



INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO PIAUÍ
CAMPUS PARNAÍBA
CURSO DE LICENCIATURA EM QUÍMICA

EDSON AIRES DA SILVA

ESTUDO CIRCADIANO DOS METABÓLITOS SECUNDÁRIOS VOLÁTEIS DE
***Bougainvillea spectabilis* (Nyctaginaceae) DA CIDADE DE PARNAÍBA-PI**

PARNAÍBA
2018

EDSON AIRES DA SILVA

ESTUDO CIRCADIANO DOS METABÓLITOS SECUNDÁRIOS VOLÁTEIS DE
Bougainvillea spectabilis (Nyctaginaceae) DA CIDADE DE PARNAÍBA-PI

Trabalho de Conclusão de Curso (monografia) apresentado como exigência parcial de obtenção do diploma do Curso de Licenciatura em Química do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí. *Campus Parnaíba*.

Orientador: Prof. Dr. Bartholomeu Araújo Barros Filho

PARNAÍBA
2018

S581 e	Silva, Edson Aires da Estudo Circadiano dos Metabólitos Secundários Voláteis de <i>Bougainvillea spectabilis</i> (Nyctaginaceae) da cidade de Parnaíba-PI / Edson Aires da Silva - 2018. 68 p. : il. color. Trabalho de conclusão de curso (Graduação) - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí, Campus Parnaíba, Licenciatura em Química, 2018. Orientador : Prof Dr. Bartholomeu Araújo Barros Filho. 1. Óleo volátil. 2. Hidrodestilação. 3. Estudo circadiano. 4. Hexanol. I.Título. CDD 540
-----------	--

EDSON AIRES DA SILVA

ESTUDO CIRCADIANO DOS METABÓLITOS SECUNDÁRIOS VOLÁTEIS DE
Bougainvillea spectabilis (Nyctaginaceae) DA CIDADE DE PARNAÍBA-PI

Trabalho de Conclusão de Curso (monografia)
apresentado como exigência parcial de
obtenção do diploma do Curso de Licenciatura
em Química do Instituto Federal de Educação,
Ciência e Tecnologia do Piauí. *Campus*
Parnaíba.

Aprovado em: ____/____/____.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Bartholomeu Araújo Barros Filho (Orientador)
Instituto Federal do Piauí (IFPI)

Prof.^a Dr^a Buana Carvalho de Almeida
Instituto Federal do Piauí (IFPI)

Prof. Dr. Francisco Arthur e Silva Filho
Universidade Estadual do Piauí (UESPI)

A Deus, nosso pai celestial. A meus pais, a minha família, em especial a minha noiva Thaís Lima Gonzalez Sampaio, aos meus amigos e professores, e a meu orientador Prof. Dr. Bartholomeu Araújo Barros Filho.

AGRADECIMENTOS

A Deus, nosso eterno pastor e socorro bem presente, pois sem fé, esforço, trabalho e dedicação não fazem sentido algum.

A meus eternos amigos, os meus pais, Bernarda da Silva Aires, uma mulher incrível, que me ensinou muito com seu amor, carinho e paciência, mãe, você é minha heroína e Dionilton Ferreira da Silva, uma pessoa que tenho muito orgulho de chamar de pai, cujas histórias de luta e superação sempre me inspiraram a continuar sempre em frente, principalmente com a seguinte frase: *“Tudo vai dar certo, não importa o que se passou, o importante é a vitória no final!”*. Muito obrigado por existirem e por me apoiarem em todas as minhas decisões, por mais difíceis e dolorosas que possam ser. AMO VOCÊS!

A minha família, pelo carinho e apoio incondicional. A meu irmão Wellington Aires da Silva por ser um cara bem legal, que cresceu junto a mim.

A minha incrível noiva, Thaís Lima Gonzalez Sampaio (**Momose**), por sempre estar ao meu lado, me ajudando, inspirando, compartilhando conhecimentos, amor, carinho e, principalmente, me dando puxões de orelha quando necessário.

A meu orientador, Prof. Dr. Bartholomeu Araújo Barros Filho, pela excelente orientação, inspiração, paciência, parceria e oportunidade de conhecer e experimentar na prática, a ciência. Isto rendeu conhecimentos essenciais para a realização deste trabalho.

A Prof.^a Dr.^a Ana Maria Athayde Uchôa Thomaz pelas excelentes orientações nas aulas de TCC I e II, estas de suma importância para construção deste trabalho.

Ao Laboratório de Geoquímica Orgânica (LAGO) da Universidade Federal do Piauí – *Campus* Ministro Petrônio Portela, Teresina-PI e a Prof.^a Dr.^a Buana Carvalho de Almeida pelas importantes análises em CG-EM das amostras utilizadas no presente trabalho.

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí – *Campus* Parnaíba, pelos anos de vivência e pela oportunidade de alcançar novos horizontes.

A todos os meus queridos professores e professoras do IFPI – *Campus* Parnaíba que compartilharam conhecimentos e experiências válidos para nós, não só como futuros profissionais, mas também como pessoas. Em especial à Prof.^a Me. Evânia Carvalho dos Santos, Prof.^a Dr.^a Márcia Valéria Silva Lima, Prof.^a Esp. Iriane do Nascimento Rosa, Prof.^a Esp. Janete César Ribeiro, Prof.^a Dr.^a Simone Gallani Rodrigues, Prof.^a Me. Vilma Dias de Araújo Veloso, Prof. Me. Rubens Sousa de Oliveira e Prof. Dr. Haroldo Luís de Sousa Neres.

A todos os meus amigos do curso e a todos que me ajudaram direta ou indiretamente, o mínimo que posso dizer é: MUITO OBRIGADO GALERA!

“Não importa quanto à vida possa ser ruim,
sempre existe algo que você pode fazer, e
triunfar. Enquanto há vida, há esperança.”

Stephen Hawking

RESUMO

A espécie *Bougainvillea spectabilis* é endêmica da América do Sul, podendo ser encontrada na maioria dos estados brasileiros. É um arbusto espinhento de flores branco-amareladas, utilizada como parte de decoração e proteção de residências. Na literatura, são encontrados diversos trabalhos que exibem atividades biológicas desta espécie vegetal, podendo citar a atividade anti-hipoglicêmica, antiviral, inseticida, dentre outras. O presente trabalho teve como objetivo investigar a variação dos metabólitos secundários voláteis das folhas de *B. spectabilis*, coletada na cidade de Parnaíba-PI, por meio de um estudo circadiano. Os óleos essenciais das folhas de *B. spectabilis*, foram extraídos do mesmo espécime, em três horários distintos (08:00, 12:00 e 16:00 horas) de um mesmo dia, utilizando a técnica de hidrodestilação em aparelho doseador tipo Clevenger modificado por O. R. Gottlieb, e analisados por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG-EM). O rendimento do óleo obtido aumentou ao longo do dia, tendo um aumento de aproximadamente 50% entre o maior e menor rendimento. Nos óleos essenciais dos horários de 08:00 h e 16:00 h, foram detectados doze metabólitos voláteis. Enquanto que no horário de 12:00 h foram obtidos apenas onze compostos. Foram identificados sete compostos simultâneos nos horários de extração, mas com diferentes percentagens, como é caso do hexanol e linalol, cujos valores para os horários de 08:00 h, 12:00 h, e 16:00 h, corresponderam, respectivamente a: 16,06 - 18,10 - 15,62%; 3,29 - 2,93 - 2,00%. Neste estudo, foram identificados seis compostos majoritários: (E)-hex-2-en-1-ol, (Z) - acetato de hex-3-en-1-ol, hexanol, salicilato de metila, (Z) - formiato de hex-3-en-1-ol e 7-hidroxi-hepteno. No entanto, apenas o hexanol foi identificado como majoritário em todos os óleos essenciais obtidos no estudo circadiano.

Palavras-Chave: Óleo Volátil; Hidrodestilação; Estudo circadiano; Hexanol.

ABSTRACT

The species *Bougainvillea spectabilis* is endemic to South America, can be found in most Brazilian states. It's a thorny shrub with yellowish white flowers, used as part of decoration and residence protection. In the literature, several works showed biological activity of this plant species as antihyperglycemic, antiviral, insecticidal activities, among others. The present work aimed to investigate the variation of the volatile secondary metabolites of leaves of *B. spectabilis* through of circadian study. The essential oils of *B. spectabilis* leaves were extracted from the same specimen at three different times (08:00, 12:00 and 16:00 hours), using the hydrodistillation technique in a Clevenger dosing device modified by OR Gottlieb, and analyzed by Gas Chromatography coupled to Mass Spectrometry. The yield of the oil obtained increased throughout the day, with an increase of approximately 50% between the highest and the lowest yield. In the essential oils of the hours of 08:00 and 16:00 h, twelve volatile metabolites were detected. Whereas in the hour of 12:00 h only eleven compounds were obtained. Seven simultaneous compounds were identified at extraction times, but with different percentages, such as hexanol and linalol, whose values for the hours of 08:00 h, 12:00 h, and 16:00 h correspond respectively to: 16.06 - 18.10 - 15.62%; 3.29 - 2.93 - 2.00%. In this study, six major compounds were identified: (E) -hex-2-en-1-ol, (Z) -hex-3-en-1-ol acetate, hexanol, methyl (Z) -formate salicylate of hex-3-en-1-ol and 7-hydroxyheptene. However, only hexanol was identified as major in all essential oils obtained in the circadian study.

Key words: Volatile Oil; Hydrodistillation; Circadian study; Hexanol.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - <i>Bougainvillea spectabilis</i>	20
Figura 2 - Distribuição da espécie <i>Bougainvillea spectabilis</i> no Brasil.	21
Figura 3 - Ciclo biossintético dos metabólitos secundários.	23
Figura 4 - Exemplos de compostos monoterpênicos e sesquiterpênicos que ocorrem em óleos voláteis.....	26
Figura 5 - Principais fatores que podem influenciar na produção de óleos voláteis em plantas.....	28
Figura 6 - Modelo hipotético de um relógio circadiano em plantas.....	30
Figura 7 - Fluxograma para obtenção dos metabólitos secundários voláteis.....	40
Figura 8 - Espectro de massas do 7-hidroxi-hepteno ($C_7H_{14}O$).....	47
Figura 9 - Espectro de massas do (E)-hex-2-en-1-ol ($C_6H_{12}O$)	48
Figura 10 - Espectro de massas do (Z) - acetato de hex-3-en-1-ol ($C_8H_{14}O_2$)	48
Figura 11 - Espectro de massas do hexanol ($C_6H_{14}O$).....	48
Figura 12 - Espectro de massas do (Z) - formiato de hex-3-en-1-ol ($C_7H_{12}O_2$)	49
Figura 13 - Espectro de massas do ácido (E)-hex-2-enóico ($C_6H_{10}O_2$)	49
Figura 14 - Espectro de massas do α -metil- α -[4-metil-3-pentenil]-oxiranometanol ($C_{10}H_{18}O_2$)	49
Figura 15 - Espectro de massas do linalol ($C_{10}H_{18}O$).....	50
Figura 16 - Espectro de massas do 4-etil-benzaldeído ($C_9H_{10}O$)	50
Figura 17 - Espectro de massas do cis - butanoato de hex-3-enila ($C_{10}H_{18}O_2$).....	51
Figura 18 - Espectro de massas do (Z) - hexanoato de hex-3-enila ($C_{12}H_{22}O_2$).....	51
Figura 19 - Espectro de massa do cis - benzoato de hex-3-enila ($C_{13}H_{16}O_2$).....	51
Figura 20 - Espectro de massas do α -Terpineol ($C_{10}H_{18}O$).....	51
Figura 21 - Espectro de massas do fitol ($C_{20}H_{40}O$)	52
Figura 22 - Espectro de massas do salicilato de metila ($C_8H_8O_3$)	52
Figura 23 - Espectro de massas do α -ionona ($C_{13}H_{20}O$)	53
Figura 24 - Espectro de massas do β -ionona ($C_{13}H_{20}O$)	53
Figura 25 - Compostos identificados no estudo circadiano	54
Figura 26 - Cromatograma relativo ao óleo volátil das folhas de <i>B. spectabilis</i> às 08:00 h	55
Figura 27 - Cromatograma relativo ao óleo volátil das folhas de <i>B. spectabilis</i> às 12:00 h	56
Figura 28 - Cromatograma relativo ao óleo volátil das folhas de <i>B. spectabilis</i> às 16:00 h	57
Gráfico 1 - Variação das massas dos metabólitos secundários voláteis obtidos	44
Gráfico 2 - Variação dos compostos majoritários ao longo do estudo circadiano	60
Quadro 1 - Classificação taxonômica de <i>Bougainvillea spectabilis</i>	19
Quadro 2 - Diferenciação de metabolismo vegetal primário e secundário	22

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Número de unidades de isopreno/número de átomos de carbono (C_5H_8) para formação de diferentes terpenóides	25
Tabela 2 - Síntese de pesquisas sobre atividades biológicas de <i>Bougainvillea spectabilis</i>	31
Tabela 3 - Horários de coleta e massa de folhas de <i>Bougainvillea spectabilis</i>	38
Tabela 4 - Rendimento e massa dos metabólitos secundários voláteis de <i>Bougainvillea spectabilis</i>	43
Tabela 5 - Variação circadiana dos componentes voláteis de <i>Bougainvillea spectabilis</i>	46
Tabela 6 - Porcentagem dos metabolitos voláteis identificados no presente estudo e por Vukovic <i>et al.</i> (2013)	59

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

OE	Óleos Essenciais
ISO	International Standard Organization
TSWV	Tomato spotted wilt virus
Lat.	Latitude
Long.	Longitude
CG-EM	Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas
CG	Cromatografia Gasosa
LAGO	Laboratório de Geoquímica Orgânica
NIST	National Institute of Standards and Technology
FID	Flame Ionization Detector
EI	Impacto de Elétrons
BAP 1	<i>Bougainvillea</i> antiviral protein

LISTA DE SIMBOLOS

%	Porcentagem
L	Litro
m	Metro
mg/kg	Miligrama por quilograma
ml	Mililitro
μm	Micrometro
mm	Milímetro
°C	Graus Celsius
kPa	Quilo Pascal
mL/min	Mililitro por minuto
cm/s	Centímetro por segundo
min	Minutos
g	Gramas
h	Horas
eV	Elétrons-Volts
m/z	Razão Massa-Carga

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO	18
2.1 CONSIDERAÇÕES TAXONÔMICAS	18
2.1.1 Família Nyctaginaceae	18
2.1.2 Gênero <i>Bougainvillea</i>	18
2.1.3 Espécie <i>Bougainvillea spectabilis</i>	19
2.2 METABOLISMO VEGETAL	21
2.2.1 Óleos voláteis	23
2.2.2 Fatores endógenos e ambientais que promovem alterações nos óleos voláteis	26
2.3 RITMOS BIOLÓGICOS	28
2.4 ATIVIDADES BIOLÓGICAS DE <i>Bougainvillea spectabilis</i>	30
3 OBJETIVOS	36
3.1 GERAL	36
3.2 ESPECÍFICOS	36
4 METODOLOGIA	38
4.1 TIPO DE PESQUISA	38
4.2 MATERIAIS E MÉTODOS	38
4.2.1 Coleta do material vegetal	37
4.2.2 Procedimento	38
4.2.2.1 Preparação da amostra	38
4.2.2.2 Extração	39
4.2.2.3 Identificação dos metabólitos secundários	40
4.3 TRATAMENTO DOS DADOS	41
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
5.1 ESTUDO CIRCADIANO	43
5.1.1 Rendimento dos metabólitos secundários voláteis obtidos	43
5.1.2 Identificação dos metabólitos secundários voláteis	45
5.1.2.1 Obtenção dos compostos voláteis no horário das 08:00 horas	54
5.1.2.2 Obtenção dos compostos voláteis no horário das 12:00 horas	56
5.1.2.3 Obtenção dos compostos voláteis no horário das 16:00 horas	57
5.1.3 Comparação dos compostos voláteis obtidos	58
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	62
REFERÊNCIAS	63



INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

A humanidade sempre extraiu alimentos, fármacos, além dos mais diversos produtos industriais da biodiversidade, localizada principalmente nas florestas tropicais (LEWINSON & PRADO, 2000). A biodiversidade pode ser considerada como uma gigantesca variedade e variabilidade que existem entre os organismos vivos e as complexidades ecológicas nas quais eles ocorrem, o que pode fornecer uma gama de produtos economicamente importantes (NODARI & GUERRA, 2010).

O Brasil é detentor da maior extensão de florestas tropicais do mundo, concentrada especialmente na região amazônica. Por este motivo, nosso país abriga uma gigantesca diversidade biológica, possuindo entre 15% a 20% de 1,5 milhão de espécies descritas no planeta, o que faz do Brasil o principal entre os países que possuem uma megadiversidade, além de possuir a flora e a fauna mais diversificada do mundo, com aproximadamente 55 mil espécies de plantas superiores, 524 espécies de mamíferos, 1.677 de aves, 517 de anfíbios e 2.657 de peixes (LEWINSON & PRADO, 2000).

Esta imensa variedade de vegetais permite a identificação de inúmeras substâncias bioativas (FURLAN & MOTTA, 2008). A investigação química dos constituintes fixos e voláteis, bem como a avaliação farmacológica, permitem a descoberta de novas substâncias orgânicas de importância científica, social e econômica (TORRES *et al.*, 2010; MESQUITA *et al.*, 2011).

Inúmeras são as aplicações de plantas e de substâncias extraídas delas nos diferentes setores industriais, como no setor farmacêutico, de pigmentos, de corantes, perfumaria, dentre outros. Essas substâncias, na maioria das vezes, são provenientes do metabolismo secundário das mais diversas espécies de plantas (FURLAN & MOTTA, 2008).

Metabólitos secundários voláteis ou óleos essenciais (OE) são compostos naturais, voláteis e de grande complexidade, resultado do metabolismo secundário das plantas aromáticas. São caracterizados por um forte odor, sendo normalmente extraídos de plantas encontradas em países quentes (MACHADO & JÚNIOR, 2011). Estes óleos são uma enorme mistura de substâncias complexas, com cerca de 20 a 60 componentes. Nas plantas, podem ser encontrados em diversas partes, como flores, folhas, frutos, raízes e sementes (BAKKALI *et al.*, 2008).

O Brasil é uma das nações que mais se destaca na produção de óleos essenciais, tal posição decorre da extração em larga escala de cítricos, tais como laranja (*Citrus sinensis*), lima (*Citrus aurantifolia*), dentre outros. Entre os anos de 1925 a 1927, o País se sobressaia na exportação de óleos essenciais de pau-rosa (*Aniba rosaeodora*), sassafrás (*Sassafras albidum*) e menta (*Mentha arvensis*). Isto porque o Brasil é o principal e único fornecedor de óleo essencial de pau-rosa que pode ser comercializado em sua forma bruta ou beneficiada. Demonstrando que a produção de óleos essenciais no Brasil não é apenas possível, mas também bastante lucrativa (BIZZO; HOVELL & REZENDE, 2009).

Os vegetais por serem mais diversos que os produtos sintéticos, transformam-se em excelentes fontes para o desenvolvimento de novos fármacos com inúmeras atividades (NOVAIS *et al.*, 1992; RODRIGUES *et al.*, 2006), sendo portanto, fontes inesgotáveis de metabólitos secundários (YUNES & CECHINEL-FILHO, 2001).

A exploração de compostos secundários de plantas vem se mostrando como uma importante alternativa para substituir o emprego de produtos sintéticos, a exemplo disto, tem-se o controle de fitopatógenos com extratos brutos e óleos essenciais, pois apresentam propriedades fungicidas e/ou fungitóxicas eficientes (MATOS, 1997).

No Nordeste brasileiro, diversos estudos foram realizados gerando diversas iniciativas de sucesso com produtos da flora local, sendo estes, exportados e utilizados na indústria e medicina local (VIEIRA & AGOSTINI-COSTA, 2007).

Bougainvillea spectabilis (*B. spectabilis*), pertence à família Nyctaginaceae e foi o primeiro membro do gênero a ser identificado no Brasil em 1798 (KENT; MCCONNELL & GRIFFIS, 2007). É uma planta angiosperma e endêmica da América do Sul, sendo também uma das espécies mais conhecidas e cultivadas no Brasil. Possui um ciclo de vida perene, flores de diversas cores e é uma trepadeira espinhenta, geralmente utilizada como parte da decoração de diversas residências (MARCHIORETTO; LIPPERT & SILVA, 2011). Possui de 5 a 10 metros de altura na fase adulta e é um arbusto de fácil adaptabilidade a qualquer clima e mudanças de temperatura (STUMPF, 2010).

Diante disto, pode-se constatar que os óleos voláteis são de extrema importância para o ser humano, pois suas aplicações e diversos componentes participam ativamente da vida da sociedade, por meio de seus potenciais

econômicos, científicos e biológicos. Logo, a realização de um estudo circadiano do óleo volátil extraído das folhas *in natura* de *Bougainvillea spectabilis* coletada na cidade de Parnaíba-PI, pode colaborar para o desenvolvimento da ciência, na medida em que se torna possível o conhecimento de seus metabólitos secundários voláteis, e suas respectivas variações ao longo do dia, o que pode enriquecer ainda mais o conhecimento químico da flora do Estado do Piauí.



**LEVANTAMENTO
BIBLIOGRÁFICO**

2 LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO

2.1 CONSIDERAÇÕES TAXONÔMICAS

2.1.1 Família Nyctaginaceae

A família Nyctaginaceae encontra-se atualmente na ordem Caryophyllales, (APG III, 2009). Esta família está dividida em seis tribos: Abronieae, Boldoeae, Bougainvilleae, Leucastereae, Nyctagineae e Pisonieae (BITTRICH & KÜHN, 1993) e sete subtribos com 30 gêneros, distribuídos entre 300 a 400 espécies, que incluem árvores, arbustos, subarbustos, trepadeiras e ervas que são encontradas principalmente em regiões tropicais e subtropicais do globo terrestre (FURLAN, 1996; DOUGLAS & MANOS, 2007).

A família apresenta árvores, arbustos, ervas com folhas opostas, dificilmente alternas, sem estípulas, além de flores hermafroditas, protegidas ou não por um involúcro caliciforme ou bracteado, unilocular, uniovulado, com óvulo ereto e ovário súpero, basal e estigma discóide ou pedicelado (BARROSO *et al.* 1986).

A diversidade desta família encontra-se na América do Sul, onde tem-se o gênero *Calignonia* que pertence a subtribo Colignonieae. Na parte ocidental da América do Norte verifica-se a presença das espécies dos gêneros: *Boerhavia*, *Acleisanthes*, *Abronia*, *Mirabilis* e *Commicarpus*, a maioria herbáceas (MARCHIORETTO; LIPPERT & SILVA, 2011).

No Brasil, são identificadas 48 espécies que são distribuídas em 11 gêneros que podem ser encontradas em diversas áreas, como: campos, florestas de restinga, florestas de encostas, florestas úmidas e cultivo (SÁ, 2010).

2.1.2 Gênero *Bougainvillea*

No gênero *Bougainvillea* são encontradas diversas espécies, tais como *B. spectabilis*, *B. bracteata*, *B. brasiliensis*, *B. glabra*, *B. peruviana*, *B. sanderiana*, *B. speciosa*, entre outras. As espécies mais comumente cultivadas são a *B. spectabilis* e *B. glabra*. A *Bougainvillea spectabilis* se distingue da *Bougainvillea glabra* por apresentar grande concentração de tricomas que são estruturas presentes na

epiderme vegetal, formando uma camada mais densa na face das folhas (REITZ & KLEIN, 1970).

2.1.3 Espécie *Bougainvillea spectabilis*

A *Bougainvillea spectabilis* (FIGURA 1) foi descoberta por volta de 1790, por Louis-Antoine de Bougainville (1729 - 1811), comandante de uma expedição francesa que ao desembarcar na América do Sul, se deparou com esta espécie, que foi denominada de Bougainville. Isto permitiu que posteriormente fosse realizado a classificação taxonômica (QUADRO 1) desta espécie (LACK, 2012).

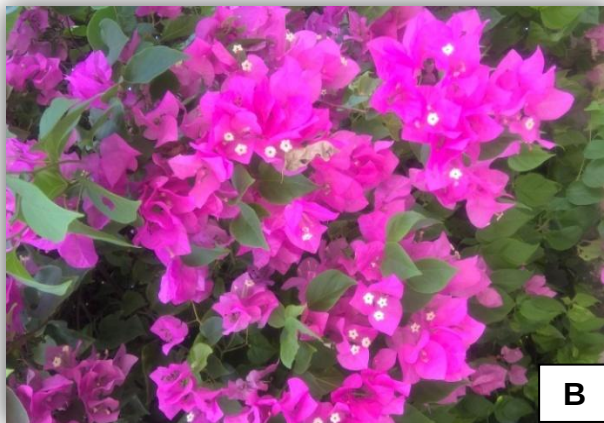
Quadro 1 – Classificação taxonômica de *Bougainvillea spectabilis*

<i>Bougainvillea spectabilis</i>	
Reino	Plantae
Filo	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordem	Caryophyllales
Família	Nyctaginaceae
Gênero	<i>Bougainvillea</i>
Nomes Comuns	Primavera, Buganvília, Três-Marias, Flor de Papel

Fonte: Watson & Dallwitz (1992).

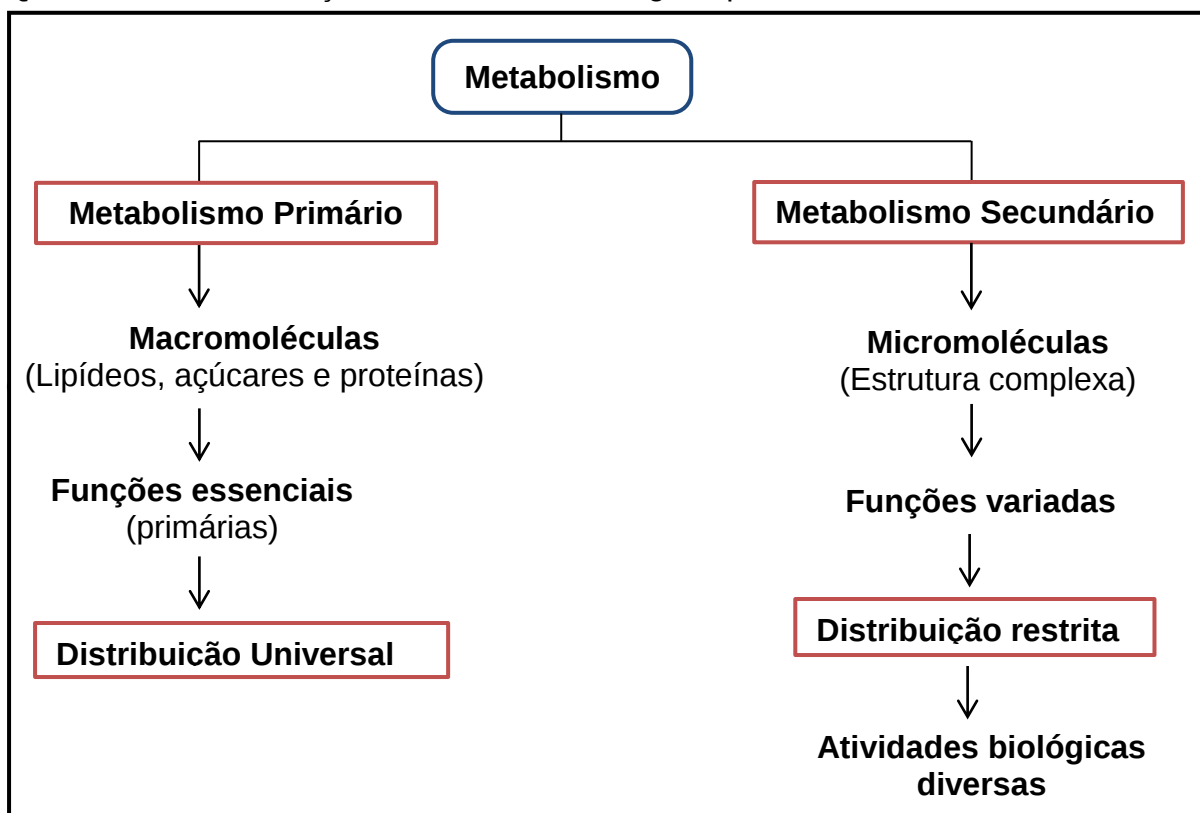
Esta espécie é angiosperma, endêmica da América da Sul, possui um ciclo de vida perene, geralmente utilizada como parte da decoração e proteção de diversas residências, visto que pode chegar a uma altura de 5 a 10 metros na fase adulta, sendo um arbusto espinhento de fácil adaptabilidade ao clima e resistente a mudanças de temperatura. Possui flores pequenas de coloração branco-amareladas que são cobertas por três brácteas que podem apresentar as mais diversas colorações, que vão desde o vermelho vivo ao branco amarelado, que formam enormes inflorescências nas pontas dos ramos. As folhas são ovais acuminadas de textura fina (STUMPF, 2010).

Figura 1 – *Bougainvillea spectabilis*



Fonte: Pesquisa Direta (2017); Watson & Dallwitz (1992).

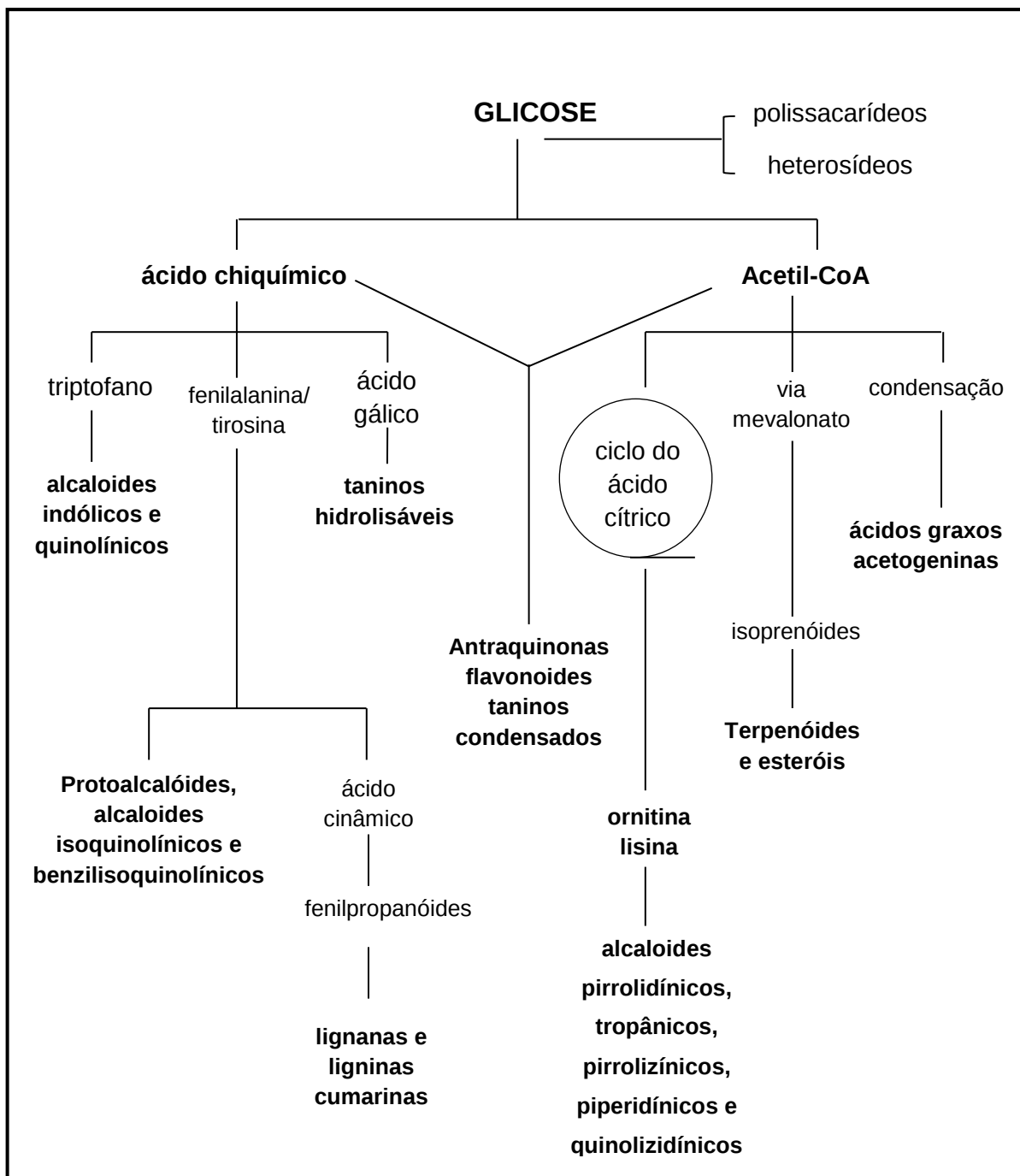
Legenda: A - Espécie; B - Flores; C – Brácteas; D – Folha.

Quadro 2 - Diferenciação de metabolismo vegetal primário e secundário

Fonte: Adaptado de Poser & Mentz (2010).

Os metabólitos secundários, também chamados de micromoléculas, são frutos de rotas biossintéticas (FIGURA 3) do vegetal, apresentando muitas vezes estrutura complexa, atividades biológicas acentuadas, baixo peso molecular e são encontrados em concentrações relativamente baixas e em certos grupos de plantas. Esses produtos do metabolismo vegetal atuam na defesa do vegetal, sob a forma de dissuasórios alimentares e toxinas (POSER & MENTZ, 2010).

Alguns metabólitos secundários atuam como toxinas, pois possuem sabor amargo e desagradável que fazem com que os herbívoros reconheçam e evitem as espécies que os contém. Porém, alguns metabólitos secundários atuam de forma contrária, atraindo diversas espécies, tais como insetos, morcegos, pássaros e roedores, que contribuem para a realização da polinização de muitas plantas. Neste grupo estão incluídos os óleos voláteis que são compostos por monoterpenos, sesquiterpenos e fenilpropanóides e os pigmentos como os flavonoides, antocianinas e betalaínas (HARBONE & WILLIAMS, 1995; POSER & MENTZ, 2010).

Figura 3 - Ciclo biossintético dos metabólitos secundários

Fonte: Adaptado de Santos (2010).

2.2.1 Óleos voláteis

Desde o início da história da humanidade, as plantas, com ênfase nas aromáticas e seus óleos voláteis, são utilizadas para atribuir cheiro e sabor às comidas e bebidas, visando disfarçar os odores desagradáveis e administrar os

problemas sanitários (FRANZ, 2010). Durante a Renascença, Paracelso introduziu o termo “óleo essencial” e o designava como sendo a alma da planta (SILVA, 1998).

A ISO (*International Standard Organization*) define os óleos voláteis como os produtos obtidos de partes de plantas por meio da destilação por arraste com vapor d'água, ou por pressão de pericarpos e frutos cítricos, também podem ser denominados como óleos essenciais, óleos etéreos ou mesmo essências, nomes estes provenientes de suas características físico-químicas (SIMÕES & SPITZER, 2010).

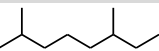
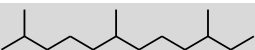
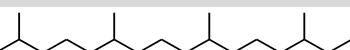
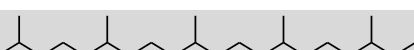
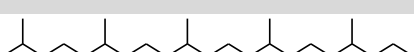
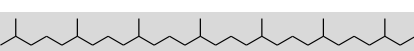
Os óleos voláteis podem ser definidos como uma grande mistura de compostos, fruto do metabolismo secundário de plantas, insetos e especiarias e tem como principais características o cheiro e o sabor. Seus constituintes químicos variam desde hidrocarbonetos, terpenos, aldeídos, álcoois, cetonas, ésteres, éteres, peróxidos, óxidos, furanos, lactonas, ácidos orgânicos, cumarinas, até compostos com enxofre. São produzidos por diversas estruturas secretoras, como pêlos glandulares, células parenquimáticas diferenciadas, canais oleíferos, em bolsas lisígenas ou esquizalisígenas, localizadas em certas partes ou em toda a planta (WOLFFENBUTTEL, 2007; SIMÕES & SPITZER, 2010).

Quimicamente, os óleos essenciais são compostos por derivados de fenilpropanóides ou terpenóides, que são altamente voláteis e ajudam na fragrância/essência das plantas que os produzem. Diversos são os benefícios que a espécie recebe ao produzir estes metabólitos, tais como inibição da ação de herbívoros, proteção contra ataque de bactérias e fungos, atração de insetos polinizadores, além de possuírem ação alelopática (RAVEN; EVERT & EICHHORN, 2007).

Os terpenóides ou simplesmente terpenos, são substâncias presentes em plantas e animais e possuem as mais variadas propriedades biológicas, que vão de ação antimicrobiana, anti-hiperglicêmica, fungicida, anti-inflamatória, antiviral até atividades antiparasitárias (PADUCH *et al.*, 2007).

Nas plantas, estes compostos desempenham diversas funções, como a pigmentação fotossintética (carotenoides) e hormonal como as giberelinas e o ácido abscísico. Mais de 22.000 terpenóides já foram identificados, os esqueletos carbonados destes compostos (TABELA 1) são constituídos pela condensação de várias unidades de isopreno (C_5H_8) (RAVEN; EVERT & EICHHORN, 2007).

Tabela 1 – Número de unidades de isopreno/número de átomos de carbono (C_5H_8) para formação de diferentes terpenóides

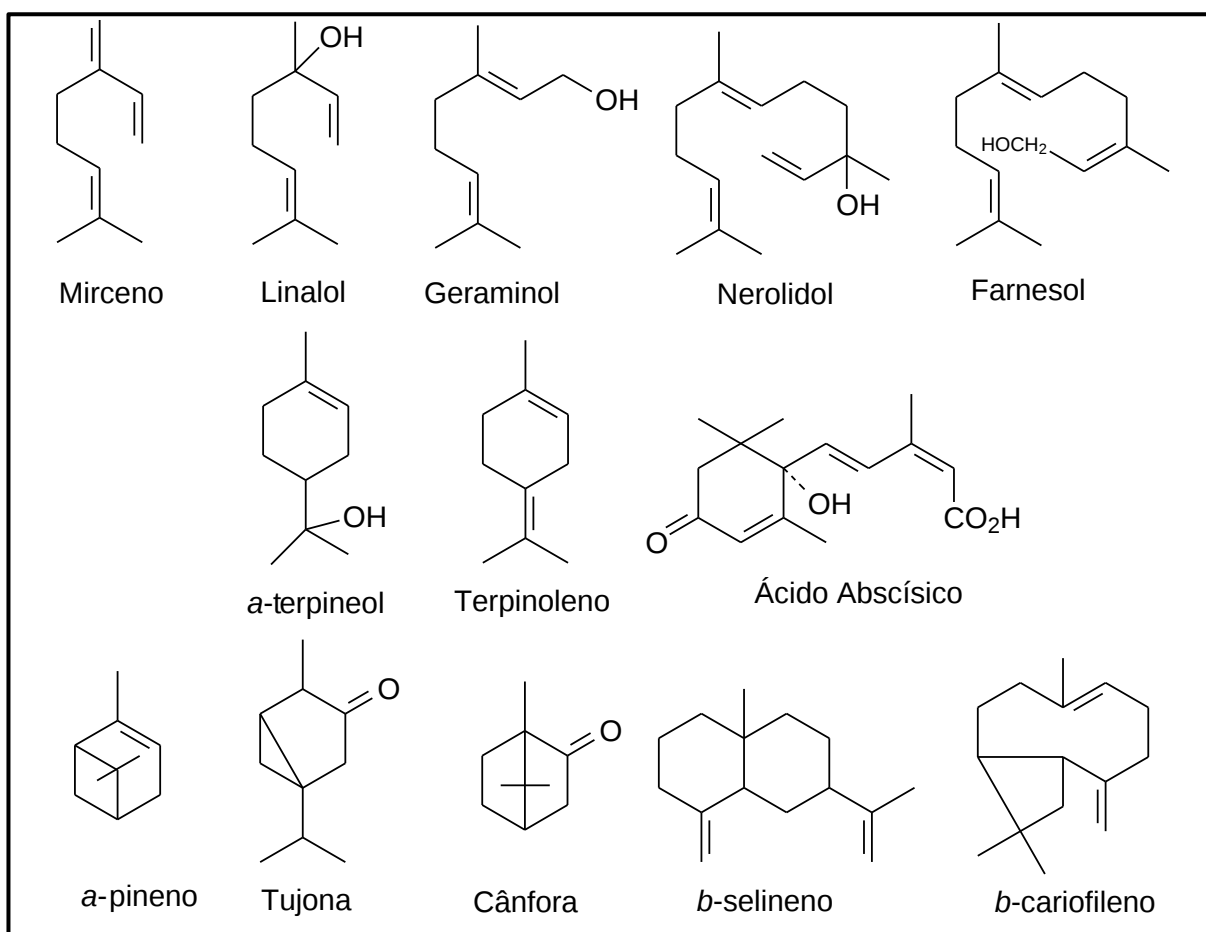
Nº de Unid.	Número de átomos de carbono	Nome ou classe
1	5 	Isopreno
2	10 	Monoterpenóides
3	15 	Sesquiterpenóides
4	20 	Diterpenóides
5	25 	Sesterpenos
6	30 	Triterpenóides
8	40 	Tetraterpenóides
N	n	Poliisoprenóides

Fonte: Adaptado de Simões & Spitzer (2010).

Os compostos terpênicos que ocorrem com mais frequência nos óleos voláteis são os monoterpenos e os sesquiterpenos. Os monoterpenóides, consistem em duas unidades de isopreno, são altamente voláteis e utilizados por causa de suas marcantes características organolépticas. Os mono e sesquiterpenóides (FIGURA 4) podem ser agrupados segundo a forma estrutural da molécula em: acíclicos (mirceno, linalol, geraminol, farnesol e nerolidol), monocíclicos (α -terpineol, terpinoleno e ácido abscísico) e bicíclicos (α -pineno, tujona, cânfora, β -selineno e β -cariofileno), dentre outros (BANDONI & CZEPAK, 2008; SIMÕES & SPITZER, 2010).

Do ponto de vista econômico, existe uma crescente demanda e utilização de óleos voláteis em indústrias, sob a forma de condimentos e aromatizantes de bebidas e comidas, cosméticos, na forma de perfumes, produtos de higiene e na com fins farmacêuticos, sob a forma de drogas vegetais que podem ser vendidas *in natura* para os mais diversos fins, tais como infusões e/ou preparações galênicas, o que faz destes óleos produtos rentáveis e importantes atividades econômicas (SIMÕES & SPITZER, 2010).

Figura 4 – Exemplos de compostos monoterpênicos e sesquiterpênicos que ocorrem em óleos voláteis



Fonte: Adaptado de Simões & Spitzer (2010).

Existem inúmeras vantagens farmacológicas dos óleos essenciais em comparação com os medicamentos industriais, como a sua volatilidade, ideal para técnicas de nebulizações, banhos de imersão ou mesmo para simples inalações. A volatilidade e o baixo peso molecular de seus componentes permitem que sejam rapidamente eliminados do organismo, por meio das vias metabólicas (BANDONI & CZEPACK, 2008).

Além disto, possuem outras inúmeras propriedades farmacológicas tais como: ação antiespasmódica (óleos de camomila, alho, erva-doce, sálvia e macela), carminativa (funcho, menta, camomila e erva-doce), estimulante (zimbardo, gengibre e genciana), cardiovascular (óleos contendo cânfora e sálvia), anti-inflamatória (óleos que contém azulenos, como a camomila), dentre outras (SIMÕES & SPITZER, 2010).

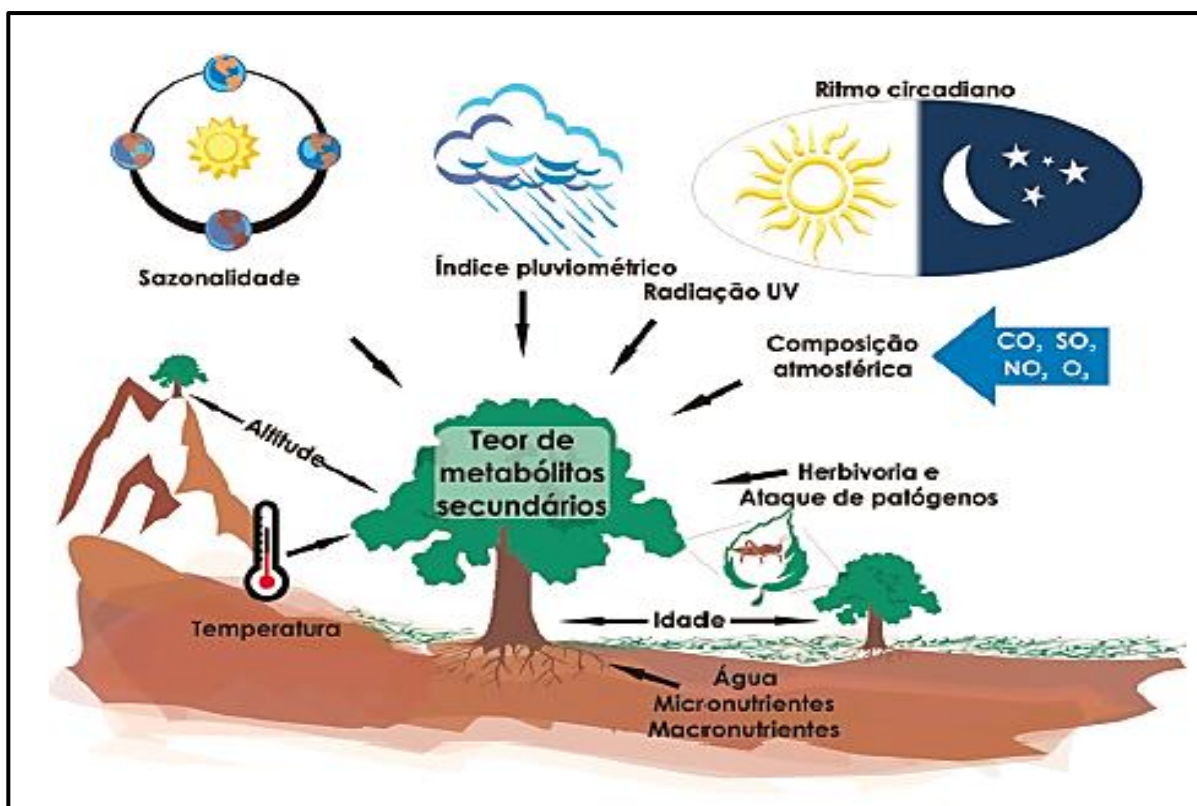
2.2.2 Fatores endógenos e ambientais que promovem alterações nos óleos voláteis

A composição química dos óleos voláteis é determinada por inúmeros fatores, dentre eles, os endógenos, geralmente específicos para um determinado órgão vegetal, e os ambientais (FIGURA 5), como a localização geográfica (SILVA *et al.*, 2003), variações circadianas (GOBBO-NETTO & LOPES, 2007) e sazonais (SILVA *et al.*, 2003), dentre outros, que afetam principalmente a rota metabólica, dando início a biossíntese de compostos distintos (MORAIS, 2009; SIMÕES & SPITZER, 2010).

Dentre os fatores endógenos, destaca-se a idade e o estágio de desenvolvimento da espécie, que pode afetar não apenas a quantidade total de metabólitos secundários gerados, mas a proporção relativa dos mesmos. Isto ocorre porque os tecidos vegetais mais jovens apresentam ampla atividade biossintética, o que aumenta consideravelmente a produção dos mais variados compostos, como os óleos essenciais (MORAIS, 2009).

O ambiente no qual a espécie cresce e se desenvolve, assim como o tipo de cultivo também influenciam na composição química dos óleos voláteis (SIMÕES & SPITZER, 2010). Apesar de cada espécie ser adaptada ao seu *habitat*, as plantas são afetadas repetidamente por certas faixas de temperatura, que induzem os óleos essenciais, na maioria das vezes, a apresentarem um relativo aumento em seu teor (GOBBO-NETTO & LOPES, 2007). Isto porque a temperatura, assim como a luminosidade possuem um importante papel na fotossíntese, visto que a proximidade destes fatores assegura um ambiente ideal para o processo fisiológico dos vegetais (SOUZA *et al.*, 2008).

Figura 5 - Principais fatores que podem influenciar na produção de óleos voláteis em plantas



Fonte: Gobbo-Netto & Lopes (2007).

A água é um elemento fundamental à vida e ao metabolismo dos vegetais, assim supõe-se que em locais mais úmidos, a produção de metabólitos secundários seja maior. No entanto, isto nem sempre ocorre, pois a disponibilidade hídrica, assim como sua falta e seu excesso causam grandes efeitos no crescimento e desenvolvimento da espécie, como no caso do *Ocimum basilicum* que em condições de pouca umidade, apresentou uma redução no rendimento da massa seca, mas o dobro do rendimento de óleo volátil (MORAIS, 2009; HAAG, 1987). Outros fatores também podem influenciar o metabolismo secundário dos vegetais, como radiação ultravioleta, nutrientes, altitude, poluição atmosférica, dentre outros.

2.3 RITMOS BIOLÓGICOS

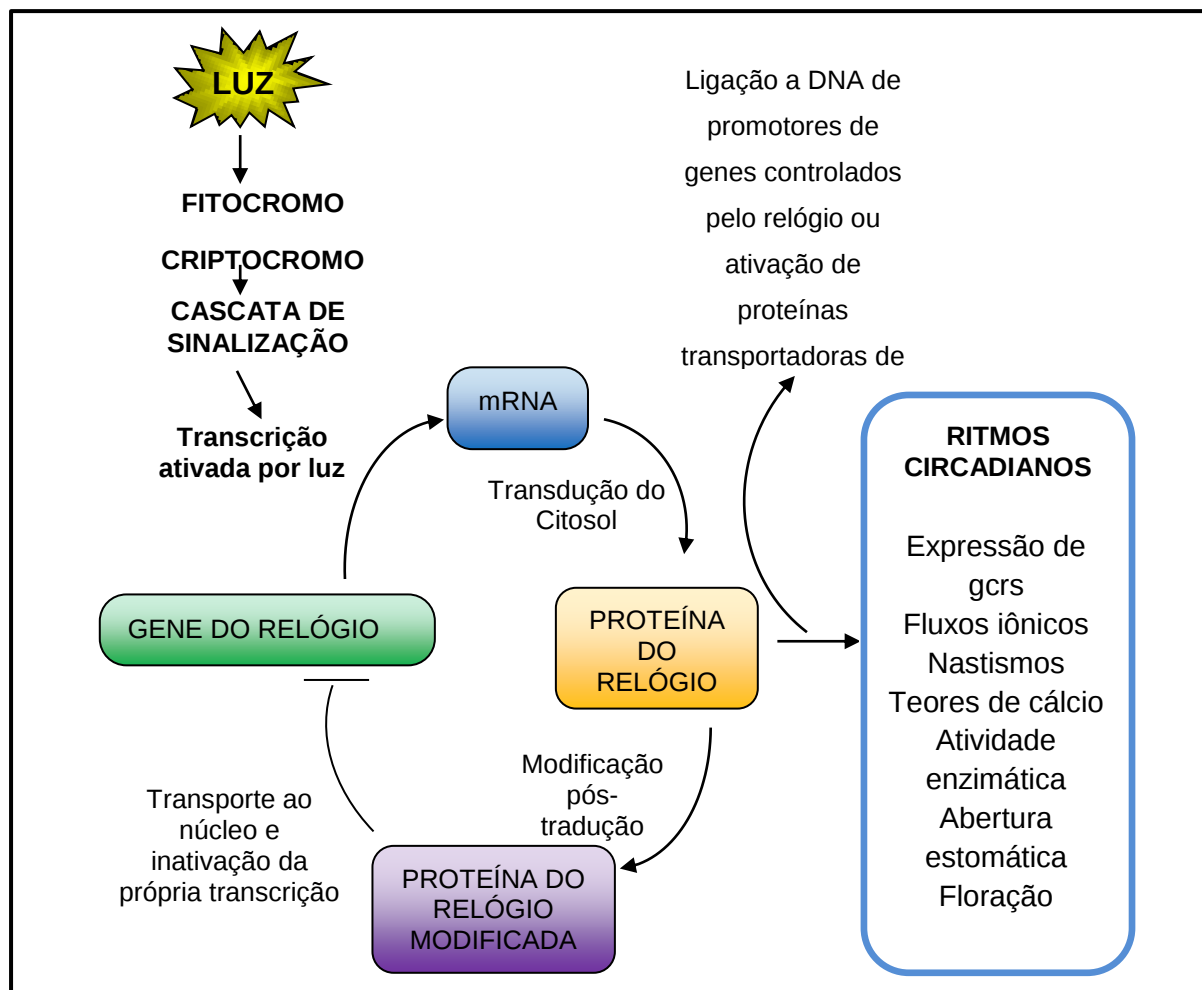
As plantas, os animais e os humanos sofrem influência de diversos estímulos externos que apresentam padrões circulares, denominados ritmos biológicos, que podem ser divididos em circadianos, ultradianos e infradianos (LEMMER, 2009).

O ritmo ultradiano compreende oscilações que ocorrem em curtos períodos de tempo, como a frequência cardíaca. Por outro lado, o ritmo infradiano representa variações em um tempo superior a 28 horas, como exemplo tem-se os hormônios sexuais femininos, luteinizantes e folículo-estimulante que ocorrem mensalmente (DOUGLAS, 2006).

Os ritmos circadianos, do latim *circa* (aproximadamente) e *dies* (um dia) possuem duração de, aproximadamente, 24 horas. São muito importantes nas plantas e animais, pois eles permitem respostas às mudanças de estações que ocorrem durante o ano, além de regularem o crescimento e a atividade (RAVEN; EVERT & EICHHORN, 1996). Este ritmos são de natureza endógena, persistindo por vários ciclos sob condições constantes, normalmente, luz ou escuro consecutivos (KERBAUY & FETT- NETO, 2008).

As plantas são, por natureza, organismos rítmicos, cuja regulação das funções biológicas e otimização de processos celulares e fisiológicos são determinadas pelo relógio circadiano (FIGURA 6). Tal relógio é composto por três partes: rotas de transdução de sinais ambientais; gerador de ritmo e rotas de transduções de sinais internos. Onde a luz recebida por fotorreceptores sincronizaria o mecanismo que gera o ritmo (círculo) ao ambiente e o gene ativa a transcrição do gene do relógio (KERBAUY & FETT- NETO 2008).

Figura 6 – Modelo hipotético de um relógio circadiano em plantas



Fonte: Adaptado de Kerbauy & Fett - Neto (2008).

2.4 ATIVIDADES BIOLÓGICAS DE *Bougainvillea spectabilis*

As plantas são uma das principais fontes de produtos naturais com atividades biológicas confirmadas, constituindo-se em importantes modelos para a produção de inúmeros produtos, como fármacos, cosméticos etc. Alguns dos constituintes isolados como flavonoides, taninos, alcaloides, cumarinas e terpenos são obtidos a partir de folhas, raízes, flores e frutos. Estes constituintes são os principais responsáveis pelas ações analgésicas, anti-inflamatórias, antivirais, hipoglicemiantes e antialérgicas de algumas plantas (NODARI & GUERRA, 2010).

Diversos trabalhos (TABELA 2) exibem que *Bougainvillea spectabilis* (Nyctaginaceae) possui inúmeras atividades biológicas como anti-hipoglicemia, antibacteriano, redução do colesterol, nematicida, antiviral, inseticida e anti-inflamatória (JAWLA; KUMAR & KHAN, 2012).

Tabela 2 - Síntese de pesquisas sobre atividades biológicas de *Bougainvillea spectabilis*

Título	Principais Resultados	Ano	Autor
An Antiviral Protein from <i>Bougainvillea spectabilis</i> Roots; purification and characterization.	Neste estudo, verificou-se que o extrato etanólico das raízes de <i>Bougainvillea spectabilis</i> continha atividade inibitória contra o vírus de murcho manchado de tomate (TSWV). Assim, foi realizada a purificação e caracterização da proteína antiviral <i>Bougainvillea</i> (BAP I) obtida a partir dos tecidos radiculares de <i>B. spectabilis</i> .	1997	Balasaraswathi <i>et al.</i> ,
Hypoglycemic activity of <i>Bougainvillea spectabilis</i> stem bark in normal and alloxan -induced diabetic rats.	Os extratos etanólicos da casca do caule de <i>Bougainvillea spectabilis</i> foram administrados na forma de doses em ratos Wistar machos. A análise fitoquímica mostrou a presença de diversos compostos, tais como flavonoides, glicosídeos, taninos e saponinas e obteve-se que os extratos etanólicos da casca do caule de <i>B. spectabilis</i> possuem potenciais anti-hipoglicêmicos.	2012	Jawla; Kumar & Khan

Tabela 2 - Síntese de pesquisas sobre atividades biológicas de *Bougainvillea spectabilis*. Continua.

In vitro comparative study of <i>Bougainvillea spectabilis</i> “stand” leaves and <i>Bougainvillea variegata</i> leaves in terms of phytochemicals and antimicrobial activity.	Neste trabalho realizou-se uma análise qualitativa da fitoquímica e da atividade antibacteriana dos extratos etanólico e metanólico das folhas de <i>Bougainvillea spectabilis</i> e <i>Bougainvillea variegata</i>. Os efeitos inibitórios máximos dos extratos foram obtidos contra <i>Staphylococcus aureus</i> Gram positivo, bactérias Gram negativas <i>Proteus vulgaris</i> e <i>Serratia marcescens</i>, enquanto que <i>Salmonella typhimurium</i> apresentou uma zona máxima de inibição apenas para o extrato metanólico de <i>B. spectabilis</i>. Entretanto, não foram observados efeitos inibitórios para os extratos de <i>B. spectabilis</i> ou <i>B. variegata</i> contra <i>Enterococcus faecalis</i>, Vibro-cólera ou <i>Klebsiella pneumoniae</i>.	2012	Fawad et al.,
Isolation of Antidiabetic Principle from <i>Bougainvillea spectabilis</i> Willd (Nyctaginaceae) Stem Bark	Foram identificados quatro compostos, o pinitol, β-sitosterol, quercetina e quercetina-3-O-α-L-rhamnopiranósido. Pela primeira vez, isolaram-se pinitol, β-sitosterol, quercetina e quercetina-3-O-α-L-rhamnopiranósido da casca do caule de <i>B. spectabilis</i>.	2013	Jawla; Kumar & Khan

Tabela 2 - Síntese de pesquisas sobre atividades biológicas de *Bougainvillea spectabilis*. Continua.

Evaluation of anti-inflammatory activity of methanolic extract of leaves of <i>Bougainvillea spectabilis</i> in experimental animal models.	Os extratos metanólicos de <i>Bougainvillea spectabilis</i> apresentaram efeitos anti-inflamatórios significativos de 20,6% e 67,6%, respectivamente, nos modelos inflamatórios agudos induzidos por carragenina. No edema induzido por dextrano, o efeito foi de 30% e 66%, respectivamente. No modelo artrítico, observou-se efeito anti-inflamatório crônico significativo (38,46%) em comparação com o medicamento padrão de dexametasona (84,6%).	2014	Mandal; Chatterjee & Chatterjee
<i>Bougainvillea spectabilis</i> Exhibits Antihyperglycemic and Antioxidant Activities in Experimental Diabetes	A dose do extrato aquoso das folhas de <i>Bougainvillea spectabilis</i> (100 mg/kg) diminuiu significativamente o nível de glicose no sangue de ratos diabéticos. O possível mecanismo de ação do extrato de folha pode estar correlacionado à presença de D-pinitol. O extrato das folhas de <i>Bougainvillea spectabilis</i> restaurou significativamente os níveis de creatinina e ácido úrico bem próximo do nível normal e o nível de ureia não foi alterado.	2015	Chauhan <i>et al.</i> ,

Tabela 2 - Síntese de pesquisas sobre atividades biológicas de *Bougainvillea spectabilis*. Conclusão.

<i>Bougainvillea spectabilis</i> flowers extract protects against the rotenone-induced toxicity	Neste estudo, investigou-se o efeito de dois extratos das flores (amarelo e rosa/ roxo) de <i>Bougainvillea spectabilis</i> no estresse oxidativo do cérebro e danos neuronais causados em ratos por injeção sistêmica de rotenona. Isto resultou em estresse oxidativo do cérebro, aumentando tanto a peroxidação lipídica quanto o conteúdo de nitrito. O extrato de flores amarelas inibiu a atividade BChE e aumentou o cérebro II-1β. Estes dados indicaram que os extratos das flores de <i>B. spectabilis</i> exercem efeito protetor contra os efeitos tóxicos da rotenona no cérebro, fígado e rim. Reduzem ainda a peroxidação lipídica cerebral e impedir a morte neuronal por rotenona e, portanto os extratos das flores (amarelo e rosa/ roxo) de <i>Bougainvillea spectabilis</i>, podem ser eficazes no tratamento da doença de Parkinson.	2017	Abdel-Salam <i>et al.</i>,
--	--	-------------	-----------------------------------

Fonte: Pesquisa Direta (2017).



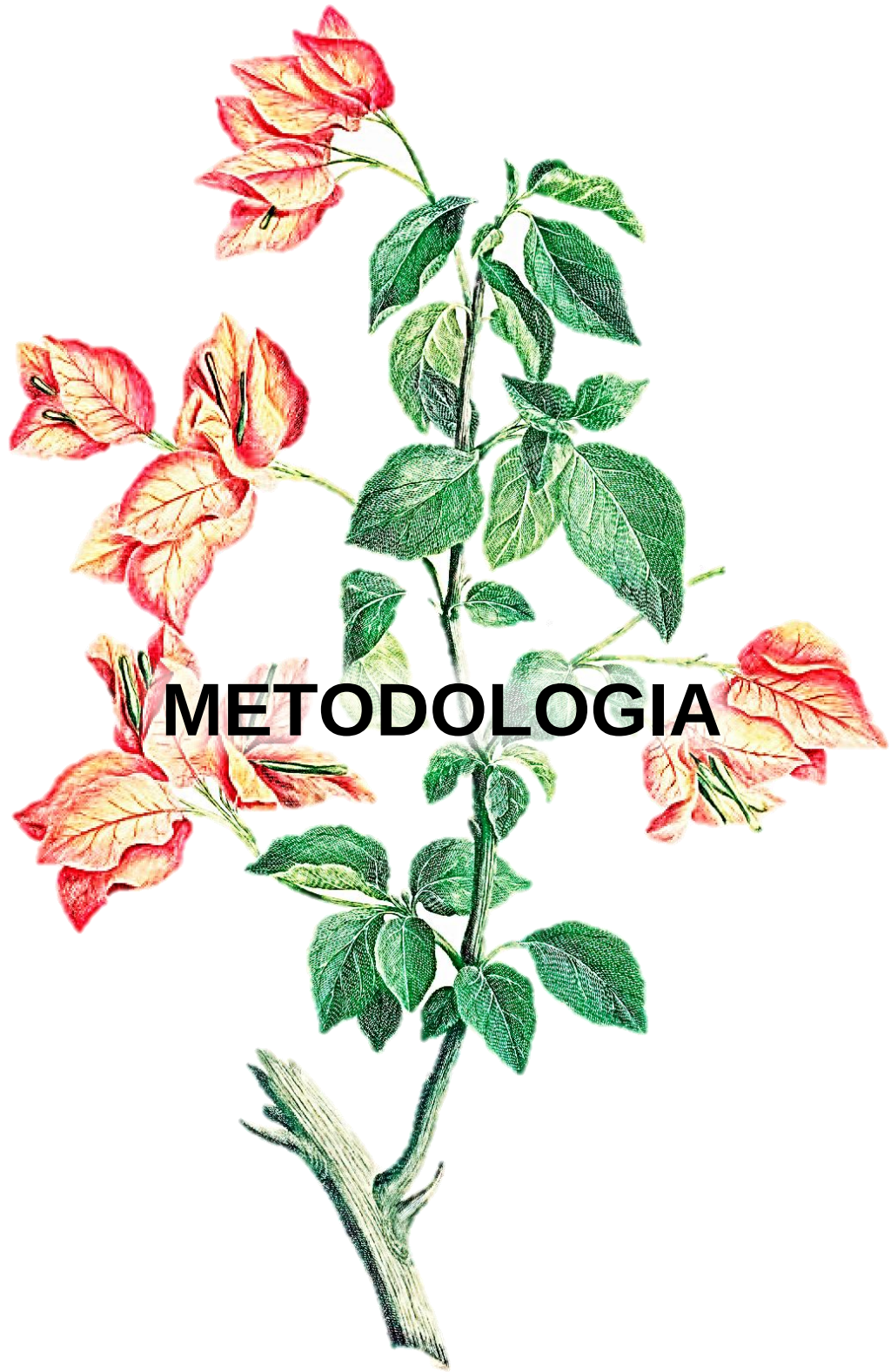
3 OBJETIVOS

3.1 GERAL:

- ✓ Investigar os metabólitos secundários voláteis das folhas de *Bougainvillea spectabilis* coletada na cidade de Parnaíba-PI por meio de um estudo circadiano.

3.2 ESPECÍFICOS:

- ✓ Coletar as folhas *in natura* de *Bougainvillea spectabilis* (Nyctaginaceae) na cidade de Parnaíba-PI;
- ✓ Extrair o óleo essencial das folhas de *Bougainvillea spectabilis* (Nyctaginaceae) em três horários de um mesmo dia por meio da técnica de Hidrodestilação;
- ✓ Identificar a composição química do óleo essencial através de Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG-EM);
- ✓ Verificar por meio de um estudo circadiano possíveis variações no teor e percentagem dos constituintes voláteis dos óleos essenciais obtidos;
- ✓ Contribuir para o conhecimento químico da flora do Estado do Piauí.



4 METODOLOGIA

4.1 TIPO DE PESQUISA

O presente trabalho buscou investigar os metabólitos secundários voláteis das folhas de *Bougainvillea spectabilis* coletada na cidade de Parnaíba-PI por meio de um estudo circadiano. É experimental, pois de acordo com Gil (2002, p. 47), “[...] a pesquisa experimental consiste em determinar um objeto de estudo, selecionar as variáveis que seriam capazes de influenciá-lo, definir as formas de controle e de observação”.

4.2 MATERIAIS E MÉTODOS

4.2.1 Coleta do material vegetal

Para a realização do estudo circadiano, no dia 06 de Julho de 2016 foram realizadas, a partir do mesmo espécime, três coletas das folhas de *Bougainvillea spectabilis*, em horários distintos (TABELA 3), na cidade de Parnaíba-PI (Lat. 2°55'47.04"S e Long. 41°45'11.45"O).

Tabela 3 – Horários de coleta e massa de folhas de *Bougainvillea spectabilis*

Horário de coleta (h)	Massa de folhas (g)
08:00	600
12:00	600
16:00	600

Fonte: Pesquisa direta (2017).

4.2.2 Procedimento

4.2.2.1 Preparação da amostra

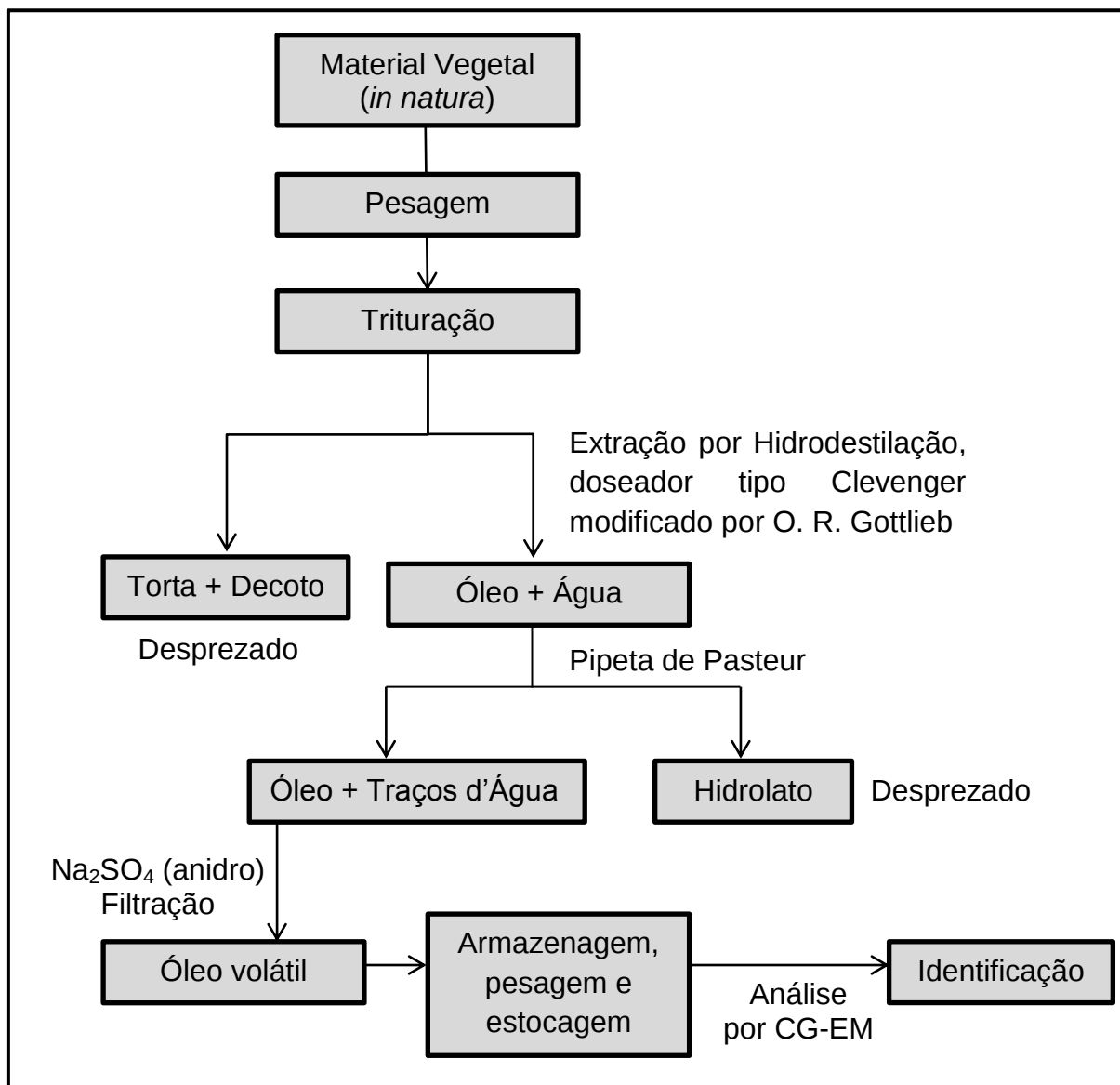
Para realizar a preparação da amostra vegetal colhida *in natura*, inicialmente foi realizada a pesagem das folhas de *Bougainvillea spectabilis*. Em seguida, as folhas foram trituradas manualmente e postas para moagem em liquidificador (moagem por impactos). Este método tem por objetivo diminuir a superfície de

contato do material sólido, condição esta necessária para um melhor aproveitamento da amostra e facilitar a extração.

4.2.2.2 Extração

No presente trabalho, o processo de extração dos metabólitos secundários voláteis (FIGURA 7), foi realizado três vezes, em três horários distintos no laboratório de Química Orgânica do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí (IFPI) – *Campus* Parnaíba, por meio da técnica de hidrodestilação em aparelho doseador tipo Clevenger modificado por O. R. Gottlieb. Neste processo, os materiais vegetais frescos e triturados foram colocados, separadamente, em um balão de vidro com capacidade de 5,0 L, acrescidos de 2,5 L de água destilada e aquecida à temperatura de refluxo por duas horas até a obtenção do óleo volátil.

Posteriormente, a mistura água/óleo foi separada e o óleo essencial obtido foi tratado com sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4) para retirar os traços de água presentes. O óleo obtido foi filtrado, pesado e armazenado em pequenos frascos, cobertos com papel alumínio e armazenados na geladeira até a análise por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG-EM).

Figura 7 - Fluxograma para obtenção dos metabólitos secundários voláteis

Fonte: Pesquisa Direta (2017).

4.2.2.3 Identificação dos metabólitos secundários voláteis

Os metabólitos secundários voláteis extraídos das folhas de *Bougainvillea spectabilis* foram analisados no Laboratório de Geoquímica Orgânica (LAGO) da Universidade Federal do Piauí (UFPI) – *Campus* Ministro Petrônio Portela, Teresina-PI. Foi utilizado um cromatógrafo gasoso modelo GCMS-QP2010 SE, AOC-5000 auto injetor da marca SHIMADZU, com coluna: Rtx-5MS de tamanho 30 m × 0,25 mm e espessura do filme interno de 0,10 µm com fase estacionária de difenil dimetilpolissiloxano (5% de difenil e 95% de dimetilpolissiloxano).

As condições da análise incluem temperatura da coluna (60,00 °C), temperatura de injeção (200,00 °C), modo de injeção dividido, pressão de 59,0 kPa, fluxo total de 106,00 mL/min, fluxo de coluna de 1,02 mL/min, velocidade linear de 36,8 cm/s e razão dividida de 100,00. Temperatura da fonte de íon de 250,00 °C, temperatura da interface (240,00 °C), tempo de solvente de 2,50 min, modo relativo de ganho do detector, tempo de início de 2,50 min. e tempo final de 72,00 min., varredura do modo ACQ, com duração de 30 segundos.

4.3 TRATAMENTO DOS DADOS

Os dados obtidos com a realização do presente trabalho, como os cromatogramas/espectros de massas, gráficos e as fórmulas estruturais dos constituintes voláteis identificados das folhas de *B. spectabilis*, foram tratados nos programas computacionais GC-MS Solution (SHIMADZU), Origin 6.0 Professional e ChemWindow 6.0, respectivamente.



RESULTADOS E DISCUSSÃO

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ESTUDO CIRCADIANO

A realização do estudo circadiano se deu por meio da coleta das folhas *in natura* da espécie *Bougainvillea spectabilis*, em três horários diferentes (08:00, 12:00 e 16:00 horas) a partir do mesmo espécime, esta medida foi tomada visando evitar possíveis alterações ocasionadas por utilizar espécimes diferentes.

5.1.1 Rendimento dos metabólitos secundários voláteis obtidos

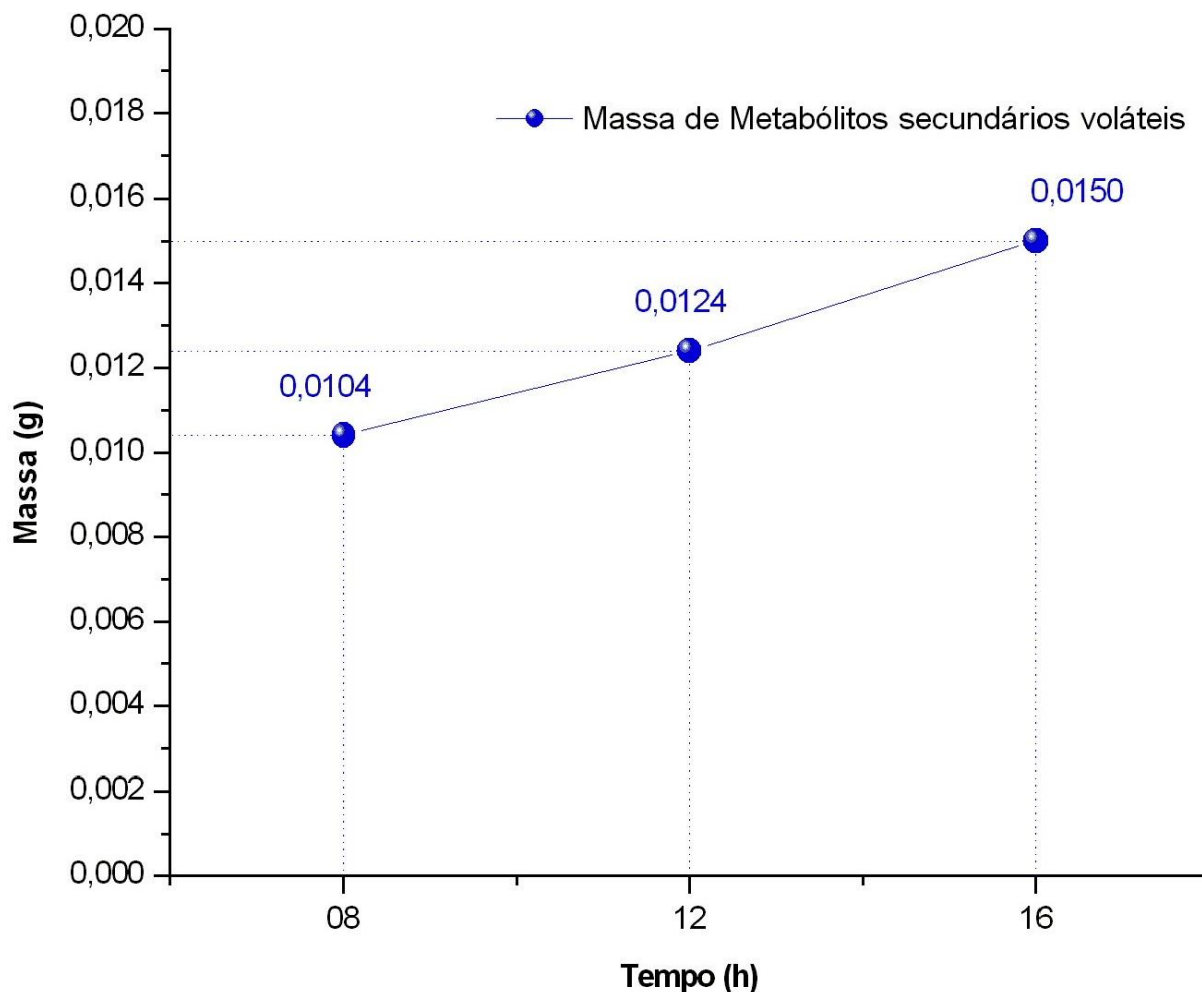
O rendimento assim como a massa dos metabólitos secundários voláteis obtidos são apresentados na Tabela 4. Observou-se que houve uma notável variação durante os horários de coleta e que a produção do óleo volátil aumentou ao longo do dia, tendo um aumento de aproximadamente 50% entre o maior e menor rendimento.

Tabela 4 – Rendimento e massa dos metabólitos secundários voláteis das folhas de *Bougainvillea spectabilis*

Horário de coleta (h)	Massa de folhas (g)	Massa de óleo (g)	Rendimento
08:00	600	0,0104	0,0017%
12:00	600	0,0124	0,0020%
16:00	600	0,0150	0,0025%

Fonte: Pesquisa Direta (2017).

Verificou-se que embora a massa do material vegetal utilizada fosse à mesma, os máximos rendimento e a massa dos metabólitos secundários voláteis foram obtidos no horário das 16:00 h (GRÁFICO 1). Provavelmente devido à influência da temperatura e da luminosidade, pois ambas possuem um importante papel na fotossíntese e a proximidade destes fatores assegura um ambiente ideal para o processo fisiológico dos vegetais (SOUZA *et al.*, 2008).

Gráfico 1 – Variação de massas dos metabólitos secundários voláteis obtidos

Fonte: Pesquisa Direta (2017).

O trabalho realizado por Vukovic *et al.* (2013), no país de Montenegro, na Baía de Kotor em Junho de 2011 relata pela primeira vez a composição química do óleo essencial de *Bougainvillea spectabilis*. Neste estudo, foram obtidos os metabólitos secundários voláteis em um único horário do dia, o qual não foi descrito. A extração foi realizada por hidrodestilação tipo Clevenger, utilizando 500 g de material vegetal (folhas e ramos secos ao ar livre), com rendimento de 0,19%, porcentagem esta superior aos valores obtidos no presente trabalho, no entanto na pesquisa deste TCC foram utilizadas somente as folhas da espécie.

Esta variação de rendimentos pode ser proveniente do local de realização do estudo, uma vez que fatores abióticos provocam variações na produção de metabólitos secundários, bem como da utilização de folhas e ramos por Vukovic *et al.* (2013) que provavelmente aumenta sensivelmente a quantidade de metabólitos secundários voláteis obtidos. No entanto, não se pode prever ou mesmo,

estabelecer um padrão único para as variações destes compostos, visto que a composição química dos óleos voláteis é determinada por inúmeros fatores, como os endógenos (proveniente da própria planta), a metodologia empregada e os fatores ambientais (externos ao espécime, como a variação de temperatura, umidade relativa, luminosidade e regime de ventos ao longo do dia), conforme apresentado em diversos estudos como os de Haag (1987); Silva *et al.* (2003); Gobbo-Netto & Lopes (2007); Souza *et al.* (2008); Moraes (2009); Simões & Spitzer (2010), dentre outros.

No trabalho realizado por Vukovic *et al.* (2013), o tempo para obtenção do conteúdo volátil foi de 3 horas, uma hora a mais que a extração realizada neste trabalho. O tempo de extração pode variar de acordo com os mais diversos fatores, como a rigidez do tecido da amostra vegetal e do seu estado de divisão, natureza das substâncias a serem extraídas, solvente, temperatura e/ou agitação (FALKENBERG; SANTOS & SIMÕES, 2010).

5.1.2 Identificação dos metabólitos secundários voláteis

A identificação dos metabólitos secundários voláteis foi realizada por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG-EM) com método de ionização por Impacto de Elétrons (EI). Esta técnica tem como princípio básico a geração de íons para análise, nela as moléculas da amostra são vaporizadas e submetidas a um feixe de elétrons de alta energia, normalmente 70 eV, para assim serem ionizadas e detectadas (SILVERSTEIN; WEBSTER & KIEMLE, 2012).

Como resultado das análises dos cromatogramas foi possível identificar um total de 17 compostos no óleo essencial, com variação destes compostos nos diferentes óleos essenciais (TABELA 5). A comparação com o trabalho realizado por Vukovic *et al.* (2013), mostra uma clara distinção na quantidade de metabólitos, pois foram identificados 39 compostos, número muito superior ao do presente trabalho. Esta variação na quantidade de metabólitos pode ser justificada principalmente, por Vukovic *et al.* (2013) ter utilizado na extração as folhas e ramos da planta, além da influência do clima e da localização geográfica.

Na época de coleta e realização do estudo para determinação dos constituintes voláteis de *Bougainvillea spectabilis* por Vukovic *et al.* (2013), as temperaturas mínimas e máximas foram de 17 a 27 °C, respectivamente. Em

contraste, na época de realização do presente trabalho, em 06 de Julho de 2016, na cidade de Parnaíba-PI, as temperaturas mínimas e máximas corresponderam a 22 e 31°C, respectivamente. Distinções assim apresentadas, como de localização geográfica, variações circadianas e sazonais, dentre outros fatores ambientais, afetam principalmente a rota metabólica da espécie vegetal, dando início a biossíntese de compostos distintos (MORAIS, 2009; SIMÕES & SPITZER, 2010).

Tabela 5 - Variação circadiana dos componentes voláteis de *B. spectabilis* em ordem alfabética

COMPOSTOS	08h (%)	12h (%)	16h (%)
ácido (E)-hex-2-enóico (C ₆ H ₁₀ O ₂)	-	-	1,21
α-ionona (C ₁₃ H ₂₀ O)	0,51	0,73	-
α-metil- α -[4-metil-3-pentenil]-oxiranometanol (C ₁₀ H ₁₈ O ₂)	-	-	0,73
α-terpineol (C ₁₀ H ₁₈ O)	0,50	-	-
β-ionona (C ₁₃ H ₂₀ O)	1,11	1,09	0,78
cis - benzoato de hex-3-enila (C ₁₃ H ₁₆ O ₂)	-	0,78	-
cis - butanoato de hex-3-enila (C ₁₀ H ₁₈ O ₂)	1,31	1,38	4,05
(E)-hex-2-en-1-ol (C ₆ H ₁₂ O)	40,21	40,38	-
4-etil-benzaldeído (C ₉ H ₁₀ O)	0,97	1,03	1,08
fitol (C ₂₀ H ₄₀ O)	5,81	5,80	4,32
hexanol (C ₆ H ₁₄ O)	16,06	18,10	15,62
7-hidroxi-hepteno (C ₇ H ₁₄ O)	1,22	-	44,91
linalol (C ₁₀ H ₁₈ O)	3,29	2,93	2,00
salicilato de metila (C ₈ H ₈ O ₃)	12,46	6,52	6,28
(Z) - acetato de hex-3-en-1-ol (C ₈ H ₁₄ O ₂)	16,55	20,36	-
(Z) - formiato de hex-3-en-1-ol (C ₇ H ₁₂ O ₂)	-	-	18,14
(Z) - hexanoato de hex-3-enila (C ₁₂ H ₂₂ O ₂)	-	-	0,88

Fonte: Pesquisa Direta (2017).

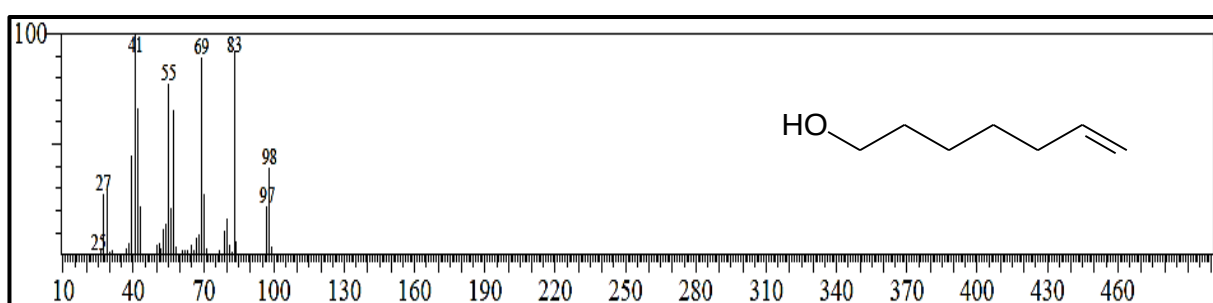
Os espectros de massas obtidos a partir de cada análise tiveram seus padrões de fragmentação analisados e comparados com os espectros de massas

contidos na biblioteca do aparelho e na literatura (*National Institute of Standards and Technology* - NIST). Isso porque a unicidade do espectro de massas (EI) de determinado composto orgânico, mesmo sendo um estereoisômero, é tida como quase uma certeza. Visto que esta unicidade, quando acoplada à técnica com grande sensibilidade, torna a CG-EM um método analítico de grande poder e com grande utilização (SILVERSTEIN; WEBSTER & KIEMLE, 2012).

A análise dos espectros de massas referentes a cada pico nos cromatogramas revelou o padrão de fragmentação dos metabólitos. Na Espectrometria de Massas por impacto de elétrons (EI), o evento mais simples é a remoção de um elétron da molécula (fase gás), resultando na formação de um cátion-radical, o íon molecular (M^+), que por sua vez se fragmenta, gerando vários picos com diferentes intensidades, esta fragmentação é característica de cada metabólito e leva a identificação dos compostos (SILVERSTEIN; WEBSTER & KIEMLE, 2012).

O espectro de massas do 7-hidroxi-hepteno (FIGURA 8) apresentou o pico base com razão m/z de 41 daltons, além de picos de intensidade variada com razão m/z 98, 97, 83, 69, 57, 55, 42, 41, 40, 29 e 27 daltons. Contudo, não foi possível observar o pico referente ao íon molecular ($m/z=114$), provavelmente pela perda de água, bastante frequente em espectros de álcoois primários (SILVERSTEIN; WEBSTER & KIEMLE, 2012).

Figura 8 – Espectro de massas do 7-hidroxi-hepteno ($C_7H_{14}O$)

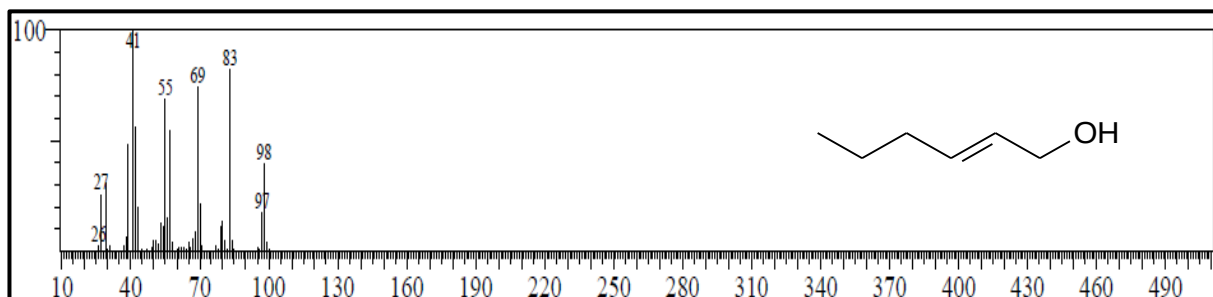


Fonte: Pesquisa Direta (2017).

Os espectros de massas de (E)-hex-2-en-1-ol (FIGURA 9), (Z) - acetato de hex-3-en-1-ol (FIGURA 10) e hexanol (FIGURA 11) apresentaram vários picos de fragmentação, com picos base com razão m/z em 41, 43 e 56 daltons, respectivamente. Observa-se também a ausência do pico do íon molecular (M^+), pico geralmente não observado em álcoois primários, pois ele tende a ser de difícil

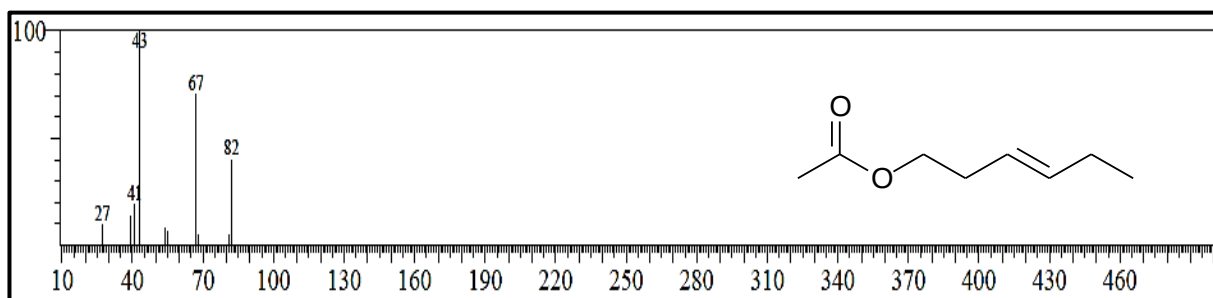
observação e em ésteres ele é pouco intenso na faixa de massas entre m/z 130 e 200 (SILVERSTEIN; WEBSTER & KIEMLE, 2012).

Figura 9 – Espectro de massas do (E)-hex-2-en-1-ol ($C_6H_{12}O$)



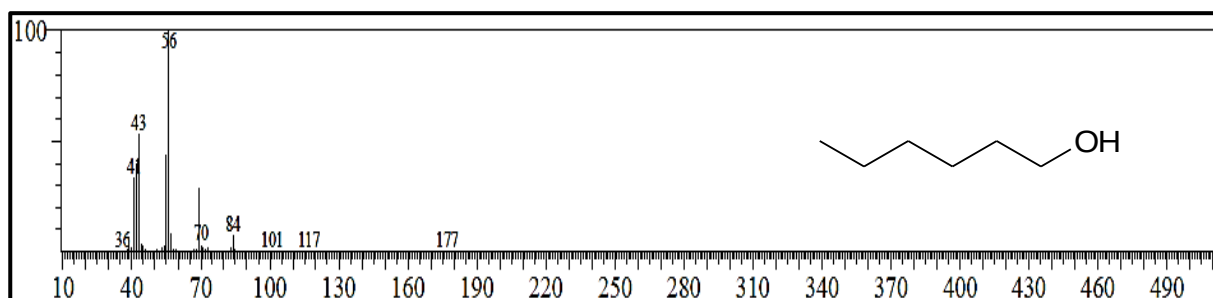
Fonte: Pesquisa Direta (2017).

Figura 10 – Espectro de massas do (Z) - acetato de hex-3-en-1-ol ($C_8H_{14}O_2$)



Fonte: Pesquisa Direta (2017).

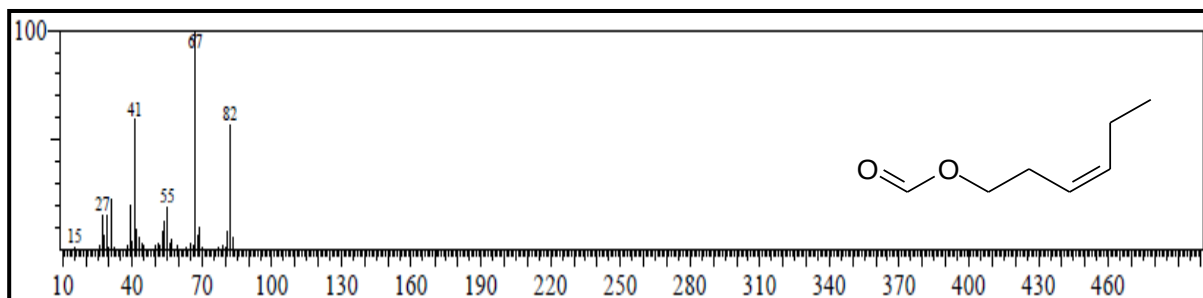
Figura 11 – Espectro de massas do hexanol ($C_6H_{14}O$)



Fonte: Pesquisa Direta (2017).

O espectro de massas do (Z) - formiato de hex-3-en-1-ol (FIGURA 12) apresentou diferentes picos com diferentes intensidades em m/z 82, 55, 41, 39, 31 e 27, com o pico base em m/z 67 ($M - 61$). A análise do espectro permitiu constatar que não houve a presença do pico em m/z 74, que é o pico base dos ésteres de cadeia linear na faixa de C_6 a C_{26} (SILVERSTEIN; WEBSTER & KIEMLE, 2012). A partir do pico com m/z 55, constatou-se a fragmentação correspondente a dos hidrocarbonetos, ou seja, em sequência de 14 unidades de m/z .

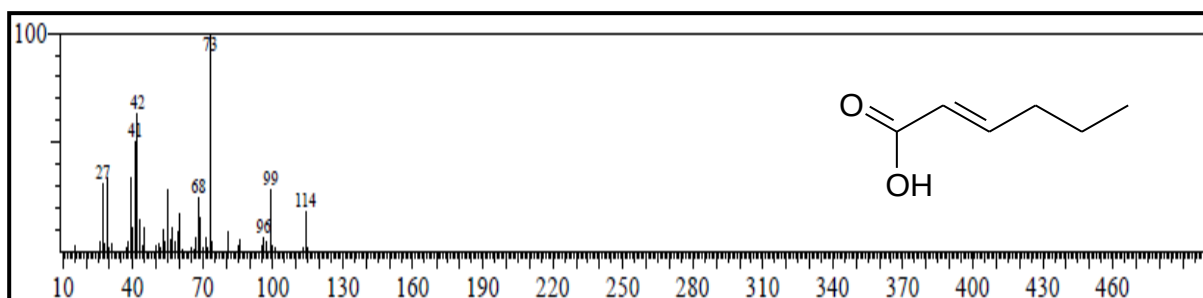
Figura 12 – Espectro de massas do (Z) - formiato de hex-3-en-1-ol ($C_7H_{12}O_2$)



Fonte: Pesquisa Direta (2017).

Com a análise do espectro de massas do ácido (E)-hex-2-enóico (FIGURA 13), constatou-se a presença do pico M^+ , com razão m/z de 114 daltons, pico base 73 e picos de diferentes intensidades em 99, 68, 42, 41, 29, 27 e 25 daltons.

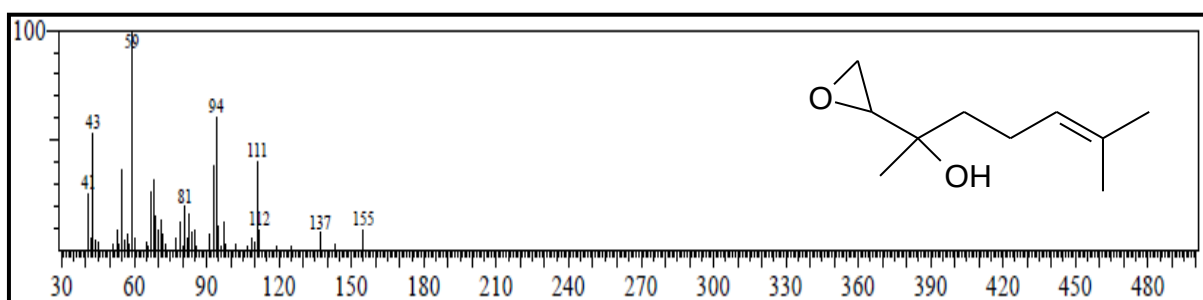
Figura 13 – Espectro de massas do ácido (E)-hex-2-enóico ($C_6H_{10}O_2$)



Fonte: Pesquisa Direta (2017).

O espectro de massas do composto α -metil- α -[4-metil-3-pentenil]-oxiranometanol (FIGURA 14) não apresentou o pico M^+ , em m/z 170. Contudo, apresentou o pico base em m/z 59 e picos em: 155 ($M - CH_3$), 137, 111, 94, 81, 50, 43 e 41.

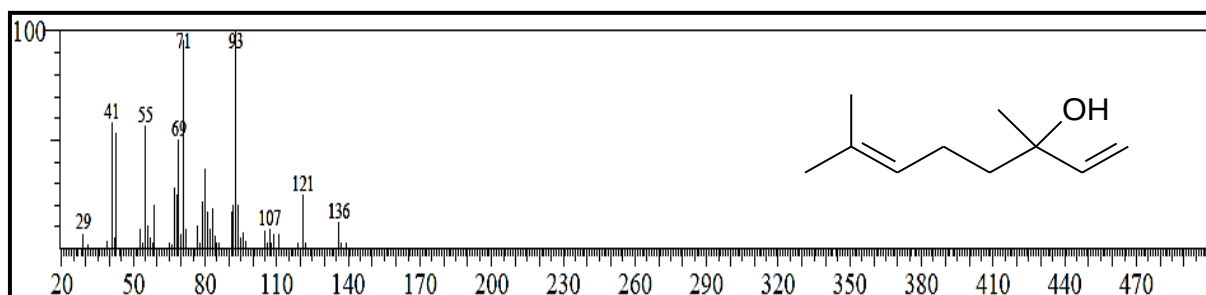
Figura 14 - Espectro de massas do α -metil- α -[4-metil-3-pentenil]-oxiranometanol ($C_{10}H_{18}O_2$)



Fonte: Pesquisa Direta (2017).

Verificou-se que o espectro de massas do linalol (FIGURA 15) apresentou pico base em m/z 93 e picos de distintas intensidades em m/z : 136, 121, 71, 69, 55, 42 e 41. No entanto, não contou com a presença do pico M^+ em m/z 154.

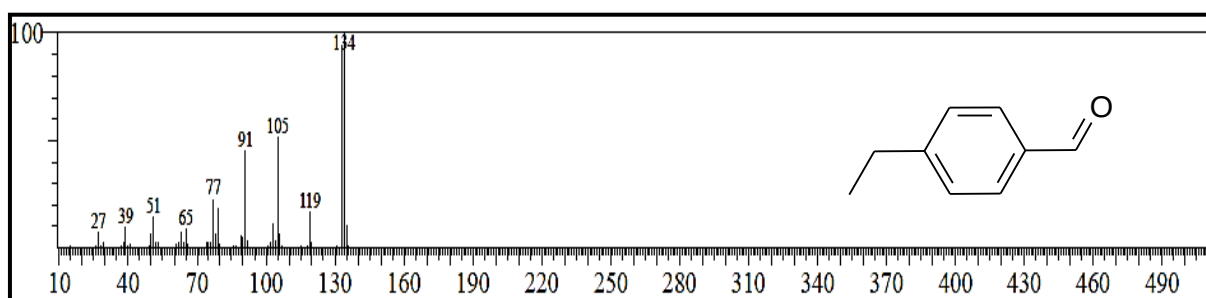
Figura 15 – Espectro de massas do linalol ($C_{10}H_{18}O$)



Fonte: Pesquisa Direta (2017).

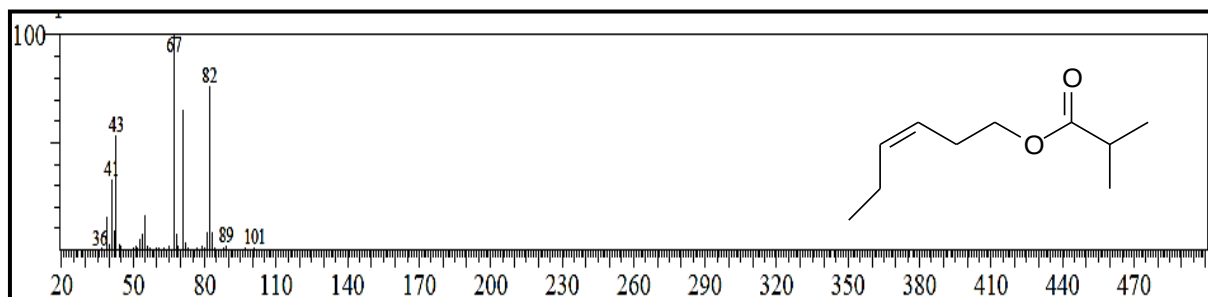
O espectro de massas do 4-etil-benzaldeído (FIGURA 16) apresentou pico M^+ e pico base igual a 134 daltons, devido à presença do anel aromático que estabiliza o íon molecular, aumentando sua formação e intensidade (SILVERSTEIN; WEBSTER & KIEMLE, 2012).

Figura 16 – Espectro de massas do 4-etil-benzaldeído ($C_9H_{10}O$)

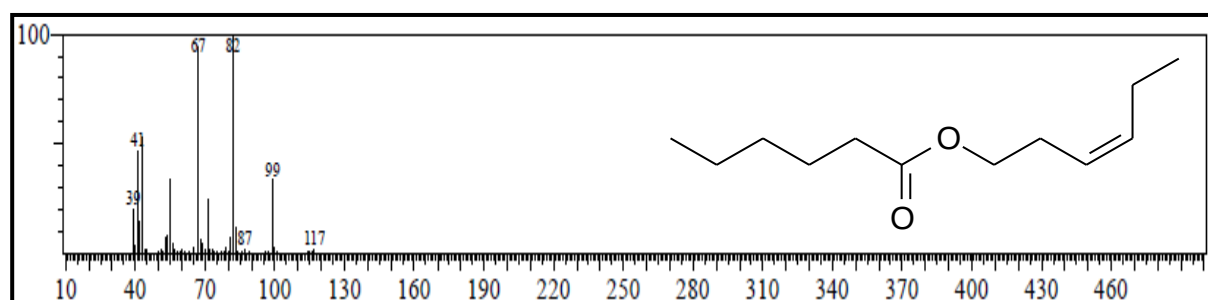


Fonte: Pesquisa Direta (2017).

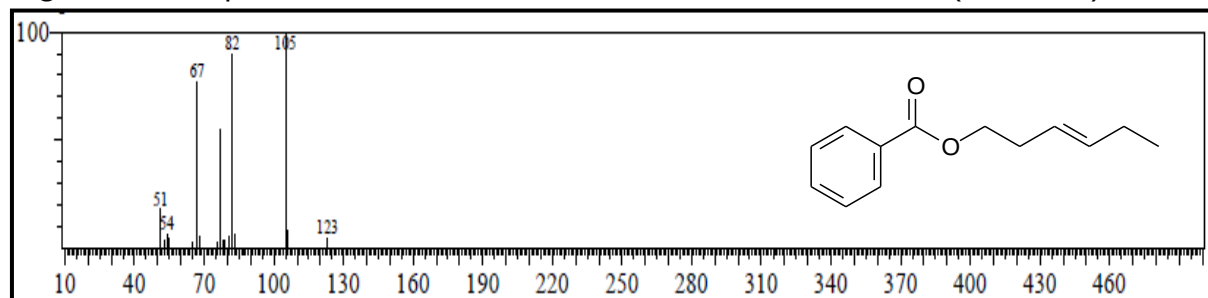
Os espectros de massas de cis - butanoato de hex-3-enila (FIGURA 17), (Z) - hexanoato de hex-3-enila (FIGURA 18), cis - benzoato de hex-3-enila (FIGURA 19), α -terpineol (FIGURA 20) e fitol (FIGURA 21) apresentaram vários picos de fragmentação e picos base com razão m/z em 67, 82, 105, 59 e 71 daltons, respectivamente. No entanto, apenas o 1- α -terpineol apresentou pico M^+ em m/z 154, os demais compostos não apresentaram pico M^+ , porque em álcoois primários ele tende a ser de difícil observação e em ésteres ele é pouco intenso na faixa de massas entre m/z 130 e 200 (SILVERSTEIN; WEBSTER & KIEMLE, 2012).

Figura 17 – Espectro de massas do cis - butanoato de hex-3-enila ($C_{10}H_{18}O_2$)

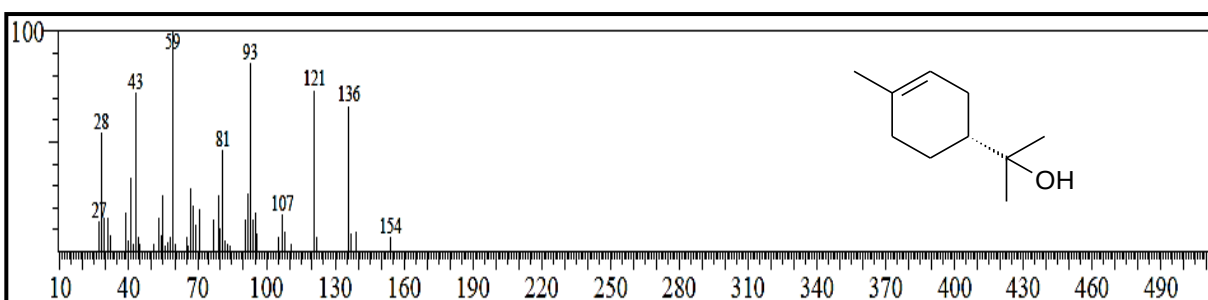
Fonte: Pesquisa Direta (2017).

Figura 18 – Espectro de massas do (Z) - hexanoato de hex-3-enila ($C_{12}H_{22}O_2$)

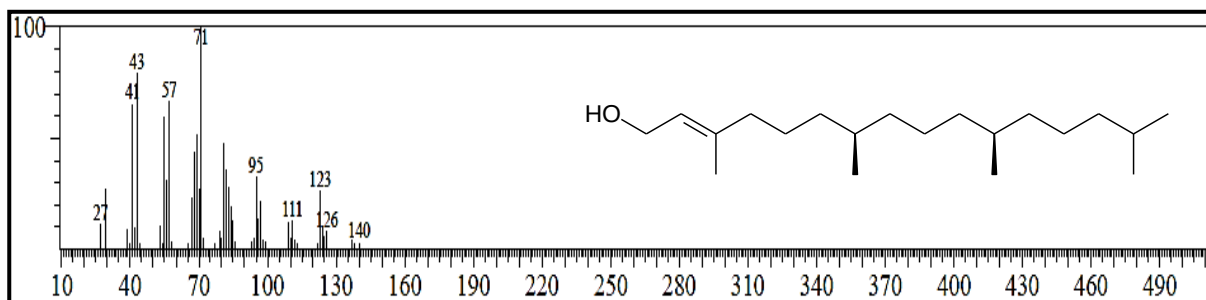
Fonte: Pesquisa Direta (2017).

Figura 19 – Espectro de massas do cis - benzoato de hex-3-enila ($C_{13}H_{16}O_2$)

Fonte: Pesquisa Direta (2017).

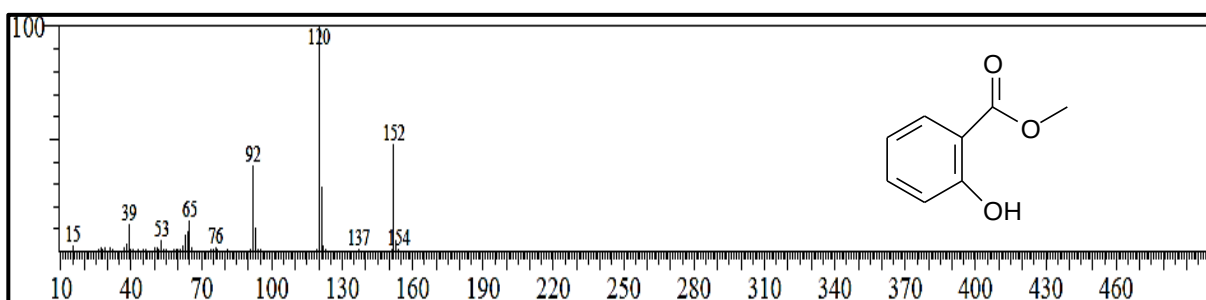
Figura 20 – Espectro de massas do α -terpineol ($C_{10}H_{18}O$)

Fonte: Pesquisa Direta (2017).

Figura 21 – Espectro de massas do fitol ($C_{20}H_{40}O$)

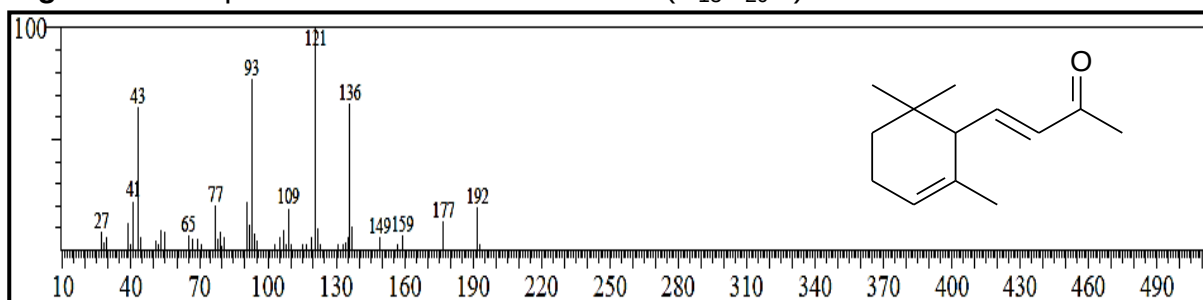
Fonte: Pesquisa Direta (2017).

O espectro de massas do salicilato de metila (FIGURA 22) apresentou o pico M^+ com razão m/z de 152 daltons, a intensidade do pico do íon molecular (M^+) depende da estabilidade do composto, sendo que os íons moleculares mais intensos correspondem a anéis aromáticos (SILVERSTEIN; WEBSTER & KIEMLE, 2012). O espectro apresentou ainda pico base em 120 daltons, vários picos de fragmentação em 92, 65 e 39 daltons e um pico em m/z 154 ($M+2$), correspondente ao “pico de isótopo”.

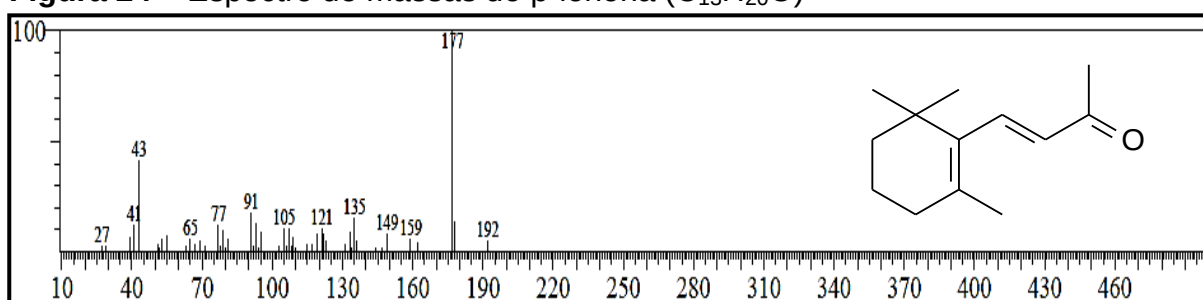
Figura 22 – Espectro de massas do salicilato de metila ($C_8H_8O_3$)

Fonte: Pesquisa Direta (2017).

Os espectros de massas das cetonas α -ionona (FIGURA 23) e β -ionona (FIGURA 24) apresentaram picos correspondentes ao M^+ pouco intensos, em m/z 192 daltons e distintos picos bases em 121 e 177, respectivamente. É possível notar que apesar da razão massa/carga dos fragmentos destes dois isômeros serem muito semelhantes, a mudança da posição de uma ligação “ π ” nestes compostos, leva a uma grande mudança nas intensidades dos picos.

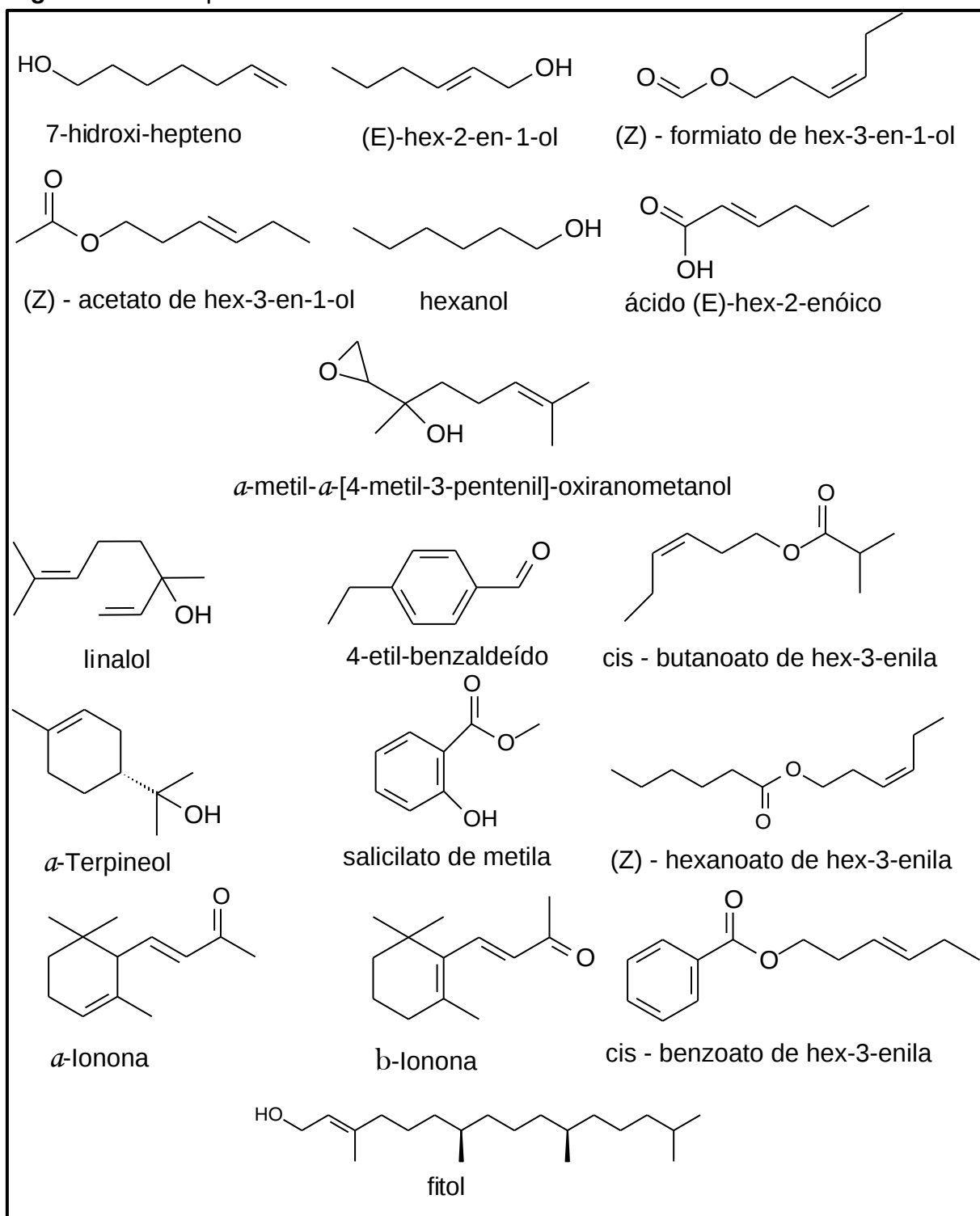
Figura 23 – Espectro de massas do α -ionona ($C_{13}H_{20}O$)

Fonte: Pesquisa Direta (2017).

Figura 24 – Espectro de massas do β -ionona ($C_{13}H_{20}O$)

Fonte: Pesquisa Direta (2017).

Os metabólitos secundários voláteis presentes nos diferentes óleos essenciais obtidos ao longo do dia apresentam considerável variedade estrutural, sendo encontrados álcoois primários e terciários, fenóis, ácido carboxílico, ésteres, cetonas e aldeídos, com cadeias carbônicas aromáticas, cíclicas, alifáticas, saturadas e ramificadas, além de diferentes classes como monoterpenos, norterpenoides, diterpenos e fenilpropanoides (FIGURA 25).

Figura 25 – Compostos identificados no estudo circadiano

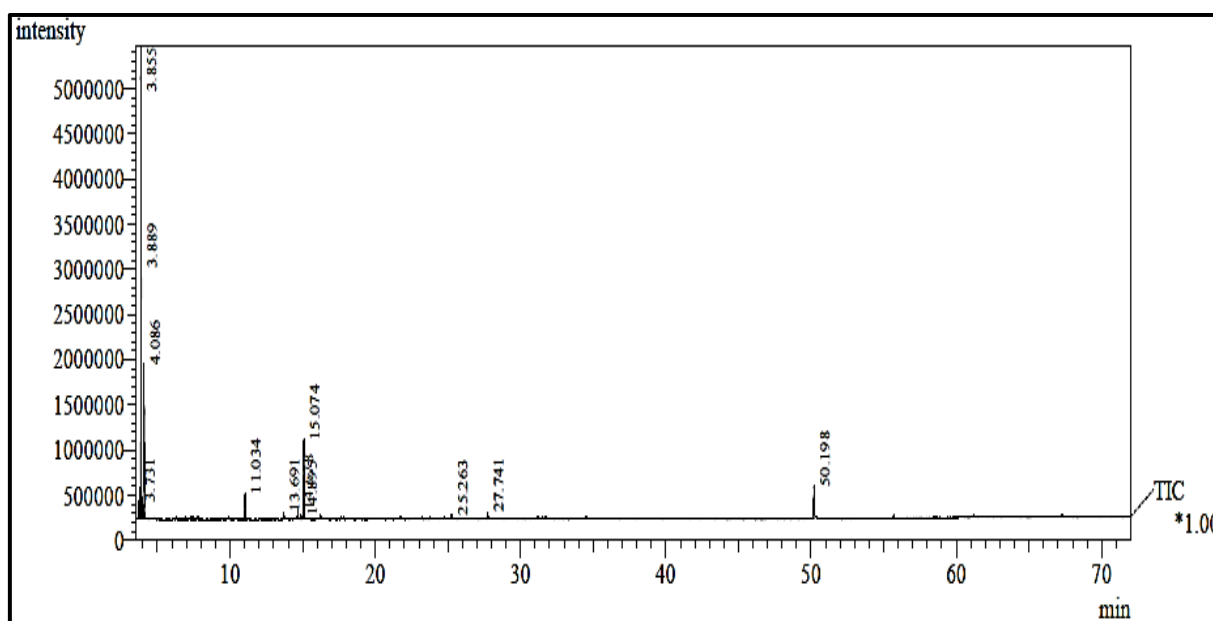
Fonte: Pesquisa Direta (2017).

5.1.2.1 Obtenção dos compostos voláteis no horário das 08:00 horas

O cromatograma obtido para a primeira coleta (08:00 h) apresentou doze picos que correspondem a doze compostos distintos, com áreas proporcionais aos seus teores no óleo extraído. A área dos picos proporcionou uma porcentagem de cada composto no óleo volátil, que variou de 0,50 até 40,21% (FIGURA 26).

Verificaram-se três picos com tempos de retenção muito próximos em 14,678, 14,895 e 15,074 minutos, com pequena sobreposição dos sinais. No cromatograma ideal, os picos são separados e simétricos, na prática, contudo, os mesmos podem se sobrepor parcialmente devido a separação deficiente da coluna ou mesmo a presença de picos com assimetria frontal ou caudas (COLLINS, BRAGA & BONATO, 1997).

Figura 26 – Cromatograma relativo ao óleo volátil das folhas de *B. spectabilis* extraído às 08:00 h



Fonte: Pesquisa Direta (2017).

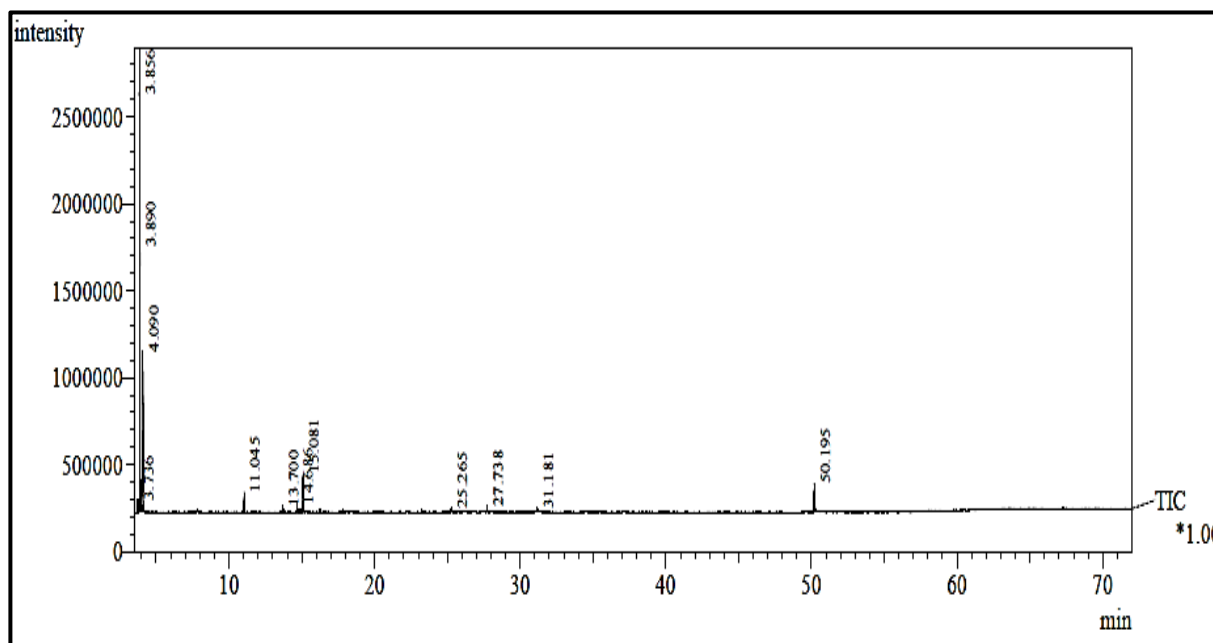
Os doze compostos identificados neste horário do estudo circadiano, corresponderam a 100% do óleo volátil. Estes metabólitos voláteis pertencem a distintas funções orgânicas, como álcoois: 7-hidroxi-hepteno (1,22%), (E)-hex-2-en-1-ol (40,21%), hexanol (16,06%), linalol (3,29%), α -terpineol (0,50%) e fitol (5,81%); ésteres: (Z) - acetato de hex-3-en-1-ol (16,55%) e cis - butanoato de hex-3-enila (1,31%), salicilato de metila (12,46%); aldeído: 4-etil-benzaldeído (0,97%); e cetonas: α -ionona (0,51%) e β -ionona (1,11%).

Neste horário, foram identificados quatro compostos majoritários, os mesmos foram: (E)-2-hexen-1-ol (40,21%), (Z) - acetato de hex-3-en-1-ol (16,55%), hexanol (16,06%) e salicilato de metila (12,46%).

5.1.2.2 Obtenção dos compostos voláteis no horário das 12:00 horas

O Cromatograma para segunda coleta (12:00 h) novamente, apresentou doze picos, no entanto, foram identificados somente onze compostos. Isto foi consequência da análise dos respectivos espectros de massas gerados pela técnica CG-EM, onde só são selecionados os espectros com uma similaridade superior a 90%. Observou-se que os tempos de retenção dos picos variaram de 3,736 até 50,195 minutos. A área dos picos proporcionou uma porcentagem de cada composto no óleo volátil, que variou de 0,73 até 40,38%. Neste horário, constatou-se que houve sobreposição parcial de dois picos com tempos de retenção de 14,686 e 15,081 minutos (FIGURA 27).

Figura 27 - Cromatograma relativo ao óleo volátil das folhas de *B. spectabilis* extraído às 12:00 h



Fonte: Pesquisa Direta (2017).

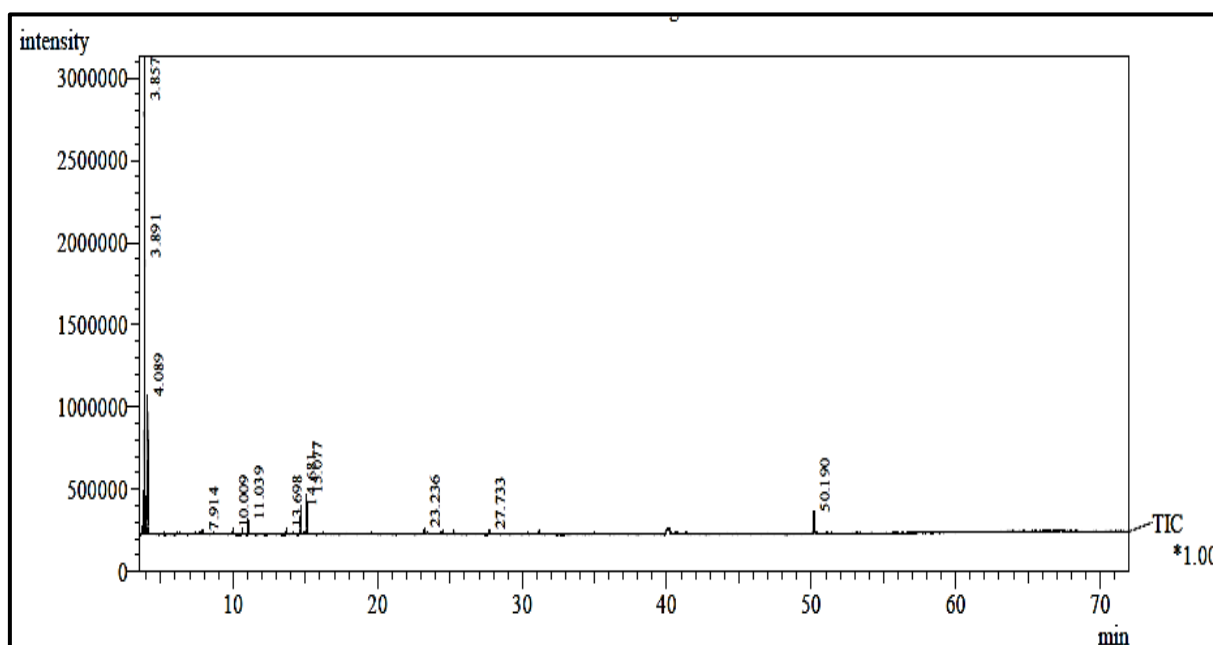
Os onze compostos identificados na segunda extração, corresponderam a 91,67% do óleo volátil. Os compostos identificados foram álcoois: (E)-hex-2-en-1-ol (40,38%), hexanol (18,10%), linalol (2,93%) e fitol (5,80%); ésteres: (Z) - acetato de hex-3-en-1-ol (20,36%), cis - butanoato de hex-3-enila (1,38%) e cis - benzoato de

hex-3-enila (0,78%); aldeído: 4-etil-benzaldeído (1,03%); éster: salicilato de metila (6,52%); e cetonas: α -ionona (0,73%) e β -ionona (1,09%). Neste horário, foram identificados apenas três compostos majoritários, os mesmos foram: (E)-hex-2-en-1-ol, hexanol e (Z) - acetato de hex-3-en-1-ol. Sendo que suas porcentagens no óleo volátil corresponderam, respectivamente a 40,38%, 18,10% e 20,36%.

5.1.2.3 Obtenção dos compostos voláteis no horário das 16:00 horas

O Cromatograma para terceira coleta (16:00 h) apresentou, assim como na extração de 08:00 h, 12 picos correspondentes a 12 compostos. Constatou-se que os picos possuem diferentes áreas e tempos de retenção que variaram de 3,857 até 50,190 minutos. A área dos picos proporcionou uma porcentagem de cada composto presente no óleo volátil, que variou de 0,73 até 44,91%. Neste horário, constatou-se que não houve sobreposição parcial de picos com tempos de retenção correspondentes a 14,681 e 15,077 minutos (FIGURA 28).

Figura 28 - Cromatograma relativo ao óleo volátil das folhas de *B. spectabilis* extraído às 16:00 h



Fonte: Pesquisa Direta (2017).

Os 12 compostos identificados na terceira extração, também corresponderam a 100% do óleo volátil. Os mesmos foram álcoois: 7- hidroxí-hepteno (44,91%), hexanol (15,62%), linalol (2,00%), fitol (4,32%) e α -metil- α -[4-metil-3-pentenil]-

oxiranometanol (0,73%); ésteres: (Z)- formiato de hex-3-en-1-ol (18,14%), cis - butanoato de hex-3-enila (4,05%) e (Z)- hexanoato de hex-3-enila (0,88%), salicilato de Metila (6,28%); aldeído: 4-etil-benzaldeído (1,08%); ácido carboxílico: ácido (E)-hex-2-enóico (1,21%); e cetona: β -ionona (0,78%). Nesta última obtenção do estudo circadiano, foram identificados três compostos majoritários, sendo que dois deles são álcoois: 7-hidroxi-hepteno e hexanol; e um éster: (Z) - formiato de hex-3-en-1-ol. O percentual desses compostos corresponderam a 44,91%, 15,62% e 18,14%, respectivamente.

5.1.3 Comparação dos compostos voláteis obtidos

Com a realização do estudo circadiano, constatou-se variação na porcentagem e composição do óleo essencial das folhas de *B. spectabilis* ao longo do dia. Nos óleos essenciais obtidos nos horários de 08:00 h e 16:00 h todos os metabólitos secundários detectados, doze no total, foram identificados e corresponderam a 100% do óleo volátil. No óleo essencial obtido no horário de 12:00 h foram identificados apenas onze metabólitos secundários, que corresponderam a 91,67% do óleo volátil. Esta variação da composição dos óleos essenciais ao longo do dia é provavelmente decorrente de estímulos endógenos e exógenos, que redirecionam a rota metabólica, proporcionando a biossíntese de distintos compostos, o que não permite a previsão ou mesmo o estabelecimento de um único padrão de obtenção (MORAIS, 2009; SIMÕES & SPITZER, 2010).

A comparação dos metabolitos voláteis identificados nos três horários de coleta mostrou que sete compostos foram identificados em todos os horários, mas com diferentes porcentagens, como é caso de três álcoois: hexanol (16,06 - 18,10 - 15,62%), fitol (5,81 - 5,80 - 4,32%) e linalol (3,29 - 2,93 - 2,00%); uma cetona: β -ionona (1,11 - 1,09 - 0,78%); um aldeído: 4-etil-benzaldeído (0,97 - 1,03 - 1,08%); dois ésteres: cis - butanoato de hex-3-enila (1,31 - 1,38 - 4,05%) e salicilato de metila (12,46 - 6,52 - 6,28%), percentuais para os horários de 08:00 h, 12:00 h e 16:00 h, respectivamente.

Verificou-se que três compostos foram identificados simultaneamente apenas nos horários das 08:00 h e 12:00 h, mas com diferentes porcentagens, como é o caso de um álcool: (E)-hex-2-en-1-ol (40,21 - 40,38%); um éster: (Z) - acetato de hex-3-en-1-ol (16,55 - 20,36%) e uma cetona: α -ionona (0,51 - 0,73%). Apenas um

composto foi identificado nos horários de 08:00 h e 16:00 h, o 7-hidroxi-hepteno (1,22 – 44,91%). Não foram identificados compostos presentes somente nos horários de 12:00 h e 16:00 h.

Alguns metabólitos secundários voláteis foram identificados somente em um horário de coleta, como é o caso do α -terpineol, identificado somente no horário das 08:00 h, com 0,50% da porcentagem total de óleo volátil; cis - benzoato de hex-3-enila, obtido somente no horário das 12:00 h, com 0,78%. Os compostos (Z) - formiato de hex-3-en-1-ol, ácido (E)-hex-2-enóico, α -metil- α -[4-metil-3-pentenil]-oxiranometanol e (Z) - hexanoato de hex-3-enila, foram identificados somente no horário das 16:00 h, com percentagens no óleo volátil correspondentes a 18,14, 1,21, 0,73 e 0,88%, respectivamente.

No trabalho realizado por Vukovic *et al.* (2013), foram identificados trinta e nove compostos, que representaram 97,2% do óleo volátil de *Bougainvillea spectabilis*, sendo: dois compostos aromáticos (2,10%), quatro aldeídos (0,70%), uma cetona não terpênica (0,70%), dois ácidos (0,70%), onze ésteres (27,1%), sete compostos monoterpenos (25,9%), cinco norisoprenoides (23,5%), cinco sesquiterpenos (10,4%) e dois diterpenos (2,50%). Essa distinção de valores pode ser proveniente de diversas condições, tais como localização geográfica, época e horário de colheita, temperatura, material vegetal utilizado e condições de análise por CG-EM.

A comparação do presente estudo com o de Vukovic *et al.* (2013), mostrou que quatro metabolitos são idênticos nos dois estudos: linalol, salicilato de metila, α -ionona e fitol. O percentual destes compostos foram diferentes nos dois estudos (TABELA 6).

Tabela 6 - Porcentagem dos metabolitos voláteis identificados no presente estudo e por Vukovic *et al.* (2013)

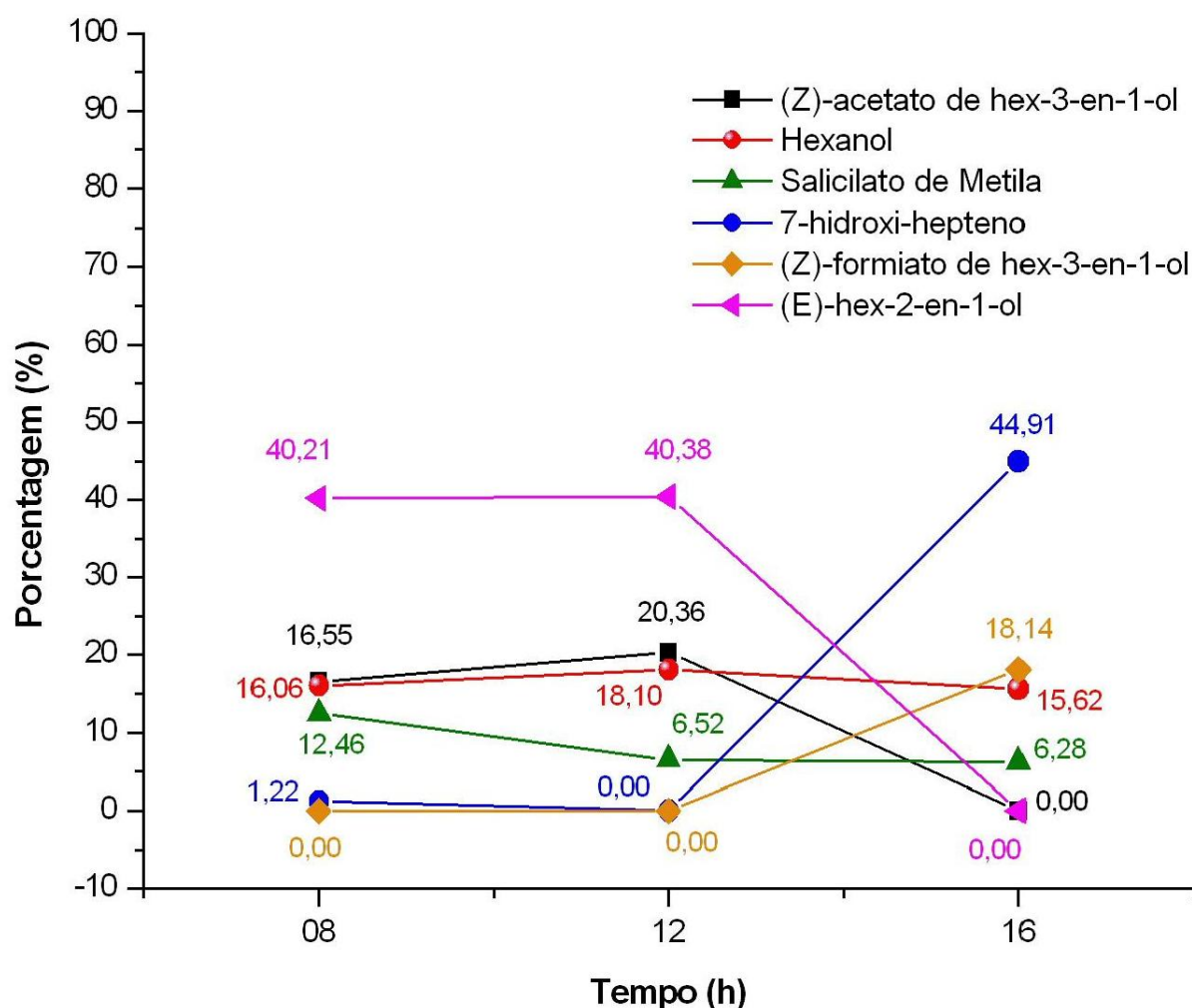
Metabolito	Presente estudo	Vukovic <i>et al.</i> (2013)
linalol	3,29% (8h); 2,93% (12h); 2,00% (16h)	3,8%
salicilato de metila	12,46% (8h); 6,52% (12h); 6,28% (16h)	21,8%
α -ionona	0,51% (8h); 0,73% (12h); - (16h)	9,8%
fitol	5,81% (8h); 5,80% (12); 4,32% (16h)	1,6%

Fonte: Pesquisa Direta (2017).

No presente estudo circadiano foram identificados seis compostos majoritários: (E)-hex-2-en-1-ol, (Z) - acetato de hex-3-en-1-ol, hexanol, salicilato de metila, (Z) - formiato de hex-3-en-1-ol e 7-hidroxi-hepteno. O critério utilizado para a escolha destes compostos foi o rápido acréscimo ou decréscimo que a percentagem de cada compostos sofreu ao longo do dia. Constatou-se que apenas o hexanol foi identificado como majoritário em todos os três horários de extração (08:00 h – 12:00 h - 16:00 h), mas com diferentes percentagens, que corresponderam, respectivamente a 16,06%, 18,10% e 15,62%.

Verificou-se que os compostos (E)-hex-2-en-1-ol e (Z) - acetato de hex-3-en-1-ol foram identificados como majoritários somente nos horários de 08:00 h e 12:00 h, com distintas percentagens. O composto salicilato de metila foi identificado como majoritário somente as 08:00 h. Por outro lado, os compostos (Z) - formiato de hex-3-en-1-ol e 7-hidroxi-hepteno foram majoritários somente as 16:00 h (GRÁFICO 2).

Gráfico 2 – Variação dos compostos majoritários ao longo do estudo circadiano



Fonte: Pesquisa Direta (2017).

No trabalho realizado por Vukovic *et al.* (2013), também foram identificados seis compostos majoritários, sendo eles: salicilato de metila (21,8%), terpinoleno (8,20%), α -copaeno (4,90%), Aromadendreno (4,70%), α -ionona (9,80%) e dihidroedulano II (5,60%), sendo apenas o salicilato de metila identificado como metabólito volátil majoritário nos dois estudos, embora com distintas percentagens.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A investigação por meio de um estudo circadiano dos metabólitos secundários voláteis das folhas de *Bougainvillea spectabilis*, coletada na cidade de Parnaíba-PI tornou possível constatar uma significativa variação na porcentagem de óleo essencial obtida ao longo do dia, sendo o maior rendimento alcançado às 16 horas.

Nas análises de 08:00 h e 16:00 h, foram detectados doze compostos, na análise de 12:00 h foram detectados onze compostos, porém a composição e porcentagem dos metabolitos não foram as mesmas nos três óleos essenciais. No total foram identificados dezessete metabolitos voláteis, sendo eles: álcoois (7-hidroxi - hepteno, (E)-hex-2-en-1-ol, hexanol, fitol, linalol, α -terpineol e α -metil- α -[4-metil-3-pentenil]-oxiranometanol); ésteres ((Z) - acetato de hex-3-en-1-ol, cis - butanoato de hex-3-enila, cis - benzoato de hex-3-enila, (Z) - formiato de hex-3-en-1-ol, (Z) - hexanoato de hex-3-enila e salicilato de metila); aldeído (4-etil-benzaldeído). Além de um ácido carboxílico (ácido (E)-hex-2-enóico) e duas cetonas (α -ionona e β -ionona).

Os metabólitos secundários 7-hidroxi-Hepteno, (E)-hex-2-en-1-ol, hexanol, (Z) - acetato de hex-3-en-1-ol, salicilato de metila e (Z) - formiato de hex-3-en-1-ol, foram encontrados em maior porcentagem, variando suas concentrações em cada óleo essencial.

Os resultados obtidos por meio do estudo circadiano das folhas de *Bougainvillea spectabilis*, mostram o potencial desta espécie na produção de óleos essenciais, podendo ser utilizada em futuros estudos, principalmente sobre a composição volátil de outras partes da planta e possíveis atividades biológicas, visto que inúmeros artigos a apresentam como uma espécie de grande potencial científico. De modo que este estudo pode contribuir para o enriquecimento da ciência e do conhecimento químico da flora do Estado do Piauí.

REFERÊNCIAS

- ABDEL-SALAM, O. M. E. *et al.*, Bougainvillea spectabilis flowers extract protects against the rotenone-induced toxicity. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, 2017.
- APG III – Angiosperm Phylogeny Group. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. **Botanical Journal of the Linnean Society**, 2009.
- BAKKALI, F. *et al.*, Biological effects of essential oils - a review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 2, p. 446-475, 2008.
- BALASARASWATHI, R. *et al.*, An Antiviral Protein from *Bougainvillea Spectabilis* Roots; Purification and Characterisation. **Phytochemistry**, Vol. 47, no. 8, p. 1561-1565, 1997.
- BANDONI, A. L. & CZEPAK, M. P. **Os recursos vegetais aromáticos no Brasil**. Vitória: Edufes, 2008.
- BARROSO, G. M. *et al.*, **Sistemática de Angiospermas do Brasil**. Viçosa, Imprensa Universitária de Viçosa, 1986.
- BITTRICH, V. & KUHN, U. Nyctaginaceae. **In the families and genera of flowering Plants**, 1993.
- BIZZO, H. R.; HOVELL, A. M. C. & REZENDE, C. M. Óleos essenciais no Brasil: Aspectos gerais, Desenvolvimento e Perspectivas. **Química Nova**. Vol. 32, No. 3, p. 588-594, 2009.
- CHAUHAN, P. *et al.*, Bougainvillea spectabilis Exhibits Antihyperglycemic and Antioxidant Activities in Experimental Diabetes. **Journal of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine**, 2015.
- COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L. & BONATO, P. S. **Introdução a métodos cromatográficos**. 7 ed. Campinas, SP: UNICAMP, 1997.
- DOUGLAS, C. R. **Fisiologia aplicada à Nutrição**. 2ª edição ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.
- DOUGLAS, N. A. & MANOS, P. S. Molecular phylogeny of Nyctaginaceae: taxonomy, biogeography, and characters associated with a radiation of xerophytic genera in North America. **American Journal of Botany**, 2007.
- FALKENBERG, M. B.; SANTOS, R. I. & SIMÕES, C. M. O. Introdução à análise Fitoquímica. In: SIMÕES, C. M. O. *et al.*, **Farmacognosia**. Porto Alegre: UFRGS, 2010.

FAWAD, S. A., *et al.*, In vitro comparative study of *Bougainvillea spectabilis* “stand” leaves and *Bougainvillea variegata* leaves in terms of phytochemicals and antimicrobial activity. **Chinese Journal of Natural Medicines**. p. 441–447, 2012.

FRANZ, C. M. Essential oil research: past, present and future. **Flavour Fragrance Journal**, v. 25, p. 112-113, 2010.

FURLAN, A. **A tribo Pisonieae Meisner (Nyctaginaceae) no Brasil**. São Paulo. USP. p. 328 (Tese de doutorado, Instituto de Biociências), 1996.

FURLAN, C. M. & MOTTA, L. B. **A Botânica no cotidiano**. Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, Departamento de Botânica, 2008.

GIL, A. C. **Como elaborar projetos de pesquisa**. 4. ed. São Paulo: Atlas, 2002.

GOBBO-NETTO, L. & LOPES, N. P. Medicinal plants: Factors of influence on the content of secondary metabolites. **Química Nova**, v. 30, p. 374-381, 2007.

HAAG, H. P. **A nutrição mineral e o ecossistema**. In: CASTRO, R. C. *et al.* **Ecofisiologia da produção agrícola**. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, p. 49-69, 1987.

HARBONE, J. B. & WILLIAMS, C. A. Anthocyanins and other flavonoids. **Nature Production Reproductive**, v. 12, n. 6, p.639-657, 1995.

JAWLA, S.; KUMAR, Y. & KHAN, M. S. Y. Hypoglycemic activity of *Bougainvillea spectabilis* stem bark in normal and alloxan-induced diabetic rats. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, 2012.

JAWLA, S.; KUMAR, Y. & KHAN, M. S. Y. Isolation of Antidiabetic Principle from *Bougainvillea spectabilis* Willd (Nyctaginaceae) Stem Bark. **Tropical Journal of Pharmaceutical**, p. 761-765, 2013.

KENT, D. K.; MACCONNELL, J. & GRIFFIS, J. **Bougainvillea**. Department of Tropical Plant and Soil Sciences, University of Guam, 2007.

KERBAUY, G. B. & FETT – NETO, A. G. **Fisiologia Vegetal**. - 2. ed. – Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

LACK, H. W. The discovery, naming and typification of *Bougainvillea spectabilis* (Nyctaginaceae). **Willdenowia**, 2012.

LEMMER, B. **Discoveries of rhythms in human biological functions: a historical review**. Chronobiol Int. 2009.

LEWINSOHN, T. M. & PRADO, P. I. **Biodiversidade Brasileira: Síntese do Estado Atual do Conhecimento**, 2000. <http://www.mma.gov.br/port/sbf/chm/doc/estarte.doc>. Acesso: 05 nov. 2016.

MACHADO, B. F. M.T & JÚNIOR, A. F. **Óleos essenciais: aspectos gerais e usos em terapias naturais**. Cad. acad., Tubarao, v. 3, n. 2, p. 105-127, 2011.

MANDAL, G.; CHATTERJEE, C. & CHATTERJEE, M. Evaluation of anti-inflammatory activity of methanolic extract of leaves of *Bougainvillea spectabilis* in experimental animal models. **Pharmacognosy Research**, Vol 7, 2014.

MARCHIORETTO, M. S.; LIPPERT, A. P. U. & SILVA, V. L. **A família Nyctaginaceae juss. no Rio Grande do Sul, Brasil**. Pesquisas, botânica nº 62:129-162 São Leopoldo: Instituto Anchieta de Pesquisas, 2011.

MATOS, F. J. A. **As plantas da farmácia viva**. Fortaleza: Ed. Universidade Federal do Ceará, 1997.

MESQUITA, M. L. *et al.* Cytotoxicity of β -tocotrienols from *Kielmeyera coriacea* against cancer cell lines. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 19, p. 623-630, 2011.

MORAIS, L. A. S. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. **Horticultura Brasileira** 27, 2009.

NODARI, R. O. & GUERRA, M. P. Biodiversidade, aspectos biológicos, geográficos, legais e éticos. In: SIMÕES, C. M. O. (Org). *et al.* **Farmacognosia**. Porto Alegre: UFRGS, 2010.

NOVAIS, A. B. *et al.*, **Reflorestamento no Brasil**. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Vitória da Conquista, BA, 1992.

PADUCH, R. *et al.*, **Terpenes: substances useful in human healthcare**. Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis, 2007.

POSER, G. L. V. & MENTZ, L. A. **Diversidade biológica e sistemas de classificação**. In: SIMÕES, C. M. O. *et al.* **Farmacognosia**. Porto Alegre: UFRGS, 2010.

RAVEN, P. H.; EVERT, R.F. & EICHHORN, S. E. **Biologia Vegetal**, 5^a. ed. Coord. Trad. J.E. Kraus. Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 1996.

RAVEN, P. H.; EVERT, R.F. & EICHHORN, S. E. **Biologia Vegetal**, 7^a. ed. Coord. Trad. J.E. Kraus. Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2007.

REITZ, P. R. & KLEIN, R. M. **Nictagináceas**. Flora Ilustrada Catarinense, Herbário Barbosa Rodrigues, Itajaí, 1970.

RODRIGUES, E. *et al.* Avaliação da atividade antifúngica de extratos de gengibre e eucalipto in vitro e em fibras de bananeira infectadas com *Helminthosporium* sp. **Acta Scientiarum**, v. 28, n. 1, p.123-127, 2006.

SÁ, C.F.C. **Nyctaginaceae**. In: **Catálogo de plantas e fungos do Brasil, volume 2**. Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2010.

SÁ, C. F.C. **Nyctaginaceae** in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2015.

Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB10907>>. Acesso em 26 de Maio de 2017.

SANTOS, R. I. Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários. In: SIMÕES, C. M. O. *et al.* **Farmacognosia**. Porto Alegre: UFRGS, 2010.

SILVA, A. R. **Tudo sobre aromaterapia**. São Paulo: Roca, 624 p. 1998.

SILVA, M. G. V. *et al.*, Essential oils of *Ocimum basilicum* L., *O. basilicum* var *minimum* and *O. basilicum* var *purpurascens* grown in Northeast of Brazil. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 18, p. 3-14, 2003.

SILVERSTEIN, R. M., WEBSTER, F. X. & KIEMLE, D. J. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**. Rio de Janeiro: LTC, 2012.

SIMÕES, C. M. O. *et al.* **Thin layer chromatography in phitochemistry**. Chromatographic Science Series. 2008.

SIMÕES, C. M. O. *et al.*, **Farmacognosia**. Porto Alegre: UFRGS, 2010.

SIMÕES, C. M. O. & SPITZER, V. **Óleos voláteis**. In: SIMÕES, C. M. O. *et al.* **Farmacognosia**. Porto Alegre: UFRGS, 2010.

SOUZA, J. R. P. *et al.*, **Desenvolvimento da espinheira-santa sob diferentes intensidades luminosas e níveis de poda**. Horticultura Brasileira, 2008.

STUMPF, M. **A primavera ou Buganvílea**. Disponível em: http://www.fazfacil.com.br/jardim/trepadeira_primavera.html. Acesso em: 06 mar. 2017.

TORRES, M. C. M. *et al.*, Terpenoids from *Croton regelianus*. **Helvetica Chimica Acta**, Weinheim, v. 93, p. 375-381, 2010.

VIEIRA, R. F. & AGOSTINI -COSTA, T. S. Caracterização química de metabólitos secundários em germoplasma vegetal. In: NASS, L. L.(Ed.). Recursos genéticos vegetais. Brasília: Embrapa recursos Genéticos e Biotecnologia, 2007.

VUKOVIC, N. *et al.* Chemical Composition of the Essential oil of *Bougainvillea spectabilis* from Montenegro, **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, 2013.

WATSON, L. & DALLWITZ, M. J. **The families of flowering plants: descriptions, illustrations, identification, and information retrieval**. 1992.

WOLFFENBUTTEL, A. N. **Óleos essenciais**. CRQ-V, ano XI, n.º105, p. 6-7, 2007.

YUNES, R. A. & CECHINEL - FILHO, V. Breve Análise Histórica da Química de Plantas Medicinais: sua importância na atual concepção de fármaco segundo os

paradigmas ocidental e oriental. In: YUNES, R. A.; CALIXTO, J. B. **Plantas Medicinais sob a ótica da Química Medicinal Moderna**. Chapecó: Argos, 2001.