, P. **As plantas apícolas do semiárido paraibano. Meliponário Braz.** 2009. Disponível em: <<https://www.mendeley.com/reference-management/web->

importer/#id\_1>. Acesso em: 9 jul. 2019.

SALATINO, A.; SALATINO, M. L. F.; NEGRI, G. Traditional uses, chemistry and pharmacology of *Croton* species (Euphorbiaceae). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 18, n. 1, p. 11–33, 2007.

SÁNCHEZ-RABANEDA, F.; JÁUREGUI, O.; CASALS, I.; ANDRÉS-LACUEVA, C.; ISQUIERDO-PULIDO, M.; LAMUELA-RAVENTÓS, R. Liquid chromatographic /electrospray ionization tandem mass spectrometric study of the phenolic composition of cocoa (*Theobroma cacao*). **Journal of mass spectrometry**, v. 38, p. 35–42, 2003.

SANTISTEBAN, R. M.; CABRERA, S. P.; NETO, J. F.; SILVA, E. M. S.; CORREIA, R. C.; ALVES, R. F. Análises melissopalinológicas, físico-químicas, atividade antirradicalar e perfil químico por UPLC-DAD-QTOF-MS/MS dos méis de *Frieseomelitta doederleini* (abelha branca): comparação com os fenólicos presentes nas flores de *Mimosa tenuiflora* (jurema preta). **Química Nova**, v. 42, n. 8, p. 874–884, 2019.

SANTOS, C. A. B.; ANDRADE, W. M.; SILVA, J. J. B. **Sustentabilidade do Biomas caatinga**. sabeh, 2018.

SANTOS, P. M. L.; SCHRIPSEMA, J.; KUSTER, R. M. Flavonóides O-glicosilados de *Croton campestris* St. Hill. (Euphorbiaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 4, p. 321–325, 2005.

SARTORI, Â. L. B.; LIMA, L. C. P.; POTT, V. J.; VALLS, J. F. M.; CRISTALDO, A. C.; POLIDO, C.; DA COSTA, L. C.; POTT, A.; PEREZ, A. P. F.; SILVA, G. M.; VAZ, Â. M. S.; BORTOLUZZI, R. L.; PESTANA, L. T. C.; SILVA, R. R.; DE SOUZA-LIMA, E. S.; MANSANO, V.; SCIAMARELLI, A. Check-list das Leguminosae do estado de Mato Grosso do Sul. **Iheringia, Série Botânica**, v. 73, p. 239–254, 2018.

SHARAF, M.; EL-ANSARI, M. A.; SALEH, N. A. M. Flavonoids of four *Cleome* and three Capparis species. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 25, n. 2, p. 161–166, 1997.

SILVA, D. A.; DA SILVA, T. M. S.; LINS, A. C. D. S.; DA COSTA, D. A.; CAVALCANTE, J. M. S.; MATIAS, W. N.; DE SOUZA, M. D. F. V.; FILHO, R. B. Constituintes químicos

e atividade antioxidante de *Sida galheirensis* ULBR. (Malvaceae). **Química Nova**, v. 29, n. 6, p. 1250–1254, 2006.

SILVA, D. F.; AGRA, M. de F.; FILHO, J. M. B.; SOUZA, M.; MEDEIRO, I.; BRAZ-FILHO, R. Flavonóides glicosilados de *Herissantia tiubae* ( K . Schum ) Brizicky (Malvaceae) e testes farmacológico preliminares do canferol 3,7-di-O- $\alpha$ -L-ramnopiranosídeo. **Revista Brasileira de Botanica**, v. 15, n. 1, p. 23–29, 2005.

SILVA, J. A. G.; LIMA, I. R.; SANTANA, M. A. N.; SILVA, T. M. S.; SILVA, M. I. A. G.; LEITE, S. P. Screening Fitoquímico e Avaliação da Toxicidade de *Croton heliotropiifolius* Kunth (Euphorbiaceae) frente à *Artemia salina* Leach. **Revista Virtual de Química**, v. 9, n. 3, p. 934–941, 2017.

SILVA, E. C. C.; MUNIZ, M. P.; NUNOMURA, R. C. S.; NUNOMURA, S. M.; ZILSE, G. A. C. Constituintes fenólicos e atividade antioxidante da geoprópolis de duas espécies de abelhas sem ferrão Amazônicas. **Química Nova**, v. 36, n. 5, p. 628–633, 2013.

SILVA, R. A.; RUIZ, R. E. L. De; RUIZ, S. O. Estudio Fitoquímico de Flores de *Geoffroea decorticans* (Gill. ex Hook. et Arn.) Burk, Leguminosae (Fabaceae). **Acta Farmaceutica Bonaerense**, v. 23, n. 4, p. 524–526, 2004.

SILVA, R.; RUIZ, R. E. L. De; RUIZ, S. O. Estudio Fitoquímico de Frutos de *Geoffroea decorticans* (Gill. ex Hook. et Arn.) Burk. Leguminosae (Fabaceae). **Acta Farmaceutica Bonaerense**, v. 18, n. 3, p. 217–219, 1999.

SILVA, T. M. S.; LINS, A. C. S.; SARMENTO-FILHA, M. J.; RAMOS, C. S.; AGRA, M. D. F.; CAMARA, C. A. Riachin, a new cyanoglucoside from *Bauhinia pentandra* and its antioxidant activity. **chemistry of Natural Compounds**, v. 49, n. 4, p. 587–591, 2013.

SILVA, T.M.S. *Croton heliotropiifolius* Willd. 2018. 4 fotografias.

SILVA, T.M.S. *Croton blanchetianus* Baill. 2018. 4 fotografias.

SILVA, T.M.S. *Jatropha mollissima* (Pohl) Baill 2018. 4 fotografias.

SILVA, T.M.S. *Geoffroea spinosa* Jacq. 2018. 1 fotografias.

SILVA, T.M.S. *Mimosa tenuiflora* (Willd) Poir. 2018. 4 fotografias.

SILVA, T.M.S. *Boerhavia diffusa* L. 2018. 2 fotografias.

SILVA, T.M.S. *Combretum leprosum* Mart. 2018. 4 fotografias

SILVA, T.M.S. *Cleome spinosa* (Jacq.) Raf. 2018. 4 fotografias

SIMON, M. F.; GREYER, R.; DE QUEIROZ, L. P.; SÄRKINEN, T. E.; DUTRA, V. F.; HUGHES, C. E. The evolutionary history of *Mimosa* (Leguminosae): Toward a phylogeny of the sensitive plants. **American Journal of Botany**, v. 98, n. 7, p. 1201–1221, 2011.

SINGH, H.; MISHRA, A.; MISHRA, A. K. The chemistry and pharmacology of *Cleome* genus: A review. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 101, n. 2, p. 37–48, 2018.

SOUZA, V. C. De; ANDRADE, L. A. De; CRUZ; SILVA, F. R. Da; FABRICANTE, J. R.; OLIVEIRA, L. S. B. De. Conservação de sementes de marizeiro *Geoffroea spinosa* Jacq. utilizando diferentes envalagens de ambientes . **Ciencia Florestal, Santa Maria**, v. 21, n. 1, p. 93–102, 2011.

STINTZING, F. C.; KAMMERER, D.; SCHIEBER, A.; ADAMA, H. Betacyanins and Phenolic Compounds from *Amaranthus spinosus* L. and *Boerhavia erecta* L. **A Journal of Biosciences**, v. 59, n. 1–2, p. 1–8, 2004.

SUÁREZ, A. I.; CHAVEZ, K.; BLANCO, Z.; COMPAGNONE, R. S.; TILLET, S.; TORRICO, F. Estudio fitoquímico de la corteza de *Crotón gossypifolius* colectada en venezuela. **Revista Latinoamericana de Quimica**, v. 41, n. 3, p. 161–170, 2013.

THIRUNAVOUKKARASU, P. N. A review of the plant *Boerhaavia diffusa*: its chemistry, pharmacology and therapeutical potential. **The Journal of Phytopharmacology**, v. 5, n. 2, p. 83–92, 2016.

THOMFORD, N. E.; DZOBO, K.; ADU, F.; CHIRIKURE, S.; WONKAM, A.; DANDARA, C. Bush mint (*Hyptis suaveolens*) and spreading hogweed (*Boerhavia diffusa*) medicinal plant extracts differentially affect activities of CYP1A2, CYP2D6 and CYP3A4 enzymes. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 211, n. 2017, p. 58–69, 2018.



TOSTES, J. B. de F.; SILVA, A. J. R.; KUSTER, R. M. Isolation and characterization of polyphenols from *Euphorbia heterophylla* L. (Euphorbiaceae) leaves. **Revista Fitos**, v. 13, n. 1, p. 49–60, 2019.

TRINIDADE, M. J. de S.; LAMEIRA, O. A. Espécies úteis da família Euphorbiaceae no Brasil. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 19, n. 1, p. 292–309, 2014.

VALESI, A. G.; RODRIGUEZ, E.; VANDER, G.; MABRY, T. Methylated Flavonols in *Larrea Cuneifolia*. **Phytochemistry**, v. 11, p. 2821–2826, 1972.

VEGA, M. R. G.; ESTEVES-SOUZA, A.; VIEIRA, I. J. C.; MATHIAS, L.; BRAZ-FILHO, R.; ECHEVARRIA, A. Flavonoids from *Annona dioica* leaves and their effects in Ehrlich carcinoma cells, DNA-topoisomerase I and II. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 18, n. 8, p. 1554–1559, 2007.

VIAU, C. M.; MOURA, D. J.; FACUNDO, V. A.; SAFFI, J. The natural triterpene 3 $\beta$ ,6 $\beta$ ,16 $\beta$ -trihydroxy-lup-20( 29 ) -ene obtained from the flowers of *Combretum leprosum* induces apoptosis in MCF-7 breast cancer cells. **Complementary and Alternative Medicine**, v. 14, n. 280, p. 2–12, 2014.

VILA, J.; BALDERRAMA, L.; BRAVO, J. L.; ALMANZA, G.; CODINA, C.; BASTIDA, J.; CONNOLLY, J. Prenylisoflavanones from *Geoffroea decorticans*. **Phytochemistry**, v. 49, n. 8, p. 2525–2528, 1998.

WOLLENWEBER, E.; VALANT-VETSCHERA, K. M.; ROITMAN, J. N. Chemodiversity Studies on Exudate Flavonoids of *Cleomaceae* species (Brassicales). **Natural Product Communications**, v. 2, n. 10, p. 997–1002, 2007.

YOSHIDA, T.; AMAKURA, Y.; LIU, Y.-Z.; OKUDA, T. Tannins and Related Polyphenols of Euphorbiaceous Plants .XI.Three New hidrlyzable Tannins and a Polyphenol Glucoside from *Euphorbia humifusa*. **Chemical Pharmaceutical Bulletin**, v. 42, n. 9, p. 1803–1807, 1994.

ZEVALLOS-POLLITO, P.; FILHO, M. T. Espécies lenhosas do gênero *Croton* L. (Euphorbiaceae) no estado do Acre. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, n. 2, p. 177–179, 2007.

ZHANG, L.; TU, Z. C.; XIE, X.; LU, Y.; WANG, Z. X.; WANG, H.; SHA, X. M. Antihyperglycemic, antioxidant activities of two *Acer palmatum* cultivars, and identification of phenolics profile by UPLC-QTOF-MS/MS: New natural sources of functional constituents. **Industrial Crops and Products**, v. 89, p. 522–532, 2016.

ZHANG, M.; SUN, J.; CHEN, P. A computational tool for accelerated analysis of oligomeric proanthocyanidins in plants. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 56, p. 124–133, 2017.

ZOU, G.-A.; SU, Z.-H.; ZHANG, H.-W.; WANG, Y.; YANG, J.-S.; ZOU, Z.-M. Flavonoids from the Stems of *Croton caudatus* Geisel. var. *tomentosus* Hook. **Molecules**, v. 15, p. 1097–1102, 2010.

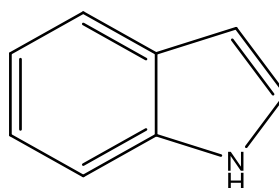
## 2 ALCALOIDES INDÓLICOS DO TIPO PLUMERANO IDENTIFICADOS NAS FLORES DE *ASPIDOSPERMA PYRIFOLIUM* MART (PEREIRO)

### 2.1 INTRODUÇÃO

Os alcaloides constituem uma das maiores classes de metabólitos secundários, apresentando uma ampla diversidade estrutural e um elevado número de atividades biológicas. Eles são encontrados predominantemente em plantas angiospermas e são biossinteticamente formados a partir de aminoácidos: ornitina/arginina, lisina, histidina, fenilalanina/tirosina, triptofano, ácido antranílico e ácido nicotínico (FUMAGALI et al., 2008). A característica estrutural básica destes compostos é a presença de um ou mais átomos de nitrogênio heterocíclico que conferem características básicas, importantes para a química desses metabólitos (EL-SAYED; VERPOORTE, 2007). Podem ser classificados de acordo com o tipo de esqueleto básico que incluem, entre outros, os alcaloides indólicos (HESSE, 2002). Os alcaloides indólicos são derivados do aminoácido triptofano e caracterizam-se estruturalmente pela presença de um sistema bicíclico, formado pelo anel benzênico fundido com o anel pirrólina (Figura 52). As origens metabólicas da porção restante consistem em uma cadeia de dez átomos de carbono, de origem terpenóide e são identificadas como secologaninas (secoiridoides), útil para dividir estes alcaloides em nove subclasses dentre as quais é encontrada a subclasse plumerano (GUIMARÃES; BRAZ-FILHO; VIEIRA, 2012; VARGAS et al., 2004).

Os alcaloides indólicos são encontrados principalmente em plantas das famílias Apocynaceae, Loganiaceae, Rubiaceae e Nissaceae. Têm sido alvo de muitos estudos devido à grandeza de suas diversidades estrutural e farmacológica, (EL-SAYED; VERPOORTE, 2007)

Figura 52- Núcleo básico dos alcaloides indólicos



**Fonte:**A autora (2019)

A presença de alcalóides nas plantas aumenta as taxas de reprodução das plantas, melhora as defesas contra estresses bióticos e abióticos, atuam como repelentes de predadores por sua toxicidade ou sabor amargo, como atraente de polinizadores pelas propriedades estimulantes de alguns alcalóides, enquanto a duração da visita pode ser controlada (MATSUURA; FETT-NETO, 2015).

A família Apocynaceae apresenta 5.556 espécies com 410 gêneros de plantas que ocorrem principalmente em climas tropicais e subtropicais em quatro continentes (APOCYNACEAE - THE PLANT LIST 2013). No Brasil existem cerca de 78 gêneros e 782 espécies, das quais 426 são endêmicas distribuídas em diversas formações vegetais (APOCYNACEAE FLORA DO BRASIL, 2020). Entre os gêneros da família Apocynaceae de ocorrência no Brasil, destaca-se *Aspidosperma* que apresenta 64 espécies com distribuição neotropical e ocorrem desde o México até a Argentina (exceto Chile) com 56 espécies encontradas no Brasil, sendo 23 endêmicas (CASTELLO et al., 2019; MACHATE; ALVES; FARINACCIO, 2016; PEREIRA et al., 2007) com distribuição nas Florestas Pluviais, Cerrados, Caatinga, Campos de Altitude e Restinga (VITAL, 2018).

As plantas deste gênero são importantes fontes de alcaloides indólicos biologicamente ativos (FUMAGALI et al., 2008). Vários estudos comprovam que os alcaloides indólicos são constituintes típicos das espécies de *Aspidosperma* e apresentam grande diversidade estrutural (DO NASCIMENTO et al., 2019; OLIVEIRA et al., 2009). Diversas atividades biológicas são atribuídas aos alcaloides indólicos isolados de diferentes espécies de *Aspidosperma* como hipotensora, analgésica, antimicrobiana (PEREIRA et al., 2007), além das atividades anti-inflamatória, anticâncer, antiúlcera, antileishmania e cicatrizante (GUIMARÃES; BRAZ-FILHO; VIEIRA, 2012; OLIVEIRA et al., 2009).

Um estudo com 33 espécies de *Aspidosperma* de ocorrência no Brasil resultou no isolamento de mais de 100 alcaloides indólicos, o que levou a conclusão da predominância desta classe de alcaloides neste gênero (PEREIRA et al., 2007).

A espécie *Aspidosperma pyrifolium* é popularmente conhecida como "pereiro" ou "pau-pereiro" (Figura 53). É uma árvore nativa da Caatinga, principalmente em várzeas fluviais e terrenos próximos a elevações de terra. É uma árvore de tamanho médio, com 7-8 m de altura, lactescente, com caule bem desenvolvido, ereto e de copa normal em ambientes não degradados, com folhas simples, flores aglomeradas

em pequenas cimeiras terminais e de perfume muito agradável que se espalha pela Caatinga. Os frutos são lenhosos, em forma de gota achatada, castanho-claros, rico em lenticelas de cor cinza (pequenos pontos) que se abrem na sua deiscência em duas bandas e deixam cair as sementes (SOUSA et al., 2014)

Figura 53- Espécie *Aspidosperma pyrifolium*



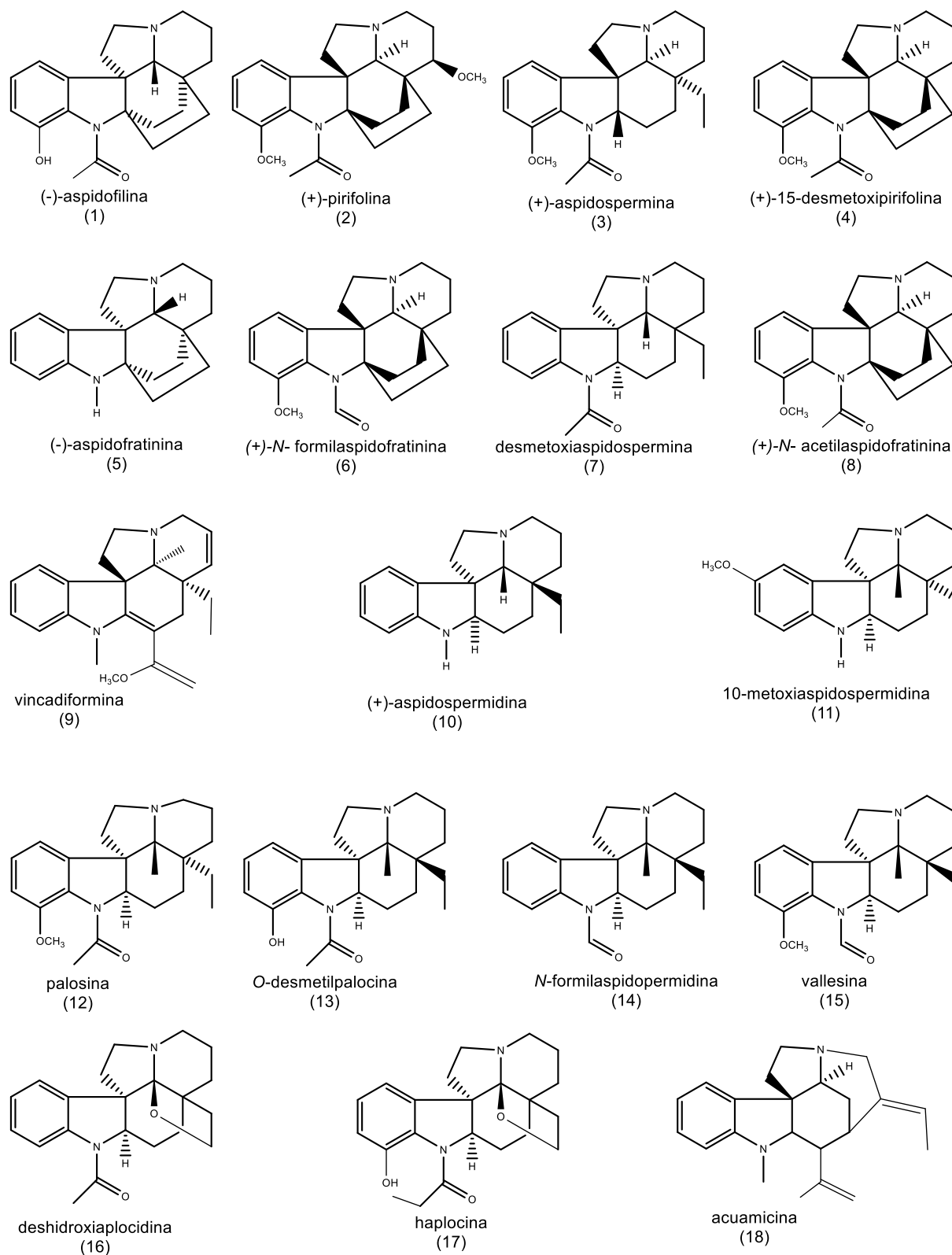
Fonte: Silva T. M. S. (2018)

*Aspidosperma pyrifolium* é utilizada na medicina popular contra a malária, para o tratamento da inflamação do trato urinário e dermatites (AGRA; DE FREITAS; BARBOSA-FILHO, 2007; DOLABELA et al., 2015). Vários alcaloides indólicos já foram

isolados de diferentes partes desta planta (Figura 54). Os alcaloides aspidofilina (1), pirifolina (2), aspidospermina (3) e 15-demetoxipirifolina (4) foram isolados das folhas (CRAVEIRO; MATOS; SERUR, 1983), 15-desmetoxipirifolina (4), aspidofractinina (5) e *N*-formilaspidofractinina (6) foram isolados das cascas do caule (DE ARAÚJO et al., 2007), das sementes da planta foram isolados: aspidospermina (3), desmetoxiaspidospermina (7), *N*-acetilaspidofractinina (8), pirifolina (2) e 15-desmetoxipirifolina (4) (NOGUEIRA et al., 2014) e da casca de sementes e caule também foram isolados, vincadiformina (9), aspidospermidina (10), 10-metoxiaspidospermidina (11), palosina (12), *O*-desmetilpalosina (13), *N*-formilaspidospermidina (14), vallesina (15), dehidroxihaplocidina (16), haplocina (17), acuammicina (18), aspidospermina (3) e demetoxiaspidospermina (7) (MITAINE et al., 1996).

Embora vários alcaloides tenham sido isolados das folhas, cascas das raízes e galhos de *A. pyrifolium*, ainda não há relatos do estudo químicos das flores desta espécie, fato que motivou o presente estudo para investigação dos metabólitos existentes nesta parte da planta e contribuir com a quimiotaxonomia da espécie. O trabalho também faz parte do estudo químico das flores visitadas por abelhas no bioma Caatinga, Nordeste do Brasil.

Figura 54- Alcaloides indólicos isolados das folhas, raízes e casca do caule de *Aspidosperma pyriformium*



Fonte:A autora (2019)

## 2.2 OBJETIVOS

### 2.2.1 Geral

-Identificar os alcaloides presentes nas flores da espécie *Aspidosperma pyrifolium* Mart. (pereiro).

### 2.2.2. Específico

-Analisar o perfil químico por UPLC-DAD-qTOF-MS/MSW da fração alcaloidal obtida das flores de *A. Pyrifolium*

-Isolar os principais alcaloides presentes na fração alcaloidal das flores de *A. pyrifolium* através de técnicas cromatográficas e identificar as estruturas químicas através de técnicas espectroscópicas de RMN  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$  uni e bidimensional.



## 2.3 MATERIAIS E MÉTODOS

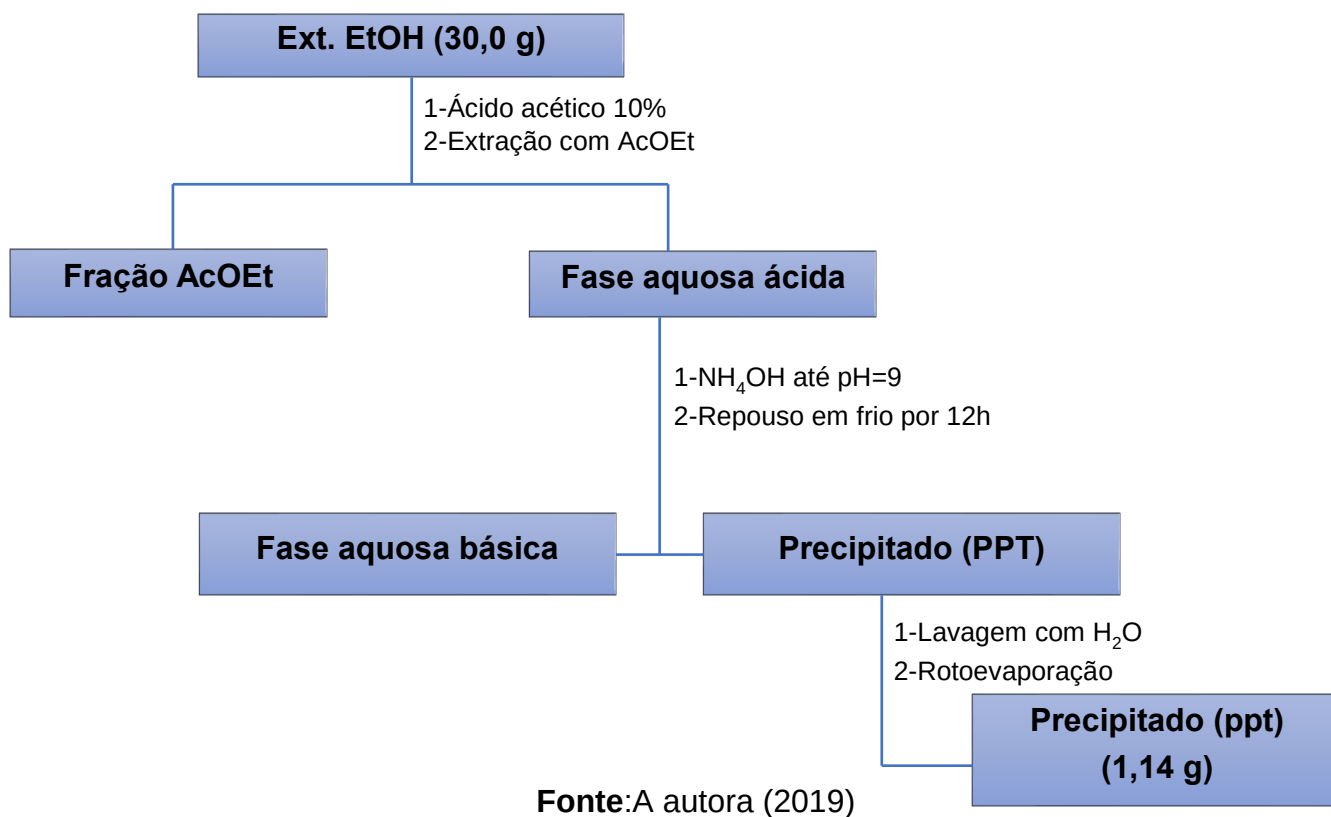
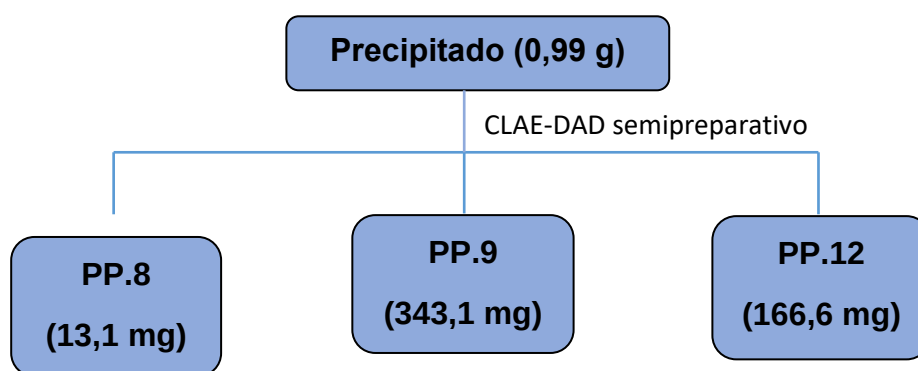
### 2.3.1 Material vegetal e extração dos alcaloides

#### 2.3.1.1 Material vegetal

As flores de *Aspidosperma pyrifolium* foram coletadas no Sítio Riacho, município de Vieirópolis, Paraíba, Brasil, bioma Caatinga. Uma exsicata da planta está depositado no Herbário Vasconcelos Sobrinho, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, sob número 53527 e registrado no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético (SisGen), número A0492CA.

#### 2.3.1.2 Extração dos alcaloides

As flores frescas de *A. pyrifolium* (750,0 g) foram maceradas com etanol e submetidas à extração com auxílio de banho de ultrassom. A solução extrativa foi filtrada e concentrada sob pressão reduzida para produzir o extrato etanólico bruto (80,2 g). Uma porção deste extrato (30,0 g) foi dissolvida com ácido acético 10% e extraída com acetato de etila. O filtrado aquoso ácido foi alcalinizado com  $\text{NH}_4\text{OH}$  e deixado em repouso durante a noite fornecendo ao final 1,1 g de fração alcaloidal (esquema 3). Para a análise em HPLC-DAD analítico, a fração alcaloidal (5,0 mg) foi solubilizada em 1 mL de (MeOH:H<sub>2</sub>O acidificada) e injetada em HPLC-DAD, modelo CMB-20A (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japão) equipado com um detector UV-Vis (SPD-20A), forno da coluna (CTO-20A), bomba de solvente (LC-20AD) e Coluna Luna Phenomenex C-18 (Phenomenex, Aschaffenburg, Alemanha) (250 x 4,6 mm; 5 µm) a 40 °C, fluxo de 1 mL/min, faixa de comprimento de onda 220 a 400 nm. As fases móveis foram água acidificada 0,1% ácido fórmico solvente (A) e metanol (B), no seguinte programa de eluição: 1-10 min 70% B, 10-15 min 100% B, de 15-17 min 70% B. Para o isolamento dos alcaloides, a fração alcaloidal (0,9978 g) foi submetida a cromatografia semipreparativa, utilizando coluna Luna C-18 (250 mm x 21,2 mm x 4 µm) (Phenomenex, Aschaffenburg, Alemanha) utilizando o mesmo sistema de eluição da injeção analítica e fluxo de 14 mL/min, sendo coletadas ao final 14 frações (Esquema 4).

Esquema 3- Marcha para extração dos alcaloides das flores de *A. pyrifolium*Esquema 2- Isolamento das substâncias presentes na fração alcaloidal das flores de *A. pyrifolium*

Fonte: A autora (2019)

As frações PP-8(8), PP-9(13) e PP-12(16 e 17) foram submetidas às análises espectrométricas. Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C

(incluindo experimento em 2D) foram obtidos em espectrômetros Bruker DPX- 500 (Bruker, Rheinstetten, Alemanha) (500 e 125 MHz, para  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ ) respectivamente. Como referência interna foi utilizado tetrametilsilano (TMS) ou resíduo do solvente  $\text{CHCl}_3$  ( $\delta_{\text{H}}$  7,27) e o pico central do  $\text{CDCl}_3$  em ( $\delta_{\text{C}}$  77,00). Os espectros de absorção no infravermelho foram obtidos em pastilhas de KBr obtido em espectrômetro Varian 640-FTIR (Varian, Palo Alto, CA, EUA) com um acessório PIKE ATR operando na faixa de 4000-400  $\text{cm}^{-1}$ . Os valores de rotações ópticas foram medidos a 20°C ( $[\alpha]_D^{20}$ ) no polarímetro digital (A. Krüss Optronic GmbH, Hamburgo, Alemanha, espessura 1,0 dm). Utilizou-se uma cubeta de 2,5 mm de diâmetro por 100 mm de caminho óptico. As medições foram feitas em triplicatas e o tempo de duração de cada análise foi de 15 segundos.

### 2.3.2 Análises por UPLC-PDA-qTOF-MS/MS

Os experimentos foram realizados utilizando um cromatógrafo líquido de ultra eficiência ACQUITY UPLC H-Class (Waters Corporation, Milford, MA, EUA), acoplado a um espectrômetro de massas Quadrupolo-Tof (Xevo G2-XS QToF, Waters, EUA) com ionização por eletrospray (ESI). O detector analítico foi um detector Waters Acquity PDA, que foi ajustado para uma faixa de comprimento de onda de 200-800 nm. As separações cromatográficas foram realizadas utilizando uma coluna Acquity BEH C-18 (2,1 mm x 50 mm, 1,7  $\mu\text{m}$  de tamanho de partícula) (Waters, Milford, MA, EUA). A temperatura foi mantida a 40°C. A fase móvel binária consistiu de uma solução aquosa de ácido fórmico 0,1% (solvente A) e acetonitrila 0,1% ácido fórmico (solvente B). O gradiente de eluição utilizado foi: 0 -5 min, 5% - 10% de B; 5 - 9 min, 10% - 95% de B, com o fluxo 0,4  $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$  e volume de injeção 5,0  $\mu\text{L}$ . O espectrômetro de massas foi operado em modo positivo de ionização (ESI), sendo a detecção realizada no método centroide  $\text{MS}^E$  em faixa de variação 50 - 1200  $m/z$ . As condições da fonte são as seguintes: voltagem do capilar 2,0 kV para ESI, gás de dessolvatação ( $\text{N}_2$ ) 800  $\text{L} \cdot \text{h}^{-1}$  e 600 °C, taxa do fluxo de gás do cone 100  $\text{L} \cdot \text{h}^{-1}$ , temperatura da fonte 120 °C, energia de colisão em rampa de 10-30 eV. Todas as análises foram realizadas utilizando o lockspray para garantir a precisão e reprodutibilidade dos valores de massas. Leucina-encefalina (200,0  $\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) foi utilizado como padrão/referência para calibração. A aquisição e análise dos dados foi realizada utilizando o software Waters MassLynx 4.1.

## 2.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 2.4.1 Caracterização de compostos por UPLC-DAD-QTOF-MS/MS

A fração alcaloidal das flores de *Aspidosperma pyrifolium* foi submetida à análise por UPLC-DAD-QTOF-MS para análise do perfil químico e caracterização estrutural de alcaloides. Dezoito alcaloides indólicos do tipo plumerano foram caracterizados e os quatro principais alcaloides foram isolados por HPLC-DAD semipreparativo e as estruturas foram identificadas por RMN 1D (RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ ), 2D-RMN ( $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY, HSQC, HMBC e NOESY) e espectros MS/MS. A Tabela 22 resume os íons produtos mais característicos observados nos espectros de MS/MS. Os Cromatogramas de UPLC-DAD e do pico íon base (BPI) são mostrados na (Figura 55 A e B), respectivamente. A identificação dos compostos foi possível de acordo com as absorções máximas de UV, valores de massa dos íons protonados e comparação com dados publicados na literatura. Os alcaloides mostraram uma banda de absorção de UV a 250-284 nm. Os padrões de fragmentação são consistentes com a estrutura dos alcaloides indólicos (AGUIAR et al., 2010; LI et al., 2015). Dos dezoito alcaloides identificados, quatorze são compostos por anéis de seis membros (**1-13** e **15**) e quatro com anéis de cinco membros (**14** e **16-18**). Como exemplo, a proposta de formação de íons produtos para os anéis de seis membros (**13**, pirifolina) e anéis de cinco membros (**16**, aspidospermina) são mostrados (Figura 56 e 57). Esta análise pode ser estendida para a formação dos íons produtos dos outros alcaloides com o mesmo perfil.

Os compostos **1-13** com anéis de seis membros apresentaram o mesmo esqueleto básico nas estruturas que a aspidofractinina e seu isômero (alcaloides **2** e **3**) com  $m/z$  281,2014  $[\text{M}+\text{H}]^+$ . Exceto os alcaloides **1** ( $m/z$  325,1911), **4** ( $m/z$  369,2172), **9** ( $m/z$  323,2123), **13** ( $m/z$  383,2223) e **15** ( $m/z$  399,2270), todos os outros compostos **2** e **3** ( $m/z$  281,2014), **5** e **6** ( $m/z$  309,1964), **7** e **8** ( $m/z$  339,2064), e **10**, **11** e **12** ( $m/z$  353,2230) são grupos de alcaloides isômeros. Os compostos mostraram presença de grupos hidroxila, metoxila, formila ou acetila na estrutura.

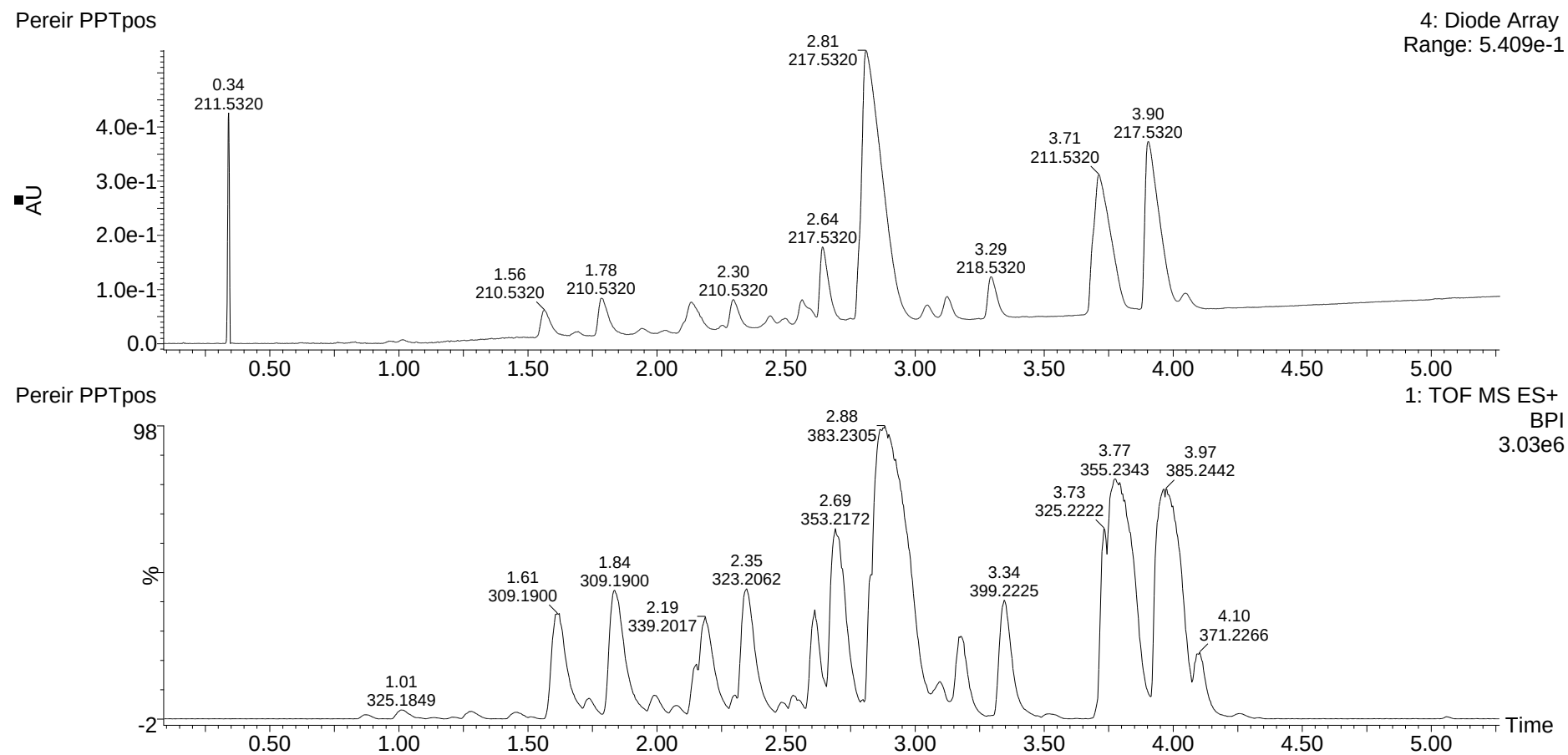
Geralmente, as perdas neutras de  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CO}$ ,  $\text{MeOH}$ ,  $\text{C}_2\text{H}_4$ ,  $\text{CH}_2\text{CO}$  e  $\text{C}_2\text{H}_7\text{N}$  foram observadas a partir das estruturas. A perda de  $\text{H}_2\text{O}$  é característico de um grupo OH, a perda de  $\text{CO}$  é a fragmentação característica dos alcaloides *N*-formil e a perda

de MeOH de  $[M+H]^+$  é atribuída à estrutura com grupo metoxila. A eliminação do  $CH_2CO$  ocorreu nos compostos que apresentaram o grupo *N*-acetil. Os fragmentos  $C_2H_4$  e  $C_2H_7N$  foram comuns a todos os compostos. Os alcaloides também mostraram íons produto em  $m/z$  168, 144 e 130 na faixa de baixa massa como íons característicos da parte indol (Li et al., 2015).

O composto isolado **13** (pirifolina), alcaloide indólico plumerano hexacíclico exibiu um íon molecular protonado em  $m/z$  383,2323  $[M+H]^+$ . Os íon produtos em  $m/z$  341,2175  $[M+H-CH_2CO]^+$  e  $m/z$  313,1854  $[M+H-CH_2CO-C_2H_4]^+$  resultou das perdas de  $CH_2CO$  e depois de  $C_2H_4$ , respectivamente. O íon produto em  $m/z$  309,1908  $[M+H-CH_2OH-CH_2CO]^+$  é formado por perdas de  $CH_2OH$  e  $CH_2CO$  da molécula protonadas. O íon produto em  $m/z$  313,1854  $[M+H-CH_2CO-C_2H_4]^+$  forneceu os íons em  $m/z$  255,1462  $[M+H-CH_2CO-2C_2H_4-CH_2O]^+$ , formados pelas perdas subsequentes de  $CH_2O$  e  $C_2H_4$ . O íon produto em  $m/z$  281,1589  $[M+H-CH_2CO-2CH_2O]^+$ , resulta de  $m/z$  341,2175 por perdas de  $2CH_2O$  e finalmente a perda de  $CH_2NH$  de  $m/z$  281,1589 resultou no pico em  $m/z$  252,1318  $[M+H-CH_2CO-2CH_2O-CH_2NH]^+$ . Como exemplo é mostrada de fragmentação para o alcaloide pirifolina (13) (Figura II.5). Esta propriedade pode ser estendida para os outros alcaloides indólicos de plumerano hexacíclico

A aspidospermina (**16**), alcaloide indol do tipo pentacíclico, apresentou um íon molecular protonado em  $m/z$  355,2380  $[M+H]^+$ . O espectro  $MS^2$  apresentou fragmentos consistentes com o grupo metoxila no anel indólico, em  $m/z$  323,2062  $[M+H-MeOH]^+$  e 325,2184  $[M+H-CH_2O]^+$  e presença de grupo *N*-acetil  $m/z$  283,2004  $[M+H-CH_2O-CH_2CO]^+$ . As perdas das moléculas neutras de  $CH_3NH_2$  e  $CH_3CH_2NH_2$  do íon produto em  $m/z$  283,2004 originaram os fragmentos em  $m/z$  252,1642  $[M+H-CH_2O-CH_2CO-CH_3NH_2]^+$  e  $m/z$  238,1517  $[M+H-CH_2O-CH_2CO-CH_3CH_2NH_2]^+$ , respectivamente. A perda subsequente de  $C_2H_6$  e  $C_3H_6$ , a partir de  $m/z$  238,1517 fornece os íons produto em  $m/z$  208,1087  $[M+H-CH_2O-CH_2CO-CH_3CH_2NH_2-C_2H_6]^+$  e  $m/z$  196,1062  $[M+H-CH_2O-CH_2CO-CH_3CH_2NH_2-C_3H_6]^+$ . Os íons produto em  $m/z$  144,0741  $[M+H-CH_2O-CH_2CO-C_8H_{12}]^+$  e  $m/z$  130,0636  $[M+H-CH_2O-CH_2CO-CH_3CH_2NH_2-C_8H_{12}]^+$  na faixa de baixa massa são as características íons da parte indol. A fragmentação proposta do composto 16 é mostrada na (Figura II.6). Esta propriedade pode ser estendida para os outros alcaloides indólicos do tipo plumerano pentacíclico.

Figura 55- Cromatogramas UPLC-DAD (254 nm) (A) e ESI pico íon base (BPI) (B) da fração alcaloidal obtido das flores de *Aspidosperma pyrifolium* analisadas por UPLC-QTOF-MS<sup>E</sup>



Fonte: A autora (2019)

Tabela 22- Identificação dos alcaloides indólicos do tipo plumeranos das flores de *Aspidosperma pyrifolium* por UPLC/QTOF-MS<sup>E</sup>

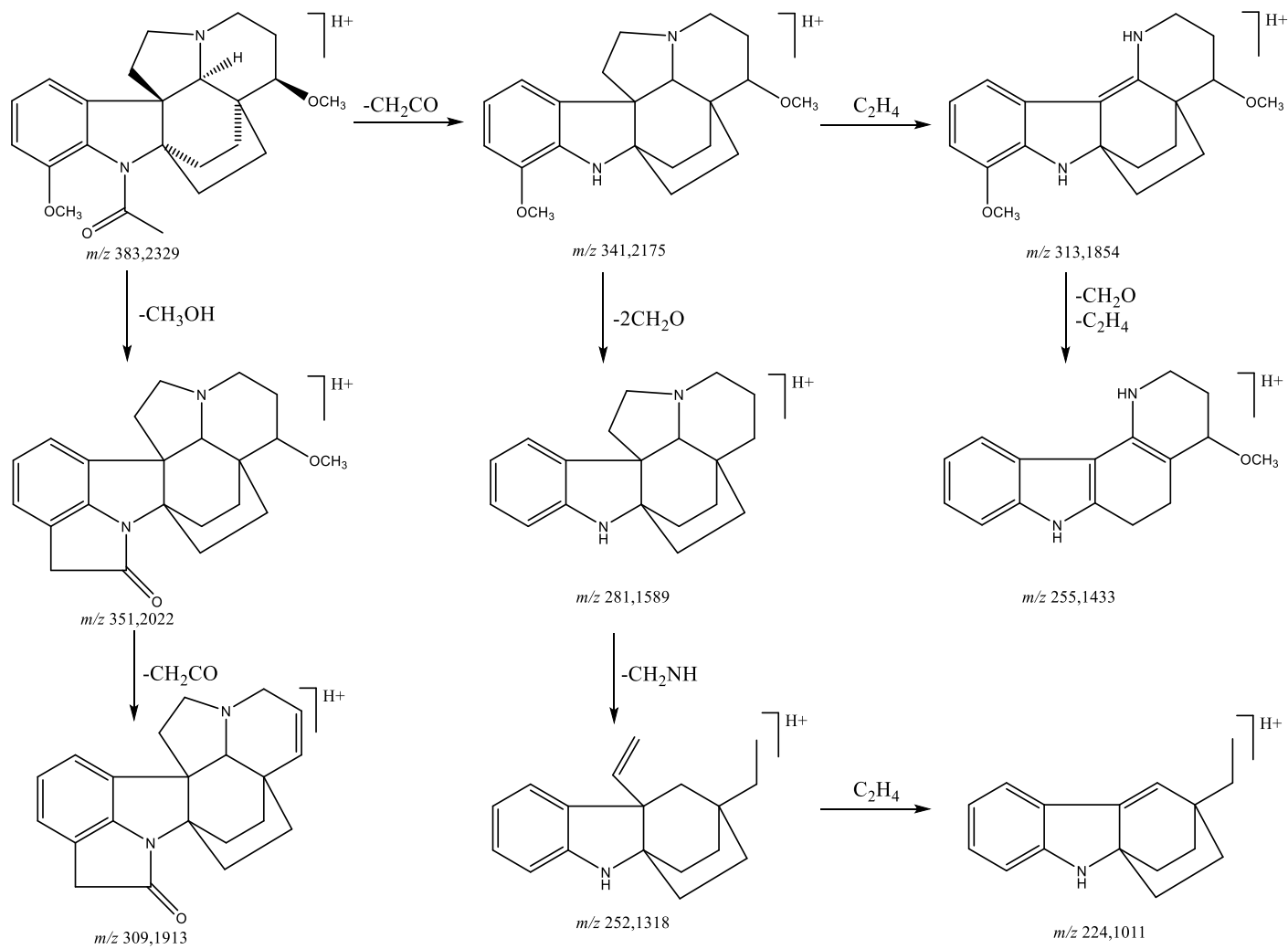
| Comp. | Rt<br>(min) | $\lambda_{\max}$<br>(nm) | [M+H] <sup>+</sup><br>(m/z) | [M+H] <sup>+</sup><br>(m/z)<br>Calc. | MS/MS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | Tentativa de<br>identificação                         |
|-------|-------------|--------------------------|-----------------------------|--------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|
| 1     | 1,01        | 250                      | 325,1911                    | 325,1910                             | 307,1743 [M+H-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 279,1794 [M+H-CO] <sup>+</sup> , 251,1481 [M+H-CO-C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | Hidroxi- <i>N</i> -formil-<br>aspidofractinina        |
| 2     | 1,8         | 283                      | 281,2014                    | 281,2012                             | 253,1617 [M+H-C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> ] <sup>+</sup> , 208,1064 [M+H-C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> -C <sub>2</sub> H <sub>7</sub> N] <sup>+</sup> , 180,0752 [M+H-2C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> -C <sub>2</sub> H <sub>7</sub> N] <sup>+</sup>                                                                                                                                                                                                                  | Aspidofractinina ou<br>isômero                        |
| 3     | 1,46        | 284                      | 281,2014                    | 281,2012                             | 253,1617 [M+H-C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> ] <sup>+</sup> , 208,1064 [M+H-C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> -C <sub>2</sub> H <sub>7</sub> N] <sup>+</sup> , 180,0752 [M+H-2C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> -C <sub>2</sub> H <sub>7</sub> N] <sup>+</sup>                                                                                                                                                                                                                  | Aspidofractinina ou<br>isômero                        |
| 4     | 1,51        | 253                      | 369,2172                    | 369,2172                             | 339,2275 [M+H-CH <sub>3</sub> OH] <sup>+</sup> , 321,1886 [M+H-CH <sub>3</sub> OH- H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | Hidroxi-metoxi- <i>N</i> -acetil-<br>aspidofractinina |
| 5     | 1,61        | 251                      | 309,1964                    | 309,1961                             | 281,1520 [M+H-CO] <sup>+</sup> , 264,1744 [M+H-C <sub>2</sub> H <sub>7</sub> N] <sup>+</sup> , 253,1696 [M+H-CO-C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> ] <sup>+</sup> , 236,1075 [M+H-C <sub>2</sub> H <sub>7</sub> N-CO] <sup>+</sup> , 208,1051 [M+H-C <sub>2</sub> H <sub>7</sub> N-CO-C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>                                                                                                                                          | <i>N</i> -formil-aspidofractinina<br>ou isômero       |
| 6     | 1,84        | 251                      | 309,1969                    | 309,1961                             | 281,1520 [M+H-CO] <sup>+</sup> , 264,1744 [M+H-C <sub>2</sub> H <sub>7</sub> N] <sup>+</sup> , 253,1696 [M+H-CO-C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> ] <sup>+</sup> , 236,1075 [M+H-C <sub>2</sub> H <sub>7</sub> N-CO] <sup>+</sup> , 208,1051 [M+H-C <sub>2</sub> H <sub>7</sub> N-CO-C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>                                                                                                                                          | <i>N</i> -formil-aspidofractinina<br>ou isômero       |
| 7     | 1,97        | 253                      | 339,2064                    | 339,2067                             | 309. [M+H-CH <sub>3</sub> OH] <sup>+</sup> , 281.1651 [M+H-CH <sub>3</sub> OH-CO] <sup>+</sup> , 264,1787 [M+H-CH <sub>3</sub> OH-C <sub>2</sub> H <sub>7</sub> N] <sup>+</sup> , 253,1696 [M+H-CH <sub>3</sub> OH-CO-C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> ] <sup>+</sup> , 236,1075 [M+H-CH <sub>3</sub> OH-CO-C <sub>2</sub> H <sub>7</sub> N] <sup>+</sup>                                                                                                                 | Hidroxi- <i>N</i> -acetil-<br>aspidofractinina        |
| 8     | 2,22        | 253                      | 339,2069                    | 339,2067                             | 311,1703 [M+H-CO] <sup>+</sup> , 307,1751 [M+H-CH <sub>3</sub> OH] <sup>+</sup> , 283,1745 [M+H-CO-C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> ] <sup>+</sup> , 279,1437 [M+H-CH <sub>3</sub> CO] <sup>+</sup> , 253,1269 [M+H-CO-C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> -CH <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 222,0847 [M+H-CO-C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> -CH <sub>3</sub> NH <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> , 194,0897 [M+H-CO-2C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> -CH <sub>3</sub> O] <sup>+</sup> | <i>N</i> -formil-15-methoxi-<br>aspidofractinina*     |
| 9     | 2,35        | 252                      | 323,2123                    | 323,2117                             | 297,1885 [M+H-CH <sub>2</sub> CO] <sup>+</sup> , 280,1639 [M+H-C <sub>3</sub> H <sub>9</sub> N] <sup>+</sup> , 269,1590 [M+H-CH <sub>2</sub> CO-C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>                                                                                                                                                                                                                                                                           | <i>N</i> -acetyl-aspidospermine                       |
| 10    | 2,53        | 252                      | 353,2231                    | 353,2223                             | 323,2063 [M+H-CH <sub>3</sub> OH] <sup>+</sup> , 311,2005 [M+H-CH <sub>2</sub> CO] <sup>+</sup> , 294,1822 [M+2H-CH <sub>3</sub> OH-C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> ] <sup>+</sup> , 283,1744 [M+H-CH <sub>2</sub> CO-C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> ] <sup>+</sup> , 252,1313 [M+H-CH <sub>2</sub> CO-C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> -C <sub>2</sub> H <sub>7</sub> N] <sup>+</sup>                                                                                       | Demetoxipirifolina ou<br>isômero                      |

|    |      |     |          |          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |                                          |
|----|------|-----|----------|----------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------|
| 11 | 2,61 | 252 | 353,2232 | 353,2223 | 323,2063 [M+H-CH <sub>3</sub> OH] <sup>+</sup> , 311,2005 [M+H-CH <sub>2</sub> CO] <sup>+</sup> , 294,1822 [M+2H-CH <sub>3</sub> OH-C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> ] <sup>+</sup> , 283,1744 [M+H-CH <sub>2</sub> CO-C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> ] <sup>+</sup> , 244,1462 252.1313 [M+H-CH <sub>2</sub> CO-C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> -CH <sub>3</sub> NH <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | Demetoxipirifolina ou isômero            |
| 12 | 2,69 | 257 | 353,2230 | 353,2223 | 323,2063 [M+H-CH <sub>3</sub> OH] <sup>+</sup> , 311,2005 [M+H-CH <sub>2</sub> CO] <sup>+</sup> , 294,1822 [M+2H-CH <sub>3</sub> OH-C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> ] <sup>+</sup> , 283,1744 [M+H-CH <sub>2</sub> CO-C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> ] <sup>+</sup> , 252,1313 [M+H-CH <sub>2</sub> CO-C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> -CH <sub>3</sub> NH <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | Demetoxipirifolina ou isômero            |
| 13 | 2,88 | 257 | 383,2323 | 383,2329 | 351,2022 [M+H-CH <sub>3</sub> OH] <sup>+</sup> , 341,2175 [M+H-CH <sub>2</sub> CO] <sup>+</sup> , 313,1854 [M+H-CH <sub>2</sub> CO-C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> ] <sup>+</sup> , 309,1908 [M+H-CH <sub>2</sub> CO-CH <sub>3</sub> OH] <sup>+</sup> , 281,1589 [M+H-CH <sub>2</sub> CO-2CH <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 255,1462 [M+H-CH <sub>2</sub> CO-2C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> -CH <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 252,1318 [M+H-CH <sub>2</sub> CO-2CH <sub>2</sub> O-CH <sub>2</sub> NH] <sup>+</sup> , 224,1011 [M+H-CH <sub>2</sub> CO-C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> -C <sub>3</sub> H <sub>8</sub> N-CH <sub>3</sub> OH] <sup>+</sup>                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | Pirifolina*                              |
| 14 | 3,18 | 250 | 341,2224 | 341,2223 | 323,2043 [M+H-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 299,2074 [M+H-CH <sub>2</sub> CO] <sup>+</sup> , 281,1939 [M+H-CH <sub>2</sub> CO-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 253,1619 [M+H-CH <sub>2</sub> CO-H <sub>2</sub> O-C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | Hidroxi- <i>N</i> -acetil aspidospermina |
| 15 | 3,34 | 256 | 399,2270 | 399,2278 | 371,2287 [M+H-CO] <sup>+</sup> , 354,1896 [M+H-C <sub>2</sub> H <sub>7</sub> N] <sup>+</sup> , 353,2125 [M+H-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH] <sup>+</sup> , 339,1996 [M+H-CO-CH <sub>3</sub> OH] <sup>+</sup>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | Fendlerina                               |
| 16 | 3,77 | 250 | 355,2380 | 355,2380 | 325,2184 [M+H-CH <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 323,2062 [M+H-CH <sub>3</sub> OH] <sup>+</sup> , 283,2004 [M+H-CH <sub>2</sub> O-CH <sub>2</sub> CO] <sup>+</sup> , 252,1642 [M+H-CH <sub>2</sub> O-CH <sub>2</sub> CO-CH <sub>3</sub> NH <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> , 238,1517 [M+H-CH <sub>2</sub> O-CH <sub>2</sub> CO-CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> , 208,1087 [M+H-CH <sub>2</sub> O-CH <sub>2</sub> CO-CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub> -C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> ] <sup>+</sup> , 130,0638 [M+H-CH <sub>2</sub> O-CH <sub>2</sub> CO-CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub> -C <sub>8</sub> H <sub>12</sub> ] <sup>+</sup> , 196,1062 [M+H-CH <sub>2</sub> O-CH <sub>2</sub> CO-CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub> -C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> ] <sup>+</sup> , 144,0741 [M+H-CH <sub>2</sub> O-CH <sub>2</sub> CO-C <sub>8</sub> H <sub>12</sub> ] <sup>+</sup> | Aspidospermina*                          |
| 17 | 3,97 | 253 | 385,2480 | 385,2485 | 353,2168 [M+H-CH <sub>3</sub> OH] <sup>+</sup> , 323,1683 [M+H-2CH <sub>3</sub> ] <sup>+</sup> , 339,2002 [M+H-CH <sub>3</sub> -CH <sub>3</sub> O] <sup>+</sup> , 311,2042 [M+H-CH <sub>3</sub> OH-CH <sub>2</sub> CO] <sup>+</sup> , 281,1662 [M+H-2CH <sub>3</sub> -CH <sub>2</sub> CO] <sup>+</sup> , 266,1474 [M+H-CH <sub>3</sub> OH-CH <sub>2</sub> CO-C <sub>2</sub> H <sub>7</sub> N] <sup>+</sup>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 15-metoxi aspidospermina*                |
| 18 | 4,10 | 253 | 371,2324 | 371,2329 | 353,2125 [M+H-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 339,1992 [M+H-CH <sub>3</sub> OH] <sup>+</sup> , 311,2061 [M+H-CH <sub>2</sub> CO] <sup>+</sup> , 296,1808 [M+H-CH <sub>3</sub> OH-CH <sub>3</sub> CO] <sup>+</sup> , 266,1474 [M+H-CH <sub>2</sub> CO-C <sub>2</sub> H <sub>7</sub> N] <sup>+</sup>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | Aspidocarpina                            |

**Fonte:**A autora (2019)-\*Compostos isolados e identificados por métodos espectroscópicos incluindo experimento de RMN 1D e 2D .

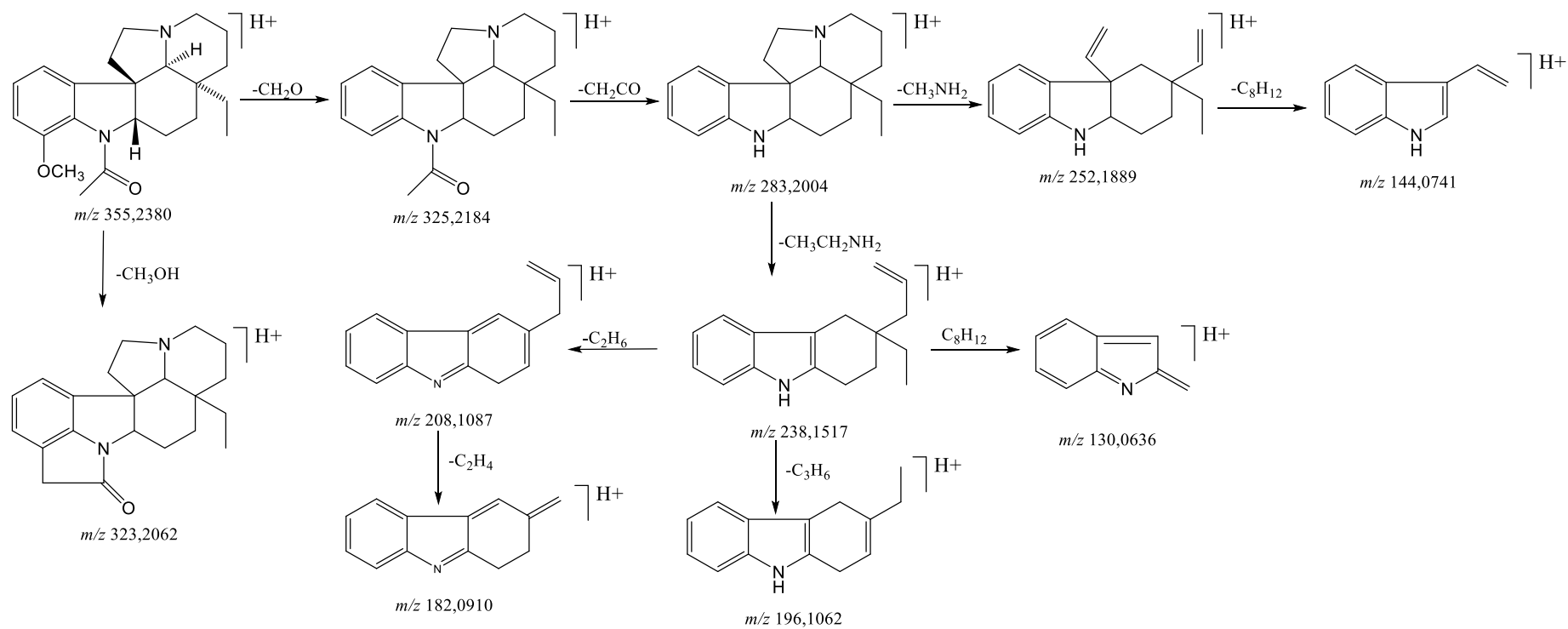


Figura 56- Proposta de fragmentação MS/MS para o pico em  $m/z$  383,2323 para o alcaloide plumerano hexacíclico pirifolina (13)



Fonte: A autora (2019)

Figura 57- Proposta de fragmentação MS/MS para o pico em  $m/z$  355,2380 para o alcaloide do tipo plumerano pentacíclico aspodospermina (**16**)



Fonte: A autora (2019)

### 2.4.2 Determinação estrutural dos compostos isolados

O composto **8** foi obtido como um pó branco,  $[\alpha]_D^{20} = -88,0$  (c 0,05 g/mL, MeOH), com teste positivo ao reagente de Dragendorff após análise por cromatografia em camada delgada analítica.

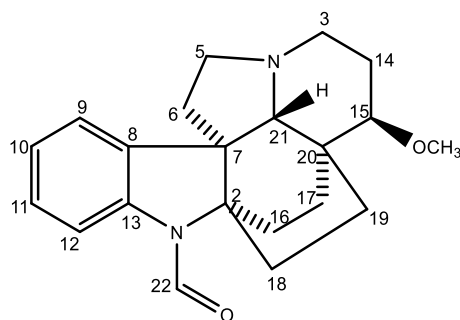
O espectro de UV do composto **8** (Figura 58), mostrou bandas com máximo de absorção em 251 nm, o que pode ser característico de um cromóforo de alcaloide indólico substituído. O espectro de FT-IR (Figura 59) exibiu banda em  $2937\text{ cm}^{-1}$ , característica de ligações C-H de carbono  $sp^3$ , bandas em  $1082\text{ cm}^{-1}$ , característica de ligação C-N, em  $1667\text{ cm}^{-1}$  associada com o grupo carbonila e  $1595$  e  $1476\text{ cm}^{-1}$  para o anel aromático.

Os espectros de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  NMR do composto **8** exibiram sinais característicos de um alcalóide Índolico 2,3-disubstituído. O espectro de  $^1\text{H}$  RMN (Figura 60) indicou a presença de quatro prótons aromáticos a  $\delta_{\text{H}}$  7,31 (dd; 1,0, 7,5; H-9),  $\delta_{\text{H}}$  7,09 (dt; 1,0, 7,5; H-10),  $\delta_{\text{H}}$  7,20 (dt; 1,0, 7,5; H-11),  $\delta_{\text{H}}$  8,0 (d; 1,0, 7,5; H-12), comprovando a presença do núcleo indol livre de substituintes, cinco sinais para hidrogênios ligados a átomos de carbono nitrogenados, sendo quatro sinais multipletos para prótons metileno a  $\delta_{\text{H}}$  3,17 (m, H-3 $\beta$ ), 3,03 (m, H-3 $\alpha$ ), 3,21 (m, H-5 $\beta$ ), 3,07 (m, H-5 $\alpha$ ) e um singlete a  $\delta_{\text{H}}$  3,08 de próton H-21. Adicionalmente, dois singletos foram observados a  $\sim 3,35$  e  $\sim 8,3$  correspondendo aos grupos metóxi e formilo nas posições 15 e 21, respectivamente. Estes resultados sugerem que o composto **8** consiste num alcaloide indol de tipo plumerano hexacíclico. A partir do espectro  $^{13}\text{C}$  NMR APT (Figura 61), os resultados foram ainda suportados pela presença de sinais de um carbono carbonílico a  $\delta_{\text{C}}$  158,12, cinco carbonos quaternários a  $\delta_{\text{C}}$  141,6 (C-8), 139,8 (C-13), 71,5 (C-2), 57,5 (C-7) e 38,0 (C-20), seis metínicos a  $\delta_{\text{C}}$  121,6 (C-9), 125,2 (C-10), 127,3 (C-11), 117,4 (C-12), 85,5 (C-15) e 68,8 (C-21), oito metilenos a  $\delta_{\text{C}}$  50,8 (C-5), 46,1 (C-3), 35, (C-6), 20,6 (C-14), 25,0 (C-16), 22,0 (C-17), 32,5 (C-18) e 30,2 (C-19), e um grupo metóxi a  $\delta_{\text{C}}$  57,2. Todas as ressonâncias de prótons acima foram inequivocamente associadas com átomos de carbono usando o espectro de HSQC (Figura 62). A comparação do composto **8** com o composto **5** (309 Da) e seu isômero **6** (N-formil-aspidofractinina) isolado da casca do caule de *A. pyrifolium* (DE ARAÚJO et al., 2007), mostrou que o composto **8** apresenta 30 Da de diferença, que corresponde a um grupo metoxila adicional na estrutura. A comparação dos valores de deslocamento químico do C-15 no composto **8** ( $\delta_{\text{C}}$  85,5) e N-formil-aspidofractinina em ( $\delta_{\text{C}}$  29,0) (DE

ARAÚJO et al., 2007), pode-se concluir que o grupo metoxila no composto está no carbono-15. Esta declaração foi confirmada pelo espectro de HMBC (Figura 63) que mostrou uma correlação entre C-15 ( $\delta_c$  85,59) e o grupo metóxi em  $\delta_H$  3,35. A porção hexacíclica indólica e plumerana foi atribuída a partir de suas correlações próton-próton no espectro  $^1H$ - $^1H$  COSY (Figura 64), e as correlações de longo alcance entre prótons e carbonos pelo espectro de HMBC. Em particular, no espectro de HMBC foi observado os picos cruzados H-3 ( $\delta_H$  3,03) com C-5 ( $\delta_c$  50,8), C-21 ( $\delta_c$  68,8), C-14 ( $\delta_c$  20,6); H-21 com C-5 ( $\delta_c$  50,8); C-6 ( $\delta_c$  35,5), C-7 ( $\delta_c$  57,5); H-12 com C-8 ( $\delta_c$  141,6); C-10 ( $\delta_c$  125,2); e C-13 ( $\delta_c$  139,8). Por outro lado, o pico de HMBC do H-22 ( $\delta_H$  8,3) com o carbonila em  $\delta_c$  139,8 (C-13) nos permitiu identificar o grupo *N*-formil. A orientação pseudo-equatorial para o grupo metoxila na posição C-15 foi estabelecida com base nos valores das constantes de acoplamento para H-15 obtidos pelas ressonâncias magnéticas de RMN- $^1H$ . Um duplo duplete a  $\delta_H$  2,93 mostrou os valores da constante de acoplamento iguais a 12 Hz e 5 Hz, indicando que H-15 tem um ângulo próximo de  $180^\circ$  em relação a H-14 $\beta$  e aproximadamente  $60^\circ$  em 14 $\alpha$ . A análise do espectro de espectroscopia de efeito nuclear de Overhauser (NOESY) (Figura 65), permitiu corroborar a estereoquímica relativa do H-21 $\beta$  em  $\delta_H$  3,08 mostrou acoplamentos dipolares com grupo metoxil a  $\delta_H$  3,35 e H-19 $\beta$  ( $\delta_H$  2,05). Os dados de RMN 1D e 2D estão apresentados na Tabela 23.

O espectro de massas mostrou íon de molécula desprotonada em  $m/z$  339,2069  $[M+H]^+$  (calculado  $m/z$  339,2067), consistente com fórmula molecular de  $C_{21}H_{29}N_2O_2$ . O espectro MS/MS (Figura 66) mostrou um íon produto em  $m/z$  309,1589 correspondendo perda de metanol  $[M+H-MeOH]^+$ . O formil foi prontamente eliminado como CO para produzir o íon produto em  $m/z$  281,1651  $[M+H-CH_3OH-CO]^+$ . Os íons produtos em  $m/z$  264,1787  $[M+H-CH_3OH-C_2H_7N]^+$  e  $m/z$  236,1075  $[M+H-CH_3OH-CO-C_2H_7N]^+$ , correspondiam à perda de um fragmento relacionado com o anel de cinco membros. Com base nos resultados descritos, a estrutura do composto **8** foi estabelecida como 15-metoxi-*N*-formilaspidofractinina.

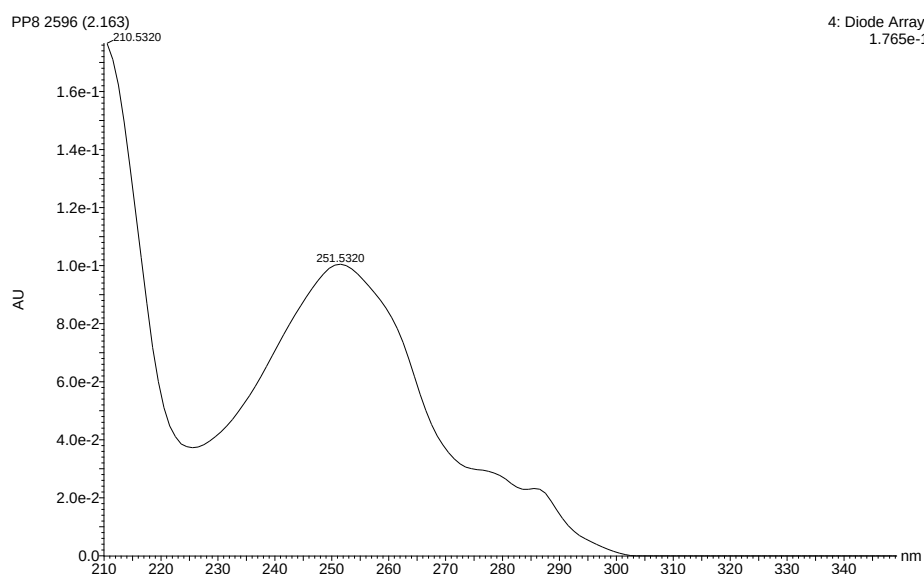
Tabela 23- Dados de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  (500 e 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **8** (*N*-formil-15-methoxy-aspidofractinina)



| C                | $\delta^{13}\text{C}$ | $\delta^1\text{H}$                     | $^2J_{\text{CH}}$ | $^3J_{\text{CH}}$      |
|------------------|-----------------------|----------------------------------------|-------------------|------------------------|
| 2                | 71,5                  | -                                      |                   |                        |
| 3                | 46,1                  | 3,03 (m)<br>3,17 (m)                   |                   | H-5                    |
| 5                | 50,8                  | 3,07 (m)<br>3,21 (m)                   |                   | H-3, H-21              |
| 6                | 35,5                  | 2,54 (ddd, 3,5; 9; 14)<br>1,67 (m)     | H-5, H-21         | H-21                   |
| 7                | 57,5                  | -                                      | H-21              | H-5, H-9, H-16, H-17   |
| 8                | 141,6                 | -                                      |                   | H-10, H-12             |
| 9                | 121,6                 | 7,31 (dd, 1,0; 7,5)                    | H-10              |                        |
| 10               | 125,2                 | 7,09 (dt, 1,0; 7,5)                    |                   | H-12                   |
| 11               | 127,3                 | 7,20 (dt, 1,0; 7,5)                    |                   | H-9                    |
| 12               | 117,4                 | 8,0 (d, 1,0 ; 7,5)                     | H-11              | H-10                   |
| 13               | 139,8                 | -                                      | H-12              | H-9, H-11, H-22        |
| 14               | 20,6                  | 1,62 (m)                               | H-3, H-15         |                        |
| 15               | 85,5                  | 2,93 (dd, 5,0; 12,0)                   | H-14              | H-19, OCH <sub>3</sub> |
| 16               | 25,0                  | 2,29 (m)<br>2,10 (ddd, 3,5; 7,0; 10,5) | H-17              | H-18                   |
| 17               | 22,0                  | 1,76 (m)<br>1,89 (m)                   | H-16              | H-15, H-19, H-21       |
| 18               | 32,5                  | 1,53 (m)<br>1,88 (m)                   | H-19              | H-16, H-20             |
| 19               | 30,2                  | 1,20 (m)<br>2,05 (m)                   | H-18              |                        |
| 20               | 38,0                  | -                                      | H-15, H-19        | H-14, H-18             |
| 21               | 68,8                  | 3,08 (s)                               |                   | H-3, H-5               |
| 22               | 158,1                 | 8,3 (s)                                |                   |                        |
| OCH <sub>3</sub> | 57,2                  | 3,35 (s)                               |                   | H-15                   |

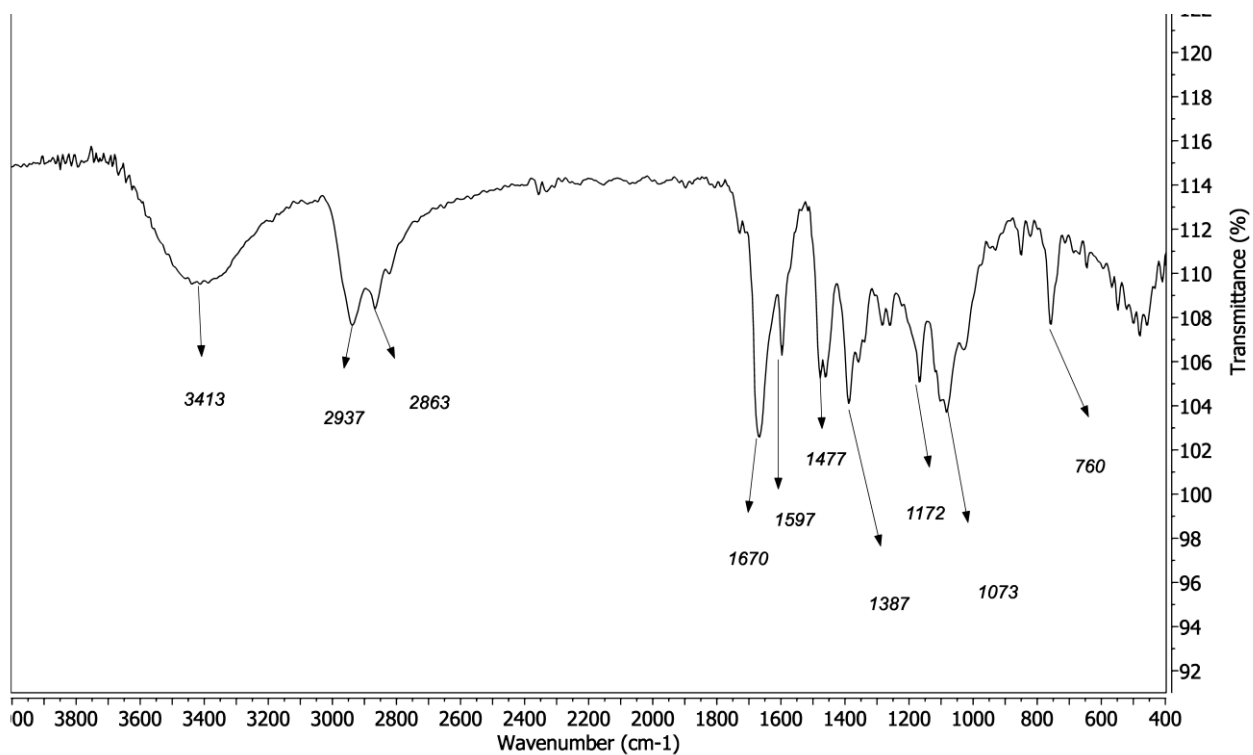
Fonte: A autora (2019)

Figura 58- Espectro UV do composto **8** (*N*-formil-15-metoxi-aspidofractinina)



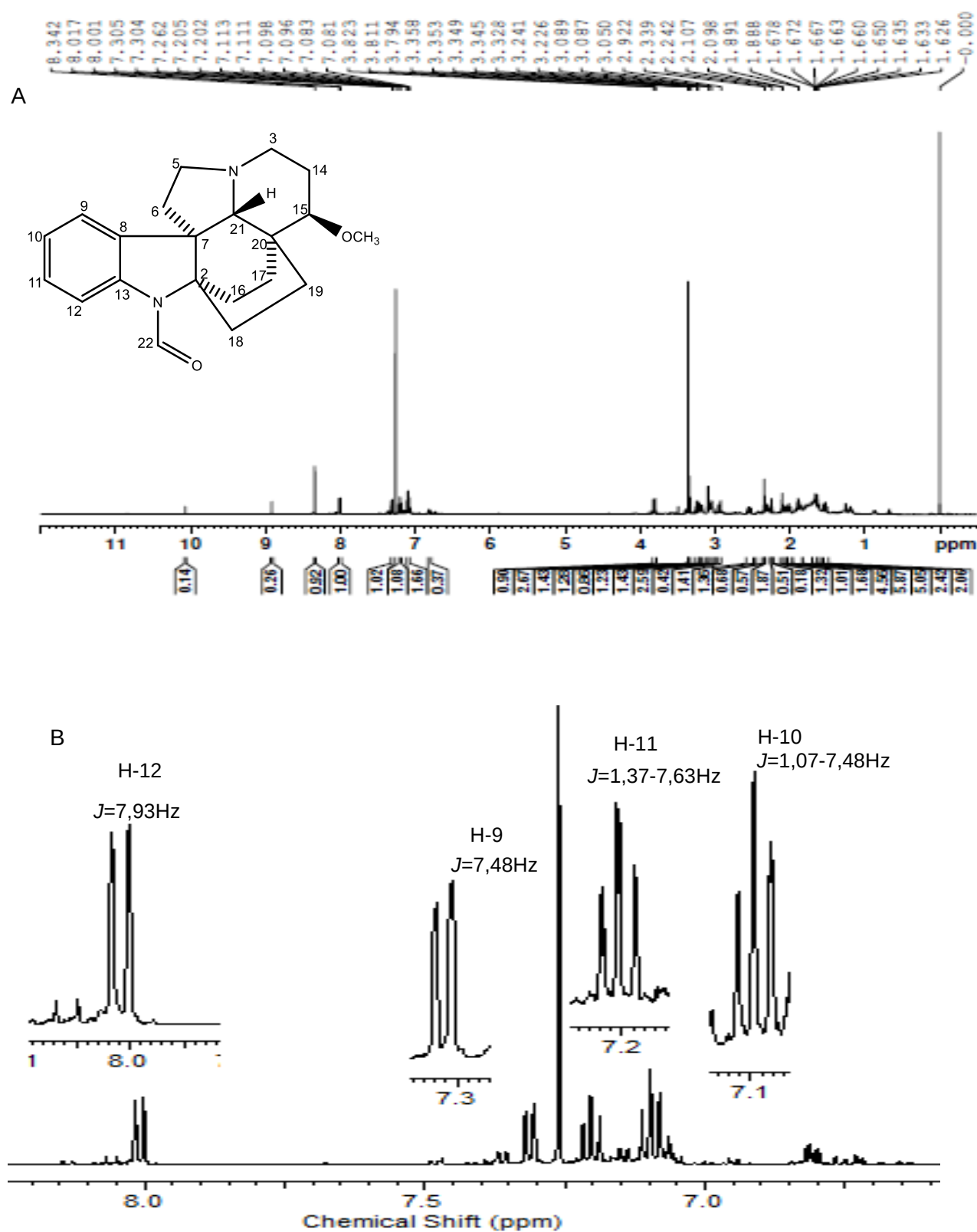
Fonte:A autora (2019)

Figura 59- Espectro de IV do composto **8** (*N*-formil-15-methoxi-aspidofractinina) em pastilhas de KBr



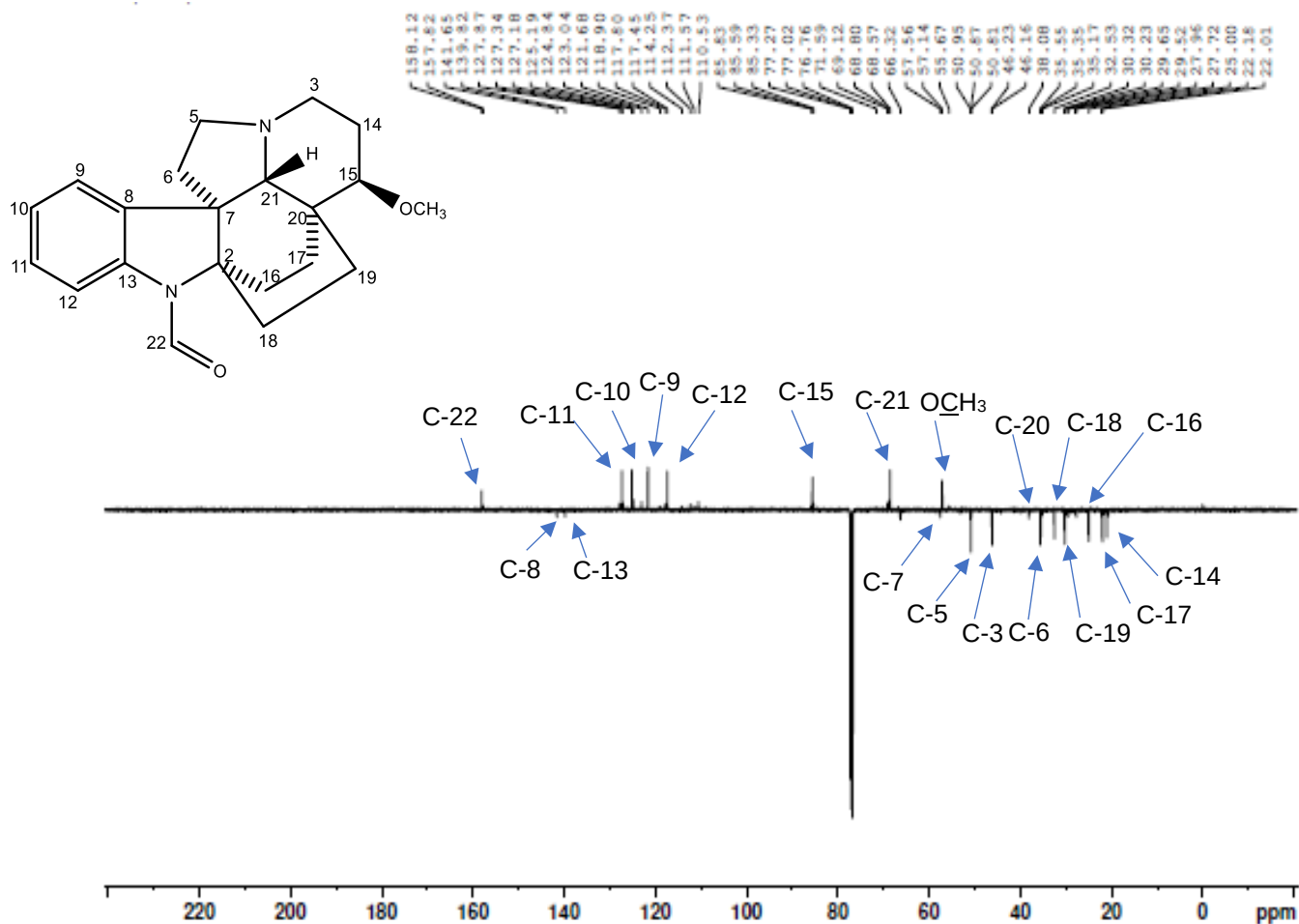
Fonte:A autora (2019)

Figura 60- Espectro de RMN<sup>1</sup>H (A) e expansão (B) de *N*-formil-15-methoxi-aspidofractinina em CDCl<sub>3</sub> (500 MHz)



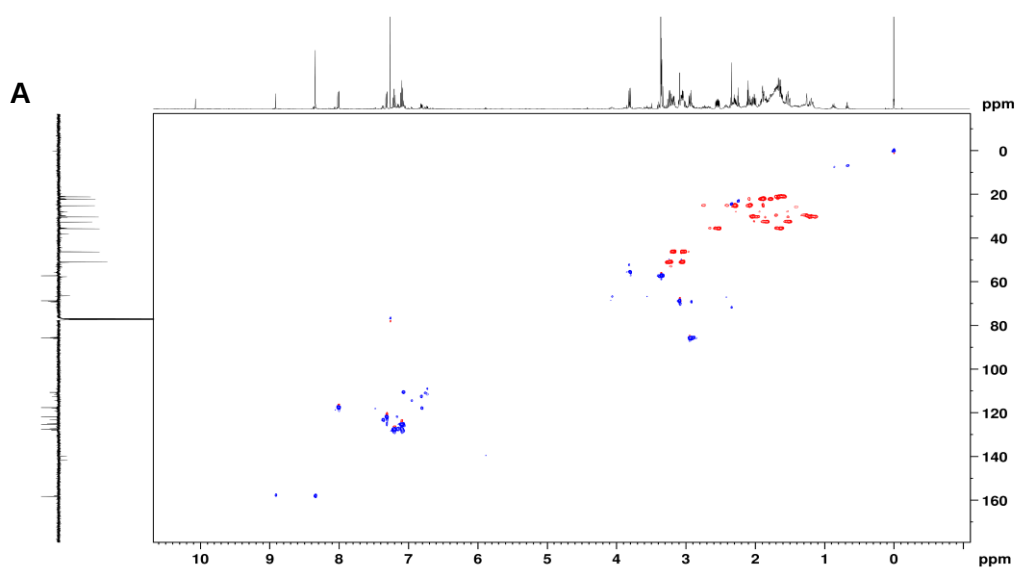
Fonte:A autora (2019)

Figura 61- Espectro de APT de *N*-formil-15-methoxi-aspidofractinina em CDCl<sub>3</sub> (125 MHz)



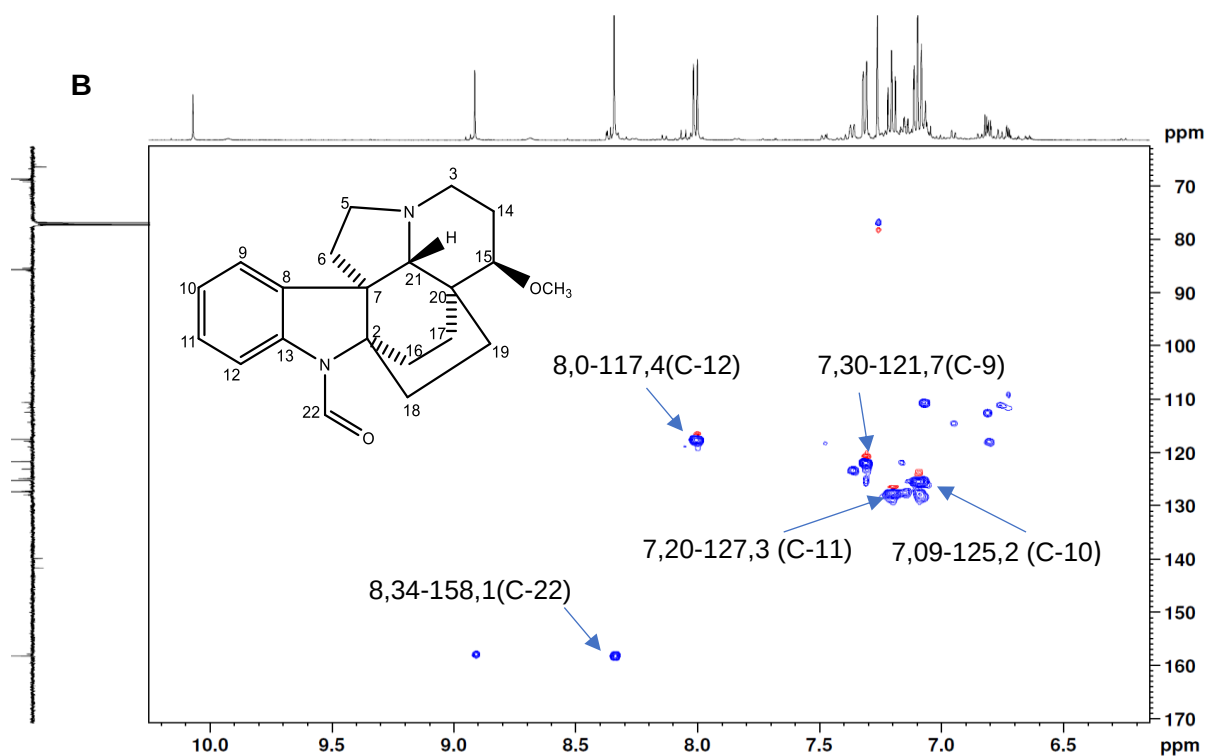
Fonte:A autora (2019)

Figura 62- Espectro de RMN 2D <sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C-HSQC(A) e expansões( B,C,D) de *N*-formil-15-methoxi-aspidofractinina (500 MHz)

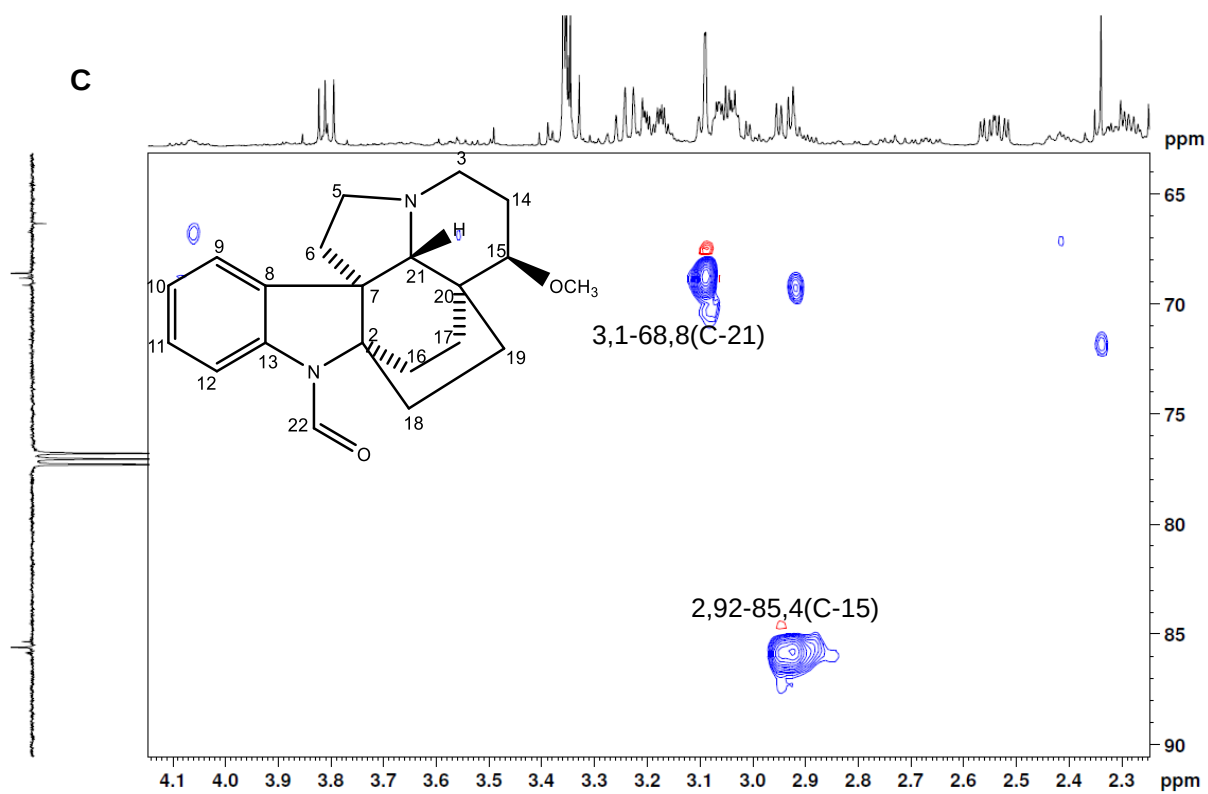


Fonte:A autora (2019)

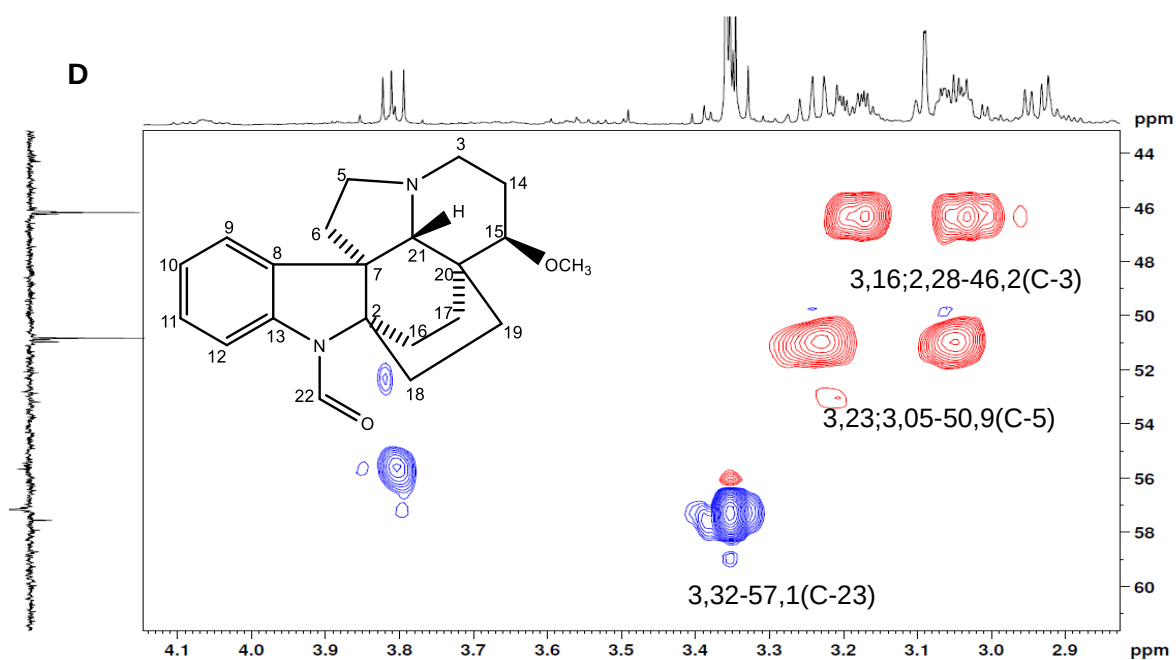




Fonte:A autora (2019)

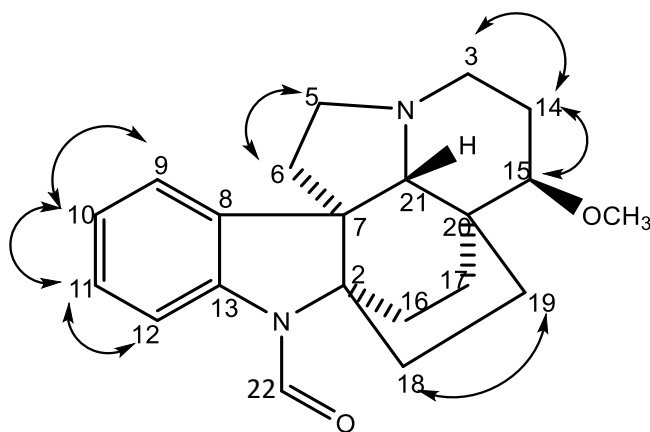


Fonte:A autora (2019)

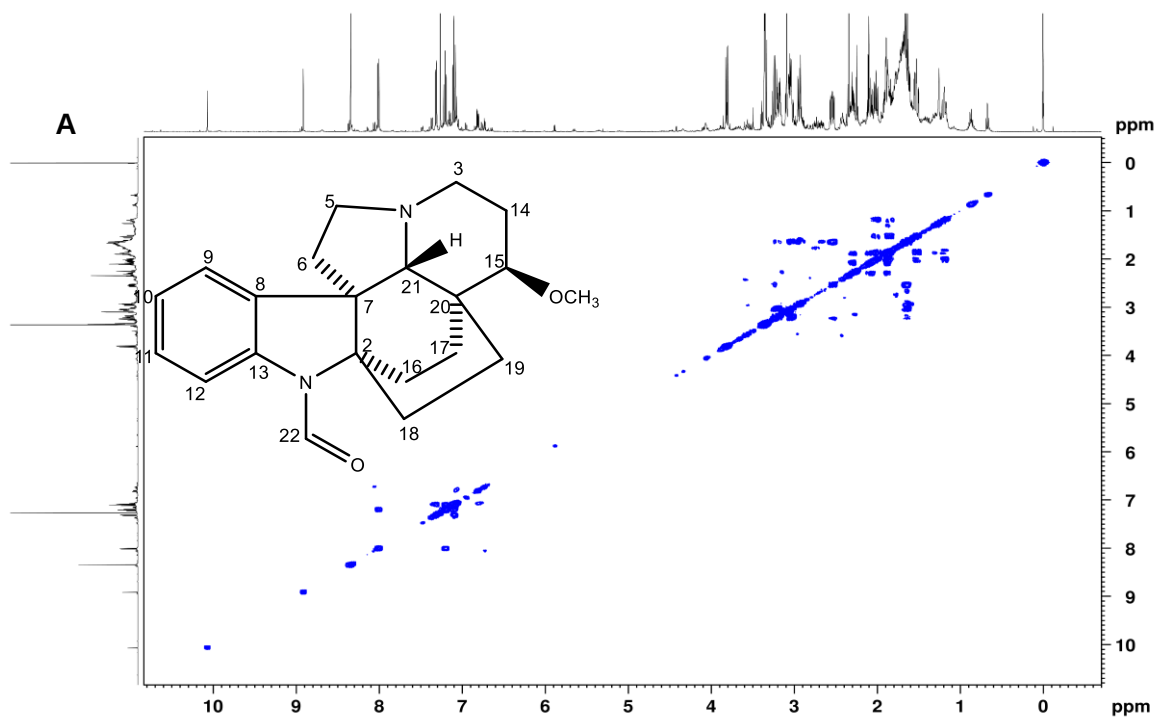


Fonte:A autora (2019)

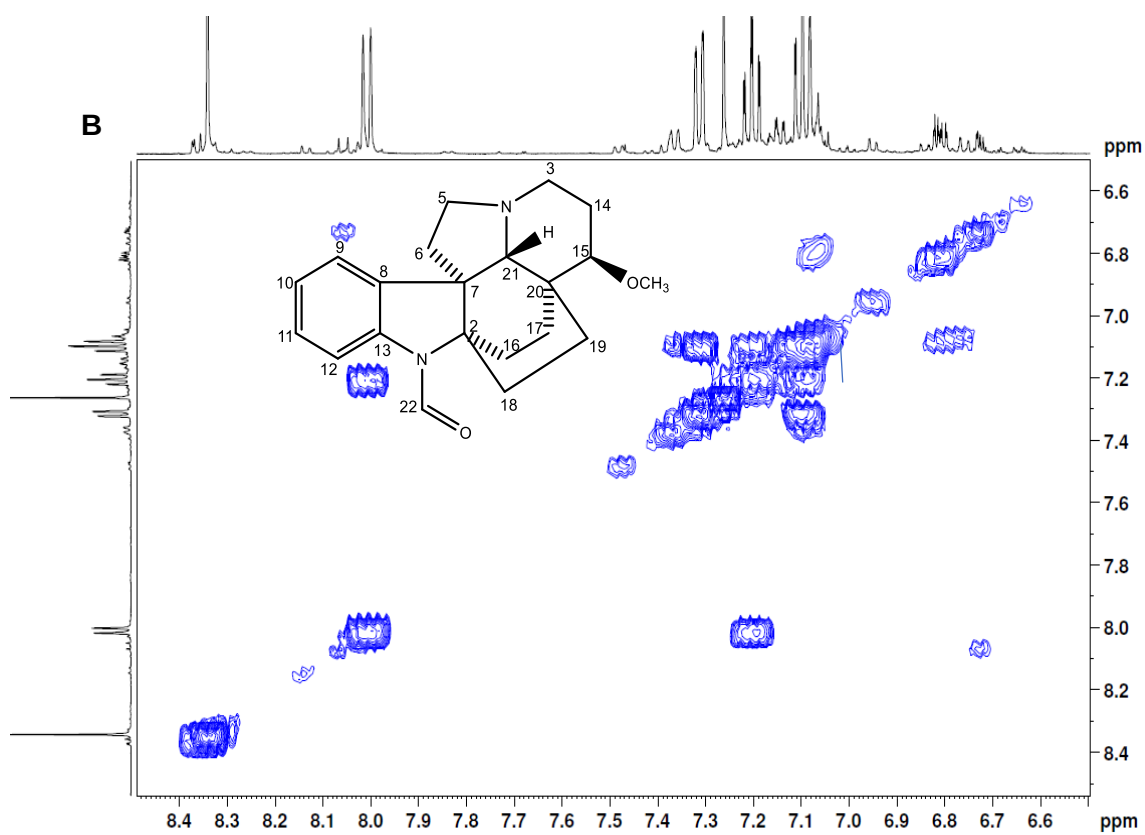
Figura 63- Espectro de RMN 2D  $^1\text{H},^1\text{H}$ - COSY (A) e expansões (B e C) de *N*-formil-15-metoxi-aspidofractinina (500 MHz)



Fonte:A autora (2019)



Fonte:A autora (2019)



Fonte:A autora (2019)

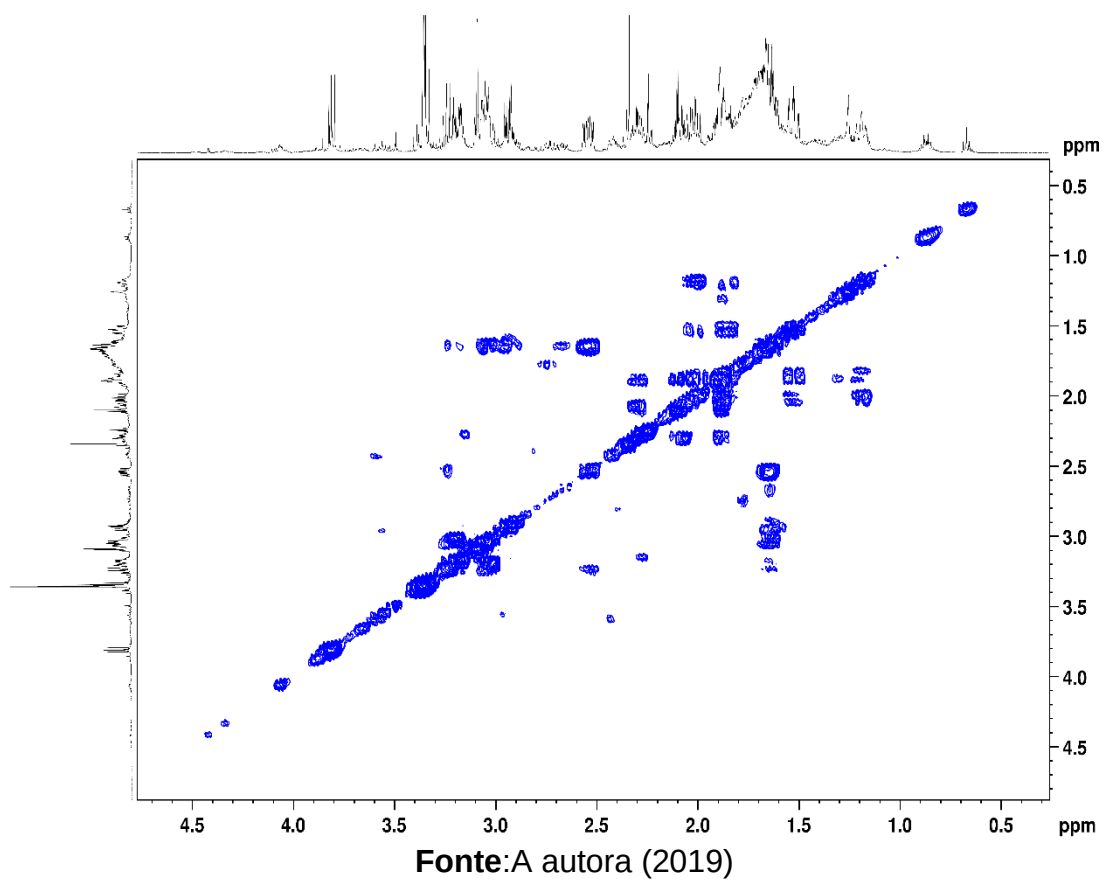
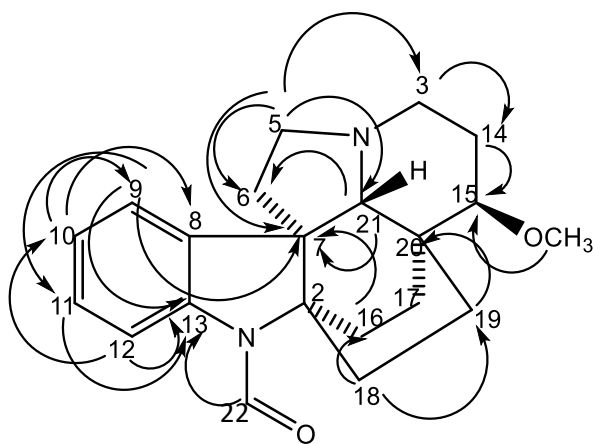
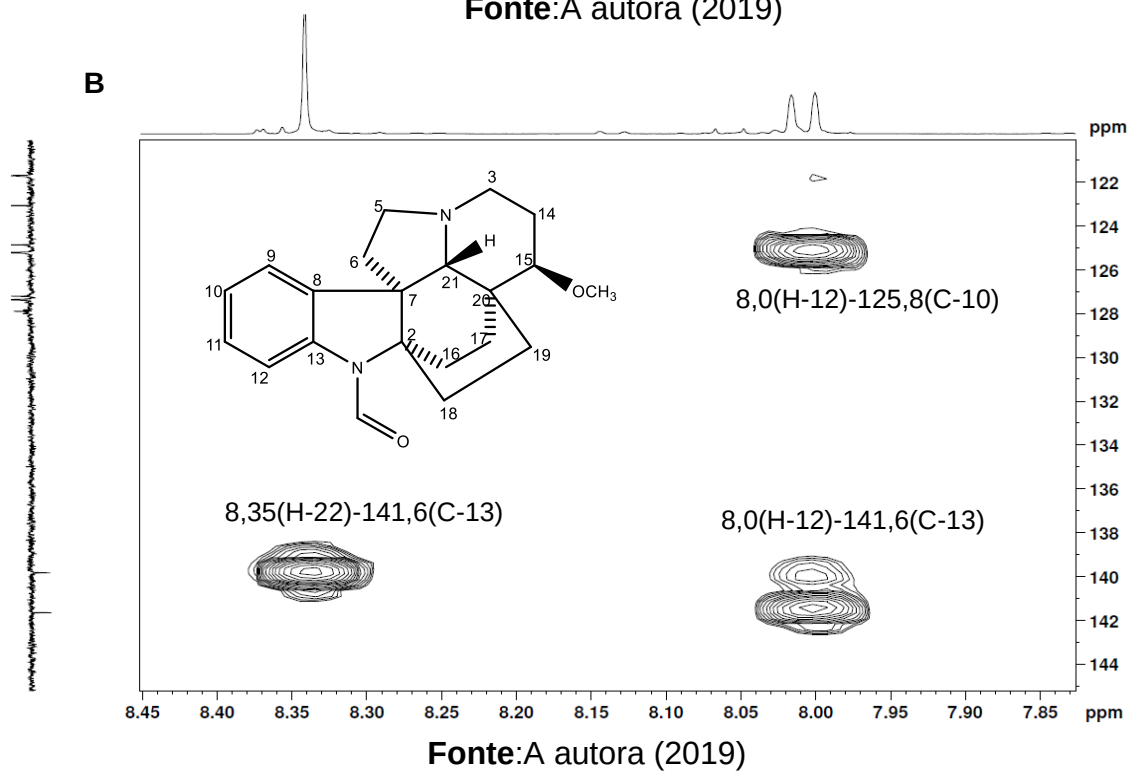
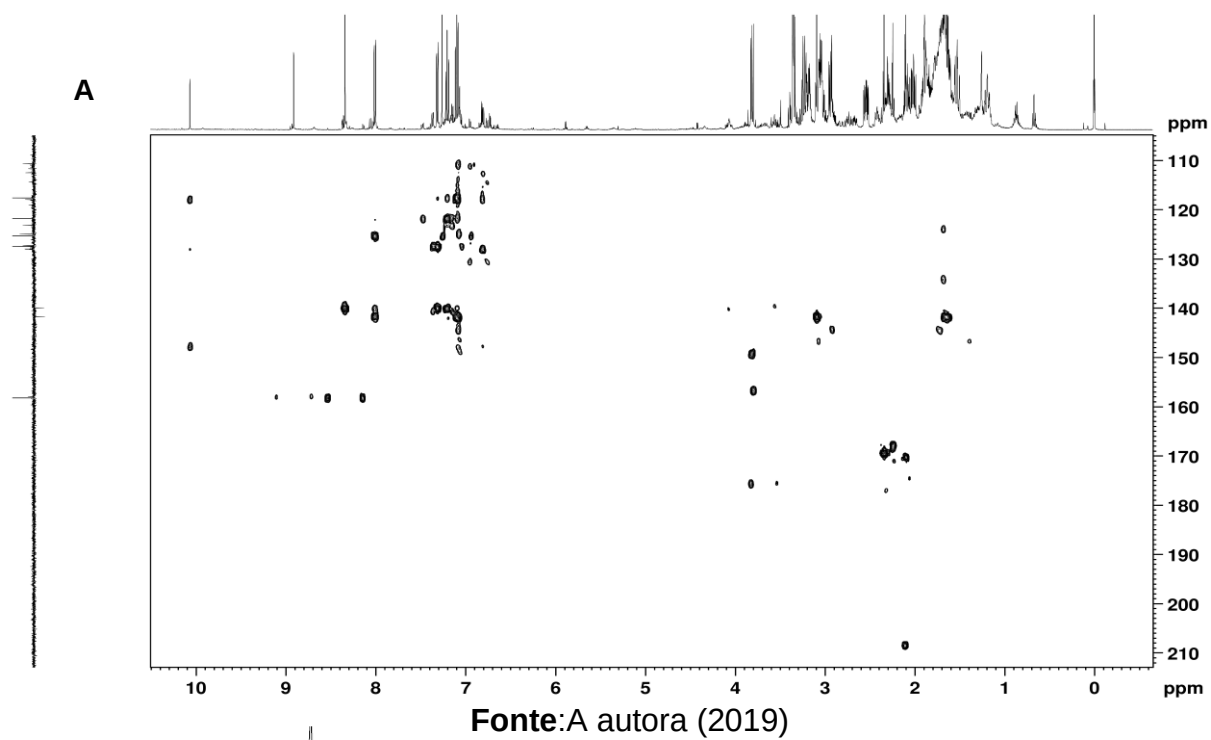
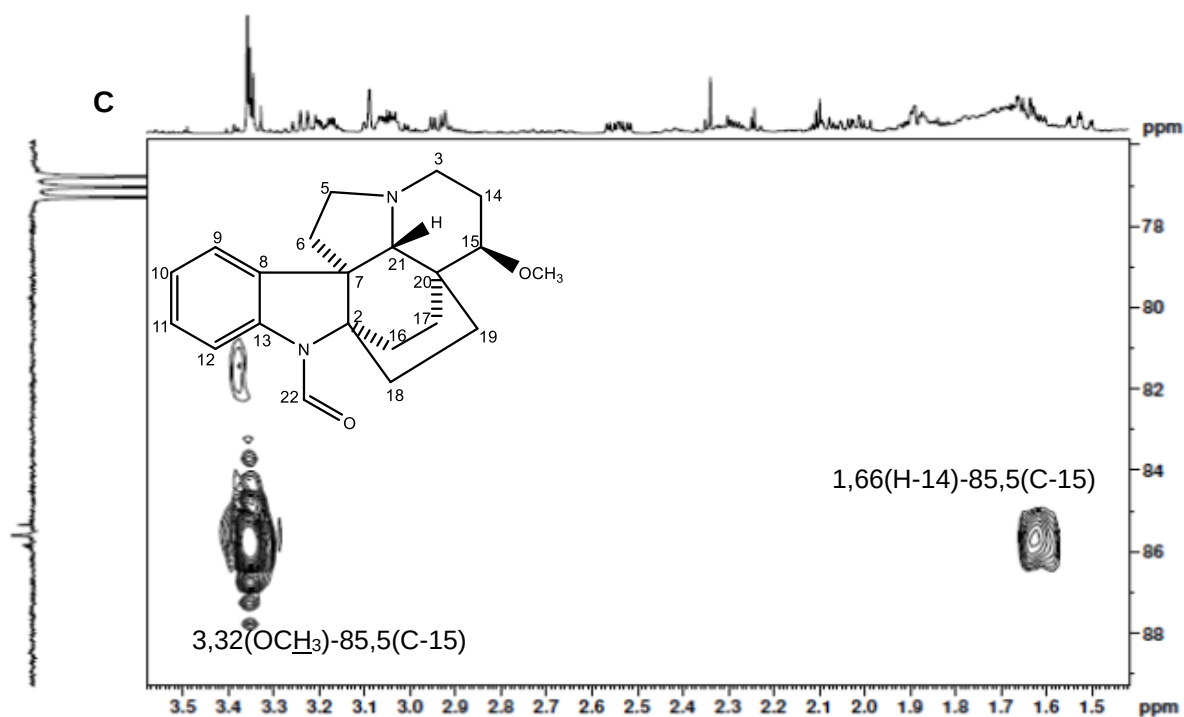


Figura 64- Espectro de RMN 2D  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ -HMBC(A) e expansões (B e C) de *N*-formil-15-metoxi-aspidofractinina (500 MHz)

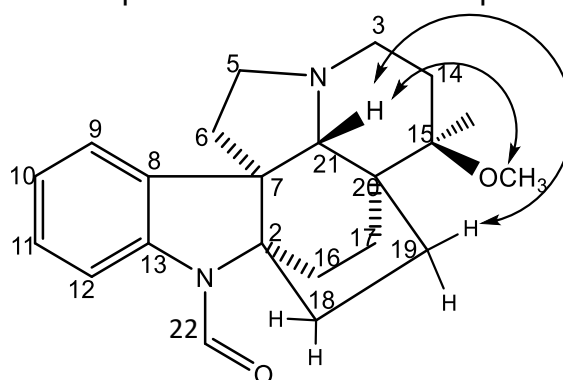




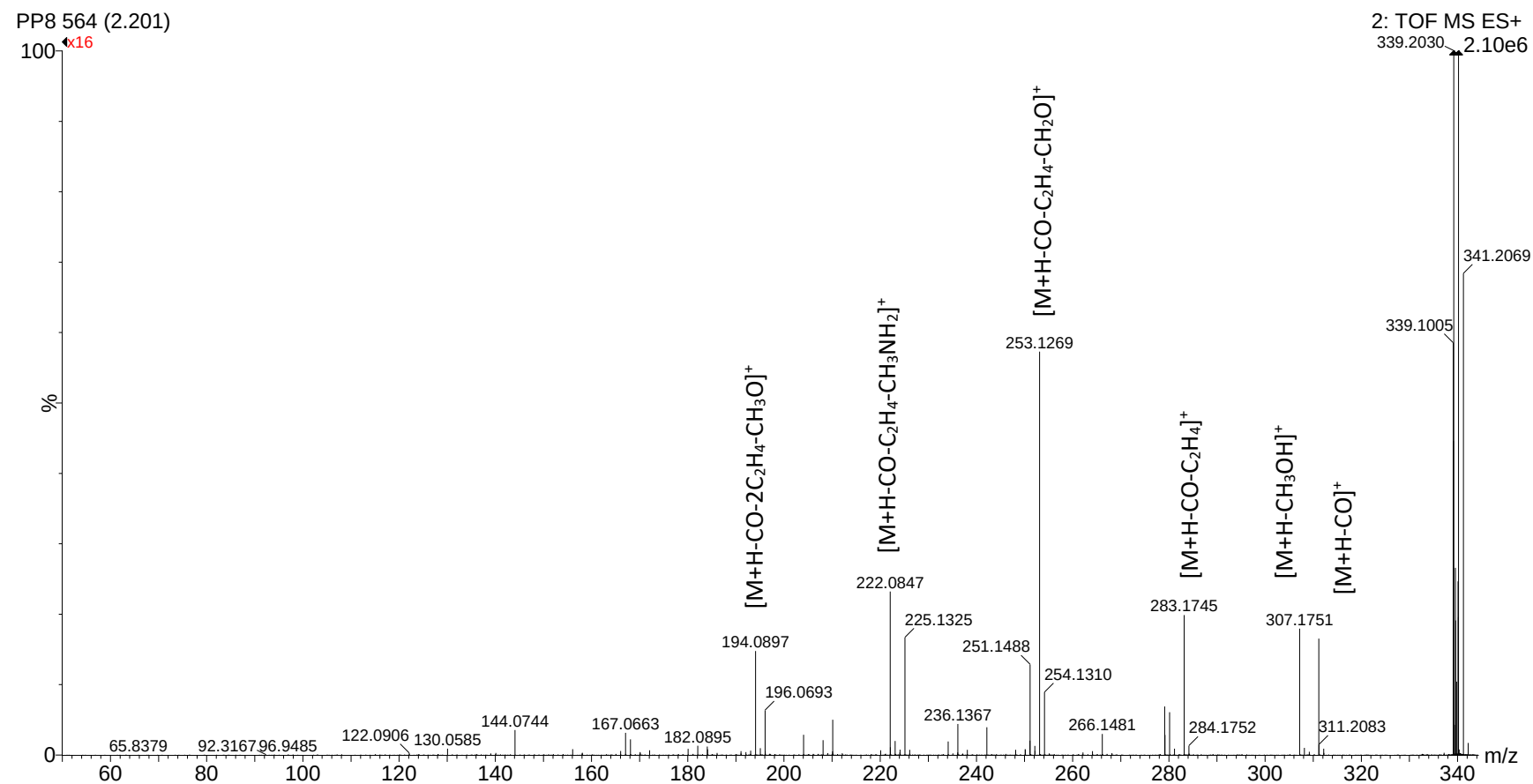


Fonte:A autora (2019)

Figura 65- Estruturas de *N*-formil-15-methoxi-aspidofractinina com setas duplas mostrando os acoplamentos dipolares detectados no experimento NOESY



Fonte:A autora (2019)

Figura 66- Fragmentação MS/MS no modo positivo de *N*-formil-15-metoxi-aspidofractinina

Fonte: A autora (2019)

O alcaloide indólico conhecido (+) pirifolina (13) foi obtido como um sólido branco, com  $[\alpha]_D^{20} = +96,0$  (c 0,5 g/mL, MeOH).  $[\alpha]_D^{20} = +56,7$  (c 0.05, MeOH); (NOGUERA et al., 2014). O espectro de IV (Figura 67) exibiu bandas em  $3341\text{ cm}^{-1}$ , indicando a presença de ligação N-H, em  $2937$  e  $2865\text{ cm}^{-1}$  característica de ligações (C-H) e  $1658\text{ cm}^{-1}$  (C=O) associada com o grupo carbonilo, bandas em  $1076\text{ cm}^{-1}$ , característica de ligação C-N.

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Figura 68) indicou a presença de um simpleto em  $\delta_{\text{H}}$  2,24, integrado para três hidrogênios, condizente com grupo metila desprotegido, provavelmente devido a proximidade com um grupo retirador de elétrons, e outros dois simpletos em  $\delta_{\text{H}}$  3,71 e  $\delta_{\text{H}}$  3,26, característicos de hidrogênios de grupos metoxilas. O espectro também permitiu observar a presença de dupletos, em  $\delta_{\text{H}}$  6,98 (d  $J = 8,0\text{ Hz}$ , H-9) e  $\delta_{\text{H}}$  6,78 (d  $J = 8,0\text{ Hz}$ , H-11) e um tripleto em 7,09 (t,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , H-10), com base no acoplamento esperado para um sistema indólico com um único substituinte no anel aromático. Além destes, foram visualizados diversos multipletos entre 3,5 e 1,0 ppm.

O espectro de RMN APT (Figura 69) apresentou um conjunto de 21 sinais, permitindo definir os seguintes grupos: carbono carbonílico em  $\delta_{\text{C}}$  170,3, seis carbonos quaternários ( $\delta_{\text{C}} = 149,2$  (C-12); 146,4 (C-8); 130,5 (C-13); 71,7 (C-2); 58,2 (C-7) e 37,3 (C-20)), cinco carbonos metínicos ( $\delta_{\text{C}} = 125,2$  (C-10); 114,3 (C-14); 110,7 (C-11); 85,7 (C-15) e 68,9 (C-21)), oito carbonos metilênicos ( $\delta_{\text{C}} = 51,0$  (C-5), 46,3 (C-3), 34,4 (C-6), 30,1 (C-18), 28,4 (C-19), 25,4 (C-16), 22,2 (C-17) e 21,3 (C-14) e três metilas ( $\delta_{\text{C}}$  57,5, 55,9 e 24,3 (C-23)). Os C-3 e C-14 sofrem uma variação muito pequena nos seus deslocamentos químicos quando são comparados aos não substituídos, então pode-se concluir que o grupo metoxila não está ligado nestes carbonos, e sim no carbono 15 (OLIVEIRA, 1999). Os dados obtidos no espectro HSQC (Figura 70) foi possível a atribuição de cada um dos prótons com cada carbono.

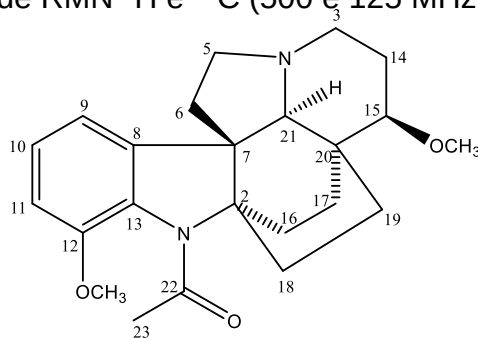
O espectro HMBC (Figura 71) mostrou que a metoxila em  $\delta_{\text{C}}$  55,4/ $\delta_{\text{H}}$  3,82 estava diretamente ligada ao carbono em  $\delta_{\text{C}}$  149,2 (C-12), enquanto a metoxila em  $\delta_{\text{C}}$  57,1/ $\delta_{\text{H}}$  3,31 estava ligada ao carbono em  $\delta_{\text{C}}$  85,7 (C-15), devido às correlações, a três ligações, entre os referidos hidrogênios metoxílicos e esses carbonos.

No experimento COSY  $^1\text{H} - ^1\text{H}$  (Figura 72) foi possível confirmar o acoplamento entre os hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  7,07 (H-10) com os hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  6,96 (H-9) e  $\delta_{\text{H}}$  6,78 (H-11), mostrando a existência de três hidrogênio ligado a carbono aromático, assim como entre os hidrogênios a  $\delta_{\text{H}}$  3,18 (H-3) e  $\delta_{\text{H}}$  1,61 (H-14);  $\delta_{\text{H}}$  3,25 (H-5) e  $\delta_{\text{H}}$



2,63 (H-6);  $\delta_H$  2,61 (H-16) e  $\delta_H$  1,74 (H-17) e  $\delta_H$  1,98 (H-18) com  $\delta_H$  1,43 (H-19) (OLIVEIRA, 1999). Os dados de RMN 1D e 2D estão apresentados na Tabela 24.

O espectro de massas (Figura 73) do composto **13** apresentou pico do íon molecular em  $m/z$  383,2322 (calculado  $m/z$  383,2329)  $[M + H]^+$ , indicando uma fórmula molecular  $C_{23}H_{30}N_2O_3$ , que em conjunto com as informações presentes nos espectros de RMN de uni e bi dimensionais aliado ao valor positivo da rotação específica além da comparação com os dados da literatura, confirmou a estrutura do composto como sendo o alcaloide (+) pirifolina, previamente isolado das sementes (NOGUEIRA et al., 2014), folhas (CRAVEIRO; MATOS; SERUR, 1983), casca de raiz e caule (MITAINE et al., 1996) de *A. pyrifolium*.

Tabela 24- Dados de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  (500 e 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **13** (+ Pirifolina)

| C                          | $\delta^{13}\text{C}$ | $\delta^1\text{H}$ | $^2J_{\text{CH}}$ | $^3J_{\text{CH}}$          | * $\delta^{13}\text{C}$ | * $\delta^1\text{H}$ |
|----------------------------|-----------------------|--------------------|-------------------|----------------------------|-------------------------|----------------------|
| 2                          | 71,7                  | -                  |                   | H-6                        | 71,7                    | -                    |
| 3                          | 46,3                  | 3,18-3,02          |                   | H-5                        | 46,2                    | 3,18-3,00            |
| 5                          | 51,0                  | 3,25-3,05          |                   | H-21                       | 50,9                    | 3,26-3,16            |
| 6                          | 34,4                  | 2,63-1,76          | H-5               | H-21                       | 34,4                    | 2,5-1,80             |
| 7                          | 58,2                  | -                  | H-21/6            | H-9                        | 58,2                    | -                    |
| 8                          | 146,4                 | -                  |                   | H-10/21                    | 146,3                   | -                    |
| 9                          | 114,3                 | 6,96               |                   | H-11                       | 114,3                   | 6,98                 |
| 10                         | 125,2                 | 7,07               |                   |                            | 125,9                   | 7,07                 |
| 11                         | 110,7                 | 6,78               | H-10              | H-9                        | 110,7                   | 6,78                 |
| 12                         | 149,2                 | -                  | H-11              | H-10/ OCH <sub>3</sub> -12 | 149,1                   | -                    |
| 13                         | 130,5                 | -                  |                   | H-11/9                     | 130,0                   | -                    |
| 14                         | 21,3                  | 1,61               |                   |                            | 21,2                    | 1,80-1,64            |
| 15                         | 85,7                  | 2,87               |                   | OCH <sub>3</sub> -15       | 85,6                    | 2,85                 |
| 16                         | 25,4                  | 2,61-2,31          |                   |                            | 25,4                    | 2,65-2,30            |
| 17                         | 22,2                  | 1,74               |                   | H-21                       | 22,3                    | 1,80-1,44            |
| 18                         | 30,1                  | 1,98-1,06          |                   |                            | 30,1                    | 1,98-1,06            |
| 19                         | 28,4                  | 1,79-1,43          |                   |                            | 28,4                    | 1,80-1,44            |
| 20                         | 37,3                  | -                  |                   |                            | 37,3                    | -                    |
| 21                         | 68,9                  | 2,92               |                   |                            | 68,9                    | 3,43                 |
| 22                         | 170,3                 | -                  |                   | H-23                       | 170,3                   | -                    |
| 23                         | 24,3                  | 2,13               |                   |                            | 24,3                    | 2,24)                |
| OCH <sub>3</sub><br>(C-12) | 55,4                  | 3,82               |                   |                            | 55,4                    | 3,81                 |
| OCH <sub>3</sub><br>(C-15) | 57,1                  | 3,31               |                   |                            | 57,2                    | 3,33                 |

Fonte: A autora (2019)-\*Dados da literatura.

Figura 67- Espectro de IV do composto **13** (pirifolina) em pastilha de KBr

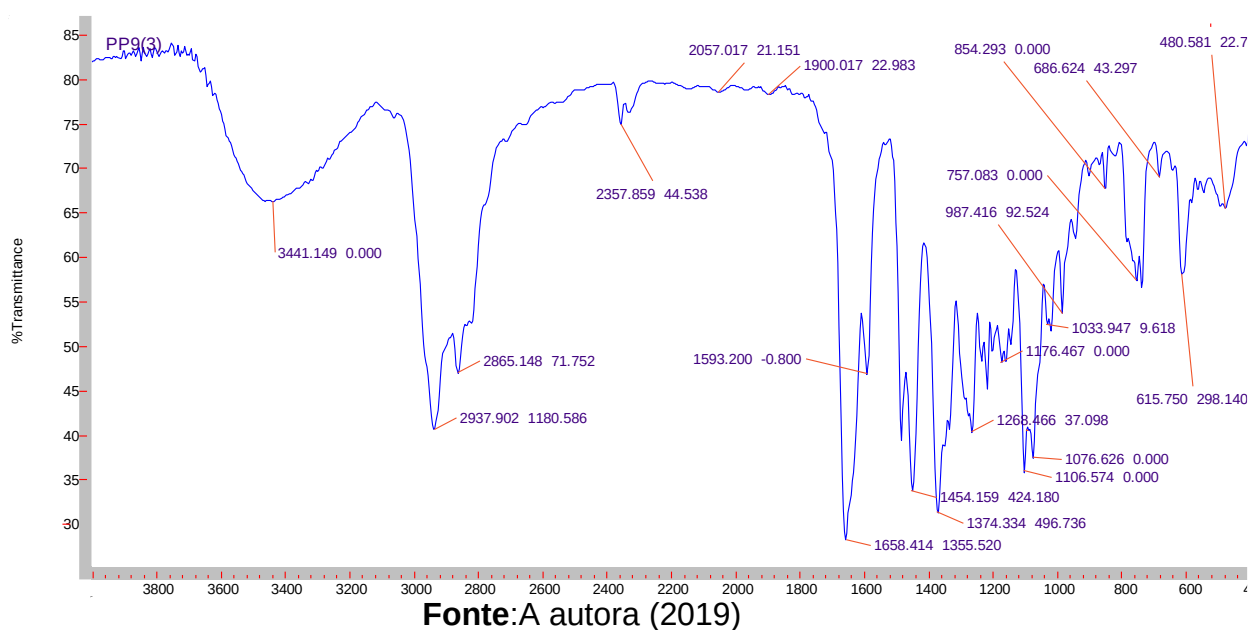
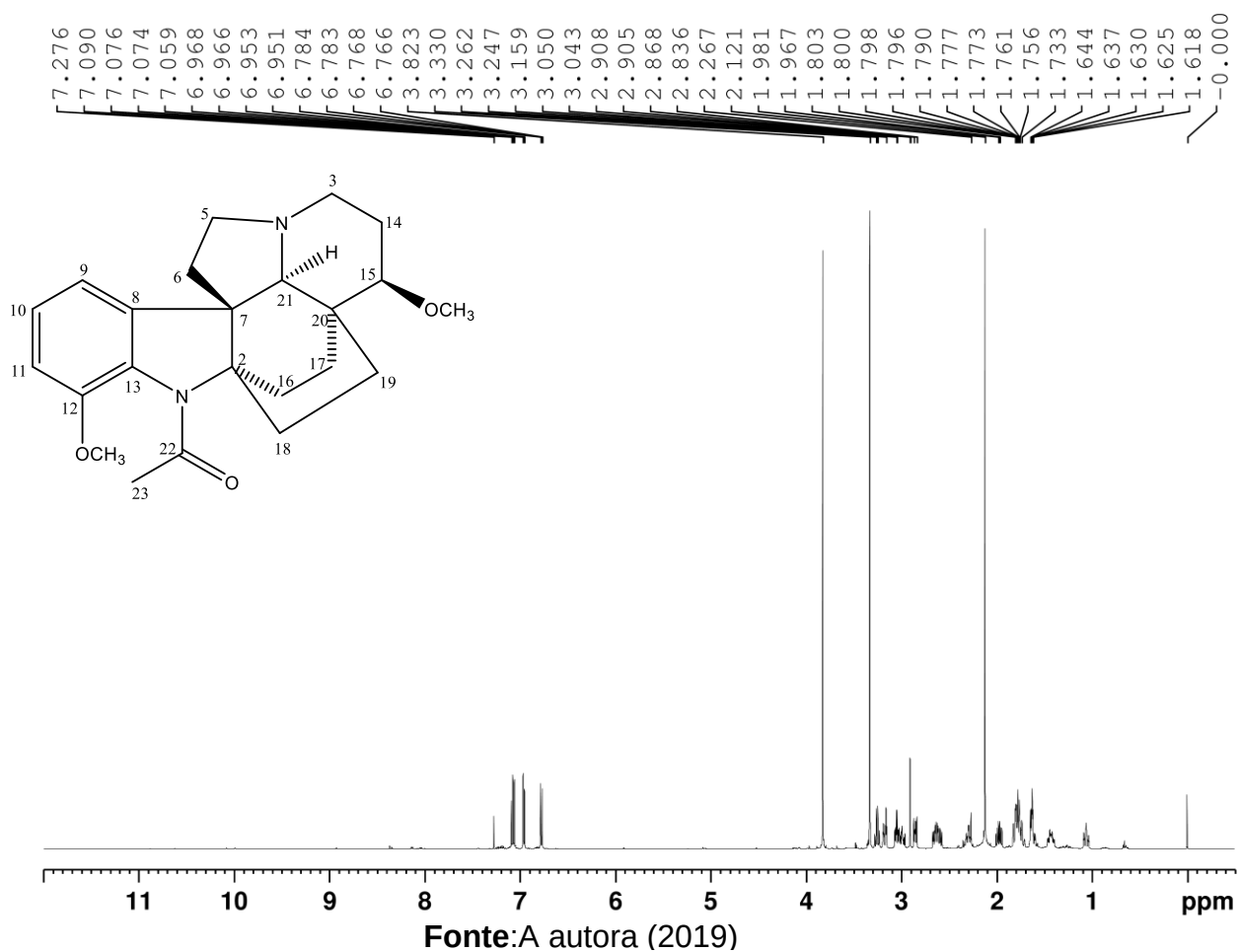
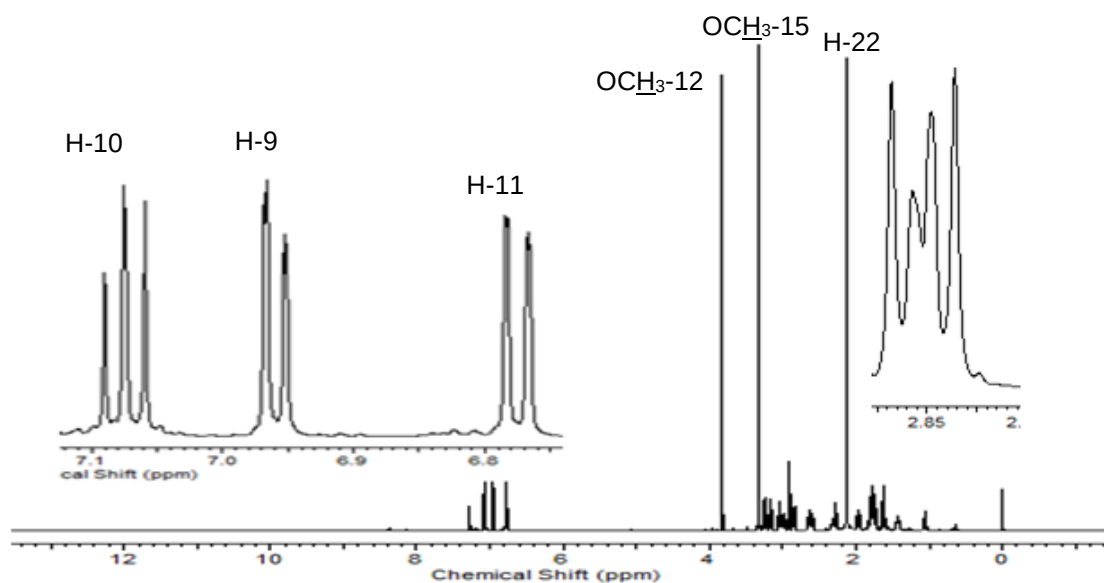


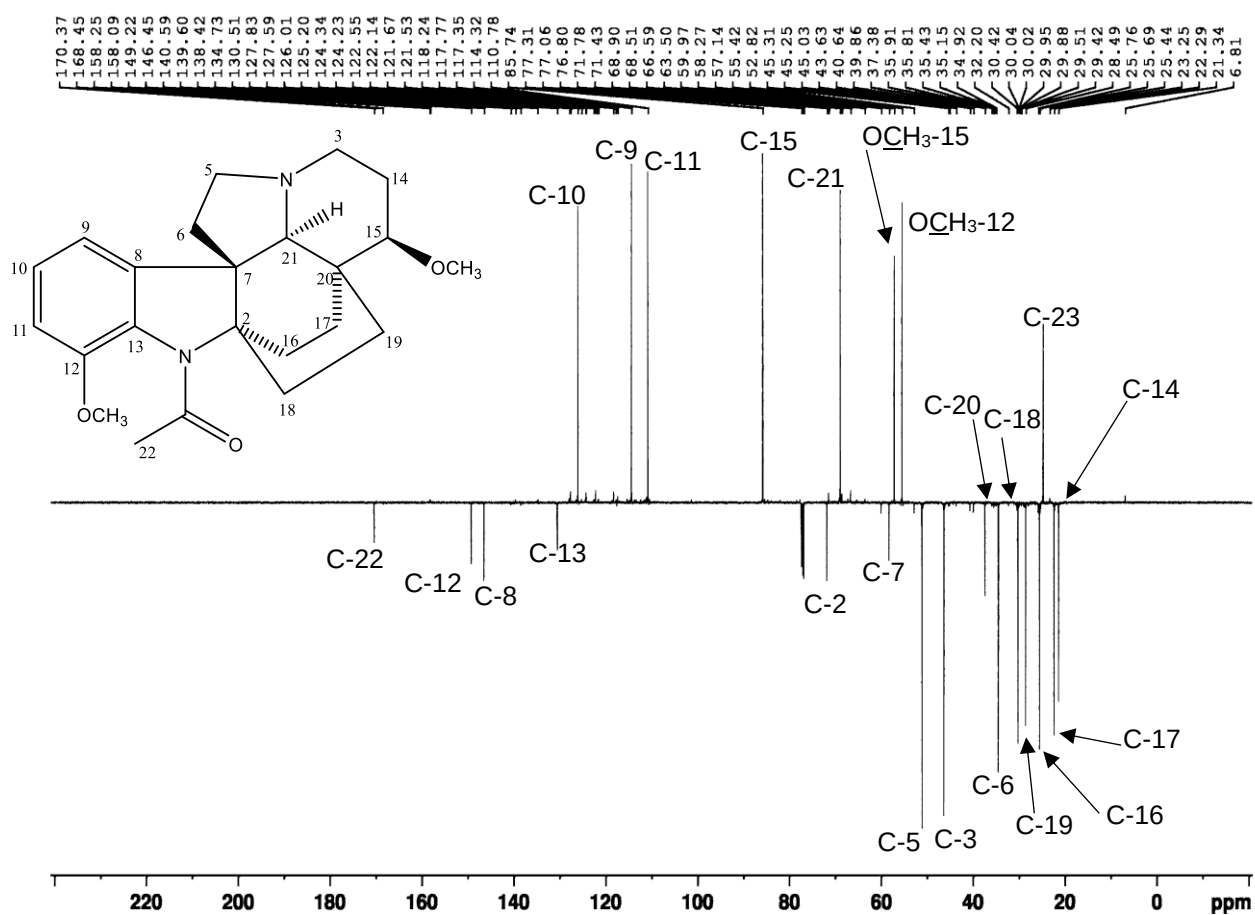
Figura 68- Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (A) e expansão(B) de **13** (pirifolina) em  $\text{CDCl}_3$  (500 MHz)





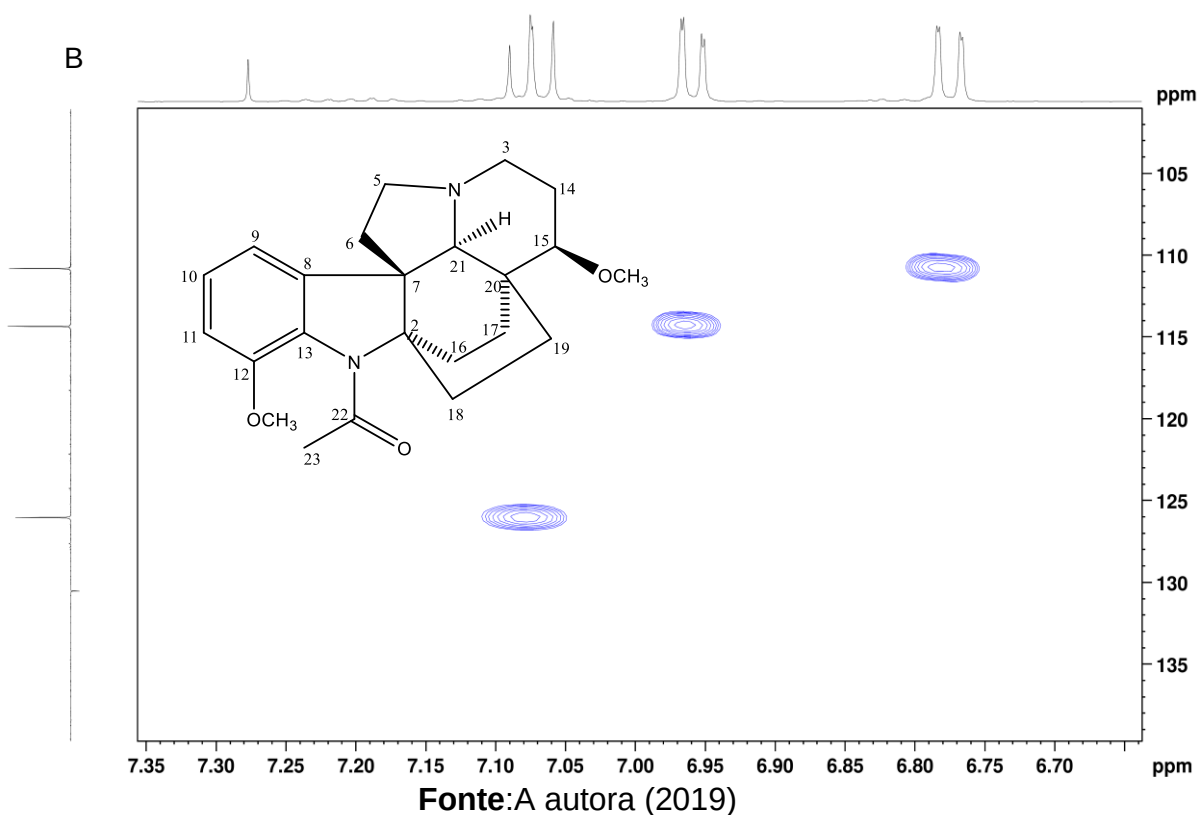
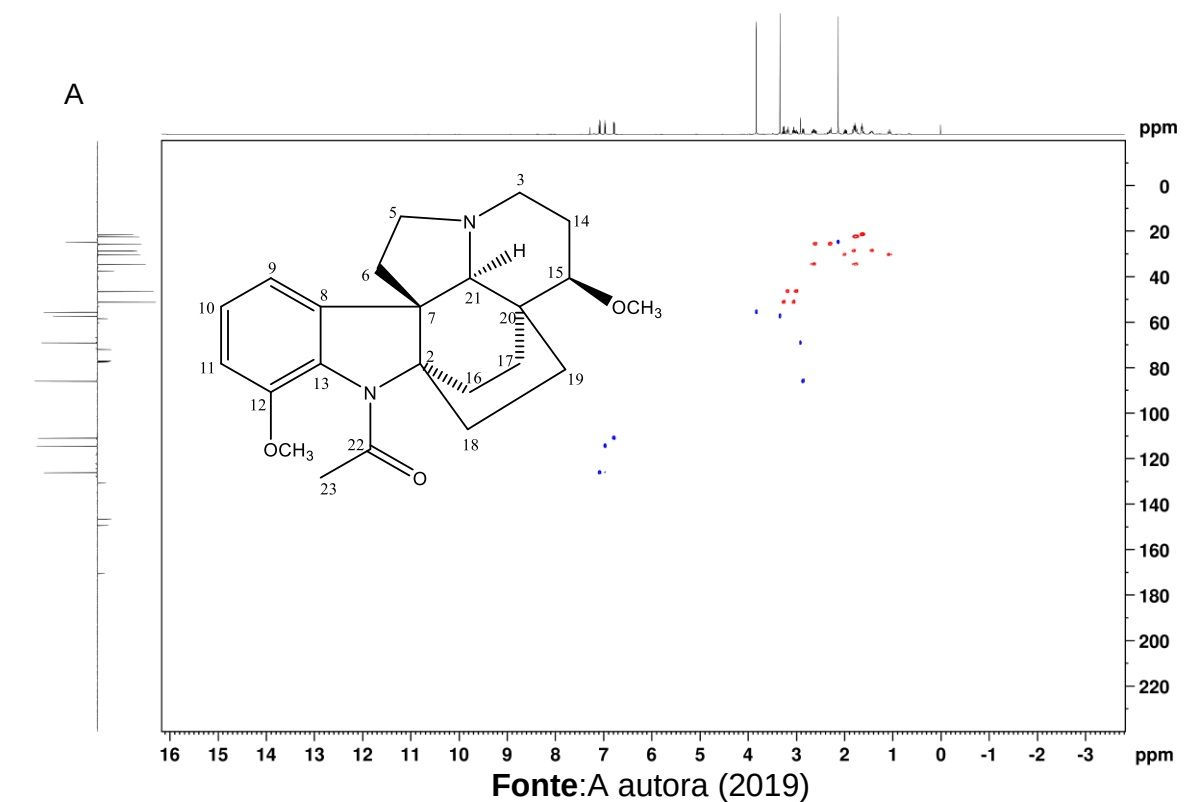
Fonte: A autora (2019)

Figura 69- Espectro de APT de **13** (pirifolina) em  $\text{CDCl}_3$  (125 MHz)



Fonte: A autora (2019)

Figura 70- Espectro de RMN 2D  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ -HSQC(A) e expansões (B e C) de **13** (pirifolina) (500 MHz)



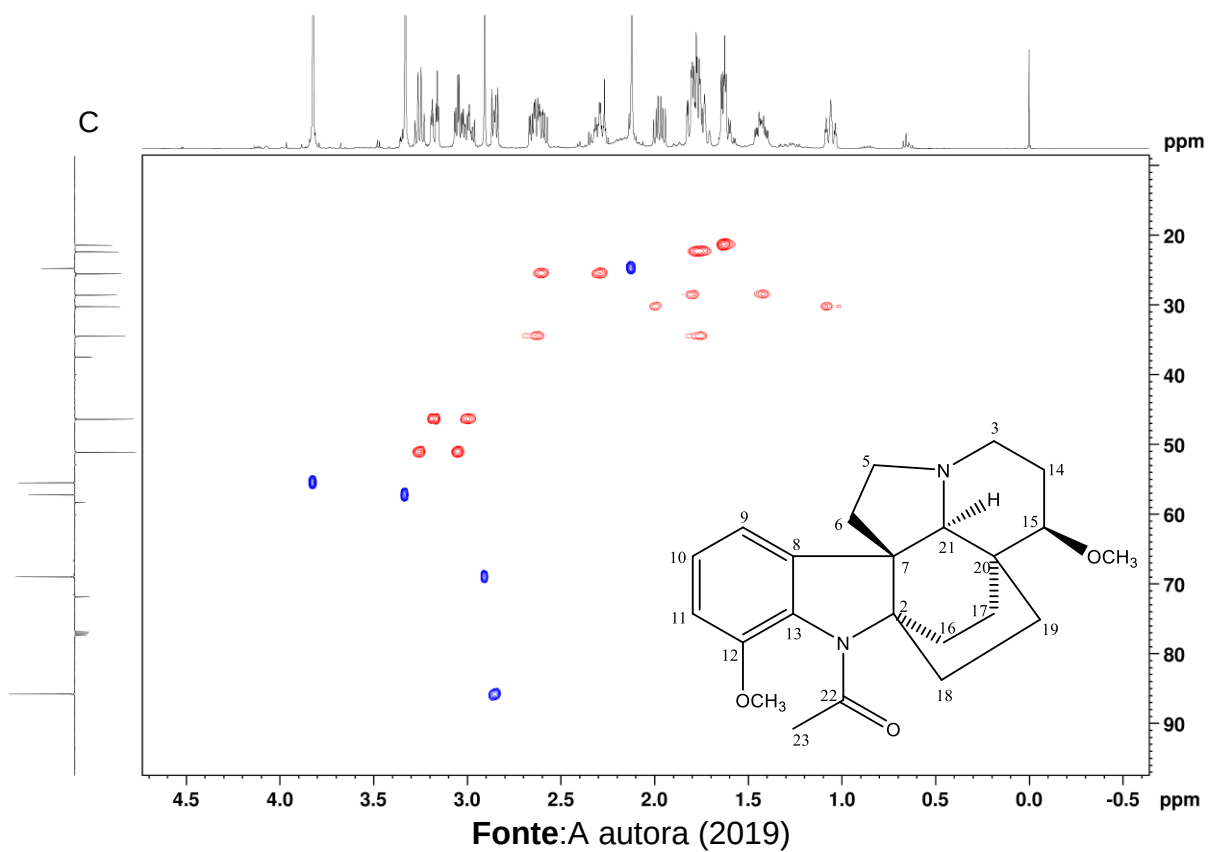
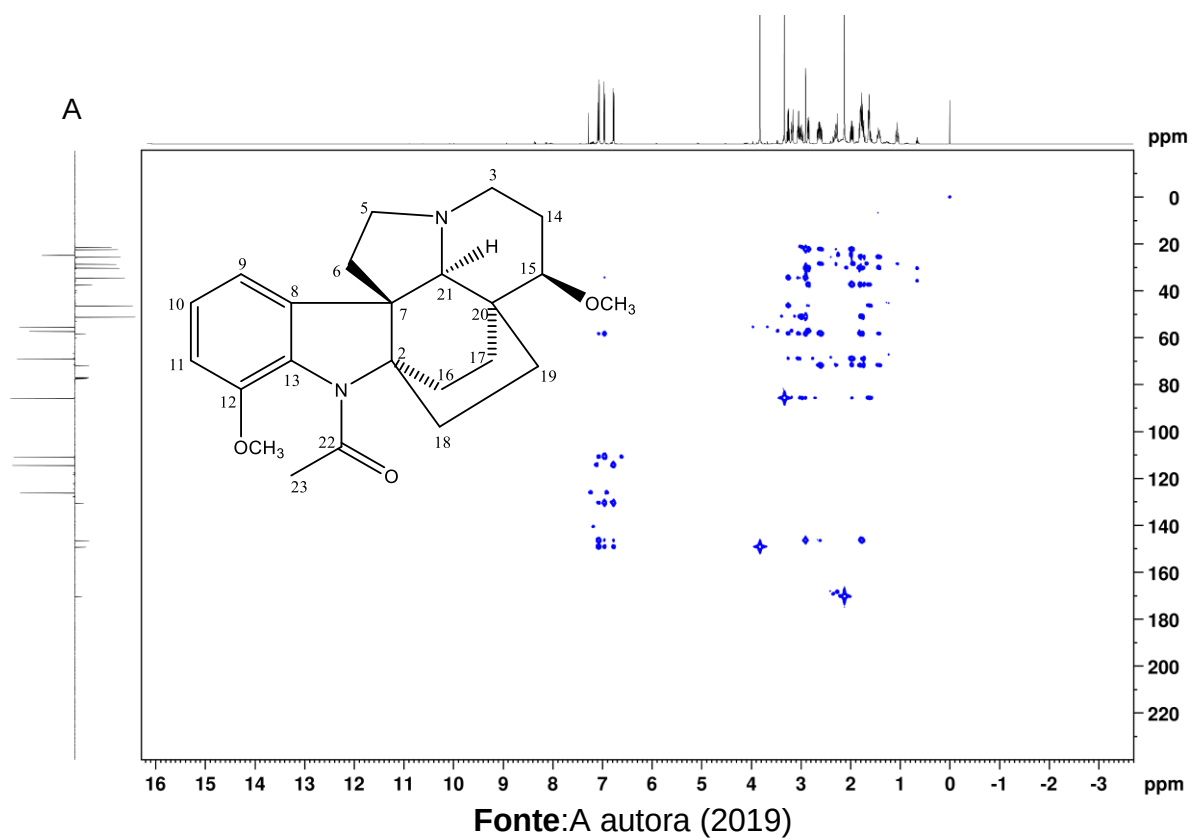


Figura 71- Espectro de RMN 2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HMBC (A) e expansões (B e C) de **13** (pirifolina) (500 MHz) e expansões



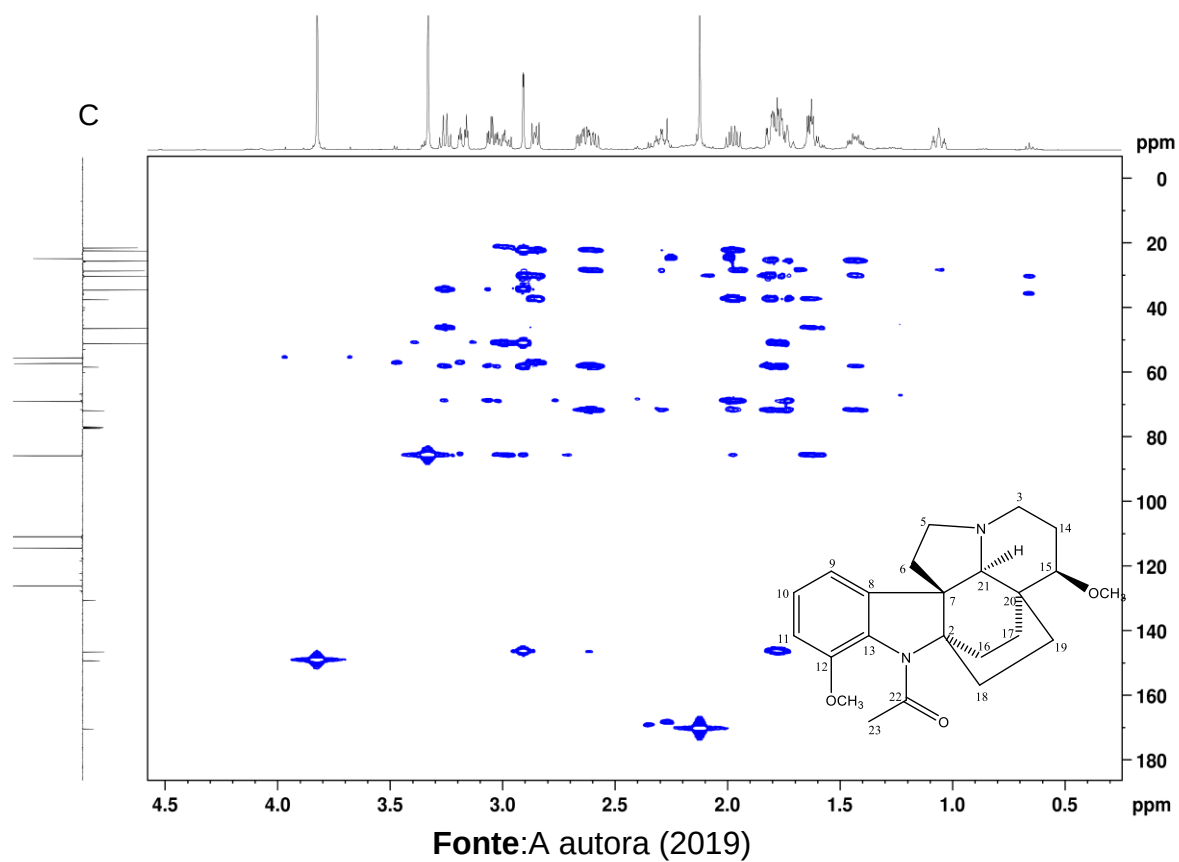
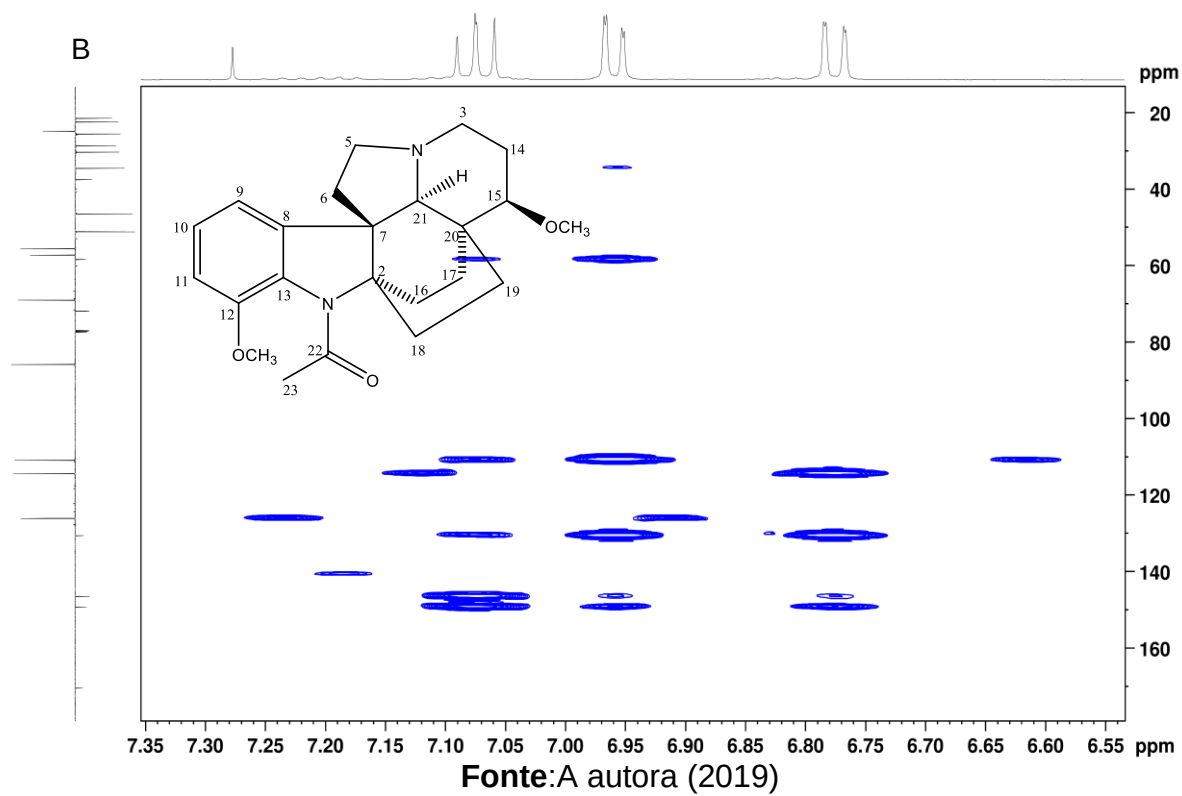
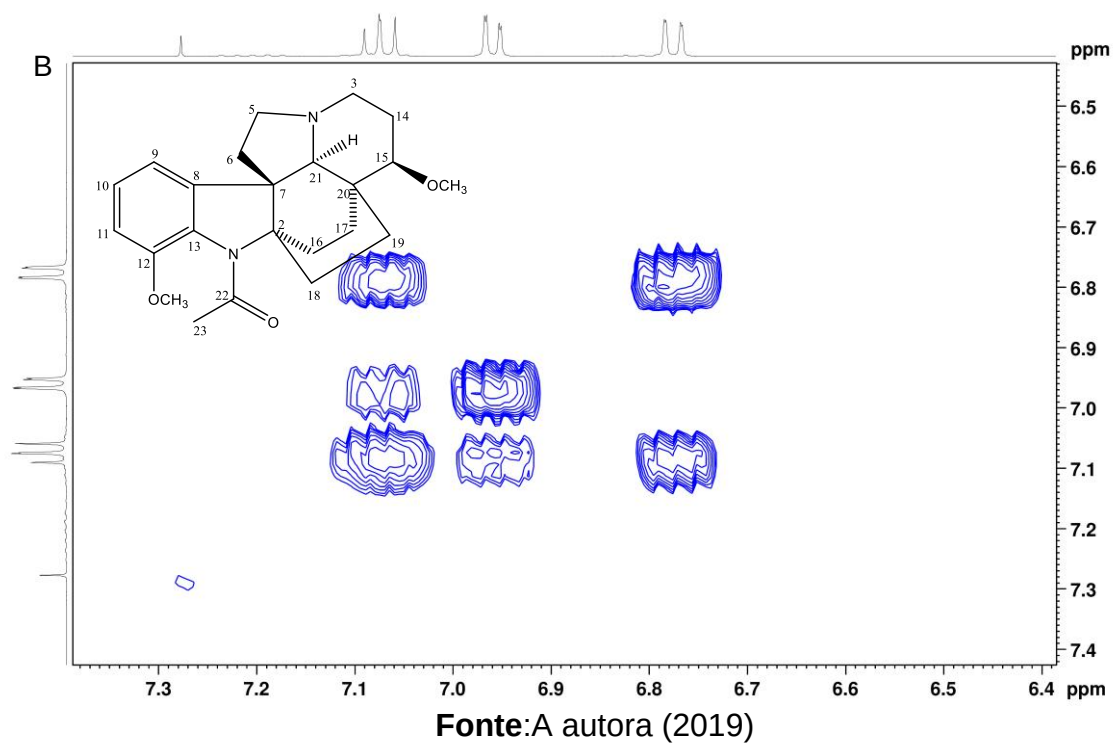
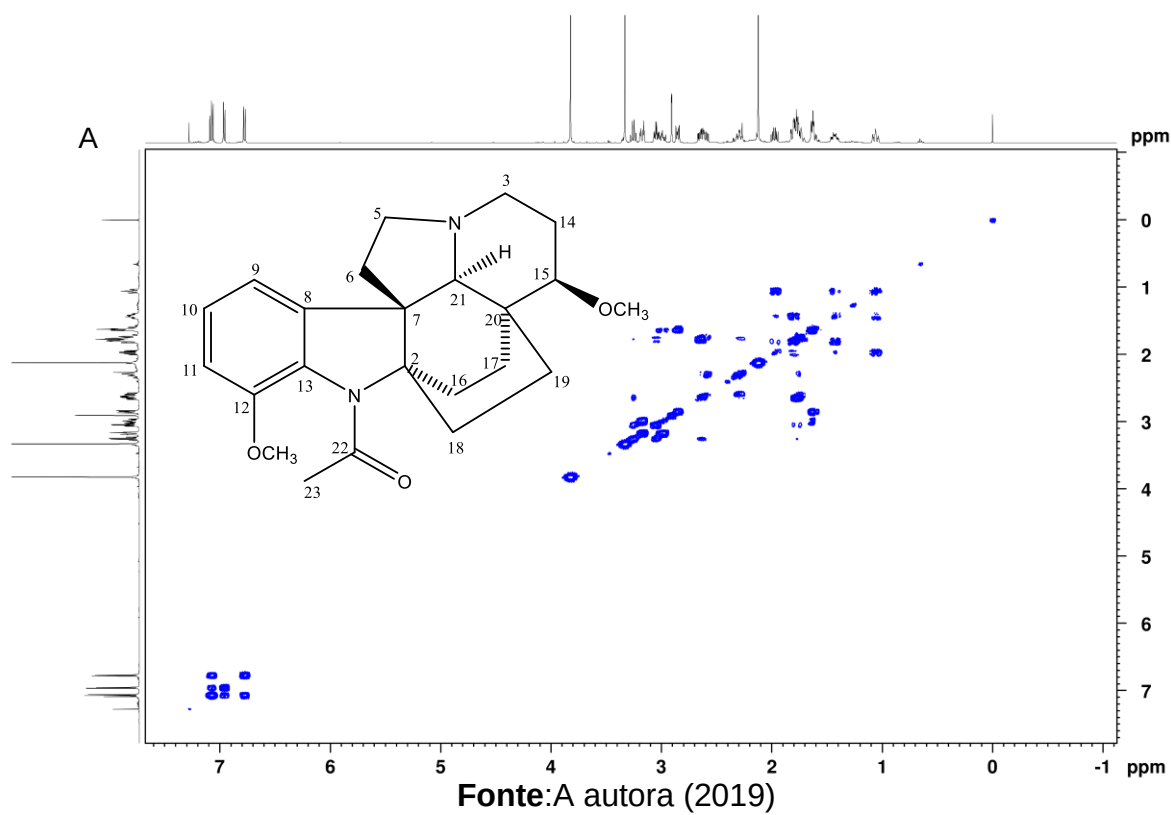


Figura 72- Espectro de RMN 2D  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ - COSY (A) e expansões (B e C) de **13** (pirifolina) (500 MHz)





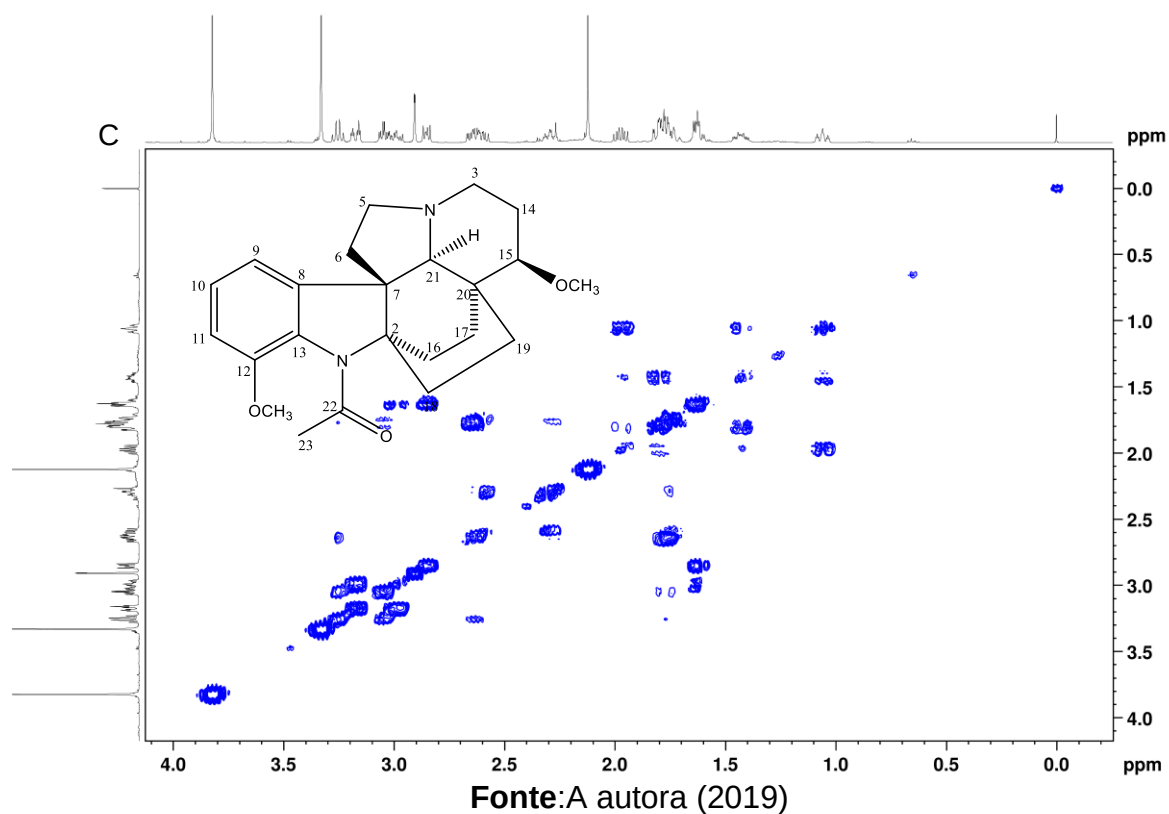
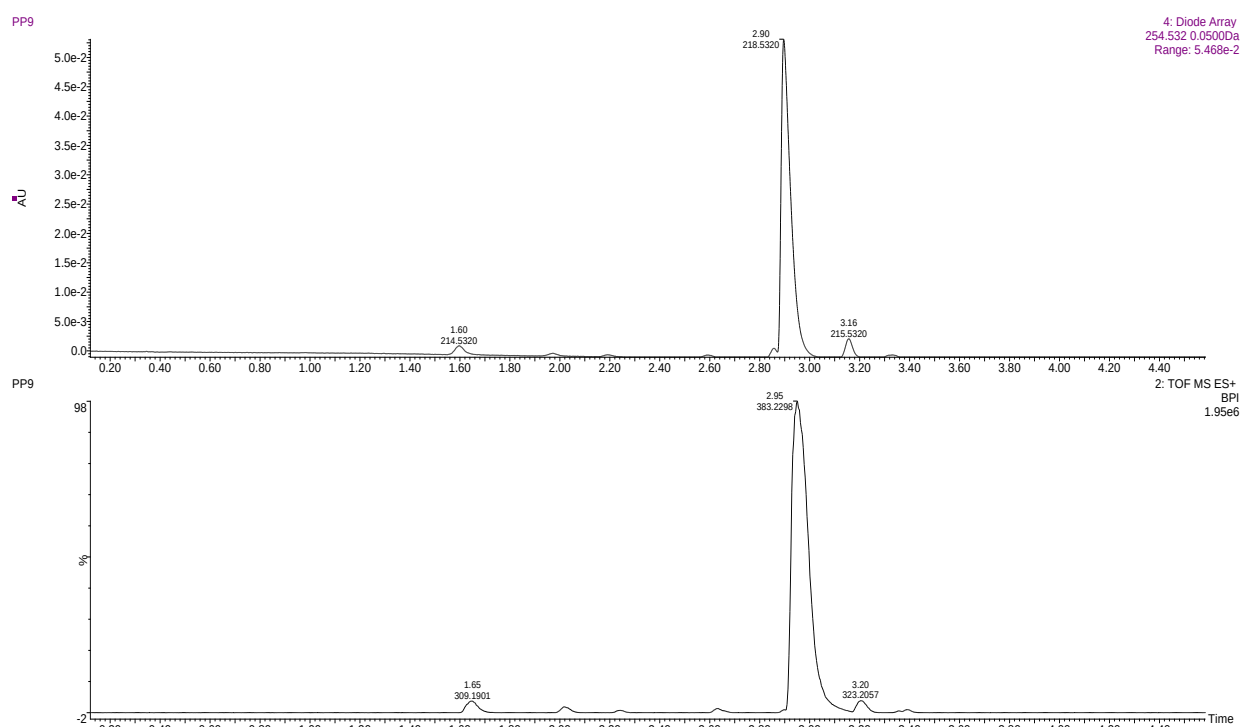


Figura 73- Cromatograma de UPLC-MS em modo positivo de **13** (pirifolina)



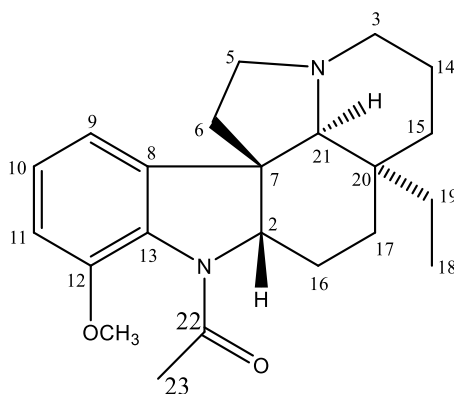
Os alcaloides indólicos aspidospermina (**16**) e 15-metoxi-aspidospermina (**17**) foram isoladas em mistura, obtido como um sólido amarelo amorfo. No espectro de infravermelho (Figura 74) pode-se observar uma banda de absorção a  $1657\text{ cm}^{-1}$ , carasterístico de carbonila de amida. O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 75) mostrou a presença de três grupo metilas, um singlete em  $\delta_{\text{H}}$  2,22 da metila do grupo *N*-acetamida e outros dois sinais em  $\delta_{\text{H}}$  3,90 e  $\delta_{\text{H}}$  3,23 o espectro também permitiu atribuir os demais prótons com base nos acoplamentos esperados para um sistema indólico mono substituído.

Todos os carbonos foram revelados no espectro RMN de  $^{13}\text{C}$  (APT) (Figura 76) e com o espectro de HSQC (Figura 77), com base nos deslocamentos químicos e em comparação com os dados da literatura Tabelas 25 e 26. A segunda metoxila em uma das estrutura foi indicada pelo deslocamento químico, como o deslocamento químico de C-3 a  $\delta_{\text{C}}$  52,8 e C-14 a  $\delta_{\text{C}}$  24,0 apresentaram uma variação muito pequena, concluímos que a metoxila só poderia estar ligada no C-15.

O espectro HMBC (Figura 78) mostrou que a metoxila em  $\delta_{\text{C}}$  55,4/ $\delta_{\text{H}}$  3,82 estava diretamente ligada ao carbono em  $\delta_{\text{C}}$  149,22(C-12), enquanto a metoxila em  $\delta_{\text{C}}$  57,14/ $\delta_{\text{H}}$  3,31 estava ligada ao carbono em  $\delta_{\text{C}}$  85,74 (C-15), devido às correlações a três ligações entre os referidos hidrogênios e esses carbonos.

No experimento COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  (Figura 79) foi possível confirmar o acoplamento entre os hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  7,07 (H-10) com os hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  6,96 (H-9) e  $\delta_{\text{H}}$  6,78(H-11), mostrando a existência de três hidrogênios ligados a carbono aromático, assim como entre os hidrogênios a  $\delta_{\text{H}}$  3,18 (H-3) e  $\delta_{\text{H}}$  1,61 (H-14);  $\delta_{\text{H}}$  3,25 (H-5) e  $\delta_{\text{H}}$  2,63 (H-6);  $\delta_{\text{H}}$  2,61 (H-16) e  $\delta_{\text{H}}$  1,74 (H-17) e  $\delta_{\text{H}}$  1,98 (H-18)com  $\delta_{\text{H}}$  1,43(H-19) (OLIVEIRA,1999).

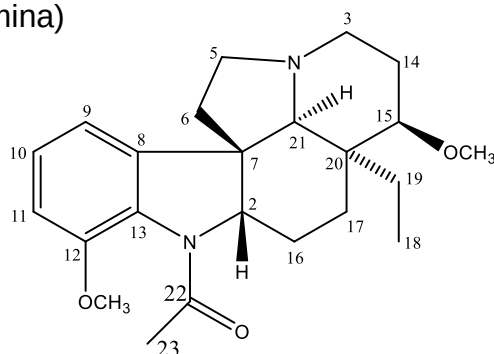
O espectro de massas (Figura 80) apresentou picos de molécula desprotonada em  $m/z$  355,2380  $[\text{M}+\text{H}]^+$  (355,2380 calculado para  $\text{C}_{22}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_2$ ) para aspidospermina eHR-ESI/MS  $m/z$  385,2480  $[\text{M}+\text{H}]^+$  ( $m/z$  385,2485 calculado para  $\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_3$ ) para 15-metoxi-aspidospermina. A estrutura foi identificada por RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  incluindo 2D (HMBC, HSQC, and COSY) e comparação com os dados da literatura. Estes compostos já foram previamente isolados da casca da raíz, caule, folhas e raízes de *A. pyriformium* (CRAVEIRO; MATOS; SERUR, 1983; DE ARAÚJO et al., 2007; MITAINE et al., 1998).

Tabela 25- Dados de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  (500 e 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **16** (Aspidospermina)

| C                          | $\delta^{13}\text{C}$ | $\delta^1\text{H}$ | $^2J_{\text{CH}}$ | $^3J_{\text{CH}}$        | * $\delta^{13}\text{C}$ | * $\delta^1\text{H}$               |
|----------------------------|-----------------------|--------------------|-------------------|--------------------------|-------------------------|------------------------------------|
| 2                          | 66,1                  | 4,20(dd; 6,10)     |                   |                          | 64,0                    | 4,5 m                              |
| 3                          | 53,7                  | 3,26-2,28          |                   |                          | 53,5                    | 3,0-1,9                            |
| 5                          | 52,2                  | 3,26-2,28          |                   |                          | 52,8                    | 3,11-2,25                          |
| 6                          | 38,0                  | 2,11-1,61          |                   | H-2                      | 38,0                    | 2,05-1,55                          |
| 7                          | 52,2                  | -                  | H-2               |                          | 52,4                    |                                    |
| 8                          | 127,4                 | -                  |                   | H-2                      | 128,0                   |                                    |
| 9                          | 115,4                 | 6,82 (d; 8,2)      |                   | H-11                     | 115,4                   | 6,82 (d; 8,0)                      |
| 10                         | 126,1                 | 7,05 (t; 7,9)      | H-9               |                          | 125,9                   | 7,08 (t; 8,0)                      |
| 11                         | 110,3                 | 6,82 (d; 8,2)      |                   |                          | 110,0                   | 6,80 (d; 8,7)                      |
| 12                         | 149,0                 | -                  |                   | OCH <sub>3</sub><br>C-12 | 148,0                   |                                    |
| 13                         |                       | -                  |                   | H-2/H-11                 | 141,0                   |                                    |
| 14                         | 21,5                  | 2,25-2,18          |                   |                          | 21,5                    | 1,73(qt;13,4)<br>1,15              |
| 15                         | 34,2                  | 2,05-1,13          |                   |                          | 34,1                    | 1,6-1,05 m                         |
| 16                         | 24,3                  | 1,86-1,39          |                   |                          | 24,7                    | 1,95-1,35 m                        |
| 17                         | 22,7                  | 2,39-1,57          |                   |                          | 23,0                    | 2,0-1,1 m                          |
| 18                         | 6,7                   | 0,66               | H-19              |                          | 6,7                     | 0,6 (t;7,1)                        |
| 19                         | 30,1                  | 1,27<br>0,89       | H-18              |                          | 29,9                    | 1,2 (dq;14;7,1)<br>0,8 (dq;14;7,1) |
| 20                         | 35,4                  | -                  |                   | H-18                     | 35,4                    |                                    |
| 21                         | 71,2                  | 2,27               |                   |                          | 71,0                    | 2,23 (s)                           |
| 22                         | 161,1                 | -                  | H-23              |                          | 160,0                   |                                    |
| 23                         | 23,2                  | 2,24               |                   |                          | 22,9                    | 2,2 (s)                            |
| OCH <sub>3</sub><br>(C-12) | 55,4                  | 3,88 (s)           |                   |                          | 55,3                    | 3,87 (s)                           |

Fonte: A autora (2019)-\*Dados da literatura

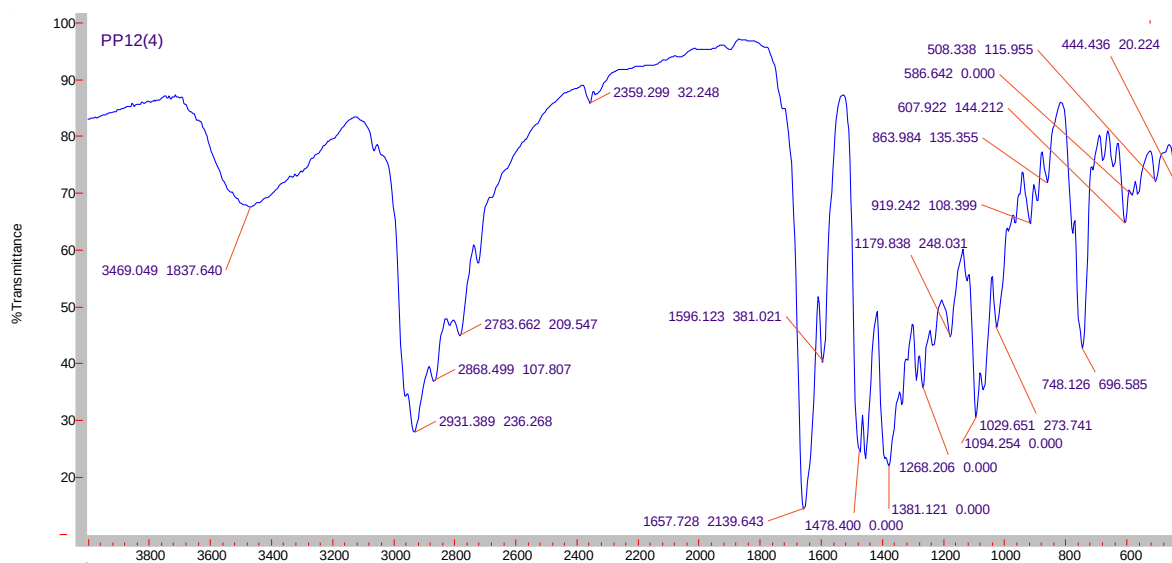
Tabela 26- Dados de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  (500 e 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **17** (15-metoxiaspidospermina)



| C                          | $\delta^{13}\text{C}$ | $\delta^1\text{H}$ | $^2J_{\text{CH}}$ | $^3J_{\text{CH}}$          | * $\delta^{13}\text{C}$ | * $\delta^1\text{H}$  |
|----------------------------|-----------------------|--------------------|-------------------|----------------------------|-------------------------|-----------------------|
| 2                          | 66,2                  | 4,20               |                   |                            | 66,9                    | 4,70 q                |
| 3                          | 52,7                  | 3,26-2,28          |                   |                            | 52,8                    | 3,18-2,22             |
| 5                          | 52,9                  | 3,26-2,28          |                   |                            | 52,8                    | 3,48-2,40 m           |
| 6                          | 38,2                  | 2,11-1,61          |                   | H-2                        | 37,1                    | 2,20-1,80 m           |
| 7                          | 53,7                  | -                  | H-2               |                            | 53,7                    | -                     |
| 8                          | -                     | -                  |                   | H-2                        | 143,3                   | -                     |
| 9                          | 115,4                 | 6,82               |                   | H-11                       | 115,3                   | 6,82 (d;8,0)          |
| 10                         | 126,3                 | 7,0                | H-9               | H                          | 126,2                   | 7,8 (d;8,0)           |
| 11                         | 110,8                 | 6,82               |                   |                            | 111,8                   | 6,82 (d;8,0)          |
| 12                         | 149,1                 | -                  |                   | OCH <sub>3</sub><br>(C-12) | 149,5                   | -                     |
| 13                         | 138,9                 | -                  |                   | H-2/H-11                   | 130,1                   | -                     |
| 14                         | 24,0                  | 2,35-1,12          |                   |                            | 24,0                    | 2,0-1,60              |
| 15                         | 75,4                  | 3,50               |                   | OCH <sub>3</sub> -15       | 75,5                    | 3,22 (m;<br>14,5;7,0) |
| 16                         | 25,2                  | 1,86-1,42          |                   |                            | 24,5                    | 1,30-2,4              |
| 17                         | 22,5                  | 2,26               |                   |                            | 22,5                    | 1,10-2,18             |
| 18                         | 6,8                   | 0,68               | H-19              |                            | 6,8                     | 0,63                  |
| 19                         | 30,1                  | 1,46-0,89          | H-18              |                            | 29,9                    | 0,75-1,22             |
| 20                         | 35,8                  | -                  |                   | H-18                       | 35,6                    | -                     |
| 21                         | 71,2                  | 2,35               |                   |                            | 71,6                    | 2,20                  |
| 22                         | 168,6                 | -                  | H-23              |                            | 171,2                   | -                     |
| 23                         | 23,2                  | 2,24               |                   |                            | 23,0                    | 2,22                  |
| OCH <sub>3</sub><br>(C-12) | 55,6                  | 3,90 (s)           |                   |                            | 55,3                    | 3,90 (s)              |
| OCH <sub>3</sub><br>(C-15) | 56,2                  | 3,37 (s)           |                   | H-15                       | 56,3                    | 3,33 (s)              |

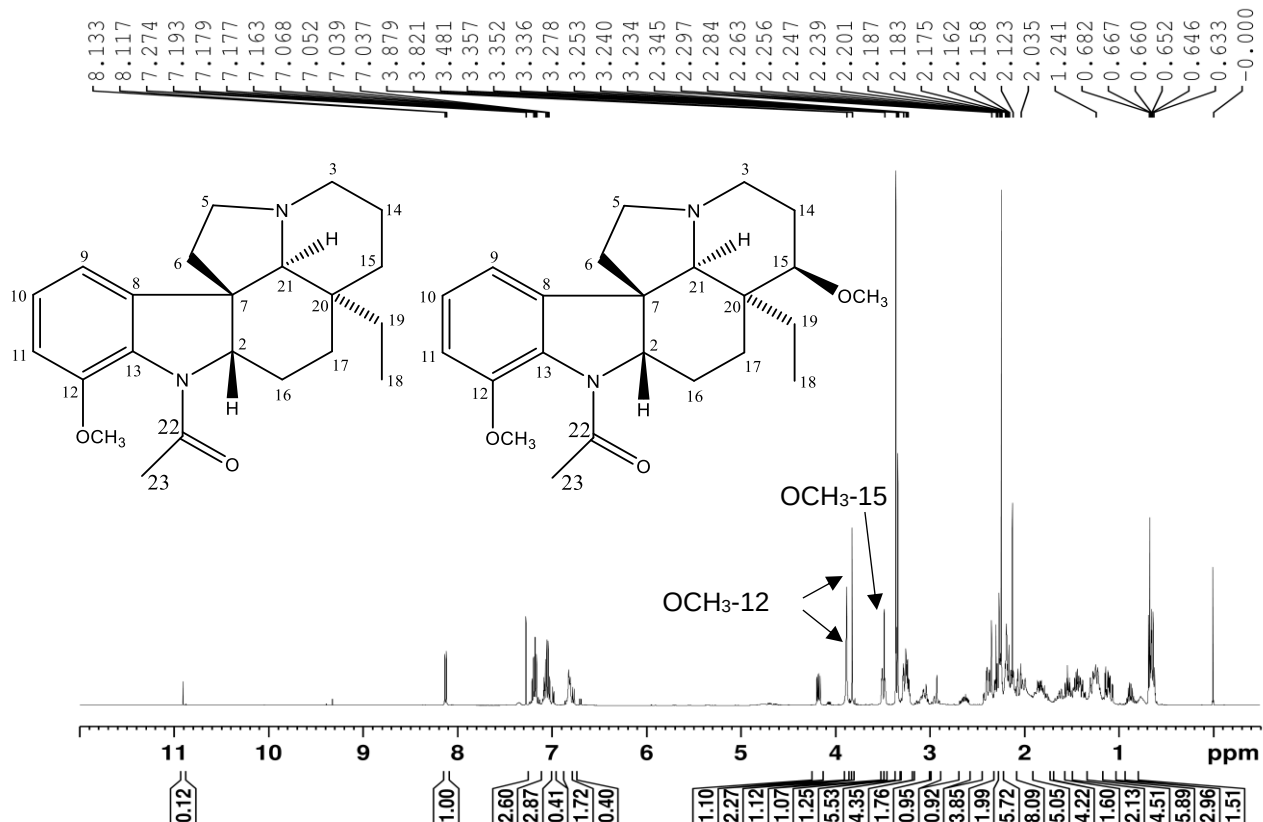
Fonte: A autora (2019)-\*Dados da literatura

Figura 74- Espectro de IV do compostos **16** (aspidospermina) e **17** (15-metoxiaspidospermina) em pastilha de KBr



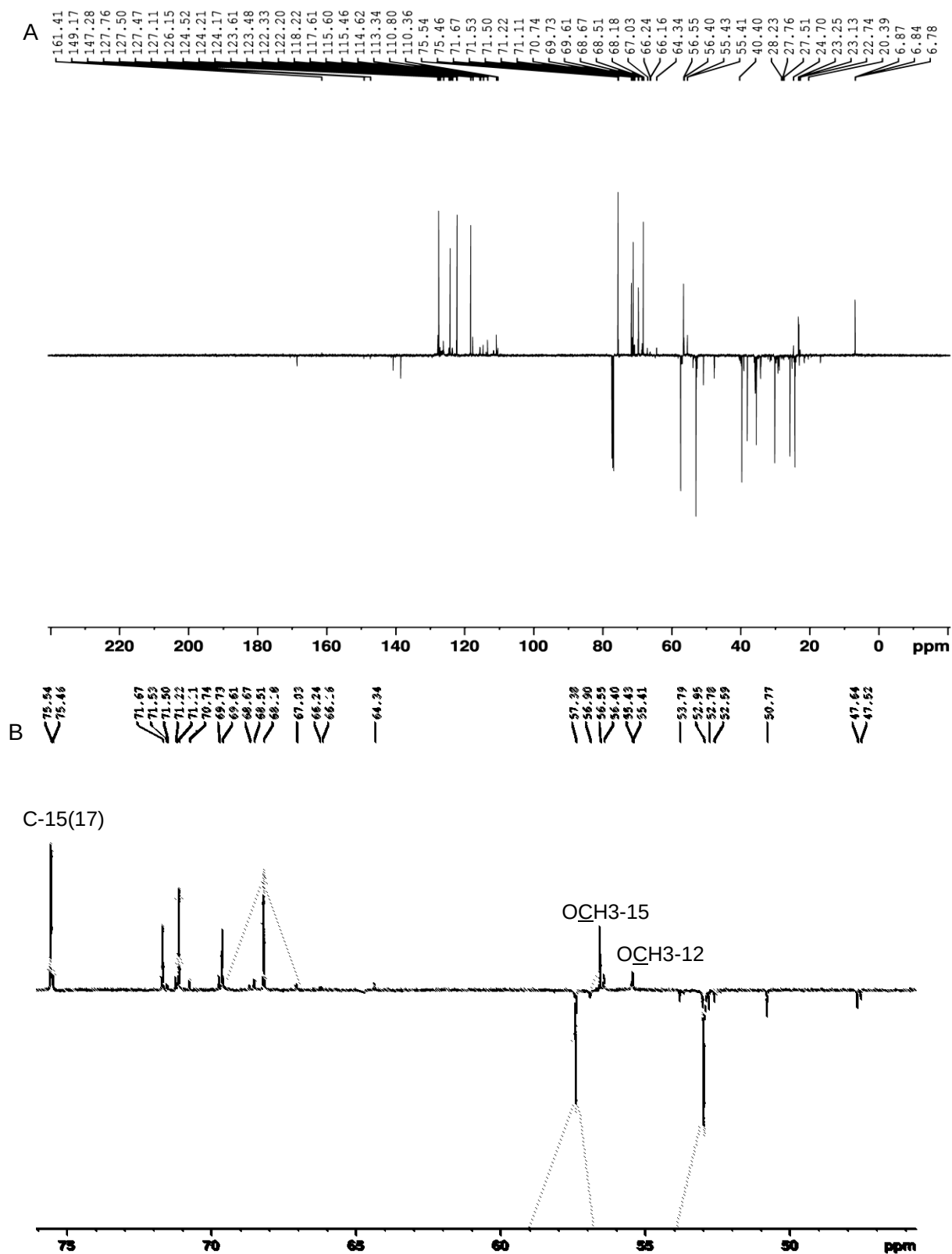
Fonte:A autora (2019)

Figura 75- Espectro de RMN<sup>1</sup>H dos compostos **16** (aspidospermina) e **17** (15-metoxiaspidospermina) em CDCl<sub>3</sub> (500 MHz)



Fonte:A autora (2019)

Figura 76- Espectro de RMN APT (A) e expansões correspondente às regiões entre 75-50 ppm (B) e 40-50 ppm (C) de **16** (aspidospermina) e **17** (15-metoxiaspidospermina) em  $\text{CDCl}_3$  (125 MHz)



Fonte: A autora (2019)

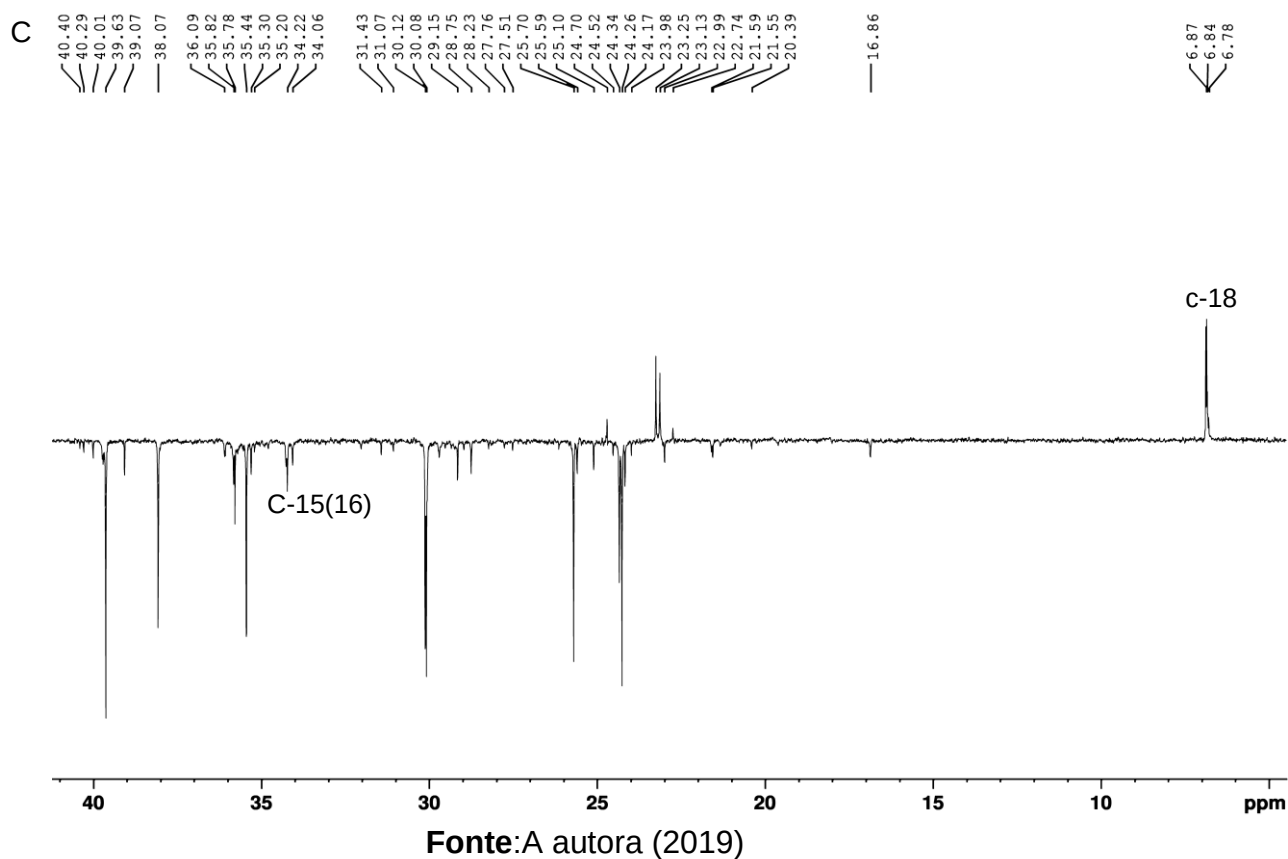
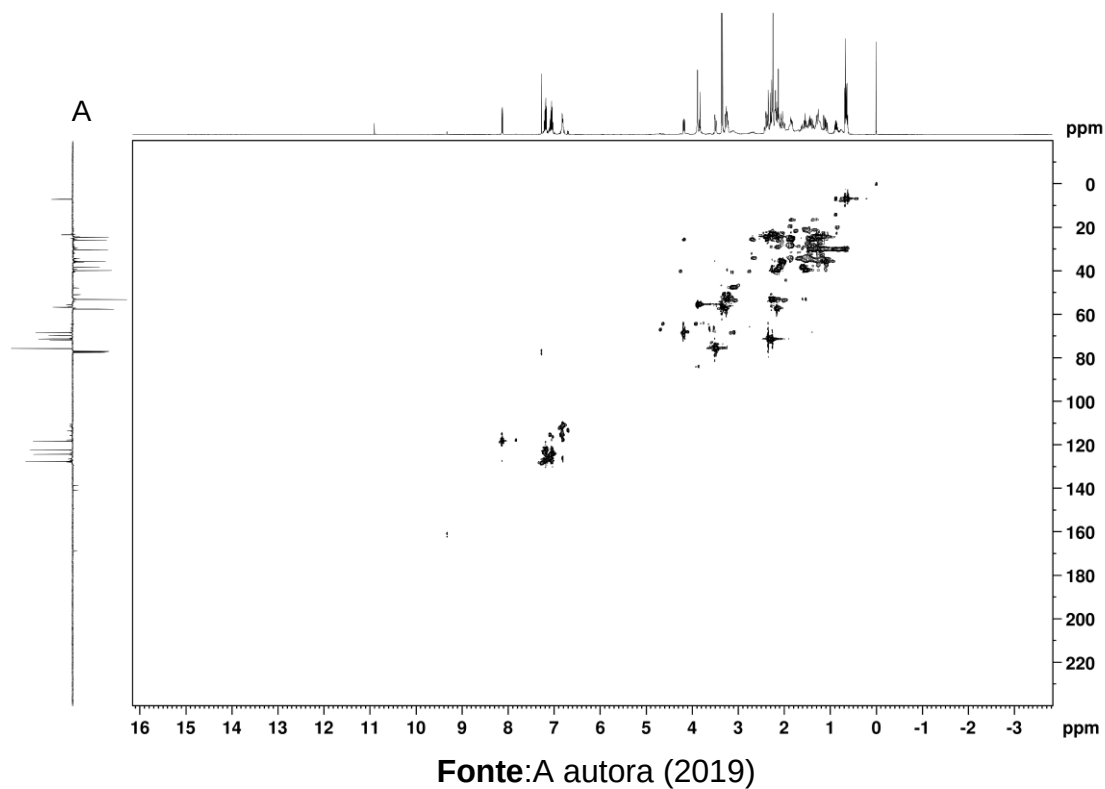


Figura 77- Espectro de RMN 2D  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ -HSQC (A) e expansões (B e C) de **16** (aspidospermina) e **17** (15-metoxiaspidospermina) (500 MHz)



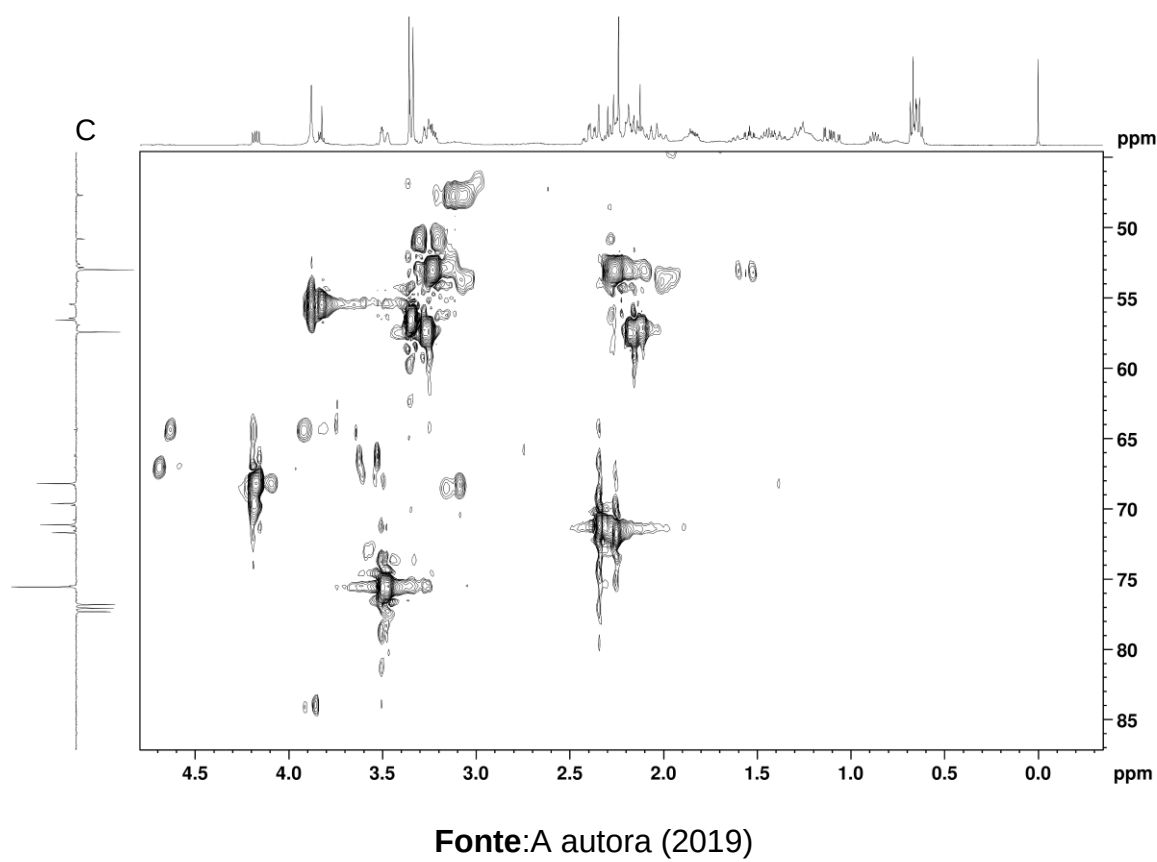
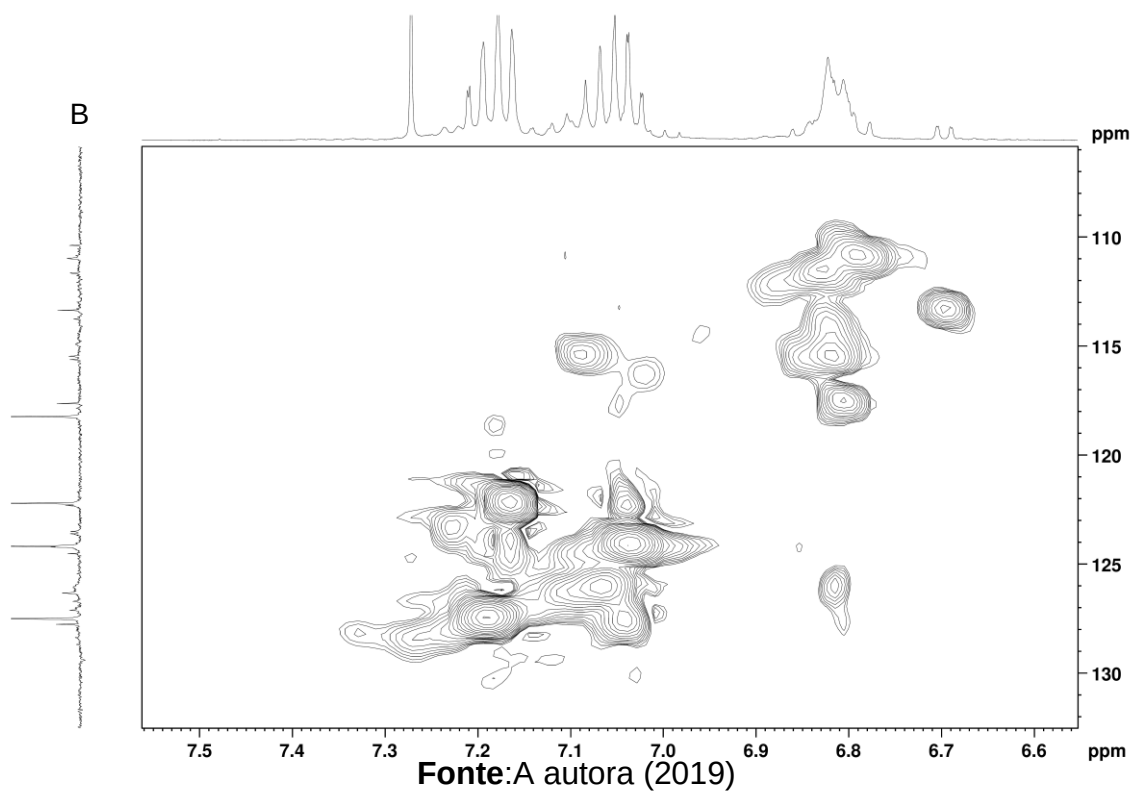
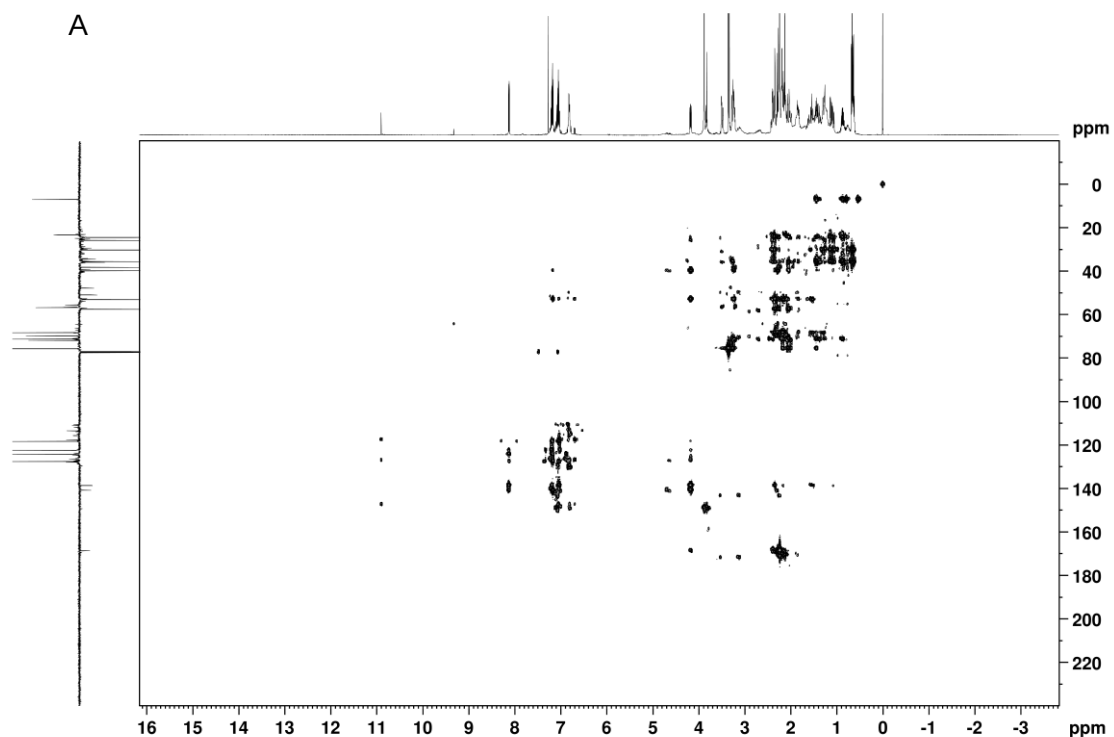
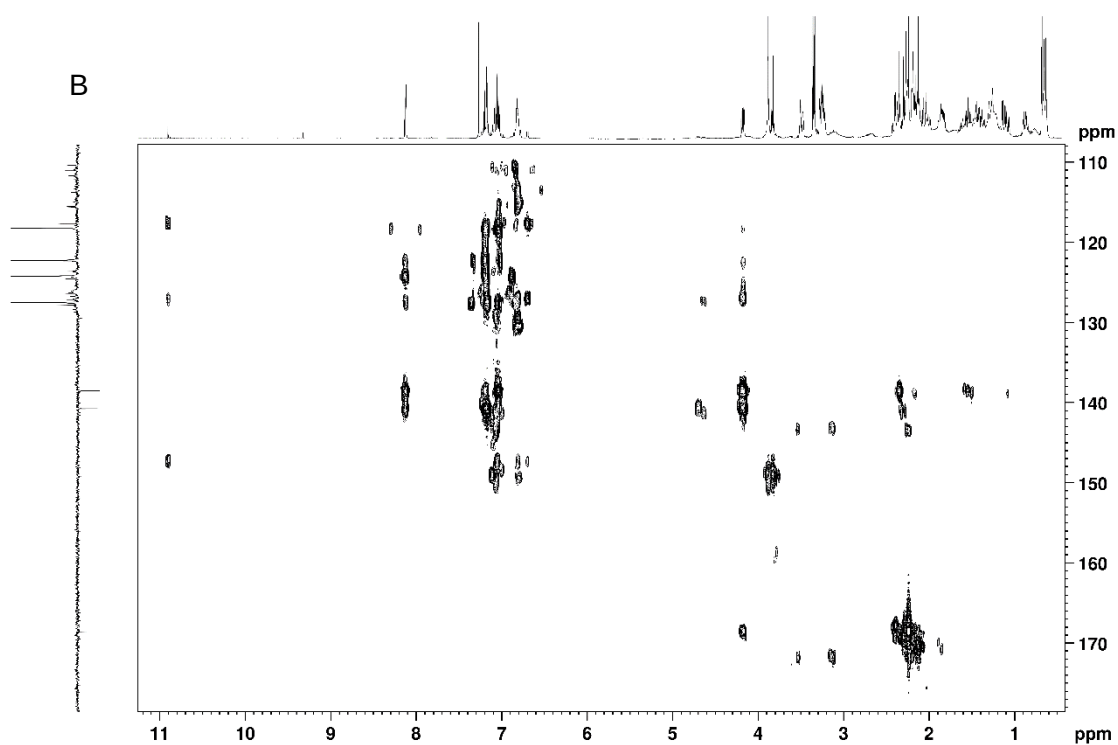




Figura 78- Espectro de RMN 2D  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ -HMBC(A) e expansão (B) de **16** (aspidospermina) e **17** (15-metoxiaspidospermina) (500 MHz)

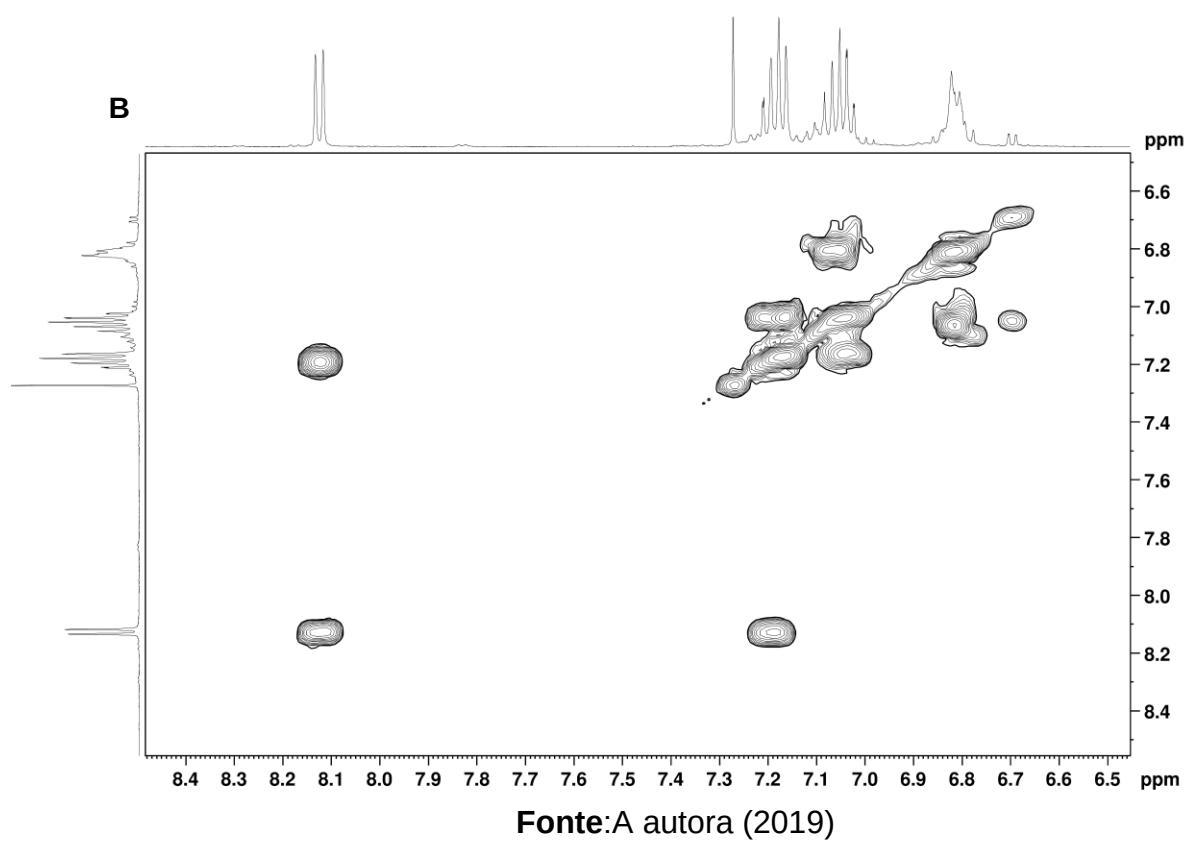
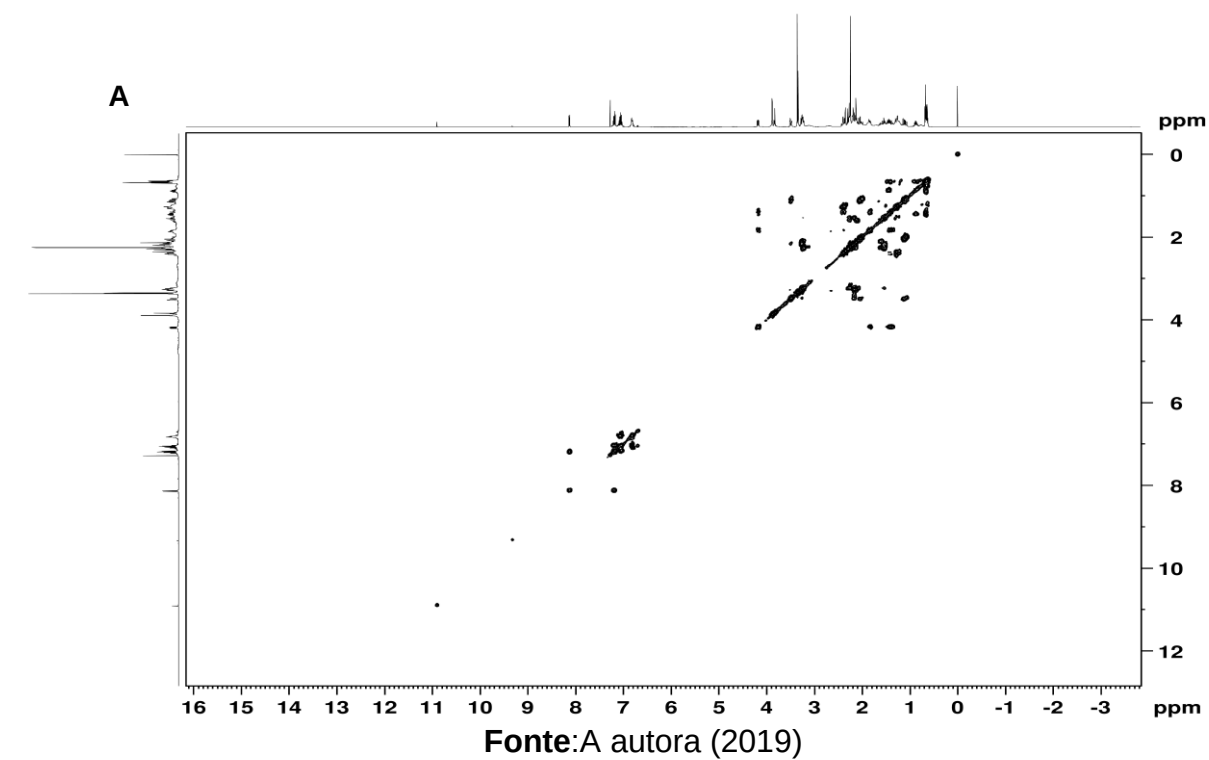


Fonte:A autora (2019)



Fonte:A autora (2019)

Figura 79- Espectro de RMN 2D  $^1\text{H}$ , $^1\text{H}$ - COSY (A) e expansões (B e C) de **16** (aspidospermina) e **17** (15-metoxiaspidospermina) (500 MHz)



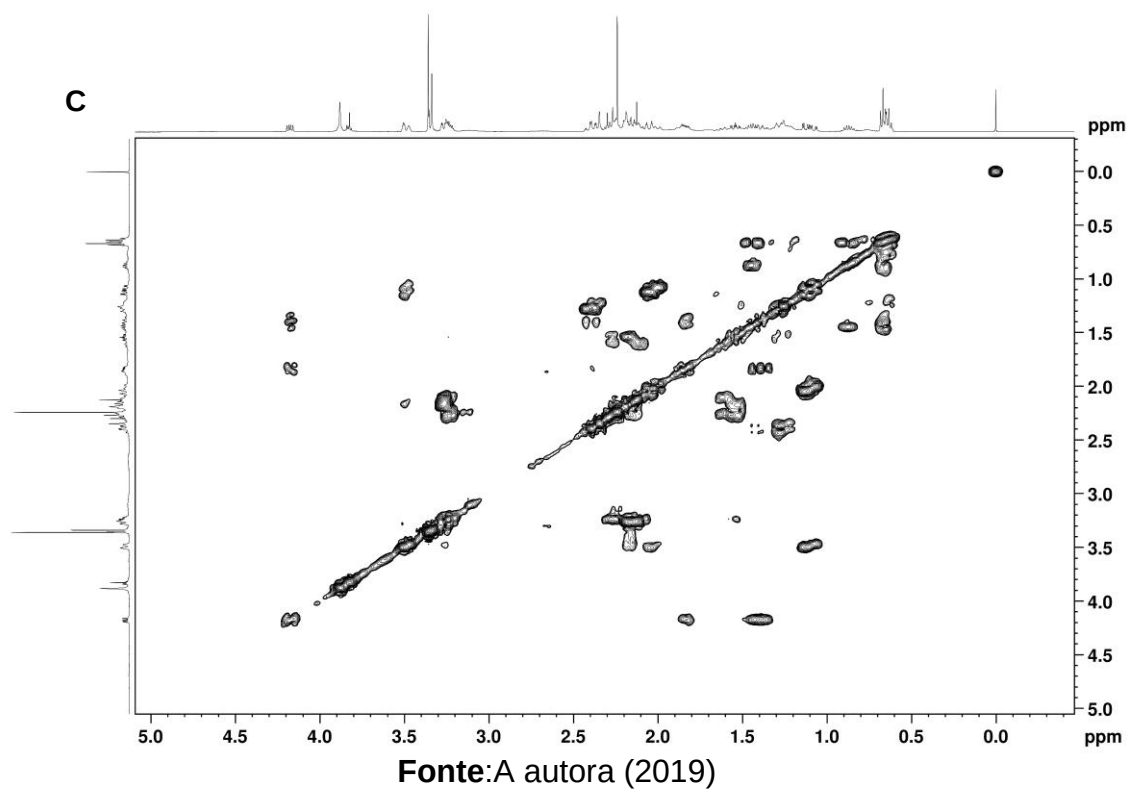
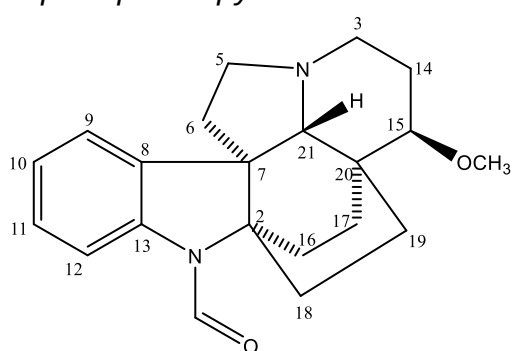
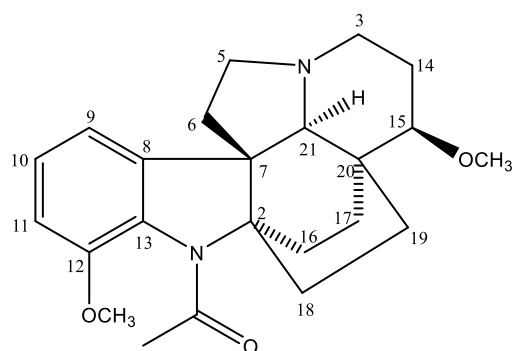


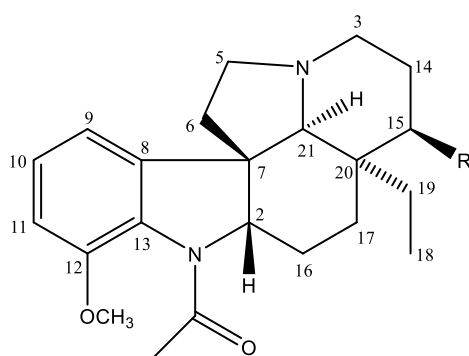
Figura 80- Compostos isolados a partir da fração alcaloidal das flores de *Aspidosperma pyrifolium*



**8-** N-formil-15-metoxi-aspidofractinine



**13** Pirifolina



**16** R=H Aspidospermina

**17** R=OCH<sub>3</sub> 15-Metoxi aspidospermina

Fonte:A autora (2019)

## 2.5 CONCLUSÕES

Os compostos (+) -Pirifolina (13), (-)-*N*-formil-15-metoxiaspidofractinina (8), 15-metoxiaspidospermina (16) e aspidospermina (17), foram isolados e identificados por métodos espectroscópicos. O composto *N*-formil-15 metoxiaspidofractinina é inédito na literatura.

A análise por espectrometria de massas UPLC-DAD-qTOF-MS/MS da fração alcaloidal das flores de *Aspidosperma pyrifolium* permitiu identificar 18 alcaloides indólicos todos eles do tipo plumerano o que mostrou que a espécie é realmente uma fonte deste tipo de compostos

Todos os compostos estão sendo relatados pela primeira vez nas flores da espécie *A. pyrifolium*

## REFERÊNCIAS

AGRA, M. D. F.; DE FREITAS, P. F.; BARBOSA-FILHO, J. M. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 17, n. 1, p. 114–140, 2007.

AGUIAR, G. P.; WAKABAYASHI, K. A. L.; F.LUZ, G.; OLIVEIRA, V. B.; MATHIAS, L.; VIEIRA, I. J. C.; BRAZ-FILHO, R.; CROTTI., A. E. M. Fragmentation of plumeran indole alkaloids from *Aspidosperma spruceanum* by electrospray ionization tandem mass spectrometry. **Rapid communications in mass spectrometry**, v. 24, p. 295–308, 2010.

**Apocynaceae -The Plant List 2013.** Disponível em: <<http://www.theplantlist.org/1.1/browse/A/Apocynaceae/>>. Acesso em: 25 jul. 2019.

**Apocynaceae Flora do Brasil 2020.** Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB48>>. Acesso em: 19 jul. 2019.

CASTELLO, A. C. D.; DE SOUZA PEREIRA, A. S.; MESSIAS, P. A.; SCUDELER, A. L.; DE MOURA, Y. A.; KOCH, I. Two New Species of *Aspidosperma* (Apocynaceae) from Northeast Brazil and a Monograph of the Species from Ceará State . **Systematic Botany**, v. 43, n. 4, p. 1030–1045, 2019.

CRAVEIRO, A. A.; MATOS, F. J. A.; SERUR, L. M. Alkaloids of *Aspidosperma pyriforme*. **Phytochemistry**, v. 22, n. 6, p. 1526–1528, 1983.

DE ARAÚJO, J. X.; ANTHEAUME, C.; TRINDADE, R. C. P.; SCHMITT, M.; BOURGUIGNON, J. J.; SANT'ANA, A. E. G. Isolation and characterisation of the monoterpenoid indole alkaloids of *Aspidosperma pyriforme*. **Phytochemistry Reviews**, v. 6, n. 1, p. 183–188, 2007.

DO NASCIMENTO, M. S.; PINA, N. P. V.; DA SILVA, A. S. B.; GOMES, L. F. S.; DE VASCONCELLOS, F.; BRANDÃO, G. C.; DO NASCIMENTO, M. F. A.; DE OLIVEIRA, A. B.; BARBOSA, W. L. R. In vitro antiplasmodial activity and identification, using tandem LC-MS, of alkaloids from *Aspidosperma excelsum*, a plant used to treat malaria in Amazonia. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 228, n. 01, p. 99–109, 2019.

EL-SAYED, M.; VERPOORTE, R. Catharanthus terpenoid indole alkaloids: Biosynthesis and regulation. **Phytochemistry Reviews**, v. 6, p. 277–305, 2007.

FUMAGALI, E.; GONÇALVES, R. A. C.; MACHADO, M. F. P. S.; VIDOTI, G. J.; OLIVEIRA, A. J. B. Produção de metabólitos secundários em cultura de células e tecidos de plantas: O exemplo dos gêneros *Tabernaemontana* e *Aspidosperma*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 4, p. 627–641, 2008.

GUIMARÃES, H. A.; BRAZ-FILHO, R.; VIEIRA, I. J. C.  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$ -NMR data of the simplest plumeran indole alkaloids isolated from *Aspidosperma* species. **Molecules**, v. 17, n. 3, p. 3025–3043, 2012.

HESSE, M. **Alkaloids : nature's curse or blessing?**: Verlag Helvetica Chimica Acta, 2002.

LI, L. M.; LI, G. Y.; FANG, D. M.; WU, Z. J.; ZHANG, G. L. Analysis of monoterpenoid indole alkaloids using electrospray ionization tandem mass spectrometry. **Chemistry of Natural Compounds**, v. 51, n. 1, p. 116–120, 2015.

MACHATE, D. J.; ALVES, F. M.; FARINACCIO, M. A. *Aspidosperma* (Apocynaceae) no estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. **Rodriguesia**, v. 67, n. 4, p. 1011–1024, 2016.

MITAINE, A. C.; MESBAH, K.; RICHARD, B.; PETERMANN, C.; ARRAZOLA, S.; MORETTI, C.; ZÈCHES-HANROT, M.; LE MEN-OLIVIER, L. Alkaloids from *Aspidosperma* species from Bolivia. **Planta Medica**, v. 62, n. 5, p. 458–461, 1996.

MITAINE, A. C.; WENIGER, B.; SAUVAIN, M.; LUCUMI, E.; ARAGÓN, R.; ZÈCHES-HANROT, M. Indole alkaloids from the trunk bark of *Aspidosperma megalocarpon*. **Planta Medica**, v. 64, n. 5, p. 487, 1998.

MATSUURA, H. N.; FETT-NETO, A. G. Plant Alkaloids : Main Features , Toxicity , and Mechanisms of Action. **Plant Toxins**, p. 1–15, 2015.

NOGUEIRA, P. C. N.; ARAÚJO, R. M.; VIANA, G. S. B.; DE ARAÚJO, D. P.; FILHO, R. B.; SILVEIRA, E. R. Plumeran alkaloids and glycosides from the seeds of *Aspidosperma pyrifolium* Mart. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 25, n. 11, p. 2108–2120, 2014.

OLIVEIRA, B. V.; FREITAS, M. S. M.; MATHIAS, L.; BRAZ-FILHO, R.; VIEIRA, I. J. C. Atividade biológica e alcaloides indólicos do gênero *Aspidosperma* ( Apocynaceae ): uma revisão. **Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu**, v. 11, n. 1, p. 92–99, 2009.

PEREIRA, M. de M.; JÁCOME, R. L. R. P.; ALCÂNTARA, A. F. de C.; ALVES, R. B.; RASLAN, D. S. Alcaloides indólicos isolados de espécies do genero *Aspidosperma* (Apocynaceae). **Química Nova**, v. 30, n. 4, p. 970–983, 2007.

ROCHA, N. A.; BARBOSA, D. B.; RAPOSO, F. J.; LATALIZA, A. A. B.; AMARANTE, C. B. ; RAPOSOA, N. R. B. Assessment Of Different Biological Capacities Of *Aspidosperma excelsum* Benth. **Journal of Multidisciplinary Engineering Science and Technology**, v. 6, n. 1, p. 9384–9390, 2019.

SILVA, T.M.S. **Espécie *Aspidosperma pyrifolium***. 2018. 4 fotografias.

SOUSA, M. A. N.; COSTA, E. L.; MELO, N. J. A.; SILVA, E. F. intoxicações naturais e experimentais em *Aspidosperma pyrifolium* Mart.(Pereiro). **revista saúde e ciência**, v. 3, n. 3, p. 229–239, 2014.

THOMAZ M. I. S. Kdfrase 2018. Disponível em:<https://kdfrases.com/usuario/izabelmist/frase/>> Acesso em: 14 set. 2018.

Vargas, V. M. L.; Iturbe, P. S.; Canché, B. C.; Pacheco, L. C. G.; Ávalos, R. M. G.; Valenzuela, O. M. Biosíntesis de los alcaloides indólicos. Una revisión crítica. **Rev. Soc. Quím**, v.48, n.1, p. 67-94, 2004.

VITAL, F. A. Z. Análise comparada da ocorrência de *Aspidosperma* Mart . & Zucc . ( Apocynaceae Juss .) no município de levras, Minas Gerais, Brasil. **Revista Arquivo Científico (IMMES)**, v. 1, n. 2, p. 44–50, 2018.