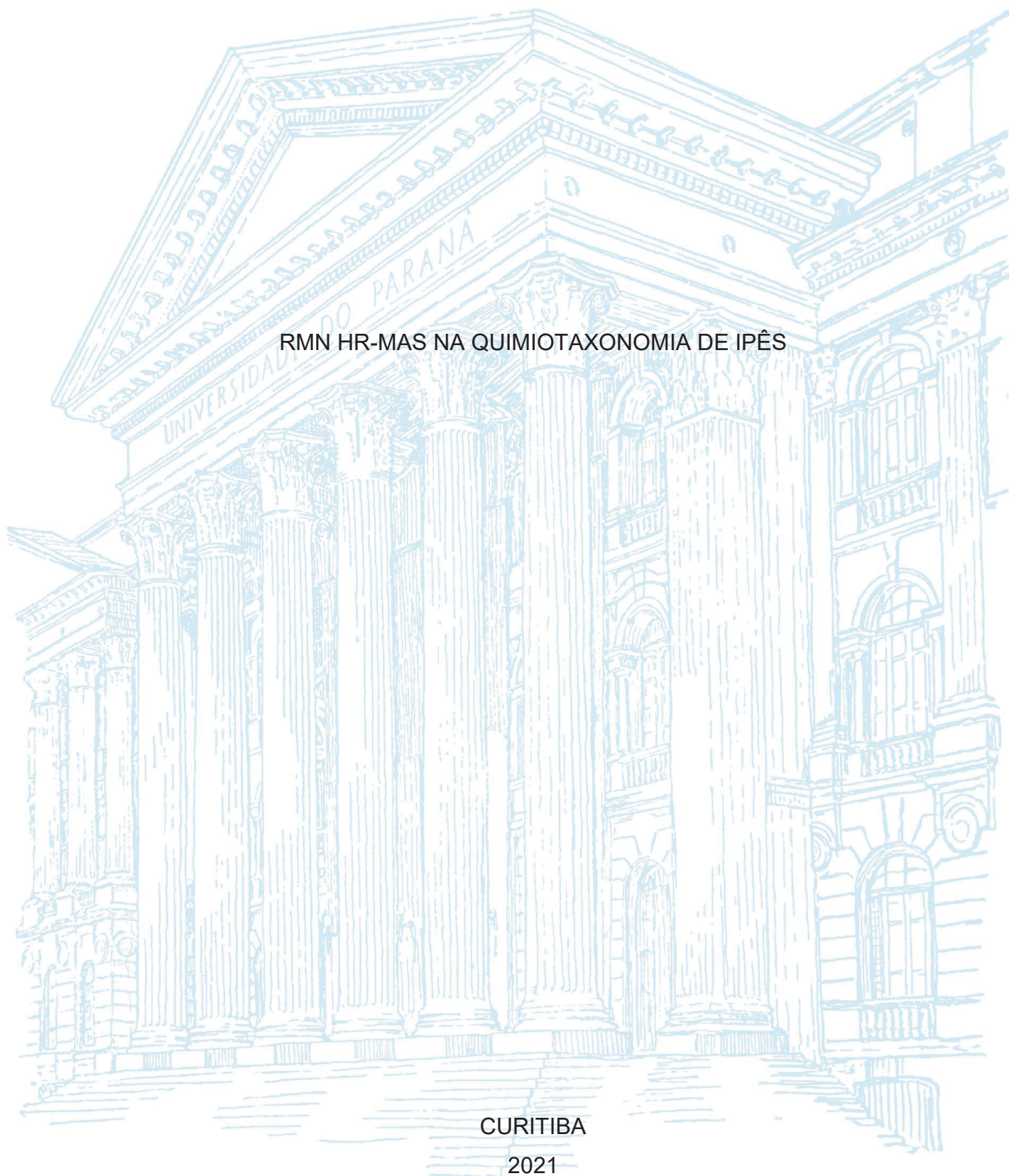


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

LEICE MILLA RIBEIRO DE NOVAIS

RMN HR-MAS NA QUIMIOTAXONOMIA DE IPÊS



CURITIBA

2021

LEICE MILLA RIBEIRO DE NOVAIS

RMN HR-MAS NA QUIMIOTAXONOMIA DE IPÊS

Tese apresentada ao curso de Pós-Graduação em Química, Setor de Ciências Exatas, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Doutora em Química, área de concentração Química Orgânica.

Orientador: Prof. Dr. Andersson Barison

CURITIBA

2021

---

N935r

Novais, Leice Milla Ribeiro de  
RMN HR-MAS na quimiotaxonomia de ipês [recurso eletrônico] / Leice Milla  
Ribeiro de Novais. – Curitiba, 2021.

Tese (doutorado) - Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Exatas,  
Programa de Pós-graduação em Química, 2021.  
Orientador: Andersson Barison.

1. Tabebuia. 2. Quimiotaxonomia. I. Universidade Federal do Paraná. II. Barison,  
Andersson. III. Título.

CDD: 578.012



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
SETOR DE CIÊNCIAS EXATAS  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO QUÍMICA -  
40001016026P2

## TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação QUÍMICA da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da tese de Doutorado de **LEICE MILLA RIBEIRO DE NOVAIS** intitulada: **RMN HR-MAS NA QUIMIOTAXONOMIA DE IPÊS**, sob orientação do Prof. Dr. ANDERSSON BARISON, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua Aprovação no rito de defesa.

A outorga do título de doutora está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 28 de Outubro de 2021.

ANDERSSON BARISON  
Presidente da Banca Examinadora

FREDERICO LUIS FELIPE SOARES  
Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

GLAUCIA BRAZ ALCANTARA  
Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO MATO GROSSO DO SUL)

CAROLINE DA ROS MONTES D'OCA  
Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

RENATA MENDONÇA ARAÚJO  
Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE)

Dedico este trabalho a minha mãe Neide Ribeiro de Novais, com amor.

## AGRADECIMENTOS

A Universidade Federal do Paraná (UFPR), ao Programa de Pós-Graduação em Química (PPGQ) e ao Departamento de Química (DQUI) pela infraestrutura e suporte técnico para a realização desse trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos e auxílio financeiro.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), a Fundação Araucária e a Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP) pelo apoio financeiro.

Ao professor Dr. Andersson Barison pela orientação, ensinamentos e oportunidades científicas que contribuíram tanto para minha formação profissional, quanto para a pessoal.

Aos membros da banca de avaliação desse trabalho, as professoras Dras. Caroline Da Ros Montes D'Oca, Glaucia Braz Alcantara e Renata Mendonça Araújo, e ao professor Dr. Frederico Luis Felipe Soares, pelas contribuições significativas para o aprimoramento desse trabalho.

A todos os professores e colegas que estiveram presentes em minha caminhada, seja da Pós-Graduação ou da Graduação em Química, agradeço pela construção de conhecimentos e pelos exemplos de sabedoria e resiliência que tive com vocês.

Aos meus colegas e amigos do Laboratório de RMN do DQui, Katlin Rech, Raquel Matos, Tatiane Mathias, Kahlil Salomé, Maria de Fátima Santos, Leociley Menezes, Lívia Dutra, Sher Ali, Alan Diego Santos e Ana Caroline Quallio, que me deram suporte e me ensinaram muito durante esses anos juntos.

Aos técnicos Grazieli da Rocha e Tiago José dos Santos por todo auxílio.

As professoras Dras. Camila Silveira da Silva, Caroline Da Ros Montes D'Oca, Noemi Nagata e Jaisa Fernandes Soares, em especial, por todos os momentos e palavras inspiradoras, espero um dia ser uma profissional de excelência, assim como as senhoras.

A toda minha família, minha mãe Neide Ribeiro de Novais, ao meu padrasto Sebastião Ricardo de Oliveira, à minha irmã Isabela Carolina Novais de Oliveira, à minha sobrinha Heloísa Oliveira, às minhas tias e primos, pelo apoio incondicional. Em especial, ao meu avô Dimas Ribeiro de Novais (*in memoriam*) que sempre será

meu maior exemplo de dignidade, muito obrigado pelos anos ao seu lado e por me ensinar que caráter vale mais que tudo nessa vida.

Ao meu namorado Gil Guilherme Moraes, e a sua família, obrigada pelo acolhimento e amor.

A todos os meus amigos que me apoiaram durante a minha caminhada, vocês foram essenciais em toda a minha trajetória, muito obrigada por sempre acreditarem em mim, mesmo nas minhas escolhas mais incertas.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para desenvolvimento desse trabalho.

“A humildade exprime, uma das raras certezas de que estou certo: a de que ninguém é superior a ninguém.” (Paulo Freire)

## RESUMO

As florestas naturais brasileiras são significativas por conterem uma das maiores biodiversidades de relevância econômica e ecológica. O conhecimento a respeito da composição química de espécies vegetativas tem sido amplamente utilizado para a classificação botânica. Nesse sentido, a análise da composição química combinada com dados morfológicos, demonstra ser uma ferramenta útil no estudo de táxons intimamente relacionados, como é o caso das espécies pertencentes aos gêneros *Handroanthus* e *Tabebuia*, popularmente conhecidos como ipês. Ao longo de sua história taxonômica, o gênero *Tabebuia* foi dividido e remontado várias vezes, à medida que os pesquisadores interpretavam a diversidade morfológica de maneiras diferentes. Estudos recentes usando filogenia molecular reestabeleceram *Tabebuia* em dois outros gêneros, sendo um destes *Handroanthus*. Embora os estudos sistemáticos em relação a estes gêneros tenham avançado nos últimos anos, novos parâmetros de separação ainda são necessários, uma vez que a classificação taxonômica não está bem estabelecida. Dessa forma, este trabalho teve como objetivo investigar a composição química das flores de espécies pertencentes aos gêneros *Handroanthus* e *Tabebuia*, por meio da técnica de RMN HR-MAS, visando contribuir para a quimiotaxonomia destes gêneros. As informações obtidas empregando as análises quimiométricas sobre os espectros de RMN HR-MAS de  $^1\text{H}$  das flores demonstraram uma concisa distinção entre os gêneros em estudo, bem como das espécies do gênero *Handroanthus*, devido a formação de quatro agrupamentos distintos. Assim, este estudo contribuiu para destacar as vantagens da aplicação da RMN HR-MAS associada à PCA e a HCA na discriminação dos gêneros *Handroanthus* e *Tabebuia*, de forma a auxiliar na quimiotaxonomia desses táxons.

Palavras-chave: Ipês. *Handroanthus*. *Tabebuia*. RMN HR-MAS. Análise quimiométrica. Quimiotaxonomia.

## ABSTRACT

Brazilian natural forests are relevant because they contain one of the greatest economic and ecological biodiversities. Knowledge about the chemical composition of vegetative species has been widely used for botanical classification. In this sense, the analysis of chemical composition combined with morphological data proves to be a useful tool in the study of closely related taxa, such as species belonging to the genera *Handroanthus* and *Tabebuia*, popularly known as ipês. Throughout its taxonomic history, the genus *Tabebuia* was divided and reassembled several times, as researchers interpreted morphological diversity in different ways. Recent studies using molecular phylogeny have reestablished *Tabebuia* in two other genera, one of these being *Handroanthus*. Although systematic studies in relation to these genera have advanced in recent years, new separation parameters are still needed, since the taxonomic classification is not well established. Thus, this work aimed to investigate the chemical composition of flowers of species belonging to the genera *Handroanthus* and *Tabebuia*, using the HR-MAS NMR technique, in order to contribute to the chemotaxonomy of these genres. The information provided using chemometric analyzes on the <sup>1</sup>H HR-MAS NMR spectra of flowers demonstrated a concise distinction between the genera under study, as well as the species of the genus *Handroanthus*, due to the formation of four distinct clusters. Thus, this study contributed to highlight the advantages of the application of HR-MAS NMR associated with PCA and HCA in the discrimination of the genera *Handroanthus* and *Tabebuia*, in order to assist in the chemotaxonomy of these taxa.

Keywords: Ipês. *Handroanthus*. *Tabebuia*. HR-MAS NMR. Chemometric analysis. Chemotaxonomy.

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - CLASSIFICAÇÃO DOS AMINOÁCIDOS .....	20
FIGURA 2 - BIOSÍNTESE DE COMPOSTOS FENÓLICOS EM PLANTAS PELA VIA DO CHIQUIMATO .....	23
FIGURA 3 - SUBGRUPOS DOS ÁCIDOS FENÓLICOS E SEUS REPRESENTANTES MAIS COMUNS.....	24
FIGURA 4 - ESTRUTURA BÁSICA DOS FLAVONOIDES E SEUS PRINCIPAIS SUBGRUPOS .....	25
FIGURA 5 - MAPA DE DISTRIBUIÇÃO DA FAMÍLIA BIGNONIACEAE NO MUNDO .....	26
FIGURA 6 - ESPÉCIES PERTENCENTES AOS GÊNEROS <i>HANDROANTHUS</i> (A), <i>ROSEODENDRON</i> (B) E <i>TABEBUIA</i> (C) .....	27
FIGURA 7 - MAPA DE DISTRIBUIÇÃO DAS ESPÉCIES DE <i>HANDROANTHUS</i> NO BRASIL .....	28
FIGURA 8 - ESTRUTURA QUÍMICA DAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS DE <i>Tabebuia chrysotricha</i> .....	30
FIGURA 9 - ESTRUTURA QUÍMICA DAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS DE <i>Tabebuia heptaphylla</i> .....	31
FIGURA 10 - ESTRUTURA QUÍMICA DAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS DE <i>Tabebuia avellanadae</i> .....	32
FIGURA 11 - ESTRUTURA QUÍMICA DAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS DAS CASCAS DE <i>Tabebuia avellanadae</i> .....	33
FIGURA 12 - ESTRUTURA QUÍMICA DAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS DE <i>Tabebuia impetiginosa</i> .....	34
FIGURA 13 - ESTRUTURA QUÍMICA DAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS DE <i>Tabebuia ochracea</i> ssp. <i>neochrysantha</i> E <i>Tabebuia ochracea</i> .....	35
FIGURA 14 - ESTRUTURA QUÍMICA DAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS DE <i>Handroanthus serratifolius</i> .....	36
FIGURA 15 - MAPA DE DISTRIBUIÇÃO DAS ESPÉCIES DE <i>TABEBUIA</i> NO BRASIL .....	37
FIGURA 16 - ESTRUTURA QUÍMICA DAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS DE <i>Tabebuia rosea</i> .....	38

FIGURA 17 - ESTRUTURA QUÍMICA DO COMPOSTO ICARISÍDEO E <sub>4</sub> ISOLADO DE <i>Tabebuia roseoalba</i> .....	39
FIGURA 18 - NÍVEIS DE ENERGIA PARA UM NÚCLEO.....	41
FIGURA 19 - MODELO UNIFORME .....	41
FIGURA 20 - REPRESENTAÇÃO DE UM ESTATOR DE RMN HR-MAS NO ÂNGULO MÁGICO .....	44
FIGURA 21 - ANÁLISES QUIMIOMÉTRICAS AMPLAMENTE APLICADAS PARA CLASSIFICAÇÃO .....	46
FIGURA 22 - REPRESENTAÇÃO DA ORGANIZAÇÃO DE <i>FINGERPRINTS</i> EM UMA MATRIZ DE DADOS .....	47
FIGURA 23 - ILUSTRAÇÃO ESQUEMÁTICA DE UM MODELO DE PCA.....	48
FIGURA 24 - REPRESENTAÇÃO BÁSICA PARA ANÁLISE DE PCA EMPREGANDO A RMN.....	49
FIGURA 25 - REPRESENTAÇÃO DE UM DENDOGRAMA ADQUIRIDO PELA HCA .....	51
FIGURA 26 - ESPÉCIES DE IPÊS COLETADAS E IDENTIFICADAS PARA O DESENVOLVIMENTO DO TRABALHO.....	54
FIGURA 27 - METODOLOGIA UTILIZADA PARA AQUISIÇÃO DOS EXPERIMENTOS DE RMN HR-MAS DE <sup>1</sup> H.....	56
FIGURA 28 - METODOLOGIA UTILIZADA PARA AQUISIÇÃO DOS EXPERIMENTOS DE RMN EM SOLUÇÃO.....	58
FIGURA 29 - MÉTODOS TESTADOS PARA A OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES UTILIZADAS NA ANÁLISE ATRAVÉS DO SOFTWARE AMIX® .....	59
FIGURA 30 - PERFIL ESPECTRAL DAS FLORES DAS ESPÉCIES ANALISADAS NO ESTUDO.....	61
FIGURA 31 - ESPECTROS DE RMN HR-MAS DE <sup>1</sup> H DAS REGIÕES ENTRE δ <sub>H</sub> 0,30-3,00 E δ <sub>H</sub> 6,00-10,50 DAS FLORES DAS ESPÉCIES ANALISADAS NO ESTUDO .....	62
FIGURA 32 - ESPECTROS DE RMN HR-MAS DE <sup>1</sup> H (δ <sub>H</sub> 9,50-10,50) DAS FLORES DAS ESPÉCIES DE <i>TABEBUIA</i> (IPÊS BRANCOS).....	63
FIGURA 33 - ESPECTROS DE RMN HR-MAS DE <sup>1</sup> H (δ <sub>H</sub> 6,20-6,50) DAS FLORES DAS ESPÉCIES DE <i>TABEBUIA</i> (IPÊS BRANCOS).....	64

FIGURA 34 - ESPECTROS DE RMN HR-MAS DE $^1\text{H}$ ( $\delta_{\text{H}}$ 6,00-8,00) DAS FLORES DAS ESPÉCIES DE <i>HANDROANTHUS</i> (IPÊS ROSA E AMARELOS)	65
FIGURA 35 - ESPECTROS DE RMN HR-MAS DE $^1\text{H}$ ( $\delta_{\text{H}}$ 6,00-8,00) DAS FLORES DAS ESPÉCIES DE <i>HANDROANTHUS</i> (IPÊS ROSA E AMARELOS)	66
FIGURA 36 - ESPECTROS DE RMN HR-MAS DE $^1\text{H}$ ( $\delta_{\text{H}}$ 9,50-10,50) DAS FLORES DAS ESPÉCIES DE <i>HANDROANTHUS</i> (IPÊS ROSA E AMARELOS).	66
FIGURA 37 - ESPECTROS DE RMN HR-MAS DE $^1\text{H}$ ( $\delta_{\text{H}}$ 0,00-10,50) DAS FLORES DAS ESPÉCIES <i>H. heptaphyllus</i> E <i>H. impetiginosus</i> (IPÊS ROSA)..	67
FIGURA 38 - ESPECTROS DE RMN HR-MAS DE $^1\text{H}$ ( $\delta_{\text{H}}$ 6,50-7,50) DAS FLORES DAS ESPÉCIES DE <i>HANDROANTHUS</i> (IPÊS AMARELOS) .....	68
FIGURA 39 - ESPECTROS DE RMN HR-MAS DE $^1\text{H}$ ( $\delta_{\text{H}}$ 0,00-10,50) DAS FLORES DAS ESPÉCIES <i>H. chrisotrychus</i> , <i>H. ochraceus</i> E <i>H. pulcherrimus</i> (IPÊS AMARELOS).....	68
FIGURA 40 - REPRESENTAÇÃO DAS FLORES DE <i>H. chrisotrychus</i> E <i>H. ochraceus</i> .....	69
FIGURA 41 - ESPECTROS DE RMN HR-MAS DE $^1\text{H}$ ( $\delta_{\text{H}}$ 6,00-10,50) DAS FLORES DAS ESPÉCIES <i>H. catarinensis</i> E <i>H. albus</i> (IPÊS AMARELOS) .....	69
FIGURA 42 - ESPECTROS DE RMN HR-MAS DE $^1\text{H}$ ( $\delta_{\text{H}}$ 5,00-8,50) DAS FLORES DAS ESPÉCIES <i>H. serratifolius</i> , <i>H. catarinensis</i> E <i>H. albus</i> (IPÊS AMARELOS).....	70
FIGURA 43 - ESPECTROS DE RMN HR-MAS DE $^1\text{H}$ ( $\delta_{\text{H}}$ 0,30-10,50) DAS AMOSTRAS DE <i>H. albus</i> COLETADAS EM ANOS DISTINTOS.....	71
FIGURA 44 - ESPECTROS DE RMN HR-MAS DE $^1\text{H}$ ( $\delta_{\text{H}}$ 0,30-10,50) DAS AMOSTRAS DE <i>H. catarinensis</i> COLETADAS EM ANOS DISTINTOS .....	71
FIGURA 45 - ESPECTROS DE RMN HR-MAS DE $^1\text{H}$ ( $\delta_{\text{H}}$ 0,30-10,50) DAS AMOSTRAS DE <i>H. chrisotrichus</i> COLETADAS EM ANOS DISTINTOS.....	71
FIGURA 46 - ESPECTROS DE RMN HR-MAS DE $^1\text{H}$ ( $\delta_{\text{H}}$ 0,30-10,50) DAS AMOSTRAS DE <i>H. heptaphyllus</i> COLETADAS EM ANOS DISTINTOS .....	72

FIGURA 47 - ESPECTROS DE RMN HR-MAS DE $^1\text{H}$ ( $\delta_{\text{H}}$ 0,30-10,50) DAS AMOSTRAS DE <i>T. cassinoides</i> COLETADAS EM ANOS DISTINTOS .....	72
FIGURA 48 - ESPECTROS DE RMN HR-MAS DE $^1\text{H}$ ( $\delta_{\text{H}}$ 0,30-10,50) DAS AMOSTRAS DE <i>T. roseoalba</i> COLETADAS EM ANOS DISTINTOS .....	72
FIGURA 49 - AMINOÁCIDOS IDENTIFICADOS NAS ESPÉCIES PERTENCENTES À <i>HANDROANTHUS E TABEBUIA</i> .....	74
FIGURA 50 - ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ ( $\delta_{\text{H}}$ 0,90-1,55) DAS FLORES DE <i>H. albus</i> .....	75
FIGURA 51 - ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ ( $\delta_{\text{H}}$ 1,85-2,85) DAS FLORES DE <i>H. albus</i> .....	76
FIGURA 52 - ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ ( $\delta_{\text{H}}$ 6,80-7,30) DAS FLORES DE <i>H. chrysotrichus</i> .....	76
FIGURA 53 - AMPLIAÇÃO DO MAPA DE CORRELAÇÃO DIRETA $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ (HSQC) DAS FLORES DE <i>H. albus</i> ( $^1\text{H}$ , 600 MHz; $^{13}\text{C}$ , 150 MHz, $\text{D}_2\text{O}/\text{TMSP-}d_4$ ).....	77
FIGURA 54 - AMPLIAÇÃO DO MAPA DE CORRELAÇÃO DIRETA $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ (HSQC) DAS FLORES DE <i>H. chrysotrichus</i> ( $^1\text{H}$ , 600 MHz; $^{13}\text{C}$ , 150 MHz, $\text{D}_2\text{O}/\text{TMSP-}d_4$ ).....	77
FIGURA 55 - AMPLIAÇÃO DO MAPA DE CORRELAÇÃO DIRETA $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ (HSQC) DAS FLORES DE <i>H. chrysotrichus</i> ( $^1\text{H}$ , 600 MHz; $^{13}\text{C}$ , 150 MHz, $\text{D}_2\text{O}/\text{TMSP-}d_4$ ).....	78
FIGURA 56 - AMPLIAÇÃO DO MAPA DE CORRELAÇÃO A LONGA DISTÂNCIA $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ (HMBC) DAS FLORES DE <i>H. albus</i> ( $^1\text{H}$ , 600 MHz; $^{13}\text{C}$ , 150 MHz, $\text{D}_2\text{O}/\text{TMSP-}d_4$ ).....	78
FIGURA 57 - AMPLIAÇÃO DO MAPA DE CORRELAÇÃO A LONGA DISTÂNCIA $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ (HMBC) DAS FLORES DE <i>H. chrysotrichus</i> ( $^1\text{H}$ , 600 MHz; $^{13}\text{C}$ , 150 MHz, $\text{D}_2\text{O}/\text{TMSP-}d_4$ ).....	79
FIGURA 58 - AMPLIAÇÃO DO MAPA DE CORRELAÇÃO A LONGA DISTÂNCIA $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ (HMBC) DAS FLORES DE <i>H. chrysotrichus</i> ( $^1\text{H}$ , 600 MHz; $^{13}\text{C}$ , 150 MHz, $\text{D}_2\text{O}/\text{TMSP-}d_4$ ).....	79
FIGURA 59 - CARBOIDRATOS IDENTIFICADOS NAS ESPÉCIES PERTENCENTES À <i>HANDROANTHUS E TABEBUIA</i> .....	80

FIGURA 60 - ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ ( $\delta_{\text{H}}$ 4,00-5,30) DAS FLORES DE <i>H. albus</i>	81
FIGURA 61 - ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ ( $\delta_{\text{H}}$ 4,20-5,50) DAS CASCAS DO CAULE DE <i>H. albus</i>	82
FIGURA 62 - AMPLIAÇÃO DO MAPA DE CORRELAÇÃO DIRETA $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ (HSQC) DAS FLORES DE <i>H. albus</i> ( $^1\text{H}$ , 600 MHz; $^{13}\text{C}$ , 150 MHz, $\text{D}_2\text{O}/\text{TMSP-}d_4$ )	82
FIGURA 63 - AMPLIAÇÃO DO MAPA DE CORRELAÇÃO DIRETA $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ (HSQC) DAS CASCAS DO CAULE DE <i>H. albus</i> ( $^1\text{H}$ , 600 MHz; $^{13}\text{C}$ , 150 MHz, $\text{D}_2\text{O}/\text{TMSP-}d_4$ )	83
FIGURA 64 - AMPLIAÇÃO DO MAPA DE CORRELAÇÃO A LONGA DISTÂNCIA $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ (HMBC) DAS FLORES DE <i>H. albus</i> ( $^1\text{H}$ , 600 MHz; $^{13}\text{C}$ , 150 MHz, $\text{D}_2\text{O}/\text{TMSP-}d_4$ )	83
FIGURA 65 - AMPLIAÇÃO DO MAPA DE CORRELAÇÃO A LONGA DISTÂNCIA $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ (HMBC) DAS CASCAS DO CAULE DE <i>H. albus</i> ( $^1\text{H}$ , 600 MHz; $^{13}\text{C}$ , 150 MHz, $\text{D}_2\text{O}/\text{TMSP-}d_4$ )	84
FIGURA 66 - ÁCIDOS ORGÂNICOS IDENTIFICADOS NAS ESPÉCIES PERTENCENTES À <i>HANDROANTHUS E TABEBUIA</i>	85
FIGURA 67 - ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ ( $\delta_{\text{H}}$ 2,40-2,80) DAS FLORES DE <i>H. heptaphyllus</i>	86
FIGURA 68 - ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ ( $\delta_{\text{H}}$ 5,90-8,50) DAS FLORES DE <i>H. heptaphyllus</i>	86
FIGURA 69 - AMPLIAÇÃO DO MAPA DE CORRELAÇÃO DIRETA $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ (HSQC) DAS FLORES DE <i>H. heptaphyllus</i> ( $^1\text{H}$ , 600 MHz; $^{13}\text{C}$ , 150 MHz, $\text{D}_2\text{O}/\text{TMSP-}d_4$ )	87
FIGURA 70 - AMPLIAÇÃO DO MAPA DE CORRELAÇÃO DIRETA $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ (HSQC) DAS FLORES DE <i>H. heptaphyllus</i> ( $^1\text{H}$ , 600 MHz; $^{13}\text{C}$ , 150 MHz, $\text{D}_2\text{O}/\text{TMSP-}d_4$ )	87
FIGURA 71 - COMPOSTOS NITROGENADOS IDENTIFICADOS NAS ESPÉCIES PERTENCENTES À <i>HANDROANTHUS E TABEBUIA</i>	88
FIGURA 72 - ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ ( $\delta_{\text{H}}$ 2,85-5,35) DAS FLORES DE <i>H. albus</i>	89
FIGURA 73 - ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ ( $\delta_{\text{H}}$ 6,00-8,40) DAS FLORES DE <i>T. roseoalba</i>	89

FIGURA 74 - AMPLIAÇÃO DO MAPA DE CORRELAÇÃO DIRETA $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ (HSQC) DAS FLORES DE <i>H. albus</i> ( $^1\text{H}$ , 600 MHz; $^{13}\text{C}$ , 150 MHz, $\text{D}_2\text{O}/\text{TMSP-}d_4$ ).....	90
FIGURA 75 - ÁCIDOS HIDROXIBENZÓICOS IDENTIFICADOS NAS ESPÉCIES PERTENCENTES À <i>HANDROANTHUS E TABEBUIA</i> .....	91
FIGURA 76 - ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ ( $\delta_{\text{H}}$ 6,90-7,90) DAS CASCAS DO CAULE DE <i>H. albus</i> .....	91
FIGURA 77 - AMPLIAÇÃO DO MAPA DE CORRELAÇÃO DIRETA $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ (HSQC) DAS CASCAS DO CAULE DE <i>H. albus</i> ( $^1\text{H}$ , 600 MHz; $^{13}\text{C}$ , 150 MHz, $\text{D}_2\text{O}/\text{TMSP-}d_4$ ).....	92
FIGURA 78 - AMPLIAÇÃO DO MAPA DE CORRELAÇÃO A LONGA DISTÂNCIA $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ (HMBC) DAS CASCAS DO CAULE DE <i>H. albus</i> ( $^1\text{H}$ , 600 MHz; $^{13}\text{C}$ , 150 MHz, $\text{D}_2\text{O}/\text{TMSP-}d_4$ ).....	92
FIGURA 79 - ÁCIDOS HIDROXICINÂMICOS IDENTIFICADOS NAS ESPÉCIES PERTENCENTES À <i>HANDROANTHUS E TABEBUIA</i> .....	94
FIGURA 80 - ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ ( $\delta_{\text{H}}$ 6,30-7,70) DAS FOLHAS DE <i>H. heptaphyllus</i> .....	95
FIGURA 81 - ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ ( $\delta_{\text{H}}$ 5,30-7,80) DAS CASCAS DO CAULE DE <i>H. albus</i> .....	95
FIGURA 82 - ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ ( $\delta_{\text{H}}$ 6,20-7,80) DAS FOLHAS DE <i>H. catarinensis</i> .....	96
FIGURA 83 - AMPLIAÇÃO DO MAPA DE CORRELAÇÃO DIRETA $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ (HSQC) DAS FOLHAS DE <i>H. heptaphyllus</i> ( $^1\text{H}$ , 600 MHz; $^{13}\text{C}$ , 150 MHz, $\text{D}_2\text{O}/\text{TMSP-}d_4$ ).....	96
FIGURA 84 - AMPLIAÇÃO DO MAPA DE CORRELAÇÃO DIRETA $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ (HSQC) DAS CASCAS DO CAULE DE <i>H. albus</i> ( $^1\text{H}$ , 600 MHz; $^{13}\text{C}$ , 150 MHz, $\text{D}_2\text{O}/\text{TMSP-}d_4$ ).....	97
FIGURA 85 - AMPLIAÇÃO DO MAPA DE CORRELAÇÃO DIRETA $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ (HSQC) DAS FOLHAS DE <i>H. catarinensis</i> ( $^1\text{H}$ , 600 MHz; $^{13}\text{C}$ , 150 MHz, $\text{D}_2\text{O}/\text{TMSP-}d_4$ ).....	97
FIGURA 86 - AMPLIAÇÃO DO MAPA DE CORRELAÇÃO A LONGA DISTÂNCIA $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ (HMBC) DAS CASCAS DO CAULE DE <i>H. albus</i> ( $^1\text{H}$ , 600 MHz; $^{13}\text{C}$ , 150 MHz, $\text{D}_2\text{O}/\text{TMSP-}d_4$ ).....	98

FIGURA 87 - AMPLIAÇÃO DO MAPA DE CORRELAÇÃO A LONGA DISTÂNCIA $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ (HMBC) DAS CASCAS DO CAULE DE <i>H. albus</i> ( $^1\text{H}$ , 600 MHz; $^{13}\text{C}$ , 150 MHz, $\text{D}_2\text{O}/\text{TMSP}-d_4$ ).....	98
FIGURA 88 - AMPLIAÇÃO DO MAPA DE CORRELAÇÃO A LONGA DISTÂNCIA $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ (HMBC) DAS FOLHAS DE <i>H. catarinensis</i> ( $^1\text{H}$ , 600 MHz; $^{13}\text{C}$ , 150 MHz, $\text{D}_2\text{O}/\text{TMSP}-d_4$ ).....	99
FIGURA 89 - GLICOSÍDEO IRIDOIDE IDENTIFICADO NAS ESPÉCIES PERTENCENTES À <i>HANDROANTHUS</i> E <i>TABEBUIA</i> .....	99
FIGURA 90 - ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ ( $\delta_{\text{H}}$ 6,90-8,10) DAS FLORES DE <i>H. heptaphyllus</i> .....	100
FIGURA 91 - AMPLIAÇÃO DO MAPA DE CORRELAÇÃO DIRETA $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ (HSQC) DAS FLORES DE <i>H. heptaphyllus</i> ( $^1\text{H}$ , 600 MHz; $^{13}\text{C}$ , 150 MHz, $\text{D}_2\text{O}/\text{TMSP}-d_4$ ).....	100
FIGURA 92 - AMPLIAÇÃO DO MAPA DE CORRELAÇÃO A LONGA DISTÂNCIA $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ (HMBC) DAS FLORES DE <i>H. heptaphyllus</i> ( $^1\text{H}$ , 600 MHz; $^{13}\text{C}$ , 150 MHz, $\text{D}_2\text{O}/\text{TMSP}-d_4$ ).....	101
FIGURA 93 - <i>INFLUENCE PLOT</i> E <i>HOTTELING T<sub>2</sub></i> DAS DIFERENTES ESPÉCIES DE <i>HANDROANTHUS</i> E <i>TABEBUIA</i> .....	104
FIGURA 94 - GRÁFICO DE SCORES DE PC1 <i>VERSUS</i> PC2 UTILIZANDO AS AMOSTRAS COLETADAS DAS ESPÉCIES DE <i>HANDROANTHUS</i> E <i>TABEBUIA</i> .....	105
FIGURA 95 - GRÁFICO DE SCORES DE PC1 <i>VERSUS</i> PC3 UTILIZANDO AS AMOSTRAS COLETADAS DAS ESPÉCIES DE <i>HANDROANTHUS</i> E <i>TABEBUIA</i> .....	106
FIGURA 96 - <i>INFLUENCE PLOT</i> E <i>HOTTELING T<sub>2</sub></i> DAS DIFERENTES ESPÉCIES DE <i>TABEBUIA</i> .....	107
FIGURA 97 - GRÁFICO DE SCORES DE PC1 <i>VERSUS</i> PC2 UTILIZANDO AS AMOSTRAS COLETADAS DAS ESPÉCIES DE <i>TABEBUIA</i> .....	108
FIGURA 98 - <i>INFLUENCE PLOT</i> E <i>HOTTELING T<sub>2</sub></i> DAS DIFERENTES ESPÉCIES DE IPÊS AMARELOS ( <i>HANDROANTHUS</i> ).....	109
FIGURA 99 - GRÁFICO DE SCORES DE PC1 <i>VERSUS</i> PC2 UTILIZANDO AS AMOSTRAS COLETADAS DAS ESPÉCIES DE <i>HANDROANTHUS</i> .....	110

FIGURA 100 - DENDOGRAMA OBTIDO POR HCA UTILIZANDO AS AMOSTRAS COLETADAS DAS ESPÉCIES DE <i>HANDROANTHUS</i> E <i>TABEBUIA</i> .....	112
FIGURA 101 - ESPECTROS DE RMN HR-MAS DE $^1\text{H}$ ( $\delta_{\text{H}}$ 0,30-10,50) DE <i>H. albus</i> .....	114
FIGURA 102 - ESPECTROS DE RMN HR-MAS DE $^1\text{H}$ ( $\delta_{\text{H}}$ 0,30-10,50) DE <i>H. catarinensis</i> .....	114
FIGURA 103 - ESPECTROS DE RMN HR-MAS DE $^1\text{H}$ ( $\delta_{\text{H}}$ 0,30-10,50) DE <i>H. chrysotrichus</i> .....	115
FIGURA 104 - ESPECTROS DE RMN HR-MAS DE $^1\text{H}$ ( $\delta_{\text{H}}$ 0,30-10,50) DE <i>H. heptaphyllus</i> .....	115
FIGURA 105 - ESPECTROS DE RMN HR-MAS DE $^1\text{H}$ ( $\delta_{\text{H}}$ 0,30-10,50) DE <i>H. impetiginosus</i> .....	116
FIGURA 106 - ESPECTROS DE RMN HR-MAS DE $^1\text{H}$ ( $\delta_{\text{H}}$ 0,30-10,50) DE <i>T. roseoalba</i> .....	116
FIGURA 107 - ESPECTROS DE RMN DE $^1\text{H}$ ( $\delta_{\text{H}}$ 0,50-8,10) DAS CASCAS DO CAULE DAS ESPÉCIES DE <i>HANDROANTHUS</i> E <i>TABEBUIA</i> .....	119
FIGURA 108 - ESPECTROS DE RMN DE $^1\text{H}$ ( $\delta_{\text{H}}$ 0,50-8,10) DAS FLORES DAS ESPÉCIES DE <i>HANDROANTHUS</i> E <i>TABEBUIA</i> .....	122
FIGURA 109 - ESPECTROS DE RMN DE $^1\text{H}$ ( $\delta_{\text{H}}$ 0,50-8,10) DAS FOLHAS DAS ESPÉCIES DE <i>HANDROANTHUS</i> E <i>TABEBUIA</i> .....	125
FIGURA 110 - METABÓLITOS IDENTIFICADOS NAS CASCAS DO CAULE, FLORES E FOLHAS DAS ESPÉCIES DE <i>HANDROANTHUS</i> E <i>TABEBUIA</i> EMPREGADAS NO ESTUDO.....	156
FIGURA 111 - MAPA DE DISTRIBUIÇÃO DOS BIOMAS BRASILEIROS.....	158

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - DADOS GERAIS DAS ESPÉCIES DE IPÊS COLETADAS PARA ESTUDO .....	53
TABELA 2 - DADOS DE RMN HR-MAS DE <sup>1</sup> H E RMN EM SOLUÇÃO PARA OS AMINOÁCIDOS IDENTIFICADOS NAS ESPÉCIES ESTUDADAS ...	75
TABELA 3 - DADOS DE RMN HR-MAS DE <sup>1</sup> H E RMN EM SOLUÇÃO PARA OS CARBOIDRATOS IDENTIFICADOS NAS ESPÉCIES ESTUDADAS. ....	81
TABELA 4 - DADOS DE RMN HR-MAS DE <sup>1</sup> H E RMN EM SOLUÇÃO PARA OS ÁCIDOS ORGÂNICOS IDENTIFICADOS NAS ESPÉCIES ESTUDADAS .....	85
TABELA 5 - DADOS DE RMN HR-MAS DE <sup>1</sup> H E RMN EM SOLUÇÃO PARA OS COMPOSTOS NITROGENADOS IDENTIFICADOS NAS ESPÉCIES ESTUDADAS .....	88
TABELA 6 - DADOS DE RMN HR-MAS DE <sup>1</sup> H E RMN EM SOLUÇÃO PARA OS ÁCIDOS HIDROXIBENZÓICOS IDENTIFICADOS NAS ESPÉCIES ESTUDADAS .....	91
TABELA 7 - DADOS DE RMN HR-MAS DE <sup>1</sup> H E RMN EM SOLUÇÃO PARA OS ÁCIDOS HIDROXICINÂMICOS IDENTIFICADOS NAS ESPÉCIES ESTUDADAS .....	94
TABELA 8 - DADOS DE RMN HR-MAS DE <sup>1</sup> H E RMN EM SOLUÇÃO PARA O GLICOSÍDEO IRIDOIDE IDENTIFICADO NAS ESPÉCIES ESTUDADAS .....	100
TABELA 9 - DISTRIBUIÇÃO DOS METABÓLITOS CONTIDOS NAS CASCAS DO CAULE DAS DIFERENTES ESPÉCIES DE <i>HANDROANTHUS</i> E <i>TABEBUIA</i> .....	117
TABELA 10 - DISTRIBUIÇÃO DOS METABÓLITOS CONTIDOS NAS CASCAS DO CAULE DAS DIFERENTES ESPÉCIES DE <i>HANDROANTHUS</i> E <i>TABEBUIA</i> .....	118
TABELA 11 - DISTRIBUIÇÃO DOS METABÓLITOS CONTIDOS NAS CASCAS DO CAULE DAS DIFERENTES ESPÉCIES DE <i>HANDROANTHUS</i> E <i>TABEBUIA</i> .....	118

TABELA 12 - DISTRIBUIÇÃO DOS METABÓLITOS CONTIDOS NAS FLORES DAS DIFERENTES ESPÉCIES DE <i>HANDROANTHUS</i> E <i>TABEBUIA</i> ....	120
TABELA 13 - DISTRIBUIÇÃO DOS METABÓLITOS CONTIDOS NAS FLORES DAS DIFERENTES ESPÉCIES DE <i>HANDROANTHUS</i> E <i>TABEBUIA</i> ....	121
TABELA 14 - DISTRIBUIÇÃO DOS METABÓLITOS CONTIDOS NAS FLORES DAS DIFERENTES ESPÉCIES DE <i>HANDROANTHUS</i> E <i>TABEBUIA</i> ....	121
TABELA 15 - DISTRIBUIÇÃO DOS METABÓLITOS CONTIDOS NAS FOLHAS DAS DIFERENTES ESPÉCIES DE <i>HANDROANTHUS</i> E <i>TABEBUIA</i> ....	123
TABELA 16 - DISTRIBUIÇÃO DOS METABÓLITOS CONTIDOS NAS FOLHAS DAS DIFERENTES ESPÉCIES DE <i>HANDROANTHUS</i> E <i>TABEBUIA</i> ....	124
TABELA 17 - DISTRIBUIÇÃO DOS METABÓLITOS CONTIDOS NAS FOLHAS DAS DIFERENTES ESPÉCIES DE <i>HANDROANTHUS</i> E <i>TABEBUIA</i> ....	124
TABELA 18 - DADOS COMPLEMENTARES DAS ESPÉCIES DE <i>HANDROANTHUS</i> E <i>TABEBUIA</i> ANALISADAS NO ESTUDO .....	147

## LISTA DE ABREVIATURAS OU SIGLAS

Ago	- Agosto
Aq	- Tempo de aquisição ( <i>Acquisition Time</i> )
B <sub>0</sub>	- Campo magnético principal de um espectrômetro
CW	- Onda Contínua ( <i>Continuous Wave</i> )
DQD	- Detecção Digital por Quadratura ( <i>Digital Quadrature Detector</i> )
D1	- Tempo de espera antes de cada aquisição ( <i>Delay</i> )
D <sub>2</sub> O	- Água deuterada
Exót.	- Exótica
Fev	- Fevereiro
FID	- Livre decaimento da magnetização induzida ( <i>Free induction decay</i> )
FT	- Transformada de Fourier ( <i>Fourier Transform</i> )
GABA	- Ácido $\gamma$ -aminobutírico
HCA	- Análise de Agrupamento Hierárquico ( <i>Hierarchical Cluster Analysis</i> )
HMBC	- Correlação Heteronuclear a Longa Distância ( <i>Heteronuclear Multiple Bond Correlation</i> )
HR-MAS	- <i>High-Resolution Magic Angle Spinning</i>
HSQC	- Correlação Heteronuclear a Ligação Direta ( <i>Heteronuclear Single Quantum Coherence</i> )
IBAMA	- Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e de Recursos Naturais Renováveis
Jan	- Janeiro
Jun	- Junho
NS	- Número de promediações ( <i>Number of Scans</i> )
N <sub>2</sub> (l)	- Nitrogênio líquido
Out	- Outubro
PCA	- Análise de Componentes Principais ( <i>Principal Components Analysis</i> )
PC	- Componentes Principais ( <i>Principal Components</i> )
pH	- Potencial hidrogeniônico
PNs	- Produtos Naturais
QXI	- Sonda de detecção quadrinuclear ( <i>Quadruple Resonance Probe</i> )
RD	- Tempo de espera entre os pulsos – D1 ( <i>Recycle Delay</i> )

RF	- Radiofrequência
RMN	- Ressonância Magnética Nuclear
Set	- Setembro
<i>spp</i>	- Espécies
SW	- Janela espectral ( <i>Spectral Width</i> )
TD	- Número de pontos utilizados para digitalização do FID ( <i>Size of FID</i> )
TMSP	- Tetrametildeuteropropionato
TPPI	- Incremento de Fase Proporcional ao Tempo ( <i>Time-Proportional Phase Incrementation</i> )
UFPR	- Universidade Federal do Paraná
UPCB	- Herbário do Departamento de Botânica da UFPR

## LISTA DE SÍMBOLOS

$d$	- Dupleteo
$dd$	- Duplo dupleteo
Hz	- Hertz
$I$	- <i>Spin</i> nuclear
$J$	- Constante de acoplamento em Hertz
K	- Kelvin
kHz	- Quilohertz
km <sup>2</sup>	- Quilômetro quadrado
$m$	- Multipleteo
MHz	- Megahertz
mg	- Miligrama
min	- Minutos
mm	- Milímetro
ppm	- Parte por milhão
$s$	- Simpleto
s	- Segundos
$s/$	- Simpleto largo
$t$	- Tripleteo
$\alpha$	- Alfa
$\beta$	- Beta
$\delta_C$	- Deslocamento químico para o núcleo de carbono
$\delta_H$	- Deslocamento químico para o núcleo de hidrogênio
°	- Grau
°C	- Grau Celsius
±	- Mais ou menos
®	- Marca registrada
<	- "Menor que"
$\mu$	- Micro
$\mu\text{L}$	- Microlitro
%	- Porcentagem
$\gamma$	- Razão giromagnética

- $\Theta$  - Teta
- $^{13}\text{C}$  - Carbono (Isótopo de Carbono-13)
- $^{19}\text{F}$  - Flúor (Isótopo de Flúor-19)
- $^1\text{H}$  - Hidrogênio
- $^2\text{H}$  - Deutério (Isótopo de Hidrogênio-2)
- $^{15}\text{N}$  - Nitrogênio (Isótopo de Nitrogênio-15)
- $^{31}\text{P}$  - Fósforo (Isótopo de Fósforo-31)

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>16</b>
1.1 OBJETIVOS .....	17
1.1.1 Objetivo geral .....	17
1.1.2 Objetivos específicos.....	18
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>19</b>
2.1 A QUÍMICA DOS PRODUTOS NATURAIS.....	19
2.1.1 Metabólitos primários .....	20
2.1.2 Metabólitos secundários.....	22
2.1.2.1 Compostos fenólicos .....	22
2.2 A FAMÍLIA BIGNONIACEAE JUSS.....	26
2.2.1 O gênero <i>Handroanthus</i> Mattos .....	28
2.2.2 O gênero <i>Tabebuia</i> Gomes ex DC.....	36
2.3 A RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR.....	40
2.3.1 A Ressonância Magnética Nuclear de Alta Resolução com Giro no Ângulo Mágico .....	43
2.4 ANÁLISE QUIMIOMÉTRICA.....	45
2.4.1 Análise de Componentes Principais.....	48
2.4.2 Análise de Agrupamentos Hierárquicos.....	50
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>53</b>
3.1 OBTENÇÃO DO MATERIAL BOTÂNICO .....	53
3.2 PREPARO DAS AMOSTRAS .....	55
3.3 AQUISIÇÃO DOS ESPECTROS DE RMN HR-MAS DE <sup>1</sup> H.....	55
3.4 AQUISIÇÃO DOS ESPECTROS DE RMN EM SOLUÇÃO.....	56
3.5 ANÁLISES QUIMIOMÉTRICAS .....	58
3.5.1 Análise de Componentes Principais dos espectros de RMN HR-MAS de <sup>1</sup> H...59	
3.5.2 Análise de Agrupamento Hierárquico dos espectros de RMN HR-MAS de <sup>1</sup> H.60	
<b>4 APRESENTAÇÃO DOS RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>61</b>
4.1 ANÁLISE VISUAL DO PERFIL ESPECTRAL DAS FLORES POR RMN HR-MAS DE <sup>1</sup> H .....	61
4.1.1 Avaliação das coletas do material botânico em diferentes períodos .....	70
4.2 IDENTIFICAÇÃO ESTRUTURAL DOS METABÓLITOS EMPREGANDO RMN HR-MAS DE <sup>1</sup> H E RMN EM SOLUÇÃO UNI E BIDIMENSIONAL .....	73

4.2.1	Identificação estrutural dos aminoácidos.....	74
4.2.2	Identificação estrutural dos carboidratos .....	80
4.2.3	Identificação estrutural dos ácidos orgânicos.....	84
4.2.4	Identificação estrutural de compostos nitrogenados .....	88
4.2.5	Identificação estrutural de ácidos fenólicos .....	90
4.2.5.1	Ácidos hidroxibenzóicos .....	90
4.2.5.2	Ácidos hidroxicinâmicos .....	93
4.2.6	Identificação estrutural do glicosídeo iridóide.....	99
4.3	ANÁLISES QUIMIOMÉTRICAS .....	101
4.3.1	Análise de Componentes Principais dos espectros de RMN HR-MAS das flores .....	102
4.3.2	Análise de Componentes Principais das flores das espécies de ipês brancos pertencentes ao gênero <i>Tabebuia</i> .....	107
4.3.3	Análise de Componentes Principais das flores das espécies de ipês amarelos pertencentes ao gênero <i>Handroanthus</i> .....	109
4.3.4	Análise de Agrupamentos Hierárquicos das flores das espécies de <i>Handroanthus</i> e <i>Tabebuia</i> .....	111
4.4	CORRELAÇÃO ENTRE OS METABÓLITOS IDENTIFICADOS NAS DIFERENTES PARTES DAS ESPÉCIES DE <i>HANDROANTHUS</i> E <i>TABEBUIA</i> ....	113
4.4.1	Comparação dos perfis espectrais das cascas do caule, flores e folhas .....	113
4.4.2	Análise do perfil espectral das cascas do caule dos ipês.....	117
4.4.3	Análise do perfil espectral das flores dos ipês.....	120
4.4.4	Análise do perfil espectral das folhas dos ipês.....	123
<b>5</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>127</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>130</b>
	<b>APÊNDICE 1 – DADOS COMPLEMENTARES DAS ESPÉCIES DE <i>HANDROANTHUS</i> E <i>TABEBUIA</i>.....</b>	<b>147</b>
	<b>APÊNDICE 2 – METABÓLITOS IDENTIFICADOS NO ESTUDO.....</b>	<b>156</b>
	<b>ANEXO 1 – MAPA DE DISTRIBUIÇÃO DOS BIOMAS BRASILEIROS.....</b>	<b>158</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O Brasil detêm a segunda maior área de cobertura florestal do mundo, com aproximadamente 4,6 milhões de km<sup>2</sup> de florestas naturais e plantadas, o que representa 54,4% de toda sua extensão territorial (PIMENTEL *et al.*, 2016).

As florestas naturais brasileiras são significativas por conterem uma das maiores biodiversidades de relevância econômica e ecológica, com distribuição em um variado ecossistema composto por seis biomas, sendo estes: floresta amazônica, mata atlântica, caatinga, pantanal, pampa e cerrado (FIGURA 111; ANEXO 1) (PIMENTEL *et al.*, 2016; SILVA e RODRIGUES, 2014).

Historicamente, os Produtos Naturais (PNs), que são compostos produzidos por plantas, animais ou microrganismos, têm sido amplamente estudados e utilizados para o desenvolvimento de medicamentos, agroquímicos e cosméticos, além da nutrição humana (SILVA e RODRIGUES, 2014).

A biodiversidade presente no reino vegetal é refletida em grandes diferenças qualitativas e quantitativas na composição dos metabólitos presentes em extratos vegetais, bem como em termos de estrutura química (DEBORDE *et al.*, 2017; FOITO e STEWART, 2018).

O conhecimento a respeito da composição química de espécies vegetativas tem sido amplamente utilizado para a classificação botânica, podendo contribuir para a realocação de algumas espécies em outros gêneros ou até mesmo em outras famílias (COSTA *et al.*, 2016).

Em conjunto a isso, é importante destacar que a identificação, delimitação e descrição de espécies botânicas possui um longo e controverso debate nos campos da biologia sistemática e evolutiva. Dessa forma, observa-se uma urgência para que se desenvolvam documentos abrangentes que descrevam e identifiquem estas espécies vegetativas, de forma rápida e correta, antes que elas ou seus *habitats* desapareçam (PINHEIRO, DANTAS-QUEIROZ e PALMA-SILVA, 2018).

Esse esforço é especialmente importante em regiões megadiversas, como a América do Sul, onde uma grande parte da vegetação ainda está por ser descoberta. Assim sendo, o conhecimento incompleto do *status* da biodiversidade das espécies botânicas acarreta em amostragens de táxons errôneas e avaliações equivocadas, por exemplo, da biogeografia e de processos de especiação (PINHEIRO, DANTAS-QUEIROZ e PALMA-SILVA, 2018).

Nesse contexto, a Ressonância Magnética Nuclear (RMN) tem contribuído amplamente para o estudo do metabolismo primário e secundário das plantas. Esta técnica espectroscópica oferece grandes vantagens por ser reprodutível, não destrutiva, não específica e quantitativa (DEBORDE *et al.*, 2017).

O *fingerprint* metabólico obtido através da RMN possibilita a visualização de um perfil característico que representa a composição química da amostra, de forma a construir um padrão específico de reconhecimento. Este, posteriormente, é avaliado por análise quimiométrica, possibilitando o rastreamento até mesmo de pequenas diferenças no nível metabólico das espécies estudadas (ABREU e FERNANDÉZ, 2020; CUSTERS *et al.*, 2016; DEBORDE *et al.*, 2017).

A RMN associada à análise quimiométrica tem sido usada como uma metodologia rápida, precisa, eficiente e robusta para a análise abrangente de pesquisas com plantas, possibilitando, como já demonstrado em diversos estudos, distinguir espécies de plantas e ecótipos (FOITO e STEWART, 2018; ZHAO *et al.*, 2020).

Dessa forma, considerando a biodiversidade do Brasil, a análise da composição química combinada com dados morfológicos, demonstra ser uma ferramenta útil para a compreensão das relações filogenéticas das plantas. Para táxons intimamente relacionados, estudos focados exclusivamente em marcadores quimiotaxonômicos específicos podem resultar em conclusões superficiais. Assim, a aplicação de uma abordagem mais holística, como o *fingerprint* metabólico, pode fornecer uma classificação mais precisa, podendo ser aplicada para discriminar táxons em níveis inter e intraespecíficos (SANTOS *et al.*, 2017; SILVA e RODRIGUES, 2014).

## 1.1 OBJETIVOS

### 1.1.1 Objetivo geral

Investigar a composição química das flores de espécies pertencentes aos gêneros *Handroanthus* e *Tabebuia* (popularmente conhecidas como ipês), ocorrentes no estado do Paraná, por meio da técnica de RMN HR-MAS, visando contribuir para a quimiotaxonomia destes gêneros.

### 1.1.2 Objetivos específicos

- ✓ Coletar o material botânico das espécies *Handroanthus albus*, *Handroanthus catarinensis*, *Handroanthus chrysotrichus*, *Handroanthus heptaphyllus*, *Handroanthus impetiginosus*<sup>Exót.</sup>, *Handroanthus ochraceus*, *Handroanthus pulcherrimus*, *Handroanthus serratifolius*, *Tabebuia cassinoides* e *Tabebuia roseoalba*<sup>Exót.</sup>;
- ✓ Adquirir os espectros de RMN HR-MAS de <sup>1</sup>H das flores das espécies designadas para o desenvolvimento do estudo;
- ✓ Obter os espectros de RMN HR-MAS de <sup>1</sup>H das cascas do caule e folhas das espécies analisadas no estudo;
- ✓ Identificar os principais metabólitos (primários e secundários) nas flores, folhas e cascas do caule das espécies através de experimentos de RMN HR-MAS de <sup>1</sup>H e RMN em solução uni e bidimensional;
- ✓ Correlacionar às diferenças ou semelhanças na composição química das flores das espécies de *Handroanthus* Mattos e *Tabebuia* Gomes ex DC;
- ✓ Comparar a composição química das flores das espécies estudadas com outras partes da planta, como folhas e cascas do caule.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 A QUÍMICA DOS PRODUTOS NATURAIS

O conhecimento e a compreensão das substâncias encontradas em plantas foram fundamentais para a sobrevivência e evolução da humanidade. Os metabólitos, denominação para estes compostos, são os produtos intermediários ou finais do metabolismo de espécies vegetais, sendo este definido como a soma total das reações bioquímicas realizadas por um organismo. Cabe ressaltar que cobrir todo o metaboloma de um organismo biológico não é uma tarefa fácil, uma vez que existe uma grande diversidade química de metabólitos, com concentrações e estruturas variadas (CANUTO *et al.*, 2018; PILON *et al.*, 2020; THIRUMURUGAN *et al.*, 2018).

Os metabólitos são divididos em dois grupos: os primários, que estão relacionados à qualidade nutricional das plantas e os secundários, que são compostos bioativos, que podem ter efeitos positivos ou negativos na saúde humana (SOCACIU, 2019).

Ao longo dos últimos anos, diferentes áreas da Bioquímica e da Química de Produtos Naturais têm buscado compreender a função específica desses metabólitos (primários e secundários), tanto nos organismos de origem, quanto quando usados pelos seres humanos (PILON *et al.*, 2020).

Em conjunto a isso, a classificação das plantas com base em seus constituintes químicos, também conhecida como quimiosistemática, é uma ferramenta útil na solução de problemas taxonômicos de espécies botânicas. A quimiosistemática tradicional de plantas é baseada na presença ou ausência de metabólitos secundários selecionados, o que está longe de ser uma abordagem holística envolvendo o conteúdo global dos metabólitos (LIU *et al.*, 2017).

Nesse aspecto é importante mencionar o pioneiro da Química de Produtos Naturais, o professor Otto Gottlieb, que integrou as áreas de Química, Biologia, Ecologia e Geografia. Suas pesquisas de excelência lhe propiciaram a indicação ao Prêmio Nobel de Química em 1999, em reconhecimento à sua visão de ciência e a proposta de classificação das plantas a partir de suas características químicas, denominada de quimiosistemática ou quimiotaxonomia. O professor Gottlieb dedicou sua vida à preservação e ao estudo do patrimônio vegetal brasileiro, sempre

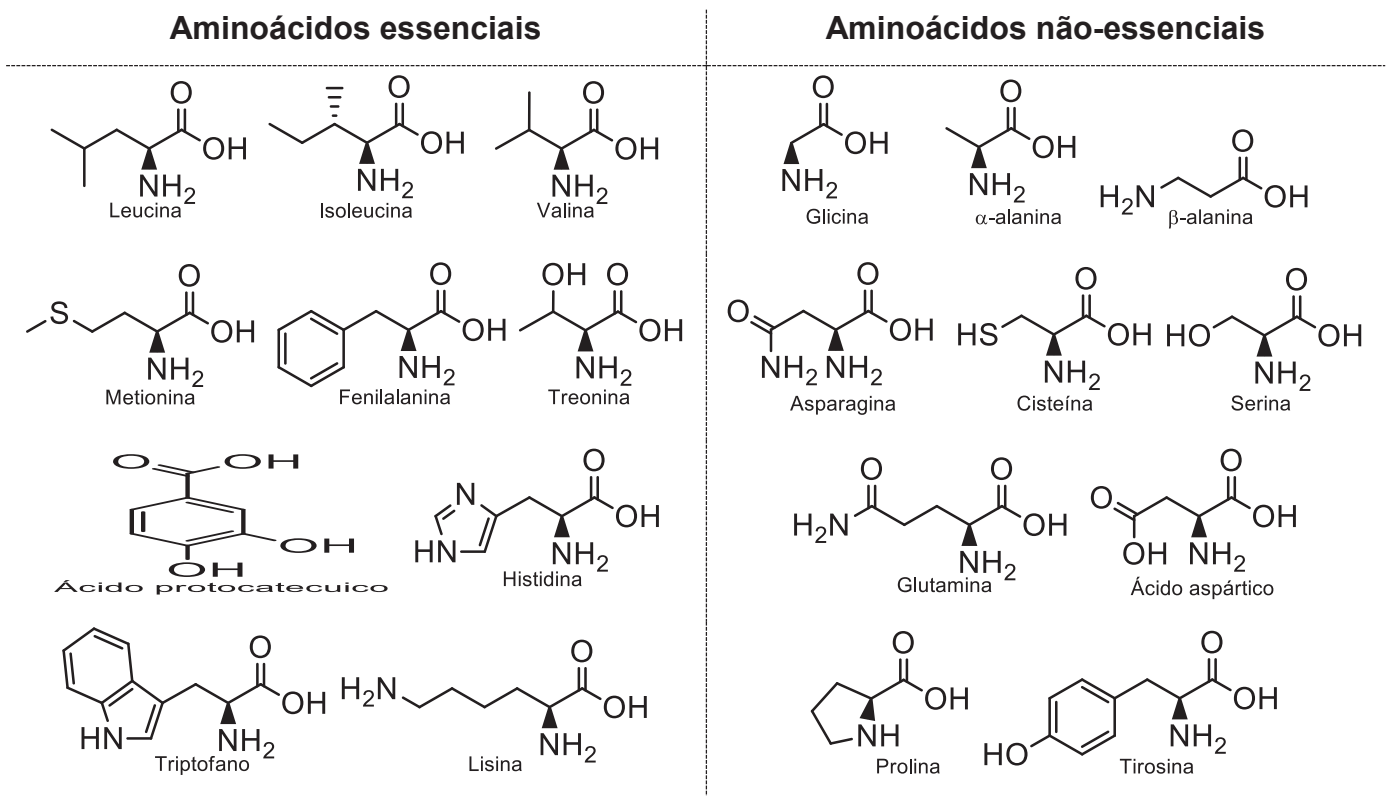
buscando uma resposta química para algum problema biológico (PESQUISA FAPESP, 2011).

### 2.1.1 Metabólitos primários

Os metabólitos primários das plantas são compostos orgânicos comuns a todas ou à maioria das espécies de plantas, sendo essenciais para o crescimento, desenvolvimento e reprodução destas. Alguns estão presentes em animais e microrganismos, enquanto outros são específicos do reino vegetal. Estes compostos pertencem a diferentes classes, sendo as principais os ácidos orgânicos, aminoácidos, carboidratos e nucleotídeos (DEBORDE *et al.*, 2017; MATSUURA *et al.*, 2018).

Os aminoácidos são classificados como essenciais ou não-essenciais, com base em sua síntese em humanos (FIGURA 1). Os aminoácidos essenciais não são produzidos pelo organismo humano, por isso precisam ser consumidos na forma de alimentos, seja de origem animal ou vegetal (KUMAR *et al.*, 2017; RAJANI, SOUMYA e SAJITHA, 2015).

FIGURA 1 - CLASSIFICAÇÃO DOS AMINOÁCIDOS



FONTE: A autora (2021).

Do ponto de vista da saúde humana, essas substâncias são necessárias nos processos metabólicos, bem como para o transporte e armazenamento de todos os nutrientes, como carboidratos, proteínas, vitaminas, minerais, água e gordura (KUMAR *et al.*, 2017; MORAN-PALACIO *et al.*, 2014).

Em relação as plantas, os aminoácidos desempenham vários papéis vitais, atuando como intermediários dos metabólitos finais e participando da regulação de vias biossintéticas, afetando assim numerosos processos fisiológicos (YANG, ZHAO e LIU, 2020).

Alguns estudos relacionam a função bioquímica dos aminoácidos presentes nas plantas, por exemplo, observou-se que quanto mais elevado o nível de metionina, maior é a tolerância ao estresse abiótico (YANG, ZHAO e LIU, 2020). Enquanto que, o ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA) desempenha papel importante na regulação do pH de espécies vegetativas (GRAMAZIO, TAKAYAMA e EZURA, 2020).

Nesta mesma vertente, têm-se os carboidratos. Estes representam uma importante fonte de energia para as plantas, as quais produzem açúcares simples (monossacarídeos) por meio do processo de fotossíntese e, posteriormente, os armazenam no polímero conhecido como amido. Quando necessário, o amido é dividido em unidades de glicose e utilizado. Além disso, as plantas também convertem parte de sua glicose para formar o polímero chamado celulose, que é um material fibroso que fornece integridade estrutural às paredes e tecidos celulares vegetais (ZEECE, 2020).

Os carboidratos são produtos intermediários usados na síntese de macromoléculas, além de possuírem importantes funções como sinalizadores fisiológicos, que causam ativação ou repressão de genes nas plantas, levando a efeitos metabólicos específicos (MORKUNAS *et al.*, 2012).

A síntese, transporte, utilização e armazenamento de carboidratos são processos dinâmicos, fortemente dependentes da fisiologia celular, órgão da planta, condições ambientais e estágio de desenvolvimento da planta (MORKUNAS *et al.*, 2012).

Cabe destacar que altas perdas de carboidratos podem ser observadas na maioria das espécies de plantas influenciadas pelas condições ambientais, tal como temperatura, e por ataque de patógenos ou herbívoros (MORKUNAS *et al.*, 2012; TROUVELOT *et al.*, 2014).

O teor de carboidratos armazenados pelas espécies vegetativas é uma importante fonte de nutrição humana, fornecendo uma grande parte de nossas necessidades calóricas diárias. A glicose, produzida a partir da digestão dos carboidratos, é a principal fonte de energia do nosso cérebro (ZEECE, 2020).

### 2.1.2 Metabólitos secundários

Os metabólitos secundários podem ser definidos como um grupo heterogêneo de moléculas que não são essenciais para o crescimento vegetativo dos organismos produtores. As principais funcionalidades destes compostos estão relacionadas à adaptação ao ambiente abiótico e biótico, mecanismos de defesa, bem como na reprodução das plantas, sendo alguns específicos de determinadas espécies (DEBORDE *et al.*, 2017; FOITO e STEWART, 2018; THIRUMURUGAN *et al.*, 2018).

A classificação dos metabólitos secundários é definida com base em suas vias biossintéticas, podendo estes pertencerem a diferentes famílias de compostos, como os compostos fenólicos, flavonoides, alcalóides, terpenóides, glicosídeos cianogênicos, cumarinas, taninos, entre outros (BOURGAUD *et al.*, 2001).

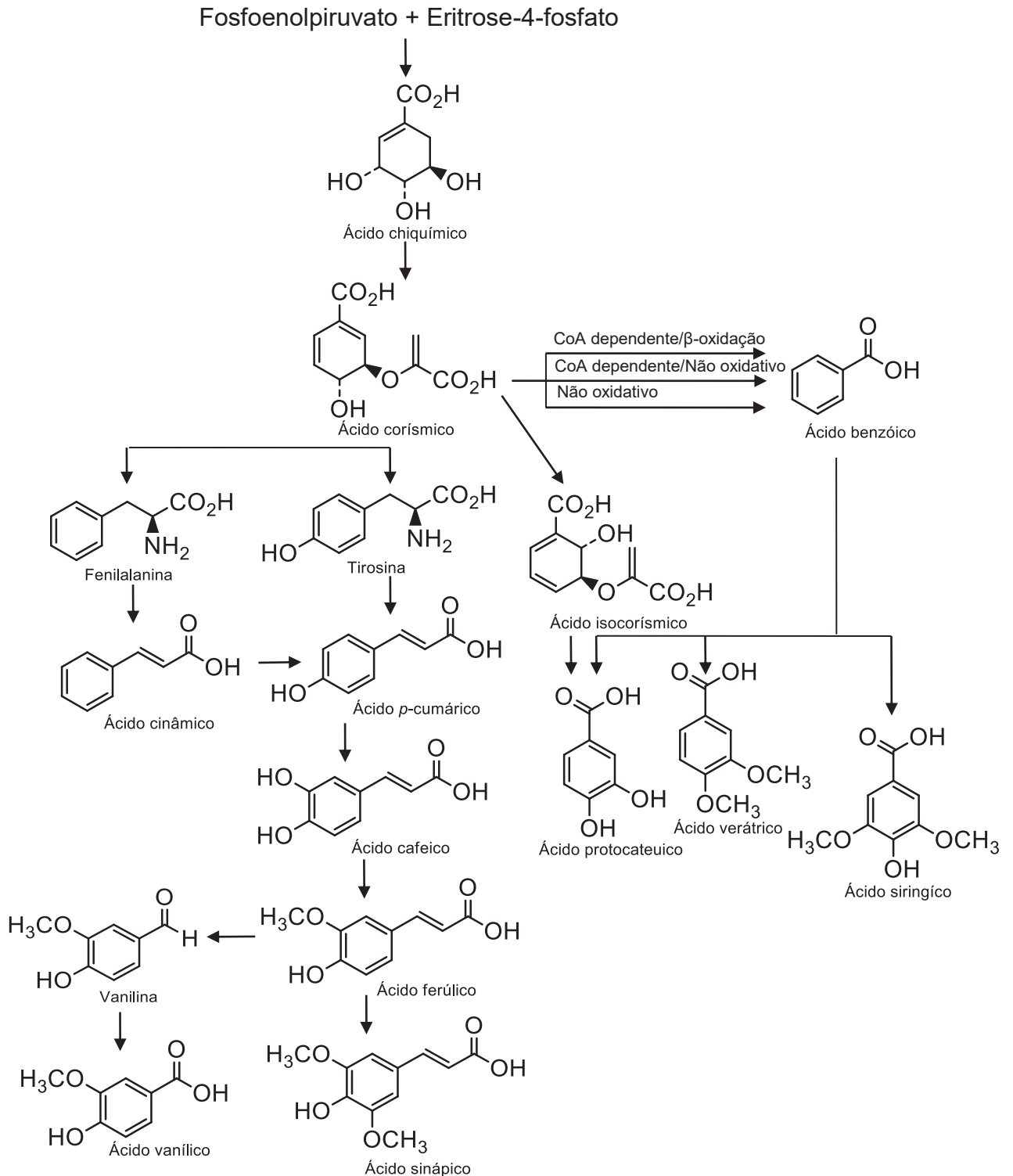
De maneira geral, os metabólitos secundários são frequentemente semelhantes para os membros de um clado. Portanto, os compostos químicos das plantas podem ser usados como um marcador taxonômico, de forma a possibilitar a distinção entre espécies botânicas (LIU *et al.*, 2017).

#### 2.1.2.1 Compostos fenólicos

Aproximadamente 8.000 compostos de ocorrência natural pertencem à classe dos compostos fenólicos, os quais desempenham um papel importante no crescimento e na reprodução de plantas, além de atuar na proteção contra patógenos e predadores (ANANTHARAJU *et al.*, 2016).

Os compostos fenólicos são biossintetizados por meio da via do chiquimato nas plantas, tendo como precursores os aminoácidos fenilalanina e/ou tirosina. A etapa chave envolvida na biossíntese destes compostos está na adição de grupos hidroxila (-OH) ao anel aromático, variando de moléculas fenólicas simples a compostos altamente polimerizados (FIGURA 2) (ANANTHARAJU *et al.*, 2016; ŠAMEC *et al.*, 2021).

FIGURA 2 - BIOSÍNTESE DE COMPOSTOS FENÓLICOS EM PLANTAS PELA VIA DO CHIQUIMATO



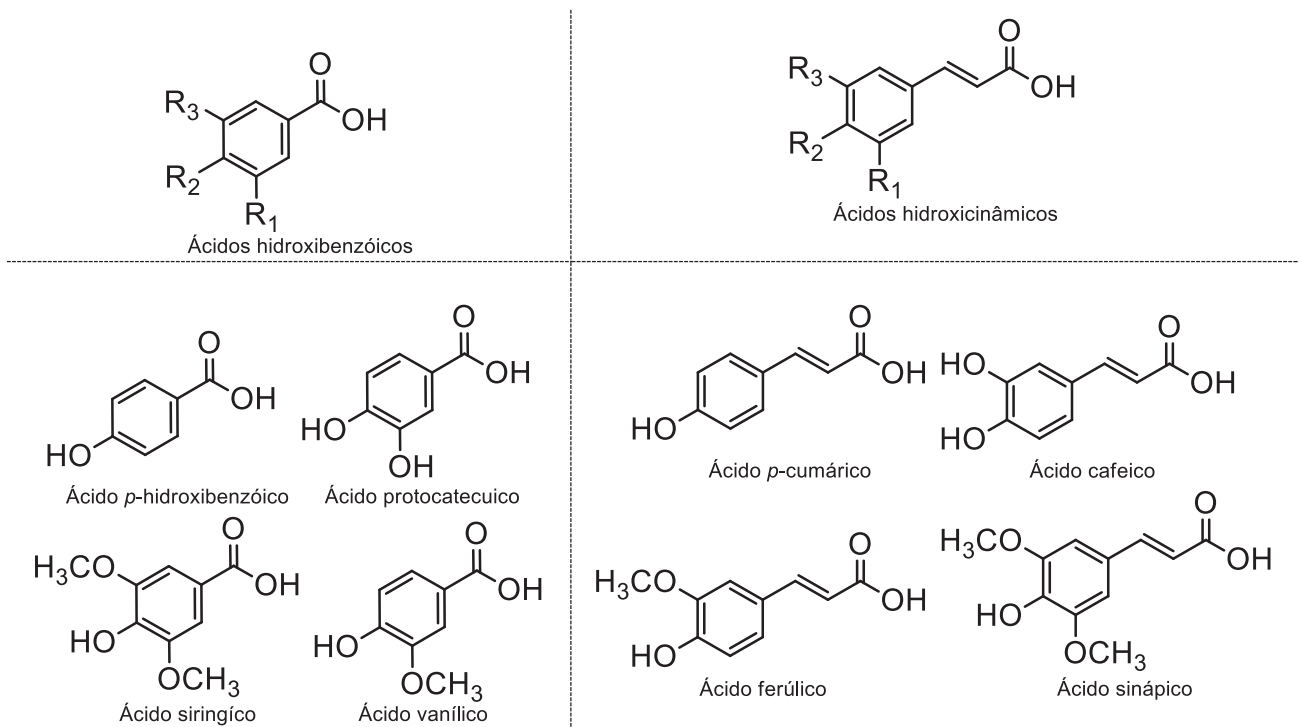
FONTE: Adaptada de Anantharaju e colaboradores (2016).

LEGENDA: O fosfoenolpiruvato reage com a eritrose-4-fosfato para produzir o ácido corísmico, que é um precursor para a tirosina e a fenilalanina, que posteriormente atua como precursoras para os derivados do ácido cinâmico. Ácidos benzóicos são biossintetizados a partir do ácido corísmico pelas vias oxidativas e não oxidativas, enquanto o ácido isocorísmico serve como precursor para o ácido protocateuico.

Os compostos fenólicos podem ser classificados em grupos, sendo os principais: ácidos fenólicos, flavonoides, cumarinas, estilbenos, quinonas e taninos (ANANTHARAJU *et al.*, 2016; NEELAM, KHATKARB e SHARMA, 2019). A maioria dos compostos fenólicos possuem em sua estrutura ligações com mono- e polissacarídeos, e também com grupamentos ésteres (BALASUNDRAM, SUNDRAM e SAMMAN, 2006).

Os ácidos fenólicos são divididos em dois subgrupos principais: (i) ácidos hidroxibenzóicos, que compreendem uma estrutura de sete átomos de carbono (C6-C1); e (ii) ácidos hidroxicinâmicos, contendo nove átomos de carbono (C6-C3). As variações nas estruturas destas moléculas é devido a hidroxilações e metilações no anel aromático. As substâncias mais conhecidas derivadas dos ácidos hidroxibenzóicos e hidroxicinâmicos são os ácidos *p*-hidroxibenzóico, protocatecuico, gálico e vanílico, e ácidos *p*-cumárico, cafeico, ferúlico e sinápico, respectivamente (FIGURA 3) (BALASUNDRAM, SUNDRAM e SAMMAN, 2006; NEELAM, KHATKARB e SHARMA, 2019; ŠAMEC *et al.*, 2021).

FIGURA 3 - SUBGRUPOS DOS ÁCIDOS FENÓLICOS E SEUS REPRESENTANTES MAIS COMUNS

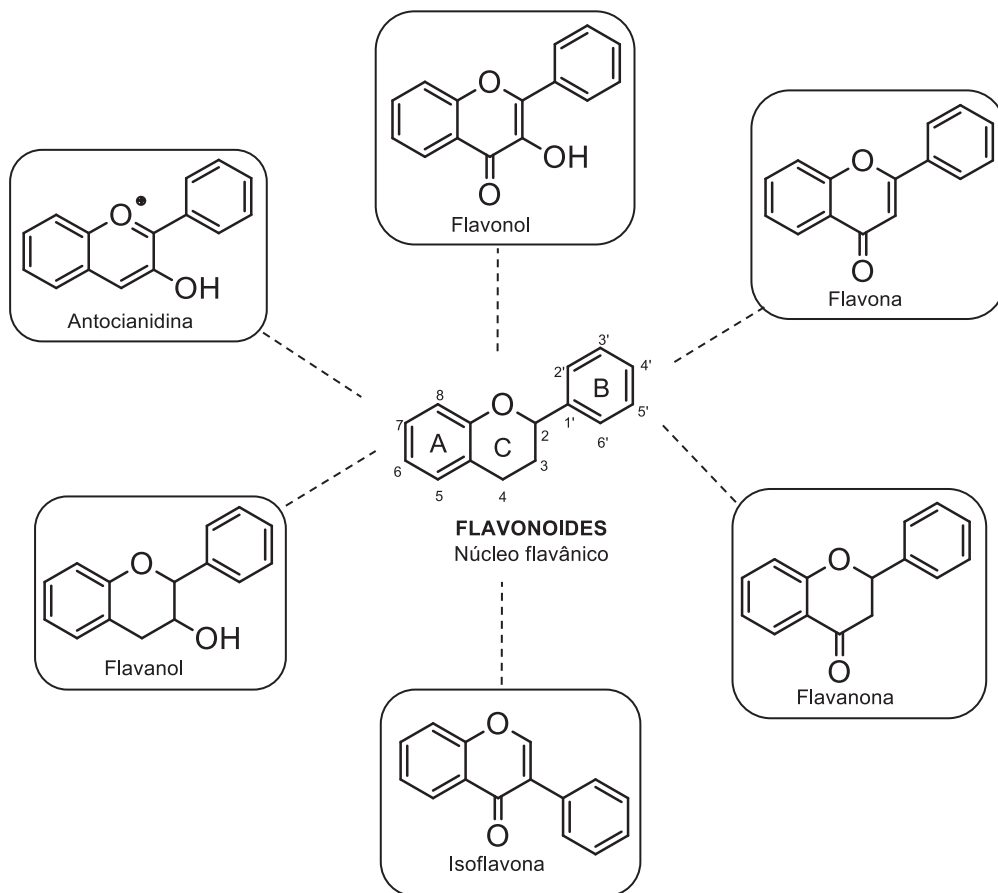


FONTE: Adaptada de Šamec e colaboradores (2021).

A conjugação extensiva da dupla ligação dos ácidos hidroxicinâmicos está associada à sua maior atividade antioxidante em comparação com os ácidos hidroxibenzoicos correspondentes (BALASUNDRAM, SUNDRAM e SAMMAN, 2006).

O maior grupo dentro dos compostos fenólicos são os flavonoides, que consistem em uma molécula composta por quinze átomos de carbono, dispostos em uma configuração C6-C3-C6. Essencialmente, a estrutura consiste em dois anéis aromáticos (A e B), unidos por uma “ponte” de 3 carbonos, geralmente na forma de um anel pirano heterocíclico oxigenado (C). Variações nos padrões de substituição do anel C resultam nos principais subgrupos de flavonoides: flavonol, flavona, flavanona, isoflavona, flavanol e antocianidina (FIGURA 4) (ANANTHARAJU *et al.*, 2016; BALASUNDRAM, SUNDRAM e SAMMAN, 2006).

FIGURA 4 - ESTRUTURA BÁSICA DOS FLAVONOIDES E SEUS PRINCIPAIS SUBGRUPOS



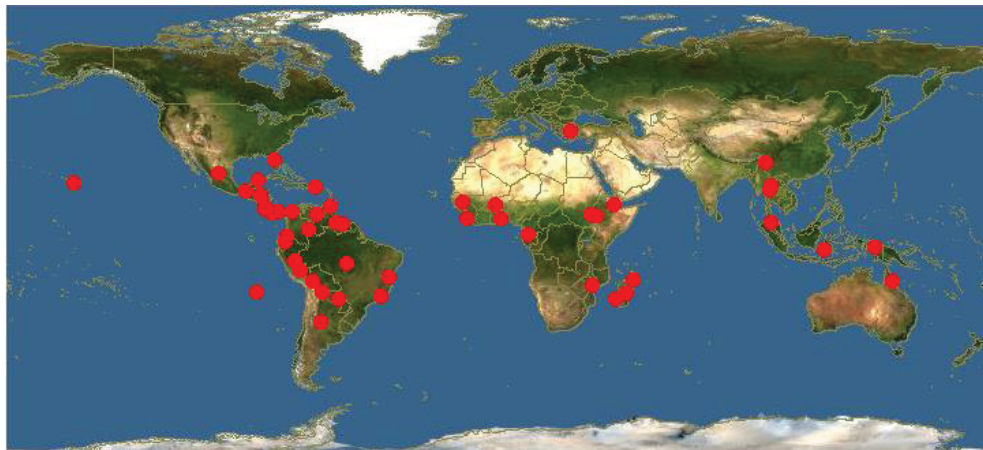
FONTE: Adaptada de Šamec e colaboradores (2021).

Os compostos fenólicos têm recebido elevada atenção, pois, segundo estudos, a sua ingestão alimentar está relacionada à menor incidência de doenças crônicas, como câncer, diabetes, Alzheimer e cardiovasculares (GUTIÉRREZ-GRIJALVA *et al.*, 2016). A atividade antioxidante também recebe destaque devido à capacidade destes compostos de eliminar radicais livres. No caso dos ácidos fenólicos, por exemplo, a atividade antioxidante depende da quantidade e posição dos grupos hidroxila em relação a carboxila (BALASUNDRAM, SUNDRAM e SAMMAN, 2006; ŠAMEC *et al.*, 2021).

## 2.2 A FAMÍLIA BIGNONIACEAE JUSS.

A família Bignoniaceae Juss. pertence à ordem Lamiales, sendo composta por árvores, arbustos e trepadeiras, representando uma das famílias de plantas mais diversas da América do Sul. Possui 82 gêneros e 840 espécies, sendo predominantemente pantropical, com poucos representantes nas regiões temperadas (FIGURA 5) (LOHMANN, 2018; SILVA *et al.*, 2012; TORRES *et al.*, 2015).

FIGURA 5 - MAPA DE DISTRIBUIÇÃO DA FAMÍLIA BIGNONIACEAE NO MUNDO



FONTE: [https://www.discoverlife.org/mp/20m?act=make\\_map](https://www.discoverlife.org/mp/20m?act=make_map).

LEGENDA: A distribuição mundial das espécies pertencentes a família Bignoniaceae estão representadas pelas bolas vermelhas no mapa.

Bignoniaceae é diversa e abundante no Brasil, com ocorrência de 407 *spp.* em florestas úmidas e secas, e em áreas de vegetação aberta (cerrados e caatingas). Muitas espécies desta família apresentam potencial econômico fornecendo, por exemplo, madeiras com qualidade excepcional em relação a

flexibilidade, além de possuir um grande potencial paisagístico, sendo assim empregadas na arborização urbana (LOHMANN, 2018; SILVA *et al.*, 2012).

As flores dos seus representantes são grandes e vistosas, variando morfológicamente (cor e forma da corola), estas produzem grandes quantidades de néctar, atraindo pássaros, borboletas e abelhas, seus principais polinizadores (COSTA, 2019).

Apesar de tradicionalmente dividida em 8 tribos, a classificação atual desta família reconhece 6 tribos monofiléticas, *Bignonieae*, *Catalpeae*, *Jacarandaeae*, *Oroxyleae*, *Tecomeae* e *Tourrettieae*, e 2 clados, Aliança *Tabebuia* e Paleotropical (BRITO *et al.*, 2018; LOHMANN, 2018).

O grupo nomeado informalmente como Aliança *Tabebuia* é composto por 14 gêneros e 147 espécies. No Brasil, o clado está representado por 44 espécies e 7 gêneros (*Handroanthus*, *Tabebuia*, *Zeyheria*, *Godmania*, *Paratecoma*, *Cybistax* e *Sparattosperma*), com ocorrência em todo o território nacional (COSTA, 2019).

O clado Aliança *Tabebuia* consiste em grande parte pelo gênero *Tabebuia*, que foi delimitado, após diversos estudos realizados, como parafilético. De forma generalizada, este termo é empregado para referenciar um táxon composto por um grupo de descendentes que possuem um ancestral comum, em que estão incluídos vários descendentes desse ancestral, porém não todos eles. Assim, *Tabebuia* foi separado em três gêneros distintos, *Handroanthus*, *Roseodendron* e *Tabebuia* (FIGURA 6) (BRITO *et al.*, 2018; CIPRIANI *et al.*, 2012; ESPÍRITO SANTO, SIQUEIRA e RAPINI, 2013).

FIGURA 6 - ESPÉCIES PERTENCENTES AOS GÊNEROS *HANDROANTHUS* (A), *ROSEODENDRON* (B) E *TABEBUIA* (C)



FONTE: Adaptada de Grose e Olmstead (2007).

LEGENDA: Coloração das flores. **A.** *Handroanthus impetiginosus*, corola rosa com coloração interna amarela; **B.** *Roseodendron donnell-smithii*, corola amarela; **C.** *Tabebuia haemantha*, corola fúcsia.

Do ponto de vista químico, a família Bignoniaceae apresenta-se caracterizada pela presença de terpenóides, quinonas, alcaloides e flavonoides. As duas primeiras classes mencionadas recebem destaque por apresentarem grande ocorrência na família, o que as caracteriza como marcadores químicos neste táxon (SILVA *et al.*, 2012).

Nas últimas décadas, as espécies de Bignoniaceae foram extensamente estudadas do ponto de vista fitoquímico. Entretanto, existem poucos trabalhos que empregam essas informações obtidas como ferramenta em estudos taxonômicos (CIPRIANI *et al.*, 2012).

### 2.2.1 O gênero *Handroanthus* Mattos

O gênero *Handroanthus* é representado por 30 espécies distribuídas na América Central e do Sul, com uma única espécie [*H. billbergii* (Bureau & K. Schum.) S. O. Grose] nas Antilhas. No Brasil ocorrem 27 espécies em todos os domínios fitogeográficos e regiões do país (FIGURA 7) (LOHMANN, 2020a). Essas espécies são caracterizadas, geralmente, pelas flores com corolas amarelas, que aparecem quando as árvores se encontram desprovidas de folhagem (BRITO *et al.*, 2018; COSTA, 2019).

FIGURA 7 - MAPA DE DISTRIBUIÇÃO DAS ESPÉCIES DE *HANDROANTHUS* NO BRASIL



FONTE: Lohmann (2020a).

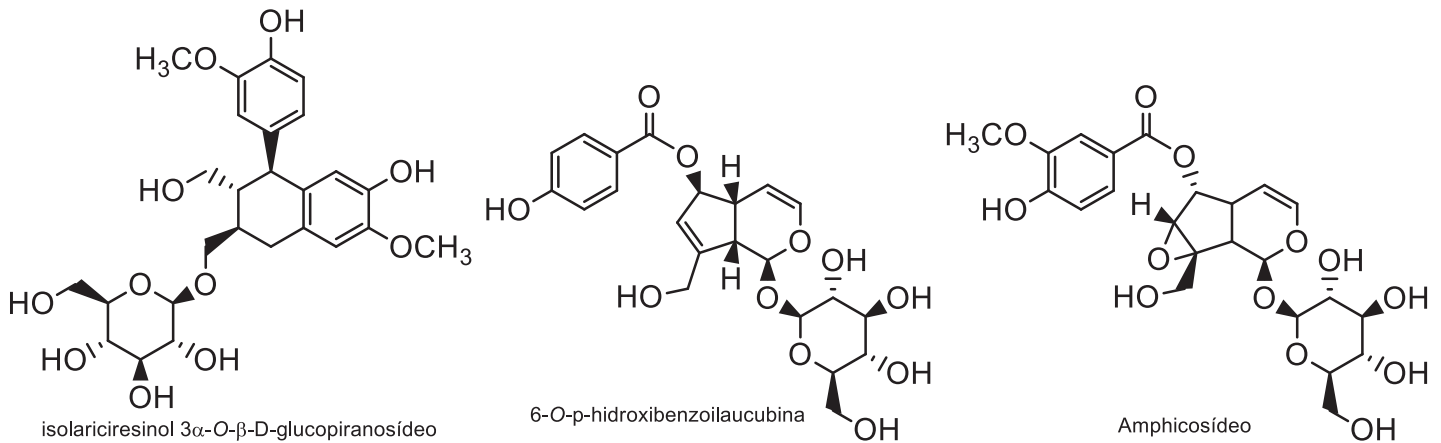
LEGENDA: As regiões coloridas no mapa do Brasil representam a presença de espécies pertencentes ao gênero *Handroanthus*.

O gênero dispõe de uma característica interessante em virtude da sua capacidade de alterar sua fisiologia de acordo com as condições ambientais. Tal característica é de elevada importância para projetos de reflorestamento, principalmente na recuperação de áreas degradadas e de preservação permanente (SILVA *et al.*, 2020).

Devido a grande divergência existente entre os pesquisadores quanto a denominação correta das espécies concernentes aos gêneros *Handroanthus* e *Tabebuia*, é necessário que se tenha um detalhamento das sinonímias encontradas para estas, visto que existem diversos trabalhos com distintos nomes científicos para uma determinada espécie (TABELA 18; APÊNDICE 1). A partir destas informações é possível correlacionar os trabalhos já existentes na literatura com os mais atuais, os quais empregam a reclassificação proposta.

No estado do Paraná há a ocorrência de 10 espécies pertencentes ao gênero *Handroanthus*, sendo estas: *H. albus*, *H. catarinensis*, *H. chrysotrichus*, *H. heptaphyllus*, *H. impetiginosus*, *H. ochraceus*, *H. pulcherrimus*, *H. serratifolius*, *H. umbellatus* e *H. vellosoi*, havendo uma vasta literatura para algumas, enquanto que para outras não há relatos científicos nas áreas da Química e Fitoquímica.

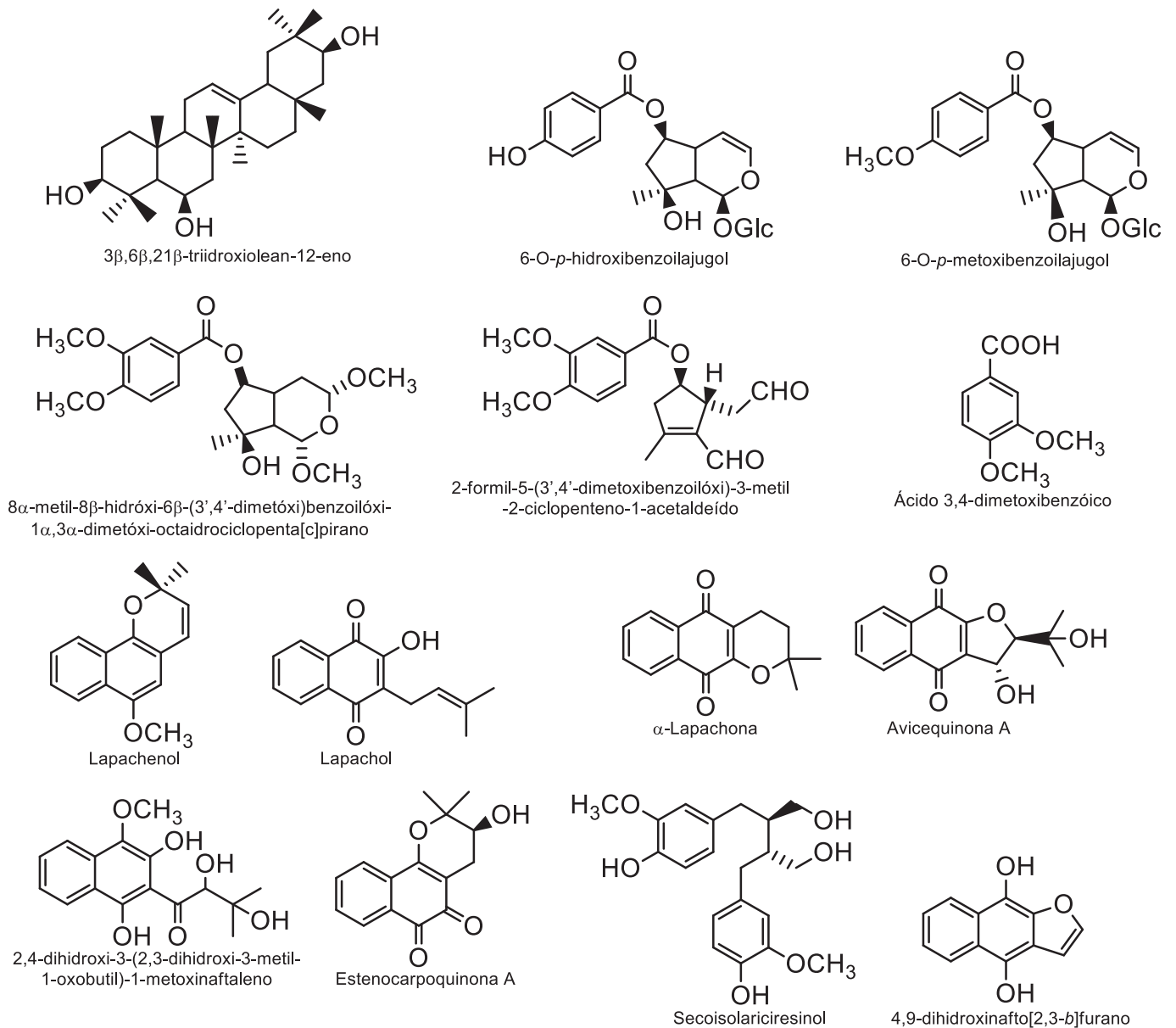
A análise da fração polissacarídica das folhas de *Handroanthus albus* (Cham.) Mattos realizada por Maria-Ferreira e colaboradores (2020) demonstraram que esta espécie possui interessantes atividades antinociceptiva e antiinflamatória. Enquanto que, a investigação da composição química do extrato dos galhos de *Tabebuia chrysotricha* (sinonímia *Handroanthus chrysotrichus* (Mart. ex DC.) Mattos) resultou na identificação de diversos compostos pertencentes a classes distintas (FIGURA 8) (TAKAHASHI *et al.*, 2015).

FIGURA 8 - ESTRUTURA QUÍMICA DAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS DE *Tabebuia chrysotricha*

FONTE: A autora (2021).

A espécie *Handroanthus heptaphyllus* (Vell.) Mattos tem sido tradicionalmente utilizada no tratamento de várias patologias, incluindo inflamações e distúrbios digestivos (SCARANTE *et al.*, 2017). Estudos realizados por Carlotto e colaboradores (2019) suportam o uso popular, uma vez que suas pesquisas demonstraram que o extrato das folhas dessa espécie pode ser empregado no tratamento da úlcera gástrica.

A partir da investigação da composição química das cascas do caule e cerne da espécie *Tabebuia heptaphylla* (sinonímia *Handroanthus heptaphyllus*) foi possível o isolamento e identificação de compostos pertencentes as classes dos triterpenos, iridóides, dialdeído ciclopentênico, derivados do ácido benzóico, naftoquinonas e lignanas (FIGURA 9) (GARCEZ *et al.*, 2007; SCHMEDA-HIRSCHMANN e PAPASTERGIU, 2003).

FIGURA 9 - ESTRUTURA QUÍMICA DAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS DE *Tabebuia heptaphylla*

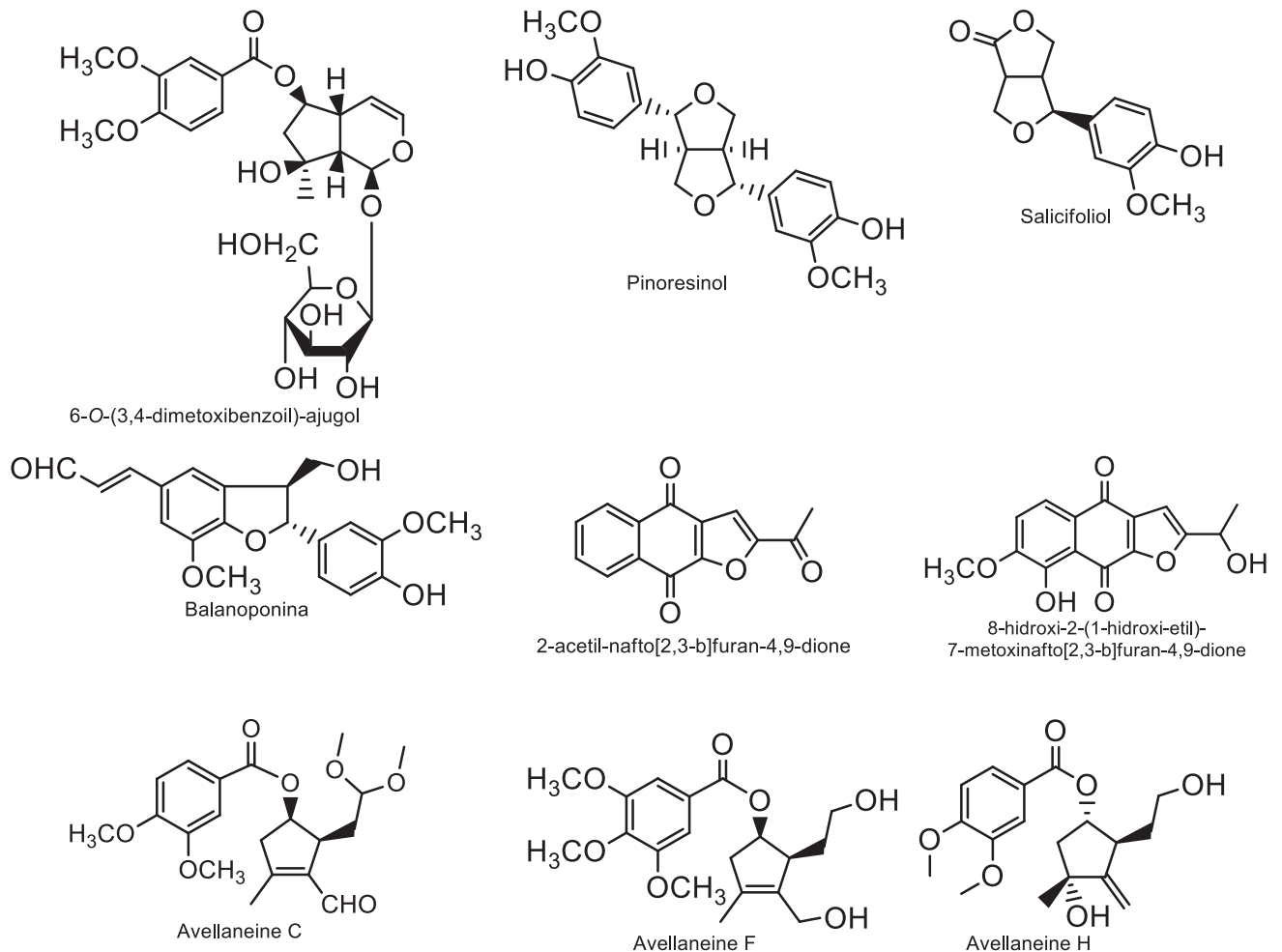
FONTE: A autora (2021).

O constante interesse dos madeireiros e o massivo uso para fins medicinais de *H. heptaphyllus*, contribuíram para que esta fosse incluída na lista de espécies ameaçadas de extinção do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e de Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) (PIMENTEL *et al.*, 2016; SILVA *et al.*, 2020).

A espécie *Handroanthus impetiginosus* (Mart. ex DC.) Mattos, que possui flores com corolas de coloração rósea, assim como a espécie anteriormente citada, é o nome proposto, após o rearranjo taxonômico, para as espécies *Tabebuia avellanadae* e *Tabebuia impetinoso* (TWARDOWSCHY *et al.*, 2008).

Estudos realizados com o extrato aquoso das cascas de *Tabebuia avellanedae* possibilitaram o isolamento de compostos pertencentes as classes dos iridóides, feniletanóides glicosídeos, derivados de lignanas, furanonaftoquinona, ésteres de ciclopentenila e de ciclopentila (FIGURA 10) (AWALE *et al.*, 2005; ZHANG *et al.*, 2014; ZHANG *et al.*, 2015; ZHANG, HASEGAWA e OHTA, 2016).

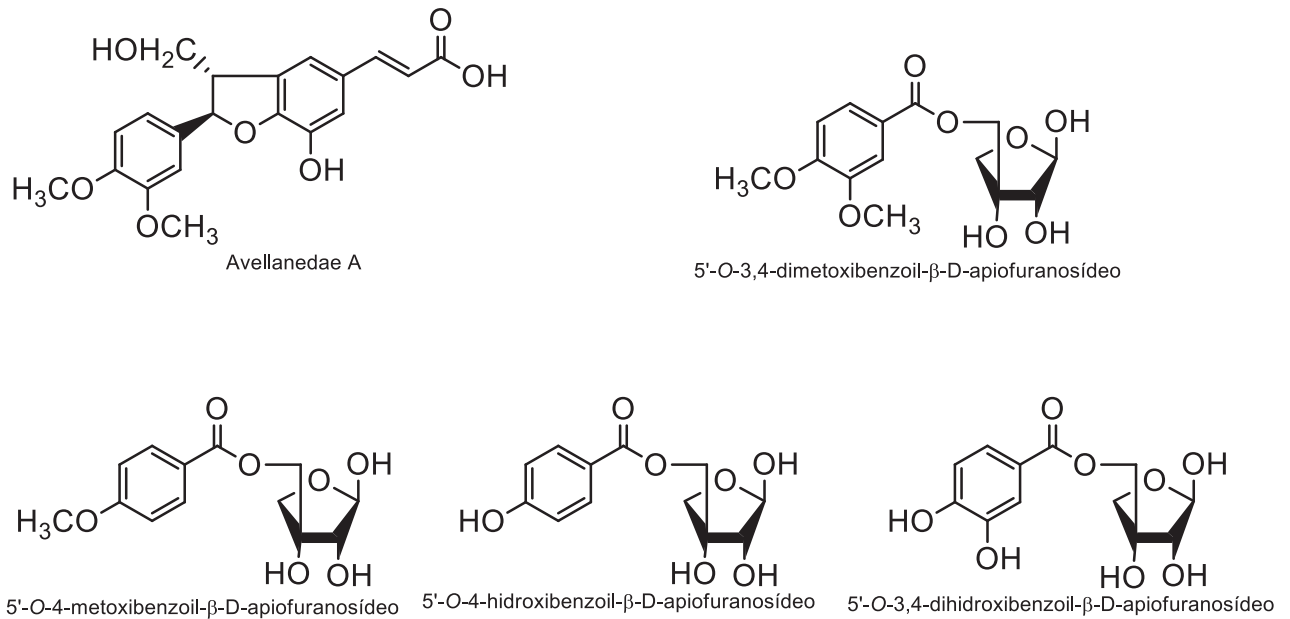
FIGURA 10 - ESTRUTURA QUÍMICA DAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS DE *Tabebuia avellanedae*



FONTE: A autora (2021).

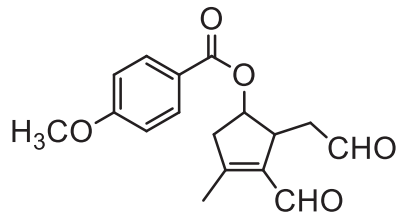
Enquanto que, a investigação da composição química realizada por Suo e colaboradores (2012) com as cascas de *T. avellanedae* possibilitaram o isolamento e identificação de diferentes compostos, os quais exibiram forte atividade antiinflamatória (FIGURA 11). Em conjunto a isso, outros estudos demonstraram que esta espécie também possui efeitos antinociceptivos, atividade cicatrizante de úlcera gástrica e larvicida, além de propriedades substanciais de repelência de oviposição contra *A. aegypti* (BORGES *et al.*, 2018; LEE *et al.*, 2012; PEREIRA *et al.*, 2013).

FIGURA 11 - ESTRUTURA QUÍMICA DAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS DAS CASCAS DE *Tabebuia avellanedae*

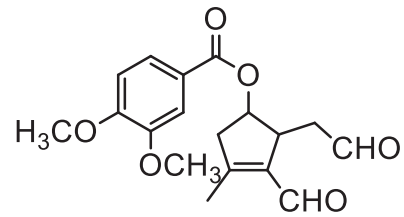


FONTE: A autora (2021).

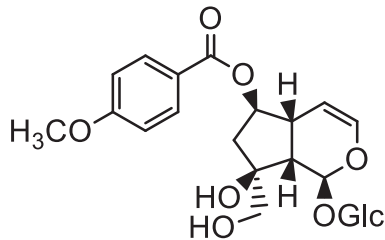
Nesse mesmo sentido, pesquisas com as cascas de *Tabebuia impetiginosa* possibilitaram o isolamento e identificação de dialdeídos de ciclopenteno, os quais apresentaram atividade antiinflamatória (KOYAMA *et al.*, 2000), e de iridóides e lignanas (FIGURA 12) (WARASHINA, NAGATANI e NORO, 2005; WARASHINA, NAGATANI e NORO, 2006). Além disso, os estudos de Fernandez e Cock (2020) demonstraram o potencial dos extratos da casca desta espécie em atuar como inibidores do crescimento de cepas bacterianas associadas a doenças gastrointestinais.

FIGURA 12 - ESTRUTURA QUÍMICA DAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS DE *Tabebuia impetiginosa*

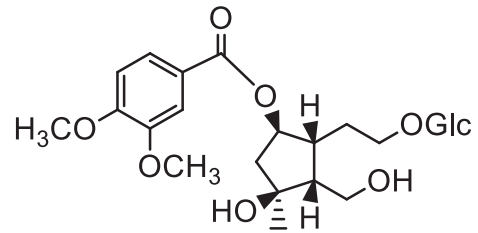
2-formil-5-(4'-metoxibenzoiloxi)-3-metil-2-ciclopentene-1-acetaldeído



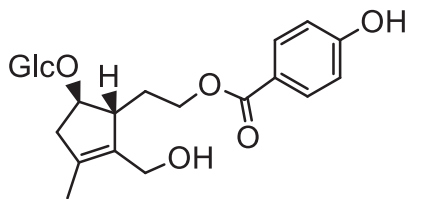
2-formil-5-(3',4'-dimetoxibenzoiloxi)-3-metil-2-ciclopentene-1-acetaldeído



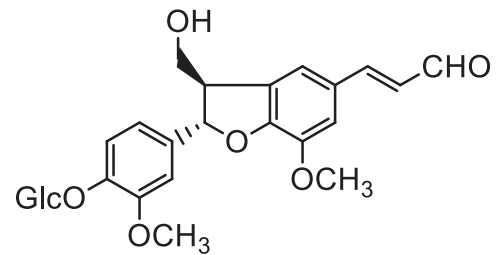
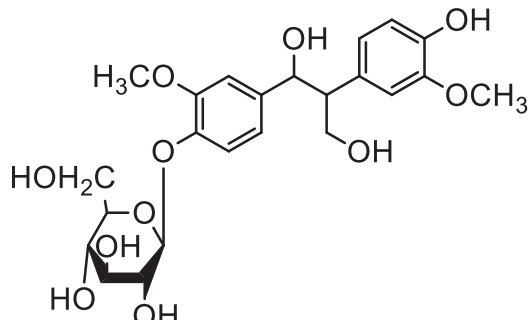
6-O-(4-metoxibenzoil)-5,7-bisdeoxicinancosídeo



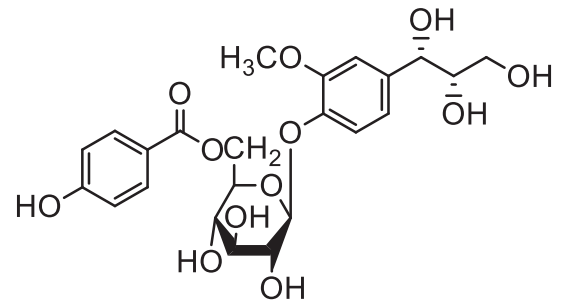
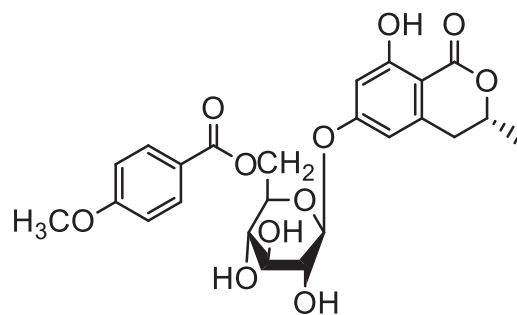
6-O-(3,4-dimetoxibenzoil)-crescentin IV 3-O-β-D-glucopiranosídeo



3-O-(4-hidroxibenzoil)-10-deoxieucommiol 6-O-β-D-glucopiranosídeo

(7*S*, 8*R*)-balanophonin 4-O-β-D-glucopyranoídeo

1,2-bis(4-hidroxil-3-metoxifenil)-1,3-propanediol 4'-O-β-D-glucopiranosídeo

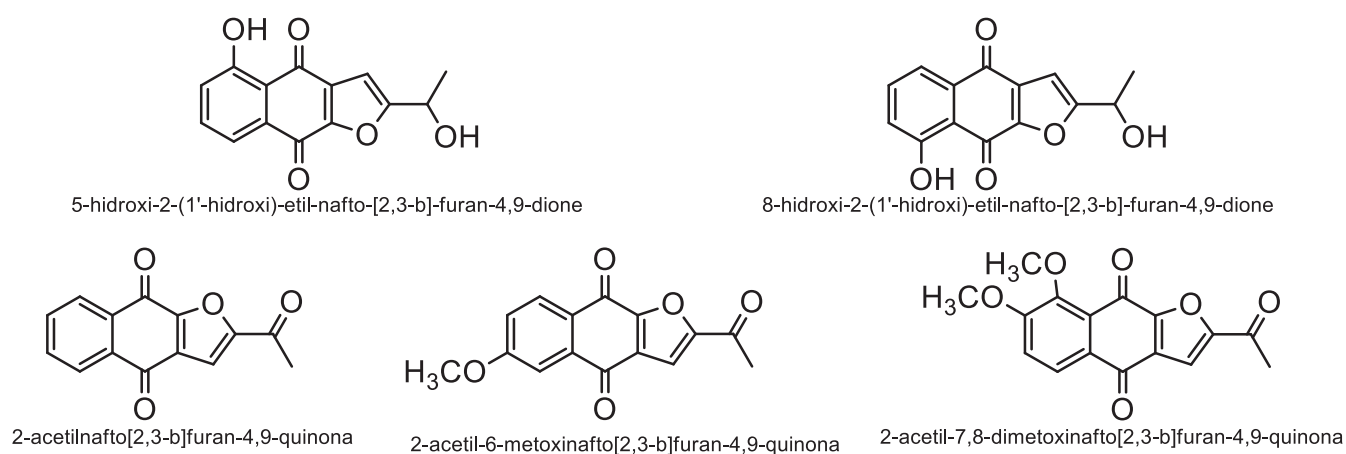
2-metoxi-4-[(1*S*,2*S*)-1,2,3-trihidroxipropil]fenil 1-O-β-D-[6-O-(4-hidroxibenzoil)]-glucopiranosídeo

(R)-6-hidroximellein 6-O-β-D-[6-O-(4-metoxibenzoil)]-glucopiranosídeo

FONTE: A autora (2021).

A partir das análises dos extratos das cascas do caule de *Tabebuia ochracea* ssp. *neochrysantha* foram isoladas e identificadas furanonaftoquinonas, as quais apresentaram atividade antimalárica (PÉREZ, DÍAZ e MEDINA, 1997). Enquanto que, estudos com o caule da espécie *Tabebuia ochracea* levou a identificação de diversos compostos (FIGURA 13) (ZANI, OLIVEIRA e OLIVIERA, 1991). Atualmente essas espécies são sinônimas de *Handroanthus ochraceus* (Cham.) Mattos.

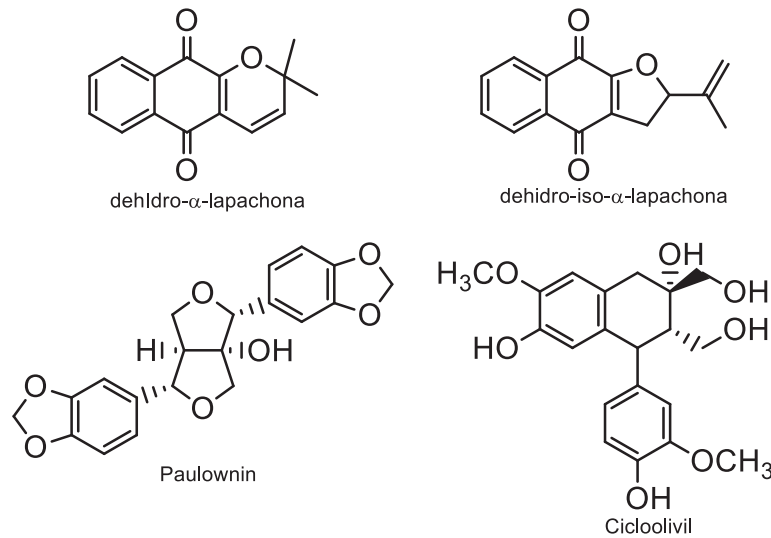
FIGURA 13 - ESTRUTURA QUÍMICA DAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS DE *Tabebuia ochracea* ssp. *neochrysantha* E *Tabebuia ochracea*



FONTE: A autora (2021).

A espécie *Handroanthus serratifolius* (Vahl) S. Grose é usada na medicina tradicional como agente antitumoral, antiparasitário e antimalárico (COSTA *et al.*, 2017). A investigação fitoquímica realizada por Mello e colaboradores (2019) com o extrato do cerne de *H. serratifolius* possibilitou o isolamento e identificação de compostos pertencentes a classe das naftoquinonas e lignanas. As naftoquinonas isoladas apresentaram atividade antiplasmódica contra *Plasmodium falciparum*, sendo o composto desidro-iso- $\alpha$ -lapachona o mais bioativo, além disso, essa molécula também exibiu atividade antifúngica significativa contra *Cryptococcus neoformans* (FIGURA 14).

FIGURA 14 - ESTRUTURA QUÍMICA DAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS DE  
*Handroanthus serratifolius*



FONTE: A autora (2021).

Mesmo nos dias atuais ainda há dificuldade na identificação e distinção de espécies do gênero *Handroanthus* (anteriormente classificadas como pertencentes ao gênero *Tabebuia*), devido a grande similaridade morfológica entre sementes e plântulas destes gêneros (FELIX, MEDEIROS e PACHECO, 2018).

### 2.2.2 O gênero *Tabebuia* Gomes ex DC.

*Tabebuia* é um gênero taxonomicamente complexo. Ao longo de sua história taxonômica, ele foi dividido e remontado várias vezes, à medida que os pesquisadores interpretavam a sua diversidade morfológica de maneiras diferentes, produzindo uma sinonímia labiríntica (TABELA 18; APÊNDICE 1). Estudos recentes, usando filogenia molecular, confirmaram que *Tabebuia* é polifilético. Assim, este foi restabelecido em três gêneros distintos: *Handroanthus*, *Roseodendron* e *Tabebuia* (GROSE e OLMSTEAD, 2007; SANTOS *et al.*, 2017).

O gênero *Tabebuia*, circunscrito com 100 espécies, é o maior gênero em Bignoniaceae, está distribuído pela América do Sul e Central, sendo caracterizado por possuir corolas brancas e menos comumente amarelas e róseas. Possui ocorrência nos domínios fitogeográficos da amazônia, caatinga, cerrado, mata atlântica e pantanal, e em todas as regiões brasileiras, com excessão dos estados de Santa Catarina e Rio Grande do Sul (FIGURA 15) (BRITO *et al.*, 2018).

FIGURA 15 - MAPA DE DISTRIBUIÇÃO DAS ESPÉCIES DE *TABEBUIA* NO BRASIL

FONTE: Lohmann (2020b).

LEGENDA: As regiões coloridas no mapa do Brasil representam a presença de espécies pertencentes ao gênero *Tabebuia*.

Os autores Santos e colaboradores (2017) realizaram um estudo com o extrato das cascas de espécies de *Tabebuia* e *Handroanthus*, de forma a auxiliar na quimiosistemática desses gêneros. Após a obtenção e processamento dos dados, concluiu-se que os compostos mais importantes para a separação quimiotaxonômica de *Tabebuia* e *Handroanthus* pertencem a quatro classes distintas de metabólitos, sendo estes: iridóides, fenilpropanóides, derivados do ácido benzóico e lignanas.

No estado do Paraná há a ocorrência de 4 espécies pertencentes a este gênero: *Tabebuia aurea*, *Tabebuia cassinoides*, *Tabebuia rosea* e *Tabebuia roseoalba*. Assim como mencionado para *Handroanthus*, observa-se uma vasta literatura para algumas destas espécies, enquanto que para outras não há relatos científicos nas áreas da Química e Fitoquímica. Abaixo há a descrição de alguns estudos realizados com as espécies contidas nesta pesquisa.

A espécie *Tabebuia aurea* (Silva Manso) Benth. & Hook. f. ex S. Moore, popularmente conhecida como “Paratudo”, constitui a espécie arbórea mais comum nos “Paratudais”, formação vegetal savanóide típica do Pantanal. O nome popular “Paratudo” vem das propriedades medicinais da espécie, cuja casca é utilizada como remédio para diversas enfermidades, incluindo o tratamento de dores de estômago, diabetes, inflamações e febres (LOHMANN, 2018).

Estudos realizados com a espécie *T. aurea* demonstraram que esta possui atividade antiinflamatória e antimiotóxica contra o veneno da serpente *Bothrops mattogrossensis* (MALANGE *et al.*, 2019), além de efeitos antinociceptivos (SILVA *et al.*, 2018).

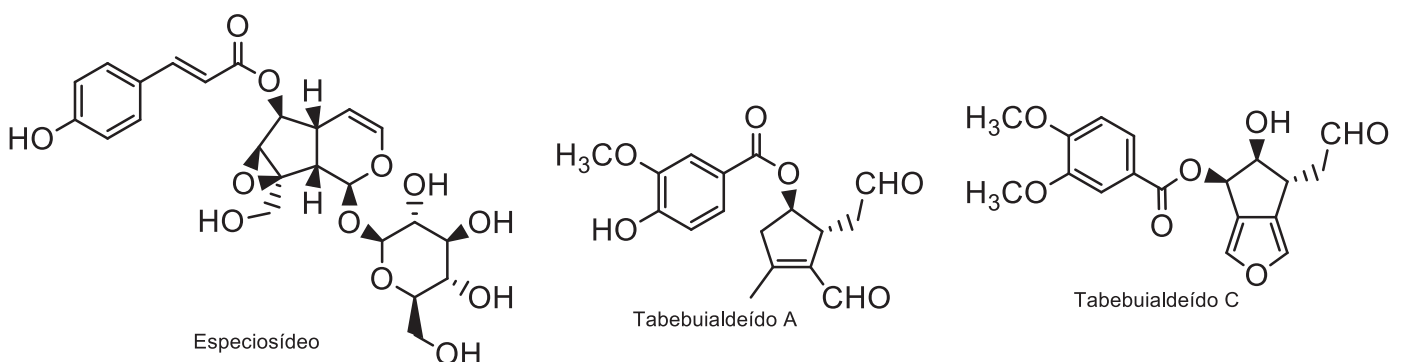
A espécie *Tabebuia cassinoides* (Lam.) DC. possui elevada importância econômica, pois, dentre os táxons brasileiros, esta fornece a melhor madeira para a produção de lápis, devido à leveza e maleabilidade da madeira, sendo utilizada principalmente para exportação (KOLB e JOLY, 2009; PRETTI *et al.*, 2014). Esta espécie ocorre em terrenos permanentemente alagados ou encharcados, formando agrupamentos densos, às vezes quase puros (SEBBENN *et al.*, 2001).

Atualmente, devido ao uso extensivo pelo homem, muitas das populações de *T. cassinoides* já desapareceram ou apresentam-se abandonadas devido à baixa produtividade. Dessa forma, a espécie está presente na Lista Vermelha da Flora Brasileira de espécies ameaçadas de extinção (PAULICHEN e VIEIRA, 2020).

As investigações fitoquímicas da espécie *Tabebuia rosea* (Bertol.) Bertero ex A. DC. demonstraram que esta possui significativas atividades antitumoral, anti-inflamatória, larvicida, antimicrobiana e antioxidante (HEMAMALINI *et al.*, 2012; JIMÉNEZ-GONZÁLEZ *et al.*, 2018; MADHUMITHA, DIVYA e FOWSIYA, 2015).

Os estudos de Garzón-Castaño e colaboradores (2020) indicaram que o extrato das cascas de *T. rosea* e o composto isolado especiosídeo apresentam atividade antioxidante promissora. Enquanto que, Sichaem e colaboradores realizaram o isolamento, a partir das raízes desta espécie, de compostos da classe de dialdeídos de ciclopenteno, monoaldeído dihidrociclopenta-[c]-furano, juntamente com outros compostos conhecidos (FIGURA 16) (SICHAEM *et al.*, 2012).

FIGURA 16 - ESTRUTURA QUÍMICA DAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS DE *Tabebuia rosea*



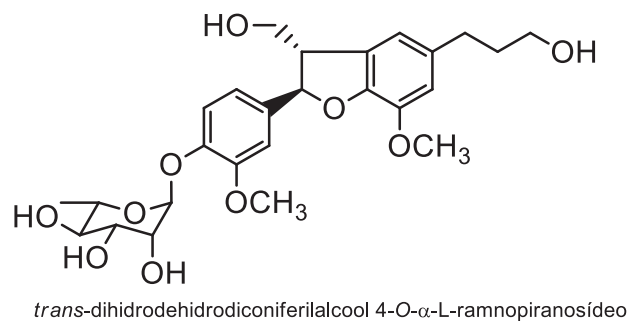
FONTE: A autora (2021).

Assim como as demais espécies pertencentes ao gênero *Tabebuia*, *Tabebuia roseoalba* (Ridl.) Sandwith, é considerada ótima para paisagismo, não somente pelo florescimento que pode ocorrer mais de uma vez por ano, mas também pela folhagem densa de cor verde azulada e a forma piramidal da sua copa (DUARTE *et al.*, 2010).

As classes de metabólitos secundários alcalóides, esteróides, xantonas, flavonoides, antraquinonas e terpenos já foram identificadas em *Tabebuia roseoalba*. Pesquisas anteriores mostraram que as folhas e a casca do caule desta espécie apresentam atividade antimicrobiana contra microrganismos associados a infecções nosocomiais (SILVA *et al.*, 2017).

As investigações realizadas por Ferreira-Júnior e colaboradores (2015) demonstraram que a lignana dihidrobenzofurano, icarisídeo E<sub>4</sub>, é um dos componentes ativos das folhas de *T. roseoalba*, sendo responsável por sua atividade antinociceptiva (FIGURA 17). Em conjunto a isso, Ferraz-Filha e colaboradores (2016) mostraram que o extrato etanólico das folhas de *T. roseoalba*, podem ser agentes promissores para o tratamento da artrite gotosa, hiperuricemia e inflamação.

FIGURA 17 - ESTRUTURA QUÍMICA DO COMPOSTO ICARISÍDEO E<sub>4</sub> ISOLADO DE *Tabebuia roseoalba*



FONTE: A autora (2021).

Embora os estudos sistemáticos das espécies de *Tabebuia* tenham avançado nos últimos anos, observa-se a necessidade do estabelecimento de novos parâmetros que auxiliem na classificação inequívoca deste gênero, visto que ainda são poucos as investigações que avaliam a composição química das espécies pertencentes ao gênero *Handroanthus*, após a reclassificação destes gêneros.

Os metabólitos primários e secundários podem auxiliar na quimio sistemática quando se trabalha com táxons intimamente relacionados, como neste caso. Com isso, a aplicação de uma abordagem mais holística, como o *fingerprint* metabólico empregando a RMN HR-MAS e a análise quimiométrica, pode resultar em conclusões úteis e confiáveis.

### 2.3 A RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR

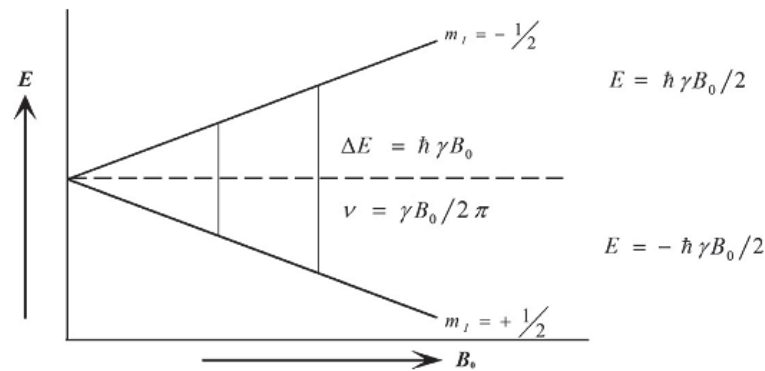
A espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) se difundiu a partir da década de 50, onde foi desenvolvido uma série de experimentos que observaram a relação entre uma estrutura química e os seus deslocamentos correspondentes. Desde então, a RMN evoluiu de espectroscopia de onda contínua (CW) para espectroscopia de transformada de Fourier (FT), de ímãs permanentes para ímãs supercondutores e de espectros de RMN unidimensionais para multidimensionais (ROLIN *et al.*, 2013).

Esta técnica tornou-se, indiscutivelmente, a mais amplamente usada na elucidação e identificação de estruturas moleculares. Além disso, apresenta uma variada gama de aplicações, que inclui: estudos conformacionais de moléculas, análise da cinética enzimática e determinação de mecanismos de reação (CORSARO *et al.*, 2016).

A RMN é uma ferramenta poderosa, confiável, rápida e não destrutiva, que possibilita a obtenção de dados altamente reprodutíveis, não requerendo, em alguns casos, a separação prévia dos compostos (ABREU e FERNANDÉZ, 2020). Permite a análise de amostras complexas, sejam elas líquidas, sólidas ou semissólidas, sem alterar as características originais das matrizes (SANTOS *et al.*, 2015).

De maneira generalizada, as amostras são colocadas em um campo magnético forte e irradiadas com ondas eletromagnéticas na região de radiofrequência. A absorção de energia permite que os núcleos sejam promovidos de estados de *spin* de baixa energia para de alta energia. Durante o processo de relaxação, em que os *spins* dissipam a energia recebida, estes induzem uma corrente elétrica no detector relativo as suas frequências de precessão, gerando os sinais registrados em um espectro de RMN, como deslocamentos químicos, representando frequências de todos os núcleos visíveis na amostra (FIGURA 18) (TUGIZIMANA, PIATER e DUBERY, 2013).

FIGURA 18 - NÍVEIS DE ENERGIA PARA UM NÚCLEO

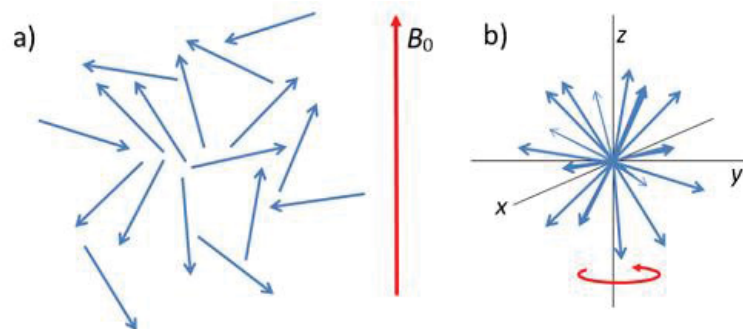


FONTE: Reynolds (2017).

LEGENDA: Níveis de energia para um núcleo  $I=1/2$  em um campo magnético  $B_0$  e as frequências de RMN para uma transição em um dado valor de  $B_0$ .

Quando uma amostra é colocada na presença de um campo magnético, os *spins* nucleares ( $I$ ) se alinham no sentido do campo magnético aplicado ( $B_0$ ) ou se alinham contra ele. Em uma descrição clássica de partículas submetidas a um campo magnético, uma magnetização resultante criada por um conjunto de *spins* é representada como um vetor ao longo do eixo  $z$ , mesmo sentido do campo magnético aplicado (FIGURA 19) (HUANG *et al.*, 2008).

FIGURA 19 - MODELO UNIFORME



FONTE: Williamson (2019).

LEGENDA: (a) Na ausência de um campo aplicado, um *spin* nuclear pode ter qualquer orientação; (b) Na presença de um campo aplicado, os *spins* inicialmente retêm suas orientações em 3 dimensões e precessam em torno do campo na frequência de Larmor.

Dessa forma, o sinal de RMN surge da interação do vetor resultante da magnetização proveniente da diferença de população com o campo magnético externo ( $B_0$ ). Elementos químicos com massa e número atômico pares têm um *spin* nuclear igual a 0, sendo que, apenas núcleos com  $I \neq 0$  produzem um sinal de RMN observável. Os núcleos com  $I > 1/2$  geram linhas de ressonância amplas em um espectro de RMN e geralmente não são úteis para a elucidação estrutural. A

intensidade do sinal observado depende tanto da força do campo magnético quanto da magnitude da razão giromagnética ( $\gamma$ ), uma propriedade física intrínseca para cada núcleo atômico (HUANG *et al.*, 2008).

Um espectro de RMN fornece dados experimentais importantes, podendo citar: os deslocamentos químicos; as constantes de acoplamento, que possibilitam atribuir conectividade de ligação e relações espaciais entre os átomos (estereoquímica relativa); a intensidade do sinal, que fornece uma medida relativa da quantidade dos núcleos específicos na amostra; e a largura do sinal, que é proporcional ao tempo de relaxação transversal T<sub>2</sub>, estando relacionado a processos dinâmicos, como troca química ou cinética de reação (HUANG *et al.*, 2008).

As análises de RMN não estão livres de problemáticas, como por exemplo, diferenças de pH e temperatura, entre as amostras, podem causar variações no deslocamento químico dos sinais detectados (DEBORDE *et al.*, 2017). A baixa sensibilidade é outra desvantagem da técnica, mas esta pode ser atenuada usando campos magnéticos mais altos e empregando temperaturas mais baixas para aquisição dos experimentos (KUMAR, 2016).

A considerável sobreposição de sinais nos espectros de RMN pode ser mencionada como outra limitação. Normalmente, os espectros de RMN de <sup>1</sup>H contêm centenas de sinais sobrepostos que podem dificultar a identificação do sinal e a integração precisa. Esta sobreposição pode ser resolvida em grande medida usando a RMN bidimensional, que tem uma resolução muito maior quando comparada a unidimensional (KIM, CHOI e VERPOORTE, 2010).

No final da década de 90, a RMN HR-MAS foi introduzida para permitir aplicações da RMN diretamente em amostras semissólidas. Esta técnica pode ser descrita como a combinação da RMN de estado sólido e a de líquido, uma vez que permite obter espectros com alta resolução, mas em materiais semissólidos intactos e não manipulados (MAZZEI e PICCOLO, 2017; MAAS, LAUKIEN e CORY, 1996).

### 2.3.1 A Ressonância Magnética Nuclear de Alta Resolução com Giro no Ângulo Mágico

A espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Alta Resolução com Giro no Ângulo Mágico (*High Resolution Magic Angle Spinning* - HR-MAS) é uma técnica rápida e não destrutiva, que não requer nenhuma extração preliminar, obtendo espectros de alta resolução de amostras intactas, com apenas uma pequena preparação da amostra (KANDASAMY *et al.*, 2020; LANN *et al.*, 2008).

A possibilidade dada pela RMN HR-MAS de adquirir espectros informativos diretamente de tecidos em seu ambiente natural representa uma vantagem para estudar a composição molecular de brotos de plantas, flores, frutos e raízes (MAZZEI e PICCOLO, 2017). Além disso, esta técnica demonstrou ser uma ferramenta confiável para diferenciar cepas de bactérias, analisar matrizes alimentares e no diagnóstico de câncer de próstata (LANN *et al.*, 2008).

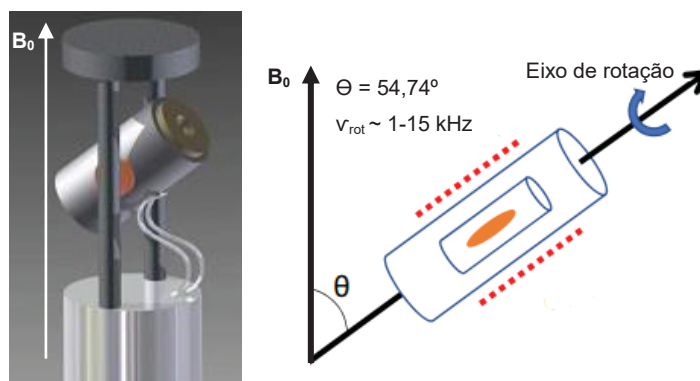
A técnica de RMN HR-MAS utiliza-se do fato de que os materiais biológicos, quando no seu estado natural, possuem moléculas de água em suas células na quantidade necessária para proporcionar mobilidade dos metabólitos (primários e secundários) e permitir a obtenção de espectros com excelente resolução. Assim, necessita-se apenas da adição de uma ou duas gotas de solvente deuterado para auxiliar na mobilidade dos compostos e para possibilitar o funcionamento do sistema *lock* dos espectrômetros (LIÃO *et al.*, 2010).

A configuração do espectrômetro necessária para obter espectros de RMN HR-MAS é semelhante àquela empregada para análise de RMN em líquidos. As adições necessárias consistem basicamente em uma sonda específica e uma unidade pneumática responsável pela inserção e ejeção da amostra, bem como pela rotação rápida desta em torno do ângulo mágico ( $54,74^\circ$ ) (SANTOS *et al.*, 2015).

As sondas de RMN HR-MAS combinam o manuseio da radiofrequência (RF) de baixa potência, um canal de monitoramento do campo magnético (*lock*) e gradientes de campo pulsado que são característicos da RMN de líquidos, com o giro no ângulo mágico encontrado em sondas de sólidos (MAS). Este último se refere a girar uma amostra num ângulo de  $54,74^\circ$  em relação ao campo magnético externo (FIGURA 20) (FAROOQ *et al.*, 2013). A principal diferença entre um estator MAS padrão e um estator HR-MAS é a bobina de gradiente do ângulo mágico, que

pode produzir um gradiente ao longo do eixo de rotação do rotor (ALAM e JENKINS, 2012).

FIGURA 20 - REPRESENTAÇÃO DE UM ESTATOR DE RMN HR-MAS NO ÂNGULO MÁGICO



FONTE: Adaptada de Gogiashvili e colaboradores (2019).

LEGENDA: Representação da “cabeça” da sonda de RMN HR-MAS, com a orientação do estator no ângulo mágico ( $\theta = 54,74^\circ$ ) entre o eixo de rotação e o campo magnético externo ( $B_0$ ). A velocidade de rotação ( $v_{rot}$ ) da amostra pode atingir até 15 kHz.

As amostras semissólidas analisadas por RMN HR-MAS são caracterizadas pela heterogeneidade e movimento molecular restrito, quando comparadas com amostras em solução. Nesta situação, os campos magnéticos gerados por diferentes *spins* interagem, resultando em um acoplamento dipolar diferente de zero. Também neste tipo de matriz, há uma variação na susceptibilidade magnética do meio, levando a uma magnetização não uniforme das moléculas. Tais características que surgem na interface entre a fase sólida e a fase líquida são responsáveis pelo alargamento dos sinais (SANTOS *et al.*, 2015).

Ambos os fenômenos apresentam a mesma dependência angular  $\Theta$ , que é o ângulo entre o campo magnético e o vetor dipolar definido pelos núcleos acoplados, dado pelo termo  $(3\cos^2\Theta-1)$ , que é zero quando  $\Theta$  é  $54,74^\circ$  (ESPINOSA, 2011).

Quando a amostra gira em torno deste eixo inclinado em relação ao campo magnético, todos os fatores de alargamento são teoricamente anulados. Nesse sentido, a técnica de RMN HR-MAS usa o giro da amostra no ângulo mágico de cerca de  $54,74^\circ$  por alguns milhares de Hertz para reduzir o acoplamento dipolar e a susceptibilidade isotrópica heterogênea das amostras, possibilitando a aquisição de espectros de alta resolução de uma quantidade muito pequena (cerca de  $50 \mu\text{l}$ ) de amostras heterogêneas (CORSARO *et al.*, 2016).

Uma taxa de rotação relativamente moderada variando entre 3 e 6 kHz é, portanto, recomendada, a fim de alcançar o melhor resultado entre a resolução e a estabilidade da amostra (MAZZEI e PICCOLO, 2017).

Diversos estudos foram desenvolvidos empregando esta técnica, podendo citar, o desenvolvimento de um método baseado na RMN HR-MAS de  $^1\text{H}$  para a discriminação de espécies de algas pertencentes ao gênero *Turbinaria*, que apresentam dificuldade na sua distinção quando se utiliza apenas caracteres morfológicos (LANN *et al.*, 2008); e a aplicação da RMN HR-MAS de  $^1\text{H}$  associada à análise quimiométrica para fornecer uma maneira rápida e segura de avaliar a quimiotaxonomia de variedades de *Harconia speciosa*, visto que esta possui elevada variação fenotípica (FLORES *et al.*, 2018).

A espectroscopia de RMN HR-MAS, em combinação com análises multivariadas, representa uma metodologia poderosa no estudo de *fingerprints* metabólicos (PÉREZ *et al.*, 2010). Contudo, assim como é realizado para análises de RMN em solução, etapas de pré-processamento espectral são necessárias, visando melhorar a qualidade dos sinais e reduzir a interferência de ruídos, tornando os dados comparáveis entre si. Além disso, possibilitar a transformação dos dados em uma matriz robusta e eliminar alterações que acontecem devido às variações na amostra e no equipamento (ABREU e FERNANDÉZ, 2020; PILON *et al.*, 2020).

## 2.4 ANÁLISE QUIMIOMÉTRICA

Há muitos anos, a análise multivariada tem sido utilizada em diversas áreas, como informática, engenharia, farmácia e química, para a redução de um conjunto de dados de interesse, permitindo que combinações de variáveis sejam consideradas e usadas para visualização, discriminação e/ou classificação de dados (CORNEJO-BÁEZ *et al.*, 2019, RUSILOWICZ *et al.*, 2014).

Em muitos experimentos químicos, para obter informações sobre os resultados, é necessária a análise de um grande número de variáveis. A análise multivariada ajuda a interpretar esses dados de forma mais objetiva, extraíndo dessa quantidade de variáveis e resultados, informações relevantes (GOMES *et al.*, 2013).

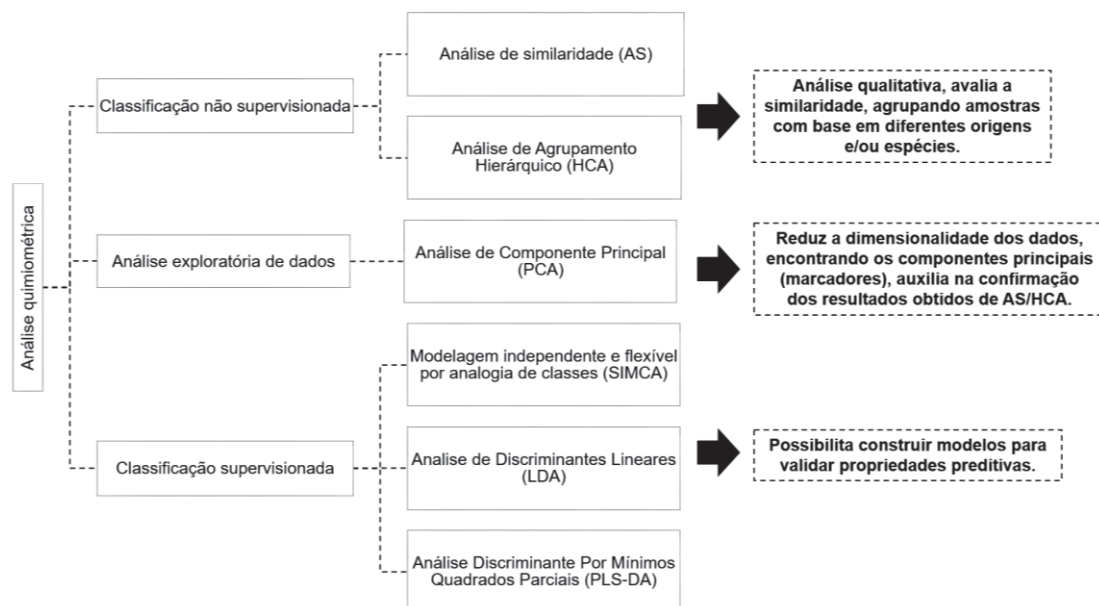
Considerando o fato de que os dados de RMN geram matrizes altamente complexas com uma grande similaridade espectral inerente, a análise visual pode ser inviável. Portanto, a quimiometria pode ser adotada para empregar ferramentas

estatísticas, matemáticas e computacionais no tratamento de dados químicos e na interpretação de dados multivariados. A análise multivariada considera várias variáveis simultaneamente para identificar padrões nos dados de RMN correspondentes aos deslocamentos químicos dos metabólitos (AUGUSTIJN, GROOT e ALIA, 2021).

As análises quimiométricas podem ser desenvolvidas por métodos não-supervisionados, que visam o entendimento global de toda a natureza dos dados, bem como a detecção de tendências, padrões ou agrupamentos; e os supervisionados, que objetivam associar características com categorias predeterminadas (PILON *et al.*, 2020; RUSILOWICZ *et al.*, 2014).

Existem diversos métodos não-supervisionados, sendo a Análise de Componentes Principais (PCA) e a Análise de Agrupamentos Hierárquicos (HCA) os mais utilizados. PCA e HCA permitem uma representação relativamente simples das semelhanças entre as amostras com base em dados analíticos (FIGURA 21) (JIANG *et al.*, 2014; PILON *et al.*, 2020).

FIGURA 21 - ANÁLISES QUIMIOMÉTRICAS AMPLAMENTE APLICADAS PARA CLASSIFICAÇÃO

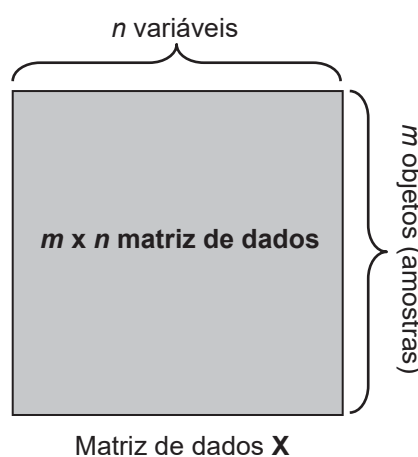


FONTE: Adaptada de Rohman e Windarsih (2020).

A análise quimiométrica de *fingerprints* metabólicos, dependendo do conjunto amostral, consiste em três partes importantes: (1) pré-processamento de dados, (2) análise não-supervisionada e (3) análise supervisionada. Para permitir a

análise multivariada dos *fingerprints* adquiridos, todos são representados em uma matriz de dados  $\mathbf{X}$  ( $m + n$ ). Cada *fingerprint* constitui uma única linha na matriz de dados  $\mathbf{X}$ ; conseqüentemente,  $m$  é igual ao número de *fingerprints* adquiridos. O número de colunas é designado por  $n$ . Cada coluna contém a intensidade do sinal para um determinado ponto de medição (mais frequentemente chamado de variável) (FIGURA 22) (CUSTERS *et al.*, 2016).

FIGURA 22 - REPRESENTAÇÃO DA ORGANIZAÇÃO DE *FINGERPRINTS* EM UMA MATRIZ DE DADOS



FONTE: Adaptada de Custers e colaboradores (2016).

O objetivo do pré-processamento espectral é ajustar o conjunto de dados de forma que estes sejam comparáveis entre si, facilitando a análise. Todos os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  adquiridos precisam ter suas linhas de base corrigidas e um sinal padrão referenciado para uma correção de alinhamento de deslocamentos químicos, para que não ocorram erros durante a construção da matriz (PONTES *et al.*, 2017).

A segunda etapa da análise dos dados quimiométricos consiste em uma análise exploratória, utilizando técnicas não-supervisionadas, empregando apenas as informações presentes na matriz de dados  $\mathbf{X}$  ou, dito de outra forma, usar os *fingerprints* metabólicos adquiridos como a única fonte de informação, visando revelar diferenças entre as amostras investigadas, além de identificar os sinais que mais contribuem para essas observações (CUSTERS *et al.*, 2016).

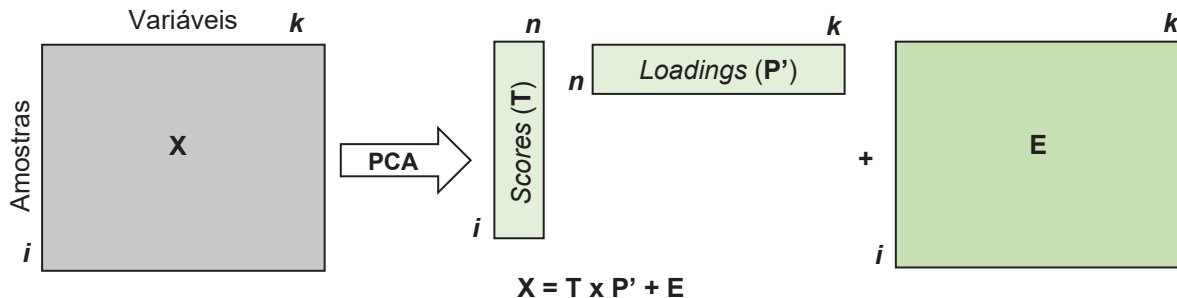
Cabe mencionar que todas as informações fornecidas por *softwares* estatísticos devem ser interpretadas com um olhar crítico, o que torna a participação

humana imprescindível no processo de otimização multivariada (CORNEJO-BÁEZ *et al.*, 2019).

#### 2.4.1 Análise de Componentes Principais

A Análise de Componentes Principais (PCA) é um algoritmo matemático que reduz a dimensionalidade do conjunto de dados enquanto retém a maior parte da variância deste. Ela realiza essa redução identificando direções, chamadas de Componentes Principais (PC; PC1, PC2, ..., PCn), ao longo das quais a variância dos dados é máxima. Usando algumas componentes, a informação relevante dos dados é representada por um número menor de variáveis. As amostras podem então ser plotadas, tornando possível avaliar visualmente suas semelhanças e diferenças, além de determinar se as amostras podem ser agrupadas (FIGURA 23) (RINGNÉR, 2008).

FIGURA 23 - ILUSTRAÇÃO ESQUEMÁTICA DE UM MODELO DE PCA



FONTE: Adaptada de Ebrahimi e colaboradores (2017).

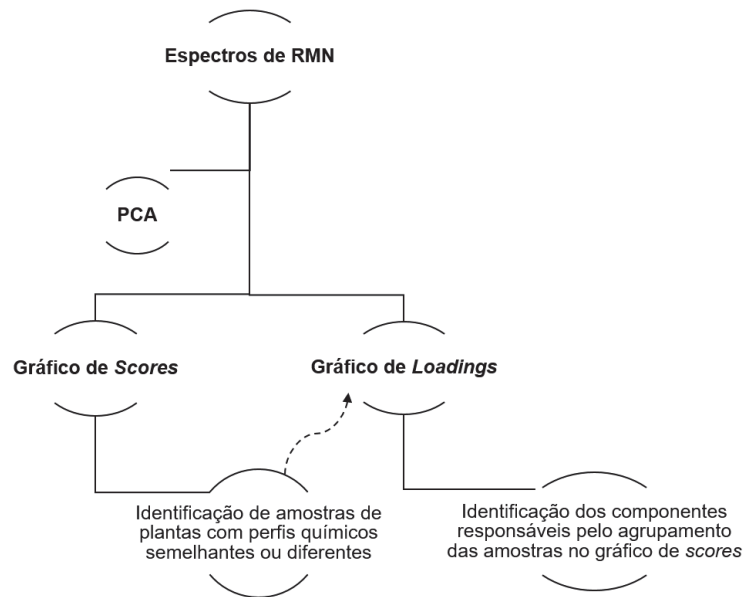
LEGENDA: **T** - scores; **P** - loadings; **E** - matriz residual; **i** - número de amostras; **k** - variáveis; **n** - número de PCs.

Todas as PCs são construídas de forma que sejam ortogonais (decorrelacionados) e ordenadas pela quantidade de variância que explicam (BARTEL, KRUMSIEK e THEIS, 2013). Assim, a primeira componente (PC1) terá a maior variância e cada componente sucessiva (Pci), por sua vez, apresentará a maior variância possível, sob a restrição de ser ortogonal as componentes anteriores (PC1, ..., PCi-1) (JO *et al.*, 2020).

Dessa forma, as PCs podem ser definidas como uma combinação linear das variáveis originais dos dados. Esses coeficientes são armazenados em uma “matriz de loadings” (ou matriz de contribuição discriminatória), que pode ser interpretada

como uma matriz de rotação que gira os dados de modo que a projeção com a maior variância vá ao longo do primeiro eixo; e em uma “matriz de scores”, que contém as posições das observações em um novo sistema de coordenadas (FIGURA 24) (BARTEL, KRUMSIEK e THEIS, 2013; LEVER, KRZYWINSKI e ALTMAN, 2017).

FIGURA 24 - REPRESENTAÇÃO BÁSICA PARA ANÁLISE DE PCA EMPREGANDO A RMN



FONTE: Adaptada de Vinther, Wubshet e Staerk (2015).

Como pode ocorrer variações nos deslocamentos químicos dos sinais contidos no espectro de RMN de  $^1\text{H}$ , devido a dependência destes com a temperatura, pH, força iônica, entre outros fatores, que influenciam seu ambiente eletrônico, os conjuntos de dados do *fingerprint* metabólico adquiridos sofrem de imprecisões nas variáveis  $X$ . Portanto, os modelos gerados usando PCA em espectros de RMN de  $^1\text{H}$  podem falhar em identificar separações entre classes, além da dificuldade na interpretação dos gráficos de *loadings*, em virtude da abundância excessiva de variáveis (WORLEY e POWERS, 2013).

Essas complicações podem ser solucionadas dividindo uniformemente cada espectro em "caixas" com larguras espectrais típicas de 0,04 ppm. O procedimento de *bucketing* mascara diferenças sutis de deslocamento químico e filtra o ruído no espectro (WORLEY e POWERS, 2013).

Os resultados da PCA dependem criticamente do pré-processamento dos dados e da seleção de variáveis. Assim, o tratamento prévio dos dados espectrais brutos é crítico para gerar modelos confiáveis e interpretáveis (RINGNÉR, 2008).

Diversos estudos já foram realizados aplicando a RMN aliada a análise quimiométrica, podendo citar, o trabalho de Kim e colaboradores (2005) que desenvolveram um método para a autenticação de espécies pertencentes ao gênero *Ephedra*; e o estudo realizado por Dutra e colaboradores (2020) que permitiu o desenvolvimento de uma metodologia para discriminar e classificar amostras de referência e comerciais de espécies pertencentes ao gênero *Baccharis*.

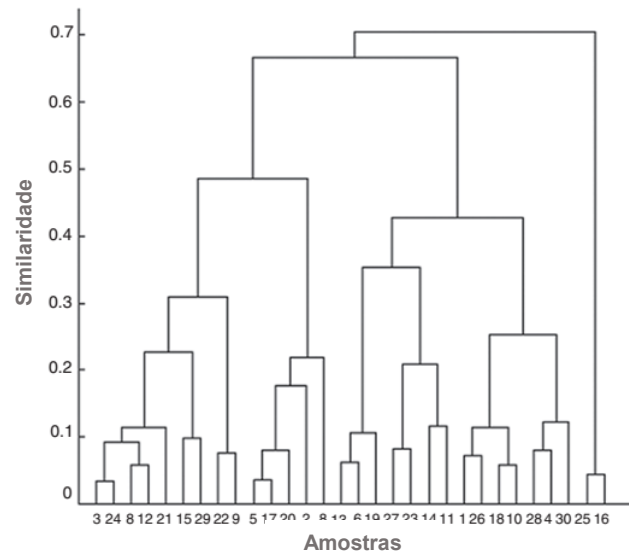
Dessa forma, a PCA é uma ferramenta para identificar os principais eixos de variância dentro de um conjunto de dados, bem como permite a fácil exploração de dados para entender as variáveis com maior relevância e identificar *outliers*. Aplicada corretamente, é um dos métodos mais poderosos de análise de dados (LEVER, KRZYWINSKI e ALTMAN, 2017).

#### 2.4.2 Análise de Agrupamentos Hierárquicos

A Análise de Agrupamentos Hierárquicos (HCA) refere-se a um conjunto de procedimentos analíticos que reduzem dados multivariados complexos em subconjuntos ou grupos menores, ou seja, é um processo para agrupar todos os dados em grupos diferentes, sendo que, os dados em um grupo podem ser considerados semelhantes de acordo com um conjunto de variáveis verificadas (JIANG *et al.*, 2014).

O processo de agrupamento envolve basicamente duas etapas: i) a primeira está relacionada com a estimativa de uma medida de similaridade; ii) a segunda com a adoção de uma técnica de agrupamento para a formação do grupo. Esses resultados, quando visualizados por meio de diagramas, conhecidos como dendrogramas, indicam similaridade entre as amostras, de forma que uma menor distância entre os pontos indica maior similaridade entre eles (FIGURA 25) (FERNANDES *et al.*, 2019).

FIGURA 25 - REPRESENTAÇÃO DE UM DENDOGRAMA ADQUIRIDO PELA HCA



FONTE: Adaptada de Custers e colaboradores (2016).

Ao contrário do PCA, o HCA dá o mesmo peso para todas as variáveis e mostra a semelhança ou dissimilaridade entre cada par de amostras. O objetivo do algoritmo de agrupamento é particionar os objetos em grupos homogêneos, de forma que as semelhanças dentro do grupo sejam elevadas em comparação com as semelhanças entre os grupos (AGATONOVIC-KUSTRIN *et al.*, 2020).

Para  $n$  observações, a HCA começa com  $n$  agrupamentos, cada um consistindo em uma única observação. Os agrupamentos são mesclados sequencialmente de acordo com uma métrica de distância até que um único agrupamento de todas as observações seja obtido. O dendrograma obtido a partir das distâncias em que ocorrem as fusões permite visualizar a relação de forma hierárquica entre as observações (RUSILOWICZ *et al.*, 2014).

Nessa análise, é necessário o *input* das funções, sendo esses a da métrica, que determina a distância utilizada para o cálculo da similaridade, por exemplo, Euclidiana, Minkowski e Mahalanobis, e a de conexão entre as amostras, podendo ser descrita pela mediana ou método de Ward (PILON *et al.*, 2020).

Na prática, pode-se obter dendrogramas completamente distintos devido a forma como a similaridade é calculada e, como consequência, a forma como as amostras são agrupadas. Uma analogia interessante seria uma análise de um grupo populacional: enquanto uma função agrupa as pessoas baseado no sexo, outras funções podem agrupá-los baseado na cor do cabelo, tamanho ou peso, formando

grupos distintos no dendrograma de acordo com os *inputs* da função (PILON *et al.*, 2020).

A HCA tem sido extensamente empregada na química de produtos naturais para auxiliar na quimiotaxonomia, permitindo a classificação genética de plantas e microrganismos, baseada no perfil químico de cada espécie, demonstrando assim a sua potencialidade em estudos nessa vertente (PILON *et al.*, 2020).

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 OBTENÇÃO DO MATERIAL BOTÂNICO

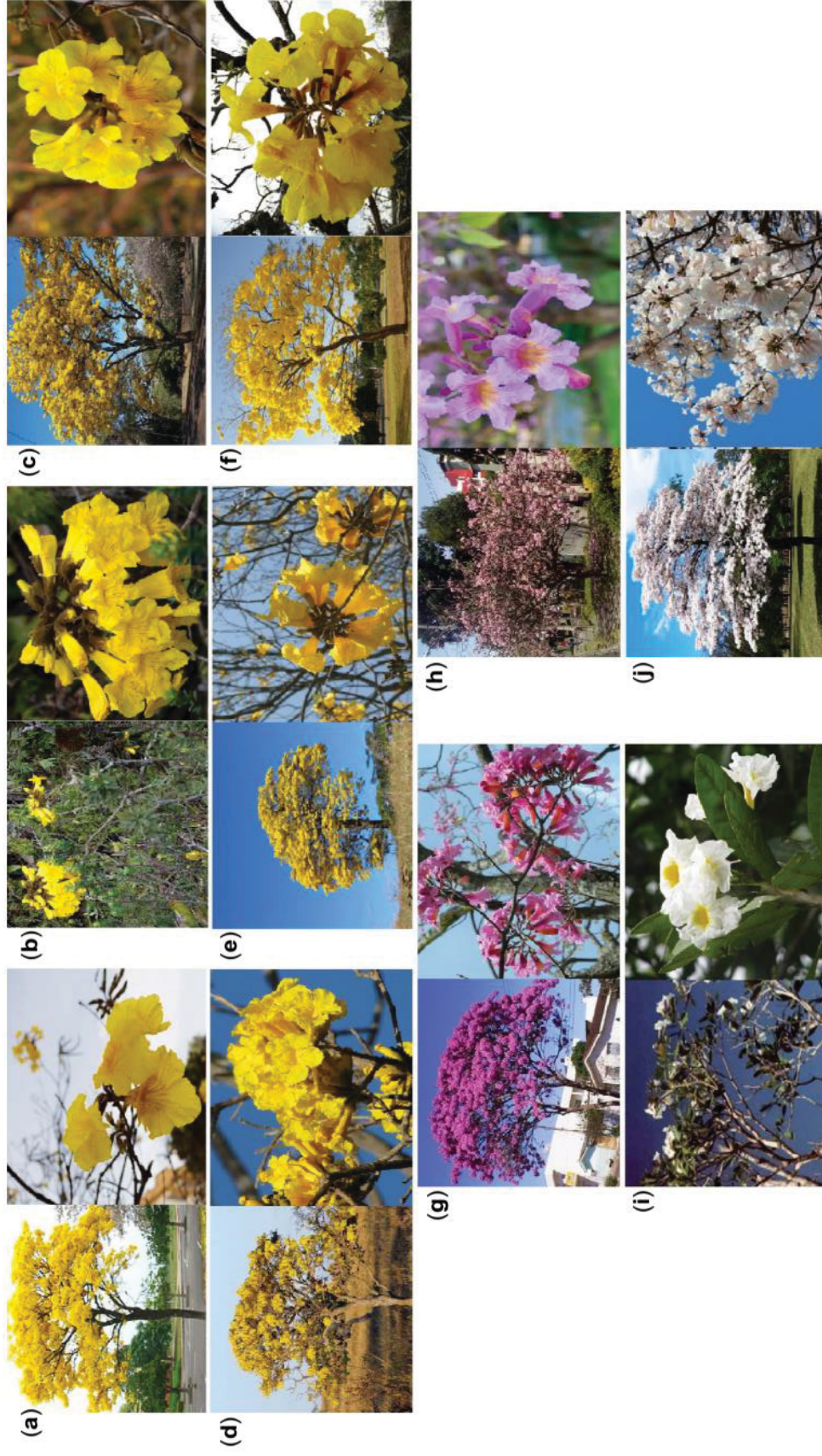
O material botânico das espécies *H. albus* (a), *H. catarinensis* (b), *H. chrysotrichus* (c), *H. ochraceus* (d), *H. pulcherrimus* (e), *H. serratifolius* (f), *H. heptaphyllus* (g), *H. impetiginosus* (h), *T. cassinoides* (i) e *T. roseoalba* (j), foi coletado em diferentes locais das cidades de Antonina, Arapoti, Curitiba, Morretes, Piraquara e Sengés, entre 2017 a 2019. As plantas tiveram sua identificação botânica realizada pela especialista da família Bignoniaceae, Dra. Miriam Kaehler, baseando-se em bibliografia específica (SANDWITH *et al.*, 1974; GENTRY, 1992) e nomes atualizados (FIGURA 26; TABELA 1) (GROSE e OLMSTEAD, 2007). Os *vouchers* estão depositados no herbário do Departamento de Botânica da Universidade Federal do Paraná (UPCB).

TABELA 1 - DADOS GERAIS DAS ESPÉCIES DE IPÊS COLETADAS PARA ESTUDO

Espécies	Nome popular	Número de amostras	Data e local da coleta	Características das flores
<i>H. albus</i>	Ipê-amarelo	15	Ago-Set/17 Curitiba/PR	Corola amarela com o interior do tubo contendo riscos marrom
<i>H. catarinensis</i>	Pau santo	11	Set/17 e Set/19 Piraquara/PR	Corola amarela com o interior do tubo contendo riscos marrom
<i>H. chrysotrichus</i>	Ipê-tabaco	20	Ago-Set/17 e Ago/19 Curitiba/PR	Corola amarela com o interior do tubo contendo riscos marrom
<i>H. ochraceus</i>	Ipê-cascudo	3	Set/18 Arapoti/PR e Sengés/PR	Corola amarela com o interior do tubo contendo riscos marrom
<i>H. pulcherrimus</i>	Ipê da praia	1	Set/17 Curitiba/PR	Corola amarela com o interior do tubo contendo riscos marrom
<i>H. serratifolius</i>	Pau d'arco	13	Set-Out/17 Antonina/PR, Curitiba/PR e Morretes/PR	Corola amarela com o interior do tubo contendo riscos marrom
<i>H. heptaphyllus</i>	Ipê-roxo	30	Out/17, Fev/19 e Jun/19 Curitiba/PR	Corola rósea com o interior do tubo amarelo
<i>H. impetiginosus</i>	Ipê-rosa	2	Out/17 e Jan/19 Curitiba/PR	Corola rósea com o interior do tubo amarelo
<i>T. cassinoides</i>	Caixeta	14	Out/17 e Jan/19 Antonina/PR	Corola branca com interior do tubo amarelo
<i>T. roseoalba</i>	Ipê-branco	23	Out/17 e Set/19 Curitiba/PR	Corola branca com interior do tubo amarelo

FONTE: A autora (2021).

FIGURA 26 - ESPÉCIES DE IPÊS COLETADAS E IDENTIFICADAS PARA O DESENVOLVIMENTO DO TRABALHO



FONTE: A autora (2021).

LEGENDA: *H. albus* (a), *H. catarinensis* (b), *H. chrysotrichus* (c), *H. ochraceus* (d), *H. pulcherrimus* (e), *H. serratifolius* (f), *H. heptaphyllus* (g), *H. impetiginosus* (h), *T. cassinoides* (i) e *T. roseoalba* (j).

### 3.2 PREPARO DAS AMOSTRAS

Para as análises foram escolhidas flores, folhas e cascas do caule de forma aleatória e sem que houvesse impacto sobre os indivíduos. As corolas das flores foram armazenadas em nitrogênio líquido (devido à rápida oxidação das amostras), juntamente com as demais partes das amostras coletadas.

### 3.3 AQUISIÇÃO DOS ESPECTROS DE RMN HR-MAS DE $^1\text{H}$

As amostras foram pulverizadas com o auxílio de nitrogênio líquido e para cada análise cerca de  $10 \pm 1,0$  mg destas foram utilizadas para preencher o rotor de 50  $\mu\text{L}$  (porta-amostra da sonda de RMN HR-MAS). A homogeneização da amostra foi realizada empregando 50  $\mu\text{L}$  de  $\text{D}_2\text{O}$ , contendo trimetilsililpropionato de sódio (TMSP-*d*<sub>4</sub>) como referência interna (FIGURA 27).

As análises de RMN HR-MAS de  $^1\text{H}$  foram realizadas em um espectrômetro Bruker AVANCE 400, operando a 9,4 Tesla, observando o núcleo de hidrogênio a 400,13 MHz, equipado com uma sonda de alta resolução com giro no ângulo mágico de quatro canais ( $^1\text{H}/^2\text{H}/^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ ), de 4 mm, e gradiente de campo na direção do ângulo mágico.

Os espectros de RMN HR-MAS de  $^1\text{H}$  foram adquiridos a 297 K, com as amostras girando no ângulo mágico ( $54,74^\circ$ ) a uma velocidade de 5 kHz, pelo acúmulo de 256 transientes, tempo de aquisição igual a 4,1 s, tempo de análise de 21 min 51 s, com 64k pontos distribuídos em uma janela espectral de 20,00 ppm, resultando em uma resolução digital de 0,12 Hz e 1,0 s de intervalo entre ciclos, com auxílio da sequência de pulsos Bruker *zgpr* [RD(CW)-90°-FID].

A sequência de pulsos Bruker *zgpr* é considerada simples, cujo sinal a ser suprimido é irradiado seletivamente durante o tempo de espera. Dessa maneira, assim como já demonstrado por experimentos realizados por demais membros do grupo de pesquisa, empregando diferentes sequências de pulso, esta em específico foi a que apresentou resultados significativos, permitindo a saturação do sinal da água efetivamente sem interferir nos sinais próximos do sinal residual da água.

A sintonia (*matching* e *tunning*) para o núcleo de  $^1\text{H}$  e o ajuste da homogeneidade do campo magnético espacialmente (*shimming*) foram otimizados

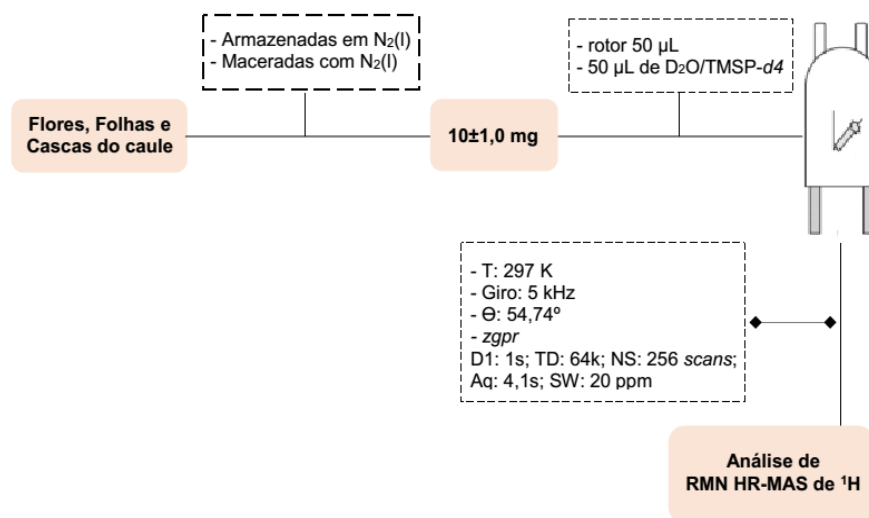
para cada amostra. O *shimming* foi monitorado a partir da medida da largura da meia altura do sinal do TMS-*d4* (< 1 Hz).

Os espectros foram processados pela aplicação de uma multiplicação exponencial Lorentziana por um fator de 1,0 Hz sobre os FIDs, seguido da Transformada de Fourier, com preenchimentos por zeros para 128k pontos. Os deslocamentos químicos foram referenciados em relação ao sinal do TMS-*d4* em 0,00 ppm.

O tempo experimental total foi de aproximadamente 35 min para cada amostra incluindo o preparo de amostra, empacotamento do rotor e aquisição do experimento.

Para cada espécie, com excessão de *H. pulcherrimus* e *H. impetiginosus*, ao menos três amostras foram analisadas, gerando um conjunto amostral composto de 126 espectros de RMN HR-MAS de  $^1\text{H}$ .

FIGURA 27 - METODOLOGIA UTILIZADA PARA AQUISIÇÃO DOS EXPERIMENTOS DE RMN HR-MAS DE  $^1\text{H}$



FONTE: A autora (2021).

### 3.4 AQUISIÇÃO DOS ESPECTROS DE RMN EM SOLUÇÃO

Para auxiliar na identificação dos metabólitos presentes nas amostras estudadas, experimentos bidimensionais foram realizados por meio de RMN em solução. Para isto, o material coletado das espécies *H. albus*, *H. catarinensis*, *H. chrysotrichus*, *H. heptaphyllus*, *H. impetiginosus*, *T. cassinoides* e *T. rosealba* foram

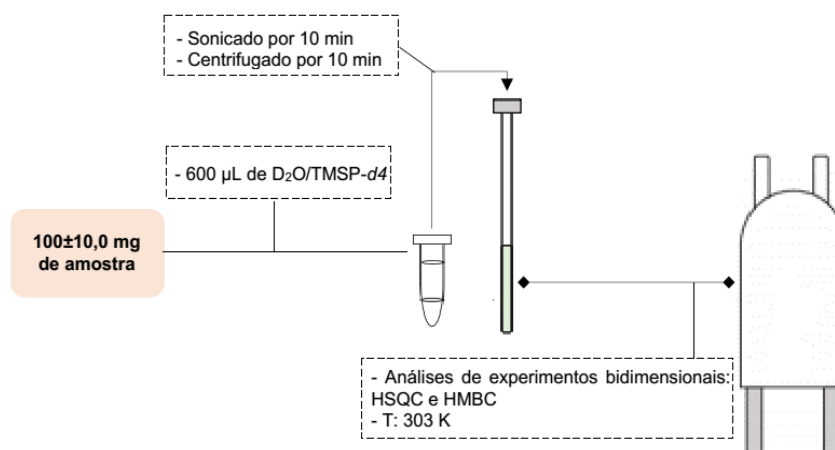
pulverizados com auxílio de nitrogênio líquido e cerca de 100 mg foram submetidos a microextração diretamente em 600  $\mu\text{L}$  de  $\text{D}_2\text{O}$  (TMSP-*d*4), sonificado por 10 min, seguido de centrifugação por 10 min. O sobrenadante foi transferido para tubos de RMN de 5 mm para posterior análise. A temperatura para a aquisição dos experimentos foi de 303 K (FIGURA 28).

Os experimentos uni e bidimensionais foram adquiridos em espectrômetro Bruker AVANCE III 600 operando a 14,1 Tesla, observando o núcleo de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  a 600,13 e 150,61 MHz, respectivamente. As análises foram realizadas utilizando uma sonda QXI quadrinuclear de detecção inversa ( $^1\text{H}/^{13}\text{C}/^{15}\text{N}/^{31}\text{P}$ ) e uma criosonda de nitrogênio TCI ( $^1\text{H}/^{19}\text{F}/^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ ), ambas de 5 mm, e gradiente de campo no eixo z. Os deslocamentos químicos foram referenciados em relação ao sinal do TMSP-*d*4 em 0,00 ppm.

Os experimentos de correlação direta  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  (HSQC) foram realizados no modo sensível à fase, empregando seleção de gradiente Echo/Antiecho-TPPI, com as sequências de pulsos *hsqcedetgpsisp2.2* e *hsqcedetgpsisp2.3*, desacoplados durante a aquisição, com tempo de espera de 1,0 s entre os pulsos. Na dimensão F2 foram utilizados 1k pontos, com 8, 32, 40, 48 ou 64 aquisições para cada um dos 180 ou 200 incrementos em F1 para gerar a segunda dimensão, completando com zeros (*zero filling*) para 1k antes da Transformada de Fourier.

Por sua vez, os experimentos de correlação heteronuclear a longa distância  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  (HMBC), foram realizados no modo sensível à fase, empregando seleção de gradiente *Digital Quadrature Detection* (DQD) com sequência de pulsos *hmbcgplpndqf*, sem o desacoplamento durante a aquisição, com 2k pontos na dimensão F2, com 24, 64, 80, 96, 100 ou 128 aquisições para cada um dos 180 ou 200 incrementos em F1 para gerar a segunda dimensão, completando com zeros (*zero filling*) para 1k anteriormente a Transformada de Fourier. Foi utilizado filtro de  $^1J_{\text{H,C}}$  para eliminar acoplamentos à uma ligação, sendo otimizado para a observação da constante de acoplamento à longa distância de 8 Hz.

FIGURA 28 - METODOLOGIA UTILIZADA PARA AQUISIÇÃO DOS EXPERIMENTOS DE RMN EM SOLUÇÃO



FONTE: A autora (2021).

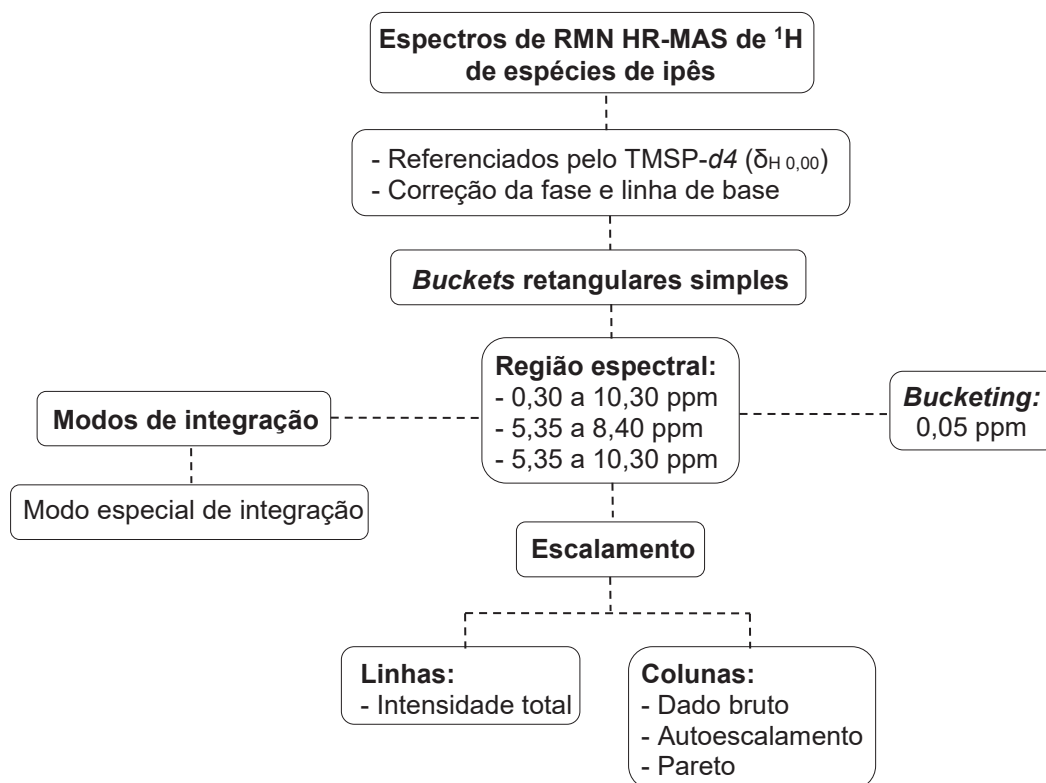
### 3.5 ANÁLISES QUIMIOMÉTRICAS

Para Análise de Componentes Principais (PCA) e Análise de Agrupamento Hierárquico (HCA) do conjunto amostral, constituído pelos espectros de RMN HR-MAS de <sup>1</sup>H, foi realizada a otimização da análise multivariada dos dados com o auxílio do *software* AMIX<sup>®</sup> (versão 3.9.12, Bruker BioSpin).

Inicialmente, os espectros foram processados no programa TopSpin (versão 3.1, Bruker BioSpin) aplicando uma multiplicação exponencial do tipo Lorentziana sobre os FIDs por um fator de 1,0 Hz, seguido da transformada de Fourier utilizando preenchimentos com zeros (*zero filling*) para 64k pontos. Em seguida, os deslocamentos químicos foram referenciados em relação ao sinal do TMSP-*d*<sub>4</sub> em  $\delta_H$  0,00. A fase e linha de base dos espectros foram corrigidas manualmente garantindo que as variáveis utilizadas estivessem em função apenas da composição química das amostras.

Posteriormente, os espectros foram convertidos em *buckets* com auxílio do *software* AMIX<sup>®</sup>. Para isto, os espectros foram divididos em pequenos intervalos de 0,05 ppm. A área do intervalo foi calculada empregando o modo especial de integração do *software* AMIX<sup>®</sup> e normalizados em relação a área total dos sinais (FIGURA 29).

FIGURA 29 - MÉTODOS TESTADOS PARA A OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES UTILIZADAS NA ANÁLISE ATRAVÉS DO SOFTWARE AMIX®



FONTE: A autora (2021).

### 3.5.1 Análise de Componentes Principais dos espectros de RMN HR-MAS de $^1\text{H}$

As análises quimiométricas foram realizadas avaliando toda a região espectral (0,30-10,30 ppm), a região espectral de compostos olefínicos e aromáticos, e de substâncias contendo o grupamento aldeído (5,35-10,30 ppm), bem como, somente a região de compostos olefínicos e aromáticos (5,35-8,40 ppm). A região correspondente ao sinal residual de água ( $\delta_{\text{H}}$  4,70-4,80), foi excluída antes de gerar os *buckets*.

Após a construção das matrizes de dados, os mesmos foram submetidos a análises de PCA avaliando-se três diferentes pré-processamentos, o dado bruto, autoescalamento e escalamento por Pareto. A qualidade do conjunto amostral foi averiguada a partir da detecção de amostras anômalas através dos gráficos de *hotelling  $T_2$*  e *influence plot*.

O agrupamento e a discriminação das amostras foram observados através dos gráficos de *scores*, e a identificação dos metabólitos responsáveis pela separação entre os grupos foi realizada através dos gráficos de *loadings* que

evidenciam a relação entre as variáveis pela importância relativa de cada *bucket*, isto é, de cada deslocamento químico. Os metabólitos responsáveis pela variância dos dados foram atribuídos com base em experimentos uni e bidimensionais de RMN em solução e comparação com dados da literatura.

### 3.5.2 Análise de Agrupamento Hierárquico dos espectros de RMN HR-MAS de $^1\text{H}$

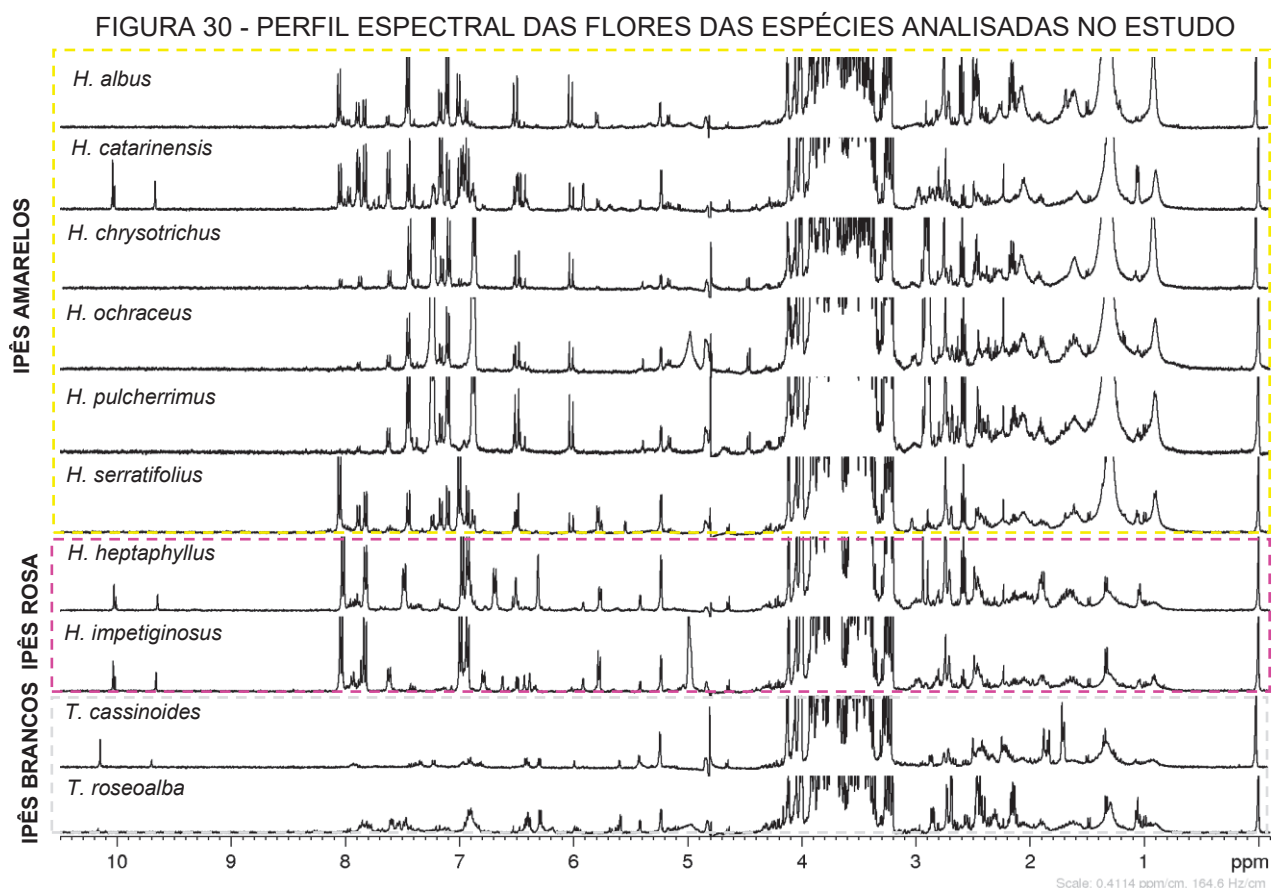
A Análise de Agrupamento Hierárquico (HCA) calcula as distâncias ou correlações entre as amostras analisadas, usando uma métrica definida, onde os dados obtidos são apresentados em um gráfico bidimensional (dendograma). Nas análises de RMN HR-MAS de  $^1\text{H}$  das espécies de *Handroanthus* e *Tabebuia* empregou-se a distância Euclidiana e agrupamento por método de Ward, com todas as rotinas para cálculo sendo desenvolvidas *in-house*. Os dados foram analisados utilizando o *software* MATLAB (MathWorks, Inc., MA, USA, versão 2019).

## 4 APRESENTAÇÃO DOS RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 ANÁLISE VISUAL DO PERFIL ESPECTRAL DAS FLORES POR RMN HR-MAS DE $^1\text{H}$

Dentre as diversas partes empregadas em estudos na área de produtos naturais, a flor é um fenótipo importante e é provável que sua cor esteja correlacionada com a síntese metabólica em toda a planta. A química da cor das flores está associada à presença de uma ampla gama de metabólitos de três principais grupos: flavonoides, carotenoides e betalaínas (PAN *et al.*, 2014).

Os perfis espectrais, obtidos através da RMN HR-MAS de  $^1\text{H}$  das flores das espécies *Handroanthus albus*, *Handroanthus catarinensis*, *Handroanthus chrysotrichus*, *Handroanthus ochraceus*, *Handroanthus pulcherrimus*, *Handroanthus serratifolius*, *Handroanthus heptaphyllus*, *Handroanthus impetiginosus*, *Tabebuia cassinoides* e *Tabebuia roseoalba*, foram comparados com o intuito de observar as diferenças e/ou semelhanças entre estas (FIGURA 30).

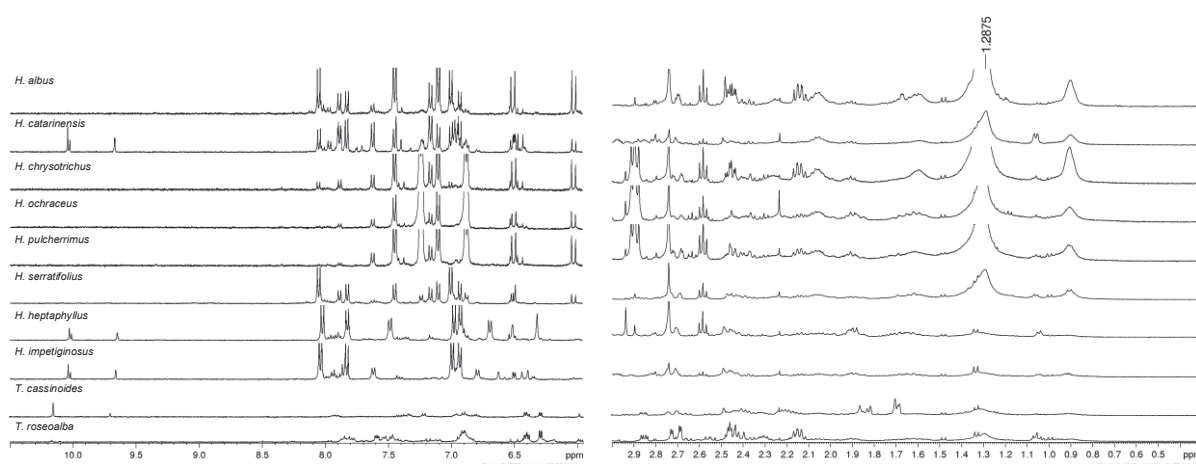


FONTE: A autora (2021).

Em relação aos metabólitos primários, de maneira geral, estes se assemelham entre as diferentes espécies de ipês, ressaltando-se os sinais em  $\delta_H$  0,90 (s/;  $\text{CH}_3$ ) e 1,29 [s/;  $(\text{CH}_2)_n$ ] característicos de substâncias de cadeia alifática longa, presentes apenas nas espécies *H. albus*, *H. catarinensis*, *H. chrysotrichus*, *H. ochraceus*, *H. pulcherrimus* e *H. serratifolius*, as quais possuem flores com corolas de coloração amarelo. Esses sinais, juntamente com os observados em  $\delta_H$  2,06 (m) e 2,25 (m), referentes aos hidrogênios metilênicos próximos aos grupamentos olefina e carbonila, respectivamente, são característicos de ácidos graxos livres. Além disso, verificou-se a ausência de sinais na região de 4,00-4,50 ppm, os quais são indicativos da presença da unidade glicerol que compõe as moléculas de ácidos graxos esterificados.

Considerando a região entre  $\delta_H$  6,00-10,50 do espectro de RMN HR-MAS de  $^1\text{H}$ , referente a sinais característicos de compostos olefínicos e aromáticos, a análise comparativa visual do perfil das espécies pertencentes ao gênero *Tabebuia* (ipês brancos) permitiu verificar que tanto *T. cassinoides* quanto *T. roseoalba* apresentaram poucos sinais, sendo estes de baixa intensidade. Enquanto, por outro lado, as espécies do gênero *Handroanthus* (ipês amarelos e rosa), apresentaram diversos sinais, e de alta intensidade, nessa mesma região (FIGURA 31).

FIGURA 31 - ESPECTROS DE RMN HR-MAS DE  $^1\text{H}$  DAS REGIÕES ENTRE  $\delta_H$  0,30-3,00 E  $\delta_H$  6,00-10,50 DAS FLORES DAS ESPÉCIES ANALISADAS NO ESTUDO

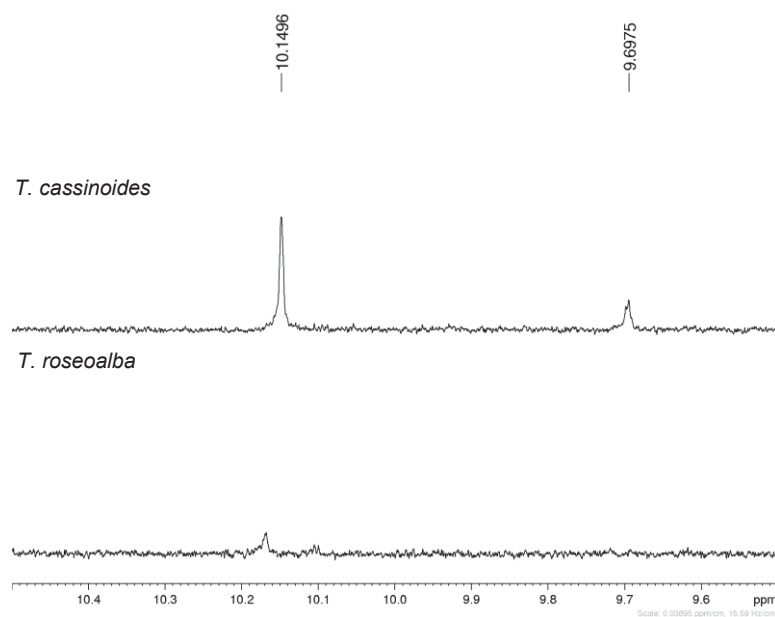


FONTE: A autora (2021).

No caso das duas espécies de ipês brancos, pertencentes ao gênero *Tabebuia* (*T. cassinoides* e *T. roseoalba*), pode-se perceber que estas se distinguem pela presença de sinais na região entre  $\delta_H$  9,00-10,00, a qual apresenta sinais

característicos de aldeídos. A espécie *T. cassinoides* apresentou dois sinais nessa região, mais especificamente, um sinal de maior intensidade em ~10,15 ppm e um de menor intensidade em ~9,70 ppm (FIGURA 32).

FIGURA 32 - ESPECTROS DE RMN HR-MAS DE  $^1\text{H}$  ( $\delta_{\text{H}}$  9,50-10,50) DAS FLORES DAS ESPÉCIES DE *TABEBUIA* (IPÊS BRANCOS)



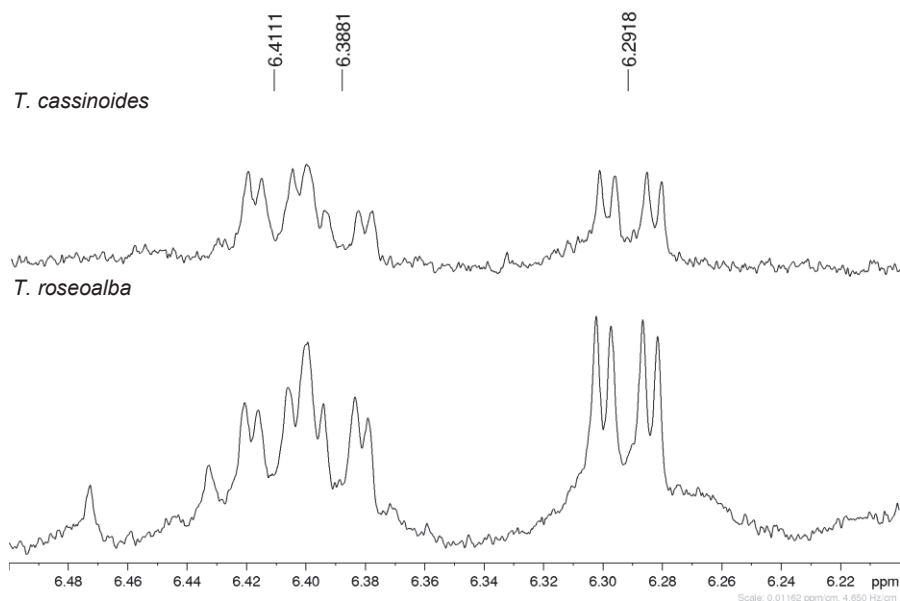
FONTE: A autora (2021).

A exploração do mapa de correlação direta  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  (HSQC) confirmou que esses sinais são referentes a grupamentos aldeídicos, pois apresentaram correlação direta com carbonos com deslocamento químico de ~195,0 ppm.

Cabe mencionar, que o sinal em  $\delta_{\text{H}}$  10,15 pode ser um possível marcador químico do gênero *Tabebuia*. Contudo, essa observação deve ser avaliada com cuidado, uma vez que sinais nessa região também foram observados para as espécies pertencentes ao gênero *Handroanthus* (*H. catarinensis* e *H. heptaphyllus*), sendo que, para estas últimas, o sinal mencionado apresentou deslocamento químico sutilmente diferente, de ~10,04 ppm.

Em conjunto a isso, verificou-se que apesar de poucos sinais na região de compostos olefínicos e aromáticos, além de sua baixa intensidade, para ambas as espécies do gênero *Tabebuia* foram observados três conjuntos de sinais na forma de duplos dupletos em  $\delta_{\text{H}}$  6,29 ( $J= 6,3; 2,0$ ), 6,39 ( $J= 6,2; 1,9$ ) e 6,41 ( $J= 5,9; 1,9$ ) (FIGURA 33).

FIGURA 33 - ESPECTROS DE RMN HR-MAS DE  $^1\text{H}$  ( $\delta_{\text{H}}$  6,20-6,50) DAS FLORES DAS ESPÉCIES DE *TABEBUIA* (IPÊS BRANCOS)

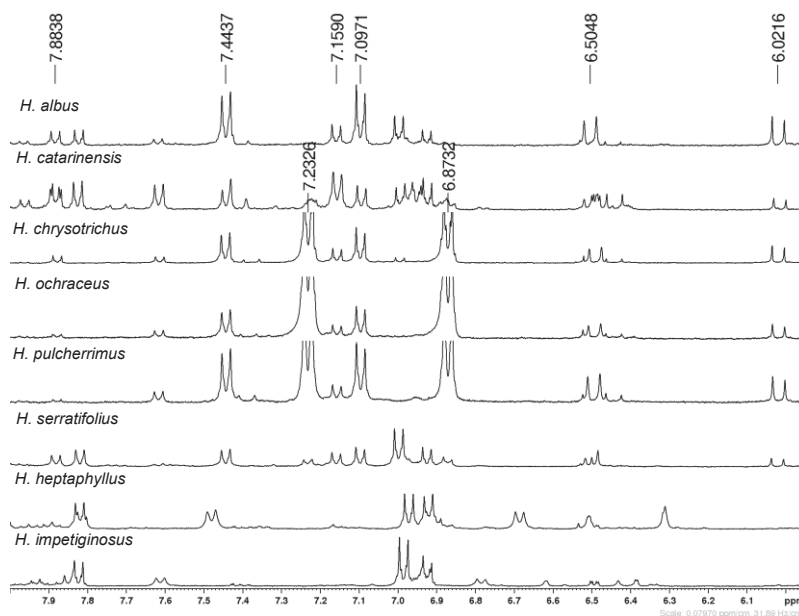


FONTE: A autora (2021).

Como mencionado anteriormente, tratando-se das espécies pertencentes ao gênero *Handroanthus* (*H. albus*, *H. catarinensis*, *H. chrysotrichus*, *H. ochraceus*, *H. pulcherrimus*, *H. serratifolius*, *H. impetiginosus* e *H. heptaphyllus*), todas apresentaram uma grande quantidade de sinais na região de compostos olefínicos e aromáticos.

As espécies *H. heptaphyllus* e *H. impetiginosus* (ipês rosa), quando comparadas com as demais espécies do gênero *Handroanthus*, essencialmente se distinguem por não apresentarem o sistema de *spins* composto pelos dupletos em 6,02 e 6,50 ppm, referente a uma dupla *Z*, com um valor de constante de acoplamento de 12,5 Hz. Adicionalmente, estas espécies não possuem em seu perfil espectral os sistemas de *spins* referentes a anéis aromáticos 1,4-dissubstituídos, com deslocamento químico em  $\delta_{\text{H}}$  6,87 ( $J= 8,5$ ) e 7,23 ( $J= 8,5$ ), 7,10 ( $J= 8,8$ ) e 7,44 ( $J= 8,8$ ) e, 7,16 ( $J= 8,9$ ) e 7,88 ( $J= 8,9$ ) (FIGURA 34).

FIGURA 34 - ESPECTROS DE RMN HR-MAS DE  $^1\text{H}$  ( $\delta_{\text{H}}$  6,00-8,00) DAS FLORES DAS ESPÉCIES DE *HANDROANTHUS* (IPÊS ROSA E AMARELOS)

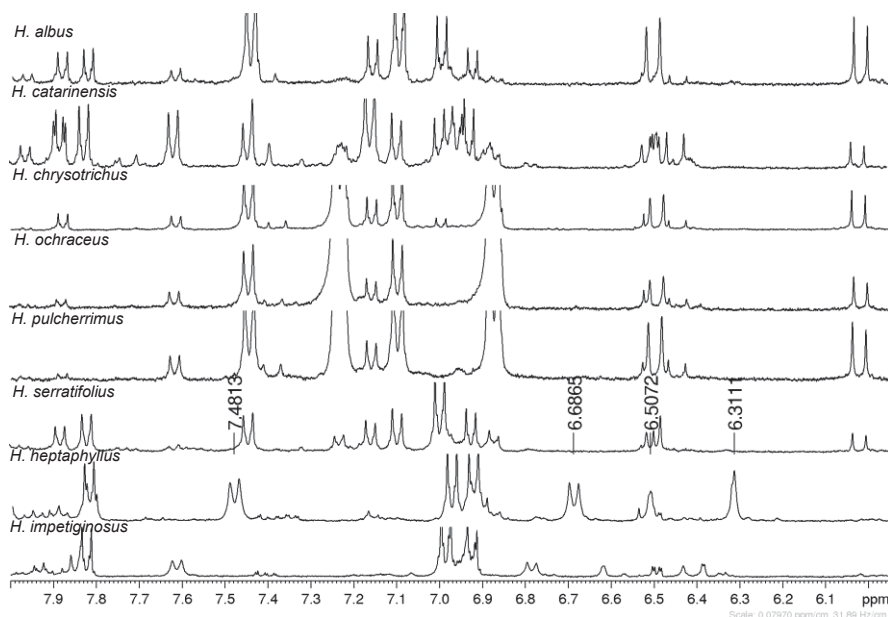


FONTE: A autora (2021).

Por outro lado, o sistema de *spins* referente a anéis aromáticos 1,4-dissubstituídos, com deslocamento químico em  $\delta_{\text{H}}$  6,68 ( $J= 8,7$ ) e 7,48 ( $J= 8,7$ ), foram observados somente nas espécies *H. heptaphyllus* e *H. impetiginosus*. Contudo, é importante mencionar, que em relação aos exemplares analisados, verificou-se que há uma variação no deslocamento químico destes sinais.

Além destes, observou-se também o sistema de *spins* referente a anéis aromáticos 1,3,4,5-tetrassubstituídos, com deslocamento químico em  $\delta_{\text{H}}$  6,31 ( $J= 2,0$ ) e 6,51 ( $J= 2,0$ ), os quais são característicos de compostos pertencentes a classe dos flavonoides (FIGURA 35).

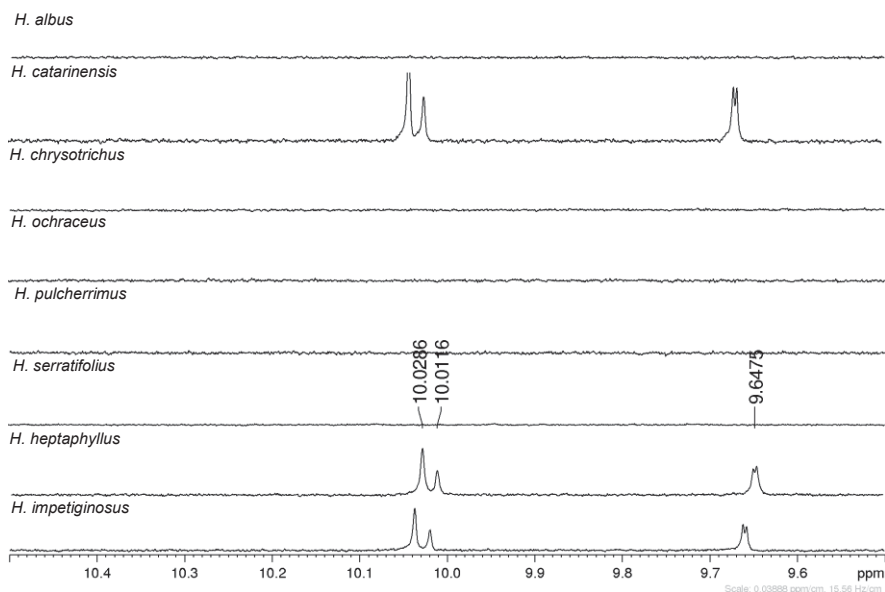
FIGURA 35 - ESPECTROS DE RMN HR-MAS DE  $^1\text{H}$  ( $\delta_{\text{H}}$  6,00-8,00) DAS FLORES DAS ESPÉCIES DE *HANDROANTHUS* (IPÊS ROSA E AMARELOS)



FONTE: A autora (2021).

As espécies *H. heptaphyllus* e *H. impetiginosus* apresentaram três sinais na região de hidrogênios aldeídicos, sendo estes, dois simpletos em  $\delta_{\text{H}}$  10,03 e 10,01, e um duplete em  $\delta_{\text{H}}$  9,65 ( $J= 1,8$ ). Estes sinais também foram observados para a espécie de ipê amarelo *H. catarinensis*, porém verificou-se uma pequena distinção em seus deslocamentos químicos (FIGURA 36).

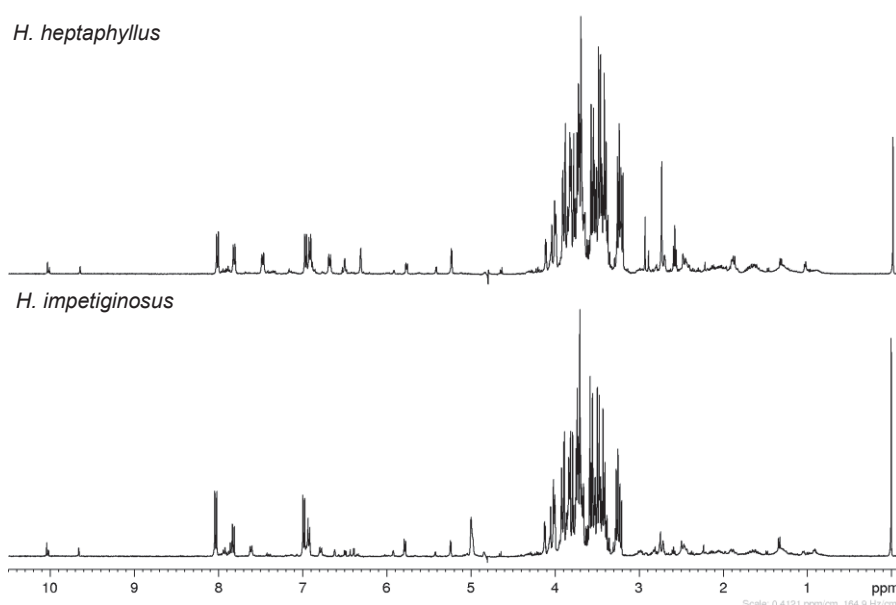
FIGURA 36 - ESPECTROS DE RMN HR-MAS DE  $^1\text{H}$  ( $\delta_{\text{H}}$  9,50-10,50) DAS FLORES DAS ESPÉCIES DE *HANDROANTHUS* (IPÊS ROSA E AMARELOS)



FONTE: A autora (2021).

Em relação ao material botânico empregado no estudo, o único exemplar coletado foi identificado como sendo a espécie *H. impetiginosus*. No entanto, o seu espectro de RMN HR-MAS de  $^1\text{H}$  apresentou elevada similaridade com o da espécie *H. heptaphyllus*, com distinção apenas na intensidade dos sinais observados, indicando um possível equívoco na identificação botânica do material coletado (FIGURA 37).

FIGURA 37 - ESPECTROS DE RMN HR-MAS DE  $^1\text{H}$  ( $\delta_{\text{H}}$  0,00-10,50) DAS FLORES DAS ESPÉCIES *H. heptaphyllus* E *H. impetiginosus* (IPÊS ROSA)

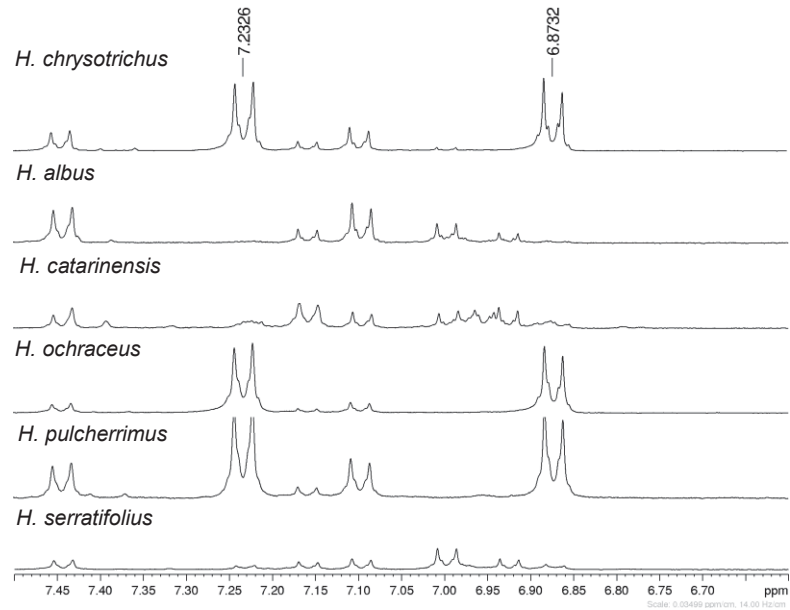


FONTE: A autora (2021).

Essa observação vai ao encontro do descrito por Costa (2019), o qual relata que a maioria das espécies de *H. heptaphyllus* depositadas em herbários são identificadas erroneamente como *H. impetiginosus*, isso ocorre pois ambas as espécies possuem características morfo-botânicas semelhantes. Um exemplo disso é a coloração de suas corolas, que variam de rosa a lilás com guias florais de néctar de amarelo a laranja.

Dentre as espécies de ipês amarelos, observou-se que *H. chrisotrychus* foi a que apresentou a menor quantidade de sinais na região de compostos olefínicos e aromáticos. No entanto, esta espécie se caracterizou pela presença de um sistema de *spins*, de alta intensidade, com deslocamento químico em  $\delta_{\text{H}}$  6,87 ( $J= 8,5$ ) e 7,23 ( $J= 8,5$ ), referente a anéis aromáticos 1,4-dissubstituídos (FIGURA 38).

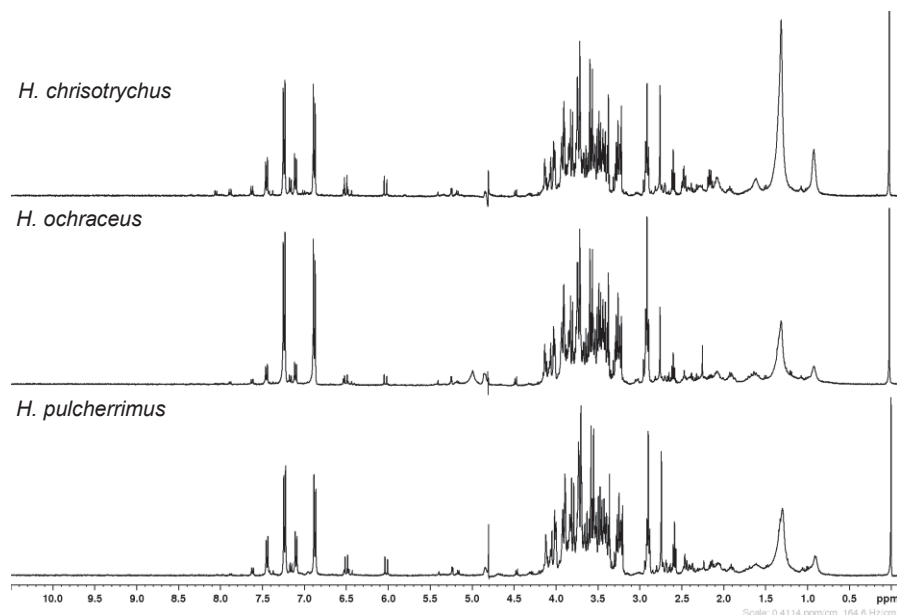
FIGURA 38 - ESPECTROS DE RMN HR-MAS DE  $^1\text{H}$  ( $\delta_{\text{H}}$  6,50-7,50) DAS FLORES DAS ESPÉCIES DE *HANDROANTHUS* (IPÊS AMARELOS)



FONTE: A autora (2021).

As espécies *H. ochraceus* (três exemplares) e *H. pulcherrimus* (um exemplar) apresentaram espectros de RMN HR-MAS de  $^1\text{H}$  idênticos em toda a sua extensão ao da espécie *H. chrisotrychus*, indicando assim, um possível equívoco na identificação botânica destas espécies (FIGURA 39).

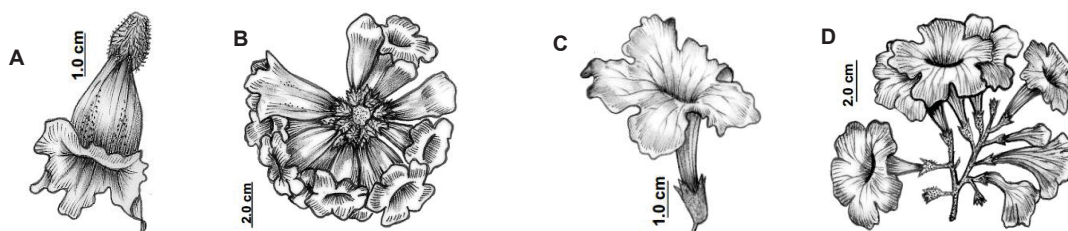
FIGURA 39 - ESPECTROS DE RMN HR-MAS DE  $^1\text{H}$  ( $\delta_{\text{H}}$  0,00-10,50) DAS FLORES DAS ESPÉCIES *H. chrisotrychus*, *H. ochraceus* E *H. pulcherrimus* (IPÊS AMARELOS)



FONTE: A autora (2021).

Essa observação vai ao encontro da constatação de Costa (2019), o qual descreveu que as espécies *H. chrysotrichus* e *H. ochraceus* são morfologicamente semelhantes, compartilhando o mesmo formato das folhas, textura, tipo e formato da inflorescência, e cor da corola (FIGURA 40).

FIGURA 40 - REPRESENTAÇÃO DAS FLORES DE *H. chrysotrichus* E *H. ochraceus*

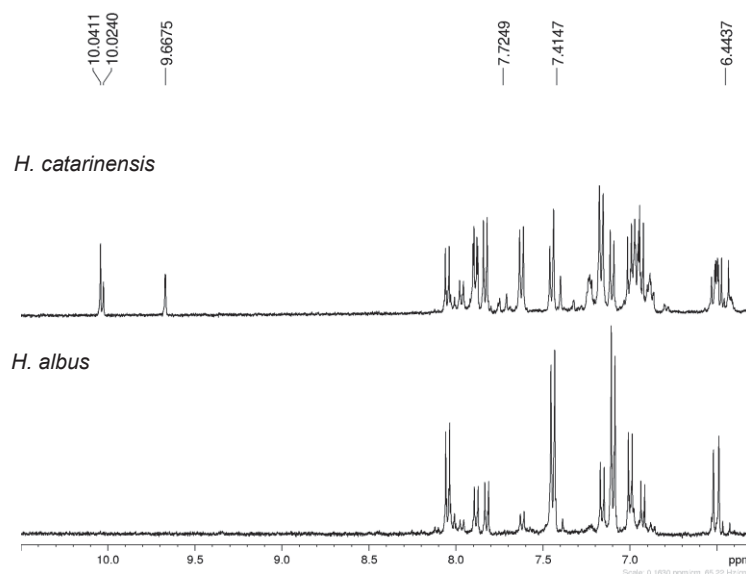


FONTE: Adaptada de Costa (2019).

LEGENDA: *Handroanthus chrysotrichus*: **A.** Inflorescência, **B.** Flores; *Handroanthus ochraceus*: **C.** Inflorescência, **D.** Flores.

As espécies *H. catarinensis* e *H. albus* foram as que apresentaram a maior quantidade de sinais na região de compostos olefínicos e aromáticos. Além disso, são as únicas que possuem o sistema de *spins* referente a uma olefina de configuração *E*, com deslocamento químico em  $\delta_H$  6,44 ( $J= 16,0$ ), 7,42 ( $J= 16,0$ ) e 7,72 ( $J= 16,0$ ), característico de compostos pertencentes ao grupo dos ácidos hidroxicinâmicos. Entretanto, estas espécies se diferem, pois, *H. catarinensis* possui três sinais na região de hidrogênios aldeídicos,  $\delta_H$  10,04 (s) 10,02 (s) e 9,67(d,  $J= 1,8$ ) (FIGURA 41).

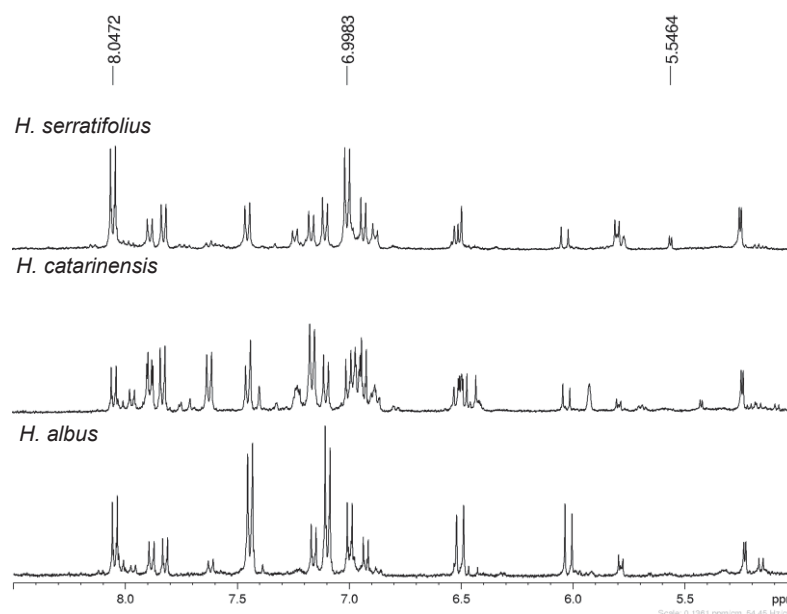
FIGURA 41 - ESPECTROS DE RMN HR-MAS DE  $^1H$  ( $\delta_H$  6,00-10,50) DAS FLORES DAS ESPÉCIES *H. catarinensis* E *H. albus* (IPÊS AMARELOS)



FONTE: A autora (2021).

Quando se compara *H. catarinensis*, *H. albus* e *H. serratifolius* observa-se que esta última espécie apresenta uma quantidade menor de sinais na região de compostos olefínicos e aromáticos, bem como não possui sinais referentes a hidrogênios aldeídicos. Entretanto, ela se caracteriza pela alta intensidade dos sinais referentes ao sistema de *spins* pertencente a anéis aromáticos 1,4-dissubstituídos, com deslocamento químico em  $\delta_H$  6,98 ( $J= 8,8$ ) e  $\delta_H$  8,02 ( $J= 8,8$ ). Além de ser a única espécie a apresentar um sinal em  $\delta_H$  5,54 ( $J= 4,1$ ), característico de hidrogênio  $\alpha$ -anomérico (equatorial) da unidade piranosídeo (FIGURA 42).

FIGURA 42 - ESPECTROS DE RMN HR-MAS DE  $^1H$  ( $\delta_H$  5,00-8,50) DAS FLORES DAS ESPÉCIES *H. serratifolius*, *H. catarinensis* E *H. albus* (IPÊS AMARELOS)

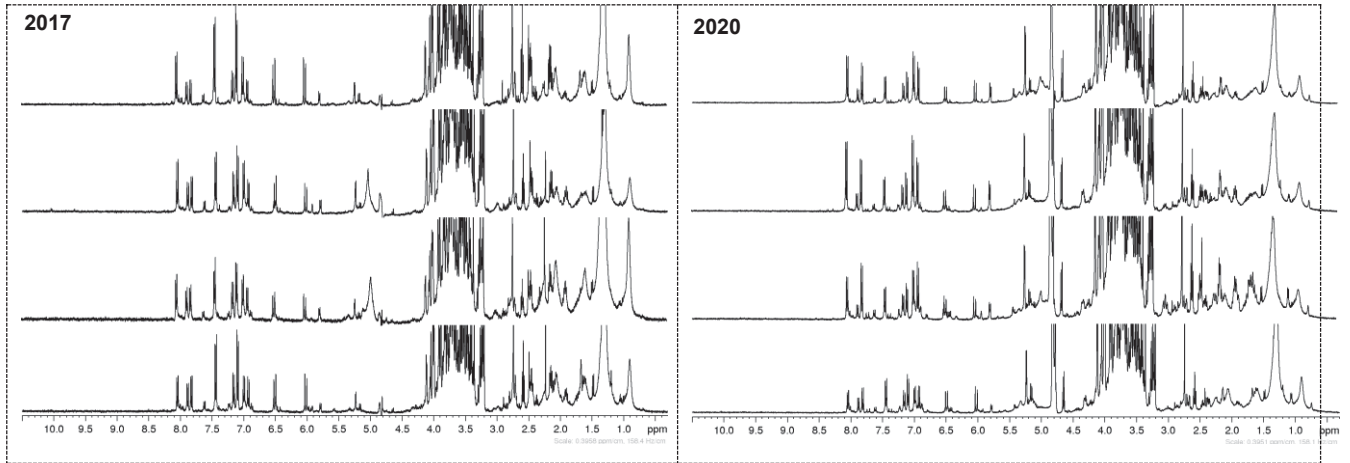


FONTE: A autora (2021).

#### 4.1.1 Avaliação das coletas do material botânico em diferentes períodos

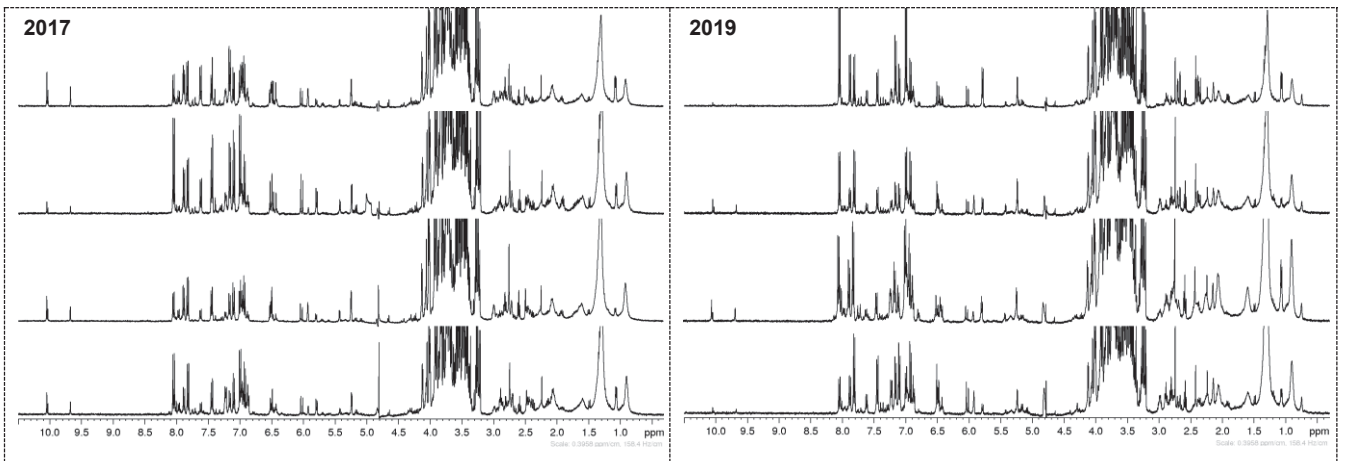
As flores das espécies *H. albus*, *H. catarinensis*, *H. chrysotrichus*, *H. heptaphyllus*, *T. cassinoides* e *T. roseoalba* foram coletadas em dois anos distintos, visando avaliar se no interstício entre as coletas houve variação no padrão dos sinais observados através da RMN HR-MAS de  $^1H$  (FIGURAS 43 a 48).

FIGURA 43 - ESPECTROS DE RMN HR-MAS DE  $^1\text{H}$  ( $\delta_{\text{H}}$  0,30-10,50) DAS AMOSTRAS DE *H. albus* COLETADAS EM ANOS DISTINTOS



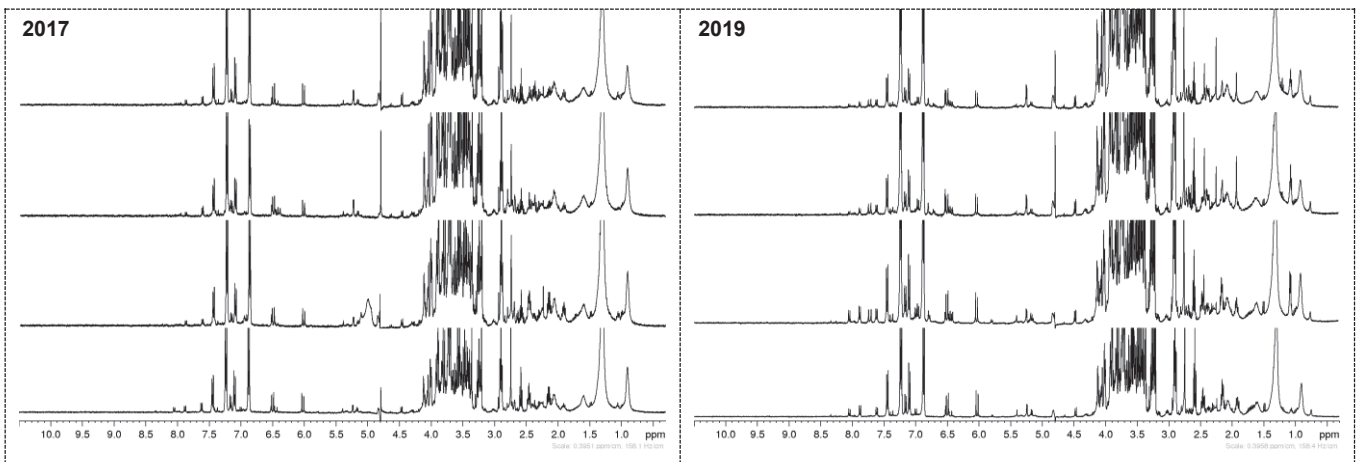
FONTE: A autora (2021).

FIGURA 44 - ESPECTROS DE RMN HR-MAS DE  $^1\text{H}$  ( $\delta_{\text{H}}$  0,30-10,50) DAS AMOSTRAS DE *H. catarinensis* COLETADAS EM ANOS DISTINTOS



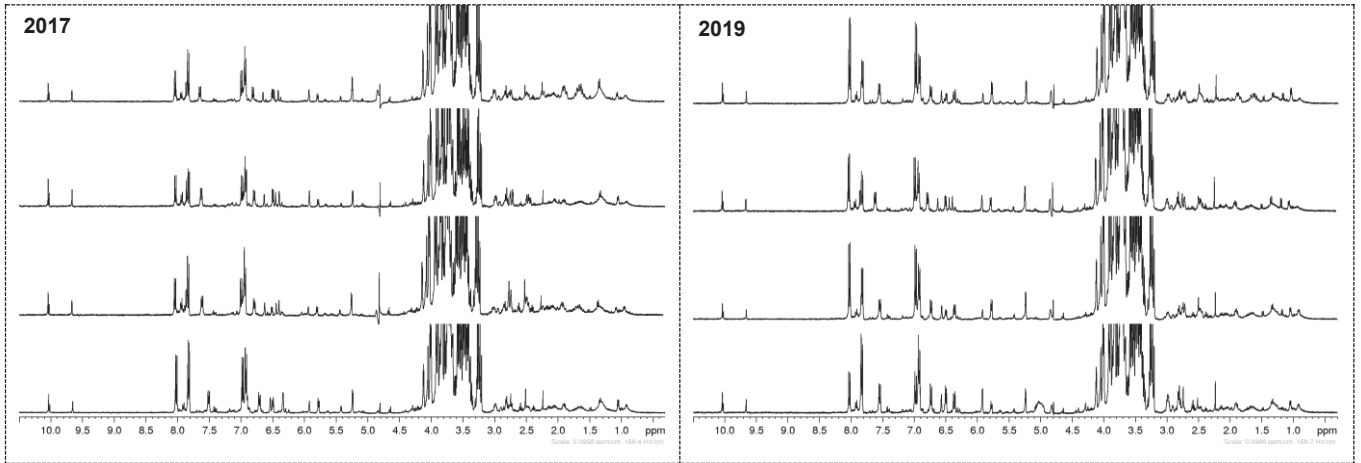
FONTE: A autora (2021).

FIGURA 45 - ESPECTROS DE RMN HR-MAS DE  $^1\text{H}$  ( $\delta_{\text{H}}$  0,30-10,50) DAS AMOSTRAS DE *H. chrysotrichus* COLETADAS EM ANOS DISTINTOS



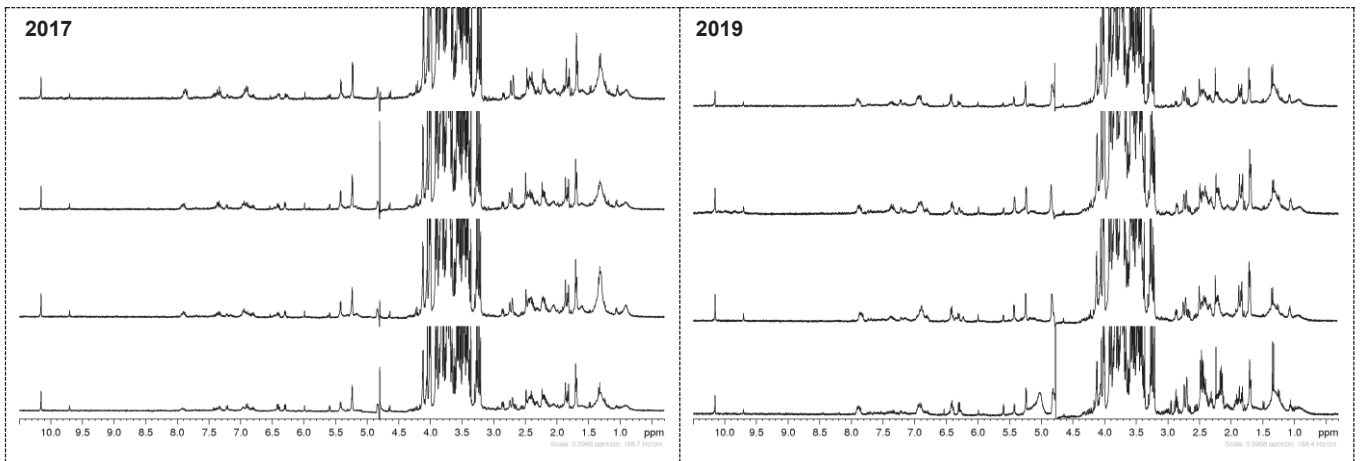
FONTE: A autora (2021).

FIGURA 46 - ESPECTROS DE RMN HR-MAS DE  $^1\text{H}$  ( $\delta_{\text{H}}$  0,30-10,50) DAS AMOSTRAS DE *H. heptaphyllus* COLETADAS EM ANOS DISTINTOS



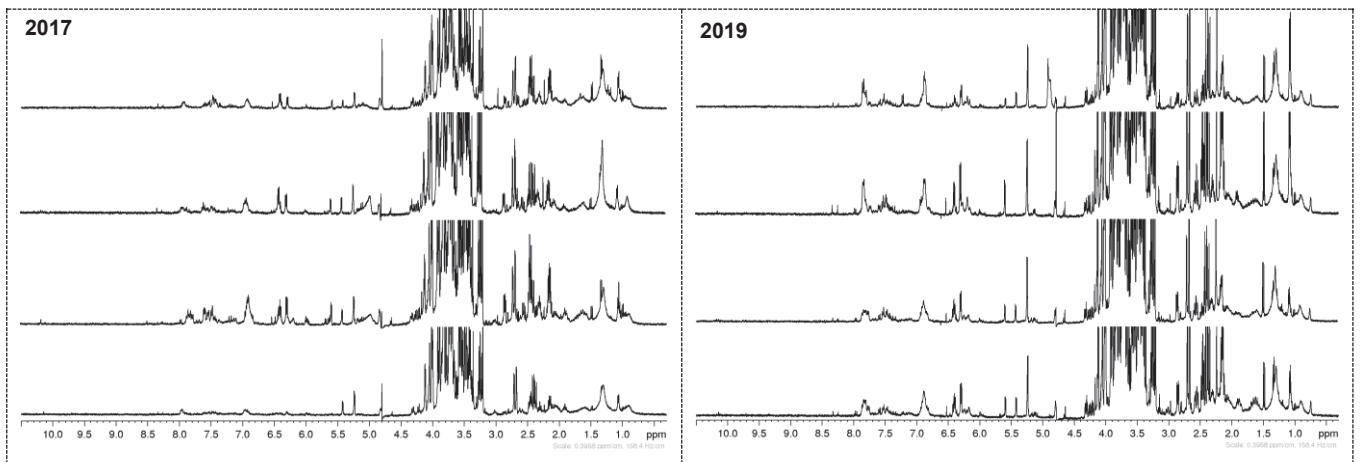
FONTE: A autora (2021).

FIGURA 47 - ESPECTROS DE RMN HR-MAS DE  $^1\text{H}$  ( $\delta_{\text{H}}$  0,30-10,50) DAS AMOSTRAS DE *T. cassinoides* COLETADAS EM ANOS DISTINTOS



FONTE: A autora (2021).

FIGURA 48 - ESPECTROS DE RMN HR-MAS DE  $^1\text{H}$  ( $\delta_{\text{H}}$  0,30-10,50) DAS AMOSTRAS DE *T. roseoalba* COLETADAS EM ANOS DISTINTOS



FONTE: A autora (2021).

A análise dos perfis espectrais de RMN HR-MAS de  $^1\text{H}$  das amostras de ipês (amarelos, rosa e brancos) demonstrou que mesmo que as coletas dos materiais botânicos tenham sido realizadas em anos distintos (2017, 2019 e 2020) não há alteração no padrão dos sinais observados para as espécies estudadas. Foi possível verificar apenas variações em relação a intensidade de alguns sinais.

Assim, de maneira geral, pode-se considerar que os perfis espectrais das espécies avaliadas de *Handroanthus* e *Tabebuia* mantiveram o seu padrão de sinais, deslocamento químico e multiplicidade.

#### 4.2 IDENTIFICAÇÃO ESTRUTURAL DOS METABÓLITOS EMPREGANDO RMN HR-MAS DE $^1\text{H}$ E RMN EM SOLUÇÃO UNI E BIDIMENSIONAL

Os experimentos de hidrogênio das distintas vertentes da técnica de Ressonância Magnética Nuclear (RMN HR-MAS e RMN em solução) utilizados no estudo demonstraram que, mesmo com o processo de extração empregado para as análises de RMN em solução, os perfis espectrais foram comparáveis entre si, para as três partes das diferentes espécies, possibilitando assim correlacionar os dados obtidos. Contudo, observou-se que no espectro de RMN de  $^1\text{H}$  há presença de sinais além dos observados no perfil espectral obtido por RMN HR-MAS de  $^1\text{H}$ .

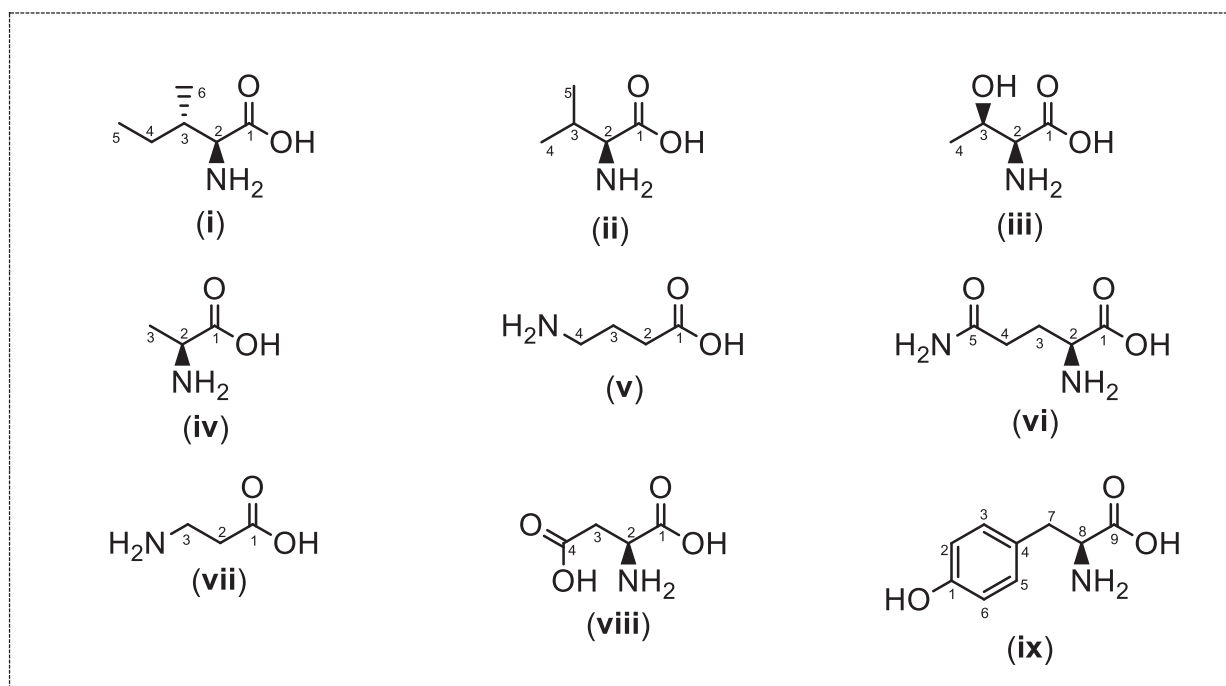
Devido à complexidade dos perfis espectrais, estes foram divididos e analisados por regiões  $\delta_{\text{H}}$  0,30-3,00 (aminoácidos e ácidos orgânicos),  $\delta_{\text{H}}$  3,00-5,90 (carboidratos) e  $\delta_{\text{H}}$  5,90-10,50 (olefinas e compostos aromáticos), onde os resultados obtidos foram apresentados e discutidos de acordo com os grupos de metabólitos identificados, sendo estes: aminoácidos, carboidratos, ácidos orgânicos, compostos nitrogenados, ácidos fenólicos e glicosídeos iridoides (FIGURA 110; APÊNDICE 2).

A atribuição dos sinais dos metabólitos foi realizada com auxílio de experimentos bidimensionais obtidos por RMN em solução, tais como, mapas de correlação direta  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  (HSQC) e correlação a longa distância  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  (HMBC).

#### 4.2.1 Identificação estrutural dos aminoácidos

A análise do perfil espectral das espécies empregadas no estudo possibilitou a visualização e identificação dos seguintes metabólitos primários pertencentes ao grupo dos aminoácidos: isoleucina (i) [ $\delta$  0,94 (*t*;  $J$ = 7,4; H-5) e 1,01 (*d*;  $J$ = 7,0; H-6)]; valina (ii) [ $\delta$  0,99 (*d*;  $J$ = 7,0; H-4) e 1,04 (*d*;  $J$ = 7,0; H-5)]; treonina (iii) [ $\delta$  1,33 (*d*;  $J$ = 6,9; H-4)];  $\alpha$ -alanina (iv) [ $\delta$  1,48 (*d*;  $J$ = 7,2; H-3)]; ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA; v) [ $\delta$  1,90 (*m*; H-3) e 2,31 (*t*;  $J$ = 7,3; H-2)]; glutamina (vi) [ $\delta$  2,14 (*m*; H-3) e 2,46 (*m*; H-4)];  $\beta$ -alanina (vii) [ $\delta$  2,58 (*t*;  $J$ = 6,6; H-2)]; ácido aspártico (viii) [ $\delta$  2,67 (*dd*;  $J$ = 17,5; 9,0; H-3) e 2,82 (*dd*;  $J$ = 17,5; 3,8; H-3')]; tirosina (ix) [ $\delta$  6,87 (*d*;  $J$ = 8,5; H-3 e H-5) e 7,23 (*d*;  $J$ = 8,5; H-2 e H-6)] (FIGURAS 49 a 58). Os valores de deslocamento químico dos carbonos com correlação direta aos sinais dos hidrogênios dos metabólitos acima apresentados foram observados através do mapa de correlação HSQC ( $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ ) e os de correlação a longa distância através do mapa de correlação HMBC ( $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ ) (TABELA 2) (ABREU *et al.*, 2018; KUMAR *et al.*, 2019; OLIVEIRA *et al.*, 2014).

FIGURA 49 - AMINOÁCIDOS IDENTIFICADOS NAS ESPÉCIES PERTENCENTES À *HANDROANTHUS E TABEBUIA*



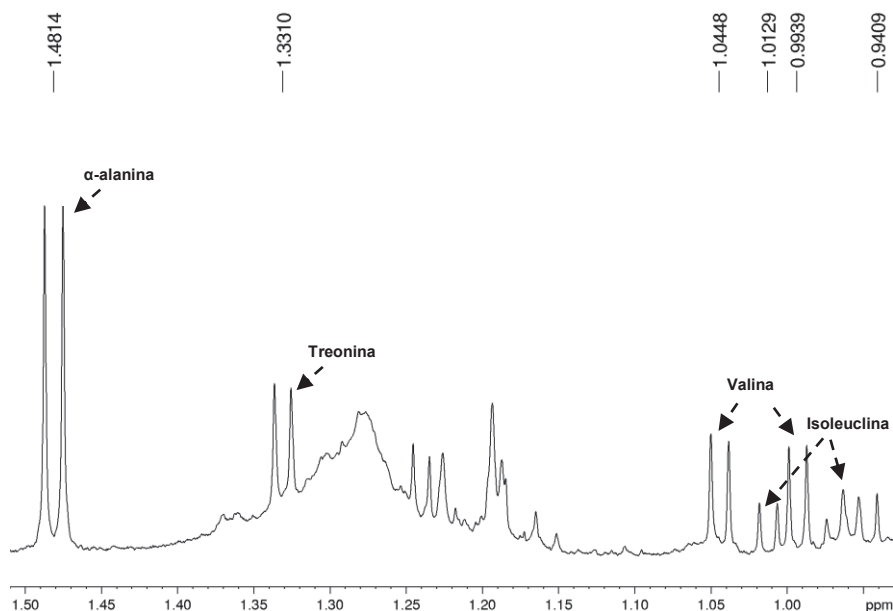
FONTE: A autora (2021).

TABELA 2 - DADOS DE RMN HR-MAS DE  $^1\text{H}$  E RMN EM SOLUÇÃO PARA OS AMINOÁCIDOS IDENTIFICADOS NAS ESPÉCIES ESTUDADAS

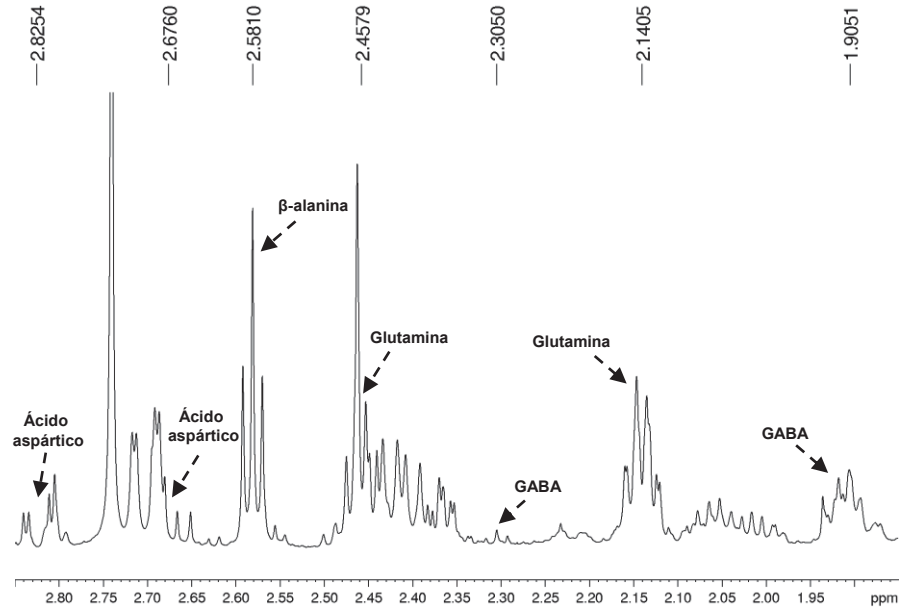
	Metabólitos identificados			Literatura	
	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,b}}$	HSQC <sup>b</sup>	HMBC <sup>b</sup>	$\delta_{\text{H}}^{\text{c}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{c}}$
(i)	0,94 (t, J= 7,4)	-	-	0,96 (t, J= 7,3)	-
	1,01 (d, J= 7,0)	-	-	1,03 (d, J= 7,1)	-
(ii)	0,99 (d, J= 7,0)	-	-	1,01 (d, J= 7,1)	-
	1,04 (d, J= 7,0)	-	-	1,06 (d, J= 7,1)	-
(iii)	1,33 (d, J= 6,9)	-	-	1,34 (d, J= 6,6)	-
(iv)	1,48 (d, J= 7,2)	18,9	C1; C3	1,48 (d, J= 7,2)	18,8
(v)	1,90 (m)	26,2	C2	1,90 (m)	-
	2,31 (t, J= 7,3)	37,0	C1; C3; C4	2,32 (t, J= 7,24)	37,0
(vi)	-	-	-	3,02 (t, J= 7,46)	42,0
	2,14 (m)	29,1	C1; C2; C4; C5	2,14 (m)	-
(vii)	2,46 (m)	33,6	-	2,46 (m)	-
	2,58 (t, J= 6,6)	35,3	C1; C3	2,57 (t)	-
(viii)	2,67 (dd, J= 17,5; 9,0)	39,4	-	2,64 (dd, J= 17,4; 9,3)	-
	2,82 (dd, J= 17,5; 3,8)	39,4	-	2,81 (dd, J= 17,4; 3,6)	-
(ix)	6,87 (d, J= 8,5)	118,1	C1; C2; C6	6,86 (d, J= 8,5)	-
	7,23 (d, J= 8,5)	133,0	C1; C3; C5; C7	7,19 (d, J= 8,5)	-

FONTE: A autora (2021).

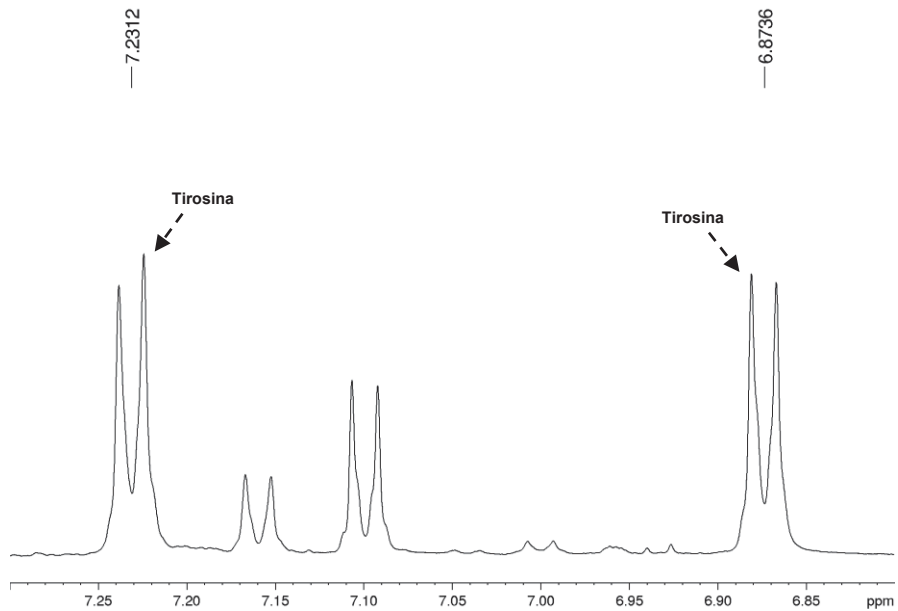
LEGENDA: <sup>a</sup>Experimento realizado a 400 MHz para  $^1\text{H}$  em  $\text{D}_2\text{O}$ . <sup>b</sup>Experimento realizado a 600 MHz para  $^1\text{H}$  e 150 MHz para  $^{13}\text{C}$  em  $\text{D}_2\text{O}$ . <sup>a,b</sup>TMSP-*d*4 como padrão de referência. <sup>c</sup>Abreu e colaboradores (2018) [ $^1\text{H}$ , 600 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}:\text{D}_2\text{O}$  (50:50)/TSP (tampão pH 6.0)]; Kumar e colaboradores (2019) ( $^1\text{H}$ , 600 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}:\text{D}_2\text{O}$  (80:20)/TSP); Oliveira e colaboradores (2014) ( $^1\text{H}$ , 500 MHz e  $^{13}\text{C}$ , 125 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ /TMSP).

FIGURA 50 - ESPECTRO DE RMN DE  $^1\text{H}$  ( $\delta_{\text{H}}$  0,90-1,55) DAS FLORES DE *H. albus*

FONTE: A autora (2021).

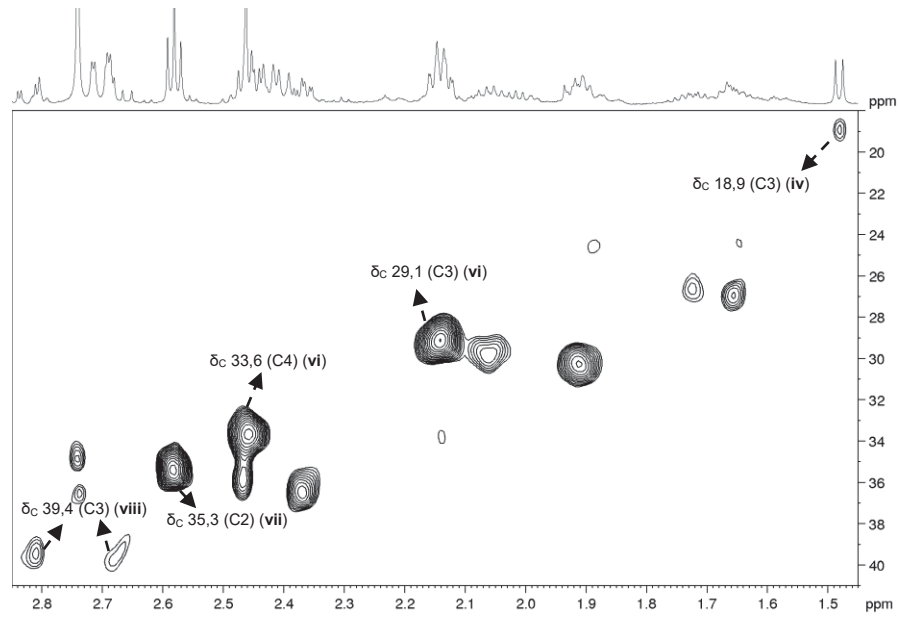
FIGURA 51 - ESPECTRO DE RMN DE  $^1\text{H}$  ( $\delta_{\text{H}}$  1,85-2,85) DAS FLORES DE *H. albus*

FONTE: A autora (2021).

FIGURA 52 - ESPECTRO DE RMN DE  $^1\text{H}$  ( $\delta_{\text{H}}$  6,80-7,30) DAS FLORES DE *H. chrysotrichus*

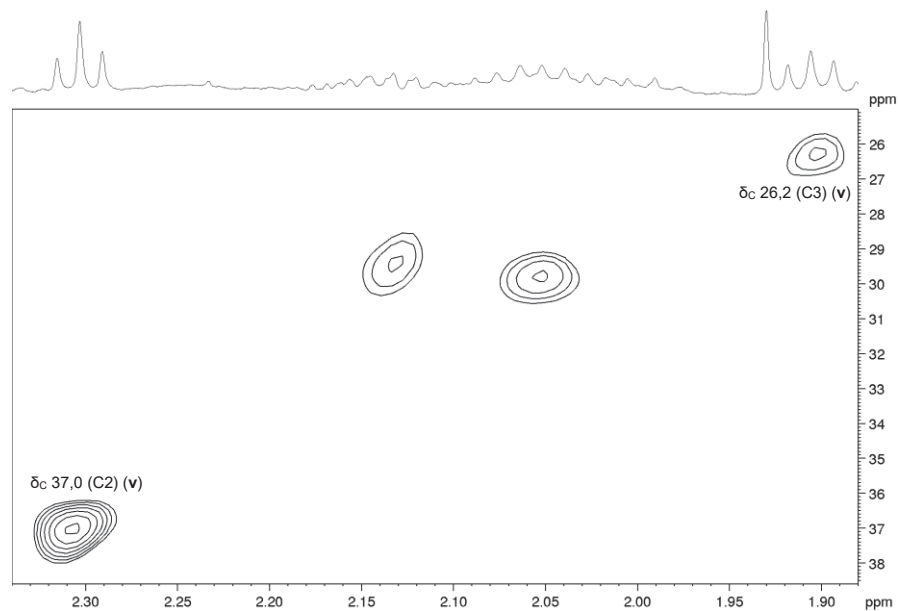
FONTE: A autora (2021).

FIGURA 53 - AMPLIAÇÃO DO MAPA DE CORRELAÇÃO DIRETA  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  (HSQC) DAS FLORES DE *H. albus* ( $^1\text{H}$ , 600 MHz;  $^{13}\text{C}$ , 150 MHz,  $\text{D}_2\text{O}/\text{TMSP-d}_4$ )



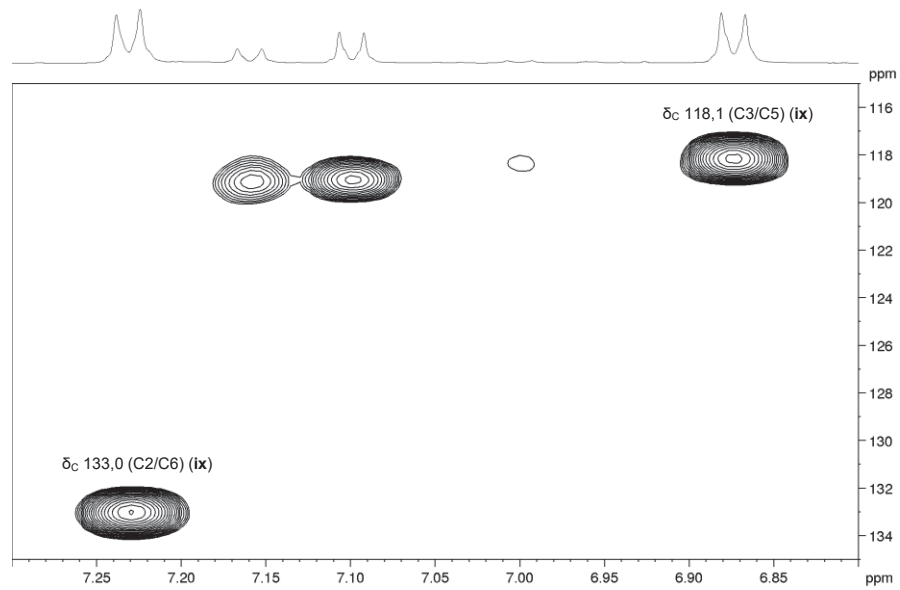
FONTE: A autora (2021).

FIGURA 54 - AMPLIAÇÃO DO MAPA DE CORRELAÇÃO DIRETA  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  (HSQC) DAS FLORES DE *H. chrysotrichus* ( $^1\text{H}$ , 600 MHz;  $^{13}\text{C}$ , 150 MHz,  $\text{D}_2\text{O}/\text{TMSP-d}_4$ )



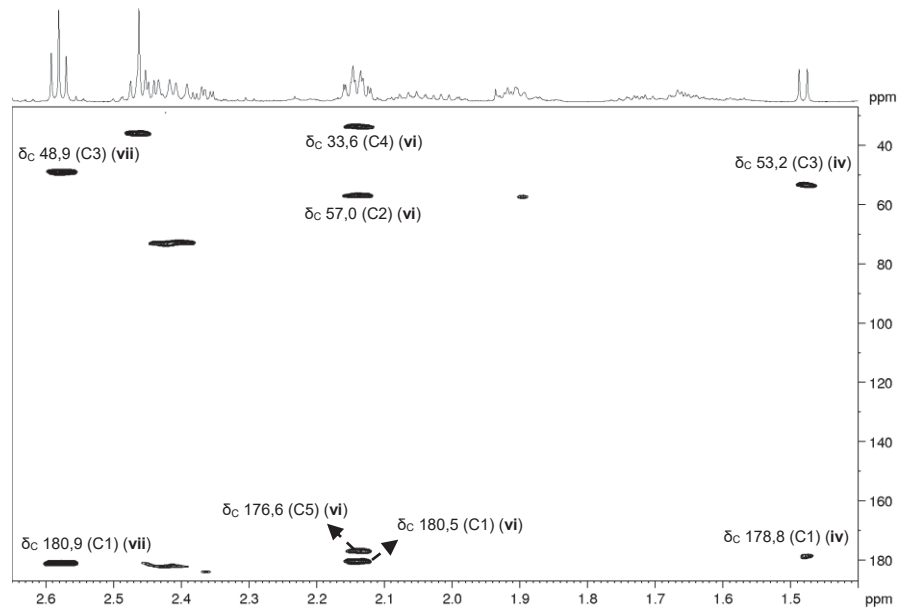
FONTE: A autora (2021).

FIGURA 55 - AMPLIAÇÃO DO MAPA DE CORRELAÇÃO DIRETA  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  (HSQC) DAS FLORES DE *H. chrysotrichus* ( $^1\text{H}$ , 600 MHz;  $^{13}\text{C}$ , 150 MHz,  $\text{D}_2\text{O}/\text{TMS}P\text{-}d_4$ )



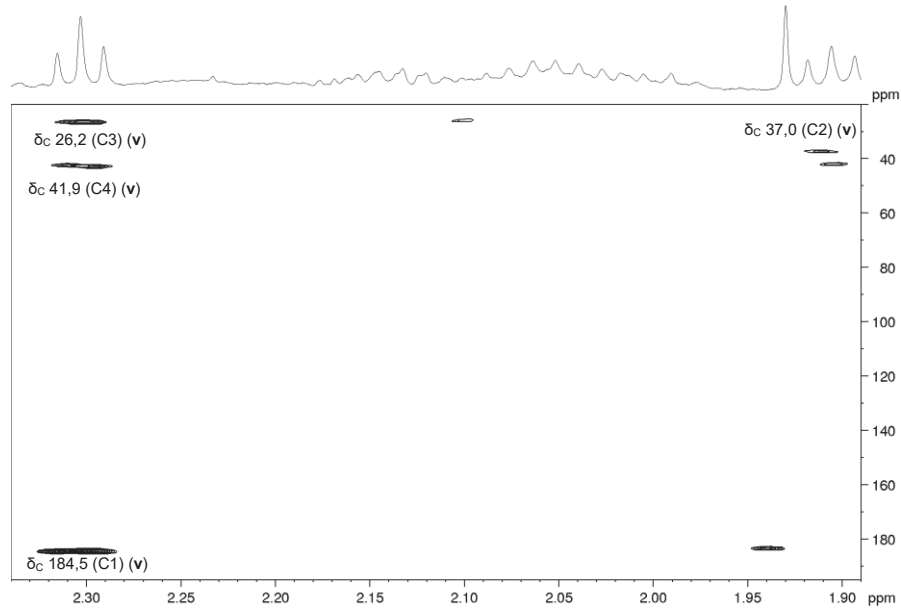
FONTE: A autora (2021).

FIGURA 56 - AMPLIAÇÃO DO MAPA DE CORRELAÇÃO A LONGA DISTÂNCIA  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  (HMBC) DAS FLORES DE *H. albus* ( $^1\text{H}$ , 600 MHz;  $^{13}\text{C}$ , 150 MHz,  $\text{D}_2\text{O}/\text{TMS}P\text{-}d_4$ )



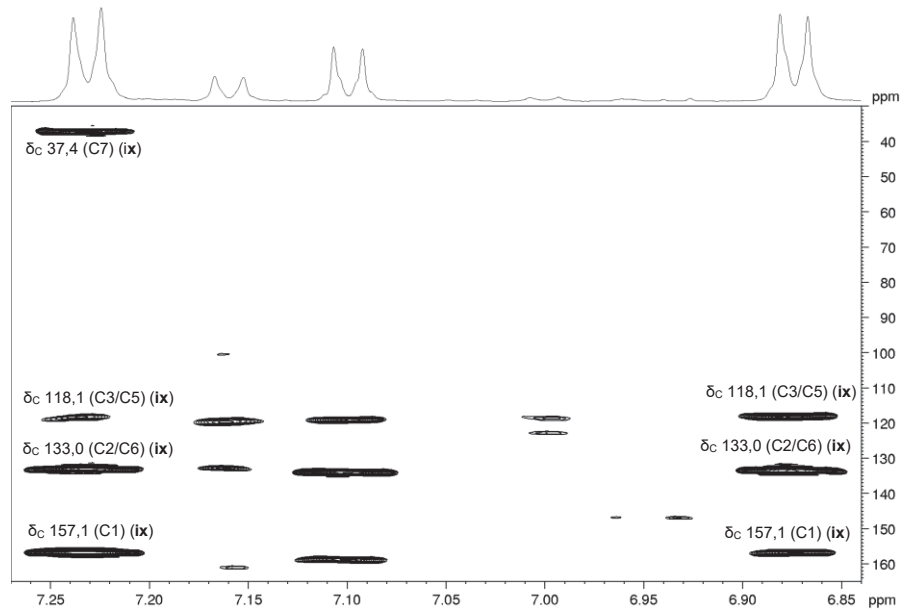
FONTE: A autora (2021).

FIGURA 57 - AMPLIAÇÃO DO MAPA DE CORRELAÇÃO A LONGA DISTÂNCIA  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  (HMBC) DAS FLORES DE *H. chrysotrichus* ( $^1\text{H}$ , 600 MHz;  $^{13}\text{C}$ , 150 MHz,  $\text{D}_2\text{O}/\text{TMSP-}d_4$ )



FONTE: A autora (2021).

FIGURA 58 - AMPLIAÇÃO DO MAPA DE CORRELAÇÃO A LONGA DISTÂNCIA  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  (HMBC) DAS FLORES DE *H. chrysotrichus* ( $^1\text{H}$ , 600 MHz;  $^{13}\text{C}$ , 150 MHz,  $\text{D}_2\text{O}/\text{TMSP-}d_4$ )

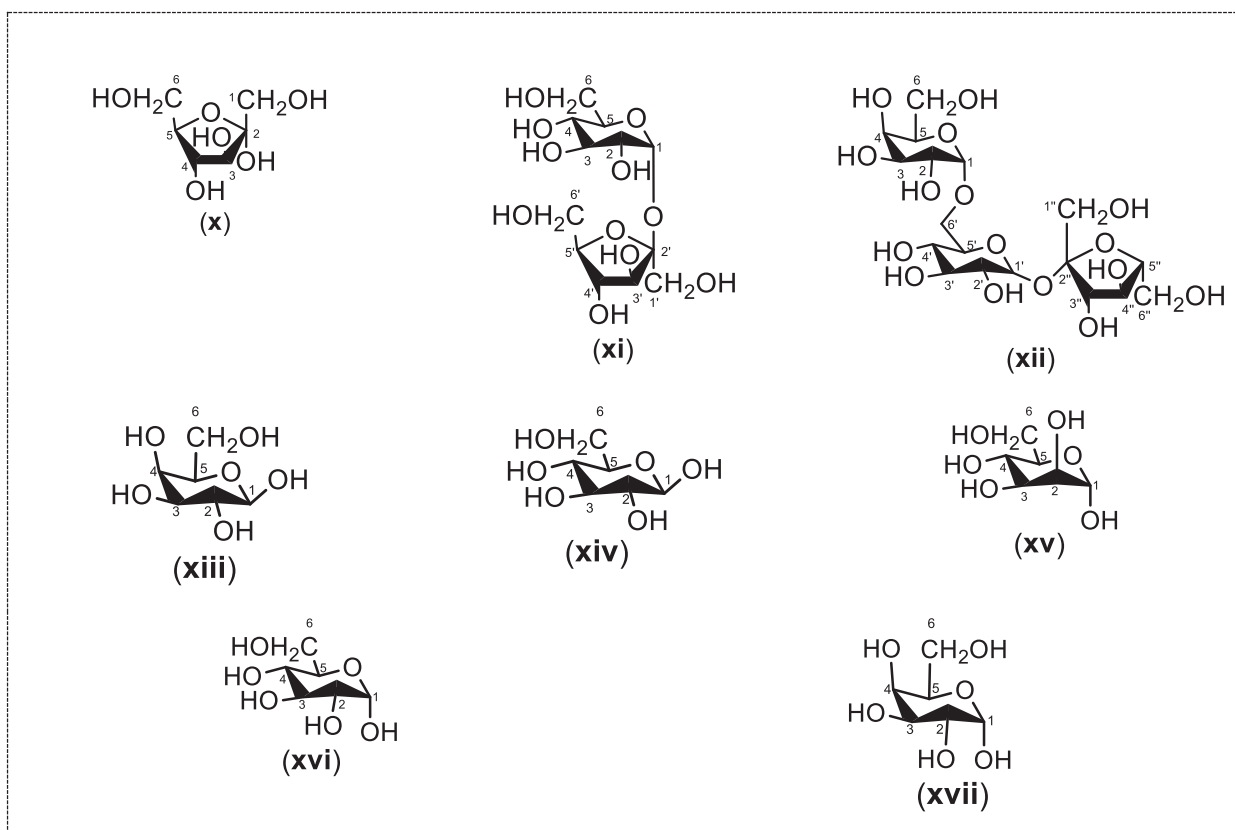


FONTE: A autora (2021).

#### 4.2.2 Identificação estrutural dos carboidratos

A análise da região espectral entre  $\delta_H$  4,00-5,50 possibilitou a visualização de dez dupletos, os quais apresentaram sinais característicos para os açúcares:  $\alpha$ -frutose (**x**) [ $\delta$  4,11 (*d*;  $J= 3,3$ ; H-3)]; sacarose (**xi**) [ $\delta$  4,21 (*d*;  $J= 8,7$ ; H-3') e 5,41 (*d*;  $J= 3,9$ ; H-1)]; rafinose (**xii**) [ $\delta$  4,22 (*d*;  $J= 8,7$ ; H-3'') e 5,43 (*d*;  $J= 3,9$ ; H-1)];  $\beta$ -galactose (**xiii**) [ $\delta$  4,58 (*d*;  $J= 7,9$ ; H-1)];  $\beta$ -glicose (**xiv**) [ $\delta$  4,64 (*d*;  $J= 7,9$ ; H-1)];  $\beta$ -manose (**xv**) [ $\delta$  5,15 (*d*;  $J= 7,7$ ; H-1)];  $\alpha$ -glicose (**xvi**) [ $\delta$  5,23 (*d*;  $J= 3,7$ ; H-1)]; e  $\alpha$ -galactose (**xvii**) [ $\delta$  5,26 (*d*;  $J= 3,7$ ; H-1)] (FIGURAS 59 a 65). Estas estruturas foram confirmadas através dos deslocamentos químicos dos seus respectivos carbonos por meio dos mapas de correlação direta HSQC ( $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ ) e a longa distância HMBC ( $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ ) (TABELA 3) (BHATIA *et al.*, 2013).

FIGURA 59 - CARBOIDRATOS IDENTIFICADOS NAS ESPÉCIES PERTENCENTES À *HANDROANTHUS E TABEBUIA*



FONTE: A autora (2021).

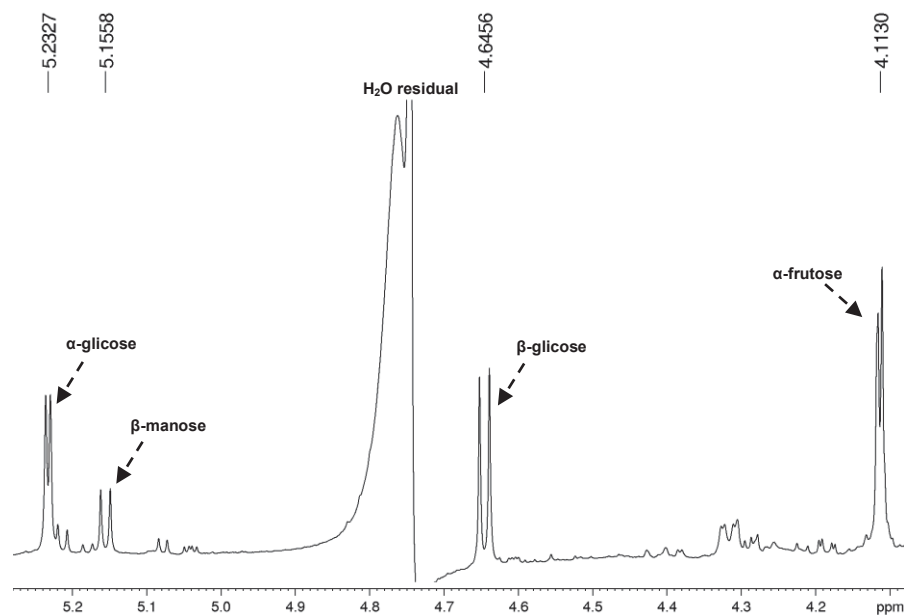
TABELA 3 - DADOS DE RMN HR-MAS DE  $^1\text{H}$  E RMN EM SOLUÇÃO PARA OS CARBOIDRATOS IDENTIFICADOS NAS ESPÉCIES ESTUDADAS

	Metabólitos identificados			Literatura
	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,b}}$	HSQC <sup>b</sup>	HMBC <sup>b</sup>	$\delta_{\text{H}}^{\text{c}}$
(x)	4,11 ( <i>d</i> , $J=3,3$ )	77,9	C2; C4; C5	4,08 ( <i>d</i> )
(xi)	4,21 ( <i>d</i> , $J=8,7$ )	79,3	C4'	4,22 ( <i>d</i> )
	5,41 ( <i>d</i> , $J=3,9$ )	95,0	C2; C3	5,41 ( <i>d</i> )
(xii)	4,22 ( <i>d</i> , $J=8,7$ )	73,7	C4''	-
	5,43 ( <i>d</i> , $J=3,9$ )	95,0	C2; C3; C5	5,43 ( <i>d</i> )
(xiii)	4,58 ( <i>d</i> , $J=7,9$ )	-	-	4,57 ( <i>d</i> )
(xiv)	4,64 ( <i>d</i> , $J=7,9$ )	98,9	C2; C3; C5	4,67 ( <i>d</i> )
(xv)	5,15 ( <i>d</i> , $J=7,7$ )	102,8	C2	5,18 ( <i>d</i> )
(xvi)	5,23 ( <i>d</i> , $J=3,7$ )	95,0	C2	5,23 ( <i>d</i> )
(xvii)	5,26 ( <i>d</i> , $J=3,7$ )	-	-	5,26 ( <i>d</i> )

FONTE: A autora (2021).

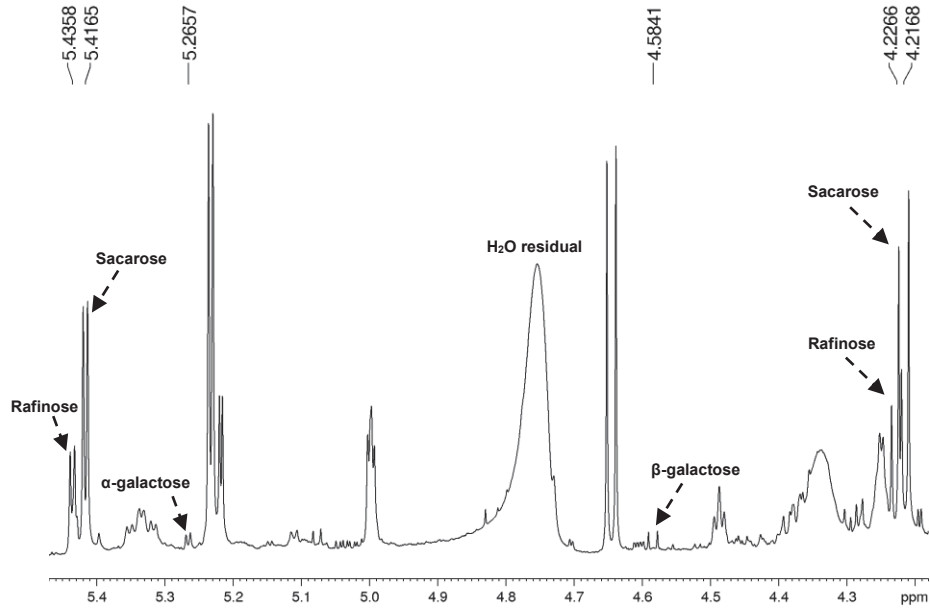
LEGENDA: <sup>a</sup>Experimento realizado a 400 MHz para  $^1\text{H}$  em  $\text{D}_2\text{O}$ . <sup>b</sup>Experimento realizado a 600 MHz para  $^1\text{H}$  e 150 MHz para  $^{13}\text{C}$  em  $\text{D}_2\text{O}$ . <sup>a,b</sup>TMSP-*d*4 como padrão de referência. <sup>c</sup>Bhatia e colaboradores (2013) ( $^1\text{H}$ , 800 MHz,  $\text{D}_2\text{O}/\text{TSP}$ ).

FIGURA 60 - ESPECTRO DE RMN DE  $^1\text{H}$  ( $\delta_{\text{H}}$  4,00-5,30) DAS FLORES DE *H. albus*



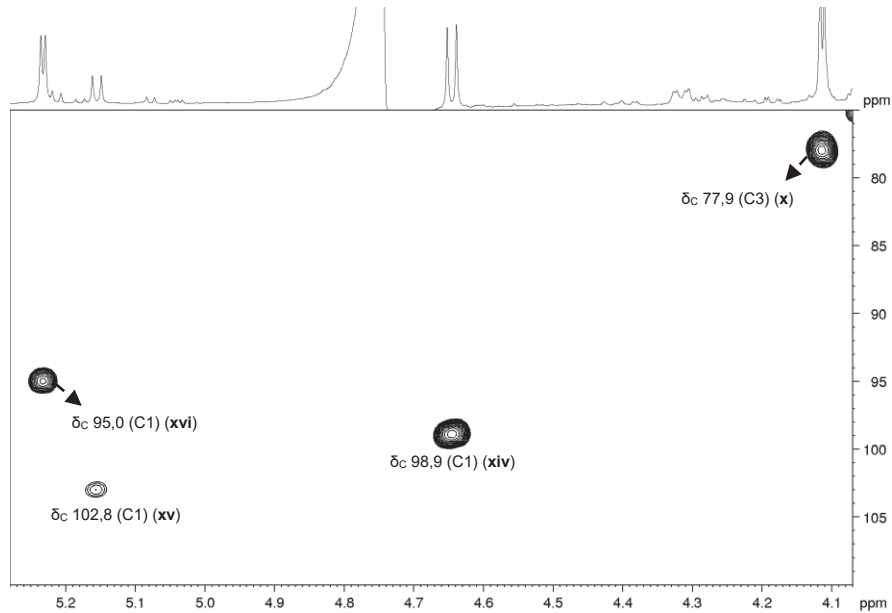
FONTE: A autora (2021).

FIGURA 61 - ESPECTRO DE RMN DE  $^1\text{H}$  ( $\delta_{\text{H}}$  4,20-5,50) DAS CASCAS DO CAULE DE *H. albus*



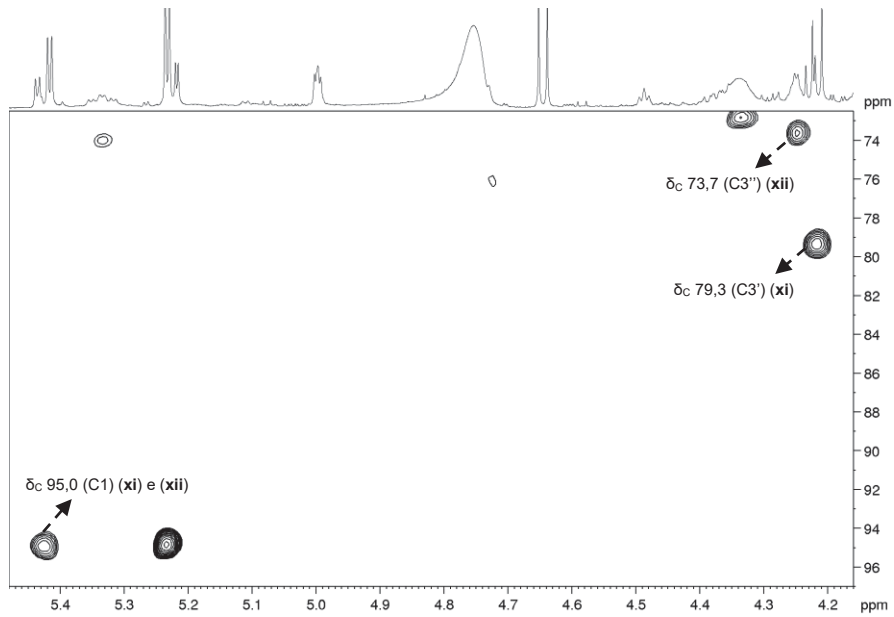
FONTE: A autora (2021).

FIGURA 62 - AMPLIAÇÃO DO MAPA DE CORRELAÇÃO DIRETA  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  (HSQC) DAS FLORES DE *H. albus* ( $^1\text{H}$ , 600 MHz;  $^{13}\text{C}$ , 150 MHz,  $\text{D}_2\text{O}/\text{TMSP-}d_4$ )



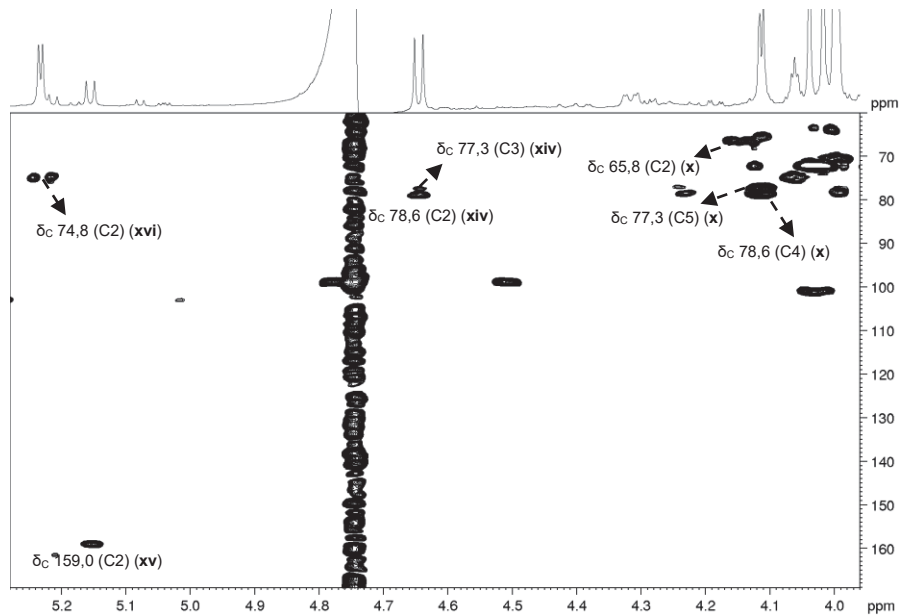
FONTE: A autora (2021).

FIGURA 63 - AMPLIAÇÃO DO MAPA DE CORRELAÇÃO DIRETA  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  (HSQC) DAS CASCAS DO CAULE DE *H. albus* ( $^1\text{H}$ , 600 MHz;  $^{13}\text{C}$ , 150 MHz,  $\text{D}_2\text{O}/\text{TMSP-d}_4$ )



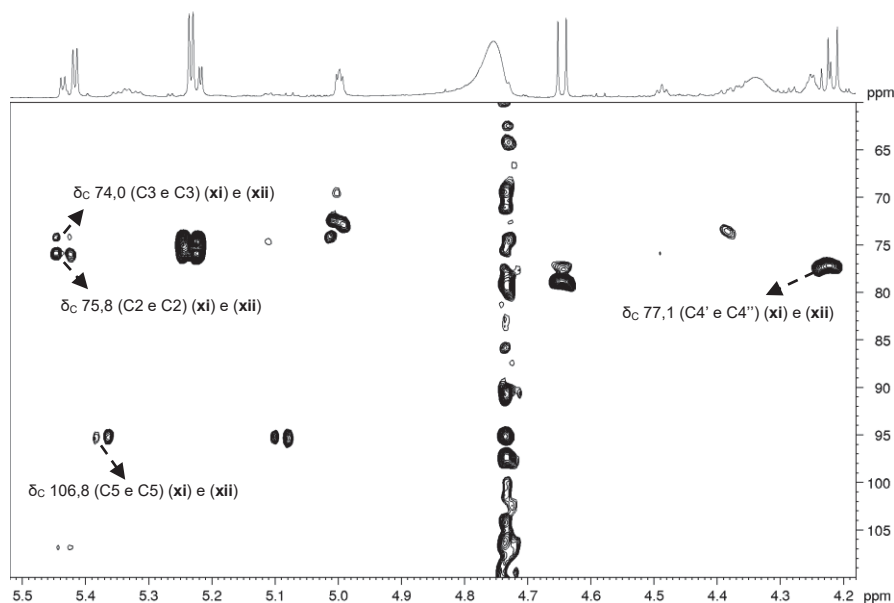
FONTE: A autora (2021).

FIGURA 64 - AMPLIAÇÃO DO MAPA DE CORRELAÇÃO A LONGA DISTÂNCIA  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  (HMBC) DAS FLORES DE *H. albus* ( $^1\text{H}$ , 600 MHz;  $^{13}\text{C}$ , 150 MHz,  $\text{D}_2\text{O}/\text{TMSP-d}_4$ )



FONTE: A autora (2021).

FIGURA 65 - AMPLIAÇÃO DO MAPA DE CORRELAÇÃO A LONGA DISTÂNCIA  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  (HMBC) DAS CASCAS DO CAULE DE *H. albus* ( $^1\text{H}$ , 600 MHz;  $^{13}\text{C}$ , 150 MHz,  $\text{D}_2\text{O}/\text{TMSP-}d_4$ )



FONTE: A autora (2021).

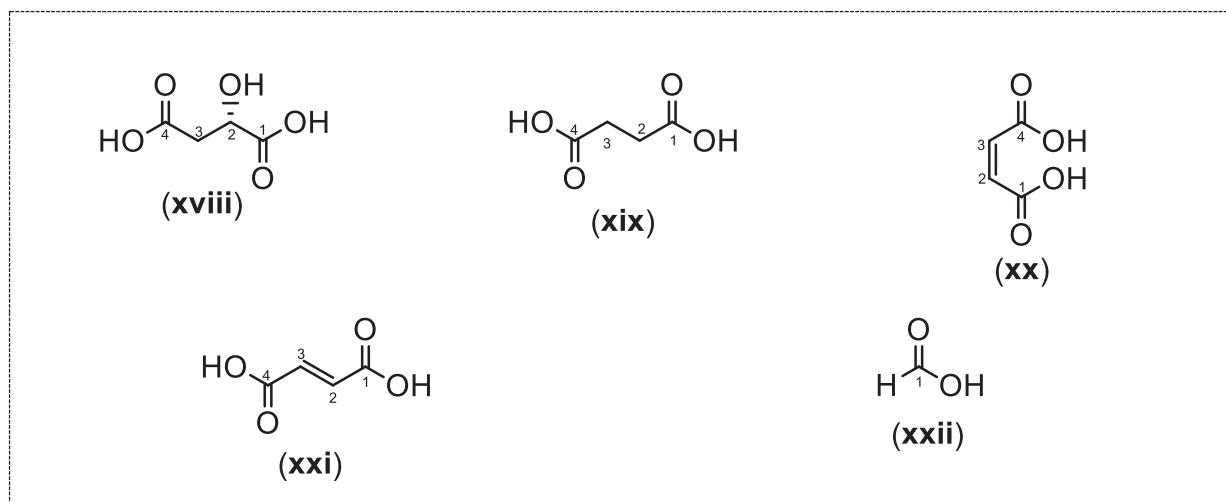
A magnitude da constante de acoplamento  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  ( $^3J$ ) é dependente do ângulo diedro entre os dois hidrogênios que estão interagindo e, juntamente com o deslocamento químico, auxiliam na identificação das características estruturais dos compostos. Na glucose, por exemplo, o hidrogênio ligado ao carbono anomérico está acoplado ao hidrogênio ligado ao C2, que resulta em um desdobramento do sinal na forma de um duplete. Como pôde ser observado, a constante de acoplamento do anômero  $\alpha$  ( $J= 3,7$ ) da glucose é menor que a do anômero  $\beta$  ( $J= 7,9$ ). Esse valor é devido ao ângulo diedro axial-equatorial, em  $\text{C}_1\text{H}$ - $\text{C}_2\text{H}$  da  $\alpha$ -glucose, que é de aproximadamente  $60^\circ$ , enquanto que para o acoplamento do hidrogênio axial-axial na  $\beta$ -glucose, o ângulo diedro  $\text{C}_1\text{H}$ - $\text{C}_2\text{H}$  é de cerca de  $180^\circ$  (DONA *et al.*, 2016; PERIYANNAN, LAWRENCE e EGAN, 2015).

#### 4.2.3 Identificação estrutural dos ácidos orgânicos

A análise do perfil espectral das amostras permitiu visualizar na região entre  $\delta_{\text{H}}$  2,00-8,50 sinais característicos de ácidos orgânicos, sendo estes referentes aos ácidos málico (xviii) [ $\delta$  2,44 (*dd*;  $J= 15,6; 9,9$ ; H-3) e 2,72 (*dd*;  $J= 15,6; 3,0$ ; H-3')], succínico (xix) [ $\delta$  2,48 (*s*; H-2/3)], maleico (xx) [ $\delta$  5,92 (*s*; H-2/3)], fumárico (xxi) [ $\delta$  6,53 (*s*; H-2/3)] e fórmico (xxii) [ $\delta$  8,46 (*s*)] (FIGURAS 66 a 70). Os valores de

deslocamento químico dos carbonos diretamente ligados a esses hidrogênios foram obtidos através do mapa de correlação direta HSQC ( $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ ) (TABELA 4) (BHATIA *et al.*, 2013).

FIGURA 66 - ÁCIDOS ORGÂNICOS IDENTIFICADOS NAS ESPÉCIES PERTENCENTES À *HANDROANTHUS E TABEBUIA*



FONTE: A autora (2021).

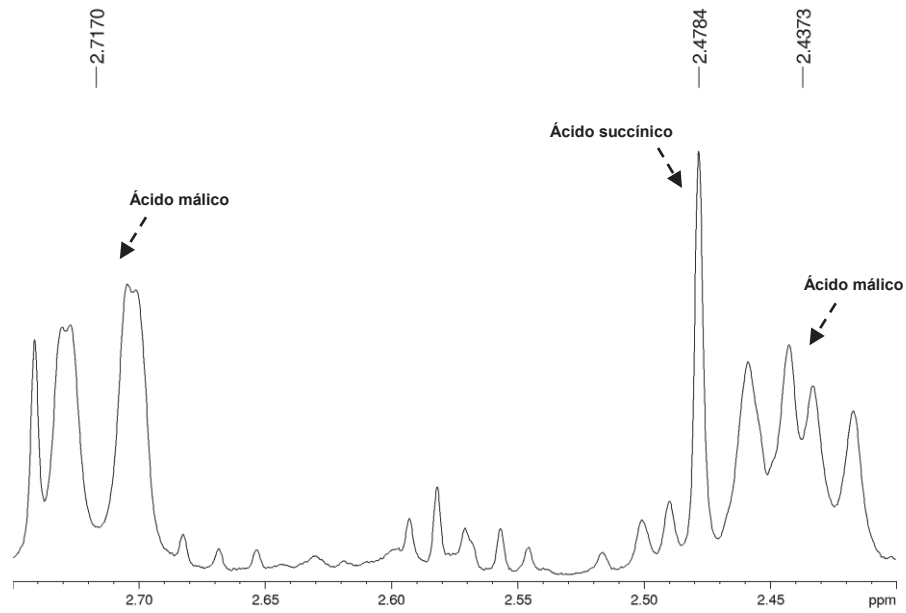
TABELA 4 - DADOS DE RMN HR-MAS DE  $^1\text{H}$  E RMN EM SOLUÇÃO PARA OS ÁCIDOS ORGÂNICOS IDENTIFICADOS NAS ESPÉCIES ESTUDADAS

	Metabólitos identificados		Literatura
	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,b}}$	HSQC <sup>b</sup>	$\delta_{\text{H}}^{\text{c}}$
(xviii)	2,44 ( <i>dd</i> , $J= 15,6; 9,9$ ) 2,72 ( <i>dd</i> , $J= 15,6; 3,0$ )	44,6 44,6	2,36 ( <i>m</i> ) 2,65 ( <i>m</i> )
(xix)	2,48 ( <i>s</i> )	35,1	2,42 ( <i>s</i> )
(xx)	5,92 ( <i>s</i> )	131,7	5,90 ( <i>s</i> )
(xxi)	6,53 ( <i>s</i> )	97,9	6,50 ( <i>s</i> )
(xxii)	8,46 ( <i>s</i> )	-	8,47 ( <i>s</i> )

FONTE: A autora (2021).

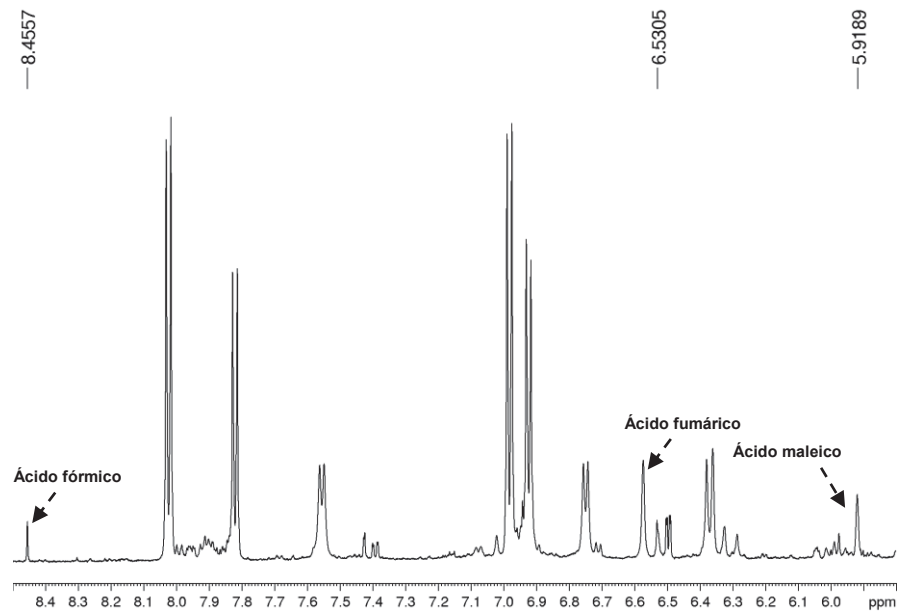
LEGENDA: <sup>a</sup>Experimento realizado a 400 MHz para  $^1\text{H}$  em  $\text{D}_2\text{O}$ . <sup>b</sup>Experimento realizado a 600 MHz para  $^1\text{H}$  e 150 MHz para  $^{13}\text{C}$  em  $\text{D}_2\text{O}$ . <sup>a,b</sup>TMS-*d*4 como padrão de referência. <sup>c</sup>Bhatia e colaboradores (2013) ( $^1\text{H}$ , 800 MHz,  $\text{D}_2\text{O}/\text{TSP}$ ).

FIGURA 67 - ESPECTRO DE RMN DE  $^1\text{H}$  ( $\delta_{\text{H}}$  2,40-2,80) DAS FLORES DE *H. heptaphyllus*



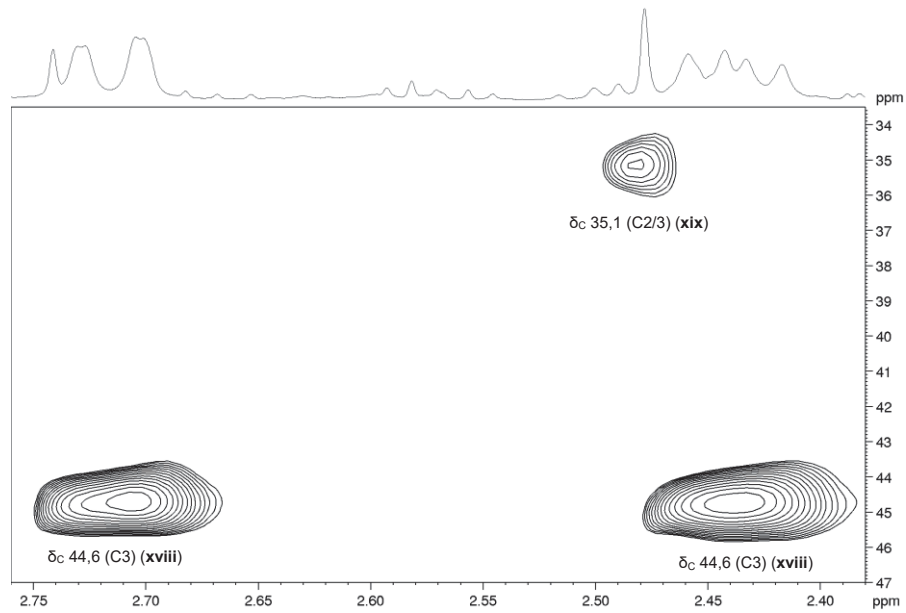
FONTE: A autora (2021).

FIGURA 68 - ESPECTRO DE RMN DE  $^1\text{H}$  ( $\delta_{\text{H}}$  5,90-8,50) DAS FLORES DE *H. heptaphyllus*



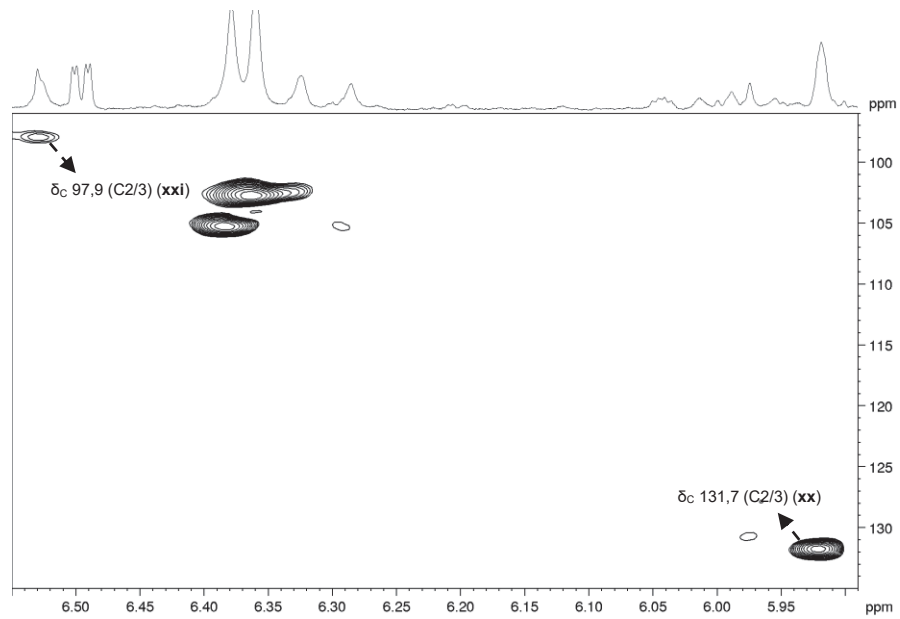
FONTE: A autora (2021).

FIGURA 69 - AMPLIAÇÃO DO MAPA DE CORRELAÇÃO DIRETA  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  (HSQC) DAS FLORES DE *H. heptaphyllus* ( $^1\text{H}$ , 600 MHz;  $^{13}\text{C}$ , 150 MHz,  $\text{D}_2\text{O}/\text{TMSP-d}_4$ )



FONTE: A autora (2021).

FIGURA 70 - AMPLIAÇÃO DO MAPA DE CORRELAÇÃO DIRETA  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  (HSQC) DAS FLORES DE *H. heptaphyllus* ( $^1\text{H}$ , 600 MHz;  $^{13}\text{C}$ , 150 MHz,  $\text{D}_2\text{O}/\text{TMSP-d}_4$ )

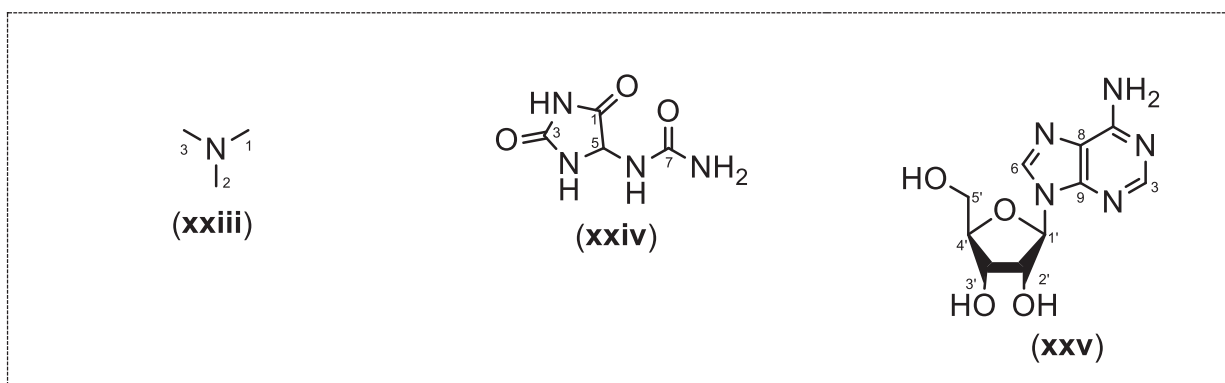


FONTE: A autora (2021).

#### 4.2.4 Identificação estrutural de compostos nitrogenados

A análise do perfil espectral das amostras permitiu visualizar a presença, na região entre  $\delta_H$  2,80-8,40, de sinais característicos dos metabólitos trimetilamina (**xxiii**) [ $\delta$  2,89 (s)], alantoína (**xxiv**) [ $\delta$  5,40 (s; H-5)] e do nucleosídeo adenosina (**xxv**) [ $\delta$  6,07 (d;  $J=5,9$ ; H-1'), 8,25 (s; H-3) e 8,33 (s; H-6)]. Os valores de deslocamento químico para os carbonos com correlação direta aos hidrogênios foram observados no mapa HSQC ( $^1H$ - $^{13}C$ ) (FIGURAS 71 a 74; TABELA 5) (ABREU *et al.*, 2018; BHATIA *et al.*, 2013).

FIGURA 71 - COMPOSTOS NITROGENADOS IDENTIFICADOS NAS ESPÉCIES PERTENCENTES À *HANDROANTHUS* E *TABEBUIA*



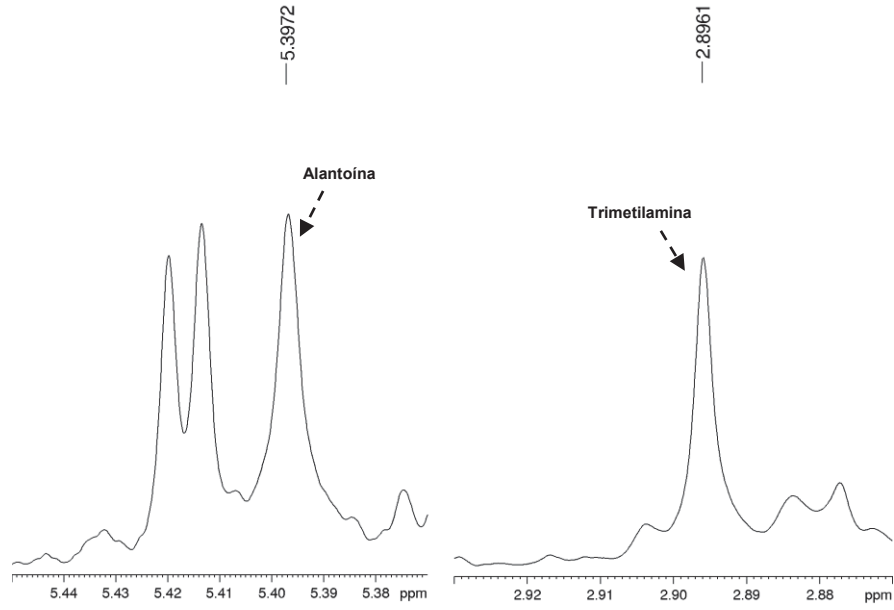
FONTE: A autora (2021).

TABELA 5 - DADOS DE RMN HR-MAS DE  $^1H$  E RMN EM SOLUÇÃO PARA OS COMPOSTOS NITROGENADOS IDENTIFICADOS NAS ESPÉCIES ESTUDADAS

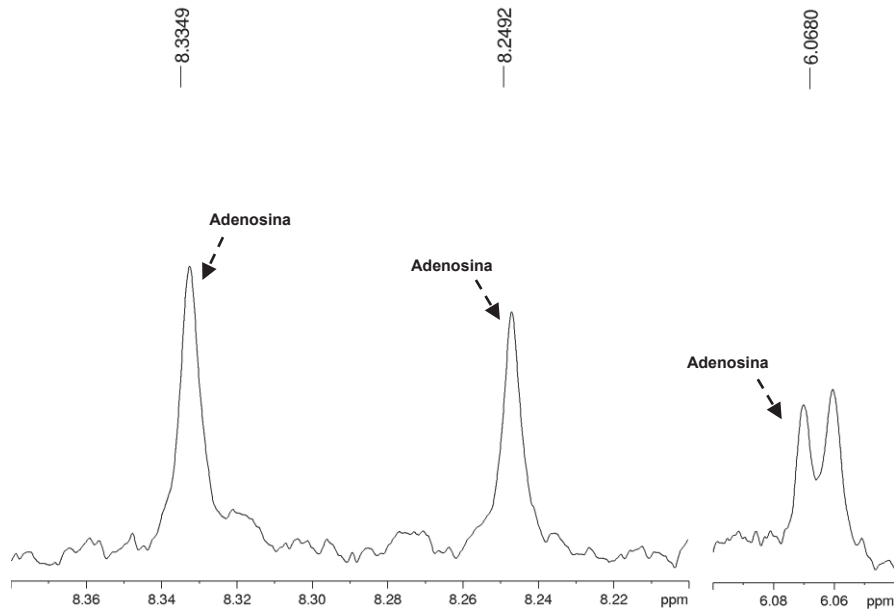
	Metabólitos identificados		Literatura
	$\delta_H^{a,b}$	HSQC <sup>b</sup>	$\delta_H^c$
( <b>xxiii</b> )	2,89 (s)	-	2,89 (s)
( <b>xxiv</b> )	5,40 (s)	66,1	5,39 (s)
( <b>xxv</b> )	6,07 (d, $J=5,9$ )	-	6,02 (d, $J=5,5$ )
	8,25 (s)	-	8,24 (s)
	8,33 (s)	-	8,35 (s)

FONTE: A autora (2021).

LEGENDA: <sup>a</sup>Experimento realizado a 400 MHz para  $^1H$  em  $D_2O$ . <sup>b</sup>Experimento realizado a 600 MHz para  $^1H$  e 150 MHz para  $^{13}C$  em  $D_2O$ . <sup>a,b</sup>TMS-*d*4 como padrão de referência. <sup>c</sup>Abreu e colaboradores (2018) [ $^1H$ , 600 MHz,  $CD_3OD:D_2O$  (50:50)/TSP (tampão pH 6.0)]; Bhatia e colaboradores (2013) ( $^1H$ , 800 MHz,  $D_2O$ /TSP).

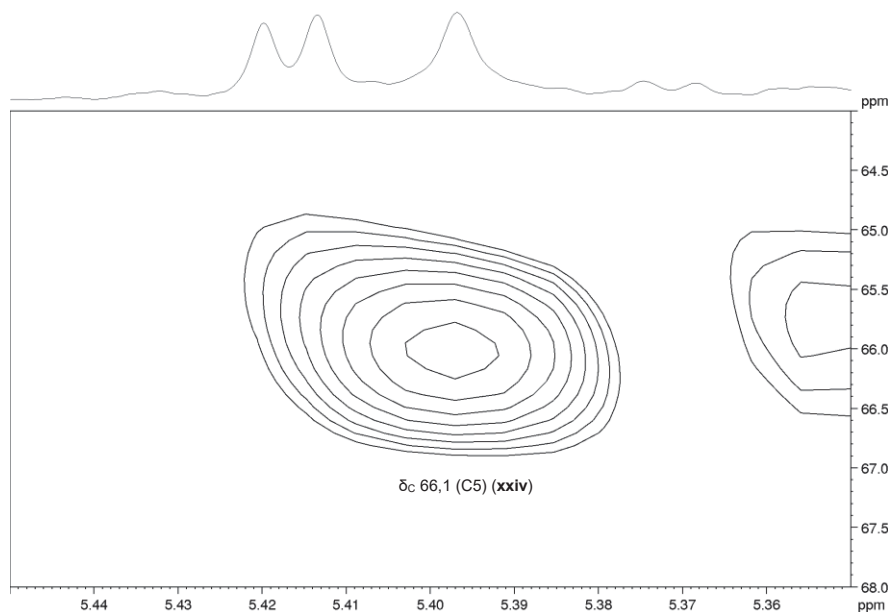
FIGURA 72 - ESPECTRO DE RMN DE  $^1\text{H}$  ( $\delta_{\text{H}}$  2,85-5,35) DAS FLORES DE *H. albus*

FONTE: A autora (2021).

FIGURA 73 - ESPECTRO DE RMN DE  $^1\text{H}$  ( $\delta_{\text{H}}$  6,00-8,40) DAS FLORES DE *T. roseoalba*

FONTE: A autora (2021).

FIGURA 74 - AMPLIAÇÃO DO MAPA DE CORRELAÇÃO DIRETA  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  (HSQC) DAS FLORES DE *H. albus* ( $^1\text{H}$ , 600 MHz;  $^{13}\text{C}$ , 150 MHz,  $\text{D}_2\text{O}/\text{TMSP-d}_4$ )



FONTE: A autora (2021).

#### 4.2.5 Identificação estrutural de ácidos fenólicos

A análise do perfil espectral das amostras permitiu visualizar na região entre  $\delta_{\text{H}}$  5,00-8,00 diversos sinais na forma de dupletos, os quais apresentaram valores de deslocamento químico característicos de ácidos fenólicos, possibilitando assim, a identificação de dois compostos pertencentes ao grupo dos ácidos hidróxibenzóicos e de três moléculas pertencentes aos ácidos hidroxicinâmicos.

##### 4.2.5.1 Ácidos hidroxibenzóicos

Através da análise do perfil espectral foi possível confirmar a presença do ácido *p*-hidroxibenzóico (**xxvi**) pelos sinais na forma de dupletos em  $\delta_{\text{H}}$  6,92 ( $J= 8,7$ , H-3 e H-5) e 7,82 ( $J= 8,7$ ; H-2 e H-6), os quais apresentaram correlação direta no mapa HSQC com os seus respectivos carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  134,0 e 117,7. Enquanto que a presença do ácido 3,4-dihidroxibenzóico (**xxvii**) foi confirmada devido a presença de um duplo duplete e de um duplete em  $\delta_{\text{H}}$  7,39 ( $J= 8,3$ ; 2,0; H-6) e 7,43 ( $J= 2,0$ ; H-2), respectivamente (FIGURAS 75 a 77; TABELA 6) (KUMAR *et al.*, 2019; LIU *et al.*, 2010).

FIGURA 75 - ÁCIDOS HIDROXIBENZÓICOS IDENTIFICADOS NAS ESPÉCIES PERTENCENTES À *HANDROANTHUS E TABEBUIA*



FONTE: A autora (2021).

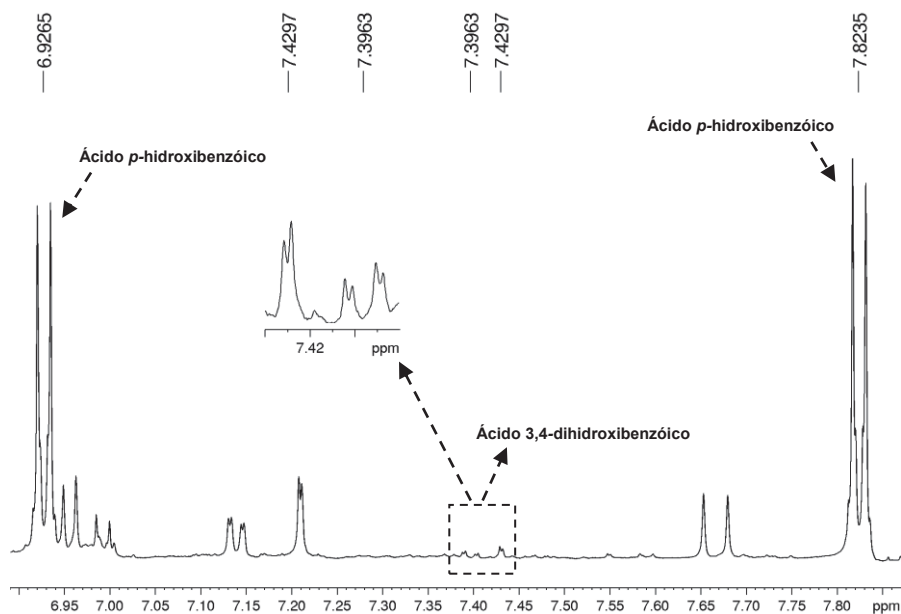
TABELA 6 - DADOS DE RMN HR-MAS DE  $^1\text{H}$  E RMN EM SOLUÇÃO PARA OS ÁCIDOS HIDROXIBENZÓICOS IDENTIFICADOS NAS ESPÉCIES ESTUDADAS

	Metabólitos identificados			Literatura
	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,b}}$	HSQC <sup>b</sup>	HMBC <sup>b</sup>	$\delta_{\text{H}}^{\text{c}}$
(xxvi)	6,92 (d, $J=8,7$ )	134,0	C1; C2; C4; C6	6,94 (d, $J=8,8$ )
	7,82 (d, $J=8,7$ )	117,7	C3; C4; C5; C7	7,92 (d, $J=8,8$ )
(xxvii)	*	-	-	6,92 (d, $J=8,2$ )
	7,39 (dd, $J=8,3; 2,0$ )	-	-	7,38 (dd, $J=8,2; 2,0$ )
	7,43 (d, $J=2,0$ )	-	-	7,44 (d, $J=2,1$ )

FONTE: A autora (2021).

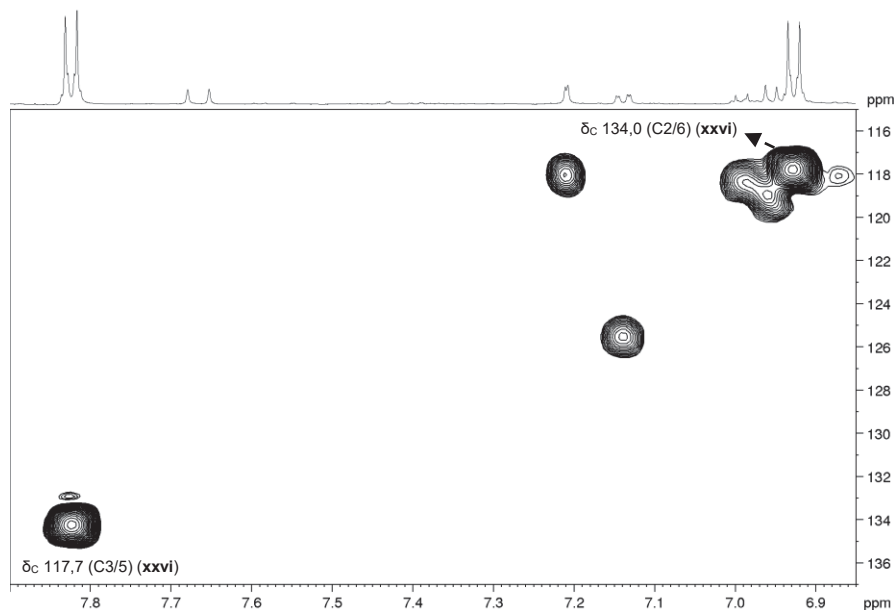
LEGENDA: \*Sinal sobreposto. <sup>a</sup>Experimento realizado a 400 MHz para  $^1\text{H}$  em  $\text{D}_2\text{O}$ . <sup>b</sup>Experimento realizado a 600 MHz para  $^1\text{H}$  e 150 MHz para  $^{13}\text{C}$  em  $\text{D}_2\text{O}$ . <sup>a,b</sup>TMSP-*d*4 como padrão de referência. <sup>c</sup>Kumar e colaboradores (2019) ( $^1\text{H}$ , 600 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}:\text{D}_2\text{O}$  (80:20)/TSP); Liu e colaboradores (2010) ( $^1\text{H}$ , 500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}:\text{D}_2\text{O}/\text{TMSP}$ ).

FIGURA 76 - ESPECTRO DE RMN DE  $^1\text{H}$  ( $\delta_{\text{H}}$  6,90-7,90) DAS CASCAS DO CAULE DE *H. albus*



FONTE: A autora (2021).

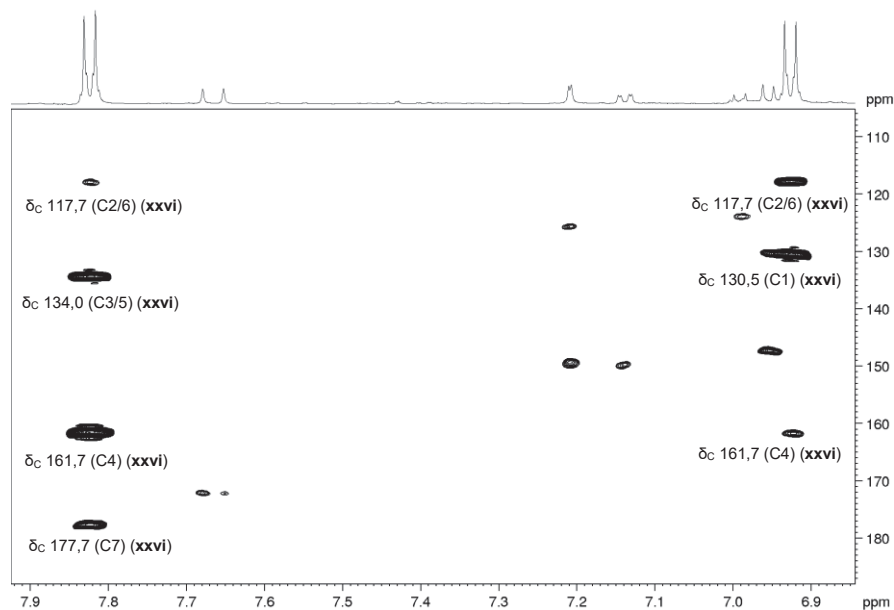
FIGURA 77 - AMPLIAÇÃO DO MAPA DE CORRELAÇÃO DIRETA  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  (HSQC) DAS CASCAS DO CAULE DE *H. albus* ( $^1\text{H}$ , 600 MHz;  $^{13}\text{C}$ , 150 MHz,  $\text{D}_2\text{O}/\text{TMSP-d}_4$ )



FONTE: A autora (2021).

A confirmação da posição da carbonila ( $\delta_{\text{C}}$  177,7; C7) na estrutura do ácido *p*-hidroxibenzóico (**xxvi**) foi possível através da visualização no mapa HMBC da correlação a longa distância desta com o sinal em  $\delta_{\text{H}}$  7,82 (*d*,  $J = 8,7$ ) referente aos hidrogênios 2 e 3 do composto (FIGURA 78).

FIGURA 78 - AMPLIAÇÃO DO MAPA DE CORRELAÇÃO A LONGA DISTÂNCIA  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  (HMBC) DAS CASCAS DO CAULE DE *H. albus* ( $^1\text{H}$ , 600 MHz;  $^{13}\text{C}$ , 150 MHz,  $\text{D}_2\text{O}/\text{TMSP-d}_4$ )



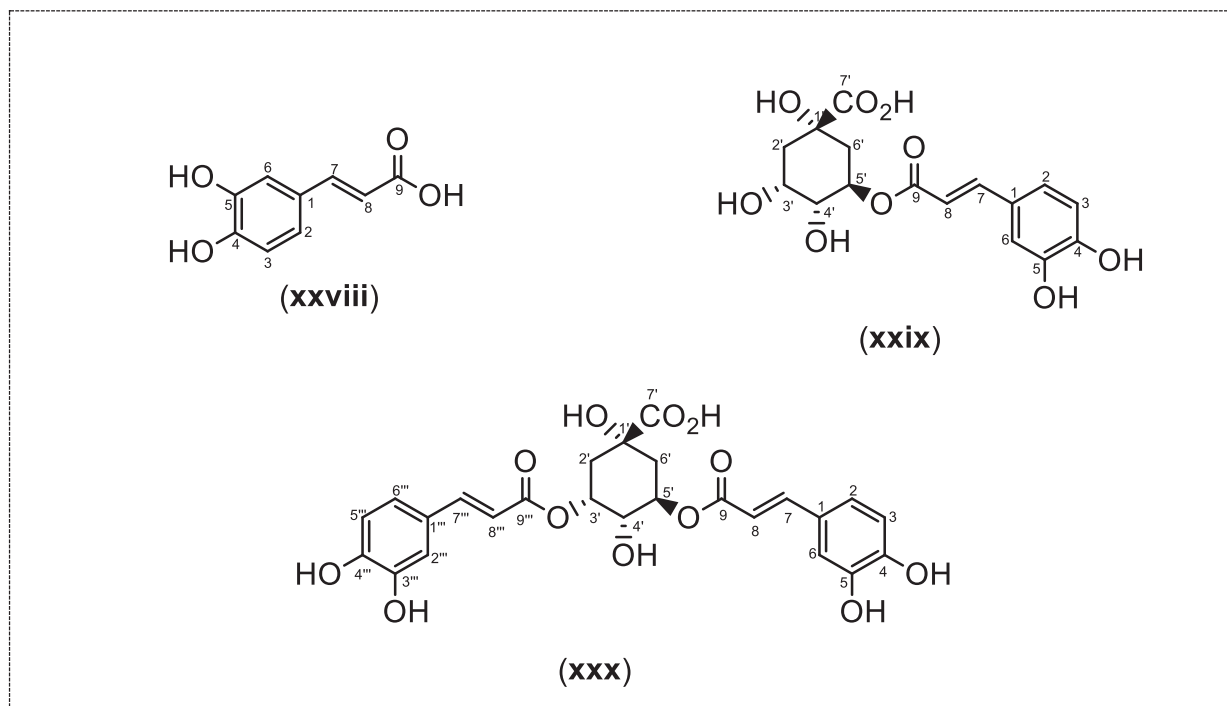
FONTE: A autora (2021).

#### 4.2.5.2 Ácidos hidroxicinâmicos

Através da análise do perfil espectral das amostras foi possível confirmar a presença do ácido cafeico (**xxviii**) pela presença de dois dupletos em  $\delta_H$  6,35 ( $J=16,0$ ; H-8) e 7,60 ( $J=16,0$ ; H-7), referentes aos hidrogênios metínicos da dupla *E*, de um duplo duplete em  $\delta_H$  7,07 ( $J=8,3$ ; 2,0; H-2) e de um duplete em  $\delta_H$  7,14 ( $J=2,0$ ; H-6), os quais apresentaram correlação direta no mapa HSQC com os carbonos em  $\delta_C$  117,5, 149,3, 125,9 e 118,1, respectivamente.

Enquanto que, a confirmação da presença do ácido 5-*O*-cafeoilquínico (**xxix**) se deu pelos sinais na forma de dupletos em  $\delta_H$  6,41 ( $J=15,9$ ; H-8) e 7,66 ( $J=15,9$ ; H-7), referentes aos hidrogênios metínicos da dupla *E*, de dois dupletos em  $\delta_H$  6,95 ( $J=8,3$ ; H-3) e 7,21 ( $J=2,0$ ; H-2) e de um duplo duplete em  $\delta_H$  7,14 ( $J=8,3$ ; 2,0; H-6), os quais apresentaram correlação direta no mapa HSQC com seus respectivos carbonos em  $\delta_C$  117,4, 149,0, 118,8, 117,9 e 125,5, além de um triplete de duplete em  $\delta_H$  5,33 ( $J=10,7$ ; 4,7; H-5'); da mesma forma, a presença do ácido 3,5-dicafeoilquínico (**xxx**) foi evidenciada pelos dupletos em  $\delta_H$  6,34 ( $J=15,9$ ; H-8'''), 6,36 ( $J=15,9$ ; H-8), 7,60 ( $J=15,9$ ; H-7''') e 7,67 ( $J=15,9$ ; H-7), referentes aos hidrogênios metínicos das duas duplas *E*, pelos dois dupletos em  $\delta_H$  7,14 ( $J=2,0$ ; H-2''') e 7,18 ( $J=2,0$ ; H-2), e pelos dois duplo duplete em  $\delta_H$  7,07 ( $J=8,3$ ; 2,0; H-6''') e 7,10 ( $J=8,3$ ; 2,0; H-6), estes sinais tiveram as correlações com seus respectivos carbonos obtidas pelo mapa de correlação direta HSQC em  $\delta_C$  116,9, 116,9, 148,9, 150,3, 118,0, 118,1, 125,5, 125,7; além de apresentarem um multiplete em 5,44 ppm (FIGURAS 79 a 85; TABELA 7) (GOGNA, HAMID e DORAI, 2015; LIU *et al.*, 2010).

FIGURA 79 - ÁCIDOS HIDROXICINÂMICOS IDENTIFICADOS NAS ESPÉCIES PERTENCENTES À *HANDROANTHUS* E *TABEBUIA*



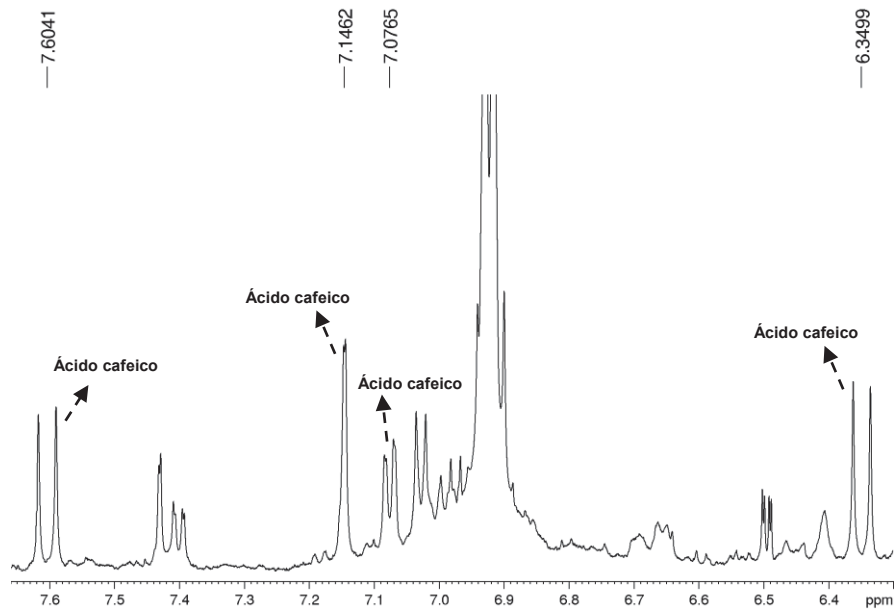
FONTE: A autora (2021).

TABELA 7 - DADOS DE RMN HR-MAS DE  $^1\text{H}$  E RMN EM SOLUÇÃO PARA OS ÁCIDOS HIDROXICINÂMICOS IDENTIFICADOS NAS ESPÉCIES ESTUDADAS

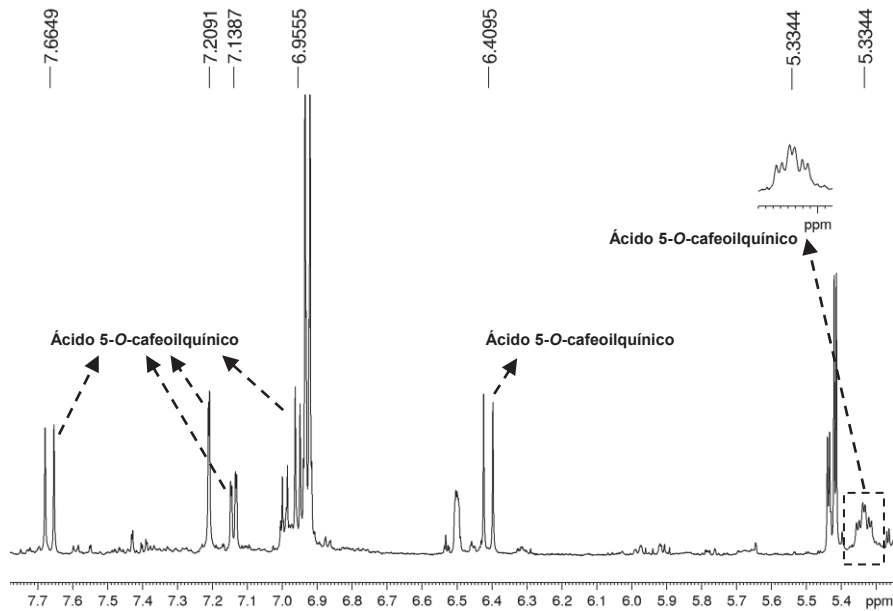
	Metabólitos identificados			Literatura
	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,b}}$	HSQC <sup>b</sup>	HMBC <sup>b</sup>	$\delta_{\text{H}}^{\text{c}}$
(xxviii)	6,35 ( <i>d</i> , <i>J</i> = 16,0) *	117,5	C1	6,31 ( <i>d</i> , <i>J</i> = 16,1)
		-	-	6,89 ( <i>d</i> , <i>J</i> = 8,4)
	7,07 ( <i>dd</i> , <i>J</i> = 8,3; 2,0)	125,9	C2; C7	7,07 ( <i>dd</i> , <i>J</i> = 8,4; 2,1)
	7,14 ( <i>d</i> , <i>J</i> = 2,0)	118,1	C5; C6; C7	7,15 ( <i>d</i> , <i>J</i> = 2,1)
(xxix)	7,60 ( <i>d</i> , <i>J</i> = 16,0)	149,3	C2; C6; C9	7,57 ( <i>d</i> , <i>J</i> = 16,1)
	5,33 ( <i>td</i> , <i>J</i> = 10,7; 4,7)	-	-	5,33 ( <i>m</i> )
	6,41 ( <i>d</i> , <i>J</i> = 15,9)	117,4	C1	6,40 ( <i>d</i> , <i>J</i> = 15,9)
	6,95 ( <i>d</i> , <i>J</i> = 8,3)	118,8	C1; C5	6,89 ( <i>d</i> , <i>J</i> = 8,2)
(xxx)	7,14 ( <i>dd</i> , <i>J</i> = 8,3; 2,0)	125,5	C2; C7	7,11 ( <i>dd</i> )
	7,21 ( <i>d</i> , <i>J</i> = 2,0)	117,9	C5; C6; C7	7,20 ( <i>d</i> , <i>J</i> = 1,6)
	7,66 ( <i>d</i> , <i>J</i> = 15,9)	149,0	C2; C6; C9	7,65 ( <i>d</i> , <i>J</i> = 15,9)
	6,34 ( <i>d</i> , <i>J</i> = 15,9)	116,9	C1'''	6,39 ( <i>d</i> , <i>J</i> = 16,1)
	6,36 ( <i>d</i> , <i>J</i> = 15,9)	116,9	C1	6,48 ( <i>d</i> , <i>J</i> = 16,1)
	*	-	-	6,83 ( <i>d</i> , <i>J</i> = 8,4)
	*	-	-	6,89 ( <i>d</i> , <i>J</i> = 8,4)
	7,07 ( <i>dd</i> , <i>J</i> = 8,3; 2,0)	125,5	C2'''; C7'''	7,07 ( <i>dd</i> , <i>J</i> = 8,4; 2,1)
	7,10 ( <i>dd</i> , <i>J</i> = 8,3; 2,0)	125,7	C2; C7	7,09 ( <i>dd</i> , <i>J</i> = 8,4; 2,1)
	7,14 ( <i>d</i> , <i>J</i> = 2,0)	118,0	C5'''; C6'''; C7'''	7,15 ( <i>d</i> , <i>J</i> = 2,1)
7,18 ( <i>d</i> , <i>J</i> = 2,0)	118,1	C5; C6; C7	7,19 ( <i>d</i> , <i>J</i> = 2,1)	
7,60 ( <i>d</i> , <i>J</i> = 15,9)	148,9	C2'''; C6'''; C9'''	7,62 ( <i>d</i> , <i>J</i> = 16,1)	
7,67 ( <i>d</i> , <i>J</i> = 15,9)	150,3	C2; C6; C9	7,65 ( <i>d</i> , <i>J</i> = 16,1)	

FONTE: A autora (2021).

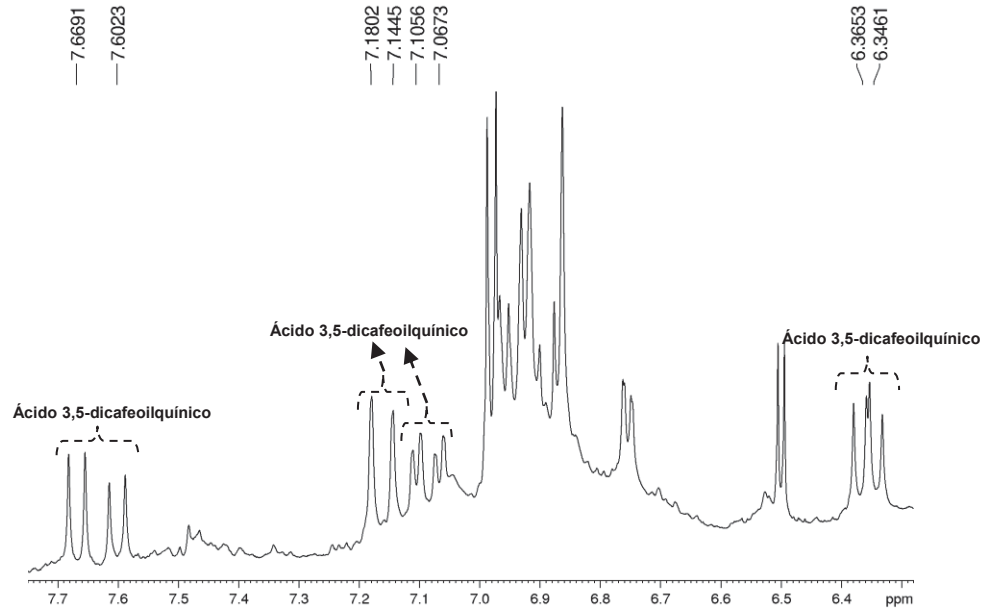
LEGENDA: \*Sinal sobreposto. <sup>a</sup>Experimento realizado a 400 MHz para  $^1\text{H}$  em  $\text{D}_2\text{O}$ . <sup>b</sup>Experimento realizado a 600 MHz para  $^1\text{H}$  e 150 MHz para  $^{13}\text{C}$  em  $\text{D}_2\text{O}$ . <sup>a,b</sup>TMSP-*d*4 como padrão de referência. <sup>c</sup>Gogna, Hamid e Dorai (2015) ( $^1\text{H}$ , 600 MHz, MeOD: $\text{D}_2\text{O}$  (tampão  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )/TMSP); Liu e colaboradores (2010) ( $^1\text{H}$ , 500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}:\text{D}_2\text{O}$ /TMSP).

FIGURA 80 - ESPECTRO DE RMN DE  $^1\text{H}$  ( $\delta_{\text{H}}$  6,30-7,70) DAS FOLHAS DE *H. heptaphyllus*

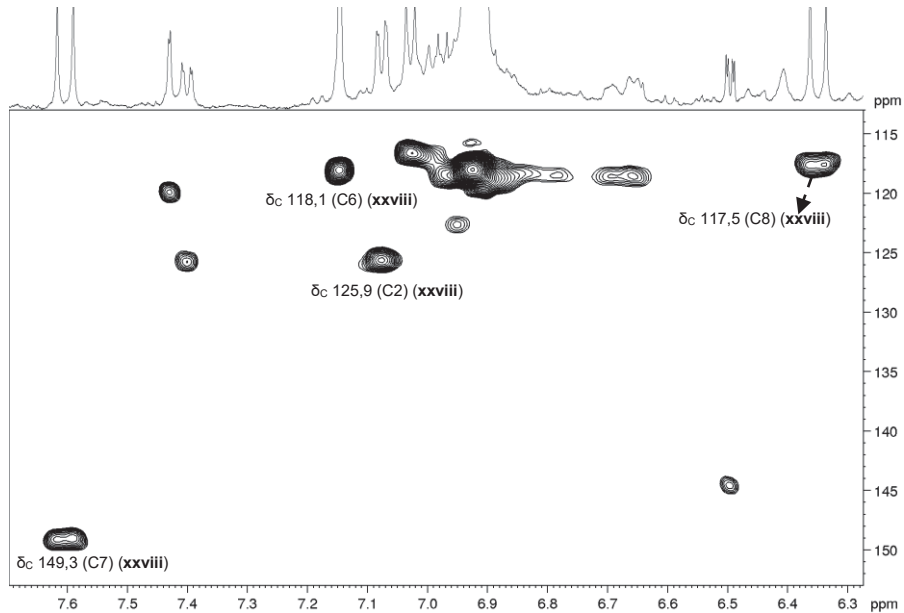
FONTE: A autora (2021).

FIGURA 81 - ESPECTRO DE RMN DE  $^1\text{H}$  ( $\delta_{\text{H}}$  5,30-7,80) DAS CASCAS DO CAULE DE *H. albus*

FONTE: A autora (2021).

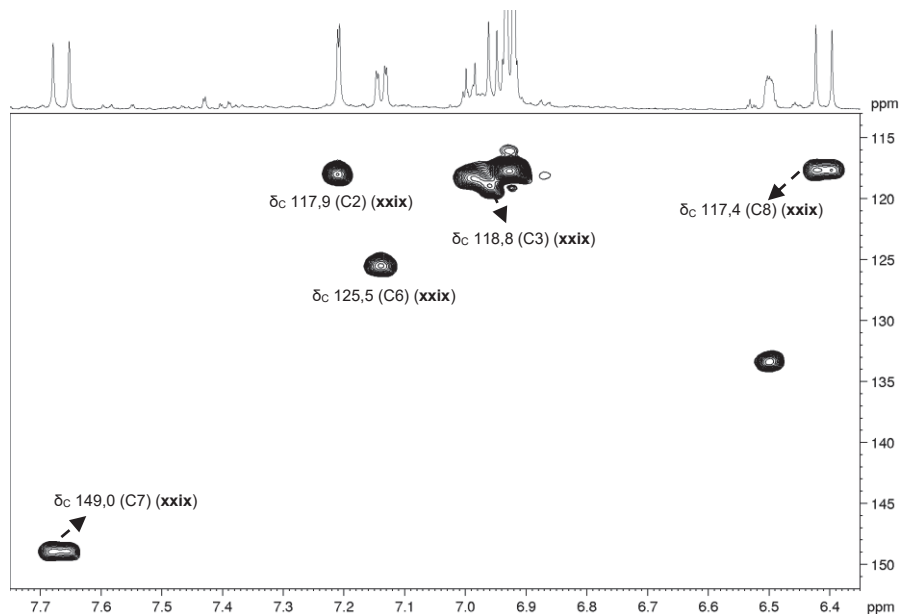
FIGURA 82 - ESPECTRO DE RMN DE  $^1\text{H}$  ( $\delta_{\text{H}}$  6,20-7,80) DAS FOLHAS DE *H. catarinensis*

FONTE: A autora (2021).

FIGURA 83 - AMPLIAÇÃO DO MAPA DE CORRELAÇÃO DIRETA  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  (HSQC) DAS FOLHAS DE *H. heptaphyllus* ( $^1\text{H}$ , 600 MHz;  $^{13}\text{C}$ , 150 MHz,  $\text{D}_2\text{O}/\text{TMS-}d_4$ )

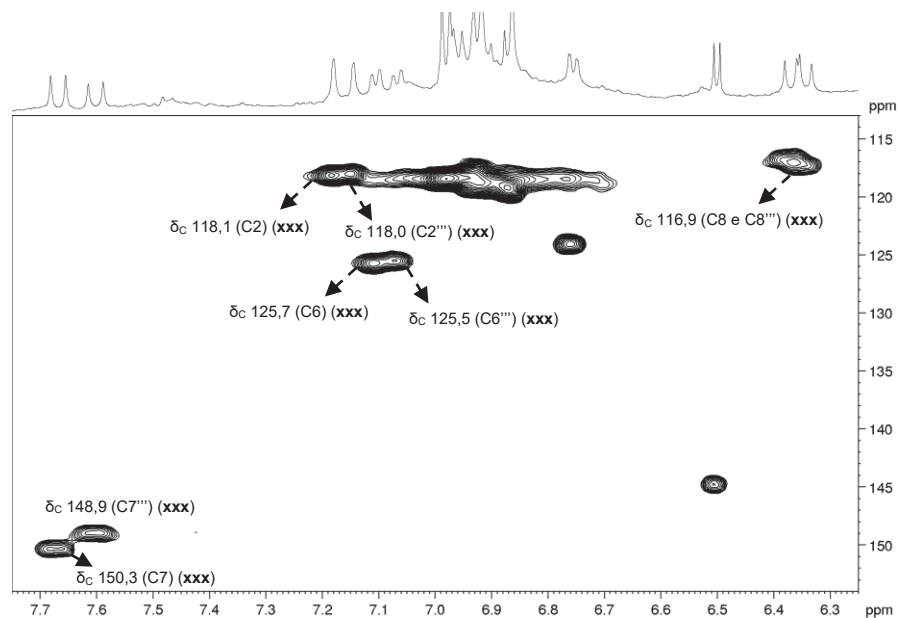
FONTE: A autora (2021).

FIGURA 84 - AMPLIAÇÃO DO MAPA DE CORRELAÇÃO DIRETA  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  (HSQC) DAS CASCAS DO CAULE DE *H. albus* ( $^1\text{H}$ , 600 MHz;  $^{13}\text{C}$ , 150 MHz,  $\text{D}_2\text{O}/\text{TMSP-d}_4$ )



FONTE: A autora (2021).

FIGURA 85 - AMPLIAÇÃO DO MAPA DE CORRELAÇÃO DIRETA  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  (HSQC) DAS FOLHAS DE *H. catarinensis* ( $^1\text{H}$ , 600 MHz;  $^{13}\text{C}$ , 150 MHz,  $\text{D}_2\text{O}/\text{TMSP-d}_4$ )

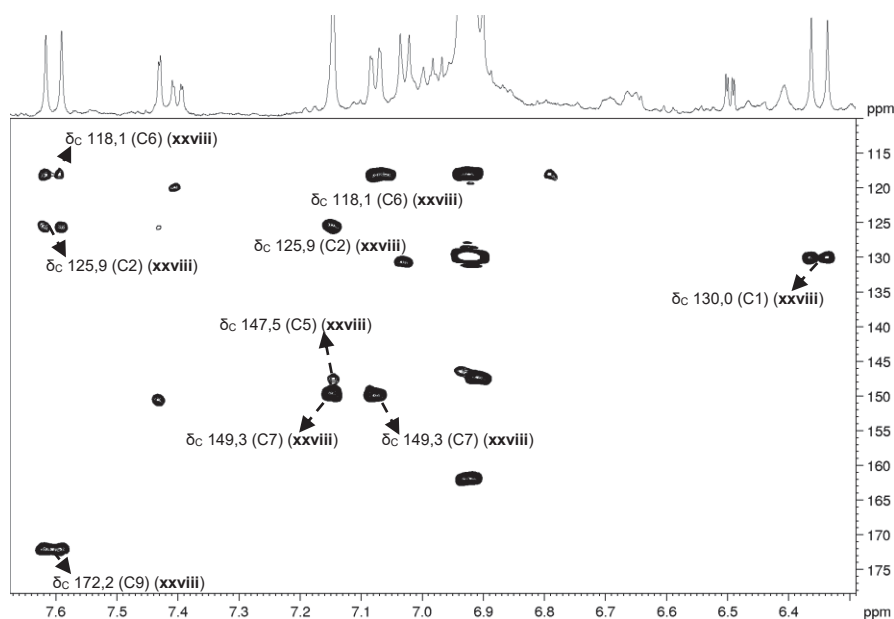


FONTE: A autora (2021).

A confirmação das posições das duplas *E* nas estruturas dos ácidos cafeico (**xxviii**), 5-*O*-cafeoilquínico (**xxix**) e 3,5-dicafeoilquínico (**xxx**) se deu pela análise do mapa de correlação a longa distância HMBC, onde visualizou-se a correlação entre o hidrogênio na posição 7 com os carbonos do anel aromático  $\delta_c$  118,1 (C6), 125,9

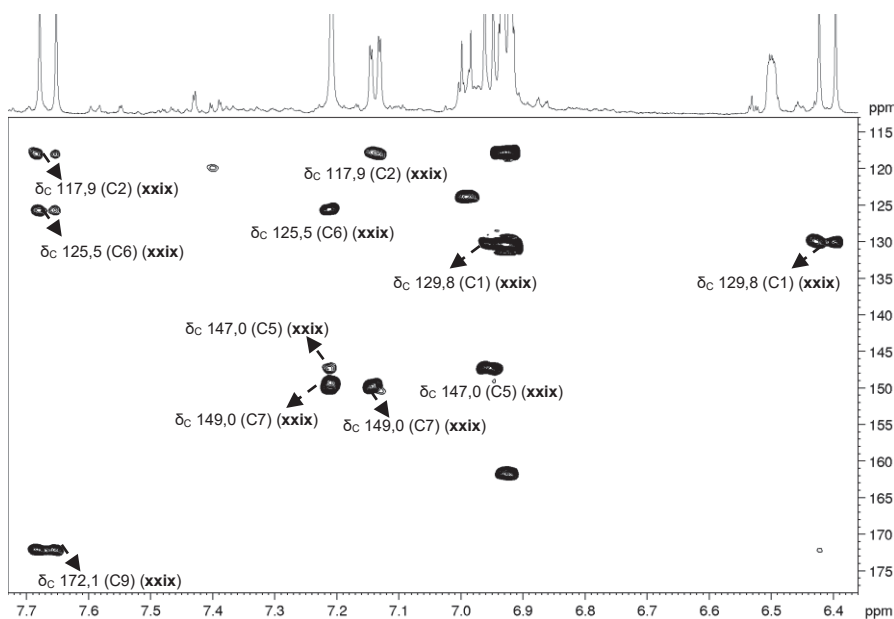
(C2) e com a carbonila em  $\delta_c$  172,2 (C9) (FIGURA 86), do hidrogênio na posição 7 com os carbonos do anel aromático  $\delta_c$  117,9 (C2), 125,5 (C6) e com a carbonila em  $\delta_c$  172,1 (C9) (FIGURA 87), e dos hidrogênios nas posições 7 e 7''' com os carbonos do anel aromático  $\delta_c$  118,1 (C2), 118,0 (C2'''), 125,7 (C6), 125,5 (C6''') e com a carbonila em  $\delta_c$  171,1 (C9) e 171,7 (C9''') (FIGURA 88), respectivamente.

FIGURA 86 - AMPLIAÇÃO DO MAPA DE CORRELAÇÃO A LONGA DISTÂNCIA  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  (HMBC) DAS CASCAS DO CAULE DE *H. albus* ( $^1\text{H}$ , 600 MHz;  $^{13}\text{C}$ , 150 MHz,  $\text{D}_2\text{O}/\text{TMSP-}d_4$ )



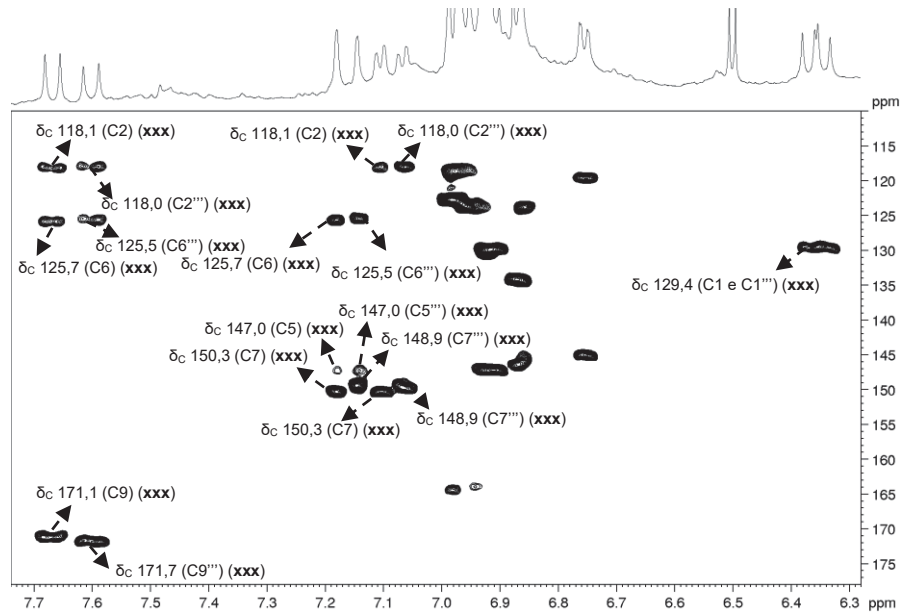
FONTE: A autora (2021).

FIGURA 87 - AMPLIAÇÃO DO MAPA DE CORRELAÇÃO A LONGA DISTÂNCIA  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  (HMBC) DAS CASCAS DO CAULE DE *H. albus* ( $^1\text{H}$ , 600 MHz;  $^{13}\text{C}$ , 150 MHz,  $\text{D}_2\text{O}/\text{TMSP-}d_4$ )



FONTE: A autora (2021).

FIGURA 88 - AMPLIAÇÃO DO MAPA DE CORRELAÇÃO A LONGA DISTÂNCIA  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  (HMBC) DAS FOLHAS DE *H. catarinensis* ( $^1\text{H}$ , 600 MHz;  $^{13}\text{C}$ , 150 MHz,  $\text{D}_2\text{O}/\text{TMSP-d}_4$ )

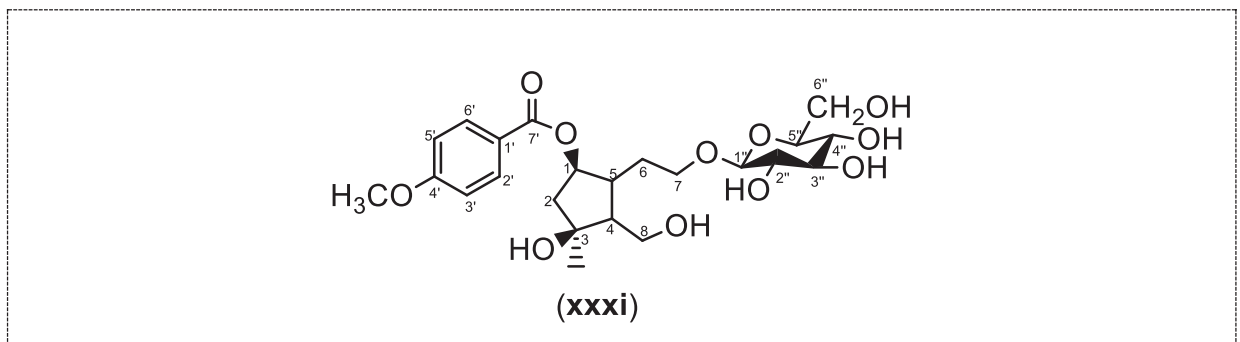


FONTE: A autora (2021).

#### 4.2.6 Identificação estrutural do glicosídeo iridoide

Através da análise dos perfis espectrais foi possível confirmar a presença do composto 6-O-(4-metoxibenzoil)-crescentin IV 3-O- $\beta$ -D-glucopiranosídeo (**xxxi**), devido aos sinais na forma de dupletos em  $\delta_{\text{H}}$  6,98 ( $J = 8,8$ ; H-3' e H-5') e 8,02 ( $J = 8,8$ ; H-2' e H-6'), referentes aos hidrogênios do anel aromático do grupamento benzoil, os quais apresentaram correlação direta no mapa HSQC com os carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  118,4 e 135,5, respectivamente (FIGURAS 89 a 91; TABELA 8) (WARASHINA, NAGATANI e NORO, 2005).

FIGURA 89 - GLICOSÍDEO IRIDOIDE IDENTIFICADO NAS ESPÉCIES PERTENCENTES À *HANDROANTHUS E TABEBUIA*



FONTE: A autora (2021).

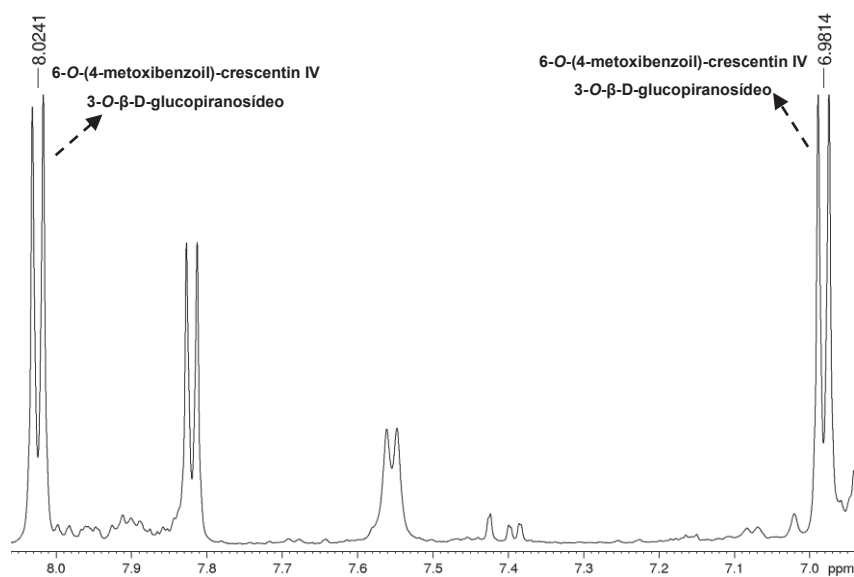
TABELA 8 - DADOS DE RMN HR-MAS DE  $^1\text{H}$  E RMN EM SOLUÇÃO PARA O GLICOSÍDEO IRIDOIDE IDENTIFICADO NAS ESPÉCIES ESTUDADAS

	Metabólitos identificados			Literatura	
	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,b}}$	HSQC <sup>b</sup>	HMBC <sup>b</sup>	$\delta_{\text{H}}^{\text{c}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{c}}$
(i)	*	-	-	3,86 (s; -OCH <sub>3</sub> )	165,1
	6,98 (d, $J=8,8$ )	118,4	C1'	6,98 (d, $J=9,0$ )	114,7
	8,02 (d, $J=8,8$ )	135,5	C4'; C7'	8,01 (d, $J=9,0$ )	132,7

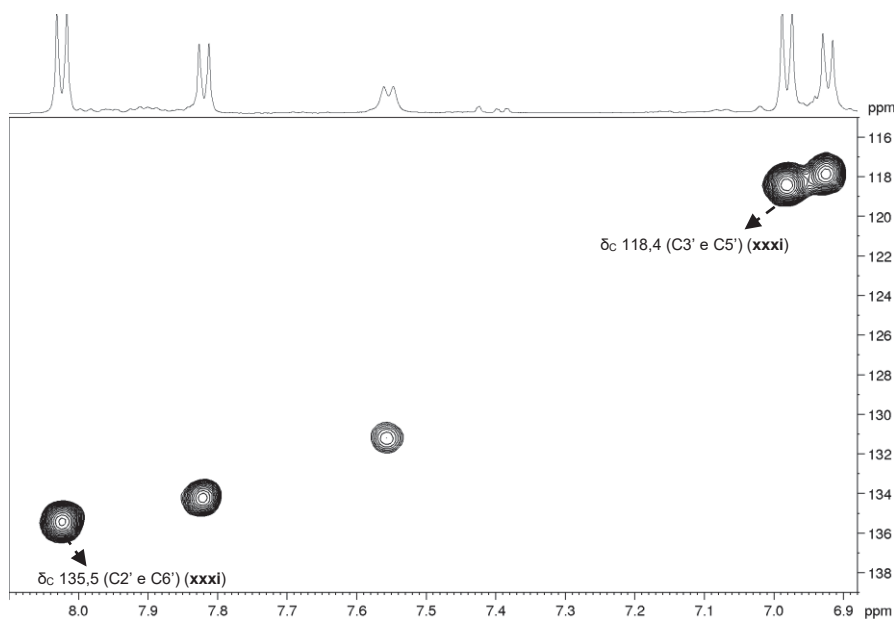
FONTE: A autora (2021).

LEGENDA: \*Sinal sobreposto. <sup>a</sup>Experimento realizado a 400 MHz para  $^1\text{H}$  em D<sub>2</sub>O. <sup>b</sup>Experimento realizado a 600 MHz para  $^1\text{H}$  e 150 MHz para  $^{13}\text{C}$  em D<sub>2</sub>O. <sup>a,b</sup>TMSP-*d*4 como padrão de referência.

<sup>c</sup>Warashina, Nagatani e Noro (2005) ( $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , MeOD-*d*4/TMS).

FIGURA 90 - ESPECTRO DE RMN DE  $^1\text{H}$  ( $\delta_{\text{H}}$  6,90-8,10) DAS FLORES DE *H. heptaphyllus*

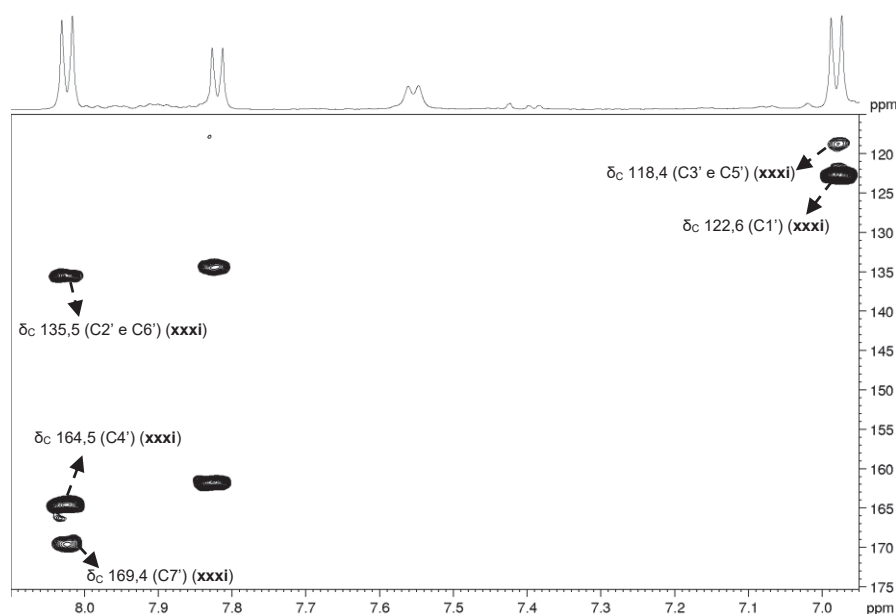
FONTE: A autora (2021).

FIGURA 91 - AMPLIAÇÃO DO MAPA DE CORRELAÇÃO DIRETA  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  (HSQC) DAS FLORES DE *H. heptaphyllus* ( $^1\text{H}$ , 600 MHz;  $^{13}\text{C}$ , 150 MHz, D<sub>2</sub>O/TMSP-*d*4)

FONTE: A autora (2021).

A confirmação da estrutura do glicosídeo iridoide (**xxxix**) se deu pela análise do mapa de correlação a longa distância HMBC, onde visualizou-se a correlação entre os hidrogênios nas posições 3' e 5' com o carbono quaternário em  $\delta_c$  122,6 (C1'), e dos hidrogênios nas posições 2' e 6' com o carbono em  $\delta_c$  164,5 (4') e com a carbonila de éster em  $\delta_c$  169,4 (C7') (FIGURA 92).

FIGURA 92 - AMPLIAÇÃO DO MAPA DE CORRELAÇÃO A LONGA DISTÂNCIA  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  (HMBC) DAS FLORES DE *H. heptaphyllus* ( $^1\text{H}$ , 600 MHz;  $^{13}\text{C}$ , 150 MHz,  $\text{D}_2\text{O}/\text{TMSP}-d_4$ )



FONTE: A autora (2021).

### 4.3 ANÁLISES QUIMIOMÉTRICAS

As análises quimiométricas foram empregadas para investigar as possíveis diferenças e similaridades entre as espécies de *Handroanthus* e *Tabebuia* baseadas na composição química de suas flores, de forma a auxiliar na classificação desses táxons através da quimiotaixonomia.

Os espectros de RMN HR-MAS de  $^1\text{H}$  são adquiridos com uma grande quantidade de variáveis (ou seja, os pontos utilizados na digitalização dos FIDs), assim, um único sinal é representado por inúmeros pontos. Para reduzir a dimensionalidade dos dados obtidos, os espectros são convertidos na forma de *buckets*, que se tornam as novas variáveis utilizadas nas análises quimiométricas.

O processo de *bucketing* consiste na divisão dos espectros em pequenos intervalos de tamanhos, os quais são previamente definidos, de modo que a área

sob cada região espectral substituiu as intensidades. Além disso, a conversão dos espectros em *buckets* permite superar, em parte, a variabilidade normal do deslocamento químico das frequências de ressonância que ocorrem, por exemplo, em função das diferenças de concentração das amostras e pH.

Nesse trabalho, os *buckets* foram utilizados com um tamanho de 0,05 ppm para as análises multivariadas empregando PCA e HCA. Para o pré-tratamento dos espectros de RMN HR-MAS foi escolhido o escalamento em relação à área total dos *buckets*, o qual normaliza as integrais de cada *bucket* em relação à área total dos *buckets* de um espectro, de forma que as quantidades de massa de cada amostra, inserida no rotor de RMN HR-MAS, não influencie nas análises quimiométricas. Além disso, a área dos *buckets* foi determinada através do modo de integração especial, bem como, todos os espectros tiveram as linhas de base e as fases corrigidas manualmente (SPRAUL *et al.*, 2005).

#### 4.3.1 Análise de Componentes Principais dos espectros de RMN HR-MAS das flores

Inicialmente, a Análise de Componentes Principais (PCA) foi empregada com a finalidade de discriminar os gêneros *Handroanthus* e *Tabebuia* em função do perfil espectral obtido por RMN HR-MAS de  $^1\text{H}$  das espécies *H. albus*, *H. catarinensis*, *H. chrysotrichus*, *H. heptaphyllus*, *H. impetiginosus*, *H. ochraceus*, *H. pulcherrimus*, *H. serratifolius*, *T. cassinoides* e *T. roseoalba*, buscando averiguar quais variáveis (isto é, os sinais presentes nos espectros de RMN HR-MAS de  $^1\text{H}$ ), podem vir a ser utilizadas na quimiosistemática destes gêneros.

Em geral, a concentração dos metabólitos nas plantas pode variar em muitas ordens de magnitude. Dentre os pré-processamentos testados, o escalamento por unidade de variância (ou autoescalamento) da região espectral de 5,35-8,40 ppm, a qual apresenta sinais para composto olefínicos e aromáticos, permitiu um claro agrupamento das amostras, considerando a influência tanto dos compostos de menor intensidade quanto dos metabólitos majoritários.

Cabe mencionar que outras regiões dos espectros foram analisadas, sendo estas de 0,30-10,30 ppm e de 5,35-10,30 ppm, porém foram observados resultados semelhantes aos obtidos empregando a região espectral escolhida para a discussão. Assim, pôde-se entender que as diferenças mais relevantes, as quais são responsáveis por discriminar os gêneros *Handroanthus* e *Tabebuia*, estão baseadas

nos sinais característicos de compostos olefínicos e aromáticos presentes na região espectral de 5,35-8,40 ppm.

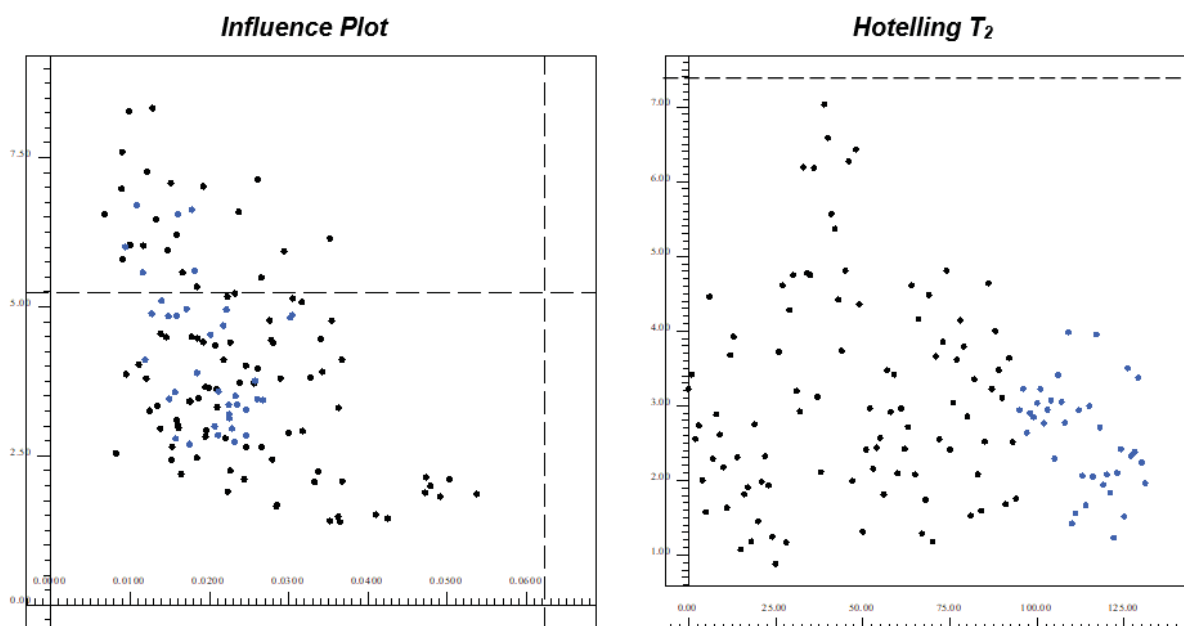
O escalamento dos espectros por unidade de variância emprega o desvio padrão como um fator de escalamento. Neste processamento, o valor médio de cada variável do conjunto de dados é subtraído seguida da divisão do desvio padrão de cada variável. Dessa maneira, a contribuição dos sinais majoritários é reduzida, enquanto os sinais minoritários são aumentados (FERREIRA, 2015).

A PCA, além de verificar a inter-relação entre as amostras, possibilita também o reconhecimento de amostras com comportamento anômalo, denominadas *outliers*. Esta averiguação é realizada através de dois gráficos: *influence plot* e *Hottelling T<sub>2</sub>*.

Neste trabalho foi considerado um limite de 95% de confiança. Assim, as amostras que estiverem fora dessas linhas podem ser consideradas *outliers* em potencial.

A análise dos gráficos de *influence plot* e *Hottelling T<sub>2</sub>* possibilitou observar a presença de amostras anômalas (FIGURA 93). Contudo, foi realizada a inspeção visual dos espectros de forma a averiguar se realmente essas amostras podem ser consideradas *outliers*. Como não foi encontrada nenhuma justificativa plausível para a exclusão dos dados, após a verificação da largura dos sinais e da presença de sinais de solventes, constatou-se que as amostras não representam *outliers*, sendo, portanto, mantidas no conjunto amostral.

FIGURA 93 - INFLUENCE PLOT E HOTTELING  $T_2$  DAS DIFERENTES ESPÉCIES DE *HANDROANTHUS* E *TABEBUIA*

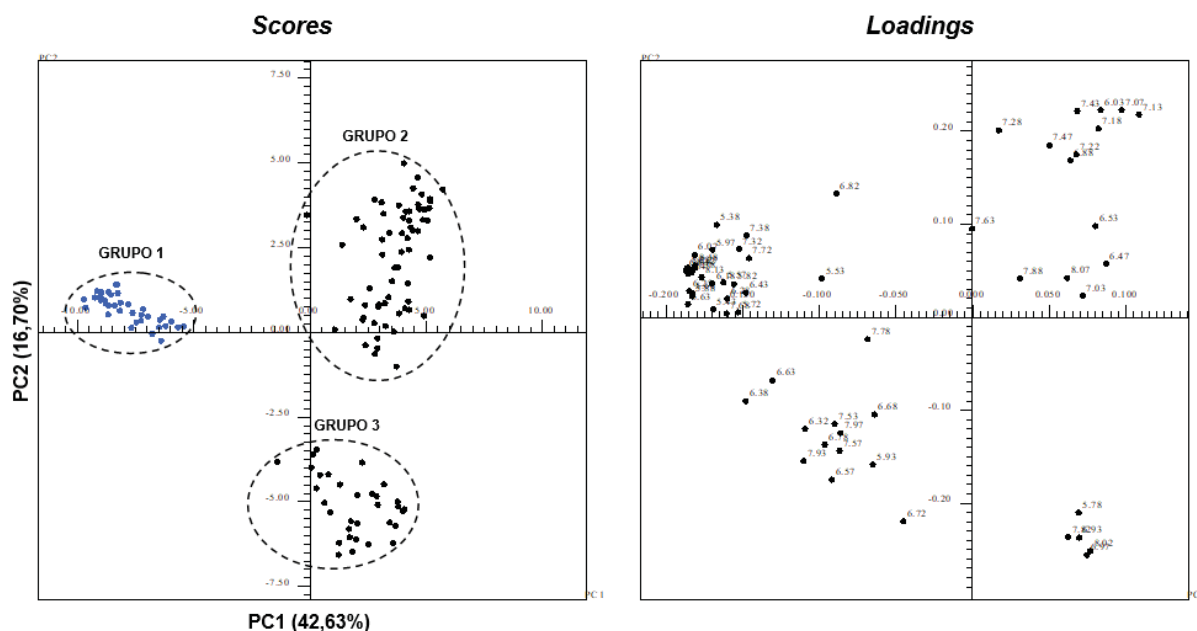


FONTE: A autora (2021).

Através dos gráficos de *scores* e *loadings* relativos à PCA para as espécies de *Handroanthus* e *Tabebuia* verificou-se que a primeira componente principal (PC1) descreveu 42,63% da variância dos dados, a segunda componente principal (PC2) 16,70% e a terceira componente principal (PC3) 9,90%, totalizando 69,23%. A análise dos gráficos de *scores* (PC1 x PC2 e PC1 x PC3), apresentou a formação de três grupos distintos.

Em PC1 foi possível observar a discriminação dos gêneros *Tabebuia* (Grupo 1) e *Handroanthus* (Grupos 2 e 3). Enquanto que, em PC2 foi verificada a diferenciação entre as espécies do gênero *Handroanthus* em relação a coloração da corola destas (amarelos e rosa). Em outras palavras, o grupo 2 foi constituído especificamente pelos ipês amarelos, representados pelas espécies *H. albus*, *H. catarinensis*, *H. chrysotrichus*, *H. ochraceus*, *H. pulcherrimus* e *H. serratifolius*, já o grupo 3 foi composto pelos ipês rosa, representados pelas espécies *H. heptaphyllus* e *H. impetiginosus*. O resultado obtido embasa os estudos anteriormente realizados que propuseram a reclassificação dessas espécies, visto que, realmente há diferença na composição química destes dois gêneros (FIGURA 94).

FIGURA 94 - GRÁFICO DE SCORES DE PC1 VERSUS PC2 UTILIZANDO AS AMOSTRAS COLETADAS DAS ESPÉCIES DE *HANDROANTHUS* E *TABEBUIA*



FONTE: A autora (2021).

LEGENDA: Gráfico de *loadings* de PC1 versus PC2 explicando a influência das variáveis na distribuição das amostras apresentadas nos *scores*.

A investigação dos metabólitos responsáveis pela distinção entre os grupos pôde ser realizada através da análise do gráfico de *loadings* (PC1 x PC2 e PC1 x PC3). Este permitiu observar que um conjunto de compostos químicos majoritários e minoritários foi responsável pela discriminação das espécies empregadas no estudo. Entretanto, a discussão se limitou aos compostos químicos que foram identificados até o momento.

A análise do gráfico de *loadings* (PC1 x PC2) do material botânico das espécies de *Handroanthus* e *Tabebuia* permitiu inferir que os compostos adenosina (**xxv**) (*buckets* em  $\delta_H$  6,07, 8,23 e 8,32) e ácido maleico (*buckets* em  $\delta_H$  5,93), influenciaram na discriminação das duas espécies de *Tabebuia* das demais. Enquanto que, a diferenciação das espécies de ipês amarelos foi influenciada pelo ácido fumárico (**xxi**) (*bucket* em  $\delta_H$  6,53), tirosina (**ix**) (*buckets* em  $\delta_H$  6,88 e 7,22), bem como pelo ácido 3,4-dihidroxibenzóico (**xxvii**) (*buckets* em  $\delta_H$  7,43 e 7,47).

O agrupamento das espécies de ipês rosa (*H. heptaphyllus* e *H. impetiginosus*) foi influenciado pelo ácido *p*-hidroxibenzóico (**xxvi**) (*buckets* em  $\delta_H$  6,93 e 7,82) e pelo glicosídeo iridoide 6-O-(4-metoxibenzoil)-crescentin IV 3-O- $\beta$ -D-glucopiranosídeo (**xxx**) (*buckets* em  $\delta_H$  6,97 e 8,02).



O agrupamento das espécies de ipês amarelos (*H. albus*, *H. catarinensis* e *H. serratifolius*) foi influenciado pelos ácidos 3,4-dihidroxibenzoico (**xxvii**) (*buckets* em  $\delta_H$  7,43 e 7,47), *p*-hidroxibenzoico (**xxvi**) (*buckets* em  $\delta_H$  6,93 e 7,82) e fumárico (**xxi**) (*bucket* em  $\delta_H$  6,53) (Grupo 3).

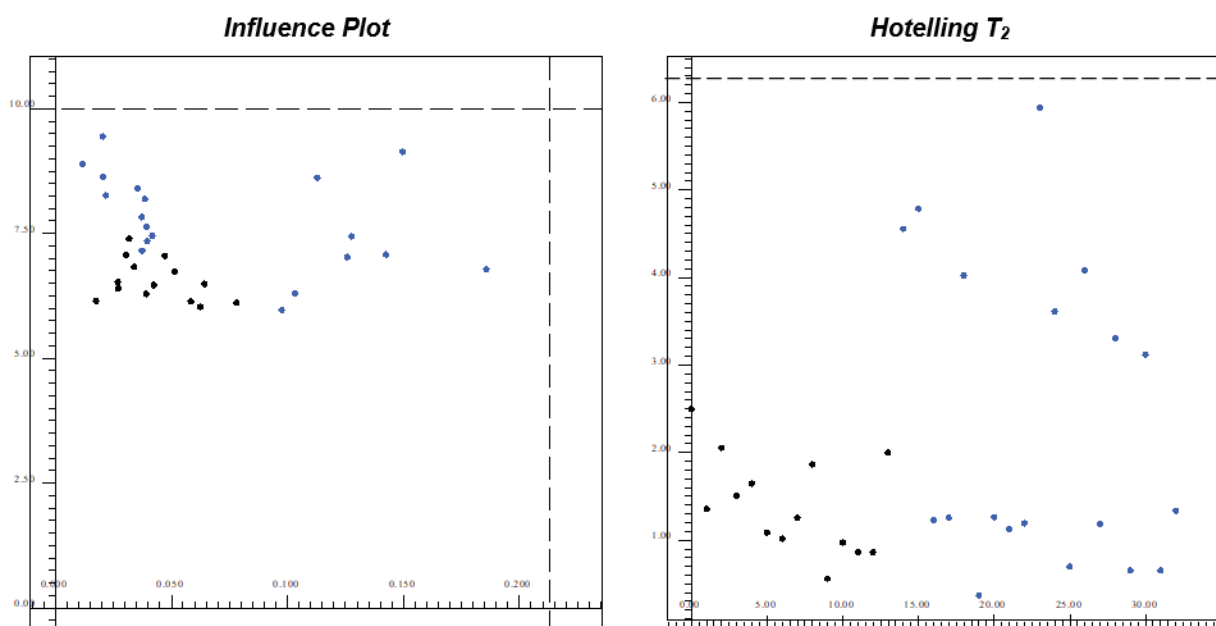
#### 4.3.2 Análise de Componentes Principais das flores das espécies de ipês brancos pertencentes ao gênero *Tabebuia*

Uma vez que as amostras referentes ao gênero *Tabebuia* puderam ser discriminadas das de *Handroanthus*, a PCA pôde ser empregada com a finalidade de discriminar as espécies *Tabebuia cassinoides* e *Tabebuia roseoalba*, em função da composição química das flores utilizando experimentos de RMN HR-MAS de  $^1H$ .

Dentre os pré-processamentos testados, o escalamento por unidade de variância da região espectral de 5,35-10,30 ppm permitiu um claro agrupamento das amostras, considerando a influência tanto dos compostos de menor intensidade quanto dos metabólitos majoritários.

Através da análise dos gráficos de *influence plot* e *Hottelling T<sub>2</sub>*, e considerando um limite de 95% de confiança, foi observada a ausência de *outliers* (FIGURA 96).

FIGURA 96 - INFLUENCE PLOT E HOTTELLING  $T_2$  DAS DIFERENTES ESPÉCIES DE TABEBUIA

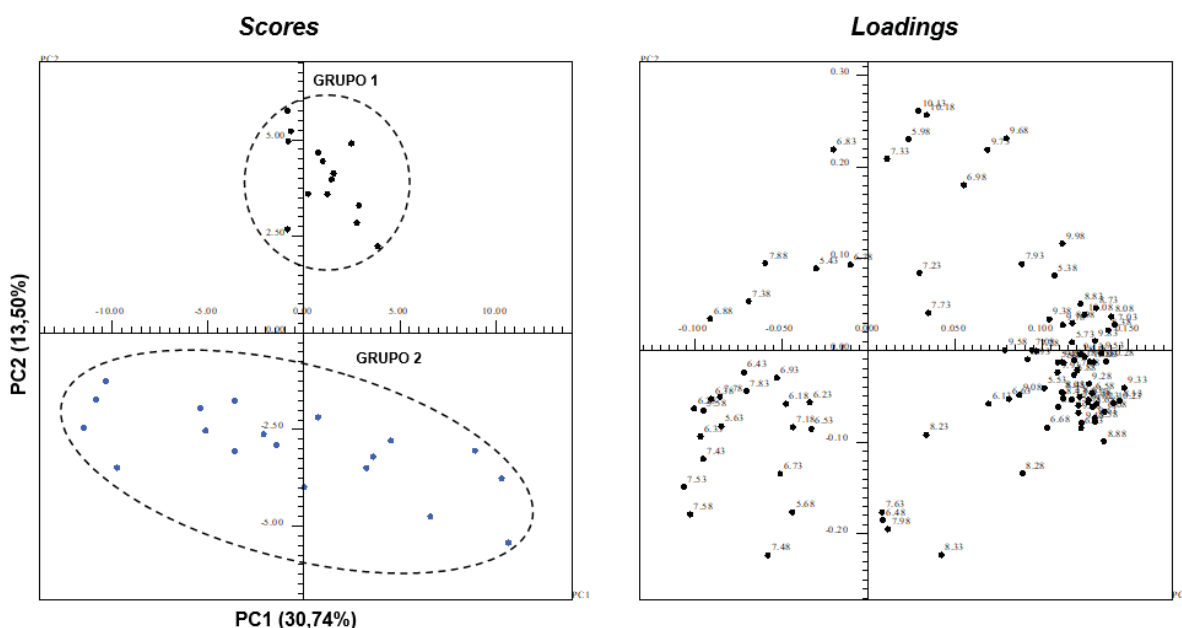


FONTE: A autora (2021).

Através dos gráficos de *scores* e *loadings* relativos à PCA para as espécies de *Tabebuia* verificou-se que a primeira componente principal (PC1) descreveu 30,74% da variância dos dados e a segunda componente principal (PC2) 13,50%, totalizando 44,24%. A análise do gráfico de *scores* (PC1 x PC2), apresentou a formação de dois grupos distintos.

As espécies de *Tabebuia* foram discriminadas em PC2, evidenciando a similaridade da composição química destas. O primeiro grupo constituído pelo conjunto amostral formado por *T. cassinoides* ocupou majoritariamente a região positiva de PC2. Enquanto que, o segundo grupo foi composto por *T. roseoalba*, estando disposto no lado negativo de PC2 (FIGURA 97).

FIGURA 97 - GRÁFICO DE SCORES DE PC1 VERSUS PC2 UTILIZANDO AS AMOSTRAS COLETADAS DAS ESPÉCIES DE TABEBUIA



FONTE: A autora (2021).

LEGENDA: Gráfico de *loadings* de PC1 versus PC2 explicando a influência das variáveis na distribuição das amostras apresentadas nos *scores*.

A análise do gráfico de *loadings* (PC1 x PC2) do material botânico das espécies de *Tabebuia* permitiu inferir que os compostos contendo um grupamento aldeídico em sua estrutura (*buckets* em  $\delta_H$  9,68 e 10,13) foram os que mais contribuíram para a discriminação da espécie *Tabebuia cassinoides*. Enquanto que a espécie *T. roseoalba* foi influenciada pela adenosina (**xxv**) (*buckets* em  $\delta_H$  6,07, 8,23 e 8,32) e pelo ácido fumárico (**xxi**) (*bucket* em  $\delta_H$  6,53), formando o segundo grupo.

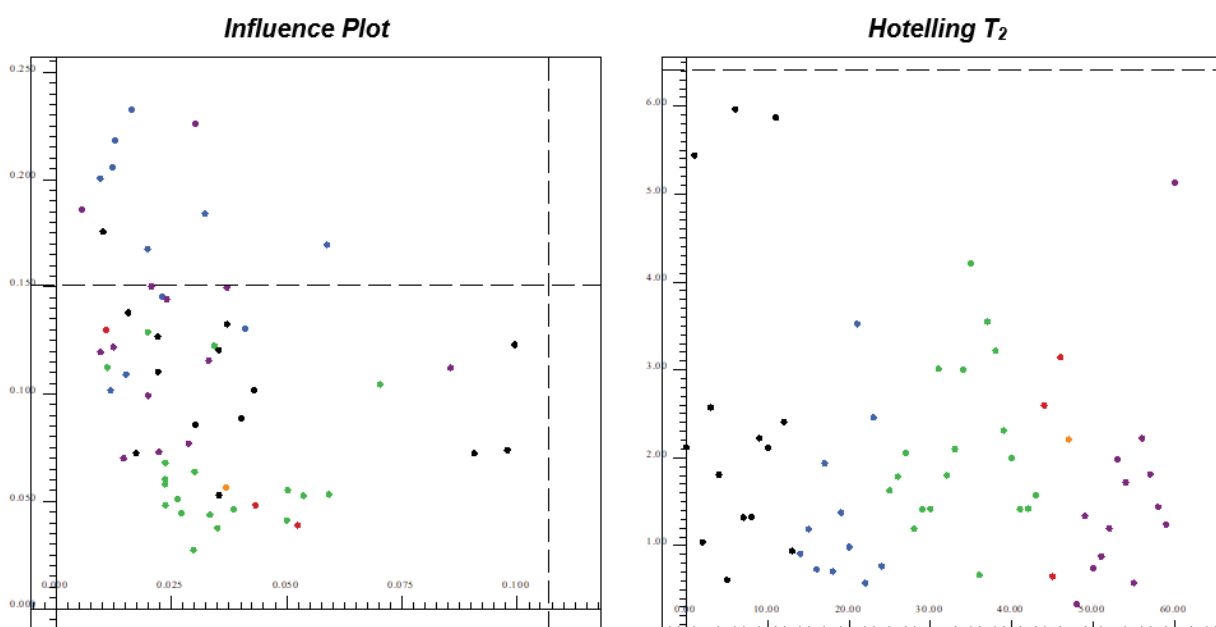
#### 4.3.3 Análise de Componentes Principais das flores das espécies de ipês amarelos pertencentes ao gênero *Handroanthus*

Nesse caso, a PCA foi empregada com o intuito de discriminar as espécies de ipês amarelos pertencentes ao gênero *Handroanthus* (*H. albus*, *H. catarinensis*, *H. chrysotrichus*, *H. ochraceus*, *H. pulcherrimus* e *H. serratifolius*) em função da composição química das flores utilizando experimentos de RMN HR-MAS de  $^1\text{H}$ , de forma a auxiliar na distinção dessas espécies, visto a dificuldade que se tem na identificação das mesmas em virtude das suas semelhanças morfológicas.

Dentre os pré-processamentos testados, a centragem na média (dado bruto) da região espectral de 5,35-8,40 ppm permitiu um claro agrupamento das amostras, assim o valor médio de cada coluna é calculado e posteriormente subtraído de cada um dos valores da coluna (*buckets*). Dessa forma, a média torna-se zero e as diferenças entre metabólitos majoritários e minoritários são mais evidentes.

Através da análise dos gráficos de *influence plot* e *Hottelling T<sub>2</sub>*, e considerando um limite de 95% de confiança, não foi observada a presença de *outliers* (FIGURA 98).

FIGURA 98 - INFLUENCE PLOT E HOTTELING  $T_2$  DAS DIFERENTES ESPÉCIES DE IPÊS AMARELOS (*HANDROANTHUS*)

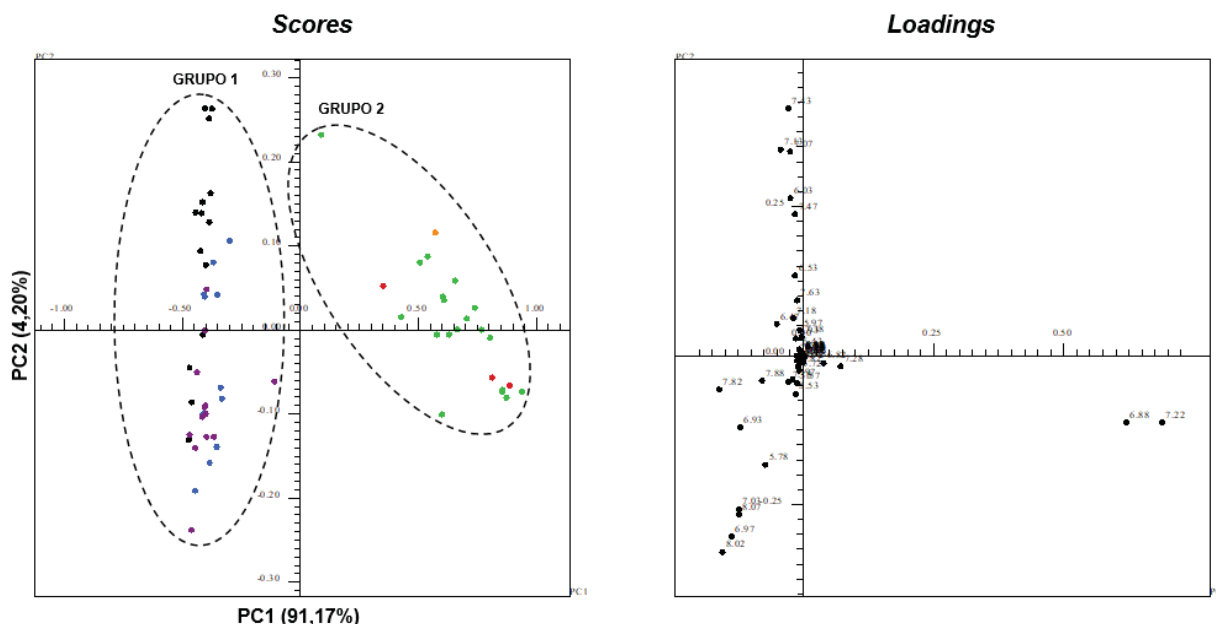


FONTE: A autora (2021).

Através dos gráficos de *scores* e *loadings* relativos à PCA para as espécies de *Handroanthus* verificou-se que a primeira componente principal (PC1) descreveu 91,17% da variância dos dados e a segunda componente principal (PC2) 4,20%, totalizando 95,37%.

A análise dos gráficos de *scores* (PC1 x PC2) apresentou a formação de dois grupos distintos, sendo que, em PC1 foi possível observar a discriminação das espécies de ipês amarelos. O grupo 1 foi constituído pelas espécies *H. albus*, *H. catarinensis* e *H. serratifolius*, enquanto o grupo 2 foi composto pelas espécies *H. chrysotrichus*, *H. ochraceus* e *H. pulcherrimus* (FIGURA 99).

FIGURA 99 - GRÁFICO DE SCORES DE PC1 VERSUS PC2 UTILIZANDO AS AMOSTRAS COLETADAS DAS ESPÉCIES DE *HANDROANTHUS*



FONTE: A autora (2021).

LEGENDA: Gráfico de *loadings* de PC1 versus PC2 explicando a influência das variáveis na distribuição das amostras apresentadas nos *scores*.

A análise do gráfico de *loadings* (PC1 x PC2) das espécies de ipês amarelos pertencentes ao gênero *Handroanthus* permitiu inferir que os compostos que influenciaram na discriminação das espécies contidas no grupo 1 foram o glicosídeo iridoide 6-O-(4-metoxibenzoil)-crescentin IV 3-O-β-D-glucopiranosídeo (**xxxi**) (*buckets* em  $\delta_H$  6,97 e 8,02) e os ácidos fumárico (**xxi**) (*bucket* em  $\delta_H$  6,53), *p*-hidroxibenzóico (**xxvi**) (*buckets* em  $\delta_H$  6,93 e 7,82) e 3,4-dihidroxibenzóico (**xxvii**) (*buckets* em  $\delta_H$  7,43 e 7,47). Enquanto que a discriminação de *H. chrysotrichus*, *H.*

*ochraceus* e *H. pulcherrimus* (Grupo 2) foi influenciada pela tirosina (ix) (*buckets* em  $\delta_H$  6,88 e 7,22).

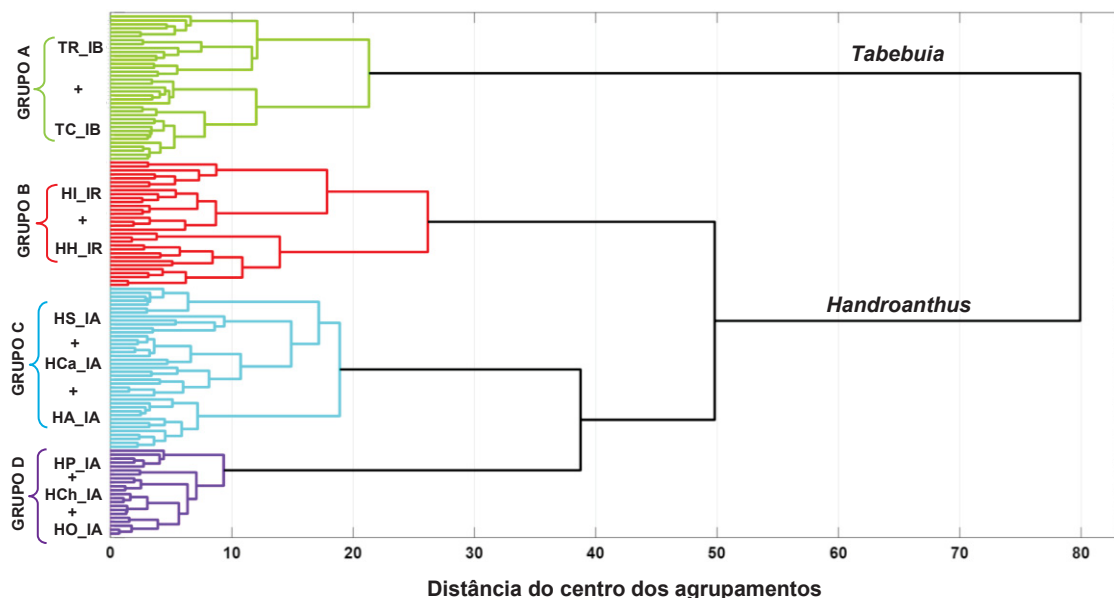
#### 4.3.4 Análise de Agrupamentos Hierárquicos das flores das espécies de *Handroanthus* e *Tabebuia*

A Análise de Agrupamentos Hierárquicos (HCA) é um meio de estruturar um conjunto complexo de observações em grupos únicos com base em suas semelhanças. De maneira simplificada, pode ser descrita como uma técnica que identifica grupos homogêneos de forma que as similaridades dentro do grupo sejam grandes em comparação com as existentes entre os grupos.

Neste trabalho a HCA foi empregada para averiguar a similaridade entre as espécies *H. albus*, *H. catarinensis*, *H. chrysotrichus*, *H. heptaphyllus*, *H. impetiginosus*, *H. ochraceus*, *H. pulcherrimus*, *H. serratifolius*, *T. cassinoides* e *T. roseoalba* utilizando a região espectral de 5,35-8,40 ppm. Os cálculos usados foram a distância Euclidiana juntamente com o método de Ward, além do procedimento aglomerativo hierárquico para estabelecer os agrupamentos.

No dendograma obtido as linhas horizontais representam o perfil espectral de RMN HR-MAS de  $^1H$  das espécies de *Handroanthus* e *Tabebuia* e as linhas verticais referem-se as semelhanças entre as amostras em termos de distâncias euclidianas, que se originaram da análise de agrupamento entre pares de amostras e entre grupos de amostras (FIGURA 100).

FIGURA 100 - DENDOGRAMA OBTIDO POR HCA UTILIZANDO AS AMOSTRAS COLETADAS DAS ESPÉCIES DE *HANDROANTHUS* E *TABEBUIA*



FONTE: A autora (2021).

LEGENDA: **TR\_IB** – *Tabebuia roseoalba*\_Ipê Branco; **TC\_IB** – *Tabebuia cassinoides*\_Ipê Branco; **HI\_IR** – *Handroanthus impetiginosus*\_Ipê Rosa; **HH\_IR** – *Handroanthus heptaphyllus*\_Ipê Rosa; **HS\_IA** – *Handroanthus serratifolius*\_Ipê Amarelo; **HCa\_IA** – *Handroanthus catarinensis*\_Ipê Amarelo; **HA\_IA** – *Handroanthus albus*\_Ipê Amarelo; **HP\_IA** – *Handroanthus pulcherrimus*\_Ipê Amarelo; **HCh\_IA** – *Handroanthus chrysotrichus*\_Ipê Amarelo; **HO\_IA** – *Handroanthus ochraceus*\_Ipê Amarelo.

Analisando o dendrograma da esquerda para a direita verificou-se a formação de quatro grupos distintos. O grupo A é composto pelas espécies *T. cassinoides* e *T. roseoalba*, o grupo B por *H. heptaphyllus* e *H. impetiginosus* e os grupos C e D são formados pelas espécies *H. albus*, *H. catarinensis* e *H. serratifolius*, e por *H. chrysotrichus*, *H. ochraceus* e *H. pulcherrimus*, respectivamente.

O grupo A formado pelos ipês brancos, pertencentes ao gênero *Tabebuia*, é o que se apresenta mais distante dos demais, num primeiro momento têm-se a formação de dois subgrupos, um para *T. cassinoides* e outro para *T. roseoalba*, mas estes em seguida já formam um único grupo.

O grupo B é constituído pelos ipês rosa, pertencentes ao gênero *Handroanthus*, observa-se que assim como ocorre para o grupo A num primeiro momento têm-se a formação de dois subgrupos, um para *H. heptaphyllus* e outro para *H. impetiginosus*, mas em conseqüente ocorre o agrupamento destas espécies.

Enquanto que, o grupo C e D, ambos compostos pelos ipês amarelos, formam grupos distintos inicialmente, mas que posteriormente se agrupam formando um único grupo maior.

Foi possível observar que além desses agrupamentos há num determinado momento a formação de um grupo maior onde está contida todas as espécies pertencentes ao gênero *Handroanthus* e que este, assim como mencionado anteriormente, possui um grande distanciamento do grupo formado pelas espécies de *Tabebuia*.

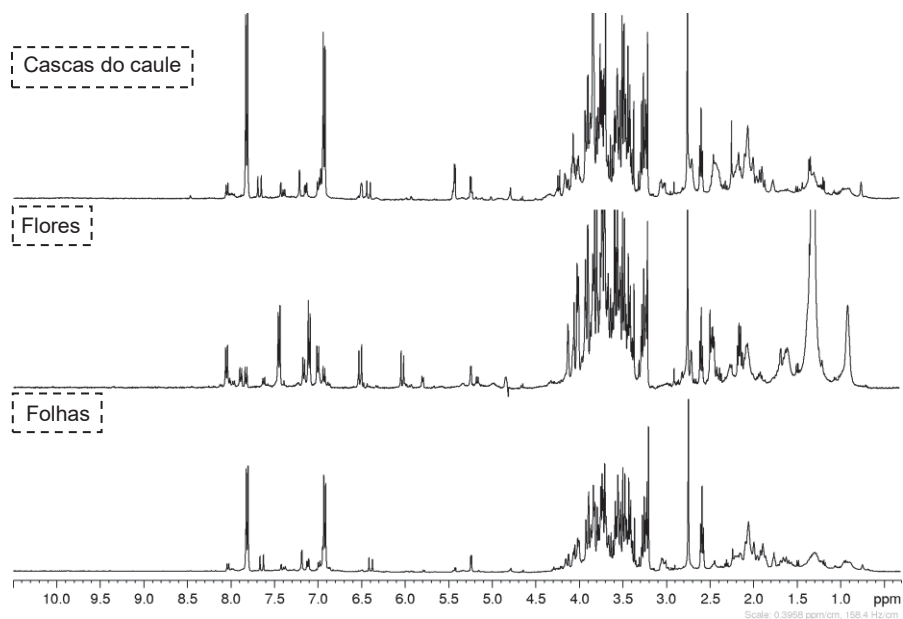
Os resultados obtidos através da HCA suportam os da PCA, demonstrando assim o potencial da técnica de RMN HR-MAS para auxiliar na quimiosistemática desses gêneros, pois possibilita a obtenção de dados que demonstram que as amostras das espécies de *Handroanthus* estão mais próximas umas das outras e distantes das de *Tabebuia*.

#### 4.4 CORRELAÇÃO ENTRE OS METABÓLITOS IDENTIFICADOS NAS DIFERENTES PARTES DAS ESPÉCIES DE *HANDROANTHUS* E *TABEBUIA*

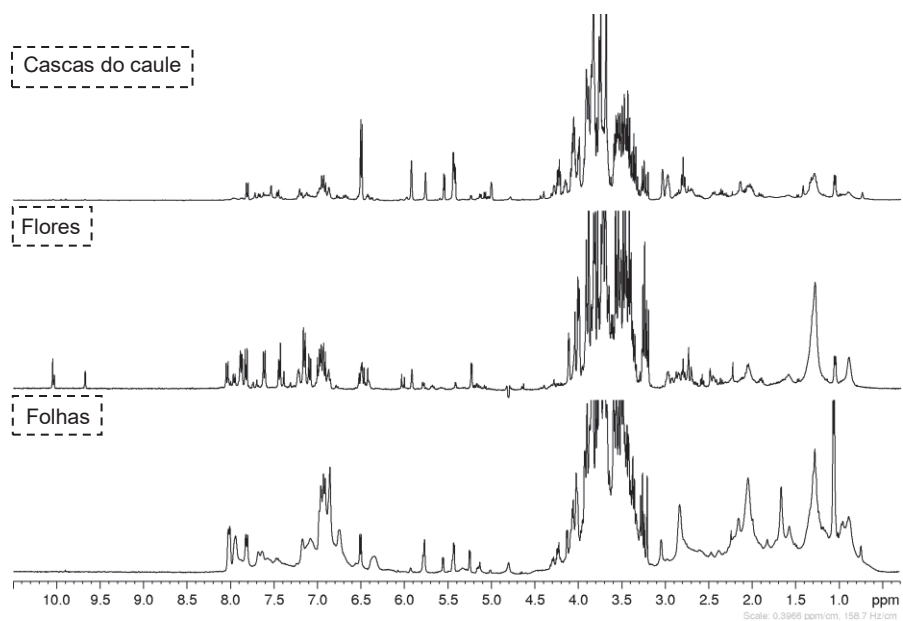
Após análise visual do perfil espectral das três partes distintas das espécies de *Handroanthus* e *Tabebuia*, correlacionou-se os dados e verificou-se as diferenças entre as amostras, observando os sinais característicos para metabólitos primários e secundários, de forma a distinguir os dois gêneros em estudo. Além de caracterizar a composição química dos ipês amarelos, rosa e brancos, levando em consideração cada parte estudada.

##### 4.4.1 Comparação dos perfis espectrais das cascas do caule, flores e folhas

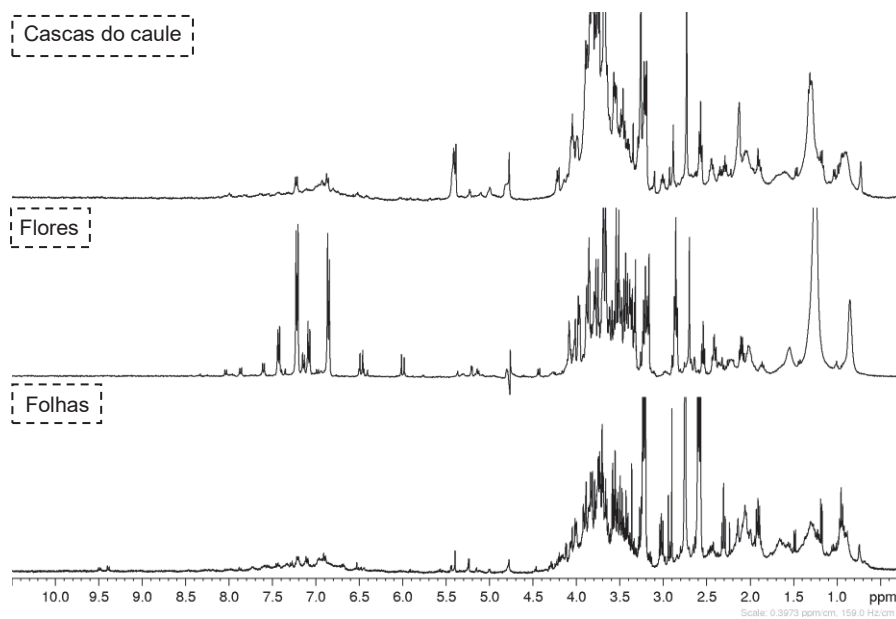
Em conjunto com o estudo dos perfis espectrais das flores das espécies *H. albus*, *H. catarinensis*, *H. chrysotrichus*, *H. heptaphyllus*, *H. impetiginosus* e *T. roseoalba*, realizou-se também as análises das cascas do caule e folhas, empregando os mesmos parâmetros experimentais. Estes experimentos tiveram como principal objetivo, contribuir para a quimiotaxonomia destes gêneros através da identificação estrutural dos compostos presentes nestas três partes distintas das árvores de ipês (FIGURAS 101 a 106).

FIGURA 101 - ESPECTROS DE RMN HR-MAS DE  $^1\text{H}$  ( $\delta_{\text{H}}$  0,30-10,50) DE *H. albus*

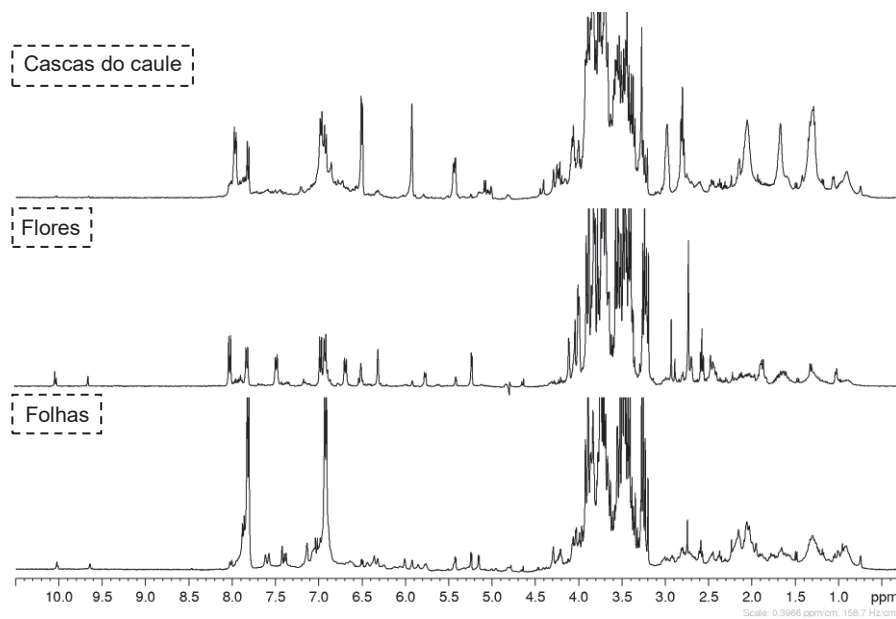
FONTE: A autora (2021).

FIGURA 102 - ESPECTROS DE RMN HR-MAS DE  $^1\text{H}$  ( $\delta_{\text{H}}$  0,30-10,50) DE *H. catarinensis*

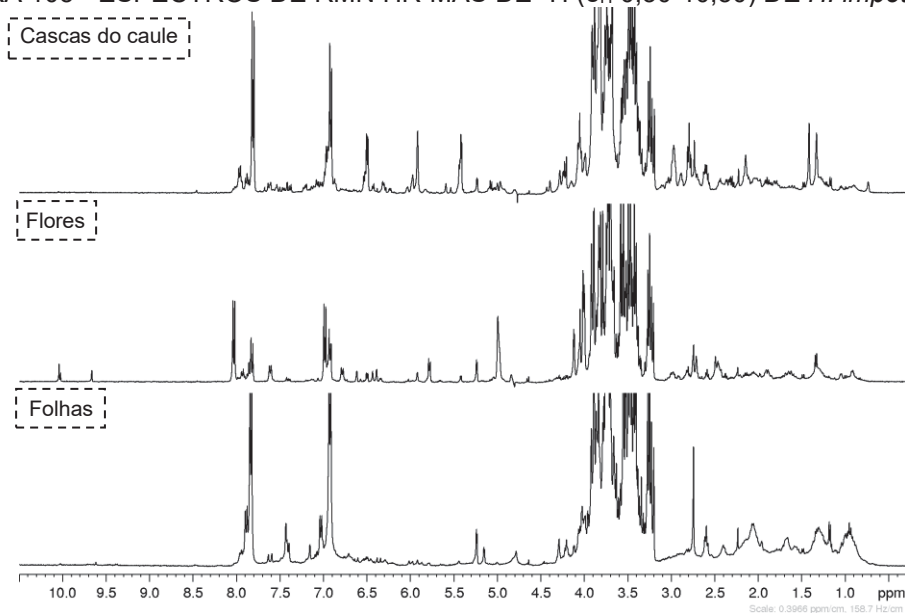
FONTE: A autora (2021).

FIGURA 103 - ESPECTROS DE RMN HR-MAS DE  $^1\text{H}$  ( $\delta_{\text{H}}$  0,30-10,50) DE *H. chrysotrichus*

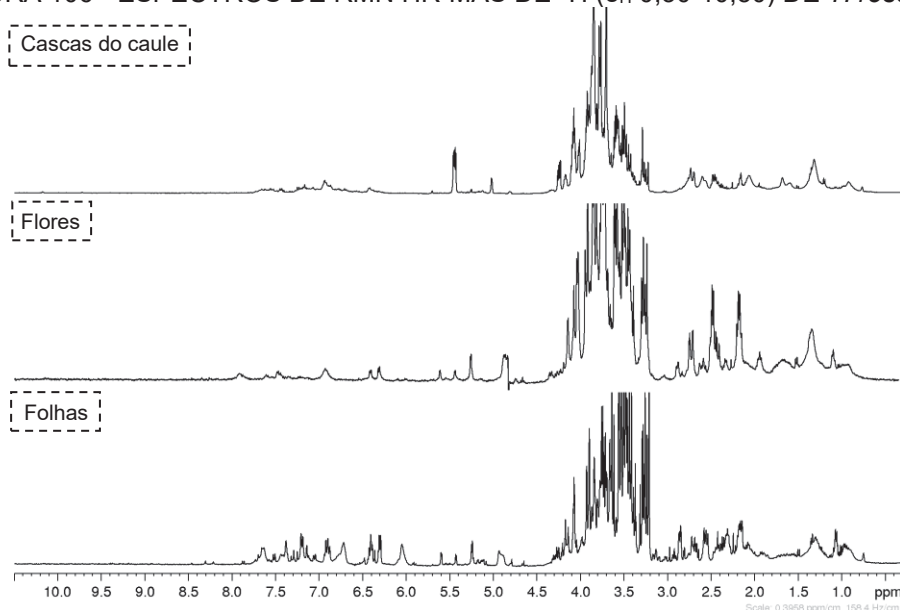
FONTE: A autora (2021).

FIGURA 104 - ESPECTROS DE RMN HR-MAS DE  $^1\text{H}$  ( $\delta_{\text{H}}$  0,30-10,50) DE *H. heptaphyllus*

FONTE: A autora (2021).

FIGURA 105 - ESPECTROS DE RMN HR-MAS DE  $^1\text{H}$  ( $\delta_{\text{H}}$  0,30-10,50) DE *H. impetiginosus*

FONTE: A autora (2021).

FIGURA 106 - ESPECTROS DE RMN HR-MAS DE  $^1\text{H}$  ( $\delta_{\text{H}}$  0,30-10,50) DE *T. roseoalba*

FONTE: A autora (2021).

As três partes analisadas, das 6 espécies citadas acima, apresentaram um perfil espectral distinto, no qual se observa a presença de metabólitos primários e secundários. Na região entre  $\delta_{\text{H}}$  5,45-8,40 foram observados diversos sinais de hidrogênios aromáticos e olefínicos para todas as partes das espécies *H. albus*, *H. heptaphyllus*, *H. impetiginosus* e para as flores de *H. chrysotrichus* e *H. catarinensis*. Contudo, as cascas do caule e folhas de *H. chrysotrichus*, *H. catarinensis* e *T. roseoalba*, além das flores desta última espécie, não apresentaram sinais intensos nesta região.

#### 4.4.2 Análise do perfil espectral das cascas do caule dos ipês

As análises das cascas do caule permitiram diferenciar as espécies de ipês amarelos pela presença da  $\alpha$ -frutose (**x**), dos ácidos succínico (**xix**), 3,4-dihidroxibenzoico (**xxvii**) e 5-O-cafeoilquínico (**xxix**) e do 6-O-(4-metoxibenzoil)-crescentin IV 3-O- $\beta$ -D-glucopiranosídeo (**xxx**) somente em *H. albus*, já *H. catarinensis* apresentou sinais para o ácido maleico (**xx**), mas não para os metabólitos ácido fumárico (**xxi**) e trimetilamina (**xxiii**). Enquanto que se observou a presença da tirosina (**ix**) e da  $\beta$ -manose (**xv**) em *H. chrysotrichus*, bem como a ausência da isoleucina (**i**), valina (**ii**), glutamina (**vi**), e do ácido *p*-hidroxibenzoico (**xxvi**).

Tratando-se dos ipês rosa, estes se distinguiram pela ausência de sinais para a glutamina (**vi**), tirosina (**ix**),  $\alpha$ -frutose (**x**), trimetilamina (**xxiii**) e para os ácidos fumárico (**xxi**) e *p*-hidroxibenzoico (**xxvi**) em *H. impetiginosus*, bem como de sacarose (**xi**) e dos ácidos 3,4-dihidroxibenzoico (**xxvii**) e 5-O-cafeoilquínico (**xxix**) em *H. heptaphyllus*. Os ipês brancos se diferenciaram pela ausência de sinais para a glutamina (**vi**),  $\alpha$ -frutose (**x**), trimetilamina (**xxiii**) e ácido 3,4-dihidroxibenzoico (**xxvii**) em *T. cassinoideis*, e dos metabólitos GABA (**v**), tirosina (**ix**) e alantoína (**xxiv**) em *T. roseoalba*.

Para uma melhor visualização, os dados foram dispostos nas (TABELAS 9 a 11; FIGURA 107).

TABELA 9 - DISTRIBUIÇÃO DOS METABÓLITOS CONTIDOS NAS CASCAS DO CAULE DAS DIFERENTES ESPÉCIES DE *HANDROANTHUS* E *TABEBUIA*

Espécies	Substâncias identificadas									
	(i)	(ii)	(iii)	(iv)	(v)	(vi)	(vii)	(viii)	(ix)	(x)
<i>H. albus</i>	x	x	x	x	x	x	x			x
<i>H. catarinensis</i>	x	x	x	x	x	x	x			
<i>H. chrysotrichus</i>			x	x	x		x		x	
<i>H. heptaphyllus</i>	x	x	x	x	x	x	x		x	
<i>H. impetiginosus</i>	x	x	x	x	x					
<i>T. cassinoideis</i>	x	x	x	x	x				x	
<i>T. roseoalba</i>	x	x	x	x		x				x

FONTE: A autora (2021).

LEGENDA: x - metabólito identificado nessa parte das espécies analisadas.

TABELA 10 - DISTRIBUIÇÃO DOS METABÓLITOS CONTIDOS NAS CASCAS DO CAULE DAS DIFERENTES ESPÉCIES DE *HANDROANTHUS* E *TABEBUIA*

Espécies	Substâncias identificadas												
	(xi)	(xii)	(xiii)	(xiv)	(xv)	(xvi)	(xvii)	(xix)					
<i>H. albus</i>	x	x	x	x		x	x						
<i>H. catarinensis</i>	x	x	x	x		x	x						
<i>H. chrysotrichus</i>	x	x	x	x	x	x	x						
<i>H. heptaphyllus</i>	x	x	x	x		x	x						
<i>H. impetiginosus</i>	x	x	x	x		x	x						
<i>T. cassinooides</i>	x	x	x	x	x	x	x						
<i>T. roseoalba</i>	x	x	x	x	x	x	x	x					

FONTE: A autora (2021).

LEGENDA: x - metabólito identificado nessa parte das espécies analisadas.

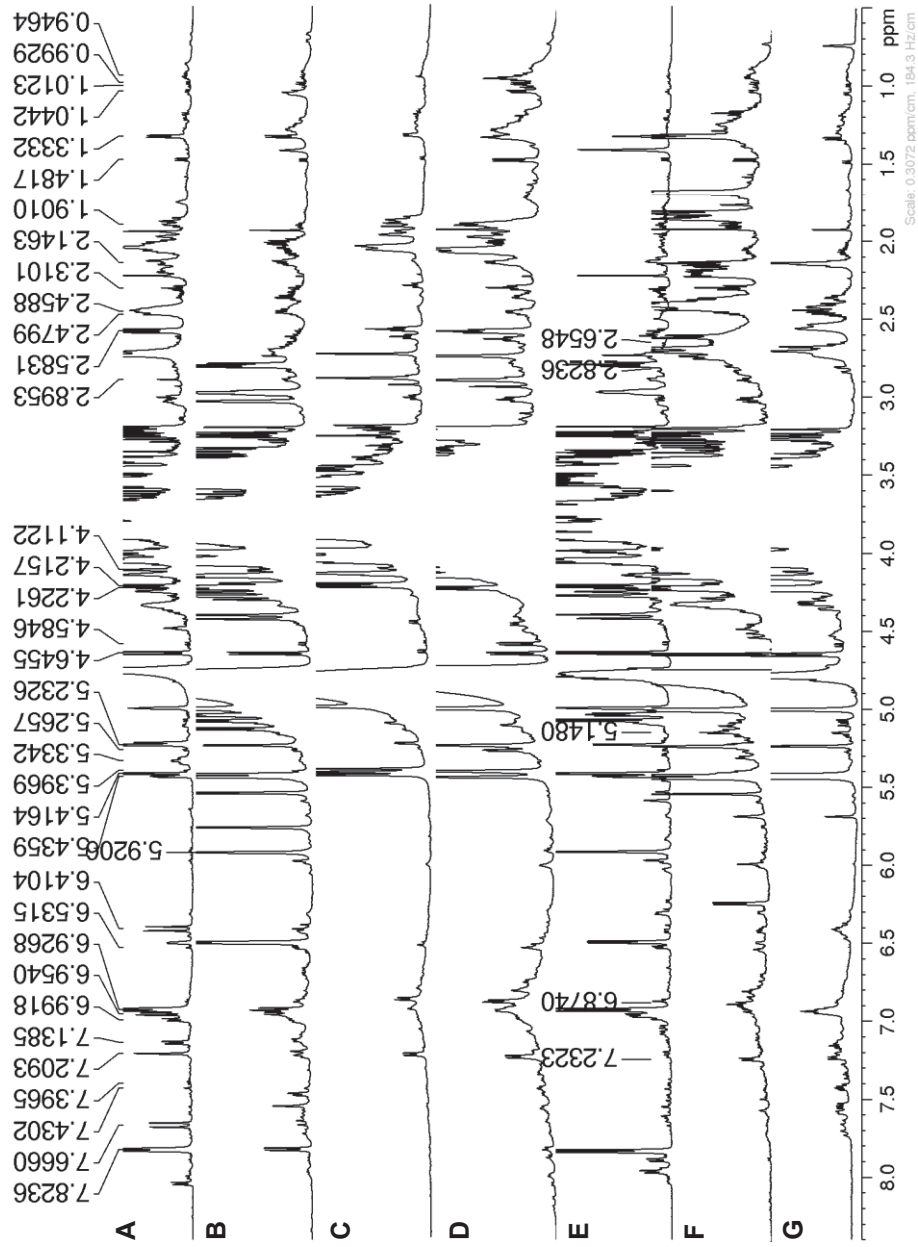
TABELA 11 - DISTRIBUIÇÃO DOS METABÓLITOS CONTIDOS NAS CASCAS DO CAULE DAS DIFERENTES ESPÉCIES DE *HANDROANTHUS* E *TABEBUIA*

Espécies	Substâncias identificadas												
	(xx)	(xxi)	(xxii)	(xxiii)	(xxiv)	(xxv)	(xxvii)	(xxix)	(xxxi)				
<i>H. albus</i>		x	x	x	x	x	x	x					
<i>H. catarinensis</i>	x		x		x	x							
<i>H. chrysotrichus</i>		x	x	x	x								
<i>H. heptaphyllus</i>	x	x	x	x	x								
<i>H. impetiginosus</i>	x		x		x		x	x					
<i>T. cassinooides</i>			x		x								
<i>T. roseoalba</i>			x		x								

FONTE: A autora (2021).

LEGENDA: x - metabólito identificado nessa parte das espécies analisadas.

FIGURA 107 - ESPECTROS DE RMN DE  $^1\text{H}$  ( $\delta_{\text{H}}$  0,50-8,10) DAS CASCAS DO CAULE DAS ESPÉCIES DE *HANDROANTHUS* E *TABEBUIA*



FONTE: A autora (2021).

LEGENDA: **A** – *H. albus*; **B** – *H. catarinensis*; **C** – *H. chrysostrichus*; **D** – *H. heptaphyllus*; **E** – *H. impetiginosus*; **F** – *T. cassinoideis*; **G** – *T. roseoalba*.

As espécies pertencentes ao gênero *Handroanthus* (ipês amarelos e rosa) se diferenciaram das de *Tabebuia* (ipês brancos) pela presença dos metabólitos  $\beta$ -alanina (vii) e do ácido málico (viii), respectivamente. Enquanto que se observou a

presença dos aminoácidos treonina (iii) e  $\alpha$ -alanina (iv), dos açúcares rafinose (xii),  $\beta$ -glicose (xiv) e  $\alpha$ -glicose (xvi), além do ácido fórmico (xxii) em todas as espécies estudadas.

#### 4.4.3 Análise do perfil espectral das flores dos ipês

As análises das flores possibilitaram distinguir as espécies de ipês amarelos pela presença dos ácidos aspártico (viii) e succínico (xix) somente em *H. albus*. Enquanto que se observou a ausência de sinais para a  $\beta$ -glicose (xiv) em *H. ochraceus* e para os metabólitos GABA (v) e alantoina (xxiv) em *H. serratifolius*. Os ipês rosa se diferenciaram pela presença dos aminoácidos GABA (v) e ácido aspártico (viii), do açúcar  $\beta$ -manose (xv) e dos ácidos málico (xviii) e fórmico (xxii) em *H. heptaphyllus*.

Tratando-se dos ipês brancos foi possível distingui-los pela ausência dos aminoácidos isoleucina (i), valina (ii) e glutamina (vi), dos ácidos fumárico (xxi) e fórmico (xxii), e da adenosina (xxv), além da presença de sacarose (xi) e do ácido succínico (xix), em *T. cassinoideis*. Para uma melhor visualização, os dados foram dispostos nas TABELAS 12 a 14 (FIGURA 108).

TABELA 12 - DISTRIBUIÇÃO DOS METABÓLITOS CONTIDOS NAS FLORES DAS DIFERENTES ESPÉCIES DE *HANDROANTHUS* E *TABEBUIA*

Espécies	Substâncias identificadas								
	(i)	(ii)	(iii)	(iv)	(v)	(vi)	(vii)	(viii)	(ix)
<i>H. albus</i>	x	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>H. catarinensis</i>	x	x	x	x	x		x		x
<i>H. chrysotrichus</i>	x	x	x	x	x		x		x
<i>H. ochraceus</i>		x	x	x	x		x		x
<i>H. pulcherrimus</i>		x	x	x	x	x	x		x
<i>H. serratifolius</i>		x	x	x	x		x		x
<i>H. heptaphyllus</i>		x	x	x	x		x	x	x
<i>H. impetiginosus</i>		x	x	x			x		
<i>T. cassinoideis</i>			x	x				x	x
<i>T. rosealba</i>	x	x	x	x		x		x	x

FONTE: A autora (2021).

LEGENDA: x - metabólito identificado nessa parte das espécies analisadas.

TABELA 13 - DISTRIBUIÇÃO DOS METABÓLITOS CONTIDOS NAS FLORES DAS DIFERENTES ESPÉCIES DE *HANDROANTHUS* E *TABEBUIA*

Espécies	Substâncias identificadas									
	(x)	(xi)	(xiii)	(xiv)	(xv)	(xvi)	(xviii)	(xix)		
<i>H. albus</i>	x	x	x	x	x	x	x	x		
<i>H. catarinensis</i>	x	x	x	x	x	x	x	x		
<i>H. chrysotrichus</i>	x	x	x	x	x	x	x	x		
<i>H. ochraceus</i>	x			x	x	x	x			
<i>H. pulcherrimus</i>	x			x	x	x	x			
<i>H. serratifolius</i>	x			x	x	x	x			
<i>H. heptaphyllus</i>	x	x	x	x	x	x	x	x		
<i>H. impetiginosus</i>	x	x	x	x	x	x	x	x		
<i>T. cassinoideis</i>	x	x	x	x	x	x	x	x		
<i>T. roseoalba</i>	x			x		x	x			

FONTE: A autora (2021).

LEGENDA: x - metabólito identificado nessa parte das espécies analisadas.

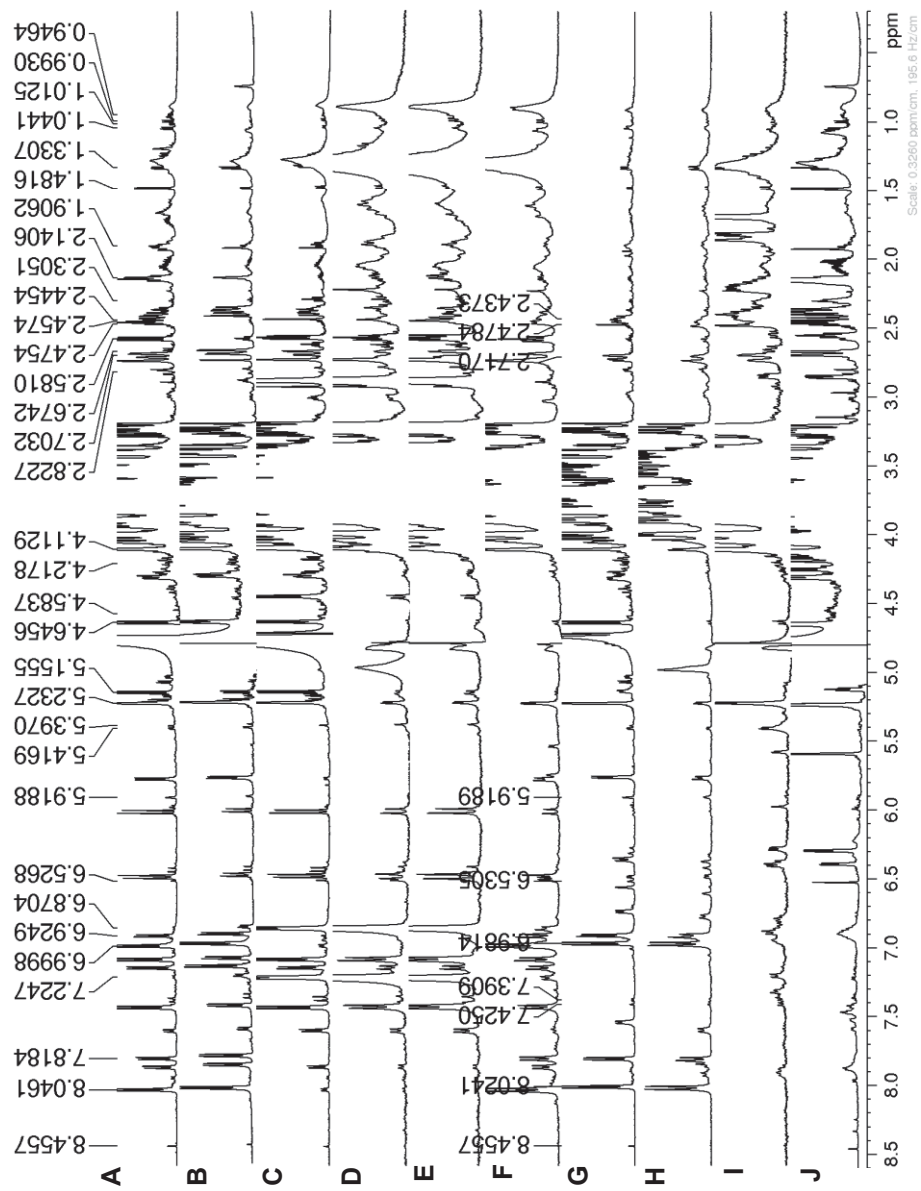
TABELA 14 - DISTRIBUIÇÃO DOS METABÓLITOS CONTIDOS NAS FLORES DAS DIFERENTES ESPÉCIES DE *HANDROANTHUS* E *TABEBUIA*

Espécies	Substâncias identificadas									
	(xx)	(xxi)	(xxii)	(xxiv)	(xxv)	(xxvi)	(xxvii)	(xxxi)		
<i>H. albus</i>	x	x	x	x		x		x		
<i>H. catarinensis</i>	x	x	x	x		x		x		
<i>H. chrysotrichus</i>		x	x	x						
<i>H. ochraceus</i>		x	x	x						
<i>H. pulcherrimus</i>		x	x	x						
<i>H. serratifolius</i>		x				x		x		
<i>H. heptaphyllus</i>	x	x	x	x		x	x	x		
<i>H. impetiginosus</i>	x	x		x		x	x	x		
<i>T. cassinoideis</i>										
<i>T. roseoalba</i>		x	x		x					

FONTE: A autora (2021).

LEGENDA: x - metabólito identificado nessa parte das espécies analisadas.

FIGURA 108 - ESPECTROS DE RMN DE  $^1\text{H}$  ( $\delta_{\text{H}}$  0,50-8,10) DAS FLORES DAS ESPÉCIES DE *HANDROANTHUS* E *TABEBUIA*



FONTE: A autora (2021).

LEGENDA: **A** – *H. albus*; **B** – *H. catarinensis*; **C** – *H. chrysotrichus*; **D** – *H. ochraceus*; **E** – *H. pulcherrimus*; **F** – *H. serratifolius*; **G** – *H. heptaphyllus*; **H** – *H. impetiginosus*; **I** – *T. cassinoides*; **J** – *T. rosealba*.

As espécies pertencentes ao gênero *Handroanthus* (ipês amarelos e rosa) se diferenciaram das de *Tabebuia* (ipês brancos) pela presença do aminoácido  $\beta$ -alanina (vii). Enquanto que se observou a presença dos aminoácidos treonina (iii) e  $\alpha$ -alanina (iv), e dos açúcares  $\alpha$ -frutose (x) e  $\alpha$ -glicose (xvi) em todas as espécies estudadas.

#### 4.4.4 Análise do perfil espectral das folhas dos ipês

As análises das folhas permitiram diferenciar as espécies de ipês amarelos pela presença dos ácidos succínico (xix), 3,4-dihidroxibenzóico (xxvii) e 5-O-cafeoilquínico (xxix) somente em *H. albus*, já *H. catarinensis* apresentou sinais para os ácidos maleico (xx) e 3,5-dicafeoilquínico (xxx), mas não para os metabólitos isoleucina (i), valina (ii), GABA (v), glutamina (vi), ácidos fumárico (xxi) e fórmico (xxii), e trimetilamina (xxiii). Enquanto observou-se somente em *H. chrysotrichus* a presença da alantoína (xxiv) e a ausência da sacarose (xi) e do ácido *p*-hidroxibenzóico (xxvi).

Tratando-se dos ipês rosa, estes se distinguiram pela ausência de sinais dos metabólitos treonina (iii), GABA (v), do ácido aspártico (viii) e do glicosídeo iridoide 6-O-(4-metoxibenzoil)-crescentin IV 3-O- $\beta$ -D-glucopiranosídeo (xxxi) em *H. impetiginosus*, bem como da  $\beta$ -galactose (xiii) e alantoína (xxiv) em *H. heptaphyllus*.

Para uma melhor visualização, os dados foram dispostos nas TABELAS 15 a 17 (FIGURA 109).

TABELA 15 - DISTRIBUIÇÃO DOS METABÓLITOS CONTIDOS NAS FOLHAS DAS DIFERENTES ESPÉCIES DE *HANDROANTHUS* E *TABEBUIA*

Espécies	Substâncias identificadas											
	(i)	(ii)	(iii)	(iv)	(v)	(vii)	(viii)	(x)	(xi)	(xii)		
<i>H. albus</i>	x	x	x	x	x	x		x	x	x		
<i>H. catarinensis</i>			x	x				x	x	x		
<i>H. chrysotrichus</i>	x	x	x	x	x			x		x		
<i>H. heptaphyllus</i>			x	x	x		x	x	x	x		
<i>H. impetiginosus</i>				x				x	x	x		
<i>T. roseoalba</i>	x	x	x	x			x			x		

FONTE: A autora (2021).

LEGENDA: x - metabólito identificado nessa parte das espécies analisadas.

TABELA 16 - DISTRIBUIÇÃO DOS METABÓLITOS CONTIDOS NAS FOLHAS DAS DIFERENTES ESPÉCIES DE *HANDROANTHUS* E *TABEBUIA*

Espécies	Substâncias identificadas										
	(xiii)	(xiv)	(xv)	(xvi)	(xvii)	(xix)	(xx)	(xxi)			
<i>H. albus</i>	x	x	x	x	x	x		x			
<i>H. catarinensis</i>	x	x	x	x	x		x	x			
<i>H. chrysostrichus</i>	x	x	x	x	x			x			
<i>H. heptaphyllus</i>		x	x	x			x				
<i>H. impetiginosus</i>	x	x	x	x			x				
<i>T. roseoalba</i>		x						x			

FONTE: A autora (2021).

LEGENDA: x - metabólito identificado nessa parte das espécies analisadas.

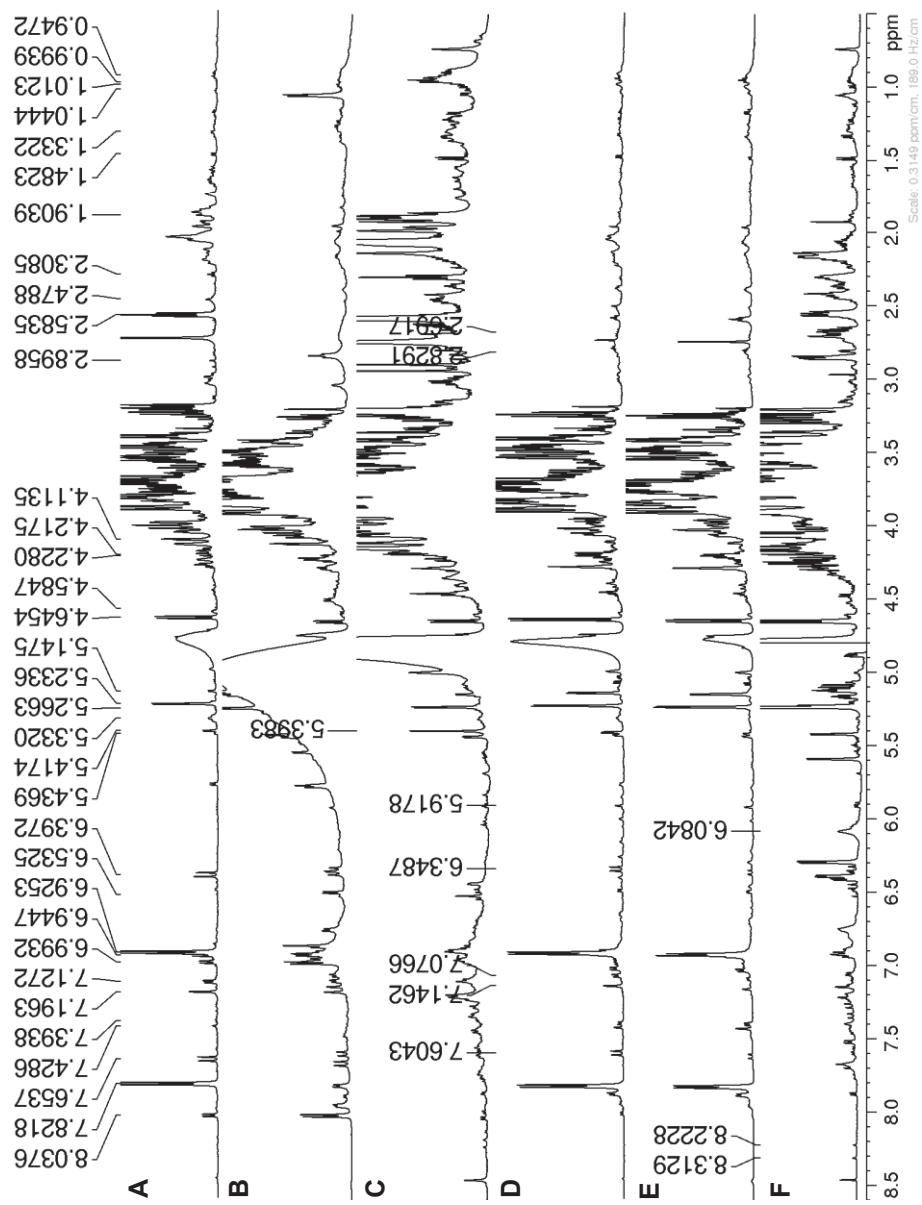
TABELA 17 - DISTRIBUIÇÃO DOS METABÓLITOS CONTIDOS NAS FOLHAS DAS DIFERENTES ESPÉCIES DE *HANDROANTHUS* E *TABEBUIA*

Espécies	Substâncias identificadas										
	(xxii)	(xxiii)	(xxiv)	(xxv)	(xxvi)	(xxvii)	(xxviii)	(xxix)	(xxx)	(xxxi)	
<i>H. albus</i>	x	x			x	x		x		x	
<i>H. catarinensis</i>					x				x	x	
<i>H. chrysostrichus</i>	x	x	x		x					x	
<i>H. heptaphyllus</i>	x				x					x	
<i>H. impetiginosus</i>	x		x		x		x			x	
<i>T. roseoalba</i>	x			x							

FONTE: A autora (2021).

LEGENDA: x - metabólito identificado nessa parte das espécies analisadas.

FIGURA 109 - ESPECTROS DE RMN DE  $^1\text{H}$  ( $\delta_{\text{H}}$  0,50-8,10) DAS FOLHAS DAS ESPÉCIES DE *HANDROANTHUS* E *TABEBUIA*



FONTE: A autora (2021).

LEGENDA: **A** – *H. albus*; **B** – *H. catarinensis*; **C** – *H. chrysostrichus*; **D** – *H. heptaphyllus*; **E** – *H. impetiginosus*; **F** – *T. roseoalba*.

As espécies pertencentes ao gênero *Handroanthus* se diferenciaram das de *Tabebuia* pela presença dos metabólitos  $\alpha$ -frutose (**x**) e  $\beta$ -manose (**xv**) nos ipês amarelos e rosa, e da adenosina (**xxv**) no ipê branco, representado pela espécie *T. roseoalba*. Enquanto que se observou a presença do aminoácido  $\alpha$ -alanina (**iv**) e dos açúcares rafinose (**xii**),  $\beta$ -glicose (**xiv**) e  $\alpha$ -glicose (**xvi**) em todas as espécies estudadas.

De maneira simplificada, podemos diferenciar as três partes estudadas da seguinte maneira, pela ausência da adenosina nas cascas do caule e dos aminoácidos glutamina e tirosina nas folhas das espécies analisadas. Já as flores não apresentaram sinais característicos para a trimetilamina, rafinose,  $\alpha$ -galactose e ácido 5-O-cafeoilquínico. Em conjunto a isso, a presença do ácido málico foi observada unicamente nas flores, enquanto os ácidos cafeico e 3,5-dicafeoilquínico foram visualizados apenas nas folhas das espécies estudadas.

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A espectroscopia de RMN HR-MAS de  $^1\text{H}$  revelou-se uma excelente ferramenta para distinguir os gêneros *Handroanthus* e *Tabebuia*, de forma a auxiliar na quimiosistemática dessas espécies morfológicamente semelhantes. Além de possuir a vantagem de permitir a obtenção de informações relevantes sobre a composição química diretamente das amostras, em seu ambiente natural, de forma simples e direta.

Dentre as 14 espécies de *Handroanthus* e *Tabebuia* presentes na flora do estado do Paraná, foi possível a análise de 10 destas através da técnica de Ressonância Magnética Nuclear (RMN), sendo estas identificadas como: *H. albus*, *H. catarinensis*, *H. chrysotrichus*, *H. heptaphyllus*, *H. impetiginosus*, *H. ochraceus*, *H. pulcherrimus*, *H. serratifolius*, *T. cassinoides* e *T. roseoalba*.

A RMN HR-MAS de  $^1\text{H}$  permitiu evidenciar, através da análise direta do material vegetal coletado, a similaridade química entre as espécies de ipês estudadas neste trabalho. Os ipês brancos, representados pelas espécies *T. cassinoides* e *T. roseoalba*, apresentaram sinais pouco resolvidos e de baixa intensidade para os compostos aromáticos. Já as flores dos ipês amarelos e rosa apresentam em sua composição várias substâncias contendo anéis aromáticos substituídos, demonstrando assim, serem uma importante fonte natural destes compostos.

Tratando-se da concordância dos dados obtidos, foi desenvolvida a análise das espécies em dois anos distintos, visando verificar se houve alteração no padrão dos sinais referentes a composição química destas. Os resultados adquiridos permitiram constatar que não houve modificação do perfil espectral em ambas as coletas. Porém, foi possível identificar variações nas intensidades de alguns sinais, estas provavelmente relacionadas a fatores ambientais.

A análise do perfil espectral de RMN HR-MAS de  $^1\text{H}$  e de RMN em solução uni e bidimensionais, bem como comparações com dados da literatura, permitiu identificar 31 metabólitos (primários e secundários) nas três partes distintas das espécies de *Handroanthus* e *Tabebuia*, sendo estes, os aminoácidos isoleucina, valina, treonina,  $\alpha$ -alanina, GABA, glutamina,  $\beta$ -alanina, ácido aspártico e tirosina; os açúcares  $\alpha$ -frutose, sacarose, rafinose,  $\beta$ -galactose,  $\beta$ -glicose,  $\beta$ -manose,  $\alpha$ -glicose e  $\alpha$ -galactose; os compostos nitrogenados trimetilamina, alantoína e o nucleosídeo

adenosina; os ácidos málico, succínico, maleico, fumárico, fórmico, *p*-hidroxibenzóico, 3,4-dihidroxibenzóico, cafeico, 5-O-cafeoilquínico e 3,5-dicafeoilquínico, além do glicosídeo iridoide 6-O-(4-metoxibenzoil)-crescentin IV 3-O- $\beta$ -D-glucopiranosídeo.

A RMN HR-MAS aliada à quimiometria possibilitou discriminar o gênero *Tabebuia* de *Handroanthus* pela presença dos compostos adenosina e ácido maleico. Enquanto que as espécies de *Handroanthus* se distinguiram pela presença dos metabólitos tirosina e dos ácidos fumárico e 3,4-dihidroxibenzóico nos ipês amarelos, bem como do ácido *p*-hidroxibenzóico e do glicosídeo iridoide 6-O-(4-metoxibenzoil)-crescentin IV 3-O- $\beta$ -D-glucopiranosídeo nos ipês rosa.

A PCA também permitiu diferenciar as espécies de ipês brancos pela presença da adenosina e do ácido fumárico em *T. roseoalba*. Além disso, as espécies de ipês amarelos se distinguiram formando dois grupos, o primeiro constituído por *H. albus*, *H. catarinensis* e *H. serratifolius*, o qual teve a formação influenciada pela presença dos compostos ácidos fumárico, *p*-hidroxibenzóico e 3,4-dihidroxibenzóico e de 6-O-(4-metoxibenzoil)-crescentin IV 3-O- $\beta$ -D-glucopiranosídeo. Enquanto que a discriminação de *H. chrysotrichus*, *H. ochraceus* e *H. pulcherrimus* foi influenciada pela tirosina.

As informações obtidas pela PCA foram confirmadas empregando a HCA, que demonstrou uma consistente distinção entre os gêneros em estudo, e até mesmo entre as espécies do gênero *Handroanthus*, devido a formação de quatro agrupamentos distintos. Assim sendo, verificou-se que os dados obtidos pela associação da RMN com as análises quimiométricas podem ser utilizados na quimiosistemática desses táxons.

As análises das diferentes partes - cascas do caule, folhas e flores -, das espécies *H. albus*, *H. chrysotrichus*, *H. catarinensis*, *H. heptaphyllus*, *H. impetiginosus*, *T. cassinoides* e *T. roseoalba*, permitiram observar que há compostos distintos em cada uma destas, e que, nas condições empregadas nesse estudo, a flor é o material botânico que apresenta sinais com maior intensidade na região de compostos contendo hidrogênios aromáticos e olefínicos.

O desenvolvimento das análises permitiu visualizar uma diferença substancial entre os perfis espectrais das amostras, dando embasamento ao estudo, que visou obter informações relevantes acerca destes gêneros, além de demonstrar a potencialidade da técnica para estudos nesta vertente. Assim, o trabalho comprova

que os espectros obtidos por RMN HR-MAS de  $^1\text{H}$  aliados a análises quimiométricas podem fornecer subsídios para auxiliar na quimiotaixonomia das espécies pertencentes a *Handroanthus* e *Tabebuia*, uma vez que fornece um perfil informativo da matriz analisada.

## REFERÊNCIAS

ABREU, A. C.; AGUILERA-SAEZ, L. M.; PEÑA, A.; GARCÍA-VALVERDE, M.; MARÍN, P.; VALERA, D. L.; FERNANDEZ, I. NMR-Based metabolomics approach to study the influence of different conditions of water irrigation and greenhouse ventilation on *Zucchini* crops. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 66, p. 8422-8432, 2018.

ABREU, A. C.; FERNÁNDEZ, I. NMR metabolomics applied on the discrimination of variables influencing tomato (*Solanum lycopersicum*). **Molecules**, v. 25, n. 3738, p. 1-23, 2020.

AGATONOVIC-KUSTRIN, S.; RISTIVOJEVIC, P.; GEGECHKORI, V.; LITVINOVA, T. M.; MORTON, D. W. Essential oil quality and purity evaluation via FT-IR spectroscopy and pattern recognition techniques. **Applied Sciences**, v. 10, n. 7294, p. 1-12, 2020.

ALAM, T. M; JENKINS, J. E. HR-MAS NMR spectroscopy in material science. *In*: FARRUKH, M. A. **Advanced Aspects of Spectroscopy**. IntechOpen, 2012, cap. 10, p. 279-306.

ANANTHARAJU, P. G.; GOWDA, P. C.; VIMALAMBIKE, M. G.; MADHUNAPANTULA, S. V. An overview on the role of dietary phenolics for the treatment of cancers. **Nutrition Journal**, v. 15, n. 99, p. 1-16, 2016.

AUGUSTIJN, D.; GROOT, H. J. M.; ALIA, A. HR-MAS NMR applications in plant metabolomics. **Molecules**, v. 26, n. 931, p. 1-18, 2021.

AWALE, S.; KAWAKAMI, T.; TEZUKA, Y.; UEDA, J.; TANAKA, K.; KADOTA S. Nitric Oxide (NO) production inhibitory constituents of *Tabebuia avellanedae* from Brazil. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 53, n. 6, p. 710-713, 2005.

BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**, v. 99, p. 191-203, 2006.

BARTEL, J.; KRUMSIEK, J.; THEIS, F. J. Statistical methods for the analysis of high-throughput metabolomics data. **Computational and Structural Biotechnology Journal**, v. 4, n. 5, p. 1-9, 2013.

BHATIA, A.; BHARTI, S. K.; TEWARI, S. K.; SIDHU, O. P.; ROY, R. Metabolic profiling for studying chemotype variations in *Withania somnifera* (L.) Dunal fruits using GC-MS and NMR spectroscopy. **Phytochemistry**, v. 93, p. 105-115, 2013.

BORGES, J. C. M.; SILVA, E. A. P.; BARROS, T. C. A.; SOARES, I. M.; ASCÊNCIO, S. D.; FIDELIS, R. R.; AGUIAR, R. W. S. Chemical composition, oviposition deterrent and larvicidal activities of the wood extracts of *Tabebuia avellanedae* from the cerrado of Brazil. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 12, n. 25, p. 404-414, 2018.

BOURGAUD, F.; GRAVOT, A.; MILESI, G.; GONTIER, E. Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. **Plant Science**, v. 161, p. 839-851, 2001.

BRERETON, R. G.; JANSEN, J.; LOPES, J.; MARINI, F.; POMERANTSEV, A.; RODIONOVA, O.; ROGER, J. M.; WALCZAK, B.; TAULER, R. Chemometrics in analytical chemistry - part I: history, experimental design and data analysis tools. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 409, p. 5891-5899, 2017.

BRITO, I. J. N.; COSTA, S. L.; CORDEIRO, J. M. P.; LOHMANN, L. G.; MELO, J. I. M. New records of the *Tabebuia* alliance (Bignoniaceae) for the state of Paraíba, northeastern Brazil. **Revista Mexicana de Biodiversidad**, v. 89, p. 625-630, 2018.

CANUTO, G. A. B.; COSTA, J. L.; CRUZ, P. L. R.; SOUZA, A. R. L.; FACCIIO, A. T.; KLASSEN, A.; RODRIGUES, K. T.; TAVARES, M. F. M. Metabolômica: definições, estado-da-arte e aplicações representativas. **Química Nova**, v. 41, n. 1, p. 75-91, 2018.

CARLOTTO, J.; MARIA-FERREIRA, D.; SOUZA, L. M.; LUZ, B. B.; DALLAZEN, J. L.; WERNER, M. F. P.; CIPRIANI, T. R. A polysaccharide fraction from “ipê-roxo” (*Handroanthus heptaphyllus*) leaves with gastroprotective activity. **Carbohydrate Polymers**, v. 226, n. 115239, p. 1-10, 2019.

CORNEJO-BÁEZ, A. A.; PEÑA-RODRÍGUEZ, L. M.; ALVAREZ-ZAPATA, R.; VAZQUEZ-HERNÁNDEZ, M.; SÁNCHEZ-MEDINA, A. Chemometrics: a complementary tool to guide the isolation of pharmacologically active natural products. **Drug Discovery Today**, v. 25, n. 1, p. 27-37, 2020.

CORSARO, C.; CICERO, N.; MALLAMACE, D.; VASI, S.; NACCARI, C.; SALVO, A.; GIOFRÈ, S. V.; DUGO, G. HR-MAS and NMR towards foodomics. **Food Research International**, v. 89, n. 3, p. 1085-1094, 2016.

COSTA, D.; SILVA, C.; PINHEIRO, A.; FROMMENWILER, D.; ARRUDA, M.; GUILHON, G.; ALVES, C.; ARRUDA, A.; SILVA, M. Using LC and Hierarchical Cluster Analysis as tools to distinguish timbó collections into two *Deguella* species: a contribution to chemotaxonomy. **Molecules**, v. 21, n. 569, p. 1-9, 2016.

COSTA, E. V. S.; BRÍGIDO, H. P. C.; SILVA, J. V. S.; COELHO-FERREIRA, M. R.; BRANDÃO, G. C.; DOLABELA, M. F. Antileishmanial activity of *Handroanthus serratifolius* (Vahl) S. Grose (Bignoniaceae). **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2017, p. 1-6, 2017.

COSTA, S. L. **Flora de Pernambuco (Brasil): Bignoniaceae Juss.** 2019. 140 f. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Departamento de Biologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife (PE), 2019.

CUSTERS, D.; COURSELLE, P.; APERS, S.; DECONINCK, E. Chemometrical analysis of fingerprints for the detection of counterfeit and falsified medicines. **Reviews in Analytical Chemistry**, v. 35, n. 4, p. 145-168, 2016.

DEBORDE, C.; MOING, A.; ROCH, L.; JACOB, D.; ROLIN, D.; GIRAUDEAU, P. Plant metabolism as studied by NMR spectroscopy. **Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy**, v. 102-103, p. 61-97, 2017.

DONA, A. C.; KYRIAKIDES, M.; SCOTT, F.; SHEPHARD, E. A.; VARSHAVI, D.; VESELKOV, K.; EVERETT, J. R. A guide to the identification of metabolites in NMR-based metabonomics/metabolomics experiments. **Computational and Structural Biotechnology Journal**, v. 14, p. 135-153, 2016.

DUARTE, A. P. M.; SOUZA FILHO, P. R. M.; ABBADE, L. C.; TAKAKI, M. Anemocoria em ipê-branco (*Tabebuia roseo-alba* (Ridl.) Sandwith - Bignoniaceae). **Naturalia**, v. 33, p. 1-7, 2010.

DUTRA, L. M.; SANTOS, A. D. C.; LOURENÇO, A. V. F.; NAGATA, N.; HEIDEN, G.; CAMPOS, F. R.; BARISON, A. <sup>1</sup>H HR-MAS NMR and chemometric methods for discrimination and classification of *Baccharis* (Asteraceae): a proposal for quality control of *Baccharis trimera*. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 184, n. 113200, p. 1-9, 2020.

EBRAHIMI, P.; VIERECK, N.; BRO, R.; ENGELSEN, S. B. Chemometric analysis of NMR spectra. In: WEBB, G. A. **Modern Magnetic Resonance**. Springer, 2017, p. 1-20.

ESPINOSA, J. F. High Resolution Magic Angle Spinning NMR applied to the analysis of organic compounds bound to solid supports. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 11, p. 74-92, 2011.

ESPÍRITO SANTO, F. S.; SIQUEIRA, A. A.; RAPINI, A. Chave interativa para a identificação das espécies da Aliança *Tabebuia* (Bignoniaceae) no estado da Bahia, Brasil. **Biota Neotropica**, v. 13, n. 3, p. 345-349, 2013.

FAROOQ, H.; COURTIER-MURIAS, D.; SOONG, R. BERMEL, W.; KINGERY, W. M.; SIMPSON, A. J. HR-MAS NMR spectroscopy: a practical guide for natural samples. **Current Organic Chemistry**, v. 17, p. 3013-3031, 2013.

FELIX, F. C.; MEDEIROS, J. A. D.; PACHECO, M. V. Morfologia de sementes e plântulas de *Handroanthus impetiginosus* (Mart. ex DC.) Mattos. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 41, n. 4, p. 1028-1035, 2018.

FERNANDES, M. F. L.; MORAES, S. M.; SOUSA, P. H. M.; MAGALHÃES, C. E. C.; ALMEIDA, M. M. B.; SILVA, M. G. V. Characterization of leaves used in infusion preparation grown in northeastern Brazil by chemometric methods based on their multi-elemental composition. **Food Science and Technology**, v. 39, p. 309-315, 2019.

FERNANDEZ, A.; COCK, I. E. *Tabebuia impetiginosa* (Mart. Ex DC. Mattos) bark extracts inhibit the growth gastrointestinal bacterial pathogens and potentiate the activity of some conventional antibiotics. **Pharmacognosy Communications**, v. 10, n. 2, p. 75-82, 2020.

FERRAZ-FILHA, Z. S.; ARAÚJO, M. C. P. M.; FERRARI, F. C.; DUTRA, I. P. A. R.; SAÚDE-GUIMARÃES, D. A. *Tabebuia roseoalba*: *in vivo* hypouricemic and anti-inflammatory effects of its ethanolic extract and constituents. **Planta Medica**, v. 82, p. 1395-1402, 2016.

FERREIRA-JÚNIOR, J. C.; CONSERVA, L. M.; LEMOS, R. P. L.; OMENA-NETA, G. C.; CAVALCANTE-NETO, A.; BARRETO, E. Isolation of a dihydrobenzofuran lignan, icariside E<sub>4</sub>, with an antinociceptive effect from *Tabebuia roseo-alba* (Ridley) Sandwith (Bignoniaceae) bark. **Archives of Pharmacal Research**, v. 38, p. 950-956, 2015.

FERREIRA, M. M. C. **Quimiometria – Conceitos, métodos e aplicações**. Campinas, SP: Editora da Unicamp, p.107-238, 2015.

FLORES, I. S.; SILVA, A. K.; FURQUIM, L. C.; CASTRO, C. F. S.; CHAVES, L. J.; COLLEVATTI, R. G.; LIÃO, L. M. HR-MAS NMR allied to chemometric on *Hancornia speciosa* varieties differentiation. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 29, n. 4, p. 708-714, 2018.

FOITO, A.; STEWART, D. Metabolomics: a high-throughput screen for biochemical and bioactivity diversity in plants and crops. **Current Pharmaceutical Design**, v. 24, n. 19, p. 2043-2054, 2018.

GARCEZ, F. R.; GARCEZ, W. S.; MAHMOUD, T. S.; FIGUEIREDO, P. O.; RESENDE, U. M. Novos constituintes químicos das cascas do caule de *Tabebuia heptaphylla*. **Química Nova**, v. 30, n. 8, p. 1887-1891, 2007.

GARZÓN-CASTAÑO, S. C.; JIMÉNEZ-GONZÁLEZ, F. J.; VELOZA, L. A.; SEPÚLVEDA-ARIAS, J. C. Activation of the Keap1-Nrf2 pathway by specioside and the *n*-butanol extract from the inner bark of *Tabebuia rosea* (Bertol) DC. **F1000Research**, v. 9, n. 1262, p. 1-18, 2020.

GENTRY, A. H. Bignoniaceae. **Flora Neotropica Monograph**, v. 25, n. 2, p. 1-370, 1992.

GOGNA, N.; HAMID, N.; DORAI, K. Metabolomic profiling of the phytomedicinal constituents of *Carica papaya* L. leaves and seeds by <sup>1</sup>H NMR spectroscopy and multivariate statistical analysis. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.115, p. 74-85, 2015.

GOMES, M. S.; CARDOSO, M. G.; SOUZA, P. E.; MACHADO, S. M. F.; SILVA, L. F.; TEIXEIRA, M. L.; ANDRADE, J.; MIRANDA, C. A. S. F.; ANDRADE, M. A. Multivariate analysis of the essential oil components of the genus *Citrus* and their antifungal activity. **Científica**, v.41, n. 2, p. 111–121, 2013.

GRAMAZIO, P.; TAKAYAMA, M.; EZURA, H. Challenges and prospects of new plant breeding techniques for GABA improvement in crops: tomato as an example. **Frontiers in Plant Science**, v.11, n. 577980, p. 1-16, 2020.

GROSE, S. O.; OLMSTEAD, R. G. Taxonomic revisions in the polyphyletic genus *Tabebuia* s. l. (Bignoniaceae). **Systematic Botany**, v. 32, n. 3, p. 660-670, 2007.

GUTIÉRREZ-GRIJALVA, E. P.; AMBRIZ-PÉREZ, D. L.; LEYVA-LÓPEZ, N.; CASTILLO-LÓPEZ, R. I.; HEREDIA, J. B. Bioavailability of dietary phenolic compounds: review. **Revista Española de Nutrición Humana y Dietética**, v. 20, n. 2, p. 140-147, 2016.

HEMAMALINI, K.; SOUJANYA, G. L.; BHARGAV, A.; VASIREDDY, U. *In-vivo* anticancer activity of *Tabebuia rosea* (Bertol) DC. leaves on Dalton's ascetic lymphoma in mice. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 3, n. 11, p. 4496-4502, 2012.

HUANG, X.; POWERS, R.; TYMIAK, A.; ESPINA, R.; ROONGTA, V. Introduction to NMR and its application in metabolite structure determination. *In*: ZHANG, D.; ZHU, M.; HUMPHREYS, W. G. **Drug Metabolism in Drug Design and Development**. John Wiley & Sons, 2008, cap. 12, p. 369-409.

JIANG, Y. Y.; ZHONG, G. C.; WANG, L.; WANG, T.; WANG, M.; ZHANG, L.; ZHOU, Y. H.; DING, C. B.; YANG, R. W.; WANG, X. L. The use of Principal Component Analyses and Hierarchical Cluster Analyses in the quality evaluation of *Salvia miltiorrhiza* Bunge. **Quality Assurance and Safety of Crops & Foods**, v. 6, n. 4, p. 445-452, 2014.

JIMÉNEZ-GONZÁLEZ, F. J.; VÉLEZ-GÓMEZ, J. M.; MELCHOR-MONCADA, J. J.; VELOZA, L. A.; SEPÚLVEDA-ARIAS, J. C. Antioxidant, anti-inflammatory, and antiproliferative activity of extracts obtained from *Tabebuia rosea* (Bertol.) DC. **Pharmacognosy Magazine**, v. 14, n. 55, p. 25-31, 2018.

KANDASAMY, S.; YOO, J.; YUN, J.; KANG, H. B.; SEOL, K.-H.; HAM, J.-S. <sup>1</sup>H HRMAS-NMR based metabolic fingerprints for discrimination of cheeses based on sensory qualities. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 27, p. 1446-1461, 2020.

KIM, H. K.; CHOI, Y. H.; ERKELENS, C.; LEFEBER, A. W. M.; VERPOORTE, R. Metabolic fingerprinting of *Ephedra* species using  $^1\text{H-NMR}$  spectroscopy and Principal Component Analysis. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 53, n. 1, p. 105-109, 2005.

KIM, H. K.; CHOI, Y. H.; VERPOORTE, R. NMR-based metabolomic analysis of plants. **Nature Protocols**, v. 5, n. 3, p. 536-549, 2010.

KOLB, R. M.; JOLY, C. A. Flooding tolerance of *Tabebuia cassinoides*: metabolic, morphological and growth responses. **Flora**, v. 204, p. 528-535, 2009.

KOYAMA, J.; MORITA, I.; TAGAHARA, K.; HIRAI, K.-I. Cyclopentene dialdehydes from *Tabebuia impetiginosa*. **Phytochemistry**, v. 53, p. 869-872, 2000.

KUMAR, D. Nuclear Magnetic Resonance (NMR) spectroscopy for metabolic profiling of medicinal plants and their products. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v. 46, n. 5, p. 400-412, 2016.

KUMAR, D.; THAKUR, K.; SHARMA, S.; KUMAR, S. NMR for metabolomics studies of *Crataegus rhipidophylla* Gand. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 411, p. 2149-2159, 2019.

KUMAR, V.; SHARMA, A.; KAUR, R.; THUKTAL, A. K.; BHARDWAJ, R.; AHMAD, P. Differential distribution of amino acids in plants. **Amino Acids**, v. 49, p. 821-869, 2017.

LANN, K. L.; KERVAREC, N.; PAYRI, C. E.; DESLANDES, E.; STIGER-POUVREAU, V. Discrimination of allied species within the genus *Turbinaria* (Fucales, Phaeophyceae) using HRMAS NMR spectroscopy. **Talanta**, v. 74, p. 1079-1083, 2008.

LEE, M. H.; CHOI, H. M.; HAHM, D.-H.; HER, E.; YANG, H.-I.; YOO, M. C.; KIM, K. S. Analgesic and anti-inflammatory effects in animal models of an ethanolic extract of Taheebo, the inner bark of *Tabebuia avellanedae*. **Molecular Medicine Reports**, v. 6, p. 791-796, 2012.

LEVER, J.; KRZYWINSKI, M.; ALTMAN, N. Principal Component Analysis. **Nature Methods**, v. 14, n. 7, p. 641-642, 2017.

LIÃO, L. M.; CHOZE, R.; CAVALCANTE, P. P. A.; SANTOS, S. C.; FERRI, P. H.; FERREIRA, A. G. Perfil químico de cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris*) pela técnica de High Resolution Magic Angle Spinning (HR-MAS). *Química Nova*, v. 33, n. 3, p. 634-638, 2010.

LIU, K.; ABDULLAH, A. A.; HUANG, M.; NISHIOKA, T.; ALTAF-UL-AMIN, M.; KANAYA, S. Novel approach to classify plants based on metabolite-content similarity. **BioMed Research International**, v. 2017, p. 1-12, 2017.

LIU, N. Q.; CAO, M.; FRÉDÉRICH, M.; CHOI, Y. H.; VERPOORTE, R.; VAN DER KOOY, F. Metabolomic investigation of the ethnopharmacological use of *Artemisia afra* with NMR spectroscopy and multivariate data analysis. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 128, p. 230-235, 2010.

LOHMANN, L. G. *Check-list* das Bignoniaceae do estado de Mato Grosso do Sul. **Iheringia - Série Botânica**, v. 73, p. 157-162, 2018.

LOHMANN, L. G. 2020a. ***Handroanthus* in Flora do Brasil 2020**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB114068>>. Acesso em: 16 ago. 2021.

LOHMANN, L. G. 2020b. ***Tabebuia* in Flora do Brasil 2020**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB114249>>. Acesso em: 16 ago. 2021.

MAAS, W. E.; LAUKIEN, F. H.; CORY, D. G. Gradient, high resolution, magic angle sample spinning NMR. **Journal of the American Chemical Society**, v. 118, n. 51, p. 13085-13086, 1996.

MADHUMITHA, G.; DIVYA, K.; FOWSIYA, J. A study on phytochemical analysis, antioxidant and larvicidal activity of dried flowers of *Tabebuia rosea*. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, v. 7, n. 10, p. 693-698, 2015.

MALANGE, K. F.; SANTOS, G. G.; KATO, N. N.; TOFFOLI-KADRI, M. C.; CAROLLO, C. A.; SILVA, D. B.; PORTUGAL, L. C.; ALVES, F. M.; RITA, P. H. S.; PARADA, C. A.; RONDON, E. S. *Tabebuia aurea* decreases hyperalgesia and neuronal injury induced by snake venom. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 233, p. 131-140, 2019.

MARIA-FERREIRA, D.; CARLOTTO, J.; DALLAZEN, J. L.; LUZ, B. B.; SOUZA, L. M.; WERNER, M. F. P.; CIPRIANI, T. R. A polysaccharide fraction from *Handroanthus albus* (yellow ipê) leaves with antinociceptive and anti-inflammatory activities. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 159, p. 1004-1012, 2020.

MATSUURA, H. N.; MALIK, S.; COSTA, F.; YOUSEFZADI, M.; MIRJALILI, M. H.; ARROO, R.; BHAMBRA, A. S.; STRNAD, M.; BONFLL, M.; FETT-NETO, A. G. Specialized plant metabolism characteristics and impact on target molecule biotechnological production. **Molecular Biotechnology**, v. 60, p. 169-183, 2018.

MAZZEI, P.; PICCOLO, A. HRMAS NMR spectroscopy applications in agriculture. **Chemical and Biological Technologies in Agriculture**, v. 4, n. 11, p. 1-13, 2017.

MORAN-PALACIO, E. F.; TORTOLEDO-ORTIZ, O.; YAÑEZ-FARIAS, G.; ZAMORA-ÁLVAREZ, L. A.; STEPHENS-CAMACHO, N. A.; SOÑANEZ-ORGANIS, J. G.; OCHOA-LÓPEZ, L. M.; ROSAS-RODRÍGUEZ, J. Determination of amino acids in medicinal plants from southern Sonora, Mexico. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v. 13, n. 4, p. 601-606, 2014.

MORKUNAS, I.; BOREK, S.; FORMELA, M.; RATAJCZAK, L. Plant responses to sugar starvation. *In*: CHANG, C.-F. **Carbohydrates – Comprehensive studies on glycobiology and glycotechnology**. IntechOpen, 2012, cap. 19, p. 409-438.

NEELAM; KHATKARB, A.; SHARMA, K. K. Phenylpropanoids and its derivatives: biological activities and its role in food, pharmaceutical and cosmetic industries. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, p. 1-20, 2019.

OLIVEIRA, C. S.; CARLOS, E. F.; VIEIRA, L. G. E.; LIÃO, L. M.; ALCANTARA, G. B. HR-MAS NMR metabolomics of 'swingle' citrumelo rootstock genetically modified to overproduce proline. **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 52, p. 422-429, 2014.

PAN, Q.; DAI, Y.; NURINGTYAS, T. R.; MUSTAFA, N. R.; SCHULTE, A. E.; VERPOORTE, R.; CHOI, Y. H. Investigation of the chemomarkers correlated with flower colour in different organs of *Catharanthus roseus* using NMR-based metabolomics. **Phytochemical Analysis**, v. 25, p. 66-74, 2014.

PAULICHEN, A.; VIEIRA, L. T. A. Germination analysis in different substrates of *Tabebuia cassinoides* (Lam.) DC. of high restinga forest, Ubatuba, São Paulo, Brazil. **Brazilian Journal of Biological Sciences**, v. 7, n. 16, p. 165-174, 2020.

PEREIRA, I. T.; BURCI, L. M.; SILVA, L. M.; BAGGIO, C. H.; HELLER, M.; MICKE, G. A.; PIZZOLATTI, M. G.; MARQUES, M. C. A.; WERNER, M. F. P. Antiulcer effect of bark extract of *Tabebuia avellanedae*: activation of cell proliferation in gastric mucosa during the healing process. **Phytotherapy Research**, v. 27, p. 1067-1073, 2013.

PERIYANNAN, G. R.; LAWRENCE, B. A.; EGAN, A. E. <sup>1</sup>H NMR spectroscopy-based configurational analysis of mono- and disaccharides and detection of  $\beta$ -glucosidase activity: na undergraduate biochemistry laboratory. **Journal of Chemical Education**, v. 92, n. 7, p. 1244-1249, 2015.

PÉREZ, E. M. S.; IGLESIAS, M. J.; ORTIZ, F. L.; PÉREZ, I. S.; GALERA, M. M. Study of the suitability of HRMAS NMR for metabolic profiling of tomatoes: application to tissue differentiation and fruit ripening. **Food Chemistry**, v. 122, p. 877-887, 2010.

PÉREZ, H.; DÍAZ, F.; MEDINA, J. D. Chemical investigation and *in vitro* antimalarial activity of *Tabebuia ochracea* ssp. *neochrysantha*. **International Journal of Pharmacognosy**, v. 35, n. 4, p. 227-231, 1997.

**PESQUISA FAPESP**. Adeus a Otto Gottlieb. Edição 185, p. 24-25, 2011. Disponível em: <https://revistapesquisa.fapesp.br/adeus-a-otto-gottlieb/>. Acesso em: 10 set. 2021.

PILON, A. C.; SELEGATO, D. M.; FERNANDES, R. P.; BUENO, P. C. P.; PINHO, D. R.; CARNEVALE NETO, F.; FREIRE, R. T.; CASTRO-GAMBOA, I.; BOLZANI, V. S.; LOPES, N. P. Metabolômica de plantas: métodos e desafios. **Química Nova**, v. 43, n. 3, p. 329-354, 2020.

PIMENTEL, N.; BISOGNIN, D. A.; RODRIGUES, M. B.; KIELSE, P.; LENCINA, K. H. Micropropagation of *Handroanthus heptaphyllus* (Velloso Mattos). **Australian Journal of Basic and Applied Sciences**, v. 10, n. 16, p. 79-87, 2016.

PINHEIRO, F.; DANTAS-QUEIROZ, M. V.; PALMA-SILVA, C. Plant species complexes as models to understand speciation and evolution: a review of south american studies. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 37, n. 1, p. 54-80, 2018.

PONTES, J. G. M.; BRASIL, A. J. M.; CRUZ, G. C. F.; SOUZA, R. N.; TASIC, L. NMR-based metabolomics strategies: plants, animals and humans. **Analytical Methods**, v. 9, p. 1078-1096, 2017.

PRETTI, V. Q.; FRANÇOSO, E.; SFORÇA, D. A.; PINHEIRO, F.; MEYER, D.; LOHMANN, L. G. Development and characterization of microsatellite loci for *Tabebuia cassinoides* (Bignoniaceae). **Genetics and Molecular Research**, v. 13, n. 3, p. 5601-5605, 2014.

RAJANI, V.; SOUMYA, K. K.; SAJITHA, R. S. Aminoacid profiling and antioxidante potential of some selected edible plants. **International Journal of Science and Nature**, v. 6, n. 1, p. 74-79, 2015.

REYNOLDS, W. F. Natural product structure elucidation by NMR spectroscopy. *In: Current Trends in Pharmacognosy Research*. Elsevier Inc., 2017, cap. 29, p. 567-596.

RINGNÉR, M. What is principal component analysis?. **Nature Biotechnology**, v. 26, n. 3, p. 303-304, 2008.

ROLIN, D.; DEBORDE, C.; MAUCOURT, M.; CABASSON, C.; FAUVELLE, F.; JACOB, D.; CANLET, C.; MOING, A. High-Resolution <sup>1</sup>H-NMR spectroscopy and beyond to explore plant metabolome. *In: ROLIN, D. Advances in Botanical Research*. Academic Press, 2013, v. 67, cap. 1, p. 1-66.

ROHMAN, A.; WINDARSIH, A. The application of molecular spectroscopy in combination with chemometrics for Halal authentication analysis: a review. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 5155, p. 1-18, 2020.

RUSILOWICZ, M.; O'KEEFE, S.; WILSON, J.; CHARLTON, A. Chemometrics applied to NMR analysis. *In: Encyclopedia of Analytical Chemistry*. John Wiley & Sons, 2014, p. 1-32.

ŠAMEC, D.; KARALIJA, E.; ŠOLA, I.; BOK, V. V.; SALOPEK-SONDI, B. The role of polyphenols in abiotic stress response: the influence of molecular structure. **Plants**, v. 10, n. 118, p. 1-24, 2021.

SANDWITH, N. Y.; HUNT, D. R. Bignoniaceae. *In: REITZ, P. R. Flora ilustrada catarinense*. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, 1974. p. 172.

SANTOS, A. D. C.; FONSECA, F. A.; LIÃO, L. M.; ALCANTARA, G. B.; BARISON, A. High-resolution magic angle spinning nuclear magnetic resonance in foodstuff analysis. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 73, p. 10-18, 2015.

SANTOS, V. S.; MACEDO, F. A.; VALE, J. S.; SILVA, D. B.; CAROLLO, C. A. Metabolomics as a tool for understanding the evolution of *Tabebuia sensu lato*. **Metabolomics**, v. 13, n. 72, p. 1-11, 2017.

SCARANTE, A. G.; MATOS, M. F. S.; SOARES, M. T. S.; AGUIAR, A. V.; WREGGE, M. S. Distribution of *Handroanthus heptaphyllus* in Brazil and future projections according to global climate change. **Revista Geama**, v. 3, n. 4, p. 201-207, 2017.

SCHMEDA-HIRSCHMANN, G.; PAPASTERGIOU, F. Naphthoquinone derivatives and lignans from the paraguayan crude drug "Tayĩ Pytá" (*Tabebuia heptaphylla*, Bignoniaceae). **Zeitschrift für Naturforschung**, p. 495-501, 2003.

SEBBENN, A. M.; SEOANE, C. E. S.; KAGEYAMA, P. Y.; LACERDA, C. M. B. Estrutura genética em populações de *Tabebuia cassinoides*: implicações para o manejo florestal e a conservação genética. **Revista do Instituto Florestal**, v. 13, n. 2, p. 99-113, 2001.

SICHAEM, J.; KAENNAKAM, S.; SIRIPONG, P.; TIP-PYANG, S. Tabebuialdehydes A-C, cyclopentene dialdehyde derivatives from the roots of *Tabebuia rosea*. **Fitoterapia**, v. 83, p. 1456-1459, 2012.

SILVA, A. M. P.; PAIVA, S. R.; FIGUEIREDO, M. R.; KAPLAN, M. A. C. Biological activity of naphthoquinones from Bignoniaceae species. **Revista Fitos**, v. 7, n. 4, p. 207-215, 2012.

SILVA, G. R.; BERGER, M.; BERNARDY, D.; TABALDI, L. A.; BIRCK, T. P.; TAROUCO, C. P.; SASSO, V. M. Effect of aluminum on morphophysiological and biochemical variables of *Handroanthus heptaphyllus* (Vell.) Mattos in hydroponic system. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 9, p. 65755-65773, 2020.

SILVA, J. C.; SANTOS, W. B.; ARAUJO, M. G. S.; OLIVEIRA, J. F. S.; VERÍSSIMO, R. C. S. S.; BERNARDO, T. H. L.; SANTOS JÚNIOR, P. F. S.; SILVA JÚNIOR, E. F.; VIEIRA, A. C. S.; CONSERVA, L. M.; ARAÚJO JÚNIOR, J. X.; BASTOS, M. L. A. Evaluation of the cytotoxic, antimicrobial and antioxidant activity of the plant species *Tabebuia roseo-alba* (Ridl) Sand. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, v. 9, n. 4, p. 148-153, 2017.

SILVA, S. M. A.; SILVA NETO, G. J.; NASCIMENTO, I. R. C.; VIANA, M. D. M.; LIMA, A. A.; BEZERRA, P. H. S.; BASTOS, M. L. A.; MOREIRA, M. S. A.; CAMPESATTO, E. A. The antinociceptive effect of the leaves and flowers ethanolic extracts of *Tabebuia aurea* (Silva Manso) Benth & Hook. F. ex S. Moore. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 61, p. 1-12, 2018.

SILVA, V. C.; RODRIGUES, C. M. Natural products: an extraordinary source of value-added compounds from diverse biomasses in Brazil. **Chemical and Biological Technologies in Agriculture**, v. 1, n. 14, p. 1-6, 2014.

SOCACIU, C. From phytochemistry to metabolomics: eight decades of research in plant and food science. **Studia Universitatis Babes-Bolyai Chemia**, v. 4, p. 205-224, 2019.

SPRAUL, M.; HUMPFER, S.; KELLER, S.; SCHÄFER, H. The analysis of beverages by NMR-based statistics. **Spin Report**, v. 154/155, n. 26, 2005.

SUO, M.; ISAO, H.; KATO, H.; TAKANO, F.; OHTA, T. Anti-inflammatory constituents from *Tabebuia avellanedae*. *Fitoterapia*, v. 83, p. 1484-1488, 2012.

TAKAHASHI, S.; KAWAKAMI, S.; SUGIMOTO, S.; MATSUNAMI, K.; OTSUKA, H. Lignan glycosides and phenolic compound glycosides from the branches of *Tabebuia chrysotricha*. **American Journal of Plant Sciences**, v. 6, p. 676-684, 2015.

THIRUMURUGAN, D.; CHOLARAJAN, A.; RAJA, S. S. S.; VIJAYAKUMAR, R. An introductory chapter: secondary metabolites. *In*: VIJAYAKUMAR, R. **Secondary metabolites - sources and applications**. IntechOpen, 2018, cap. 1, p. 3-21.

TORRES, C. A.; NUÑEZ, M. B.; ISLA, M. I.; CASTRO, M. P.; GONZALEZ, A. M.; ZAMPINI, I. C. Antibacterial activity of tinctures from tree leaves belonging to the Bignoniaceae family and their synergistic effect with antibiotics. **Pharmacognosy Journal**, v. 7, n. 6, p. 400-405, 2015.

TROUVELOT, S.; HÉLOIR, M.-C.; POINSSOT, B.; GAUTHIER, A.; PARIS, F.; GUILLIER, C.; COMBIER, M.; TRDÁ, L.; DAIRE, X.; ADRIAN, M. Carbohydrates in plant immunity and plant protection: roles and potential application as foliar sprays. **Frontiers in Plant Science**, v. 5, n. 592, p. 1-14, 2014.

TUGIZIMANA, F.; PIATER, L.; DUBERY, I. Plant metabolomics: a new frontier in phytochemical analysis. **South African Journal of Science**, v. 109, n. 5/6, p. 1-11, 2013.

TWARDOWSCHY, A.; FREITAS, C. S.; BAGGIO, C. H.; MAYER, B.; SANTOS, A. C.; PIZZOLATTI, M. G.; ZACARIAS, A. A.; SANTOS, E. P.; OTUKI, M. F.; MARQUES, M. C. A. Antiulcerogenic activity of bark extract of *Tabebuia avellanedae*, Lorentz ex Griseb. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 118, p. 455-459, 2008.

VINTHER, J. M.; WUBSHET, S. G.; STAERK, D. NMR-based metabolomics and hyphenated NMR techniques: a perfect match in natural products research. *In*: HEINRICH, M.; JÄGER, A. K. **Ethnopharmacology**. John Wiley & Sons, 2015, cap. 7, p. 63-74.

WARASHINA, T.; NAGATANI, Y.; NORO, T. Constituents from the bark of *Tabebuia impetiginosa*. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 54, n. 1, p. 14-20, 2006.

WARASHINA, T.; NAGATANI, Y.; NORO, T. Further constituents from the bark of *Tabebuia impetiginosa*. **Phytochemistry**, v. 66, p. 589-597, 2005.

WORLEY, B.; POWERS, R. Multivariate analysis in metabolomics. **Current Metabolomics**, v. 1, n. 1, p. 92-107, 2013.

YANG, Q.; ZHAO, D.; LIU, Q. Connections between amino acid metabolisms in plants: lysine as an example. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, n. 928, p. 1-8, 2020.

ZANI, C. L.; OLIVEIRA, A. B.; OLIVIERA, G. G. Furanonaphthoquinones from *Tabebuia ochracea*. **Phytochemistry**, v. 30, n. 7, p. 2379-2381, 1991.

ZEECE, M. Carbohydrates. *In*: ZEECE, M. **Introduction to the Chemistry of Food**. Academic Press, 2020, cap. 3, p. 81-125.

ZHANG, L.; HASEGAWA, I.; OHTA, T. Anti-inflammatory cyclopentene derivatives from the inner bark of *Tabebuia avellanedae*. **Fitoterapia**, v. 109, p. 217–223, 2016.

ZHANG, L.; HASEGAWA, I.; TATSUNO, T.; KAWABATA, T.; OHTA, T.; TADANO, T. New compounds from *Tabebuia avellanedae*. **Heterocycles**, v. 89, n. 3, p. 731-738, 2014.

ZHANG, L.; TATSUNO, T.; HASEGAWA, I.; TADANO, T.; OHTA, T. Furanonaphthoquinones from *Tabebuia avellanedae* induce cell cycle arrest and apoptosis in the human non-small cell lung cancer cell line A549. **Phytochemistry Letters**, v. 11, p. 9-17, 2015.

ZHAO, F.; LI, W.; PAN, J.; CHEN, Z.; QU, H. A novel critical control point and chemical marker identification method for the multi-step process control of herbal medicines via NMR spectroscopy and chemometrics. **RSC Advances**, v. 10, p. 23801-23812, 2020.

## APÊNDICE 1 – DADOS COMPLEMENTARES DAS ESPÉCIES DE *HANDROANTHUS* E *TABEBUJA*

TABELA 18 - DADOS COMPLEMENTARES DAS ESPÉCIES DE *HANDROANTHUS* E *TABEBUJA* ANALISADAS NO ESTUDO

Espécie	Sinonímias	Origem/ Endemismo	Distribuição Geográfica	Domínios Fitogeográficos	Floração	Descrição
<i>Handroanthus albus</i>	Basiônimo: <i>Tecoma alba</i> Homotípico: <i>Tabebuia alba</i>	Nativa/Não é endêmica do Brasil	Sudeste e Sul	Mata Atlântica	Agosto e Setembro	Flores: corola amarela
<i>Handroanthus catarinensis</i>	Basiônimo: <i>Tabebuia catarinensis</i> A. H. Gentry	Nativa/É endêmica do Brasil	Sul	Mata Atlântica	Janeiro, Setembro e Outubro	Flores: corola amarela
<i>Handroanthus chrysostrichus</i>	Basiônimo: <i>Tecoma chrysostricha</i> Mart. ex DC. <i>Tecoma pedicellata</i> Bureau & K.Schum. Heterotípico: <i>Handroanthus catinga</i> (Bureau & K.Schum.) Mattos <i>Handroanthus chrysostrichus</i> var. <i>obtusata</i> (DC.) Mattos <i>Handroanthus pedicellatus</i> (Bureau & K.Schum.) Mattos <i>Tabebuia chrysostricha</i> var. <i>obtusata</i> (DC.) Toledo <i>Tecoma catinga</i> Bureau & K.Schum. <i>Tecoma chrysostricha</i> var. <i>obtusata</i> (DC.) Bureau & K. Schum. <i>Tecoma flavescens</i> Mart. ex DC. <i>Tecoma grandis</i> Kraenzl. <i>Tecoma obtusata</i> DC. <i>Tecoma ochracea</i> var. <i>denudata</i> Cham.	Nativa/Não é endêmica do Brasil	Nordeste, Sudeste e Sul	Cerrado, Mata Atlântica, Pampa	Abril à Novembro	Flores: corola amarela com estrias avermelhadas

FONTE: Adaptada de COSTA (2019) e LOHMANN (2020).

LEGENDA: Basiônimo, é o nome científico pelo qual foi originalmente nomeado e catalogado um determinado táxon. Nomes publicados posteriormente para a mesma espécie biológica, são considerados sinônimos, que podem ser homotípicos (baseados nos mesmos materiais tipos) ou heterotípicos (baseados em materiais tipos diferentes).

TABELA 18 (CONT.) - DADOS COMPLEMENTARES DAS ESPÉCIES DE *HANDROANTHUS* E *TABEBUIA* ANALISADAS NO ESTUDO

Espécie	Sinonímias	Origem/ Endemismo	Distribuição Geográfica	Domínios Fitogeográficos	Floração	Descrição
<i>Handroanthus chrysostrichus</i>	Homotípico: <i>Gelseminum chrysostrichum</i> (Mart. ex DC.) Kuntze <i>Tabebuia chrysostricha</i> (Mart. ex DC.) Standl. <i>Tabebuia pedicellata</i> (Bureau & K. Schum.) A. H. Gentry Heterotípico: <i>Bignonia heptaphylla</i> Vell. <i>Handroanthus avellanadae</i> var. <i>paulensis</i> (Toledo) Mattos <i>Handroanthus eximius</i> (Miq.) Mattos <i>Handroanthus impetiginosus</i> var. <i>lepidota</i> (Bureau) Mattos <i>Tabebuia avellanadae</i> var. <i>paulensis</i> Toledo <i>Tabebuia eximia</i> (Miq.) Sandwith <i>Tabebuia heptaphylla</i> (Vell.) Toledo <i>Tabebuia impetiginosa</i> var. <i>lepidota</i> (Bureau) Toledo <i>Tabebuia ipe</i> (Mart. ex K. Schum.) Standl. <i>Tecoma curialis</i> Saldanha <i>Tecoma eximia</i> Miq. <i>Tecoma impetiginosa</i> var. <i>lepidota</i> Mart. <i>Tecoma impetiginosa</i> var. <i>lepidota</i> Bureau	Nativa/Não é endêmica do Brasil	Nordeste, Sudeste e Sul	Cerrado, Mata Atlântica e Pampa	Abril à Novembro	Flores: corola amarela com estrias avermelhadas
<i>Handroanthus heptaphyllus</i>		Nativa/Não é endêmica do Brasil	Nordeste, Centro-Oeste, Sudeste e Sul	Cerrado, Mata Atlântica e Pampa	Setembro e Outubro	Flores: corola rôsea

FONTE: Adaptada de COSTA (2019) e LOHMANN (2020).

LEGENDA: Basiônimo, é o nome científico pelo qual foi originalmente nomeado e catalogado um determinado táxon. Nomes publicados posteriormente para a mesma espécie biológica, são considerados sinônimos, que podem ser homotípicos (baseados nos mesmos materiais tipos) ou heterotípicos (baseados em materiais tipos diferentes).

TABELA 18 (CONT.) - DADOS COMPLEMENTARES DAS ESPÉCIES DE *HANDROANTHUS* E *TABEBUIA* ANALISADAS NO ESTUDO

Espécie	Sinônimas	Origem/ Endemismo	Distribuição Geográfica	Domínios Fitogeográficos	Floração	Descrição
<i>Handroanthus heptaphyllus</i>	<i>Tecoma ipe</i> Mart. ex K. Schum. <i>Tecoma ipe</i> var. <i>desinens</i> Sprague	Nativa/Não é endêmica do Brasil	Nordeste, Centro-Oeste, Sudeste e Sul	Cerrado, Mata Atlântica e Pampa	Setembro e Outubro	Flores: corola rósea
<i>Handroanthus impetiginosus</i>	<u>Basiônimo</u> : <i>Tecoma impetiginosa</i> Mart. ex DC. <u>Heterotípico</u> : <i>Gelseminum avellaneda</i> (Lorentz ex Griseb.) Kuntze <i>Handroanthus avellaneda</i> (Lorentz ex Griseb.) Mattos <i>Tabebuia avellaneda</i> Lorentz ex Griseb. <i>Tabebuia dugandii</i> Standl. <i>Tabebuia ipe</i> var. <i>integra</i> (Sprague) Sandwith <i>Tabebuia nicaraguensis</i> S. F. Blake <i>Tabebuia palmeri</i> Rose <i>Tabebuia schunkevigoi</i> D. R. Simpson <i>Tecoma adenophylla</i> Bureau & K. Schum. <i>Tecoma avellaneda</i> (Lorentz ex Griseb.) Speg. <i>Tecoma avellaneda</i> var. <i>alba</i> Lillo <i>Tecoma integra</i> (Sprague) Hassl. <i>Tecoma ipe</i> var. <i>integra</i> Sprague	Nativa/Não é endêmica do Brasil	Norte, Nordeste, Centro-Oeste e Sudeste	Cerrado, Mata Atlântica e Pantanal	Abril à Dezembro	Flores: corola magenta, amarela na parte interna

FONTE: Adaptada de COSTA (2019) e LOHMANN (2020).

LEGENDA: Basiônimo, é o nome científico pelo qual foi originalmente nomeado e catalogado um determinado táxon. Nomes publicados posteriormente para a mesma espécie biológica, são considerados sinônimos, que podem ser homotípicos (baseados nos mesmos materiais tipos) ou heterotípicos (baseados em materiais tipos diferentes).

TABELA 18 (CONT.) - DADOS COMPLEMENTARES DAS ESPÉCIES DE *HANDROANTHUS* E *TABEBUIA* ANALISADAS NO ESTUDO

Espécie	Sinonímias	Origem/ Endemismo	Distribuição Geográfica	Dominios Fitogeográficos	Floração	Descrição
<i>Handroanthus impetiginosus</i>	<u>Heterotípico:</u> <i>Tecoma ipe</i> var. <i>integrifolia</i> Hassl. <u>Homotípico:</u> <i>Tabebuia impetiginosa</i> (Mart. ex DC.) Standl. <i>Tecoma impetiginosa</i> Mart. <u>Basiônimo:</u> <i>Tecoma ochracea</i> Cham. <u>Heterotípico:</u> <i>Bignonia heteropoda</i> DC. <i>Bignonia heterotricha</i> DC. <i>Bignonia tomentosa</i> Pav. ex DC. <i>Tabebuia blakeana</i> Pittier <i>Tabebuia heteropoda</i> (DC.) Sandwith <i>Tabebuia heterotricha</i> (DC.) Hemsl. <i>Tabebuia hypodicton</i> (DC.) Standl. <i>Tabebuia neochrysantha</i> A. H. Gentry <i>Tabebuia ochracea</i> subsp. <i>heteropoda</i> (DC.) A. H. Gentry <i>Tabebuia ochracea</i> subsp. <i>heterotricha</i> (DC.) A. H. Gentry <i>Tabebuia ochracea</i> subsp. <i>neochrysantha</i> (A. H. Gentry) A. H. Gentry <i>Tecoma campinae</i> Kraenzl.	Nativa/Não é endêmica do Brasil	Norte, Nordeste, Centro-Oeste e Sudeste	Amazônia, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica e Pantanal	Abril à Dezembro	Flores: corola magenta com coloração amarela na parte interna
<i>Handroanthus ochraceus</i>		Nativa/Não é endêmica do Brasil	Norte, Nordeste, Centro-Oeste, Sudeste e Sul	Amazônia, Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica	Setembro à Fevereiro	Flores: corola amarela, com linhas vermelhadas na parte interna

FONTE: Adaptada de COSTA (2019) e LOHMANN (2020).

LEGENDA: Basiônimo, é o nome científico pelo qual foi originalmente nomeado e catalogado um determinado táxon. Nomes publicados posteriormente para a mesma espécie biológica, são considerados sinônimos, que podem ser homotípicos (baseados nos mesmos materiais tipos) ou heterotípicos (baseados em materiais tipos diferentes).

TABELA 18 (CONT.) - DADOS COMPLEMENTARES DAS ESPÉCIES DE *HANDROANTHUS* E *TABEBUIA* ANALISADAS NO ESTUDO

Espécie	Sinonímias	Origem/ Endemismo	Distribuição Geográfica	Domínios Fitogeográficos	Floração	Descrição
<i>Handroanthus ochraceus</i>	Heterotípico: <i>Tecoma grandiceps</i> Kraenzl. <i>Tecoma hassleri</i> Sprague <i>Tecoma hemmendorffiana</i> Kraenzl.  <i>Tecoma heteropoda</i> DC. <i>Tecoma heterotricha</i> DC. <i>Tecoma hypodictyon</i> DC. <i>Tecoma hypodictyon</i> DC. <u>Homotípico: <i>Tabebuia ochracea</i></u> (Cham.) Standl.	Nativa/Não é endêmica do Brasil	Norte, Nordeste, Centro-Oeste, Sudeste e Sul	Amazônia, Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica	Setembro à Fevereiro	Flores: corola amarela, com linhas vermelhadas na parte interna
<i>Handroanthus pulcherrimus</i>	<u>Basiônimo: <i>Tabebuia pulcherrima</i></u> Sandwith <u>Heterotípico: <i>Tecoma</i></u> <u><i>petropolitana</i></u> Glaz.	Nativa/Não é endêmica do Brasil	Sudeste e Sul	Mata Atlântica e Pampa	Setembro à Janeiro	Flores: corola amarela, com linhas vermelhadas na parte interna
<i>Handroanthus serratifolius</i>	<u>Basiônimo: <i>Bignonia serratifolia</i></u> Vahl <u>Heterotípico:</u> <i>Bignonia araliacea</i> Cham. <i>Bignonia conspicua</i> Rich. ex DC. <i>Bignonia flavescens</i> Vell. <i>Bignonia patrisiana</i> DC. <i>Gelseminum araliaceum</i> (Cham.) Kuntze <i>Gelseminum speciosum</i> (DC. ex Mart.) Kuntze <i>Handroanthus araliaceus</i> (Cham.) Mattos	Nativa/Não é endêmica do Brasil	Norte, Nordeste, Centro-Oeste, Sudeste e Sul	Amazônia, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica e Pantanal	Novembro à Janeiro	Flores: corola amarela

FONTE: Adaptada de COSTA (2019) e LOHMANN (2020).

LEGENDA: Basiônimo, é o nome científico pelo qual foi originalmente nomeado e catalogado um determinado táxon. Nomes publicados posteriormente para a mesma espécie biológica, são considerados sinônimos, que podem ser homotípicos (baseados nos mesmos materiais tipos) ou heterotípicos (baseados em materiais tipos diferentes).

TABELA 18 (CONT.) - DADOS COMPLEMENTARES DAS ESPÉCIES DE *HANDROANTHUS* E *TABEBUIA* ANALISADAS NO ESTUDO

Espécie	Sinonímias	Origem/ Endemismo	Distribuição Geográfica	Domínios Fitogeográficos	Floração	Descrição
<i>Handroanthus serratifolius</i>	Heterotípico: <i>Handroanthus atractocarpus</i> (Bureau & K. Schum.) Mattos <i>Handroanthus flavescens</i> (Vell.) Mattos <i>Tabebuia araliacea</i> (Cham.) Morong & Britton <i>Tabebuia monticola</i> Pittier <i>Tecoma araliacea</i> (Cham.) DC. <i>Tecoma atractocarpa</i> Bureau & K. Schum. <i>Tecoma conspicua</i> DC. <i>Tecoma nigricans</i> Klotzsch <i>Tecoma patrisiana</i> DC. <i>Tecoma speciosa</i> DC. ex Mart. <i>Vitex moronensis</i> Moldenke Homotípico: <i>Tabebuia serratifolia</i> (Vahl) G. Nichols. <i>Tecoma serratifolia</i> (Vahl) G. Don Basiônimo: <i>Tecoma umbellata</i> Sond.	Nativa/Não é endêmica do Brasil	Norte, Nordeste, Centro-Oeste, Sudeste e Sul	Amazônia, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica e Pantanal	Novembro à Janeiro	Flores: corola amarela
<i>Handroanthus umbellatus</i>	Heterotípico: <i>Handroanthus umbellatus</i> var. <i>lanceolata</i> (Bureau & K. Schum.) Toledo <i>Tecoma umbellata</i> var. <i>lanceolata</i> (Bureau & K. Schum. ex Mart.) Toledo Homotípico: <i>Tabebuia umbellata</i> (Sond.) Sandwith	Nativa/É endêmica do Brasil	Nordeste, Centro-Oeste, Sudeste e Sul	Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica	Janeiro e Fevereiro	Flores: corola amarela, com linhas vermelhadas na parte interna

FONTE: Adaptada de COSTA (2019) e LOHMANN (2020).

LEGENDA: Basiônimo, é o nome científico pelo qual foi originalmente nomeado e catalogado um determinado táxon. Nomes publicados posteriormente para a mesma espécie biológica, são considerados sinônimos, que podem ser homotípicos (baseados nos mesmos materiais tipos) ou heterotípicos (baseados em materiais tipos diferentes).

TABELA 18 (CONT.) - DADOS COMPLEMENTARES DAS ESPÉCIES DE *HANDROANTHUS* E *TABEBUIA* ANALISADAS NO ESTUDO

Espécie	Sinonímias	Origem/ Endemismo	Distribuição Geográfica	Domínios Fitogeográficos	Floração	Descrição
<i>Handroanthus vellosi</i>	<u>Basiônimo</u> : <i>Tabebuia vellosi</i> Toledo Heterotípico: <i>Bignonia longiflora</i> Vell. <i>Tecoma alba</i> var. <i>subdenudata</i> Bureau <u>Homotípico</u> : <i>Handroanthus longiflora</i> (Vell.) Mattos <i>Tecoma longiflora</i> (Vell.) Bureau & K. Schum.	Nativa/É endêmica do Brasil	Sudeste e Sul	Mata Atlântica	Julho e Agosto	Flores: corola amarela, com linhas vermelhadas na parte interna
<i>Tabebuia aurea</i>	<u>Basiônimo</u> : <i>Bignonia aurea</i> Silva Manso Heterotípico: <i>Bignonia squameilulosa</i> DC. <i>Couralia caraiba</i> (Mart.) Corr. Mélo ex Steilfeld <i>Gelseminum caraiba</i> (Mart.) Kuntze <i>Handroanthus caraiba</i> (Mart.) Mattos <i>Handroanthus leucophloeus</i> (Mart. ex DC.) Mattos <i>Tabebuia argentea</i> (Bureau & K. Schum.) Britton <i>Tabebuia caraiba</i> (Mart.) Bureau <i>Tabebuia suberosa</i> Rusby <i>Tecoma argentea</i> Bureau & K. Schum. <i>Tecoma caraiba</i> Mart. <i>Tecoma caraiba</i> var. <i>grandiflora</i> Hassl. <i>Tecoma caraiba</i> var. <i>squamellulosa</i> Bureau & K. Schum. <i>Tecoma leucophlaeos</i> Mart. ex DC. <i>Tecoma leucophloeos</i> Mart. ex DC.	Nativa/Não é endêmica do Brasil	Norte, Nordeste, Centro-Oeste, Sudeste e Sul	Amazônia, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica e Pantanal	Setembro à Março	Flores: corola amarela

FONTE: Adaptada de COSTA (2019) e LOHMANN (2020).

LEGENDA: Basiônimo, é o nome científico pelo qual foi originalmente nomeado e catalogado um determinado táxon. Nomes publicados posteriormente para a mesma espécie biológica, são considerados sinônimos, que podem ser homotípicos (baseados nos mesmos materiais tipos) ou heterotípicos (baseados em materiais tipos diferentes).

TABELA 18 (CONT.) - DADOS COMPLEMENTARES DAS ESPÉCIES DE *HANDROANTHUS* E *TABEBUIA* ANALISADAS NO ESTUDO

Espécie	Sinonímias	Origem/ Endemismo	Distribuição Geográfica	Domínios Fitogeográficos	Floração	Descrição
<i>Tabebuia aurea</i>	Heterotípico: <i>Tecoma squameilulosa</i> DC. <i>Tecoma trichocalycina</i> DC. <u>Homotípico</u> : <i>Tecoma aurea</i> (Silva Manso) DC. <u>Basiônimo</u> : <i>Bignonia cassinoidea</i> Lam. <u>Heterotípico</u> : <i>Bignonia obtusifolia</i> Lam. <i>Bignonia tabebuia</i> Vell. <i>Bignonia uliginosa</i> Gomes <i>Proterpia obtusifolia</i> (Lam.) Raf. <i>Spathodea magnolioides</i> Cham. <i>Tabebuia magnolioides</i> (Cham.) Miers <i>Tabebuia uliginosa</i> (Gomes) DC. <i>Tecoma uliginosa</i> Mart. ex DC. <u>Basiônimo</u> : <i>Tecoma rosea</i> Bertol. <u>Heterotípico</u> : <i>Tabebuia mexicana</i> (Mart. ex DC.) Hemsl. <i>Tabebuia punctatissima</i> (Kraenzl.) Standl. <i>Tecoma mexicana</i> Mart. ex DC. <i>Tecoma punctatissima</i> Kraenzl. <u>Homotípico</u> : <i>Couratia rosea</i> (Bertol.) Donn.Sm. <i>Sparattosperma rosea</i> (Bertol.) Miers	Nativa/Não é endêmica do Brasil	Norte, Nordeste, Centro-Oeste, Sudeste e Sul	Amazônia, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica e Pantanal	Setembro à Março	Flores: corola amarela
<i>Tabebuia cassinoidea</i>		Nativa/É endêmica do Brasil	Sudeste	Mata Atlântica	Junho à Janeiro	Flores: corola branca
<i>Tabebuia rosea</i>		Cultivada/Não é endêmica do Brasil	Centro-Oeste e Sudeste	Cerrado e Mata Atlântica	-	Flores: corola rosa

FONTE: Adaptada de COSTA (2019) e LOHMANN (2020).

LEGENDA: Basiônimo, é o nome científico pelo qual foi originalmente nomeado e catalogado um determinado táxon. Nomes publicados posteriormente para a mesma espécie biológica, são considerados sinônimos, que podem ser homotípicos (baseados nos mesmos materiais tipos) ou heterotípicos (baseados em materiais tipos diferentes).

TABELA 18 (CONT.) - DADOS COMPLEMENTARES DAS ESPÉCIES DE *HANDROANTHUS* E *TABEBUIA* ANALISADAS NO ESTUDO

Espécie	Sinonímias	Origem/ Endemismo	Distribuição Geográfica	Domínios Fitogeográficos	Floração	Descrição
<i>Tabebuia roseoalba</i>	<p>Heterotípico:  <i>Handroanthus odontodiscus</i> (Bureau &amp; K. Schum.) Mattos  <i>Handroanthus odontodiscus</i> var. <i>violascens</i> (Toledo) Mattos  <i>Handroanthus piutinga</i> (Pilg.) Mattos  <i>Sparatospema neurocalyx</i> Bureau &amp; K. Schum.  <i>Tabebuia odontodiscus</i> (Bureau &amp; K. Schum.) Toledo  <i>Tabebuia odontodiscus</i> var. <i>violascens</i> Toledo  <i>Tabebuia papyrophyloios</i> (Bureau &amp; K. Schum.) Melch.  <i>Tabebuia piutinga</i> (Pilg.) Sandwith  <i>Tecoma mattogrossensis</i> Kraenzl.  <i>Tecoma odontodiscus</i> Bureau &amp; K. Schum.  <i>Tecoma odontodiscus</i> var. <i>paraguaiensis</i> Hassl.  <i>Tecoma papyrophyloios</i> Bureau &amp; K. Schum.  <i>Tecoma piutinga</i> Pilg.  <i>Tecoma schumannii</i> Kraenzl.            Homotípico:  <i>Bignonia roseo-alba</i> Ridl.  <i>Handroanthus roseo-albus</i> (Ridl.) Mattos</p>	<p>Nativa/Não é endêmica do Brasil</p>	<p>Norte, Nordeste, Centro-Oeste e Sudeste</p>	<p>Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica</p>	<p>Junho à Novembro</p>	<p>Flores: corola branca</p>

FONTE: Adaptada de COSTA (2019) e LOHMANN (2020).

LEGENDA: Basiônimo, é o nome científico pelo qual foi originalmente nomeado e catalogado um determinado táxon. Nomes publicados posteriormente para a mesma espécie biológica, são considerados sinônimos, que podem ser homotípicos (baseados nos mesmos materiais tipos) ou heterotípicos (baseados em materiais tipos diferentes).

## APÊNDICE 2 – METABÓLITOS IDENTIFICADOS NO ESTUDO

FIGURA 110 - METABÓLITOS IDENTIFICADOS NAS CASCAS DO CAULE, FLORES E FOLHAS DAS ESPÉCIES DE *HANDROANTHUS* E *TABEBUIA* EMPREGADAS NO ESTUDO

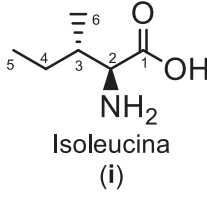
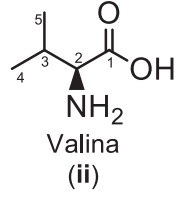
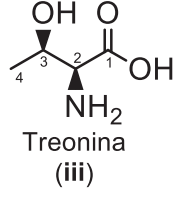
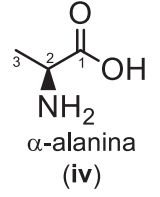
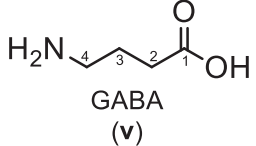
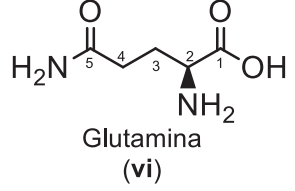
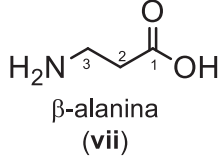
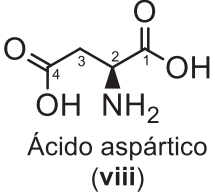
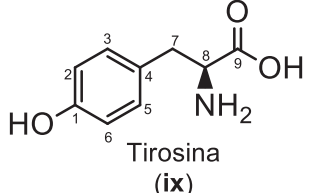
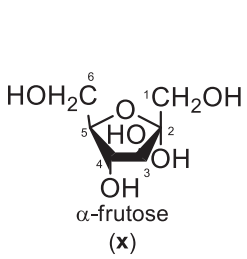
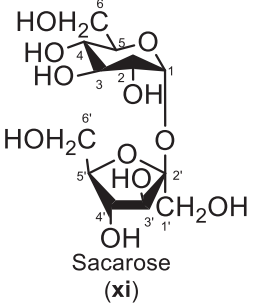
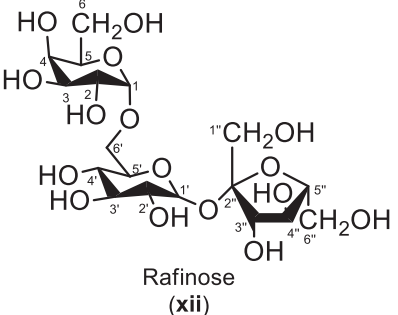
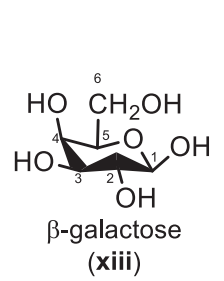
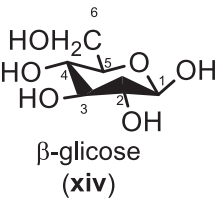
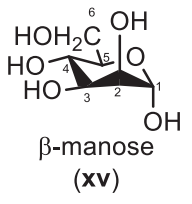
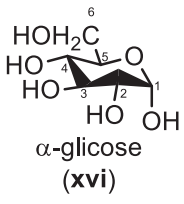
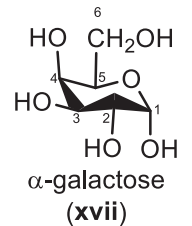
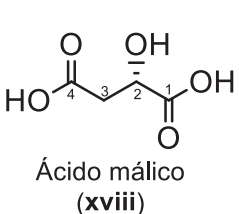
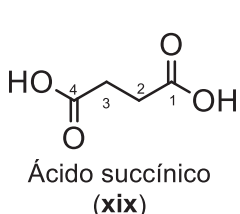
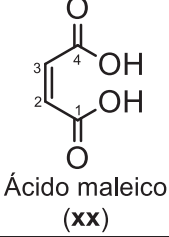
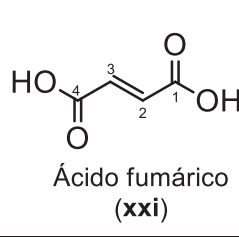
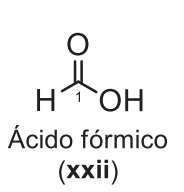
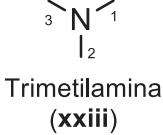
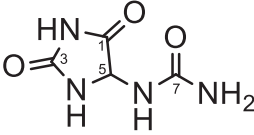
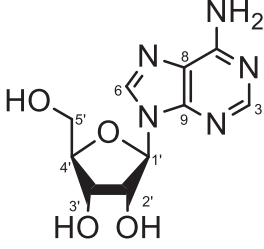
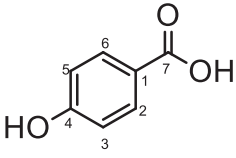
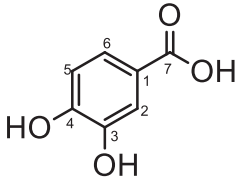
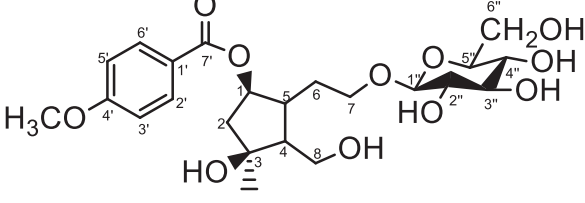
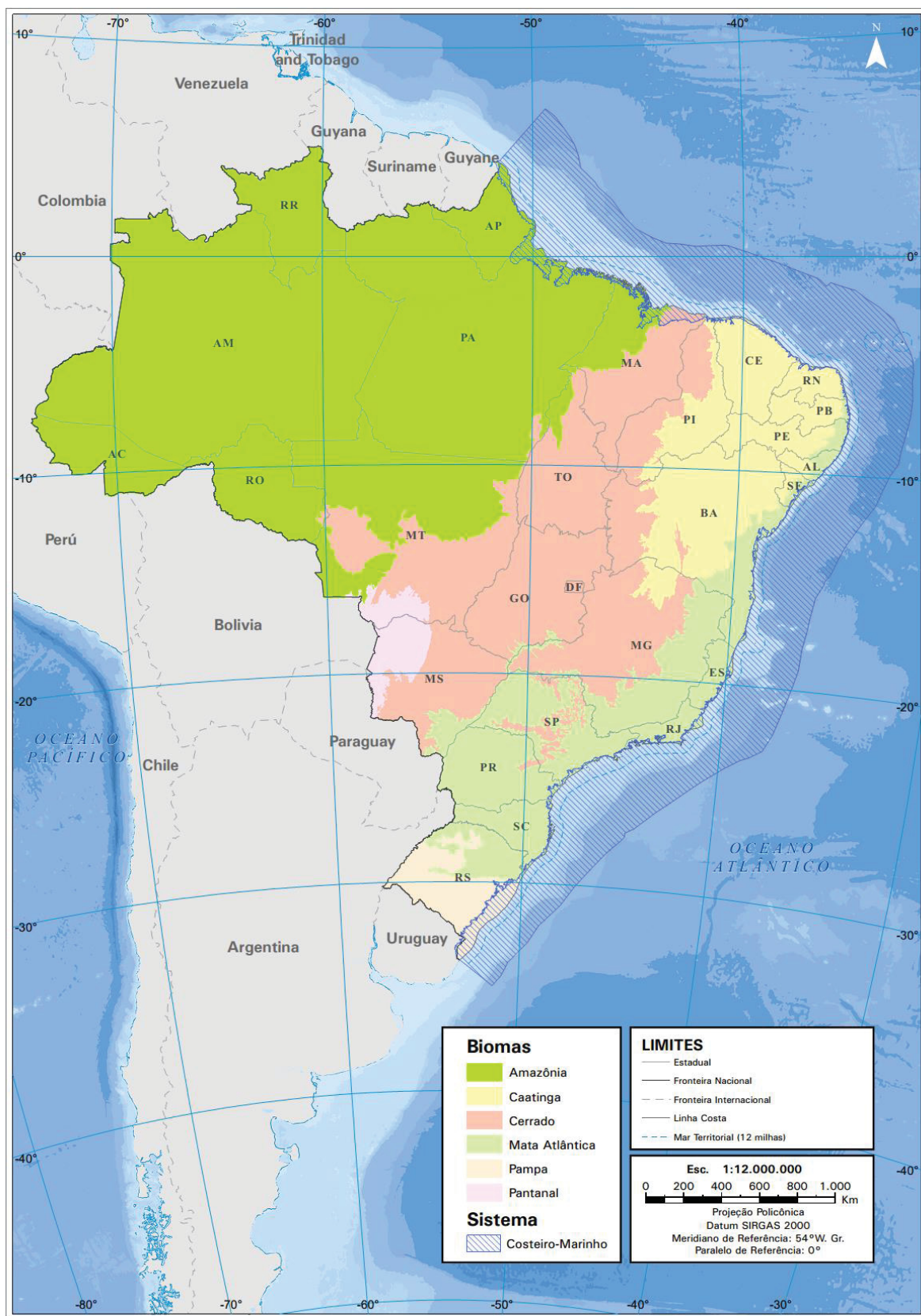
<b>AMINOÁCIDOS</b>	 Isoleucina (i)	 Valina (ii)	 Treonina (iii)	 $\alpha$ -alanina (iv)	
	 GABA (v)	 Glutamina (vi)			
	 $\beta$ -alanina (vii)	 Ácido aspártico (viii)	 Tirosina (ix)		
<b>CARBOIDRATOS</b>	 $\alpha$ -frutose (x)	 Sacarose (xi)	 Rafinose (xii)	 $\beta$ -galactose (xiii)	
	 $\beta$ -glucose (xiv)	 $\beta$ -manose (xv)	 $\alpha$ -glucose (xvi)	 $\alpha$ -galactose (xvii)	
<b>ÁCIDOS ORGÂNICOS</b>	 Ácido málico (xviii)	 Ácido succínico (xix)	 Ácido maleico (xx)	 Ácido fumárico (xxi)	 Ácido fórmico (xxii)

FIGURA 110 (CONT.) - METABÓLITOS IDENTIFICADOS NAS CASCAS DO CAULE, FLORES E FOLHAS DAS ESPÉCIES DE *HANDROANTHUS* E *TABEBUIA* EMPREGADAS NO ESTUDO

<p style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg);"><b>COMPOSTOS NITROGENADOS</b></p>	 <p>Trimetilamina (xxiii)</p>	 <p>Alantoína (xxiv)</p>	 <p>Adenosina (xxv)</p>		
	<p style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg);"><b>ÁCIDOS FENÓLICOS</b></p>				
<p style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg);"><b>ÁCIDOS HIDROXIBENZÓICOS</b></p>				 <p>Ácido <i>p</i>-hidroxibenzoico (xxvi)</p>	 <p>Ácido 3,4-dihidroxibenzoico (xxvii)</p>
<p style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg);"><b>GLICOSÍDEO IRIDÓIDE</b></p>	 <p>6-O-(4-metoxibenzoil)-crescentin IV 3-O-β-D-glucopiranosídeo (xxxi)</p>				

# ANEXO 1 – MAPA DE DISTRIBUIÇÃO DOS BIOMAS BRASILEIROS

FIGURA 111 - MAPA DE DISTRIBUIÇÃO DOS BIOMAS BRASILEIROS



FONTE: <https://www.ibge.gov.br/geociencias/informacoes-ambientais/15842-biomas.html?=&t=downloads>.