



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA



Dissertação de Mestrado

**ESTUDO QUÍMICO E ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DAS
ESPÉCIES *Bauhinia cheilantha* (BONG) STEUDEL E
Bauhinia pentandra (BONG) VOG. EX. STEUA (FABACEAE)**

DÁRIO CÉSAR DE OLIVEIRA CONCEIÇÃO

Recife
Fevereiro/2015

DÁRIO CÉSAR DE OLIVEIRA CONCEIÇÃO

**ESTUDO QUÍMICO E ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DAS
ESPÉCIES *Bauhinia cheilantha* (BONG) STEUDEL E
Bauhinia pentandra (BONG) VOG. EX. STEUA (FABACEAE)**

Dissertação de mestrado apresentada
ao Programa de Pós-Graduação em
Química como parte dos requisitos
para obtenção do título de Mestre em
Química pela Universidade Federal
Rural de Pernambuco.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Tania Maria Sarmiento da Silva

***BOLSISTA CAPES**

Recife
Fevereiro/2015

Ficha Catalográfica

C744e Conceição, Dário César de Oliveira
Estudo químico e atividade antifúngica das espécies *Bauhinia cheilantha* (Bong) Steudel e *Bauhinia pentandra* (Bong) Vog. Ex. Steua (Fabaceae) / Dário César de Oliveira Conceição . -- Recife, 2015.
70f.: il.

Orientadora : Tania Maria Sarmento da Silva.
Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Química, Recife, 2015.
Referências.

1. *Bauhinia cheilantha* 2. *Bauhinia pentandra* 3. Estudo químico
4. Atividade antifúngica I. Silva, Tania Maria Sarmento da,
orientadora II. Título

CDD 540

DÁRIO CÉSAR DE OLIVEIRA CONCEIÇÃO

**ESTUDO QUÍMICO E ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DAS
ESPÉCIES *Bauhinia cheilantha* (BONG) STEUDEL E
Bauhinia pentandra (BONG) VOG. EX. STEUA (FABACEAE)**

DISSERTAÇÃO AVALIADA E APROVADA PELA BANCA EM:

20 / 02 / 2015



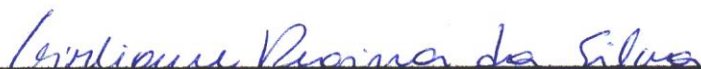
Prof.ª Dr.ª Tania Maria Sarmiento da Silva - UFRPE

Orientadora



Prof.ª Dr.ª Andréa Lopes Bandeira Delmiro Santana – UFPE

1º Examinador



Prof.ª Dr.ª Girliane Regina da Silva- UFRPE

2º Examinador

Prof. Dr. Celso de Amorim Camara – UFRPE

Suplente

Dedico este trabalho à Deus pela força e vigor que Ele tem me dado, aos meus pais, José Aluísio e Elienai de Oliveira pelos ensinamentos baseados na Bíblia Sagrada e pelos esforços dedicados em prol da minha formação, ao meu irmão Diêgo Aluísio pelo apoio e à minha noiva Ester Paula pelo amor, companherismo e carinho.

AGRADECIMENTOS

- À professora Dr^a. **Tania Maria Sarmiento da Silva** pelo acolhimento em seu grupo de pesquisa, orientação, paciência e pelos valiosos ensinamentos;
- À todos da minha família, em especial, aos meus pais **José Aluísio** e **Elienai de Oliveira**, meu irmão **Diêgo Aluísio**, cunhada **Helaine Patrícia**, tios e avós, pois sempre acreditaram em meus ideais e contribuíram direto ou indiretamente para a realização deles;
- À minha noiva **Ester Paula** pelo afeto, companheirismo, amor e dedicação durante minha trajetória;
- As amigas **Tamires Botelho** e **Geane Pereira** com quem tive a oportunidade de conviver e aprender muito nesse período do mestrado;
- Aos amigos do Laboratório de Bioprospecção Fitoquímica, **Telma Guedes**, **Natália Ramos**, **Girliane Regina**, **Silvana Alves**, **Patrícia**, **Paulo** e **Franciele** com quem tive a oportunidade de conviver e aprender muito durante todo tempo no laboratório;
- Aos Alunos de Iniciação Científica **Manuela**, **Neilton** e **Panait**;
- À Universidade Federal Rural de Pernambuco e ao Programa de Pós-graduação em Química pela formação;
- Aos professores do PPGQ que contribuíram na minha formação acadêmica: **Celso Camara**, **André Lavorante**, **Hélcio Batista**, **Claudete Fernandes**, **Clécio Ramos**, **João Rufino**, **Valberes Nascimento**, **Wagner Eduardo**;
- Aos amigos **Dmisticles**, **Taciana**, **Fernanda** e **Imerson**;
- Aos que fazem a Banda Estrela da Manhã da Assembleia de Deus em Nazaré da Mata-PE;
- Aos amigos do PREVUPE Nazaré pelo apoio;
- Ao Cenapesq pelo apoio tecnológico na realização dos experimentos;
- À Capes pela bolsa;
- E a banca pela avaliação e sugestões quanto ao trabalho.

“Não basta ensinar ao homem uma especialidade, porque se tornará assim uma máquina utilizável e não uma personalidade. É necessário que adquira um sentimento, um senso prático daquilo que vale a pena ser empreendido, daquilo que é belo, do que é moralmente correto”

Albert Einstein

RESUMO

Estudo químico e atividade antifúngica das espécies *Bauhinia cheilantha* (Bong) Steudel e *Bauhinia pentandra* (Bong) Vog. Ex. Steua (Fabaceae).

Universidade Federal Rural de Pernambuco
Programa de Pós-Graduação em Química
Dário César de Oliveira Conceição
(dariodeoliveira89@gmail.com)

O gênero *Bauhinia* compreende cerca de 300 espécies que são popularmente conhecidas como “pata-de-vaca”. Várias espécies de *Bauhinia* apresentaram atividades como antifúngica, antitumoral e hipoglicemiante. As espécies estudadas neste trabalho são *Bauhinia cheilantha* (Bong) Steudel e *Bauhinia pentandra* (Bong) Vog. Ex. Steua (Fabaceae) que também são popularmente conhecidas como “mororó-sem-espinho” e “mororó-de-espinho” respectivamente. Este trabalho teve como objetivo realizar o estudo químico e avaliar a atividade antifúngica dos extratos e compostos obtidos das folhas e caules dessas espécies. A extração foi realizada em Soxhlet utilizando os solventes hexano, acetato de etila e metanol. A análise do perfil cromatográfico foi feita por CLAE-DAD. Para realização da atividade antifúngica foram utilizadas as cepas fúngicas: com a levedura *Candida guilhermondii* LM 103 e os dermatófitos *Microsporum canis* LM 910, *M. gypseum* LM 130 e *Trichophyton rubrum* LM 148 e foi determinada a concentração inibitória mínima. O fracionamento cromatográfico em coluna com Sephadex LH-20[®] resultou no isolamento das substâncias litospermosida, kanferol, quercetina, e por CLAE-DAD foram isoladas a quercitrina e afzelina para a espécie *B. cheilantha*. Para a espécie *B. pentandra* o fracionamento resultou nas substâncias kanferol, quercetina, ciclitol pinitol e foram identificados os flavonóides 3-O-[β -D-glicopiranosil-(1 \rightarrow 6)- α -L-ramnopiranosil]-7-O- α -L-ramnopiranosilkanferol, 3-O-[β -D-glicopiranosil-(1 \rightarrow 6)- α -L-ramnopiranosil]-7-O- α -L-ramnopiranosil-3'-metoxiquercetina 3-O-[β -D-glicopiranosil-(1 \rightarrow 6)- α -L-ramnopiranosil]-7-O- α -L-ramnopiranosilquercetina. Os extratos Caule-Hex, Folha-MeOH, Folha-AcOEt e as substâncias afzelina, litospermosida e quercitrina obtidas de *B. cheilantha* e os extratos Caule-MeOH e Folha-MeOH obtida de *B. pentandra* apresentaram atividade antifúngica com concentrações inibitórias mínimas entre 512 μ g/mL e 1024 μ g/mL.

Palavras-chave: *Bauhinia cheilantha*; *Bauhinia pentandra*; Estudo químico; Atividade antifúngica.

ABSTRACT

Chemical and antifungal activity of the species *Bauhinia cheilantha* (Bong) Steudel and *Bauhinia pentandra* (Bong) Vog. Ex. Steua (Fabaceae).

Universidade Federal Rural de Pernambuco
Programa de Pós-Graduação em Química
Dário César de Oliveira Conceição
(dariodeoliveira89@gmail.com)

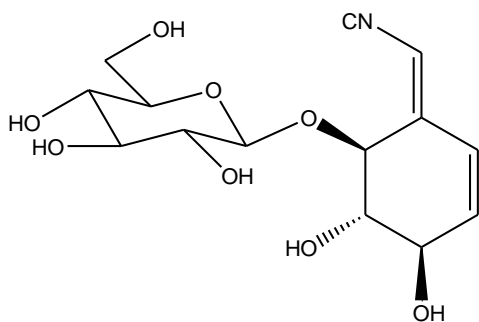
The *Bauhinia* genus comprises about 300 species that are popularly known as "pata-de-vaca". Several species of *Bauhinia* presented activities such as antifungal, antitumor and hypoglycemic. The species studied in this work are *Bauhinia cheilantha* (Bong) Steud and *Bauhinia pentandra* (Bong) Vog. Ex. Steua (Fabaceae) that are also popularly known as "mororó-sem-espeinho" and "mororó-de-espeinho" respectively. This study aimed to carry out the chemical and evaluate the antifungal activity of extracts and compounds obtained from the leaves and stems of these species. The Soxhlet extraction was conducted using the solvents hexane, ethyl acetate and methanol. Analysis of the chromatographic profiles was done by HPLC-DAD. For achieving antifungal activity of the fungal strains were used: yeast with the *Candida guilhermondii* LM 103 and dermatophytes *Microsporum canis* LM 910, *M. gypseum* LM 130 and *Trichophyton rubrum* LM 148 was determined and the minimum inhibitory concentration. Chromatographic fractionation column with Sephadex LH-20[®] resulted in the isolation of litoferosida substances kanferol, quercetin, and HPLC-DAD were isolated and quercitrin, afzelin for the species *B. cheilantha*. For the species *B. pentandra* fractionation resulted in kanferol substances, quercetin, pinitol cyclitol and flavonoids were identified 3-O-[β -D-glicopiranosil-(1 \rightarrow 6)- α -L-ramnopiranosil]-7-O- α -L-ramnopiranosilkanferol, 3-O-[β -D-glicopiranosil-(1 \rightarrow 6)- α -L-ramnopiranosil]-7-O- α -L-ramnopiranosil-3'-metoxiquercetina and 3-O-[β -D-glicopiranosil-(1 \rightarrow 6)- α -L-ramnopiranosil]-7-O- α -L-ramnopiranosilquercetina. The Caule-Hex extracts, Folha -MeOH Folha-AcOEt and afzelin substances, litoferosida and quercitrina obtained from *B. cheilantha* and Caule-MeOH extracts and Folha-MeOH obtained from *B. pentandra* showed antifungal activity with minimum inhibitory concentrations between 512 ug / mL to 1024 / mL.

Keywords: *Bauhinia cheilantha*; *Bauhinia pentandra*; Chemical research; Antifungal activity.

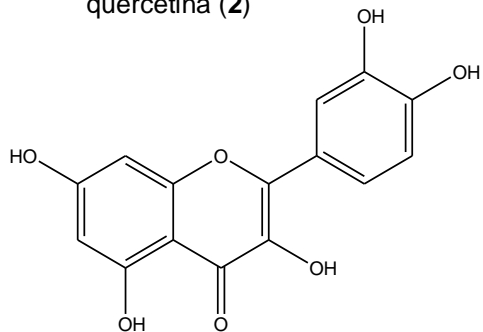
SUBSTÂNCIAS ISOLADAS E IDENTIFICADAS NESTE TRABALHO

Bauhinia cheilantha

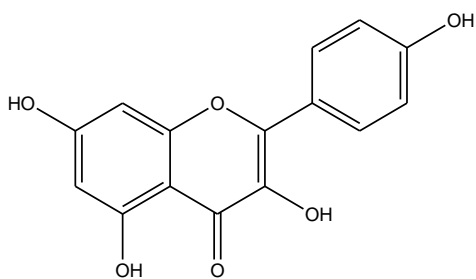
litospermosida (1)



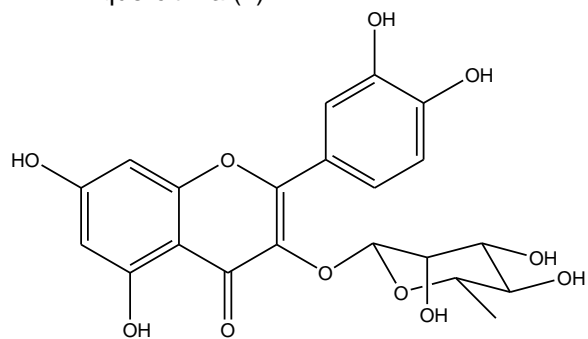
quercetina (2)



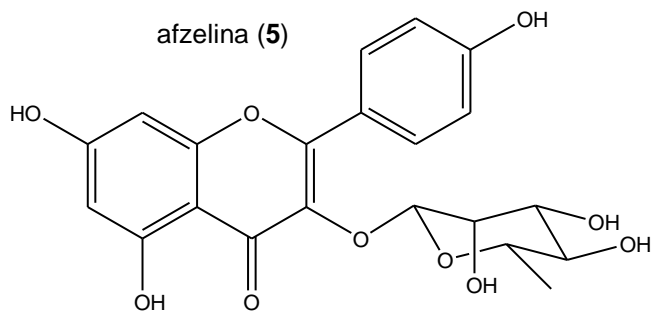
kanferol (3)



quercitrina (4)



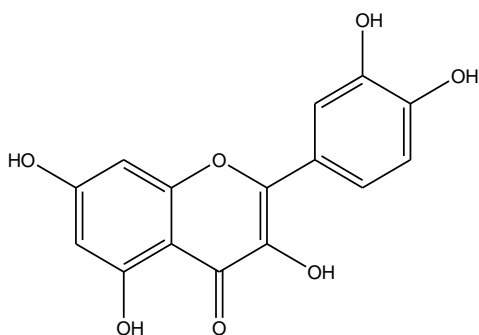
afzelina (5)



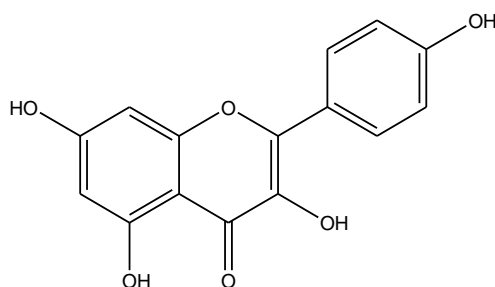
SUBSTÂNCIAS ISOLADAS E IDENTIFICADAS NESTE TRABALHO

Bauhinia pentandra

quercetina (4)



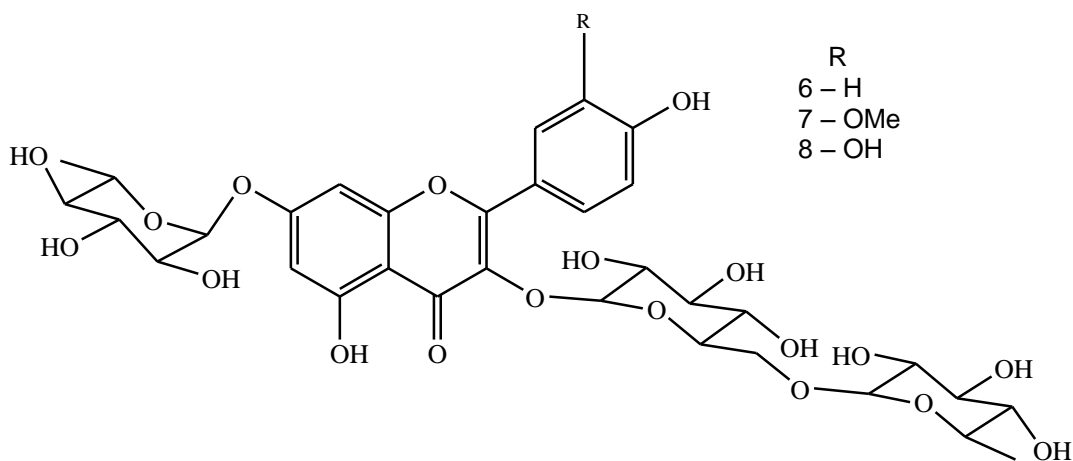
kanferol (5)



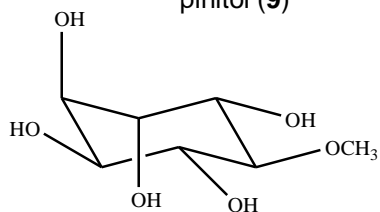
3-O-[β -D-glicopiranosil-(1 \rightarrow 6)- α -L-ramnopiranosil]-7-O- α L ramnopiranosilkanferol (6)

3-O-[β -D-glicopiranosil-(1 \rightarrow 6)- α -L-ramnopiranosil]-7-O- α L ramnopiranosil-3'-metoxiquercetina (7)

3-O-[β -D-glicopiranosil-(1 \rightarrow 6)- α -L-ramnopiranosil]-7-O- α L ramnopiranosiloxiquercetina (8)



pinitol (9)



ABREVIATURAS

AB	Meio sólido ágar batata dextrose
AcOEt	Acetato de Etila
CC	Coluna cromatográfica
CCDA	Cromatografia em Camada Delgada Analítica
CLAE-DAD	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CIM	Concentração Inibitória mínima
D	Dupleto
Dd	Duplo dupleto
IV	Infravermelho
<i>J</i>	Constante de acoplamento
MeOH	Metanol
M	Multiplete
NP	Ácido difenil bórico
RMN de ¹ H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
RMN de ¹³ C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono-13
RPMI	Meio de cultura
SI	Sigleto largo

OBS: As abreviaturas e símbolos utilizados neste trabalho e que não constam nesta relação, encontram-se descritos no texto ou são convenções adotadas universalmente.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Distribuição geográfica de espécies do gênero <i>Bauhinia</i>	15
Figura 2. Estruturas químicas do kanferol (1) e β -sitosterol (2) isoladas de <i>B. forficata</i>	16
Figura 3. Espécie <i>Bauhinia cheilantha</i>	18
Figura 4. Espécie <i>Bauhinia pentandra</i>	19
Figura 5. Cromatograma (CLAE-DAD, 254 nm) e espectros UV (λ em nm) dos picos correspondentes a substância 1 e o padrão litospermosida.	31
Figura 6. Estruturas químicas do kanferol (1) e quercetina (2)	32
Figura 7. Cromatograma (CLAE-DAD, 254 nm) e espectros UV dos picos correspondentes as substâncias 4 e 5	33
Figura 8. Espectro de IV (pastilha de KBr) da substância 4.....	34
Figura 9. Espectro de RMN de ^1H da substância 4 em DMSO- d_6 (300 MHz).....	35
Figura 10. Expansão em campo baixo do espectro de RMN de ^1H da substância 4 em DMSO- d_6 (300 MHz).	35
Figura 11. Espectro de RMN de APT da substância 4 em DMSO- d_6 (75 MHz).	36
Figura 12. Expansão em campo baixo do espectro de RMN de APT da substância 4 em DMSO- d_6 (75 MHz).	37
Figura 13. Expansão em campo Alto do espectro de RMN de APT da substância 4 em DMSO- d_6 (75 MHz).	37
Figura 14. Espectro de IV (pastilha de KBr) da substância 5.....	39
Figura 15. Espectro de RMN de ^1H da substância 5 em DMSO- d_6 (300MHz).....	40
Figura 16. Expansão em campo baixo do espectro de RMN de ^1H da substância 5 em DMSO- d_6 (300 MHz).	40
Figura 17. Expansão em campo alto do espectro de RMN de ^1H da substância 4 em DMSO- d_6 (300 MHz).	40
Figura 18. Espectro de RMN de APT da substância 5 em DMSO- d_6 (75 MHz).	41
Figura 19. Expansão em campo alto do espectro de RMN de ^1H da substância 5 em DMSO- d_6 (300 MHz).	41
Figura 20. Expansão em campo baixo do espectro de RMN de APT da substância 5 em DMSO- d_6 (75 MHz).	42
Figura 21. Expansão em campo alto do espectro de RMN de APT da substância 5 em DMSO- d_6 (75 MHz).	43

Figura 22. Estruturas químicas da quercitrina (1) e Afzelina (2)	45
Figura 23. Espectro de IV (pastilha de KBr) da substância 6	46
Figura 24. Espectro de RMN de ¹ H da substância 6 em DMSO- <i>d</i> ₆ (300MHz).	47
Figura 25. Expansão em campo baixo do espectro de RMN de ¹ H da substância 6 em DMSO- <i>d</i> ₆ (300MHz).	47
Figura 26. Expansão em campo baixo do espectro de RMN de ¹ H da substância 6 em DMSO- <i>d</i> ₆ (300MHz).	48
Figura 27. Espectro de RMN de APT da substância 6 em DMSO- <i>d</i> ₆ (75 MHz).	49
Figura 28. Expansão em campo baixo do espectro de RMN de APT da substância 6 em DMSO- <i>d</i> ₆ (75 MHz).	50
Figura 29. Expansão em campo alto do espectro de RMN de APT da substância 6 em DMSO- <i>d</i> ₆ (75 MHz).	51
Figura 30. Espectro de massas da substância 6	51
Figura 31. Estruturas químicas das substância 6 (3-O-[β-Dglicopiranosil-(1→6)-α-L-ramnopiranosil]-7-O-α-L-ramnopiranosilkanferol), 7 (3-O-[β-D-glucopiranosil-(1→6)-α-L-ramnopiranosil]-7-O-α-L-ramnopiranosil-3'- metoxiquercetina) e 8 . (3-O-[β-D-glucopiranosil-(1→6)-α-L-ramnopiranosil]- 7-O-α-L-ramnopiranosilquercetina)	52
Figura 32. Espectro de IV (pastilha de KBr) da substância substância 9	55
Figura 33. Espectro de RMN de ¹ H da substância 9 em DMSO- <i>d</i> ₆ (300MHz)	55
Figura 34. Expansões do espectro de RMN de ¹ H da substância 9 em DMSO- <i>d</i> ₆ (300MHz).	56
Figura 35. Expansão do espectro de RMN de APT da substância 9 em DMSO- <i>d</i> ₆ (75 MHz).	57

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Extratos obtidos dos caules e folhas das espécies <i>B. cheilantha</i> e <i>B. pentandra</i>	28
Tabela 2. Dados de RMN ¹ H e ¹³ C (300 e 75 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆ , respectivamente) de substância 4 (quercitrina). Deslocamentos químicos (δ) em ppm.....	38
Tabela 3. Dados de RMN ¹ H e ¹³ C (300 e 75 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆ , respectivamente) da substância 5 (afzelina) obtida de <i>B. cheilantha</i> . Deslocamentos químicos (δ) em ppm.....	44
Tabela 4. Dados de RMN ¹ H e ¹³ C (300 e 75 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆ , respectivamente) da substância 6 (3- <i>O</i> -[β- <i>D</i> -glicopiranosil-(1→6)-α- <i>L</i> -ramnopiranosil]-7- <i>O</i> -α- <i>L</i> -ramnopiranosilkanferol) obtida de <i>B. cheilantha</i> . Deslocamentos químicos (δ) em ppm.....	53
Tabela 5. Dados de RMN ¹³ C (75 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆ , respectivamente) da substância 9 (Pinitol). Deslocamentos químicos (δ) em ppm.	57
Tabela 6. Valores de concentração inibitória mínima (CIM) em µg/mL dos produtos naturais frente a leveduras e fungos filamentosos.	59

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. OBJETIVOS.....	22
2.1 Geral	22
2.2 Específicos	22
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	23
3.1 Material vegetal	23
3.2 Equipamentos e Reagentes.....	23
3.3 Obtenção e fracionamento dos extratos de <i>Bauhinia cheilantha</i>	24
3.4 Obtenção e fracionamento dos extratos de <i>Bauhinia pentandra</i>	26
3.5 Atividade antifúngica.....	29
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	31
4.1 Identificação estrutural dos constituintes químicos das espécies <i>Bauhinia cheilantha</i> e <i>Bauhinia pentandra</i>	31
Substância 1	31
Substâncias 2 e 3,	32
Substâncias 4 e 5	32
Substâncias 6, 7 e 8	45
Substância 9	54
4.2 Atividade Antifúngica	58
5. CONCLUSÕES	60
6. REFERÊNCIAS.....	61

1. INTRODUÇÃO

O gênero *Bauhinia* (Fabaceae ou Leguminosae) apresenta aproximadamente 300 espécies distribuídas em 22 seções e 30 séries (VAZ & TOZZI, 2005), sendo dez espécies nativas da América Latina. No Brasil ocorrem 91 espécies, sendo três consideradas espécies raras: *B. candelabriformis*, *B. leptantha* e *B. malacotrichoides* (VAZ & TOZZI, 2003). A Figura 1 mostra a distribuição espacial de espécies do gênero *Bauhinia* no Brasil.

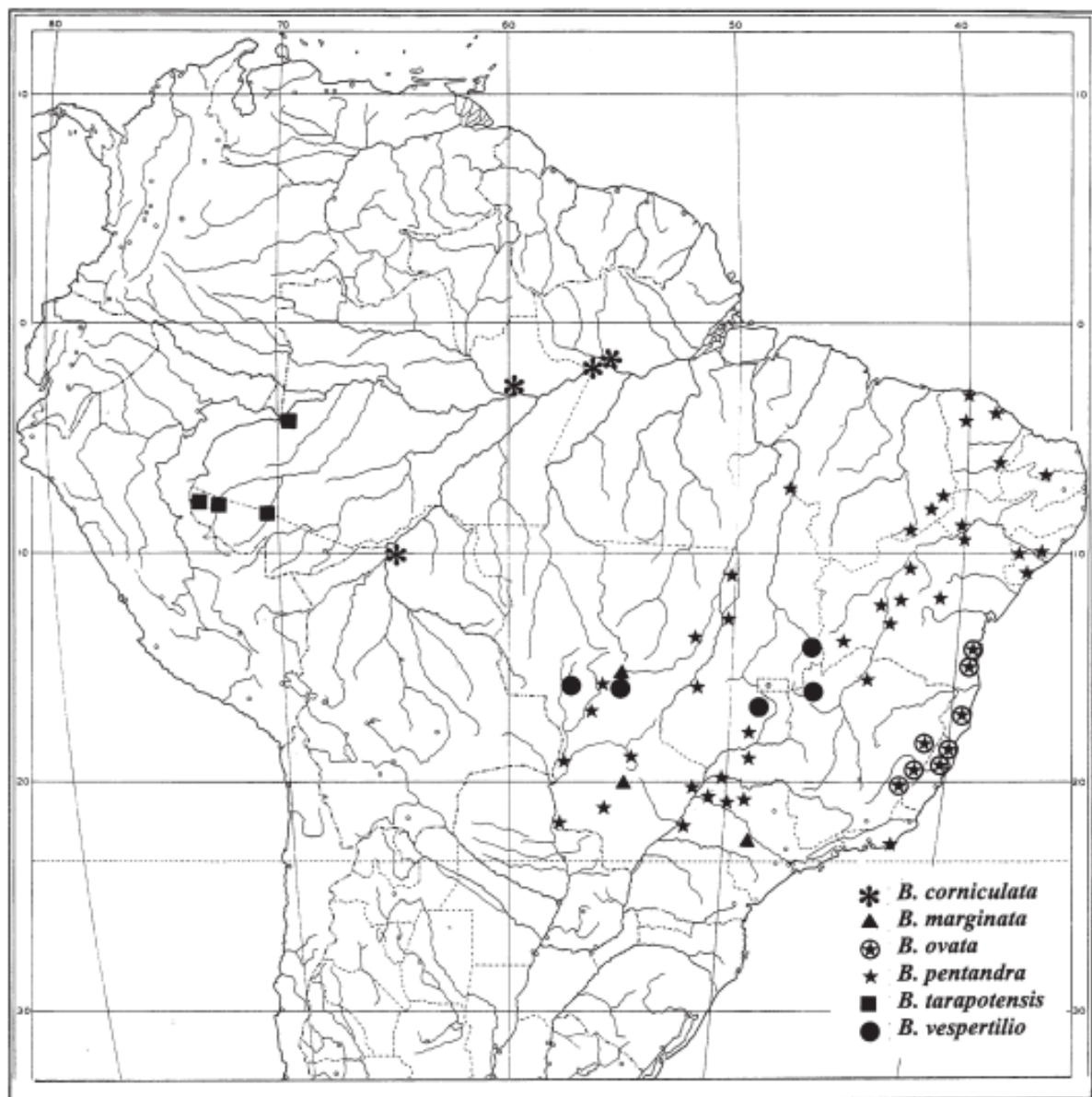


Figura 1. Distribuição geográfica de espécies do gênero *Bauhinia*, Fonte: VAZ e TOZZI, 2005.

Este gênero inclui árvores (perenes e decíduas), arbustos e lianas, com folhas simples bilobuladas e flores de várias cores e tamanhos, únicas ou em ráceros, corimbos ou panículas. Os frutos são deiscentes ou indeiscentes, com aproximadamente 15-20 cm de comprimento e as sementes são largas (PONOMARENKO & PAVLOVA, 2000).

No Brasil, as espécies deste gênero são chamadas de “mororó”, “unha-de-vaca” ou “pata-de-vaca”, devido as suas folhas fendidas lembrarem o rastro da pata dos bovinos. Algumas espécies de *Bauhinia* são utilizadas pela população para fins medicinais no tratamento de diabets e fins ritualísticos (MACEDO & FERREIRA, 2004; LORENZI & MATOS, 2008; PIRES et al., 2009).

Algumas espécies do gênero *Bauhinia* apresentam atividades antifúngica, antibacteriana, analgésica, antiinflamatória, antidiarreica, antitumoral e especialmente hipoglicemiante (OLIVEIRA et al., 2001; SILVA & CECHINEL-FILHO, 2002; SOSA et al., 2002; LINO et al., 2004; BARBOSA-FILHO et al., 2005; YUENYONGSAWSD et al., 2013).

Estudos químicos de diversas espécies do gênero *Bauhinia* mostraram a presença de diferentes classes de compostos como flavonóides como o kanferol (1), terpenoides, esteroides como o β -sitosrerol (2), triterpenos, taninos e quinonas (SILVA & CECHINEL-FILHO, 2002; DUARTE-ALMEIDA et al., 2004; PIZZOLATTI et al., 2003).

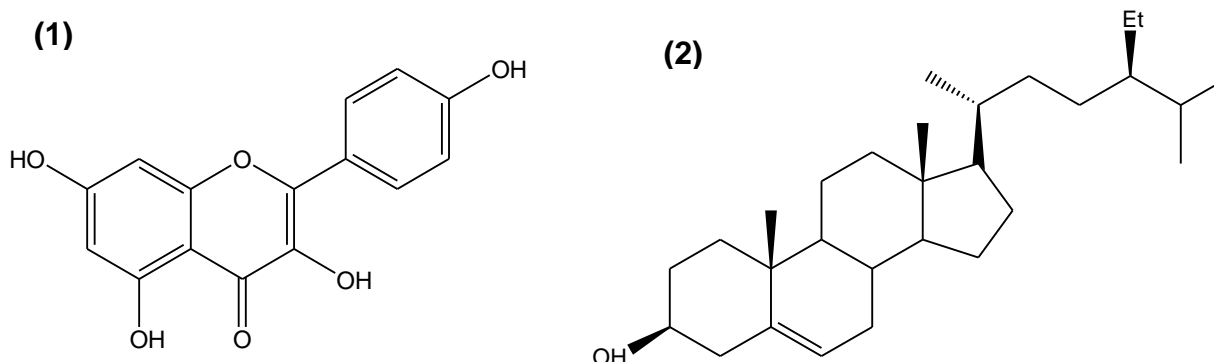


Figura 2. Estruturas químicas do kanferol (1) e β -sitosrerol (2) isoladas de *B. forficata*.

Neste trabalho foi realizado o estudo químico e biológico com as espécies *Bauhinia cheilantha* e *Bauhinia pentandra*. A espécie *Bauhinia cheilantha* (Bong) Studel (Figura 3) é uma árvore de caule duro, com cascas fibrosas e com ausência de espinhos (LORENZI & MATOS, 2008). Possui um porte pequeno, chegando a atingir até 3,5 m de altura, folhas com lóbulos arredondados, cartáceas a subcoriáceas, apresentando pecíolo com 2-3 cm de comprimento, suas inflorescências chegam a atingir cerca de 5,0 cm de comprimento, apresentando pétalas brancas e os frutos são do tipo legume deiscente (QUEIROZ et al., 2009). Esta espécie é típica da Caatinga do semiárido brasileiro, podendo ser encontrada com menos frequência em áreas de Cerrado, na área centro-oeste, no Paraguai e também na vegetação arbustiva próxima a Cuiabá (VAZ & TOZZI, 2003). Compostos de diferentes classes como alcaloides, antraquinonas, esteroides livres, flavonóides e xantonas (folhas, madeira e raízes), fenóis (caule, folha), flavononas (caule, raiz) foram detectados em *B. cheilantha* (LUNA et al., 2005).

Da fração metanólica das folhas foram isolados dois flavonoides: quercitrina e afzelina (OLIVEIRA, 2008), além dos constituintes voláteis, como o óxido de cariofileno e *trans*-cariofileno. O óleo das sementes é constituído por 57,7 % de compostos insaturados e 42,3 % de ácido linoléico (BRÍGIDO, 2001). A atividade hipoglicemiante e antioxidante foi relatada na fração AcOEt das folhas (OLIVEIRA, 2008). O extrato aquoso da casca apresentou atividade antinociceptiva (SILVA et al., 2005). O extrato etanólico das raízes apresentou alta toxicidade para *Artemia salina*, enquanto o extrato etanólico da madeira mostrou potente atividade larvicida contra *Aedes aegypti* (LUNA et al., 2005).



Figura 3. Espécie *Bauhinia cheilantha*, Fonte: Gutiérrez , I.E.M.

A espécie *Bauhinia pentandra* (Bong.) Vog. Ex. Steud (Figura 4) é conhecida popularmente como “mororó de espinho”. É encontrada em vários estados da região Nordeste, como Pernambuco e Paraíba, mas também em estados de outras regiões como Mato Grosso do Sul e Rio de Janeiro, (VAZ & TOZZI, 2003). Há relatos do uso popular dessa espécie como anti-inflamatório e cicatrizante (ROQUE et al., 2010). Em relação ao estudo químico, uma lectina foi parcialmente caracterizada e um cianoglicosídeo foi isolado das raízes (SILVA et al., 2001; SILVA et al., 2013). Há o relato do potencial antioxidante para o extrato metanólico e compostos extraídos das raízes desta espécie (SILVA et al., 2013).



Figura 4. Espécie *Bauhinia pentandra*, Fonte: Queiroz, R. T.

Várias espécies do gênero *Bauhinia* apresentam atividade antifúngica. O extrato AcOEt dos caules da espécie *B. forficata* mostrou atividade contra *Epidermophyton floccosum* e o extrato hexânico das cascas foi ativo para as espécies de fungos *Microsporium canis*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum* e *Epidermophyton floccosum* (SILVA & CECHINEL-FILHO, 2002). Para a espécie *B. rufescens* o extrato diclorometano, obtido das cascas, apresentou atividade antifúngica contra a espécie *Cladosporium cucumerinum* (MAILLARD et al., 1991)

Os fungos são microrganismos ubíquos que constituem um grupo bem diversificado, constituído de leveduras e fungos filamentosos de importância clínica como agentes patogênicos ou oportunistas. Por isso, eles são estudados como agentes causadores de doenças em humanos, animais e nas plantas, bem como quanto ao seu papel na indústria de alimentos e medicamentos como contaminantes ou produtores de substâncias de interesse (ENGELKIRK & DUBEN-ENGELKIRK, 2012). Neste contexto, destacam-se atualmente as infecções micóticas ocasionadas por leveduras do gênero *Candida* denominadas candidíases e por fungos

filamentosos dermatófitos que, por sua vez, ocasionam infecções em tecidos queratinizados denominadas dermatofitoses.

As candidíases são infecções fúngicas predominantemente endógenas e de caráter oportunista ocasionadas por organismos do gênero *Candida*, sendo uma das mais frequentes em todo o mundo. Algumas espécies estão associadas a processos patológicos humanos com comprometimento superficial e sistêmico, devendo-se destacar: *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. krusei* e *C. guilliermondii* (KOTHAVADE et al., 2010; HA et al 2011). O imunocomprometimento dos pacientes está entre os principais fatores que desencadeiam esta infecção. Por exemplo, paciente em quimioterapia de combate ao câncer, doenças como AIDS, terapias imunossupressoras devido a transplantes de órgãos, uso de antibióticos de amplo espectro de ação, diabetes mellitus, nutrição parenteral, entre outros (HAJJEH et al., 2004; KOTHAVADE et al., 2010).

Para as dermatofitoses, registros epidemiológicos relatam que *Trichophyton rubrum* é um dos dermatófitos mais isolados micoses superficiais, com distribuição mundial e sendo responsável por cerca de 70% dos casos de dermatofitoses em humanos (SEEBACHER et al., 2008). No Brasil, ele também continua sendo o dermatófito mais frequentemente isolado em diversos sítios anatômicos (DAMÁZIO et al., 2007). O gênero *Microsporum* compreende uma gama de variedades de espécies envolvidas em infecções em humanos e animais. As espécies mais frequentemente isoladas são *M. canis* e *M. gypseum*. Na Europa Central e Sudeste e Estados Unidos, *M. canis* é colocado como principal causador de *tinea capitis*, principalmente em crianças (AMEEN, 2010).

Em relação ao tratamento farmacológico destas micoses, embora o número de fármacos antifúngicos disponíveis no mercado possa parecer grande, eles estão agrupados em poucas classes químicas como imidazólicos, triazólicos e poliênicos e, muitas vezes, com espectro de ação restrito. Além disso, o sucesso no tratamento com antifúngicos pode ser prejudicado porque geralmente é associado com elevada recidiva e resistência às drogas. Assim como outros micro-organismos, as células fúngicas possuem uma grande habilidade de desenvolver resistência a compostos tóxicos (PERES et al., 2010; MICELI et al., 2011).

Os fungos desenvolvem mecanismos de resistência aos efeitos antifúngicos de todas as classes de fármacos, principalmente pelos seguintes mecanismos gerais: redução do acúmulo da droga no ambiente intracelular; diminuição da afinidade da

droga pelo seu alvo; modificações no seu metabolismo que reduzem os efeitos danosos da droga; superexpressão da molécula alvo; inativação das drogas. Muitas vezes, a associação de vários mecanismos está envolvida nesta resposta do micro-organismo às drogas (VANDEPUTTE et al., 2012).

Neste sentido o presente trabalho tem como objetivo isolar e identificar os constituintes químicos das espécies *Bauhinia cheilantha* e *B pentrandra* bem como avaliar a atividade antifúngica.

2. OBJETIVOS

2.1 Geral

Contribuir para o conhecimento da composição química e atividade antifúngica das partes aéreas (caules e folhas) das espécies *Bauhinia cheilantha* (Bong) Steudel e *Bauhinia pentandra* (Bong.) Vog. Ex. Steua (Fabaceae).

2.2 Específicos

Isolar os constituintes químicos das partes aéreas (caule e folhas) das espécies *Bauhinia cheilantha* e *Bauhinia pentandra*.

Identificar e/ ou elucidar compostos isolados através de técnicas espectroscópicas como Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e ^{13}C , Infravermelho (IV) e massas.

Avaliar a atividade antifúngica dos extratos e substâncias obtidas dos caules e folhas de dessas espécies.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Material vegetal

As partes aéreas (caule e folhas) das duas espécies foram coletadas no sítio Riacho, situado no município de Vieirópolis-PB em de maio de 2013 e colocadas em estufa ventilada a temperatura de 40°C por cinco dias e posteriormente, foram trituradas em moinho de facas.

3.2 Equipamentos e Reagentes

A análise cromatográfica em coluna (CC) foi realizada tendo como suporte Sephadex LH-20[®] (Amersham Biosciences, Suécia). Na análise por CCDA foram usadas cromatofolhas de sílica gel 60F₂₅₄ (Merck) e como revelador foi utilizado o reagente NP (ácido difenilbórico etanolamina-EtOH), além da detecção por irradiação ultravioleta (254 e 366 nm). O cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência (CLAE-DAD) (Shimadzu prominence, Corp., Kyoto, Japan) utilizado consiste de duas bombas de solvente modelo LC-6AD, degaseificador DGU-20As, forno de coluna CTO-20AC, detector de arranjo de diodos SPD-M20A. As amostras foram injetadas em um autoinjeter SIL-20AC HT (SHIMADZU). Para determinar o perfil cromatográfico foi usado coluna de fase reversa (Luna C-18 250 mm x 4.6 mm x 5 µm, Phenomenex) e pré-coluna Security Guard Holder (Phenomenex). A separação dos constituintes foi feita em coluna semipreparativa Luna 5u C-18 100A (250 x 21,20 mm x 5µm, Phenomedex), pré-coluna C-18 Luna 21 mm, solvente MeOH grau HPLC (Tedia), ácido acético (Vetec) e água Milli-Q. Foram usados filtros 0,45 µm de diâmetro (Supelco) para filtração das amostras e dos solventes.

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de ¹H e ¹³C foram obtidos em espectrômetros Bruker DPX-300 (300 e 75 MHz, para ¹H e ¹³C, respectivamente). Como referência interna foi utilizado tetrametilsilano ou resíduo de solvente DMSO ou acetona deuterados.

Os pontos de fusão das substâncias foram determinados no equipamento BIO SAM-PFM II.

Os espectros de absorção no infravermelho foram obtidos em pastilhas de KBr ($6000-400\text{ cm}^{-1}$), empregando-se um espectrômetro Varian 640-IR com transformada de Fourier.

As análises em LC-ESI-MS foram realizadas em um cromatógrafo acoplado a um espectrômetro de massa da marca Bruker Daltonics (Billerica), modelo Esquire 3000 Plus, equipado com fonte de ionização por *electrospray* (ESI) e analisador *ion trap*, operando no modo positivo.

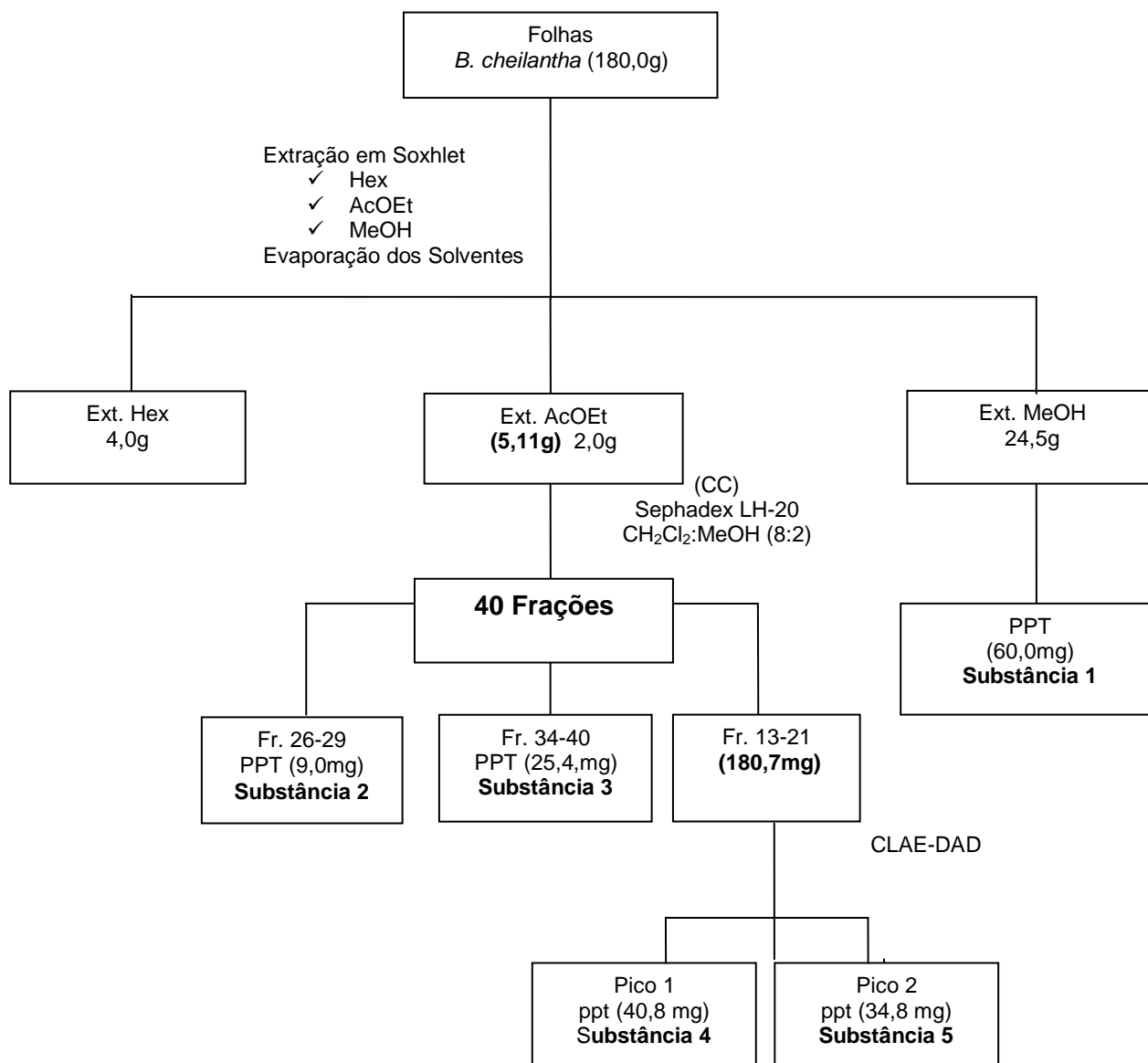
3.3 Obtenção e fracionamento dos extratos de *Bauhinia cheilantha*

As folhas secas de *B. cheilantha*, (180,0 g) foram submetidas a extração em Soxhlet utilizando os solventes n-hexano, acetato de etila e metanol. As soluções extrativas foram concentradas em rotaevaporador a $45\text{ }^{\circ}\text{C}$ sob pressão reduzida para obtenção dos extratos hexânico (4,0g), AcOEt (5,11g) e MeOH (24,5g). No extrato MeOH houve a formação de um precipitado branco (60,0 mg) (substância **1**, Bc-F-M-1).

Parte do extrato AcOEt das folhas de *B. cheilantha* (2,0 g) foi solubilizada em metanol e submetido a cromatografia em coluna com Sephadex LH-20 (C1) com o monitoramento das frações realizados por CCDA ($\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}$, 8:2). Esta coluna forneceu 40 frações. A fração 26-29 apresentou um precipitado de coloração amarela (9,0 mg) (substância **2**, Bc-F-A-1). A fração 34-40 também apresentou um precipitado amarelo (25,4 mg) (substância **3**, Bc-F-A-2). O teste com reagente NP revelou a natureza flavonoídica destas substâncias. A fração 13-21 (180,7 mg) mostrou, através de CCDA, a presença de duas substâncias. Então foi analisada por CLAE-DAD. Foi utilizado como fase móvel água acidificada 0,1% com ácido acético (solvente A) e metanol (solvente B), com gradiente 0,01-10 min, 40-70% B; e 10-20 min, 50-100% B, fluxo 1,0 mL/min e temperatura $40\text{ }^{\circ}\text{C}$. A amostra foi preparada a 1,0 mg/mL (MeOH:Água acidificada, 80:20) e injetado 5 μL . O cromatograma foi visualizado em 254 nm. Para o isolamento foi utilizado em coluna semipreparativa. A solução foi preparada a 360 mg/mL (MeOH:Água, 8:2) e foi injetada com o mesmo gradiente da corrida analítica, sendo o solvente A apenas água com fluxo de 16 mL/min, volume de injeção de 50 e 200 μL . As frações foram secas em rotavapor sendo as substância nomeadas de **4** (Bc-F-A-3, 40,8 mg) e **5** (Bc-F-A-4, 34,8 mg). O

Esquema 1 mostra o fracionamento cromatográfico e o isolamento das substâncias das folhas de *B. cheilantha*.

Esquema 1. Isolamento dos constituintes químicos das folhas de *B. Cheilantha*



O mesmo procedimento de extração foi realizado para o caule de *B. cheilantha*. 240,0 g do material seco foi submetido a extração em Soxhlet com o mesmos solventes. Após filtração e concentração das soluções extrativas foram obtidos os extratos hexânico (0,54g), AcOEt (1,95g) e MeOH (7,62g).

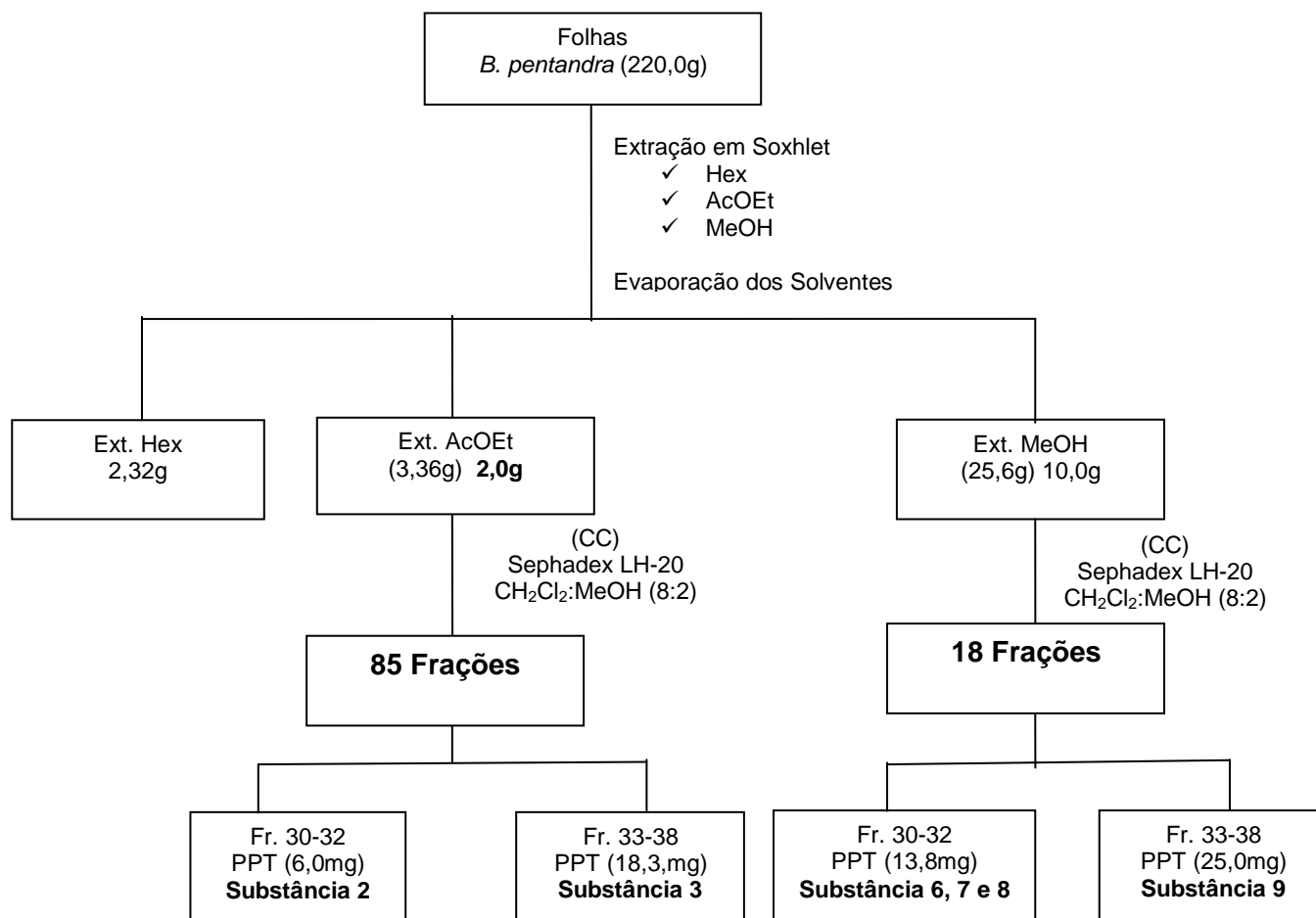
3.4 Obtenção e fracionamento dos extratos de *Bauhinia pentandra*

As folhas secas e trituradas de *B. pentandra* (220,0g) foram submetidas a extração em Soxhlet utilizando os solventes n-hexano, acetato de etila e metanol. Os extratos obtidos foram hexânico (2,32g), AcOEt (3,36g) e MeOH (25,6g).

Parte do extrato AcOEt das folhas de *B.pentandra* (2,0 g) foi solubilizada com metanol e submetido a cromatografia em coluna com Sephadex LH-20[®] (C1) e monitorado por CCDA (CH₂Cl₂:MeOH, 8:2) fornecendo 85 frações. As fração 30-32 (6,0 mg) e 33-38 (18,3 mg) apresentaram precipitados amarelos (substâncias **2** e **3** respectivamente) que mostraram teste positivo com o reagente NP.

O extrato MeOH de *B. pentandra* (10,0g) foi solubilizado em MeOH e cromatografado em coluna de Sephadex LH-20 resultando em 18 frações que foram reunidas após análises da CCDA. A fração 13-18 apresentou um precipitado amarelo (13,8 mg) (substâncias **6**, **7** e **8**, BPF M-4) A fração 6 apresentou um precipitado branco (25,0 mg) (substância **9**, BPF M-5). O Esquema 2 mostra o isolamento das substâncias das folhas da espécie *B. pentandra*.

Esquema 2. Isolamento das substâncias das folhas de *B. pentandra*



Com o Caule de *B. pentandra* foi realizado o mesmo procedimento para a extração. 210,0g foram submetida a extração em Soxhlet e os extratos obtidos foram o hexânico (1,94), AcOEt (1,39g) e MeOH (11,85g).

A Tabela 1 mostra as massas dos extratos obtidos nas extrações dos caules e folhas das espécies *B. cheilantha* e *B. pentandra*.

Tabela 1. Extratos obtidos dos caules e folhas das espécies *B. cheilantha* e *B. pentandra*

Material extraído	<i>B. cheilantha</i>		<i>B. pentandra</i>	
	Caules (g)	Folhas (g)	Caules (g)	Folhas (g)
	240,0	180,0	210,0	220,0
Ext. HEX	0,54	4,00	1,94	2,32
Ext. AcOEt	1,95	5,11	1,39	3,36
Ext. MeOH	7,62	24,50	11,85	25,60

3.5 Atividade antifúngica

O teste com as atividades antifúngicas foi realizado pelo professor Dr. Fillipe de Oliveira Pereira e pela aluna de iniciação científica Viviane Priscila Barros de Medeiros no Laboratório de Bioquímica e Microbiologia, ambos da Unidade Acadêmica de Saúde (UAS) do Centro de Educação e Saúde (CES), da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG).

Os extratos e as subatâncias utilizadas nos ensaios estão listados na Tabela 6. As soluções foram preparadas no momento de execução dos testes, dissolvendo-os primeiramente em 100 µL de DMSO a 100% e utilizando água destilada esterilizada em quantidade suficiente para obter a concentração inicial de 1024 µg/mL. A partir desta concentração, foram feitas diluições seriadas em razão de dois até alcançar a concentração de 1 µg/mL utilizando o próprio meio RPMI 1640.

Os meios de cultura utilizados foram o meio sólido ágar batata dextrose (AB), o qual foi solubilizado com água destilada e esterilizado em autoclave, a 121°C por 15 minutos, conforme normas do fabricante (Difco®). O meio líquido RPMI 1640 com glutamina e sem bicarbonato também foi utilizado e preparado de acordo o documento M38-A do CLSI (2002).

Para os ensaios de atividade antifúngica, foram utilizadas as seguintes cepas fúngicas: levedura *Candida guilhermondii* LM 103; dermatófitos *Microsporum canis* LM 910, *M. gypseum* LM 130 *Trichophyton rubrum* LM 148. As cepas foram obtidas da coleção do Laboratório de Micologia do Departamento de Ciências Farmacêuticas, da Universidade Federal da Paraíba. Todas as cepas serão mantidas em tubos de ensaio contendo AB inclinado sob refrigeração (8°C), no Laboratório de bioquímica (J8) do CES (UFCG).

Para induzir a formação de conídios, os dermatófitos foram cultivados em AB a 28°C por 7 dias. As recentes colônias fúngicas foram cobertas com solução salina estéril (NaCl 0,9 %), e as suspensões feitas por suaves agitações com auxílio de uma pipeta de transferência. A mistura resultante de conídios e fragmentos de hifas foi transferida para tubos de ensaio esterilizados. Após agitação de 15 segundos, cada suspensão foi deixada em repouso por 3-5 minutos, tempo para que os fragmentos de hifas (partículas mais pesadas) se depositem no fundo, e o sobrenadante foi recolhido em tubos de ensaio estéreis. As densidades das

suspensões de cada cepa foram ajustadas em espectrofotômetro a 520 nm para um valor de 70-72% de transmitância, a qual corresponde a um inóculo de aproximadamente $0,5 - 5 \times 10^6$ unidades formadoras de colônias em 1 mL (UFC/mL) (CLSI, 2002; SANTOS et al., 2006; BARROS et al., 2006).

A determinação da CIM dos extratos e substâncias foi realizada pela técnica de microdiluição, utilizando placas de microtitulação contendo 96 cavidades com fundo chato (CLSI, 2002; SANTOS & HAMDAN, 2005). Em cada linha da placa, foram adicionados 100 μ L dos extratos e substâncias diluídas em RPMI 1640. Em cada cavidade da placa, foram adicionados 100 μ L do inóculo previamente preparado, diluído em RPMI 1640 na proporção 1:50. Um controle fúngico foi realizado substituindo as dos extratos e substâncias por solução salina esterilizada (controle de crescimento). Um controle de esterilidade também foi realizado, colocando-se apenas o meio de cultura, sem o inóculo. Para verificar a ausência de interferência nos resultados pelo DMSO utilizado na preparação das soluções, foi feito um controle com DMSO na concentração usada para a solubilização das drogas acrescido do inóculo e do meio de cultura. As placas foram seladas e incubadas a 28°C por até 7 dias para a realização da leitura. Os valores de CIM foram determinados pela análise visual da inibição do crescimento em cada cavidade, comparando os testes com o controle de crescimento (ausência de drogas). A CIM é definida como a menor concentração das drogas capaz de inibir 100% o crescimento fúngico observado nas cavidades. O experimento foi realizado em triplicata e os valores de CIM foram expressos como média geométrica (SANTOS & HAMDAN, 2005).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Identificação estrutural dos constituintes químicos das espécies *Bauhinia cheilantha* e *Bauhinia pentandra*.

Substância 1

A substância 1 foi obtida do extrato MeOH das folhas de *B. cheilantha* como um sólido amorfo branco pouco solúvel em MeOH. Há relatos do isolamento de substâncias em espécies de *Bauhinia* do tipo cianoglicosídeos que apresentam essa propriedade de baixa solubilidade em MeOH (SILVA et al, 2013; ATHIKORNKULCHAI et al, 2003). Esta amostra foi comparada com o padrão litospermosida por CCDA e verificou-se que se tratava desse cianoglicosídeo já isolado dos caules da *Bauhinia sirindhorniae*. A confirmação também foi feita pela comparação por CLAE-DAD onde verificou-se que as substâncias apresentavam o mesmo tempo de retenção e o mesmo comprimento de onda no UV (ATHIKORNKULCHAI et al, 2003). A Figura 5 mostra o cromatograma e espectro dos picos correspondentes a substância 1 e o padrão litospermosida

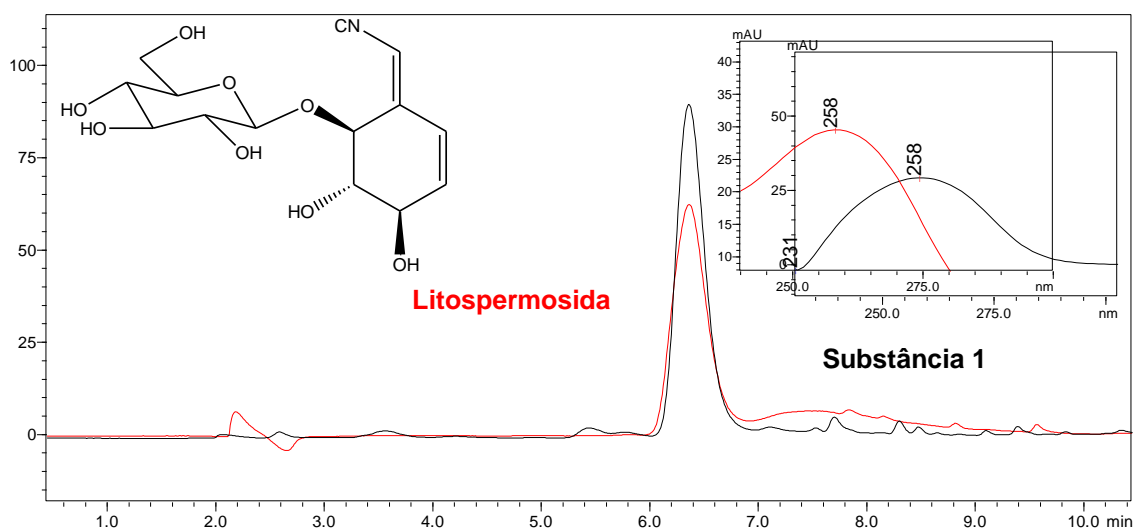


Figura 5. Cromatograma (CLAE-DAD, 254 nm) e espectro dos picos correspondentes a substância 1 e o padrão litospermosida.

Substâncias 2 e 3,

A substância **2** obtida dos extratos AcOEt das folhas de *B. cheilantha* e das folhas *B. pentandra*, mostrou teste positivo com o reagente NP. Compostos como o kanferol e seus derivados apresentam coloração amarela clara quando submetidos ao mesmo teste. A substância **2** foi comparada por CCDA com o padrão de kanferol (Figura 6), (CHCl₃: MeOH, 9:1), onde foi verificado que tratava-se desse flavonoide. Esse composto é frequentemente isolado de plantas pertencentes a família Fabaceae e já teve sua presença relatada nas espécies *B. recemosa*, *B. purpúrea*, *B. variegata*, *B. megalandra*, *B. forficata* todas do gênero *Bauhinia*. A essa substância é atribuída diversas atividades entre elas a atividade antioxidante. (ANJANEYULU et al., 1984; KUO & YEH., 1997; RAO et al., 2008; PIZZOLATTI et al., 2003; ESTRADA et al., 2005).

Com a substância **3** foi realizado o mesmo procedimento utilizando a quercetina (Figura 6) como padrão, sendo esta identificada. Este flavonoide é comum no reino vegetal e relatado em diversas espécies do gênero *Bauhinia*, como *B. recemosa*, *B. purpurea*, *B. monandra*. Dentre as atividades atribuídas a esse composto destacam-se as atividades antioxidante e antiviral. (KUO & YEH., 1997; EL-HOSSARY et al., 2000; ADEROGBA et al., 2006).

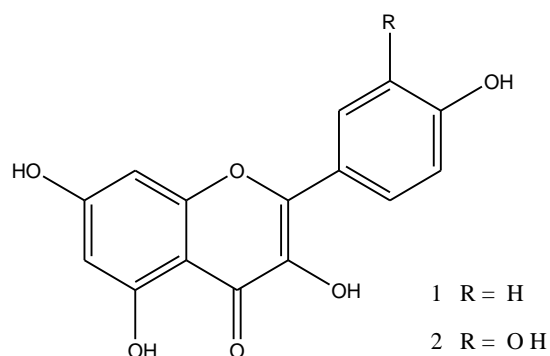


Figura 6. Estruturas químicas do kanferol (**2**) e quercetina (**3**)

Substâncias 4 e 5

A análise do cromatograma (Figura 7) obtido por CLAE-DAD e dos espectros de ultravioleta (Figura 7) mostra que as substâncias **4** (40,8 mg) e **5** (34,8 mg) isoladas do extrato AcOEt das folhas *B. cheilantha* são flavonóides, uma vez que foi possível visualizar bandas de absorção na região de UV 305-390 nm e 220-300 nm.

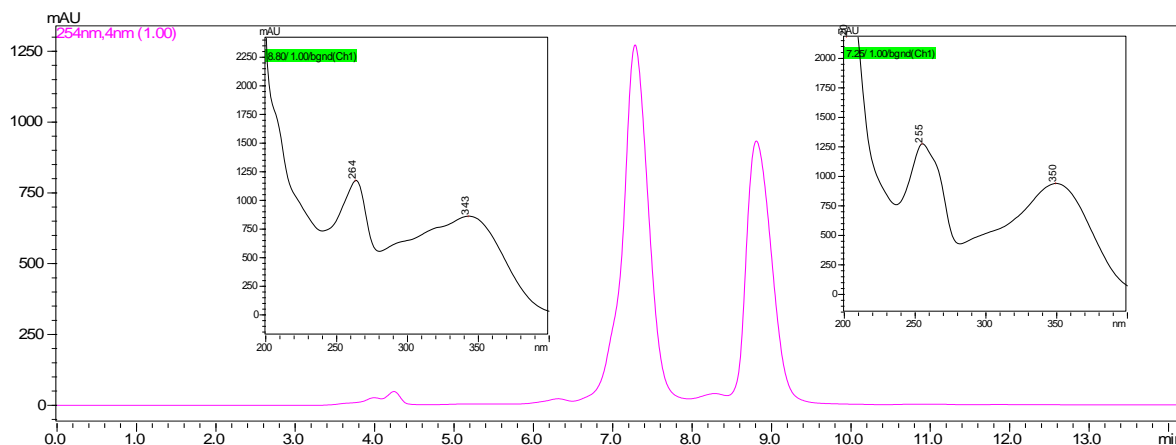


Figura 7. Cromatograma (CLAE-DAD, 254 nm) e espectros UV dos picos correspondentes as substâncias **4** e **5**.

A substância **4** foi obtida como um sólido amarelo solúvel em MeOH. A análise do espectro de infravermelho desta substância (Figura 8) apresentou uma banda em 3367 cm^{-1} característica de grupos hidroxila (OH) e em 1655 cm^{-1} para estiramento C=O de carbonila, além dos estiramentos em 1605 , 1508 e 1449 cm^{-1} para a ligação C=C de aromático e em 1201 cm^{-1} atribuível ao C-O.

O espectro de RMN de ^1H da substância **4** em $\text{DMSO-}d_6$ (Figuras 9 a 11) apresentaram sinais característicos de flavonoides. O sinal em δ_{H} 12,65 é característico de ligação de hidrogênio da hidroxila em C-5 com o carbono em C-4. A natureza aromática foi verificada pela presença dos sinais na região de δ_{H} 6,20 a 7,30 no espectro de RMN de ^1H e δ_{C} 104,00 a δ_{C} 178,00 no espectro APT (Figura 13).

Os sinais em δ_{H} 7,29 (*d*, $J=2,2$; H-2'), δ_{H} 7,25 (*dd*, $J=2,2$; 8,4; H-6') e δ_{H} 6,86 (*d*, $J=8,4$, H-5') no espectro de RMN de ^1H mostraram a presença do padrão de substituição ABX para o anel B de flavonóide. Já os sinais em δ_{H} 6,20 (*d*, $J=2,0$) e em δ_{H} 6,38 (*d*, $J=2,0$) são referentes a H-6 e H-8 do anel A, respectivamente. A presença da unidade glicosídica foi confirmada pelo conjunto de sinais entre δ_{H} 5,24 e δ_{H} 0,81 sendo o sinal em δ_{H} 5,24 (1H, *d*, $J = 1,44$) característico do hidrogênio anomérico H-1''. A unidade glicosídica foi confirmada pela constante de acoplamento do H-1'' (DU, LI, JERZ, 2005). A presença do sinal em 0,81 (3H, *d*, $J = 6,0$) referente ao H-6'' indicam que a unidade glicosídica presente na molécula é a ramnose. Os demais sinais entre δ_{H} 3,0 e δ_{H} 4,0 são referentes aos demais hidrogênios do glicosídeo (HARBONE & MABRY, 1982; SANTOS et al., 2005).

O espectro de APT (Figura 12) mostrou sinais para 21 carbonos, sendo 15 para a unidade flavonoídica e 6 para a unidade glicosídica. O sinal em δ_C 177,79 foi atribuído ao carbono da carbonila C-4 e o sinal em δ_C 101,86 ao carbono anomérico. Os demais sinais em torno de δ_C 70,0 são característicos da ramnose (AGRAWAL, 1989). Os dados de RMN estão na Tabela 2. Com base nos dados obtidos e comparação com os dados da literatura foi possível identificar a substância **4** como quercitrina (Figura 23) (AGRAWAL, 1989).

A substância apresentou ponto de fusão 178-180 °C e $[\alpha]_D^{25} = -170.00$ (MeOH, $c = 0,1$) (Literatura $[\alpha]_D^{25} = -178,0$, MeOH, $c = 0,1$, PF = 179-182° C) (MIN et al., 2003; SIRAT et al., 2010).

Esse flavonoide glicosilado já foi isolado e identificado das folhas de *B. cheilantha* (OLIVEIRA, 2008) e das espécies *B. racemosa*, *B. microstachya* (EL-HOSSARY et al., 2000; GADOTY et al., 2005).

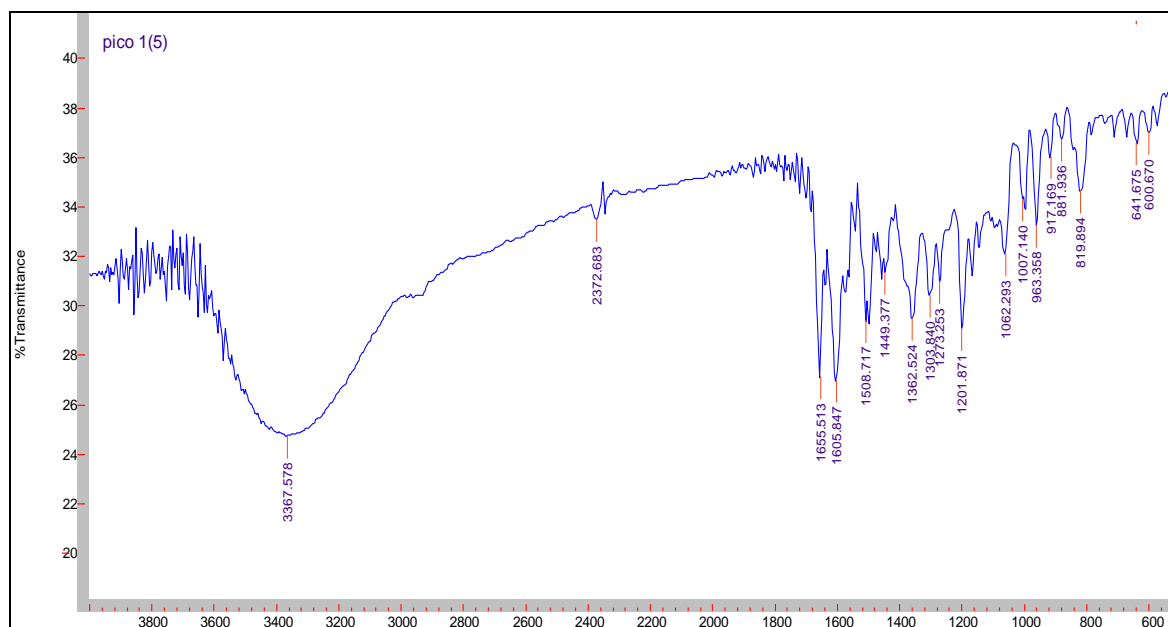


Figura 8. Espectro de IV (pastilha de KBr) da substância **4**

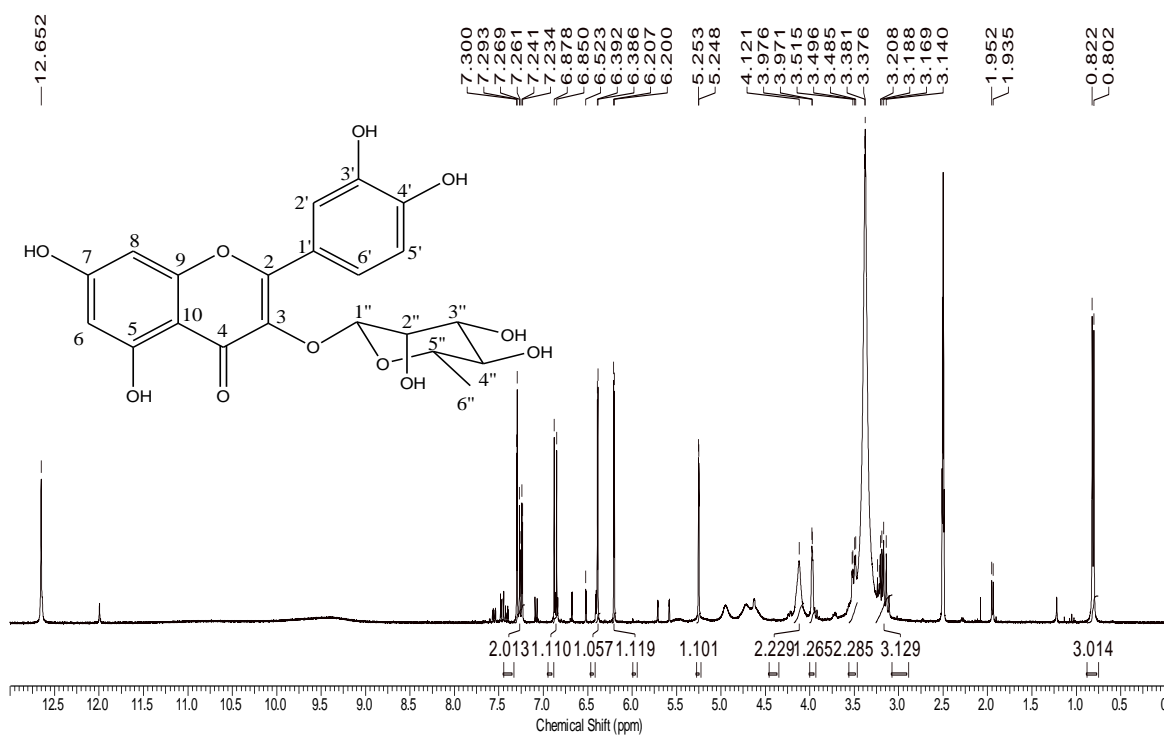


Figura 9. Espectro de RMN de ^1H da substância 4 em $\text{DMSO-}d_6$ (300 MHz).

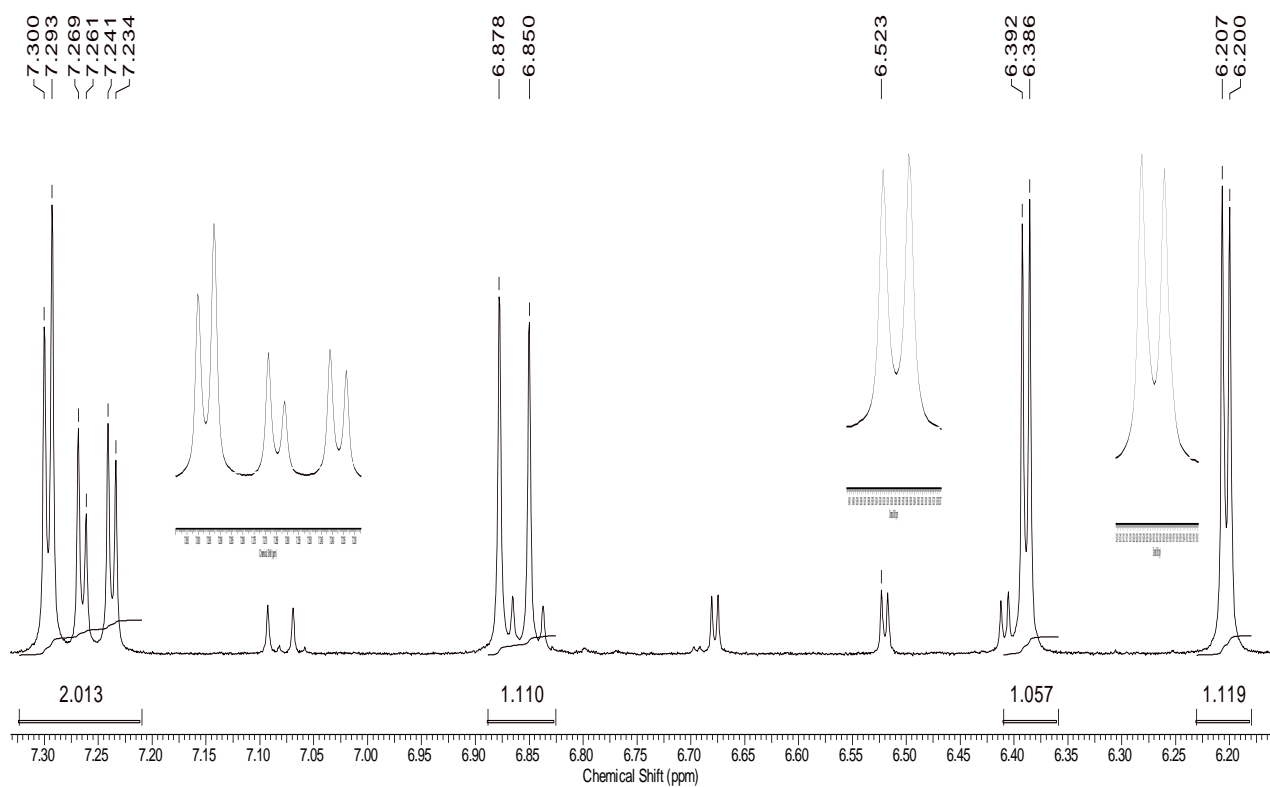


Figura 10. Expansão em campo baixo do espectro de RMN de ^1H da substância 4 em $\text{DMSO-}d_6$ (300 MHz).

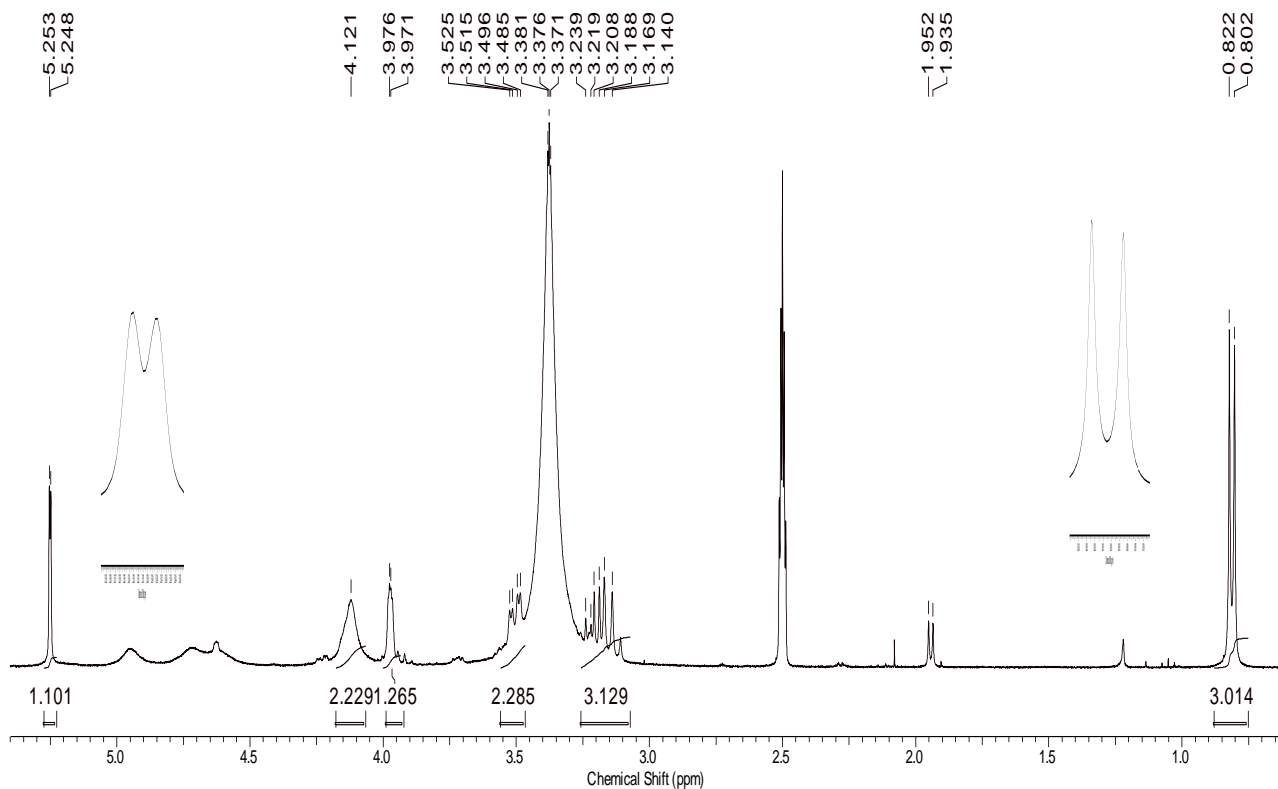


Figura 11. Expansão em campo alto do espectro de RMN de ^1H da substância **4** em $\text{DMSO-}d_6$ (300 MHz).

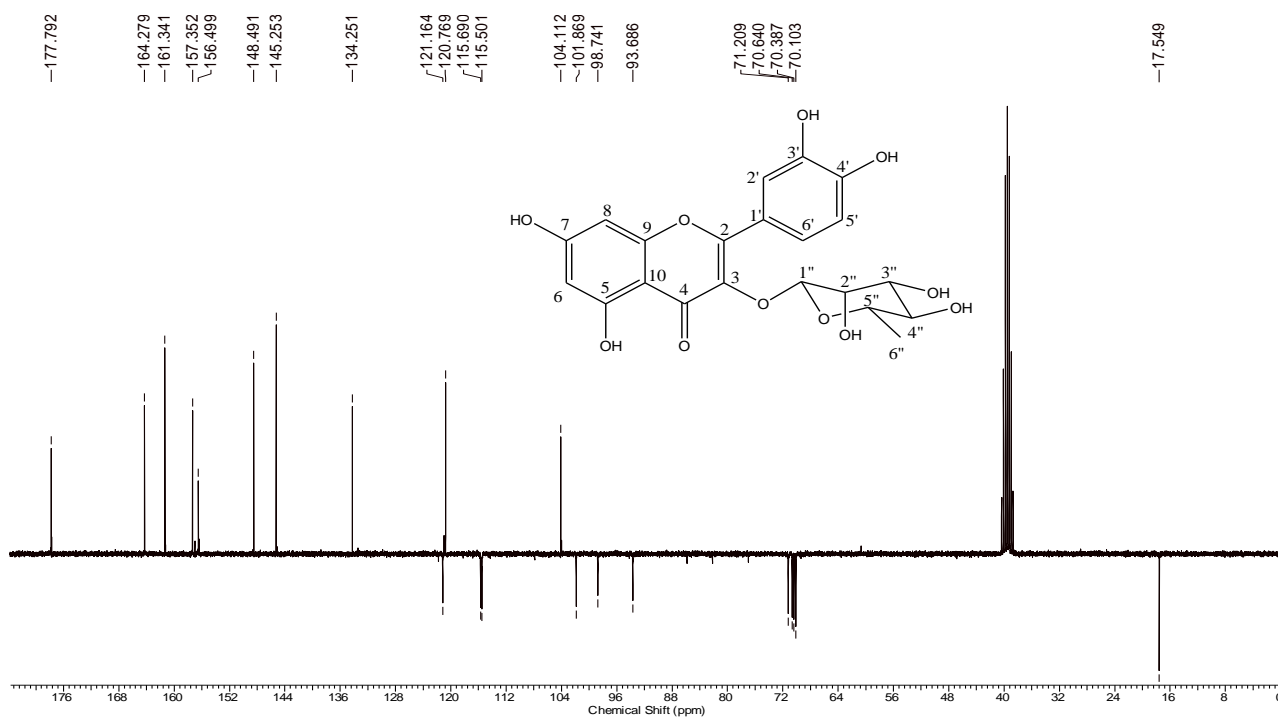


Figura 12. Espectro de RMN de APT da substância **4** em $\text{DMSO-}d_6$ (75 MHz).

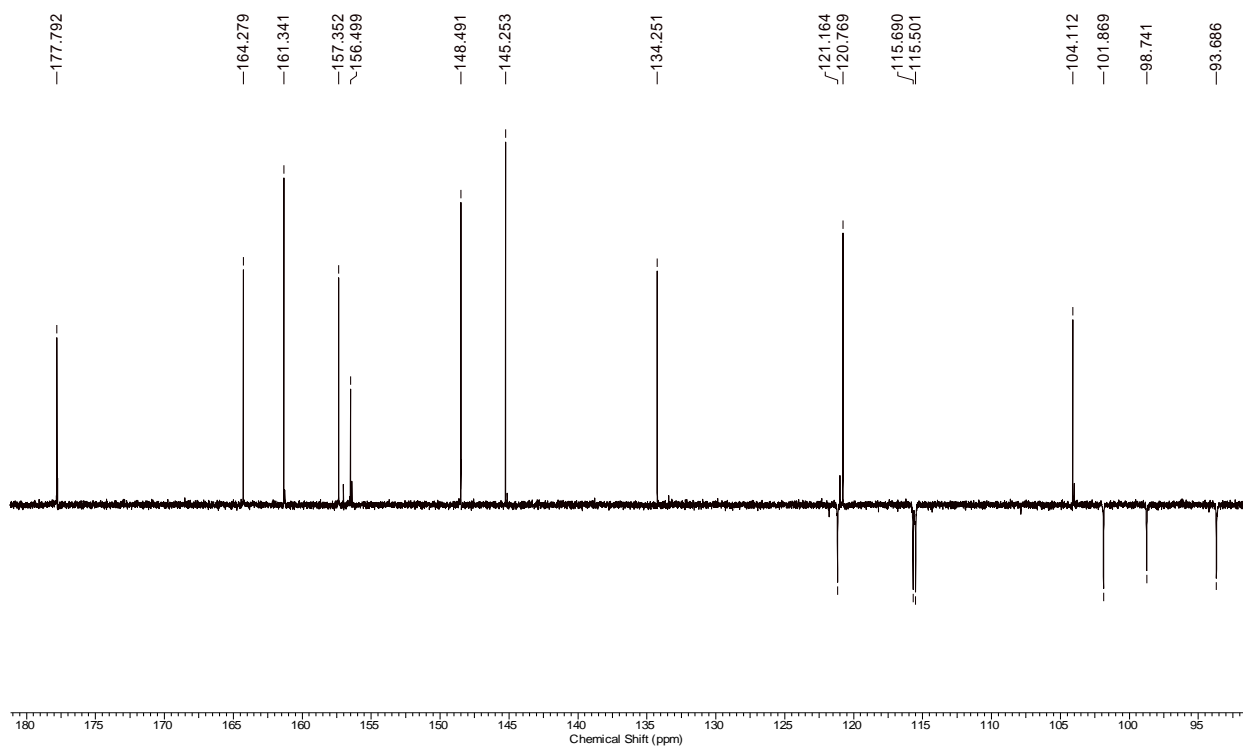


Figura 13. Expansão em campo baixo do espectro de RMN de APT da substância **4** em DMSO- d_6 (75 MHz).

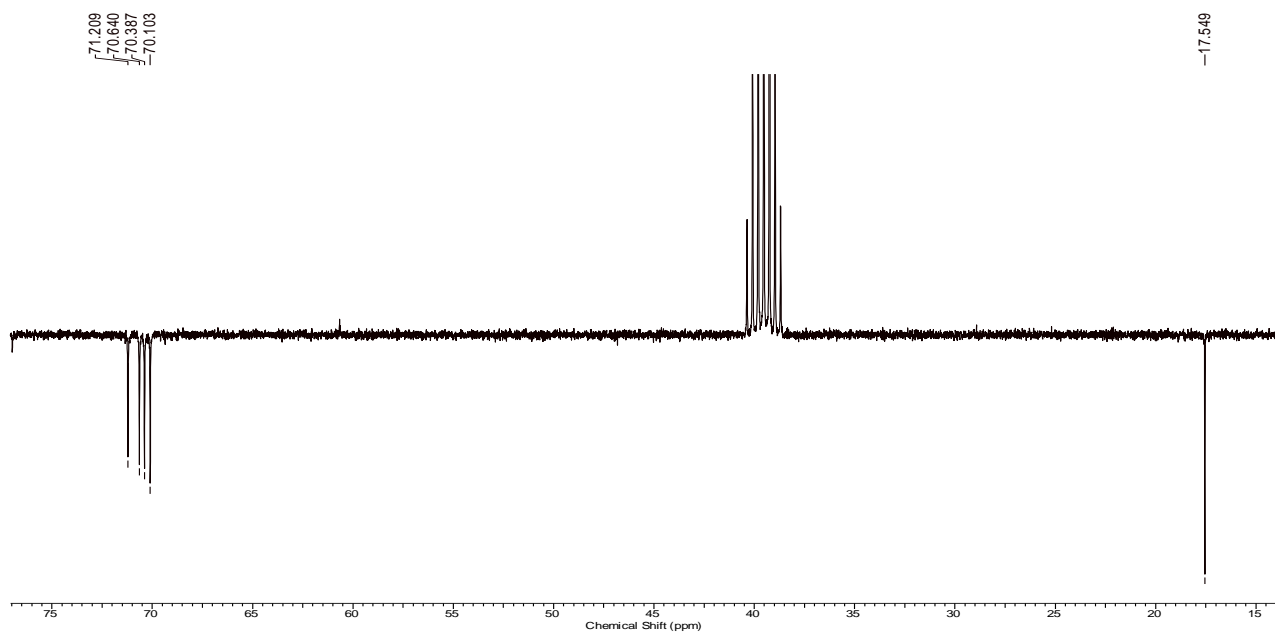
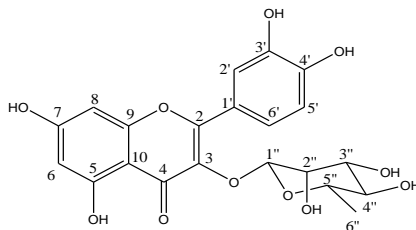


Figura 14. Expansão em campo Alto do espectro de RMN de APT da substância **4** em DMSO- d_6 (75 MHz).

Tabela 2. Dados de RMN ^1H e ^{13}C (300 e 75 MHz, DMSO- d_6 , respectivamente) de substância **4** (quercitrina). Deslocamentos químicos (δ) em ppm.



C	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$ [<i>m</i> , <i>J</i> (Hz)]	$^*\delta^{13}\text{C}$	$^*\delta^1\text{H}$ [<i>m</i> , <i>J</i> (Hz)]
2	156,49		158,7	
3	134,25		136,37	
4	177,79		179,81	
5	161,34		163,37	
6	98,74	6,20 (1H, d, <i>J</i> = 2,02)	100,00	6,21 (1H, d, <i>J</i> = 1,96)
7	164,27		166,17	
8	93,68	6,38 (1H, d, <i>J</i> = 2,02)	94,89	6,38 (1H, d, <i>J</i> = 1,96)
9	157,35		159,48	
10	104,11		106,01	
1'	120,76		123,10	
2'	115,68	7,29 (1H, d, <i>J</i> = 2,17)	116,53	7,33 (1H, d, <i>J</i> = 1,92)
3'	145,25		146,59	
4'	148,49		149,98	
5'	115,49	6,86 (1H, d, <i>J</i> = 8,40)	117,07	6,91 (1H, d, <i>J</i> = 8,32)
6'	121,63	7,25 (1H, dd, <i>J</i> = 2,17; 8,40)	123,00	7,31 (1H, dd, <i>J</i> = 1,96; 8,32)
1''	101,86	5,24(1H, d, <i>J</i> = 1,44)	103,70	5,34(1H, d, <i>J</i> = 1,44)
2''	70,10	3,50 (1H, dd, <i>J</i> = 3,1; 9,0)	72,20	3,75 (1H, dd, <i>J</i> = 3,2; 9,26)
3''	70,38	3,97 (1H, dd, <i>J</i> = 1,5; 2,97)	72,25	4,22 (1H, dd, <i>J</i> = 1,72; 3,2)
4''	71,20	3,19 (1H, t, <i>J</i> = 5,94)	73,39	3,35 (1H, t, <i>J</i> = 5,0)
5''	70,63	3,25 (1H, m)	72,05	3,42 (1H, m)
6''	17,54	0,81 (3H, d, <i>J</i> = 6,0)	17,80	0,94 (3H, d, <i>J</i> = 6,12)

*AGRAWAL, 1989

A substância **5** foi obtida como um sólido amarelo. O espectro de IV (Figura 15) também apresentou banda de absorção larga em 3400 cm^{-1} referente a O-H, e em 1655 cm^{-1} referente carbonila (C=O).

Através dos espectros de RMN de ^1H (Figuras 16 a 19) e APT (Figura 20) foi possível ferificar que a substâncias **5** tem uma estrutura semelhante ao composto **4** sendo a única diferença detectada através ds sinais em δ_{H} 7,76 (2H, d; $J= 8,82\text{ Hz}$) que são referentes aos hidrogenios H-2' e H-6' e em δ_{H} 6,91 (2H, d; $J= 8,82\text{ Hz}$) para os hidrogenios H-3' e H-5' característicos do anel B de flavonóides para-substituído com OH na posição 4'. Com base nos dados obtidos e comparação com os dados da literatura foi possível identificar a **substância 5** como afzelina (Figura 23), um flavonoide já isolado da espécie *B. cheilantha* (WANG et al., 2009; OLIVEIRA, 2008).

Esta substância apresentou ponto de fusão $174 - 176\text{ }^\circ\text{C}$ e $[\alpha]_{\text{D}}^{25} -150.00$ (MeOH, $c = 0,1$) (Literatura PF = $172-174\text{ }^\circ\text{C}$, $[\alpha]_{\text{D}}^{25} -184,0$, MeOH, $c = 0,1$) (HUU et al., 2008; MIN et al., 2003). Os dados de RMN de ^{13}C e ^1H são apresentados na Tabela 3.

Para essa substância, há diversos relatos de atividades como a inibitória da aldose redutase, atividade antimicrobiana, antioxidante atividade anti-leishmania e atividade antiviral contra o vírus influenza A/NWS/33 (H1N1) (MOK & LEE, 2013; LEE, et al., 2014; TATISMOS et al., 2012; MUZITANO, et al., 2006; HA et al., 2014).

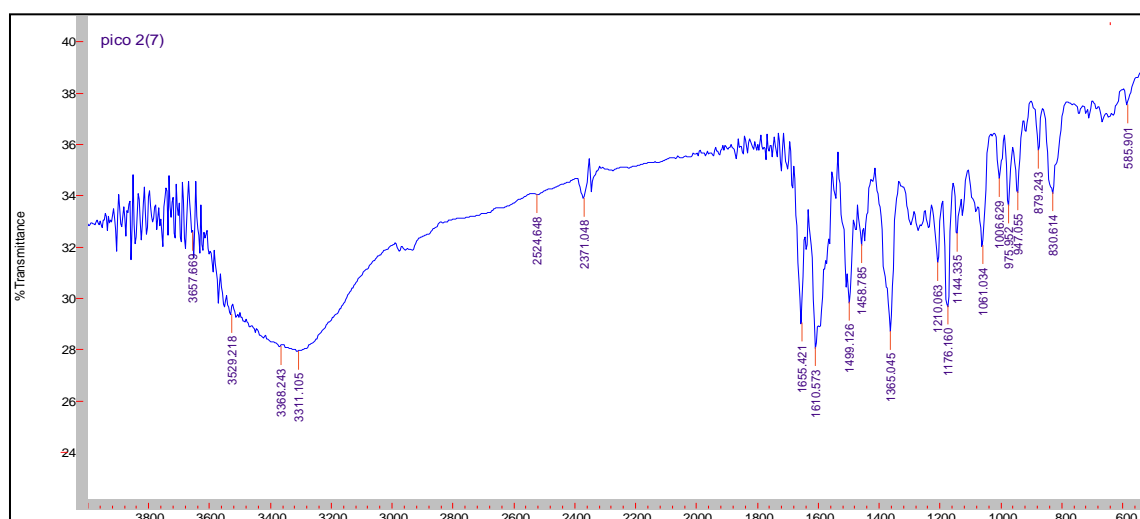


Figura 15. Espectro de IV (pastilha de KBr) da substância **5**.

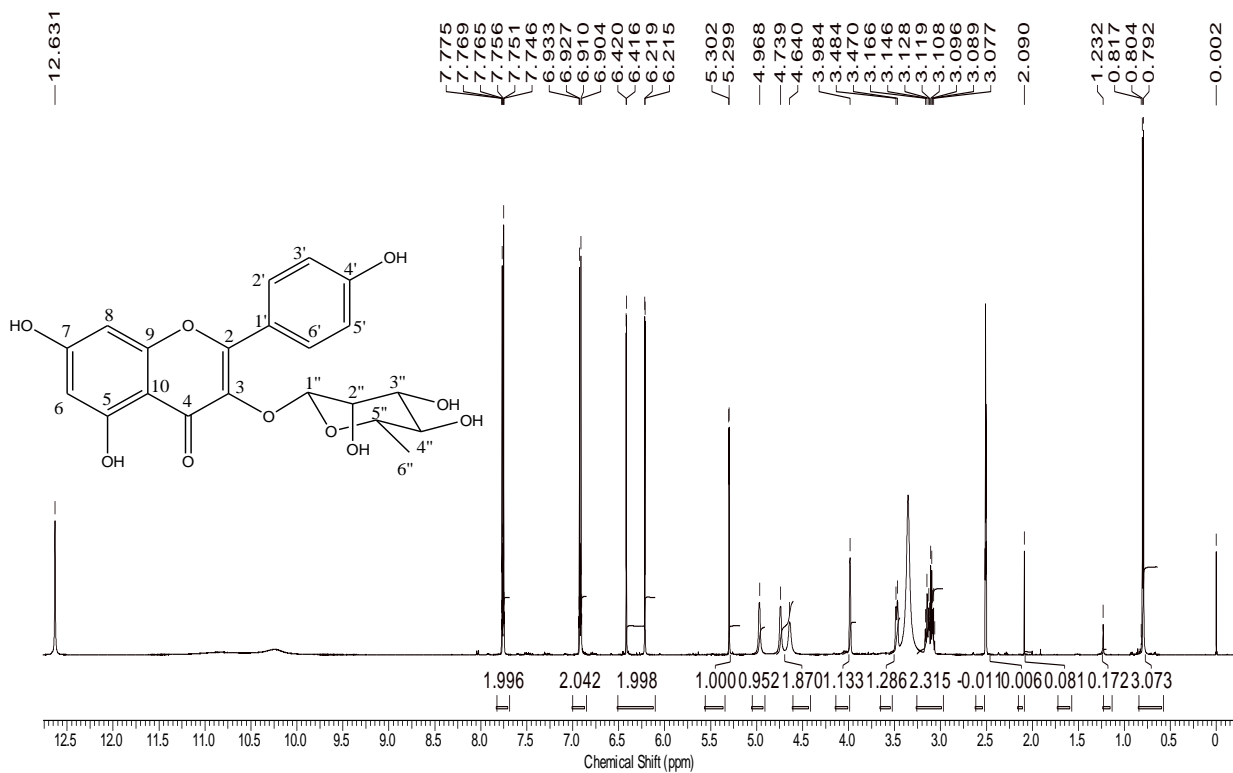


Figura 16. Espectro de RMN de ^1H da substância 5 em $\text{DMSO-}d_6$ (300MHz).

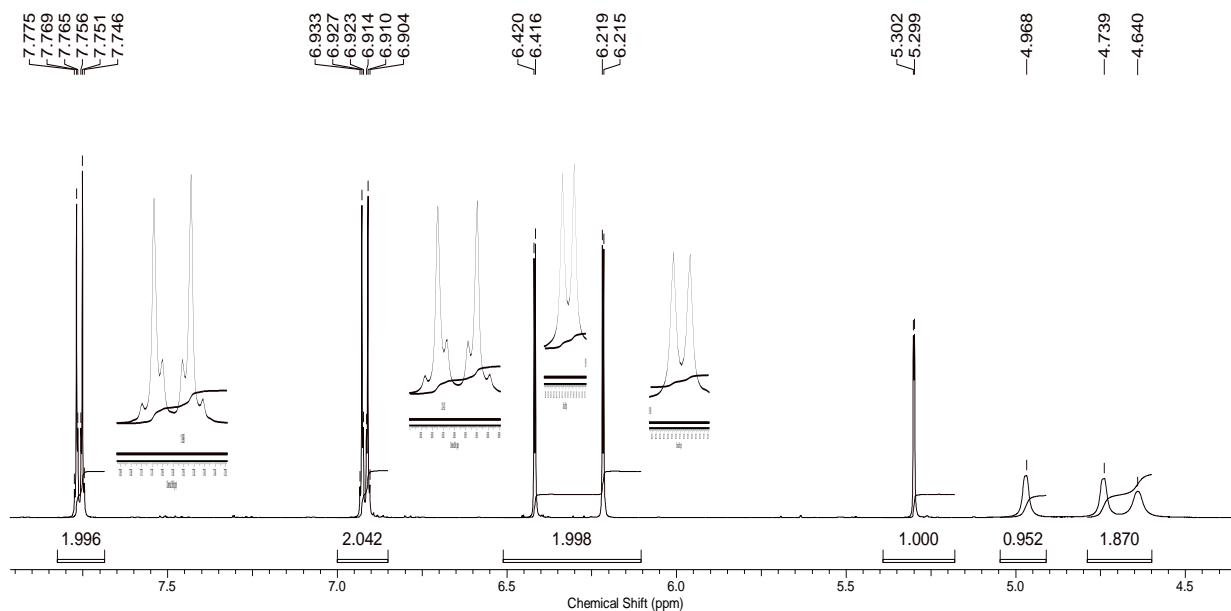


Figura 17. Expansão em campo baixo do espectro de RMN de ^1H da substância 5 em $\text{DMSO-}d_6$ (300 MHz).

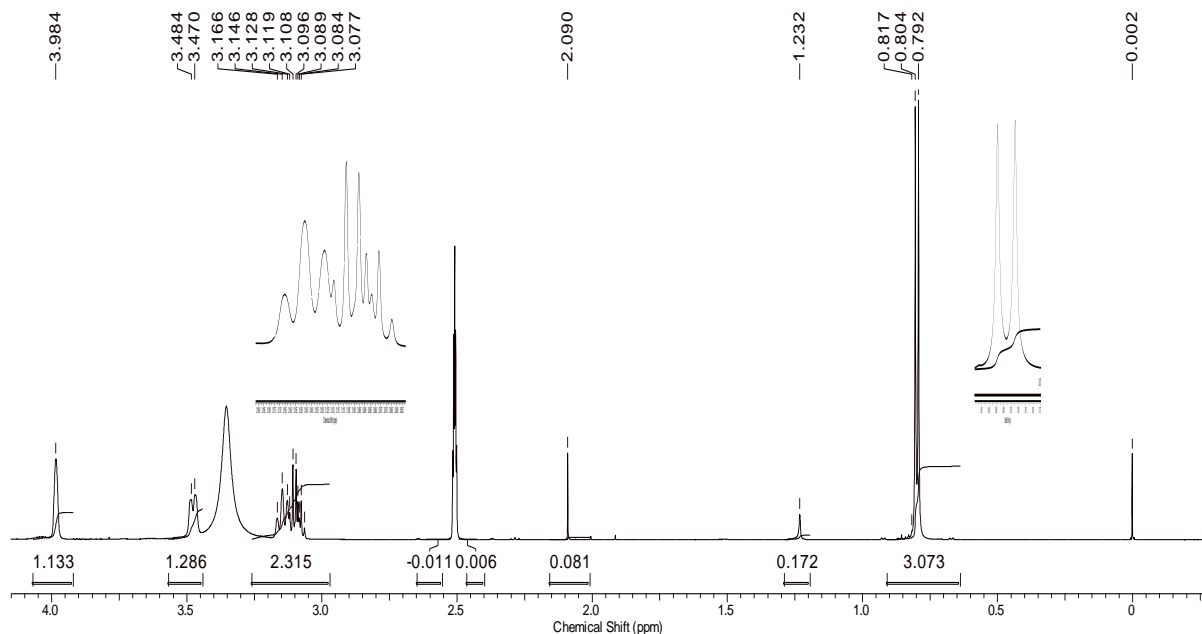


Figura 19. Expansão em campo alto do espectro de RMN de ^1H da substância **5** em $\text{DMSO-}d_6$ (300 MHz).

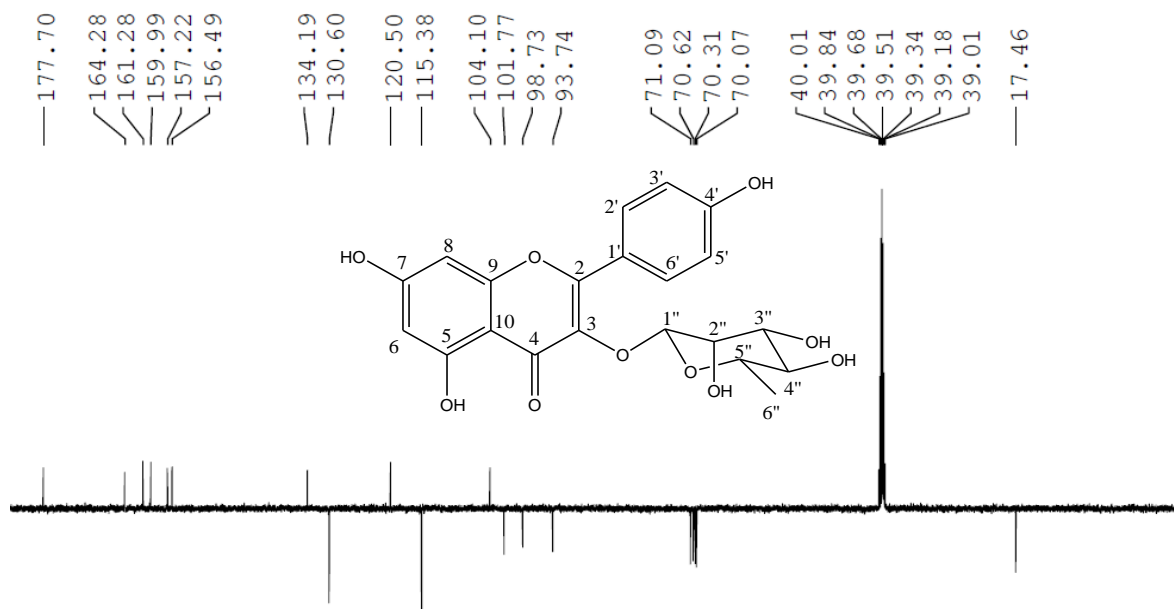


Figura 20. Espectro de RMN de APT da substância **5** em $\text{DMSO-}d_6$ (75 MHz).

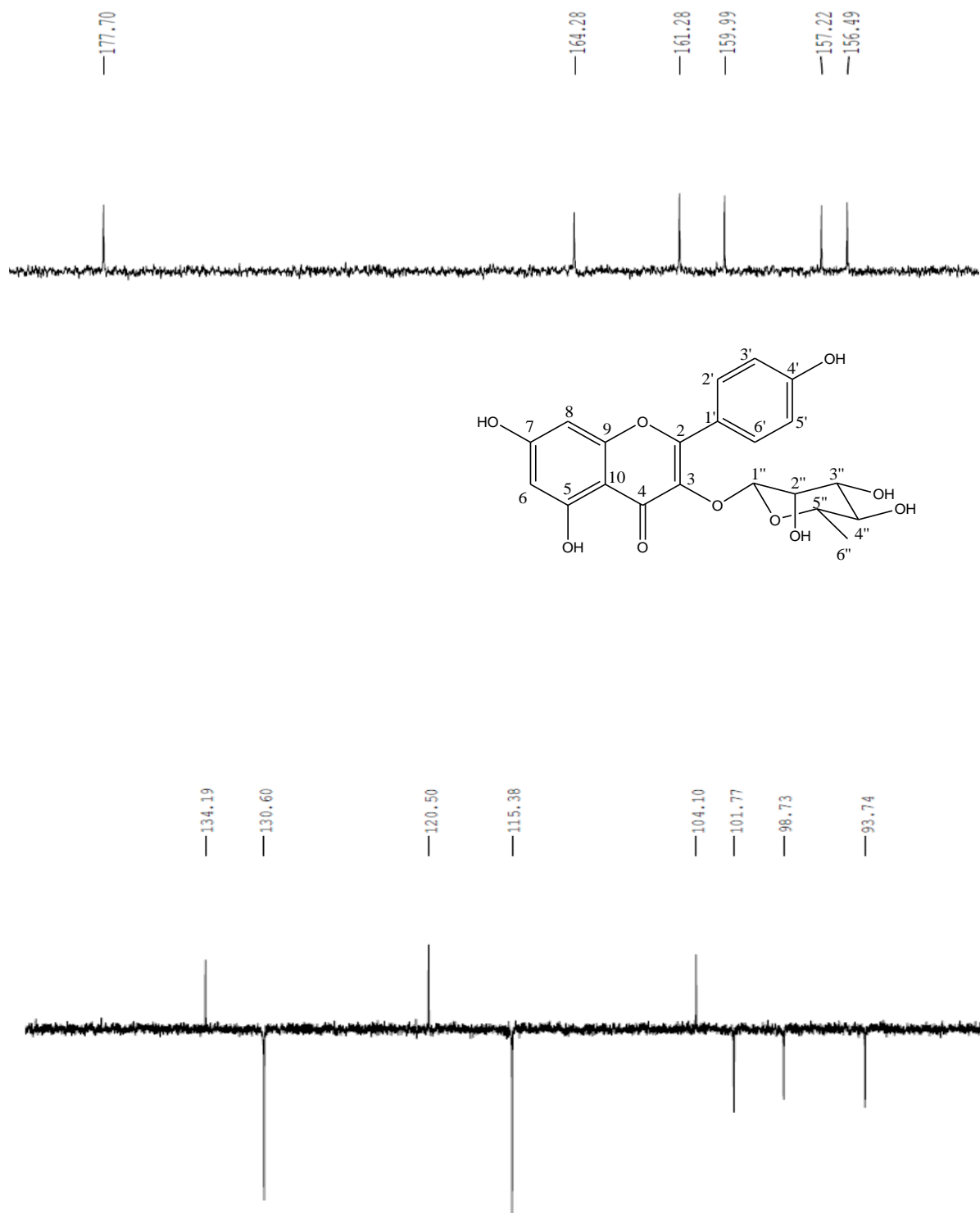


Figura 21. Expansão em campo baixo do espectro de RMN de APT da substância 5 em DMSO- d_6 (75 MHz).

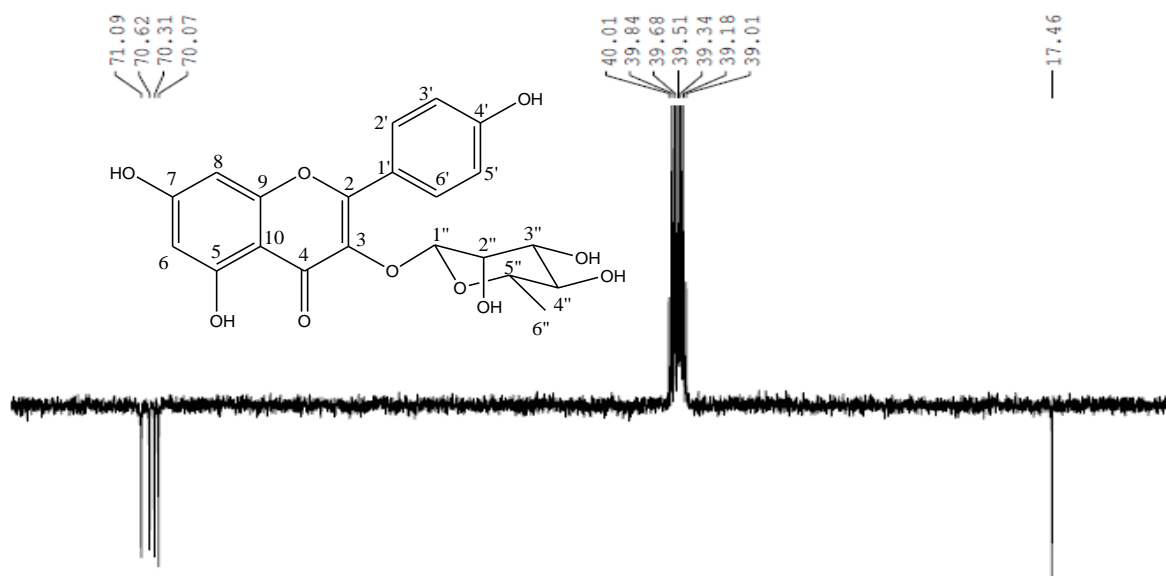
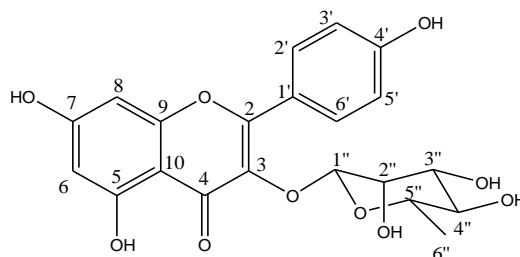


Figura 22. Expansão em campo alto do espectro de RMN de APT da substância **5** em DMSO- d_6 (75 MHz).

Tabela 3 – Dados de RMN ^1H e ^{13}C (300 e 75 MHz, DMSO- d_6 , respectivamente) da substância **5** (afzelina) obtida de *B. cheilantha*. Deslocamentos químicos (δ) em ppm.



C	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$ [<i>m</i> , <i>J</i> (Hz)]	* $\delta^{13}\text{C}$	* $\delta^1\text{H}$ [<i>m</i> , <i>J</i> (Hz)]
2	156,49		157,8	
3	134,19		134,0	
4	177,70		177,6	
5	161,32		161,9	
6	98,73	6,21 (1H, d, <i>J</i> = 2,07)	98,5	6,21 (sl)
7	164,68		164,1	
8	93,74	6,41 (1H, d, <i>J</i> = 2,07)	93,4	6,39 (sl)
9	157,22		156,8	
10	104,10		104,1	
1'	120,50		121,7	
2' e 6'	130,60	7,76 (2H, d, <i>J</i> = 8,82)	130,2	6,91 (d, <i>J</i> = 8,4)
3' e 5'	115,38	6,91 (2H, d, <i>J</i> = 8,82)	115,4	7,76 (d, <i>J</i> = 8,4)
4'	159,99		161,5	
1''	101,77	5,30(1H, d, <i>J</i> = 1,56)	102,00	5,36 (sl)
2''	70,07	3,98 (1H, m)	70,5	4,2 (dd, <i>J</i> = 1,83; 3,34)
3''	70,31	3,47 (1H, m)	70,7	3,33-3,70 (m)
4''	71,09	3,08 (1H, m)	70,8	3,33-3,70 (m)
5''	70,62	3,10 (1H, m)	69,9	3,33-3,70 (m)
6''	17,57	0,79 (3H, d, <i>J</i> = 5,97)	16,4	0,9 (d, <i>J</i> = 5,4)

*WANG et al., 2009

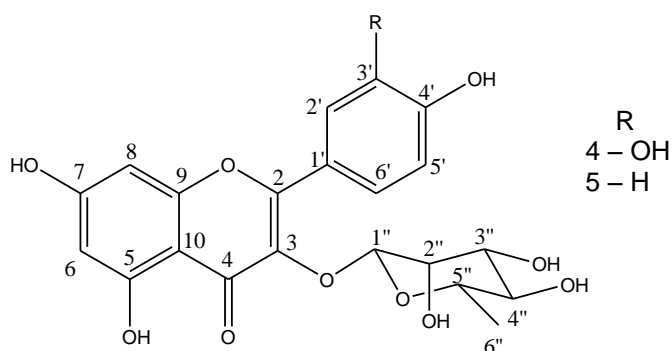


Figura 23. Estruturas químicas da quercitrina (4) e Afzelina (5)

Substâncias 6, 7 e 8

A substância **6** foi obtida como um sólido de coloração amarela. O espectro de IV (Figura 24) apresentou banda larga de absorção em 3400 cm^{-1} para estiramento de ligação O-H e estiramento em 1655 cm^{-1} referente a presença de carbonila.

As unidades glicosídicas desse composto foram indicadas pelos sinais carbinólicos observados nos espectros de RMN de ^1H e APT (Figuras 24 e 28). A unidade flavonoídica dessa substância foi caracterizada como kanferol através da análise dos mesmos espectros reconhecendo os sinais em $\delta_{\text{H}} 6,45$ (d; $J = 2,16$ Hz) e $\delta_{\text{H}} 6,80$ (d, $J = 2,16$ Hz) como pertencente a H-6 e H-8 respectivamente configurando ao sistema AB, correspondentes aos hidrogênios em meta. Já o anel B foi caracterizado pelos sinais em $\delta_{\text{H}} 8,10$ (d; $J=9,0$ Hz) e $\delta_{\text{H}} 6,87$ (d; $J=9,0$ Hz) atribuídos a H-2', H -6' e H-3', H-5', respectivamente, configurando o sistema AA'BB'.

Os dados de RMN de ^1H e APT permitiram caracterizar a substância **6** como um flavonóide com três unidades glicosídicas identificadas como sendo duas ramnose e uma glicose. A presença de uma unidade ramnopiranosídica ligada ao oxigênio do carbono C-7 foi caracterizada pelos sinais em $\delta_{\text{H}} 5,54$ do hidrogênio H-1R2 e em $\delta_{\text{C}} 161,64$ atribuído ao carbono C-7. A localização da unidade diglicosídica α -L- ramnopiranosil-(1 \rightarrow 6)- β -D-glicopiranosil no átomo de oxigênio do carbono C-3 foi caracterizada pelo deslocamento químico do C-2 ($\delta_{\text{C}} 157,09$). O deslocamento químico do átomo de carbono metilênico C-6G ($\delta_{\text{C}} 55,95$) permitiu a localização da unidade ramnose restante (AGRAWAL et al., 1989). Assim, a estrutura pode ser caracterizada como sendo 3-O-[β -D-glicopiranosil - (1 \rightarrow 6)- α -L-

ramnopiranosil]-7-O- α -L-ramnopiranosilkanferol. O espectro de LC-ESI-MS (Figura 31) mostrou a presença do pico em $[M+H]^+ m/z$ 741.2. Os deslocamentos químicos de RMN de 1H e APT estão na Tabela 4. Os dados obtidos nos espectros foram comparados com os da literatura (PIZZOLATTI et al., 2003).

O flavonoide 3-O-[β -D-glicopiranosil-(1 \rightarrow 6)- α -L-ramnopiranosil]-7-O- α -L-ramnopiranosilkanferol (Figura 18) foi isolado das espécies *Lens esculenta* (EINEGOUMY et al., 1987) e *Bauhinia forficata* (PIZZOLATTI et al., 2003). A esse composto é atribuída atividade hipoglicemiante (MARTINS et al., 1998). (SOUSA et al., 2004).

A presença de sinais nos espectros de RMN de 1H e APT e alguns picos no espectro de massas corroboram com a ideia da existência de outras substâncias. O pico em $[M+H]^+ m/z$ 771.2 juntamente com o sinal em δ_H 3,44 sugerem a presença de um composto que seria diferente apenas na posição C-3' com a presença de um grupo metoxila nesse carbono (substância **7**). Esse composto seria o 3-O-[β -D-glucopiranosil-(1 \rightarrow 6)- α -L-ramnopiranosil]-7-O- α -L-ramnopiranosil-3'-metoxiquercetina. Já o pico $[M+H]^+ m/z$ 757.1 seria relativo ao composto que difere com a presença de OH em C-3' (substância **8**). Esse composto seria o 3-O-[β -D-glucopiranosil-(1 \rightarrow 6)- α -L-ramnopiranosil]-7-O- α -L-ramnopiranosilquercetina também isolado de *B. forficata*.

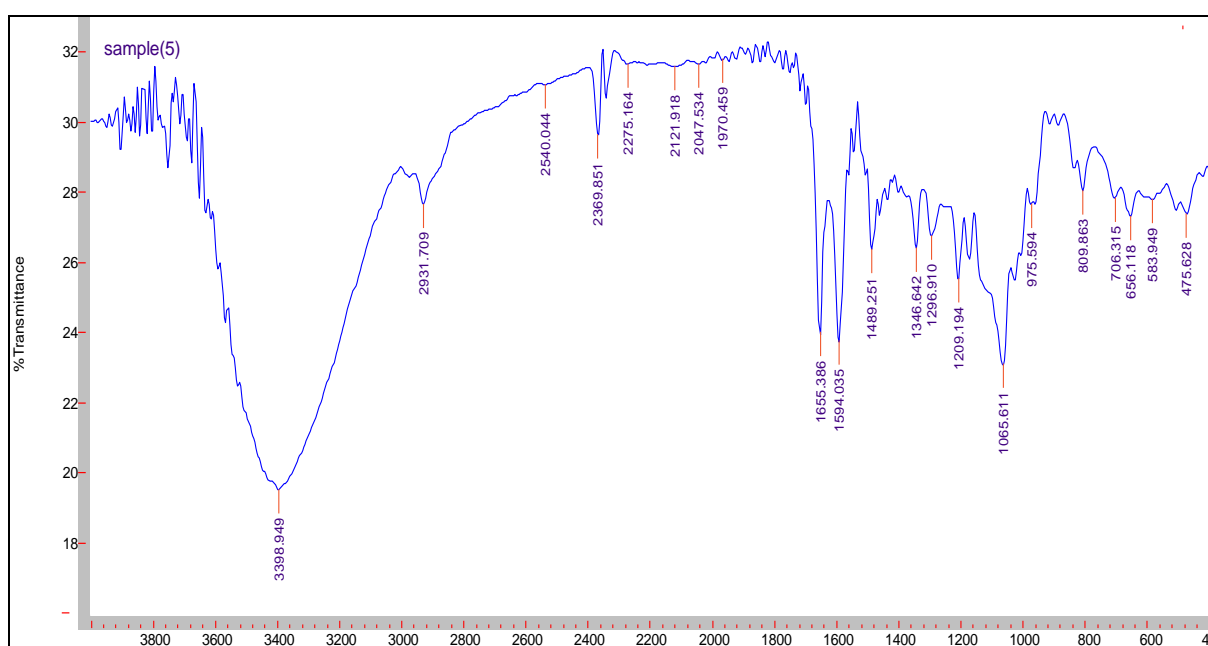


Figura 24. Espectro de IV (pastilha de KBr) da substância **6**

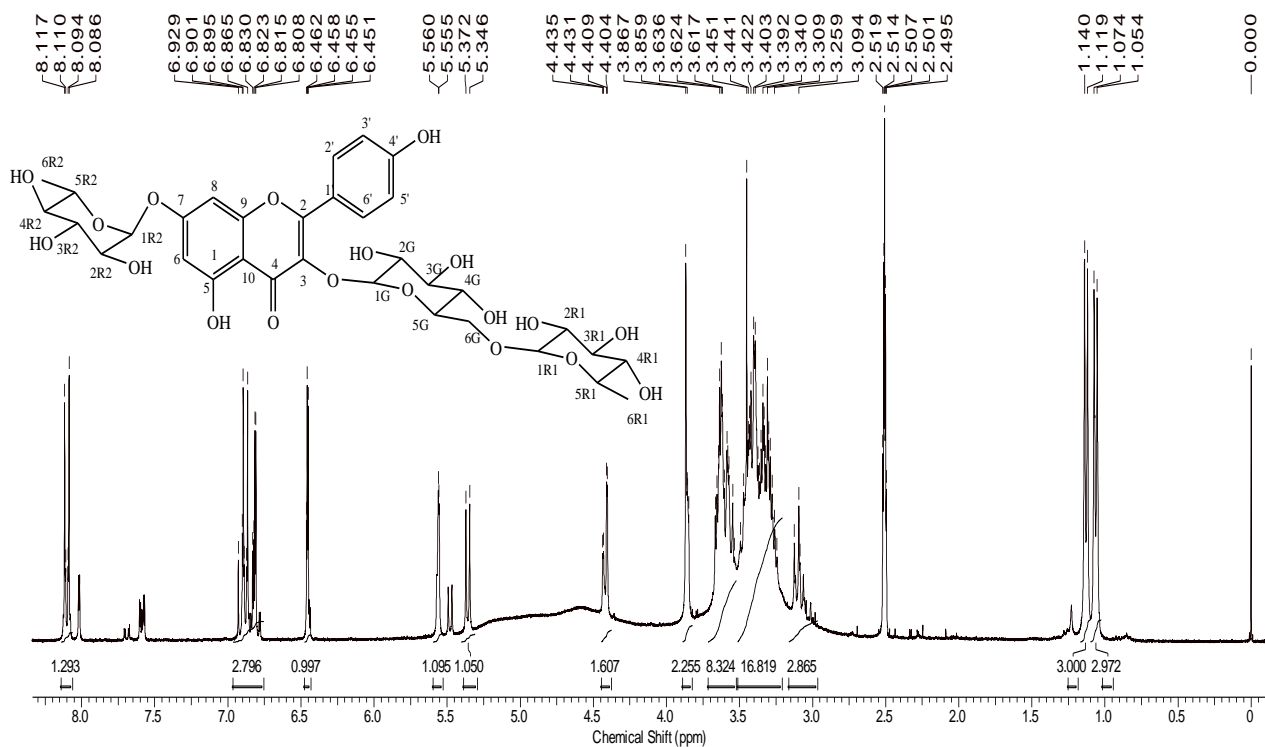


Figura 25. Espectro de RMN de ^1H da substância **6** em $\text{DMSO-}d_6$ (300MHz).

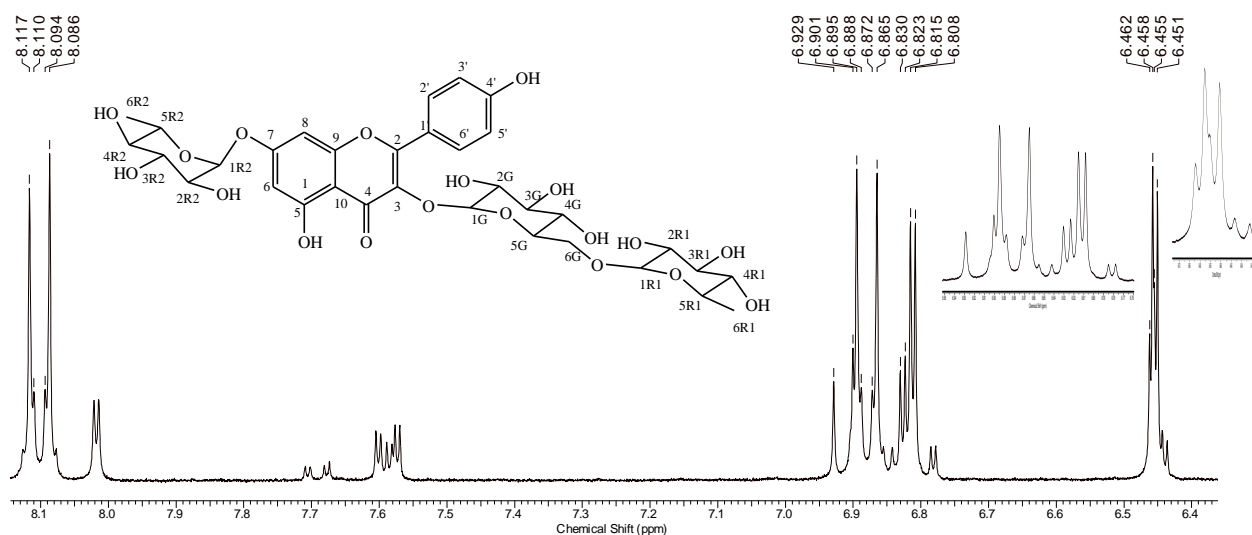


Figura 26. Expansão em campo baixo do espectro de RMN de ^1H da substância **6** em $\text{DMSO-}d_6$ (300MHz).

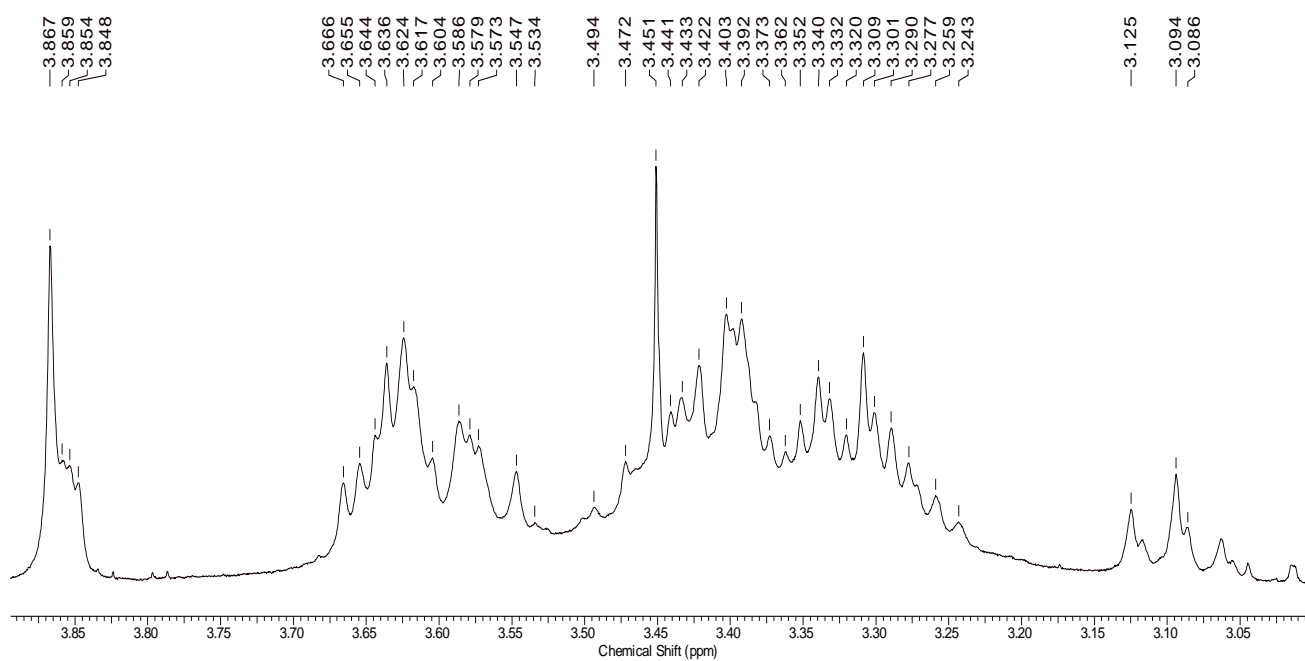


Figura 27. Expansão em campo baixo do espectro de RMN de ^1H da substância **6** em $\text{DMSO-}d_6$ (300MHz).

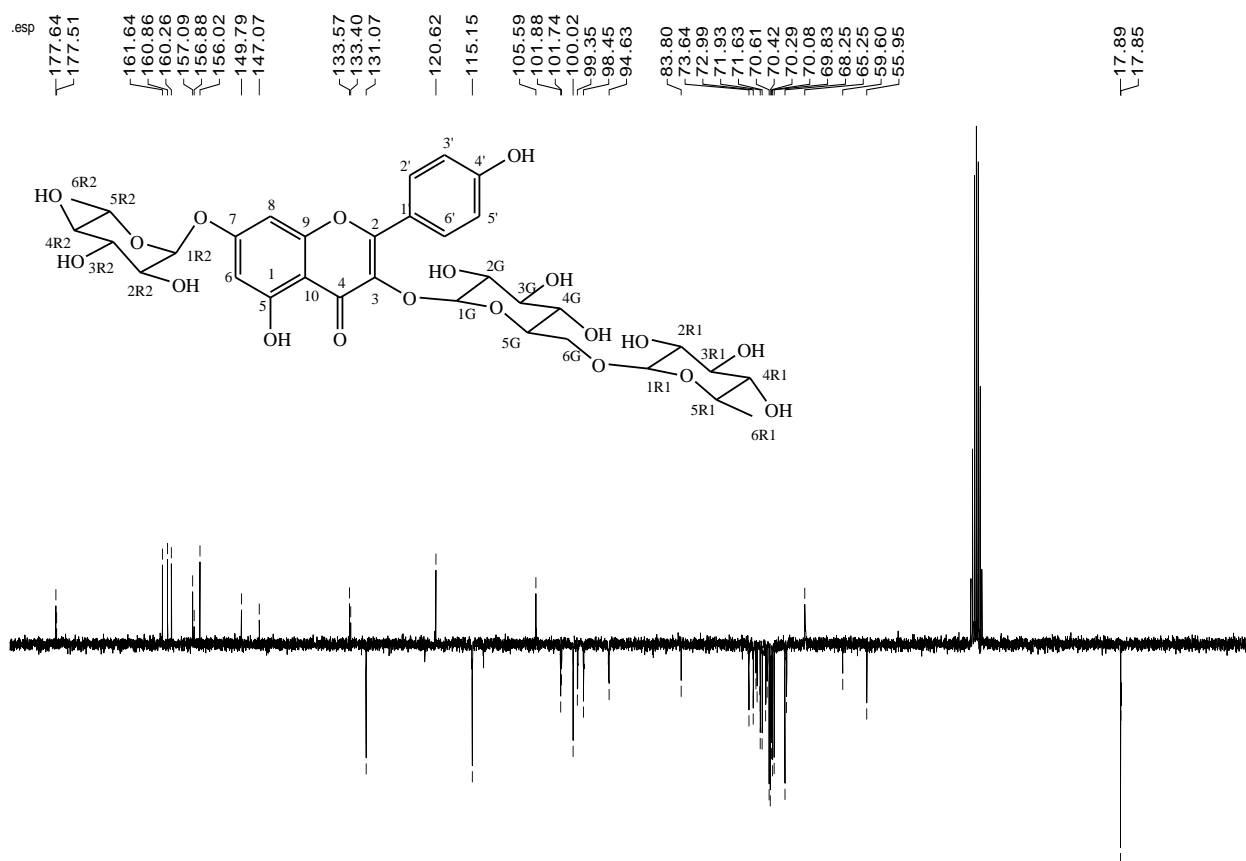


Figura 28. Espectro de RMN de APT da substância 6 em DMSO- d_6 (75 MHz).

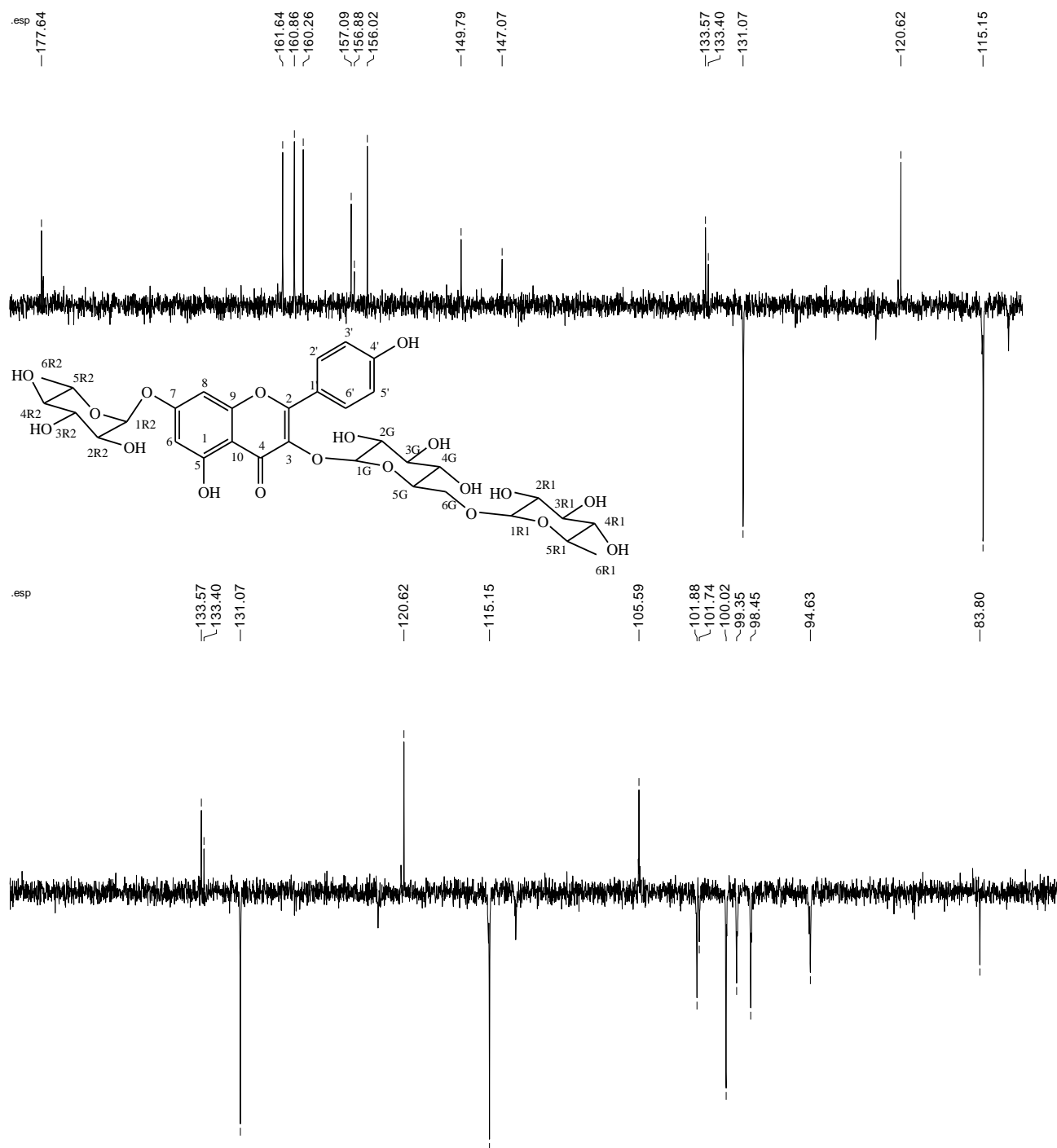


Figura 29. Expansão em campo baixo do espectro de RMN de APT da substância **6** em DMSO- d_6 (75 MHz).

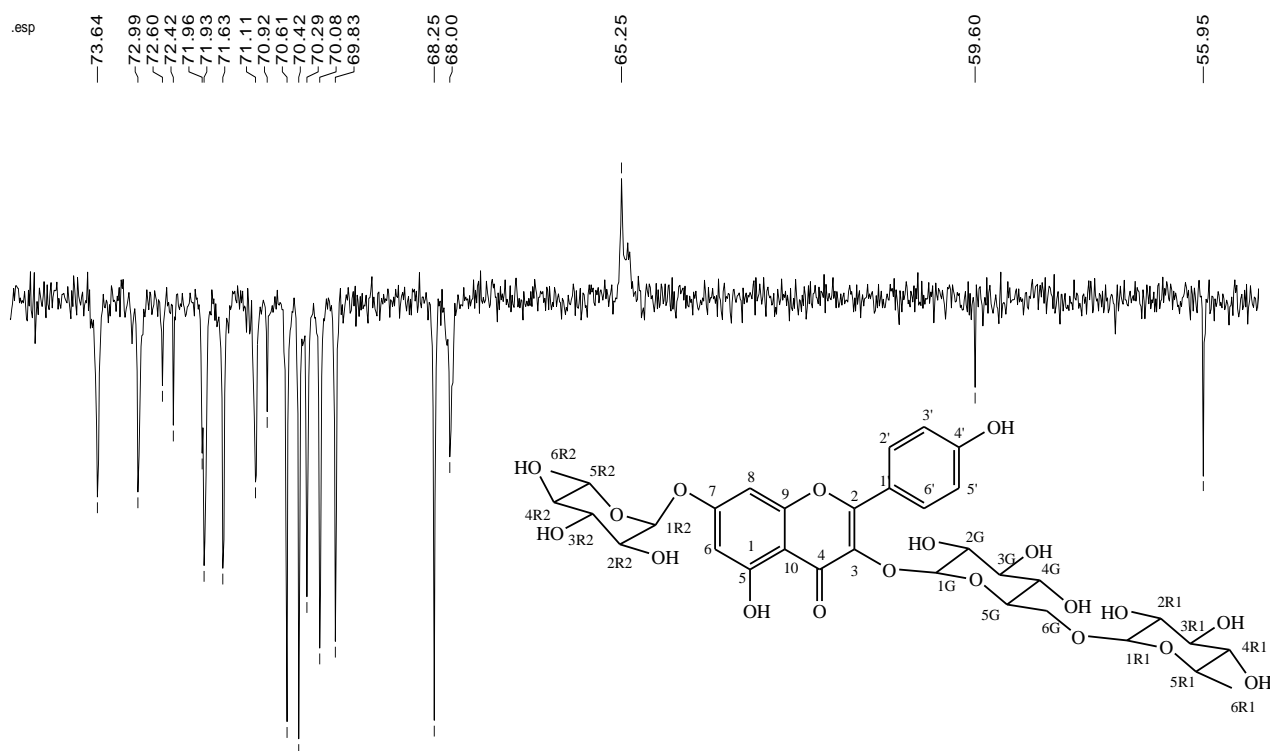


Figura 30. Expansão em campo alto do espectro de RMN de APT da substância **6** em $\text{DMSO-}d_6$ (75 MHz).

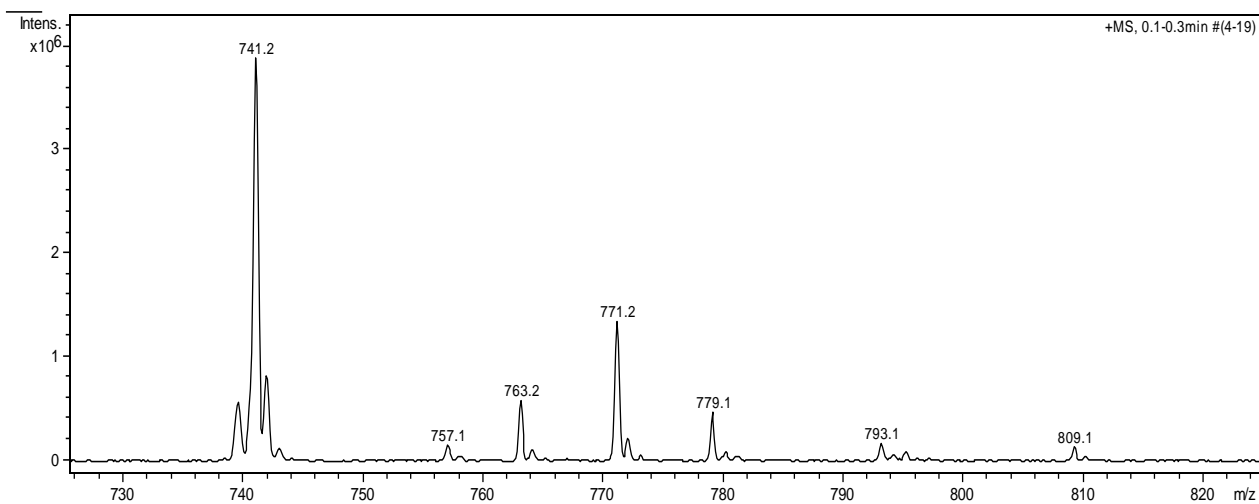


Figura 31. Espectro de massas da substância **6**

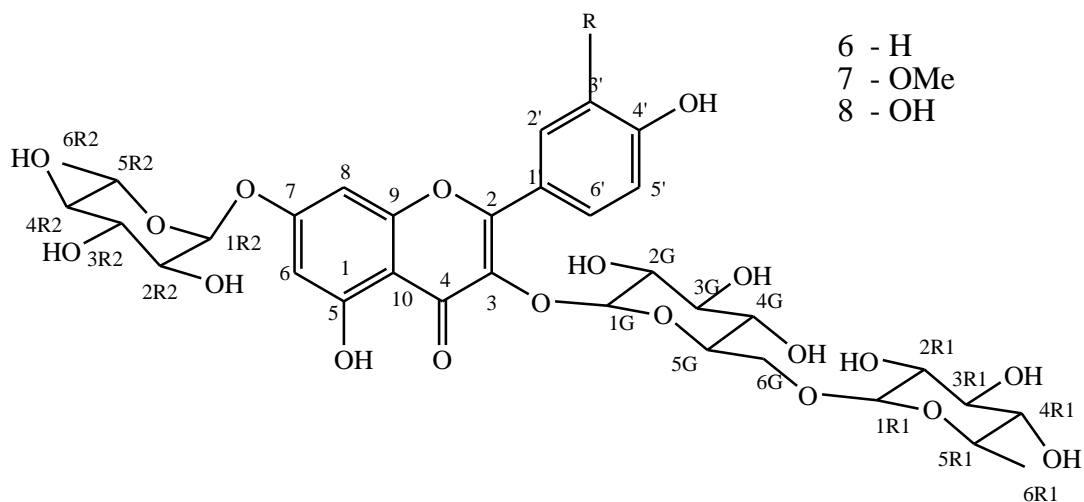
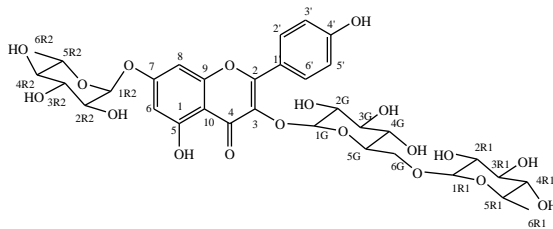


Figura 32. Estruturas químicas das substância **6** (3-O-[β -D-glicopiranosil-(1 \rightarrow 6)- α -L-ramnopiranosil]-7-O- α -L-ramnopiranosilkanferol), **7** (3-O-[β -D-glucopiranosil-(1 \rightarrow 6)- α -L-ramnopiranosil]-7-O- α -Lramnopiranosil-3'- metoxiquercetina) **8**. (3-O-[β -D-glucopiranosil-(1 \rightarrow 6)- α -L-ramnopiranosil]- 7-O- α -L-ramnopiranosilquercetina)

Tabela 4. Dados de RMN ^1H e ^{13}C (300 e 75 MHz, DMSO- d_6 , respectivamente) da substância **6** (3-O-[β -D-glicopiranosil-(1 \rightarrow 6)- α -L-ramnopiranosil]-7-O- α -L-ramnopiranosilkanferol) obtida de *B. cheilantha*. Deslocamentos químicos (δ) em ppm.



C	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$ [m, J (Hz)]	* $\delta^{13}\text{C}$	* $\delta^1\text{H}$ [m, J (Hz)]
2	157,09		157,04	
3	133,57		133,53	
4	177,64		177,61	
5	160,86		160,80	
6	100,02	6,45 (1H, d, $J = 2,16$)	99,32	6,44(1H, d, $J = 2,2$)
7	161,64		161,61	
8	94,73	6,80 (1H, d, $J = 2,16$)	94,62	6,78 (1H, d, $J = 2,2$)
9	156,02		155,99	
10	105,59		105,57	
1'	120,77		120,67	
2' e 6'	131,07	8,10 (2H, d, $J = 9,0$)	131,03	8,8 (1H, d, $J = 8,9$)
3' e 5'	115,15	6,91 (2H, d, $J = 9,0$)	115,08	6,86 (1H, d, $J = 8,8$)
4'	160,26		160,11	
1G	101,88	5,35(1H, d, $J = 7,62$)	101,85	5,34 (d, $J = 7,7$)
2G	71,11	3,30	71,07	3,38
3G	73,63	3,10 (1H, dd, $J = 9,0$ e $2,0$)	73,62	3,56
4G	70,29		70,37	3,58
5G	72,99		72,96	3,39
6G	65,95		65,24	3,60
1R1	98,45	3,42 (sl)	98,43	5,54 (d, $J = 1,6$)
2R1	69,83	5,47 (sl)	69,79	3,84
3R1	70,08	3,58 (sl)	70,25	3,63
4R1	71,63	3,53 (sl)	71,59	3,30
5R1	68,25	4,40 (sl)	68,21	3,35
6R1	17,89	1,06 (d, $J = 6,18$)	17,50	1,12 (d, $J = 6,1$)
1R2	99,35	5,55 (sl)	99,39	4,39 (d, sl)
2R2	70,61	5,35 (sl)	70,58	3,29
3R2	70,42	3,62 (sl)	70,04	3,40
4R2	71,93	3,84 (sl)	71,90	3,08 (sl)
5R2	68,00	4,31(sl)	67,98	3,62
6R2	18,85	1,12 (d, $J = 6,06$)	17,85	1,05 (d, $J = 6,1$)

*PIZZOLATTI et al., 2003

Substância 9

A substância **9** foi obtida como um sólido branco amorfo. O espectro de IV (Figura 33) também apresentou bandas de absorção em torno de 3400 cm^{-1} referentes estiramento de ligação O-H.

O espectro de RMN de ^1H (Figura 34) mostrou sinais entre δ_{H} 3,0 e δ_{H} 4,0, região característica de hidrogênios de ciclitóis. O sinal em δ_{H} 3,0 (1H, t) é característico do hidrogênio vicinal ao grupo metoxila (H-1). Os hidrogênio da metoxila por sua vez apresentaram uma sinal em δ_{H} 3,44 (sl). Os demais sinais foram atribuídos em comparação com os dados da literatura.

O espectro de RMN de APT (Figura 36) apresentou sinais referentes a sete carbonos, sendo 6 carbonos metínicos e um metílico. O carbono de deslocamento químico δ_{C} 83,76 é característicos de carbono com sítio de metilação, (ANGYAL & ODIER, 1983; OBERNDORF et al., 2005). O sinal em δ_{C} 59,56 foi atribuído ao grupo metoxila. O δ_{C} 70,57 foi atribuído ao carbono C-2, δ_{C} 83,76 foi ao a C-1. As demais atribuições foram C-3 (δ_{C} 72,39), C-4 (δ_{C} 70,89), C-5 (δ_{C} 71,93) e C-6 (δ_{C} 72,56). Os deslocamento químicos obtidos e os dados da literatura são mostrados na Tabela 6.

A substância apresentou ponto de fusão $180 - 182\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = 90,00$ (MeOH, $c = 0,05$) (Literatura PF = $179 - 186\text{ }^{\circ}\text{C}$, $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = 56,0$, H_2O , $c = 1$,) (POONGOTHAI . & SRIPATHI 2013). Os dados de RMN de ^{13}C e ^1H são apresentados na Tabela 3.

Esse composto já foi isolados da espécie *B. unguata* L, mas trata-se do primeiro relato na espécie *B. pentandra*. Para esse composto é atribuída atividade hipoglicemiante (POONGOTHAI & SRIPATHI 2013; NARAYANAM et al., 1987).

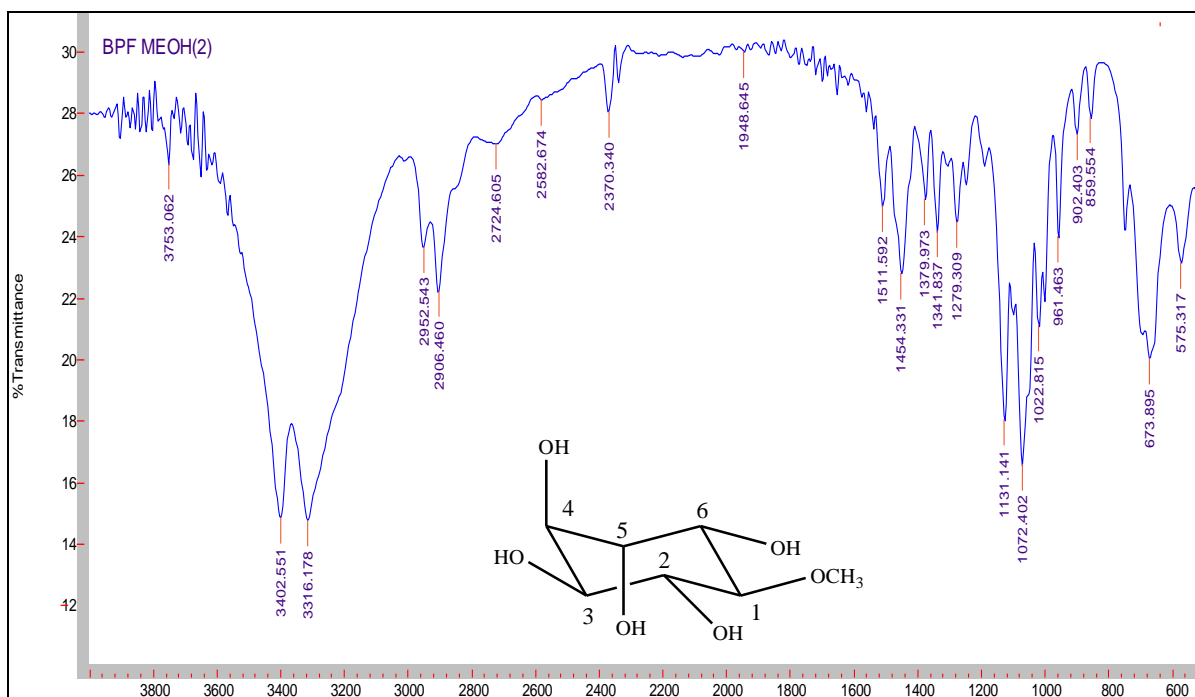


Figura 33. Espectro de IV (pastilha de KBr) da substância substância 9.

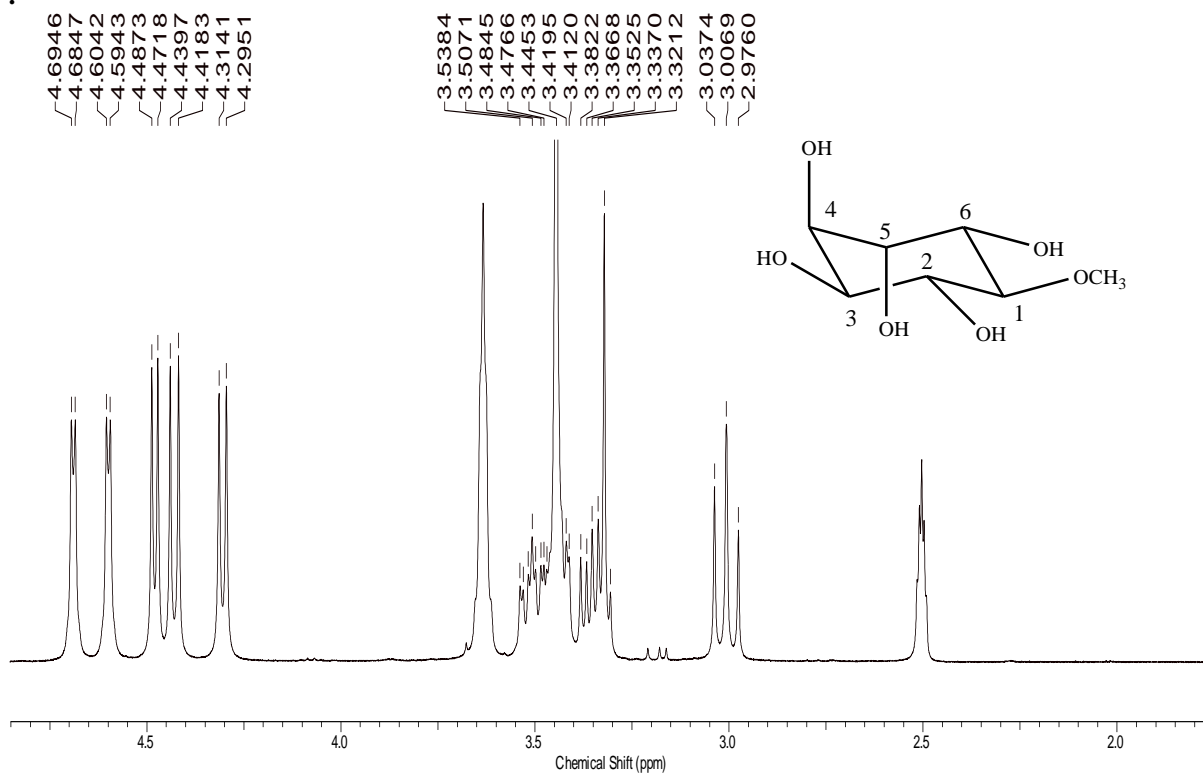


Figura 34. Espectro de RMN de ¹H da substância 9 em DMSO-d₆ (300MHz)

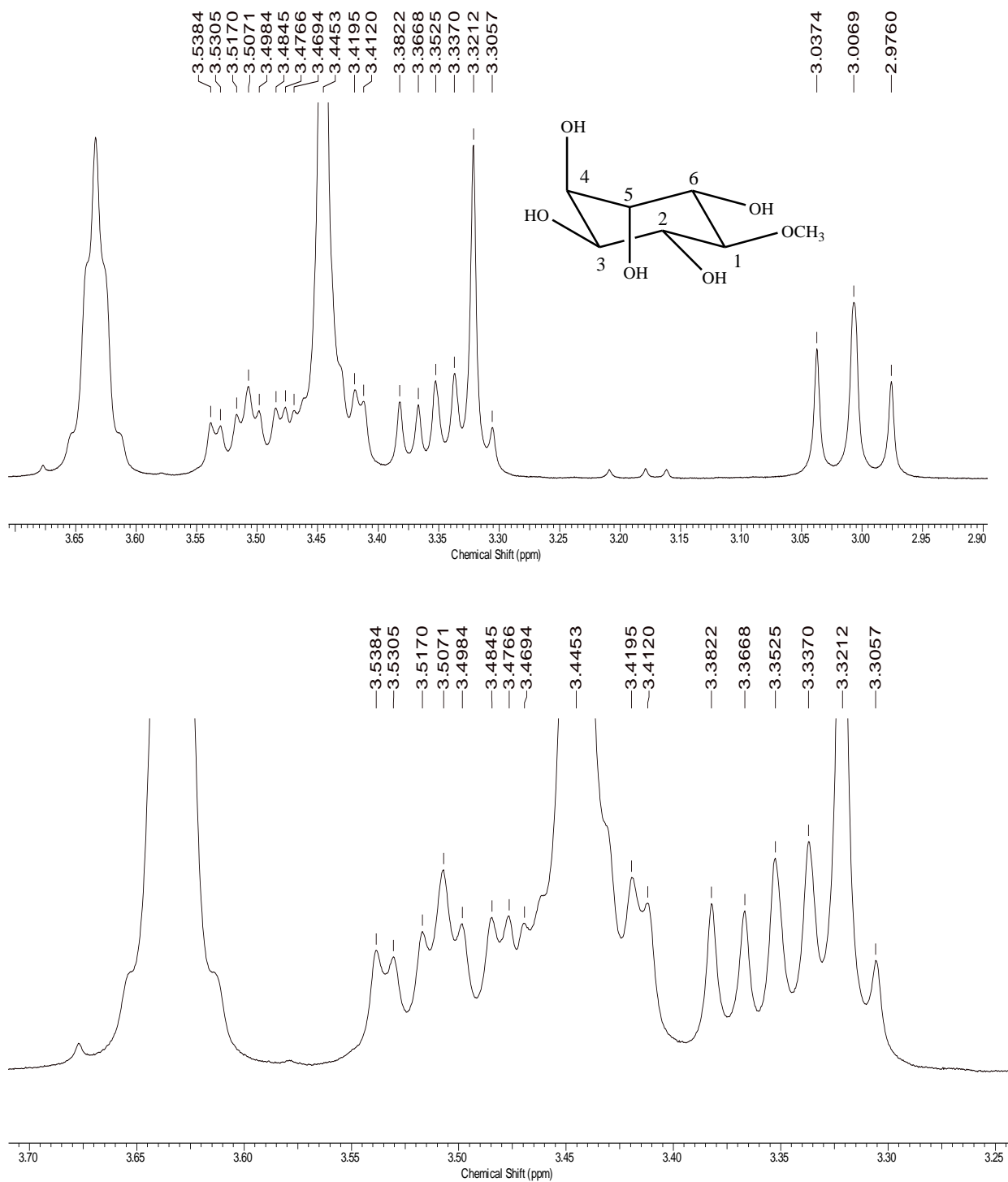


Figura 35. Expansões do espectro de RMN de ^1H da substância 9 em $\text{DMSO-}d_6$ (300MHz).

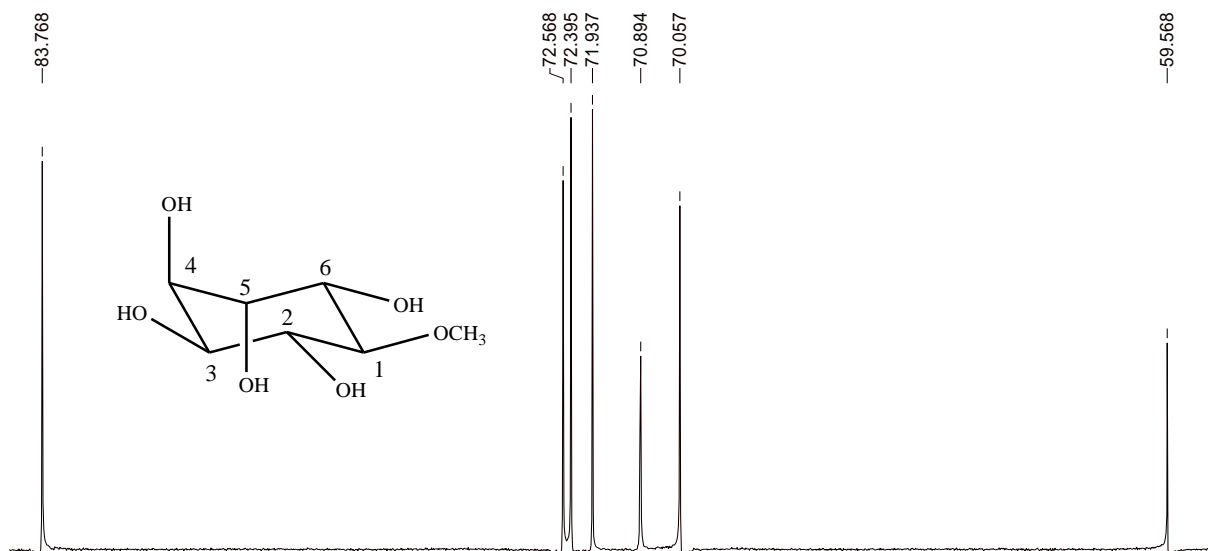
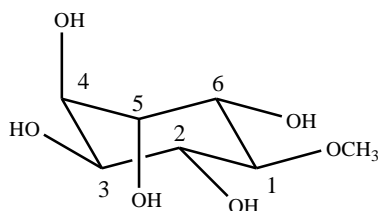


Figura 36. Expansão do espectro de RMN de APT da substância **9** em DMSO- d_6 (75 MHz).

Tabela 5. Dados de RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6 , respectivamente) da substância **9** (Pinitol). Deslocamentos químicos (δ) em ppm.



C	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$ [<i>m</i> , J (Hz)]	* $\delta^{13}\text{C}$	* $\delta^1\text{H}$ [<i>m</i>]
1	83,76	3,00 (1H, t)	84,2	3,02 (1H, t)
2	70,57	3,48 (1H, d, $J = 2,4$)	70,5	3,53 (1H, sl)
3	72,39	3,50 (1H, t)	72,9	3,62 (1H, sl)
4	70,89	3,41 (1H, d, $J = 2,25$)	71,60	3,44 (1H, t)
5	71,93	3,53 (1H, d, $J = 2,4$)	72,4	3,66 (1H, sl)
6	72,56	3,34 (1H, d, $J = 4,6$)	73,0	3,35 (1H, sl)
OCH ₃	59,56	3,44 (1H, s)	60,1	3,44 (1H, sl)

*POONGOTHAI & SRIPATHI., 2013

4.2 Atividade Antifúngica

Os valores de CIM dos extratos e subatâncias são apresentados na Tabela 6. As cepas que cresceram até a concentração de 1024 µg/mL foram consideradas resistentes à ação da droga. Segundo Houghton et al. (2007), uma dada atividade biológica *in vitro* que evidencie valor acima de 1000 µg/mL não se enquadra em uma faixa de concentração interessante para futuros ensaios clínicos. Sartoratto et al. (2004) elencaram critérios para categorizar o poder antimicrobiano de produtos naturais com base no valor da CIM, onde drogas com $CIM \leq 500 \mu\text{g/mL}$ são consideradas com forte atividade antimicrobiana, com $500 \mu\text{g/mL} < CIM \leq 1500 \mu\text{g/mL}$ possuem moderada atividade e $CIM > 1500 \mu\text{g/mL}$ é considerado com fraca atividade.

Diante desse referencial, pode-se considerar que, para a espécie *B. cheilantha*, o **Caule-Hex** apresentou moderada atividade antifúngica apenas contra a levedura ensaiada. Os extratos Caule **Ext-MeOH**, **Caule-AcOEt** e **Folha-Hex** não exerceram atividade contra nenhum fungo testado. No entanto, destaca-se o fato do extrato **Folha-MeOH** ter apresentado moderada atividade frente a *C. guilhermondii* e *M. gypseum*. A **Folha-AcOEt** foi a que apresentou maior espectro de ação, pois somente *M. canis* LM 82 foi resistente, inclusive esta cepa foi resistente a todas as drogas testadas.

Para os extratos obtidos de *B. pentandra* apenas **Caule-MeOH** e **Folha-MeOH** apresentaram moderada atividade antifúngica em relação a todos os fungos. Os demais extratos dessa espécie não exerceram atividade antifúngica contra nenhum fungo testado.

As substâncias isoladas de *B. cheilantha* apresentaram um comportamento diferenciado dos extratos e frações. Embora afzelina tenha exercido atividade frente às cepas ensaiadas, esta droga apresentou valores mais altos de CIM quando comparado às outras substâncias, com destaque para sua ação anti-Candida. O litospermosida apresentou valores de CIM menores, sendo ativa apenas contra *T. rubrum* e *C. guilhermondii*. Quercitrina, por sua vez, apresentou maior espectro de ação, pois foi ativa contra fungo leveduriformes e filamentosos; estes últimos, com valores de CIM menores.

Tabela 6. Valores de concentração inibitória mínima (CIM) em µg/mL dos extratos e substâncias frente a leveduras e fungos filamentosos.

Drogas	<i>C. guilhermondii</i>	<i>T. rubrum</i>	<i>M. canis</i>	<i>M. gypseum</i>
	LM 103	LM 148	LM 82	LM 305
<i>B. cheilantha</i>				
Caule Hex.	1024	R	R	R
Caule MeOH	R	R	R	R
Caule AcOEt	R	R	R	R
Folha Hex	R	R	R	R
Folha MeOH	512	R	R	1024
Folha AcOEt	1024	1024	R	1024
Azelina	512	1024	R	1024
Iitospermosida	512	512	R	R
Quercitrina	1024	512	R	512
<i>B. pentandra</i>				
Caule Hex	R	R	R	R
Caule MeOH	1024	1024	1024	1024
Caule AcOEt	R	R	R	R
Folha Hex.	R	R	R	R
Folha MeOH	1024	1024	1024	1024
Folha AcOEt	R	R	R	R
Controle Positivo				
Cetoconazol	32	4	128	64

R: cepa fúngica resistente.

Dados da literatura mostram que azelina apresentou atividade antifúngica frente às espécies de leveduras *Candida albicans*, *C. parapsilosis* e *Cryptococcus neoformans* (TATISIMO et al., 2012). Outros autores relatam a atividade antifúngica de Quercitrina frente fungos fitopatogênicos como *Helminthosporium sativum* (YANHUA et al., 2002).

Os controles realizados mostraram ausência de inibição do crescimento fúngico por DMSO, confirmando que o impedimento do crescimento foi devido à presença das drogas-teste. O crescimento foi detectado quando todas as cepas foram cultivadas na ausência de drogas, o que confirmou a viabilidade do inóculo fúngico.

5. CONCLUSÕES

O estudo químico das folhas da espécie *Bauhinia cheilantha* resultou no isolamento das substâncias litospermosida, kanferol, quercetina, quercitrina e afzelina. Da espécie *B. pentandra* foram isoladas as substâncias kanferol, quercetina, o cilitol pinitol e foram identificados os flavonóides 3-O-[β -D-glicopiranosil-(1 \rightarrow 6)- α -L-ramnopiranosil]-7-O- α -L-ramnopiranosil-kanferol, 3-O-[β -D-glicopiranosil-(1 \rightarrow 6)- α -L-ramnopiranosil]-7-O- α -L-ramnopiranosil-3'-metoxiquercetina e 3-O-[β -D-glicopiranosil-(1 \rightarrow 6)- α -L-ramnopiranosil]-7-O- α -L-ramnopiranosilquercetina.

Os testes antifúngicos revelaram promissora atividade para os extratos e substâncias testadas com destaque para os extratos hexânico do caule, metanólico e acetato das folhas de *B. cheilantha*. Para a espécie *B. pentandra* destacaram-se os extratos metanólicos dos caules e das folhas. Em relação às substâncias testadas, a quercitrina apresentou melhor atividade.

Os resultados obtidos neste trabalho são de alta relevância, pois vem a contribuir com o conhecimento da composição química e da atividade antifúngica relacionada a essas espécies tendo em vista os poucos trabalhos existentes sobre esse tema.

6. REFERÊNCIAS

ADEROGBA, M.A.; OGUNDAINI, A. O; ELOFF, J.N. Isolation of two flavonoids from *Bauhinia monandra* (Kurtz) leaves and their antioxidative effects. **African Journal of traditional complementary and Alternative Medicines**, 3 (4): 59-65, 2006.

AGRAWAL, P.K.; THAKUR, R.S.; BANSAL, M.C.; MARKHAM, K.R.; PORTER, L.J.; FOO, L.Y. **Studies in Organic Chemistry 39 - Carbon-¹³ NMR of Flavonoids**. ed. New York: Elsevier Science Publishing Company, 1989. 564 p.

AMEEN, M. Epidemiology of superficial fungal infections. **Clinics in Dermatology**, 28 (2): 197-201, 2010.

ANGYAL, S. J.; ODIER, L. The effect of O-methylation on chemical shifts in the ¹H- and ¹³CN.M.R. spectra of cyclic. **Carbohydrate Research**, 123 (1): 23-29, 1983.

ANJANEYULU, A.S.R.; REDDY, A. V. R.; REDDY, D. S. K.; WARD, S. R.; ADHIKESAVALU, D.; CAMERON, T. S. Pacharin: a new dibenzo(2,3-6,7)oxepin derivative from *Bauhinia racemosa* Lamk. **Tetrahedron**, 40, (21): 4245-4252, 1984.

ATHIKOMKULCHAI, S.; RUANGRUNGSI, N.; SEKINE, T.; SUMINO, M.; IGARASHI, K.; IKEGAMI, F. Chemical constituents of *Bauhinia sirindhorniae*. **Natural Medicines**, 57, (4): 150–153, 2003.

BARBOSA-FILHO, J. M.; VASCONCELOS, T. H. C.; ALENCAR, A. A.; BATISTA, L. M.; OLIVEIRA, R. A.G.; GUEDES, D. N.; FALCÃO, H. S.; MOURA, M. D.; DINIZ, M. F. F. M.; MODESTO-FILHO, J. Plants and their active constituents from South, Central, and North America with hypoglycemic activity. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, 15 (4): 392-413, 2005.

BARROS, M. E. S; SANTOS, D. A.; HAMDAN, J. S. *In vitro* methods for antifungal susceptibility testing of *Trichophyton* spp. **Mycological Research**, 110 (11): 1355-1360, 2006.

BRÍGIDO, Cleiton Lisboa. *Estudo dos Constituintes Químicos de Bauhinia cheilantha (Bongard) Steudel*. 2001. 1v. 148f. **Dissertação (Mestrado em Química Orgânica)** – Faculdade de Química, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2001.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi. Approved standard M38-A, v. 22, n. 16, **Clinical and Laboratory Standards Institute, Pennsylvania, United States of America**, 2002.

DAMÁZIO, P. M. R. B. C.; LACERDA, H. R.; LACERDA FILHO, A. M.; MAGALHÃES, O. M. C.; NEVES, R. P. Epidemiologia, etiologia e formas clínicas das dermatofitoses em Pernambuco, 1995-2005. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 40, (4): 484-486, 2007.

DU, Q.; LI, L.; JERZ, G.; Purification of astilbin and isoastilbin in the extract of *Smilax glabra* rhizome by high-speed counter-current chromatography. **Journal of Chromatography**, 1077: 98-101, 2005.

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

EL-HOSSARY, G. A.; SELIM, M. A.; EL SAYED, A.; KHALEEL, A. E. Study of the flavonoid content of *Bassia muricata* L. and *Bauhinia racemosa* Lam. **Bulletin of the Faculty of Pharmacy**, 38 (2): 93-97, 2000.

EI-NEGOUMY, S.I.; EI-SAYED, N.H.; MABRY, T.J. **Revista Latinoamericana de Química**, 18: 88, 1987.

ENGELKIRK, P. G.; DUBEN-ENGELKIRK, J. Burton, microbiologia para ciências da saúde. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012.

ESTRADA, O.; HASEGAWA, M.; GONZALEZ-MUJICA, F.; MOTTA, N.; PERDOMO, E.; SOLORZANO, A.; MENDEZ, J.; MENDEZ, B.; ZEA, E.G. Evaluation of flavonoids

from *Bauhinia megalandra* leaves as inhibitors of glucose-6-phosphatase system. **Phytotherapy Research**, 19 (10): 859-863, 2005.

GADOTY, V. M.; SCHMELING, L. O.; MACHADO, C.; LIZ, F. H.; FILHO, V. C.; MEYRE-SILVA, C.; SANTOS, A. R. Antinociceptive action of the extract and the flavonoid quercitrin isolated from *Bauhinia microstachya* leaves. **Journal of pharmaceuticals & pharmacology**, 57 (10): 1345-51, 2005.

HA, J. F.; ITALIANO, C. M.; HEALTH, C. H.; SHIH, S.; REA, S.; WOOD, F. M. Candidemia and invasive candidiasis: a review of the literature for the burns surgeon. **Burns**, 37: 181-195, 2011.

HA, S.Y.; YOUN, H.; SONG, C. S.; KANG, S. C.; BA, J. J.; KIM, H. T.; LEE, K. M.; EOM, T. H.; KIM, I. S.; KWAK, J. H. Antiviral Effect of Flavonol Glycosides Isolated from the Leaf of *Zanthoxylum piperitum* on Influenza Virus. **Journal of Microbiology**, 52 (4): 340–344, 2014.

HABONE, J.B., MABRY, T.J. (Eds.). **The Flavonoids: Advances in Research**, Vols. 1–2, Chapman & Hall, London, 1982.

HAIJEH, R. A.; SOFAIR, A. N.; HARRISON, L. H.; LYON, G. M.; ARTHINGTONSKAGGS, B. A.; MIRZA, S. A.; PHELAN, M.; MORGAN, J.; LEE-YANG, W.; CIBLAK, M. A.; BENJAMIN, L. E.; SANZA, L. T.; HUIE, S.; YEO, S. F.; BRANDT, M. E.; AND WARNOCK, D. W. Incidence of bloodstream infections due to *Candida* species and in vitro susceptibilities of isolates collected from 1998 to 2000 in a population based active surveillance program. **Journal of Clinical Microbiology**, 42: 1519–1527, 2004.

HOUGHTON, P. J.; HOWES, M. J.; LEE, C. C.; STEVENTON, G. Uses and abuses of in vitro tests in ethnopharmacology: Visualizing an elephant. **Journal of Ethnopharmacology**, 110: 391– 400, 2007.

HUU, T. N.; YAN, D.; KYUM, K. S.; KIHWAN, B.; HO, K. Y. Total Peroxyl Radical-Scavenging Capacity of the Chemical Components from the Stems of Acer

tegmentosum Maxim, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 56 (22): 10510-10514, 2008.

KOTHAVADE, R. J.; KURA, M. M.; VALAND, A. G.; PANTHAKI, M. H. *Candida tropicalis*: its prevalence, pathogenicity and increasing resistance to fluconazole. **Journal of Medical Microbiology**, 59: 873- 880, 2010.

KUO, Y.H.; YEH, M.H. Chemical constituents of heartwood of *Bauhinia purpurea*. **Journal of the Chinese Chemical Society**, 44 (4): 379 - 383, 1997.

LEE, S. Y.; SO, Y. J.; SHIN, M. S.; CHO, J. Y.; LEE, J. Antibacterial Effects of Afzelin Isolated from *Cornus macrophylla* on *Pseudomonas aeruginosa*, A Leading Cause of Illness in Immunocompromised Individuals. **Molecules**, 19 (3): 3173-3180, 2014.

LINO, C. S.; DIÓGENES, J. P. L.; PEREIRA, B. A.; FARIA, R. A. P. G.; ANDRADE NETO, M. Antidiabetic activity of *Bauhinia forficata* extracts in alloxan-diabetic rats. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, 27: 125-127, 2004.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. de A. Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas. 2. **Instituto Plantarum**, 2: 544, 2008.

LUNA, J. S.; SANTO, A.F.; LIMA M. R. F.; OMENA M. C.; MENDONÇA, F. A. C.; BIEBER, L. W. A study of the larvicidal and molluscicidal activities of some medicinal plants from northeast Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, 97: 199-206, 2005.

MACEDO, M.; FERREIRA, A. R. Plantas hipoglicemiantes utilizadas por comunidades tradicionais na Bacia do Alto Paraguai e Vale do Guaporé, Mato Grosso-Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 14 (1): 45-47, 2004.

MAILLARD, M.P.; RECIO-IGLESIAS, M.C.; SAADOU, M.; STOELKLI-Evans, H.; HOSTETTMANN, K. **Helvetica Chimica Acta**, 74: 791-799, 1991.

MARTINS, R.E.; CASTRO, D.M.; CASTELLANI, D.C.; DIAS, J.E. **Plantas Mediciniais**. 2.ed. Viçosa: UFV- Imprensa Universitária, 1998. 220 p.

MICELI, M. H.; DÍAZ, J. A.; LEE, S. A. Emerging opportunistic yeast infections. **Lancet Infectious Diseases**, 11: 142-151, 2011.

MOK, S. Y.; LEE, S. Identification of flavonoids and flavonoid rhamnosides from *Rhododendron mucronulatum* for albiflorum and their inhibitory activities against aldose reductase. **Food Chemistry**, 136 (2): 969-974, 2013.

MUZITANO, M. F.; TINOCO, L. W.; GUETTE, C.; KAISER, C. R.; ROSSI-BERGMANN, B.; COSTA, S. S. The antileishmanial activity assessment of unusual flavonoids from *Kalanchoe pinnata*. **Phytochemistry**, 67: 2071-2077, 2006.

NARAYANAM, C. R, JOSHI, D. D, MMUNJUNDAR, A. M., DHEKNE, V. V, Pinitol - a new antidiabetic compound from the leaves of *Bougainvillea spectabilis*, **Current Science**, 56 (3): 139-141, 1987.

OBENDORF, R. L.; MCINNIS, C. E.; HORBOWCZ, M.; KERESZTES, I.; LAHUTA, L. B., Molecular structure of lathyritol, a galactosylbornesitol from *Lathyrus odoratus* seeds, by NMR. **Carbohydrate Research**, 340 (7): 1441-1446, 2005.

OLIVEIRA, A. M. F. Estudo Químico e Avaliação da Atividade Hipoglicemiante e Antioxidante de *Bauhinia cheilantha* (Bong.) Steudel. 2008. 1v. 131f. **Dissertação (Mestrado em produtos naturais e sintéticos bioativos)** - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa. (2008).

OLIVEIRA, C. de.; SANTANA, L. A.; CARMONA, A. K.; CEZARI, M. H.; SAMPAIO, M. U.; SAMPAIO, C. A. M.; OLIVA, M. L. V. Structure of cruzipain/cruzain inhibitors isolated from *Bauhinia bauhinioides* seeds. **Biology Chemistry**, 383, 847-852, 2001.

PERES, N.T.A.; SANCHES, P.R.; FALCÃO, J.P.; SILVEIRA, H.C.S.; PAIÃO, F.G.; MARANHÃO, F.C.A. Transcriptional profiling reveals the expression of novel genes

in response to various stimuli in the human dermatophyte *Trichophyton rubrum*. **BMC Microbiology**, 10: 39, 2010.

PIRES, M.V.; ABREU, P.P.; SOARES, C.S.; SOUZA, B.; MARIANO, D.; SILVA, D.C.; ROCHA, E.A. Etnobotânica de terreiros de candomblé nos municípios de Ilhéus e Itabuna, Bahia, Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, 1: 3-8, 2009.

PIZZOLATTI, M. G.; CUNHA, A. Jr.; SZPOGANICZ, B.; DE SOUSA E.; BRAZ-FILHO, R.; SCHRIPSEMA, J. Flavonoid glycosides from leaves and flowers of *Bauhinia forficata* (Leguminosae). **Química Nova**, 26 (4): 466- 469, 2003.

PONOMARENKO, S. F.; PAVLOVA, M. E. Seed Structure in the Genus *Bauhinia* L. (fam. Fabaceae Lindl.) in the Context of Taxonomy. **Biology Bulletin**, 30 (4): 361-369, 2000.

POONGOTHAI, G AND SRIPATHI, S. K. A review on insulinomimetic pinitol from plants, **International Journal of Pharma and Bio Sciences**, 4 (2): 992- 1009, 2013.

QUEIROZ, L. P. DE et al. Leguminosae. In: GIULIETTI, A. M. et al. (Org.), Co-editora: Universidade Estadual de Feira de Santana. Plantas Raras do Brasil, Belo Horizonte, MG: Conservação Internacional, 2009. 212-237. 2009.

RAO, Y. K.; FANG, S. H.; TZENG, Y. M. Antiinflammatory activities of flavonoids and a triterpene caffeate isolated from *Bauhinia variegata*. **Phytotherapy Research**, 22 (7): 957-962, 2008.

ROQUE, A. A., ROCHA, R. M.; LOIOLA, M. I. B. Uso e diversidade de plantas medicinais da Caatinga na comunidade rural de Laginhas, município de Caicó, Rio Grande do Norte (nordeste do Brasil). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, 12 (1): 31-42, 2010.

SANTOS, D. A.; HAMDAN, J. S. Evaluation of Broth Microdilution Antifungal Susceptibility Testing Conditions for *Trichophyton rubrum*. **Journal of Clinical Microbiology**, 43 (4): 1917-1920, 2005.

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

SANTOS, D. A.; BARROS, M. E. S.; HAMDAN, J. S. Establishing a method of inoculum preparation for susceptibility testing of *Trichophyton rubrum* and *Trichophyton mentagrophytes*. **Journal of Clinical Microbiology**, 44 (1): 98-101, 2006.

SARTORATTO, A.; MACHADO, A. L. M.; DELARMELENA, C.; FIGUEIRA, G. M.; DUARTE, M. C. T.; REHDER, V. L. G. Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, 35, 275-280, 2004.

SEEBACHER, C.; BOUCHARA, J. P.; MIGNON, B. Updates on the epidemiology of dermatophyte infections. **Mycopathologia**, 166 (5), 335-352, 2008.

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

SILVA, A. M. O.; TEIXEIRA-SILVA, F.; NUNES R. S.; MARÇAL R. M.; CAVALCANTI S. C. H.; ANTONIOLLI, A. R. Antinociceptive activity of the aqueous extract of *Bauhinia cheilantha* (Bong.) Steud. (Leguminosae: Caesalpinioideae). **Biologia Geral e Experimental**, 5 (2):10-15, 2005.

SILVA, K. L.; CECHINEL-FILHO, V. Plantas do gênero *Bauhinia*: composição química e potencial farmacológico. **Química Nova** 25, (3): 449-454, 2002.

SILVA, A. L. C.; HORTA, A. C. G.; MOREIRA, R. A. Isolation and partial characterization of a lectin from *Bauhinia pentandra* (Bong) Vog. Ex. Steua. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, 13 (3): 262-269, 2001.

SIRAT, H. M.; REZALI, M. F.; UJANG Z. H, Isolation and Identification of Radical Scavenging and Tyrosinase Inhibition of Polyphenols from *Tibouchina semidecandra* L. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 58: 10404-10409, 2010.

SOSA, S.; BRACA, A.; ALTINIER, G.; DELLA- LOGGIA, R.; MORELLI, I.; TUBARO, A. Topical anti-inflammatory activity of *Bauhinia tarapotensis* leaves. **Phytomedicine**, 9 (7): 646-653, 2002.

SOUSA, E.; ZANATTA, L.; SEIFRIZ, I.; CREEZYNSKI-PASA, T.B.; PIZZOLATTI, M.G.; SZPOGANIEZ, B.; SILVA, F. Hypoglycemic effect and antioxidant potential of kaempferol- 3,7-O-(alpha)-dirhamnoside from *Bauhinia forficata* leaves. **Journal of Natural Products**, 67 (5): 829-832, 2004.

TATISMO, S. J. N.; TAMOKOU, J. D.; HAVYARIMANA, L.; CSUPOR, D.; FORGO, P.; HOHMANN, J.; KUIATE, J.; TANE, P. Antimicrobial and antioxidant activity of kaempferol rhamnoside derivatives from *Bryophyllum pinnatum*. **BMC Research Notes**, 5: 158, 2012.

VANDEPUTTE, P.; FERRARI, S.; COSTE, A. T. Antifungal resistance and new strategies to control fungal infections. **International Journal of Microbiology**, 1-26, 2012.

VAZ, A.M.S.F.; TOZZI, A.M.G.A. Aculeatae, a new series in *Bauhinia* Section *Pauletia* (Leguminosae, Caesalpinioideae, Cercidae). **Novon a Journal of botanical nomenclature from the Missoure Botanical Garden**, 13 (1): 141-144, 2003.

VAZ, A. M. S. F.; TOZZI, A. M. G. A. Sinopse de *Bauhinia* sect. *Pauletia* (Cav.) DC. (Leguminosae: Caesalpinioideae: Cercideae) no Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, 28 (3): 447 – 491, 2005.

YANHUA, L.; ZHEN, Z.; GUOXIN, S.; JUNCAI, M.; RENXIANG, T. A new antifungal flavonol glycoside from *Hypericum perforatum*. **Acta Botanica Sinica**, 44: 743-745. 2002.

YUENYONGSAWAD, S.; BUNLUEPUECH, K.; WATTANAPIROMSAKUL, C.; TEWTRAKUL, S. Anti-cancer activity of compounds from *Bauhinia strychnifolia* stem. **Journal of Ethnopharmacology**, 150 (2): 765 –769, 2013.

WANG, X.; LIN, Y.; GENG, Y.; LI, F.; WANG, D. Preparative separation and purification of sesamim and sesamol from sesame seeds by high-speed counter-current chromatography. **Cereal chem**, 86: 23-25, 2009.