



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO - *CAMPUS* UNIVERSITÁRIO DE SINOP
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE – ICS
CURSO DE BACHARELADO EM FARMÁCIA

**ESTUDO FITOQUÍMICO DAS FOLHAS DE *Caesalpinia peltophoroides* Benth
(Fabaceae)**

AMANDA CAROLINE LIMA CUNHA

**ESTUDO FITOQUÍMICO DAS FOLHAS DE *Caesalpinia peltophoroides* Benth
(Fabaceae)**

AMANDA CAROLINE LIMA CUNHA

Trabalho de Curso apresentado ao Curso de Farmácia da Universidade Federal de Mato Grosso – UFMT, *campus* de Sinop como requisito parcial para obtenção do título de Farmacêutico, sob a orientação da Prof^a Dr^a Carla Regina Andrighetti e co-orientação do Prof. Dr. Gerardo Magela Vieira Júnior.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO - CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE SINOP
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE – ICS
CURSO DE BACHARELADO EM FARMÁCIA

**ESTUDO FITOQUÍMICO DAS FOLHAS DE *Caesalpinia peltophoroides* Benth
(Fabaceae)**

AMANDA CAROLINE LIMA CUNHA

Trabalho de curso de graduação apresentado e defendido ao Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Mato Grosso como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Aprovado em: 17 de julho de 2017.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a Dr^a Carla Regina Andrichetti
Instituto de Ciências da Saúde
UFMT – Campus Sinop
(Orientadora)

Prof^a Dr^a Denia Mendes de Sousa Valladão
Instituto de Ciências da Saúde
UFMT – Campus Sinop
(Membro)

Prof. Dr. Elton Brito Ribeiro
Instituto de Ciências da Saúde
UFMT – Campus Sinop
(Membro)

Dados Internacionais de Catalogação na Fonte.

C972e Cunha, Amanda Caroline Lima.
Estudo Fitoquímico das Folhas de *Caesalpinia peltophoroides* Benth. (Fabaceae) / Amanda Caroline Lima Cunha. -- 2017
49 f. : il. color. ; 30 cm.

Orientadora: Carla Regina Andrighetti.
Co-orientador: Gerardo Magela Vieira Júnior.
TCC (graduação em Farmácia) - Universidade Federal de Mato Grosso, Instituto de Ciências da Saúde, Sinop, 2017.
Inclui bibliografia.

1. *Caesalpinia peltophoroides*. 2. análise fitoquímica. 3. flavonoides. I. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Permitida a reprodução parcial ou total, desde que citada a fonte.

Dedico este trabalho aos meus pais, George e Ilma, pelo imenso e incondicional amor que a mim proporcionam dia após dia. Aos seus esforços imensuráveis para que eu alcançasse meus objetivos. E pela confiança que demonstram na minha capacidade. Obrigada por tudo, sem vocês eu jamais teria chegado até aqui.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por me acompanhar e me dar força durante toda essa caminhada.

Aos meus pais, por todo incentivo, amor e exemplo.

Ao professor Magela, pela oportunidade e por todos os conhecimentos que pude obter trabalhando ao seu lado. O meu imenso agradecimento por todas as conversas e puxões de orelha que somaram para o meu crescimento.

A professora Carla, por ter aceitado me orientar na finalização deste trabalho. Obrigada por ter sido tão paciente, por todas as horas de conversa e por ter me encorajado todas as vezes que eu desacreditei da minha capacidade.

Aos meus irmãos, Alexandre e Arthur, por estarem presentes na minha vida e me apoiarem constantemente.

Ao meu melhor amigo, companheiro e namorado Italo por todo o apoio, companheirismo, paciência e amor. Os dias difíceis pareceram mais fáceis de suportar com você ao meu lado. Sei que não foi fácil aguentar essa fase. Obrigada por tudo.

Ao meu amigo Bryan, por me incentivar a começar esse trabalho. Obrigada pela companhia no laboratório, por todas as risadas e cafés compartilhados. A realização desse trabalho não teria sido tão divertida sem você.

A minha amiga Taísa, por todas as conversas, pelo companheirismo e por sempre acreditar e me incentivar no meu caminho.

Aos meus amigos Thais e Tiago, que mesmo longe sempre me incentivaram a chegar até aqui, vocês foram essenciais.

Aos meus amigos e colegas de curso, em especial Erick, Edinéia e Tailine. Vocês tornaram meus dias mais alegres e a caminhada mais agradável.

A professora Rafaela por ter sido uma “mãezona” desde que me conheceu. Obrigada por me mostrar que podemos muito mais, que nossa profissão pode fazer diferença na vida das pessoas.

A todos os professores, meu sincero agradecimento por todo conhecimento compartilhado e pela contribuição durante esta trajetória.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

Por vezes sentimos que aquilo que
fazemos não é senão uma gota de
água no mar. Mas o mar seria menor
se lhe faltasse uma gota.
(Madre Teresa de Calcutá)

RESUMO

CUNHA, A. C. L. **Estudo Fitoquímico das Folhas de *Caesalpinia peltophoroides* Benth (Fabaceae).** 2017. [49] Trabalho de Curso de Farmácia – Universidade Federal de Mato Grosso, *Campus* de Sinop.

Palavras chave: *Caesalpinia peltophoroides*, análise fitoquímica, flavonoides

Os produtos naturais são utilizados na medicina tradicional desde os primórdios da humanidade, despertando interesse na busca e identificação de compostos bioativos, dos quais um número significativo é proveniente do reino vegetal. A espécie *Caesalpinia peltophoroides* Benth., conhecida popularmente como Sibipiruna, Sebipira ou Falso Pau-Brasil é utilizada na Bolívia, tradicionalmente, para o tratamento de disenteria. Possui potencial antimalárico e auxilia nos processos de re-epitelização de feridas, no entanto são escassos os estudos fitoquímicos sobre a mesma. Desta forma, o presente trabalho teve como objetivo realizar o estudo fitoquímico das folhas de *Caesalpinia peltophoroides* Benth, a avaliação da toxicidade frente a *Artemia salina* Leach e proceder o isolamento dos constituintes das frações consideradas promissoras, através do emprego de técnicas cromatográficas como cromatografia em camada delgada e coluna em gel de sílica. Como resultado da triagem fitoquímica, foram detectadas, principalmente, a presença de taninos, esteroides, terpenoides, alcaloides e flavonoides. O teste toxicológico frente a *Artemia salina* demonstrou não haver toxicidade para as diferentes frações e concentrações testadas. Através do fracionamento cromatográfico foram isolados e identificados por RMN de ^1H e ^{13}C e comparação com dados da literatura, dois flavonoides, sendo eles: Quercetina-3-O- β -D-glicopiranosídeo (**1**) e Agatisflavona (**2**). Em virtude da escassez de estudos químicos e farmacológicos sobre a espécie *Caesalpinia peltophoroides* e tendo em vista o potencial farmacológico de outras espécies do gênero *Caesalpinia*, se faz importante o desenvolvimento estudos químicos e biológicos da mesma.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Estruturas químicas das substâncias: A – Morfina; B – Reserpina; C – Tubocurarina; D – Vimblastina; E - Vincristina	16
Figura 2. Estruturas químicas das substâncias encontradas em <i>C. pluviosa</i> : A – Lupeol; B – Ácido Betulínico; C – Estigmasterol	20
Figura 3. Fluxograma do preparo das frações a partir do extrato etanólico das folhas de <i>C. peltophoroides</i>	23
Figura 4. Fluxograma do fracionamento cromatográfico da fração etérea das folhas de <i>C. peltophoroides</i>	26
Figura 5. A- Perfil cromatográfico da Fração etérea, em CCD (eluente: CHCl ₃ /MeOH 9:1) utilizando como revelador, anisaldeído sulfúrico; B – Coluna cromatográfica da Fração etérea.	31
Figura 6. Cromatoplaça das frações obtidas através do fracionamento cromatográfico da Fração etérea. Eluente Clorofórmio/Metanol na proporção 9:1, utilizando com revelador anisaldeído sulfúrico.	31
Figura 7. Estrutura química da substância 1 (S30-50), identificada com base nos seus espectros de RMN ¹ H e por análise comparativa dos dados de RMN de ¹³ C com os relatados na literatura	32
Figura 8. Principais correlações observadas pelos experimentos gCOSY (1H-1H) e gHMBC (1H→13C) para 1	32
Figura 9. Estrutura química da substância 2 (S89-35), identificada com base nos seus espectros de RMN ¹ H e por análise comparativa dos dados de RMN de ¹³ C com os relatados na literatura	34
Figura 10. Principais correlações observadas pelos experimentos gCOSY (¹ H- ¹ H) e gHMBC (¹ H→ ¹³ C) para 2	34

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Triagem fitoquímica das folhas de <i>C. peltophoroides</i>	28
Tabela 2. Ensaio toxicológico do extrato etanólico e das frações das folhas de <i>C. peltophoroides</i> frente à <i>Artemia salina</i> Leach.	30
Tabela 3. Dados de ^{13}C (125 MHz) da substância 1, em comparação com dados da literatura, ambos em DMSO- d_6 . Deslocamentos químicos em δ (ppm).	33
Tabela 4. Dados de ^{13}C (125 MHz) da substância 2, em comparação com dados da literatura, ambos em DMSO- d_6 . Deslocamentos químicos em δ (ppm).	35

LISTA DE ABREVIATURAS

AcOEt – Acetato de etila

CaCl₂ – Cloreto de cálcio

CCD – Cromatografia em camada delgada

CHCl₃ – Clorofórmio

DL₅₀ – Dose letal mediana

DMSO – Dimetilsulfóxido

EE – Extrato etanólico

FA – Fração acetato de etila

FE – Fração etérea

FH – Fração hexânica

FM – Fração hidrometanólica

HCl – Ácido clorídrico

Hex – Hexano

KBr – Brometo de potássio

KCl – Cloreto de potássio

LIPEC – Laboratório integrado de pesquisa química

MeOH – Metanol

Na₂SO₄ – Sulfato de sódio

NaCl – Cloreto de sódio

NaHCO₃ – Bicarbonato de sódio

RMN – Ressonância magnética nuclear

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	15
2.1 Produtos Naturais	15
2.2 Família Fabaceae	17
2.3 Gênero Caesalpinia	18
2.4 Espécie Caesalpinia peltophoroides Benth.....	19
3. OBJETIVOS.....	21
3.1 Objetivo geral.....	21
3.2 Objetivos específicos	21
4. MÉTODOS	22
4.1 Material vegetal	22
4.2 Extração.....	22
4.3 Partição líquido-líquido	22
4.4 Triagem fitoquímica	24
4.5 Avaliação da toxicidade frente à Artemia salina Leach.....	24
4.6 Isolamento dos constituintes.....	24
4.7 Identificação das substâncias	27
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
5.1 Extração e fracionamento líquido-líquido.....	28
5.2 Triagem fitoquímica	28
5.3 Avaliação da toxicidade frente à Artemia salina Leach.....	29
5.4 Isolamento e identificação dos constituintes.....	30
6. CONCLUSÕES	37
REFERÊNCIAS.....	38
ANEXO A – Espectro de RMN ¹H da substância 1 (quercetina-3-O-β-D-glicopiranosídeo)	44
ANEXO B – Espectro de RMN ¹³C da substância 1 (quercetina-3-O-β-D-glicopiranosídeo)	45
ANEXO C - Espectro de RMN ¹H da substância 2 (Agatisflavona).....	46
ANEXO D - Espectro de RMN ¹³C da substância 2 (Agatisflavona)	47
ANEXO E – Resumo apresentado na 39ª RASBQ	48

1. INTRODUÇÃO

A humanidade utiliza, desde os primórdios, os produtos naturais como forma de aliviar e tratar doenças (FABRICANT, 2001). A utilização dos recursos da natureza na medicina tradicional, desperta interesse nos pesquisadores, levando ao emprego da etnobotânica aplicada ao estudo de plantas medicinais, como forma de exploração e descoberta de substâncias biologicamente ativas, que poderão ser utilizados como novos fármacos ou direcionar a sua síntese (MACIEL, 2002).

O reino vegetal fornece significativa contribuição para o conhecimento de novas substâncias bioativas, úteis no tratamento de doenças que acometem o homem (PHILLIPSON, 1989). As angiospermas possuem destaque nessa contribuição, pois possuem moléculas distintas e complexas contendo vários centros estereogênicos. Nas últimas décadas cerca de 50.000 metabólitos secundários foram isolados das angiospermas e a maioria ainda se encontra sem avaliação farmacológica (MONTANARI, 2001).

A família Fabaceae é considerada uma das mais importantes entre as angiospermas, sendo a terceira maior família de plantas do planeta (LEWIS, 2005). No Brasil, é a mais bem representada família e está presente em praticamente todos os biomas (BFG, 2015). Dentre as plantas pertencentes a família Fabaceae, inúmeras possuem interesse medicinal, dentre elas se encontram as plantas pertencentes ao gênero *Caesalpinia*. Este gênero é encontrado em zonas subtropicais e tropicais, possui cerca de 500 espécies, sendo que a maioria ainda se encontra sem investigação em relação a sua composição química e propriedades biológicas (ZANIN, 2015).

A espécie *Caesalpinia peltophoroides* Benth, também denominada *Caesalpinia pluviosa* var. *peltophoroides* Benth. ou *Poincianella pluviosa* var. *peltophoroides* Benth., conhecida popularmente como sibipiruna ou falso pau-brasil, é uma espécie ornamental com potencial madeireiro, com grande distribuição no Brasil ocorrendo principalmente na Mata Atlântica do Rio de Janeiro, sul da Bahia, São Paulo, Espírito Santo e no Pantanal Mato-grossense. Sua madeira é pesada, dura e de média durabilidade, sendo utilizada na construção civil, na produção de móveis em geral, em plantios mistos para recuperação de áreas degradadas, e principalmente, no paisagismo. A espécie é pouco exigente ao tipo de solo. A árvore é decídua, heliófila produzindo grande quantidade de sementes viáveis. Seu florescimento tem início no

mês de agosto se prolongando até meados do mês de novembro. Os frutos podem ser colhidos de julho até meados do mês de setembro (LORENZI, 2002). A casca é usada popularmente para tratar disenteria (DEHARO, 2001). Em estudos anteriores, foi possível determinar a presença dos compostos triterpênicos: lupeol, ácido betulínico e estigmasterol a partir da casca do caule de *C. pluviosa* (FLORES, 2006).

Os estudos químicos e farmacológicos com as folhas de *C. peltophoroides* são escassos e tendo em vista o potencial relatado na literatura para outras espécies deste gênero e a presença da espécie em quantidade significativa no território brasileiro, em especial no Pantanal Mato-grossense, este trabalho teve como objetivo o desenvolvimento de estudos fitoquímicos com a mesma.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Produtos Naturais

A história do desenvolvimento da humanidade é cheia de relatos da utilização dos produtos naturais provenientes do reino vegetal, na busca de alívio e tratamento de doenças, há registros que datam o uso de plantas como medicamentos há pelo menos 60.000 anos atrás (FABRICANT et al, 2001; SOLECKI, 1975).

O conhecimento e cultura popular de utilização de plantas de forma terapêutica, desperta interesse de pesquisadores que empregam a etnobotânica aplicada ao estudo de plantas medicinais, para a exploração e descoberta científica de agentes biologicamente ativos, que serão usados diretamente ou como matéria prima para a síntese de novos compostos farmacológicos (MACIEL et al, 2002).

Em 1805 foi isolada a primeira substância farmacologicamente ativa de origem vegetal, a morfina, um alcaloide opiáceo, isolado pelo farmacêutico alemão Friedrich Sertürner, a partir do ópio da papoula, *Papaver somniferum* L., já então muito utilizada para tratamento da dor (HAMILTON, 2000). Desde então, inúmeras substâncias ativas foram isoladas a partir de produtos naturais e suas estruturas químicas determinadas (JOO, 2014). Destacou-se: o alcalóide reserpina, como medicamento anti-hipertensivo, isolado da *Rauwolfia serpentina* Benth, utilizado na medicina Ayurvedica para tratamento da mordida de cobra (KAPOOR, 1990); medicamentos utilizados como relaxante muscular, que utilizaram como protótipo para seu desenvolvimento a tubocurarina, alcaloide isolado de espécies de *Chondodendron*, utilizadas por índios da Amazônia como veneno de flechas, o curare (BUSS, 1995); anticancerígenos como os alcaloides da vinca, vimblastina e vincristina, isolados da *Catharanthus roseus* G. Don., utilizada em várias culturas no tratamento da diabetes, descobertos indiretamente durante pesquisa de potenciais agentes hipoglicemiantes (HARTWELL, 1982) (Figura 1).

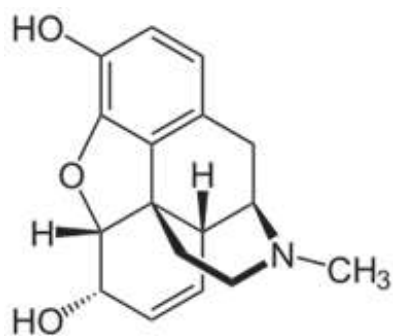
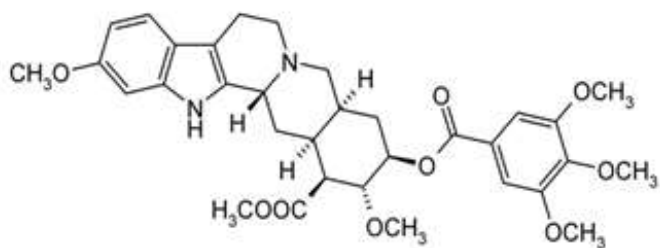
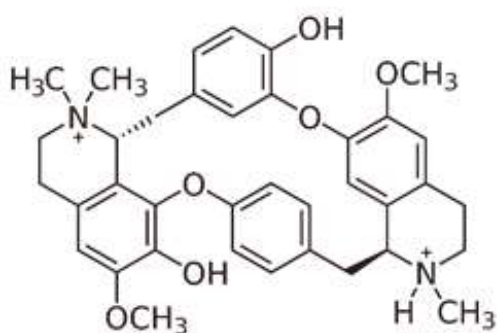
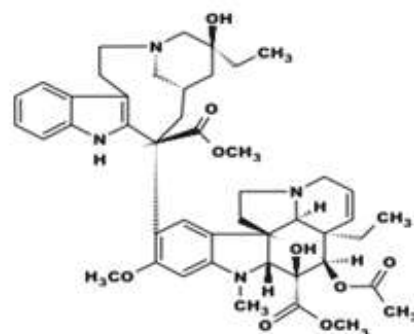
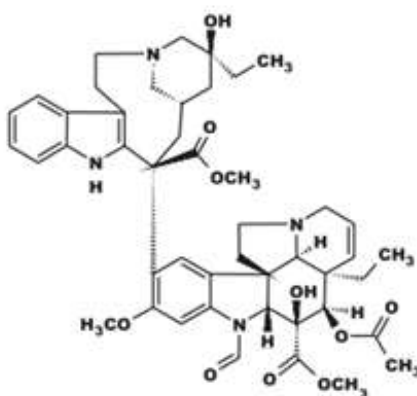
**A****B****C****D****E**

Figura 1. Estruturas químicas das substâncias: A – Morfina; B – Reserpina; C – Tubocurarina; D – Vimblastina; E – Vincristina.

Fonte: Simões, 2007.

Das substâncias bioativas, a maior contribuição é do reino vegetal, fornecendo um número significativo de substâncias úteis ao tratamento de doenças que acometem os seres humanos (PHILLIPSON, 1989). A complexa e enorme variedade de metabólitos especiais biossintetizados pelas plantas teriam evoluído como mecanismo de defesa e adaptação às diversas condições da natureza, como microrganismos, insetos, animais e as próprias características do meio ambiente (REINBOTHE, 1990).

No contexto do desenvolvimento das plantas terrestres, destacam-se as angiospermas, devido a presença de moléculas distintas e complexas, contendo vários centros estereogênicos. Devido ao desenvolvimento de técnicas analíticas de separação e de elucidação estrutural, nas três últimas décadas, pode-se conhecer cerca de 50.000 metabólitos secundários isolados de angiospermas, dos quais muitos ainda não possuem seu potencial farmacológico avaliado (MONTANARI, 2001).

2.2 Família Fabaceae

A família Fabaceae, considerada uma das mais importantes dentre as angiospermas, é a terceira maior família de plantas do planeta, reunindo 727 gêneros e 19.325 espécies, ficando atrás apenas das Orchidaceae e das Asteraceae (LEWIS, 2005; JUDD, 2009).

No Brasil é a mais bem representada família, com 2.807 espécies e 222 gêneros, presentes em praticamente todos os biomas e ecossistemas do país (BFG, 2015). Também encontrada com a denominação Leguminosae, é tradicionalmente dividida em três subfamílias: Caesalpinioideae, Mimosoideae e Papilionoideae, sendo a Caesalpinioideae um grupo parafilético do qual se ramificam as outras duas subfamílias (AMORIM, 2016). A família Fabaceae é uma das responsáveis pela enorme diversidade vegetal das florestas tropicais, se destacando como elemento florístico, principalmente na Mata Atlântica (LIMA, 2000).

Plantas dessa família se adaptam a diferentes tipos de ambiente, o que pode ser explicado devido a sua ampla plasticidade (DOYLE, 2003), também são fontes de diversas atividades, além da produção de óleos, fibras, combustível, madeira, produtos químicos e produtos medicinais (SPRENT, 2001).

Das plantas pertencentes à família Fabaceae, inúmeras possuem interesse medicinal, como: plantas do gênero *Bauhinia*, onde se encontra a *B. fortificata* Link., conhecida popularmente como “pata-de-vaca”, que é utilizada na medicina popular

como hipoglicemiante (MENEZES, 2007); o gênero *Copaifera*, com a planta *C. reticulata* Ducke (Copaíba), indicada devido a sua ação anti-inflamatória (VEIGA JÚNIOR, 2007), antimicrobiana (SANTOS, 2008) e antitumoral (LIMA, 2003); o gênero *Erythrina*, com a planta *E. velutina* Willd, que é nativa da flora brasileira, utilizada na medicina popular como calmante, emoliente e anestésico local utilizado como odontálgico (LORENZI, 2002) e o gênero *Caesalpinia*, com plantas como a *C. bonduc* Roxb., conhecida popularmente na Índia como Nata karanja e no Sri Lanka como Kurubu, cujos extratos de semente e casca são utilizados na medicina popular como anti-helmíntico, anticancerígena, antimicrobiana, hipoglicemiante, anti-inflamatória, antirreumático, antimalárico e como agente antipirético (CHAKRABARTI, 2003; GUPTA, 2004).

2.3 Gênero *Caesalpinia*

O gênero *Caesalpinia* pertencente a subfamília Caesalpinioideae e a família Fabaceae, pode ser encontrado em zonas subtropicais e tropicais, possui cerca de 500 espécies, sendo a maior parte pouco estudada quanto às suas composições químicas e propriedades biológicas (ZANIN, 2015).

O chá da casca, flor, folha e raiz da espécie *C. pyramidalis* Tul., é empregada na medicina popular para o tratamento de febre, dores estomacais e como diurética (OLIVEIRA, 2016). Em estudos os extratos da *C. pyramidalis* apresentaram ação anti-inflamatória e antinociceptiva (SANTOS, 2011), atividade antioxidante, antiproliferativa (MELO, 2010), antimicrobiana e antiparasitária (SARAIVA, 2012).

Originária da Índia, a *Caesalpinia sappan* L., é utilizada na medicina popular para o tratamento de diarreia, lepra e queimaduras. Também apresenta atividade antioxidante e anti-inflamatória. Estudos também apontam a presença de compostos eficazes no tratamento de artrite reumatoide, na constituição do cerne da *C. sappan* (CHU, 2013).

A *Caesalpinia ferrea* Mart. ex Tul., amplamente distribuída nas regiões norte e nordeste do Brasil, onde é popularmente conhecida como “Juca” ou “Pau-ferro”, é utilizada na medicina popular através de infusões aquosas do fruto, em busca de ação anti-inflamatória, anti-úlceras e analgésica, também é utilizada popularmente para o tratamento da diabetes, tosse e lesões. (NAKAMURA, 2002). A triagem fitoquímica preliminar do extrato hidroalcoólico da casca e das folhas de *C. ferrea* demonstraram

a presença de flavonoides, saponinas, taninos, cumarinas, esteróis e compostos fenólicos (GONZALEZ, 2004).

Encontrada em vários países da América Central, América do Sul e Índia, a *Caesalpinia pulcherrima* (L.) SW., conhecida popularmente como “flamboyant-mirim”, usada na medicina popular por suas atividades anti-úlceras, para o tratamento da asma, de doenças de pele e de tumores. A partir desta espécie foram isolados vários diterpenóides, flavonoides, chalconas e homoisoflavonoides, (DAS, 2009). Os extratos etanólico, hexânico, acetato de etila e diclorometano dos frutos apresentaram diferentes níveis de atividade antimicrobiana contra *Enterobacter aerogens*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae*, *Staphylococcus aureus* e *Bacillus subtilis* (SUDHAKAR, 2006).

2.4 Espécie *Caesalpinia peltophoroides* Benth.

Caesalpinia peltophoroides Benth, conhecida popularmente como “sibipiruna”, “sebipira” e “falso-pau-brasil”, é uma planta semidecídua, heliófita, indiferente às condições físicas do solo. Encontrada na mata atlântica do Rio de Janeiro, sul da Bahia e Pantanal Mato-Grossense. Também conhecida como *Caesalpinia pluviosa* var. *peltophoroides* Benth. ou *Poincianella pluviosa* var. *peltophoroides* Benth. Sua madeira é empregada na construção civil, produção de móveis, arborização urbana, paisagismo e recuperação de áreas degradadas (LORENZI, 2002).

Sua casca é utilizada na Bolívia para o tratamento da disenteria (DEHARO, 2001). Estudos demonstraram que o extrato etanólico 70% da casca possui atividade antimalárica contra *Plasmodium falciparum* resistente a cloroquina (BAELMANS, 2000). Estudos mais recentes, também demonstram que o extrato etanólico 50% da casca do caule possui atividade antimalárica tanto *in vitro* como *in vivo* e análise por espectrofotometria de massa deste extrato, sugerem a presença de um isômero da quercetina (KAYANO, 2011).

A partir da casca do caule de *C. pluviosa*, foi possível determinar a presença dos compostos triterpênicos: lupeol, ácido betulínico e estigmasterol (FLORES, 2006) (Figura 2).

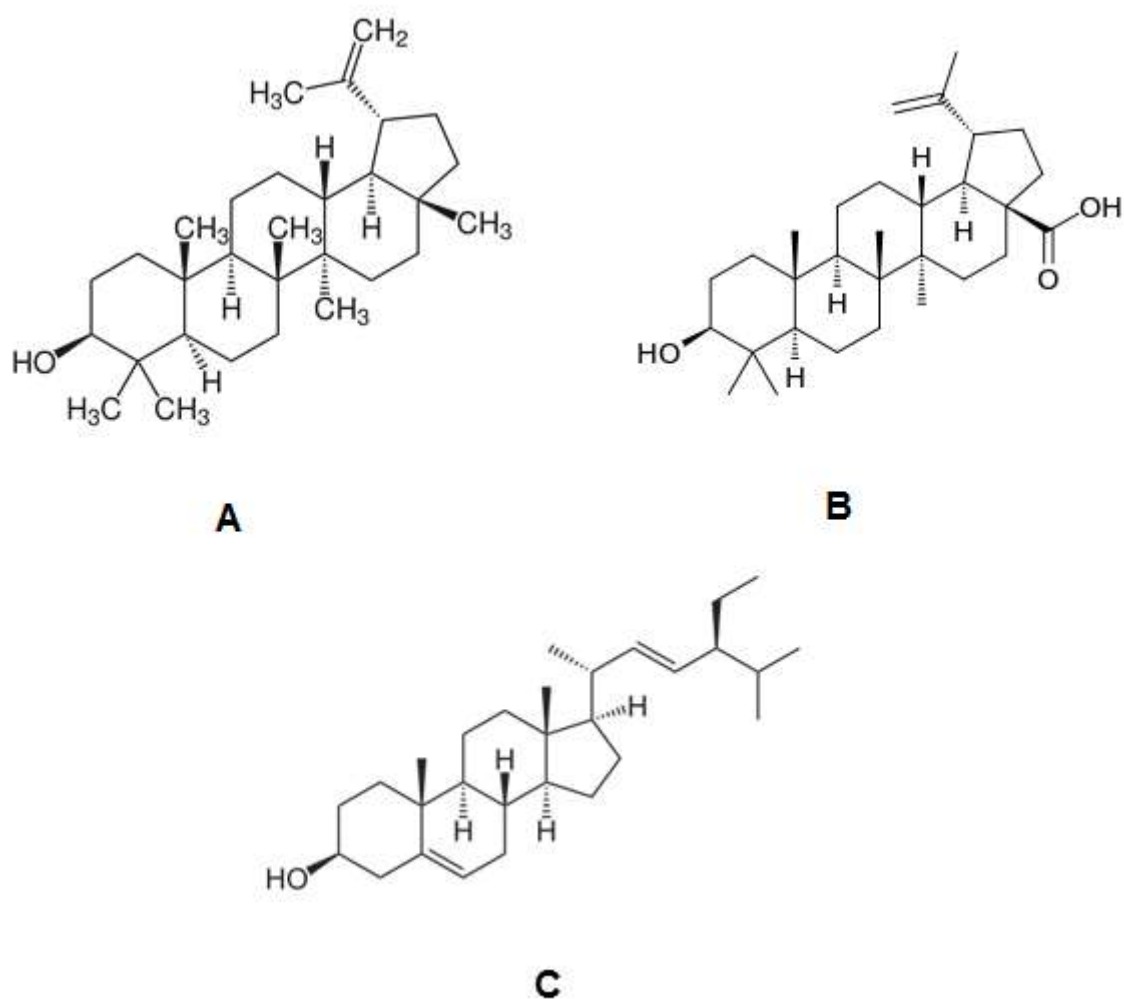


Figura 2. Estruturas químicas das substâncias encontradas em *C. pluviosa*: A – Lupeol; B – Ácido Betulínico; C – Estigmasterol.

Fonte: Simões, 2007.

Estudo recente, descreveu que a utilização de formulações de gel de carbopol contendo extrato etanólico da casca de *P. pluviosa* estimulou o desenvolvimento de fibras de colágeno e a re-epitelização, indicando a formação de tecido e a aceleração dos processos de cicatrização de feridas e que estas atividades estão relacionadas aos taninos hidrolisáveis presentes neste extrato (BUENO, 2016).

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

- Realizar um estudo fitoquímica das folhas de *C. peltophoroides* e determinar a toxicidade frente à *Artemia salina* do extrato etanólico e suas respectivas frações, além de isolar os constituintes químicos.

3.2 Objetivos específicos

- Coletar as folhas de *C. peltophoroides* no município de Sinop-MT;
- Preparar o extrato bruto etanólico e submetê-lo a partição com solventes com polaridade crescente (hexano, éter, acetato de etila e metanol);
- Realizar a triagem fitoquímica do extrato etanólico e frações;
- Avaliar a toxicidade do extrato etanólico e das frações frente a *Artemia salina*;
- Realizar o fracionamento cromatográfico da fração mais promissora a fim de proceder à purificação, isolamento e identificação dos compostos isolados.

4. MÉTODOS

O estudo foi realizado, no Laboratório Integrado de Pesquisas Químicas (LIPEC) da Universidade Federal de Mato Grosso, *Campus* Universitário de Sinop – UFMT Sinop.

4.1 Material vegetal

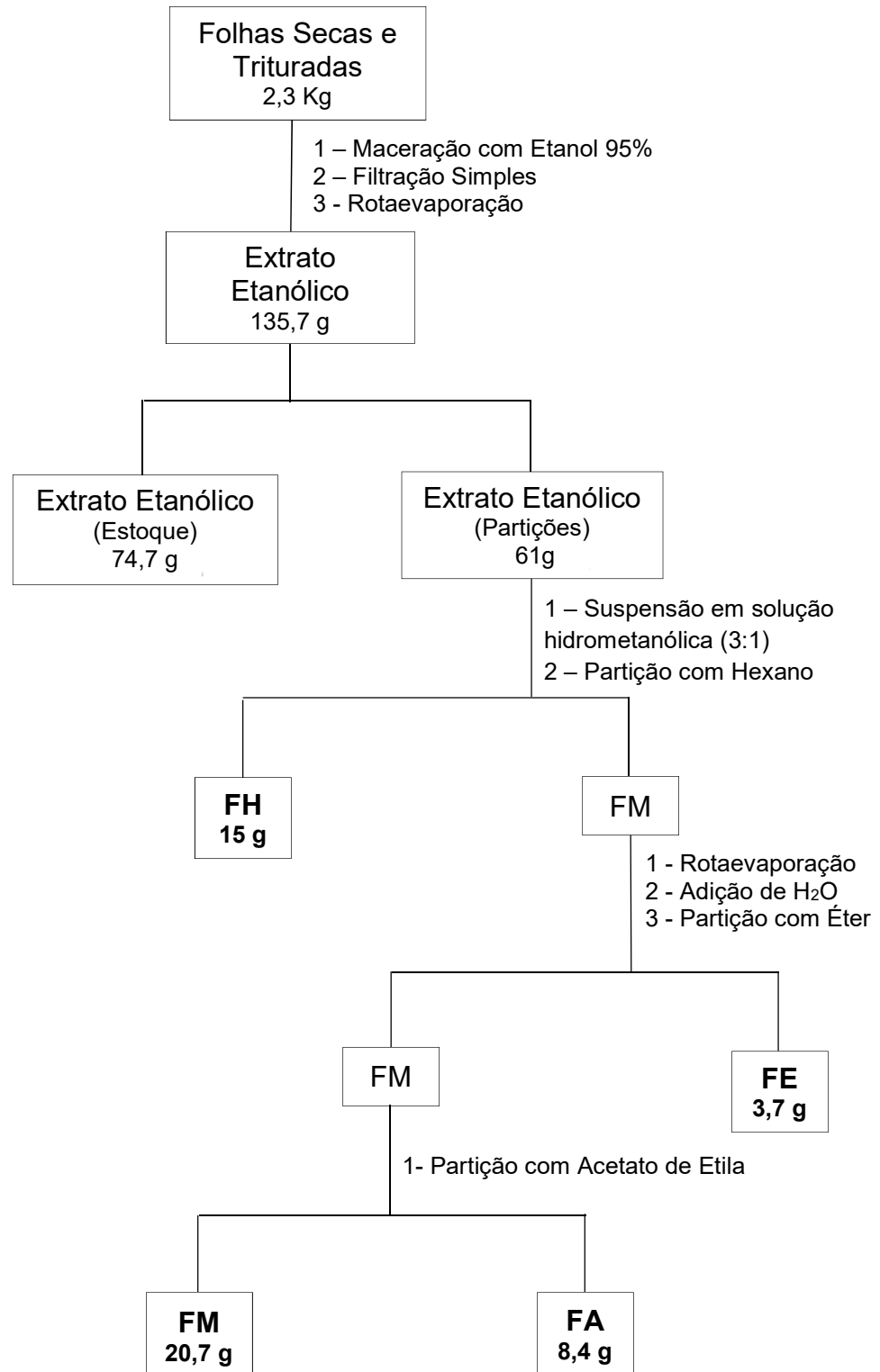
As folhas de *C. peltophoroides* foram coletadas no município de Sinop-MT em outubro de 2014 e a identificação foi realizada pela botânica Me. Larissa Cavalheiro. Uma exsicata (6065) foi depositada no Herbário Centro-Norte-Mato-Grossense-CNMT da Universidade Federal de Mato Grosso, *Campus* Universitário de Sinop.

4.2 Extração

As folhas (2,3 kg) de *C. peltophoroides* foram secas a temperatura ambiente, trituradas e submetidas à extração por maceração, utilizando etanol 95%, para obtenção do extrato etanólico. O processo de maceração foi realizado quatro vezes, com intervalo de sete dias entre eles. Na primeira maceração foram utilizados 8,5 litros, na segunda 5 litros e nas duas últimas, 4 litros de etanol. A solução obtida foi submetida a um processo de filtração simples e em seguida concentrada através da utilização de um evaporador rotativo a 40° C. Foram obtidos então, 135,7 g de extrato etanólico (EE), apresentando um rendimento de 5,9%.

4.3 Partição líquido-líquido

Um total de 61 g do extrato etanólico foi ressuspendido em uma solução de proporção de 1:3 (400 mL:1200 mL) de água destilada e metanol e submetido a partições com hexano (3 x 600 mL), éter (3 x 600 mL) e acetato de etila (3x 600 mL), a fim de se obter as frações Hexânica (FH), Etérea (FE), Acetato de Etila (FA) e Metanólica (FM), conforme Figura 3.

**Legenda:**

FH= Fração Hexânica

FM = Fração Hidrometanólica

FE= Fração Etérea

FA= Fração Acetato de Etila

Figura 3. Fluxograma do preparo das frações a partir do extrato etanólico das folhas de *C. peltophoroides*.

4.4 Triagem fitoquímica

O extrato etanólico e todas as frações foram submetidos a testes fitoquímicos, realizados em triplicata, para avaliação qualitativa de esteróides e terpenóides, através da reação de Lieberman-Burchard, flavonóides, através do teste de Cianidina ou Shinoda, taninos e fenóis, através da reação com cloreto férrico, saponinas através do teste de saponina espumídica, alcalóides, através dos reativos Dragendorff, Bouchardt e Mayer, polissacarídeos, através da reação com Lugol e purinas, através da reação com HCl (BARBOSA et. al., 2004)

4.5 Avaliação da toxicidade frente à *Artemia salina* Leach.

A avaliação seguiu a metodologia descrita por CITÓ et al. (2003). Para a realização do ensaio toxicológico frente à *A. salina*, foi preparada uma solução salina, semelhante a marinha: 24 g de NaCl; 1,5 g de CaCl₂; 0,1 g de KBr; 4 g de Na₂SO₄; 0,7 g de KCl; 0,2 g de NaHCO₃; 1L de água destilada. Foram adicionados à solução salina 10 mg de ovos de *A. salina*. O béquer contendo a solução foi mantido sob exposição de luz artificial durante aproximadamente 30 horas para que ocorresse a eclosão das larvas. O ensaio foi realizado em triplicata e a cada frasco foram adicionadas concentrações das frações/extrato etanólico de 1000 ppm, 100 ppm, 10 ppm e 1 ppm, como solvente foi utilizado diclorometano ou metanol, de acordo com o extrato em questão. Após estarem secas, as frações foram dissolvidas com 2 gotas de dimetilsulfóxido 1% e então foram adicionados aos frascos 10 exemplares de náuplios e 5 mL de solução salina. Um grupo controle também foi preparado nas mesmas condições sem a presença das frações. Os frascos ficaram sob temperatura e luz ambiente por um período de 24 horas. Após este período foi realizada a contagem do número de náuplios sobreviventes no grupo controle e nos grupos expostos às frações e os resultados obtidos foram analisados através do programa estatístico SPSS-20, obtendo a dose letal mediana (DL₅₀).

4.6 Isolamento dos constituintes

Para o isolamento dos constituintes foram utilizados 3 g da fração FE, que foram fracionados através de cromatografia em coluna de gel de sílica 60 (63 x 6 cm), com partículas de 40-63 µm (SiliCycle, 230-400 mesh). Os eluentes foram adicionados em ordem crescente de polaridade, sendo eles: hexano (3,3 L), acetato de etila (1,5 L) e metanol (2 L). Foram coletadas 12 frações, as quais foram concentradas em

evaporador rotativo à pressão reduzida, analisadas por CCD, utilizando como revelador anisaldeído sulfúrico e agrupadas conforme suas características cromatográficas. As frações **SFE-8** e **SFE-10**, contendo 356 mg e 1,2 g, respectivamente, foram novamente submetidas à fracionamentos cromatográficos.

A fração **SFE-8** foi cromatografada em uma coluna de gel de sílica 60 (39 x 3 cm), com partículas de 40-63 μm (SiliCycle, 230-400 mesh). Os eluentes utilizados foram hexano e acetato de etila na proporção 30:70 aumentando-se progressivamente a polaridade até 100% de acetato de etila, a partir deste ponto foi utilizado a mistura de acetato de etila e metanol na proporção de 90:10, aumentando progressivamente a polaridade até 100% de metanol. Foram coletadas 105 frações, as quais foram concentradas em evaporador rotativo à pressão reduzida, analisadas e agrupadas por CCD conforme coloração e fator de retenção (R_f), utilizando como revelador o anisaldeído sulfúrico. Dentre as frações reunidas repetiu-se, novamente, as mesmas condições cromatográficas com a fração **SF8-09** contendo 35,2 mg utilizando os eluentes clorofórmio e metanol na proporção inicial de 95:5 com aumento progressivo de polaridade até 100% de metanol. Após concentração e análise por CCD obteve-se a substância **1** (5,1 mg).

A coluna com a fração **SFE-10**, (59 x 4,5 cm) foi eluída com acetato de etila e metanol na proporção inicial de 95:5 aumentando-se progressivamente a polaridade. Foram coletadas 60 frações, analisadas e agrupadas por CCD conforme coloração e fator de retenção (R_f), utilizando como revelador o anisaldeído sulfúrico, obtendo então a fração **SF10-30** com 318,6 mg que por sua vez foi cromatografada em coluna (40 x 3 cm) de Sephadex LH-20, utilizando como eluente metanol. Foram coletadas desta coluna 75 frações, que também foram concentradas em evaporador rotativo, analisadas por CCD e reunidas, obtendo-se a substância **2** (14,9 mg).

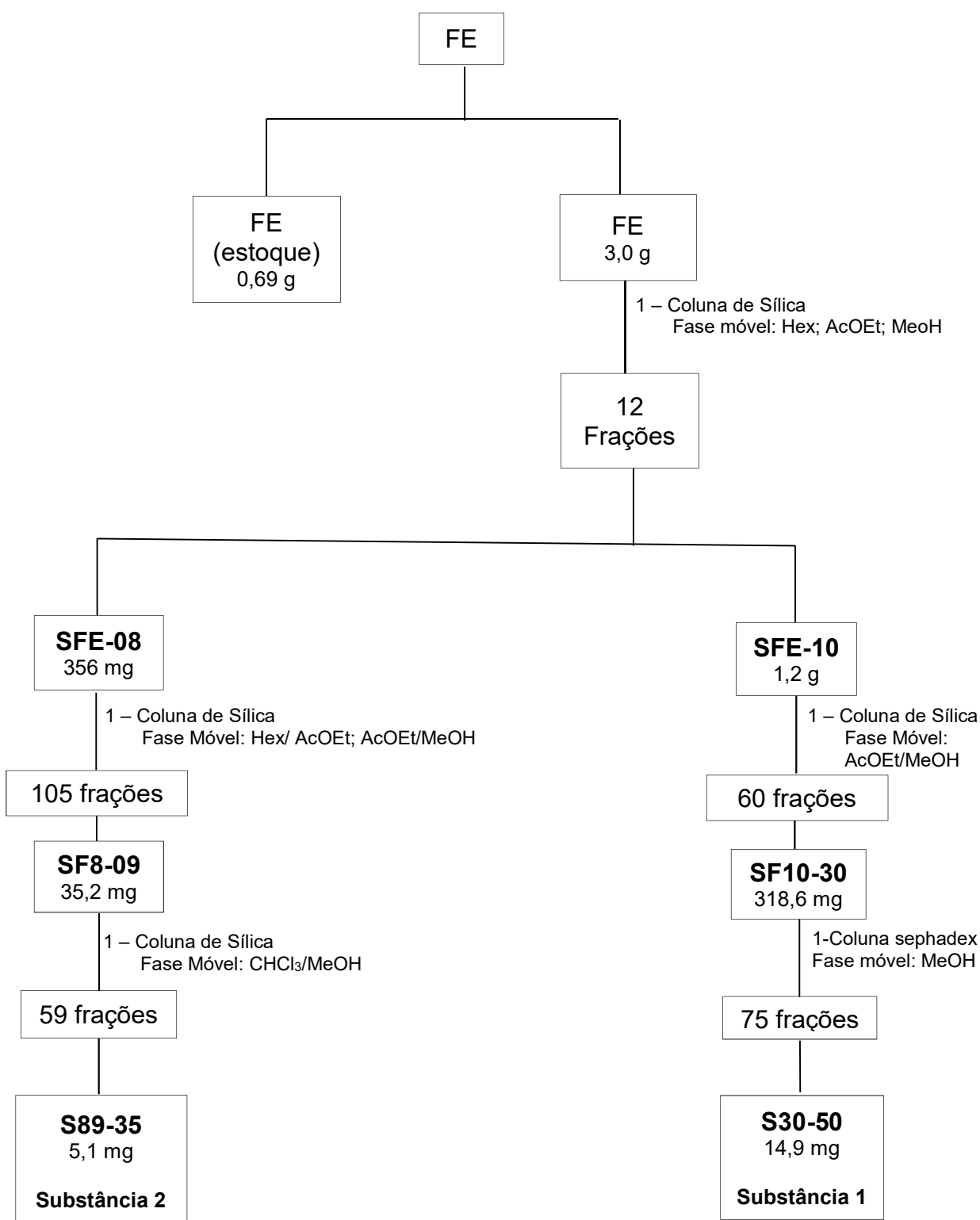


Figura 4. Fluxograma do fracionamento cromatográfico da fração etérea das folhas de *C. peltophoroides*.

4.7 Identificação das substâncias

As substâncias isoladas foram identificadas por meio de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e ^{13}C e tiveram sua estrutura mapeada através de técnicas de RMN 2D gCosy e gHMBC, realizadas sob orientação do Prof. Dr. Gerardo Magela Vieira Júnior na Universidade Federal do Piauí.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Extração e fracionamento líquido-líquido

Através do processo de extração das folhas de *C. peltophoroides* obteve-se 135,7 g do extrato etanólico que correspondeu a um rendimento de 5,9%. O processo de partição de 61 g do extrato etanólico com solventes de polaridade crescente resultou na obtenção de 15 g da fração hexânica com rendimento de 24,7%, 3,7 g da fração etérea com rendimento de 6,1%, 8,4 g da fração acetato de etila com rendimento de 13,9% e 20,7 g da fração hidrometanólica com rendimento de 33,9%.

5.2 Triagem fitoquímica

A realização de estudos fitoquímicos se faz importante quando existe escassez de estudos químicos sobre a espécie de interesse, mesmo que apenas pela sua qualificação como ocorre na triagem fitoquímica, pois desta forma é possível estabelecer um perfil químico dos metabólitos secundários presentes na mesma.

A triagem fitoquímica com o extrato etanólico das folhas de *C. peltophoroides* e das frações obtidas apresentou resultados que foram considerados positivos pela formação de precipitados e/ou surgimento de coloração e/ou espuma, sendo classificados em fraco, positivo e negativo, de acordo com a presença ou ausência dos metabólitos secundários pesquisados (Tabela 1).

Tabela 1. Triagem fitoquímica do extrato e das frações das folhas de *C. peltophoroides*

Teste / Extrato	Esteroides e Terpenoides	Flavonoides	Taninos e Fenóis	Saponinas	Alcaloides	Polissacarídeos	Purinas
FH	+	-	+++	-	***	-	-
FE	-	-	+++	-	+	-	-
FA	-	-	+++	+	-	-	-
FM	-	-	+++	+	-	-	-
EE	+	*	+++	-	+	-	-

+ presença; - ausência; * fracamente; *** fracamente para os 3 reativos (Bouchardt, Dragendorff, Mayer); +++ presença de taninos condensados. EE: extrato etanólico bruto; FH: fração hexânica; FE: Fração etérea; FA: Fração acetato de etila; FM Fração hidrometanólica.

No extrato etanólico e na fração hexânica foram detectados a presença de terpenos e esteróides, enquanto que na fração acetato de Etila e fração hidrometanólica detectou-se a presença de saponinas. Alcalóides foram detectados no extrato etanólico e na fase etérea, enquanto que taninos e fenóis foram detectados no extrato etanólico e em todas as frações analisadas, demonstrando assim, grande diversidade de metabólitos presentes nas folhas de *C. peltophoroides*.

Tais resultados podem estar relacionados com atividades biológicas já citadas para a espécie, tais como o desenvolvimento de fibras de colágeno e a re-epitelização de feridas relacionados a presença de taninos nos extratos da casca de *P. pluviosa* (BUENO, 2016), também presentes nas folhas.

Além disso a presença de saponinas nas folhas, demonstra seu potencial cicatrizante, visto que esse metabólito é citado na literatura como responsável por esta atividade, além de sua ação hipocolesterolemizante, anti-inflamatória e expectorante (LOPES, 2011), atividades estas que reforçam o potencial biológico dos extratos de *C. peltophoroides*.

5.3 Avaliação da toxicidade frente à *Artemia salina* Leach.

Em detrimento dos debates éticos à cerca da utilização de animais em experimentos laboratoriais, além do fato financeiro envolvido nos estudos de toxicidade *in vivo*, há a utilização de ensaios de toxicidade *in vitro*, como solução para tais problemáticas. Tais ensaios são utilizados como fase preliminar de testes, no intuito de prever o potencial tóxico da substância a ser testada, de forma a facilitar o direcionamento do teste *in vivo*, utilizando, por exemplo, um menor número de animais experimentais (GOMES, 2011).

A análise estatística dos resultados foi realizada através do programa SPSS 20, com base na determinação da dose letal mediana (DL₅₀) do ensaio toxicológico (Tabela 2).

Tabela 2. Ensaio toxicológico do extrato etanólico e das frações das folhas de *C. peltophoroides* frente à *Artemia salina* Leach.

	Extato etanólico	Fração hexânica	Fração etérea	Fração acetato de etila	Fração hidrometanólica
Concentração (ppm)	Média do Número de <i>A. salina</i> vivas				
1000	7	7	6	6	6
100	10	10	10	8	9
10	9	10	10	9	10
1	9	10	10	9	10
DL ₅₀ (ppm)	3.305.047,9	7.969,2	15.334,8	12.899,3	2.167,7

Ensaios realizados em triplicata

Meyer et al. (1982) estabeleceram relação entre a toxicidade e a CL₅₀ obtida por extratos vegetais sobre *A. salina*, pontuando que valores acima de 1000 ppm, são considerados não tóxicos. Sendo assim, o extrato e as frações das folhas de *C. peltophoroides*, por apresentarem DL₅₀ maiores que 1000 ppm, apresentam valores não significativos de toxidade frente a *A. salina*.

Desta forma, o estrato e frações das folhas de *C. peltophoroides* sugerem alto potencial biológico, visto serem consideradas atóxicas nas concentrações testadas.

5.4 Isolamento e identificação dos constituintes

A fração etérea das folhas de *C. peltophoroides*, foi a escolhida para o fracionamento cromatográfico, pois segundo Guimarães (2015) esta fração apresentou um excelente potencial antioxidante, quando analisado através do ensaio do consumo do radical livre DPPH, uma vez que apresentou resultados similares ao padrão utilizado, a quercetina. A escolha também se deve ao perfil cromatográfico demonstrado na cromatografia em camada delgada realizada, após a revelação com anisaldeído sulfúrico (Figuras 5 e 6).

Através do fracionamento cromatográfico da fração etérea, obteve-se duas substâncias isoladas sendo elas a substância **1** e **2**.

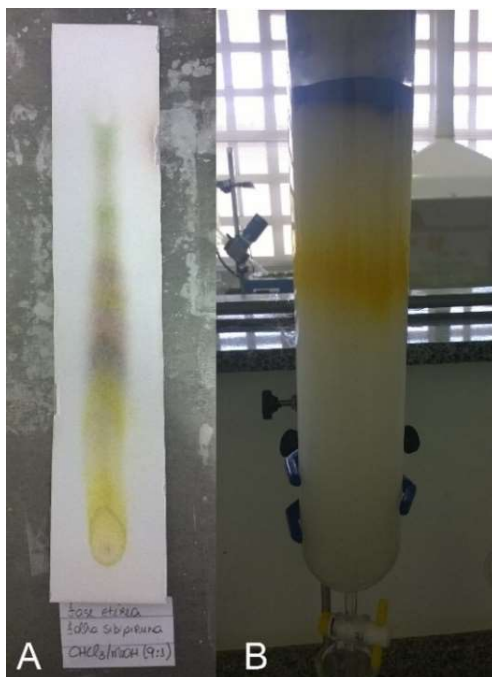


Figura 5. A- Perfil cromatográfico da Fração etérea, em CCD (eluyente: $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 9:1) utilizando como revelador, anisaldeído sulfúrico; B – Coluna cromatográfica da Fração etérea.

Fonte: acervo pessoal.

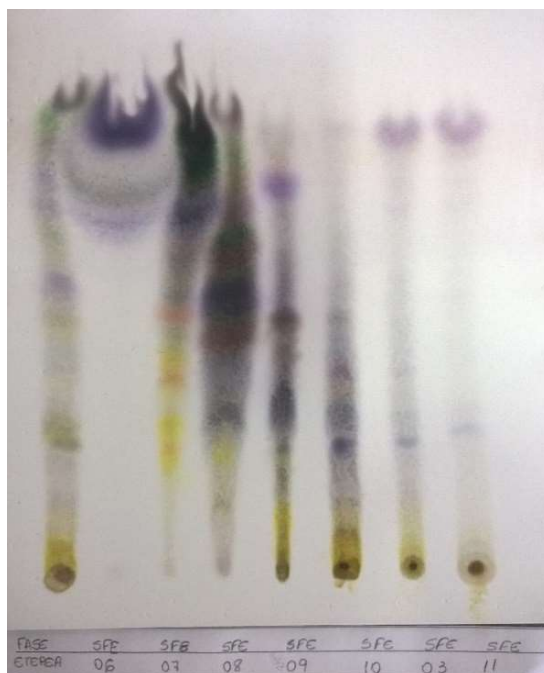


Figura 6. Cromatoplaça das frações obtidas através do fracionamento cromatográfico da Fração etérea. Eluyente Clorofórmio/Metanol na proporção 9:1, utilizando com revelador anisaldeído sulfúrico.

Fonte: acervo pessoal.

A substância **1** (Figura 7) foi identificada com base nos seus espectros obtidos por RMN ^1H (Anexo A), e por análise comparativa dos dados de RMN de ^{13}C (Anexo B; Tabela 3) com os relatados na literatura (AGRAWAL, 1989) mostraram-se consistentes com os dados do flavonóide **quercetina-3-O- β -D-glicopiranosídeo** (isoquercetina

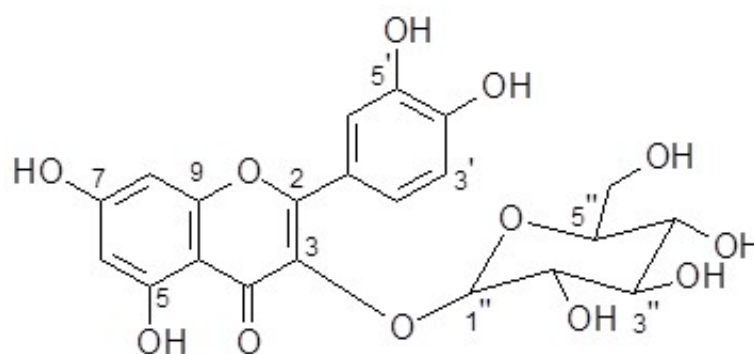


Figura 7. Estrutura química da substância **1 (S30-50)**, identificada com base nos seus espectros de RMN ^1H e por análise comparativa dos dados de RMN de ^{13}C com os relatados na literatura.

A análise dos experimentos 2D $g\text{COSY}$ e $g\text{HMBC}$ (Figura 8) confirmaram a estrutura proposta, assim como o valor obtido no espectro de massas da molécula sodiada m/z 487,0844 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (calculado para $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{12}$: m/z 487,0846).

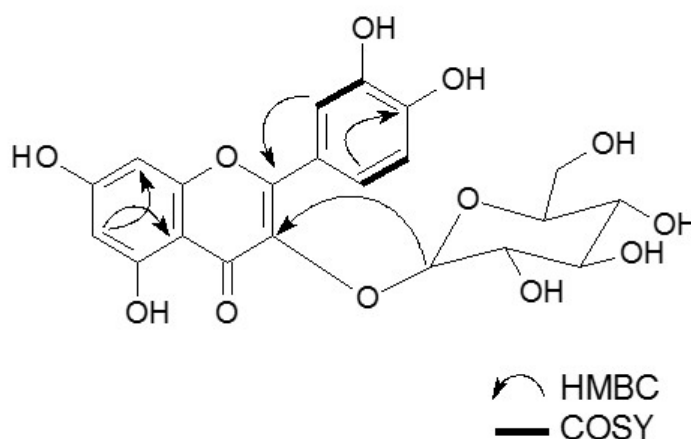


Figura 8. Principais correlações observadas pelos experimentos $g\text{COSY}$ (^1H - ^1H) e $g\text{HMBC}$ (^1H → ^{13}C) para **1**.

Tabela 3. Dados de ^{13}C (125 MHz) da substância **1**, em comparação com dados da literatura, ambos em DMSO- d_6 . Deslocamentos químicos em δ (ppm).

Carbono	Quercetina-3-O- β -D-glicopiranosídeo (AGRAWAL, 1989)	δ_{C} de 1
2	156,5	156,5
3	133,7	133,7
4	177,6	177,8
5	161,3	161,6
6	98,9	99,1
7	164,2	164,7
8	93,6	93,9
9	156,5	156,7
10	104,2	104,3
1'	121,4	121,5
2'	121,6	122,0
3'	115,2	115,6
4'	148,5	148,9
5'	144,8	145,2
6'	116,5	116,6
1''	101,4	101,3
2''	74,3	74,5
3''	76,8	76,9
4''	70,3	70,3
5''	77,5	77,9
6''	61,3	61,3

A substância **2** (Figura 9) foi identificada com base nos seus espectros de RMN ^1H (Anexo C), e por análise comparativa dos dados de RMN de ^{13}C (Anexo D; Tabela 4) com os relatados na literatura (AGRAWAL, 1989) mostraram-se consistentes com os dados do biflavonóide **agatisflavona**. A análise dos experimentos 2D $g\text{COSY}$ e $g\text{HMBC}$ (Figura 10) confirmaram a estrutura proposta, assim como o valor obtido no espectro de massas da molécula desprotonada m/z 537,0841 $[\text{M}-\text{H}]^-$ (calculado para $\text{C}_{30}\text{H}_{18}\text{O}_{10}$: m/z 537,0822).

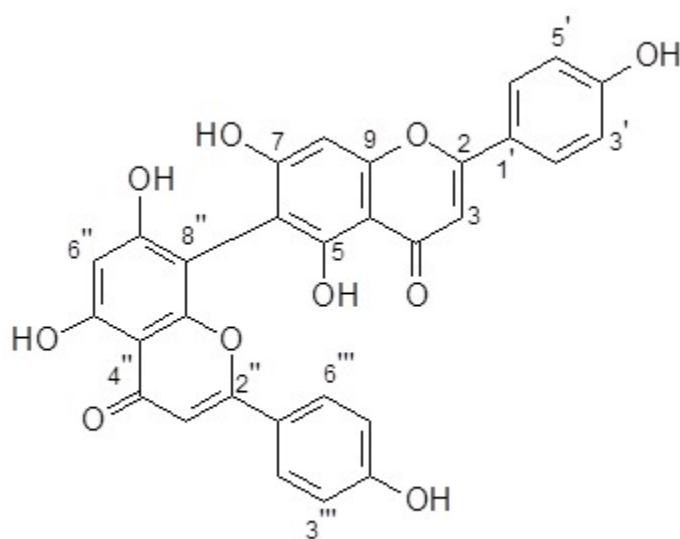


Figura 9. Estrutura química da substância **2** (**S89-35**), identificada com base nos seus espectros de RMN ^1H e por análise comparativa dos dados de RMN de ^{13}C com os relatados na literatura.

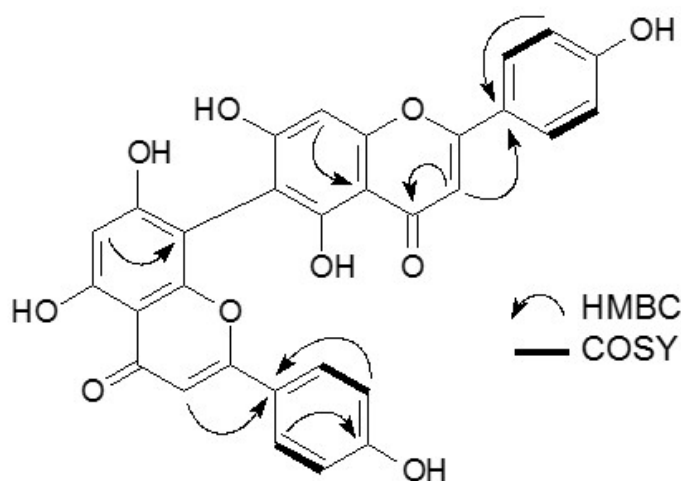


Figura 10. Principais correlações observadas pelos experimentos $g\text{COSY}$ ($^1\text{H}-^1\text{H}$) e $g\text{HMBC}$ ($^1\text{H}\rightarrow^{13}\text{C}$) para **2**.

Tabela 4. Dados de ^{13}C (125 MHz) da substância **2**, em comparação com dados da literatura, ambos em DMSO- d_6 . Deslocamentos químicos em δ (ppm).

Carbono	Agatisflavona (Chari, 1997)	δ de 1
2	164,1	164,1
3	103,1	103,0
4	182,3	182,9
5	160,0	160,0
6	103,6	103,2
7	162,9	161,6
8	93,7	93,9
9	157,0	157,1
10	103,8	103,7
1'	121,5	121,7
2'	128,6	129,0
3'	116,2	116,3
4'	161,3	161,4
5'	116,2	116,3
6'	128,6	129,0
2''	163,9	163,9
3''	102,8	103,0
4''	182,1	182,5
5''	160,9	161,0
6''	98,9	99,0
7''	162,7	161,6
8''	99,4	99,4
9''	155,1	155,2
10''	104,0	104,0
1'''	121,7	121,8
2'''	128,2	128,5
3'''	116,2	116,4
4'''	161,2	160,0
5'''	116,2	116,4
6'''	128,2	128,5

A quercetina-3-O- β -D-glicopiranosídeo (isoquercetina) é um flavonoide glicosilado, derivado da quercetina, naturalmente distribuído em plantas medicinais e alimentares (ZHOU, 2014). Possui uma grande variedade de atividades biológicas, incluindo efeitos anti-inflamatórios (ROGERIO, 2010); atividade antioxidante incluindo a redução da peroxidação lipídica *in vivo* e *in vitro* e inibição da diferenciação de adipócitos (LI, 2011); diminuição dos níveis de glicose no sangue, utilizando como modelo animais diabéticos não insulino-dependentes (ZHANG, 2011). E Morand, et al. (2010) demonstraram que a isoquercetina é melhor absorvida do que a quercetina e apresenta maior biodisponibilidade.

Não foram encontrados relatos na literatura da presença da isoquercetina no gênero *Caesalpinia* e na espécie *C. peltophoroides*, sendo então este trabalho o primeiro a descrever sua presença.

Os biflavonoides pertencem ao grupo dos flavonoides e possuem importantes atividades biológicas. A agatisflavona, é um biflavonóide e são relatadas algumas atividades farmacológicas para a mesma, tais como: atividade antiviral contra o Herpes simplex vírus tipo 1 e tipo 2 (ARAÚJO, 2011), atividade neuroprotetora (SHRESTHA, 2013), inibição dos vírus influenza A e influenza B (LIN, 1999) e reforço da indução da neurogênese por ácido retinóico (PAULSEN, 2011).

A presença da agatisflavona já havia sido citada no gênero *Caesalpinia*, nas folhas da espécie *C. pyramidalis* (BAHIA et al., 2010), no entanto não foram encontrados relatos na literatura da sua presença em *C. peltophoroides*, sendo então, este trabalho o primeiro a relatar a presença da substância na espécie.

Tendo em vista que as substâncias isoladas são um flavonoide e um biflavonoide, e que uma das características destes compostos é o potencial antioxidante, podemos acreditar que haja uma correlação entre as duas substâncias e o potencial antioxidante da fração etérea das folhas de *C. peltophoroides*, apresentado por Guimarães (2005), citado anteriormente. Essa possibilidade poderá ser averiguada em futuros estudos.

Além das substâncias isoladas, em estudos não publicados, a fração etérea das folhas de *C. peltophoroides*, também apresentou alta porcentagem de inibição (> 90%) de células tumorais nas linhagens testadas, sendo elas Hep-2 (câncer cervical), MCF-7 (câncer de mama) e NCI-H292 (câncer de pulmão), através do ensaio do MTT. No mesmo estudo, o extrato etanólico também apresentou alta porcentagem de inibição (> 80%) nas linhagens testadas (Anexo E).

6. CONCLUSÕES

Através da triagem fitoquímica observou-se principalmente a presença de taninos e fenóis em todas as frações e extrato analisados. O extrato e as frações não apresentaram grau significativo de toxicidade frente a *A. salina*. O fracionamento cromatográfico permitiu o isolamento de duas substâncias, as quais foram identificadas por meio de RMN de ^1H e ^{13}C , tendo seus espectros comparados com a literatura para confirmação de suas identidades. As substâncias isoladas foram o flavonoide quercetina-3-O- β -D-glicopiranosídeo e o biflavonoide agatisflavona.

Não foram encontrados relatos na literatura da presença de ambas as substâncias em *C. peltophoroides* sendo esta a primeira vez que elas são citadas na espécie, reforçando a importância do estudo, visto a escassez de informações fitoquímicas a respeito da mesma.

Os resultados obtidos demonstram o potencial químico e biológico da espécie, evidenciando a importância de futuros estudos que comprovem os mesmos.

REFERÊNCIAS

- AGRAWAL, P. K.; BANSAL, M. C.; PORTER, L. J.; FOO, L. Y. Carbon-13 NMR of flavonoids – studies in organic chemistry 39. AGRAWAL, P. K. Elsevier, v. 39, p. 201, 1989.
- AMORIM, L. D. M.; SOUSA, L. O. F.; OLIVEIRA, F. F. M.; CAMACHO, R. G. V.; MELO, J. I. M. Fabaceae na floresta nacional (Flona) de Assú, seminário potiguar, nordeste do Brasil. **Rodriguésia**, v.67, p. 105-123, 2016.
- ARAÚJO, M. F.; SANTOS, C. B.; CAVALCANTI, J. F.; FERNANDA, S.; MENDES, G. S.; WERLE, A. A. Proposed active compounds from *Ouratea parviflora*. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 5, n. 12, p. 2489–2493, 2011.
- BAELMANS, R.; DEHARO, E.; BOURDY, G.; MUÑOZ, V.; QUENEVO, C.; SAUVAIN, M.; GINSBURG, H. A search for natural bioactive compounds in Bolivia through a multidisciplinary approach. Part IV. Is a new haem polymerisation inhibition teste for the detection of antimalarial natural products. **Journal of Ethnopharmacology**, v.73, p. 271-275, 2000.
- BAHIA, M. V.; DAVID, J. P.; DAVID, J. M. Ocurrência de biflavones em folhas de *Caesalpinia pyramidalis* specimens. **Química Nova**, v. 33, n. 6, p. 1297-1300, 2010.
- BARBOSA, W. L. R.; QUIGNARD, E.; TAVARES, I. C. C.; PINTO, L. N.; OLIVEIRA, F. Q.; OLIVEIRA, R. M. Manual para Análise Fitoquímica e cromatográfica de Extratos vegetais. **Revista Científica da UFPA**, v.4, 2004.
- BFG. Growing knowledge: an overview of Seed Plant diversity in Brazil. **Rodriguésia**, v.66, p. 1085-1113, 2015.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC 48 de 16 de março de 2004**. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos. D.O.U., Brasília: Ministério da saúde, 18 mar. 2004.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretária de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. **Política nacional de plantas medicinais e fitoterápicos**. Brasília: Ministério da Saúde, 2006.
- BUENO F. G.; MOREIRA E. A.; MORAIS G. R. D.; PACHECO I. A.; BAESSO M. L.; LEITE-MELLO E. V. D. S.; et. al. Enhanced Cutaneous Wound Healing In Vivo, by Standardized Crude Extract of *Poincianella pluviosa*. **Plos one**, 2016. Acesso em: 3 de agosto de 2016. DOI:10.1371/journal.pone.0149223.
- BUSS, A. D.; WAIGH, R. D. **Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery**. New York: John Wiley & Sons, ed.20, p. 983, 1995.
- CITÓ, A. M. G. L., SOUZA A. A., LOPES, J. A. D., CHAVES, M. H., COSTA, F. B., SOUSA, S. A. A., AMARAL, M. P.M. Resina de *Protium Heptaphyllum* March (Burceraceae): Composição Química do Óleo Essencial e Avaliação Citotóxica

Frente a *Artemia Salina* Leach. **Anais da Associação Brasileira de Química**. n.52, 74, 2003.

CHAKRABARTI S.; BISWAS T.K.; ROKEYA B.; ALI L.; MOSIHUZZAMAN M.; NAHAR N.; KHAN-AZAD A.K.; MUKHERJEE B. Advanced studies on the hypoglycemic effect of *Caesalpinia bonducella* F. in type 1 and 2 diabetes in Long Evans rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v.84, p. 41–46, 2003.

CHARI, V. M.; ILYAS, M.; WAGNER, H.; NESZMÉLYI, A.; CHEN, F. C.; CHEN, L. K.; LIN, Y. C.; LIN, Y. M. ¹³C – NMR spectroscopy of bioflavonoids. **Phytochemistry** v. 16, p. 1273-1278, 1977.

CHU, M. J; WANTZ, Y.Z; ITAKAGI, K, MA, H.X. Identification of active compounds from *Caesalpinia sappan* L. extracts suppressing IL-6 production in RAW 264.7 cells by PLS. **Journal of Ethnopharmacology**, China, v. 148, p. 37-44, Apr. 2013.

DAS, B.; TRIRUPATHI, P.; RAVIKANTH, B.; KUMAR, R. A.; SARMA, A. L. S.; BASHA, S. J. Isolation, synthesis, and bioactivity of homoisoflavonoids from *Caesalpinia pulcherrima*. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v.57, n.10, p.1139–1141, 2009.

DEHARO, E.; BOURDY, G.; QUENEVO, C.; MUÑOZ, V.; RUIZ, G.; SAUVAIN, M. A search for natural bioactive compounds in Bolivia through a multidisciplinary approach. Part V. Evaluation of the antimalarial activity of plants used by the Tacana Indians. **Journal of Ethnopharmacology**, v.77, p.91-98, 2001.

DOYLE, J. J.; LUCKOW, M. A. The rest of the iceberg: legume diversity and evolution in a phylogenetic context. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 131, n. 3, 900-910, 2003.

FABRICANT, D. S.; FARNSWORTH, N.R. The value of plants used in traditional medicine for drug discovery. **Environmental Health Perspectives**, v.109, p. 69-75, March 2001.

FLORES, Y.; VILA, J.; ALMANZA, G. R. Secondary metabolites from *Caesalpinia pluviosa*. **Revista Boliviana de Química**, v.23, n.1, p.1-8, 2006.

GOMES, I. F. **Estudo fitoquímico e atividade biológica de suas espécies do semi-árido paraibano: *Pithecoseris pacourinoides* Marth. (Asteraceae) e *Solanum rhytidoandrum* Sendth. (Solanaceae)**. Dissertação (Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos). Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2011.

GONZALEZ, F. G., BARROS, S. B. M., BACHI, E. M. Atividade antioxidante e perfil fitoquímico de *Caesalpinia ferrea* MART. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.40, s.1, p. 79, 2004.

GUPTA, M.; MAZUMDER, U. K.; KUMAR, R. S.; SIVAKUMAR, T.; VAMSI, M. L. M. Antitumor activity and antioxidante status os *Caesalpinia bonducella* against ehrlich ascites carcinoma in swiss albino mice. **Journal of Pharmacological Sciences**, v.94, n.2, p.177-184, 2004.

HAMILTON, G. R.; BASKETT, T. F. In the arms of Morpheus the development of morphine for postoperative pain relief. **Canadian Journal of Anesthesia**, v.47, p. 367-374, 2000.

HARTWELL, J. L. Plants used against câncer. Lawrence, MA: **Quarterman Publications**, 1982.

JOO, Y.E. Natural product-derived drugs for the treatment of inflammatory bowel diseases. **Intestinal Research**, v.12, p. 103-109, 2014.

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

KAPOOR, L. D. **Handbook of Ayurvedic medicinal plants**. Boca Raton, Florida: CRC Press, 1990.

KAYANO, A. C.; LOPES, S.; BUENO, F. G.; CABRAL, E. C.; SOUZA-NEIRAS, W. C.; YAMAUCH, L. M.; FOGLIO, M. A.; EBERLIN, M. N.; MELLO, J. C.; COSTA, F. *In vitro* and *in vivo* assessment of the anti-malarial activity of *Caesalpinia pluviosa*. **Malaria Journal**, v.10, p.112, 2011.

LEWIS, G. P.; SCHRIRE, B.; MACKINDER, B. & LOCK, M. **Legumes of the world**. Royal Botanic Gardens, Kew. p.592, 2005.

LI R.; YUAN C.; DONG C.; SHUANG S.; CHOI M. M. *In vivo* antioxidative effect of isoquercitrin on cadmium-induced oxidative damage to mouse liver and kidney. **Naunyn Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, 2011.

LIMA, H. C. **Leguminosas arbóreas da Mata Atlântica: uma análise da riqueza, padrões de distribuição geográfica e similaridades florísticas em remanescentes florestais do estado do Rio de Janeiro**. Tese (Doutorado em Ecologia) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2000.

LIMA S. R. M.; VEIGA JUNIOR V. F.; CHRISTO H. B.; PINTO A. C.; FERNANDES P. D. *In vivo* and *in vitro* studies on the anticâncer activity of *Copaifera multijuga* Hayne and its fractions. **Phytotherapy Research**, v. 17, p.1048-1053, 2003.

LIN, Y. M.; FLAVIN, M. T.; SCHURE, R.; CHEN, F. C.; SIDWELL, R.; AL, E. Antiviral activities of biflavonoids. **Planta Medica**, v. 65, n. 2, p. 120–125, 1999.

LORENZI H.; MATOS F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas**. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda, 2002.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, v.1, 4 ed., 2002.

LOPES, T. C. Avaliação moluscicida e perfil fitoquímico das folhas de *Caryocar brasiliense* Camb. **Caderno de Pesquisa**, São Luís, v. 18, n. 3, p.23-30, 2011.

MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; VEIGA JUNIOR, V. F. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química nova**, v. 25, n.3, p. 429, 2002.

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

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

MEYER B. N.; FERRIGNI N. R.; PUTNAM L. B.; JACOBSEN L. B.; NICHOLS D. E.; MCLAUGHLIN J. L. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 45, p. 31, 1982.

MONTANARI, C. A.; BOLZANI, V. S. Planejamento racional de fármacos baseado em produtos naturais. **Química nova**, v.24, n.1, p. 105-111, 2001.

NAKAMURA, E. S.; KUROSAKI, F.; ARISAWA, M.; MUKAINAKA, T.; OKUDA, M.; TOKUDA, H.; NISHINO, H.; PASTORES F. Cancer chemopreventive effects os constituents os *Caesalpinia ferrea* and related compounds. **Cancer Letters**, v. 177, p. 119-124, 2002.

PAULSEN, B. S.; SOUZA, C. S.; CHICAYBAM, L.; BONAMINO, M. H.; BAHIA, M.; COSTA, S. L.; et al. Agathisflavone enhances retinoic acid-induced neurogenesis and its Receptors α and β in pluripotent stem cells. **Stem Cells and Development**, v. 20, n. 10, p. 1711–1721, 2011.

PHILLIPSON J. D.; ANDERSON, L. A. Ethnopharmacology and western medicine. **Journal of Ethnopharmacology**, v.25, p.61-72, 1989.

REINBOTHE, C.; DIETRICH, B.; LUCKNER, M. J. Regeneration of plants from somatic embryos of digitalis-lanata. **Journal of Plant Physiology**, v.137, p.224, 1990.

ROGERIO, A.P.; DORA, C.L.; ANDRADE, E.L.; CHAVES, J.S.; SILVA, L.F.; LEMOS-SENNA, E.; CALIXTO, J.B. Anti-inflammatory effect of quercetin-loaded microemulsion in the airways allergic inflammatory model in mice. **Pharmacological Research**, v.61, n.4, p.288-297, 2010.

ROSENTHAL, G. A.; JANSEN, D. H.; **Herbivores and their interaction with secondary metabolites**. Academic Press, New York, p.309-350, 1979.

SANTOS, C. A., PASSOS, A. M. P. R., ANDRADE, F. C., CAMARGO, E. A., ESTEVAM, C. S., SANTOS, M. R. V., THOMAZZI, S. M. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Caesalpinia pyramidalis* in rodents. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.21, p.1077-1083, 2011.

SANTOS A. O.; UEDA-NAKAMURA T.; DIAS FILHO B. P.; VEIGA JUNIOR V. F.; PINTO A. C.; NAKAMURA C. V. Antimicrobial activity of Brazilian copaiba oils obtained from different species of the *Copaifera* genus. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 103, p.277- 281, 2008.

SARAIVA, A. M.; SARAIVA, C. L.; GONÇALVES, A. M.; SOARES, R. R.; MENDES, F. O.; CORDEIRO, R. P.; XAVIER, H. S.; PISCIOTTANO, M. N. C. Antimicrobial activity and bioautographic study of antistaphylococcal components from *Caesalpinia pyramidalis* Tull. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.18, n.1, São Paulo, 2012.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMAN, G. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6 ed. Porto Alegre: Editora da UFSC e UFRGS, 2007.

SHRESTHA, S.; NATARAJAN, S.; PARK, J. H.; LEE, D. Y.; CHO, J. G.; KIM, G. S. Potential neuroprotective flavonoid-based inhibitors of CDK5/p25 from *Rhus parviflora*. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 23, n. 18, p. 5150–5154, 2013.

SHRESTHA, S.; NATARAJAN, S.; PARK, J. H.; LEE, D. Y.; CHO, J. G.; KIM, G. S. Potential neuroprotective flavonoid-based inhibitors of CDK5/p25 from *Rhus parviflora*. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 23, n. 18, p. 5150–5154, 2013.

SOLECKI R. Shanidar IV a neanderthal flower burial in northern Iraq. **Science**, vol. 190, p. 880-881, May 1975.

SUDHAKAR, M.; RAO, C.V.; RAO, P.M.; RAJU, D.B.; VENKATESWARLU, Y. Antimicrobial activity of *Caesalpinia pulcherrima*, *Euphorbia hirta* and *Asystasia gangeticum*. **Fitoterapia**, v.77, p.378–380, 2006.

SPRENT, J. I. **Nodulation in legumes**. Kew: Royal Botanic Gardens, p.146, 2001.

VEIGA JÚNIOR, V. F.; PINTO, A. C. Plantas medicinais: cura segura? **Química Nova**, v.28, n.3, p.519-528, 2005.

VEIGA JÚNIOR V. F.; ROSAS E. C.; CARVALHO M. V.; HENRIQUES M. G. M. O.; PINTO A. C. Chemical composition and antiinflammatory activity of copaiba oils from *Copaifera cearensis* Huber ex Ducke, *Copaifera reticulata* Ducke and *Copaifera multijuga* Hayne-A comparative study. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 112, p. 248-254, 2007.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Guidelines on good agricultural and collection practices (GACP) for medicinal plants**. WHO Geneve, vol. 1, 2003.

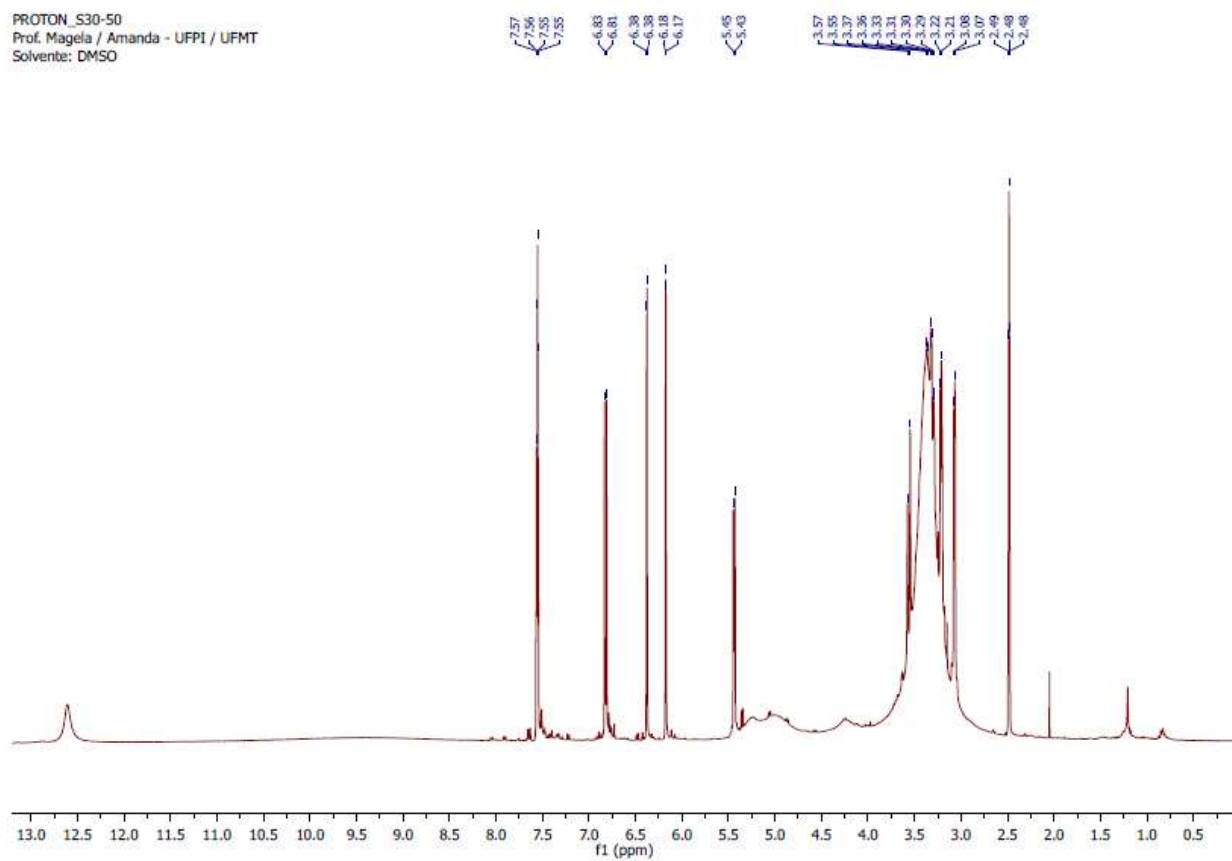
ZANIN, J. L. B.; MASSONI, M.; SANTOS, M. H.; FREITAS, G. C.; NIERO, E. L. O.; SCHEFER, R. R.; LAGO, J. H. G.; IONTA, M.; SOARES, M. G. Caesalpinioflavone, a new cytotoxic biflavonoid isolated from *Caesalpinia pluviosa* var. *peltophoroides*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 26, n. 4, p. 804-809, 2015.

ZHANG, R.; YAO, Y.; WANG, Y.; REN, G. Antidiabetic activity of isoquercetin in diabetic KK-Ay mice. **Nutrition and Metabolism**, v. 8, article 85, 2011.

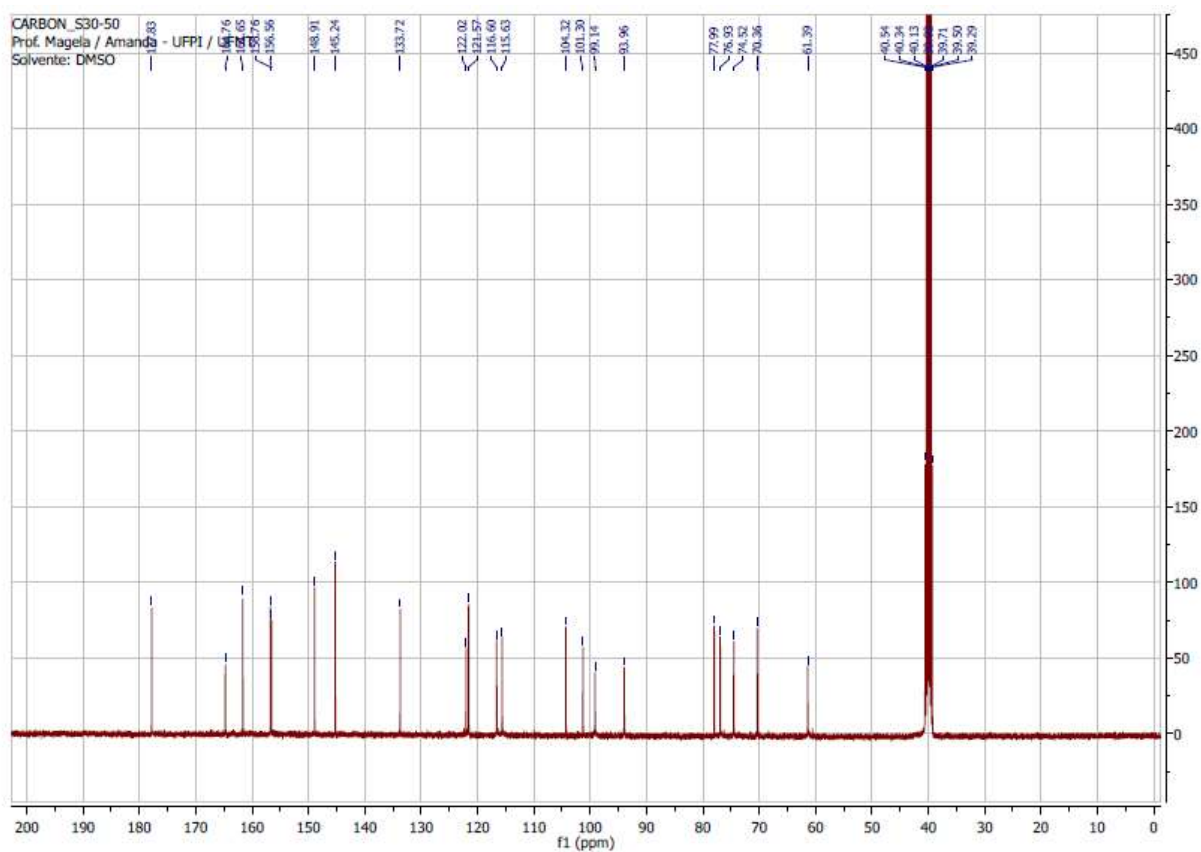
ZHOU J.; YOSHITOMI H.; LIU T.; ZHOU B.; SUN W.; QIN L.; GUO X.; HUANG L., W. U. L.; GAO M. Isoquercitrin activates the AMP-activated protein kinase (AMPK) signal pathway in rat H4IIE cells. **BMC Complementary and Alternative Medicine** v. 14, p.42, 2014.

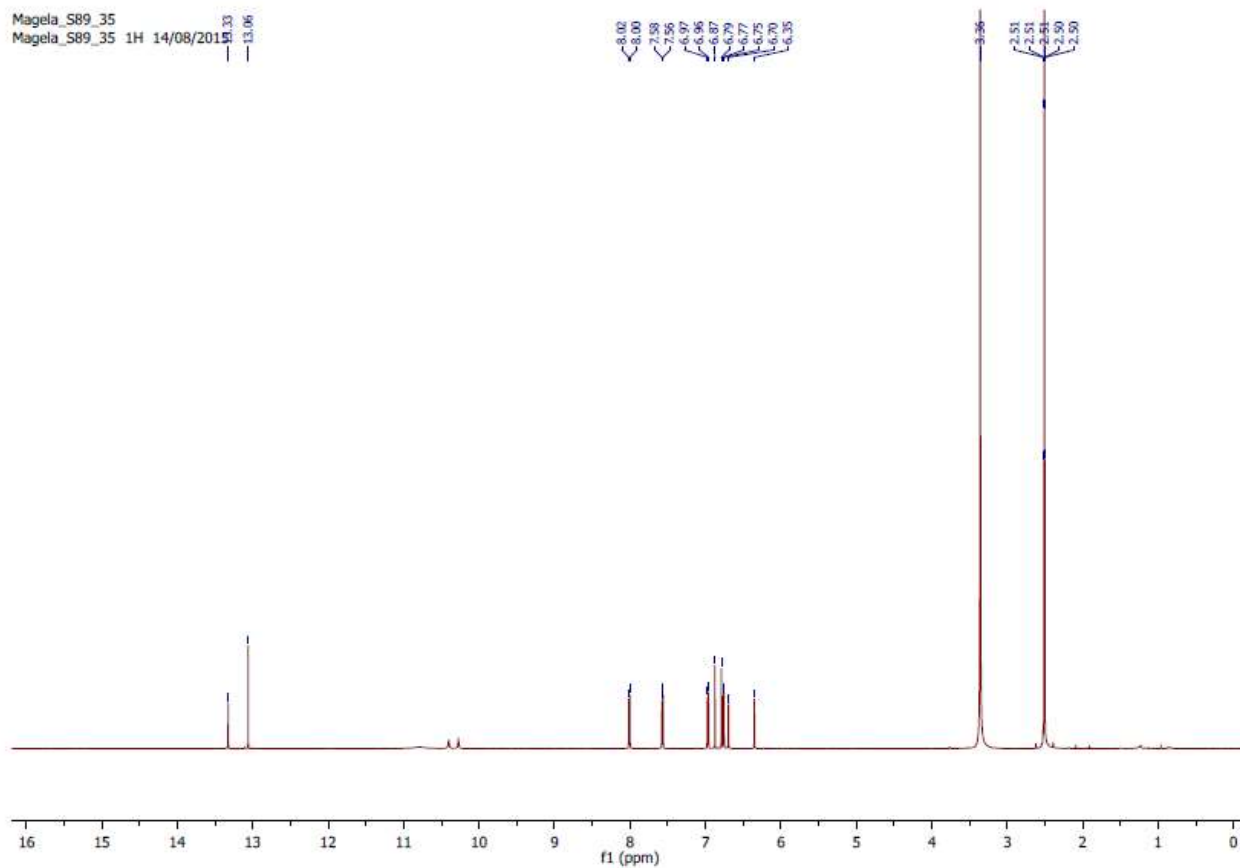
ANEXO A – Espectro de RMN ^1H da substância 1 (quercetina-3-O- β -D-glicopiranosídeo)

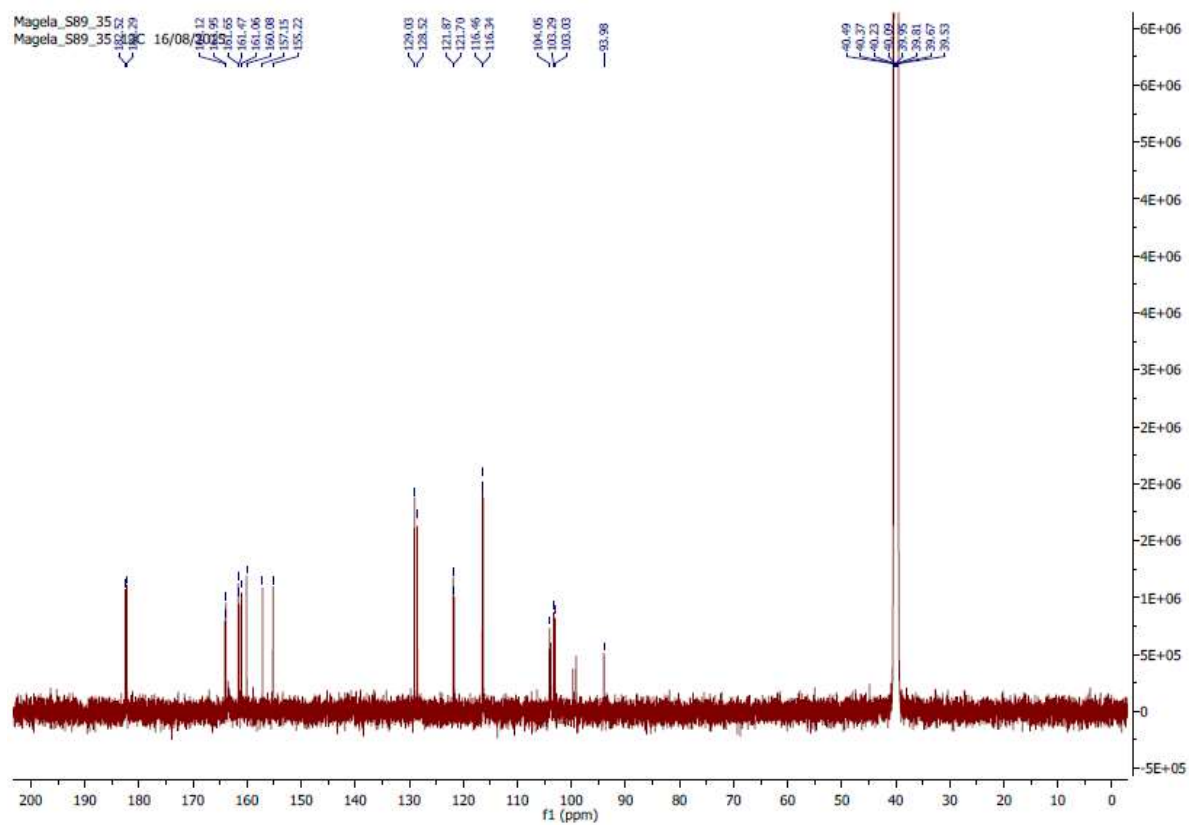
PROTON_S30-50
Prof. Magela / Amanda - UFPI / UFMT
Solvente: DMSO



ANEXO B – Espectro de RMN ^{13}C da substância 1 (quercetina-3-O- β -D-glicopiranosídeo)



ANEXO C - Espectro de RMN ^1H da substância 2 (Agatisflavona)

ANEXO D - Espectro de RMN ^{13}C da substância 2 (Agatisflavona)

ANEXO E – Resumo apresentado na 39ª RASBQ

Sociedade Brasileira de Química (SBQ)

Goiânia – 2016

Chemical constituents and cytotoxic activity of *Caesalpinia peltophoroides*

Amanda C. L. Cunha¹ (IC), Thais de O. Gomes¹ (IC), Thiago D. dos S. Silva² (PG), Gardênia. C. G. Militão² (PQ), Larissa Cavaleiro¹ (PQ), Gerardo Magela Vieira Jr^{3*} (PQ)

¹Institute of Natural, Humanities and Social Sciences, Federal University of Mato grosso, 78557-267, Sinop, MT

²Department of Physiology and Pharmacology, Federal University of Pernambuco, 50670-901, Recife, CE

³Department of Chemistry, Federal University of Piauí, 64049-550, Teresina, PI, *gerardovieira@yahoo.com.br

Keywords: *Caesalpinia peltophoroides*, flavonoids, cytotoxic activity

Abstract

Phytochemical study of leaves from *C. peltophoroides* led to the isolation of two flavonoids: Quercetin-3-O- β -glucopyranoside (1) and Agatisflavone (2) identified by NMR 1D and 2D. Some fractions and EtOH extract from leaves and flowers showed high cytotoxicity against cancer cell lines.

Introdução

The Fabaceae family is found in Brazil and it's constituted by 210 genera and 2694 species.¹ One of it's members, *Caesalpinia peltophoroides*, is popularly known as "Sibipiruna" or "Falso Pau-Brasil". The bark of *C. peltophoroides* is popularly used to treat dysentery and the literature reports studies on antimalarial activity.^{2,3} However, the knowledge about the chemical components of its leaves and flowers, and biological activities is absent. The objectives of the present study were investigate the chemical composition of leaves and the cytotoxic activity of ETOH extracts and fractions from *C. peltophoroides*.

Resultados e Discussão

The EtOH extracts from leaves and flowers of *C. peltophoroides* were partitioned with hexane, ether and ethyl acetate. Ether phase (3.0 g) from leaves, was chromatographed on SiO₂ column, using hexane, AcOEt and MeOH as eluents. Fraction S10 (1.2 g) was rechromatographed on SiO₂ column, using AcOEt/MeOH as eluent. The new fraction S10-30 (318.6 mg) was chromatographed on Sephadex LH-20 column, using MeOH as eluent yielding the compound 1 (14.9 mg). The fraction S8 (356.0 mg) was rechromatographed on SiO₂ column, using hexane/AcOEt and AcOEt/MeOH as eluents. The new fraction S8-9 (35.2 mg) was chromatographed on SiO₂ column, using CHCl₃/MeOH as eluent yielding the compound 2 (5.1 mg). The compounds were identified by NMR 1D and 2D, and by comparison with literature data (Figure 1).⁴

Extracts and phases were evaluated in a variety of tumor cell lines using the colorimetric MTT assay (Table 1).⁵ The EtOH extract and ether phase from leaves revealed high percent inhibition (> 80%) in all tumor cell lines tested. The ethyl acetate phase (flowers) and hexane phase (leaves) presented high percent inhibition (> 80%) in Hep-2 (cervical cancer) and NCI-H292 (lung cancer) (Table 1).

39ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química: Criar e Empreender

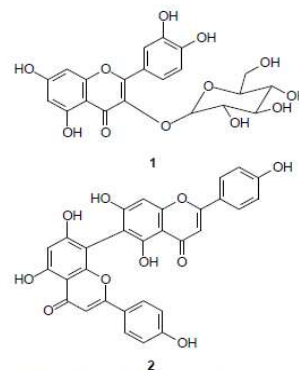


Figure 1. Flavonoids isolated of leaves from *C. peltophoroides*

Table 1. Percent inhibition (%) in single concentration (50 μ g mL⁻¹) of cell growth in three tumor cell lines.

Aerial part	Sample	HEP-2	MCF-7	NCI-H292
flowers	EtOH extract	0	25.9 $\pm$ 20.8	41.3 $\pm$ 3.0
	Hexane phase	0	26.4 $\pm$ 57.4	41.2 $\pm$ 41.6
	Ether phase	0	51.3 $\pm$ 6.4	60.3 $\pm$ 11.3
	Ethyl acetate phase	97.6 $\pm$ 15.6	22.9 $\pm$ 2.6	87.4 $\pm$ 16.8
	MeOH/H ₂ O phase	36.5 $\pm$ 14.9	13.4 $\pm$ 7.7	35.5 $\pm$ 43.0
leaves	EtOH extract	93.4 $\pm$ 5.0	96.1 $\pm$ 11.9	88.6 $\pm$ 3.6
	Hexane phase	102.7 $\pm$ 0.3	73.3 $\pm$ 10.7	105.6 $\pm$ 5.5
	Ether phase	100.1 $\pm$ 3.9	100.3 $\pm$ 6.6	96.0 $\pm$ 1.6
	Ethyl acetate phase	34.5 $\pm$ 0.8	56.8 $\pm$ 5.3	16.4 $\pm$ 73.1
	MeOH/H ₂ O phase	48.9 $\pm$ 7.2	46.5 $\pm$ 4.5	33.8 $\pm$ 0.8
Doxorubicin (2 μ g mL ⁻¹)		100.0 $\pm$ 5.7	100.0 $\pm$ 5.2	64.1 $\pm$ 7.4

Hep-2 (cervical cancer), MCF-7 (breast cancer) and NCI-H292 (lung cancer); Doxorubicin as positive control

Conclusões

The chemical study of the leaves from *C. peltophoroides* resulted in the isolation of two flavonoids. The EtOH extract, hexane phase, and ether phase from leaves and ethyl acetate phase from flowers showed potent cytotoxicity against tumor cell lines. According to phytochemical investigation, suggest that flavonoid(s) may be responsible for high cytotoxicity of the ether phase from leaves.

Agradecimentos

CNPq, UFMT and UFPI.

¹Lorenzi, H. 1949 – *Árvores brasileiras manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil*, vol.1 / Harri Lorenzi. – 3ª ed.—Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2002.

²Deharo, E.; Bourdy, G.; Quenevo, C.; Muñoz, V.; Ruiz, G.; Suvain, M.; J. *Ethnopharmacol.* **2001**, 77, 91.

³Baelmans, R.; Deharo, E.; Bourdy, G.; Muñoz, V.; Quenevo, C.; Suvain, M.; Ginsburg, H. J. *Ethnopharmacol.* **2000**, 73, 271.

⁴Agrawal, P. K.; *Carbon-13 of Flavonoids*, Elsevier, 1989.

⁵Mosmann T. J. *Immunol. Methods.* **1983**, 16, 55.

Amanda Jordine Lima Cunha

Data e assinatura do aluno (a)

Carla Regina Andriglatti

Data e assinatura do orientador (a)