



UEPB

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS I
CENTRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA - CCT
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM QUÍMICA INDUSTRIAL**

WALLACE AMORIM MACHADO DE QUEIROZ

**ESTUDO QUÍMICO DE EXTRATOS OBTIDOS DE *Pseudobombax simplicifolium*
VISANDO À OBTENÇÃO DE NOVOS COMPOSTOS BIOATIVOS**

**CAMPINA GRANDE
2021**

WALLACE AMORIM MACHADO DE QUEIROZ

**ESTUDO QUÍMICO DE EXTRATOS OBTIDOS DE *Pseudobombax simplicifolium*
VISANDO À OBTENÇÃO DE NOVOS COMPOSTOS BIOATIVOS**

Trabalho de Conclusão de Curso (Artigo) apresentado a Coordenação do Curso de Química Industrial da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Química Industrial.

Área de concentração: Química orgânica

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Maria da Conceição Menezes Torres.

**CAMPINA GRANDE
2021**

É expressamente proibido a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

Q3e Queiroz, Wallace Amorim Machado de.

Estudo químico de extratos obtidos de *Pseudobombax simplicifolium* visando à obtenção de novos compostos bioativos [manuscrito] / Wallace Amorim Machado de Queiroz. - 2021.

30 p. : il. colorido.

Digitado.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Química Industrial) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências e Tecnologia, 2021.

"Orientação : Profa. Dra. Maria da Conceição de Menezes Torres, Departamento de Química - CCT."

1. *Pseudobombax simplicifolium*. 2. Cromatografia. 3. Atividade antioxidante. 4. Compostos bioativos. I. Título

21. ed. CDD 615.321

WALLACE AMORIM MACHADO DE QUEIROZ

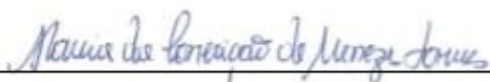
ESTUDO QUÍMICO DE EXTRATOS OBTIDOS DE *Pseudobombax simplicifolium*
VISANDO À OBTENÇÃO DE NOVOS COMPOSTOS BIOATIVOS

Trabalho de Conclusão de Curso (Artigo) apresentado a Coordenação do Curso de Química Industrial da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Química Industrial.

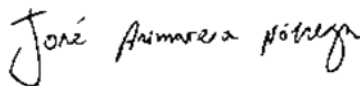
Área de concentração: Química orgânica

Aprovada em: 15/10/2021.

BANCA EXAMINADORA



Prof^a. Dr^a. Maria da Conceição Menezes Torres (Orientadora)
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Prof. Dr. José Arimateia Nóbrega
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Prof. Me. Helimarcos Nunes Pereira.
Faculdade Rebouças de Campina Grande (FRCG)

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 –	CCDA das substâncias isoladas (PS-01 e PS-02)	12
Figura 2 –	Estrutura do Lupeol.....	13
Figura 3 –	Estrutura do β -sitosterol.....	15

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Pesquisa dos metabólitos secundários do extrato da <i>P. simplicifolium</i>	9
Tabela 2 –	Massas das frações obtidas na C1.....	10
Tabela 3 –	Massas das frações obtidas na C2.....	10
Tabela 4 –	Classes de metabólitos secundários analisados nos extratos de <i>P. simplicifolium</i>	11
Tabela 5 –	Dados de RMN ¹ H de PS-01 e comparação com os da literatura do Lupeol.....	13
Tabela 6 –	Atividade antioxidante dos extratos e frações de <i>P. simplicifolium</i> frente aos métodos DPPH, ABTS e CAT.....	15

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	7
2	METODOLOGIA	8
2.1	Coleta e identificação do material vegetal.....	9
2.2	Preparação da droga e extrato vegetal.....	9
2.3	Screening fitoquímico.....	9
2.4	Análise quantitativa.....	9
2.5	Fracionamento cromatográfico e isolamento dos constituintes químicos.....	10
2.5.1	<i>Cromatografia em coluna (CC) e isolamento de PS-01 e PS-02.....</i>	10
2.6	Atividade biológica.....	11
3	RESULTADOS E DISCUSSÕES	11
3.1	Identificação estrutural de PS-01.....	12
3.2	Identificação estrutural de PS-02.....	14
3.3	Atividade biológica.....	15
4	CONCLUSÃO	16
	REFERÊNCIAS	16
	ANEXO A - ESPECTRO RMN ¹ H (δ, CDCI ₃) DE PS-01.....	21
	ANEXO B – EXPANSÃO DO ESPECTRO RMN ¹ H (δ, CDCI ₃) DE PS-01.....	22
	ANEXO C – ESPECTRO RMN ¹³ C (δ, CDCI ₃) DE PS-01.....	23
	ANEXO D – ESPECTRO RMN ¹³ C – Dept 135° (δ, CDCI ₃) DE PS-01..	24
	ANEXO E – ESPECTRO HMBC (δ, CDCI ₃) DE PS-01.....	25
	ANEXO F – ESPECTRO HMQC (δ, CDCI ₃) DE PS-01.....	26
	ANEXO G – ESPECTRO de COSY (δ, CDCI ₃) DE PS-01.....	27
	ANEXO H – ESPECTRO RMN ¹ H (δ, CDCI ₃) DE PS-02.....	28
	ANEXO I – EXPANSÃO DO ESPECTRO RMN ¹ H (δ, CDCI ₃) DE PS-02.....	29

ESTUDO QUÍMICO DE EXTRATOS OBTIDOS DE *Pseudobombax simplicifolium* VISANDO À OBTENÇÃO DE NOVOS COMPOSTOS BIOATIVOS

CHEMICAL STUDY OF EXTRACTS OBTAINED FROM *Pseudobombax simplicifolium* AIMING TO OBTAIN NEW BIOACTIVE COMPOUNDS

Wallace Amorim Machado de Queiroz *
Maria da Conceição de Menezes Torres **

RESUMO

As plantas do gênero *Pseudobombax*, pertencentes à família Malvaceae, tem ampla aplicação na medicina popular e são conhecidas pelas suas atividades anti-inflamatórias, antinociceptivas, antioxidantes, antimicrobianas e anticâncer. O presente trabalho teve como objetivo investigar a composição química e atividade biológica de *Pseudobombax simplicifolium*, uma espécie com indicação de uso medicinal popular. Os extratos hidroalcoólicos das cascas e folhas de *P. simplicifolium* foram submetidos à análise fitoquímica qualitativa e quantitativa para flavonoides, bem como a avaliação da atividade antioxidante. A análise quantitativa confirmou os testes qualitativos, mostrando baixos teores de flavonoides, sendo de $0,603 \pm 0,03$ mg/g para o EHC-PS e $73,161 \pm 0,08$ para o EHF-PS. Os extratos e as frações da casca apresentaram atividade antioxidante bastante significativa, frente aos métodos DPPH, ABTS e CAT, sendo as frações mais polares as mais ativas. A investigação química do extrato hidroalcoólico das cascas foi realizada utilizando técnicas clássicas de cromatografias como: cromatografia em coluna (CC), empregando gel de sílica como adsorvente e cromatografia em camada delgada analítica (CCDA), e resultou no isolamento de duas substâncias codificadas de PS-01 e PS-02. As estruturas das duas substâncias isoladas foram elucidadas com base nos dados de RMN ^1H e ^{13}C como sendo o lupeol (PS-01) e β -sitosterol (PS-02).

Palavras-chave: *Pseudobombax simplicifolium*, Cromatografia, Atividade antioxidante.

ABSTRACT

The plants of the gender *Pseudobombax*, that belong to *Malvaceae* family, are largely used in popular medicine and are known by their anti-inflammatory, antinoceptive, antioxidants, antimicrobials and anticancer activities. This paper had the aim to investigate the chemical composition and the biological activity of *Pseudobombax simplicifolium*, a species with popular medicine indication use. The

* Aluno do curso Química Industrial, Departamento de Química UEPB, Campina Grande, PB, wallaceamorim2011@hotmail.com.

** Doutora, Docente titular da UEPB, Departamento de Química UEPB, Campina Grande, PB, mariatorres@servidor.uepb.edu.br.

hydroalcoholic extracts from the peels and leaves of the *P. simplicifolium* were submitted to quantitative and qualitative phytochemistry analysis for flavonoids, and also to the evaluation of the antioxidant activity. The quantitative analysis confirmed the qualitative tests, expressing low flavonoids contents, which were $0,603 \pm 0,03$ mg/g to EHC-PS and $73,161 \pm 0,08$ to EHF-OS. The extracts and the fractions of the peels expressed very significant antioxidant activity, using the DPPH, ABTS and CAT methods, being the most polar fractions the most actives. The chemical investigation of the peels' hydroalcoholic extract happened by using chromatographies classic techniques such as: column chromatography, using silica gel as absorbent; and analytical thin layer chromatography, and resulted in the isolation of two substances, coded as PS-01 and PS-02. The structures of the two isolated substances were elucidated based on the RMN ^1H and ^{13}C data as being lupeol (PS-01) and β -sitosterol (PS-02).

Keywords: *Pseudobombax simplicifolium*, Chromatography, antioxidant activity.

1 INTRODUÇÃO

A utilização de plantas para cura, tratamento e prevenção de doenças pelo homem, é milenar, a utilização de práticas não convencionais de saúde, como o uso de plantas medicinais e medicamentos fitoterápicos, pela sociedade para o tratamento de suas patologias é um cenário que vem crescendo em todo o mundo. Além de ser uma opção de baixo custo em relação às drogas sintéticas disponíveis, ela encontra-se intrinsecamente atrelada a fortes influências culturais (LUCENA; GUEDES, 2020).

Atualmente, os produtos naturais têm grande importância na área da saúde, desde que cerca de 60% de todos os princípios ativos encontrados nas formulações dos medicamentos são originários de forma direta ou indireta de um produto natural (NEWMAN; CRAGG, 2020). É, portanto, notável a contribuição dos produtos naturais, como fonte de compostos bioativos, com perspectiva de medicamento, os quais podem ser oriundos de fontes diversas como, a partir de plantas, organismos marinhos e microrganismos marinhos ou terrestres.

Os fitoterápicos, que são largamente usados na cura de doenças ou no alívio de seus sintomas, têm uma eficácia terapêutica baseada na ação sinérgica de vários compostos ativos, que buscam proporcionar melhorias nas condições de vida, evitando o agravamento de problemas de saúde pré-existentes e efeitos colaterais oriundos de associações medicamentosas. Geralmente, esses efeitos acometem pacientes mais idosos portadores de doenças crônicas, fazendo com que terapias de menor impacto fisiológico sejam mais benéficas em tratamentos com uso prolongado de medicamentos (SESGIN, 2020; LI et al, 2020).

As substâncias naturais de origem vegetal são fontes promissoras de biomoléculas ativas, como os flavonoides, cuja ação antimicrobiana, antioxidante, anti-inflamatória e imunomoduladora é bem conhecida. Dietas ricas dessas substâncias podem auxiliar no combate ao estresse oxidativo, diabetes, inflamação crônica, doenças neurodegenerativas e cardiovasculares ou mesmo câncer (LIU et al, 2014; OWONA; ABIA; MOUNDIPA, 2020).

No entanto, para se chegar a um medicamento desenvolvido a partir de uma planta, este deve passar por várias etapas, e por uma pesquisa multidisciplinar desde o campo da botânica, microbiologia, biologia molecular, farmacologia, toxicologia, experimentos clínicos e técnicas analíticas como a espectroscopia, cromatografia, estudos computacionais, entre outras (CECHINEL FILHO, 2015). Além disso, a pesquisa deve seguir algumas etapas essenciais, desde a pesquisa da planta, coleta, obtenção da droga vegetal, extração, isolamento de componentes ativos, até culminar com o desenvolvimento de uma forma farmacêutica adequada para o uso *in vivo*.

Diante disso, por possuir um grande número de espécies vegetais endêmicas a região de inserção, o ecossistema da caatinga é conhecido por sua heterogeneidade vegetal, espécies ainda poucos explorados no que diz respeito da farmacologia, porém são usadas e conhecidas em uma rede empírica quanto ao seu uso tradicional (PEREIRA-JUNIOR et al. 2014; RIBEIRO, 2014). Outro aspecto fundamental para tal destaque está no seu aspecto de grande diversidade de plantas medicinais já consagradas pela farmacopeia brasileira.

A Caatinga é um bioma brasileiro com diversas espécies vegetais importantes nos aspectos botânico e terapêutico, sendo um rico ecossistema e exclusivamente brasileiro, o bioma possui cerca de 4.322 espécies de plantas (CORDEIRO; FÉLIX, 2014). Nesse domínio fitogeográfico é provável encontrar elevadas taxas de endemismo, mensurando que cerca de 40% das espécies da formação florística identificadas sejam endêmicas (IBGE, 1992).

Várias plantas da família Malvaceae fazem parte do elenco de plantas do sistema de medicina tradicional da região Nordeste, destacando-se quanto às propriedades antiinflamatórias, antinociceptivas, antioxidantes, antimicrobianas e anticâncer (PAIVA et al., 2013; CHAVES et al., 2013; SHAIKH et al., 2016; BABU et al., 2016; MAH et al., 2017).

O gênero *Pseudobombax*, pertencente, atualmente, a família Malvaceae, possui distribuição exclusiva na América do Sul, especialmente na Bolívia, Brasil, Paraguai e Peru (BOVINI, 2010). No Brasil, as plantas desse gênero ocorrem nos estados da Bahia, Ceará, Paraíba, Pernambuco e Rio Grande do Norte. Suas plantas são conhecidas popularmente como embiratanha, imbiruçu, paineira-imiruçu ou sumaúma e são, particularmente, relatadas como possuidoras de ação anti-inflamatória no nordeste brasileiro (AGRA et al., 2008). Estudos envolvendo a química de plantas do gênero *Pseudobombax*, são bastante incipientes e os poucos estudos fitoquímicos encontrados relatam a presença de compostos pertencentes às classes de flavonoides, esteroides e taninos (CHAVES et al., 2013; PAIVA et al., 2013), ressaltando a necessidade de estudos fitoquímicos visando o isolamento e elucidação estrutural desses metabólitos.

Neste contexto, então o presente estudo propõe a prospecção química e farmacológica dos extratos obtidos de *Pseudobombax simplicifolium*, visando à caracterização química e a investigação das propriedades farmacológicas dos compostos isolados.

2 METODOLOGIA

2.1 Coleta e identificação do material vegetal

Foram obtidos exemplares (cascas do caule e folhas) de plantas de *P. simplicifolium* A. Robyns da família Malvaceae, coletados no Parque Nacional do Catimbau – PE, com excisata depositada de número 94.671 no herbário do Instituto Agrônomo do Pernambuco – IPA, na cidade de Recife (PE) região Nordeste do Brasil, apresentando as seguintes coordenadas geográficas (8° 24' 00" e 8° 36' 35" de Latitude Sul e 37° 09' 30" e 37° 14' 40" de Longitude Oeste. Posteriormente as cascas do caule e folhas de *P. simplicifolium* A. Robyns foram extraídas no laboratório do Instituto Nacional do Semiárido – INSA em Campina Grande-PB.

2.2 Preparação da droga e extrato vegetal

As folhas e as cascas do caule de *P. simplicifolium* foram secas em estufa por 7 dias a temperatura de aproximadamente 40 °C. O material foi triturado em moinho de facas, dando origem a 158,28 g da droga vegetal das folhas (DVF-PS) e 174,29 g da droga vegetal das cascas de *P. simplicifolium* (DVC-PS).

As drogas vegetais foram submetidas à extração por maceração dinâmica, usando uma solução de etanol/água 30%, mantidos em agitação por um período de 24 horas. Realizou-se três extrações (3 x 500 mL), e posteriormente, o extrato foi separado do resíduo através de uma filtração simples em papel de filtro e o solvente evaporado em rotaevaporador a pressão reduzida, resultando no extrato hidroalcoólico das cascas do caule (EHC-PS) e das folhas (EHF-PS).

O extrato hidroalcoólico das cascas de *P. simplicifolium* (EHC-PS; 25,03 g) e o extrato hidroalcoólico das folhas de *P. simplicifolium* (EHF-PS; 25,97 g) foram submetidos à *screening* fitoquímico, análise quantitativa e avaliação da atividade antioxidante do extrato bruto e suas frações. Bem como o extrato EHC-PS foi submetido ao fracionamento cromatográfico.

2.3 Screening fitoquímico

O *screening* fitoquímico (Tabela 1) seguiu a metodologia descrita por Matos (1997) e adaptada por Costa (2010).

Tabela 1. Pesquisa dos metabólitos secundários do extrato da *P. simplicifolium*.

GRUPO QUÍMICO	TESTE APLICADO
Saponinas	Teste da espuma
Polissacarídeos	Lugol
Fenois e Taninos	FeCl ₃ 1%
Flavonoides	Shinoda; Oxalo-bórico
Esteroides e Triterpenoides	Liebermann-Buchard
Alcaloides	Dragendorff; Bouchard; Mayer

2.4 Análise quantitativa

A análise quantitativa do extrato EHC-PS para o grupo químico foi realizada em placas de 96 poços e foi efetuada a leitura das absorbâncias em Leitor de ELISA série Expert Plus. O teor total de flavonoides foi quantificado por um método

colorimétrico. Cada amostra (200 µL) a 2 mg/mL foi misturada com 100 µL de solução de $AlCl_3$ a 2% em metanol para permitir à reação a temperatura ambiente por 10 minutos. A absorbância foi medida a 410 nm e uma curva de calibração foi realizada simultaneamente nas mesmas condições operacionais usando quercetina (Qct) como controle positivo. Os resultados foram expressos como equivalente de quercetina por grama de extrato seco (mg eq/g).

2.5 Fracionamento cromatográfico e isolamento dos constituintes químicos

O extrato das cascas de *P. simplicifolium* foi submetido a fracionamentos através de filtração em gel de sílica e as frações obtidas foram submetidas a processos cromatográficos tais como: cromatografia camada delgada analítica e cromatografia em coluna.

2.5.1 Cromatografia em coluna (CC) e isolamento de PS-01 e PS-02

O extrato das cascas de *P. simplicifolium* (25,03 g) foi cromatografado em coluna aberta, onde foram utilizados 75,82 g de sílica gel para a composição da fase estacionária e como fase móvel foi usada os solventes hexano, acetato de etila e metanol, puros em misturas binárias de polaridade crescente. Na coluna cromatográfica (C1) forneceu nove frações, as quais estão apresentadas, com suas respectivas massas, na tabela 2.

Tabela 2. Massas das frações obtidas na C1.

Eluente	Frações	Massa (g)
Hex 100%	1	0,009
Hex/AcOEt 25%	2	0,213
Hex/AcOEt 50%	3	0,251
Hex/AcOEt 75%	4	0,062
AcOEt 100%	5	0,032
AcOEt/MeOH 25%	6	3,94
AcOEt/MeOH 50%	7	11,39
AcOEt/MeOH 75%	8	2,83
MeOH 100%	9	2,16

Todas as frações resultantes da C1 foram analisadas por CCDA para verificação de seus perfis cromatográficos. As frações 2 e 3, as quais mostraram um perfil semelhante na análise por CCDA, foram reunidas, fornecendo 464,24 mg, e submetidas a nova coluna cromatográfica (C2). Os solventes utilizados como eluentes, as obtidas frações (51 frações com aproximadamente 8 mL) e com suas respectivas massas estão sumarizadas na tabela 3.

Tabela 3. Massas das frações obtidas na C2.

Eluente	Frações	Frações reunidas	Massa (mg)
Hex/AcEt 10%	1-10	1-7	6,66
		8-10	22,0

Hex/AcEt 20%	11-30	11-13	137,0
		14-20	112,2
		21-30	19,7
Hex/AcEt 30%	31-40	31-45	27,7
Hex/AcEt 50%	41-51	46-51	5,8

A análise por CCDA das frações F11 a F13, as quais se apresentaram na forma de um material cristalino, permitiu identificar um elevado grau de pureza para essas frações, obtendo um ponto de fusão em torno de 220 °C. Tais frações foram reunidas, fornecendo 137,0 mg de substância pura, a qual foi codificada por **PS-01**.

Após sucessivas cromatografias, a partir da fração F7 a F23 da C4, utilizando como fase móvel solventes hexano, acetato de etila e metanol, puros em misturas binárias de polaridade crescente, foi isolado 10,9 mg de uma substância na forma de um pó branco, a qual foi codificada de **PS-02**.

2.6 Atividade biológica

Os extratos foram submetidos inicialmente à avaliação da atividade antioxidante, a qual foi realizada no Laboratório de Produtos Naturais do Departamento de Bioquímica no Centro de biociências da Universidade Federal do Pernambuco, sob a coordenação da Profa. Dra. Márcia Vanusa da Silva.

A atividade antioxidante foi realizada através de 3 métodos: a avaliação da atividade sequestradora do cátion radical 2',2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfonato) (ABTS⁺), onde baseou-se na geração do radical catiônico cromóforo obtido a partir da oxidação de ABTS por persulfato de potássio (Re et al., 1999). A avaliação da atividade sequestradora do radical 2,2-difenil-1-picrilidrazilo (DPPH), onde foi medida por meio de doação de hidrogênio usando o radical estável DPPH (Blois, 1958). E por fim, a capacidade antioxidante total por fosfomolibdênio (CAT), a qual foi avaliada pelo método do fosfomolibdênio, que consistiu na capacidade da composição em reduzir o molibdênio e formar o complexo fosfato-molibdato (Pietro et al., 1999).

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Com base nos resultados previamente obtidos na prospecção fitoquímica dos extratos hidroalcoólicos das cascas do caule (EHC-PS) e das folhas (EHF-PS) de *P. simplicifolium* (Tabela 4), os extratos EHC-PS e EHF-PS foram submetidos à análise quantitativa para flavonoides, posteriormente descritos.

Tabela 4. Classes de metabólitos secundários analisados nos extratos de *P. simplicifolium*

Classes de metabólitos secundários	EHC-PS	EHF-PS
Saponinas	+	-
Polissacarídeos	-	-
Fenóis e Taninos	+	-
Flavonóides	-	+/-
Esteróides e Triterpenos	-	+
Alcalóides	+/-	+

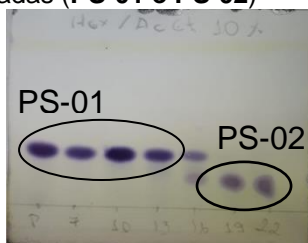
(+) Presença; (-) Ausência; (+/-) Fraca presença.

A análise quantitativa evidenciou teores de flavonoides $0,603 \pm 0,03$ mg/g para o EHC-PS e $73,161 \pm 0,08$ para o EHF-PS, confirmando a análise qualitativa mostrada na tabela 4, justificando as baixas concentrações de flavonoides presente no EHC-PS. Essa classe de substâncias já foi detectada em outras espécies de *Pseudobombax*, no entanto, ainda não havia estudos semelhantes realizados para *P. simplicifolium*.

O extrato das cascas de *P. simplicifolium* (EHC-PS) foi submetido a fracionamentos cromatográficos visando o isolamento e purificação dos compostos bioativos, visto que as cascas do caule são utilizadas no tratamento de processos inflamatórios.

Após sucessivas cromatografias, foi possível o isolamento de duas substâncias (**PS-01 e PS-02**), como mostrado na figura 1.

Figura 1. CCDA das substâncias isoladas (**PS-01 e PS-02**)



Fonte: própria (2018)

As estruturas de **PS-01 e PS-02**, foram determinadas com base na análise de seus dados espectrais, particularmente, de ressonância magnética nuclear de hidrogênio e carbono 13 (RMN ^1H e ^{13}C).

3.1 Identificação estrutural de PS-01

A estrutura de **PS-01** foi determinada com base na análise de seus dados espectrais, particularmente, de ressonância magnética nuclear de hidrogênio e carbono 13 (RMN ^1H e ^{13}C), incluindo experimentos uni e/ou bidimensionais (Anexos A-G). O espectro de RMN ^{13}C de **PS-01** apresentou 30 linhas espectrais característico de um triterpeno, que em comparação com o espectro RMN ^{13}C - DEPT 135° , permitiu verificar a presença de 7 carbonos metílicos (CH_3), 11 metilênicos (CH_2) e 6 metínicos (CH), e devido a diferença, restaram-se 6 carbonos não hidrogenados. Um sinal em δ_{C} 79,24 sugeriu a ocorrência de carbono metínico oxigenado, e dois sinais em δ_{C} 109,54(CH_2) e 151,19(C), foram atribuídos a sinais de carbonos referentes a uma ligação dupla dissustituída e terminal. O espectro de RMN ^1H exibiu um grande número de sinais na região entre δ_{H} 0,81-1,73, sendo que nessa faixa foram observados 7 singletos, que foram atribuídos a hidrogênios de grupo metila ligados a átomos de carbono saturados e não hidrogenados. A análise desses dados em comparação com os da literatura (ARATANECHMUGE et al, 2004; JEFFREYS; NUNEZ, 2016) (Tabela 5) foi possível determinar a estrutura de **PS-01** como sendo o lupeol (Figura 2), um triterpeno comumente isolado de plantas.

Estudos mostram que o lupeol apresenta diversas atividades farmacológicas, tais como: Anti-inflamatória (OLIVEIRA-JUNIOR et al, 2019; KASINATHAN, SUBRAMANIYA, SIVASITHAMPARAM, 2018; SÁNCHEZ-BURGOS et al, 2015; THIRUMALAISAMY et al, 2020; LEE et al, 2016), anticâncer (BHATTACHARYYA et al, 2019; JIANG et al, 2020; MIN et al, 2019), antimicrobiana (AMOUSSA et al, 2016; OKUSA et al, 2014), antiviral (SILVA et al, 2017), como também atividade antioxidante (TCHIMENE et al, 2016), entre outras, revelando o lupeol como um produto natural bastante promissor.

Figura 2. Estrutura do Lupeol

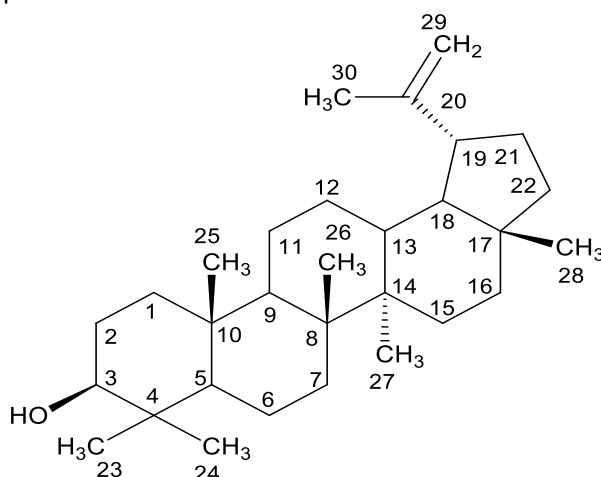


Tabela 5. Dados de RMN ^1H de PS-01 e comparação com os da literatura do Lupeol

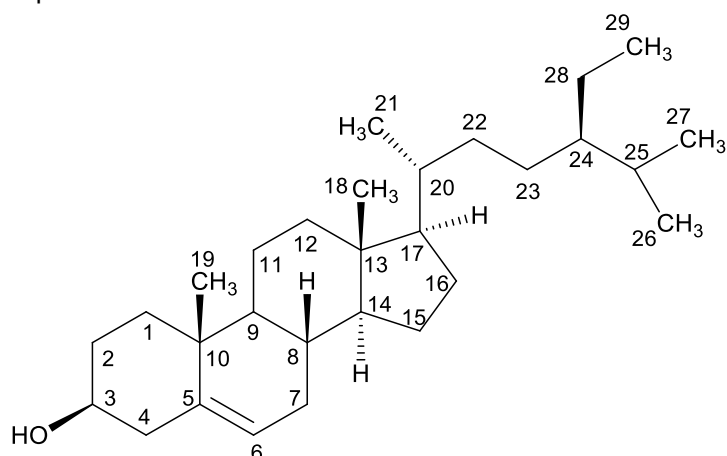
C	δ_c (PS-01)	δ_H (PS-01)	δ_c (lit.)	δ_H (lit.)
1	39,1	1,65(1H, m); 0,95(1H, m)	38,7	1,65 (1H, m); 0,90(1H, m)
2	27,7	1,59 (1H, m); 1,68 (1H, m)	27,4	1,59 (1H, m); 1,67 (1H, m)
3	79,4	3,23 (1H, dd, J=4,8 e 11,4 Hz)	79,0	3,20 (1H, dd, J=5,03 e 11,5Hz)
4	39,0	-	38,7	-
5	55,5	0,72 (1H, m)	55,3	0,68 (1H, m)
6	18,5	1,41 (1H, m); 1,52 (1H, m)	18,3	1,40 (1H, m); 1,50 (1H, m)
7	34,5	1,32 (1H, m); 1,44 (1H, m)	34,3	1,32 (1H, m); 1,42 (1H, m)
8	41,1	-	40,9	-
9	50,7	1,29 (1H, m)	50,5	1,29 (1H, m)
10	37,4	-	37,2	-
11	21,2	1,21 (1H, m); 1,41 (1H, m)	20,9	1,20 (1H, m); 1,40 (1H, m)
12	25,4	1,08 (1H, m); 1,69 (1H, m)	25,5	1,07 (1H, m); 1,68 (1H, m)
13	38,3	1,70 (1H, m)	38,1	1,68 (1H, m)

14	43,2	-	42,8	-
15	27,6	1,04 (1H, m); 1,69 (1H, m)	27,4	1,00 (1H, m); 1,68 (1H, m)
16	35,8	1,37 (1H, m); 1,48 (1H, m)	35,6	1,37 (1H, m); 1,48 (1H, m)
17	43,0	-	42,8	-
18	48,6	1,37 (1H, m)	48,3	1,37 (1H, m)
19	48,2	2,41(1H, ddd, J=5,8;11,0;11,0 Hz)	48,0	2,38 (1H, ddd, J=5,6; 11,0; 11,0 Hz)
20	151,2	-	151,0	-
21	30,1	1,37 (1H, m); 1,93 (1H, m)	29,9	1,37 (1H, m); 1,92 (1H, m)
22	40,2	1,37 (1H, m); 1,21 (1H, m)	40,0	1,37 (1H, m); 1,19 (1H, m)
23	28,2	0,99(3H, s)	28,0	0,97 (3H, s)
24	15,6	0,81(3H, s)	15,3	0,76 (3H, s)
25	16,3	0,88(3H, s)	16,3	0,83 (3H, s)
26	16,2	1,08(3H, s)	16,0	1,03 (3H, s)
27	14,8	1,02(3H, s)	14,6	0,94 (3H, s)
28	18,3	0,84(3H, s)	18,0	0,79 (3H, s)
29	109,5	4,61(1H, sl); 4,74(1H, sl)	109,3	4,54 (1H, sl); 4,67 (1H, sl)
30	19,5	1,73(3H, s)	19,3	1,68 (3H, s)

Fonte: Dados da pesquisa (2021)

3.2 Identificação estrutural de PS-02

A substância codificada como **PS-02** na análise do seu espectro de RMN ^1H (Anexos H-I) exibiu um conjunto de absorções simples e múltiplas na região compreendida entre δH 0,65 e 2,26, característico de hidrogênios metílicos, metilênicos e metínicos, típico de substâncias com núcleo esteroidal e/ou triterpênico (CHAVES et al., 2013). O multipeto observado em δH 3,50 permitiu inferir a presença de um hidrogênio oximetínico que pode ser atribuído a H-3 de fitoesteroides e terpenoides (COSTA et al., 2010). Por conseguinte, foi possível visualizar absorções característica de hidrogênio olefínico em δH 5,32 característico de H-6, sugestivo de que PS-02 possui núcleo esteroidal. Os dados de RMN ^1H e comparações com os valores obtidos na literatura permitiram identificar PS-02 como o β -sitosterol (Figura 3), que é um esteroide comumente isolado de plantas.

Figura 3. Estrutura do β -sitosterol

3.3 Atividade biológica

Para atividade antioxidante frente aos métodos DPPH, ABTS e CAT, tanto os extratos (EHC-PS e EHF-PS) como as frações (EHC-PS 4 a EHC-PS 9) apresentaram atividade, sendo as frações mais polares do extrato da casca as mais ativas, apresentando o IC_{50} muito baixo em relação ao controle positivo usado em cada método testado, como mostrado na tabela 6.

Tabela 6. Atividade antioxidante dos extratos e frações de *P. simplicifolium* frente aos métodos DPPH, ABTS e CAT

Amostras	DPPH•+ IC₅₀ (µg/mL)	ABTS•+ IC₅₀ (µg/mL)	CAT IC₅₀ (µg/mL)
Trolox	51,16	112,34	ND
Ácido ascórbico	ND	ND	500,00
BHT	266,53	482,38	-
EHC-PS	67,72	152,16	2829,0
EHF-PS	81,39	174,14	4343,0
EHC-PS 4	101,78	212,23	1284,8
EHC-PS 5	62,93	135,87	934,2

EHC-PS 6	24,67	61,89	795,1
EHC-PS 7	16,83	31,73	684,0
EHC-PS 8	23,27	39,46	753,1
EHC-PS 9	14,97	28,10	627,1

* Concentrações do extrato em relação aos padrões que obtiveram atividade antioxidante. ND - Não determinada;

A eficiência de um antioxidante é dependente de sua capacidade de sequestrar os radicais livres (SHARMA; SINGH, 2013). Os compostos fenólicos são responsáveis pela transferência de hidrogênio que neutraliza a ação desses radicais (BREWER, 2011). A atividade antioxidante pode ser justificada pela presença de compostos fenólicos que foram identificados na análise fitoquímica preliminar dos extratos. Bem como, pela presença de substâncias fenólicas nas frações mais polares (presença detectada em CCD, revelada com FeCl₃) as quais, por reação radicalar, estabilizam o radical livre do DPPH, mostrada pela mudança de coloração e indicando atividade.

4 CONCLUSÃO

A pesquisa de compostos bioativos oriundos de espécies nativas da Caatinga é algo relevante, tanto do ponto de vista econômico, quanto no aspecto do desenvolvimento local e preservação dessas espécies. Dessa forma, o estudo desenvolvido com *P. simplicifolium*, uma espécie do semiárido nordestino, foi importante porque permitiu identificação de metabólitos secundários que não foram estudados na literatura para espécies do gênero *Pseudobambax*.

Em relação à quantificação de flavonoides, apesar dos teores de flavonoides terem sido baixos nos extratos, é o primeiro estudo para referida espécie e que justificaram a análise qualitativa.

A prospecção fitoquímica do extrato das cascas do caule de *P. simplicifolium*, através de técnicas cromatográficas permitiu o isolamento de dois constituintes químicos, os quais foram submetidos à análise de ressonância magnética nuclear de hidrogênio e carbono 13 (RMN de ¹H e ¹³C) para a elucidação estrutural, permitindo assim identifica-los como lupeol (PS-01) e β-sitosterol (PS-02). Tais compostos estão sendo relatados pela primeira vez para referida espécie.

As frações do extrato da casca exibiram atividade antioxidante, servindo como fonte de guia para demais atividades, como atividade anti-inflamatória.

REFERÊNCIAS

AGRA, M. F. et al. Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v.18, n.3, p. 472-508, 2008.

AMOUSSA A.M.; LAGNIKA L., BOURJOT M.; VONTHRON-SENECHEAU C.; SANNI A. Triterpenoids from *Acacia ataxacantha* DC: antimicrobial and antioxidant activities. **BMC Complement Altern Med.** Aug 12;16(1):284. 2016

ARATANECEMUGE Y.; HIBASAMI H.; SANPIN K.; KATSUZAKI H.; IMAI K.; KOMIYA T. Induction of apoptosis by lupeol isolated from mokumen (*Gossampinus malabarica* L. Merr) in human promyelotic leukemia HL-60 cells. **Oncol Rep.** Feb;11(2):289-92. 2004.

BABU, SAYYAD SIPAI; MADHURI, DASARI BINDU; ALI, SHAIK LIAKHAT. A pharmacological review of *Urena lobata* plant. **Asian J. Pharm. Clin. Res.** v. 9, p. 20-22, 2016.

BOVINI, M. G. Malvaceae s. str. na Reserva Rio das Pedras, Mangaratiba, Rio de Janeiro, Brasil. **Rodriguésia.** v. 61, p. 289-301, 2010.

BHATTACHARYYA, S., MITRA, D., RAY, S., BISWAS, N., BANERJEE, S., MAJUMDER, B., MUSTAFI, S.M., MURMU, N. Reversing effect of Lupeol on vasculogenic mimicry in murine melanoma progression. **Microvascular Research** 121, 52–62, 2019.

BLOIS, M. Antioxidant Determinations by the use of a Stable Free Radical. **Nature.** v. 181, p. 1199-1200, 1958.

BREWER, M.S. Natural antioxidants: Sources, compounds, mechanisms of action, and potential applications. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v.10, p.221-247, 2011.

BHATTACHARYYA S.; MITRA D.; RAY S.; BISWAS N.; BANERJEE S.; MAJUMDER B.; MUSTAFI S.M.; MURMU N. Reversing effect of Lupeol on vasculogenic mimicry in murine melanoma progression. **Microvasc Res.** Jan;121: 52-62. 2019

CECHINEL FILHO, V. Medicamentos de origem vegetal: atualidades, desafios e perspectivas. Itajaí: **Ed. UNIVALI**; 2015.

COSTA, D.A.; CHAVES, M.H.; SILVA, W.C.S.; COSTA, C.L.S. Constituintes químicos, fenóis totais e atividade antioxidante de *Sterculia striata* St. Hil. Et Naudin. **Acta amazônica**, v. 40, n. 1, p. 207-212, 2010.

CORDEIRO, J. M. P.; FÉLIX, L. P. Conhecimento botânico medicinal sobre espécies vegetais nativas da caatinga e plantas espontâneas no agreste da Paraíba, Brasil. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Campinas, v.16, n.3, supl. I, p.685-692, 2014

CHAVES, T. P.; SANTANA, C. P.; VÉRAS, G.; BRANDÃO, D. O.; FELISMINO, D. C.; MEDEIROS, A. C. D, TROVÃO, D. M. B. M. Seasonal variation in the production of secondary metabolites and antimicrobial activity of two plant species used in Brazilian traditional medicine. **Afr. J. Biotechnol.** v. 12, p. 847-853, 2013.

CHAVES, O.S.; GOMES, R.A.; TOMAZ, A.C.A., FERNANDES, M.G.; MENDES JUNIOR, L.G.; AGRA, M.F.; BRAGA, V.A.; SOUZA, M.F.V. Secondary Metabolites

from *Sida rhombifolia* L. (Malvaceae) and the Vasorelaxant Activity of Cryptolepinone. *Molecules*, v. 18, n. 3, p. 2769-2777, 2013.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Manual técnico da vegetação brasileira. Rio de Janeiro: IBGE, 1992.

JEFFREYS M.F.; NUNEZ C.V. Triterpenes of leaves from *Piranhea trifoliata* (Picodendraceae). **Acta Amazonica [online]**. v. 46, n. 2, pp. 189-194. 2016.

JIANG Y.; HONG D.; LOU Z.; TU X.; JIN L. Lupeol inhibits migration and invasion of colorectal cancer cells by suppressing RhoA-ROCK1 signaling pathway. **Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol**. Nov; 393(11):2185-2196. 2020

KASINATHAN N.K.; SUBRAMANIYA B.; Sivasithamparam N.D. NF- κ B/twist mediated regulation of colonic inflammation by lupeol in abating dextran sodium sulfate induced colitis in mice, **Journal of Functional Foods**, Volume 41, Pages 240-249. 2018

LEE C.; LEE J.W.; SEO J.Y.; HWANG S.W.; IM J.P.; KIM J.S. Lupeol inhibits LPS-induced NF-kappa B signaling in intestinal epithelial cells and macrophages, and attenuates acute and chronic murine colitis. **Life Sci**. Feb 1; 146:100-8. 2016

LI Z.; ZHANG H.; LI Y.; CHEN H.; WANG C.; WONG V.K.W.; JIANG Z.; ZHANG W. Phytotherapy using blueberry leaf polyphenols to alleviate non-alcoholic fatty liver disease through improving mitochondrial function and oxidative defense. **Phytomedicine**. Apr;69:153209. 2020.

LIU Y.J.; ZHAN J.; LIU X.L.; WANG Y.; JI J.; HE Q.Q. Dietary flavonoids intake and risk of type 2 diabetes: a meta-analysis of prospective cohort studies. **Clin Nutr**. 33(1):59-63. 2014.

LUCENA, J.A.S.; GUEDES, J.P.M. Uso de fitoterápicos na prevenção e no tratamento da hipertensão arterial sistêmica. **REBES**. 10(1):15-22, jan-mar. 2020.

MAH, SIAU HUI; TEH, SOEK SIN; EE, GWENDOLINE CHENG LIAN. Anti-inflammatory, anti-cholinergic and cytotoxic effects of *Sida rhombifolia*. **Pharm. Biology**, v. 55, p. 920-928, 2017.

MATOS, F. J. de A. Introdução à fitoquímica experimental. (2a. ed.) Fortaleza: EUFC, 1997.

MIN T.R., PARK H.J., HA K.T., CHI G.Y., CHOI Y.H. AND PARK S.H.. Suppression of EGFR/STAT3 activity by lupeol contributes to the induction of the apoptosis of human non-small cell lung cancer cells. **Int J Oncol**. 55: 320-330. 2019.

NEWMAN DJ, CRAGG GM. Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly Four Decades from 01/1981 to 09/2019. **J Nat Prod**. Mar 27;83(3):770-803.2020.

OLIVEIRA-JUNIOR M.S.; PEREIRA E.P.; DE AMORIM V.C.M.; REIS L.T.C; DO NASCIMENTO R.P.; DA SILVA V.D.A.; COSTA S.L. Lupeol inhibits LPS-induced neuroinflammation in cerebellar cultures and induces neuroprotection associated to the modulation of astrocyte response and expression of neurotrophic and inflammatory factors. **Int Immunopharmacol.** May; 70: 302-312. 2019.

OWONA B.A.; ABIA W.A.; MOUNDIPA P.F. Natural compounds flavonoids as modulators of inflammasomes in chronic diseases. **Int Immunopharmacol.** 84:106498, 2020.

OKUSA P.N.; STÉVIGNY C.; NÉVRAUMONT M.; GELBCKE M.; VAN ANRWERPEN P.; BRAEKMAN J.C.; DUEZ P. Ferulaldehyde and lupeol as direct and indirect antimicrobial compounds from *Cordia gillettii* (Boraginaceae) root barks. **Natural product communications**, May 9(5). 2014.

PAIVA, D. C. C.; SANTOS, C. A.; DINIZ, J. C.; VIANA, F. A.; THOMAZZI, S. M.; FALCÃO, D. A. Anti-inflammatory and antinociceptive effects of hydroalcoholic extract from *Pseudobombax marginatum* inner bark from caatinga potiguar. **J. Ethnopharmacol.** v. 149, p. 416–421, 2013.

PEREIRA JÚNIOR, L. R. et. al. Espécies da Caatinga como Alternativa para o Desenvolvimento de Novos Fitofármacos. *Floresta e Ambiente.* out./dez.; 21(4):509-520. 2014.

PIETRO, P.; PINEDA, M.; AGUILAR, M. Spectrophotometric quantification of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. **Analytical Biochemistry**, v. 269, n. 2, p. 337-341, 1999.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radic Biol Med.** v.26, p.1231-1237, 1999.

RIBEIRO, D. A., MACEDO, D. G., OLIVEIRA, L. G. S., et al. Potencial terapêutico e uso de plantas medicinais em uma área de Caatinga no estado do Ceará, nordeste do Brasil. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Campinas, v.16, n.4, p.912-930, 2014.

SÁNCHEZ-BURGOS J.A.; RAMÍREZ-MARES M.V; GALLEGOS-INFANTE J.A.; GONZÁLEZ-LAREDO R.F; MORENO-JIMÉNEZ M.R.; CHÁIREZ-RAMÍREZ M.H.; MEDINA-TORRES L.; ROCHA-GUZMÁN N.E. Isolation of lupeol from white oak leaves and its anti-inflammatory activity. **Industrial Crops and Products.** Volume 77, Pages 827-832. 2015.

SEZGIN Y. The approach to phytotherapy applications: a case report of hyperkalemia. **Acta Endocrinol (Buchar).** 16(1):95-96. 2020.

SILVA F.C.; RODRIGUES V.G.; LUCIENIR P. D.; LULA I.S.; SINISTERRASIDNEY R.D.; VIEIRA-FILHO S.A.; RODRIGUES R.A.L.; KROON E.G.; OLIVEIRA P.L.; FARIAS L.M.; MAGALHÃES P.P.; SILVA G.D.F. Antidiarrheal activity of extracts

from *Maytenus gonoclada* and inhibition of Dengue virus by lupeol. **Anais da Academia Brasileira de Ciências [online]**. v. 89, n. 03. 2017.

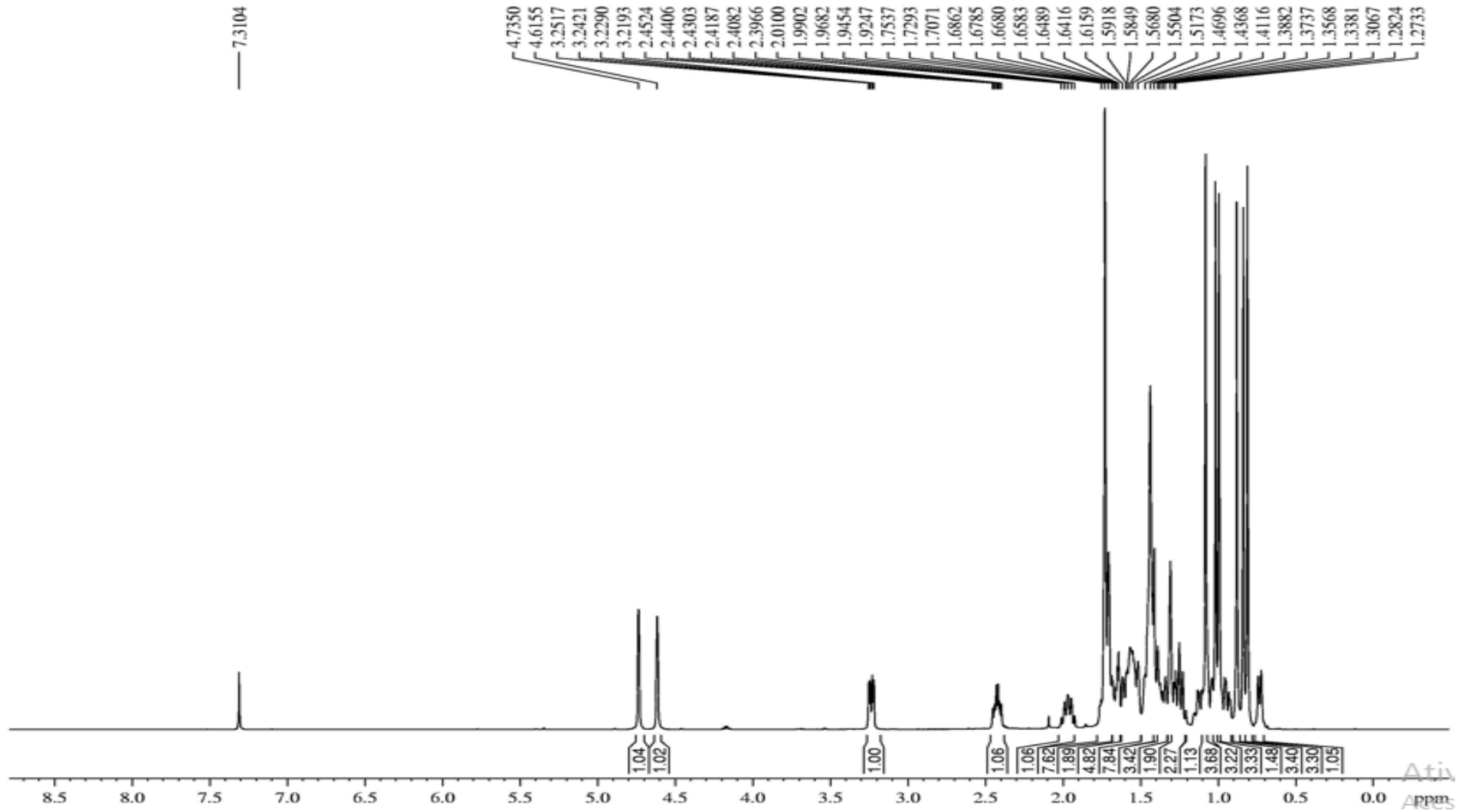
SHAIKH, SABA; JOSHI, Y. M.; KADAM, VILASRAO. Comparative study of anti-inflammatory activity of aqueous and methanolic extracts of *Hibiscus cannabinus* leaf (Malvaceae). **Intern. J. Pharm. Pharmaceut. Sci.** v. 8, p. 64-68, 2016.

SHARMA, P.; SINGH, R.P. Evaluation of antioxidant activity in foods with special reference to TEAC method. **American Journal of Food Technology**, v.8, p.83-101, 2013.

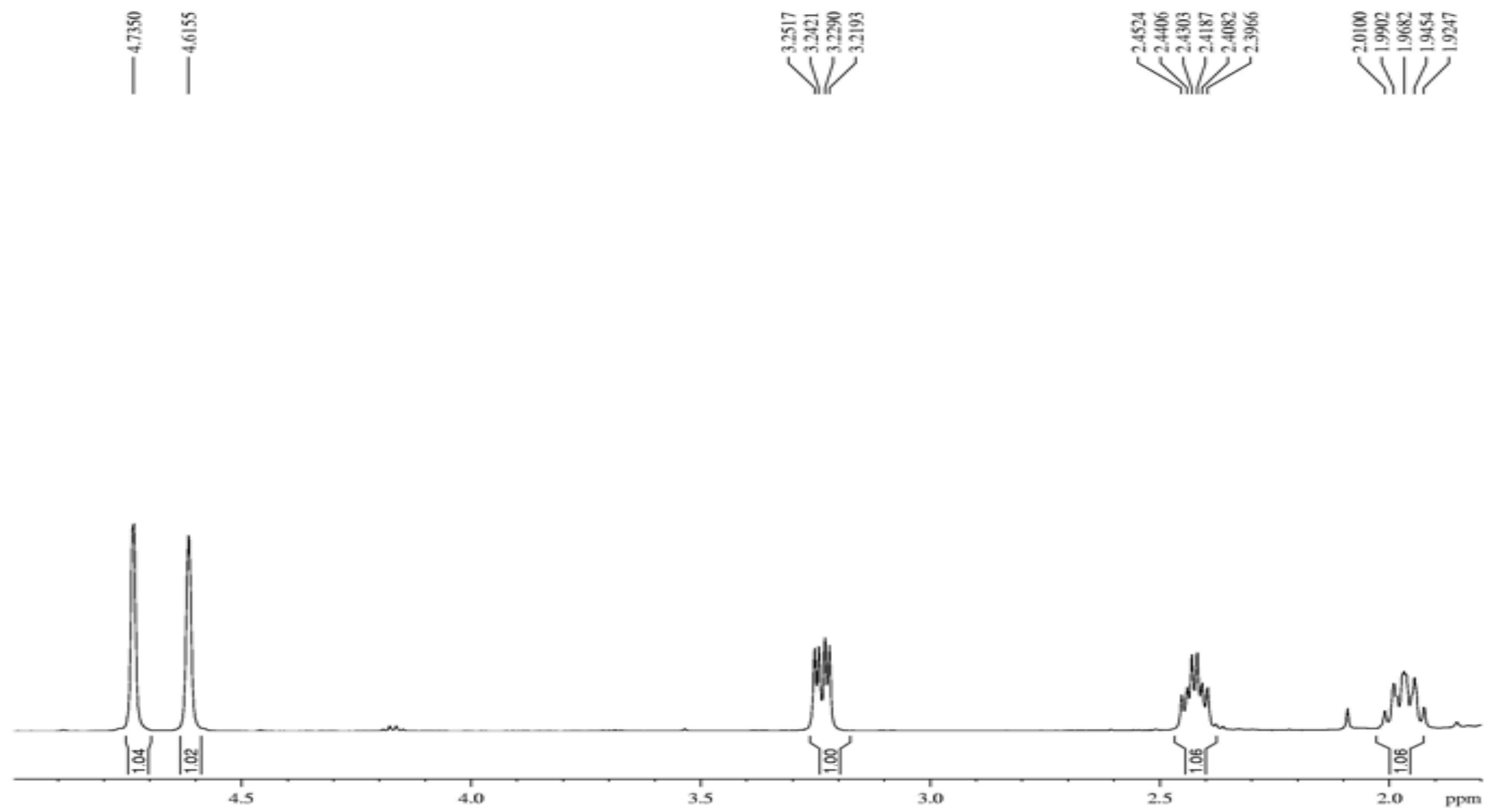
THIRUMALAISAMY R.; FUAD AMEEN; SUBRAMANIAN A.; SELVANKUMAR T.; ALWAKEEL S. S.; GOVARTHANAN M.. In-Vitro and In-Silico Anti-inflammatory Activity of Lupeol Isolated from *Crateva adansonii* and Its Hidden Molecular Mechanism. **Int J Pept Res Ther.** 26, 2179–2189. 2020.

TCHIMENE M.K.; NWAEHUJOR C.O.; EZENWALI M.; OKOLI C.C.; Maurice M. Free Radical Scavenging Activity of Lupeol Isolated from the Methanol Leaf Extract of *Crateva adansonii* Oliv. (Capparidaceae). **International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research.** 8(3); 419-426. 2016.

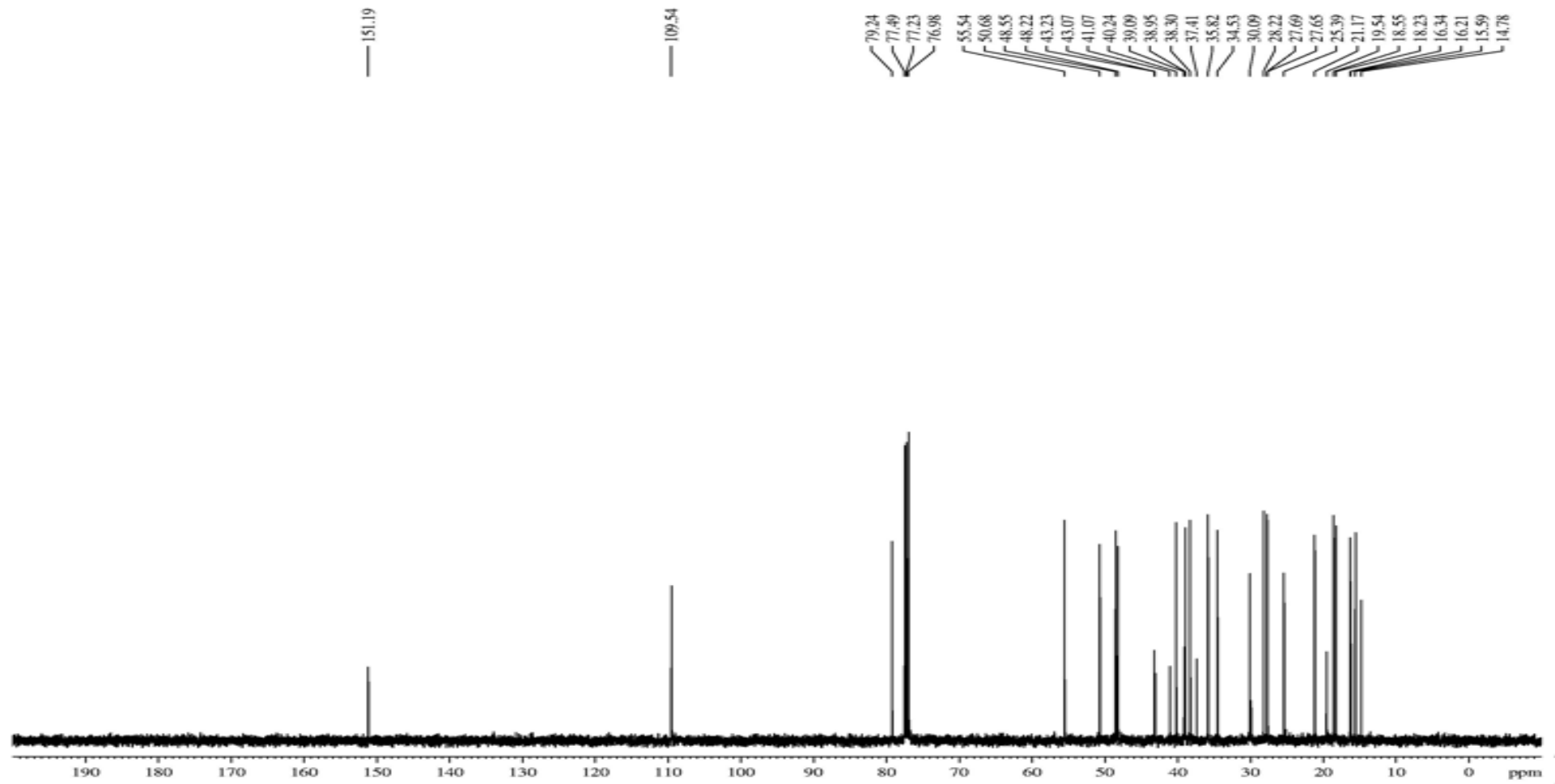
ANEXO A - ESPECTRO DE RMN ¹H (δ, CDCl₃, 500 MHz) DE PS-01



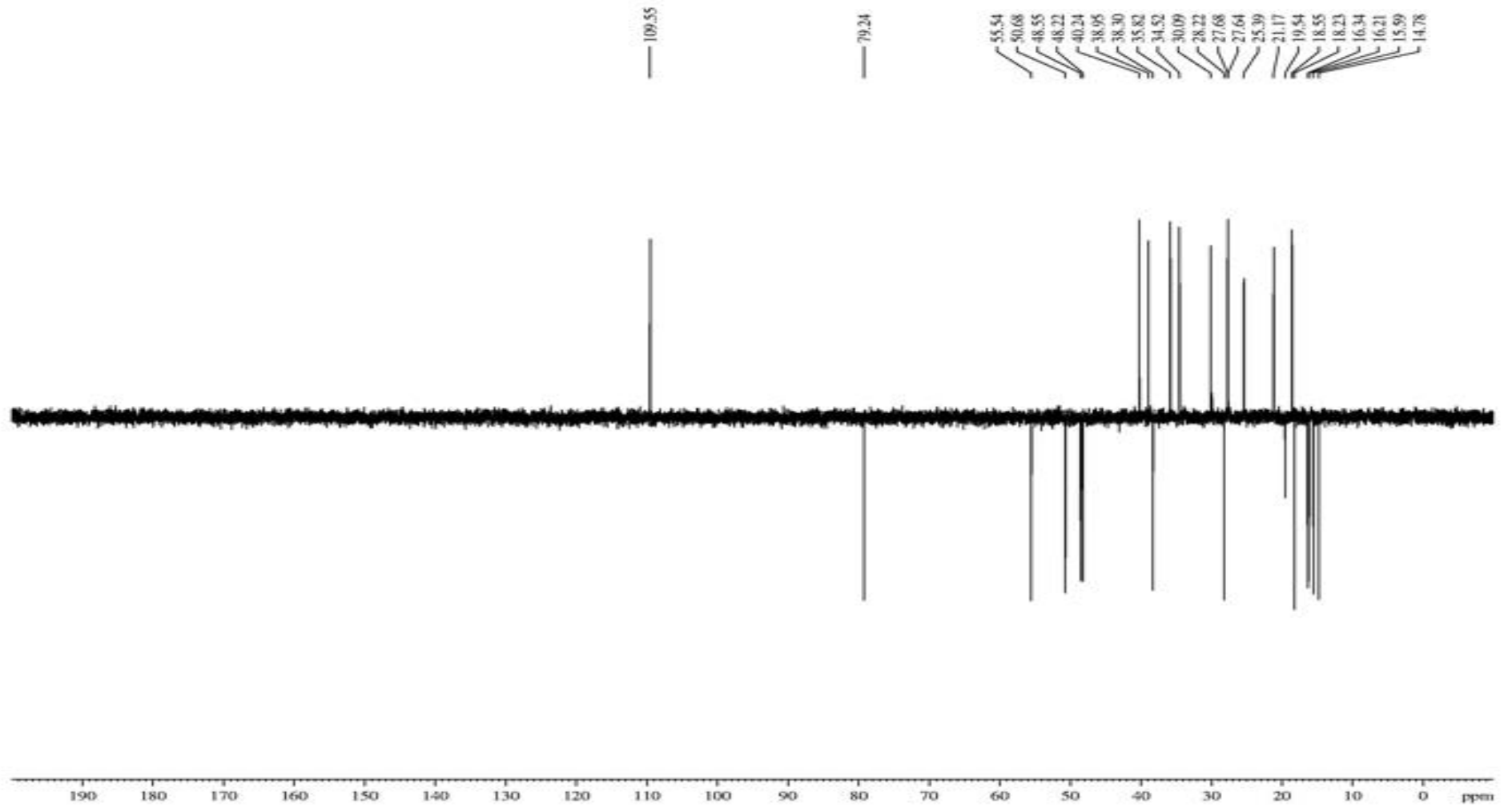
ANEXO B – EXPANSÃO DO ESPECTRO DE RMN ¹H (δ, CDCl₃, 500 MHz) DE PS-01



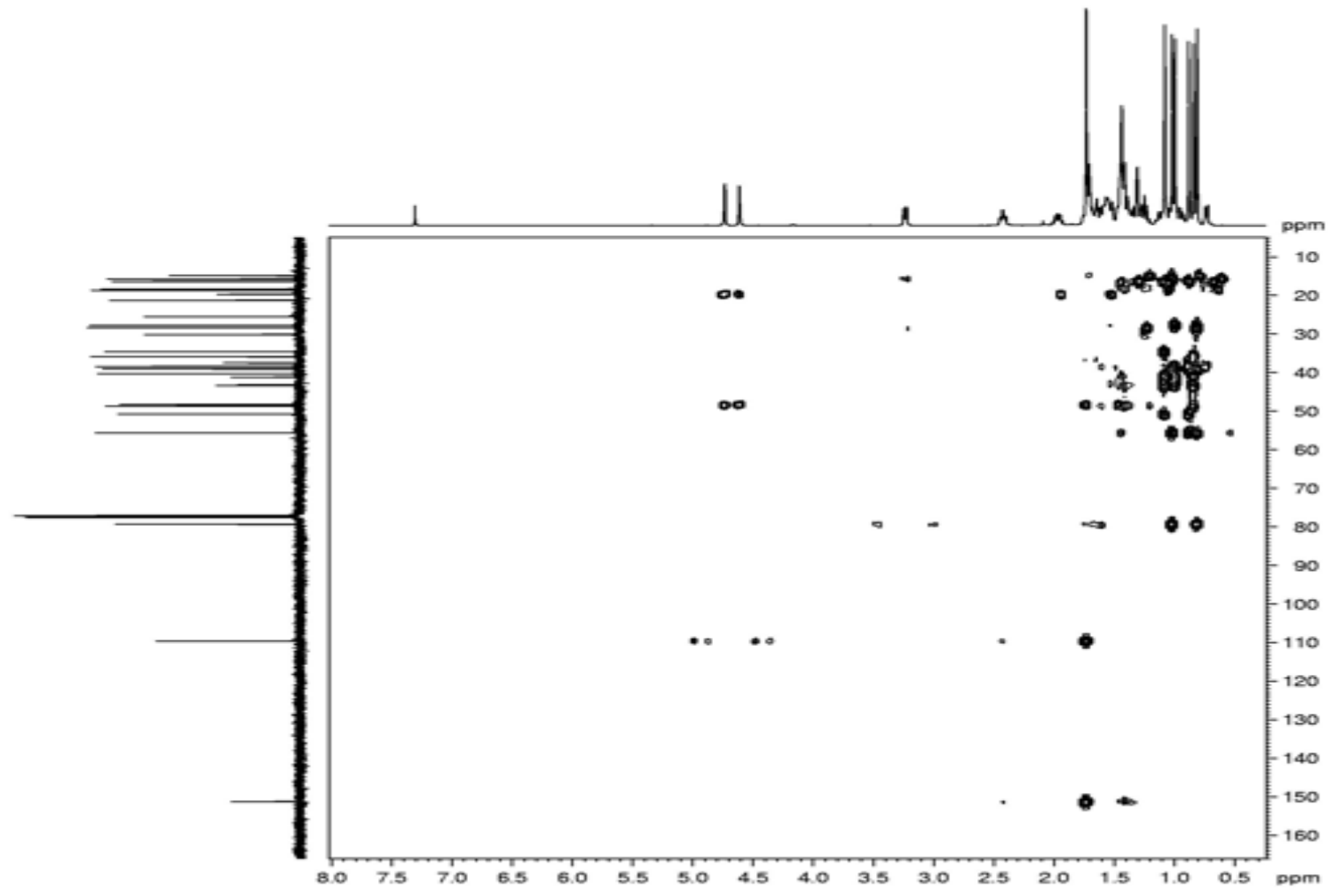
ANEXO C – ESPECTRO RMN ¹³C (δ, CDCl₃, 125 MHz) DE PS-01



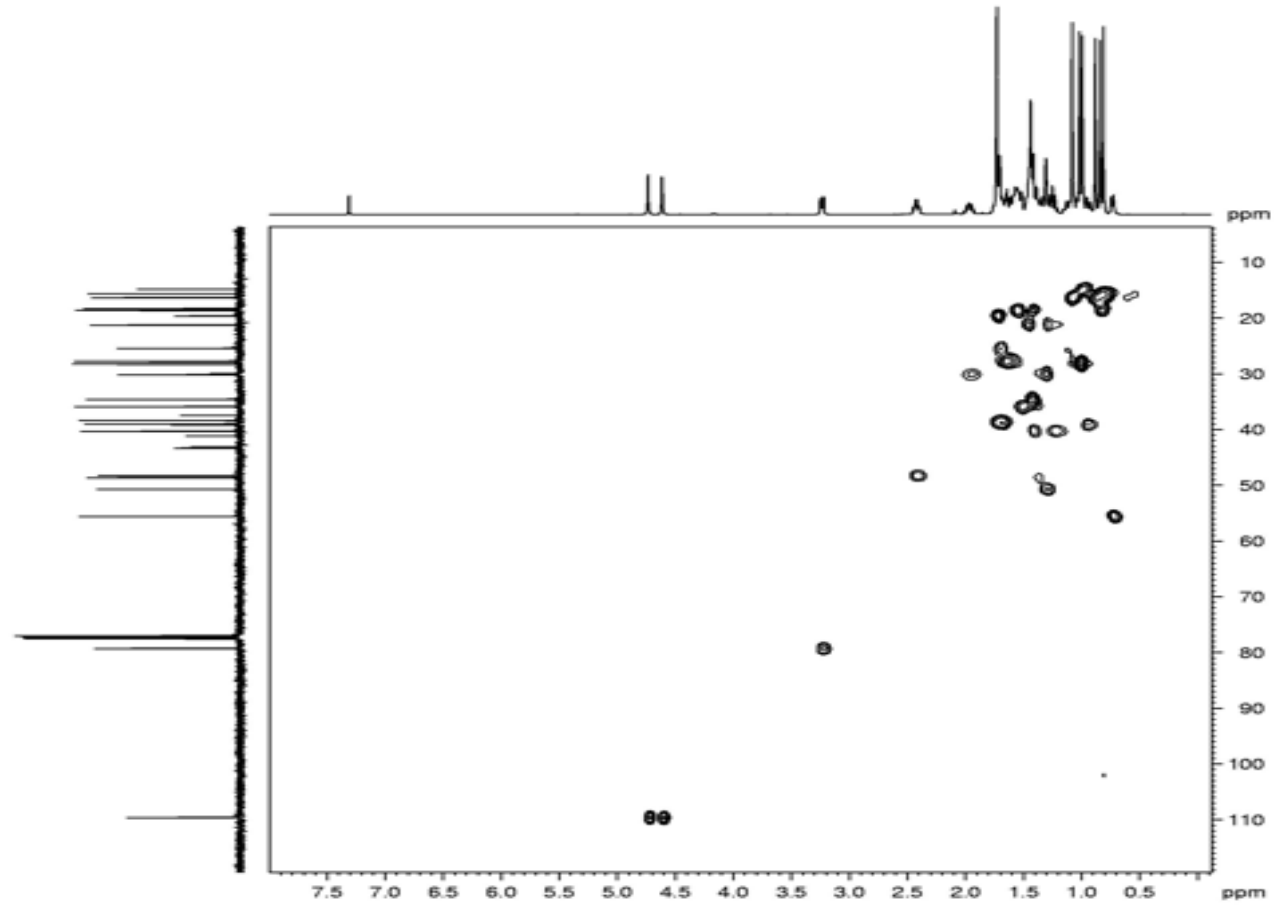
ANEXO D – ESPECTRO DE RMN ¹³C – DEPT 135° (δ, CDCl₃, 125 MHz) DE PS-01

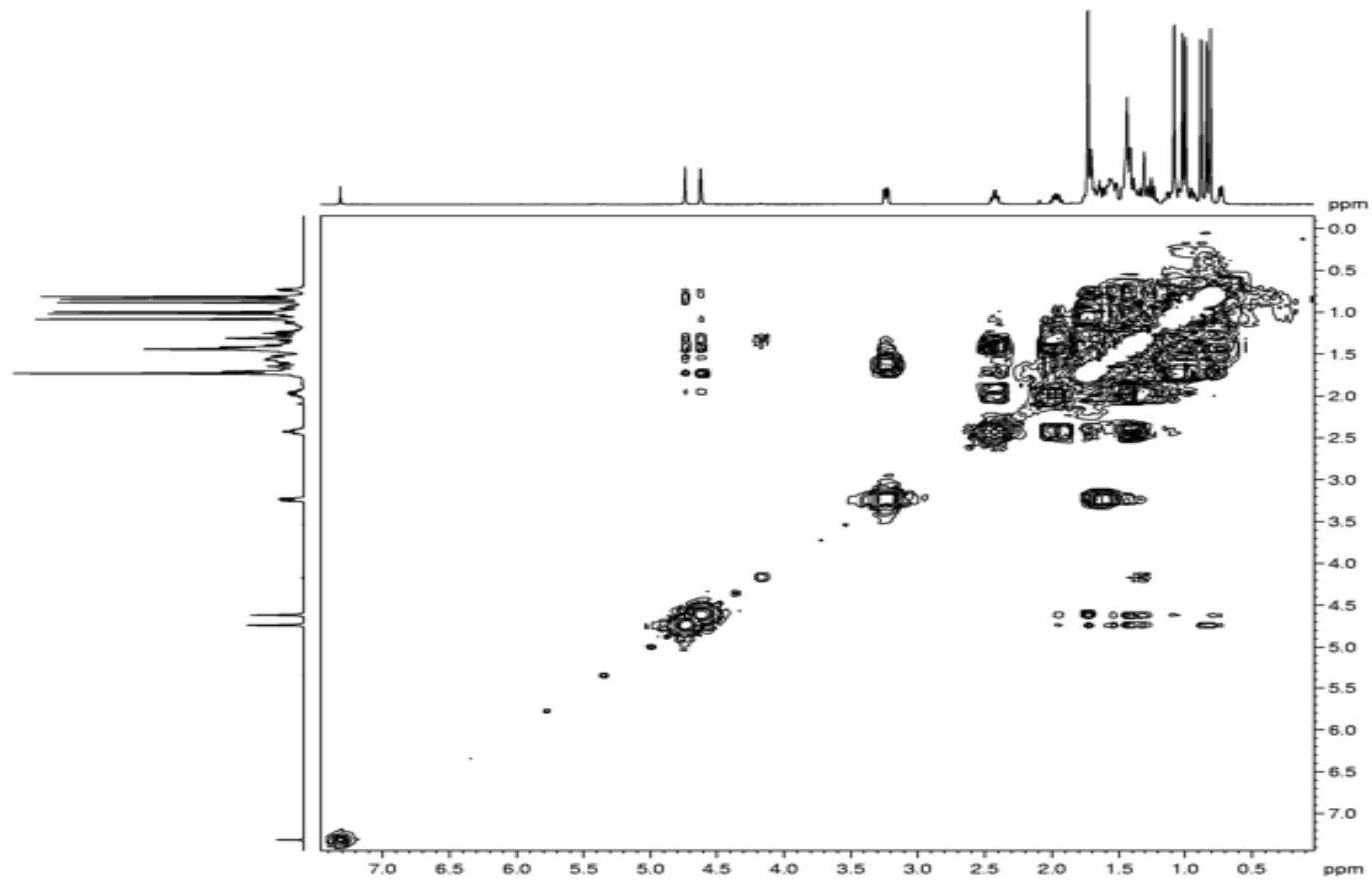


ANEXO E – ESPECTRO HMBC (δ , CDCI₃, 500 e 125 MHz) DE PS-01

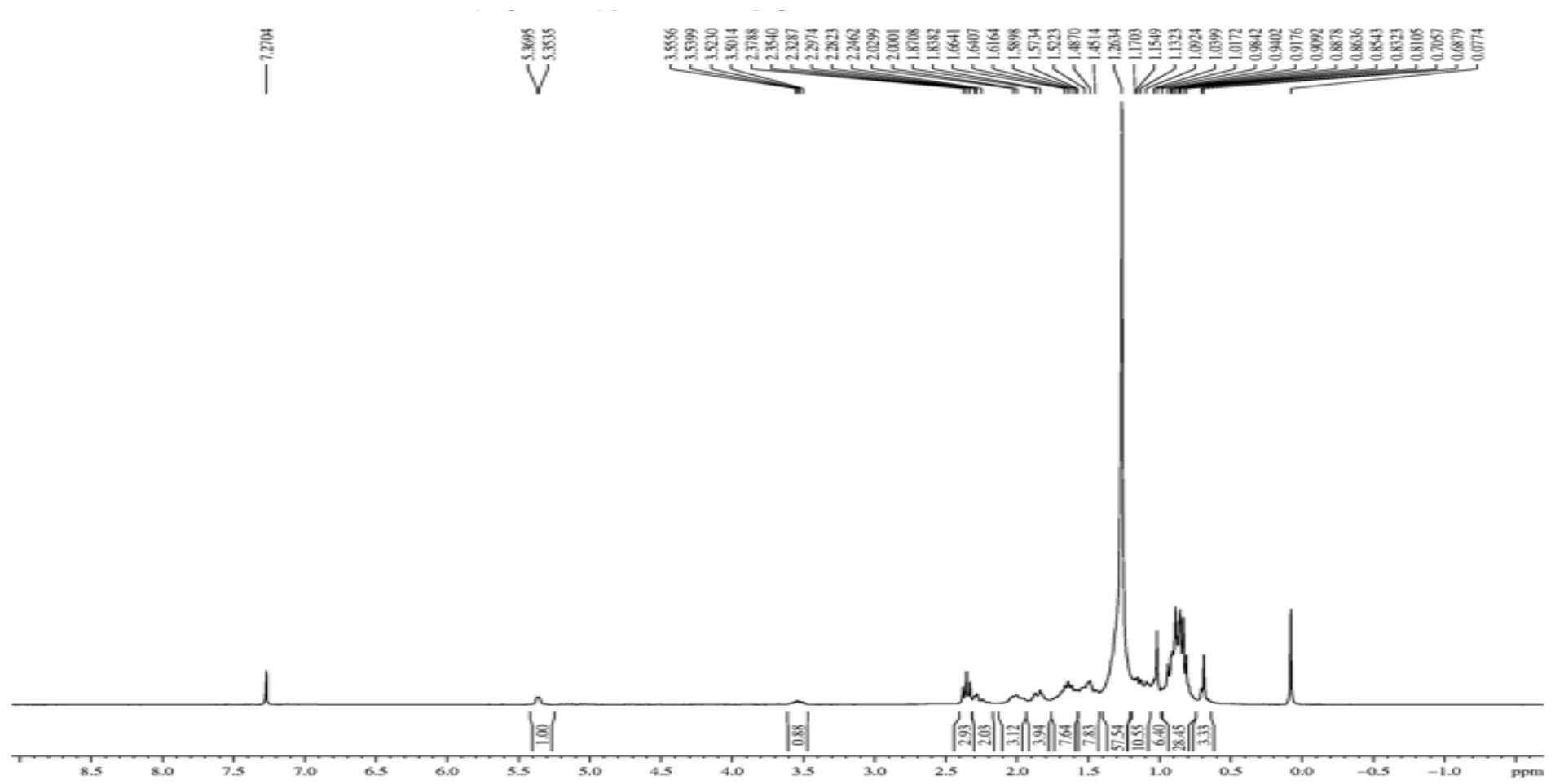


ANEXO F – ESPECTRO HMQC (δ , CDCI₃, 500 e 125 MHz) DE PS-01

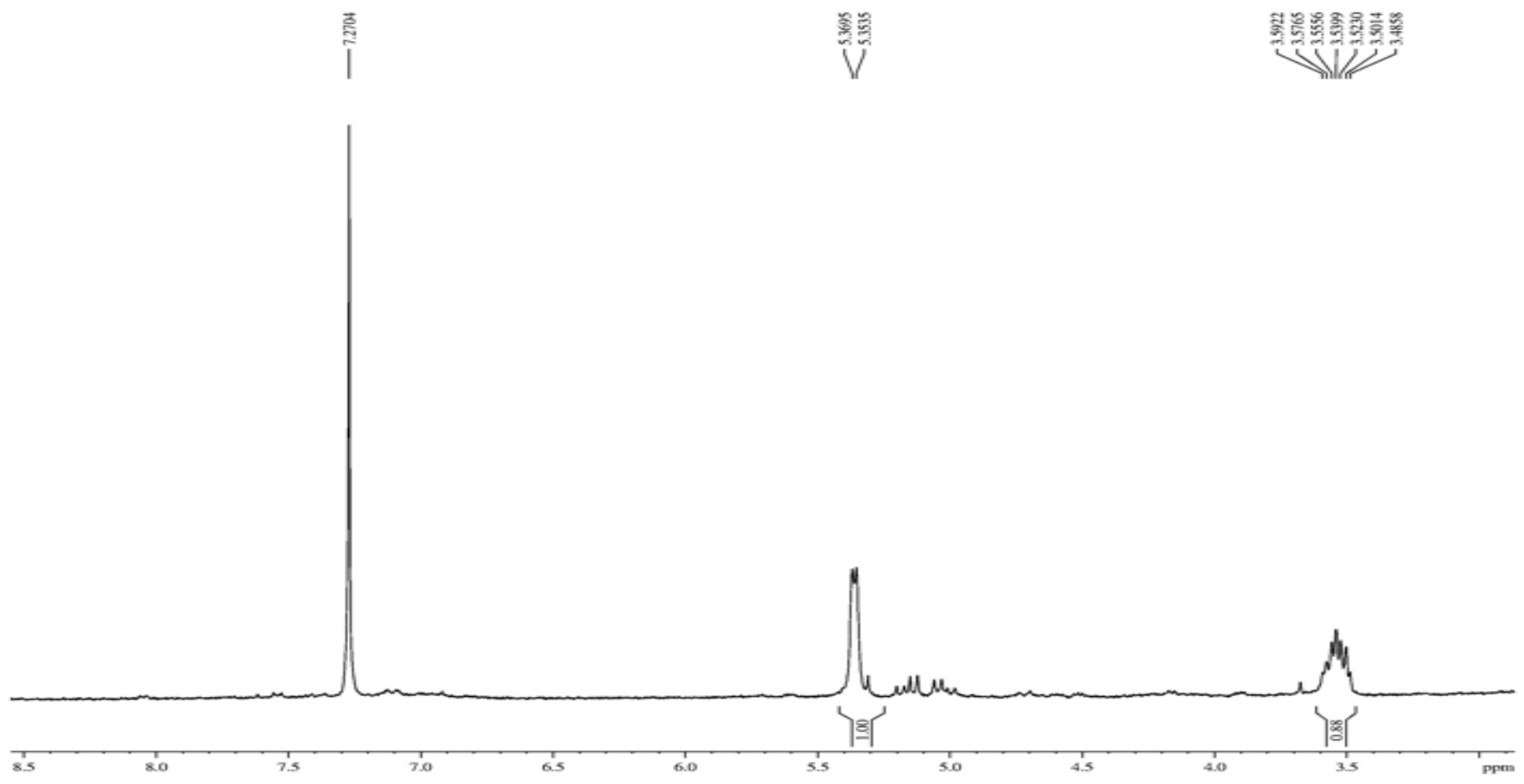


ANEXO G – ESPECTRO de COSY (δ , CDCl₃, 500 MHz) DE PS-01

ANEXO H – ESPECTRO DE RMN ¹H (δ, CDCl₃, 500 MHz) DE PS-02



ANEXO I – EXPANSÃO DO ESPECTRO DE RMN ¹H (δ, CDCl₃, 500 MHz) DE PS-02



AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ter me fortalecido nos momentos de fraqueza, por ter colocado pessoas boas no meu caminho e por estar sempre presente na minha vida, me proporcionando benção na minha jornada.

À minha família pela compreensão e companheirismo.

À minha namorada Hallana Pereira Barbosa, por está sempre do meu lado, por sempre acreditar em mim, pelo apoio incondicional mesmo frente às dificuldades, sei que é a pessoa certa em minha vida.

Aos colegas de classe pelos momentos de amizade e apoio durante o curso: Jonaleson Amorim, Rodrigo Soares, Jonathan Gomes e Leonardo Lima.

À minha orientadora Prof.^a Dr.^a Maria Conceição Menezes, pela confiança depositada em mim e por ter se mostrado sempre solícita quando precisei, pelas leituras sugeridas ao longo dessa orientação, pela dedicação, comprometimento e paciência, e pela contribuição tanto para meu crescimento pessoal, quanto profissional.

A Dr. Alexandre Gomes da Silva (*in memoriam*), do Departamento de Antibióticos, Centro de Ciências, da Universidade Federal de Pernambuco, pela coleta e identificação do material.

Ao Instituto Nacional do Semiárido (INSA), pela realização das análises no rotaevapodor do tipo rocket.

Ao Prof. Dr. Harley da Silva Alves, do Departamento de Farmácia-CCBS da Universidade Estadual da Paraíba, pela colaboração e orientação nas análises fitoquímicas.

À Me. Geovana Guedes, do Programa de Pós-graduação em Farmácia, da Universidade Estadual da Paraíba, pela ajuda nas análises de quantificação.

Ao técnico Bruno Veras, Laboratório de Produtos Naturais do Departamento de Bioquímica no Centro de biociências da Universidade Federal do Pernambuco, pela realização das atividades biológicas.

À banca examinadora pela disponibilidade em avaliar o trabalho e pelas contribuições com o mesmo.