



**UNIVERSIDADE DA INTEGRAÇÃO INTERNACIONAL DA LUSOFONIA  
AFRO-BRASILEIRA - UNILAB**

**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO**

**INSTITUTO DE ENGENHARIA E DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL  
MESTRADO ACADÊMICO EM SOCIOBIODIVERSIDADE E TECNOLOGIAS  
SUSTENTÁVEIS**

**MARIA MARCYARA SILVA SOUZA**

**CONTRIBUIÇÃO AO CONHECIMENTO FITOQUÍMICO DA PLANTA DO  
NORDESTE BRASILEIRO: Salsa-brava (*Ipomoea indica*)**

**REDENÇÃO – CE**

**2017**

MARIA MARCYARA SILVA SOUZA

CONTRIBUIÇÃO AO CONHECIMENTO FITOQUÍMICO DA PLANTA DO  
NORDESTE BRASILEIRO: Salsa-brava (*Ipomoea indica*)

Dissertação de mestrado apresentada para a qualificação do programa de Pós-Graduação em Sociobiodiversidade e Tecnologias Sustentáveis, do Instituto de Engenharia de Desenvolvimento Sustentável – IEDS, da Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira – UNILAB, como requisito obrigatório para obtenção do título de Mestre em Sociobiodiversidade e Tecnologias Sustentáveis. Área de concentração: Química Orgânica – Produtos Naturais

Orientador: Prof. Dr. Aluísio Marques da Fonseca

REDENÇÃO – CE

2017

Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira  
Sistema de Bibliotecas da UNILAB  
Catalogação de Publicação na Fonte.

---

Souza, Maria Marcyara Silva.

S173c

Contribuição ao conhecimento fitoquímico da planta do nordeste brasileiro: Salsa-brava *Ipomoea indica* / Maria Marcyara Silva Souza. - Redenção, 2018.

122f: il.

Dissertação - Curso de Sociobiodiversidade E Tecnologias Sustentáveis, Mest. Sociobiodiversidade E Tec. Sustent, Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira, Redenção, 2018.

Orientador: Prof. Dr. Aluísio Marques Fonseca.

1. Química vegetal. 2. Salsa-brava. 3. Triagemfitoquímica. 4. Flores. I. Título

CE/UF/BSCL

CDD 581.19

MARIA MARCYARA SILVA SOUZA

**Contribuição ao conhecimento fitoquímico da planta do Nordeste Brasileiro: Salsa-brava  
(*Ipomoea indica*)**

Dissertação apresentada ao Mestrado Acadêmico em Sociobiodiversidade e Tecnologias Sustentáveis (MASTS) da Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (Unilab), como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre. Área de concentração: Sociobiodiversidade e Tecnologias Sustentáveis.

Aprovada em: 11/10/2017

**BANCA EXAMINADORA**



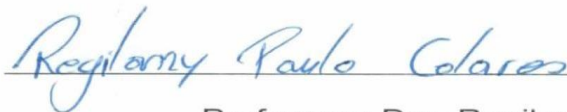
Prof.º Dr. Aluísio Marques da Fonseca

Presidente



Prof.ª Dra. Maria do Socorro Moura Rufino

Examinadora Interna ao Programa



Professora Dra. Regilany Paulo Colares

Examinadora Externa ao Programa



Adriana de Oliveira Sousa Leite

Examinadora Externa à Instituição

Primeiramente a Deus e a Nossa Senhora de Fátima.

A minha família que é meu alicerce, em especial meus pais, Lucilda Silva, Evandro Gomes e ao meu *avôhai* César Martins que muito colaboraram para minha formação.

## AGRADECIMENTOS

Esta monografia resultou de uma somatória de eventos e pessoas aos quais sou bastante grata.

A Deus e a Nossa Senhora de Fátima, pela fé que a mim foi concedida para trabalhar nessa monografia. Sendo minha fortaleza.

Aos meus pais e meu avô, que sempre acreditaram em mim e no meu potencial, proporcionando um grande incentivo aos meus estudos, sempre com muito amor, carinho e dedicação sempre me fortalecendo nas horas de dificuldade.

Ao meu namorado pela paciência, apoio e força em inúmeros momentos sempre auxiliou e me fez prosseguir através do seu companheirismo e otimismo sempre acreditando que iria dá certo.

A minha irmã Maynara que é uma pessoa fundamental em minha vida.

Ao meu primo Claudiano Sousa, “*Claudim*” que por muitos e muitos dias foi meu companheiro nas viagens até a universidade correndo os perigos da viagem e sempre de prontidão quando precisava.

A minha amiga/irmã Mayara Mendes pelo carinho, amizade e companheirismo nesses anos que passamos vivendo juntas “*às loucuras*” desse curso de mestrado. Além de compartilhar, no início, dessa jornada, o nosso ap (assim batizado) sendo ali nosso momento de refúgio, apoio e descontração de muitos dias foi quem me motivou a não desistir e continuar em meio as dificuldades que apareciam.

Aos meus colegas de curso, em especial, Wellington Martins, Quezia, Rosalva Girão, Jardenes e Sophia pelos momentos de descontração, amizade, seriedade e a certeza de que por anos construímos laços que serão eternos de amizades nos tornando uma família. Muitas várias vezes fomos uma para o outro uma fonte de apoio quando pensamos em desistir sempre tinha alguém para dizer: “*Estamos no mesmo barco*”.

Aos colegas de laboratório, Octávio, Margareta, Blascos, Filomeno e Tainah que não mediam esforços para realização dos métodos possíveis para as análises. Hoje, por inúmeros motivos se tornaram meus amigos para o resto da vida.

A todos os professores do curso que se dedicaram e repassaram o seu conhecimento me ajudando na minha formação acadêmica, em especial o professor Luís Tomás Domingos, que mesmo não sendo da minha área de formação, sempre com seu olhar observador e suas palavras sinceras e sábias de reflexão serviram de inspiração para minha vida profissional para ser um exemplar profissional e um ser pessoa melhor.

Ao Professor e Orientador Aluísio Marques que sempre me ajudou durante todo esse trabalho de pesquisa e sua atenção nesse momento derradeiro de minha formação.

Aos meus amigos, que são a família que Deus nos permite escolher, que direta ou indiretamente me ajudaram com apoio, amizade e incentivo especial a Tainá Marreiro, Darlane Costa Amanda Campos, Carlos Sérgio, Cristiane Mendes, Aloilson Tavares, Vitória Matias e Gildanio Marreiro por sempre acreditarem em mim e não me fazerem desistir.

*“O importante é quem você tem na vida.”*

*Muito obrigada!*

*O Senhor é a minha luz e a minha salvação;  
A quem temerei? O Senhor é a força da  
minha vida; de que me recearei?*

*(Salmo 27)*

*Nenhum obstáculo é grande quando  
confiamos em Deus.*

*(Autor Desconhecido)*



## RESUMO

As plantas produzem uma larga e diversa ordem de componentes orgânicos divididos em metabólitos primários e secundários onde deles se retiram substâncias orgânicas ativas utilizadas na medicina popular tradicional. Os compostos bioativos são componentes químicos que conferem às plantas, atividade terapêutica e são provenientes do metabolismo secundário das plantas e suas funções fisiológicas, estão divididos em vários grupos, de acordo com suas estruturas químicas, sendo usados, desde os tempos antigos, no intuito de melhorar as condições da existência humana. Entre as muitas funções desses metabólitos vale ressaltar a ação antioxidante, antibacterianos, antivirais ou inseticida, sinalização entre plantas e dissipadores de radicais livres gerados pela fotossíntese, conferi às plantas sabor, odor e coloração que apreciamos, além de proteção contra os raios UV. A região Nordeste abriga grande biodiversidade em seu ecossistema, sendo a Caatinga, por sua vez, a uma das maiores formações vegetacionais da região. Neste cenário considerado local específico para grande diversidade taxonômica de plantas a pesquisa teve como objetivo verificar por meio da prospecção fitoquímica preliminar os diferentes metabólitos secundários: alcaloides, terpenoides, triterpenoides/esteroides, taninos, subclasses de flavonoides, glicosídeos cardiotônicos e cumarinas encontrados nos extratos etanólicos da flor de salsa-brava (*Ipomoea indica*), sua atividade antioxidante, fotoprotetora e citotóxica. A planta da família *Convolvulaceae* e gênero *Ipomoea*, encontrada em todo o território brasileiro, mais facilmente, no Nordeste brasileiro e em diferentes condições de temperatura e pressão, de flores roxas, coletadas em Aratuba-CE. Após submissão dos testes fitoquímicos colorimétricos foi possível encontrar a presença de alcaloides, terpenos e de compostos fenólicos (antocianinas, flavonóis, catequinas, cumarinas). Além de relevante atividade antioxidante por meio do sequestro de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila) identificando uma cinética de primeira ordem e além de alta letalidade da amostra pelo método do bioensaio pela artemia salina. Quanto a atividade fotoprotetora *in vitro* não se verificou potencialidade visto que os índices foram abaixo dos descritos pela literatura. A relevância desta pesquisa se deve pelo conhecimento fitoquímico, ainda não descritos na literatura, à cerca desta espécie e contribuição para pesquisas futuras sobre a mesma.

**Palavras-chave:** Salsa-brava. Flores. Triagem Fitoquímica.

## ABSTRACT

The plants produce a wide and diverse array of organic components divided into primary and secondary metabolites where they extract active organic substances used in traditional folk medicine. Bioactive compounds are chemical components that confer on plants, therapeutic activity and are derived from the secondary metabolism of plants and their physiological functions, are divided into several groups, according to their chemical structures, and have been used since ancient times in order to improve the conditions of human existence. Among the many functions of these metabolites is worth mentioning the antioxidant action, antibacterial, antiviral or insecticide, signaling between plants and dissipators of free radicals generated by photosynthesis, conferred to plants taste, odor and coloration that we enjoy, as well as protection against UV rays. The Northeast region harbors great biodiversity in its ecosystem, and the Caatinga, in turn, is one of the largest vegetation formations in the region. In this scenario considered as a specific site for a great taxonomic diversity of plants, the objective of this research was to verify the different secondary metabolites: alkaloids, terpenoids, triterpenoids / steroids, tannins, subclasses of flavonoids, cardiotoxic glycosides and coumarins found in ethanolic extracts of the parsley flower (*Ipomoea indica*), its antioxidant, photoprotective and cytotoxic activity. The plant of the family Convolvulaceae and genus *Ipomoea*, found in the whole Brazilian territory, more easily, in the Brazilian Northeast and in different conditions of temperature and pressure, of purple flowers, collected in Aratuba-CE. After submission of the colorimetric phytochemical tests it was possible to find the presence of alkaloids, terpenes and phenolic compounds (anthocyanins, flavonols, catechins, coumarins). In addition to the relevant antioxidant activity by sequestration of DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), it is possible to identify a first-order kinetics and high lethality of the sample by the bioassay method. Regarding photoprotective activity in vitro, no potentiality was observed since the indices were below those described in the literature. The relevance of this research is due to phytochemical knowledge, not yet described in the literature, about this species and its contribution to future research on this species.

Keywords: Salsa-Brava. Flowers. Phytochemical screening.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Distribuição do potencial farmacológico das plantas .....	18
Figura 2 – Mapa de biomas do Brasil .....	19
Figura 3 – Flor de salsa brava/jetirana.....	19
Figura 4 – Interface entre o metabolismo primário e secundário nas planta .....	24
Figura 5 – Mapa conceitual sobre a biossíntese dos metabólitos vegetais .....	25
Figura 6 – Principais vias do metabolismo secundário e suas interligações.....	27
Figura 7 – Exemplos de estruturas de alcaloides .....	28
Figura 8 – Estrutura química C6-C3-C6 dos flavonoides.....	31
Figura 9 – Numeração e estrutura básica da molécula de flavonoide.....	33
Figura 10 – Estrutura das principais classes de flavonoides .....	34
Figura 11 – Biossíntese dos diversos flavonoides .....	35
Figura 12 – Estrutura das antocianinas com o cátion flavílico .....	37
Figura 13 – Estruturas moleculares de alguns terpenos.....	39
Figura 14 – Transição eletrônica das radiações UV e conversão em VIS e IV pelo fotoprotetores orgânicos .....	41
Figura 15 – Molécula do ácido p-aminobenzóico (PABA) .....	42
Figura 16 – Esquema em ordem decrescente da classificação taxonômica da espécie <i>Ipomoea indica</i> .....	44
Figura 17 – Flor aberta da espécie <i>Ipomoea indica</i> (Burm.) Merr. ....	45
Figura 18 – Divisão do Reino Plantae .....	46
Figura 19 – Bioma da Caatinga .....	49
Figura 20 – Distribuição geográfica mundial de <i>Convolvulaceae</i> .....	49
Figura 21 – Espécies encontradas no Nordeste brasileiro .....	50
Figura 22 – Flores de diferentes espécies do gênero <i>Ipomoea</i> encontradas na região no município .....	51
Figura 23 – Diferenças das espécies <i>I. purpúrea</i> , <i>I. indica</i> e a <i>I. nil</i> .....	52
Figura 24 – Distribuição geográfica brasileira da espécie .....	53
Figura 25 – Flor: estruturas e partes .....	54
Figura 26 – Flores de salsa-brava/jetirana encontradas em cercas de arame.....	55
Figura 27 – Estruturas das antocianinas de acordo com a sua coloração e meio em que se encontram .....	55
Figura 28 – Etapas metodológicas para a análise da flor de <i>I. indica</i> (salsa-brava) .....	57
Figura 29 – Mapa da cidade de Aratuba .....	58
Figura 30 – Armazenamento das flores encaminhadas para o Laboratório de Química Orgânica e Inorgânica (Unilab) .....	59
Figura 31 – Esquema simplificado da metodologia para obtenção dos extratos vegetais etanólico (EE) das flores de <i>I. indica</i> (salsa-brava) .....	60
Figura 32 – Esquema de Triagem Fitoquímica Preliminar .....	61
Figura 33 – Redução do radical livre DPPH por uma amostra antioxidante .....	68
Figura 34 – Mecanismo de reação entre o radical DPPH e um antioxidante através da transferência de um átomo de hidrogênio .....	69

Figura 35 – Recipiente contendo cistos de <i>ârtemia salina</i> (A) durante um período de 48h, submetidos a iluminação artificial e eclosão da larvas para eclosão (B) .....	73
Figura 36 – Bioensaio com náuplios de <i>ârtemia salina</i> em concentrações diferentes do extrato etanólico das flores de salsa-brava ( <i>I. indica</i> ) .....	74
Figura 37 – Reação em meio ácido dos taninos hidrolisáveis .....	77
Figura 38 – Formação de uma antocianidina .....	77
Figura 39 – Reação química para detecção de taninos e fenóis .....	78
Figura 40 – Reação química para detecção de flavonas, flavonóis e xantonas .....	80
Figura 41 – Reação química para detecção de cumarinas .....	83
Figura 42 – Estrutura molecular do isopreno .....	84
Figura 43 – Reação de Liebermann-Burchard .....	85
Figura 44 – Estrutura química de um terpeno (A – à esquerda) e um triterpeno (B – à direita).....	86
Figura 45 – Reação química para presença de triterpenoide .....	86
Figura 46 – Representação da solubilidade dos alcaloides .....	87
Figura 47 – Coloração da amostra com os reagentes gerais de alcaloides (RGA).....	87
Figura 48 – Estrutura química das saponinas .....	89
Figura 49 – Tubo de ensaio para teste de saponinas .....	90
Figura 50 – Estrutura química dos Glicosídeos cardiotônicos .....	91
Figura 51 – Reação para glicosídeos cardiotônicos .....	91
Figura 52 – Triagem fitoquímica preliminar (TFP) dos extratos etanólicos das flores de <i>I. indica</i> .....	92
Figura 53 – Mudança na coloração de uma mesma amostra de extrato etanólicos das flores de <i>I. indica</i> devido ao consumo de DPPH em função do tempo .....	93
Figura 54 – Percentual da atividade antioxidante em função da concentração do extrato etanólico de flores de <i>I. indica</i> para a redução de 50% do DPPH .....	95
Figura 55 – Coloração adquirida pelas amostras de extrato etanólico das flores de <i>I. indica</i> com variação de pH.....	96
Figura 56 – Escala colorimétrica para variação do pH a partir dos extratos etanólicos das flores de salsa-brava ( <i>I. indica</i> ).....	98
Figura 57 – Perfil de média absorção espectrofotométrica {[EE ( $\lambda$ ) * I( $\lambda$ )]*Abs} dos extratos secos de <i>I. indica</i> (290-320 nm).....	100
Figura 58 – Fator de proteção solar (FPS) <i>in vitro</i> dos extratos secos de <i>I. indica</i> .....	101
Figura 59 – Taxas de mortalidade de <i>ârtemia salina</i> Leach. em função das concentrações dos extratos em 24 horas (Gráfico 1) e 48 horas (Gráfico 2) .....	103

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Número de espécies conhecidas no Brasil .....	48
Tabela 2 – Efeito eritematogênico e intensidade da radiação.....	73
Tabela 3 – Resultados das análises fitoquímicas para reconhecimento dos metabólitos secundários distintos obtidos a partir da amostra de extrato etanólico das flores de <i>I. indica</i> . .....	76
Tabela 4 – Determinação da Atividade Antioxidante pelo consumo de DPPH pela amostra das flores de <i>I. indica</i> em diferentes concentrações.....	95
Tabela 5 – Leitura das absorvâncias em 380 nm da mistura das soluções-tampão padronizadas com o extrato etanólico das flores de <i>I. indica</i> .....	98
Tabela 6 – Número de óbitos de <i>A. salina</i> frente às frações testadas e suas respectivas concentrações do extrato etanólico das flores de salsa-brava ( <i>I. indica</i> ).....	10203

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Alterações observadas na coloração do meio avaliadas no teste para antocianidinas, antocianinas e flavonoides.....	82
Quadro 2 – Alterações observadas na coloração do meio avaliadas no teste para leucoantocianidinas, catequinas e flavonas .....	83

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

APA	- Área de Proteção Ambiental
HCl	- Ácido clorídrico
NaCl	- Cloreto de sódio
DPPH	- 2,2-difenil-1-picrilhidrazila
FPS	- Fator de Proteção Solar
NaOH	- Hidróxido de sódio
I <sub>2</sub>	- Iodo
L	- Litro
Mg	- Magnésio
mL	- Mililitro
pH	- Potencial de Hidrogênio
TFP	- Triagem Fitoquímica Preliminar
UV	- Ultra violeta

## SUMÁRIO

LISTA DE ILUSTRAÇÕES.....	
LISTA DE TABELAS.....	
LISTA DE QUADROS.....	
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS .....	
RESUMO.....	
ABSTRACT .....	
INTRODUÇÃO .....	16
OBJETIVOS .....	232
2.1 OBJETIVO GERAL .....	232
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	232
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	
3 BIOSÍNTESE DE METABÓLITOS VEGETAIS EM PLANTAS .....	23
3.1 METABÓLITOS PRIMÁRIOS.....	23
3.2 METABÓLITOS SECUNDÁRIOS .....	24
3.2.1 Os Alcaloides.....	27
3.2.2 Os Compostos Fenólicos .....	29
3.2.2.1 Compostos fenólicos: Ação Antioxidante .....	31
3.2.2.2 Compostos fenólicos: Flavonoides.....	32
3.2.2.3 Compostos fenólicos: Antocianinas .....	36
3.2.3 Os Terpenos.....	38
4 FATOR DE PROTEÇÃO SOLAR <i>in vitro</i> .....	40
5 BIOENSAIO DE TOXICIDADE PELA <i>Artêmia salina</i> .....	43
6 CONSIDERAÇÕES TAXONÔMICA DA ESPÉCIE SALSA-BRAVA .....	
6.1 CLASSIFICAÇÃO TAXONÔMICA .....	45
6.1.1 Reino Plantae.....	47
6.1.2 Ordem Solanales.....	48
6.1.3 Família Convolvulaceae .....	49
6.1.4 Gênero <i>Ipomoea</i> .....	522
6.1.5 Espécie <i>Ipomoea indica</i> .....	533
6.1.5.1 Estudo da flor de <i>Ipomoea indica</i> .....	54
7 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS.....	
7.1 Coleta e Identificação do Material Botânico.....	58
7.2 Preparação do extrato etanólico das flores de <i>I. indica</i> .....	60
7.3 Prospecção dos constituintes da planta – Triagem Fitoquímica Preliminar (TFP) .....	62
6.8.1 Teste para Fenóis e Taninos .....	63
6.8.2 Teste para flavonoides (flavonóis, flavonas e xantonas) .....	64
6.8.3 Teste para flavonoides (antocianidinas, antocianinas e flavonóis).....	64
6.8.4 Teste para flavonoides (leucoantocianidinas, catequinas e flavonas).....	64
6.8.5 Teste para Cumarinas .....	64
6.8.6 Teste para terpenoides .....	65
6.8.7 Teste para Triterpenoides .....	65
6.8.8 Teste para alcaloides.....	65
6.8.9 Teste para saponinas.....	66
6.8.10 Glicosídeos cardiotônicos.....	66
6.9 Atividade antioxidante pelo sequestro de radicais DPPH.....	67
6.10 Escala de pH (antocianinas) .....	70
6.11 Avaliação da Atividade Fotoprotetora (AAF) <i>in vitro</i> .....	71



6.12	Avaliação da Toxicidade por meio bioensaio com <i>ârtemia salina</i> dos extratos etanólicos das flores de salsa-brava ( <i>I. indica</i> ) .....	73
<b>7</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>7676</b>
7.1	Resultado para o teste de Fenóis e Taninos.....	77
7.2	Resultado para o teste de flavonoides (flavonóis, flavonas e xantonas) .....	79
7.3	Resultado para o teste de flavonoides (antocianidinas, antocianinas e flavonóis) .....	80
7.4	Resultado para o teste de flavonoides (leucoantocianidinas, catequinas e flavonas).....	82
7.5	Resultado para o teste de Cumarinas.....	83
7.6	Resultado para o teste de terpenos/terpenoides.....	84
7.7	Resultado para o teste de triterpenoides.....	85
7.8	Resultado para o teste de alcaloides.....	86
7.9	Resultado para o teste de saponinas.....	89
7.10	Resultado para o teste de Glicosídeos cardiotônicos .....	90
7.11	Resultado da avaliação da atividade antioxidante pelo sequestro de radicais DPPH.....	9393
7.12	Resultado da variação do pH a partir dos extratos etanólicos das flores de salsa-brava ( <i>I. indica</i> ).....	96
7.13	Resultado da avaliação da atividade fotoprotetora <i>in vitro</i> dos extratos etanólicos das flores de salsa-brava ( <i>I. indica</i> ) .....	99
7.14	Resultado da avaliação do bioensaio de toxicidade com <i>ârtemia salina</i> dos extratos etanólicos das flores de salsa-brava ( <i>I. indica</i> ) .....	10101
	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	<b>104</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>10505</b>

## INTRODUÇÃO

O Reino Vegetal, conhecido cientificamente como *Plantae*, é formado por aproximadamente 300.000 espécies conhecidas, sendo que, entre elas, encontram-se muitos tipos de ervas, arbustos, árvores, plantas microscópicas etc. (CÉSAR & CEZAR, 2002). Em geral, são seres autotróficos<sup>1</sup> cujas células incluem uma ou mais organelas especializadas na produção de material orgânico a partir de material inorgânico e da energia solar, os cloroplastos.

Por isso, o reino *Plantae* é o que mais contribui para a descoberta de fármacos, visto que dele se retiram muitas substâncias orgânicas ativas utilizadas na farmacoterapia, e, isso vem acontecendo, desde os tempos antigos, com o objetivo de melhorar as condições da existência humana.

A fitoterapia permite que o ser humano se reconecte com o ambiente, acessando o poder da natureza, para ajudar o organismo a normalizar funções fisiológicas prejudicadas restaurar a imunidade enfraquecida, promover a desintoxicação e o rejuvenescimento.

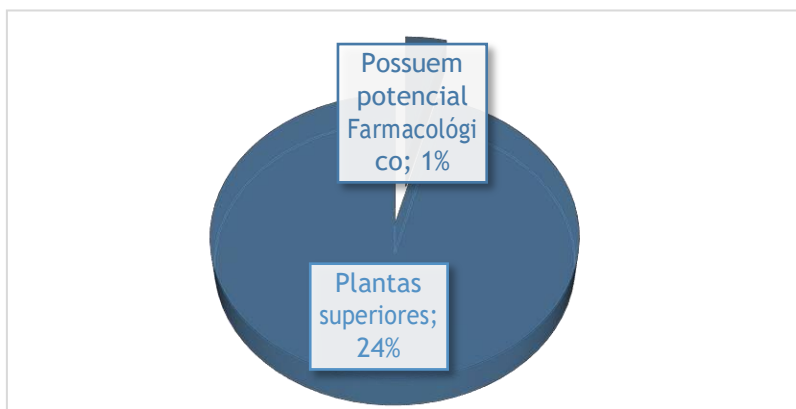
De acordo com a Organização Mundial de Saúde 80% da população mundial faz uso de algum tipo de erva medicinal. Dos medicamentos, atualmente, produzidos, cerca de 25% têm componentes químicos oriundos de plantas. O alto custo dos medicamentos fabricados pela indústria farmacêutica, é um dos motivos que vem aumentando o interesse das pessoas por esse tipo de terapia (BRASIL, 2014). A OMS estima que mais de 3 bilhões de pessoas em todo o mundo confiam nas "medicinas tradicionais", onde as ervas têm grande emprego.

O Brasil é um dos 14 países com ampla biodiversidade contendo em torno de 15 a 20% de todos os organismos descritos na Terra, com destaque para as plantas superiores, nas quais detém aproximadamente 24% da biodiversidade (Figura 1). É estimado que das 250 a 500.000 espécies de plantas superiores existentes no planeta, apenas 1% tem sido estudadas pelo seu potencial farmacológico (MELENDÉZ & CAPRILES, 2006).

---

<sup>1</sup> Os seres autotróficos (do grego *autós*, “de si mesmo”, e *trophos*, “alimentador”) são capazes de sintetizar seu próprio alimento a partir de material inorgânico. Os processos utilizados por esses seres vivos para realizar essa transformação são a fotossíntese e a quimiossíntese.

**Figura 1** – Distribuição do potencial farmacológico das plantas



FONTE: IBGE\*, 2004.

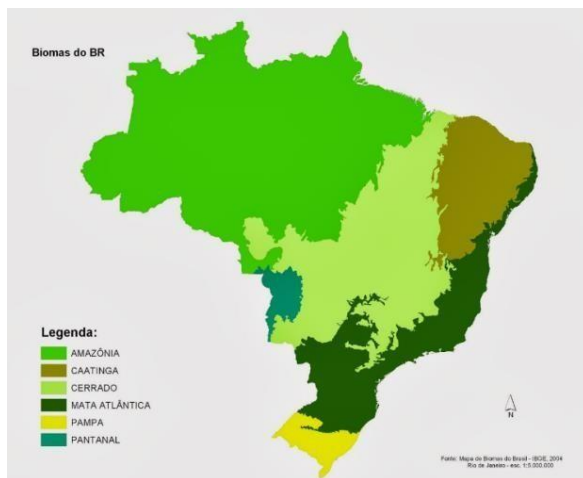
\*Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

Em relação aos biomas, hoje, no Brasil, são encontrados seis tipos de biomas<sup>2</sup> continentais, são eles: Amazônia, Cerrado, Mata Atlântica, Caatinga, Pampa e Pantanal. Sendo que, dentre esses biomas, muito peculiar, que não existe nos países vizinhos, este, é a caatinga, o principal bioma do sertão nordestino.

A região Nordeste do Brasil abriga grande biodiversidade em seu ecossistema, com predominância do bioma Caatinga (BRASIL, 2007). A Caatinga, por sua vez, representa a quarta maior formação vegetacional do país (CASTELLETTI *et al.*, 2004), cobrindo cerca de 60% do território nordestino (Figura 2), se estendendo até uma pequena parte do estado de Minas Gerais (SAMPAIO *et al.*, 2002). Sendo considerado um habitat específico para plantas medicinais e aromáticas não encontradas em outras regiões do globo.

<sup>2</sup> É o conjunto dos seres vivos de uma área. É entendido também como o conjunto de ecossistemas terrestres.

**Figura 2** – Mapa de biomas do Brasil



Fonte: IBGE\*, 2004.

\*Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

A formação vegetal Caatinga exibe heterogeneidade temporal, algumas espécies perenes, mas também apresenta outras caducas, ou seja, perdem as folhas durante determinada estação do ano. Isso devido à sazonalidade climática se ajusta as condições ambientais através da caducifolia<sup>3</sup> durante cinco a nove meses (SAMPAIO, 1992; ARAÚJO & FERRAZ, 2003; ARAÚJO, 2005). Apresenta heterogeneidade também em relação aos tipos de fertilidade do solo, em relação à topografia, à capacidade de retenção de água e ao acúmulo de água no solo (ARAÚJO, 2008). Sendo estas heterogeneidades representadas em seus tipos fisionômicos caatinga arbórea, caatinga arbustiva, caatinga arbustivo-arbórea e caatinga parque (MENDES, 2003).

Em relação ao conhecimento dos vegetais medicinais em áreas de Caatinga, algumas publicações elucidam a rica flora dessa região com suas variadas utilizações medicamentosa (MATOS, 1989; MATOS, 2000; ALMEIDA *et al.*, 2005a; AGRA *et al.*, 2007b; ALBUQUERQUE *et al.*, 2007a,b; AGRA *et al.*, 2008). Essas plantas também são utilizadas de uma maneira diferenciada e característica, na cultura local, seja em cosmética, culinária, medicina popular ou outros usos.

A quantidade de estudos com plantas medicinais nessa fitofisionomia tem aumentado progressivamente (ALBUQUERQUE & OLIVEIRA, 2007) e pesquisadores (ALMEIDA *et al.*, 2005a,b; SILVA *et al.*, 2005; AGRA *et al.*, 2007a,b;

<sup>3</sup> Fenômeno em que plantas numa certa estação do ano, perdem suas folhas, chamadas também de plantas caduca ou decídua.

ALBUQUERQUE *et al.*, 2007a; AGRA *et al.*, 2008) já mencionam espécies com grande potencial fitoquímico e farmacológico para diversos fins medicinais (ALBUQUERQUE *et al.*, 2007; ALBUQUERQUE & OLIVEIRA, 2007; LUCENA *et al.*, 2008).

O Ceará concentra, dentro de sua área territorial total, 55% de toda caatinga do Brasil (IBGE, 2015). Além, de possuir inúmeras espécies nativas endêmicas ou não de fauna e flora. Por sua vez, Aratuba, uma das cidades do Maciço de Baturité, microrregião do Sertão Central cearense, apresenta clima muito particular, conhecido por abrigar um dos poucos vestígios de Mata Atlântica ainda existente no interior do Nordeste brasileiro. Talvez, devido ao isolamento físico provocado pelas características geográficas da região, a Área de Proteção Ambiental – APA, da Serra de Baturité contém algumas espécies que só se encontram nesta região, representando um verdadeiro banco genético de biodiversidade (SEMACE, 2015).

A respeito da flora encontrada na região é ciente que pesquisas entorno das espécies são escassas e/ou quase inexistentes. O arsenal florístico é muito rico embora pouco estudado e investigado no meio acadêmico. Dentre os gêneros presentes na região destacam-se as flores de jetirana ou salsa brava (Figura 3) que por sua cor exalam beleza nos muros e cercas de casas além de florir beiras de estradas sendo frequentemente observadas na paisagem local.

Existem flores de todas as formas e nas mais diferentes cores. O fato de serem coloridas desempenha um papel fundamental para a planta sendo características de metabólitos secundários importantes, como, por exemplo, as antocianinas (antocianidinas).

**Figura 3** – Flor de salsa brava/jetirana



FONTE: AUTORA, 2016.

Assim, diante do potencial botânico da Caatinga, encontrada em território cearense, nesta macrorregião do Ceará e, no intuito de contribuir para o conhecimento fitoquímico de espécies encontradas neste bioma a presente pesquisa buscou investigar se a flor, conhecida popularmente como salsa brava (retornar a fig. 3), possui, além de uso decorativo de muros, cercas e paredes de jardins e casas, alguma propriedade fitoterápica?

A relevância desta pesquisa se dá pelo fato de que muitas espécies são destruídas antes que se conheça o mínimo sobre elas, muitas desaparecem sem ao menos serem conhecidas, levando consigo um incomensurável potencial de utilização para o bem da vida humana, e/ou para o equilíbrio ecológico.

Sabe-se que as plantas realizam metabolismo. Metabolismo é definido como a soma das reações anabólicas e catabólicas das estruturas celulares, ou seja, o total de modificações das moléculas orgânicas nas células vivas, sendo tais modificações catalisadas por enzimas (COX, 1994). O metabolismo vegetal é convencionalmente dividido em primário e secundário.

Diferente do metabolismo primário, que é responsável pela formação das proteínas, lipídios, ácidos nucleicos e carboidratos, os produtos resultantes do metabolismo secundário variam em quantidade e localização nas plantas, porém desempenham papel fundamental na interação dos vegetais com o meio ambiente contribuindo definitivamente para a adaptação das espécies e sua sobrevivência.

O metabolismo secundário está restrito a processos químicos únicos para uma dada espécie ou família, portanto, não é universal. Algumas partes desta química são comuns para um número ou família diferente de plantas, mas, atualmente, a química dos produtos naturais usualmente é diferente de uma planta para outra. Assim, precursores químicos comuns podem conduzir a resultados diferentes. Desta maneira, este metabolismo corresponde, portanto, a química que conduz à formação de um produto natural a partir dos metabólitos secundários.

As três principais classes de metabólitos secundários são: alcaloides, compostos fenólicos e terpenos. Tais classes são utilizadas pelas plantas para várias funções, dentre

elas: alelopatia<sup>4</sup>, defesa química contra a herbivoria<sup>5</sup> e ataque de patógenos, atração de organismos benéficos (polinizadores, dispersores de sementes e microrganismos simbiotes), proteção contra mudanças de temperatura, nos níveis hídricos, na intensidade luminosa e na deficiência de nutrientes minerais, oferecendo, portanto, auxílio em relação a estresses abióticos e bióticos, além de ser usado como critério taxonômico.

As pesquisas com plantas medicinais envolvem investigações da medicina tradicional e popular (etnobotânica); isolamento, purificação e caracterização de princípios ativos (química orgânica: fitoquímica); investigação farmacológica de extratos e dos constituintes químicos isolados (farmacologia); transformações químicas de princípios ativos (química orgânica sintética); estudo de relação estrutura/atividade e dos mecanismos de ação de princípios ativos (química medicinal e farmacológica) e finalmente a elaboração de formulações e produção de fitoterápicos. A integração destas áreas na pesquisa de plantas medicinais conduz a um caminho promissor e eficaz para descobertas de novos medicamentos (MACIEL *et al.* 2002; FERNANDES, 2010).

Por isso, o presente trabalho foi realizado em um período de dezoito meses tendo como objetivo principal caracterizar e avaliar os potenciais fitoquímicos e as atividades: antioxidante, toxicidade e fotoprotetora da flor da espécie *Ipomoea indica* (salsa brava) através do extrato etanólico. Assim, como também, identificar os metabólitos secundários, pertencentes a classes distintas, nas diversas subclasses, em especial, os alcaloides, os flavonoides, esteroides/triterpenoides, terpenoides/terpenos, taninos, cumarina, saponinas, antocianinas e seus glicosídeos cardiotônicos.

---

<sup>4</sup> Definida como o efeito inibitório ou benéfico, direto ou indireto, de uma planta sobre outra, via produção de compostos químicos que são liberados no ambiente.

<sup>5</sup> É o nome dado à predação, quando o predador é um animal e a presa é um produtor primário (planta ou alga).

## **OBJETIVOS**

### **2.1 OBJETIVO GERAL**

Caracterizar e avaliar os potenciais fitoquímicos e as atividades: antioxidante, antibactericida e larvicidas, além, da fotoprotetora, da flor da espécie *Ipomoea indica* (salsa brava) através do extrato etanólico.

### **2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- ✓ Identificar os metabólitos secundários, pertencentes a classes distintas de alcaloides, compostos fenólicos e terpenos, nas diversas subclasses, em especial, os flavonoides, antocianinas, antocianidinas, xantonas, cumarinas, esteroides/triterpenoides e seus glicosídeos cardiotônicos através da triagem preliminar fotoquímica;
- ✓ Avaliar a atividade antioxidante da espécie *I. indica* pelo método de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila);
- ✓ Verificar a presença de antocianidinas e assim possibilitar a determinação de uma escala colorimétrica de pH baseando-se nas alterações das amostras;
- ✓ Avaliar a atividade fotoprotetora *in vitro* e calcular o fator de proteção solar dos extratos obtidos pelas flores da espécie *I. indica*;
- ✓ Avaliar a toxicidade dos extratos etanólicos das flores de *I. indica* por meio da ação dos extratos de *ártemia salina*.



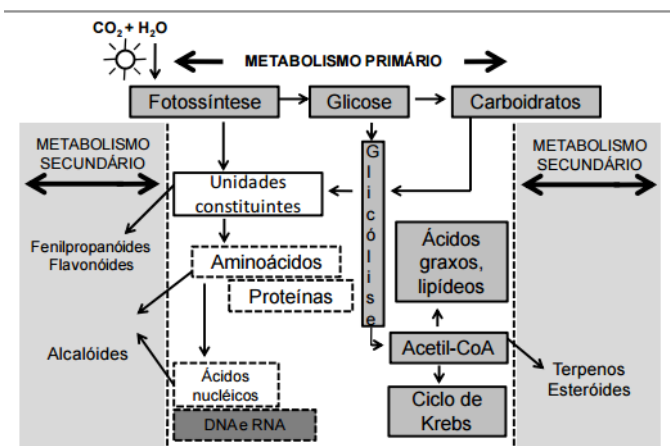
## REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 3 BIOSÍNTESE DE METABÓLITOS VEGETAIS EM PLANTAS

#### 3.1 METABÓLITOS PRIMÁRIOS

O metabolismo das plantas é o conjunto de reações químicas que ocorrem no interior das células. Esses processos podem ser classificados em metabolismo primário e secundário (Figura 4). O primeiro refere-se aos processos fotossintéticos que dão lugar aos ácidos carboxílicos do ciclo de Krebs, que são de baixo peso molecular e que estão amplamente distribuídos,  $\alpha$ -aminoácidos, carboidratos, graxas, proteínas e ácidos nucleicos implicados nos processos vitais.

**Figura 4** – Interface entre o metabolismo primário e secundário nas plantas



Fonte: BORGES *et. al.*, 2006.

O metabolismo primário pode ser compreendido pelo conjunto de processos metabólicos que desempenham uma função essencial no vegetal, tais como a fotossíntese, a respiração e o transporte de solutos.

As substâncias envolvidas possuem uma distribuição universal nas plantas. O metabolismo primário compromete os processos químicos que cada planta deve levar a cabo diariamente para sobreviver e reproduzir sua atuação, tal como a fotossíntese, glicólise, ciclo do ácido cítrico, síntese de aminoácidos, transaminação, síntese de proteínas, enzimas e coenzimas, síntese de materiais estruturais, duplicação do material genético, reprodução de células (crescimento), absorção de nutrientes, etc..

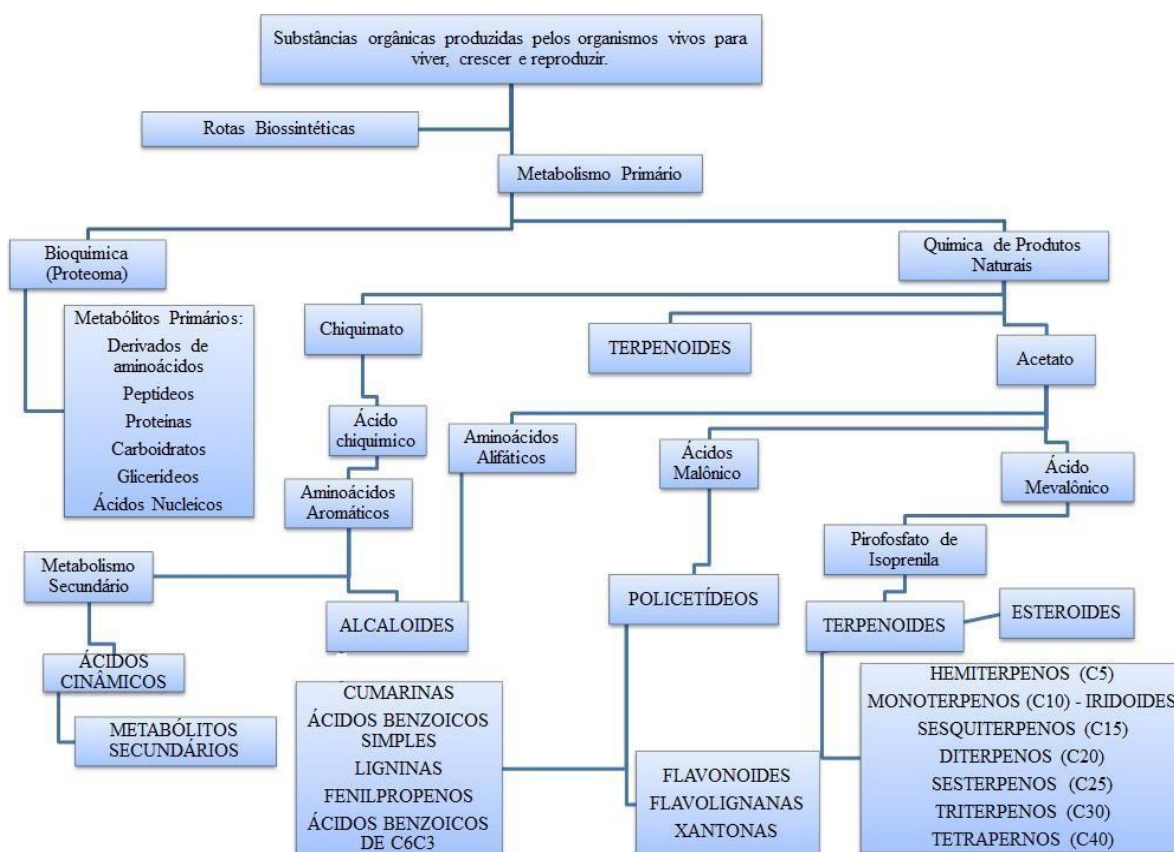
No metabolismo primário vegetal se forma elementos chamados de metabólitos primários, indispensáveis à vida celular, como por exemplo, carboidratos, proteínas, lipídeos, aminoácidos e ácidos nucleicos, cuja formação se dá diretamente das vias fotossintéticas e respiratórias (FÁVERO & PAVAN, 1997).

### 3.2 METABÓLITOS SECUNDÁRIOS

A herbivoria é consumo (predação) de plantas feitas por outros seres. Essa predação evoluiu ao longo dos anos e faz parte da vida desde os tempos primitivos. Os metabólitos secundários são compostos elaborados pelas plantas com a principal função de anti-herbivorismo.

O metabolismo secundário vegetal, por meio de diversas rotas metabólicas (Figura 5) e de substâncias formadas no metabolismo primário, forma uma variedade de compostos orgânicos, os quais recebem o nome de metabólitos secundários.

**Figura 5** – Mapa conceitual sobre a biossíntese dos metabólitos vegetais



FONTE: AUTORA, 2017.

Esses metabólitos ainda não possuem suas funções fisiológicas completamente elucidadas, no entanto sua produção é associada à defesa da planta contra herbivoria, ataque de patógenos, radiação solar (MONTANARI *Jr.*, 2002), ou ainda atuando na competição entre plantas e atração de organismos benéficos como polinizadores, dispersores de sementes e microorganismos simbioses (PERES, 2015) e também em alelopatias (SANTOS, 2002).

Dessa maneira, substâncias das mais diferentes funções são produzidas ao longo da evolução, como por exemplo, substâncias tóxicas a diferentes animais (insetos, pássaros, mamíferos) sendo, à medida que estes se adaptavam àqueles. Além de substâncias como flavonoides que constituem uma classe de compostos que contribuem para atração de polinizadores, por serem responsáveis pela coloração das flores, como por exemplo, a sustentação estrutural (lignina) ou a pigmentação (antocianinas).

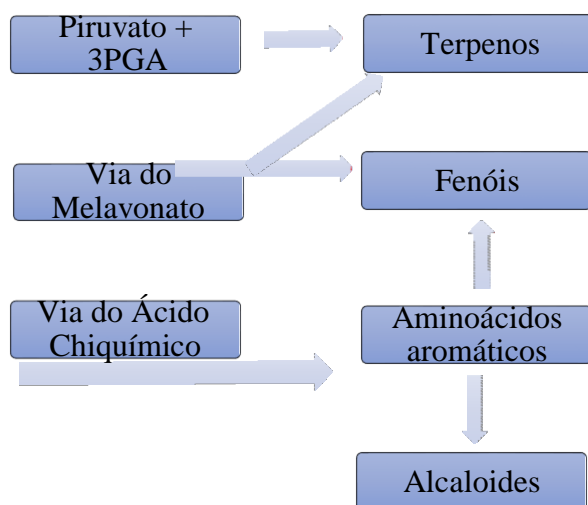
Nas plantas, o metabolismo secundário, está relacionado a diversas funções, como defesa contra patógenos, atrativos polinizadores, dispersores de sementes e microorganismos simbioses, alelopatia, função estrutural, dentre outros (DELBONE, 2010).

As substâncias, produtos desse metabolismo secundário das plantas, são conhecidas principalmente como “princípios ativos”. Esses metabólitos, além de muito diversificados, possuem interessantes propriedades biológicas. Muitas comercialmente importantes para os setores alimentício, agrônômico, de perfumaria e principalmente farmacêutico, o qual visa principalmente o grande número de substâncias farmacologicamente ativas (SANTOS, 2002). A surpreendente variedade de metabólitos secundários vegetais aumenta o interesse de pesquisadores de vários campos da ciência que visam neles uma promissora fonte de moléculas potencialmente úteis ao homem.

Nesse sentido para aprimorar a pesquisa envolvendo estas substâncias, visto que, mesmo tendo alto potencial, um composto isolado nem sempre resulta em um medicamento, o que torna a bioprospecção de metabólitos secundários um mercado de risco. A indústria farmacêutica tem direcionado o desenvolvimento de novos fármacos de forma racional através de bioensaios para moléculas-alvo específicas, amparados também pelo conhecimento de alguns mecanismos de ação farmacológica de produtos vegetais (BARREIRO & BOLZANI, 2009).

Assim, três grandes grupos de metabólitos secundários se destacam: os alcaloides ou compostos nitrogenados, terpenos ou terpenoides e os fenilpropanoides compostos fenólicos (fenóis ou polifenóis) sendo constituintes importantes para os processos fitoquímicos das plantas. As vias de formação desses metabólitos secundários (Figura 6) podem ser vistas de modo simplificado no esquema a seguir.

**Figura 6** – Principais vias do metabolismo secundário e suas interligações



FONTE: AUTORA, 2017.

Sendo, os alcaloides derivados de aminoácidos aromáticos (triptofano, tirosina), os quais são derivados do ácido chiquímico, e também de aminoácidos alifáticos (ornitina, lisina). Os compostos fenólicos são derivados do ácido chiquímico ou ácido mevalônico. Já os terpenos ou terpenoides são feitos a partir do ácido mevalônico (no citoplasma) ou do piruvato e 3-fosfoglicerato (no cloroplasto) (PERES, 2015).

Em torno de 55000 terpenóides já foram isolados, podendo estes apresentar funções tanto no metabolismo primário como secundário. Aqueles produzidos pelo metabolismo secundário são derivados da molécula precursora de cinco carbonos, o pirofosfato de isopentila (PIP). Os cerca de 12000 alcaloides conhecidos apresentam uma ou mais moléculas de nitrogênio, sendo sintetizados principalmente a partir de aminoácidos. Os compostos fenólicos conhecidos, em torno de 8000, podem ser sintetizados pela via do ácido chiquímico, ou via do acetato/malonato (CROTEAU *et al.*, 2000).

A caracterização, síntese e função nas plantas, utilização e ação desses metabólitos no ser humano serão descritas nos subtópicos a seguir.

### 3.2.1 Os Alcaloides

O nome “*alcaloides*” significa “semelhantes aos álcalis” (de álcali, básico, com o sufixo -oide, “-semelhante a”). O termo *álcali* significa “base” e esse nome foi dado para esses compostos porque as aminas têm esse caráter básico ou alcalino (FOGAÇA, 2017). São substâncias de caráter básico derivado principalmente de plantas, mas podendo ser também derivadas de fungos, bactérias e até mesmo de animais.

O termo alcaloide foi proposto por W. Meissner no século XIX, aplicando-se a compostos básicos de origem natural que apresentam nitrogênio na sua estrutura. Os alcaloides formam um grupo heterogêneo de compostos naturais que, normalmente, apresentam uma estrutura complexa. São constituídos por carbono, hidrogênio e nitrogênio, o qual, na maioria dos casos, forma parte de um anel heterocíclico, sendo a maioria deles oxigenados (FCT, 2015). Muitos autores só consideram como verdadeiros alcaloides os compostos nitrogenados em anéis heterocíclicos e como proto-alcaloides os que o possuem numa cadeia lateral acíclica.

Sabe-se que a definição mais aceita para alcaloides é a descrita por Pelletier *et. al.* (1983) que diz que um alcaloide é uma substância orgânica cíclica contendo um nitrogênio (N) tem um estado de oxidação negativo e cuja distribuição é limitada entre os organismos vivos.

O uso de alcaloides data a aproximadamente 4.000 anos a.C. sendo relatados desde a antiguidade utilizada em venenos e poções. Substâncias de natureza alcalina, isto é, bases fortes, altamente tóxicas, como a morfina e a codeína foram descobertas a partir do ópio, por exemplo, bem conhecido e sua prática corrente a séculos na China. Após inúmeros estudos no século XIX e descobertas de seus usos por, Storck (farmacêutico austríaco) que introduziu drogas na medicina prática; Derosne (1803), farmacêutico francês, narcotina (narceína); Sertürner (1805) síntese da morfina; Pelletier e Caventou (1817-26), uso e síntese da coniína, brucina, emetina, quinina fizeram com que esses fossem cada vez mais usados e atualmente milhares alcaloides isolados. Segundo Kutchan (1995), desde a descoberta da morfina (isolada de *Papaver somniferum*, papoula) foram

descritos mais de 20000 compostos isolados, sintetizados e acumulados por cerca de 20 % das espécies de plantas.

Os alcaloides dividem-se em várias classes (Figura 7), nomeadamente: alcaloides com grupo amina em cadeia lateral; alcaloides com núcleo pirrolidina, piridina e piperidina; alcaloides com núcleo tropano; alcaloides com núcleo pirrolizidina; alcaloides com núcleo quinolizidina; alcaloides com núcleo quinoleína; alcaloides com núcleo isoquinoleína; alcaloides com núcleo indólico; alcaloides com núcleo imidazol; alcaloides derivados do metabolismo terpénico; alcaloides betalaínicos e metilxantinas (FCT, 2015).

**Figura 7** – Exemplos de estruturas de alcaloides



FONTE: SILVA, 2008.

Eles podem ser sintetizados em laboratório, mas sua origem é vegetal. Hoje, sabe-se que a ocorrência em vegetais está nas plantas Angiospermas e, nestas, especificamente, nas flores e frutos. São compostos encontrados predominantemente em angiospermas (HENRIQUES *et al.*, 2002). Sendo associado o gosto amargo das folhas e flores de algumas plantas decorrentes da presença dessas aminas.

A presença de alcaloides em uma planta pode a fazer apresentar um bom potencial tóxico (toxicidade) podendo ser usado para produção de larvicidas ou ovicidas. Já que esses alcaloides, nas plantas, têm função de defesa (herbivoria) contra insetos e animais predadores.

Essa classe de compostos é conhecida também pela presença de substâncias que possuem acentuado efeito no sistema nervoso, sendo muitas delas largamente utilizadas como venenos ou alucinógenos (PERES, 2015). São compostos farmacologicamente ativos (HENRIQUES *et al.*, 2002). Sendo providos de uma grande atividade

farmacológica ou toxicológica usados na medicina como, analgésicos e anestésicos (FCT, 2015).

### 3.2.2 Os Compostos Fenólicos

Dentre os fitoquímicos existentes nas plantas, os compostos fenólicos representam a classe mais abundante de produtos naturais vegetais, existindo já uma longa história de investigação científica sobre estes (SOUSA *et. al.*, 2008). Estando presentes em todos os órgãos das plantas, onde são abundantes em legumes, frutas, grãos, vegetais como também encontrados no chocolate, vinho tinto, azeite de oliva, chá verde e café (GONÇALVES, 2005). A importância dada a estes compostos deve-se ao fato de muitos possuírem propriedades benéficas para a saúde humana (MARQUES, C. *et al.*, 2004).

O nome compostos fenólicos referem-se aos compostos de fenol. A palavra fenol significa vem do inglês *phenol* e significa do grego *faíno*, trazer à luz, fazer aparecer. Os compostos fenólicos tendem a se solubilizar em água e podem estar ligados a açúcares. São compostos instáveis, facilmente oxidáveis em pH alcalino.

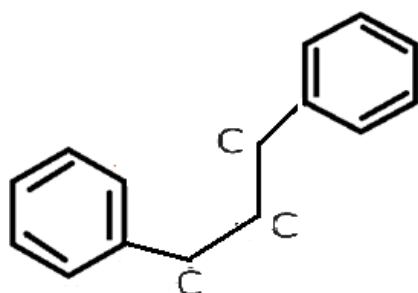
O grupo pertence a uma classe de compostos com estruturas bastante diversificadas e possuem pelo menos um anel aromático no qual, pelo menos um hidrogênio é substituído por um grupamento hidroxila (-OH) (CARVALHO *et al.*, 2002).

Os compostos fenólicos são substâncias que existem principalmente nas plantas, mas que podem também ser provenientes do catabolismo dos aminoácidos (MARQUES *et al.*, 2004) e síntese a partir da via do ácido chiquimíco e a via do ácido melavônico (PERES, 2015). Fazem resposta a pressões ecológicas, tais como ataque de patógenos e insetos, protegem da radiação ultravioleta (UV), insetos, fungos, vírus e bactérias, além de possuem ações alelopática (seu efeito inibitório ou benéfico, direto ou indireto, de uma planta sobre outra, via produção de compostos químicos que são liberados no ambiente).

Além disso, inibem a oxidação lipídica e a proliferação de fungos, participam nos processos responsáveis pela cor, adstringência e aroma de vários alimentos (SOARES, 2002). Apresentam múltiplas atividades biológicas tais como propriedades antitumorais, antimutagênicas, anti-inflamatórias, antibacterianas e antioxidantes, por poderem proteger as células contra os danos oxidativos (SOUSA, 2008). Do ponto de vista farmacológico possuem atividade antisséptica, anti-inflamatória e podem inibir atividade enzimática (BRUNETON, 1985).

Os compostos fenólicos de fontes vegetais podem se divididos em dois grupos: os flavonoides e os não flavonoides, sendo que ambos são metabólitos secundários presentes em frutas e vegetais. Os denominados de flavonoides são os que apresentam a estrutura química descrita como C6-C3-C6 (Figura 8). Já os denominados de não flavonoides são classificados como: derivados das estruturas químicas C6-C1 específicas dos ácidos hidroxibenzóico, gálico e elágico; derivados das estruturas químicas C6-C3 específicas dos ácidos caféico e p-cumárico hidroxicinamatos e derivados das estruturas químicas C6-C2-C6 específicas do transresveratrol, cis-resveratrol e trans-resveratrol-glucosídeo (MELO & GUERRA, 2002; BURNS *et al.*, 2001; DEGÁSPARI & WASZCZYNSKYJ, 2004).

**Figura 8** – Estrutura química C6-C3-C6 dos flavonoides



Fonte: AUTORA, 2017.

Foram caracterizados mais de 8000 compostos fenólicos que compreendem estruturas diversas variando de moléculas simples, como os ácidos fenólicos, a compostos cujas moléculas são altamente ramificadas, como os taninos. E, em número reduzido, os fenóis simples, o pirocatecol, a hidroquinona, o resorcinol e ainda os aldeídos derivados dos ácidos benzóicos, que são constituintes dos óleos essenciais, como a vanilina (CARVALHO *et al.*, 2002; ÂNGELO & JORGE, 2007).

Diversos pesquisadores têm trabalhado na separação, identificação, quantificação e utilização dos compostos fenólicos em alimentos, enfrentando muitos problemas metodológicos, pois, para além de englobarem uma gama enorme de substâncias (fenóis simples, ácidos fenólicos, cumarinas, flavonóides, taninos e ligninas), estes compostos são, na maioria das vezes, de grande polaridade, muito reativos e suscetíveis à ação de enzimas (SOARES, 2002).



Dentre eles, destacam-se os flavonoides, ácidos fenólicos, fenóis simples, cumarinas, antocianinas, derivados de polimerização (taninos e ligninas) e tocoferóis. (ÂNGELO & JORGE, 2007). Podem ser originados basicamente por duas rotas bioquímicas diferentes, seja pela via do chiquimato ou pela via do acetato/malonato (QUIDEAU *et al.*, 2011).

### **3.2.2.1 Compostos fenólicos: Ação Antioxidante**

A ligação das hidroxilas com o anel aromático lhes confere poder antioxidante, segundo Halliwell *et al.* (1995), os compostos fenólicos podem atuar como antioxidantes por várias vias, nomeadamente pela eliminação de radicais livres, pela absorção de radicais de oxigênio e como quelantes de íons metálicos (SU *et al.*, 2007). Esses compostos agem como antioxidantes, não somente pela sua habilidade em doar hidrogênio ou elétrons, mas também em virtude de seus radicais intermediários estáveis, que impedem a oxidação de vários ingredientes do alimento, particularmente de lipídios (BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSET, 1995).

Diversos estudos têm demonstrado que o consumo de substâncias antioxidantes na dieta diária, pode produzir uma ação protetora efetiva contra os processos oxidativos que naturalmente ocorrem no organismo. Foi descoberto que uma série de doenças entre as quais câncer, aterosclerose, diabetes, artrite, malária, AIDS, doenças do coração, podem estar ligadas aos danos causados por formas de oxigênio extremamente reativas denominadas de “substâncias reativas oxigenadas” ou simplesmente “ROS”. Estas substâncias também estão ligadas com processos responsáveis pelo envelhecimento do corpo (BRENNAN & PAGLIARINI, 2001; YILDRIM, MAVI & KARA, 2002; HELENA & NINA, 2004).

Em pesquisas epidemiológicas alguns flavonoides apresentam-se associados com a proteção contra doenças do envelhecimento. Isto pode ser justificado devido à sua ação antioxidante. A formação de radicais livres pelo oxigênio é supostamente a chave para o desenvolvimento de câncer e doenças coronárias, aliado à função protetora da membrana celular. Radicais livres podem atacar biomoléculas, dentre as quais se destacam os lipídios, as proteínas ou DNA propriamente dito, os quais podem ser preservados pela ação dos antioxidantes (BIRCH *et al.*, 2001; BRENNAN & PAGLIARINI, 2001; KOO & SUHAILA, 2001; SELLAPAN, AKOH & KREWER, 2002; SLUIS *et al.*, 2001;

YILDRIM, MAVI & KARA, 2002; ZHENG & WANG, 2001; WANG & ZHENG, 2001; DEGÁSPARI & WASZCZYNSKYJ, 2004).

Antioxidantes são substâncias que retardam a velocidade da oxidação, através de um ou mais mecanismos, tais como inibição de radicais livres e complexos de metais. Eles podem ser sintéticos ou naturais e, para serem utilizados em alimentos, devem ser seguros para a saúde. Entre os naturais destacam-se ácido ascórbico (vitamina C), vitamina E e  $\beta$ -caroteno.

Os radicais de oxigênio (radicais hidroxila e peroxila) e o ânion superóxido têm um papel importante nas reações bioquímicas/fisiológicas do corpo humano. No entanto, se houver produção excessiva de radicais de oxigênio durante os processos patofisiológicos ou devido a fatores ambientais adversos e não existirem antioxidantes disponíveis *in vivo*, podem ocorrer doenças e danos profundos em tecidos (PANNALA *et. al.* 2001).

Diversas técnicas têm sido utilizadas para determinar a atividade antioxidante *in vitro*, de formas a permitir uma rápida seleção de substâncias e/ou misturas potencialmente interessantes, na prevenção de doenças crônico-degenerativas. Dentre estas técnicas destaca-se o método de sequestro de radicais livres por DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila). Sendo inicialmente escolhida por se tratar de uma metodologia simples rápida e sensível, muito conveniente para realização de “*screening*” de um número de amostras.

O DPPH foi descoberto por Goldschmidt e Renn, em 1922, sendo bastante utilizado em pesquisa de reações envolvendo radicais livres. Mas sua principal aplicação é como reagente colorimétrico em testes para verificação da ação antioxidante, mais conhecido como testes de captura (do inglês *scavenge*) do DPPH (HASSIMOTO; GENOVESE; LAJOLO, 2005).

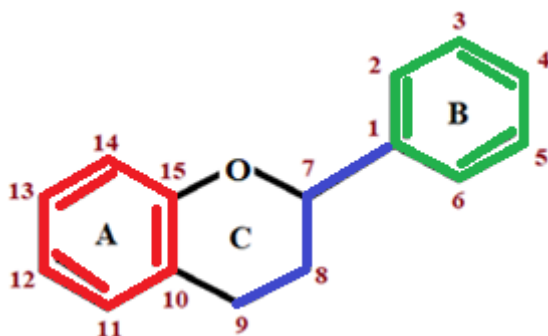
O radical estável 2,2-difenil-1-picril hidrazil (DPPH) tem sido amplamente utilizado para avaliar a capacidade de antioxidantes naturais a partir dos extratos aquosos e etanólicos de vegetais sequestrando seus radicais livres (SILVÉRIO; CASTRO; MIRANDA, 2013).

### 3.2.2.2 Compostos fenólicos: Flavonoides

Os flavonoides são formados da combinação de derivados sintetizados da fenilalanina (via metabólica do ácido chiquímico), na figura 9 em verde, e outra proveniente do ácido acético (via metabólica da via acetato) na figura 9 em vermelho.

Todos os flavonoides apresentam uma estrutura em comum constituída por quinze carbonos arranjados em dois anéis aromáticos unidos por uma cadeia de 3 átomos de carbono que pode, ou não, ter ciclizado formando um terceiro anel heterocíclico oxigenado inseridos no anel C da molécula do flavonoide pela troca dos radicais, estes podem ser divididos em 13 subclasses (SOARES, 2002).

**Figura 9** – Numeração e estrutura básica da molécula de flavonoide

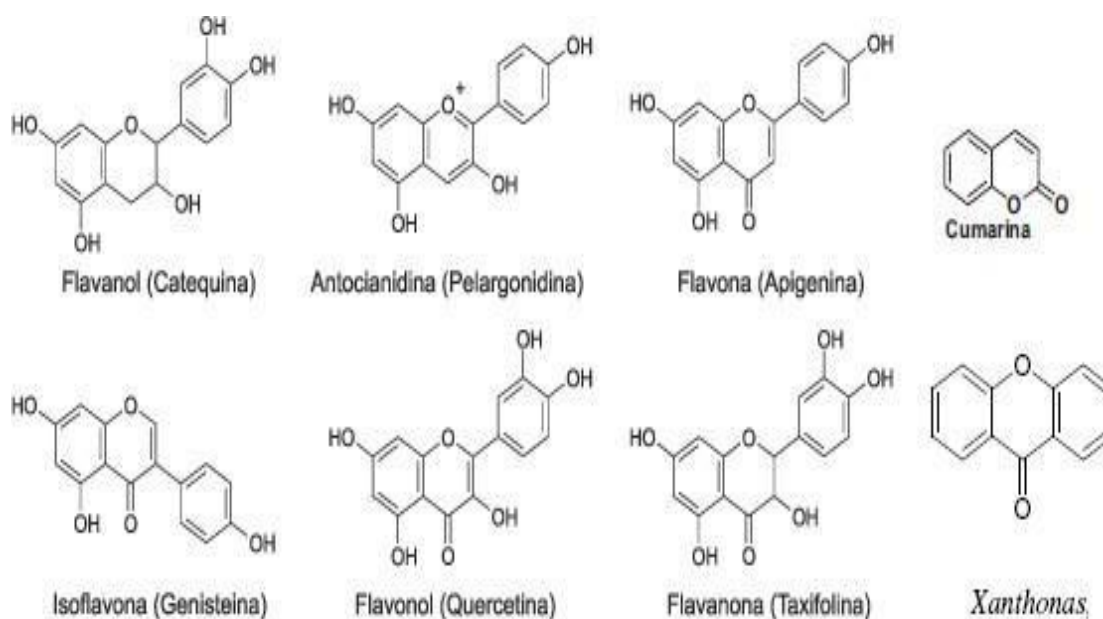


Fonte: AUTORA, 2017.

Além disso, mais de 6.000 diferentes estruturas já foram identificadas e este número continua a aumentar (AHERNE & O'BRIEN, 2002; BOBBIO & BOBBIO, 1989; CORDENUNSI *et al.*, 2002; FENNEMA, 1993; SLUIS *et al.*, 2001; DEGÁSPARI & WASZCZYNSKYJ, 2004). Estes são o segundo maior grupo de substâncias distribuídas no reino vegetal, sendo superados apenas pelos carboidratos (DELBONE & LANDO, 2010).

Os polifenóis (Figura 10) podem ser divididos em pelo menos 10 classes diferentes baseada em suas estruturas químicas (fenóis simples, ácidos fenólicos, benzoquinonas, isocumarinas e cumarinas, naftoquinonas, estilbenos, acetofenonas, xantonas, entre outros). Fazem parte dos largamente distribuídos na natureza dois grandes grupos: flavonoides e derivados e os ácidos fenólicos e cumarinas (SOARES, 2002).

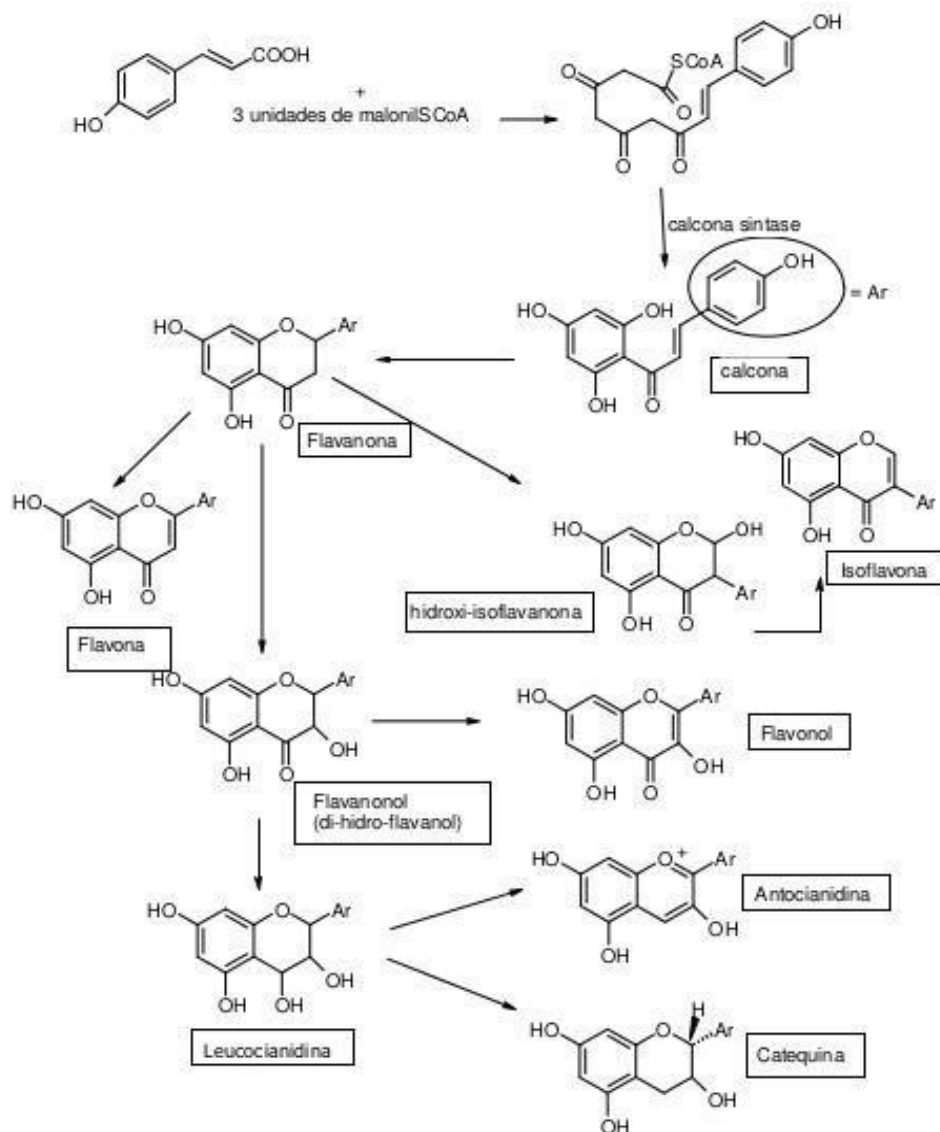
**Figura 10** – Estrutura das principais classes de flavonoides



Fonte: AUTORA, 2017.

A estrutura dos flavonoides está baseada no núcleo *flavilium*, o qual consiste de três anéis fenólicos. O benzeno do primeiro anel é condensado com o sexto carbono do terceiro anel que na posição 2 carrega um anel de fenil-benzeno como substituinte. O terceiro anel pode ser um pirano heterocíclico, gerando as estruturas básicas (Figura 11) das leucoantocianinas (ou proantocianinas ou catequinas) e as antocianidinas, denominado de núcleo *flavan*. No caso do terceiro anel se apresentar como uma pirona, ocorre a formação das flavonas, flavonóis, flavanonas, isoflavonas, chalconas e auronas, recebendo a denominação de núcleo 4oxo-flavonóide (AHERNE & O'BRIEN, 2002).

**Figura 11** – Biossíntese dos diversos flavonoides



Fonte: ARAÚJO, 2012.

Exceto o grupo das leucoantocianinas, os demais flavonoides ocorrem em plantas sempre acompanhadas por glicídios, que recebe a denominação de glico-flavonoide. Quando se apresentam isentos de glicídios, a estrutura recebe o nome de aglicona (AHERNE & O'BRIEN, 2002).

Os taninos são divididos em dois grupos: hidrolisáveis e condensados. Os pertencentes ao primeiro grupo são denominados taninos hidrolisáveis, que incluem os galitaninos e os elagitaninos, polímeros derivados dos ácidos gálico e elágico. Este grupo de taninos é comumente utilizado para a curtição de couros (BOBBIO & BOBBIO, 1989;

FENNEMA, 1993; MELO & GUERRA, 2002). Já, os denominados, taninos condensados são encontrados em maior quantidade e de maior importância em alimentos. Apresentam uma estrutura semelhante aos flavonoides, com coloração variando do vermelho ao marrom.

De um modo geral, os flavonoides atuam em diversas funções de defesa para as plantas, não somente contra agentes do meio ambiente (luz, temperatura e umidade), mas para fatores internos incluindo diferenças genéticas, nutrientes, hormônios, contribuindo para a sua síntese (AHERNE & O'BRIEN, 2002; BURNS *et al.*, 2001; KÄHKÖNEN, HOPIA & HEINONEN, 2001; SELLAPAN, AKOH & KREWER, 2002; SLUIS *et al.*, 2001; ZHENG & WANG, 2001).

Também conhecido como polifenólicos e geralmente ocorrem em plantas na forma de glucosídeos, sendo uma das substâncias responsáveis pela atribuição do perfil sensorial de frutas, atribuindo-lhes o corpo característico. São responsáveis pela ação protetora dos raios UV e funcionam como um ecrã natural na defesa das plantas contra esta radiação e atuam como sinais de floração e polinização das plantas.

A presença de pequenas quantidades de taninos em frutos confere-lhes características sensoriais desejáveis, ditas como “o corpo da fruta”. No entanto, quantidades maiores conferem aos frutos e outros alimentos características adstringentes. A sensação de adstringência é gerada devido à propriedade que os taninos apresentam de precipitar proteínas. Quando em contato com as proteínas da saliva, forma um complexo insolúvel que popularmente se caracteriza pela sensação “amarrando a língua” (BOBBIO & BOBBIO, 1989).

Os efeitos bioquímicos e farmacológicos dos flavonoides são muito vastos, dentre estes se destacam as ações antioxidante, anti-inflamatória e antiplaquetária, além de efeitos antialérgicos (DELBONE & LANDO, 2010).

### **3.2.2.3 Compostos fenólicos: Antocianinas**

As antocianinas (das palavras gregas *anthos*, flor e *kianos*, azul), são pigmentos vegetais, responsáveis por uma grande variedade de cores observadas em flores, frutos, algumas folhas, caules e raízes de plantas, que podem variar do vermelho vivo ao violeta/azul.

As antocianinas são um grupo de pigmentos vegetais hidrossolúveis, amplamente distribuídos no reino vegetal. Seu espectro de cor vai do vermelho ao azul, apresentando-se também como uma mistura de ambas as cores resultando em tons de púrpura. Muitas frutas, hortaliças, folhas e flores devem sua atrativa coloração a estes pigmentos que se encontram dispersos nos vacúolos celulares.

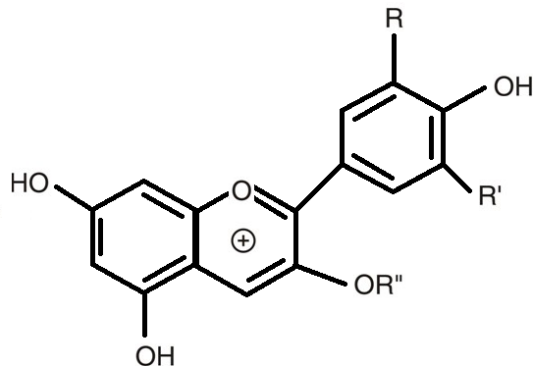
Um tipo de corante natural sendo uma substância corada extraída apenas por processos físico-químicos (dissolução, precipitação, entre outros) ou bioquímicos (fermentação) de uma matéria-prima viva. Esta substância deve ser solúvel no meio líquido onde vai ser mergulhado o material a tingir.

Atualmente se conhece 20 antocianinas, mas apenas 6 delas são importantes na tecnologia de alimentos: pelargonidina, cianidina, delphinidina, peonidina, petunidina e malvidina. As demais são relativamente raras e são normalmente encontradas em flores e folhas (DEGÁSPARI & WASZCZYNSKYJ, 2004).

Entre as muitas funções que possuem está a atração de polinizadores de sementes, proteção contra danos provocados pela luz UV na folha, atuando como filtro e melhorando e regulando a fotossíntese. As antocianinas apresentam grande importância na dieta humana podendo ser considerada como uma importante aliada na prevenção/retardamento de doenças cardiovasculares, do câncer e doenças neurodegenerativas, devido ao seu poder antioxidante, atuando contra os radicais livres, apresentando propriedades farmacológicas sendo utilizadas para fins terapêuticos.

Caracterizados pelo núcleo básico flavílico (cátion 2-fenilbenzopirílio) que consiste de dois anéis aromáticos unidos por uma unidade de três carbonos e condensados por um oxigênio (Figura 12) (CASTAÑEDA, 2009).

**Figura 12** – Estrutura das antocianinas com o cátion flavílico



Fonte: AUTORA, 2017.

As antocianinas são pigmentos vegetais, solúveis em água e altamente instáveis em temperaturas elevadas. As antocianidinas e antocianinas são os compostos fenólicos responsáveis pelos pigmentos de alimentos vegetais e se diferenciam das antocianinas pela ausência “açúcar”.

Esses pigmentos quando identificados em uma amostra vegetal servem como indicador de pH por alterarem suas estruturas químicas evidenciadas pela mudança de cor no meio que se encontram.

O principal interesse das antocianinas na tecnologia de alimentos se refere à conferência de coloração adequada e desejada. No entanto, como se trata de um íon, o cátion *flavilium* se mostra muito reativo (DEGÁSPARI & WASZCZYNSKYJ, 2004).

### 3.2.3 Os Terpenos

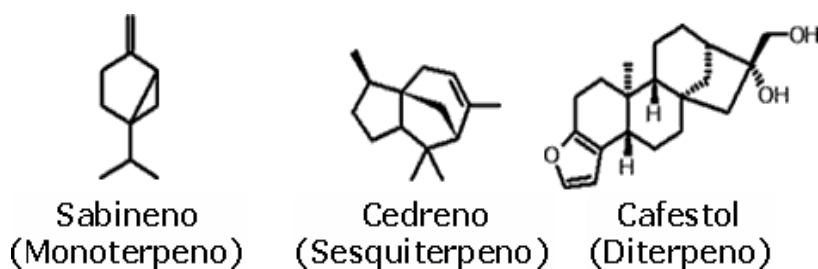
Os terpenos representam uma das maiores e mais diversas classes de metabólitos secundários com pelo menos 55.000 compostos. São difundidos na natureza, principalmente nas plantas constituintes de óleos essenciais (RIGOTTI, 2011).

Os terpenos são compostos formados por repetições de uma molécula de cinco átomos de carbono chamada isopreno, são classificados pelo número de unidades de isopreno que os compõem. Segundo Taiz & Zeiger (2006), os terpenóides, também chamados de terpenos, derivam-se da união de unidades pentacarbonadas, as quais possuem um esqueleto de ramificado de isopentano. Possuem fórmula geral molecular de  $(C_5H_8)_n$  (RIGOTTI, 2011). Sua classificação é feita de acordo com a quantidade de unidades de isopreno em: hemiterpenóides (C5); monoterpenóides (C10); sesquiterpenóides, (C15); diterpenóides, (C20); triterpenóides, (C30); e carotenóides,



(C40) (PERES, 2015). De acordo com Lima (2000) as formas de ciclização são classificados (Figura 13) em monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos e triterpenos, os quais possuem 10, 15, 20 e 30 átomos de carbonos, respectivamente.

**Figura 13** – Estruturas moleculares de alguns terpenos



Fonte: RIGOTTI, 2011.

Originam-se da via do acetato-mevalonato a partir de uma unidade de isopreno. São precursores de quatro classes hormonais de plantas, as citocininas (CKs), o ácido abscísico (ABA), as giberelinas (GAs) e os brassinoesteróides (BR) (PERES, 2015). Terpenos são hidrocarbonetos que ocorrem em plantas e animais como múltiplos de uma unidade estrutural básica, o isopreno. A biossíntese do terpeno ocorre a partir da combinação de duas moléculas de ácido acético para formar ácido mevalônico. Este se converte em pirofosfato de isopentenila. Transformações posteriores do composto de isopentenila produzem os terpenos/terpenoides (RIGOTTI, 2011).

Dentro do grupo dos terpenos, as saponinas são uma classe importante de triterpenos que nas plantas desempenham um importante papel na defesa contra insetos e microrganismos. Os tetraterpenos mais famosos são os carotenos e as xantofilas. Esses compostos lipossolúveis desempenham um importante papel tanto nas plantas quanto nos animais. Nas plantas, os carotenoides fazem parte das antenas de captação de luz nos fotossistemas e, portanto, sem eles não haveria fotossíntese (VIZZOTO *et al.*, 2010).

Segundo Heldt (2005), um grande número de terpenoides é encontrado em resinas, ceras e óleos; alguns atuam como antibióticos para proteger as plantas de microrganismos patogênicos e outros são formados somente em resposta a infecção causada por bactérias e fungos. O mesmo autor destaca que algumas plantas sintetizam terpenoides para inibir a germinação e desenvolvimento de plantas competidoras e certas classes de terpenoides são pigmentos e aromas presentes em flores e frutas, atraindo insetos para distribuição de pólen e semente.

Os terpenos estão envolvidos em diferentes funções nos vegetais, desde a composição de alguns óleos essenciais de plantas (monoterpenos), o que confere características como a atração de polinizadores; ação inseticida e antimicrobiana (sesquiterpenos), dentre outras (OLIVEIRA, 2008). Armazenados nas folhas, flores, frutos, caules e raízes de muitas plantas, e em glândulas odoríferas de animais, os terpenos são responsáveis por grande parte dos cheiros exalados pelos campos e florestas. Vários terpenos já são conhecidos e utilizados pelo homem pelas suas propriedades inseticidas, e aromáticas dos óleos essenciais derivados dos monoterpenos (VIEGAS Jr., 2003).

Do ponto de vista farmacêutico, os grupos de princípios ativos de natureza terpênica mais interessantes são: monoterpenos e sesquiterpenos constituintes dos óleos essenciais, derivados de monoterpenos correspondentes aos iridóides, lactonas sesquiterpênicas que formam parte dos princípios amargos, alguns diterpenos que possuem atividades farmacológicas de aplicação terapêutica e por último, triterpenos (esteroides) entre os que se encontram as saponinas e os heterosídeos cardiotônicos (RIGOTTI, 2011).

Na medicina, os terpenos são empregados, na maior parte das vezes, como irritantes locais suaves, ainda que se lhes atribuem outros efeitos benéficos. Alguns dos compostos utilizados como constituintes de remédios simples são o hidrato de terpina, o óleo de madeira de cedro, o timol, o cineol, o eucaliptol e o mentol. Os terpenos e os óleos essenciais de muitas plantas são também empregados em perfumes e condimentos. Os últimos são geralmente recolhidos das folhas e flores, após destilação a vapor.

### **3.3 FATOR DE PROTEÇÃO SOLAR (FPS)**

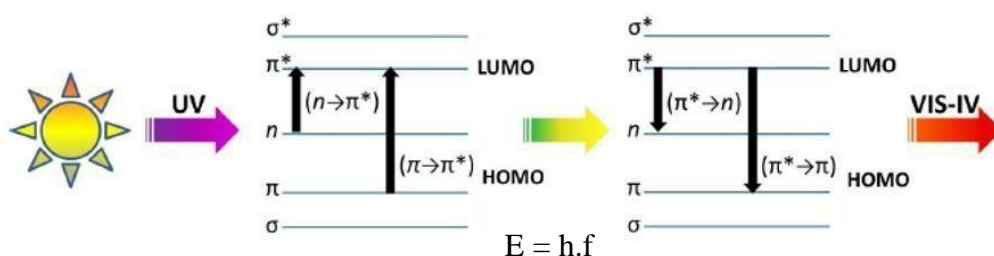
Os filtros solares são substâncias que, quando adicionados à formulações, são capazes de reduzir os efeitos da radiação sobre a pele por mecanismos específicos, tais como absorção, reflexão ou espalhamento da luz incidente. Estes são classificados em físicos ou inorgânicos, pois refletem ou dissipam a radiação, e químicos ou orgânicos, que absorvem a radiação, sendo relacionados de acordo com o mecanismo de ação envolvido no processo de fotoproteção (ALVES, 2015).

Os filtros orgânicos (químicos) são formados por substâncias orgânicas capazes de absorver a radiação UV e transformá-la em radiações com energias menores e inofensivas ao ser humano. Extratos que possuem compostos fenólicos, como

flavonoides, taninos, antroquinonas e benzofenonas, admitem características semelhantes aos filtros orgânicos ultravioletas sintéticos podendo também absorver radiação ultravioleta (FLOR, DAVOLOS E CORREA, 2007).

Estes grupos de compostos aromáticos conjugados funcionam através da excitação de elétrons, assim transformando a energia luminosa em energia térmica. Quando a energia UV atinge estes compostos, os elétrons são energizados e entram em um estado de excitação transitório (Figura 14). Este equilíbrio é instável, o excesso de energia fornecido por UV é convertida em radiação térmica. Por esta razão, os usuários podem relatar uma sensação de calor após a aplicação de protetores solares orgânicos ao se expor à luz solar (PALM e O'DONOGHUE, 2007).

**Figura 14** – Transição eletrônica das radiações UV e conversão em VIS e IV pelo fotoprotetores orgânicos



Fonte: NASCIMENTO *et. al.*, 2014.

A absorção da região visível e ultravioleta depende, em primeiro lugar, do número e do arranjo dos elétrons nas moléculas ou íons absorventes.

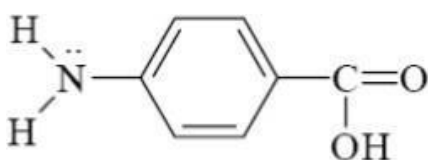
Nos compostos orgânicos, os que possuem dupla ligação absorvem fortemente em comprimentos de onda mais baixos. Os compostos que possuem ligações simples e duplas alternadamente, chamadas de ligações conjugadas, produzem absorção em comprimentos de ondas maiores. Quanto mais extenso for o sistema conjugado, mais longos serão os comprimentos de onda absorvidos, podendo chegar à região do visível (PALM; O'DONOGHUE, 2007). Como consequência, o pico de absorção pode ser correlacionado com o tipo de ligação que existe na espécie que está sendo estudada.

Os filtros orgânicos são comumente classificados em filtros UVA e UVB, de acordo com a região de proteção UV. Isto ocorre, porque estes compostos quase sempre não possuem um amplo espectro de proteção, como por exemplo, os cinamatos e

salicilatos que agem exclusivamente contra os raios UVB e as benzofenonas e as avobenzonas que protegem somente em UVA (NASCIMENTO *et. al.*, 2014).

No geral, apresentam um grupo doador de elétrons, como uma amina ou um grupo metoxila, na posição *orto* ou *para* do anel aromático (LOPES, 2014). Estas moléculas são, essencialmente, compostos aromáticos com grupos carbonílicos e/ou hidroxila. Um exemplo, para apresentar essas moléculas, é a molécula do ácido *p*-aminobenzóico (PABA) (Figura 15) presente em formulações de filtros solares comerciais.

**Figura 15** – Molécula do ácido *p*-aminobenzóico (PABA)



Fonte: AUTORA, 2017.

Atualmente há um interesse crescente em relação ao desenvolvimento de fotoprotetores baseados em produtos naturais que atuam como bioativos vegetais para proteger a pele dos efeitos adversos da radiação solar. Segundo Munhoz *et. al.* (2012) o estudo de bioativos naturais que possam atuar sinergicamente como filtros solares químicos e físicos para a ampliação do fator de proteção solar tem aumentado, nos últimos anos, demonstrando boas expectativas com relação ao uso de substâncias fenólicas como filtros solares.

A classificação convencional desses fotoprotetores diferencia-os em químicos e físicos, sendo renomeada como orgânicos e inorgânicos. Conforme Flor, Davolos e Correa (2007) os químicos (orgânicos) protegem a pele pela absorção da radiação e os físicos (inorgânicos) agem pela reflexão. Como cada substância atua apenas em parte da radiação ultravioleta, os fotoprotetores são combinados para que se tenha uma proteção completa.

Dessa forma o uso de matérias-primas vegetais que apresentam atividade fotoprotetora ou capacidade que potencializem o Fator de Proteção Solar são alvos interessantes para pesquisas, uma vez que comprovada sua atividade absorvedora, podem intensificar a eficácia do produto (NASCIMENTO *et. al.*, 2009). Uma opção em produtos

cosméticos com finalidade fotoprotetora é recorrer aos extratos vegetais que possuam substâncias, como os flavonoides e compostos fenólicos em sua composição (DAL'BELO, 2008).

Nesse contexto, o teor de flavonoides e outros compostos fenólicos são considerados importantes para proteção das plantas frente aos raios UV (SOUZA *et al.*, 2005). Como a avaliação fitoquímica das amostras do extrato etanólico das flores de *I. indica* revelou dentre outros, a presença de flavonoides e outros compostos fenólicos tornou-se relevante a investigação da avaliação fotoprotetora e teste de FPS para os extratos da flor.

O efeito e a efetividade (grau de proteção) de preparações com filtros solares são então caracterizadas pelo seu Fator de Proteção Solar (FPS) que é definido pela capacidade de um produto de absorver, refletir e espalhar 95% das radiações incidentes sobre a pele (OLIVEIRA, *et al.*, 2008).

#### **3.4 TOXICIDADE POR MEIO DO BIOENSAIO COM *Ârtemia salina***

No intuito de selecionar e monitorar a pesquisa de extratos de plantas na procura de substâncias bioativas muitos laboratórios de Produtos Naturais têm inserido dentro de suas rotinas ensaios biológicos simples (ALVES *et al.*, 2000).

Dessa maneira e como uma forma de complementar, os estudos fitoquímicos da espécie *I. indica* foi associada a bioensaios para avaliação da toxicidade das amostras de extrato etanólico das flores por meio deles se auxiliam na detecção de compostos bioativos em extratos vegetais.

Muitos bioensaios de toxicidade são utilizados e, dentre esses destaca-se um, que leva em consideração a letalidade do extrato com *Ârtemia salina*. A *Ârtemia salina* Leach, da ordem *Anostraca*, é uma espécie de microcrustáceo filtrador que se alimenta basicamente de bactérias, algas unicelulares, pequenos protozoários e detritos dissolvidos no meio aquático. Sendo encontrada em água salgada e comumente usada como alimento para peixes.

A toxicidade desses microcrustáceos ocorre por meio do alto nível de concentração desses animais no tubo digestivo de indivíduos como, elucidado por Souto (1991), a taxa de filtração diminui com o aumento da concentração de partículas, ficando

estas acumuladas e interferindo o processo normal de seus batimentos. Outro efeito das altas concentrações é que podem passar diretamente pelo tubo digestivo sem sofrer digestão, tornando o indivíduo subnutrido (NASCIMENTO *et. al.*, 2008).

O fator preponderante para a escolha deste teste foi devido ao fácil manuseio e custo baixo. Segundo Luna *et. al.* (2005) a simplicidade com que pode ser manuseado, a rapidez dos ensaios e o baixo custo favorece a sua utilização rotineira em diversos estudos, além do que, tais ensaios de letalidade são muito utilizados em análises preliminares de toxicidade geral.

## **4 CONSIDERAÇÕES TAXONÔMICA DA ESPÉCIE SALSA-BRAVA**

### **4.1 CLASSIFICAÇÃO TAXONÔMICA**

Notoriamente, a maioria das literaturas lidas, evidenciadas e estudadas nesta pesquisa corresponde a documentos antigos. Visto que, atualmente, poucos ou quase inexistentes são os trabalhos científicos sobre a família, gênero e, conseqüentemente, a espécie investigada se encontra.

Por isso, o estudo dos táxons<sup>6</sup> torna-se imprescindível para uma melhor compreensão e estudo dessa espécie. Por meio dele podem-se prever possíveis propriedades e metabólitos de uma determinada espécie. O estudo baseia-se na comparação de propriedades biológicas, químicas e evolutivas de uma determinada espécie e suas semelhanças compartilhadas por todos os organismos pertencentes ao mesmo táxon. Esse campo de investigação, chamado de sistemática bioquímica ou quimiotaxonomia, tem tido um interesse crescente nas últimas décadas.

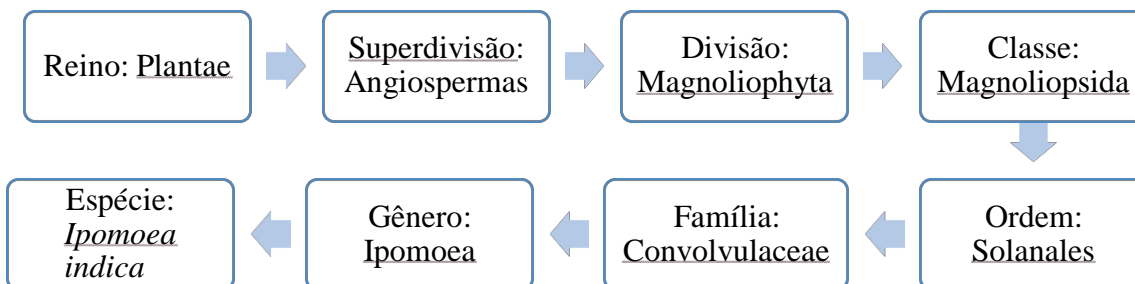
Assim, por exemplo, os metabólitos secundários são, em princípio, não essenciais para a vida, mas contribuem definitivamente para a adaptação das espécies e sua sobrevivência. São mais característicos para um grupo biológico em particular, tais como uma família ou um gênero, e aparentemente a “máquina” sintética está relacionada com a evolução das espécies.

---

<sup>6</sup> É uma unidade taxonômica, essencialmente associada a um sistema de classificação.

A classificação taxonômica da espécie *Ipomoea indica* se apresenta conforme o esquema representado (Figura 16):

**Figura 146** – Esquema em ordem decrescente da classificação taxonômica da espécie *Ipomoea indica*



Fonte: AUTORA, 2017.

A espécie *Ipomoea indica* é uma espécie de planta com flor do grupo das angiospermas, pertencente à família Convolvulaceae e do gênero *Ipomoea*. A espécie também é está associado à autoridade científica *Ipomoea indica* (Burm.<sup>7</sup>) Merr.<sup>8</sup> devido às pesquisas desses botânicos. Todo material proveniente das coletas sobre as amostras da espécie foi identificado e as exsicatas foram depositadas e, posteriormente, publicadas em uma Interpretação do Herbário de Rumphius Amboinense, em 1917, pg. 445 (do inglês, *An Interpretation of Rumphius's Herbarium Amboinense*).

A planta é uma liana perenifólia<sup>9</sup>, herbácea e com floração fevereiro-outubro sendo encontrada em todo o país.

**Figura 17** – Flor aberta da espécie *Ipomoea indica* (Burm.) Merr.

<sup>7</sup> Johannes Burman (Amsterdã, 26 de Abril de 1707 – Amsterdã, 20 de Janeiro 1780) foi um botânico neerlandês.

<sup>8</sup> Elmer Drew Merrill (Maine, 15 de outubro de 1876 — Forest Hills, Massachusetts, 25 de fevereiro de 1956) foi um médico e botânico norte-americano.

<sup>9</sup> Que tem folhas durante o ano inteiro.



Fonte: AUTORA, 2017.

A espécie *Ipomoea indica* (Burm.) Merr. é encontrada em todo o território nacional e, por isso, recebe inúmeras designações populares locais, como, por exemplo, retirana, jetirana, bom-dia, salsa, batatarana, glória da manhã e salsa brava. Sendo, na região onde foi coletada, salsa-brava, jetirana, bom-dia e glória da manhã, os nomes que se destacam. Os dois últimos se dão pelo fato da flor (Figura 15) está “aberta” apenas no período da manhã.

Os subtópicos seguintes fazem estudo taxonômico e correlacionam as características desde o Reino Plantae até a espécie *Ipomoea indica*.

#### **4.1.1 Reino Plantae**

As plantas pertencem ao Reino Plantae e são relevantes para a manutenção da vida na Terra, pois todos os seres vivos dependem delas para sobreviver. Estas são seres que captam a luz solar através da clorofila e por meio da fotossíntese transforma em alimento, sendo assim, base das cadeias alimentares.

O Reino Plantae devido a grande biodiversidade de espécies divide em dois relevantes grupos as criptógamas (*cripto* = escondido; *gamae* = gametas): plantas que possuem as estruturas produtoras de gametas pouco evidentes. Elas correspondem às briófitas e pteridófitas, como exemplos, os musgos e samambaias, respectivamente (Figura 18). E, as fanerógamas (*fânero* = visível): plantas que possuem estruturas produtoras de gametas bem visíveis. Todas desenvolvem sementes e por isso são também denominadas espermatófitas (*sperma* = semente). Correspondendo as gimnospermas e angiospermas, como por exemplo, pinheiros, mangueiras, roseiras e coqueiros.



**Figura 158** – Divisão do Reino Plantae



Fonte: AUTORA, 2017.

No grupo das Angiospermas estão as plantas que possuem sementes abrigadas no interior de frutos e estes são resultantes do desenvolvimento do ovário da flor. (daí a denominação: *angio* = urna; *sperma* = semente). São as plantas de maior ocorrência em nosso planeta, apresentando-se nos mais diversos tamanhos, formas e ambientes. Hoje, apresentam mais de 235 mil espécies (ARAGUAIA, 2017).

Segundo o Ministério do Meio Ambiente, no Brasil estão catalogadas mais 42 mil espécies, Tabela 1.

**Tabela 1** – Número de espécies conhecidas no Brasil

Grupo	Nº de espécies	
Angiospermas	32.886	
Fungos	5.722	
Algas	4.749	
Flora	Briófitas	1.534
	Samambaias e Licófitas	1.299
	Gimnospermas	30
	<b>Total</b>	<b>46.220</b>

Fonte: SISTEMA FLORA DO BRASIL 2020, 2017.

#### 4.1.2 Ordem Solanales

Dentre as inúmeras plantas angiospermas tem-se a ordem *Solanales*. Esta ordem é relativamente pequena, conta com apenas cinco famílias que fazem parte deste grupo, e ainda se subdividem em 165 gêneros que abrigam aproximadamente 5.100 espécies. As famílias que abrangem mais espécies são *Solanaceae* e *Convolvulaceae*, as demais

famílias são menos numerosas e, normalmente, recebem menos atenção por parte de quem às estuda (ARAÚJO, 2010).

Os estudos atuais avaliam pelo menos quatro regiões do DNA desses indivíduos, fragmentos que sustentam mais ou menos determinado grupo. A proximidade entre as famílias *Solanaceae* e *Convolvulaceae* é justificada pela substituição dos iridoides<sup>10</sup> pelos alcalóides tropânicos<sup>11</sup>. Representada por aproximadamente 2000 espécies distribuídas em 95 gêneros às plantas (AUSTIN E CAVALCANTI, 1982).

A família *Solanaceae*, é uma família de grande importância para a alimentação da sociedade e mais comuns exemplos como: a batata (*Solanum tuberosum.*) e o tomate (*Solanum lycopersicum*), etc e algumas espécies são venenosas fazem estudos mais frequentes (SILVA, 2008).

#### **4.1.3 Família Convolvulaceae**

A família *Convolvulaceae*, possui larga distribuição mundial com numerosas espécies nos trópicos e pouquíssimas nas zonas temperadas (AUSTIN E CAVALCANTI, 1982), sendo o Brasil, detentor do maior número de táxons da referida família com a maioria de suas espécies endêmicas no Brasil (JUDD *et al.* 1999).

O nome da família deriva do latim *convolvere* = entrelaçar. Em termos gerais, o significado do nome designa tanto à forma quanto ao seu crescimento. Como a maioria, dos exemplares desta família são trepadeiras volúveis que se enroscam em amparos como árvores, arbustos ou cercas (ARAÚJO, 2010). São ervas anuais, bianuais, vivazes, ou parasitas (gênero *Cuscuta*) com hábito caracteristicamente trepador, as folhas são simples, alternas, pecioladas ou subsésseis; as flores contendo cinco meras, actinomórficas,<sup>12</sup> geralmente solitárias na axila e o fruto é uma cápsula (PORTUGAL, 2017).

A família *Convolvulaceae* tem distribuição principalmente tropical, com representantes em climas subtropicais e temperados. São plantas em geral lianescentes (lianas), ocorrendo também na forma de arbustos e arvoretas<sup>13</sup>.

---

<sup>10</sup> São metabólitos secundários, encontrados em mais de 50 famílias de plantas.

<sup>11</sup> Alcaloides tropânicos apresentam em comum uma estrutura bicíclica, denominada tropano 8-metil-8-azabicyclo (2,3,1octano).

<sup>12</sup> Tem simetria radial e pode ser dividido em metades simétricas.

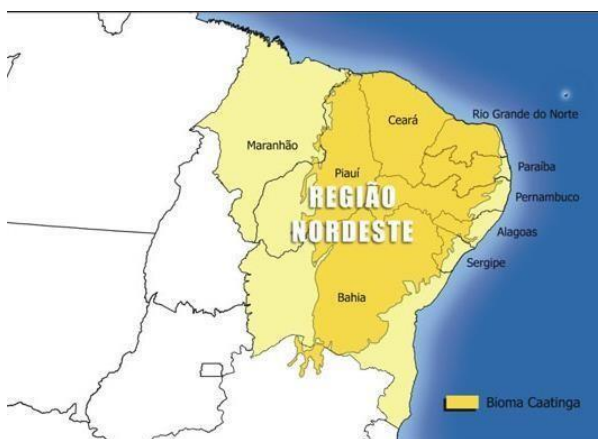
<sup>13</sup> Árvores pequenas.

Trata-se de uma liana perene da família *Convolvulaceae* com floração entre março a outubro, encontrada como invasora em diversas culturas e em margens de lagoas e praias marítimas, de preferência em solos arenosos (BLANCO, 1978; KIILL & RANGA, 2003).

Foi descrita em 1789 por Jussieu na obra *Genera Plantarum* e desde então poucas modificações foram realizadas quanto à sua delimitação, sendo considerada uma família monofilética (STANDLEY & WILLIAMS 1970; AUSTIN & CAVALCANTI 1982; SIMÃO-BIANCHINI 1998; JUDD et al. 1999; STEFANOVIĆ et al. 2002, 2003); segundo Judd *et al.* (1999) é formada por 55 gêneros e 1.930 espécies.

Aproximadamente 312 espécies ocorrem nas mais diversas formações vegetais brasileiras com numerosas espécies integradas nos jardins do mundo inteiro. Ocorrem em formações vegetacionais variadas, desde a Caatinga (Figura 19) até a Amazônia, sendo mais frequentes em ambiente de campos abertos e em bordas de mata (SIMÃO-BIANCHINI E PIRANI, 1997; LORENZI E MOREIRA, 1995).

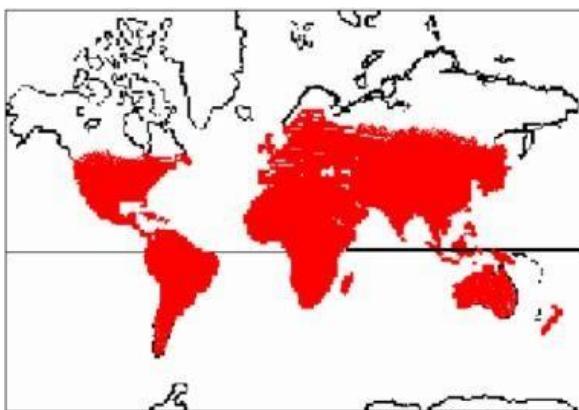
**Figura 169** – Bioma da Caatinga



Fonte: CASTELLETTI *et al.*, 2004.

A distribuição das espécies concentra-se nas regiões tropicais e subtropicais (Figura 20), com poucos representantes nas zonas temperadas (HEYWOOD, 1993). No Brasil, são predominantes em áreas abertas como cerrado e caatinga, onde as espécies apresentam características morfológicas bastante marcantes do semiárido.

**Figura 20** – Distribuição geográfica mundial de *Convolvulaceae*



Fonte: HEYWOOD, 1993.

Atualmente, de acordo com Grupo para a Filogenia das Angiospermas (do inglês *Angiosperm Phylogeny Group* – APG II) (2003), *Convolvulaceae* deve ser mantida na ordem *Solanales*, juntamente com *Solanaceae*, *Shenocleaceae*, *Hydrocleaceae* e *Montiniaceae*. Dentre estas famílias a única que não possui representantes no Brasil é *Montiniaceae* (SOUZA & LORENZI, 2005).

Entre as diversas espécies de *Convolvulaceae* algumas são importantes por serem alimentícias, daninhas, ornamentais, medicinais ou tóxicas, sendo, portanto fundamental o conhecimento destas (SIMÃO & BIANCHINI, 1998).

Segundo Simão-Bianchini (2002), *Convolvulaceae* também se destaca por apresentar espécies endêmicas para a caatinga. Apesar disto, estudos englobando o táxon no bioma são ainda escassos. Dentre os trabalhos taxonômicos para o Brasil, o mais abrangente sobre *Convolvulaceae* ainda é o de Meissner (1869) que fez a monografia da família para a Flora Brasiliensis, no qual reconheceu 14 gêneros e 312 espécies. Moricand (1844) publicou muitas espécies novas para o Nordeste do Brasil, especialmente para a Bahia (Figura 21).

**Figura 21** – Espécies encontradas no Nordeste brasileiro



Fonte: BURIL, GONZÁLES & ALVES, 2011.

Dentre os gêneros mais representativos de Convolvulaceae são: *Ipomoea L.* com cerca de 600 espécies (SIMÃO-BIANCHINI, 1998), sendo apontado o mais expressivo (BURIL-VITAL *et al.*, 2009), *Convolvulus L.* com 250 espécies (AUSTIN & CAVALCANTI 1982) e *Cuscuta L.* com 150 espécies (YANCKER, 1932).

#### 4.1.4 Gênero *Ipomoea*

A família taxonômica Convolvulaceae corresponde a cerca de 2000 espécies agrupadas em 55 gêneros, dos quais *Ipomoea* é o maior por conter mais de 600 espécies (ARAÚJO, 2010). O gênero com maior riqueza específica, 600-700 táxons, e está representado no Brasil por aproximadamente 140 espécies (FERREIRA; SILVA, 2009).

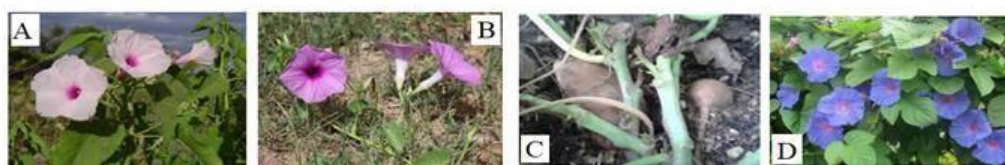
Segundo Brasil (2010), o gênero *Ipomoea* ocorre principalmente em regiões tropicais, sendo identificadas em praticamente todo o território nacional (embora apresente uma menor incidência nos estados da região Sul do país).

Quanto à importância econômica, sem dúvida *Ipomoea batatas (L.) Lam.*, conhecida popularmente como batata-doce, é a espécie com maior destaque, sendo muito utilizada na alimentação humana e animal (JOLY & LEITÃO FILHO 1979). Suas raízes são ricas em amido (HOEHNE 1922; SIMÃO-BIANCHINI 1998), e por isso é consumida por todo o globo, principalmente nos países tropicais da África e América do Sul. Outras também são usadas na forma de chá como antirreumática, antiofídica e depurativa do sangue, analgésica e calmante (BURIL-VITAL *et al.*, 2009).

Entre as plantas consideradas tóxicas, destaca-se *Ipomoea carnea* Jacq. e a *Ipomoea asarifolia* que em períodos de seca é consumida pelo gado na falta de outra fonte de alimento. São plantas tóxicas que, aparentemente, afeta o sistema nervoso central de ruminantes, causando uma síndrome tremorgênica (popularmente conhecida como doença "treme-treme"). A sua toxidez já foi comprovada experimentalmente em bovinos, ovinos, caprinos e bubalinos (DOBEREINER *et. al.*, 1960; BARBOSA *et. al.*, 2005).

Devido à grande variação na coloração e à beleza das flores (Figura 22) algumas espécies são muito utilizadas na ornamentação.

**Figura 22** – Flores de diferentes espécies do gênero *Ipomoea* encontradas na região no município



A - *Ipomoea carnea* Jacq. (foto tirada distrito Pai João)    B - *Ipomoea asarifolia*. (foto tirada Barriguda)    C - *Ipomoea batatas*. (foto tirada sitio Tope)    D - *Ipomoea indica*. (foto tirada sitio Aningas)

Fonte: AUTORA, 2016-2017.

#### 4.1.5 Espécie *Ipomoea indica*

A espécie *Ipomoea indica* representa uma planta perene da família *Convolvulaceae* que flora entre os meses de março a outubro e permanece verde todo o ano, povoando margens de córregos, rios, proximidade de reservatórios de água, terrenos baldios, beira de estradas, além de representarem importantes invasoras de pastagens por todo território nacional (KIILL & RANGA, 2003).

O desenvolvimento da espécie ocorre mesmo em solos de baixa fertilidade, identificando-se uma preferência por áreas arenosas para o pleno desenvolvimento da erva daninha. Devendo ser cultivada a pleno sol é uma planta rústica e apresenta crescimento rápido, sendo frequente sua utilização como trepadeira anual e ainda tolera o frio.

Essa é uma planta nativa da América do Sul, podendo ser encontrada em diversas regiões do Brasil. Seu hábitat é em terrenos baldios, borda de matas e beira de estradas. Sendo uma trepadeira com indumento seríceo e corola roxa. Semelhante às espécies como a *Ipomoea purpurea* e a *Ipomoea nil*, das quais difere (Figura 23) por estas possuírem indumento hirsuto, ou seja, apresentam pelos (FERREIRA; SILVA, 2009).

**Figura 23** – Diferenças das espécies *I. purpurea*, *I. indica* e a *I. nil*



Fonte: AUTORA, 2017.

É uma planta de origem nativa e não endêmica brasileira. Tem forma de vida liana, volúvel, trepadeira e de substratos terrícola. No Brasil a espécie é encontrada nos mais diversos biomas e regiões brasileiras (Figura 24). Sendo mais comum em paisagens do Nordeste, especificamente, nos estados de Alagoas, Bahia, Ceará, Paraíba, Pernambuco, Rio Grande do Norte, Sergipe (FLORA BRASIL, 2014).

**Figura 17** – Distribuição geográfica brasileira da espécie



Fonte: FLORA DO BRASIL 2020, 2017.

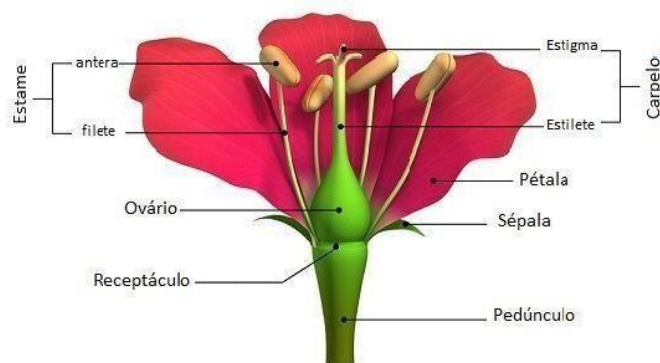
#### 4.1.5.1 Estudo da flor de *Ipomoea indica*

As angiospermas produzem raiz, caule, folha, flor, semente e fruto. Considerando essas estruturas percebe-se a presença de flores e frutos. Sendo estas existentes apenas nas plantas angiospermas, que são mais evoluídas.

As flores podem ser vistosas tanto pelo colorido quanto pela forma; muitas vezes também exalam odor agradável e produzem um líquido açucarado - o néctar - que serve de alimento para as abelhas e outros animais. Há também flores que não têm peças coloridas, não são perfumadas e nem produzem néctar. Coloridas e perfumadas ou não, é das flores que as angiospermas produzem sementes e frutos. É a estrutura responsável pela reprodução das plantas e sua função é a de produzir sementes.

A flor considerada completa é dividida em estames (parte masculina), carpelos (parte feminina), pétalas e sépalas. Toda a estrutura é sustentada pelo pedúnculo, que é a haste responsável por ligar a flor à planta. A parte dilatada do pedúnculo ligada à flor é denominada receptáculo (Figura 25).

**Figura 185** – Flor: estruturas e partes



Fonte: FURLAN, 2017.

Estudos comprovam que existe uma preferência de cores pelos polinizadores. As abelhas preferem as azuis e amarelas. Podem discernir também diferenças na absorção de UV e são sensíveis aos flavonoides, que absorvem intensamente nesta região do espectro; estes compostos estão presentes praticamente todas as flores brancas e com cores. As abelhas são insensíveis à cor vermelha e às vezes guiadas a flores com esta cor, pela presença de flavonas, que absorvem luz UV, de coloração púrpura. As borboletas também



apresentam sensibilidade as cores das flores sendo atraídas por cores mais vivas (FURLAN, 2017).

Quanto às flores de *I. indica* (salsa-brava) possuem forma de trombeta, predominando o azul nas suas pétalas com 3 a 6 cm de diâmetro. A planta se enlaça ao redor de estruturas com seus galhos. Crescendo a uma altura entre 2 a 3 metros. As folhas tem forma de coração ou de três pontas além, de galhos com pequenos pelos marrons. Todas as manhãs as flores se abrem (Figura 26), logo que os raios solares começam a incidir sobre a planta. Assim, esta trepadeira, que estava toda verde, cobre-se e ganha um “visual” diferente.

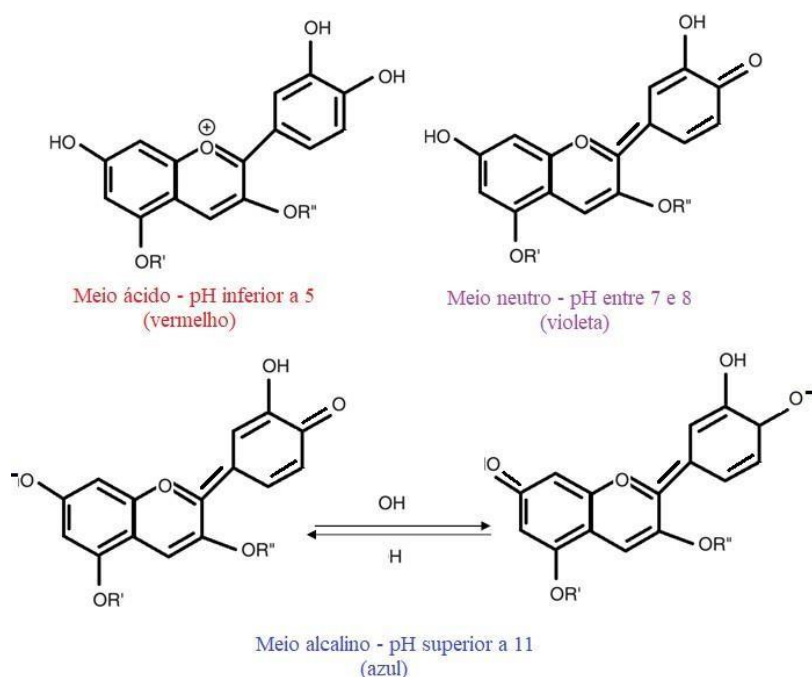
**Figura 196** – Flores de salsa-brava/jetirana encontradas em cercas de arame



Fonte: AUTORA, 2016.

A química da cor da flor é devida principalmente à presença de pigmentos localizados em cromoplastos ou vacúolos celulares de tecidos florais (BOSQUEIRO, 1998). Esses pigmentos chamados de antocianinas (tipo de flavonoides) se comportam reagindo de maneira diferente com um ácido e com uma base, devido as propriedades anfotéricas e a coloração (Figura 27) dos tecidos vegetais pode ser determinado pelo pH do meio em que se encontram.

**Figura 207** – Estruturas das antocianinas de acordo com a sua coloração e meio em que se encontram



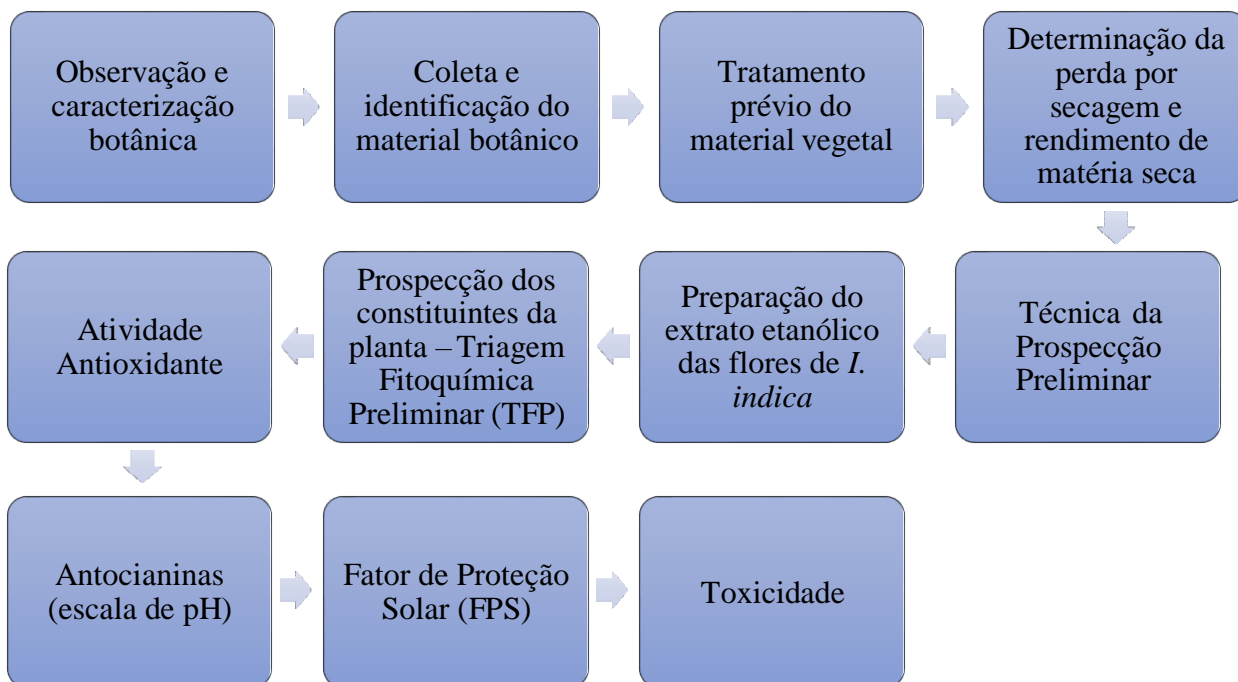
Fonte: AUTORA, 2017.

O grupo mais importante desses pigmentos florais são os flavonoides, que contribuem para a cor ciânica (laranja, vermelha e azul) e para branco e vermelho. Nas cores ciânicas a base química é constituída por uma classe de flavonoides – antocianidina (antocianina características das cores de flores e frutos) – onde há três pigmentos vegetais: pelargonidina (vermelho – laranja), cianidina (carmim) e delphinidina (azul e púrpura) (BOSQUEIRO, 1998).

## 5 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

A metodologia para os estudos botânico, químico e biológico da flor de salsa-brava, *I. indica*, se estabeleceu conforme representada o esquema abaixo (Figura 28).

**Figura 28** – Etapas metodológicas para a análise da flor de *I. indica* (salsa-brava)



Fonte: AUTORA, 2017.

### 5.1 Coleta e Identificação do Material Botânico

Antes da coleta foi realizada uma pesquisa de campo para quantificação das espécies nas três comunidades rurais encontradas distrito Pai João, sítio Fernandes e Aningas, além da sede do município, no intuito da observação do solo, condições ambientais e diversos locais onde a planta pode ser encontrada, sendo avaliadas as diferentes condições de temperatura e pressão, conforme Kiill e Ranga (2003) enunciam, a *Ipomoea indica* planta herbácea de característica trepadeira e rasteira, de flores roxas encontra-se em diversos locais.

O local escolhido para as coletas das amostras foi a mais próxima da autora, a sede do município de Aratuba (Figura 29), nas coordenadas: 04° 25' 06" S e 39° 02' 42" W.

Este localiza-se na região Sertão-Central, do estado do Ceará, microrregião Baturité, serra de Guaramiranga, sob as seguintes coordenadas geográficas: latitude S 04° 25' 04" e longitude W 39° 02' 42".

**Figura 21** – Mapa da cidade de Aratuba



Extraído de: GOOGLE MAPS, 2016.

O topônimo Aratuba tem origem na língua tupi. Significa "ajuntamento de pássaros", através da junção dos termos *gûyrá* ("pássaro") e *tyba* ("ajuntamento"). Possui uma área com uma área de 142,538 km<sup>2</sup> (IBGE, 2008) e população de 11 529 habitantes (IBGE, 2008). Sendo considerada a cidade mais alta do Estado em uma altitude de 838 m, sendo que a sede do município localiza-se a 945 metros de altura, distanciando a 132 km de Fortaleza, capital. Apresentando clima tropical subquente úmido, temperatura média anual entre 20 e 26 °C e com índice pluviométrico médio anual de 1181.7 mm a 927.0 mm (FUNCEME, 2016).

Após a coleta, uma amostra foi montada uma exsicata e encaminhada ao Herbário Prisco Bezerra, da Universidade Federal do Ceará (UFC) para identificação botânica da espécie, realizada pela Prof<sup>ª</sup>. Maria Iracema Bezerra Loiola (professora taxonomista), com o n<sup>o</sup> de registro ainda a declarar.

A coleta das flores foi realizada várias vezes, nos meses de maio a julho, sempre no período da manhã (flores abertas), após foram armazenadas em sacos transparentes (Figura 30) de polietileno em local fresco/arejado e depois encaminhadas para o Laboratório de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade da Integração

Internacional da Lusofonia Afro-brasileira (UNILAB), Redenção-CE, a 72 km do município de coleta, no laboratório foram realizados os testes fitoquímicos e demais análises necessárias para estudo da espécie em questão.

**Figura 22** – Armazenamento das flores encaminhadas para o Laboratório de Química Orgânica e Inorgânica (Unilab)



Fonte: AUTORA, 2017.

## 5.2 Preparação do extrato etanólico das flores de *I. indica*

O material, após a trituração com aproximadamente, 0,3 mm de tamanho das partículas, foi separado 34 g da amostra e adicionado em 340 ml de álcool etílico hidratado (etanol) 92,8% (1:10), por quatro dias, conforme a figura 31. O extrato etanólico (EE) foi obtido após cinco extrações sucessivas em intervalos de quatro dias.

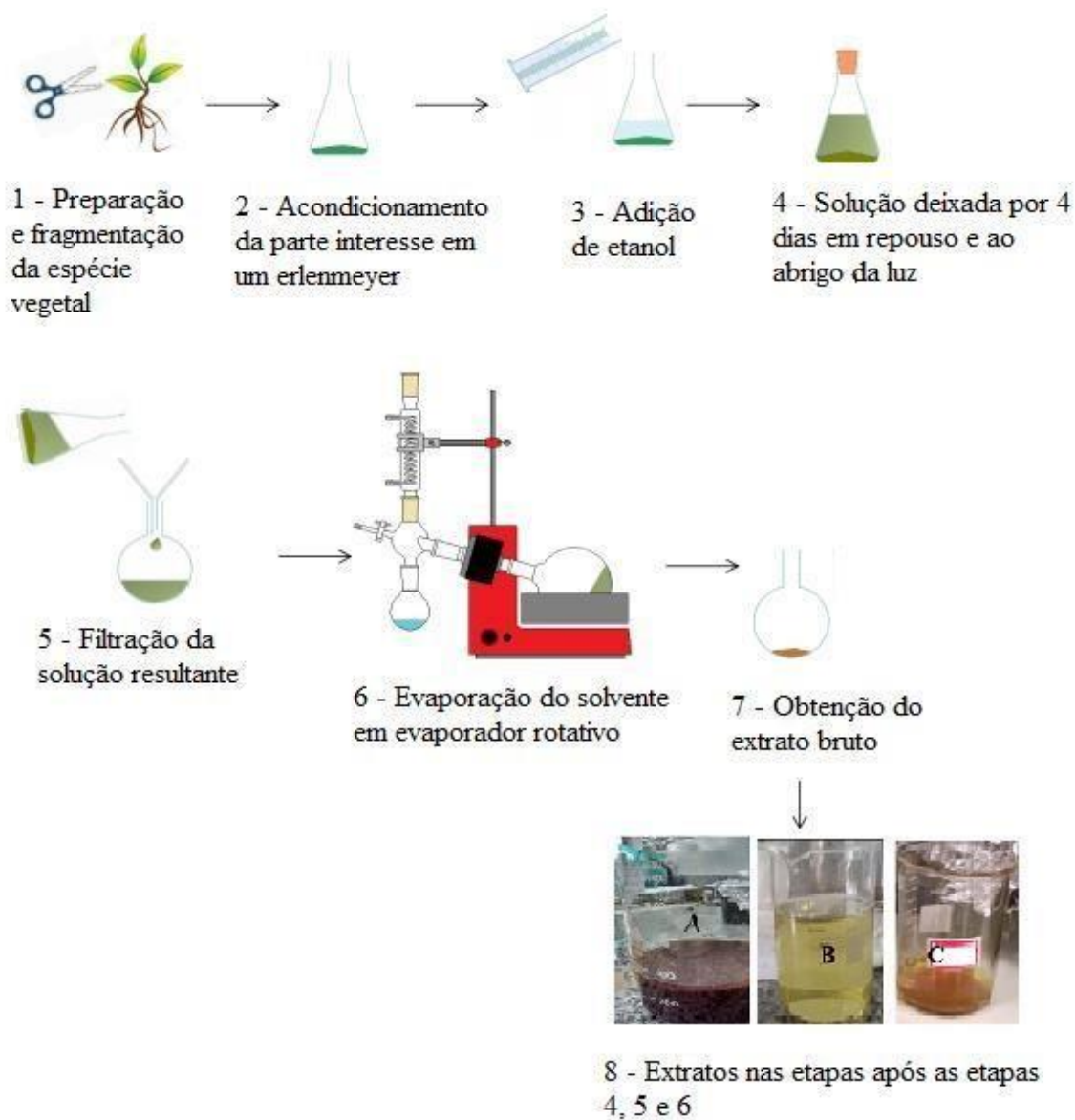
Os extratos foram filtrados (Figura 31) e acondicionados em frascos e/ou béqueres.

Posteriormente, as soluções extrativas filtradas foram submetidas ao processo de rotoevaporação, à temperatura de 60°C, sob pressão de 500 a 750 mmHg, onde o solvente foi evaporado em evaporador rotativo. Toda a quantidade dos extratos (Figura 31) concentrado adquirida foi devido ao uso do rotaevaporador, modelo 652, (Fisotom®).

Após esse processo da evaporação do álcool e obtenção do extrato seco da flor, a tintura foi concentrada no fundo do evaporador rotativo e a massa da amostra foi de 6,04

g de extrato. Cinco dias depois, a amostra total, com a evaporação de resíduos de solvente, obteve-se a concentração de 2,5 g.mL<sup>-1</sup> para posterior análise fitoquímica qualitativa.

**Figura 231** – Esquema simplificado da metodologia para obtenção dos extratos vegetais etanólico (EE) das flores de *I. indica* (salsa-brava)



Fonte: AUTORA, 2017.

Os extratos etanólicos das flores de *I. indica* foram submetidos a uma triagem fitoquímica qualitativa para avaliar a presença de compostos fenólicos, terpenos e/ou alcaloides, como por exemplo, fenóis, taninos, flavonoides, cumarinas, triterpenoides, esteroides, saponinas, glicosídeos cardiotônicos e alcaloides.

### 5.3 Prospecção dos constituintes da planta – Triagem Fitoquímica Preliminar (TFP)

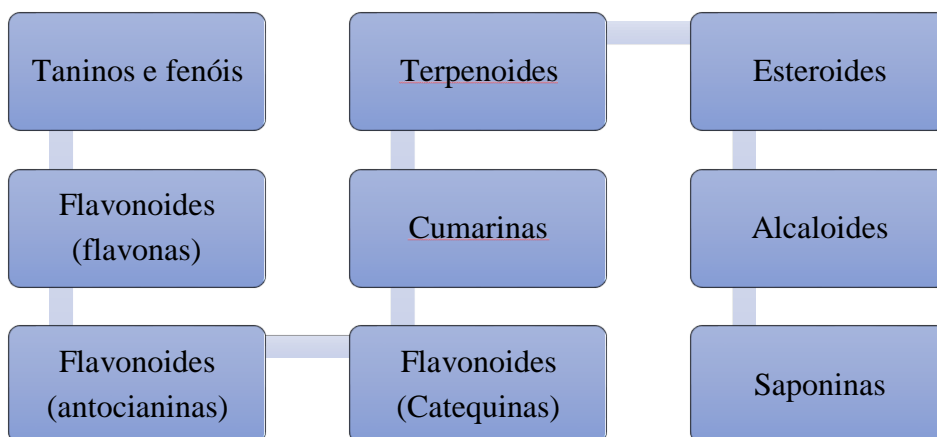
A composição química de um extrato pode ser conhecida através de testes químicos qualitativos rápidos e de baixo custo, sugerindo as possíveis classes de metabólitos secundários de interesse (MATTOS, 1997). São úteis enquanto marcadores químicos no monitoramento das plantas medicinais em processo de domesticação (LEITE, 2009), na qualidade da matéria prima medicinal e na prospecção da biodiversidade ou bioprospecção (BRAGA, 2009).

A triagem fitoquímica (Figura 32) é um procedimento importante para bioprospecção das espécies vegetais de interesse farmacológico e/ou toxicológico. (MATTOS, 1997). Esta triagem procura sistematizar ou rastrear os principais grupos de constituintes químicos que compõem um extrato vegetal. É um teste rápido e superficial através de reagentes de coloração ou precipitação que irão revelar ou não a presença de metabólitos secundários em um extrato.

Esta pesquisa fitoquímica é importante, principalmente, pois existem poucos ou inexistentes estudos sobre a espécie em questão, *I. indica* (salsa-brava), segundo Simões (2004) quando ainda não são dispostos todos os estudos químicos com espécies de interesse popular, tendo como objetivo conhecer os compostos químicos das espécies vegetais e avaliar sua presença nos mesmos, identificando grupos de metabólitos secundários são relevantes.

Assim, foram realizados testes para as classes específicas de constituintes químicos, como por exemplo, taninos, flavonoides, cumarinas, triterpenoides/esteroides, saponinas, antocianinas, alcaloides e glicosídeos cardiotônicos (Figura 32).

**Figura 242** – Esquema da Triagem Fitoquímica Preliminar (TFP)



Fonte: AUTORA, 2016.

Inicialmente, as análises com o extrato etanólico bruto do material botânico usado para descobrir a presença de metabólitos primários e secundários foram executadas em duplicatas e os resultados foram comparados e contrastados observando alteração de cor e precipitação de partículas. Além de seguir a metodologia citada por Matos (1997) e por Silva e colaboradores (2010).

### 5.3.1 Teste para Fenóis e Taninos

Em tubos de ensaio foi colocado 2,00 mL do extrato etanólico das flores de *I. indica*, sendo adicionado 10 mL de água destilada. Depois se acrescentou três gotas de solução de cloreto férrico ( $\text{FeCl}_3$ ), utilizando a pipeta de Pasteur, da solução de cloreto férrico a 10%. Em outro tubo de ensaio foi preparado o teste controle para a presença de fenóis e taninos, usando 3 mL de água e 3 gotas de  $\text{FeCl}_3$ . Posteriormente, foi realizado comparação para detecção ou não na amostra de taninos e fenóis.

Qualquer mudança na coloração ou formação de precipitado é indicativa de reação positiva, quando comparado com o teste em branco (água + Solução de  $\text{FeCl}_3$ ). Coloração inicial entre o azul e o vermelho é indicativa da presença de fenóis, quando o teste em branco for negativo.

Assim, o teste para taninos e fenóis foi utilizado a solução de cloreto férrico ( $\text{FeCl}_3$ ) foi avaliada da seguinte forma: a coloração azul indica possível presença de taninos hidrolisáveis ou gálico, e a coloração verde de taninos condensados ou catéuico.

Coloração azul com precipitado → reação positiva para taninos hidrolisáveis (gálicos).

Coloração azul sem precipitado → reação negativa para taninos hidrolisáveis (gálicos).



Coloração verde sem precipitado → reação positiva para taninos condensados (catéquicos).

Coloração verde com precipitado → reação negativa para taninos condensados (catéquicos).

### **5.3.2 Teste para flavonoides (flavonóis, flavonas e xantonas)**

A presença de flavonoides foi avaliada pela Reação de Shinoda (SILVA et al., 2010). Colocou-se em um tubo, 2,0mL extrato etanólico das flores de *I. indica*, foi adicionado algumas gotas de ácido clorídrico (HCl) concentrado (PA A.C.S Sal-R), pelas paredes do tubo e 0,5 cm de magnésio (Mg) em fita.

Após o fim da efervescência, foi observada, por comparação, a mudança na cor da mistura da reação em tubos previamente acidulados devem apresentar de róseo a vermelho intenso para indicar a presença dessa classe de flavonoides e variação do amarelo para o vermelho negativo.

### **5.3.3 Teste para flavonoides (antocianidinas, antocianinas e flavonóis)**

Foram preparados três tubos de ensaio com 3 mL do extrato etanólico de flores de *I. indica* em cada um dos recipientes. O primeiro foi acidulado até pH 3, com ácido acético (C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O<sub>2</sub>); o segundo e o terceiro tubo foram alcalinizados entre o pH 8,5 e 11 respectivamente, usando solução de hidróxido de sódio (NaOH) a 5%.

### **5.3.4 Teste para flavonoides (leucoantocianidinas, catequinas e flavonas)**

Foram preparados dois tubos de ensaio com 3 mL de extrato etanólico das flores de *I. indica* em cada um. O primeiro tubo foi acidificado por adição de HCl para que seu pH estivesse entre 1,0 e 3,0 e o segundo tubo foi alcalinizado com NaOH a 5% para que seu pH estivesse em torno de 11,0. Os tubos foram levados à placa de aquecimento à 38° C por 3 min em um Becker com água destilada.

### **5.3.5 Teste para Cumarinas**

Em um tubo de ensaio com 3 mL do extrato etanólico das flores de *I. indica*, adicionou-se 1mL de solução alcalina de NaOH a 5%. A mudança na cor da mistura apresentando tom amarelo indica presença de cumarinas.

Coloração amarela → reação positiva para cumarinas.

### 5.3.6 Teste para terpenoides

Em um tubo de ensaio com 3 ml de extrato das flores de *I. indica* e adiciona-se 1 ml de clorofórmio e 4 a 5 gotas de ácido sulfúrico puro a 98% são adicionados, na capela. A formação de cor marrom vermelho vai indicar a presença de terpenoides.

Reação positiva para Terpenos/Terpenoides → Coloração avermelhada.

### 5.3.7 Teste para Triterpenoides

Em um tubo de ensaio com 3 ml de extrato das flores de *I. indica* adiciona-se 1 ml de clorofórmio e 1 ml de 98% de ácido sulfúrico puro. A formação de cor variando de parda até vermelha indica a presença de esteroides.

Esteroides/Triterpenoides → Coloração castanho – avermelhado

### 5.3.8 Teste para alcaloides

Para os testes de alcaloides foi gotejado na amostra das flores de *I. indica* três reativo diferentes Mayer (tubo 1), de Dragendorff ( tubo 2) e de Wagner (tubo 3) pois eles apresentam reagem na presença de alcaloides. Dessa forma, foram preparados os reagentes conforme a literatura.

O Reagente de Dragendorff pode ser utilizado para visualizar a maioria, quem sabe até a totalidade, dos compostos orgânicos nitrogenados. Consiste na preparação de duas soluções (WALL, 2005):

- a) Solução A: Nitrato de Bismuto (III) é dissolvido em ácido acético e água;
- b) Solução B: Iodeto de potássio é dissolvido em água.

A partir da mistura de igual proporção destas soluções, prepara-se uma solução de estoque. A solução a ser borrifada é obtida pela mistura da solução de estoque com ácido acético e água.

Para o Reagente de Mayer dissolve-se em água 2,71 g de cloreto de mercúrio e 10 g de iodeto de potássio. Depois completar o volume com água para 200 ml. Agitar, filtrar e guardar em recipiente.

Para o Reagente de Bouchardat/Wagner (solução de ácido silicotúngstico). Feita pela adição de iodo, iodeto de potássio (KI) e água destilada. Assim podem-se utilizar os reagentes nos extratos para indicação de alcaloides.

Os extratos das flores de *I. indica* foram concentrados em um tubo de ensaio diferentes e solubilizados em 3 mL de ácido clorídrico 2%, onde aqueceu mistura por 10 minutos. Após o resfriamento, o extrato foi dividido em três tubos de ensaios e colocaram-se oito gotas, utilizando pipeta de Pasteur, em três porções iguais, nas quais foram gotejadas aos poucos o seguinte reagente de, respectivamente.

A coloração do extrato das flores de *I. indica* com cada reagente para avaliação positiva ou negativa de alcaloides deve-se ser feita da seguinte maneira: A presença de turvação e/ou precipitação com a adição dos reagentes de Dragendorff, Mayer e Bouchardat/Wagner indica a presença de alcaloides.

### **5.3.9 Teste para saponinas**

Em um tubo de ensaio, com 2,0 mL da solução etanólica, foi adicionado 5,0 mL de água destilada fervendo. Após resfriamento, agitou-se vigorosamente, deixando em repouso por 20 minutos. Os extratos hidroalcoólicos foram agitados por três minutos e depois foi observada a presença ou ausência de espuma persistente e abundante.

### **5.3.10 Glicosídeos cardiotônicos**

Avaliados pela reação de Keller-Kiliani (SILVA *et al.*, 2010). A reação de Keller-Kiliani (ácido acético glacial, numa gota de cloreto férrico III a 5% em etanol e ácido sulfúrico concentrado). Assim, em um volume de 3 mL do extrato etanólico das flores de *I. indica* foi adicionado 1 mL de ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) concentrado, contendo sais férricos. Colorações intensas indica resultado positivo e deve ocorrer a formação de um anel vermelho pardo ou marrom.

Em outro tubo de ensaio coloca-se 1 ml de extrato das flores de *I. indica* e adiciona-se 1 ml de ácido acético glacial e algumas gotas de cloreto férrico e 1 ml de ácido sulfúrico puro a 98% são adicionados, se houver formação de anel marrom vai indicar a presença de glicosídeos cardiotônicos para comparação dos resultados.

## **5.4 Atividade antioxidante pelo sequestro de radicais DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila)**

Todos os reagentes e solventes utilizados foram de grau analítico empregando metodologias de quantidades significativas de reagentes, padrões e amostras, e apresentando limitações em relação ao número de análises simultâneas que podem ser realizadas.

A solução de DPPH foi preparada anteriormente no dia do teste e estocada em frascos cobertos com folhas de alumínio, mantidas no escuro a 4 °C até o momento das determinações.

Já as soluções de compensação foram feitas usando apenas etanol no lugar da solução de DPPH e serviram como controle negativo e o controle positivo foi feito pela adição da solução de ácido ascórbico e DPPH. O percentual de decréscimo na absorbância 520 nm foi medido para cada concentração e a capacidade de sequestrar radicais livres foi calculada com base no decréscimo da absorbância observada.

Segundo Moç *et. al.* (2011) a concentração inicial da solução de DPPH deve ser de 3,8 mM para um tempo de reação minutos 6 e sendo a quantidade da solução de DPPH utilizado 20 µL sendo o solvente utilizado etanol numa absorbância de 520 nm, os quais foram lidas em Espectrofotômetro HP series 8453®.

Assim, nas proporções estabelecidas a atividade *scavenge* do extrato vegetal foi determinada usando uma alíquota de 2,0 mg de DPPH dissolvidos em 100 mL de etanol em um balão volumétrico, resultando em uma solução de concentração 100 µg.L<sup>-1</sup> (500 µM), com absorbância em 520 nm de 0,4 UA para o tempo de reação 30 minutos.

O controle foi preparado conforme procedimento acima, sem adição de extrato, e etanol foi utilizado para correção da linha de base. Sendo o volume para a solução padrão de ácido ascórbico preparado nas mesmas proporções dos extratos extrato etanólico das flores *I. indica* com concentração final 2000,0 mg.mL<sup>-1</sup>. Depois adicionado à alíquota de DPPH e deixado em repouso em local escuro, por 30 minutos.

O ácido ascórbico é uma substância referência bastante utilizada nas análises de atividade antioxidante pela capacidade de reduzir rapidamente o DPPH e foi utilizado como padrão positivo que possui padrão antiradical de 2,272 e IC<sub>50</sub> de 0,04 µg/mL.

Já para as soluções etanólicas da amostra do extrato etanólico das flores *I. indica* foram preparadas pela adição de 100 mL de DPPH (0,004% m.v<sup>-1</sup>), e o volume final foi

ajustado para 120 mL com etanol em um balão volumétrico. A concentração final dos extratos no recipiente foi de 1,0 µg.mL<sup>-1</sup> a 2000,0 mg.mL<sup>-1</sup>.

As alíquotas 5 mL de volumes da amostra de extrato etanólico das flores *I. indica* foram transferidas para seis tubos de ensaio. Em um dos tubos foi adicionado 1 mL de etanol e 4 mL de DPPH. Em seguida, foram preparadas diluições dessa solução para obtenção de diferentes concentrações 0,0312, 0,0625, 0,125, 0,25, 0,5 e 1 µg/mL.

Cada amostra foi incubada após 28 minutos de reação à temperatura ambiente (25 °C), no escuro e envolto em uma toalha. Para finalização dos 30 minutos na preparação das amostras para as leituras das absorbâncias. Estas leituras foram realizadas em duplicatas e medidas em espectrofotômetro de microplaca com incubação de cubetes de quartzo no Espectrofotômetro HP series 8453® utilizando-se etanol como branco mais o DPPH.

Os dados obtidos foram usados para calcular a porcentagem de atividade antioxidante (%AA), que corresponde à quantidade de DPPH consumida pelo antioxidante. A capacidade de sequestrar radical livre foi expressa como percentual de inibição de oxidação do radical e calculado conforme fórmula (Equação 1):

$$\% \text{AA} = \frac{(\text{Abs(Controle)} - [\text{Abs(Amostra)} - \text{Abs(Branco)}])}{(\text{Abs(Controle)})} \times 100 \quad \dots(1)$$

Onde:

Abs (controle) = absorbância da solução de DPPH sem a amostra.

Abs (amostra) = absorbância da amostra em solução.

[Abs(amostra) - Abs(compensação)] = foi calculado com base na diferença da absorbância da solução de amostra em teste com seu branco.

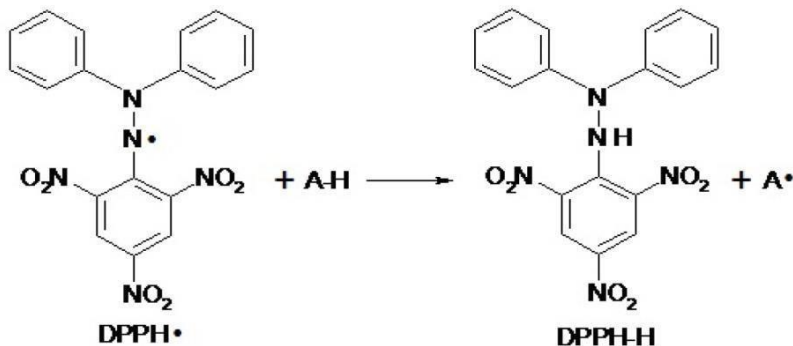
Posteriormente, foi calculada o valor do índice de concentração eficiente (IC<sub>50</sub>) que é definido como sendo a concentração final em µg.mL<sup>-1</sup> do extrato das amostra da flores *I. indica* presente na cubeta, requerido para decrescer a concentração inicial de DPPH em 50%. Esse índice é relevante porque quanto maior o consumo de DPPH por uma amostra, menor será a sua concentração eficiente (CE<sub>50</sub>) e maior a sua atividade antioxidante (SOUSA *et al.*, 2007).

De modo geral, sabe-se que os compostos fenólicos são potentes antioxidantes naturais, podendo agir como redutores de oxigênio singlete, atuando nas reações de oxidação lipídica, assim como na quelação de metais.

A metodologia utilizada para o potencial da atividade antioxidante foi realizada em duplicata para cada concentração analisada pelo método de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila). A molécula de DPPH é formada por dois anéis aromáticos de 6 membros, contendo átomos de C e H. Além de um anel picrilhidrazila, constituído por um anel aromático de 6 membros ligado a três grupos nitro (NO<sub>2</sub>) e a uma hidrazina, onde o átomo de N ligado diretamente ao anel está com um elétron desemparelhado, o que caracteriza a espécie como um radical livre.

Assim as substâncias antioxidantes presentes nos extratos reagem com o DPPH que é um radical estável (Figura 33 à esquerda), e converte-o em 2,2-difenil-1-picrilhidrazina (Figura 33 à direita).

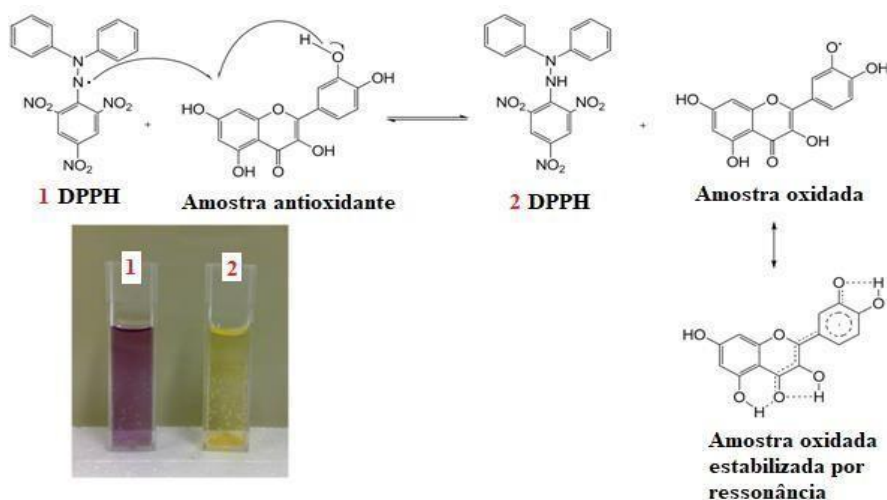
**Figura 33** – Mecanismos de reação entre o radical DPPH e um antioxidante através da transferência de um átomo de hidrogênio (direita).



Fonte: VASCONCELOS *et. al.*, 2007.

Esse método de inibição de radicais DPPH analisa a capacidade de sequestrar radicais livres fundamentando-se na transferência de elétrons de um composto antioxidante para um oxidante. Assim ocorre um descolorimento de uma solução composta por radicais estáveis DPPH, de cor violeta, que reage quando à adição de substâncias que podem ceder um átomo de hidrogênio (Figura 34). O grau de descoloração indica o potencial antioxidante do extrato.

**Figura 34** – Redução do radical livre DPPH por uma amostra antioxidante



Fonte: MORAIS *et. al.*, 2009.

Os resultados foram comparados com uma solução padrão de vitamina C de concentração  $20\mu\text{g/mL}$  e  $\text{CE}_{50}$   $0,004$  mg. Todas as medidas foram realizadas em cada uma das concentrações, em duplicata, e os resultados foram expressos em  $\mu\text{g.L}^{-1}$ , como média e desvio padrão. E, das respectivas leituras de absorvância foi construída a curva de calibração e obtida a equação da reta pelo método dos mínimos quadrados.

### 5.5 Escala de pH (antocianinas)

Segundo Dias *et. al.* (2003), a via de extração de pigmentos alcoólica é a mais eficiente, pois, quando os extratos/indicadores são colocados em contato com as substâncias, oferecem maior distinção na variação das cores.

Para a extração do pigmento da flor de salsa-brava (*I. indica*) foram utilizadas duas concentrações dos extratos etanólicos da flor. O primeiro menos concentrado (1,5 g de pétalas para 96 ml de etanol) e o segundo mais concentrado (3,0 g de pétalas para 96 ml de etanol).

Em seguida, 1 mL das amostras desses extratos foram colocadas em tubos de ensaio, sendo realizados testes independentes. Após as alíquotas postas nos tubos, elas foram misturadas às soluções tampão de diferentes pH, variação das soluções padrão 1 à 12, seguindo a proporção de 1 ml de extrato para 2 ml de solução tampão (1:2).

As soluções obtidas foram observadas conhecendo as colorações, comparando com uma sequência de soluções de pH e por fim lidas no espectrofotômetro à absorvância em comprimentos de onda de 380 nm, utilizando-se etanol puro como branco.

Por fim, foi exposto em uma tabela as absorvâncias das soluções de pH e elaborada uma escala colorimétrica com as cores observadas nas amostras após as misturas.

## **5.6 Avaliação da Atividade Fotoprotetora (AAF) *in vitro***

A metodologia empregada foi o método, também conhecido por método de Mansur, mas inicialmente desenvolvido por Sayre e colaboradores (1979) que é um método *in vitro* que relaciona a porcentagem não transmitida através de um substrato contendo o protetor solar com o valor do FPS. Essa relação é ainda muito utilizada, nos dias de hoje, e serve como base para pesquisas iniciais de fotoproteção. Ela determina o FPS de formulações por meio da leitura espectrofotométrica de suas soluções diluídas e posterior tratamento matemático através de uma fórmula desenvolvida pelo mesmo

Essa metodologia utiliza o produto a ser analisado em solvente transparente ao ultravioleta como metanol, etanol e o isopropanol, caso seja uma emulsão, ou em éter se for oleoso (MANSUR *et al.*, 1986) para brancos de leitura. Não pode ser empregada para a avaliação de fotoprotetores contendo filtros físicos, em função da insolubilidade destes nos solventes, comumente utilizados, como o etanol.

Por isso a determinação das medidas de absorção ótica das frações e extratos para obtenção dos espectros preliminares, FPS pelo método de Mansur e comprimento de onda crítico foram efetuadas *in vitro*. Por meio da leitura espectrofotométrica de filtros orgânicos (químicos) para os extratos das flores de *I. indica*, no espectrofotômetro *Thermo Scientific Evolution 60®* com lâmpada de xenônio, utilizando-se uma placa de 96 poços de quartzo onde os espectros foram monitorados, na faixa de 290–320 nm, que correspondem ao comprimento de onda de absorção UVB, considerada a região de maior incidência durante o dia em que as pessoas estão expostas por mais tempo (DUTRA *et al.*, 2013).



Cada extrato foi diluído com álcool etílico 96 °GL até obtenção da concentração de 0,2 µL/mL de protetor por mL de solvente. O teste foi feito em duplicatas independentes e os extratos secos foram diluídos em etanol absoluto, obtendo concentrações de 5, 25, 50 e 100 mg/L. Sendo realizada as leituras da absorvância em espectrofotômetro, nos comprimentos de onda de 290 a 320 nm em intervalos de 5 nm.

O branco utilizado nas análises foi o álcool etílico 96 °GL e como controle positivo foi utilizado o metoxicinamato de octila que é um produto indicado para se utilizar na preparação de protetores solares, filtros solares e bloqueadores solares ele também é um efetivo absorvente UV-B líquido solúvel em óleo e estando presente nas formulações de protetores solares sintéticos utilizados.

O Fator de Proteção Solar (FPS) determinado *in vitro*, foi calculado por espectrofotometria, através de soluções diluídas que contêm o filtro solar. E, o cálculo do FPS foi obtido por meio de uma equação que leva em consideração a leitura espectrofotométrica da amostra, intensidade da luz solar no comprimento de onda analisado entre outros parâmetros seguindo a equação matemática (Equação 2) cujos cálculos foram realizados em Excel:

$$FPS = CF \times \sum_{290}^{320} EE(\lambda) * I(\lambda) * Abs(\lambda) \quad \dots (2)$$

Onde:

CF = é o fator de correção igual a 10. Determinado de acordo com dois protetores solares conhecidos de tal forma que um creme contendo 8% de homossalato resultando no FPS 4;

$\sum_{290}^{320}$  é a soma dos resultados de cada comprimento de onda de 5 em 5 nm;

EE ( $\lambda$ ) = é o efeito eritematogênico da radiação solar em cada comprimento de onda  $\lambda$ ;

I ( $\lambda$ ) = é a intensidade da luz solar no comprimento de onda  $\lambda$ ;

Abs ( $\lambda$ ) = é a leitura espectrofotométrica da absorvância da amostra em cada comprimento de onda.

O efeito eritematogênico presente na equação acima pode ser definido como primeira reação eritematosa perceptível com bordas claramente definidas, observadas entre 16 e 24 horas após a exposição à radiação ultravioleta (ANVISA, 2012). A

intensidade desse efeito depende do tempo de exposição, do comprimento de onda da radiação e da intensidade da luz incidente (SCHULZ, 2006).

Além disso, foram calculados previamente por Sayre e colaboradores (1979),  $EE(\lambda) * I(\lambda)$ , de acordo com a Tabela 2:

**Tabela 2** – Efeito eritematogênico e intensidade da radiação

<b>Comprimento de onda ( ) (nm)</b>	<b>EE ( )*I ( )</b>
290	0,0150
295	0,0817
300	0,2874
305	0,3278
310	0,1864
315	0,0839
320	0,0180
Total	1,0002

Fonte: MANSUR *et. al.*, 1986.

Os dados obtidos foram analisados utilizando os resultados foram comentados posteriormente.

### **5.7 Avaliação da Toxicidade por meio bioensaio com *Ârtemia salina* dosextratos etanólicos das flores de salsa-brava (*I. indica*)**

O ensaio de toxicidade sobre *ârtemia salina* (50 mg) foi realizado através da adaptação da metodologia de Meyer *et. al.* (1982), preparando-se uma solução com sal marinho na concentração de 30 g.L<sup>-1</sup>. O pH foi ajustado entre 8,0 e 9,0, por meio de solução 0,1 mol.L<sup>-1</sup> de NaOH. Esta solução foi utilizada para eclosão dos ovos de *Ârtemia salina* sob iluminação artificial e foram incubados por 48 horas para que houvesse a eclosão das larvas (metanúplios) com aeração entre 25 °C a 30 °C (Figura 35).

**Figura 35** – Recipiente contendo cistos de *ârtemia salina* (A) durante um período de 48h, submetidos a iluminação artificial e eclosão da larvas para eclosão (B).



**A** - Recipiente incubatório para os ovos

**B** - Eclosão das larvas de *A. salina* no recipiente após 48 horas

**C** - *Artemia salina* Leach

Fonte: AUTORA, 2017.

Após este procedimento foi avaliado a letalidade das amostras do extrato etanólico das flores *I. indica* às larvas sendo o bioensaio realizado em duplicata independentes. Para as análises foi medido, em um béquer, 7 mg do extrato, balança analítica de precisão e dissolvidas em solução com 7 mL de dimetilsulfóxido (DMSO) 1% para preparação da “amostra-mãe”. Em outro béquer foi adicionado 10 mL da solução salina.

As soluções foram homogeneizadas e o volume completado para 5 mL com água salinizada filtrada (água do mar e água destilada 1:1) a pH = 8,0. Destas soluções foram retiradas alíquotas de 2500, 1875, 1250, 625, 250 e 125  $\mu$ L que foram transferidas para outros balões de 5 mL e os volumes completados com o mesmo solvente (DMSO 1%), em cinco tubos de ensaio foram obtidos as seguintes concentrações de: 31,2; 62,5; 125; 250; 500 ppm para cada extrato.

Um grupo controle também foi preparado nas mesmas condições sem a presença das frações do extrato. Esse primeiro grupo recebeu a solução controle (solvente e tensoativos) e os cinco seguintes receberam as soluções dos extratos em diferentes concentrações obtidas. Sendo feito controle positivo, também em duplicata apenas com solução salina e as *ârtemias* (NASCIMENTO *et. al.*, 2008).

As larvas foram transferidas para uma placa de Petri e depois adicionadas nos tubos de ensaio. Assim, com 10 larvas de *ârtemia salina* foram transferidas para 2 tubos

de ensaio contendo a solução salina (apenas) e nos outros, 10 tubos, com a solução salina mais DMSO e as amostras a serem testadas nas diferentes concentrações.

As amostras foram submetidas à iluminação artificial durante 24 horas, após este período foram contabilizadas as larvas vivas e mortas depois foram novamente observados em 48 horas do início dos testes. E, sendo esta contagem, a avaliação da toxicidade do extrato (Figura 36).

**Figura 256** – Bioensaio com náuplios de *ârtemia salina* em concentrações diferentes do extrato etanólico das flores de salsa-brava (*I. indica*)



Fonte: AUTORA, 2017.

Aos dados de porcentagem de larvas de *ârtemia salina* mortas, em relação ao aumento da concentração do extrato etanólico das flores de *I. indica*, ajustou-se uma equação linear simples, a qual foi utilizada para estimar a concentração de extrato responsável por matar 50% das ârtemias valor representativo da dose letal mediana (DL<sub>50</sub> ou LC<sub>50</sub>). Utilizou-se método gráfico de análise para obtenção da DL<sub>50</sub> (dose letal do extrato para 50% da população). O teste foi acompanhado de um controle negativo, somente com água salina e larvas.

Com os valores obtidos, estimou-se a DL<sub>50</sub> através do método de Análise de Probitos, com 95% de intervalo de confiança utilizando-se o programa *Epa Probit Analysis Program*, versão 1.5.

## 6 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Para a identificação dos metabólitos secundários, foram obtidas por meio de protocolos experimentais, desde a coleta até o extrato. Utilizando a metodologia de Prospecção Fitoquímica Preliminar (PFP) citada por Matos (2009) e por Silva e colaboradores (2010) que analisa a formação de precipitados, surgimento de coloração e espuma para avaliação positiva de metabólitos secundários das classes de alcaloides, terpenos/terpenoides e/ou compostos fenólicos nos extratos etanólicos de *I. indica*.

Os testes foram executados em duplicatas e os resultados (Tabela 3) obtidos na triagem fitoquímica estabelecida conforme os seguintes parâmetros: Positivo = (+) e Negativo = (-).

**Tabela 3** – Resultados das análises fitoquímicas para reconhecimento dos metabólitos secundários distintos obtidos a partir da amostra de extrato etanólico das flores de *I. indica*.

Metabólitos Secundários		Resultado do extrato etanólico das flores <i>Ipomoea indica</i>
Saponinas		-
Cumarinas		+
Glicosídeos cardiotônicos		+
Taninos	Hidrolisáveis	-
	Condensados	+
Flavonoides totais	Antocianidinas	+
	Antocianinas	+
	Flavonas e xantonas	+
	Leucoantocianidinas	+
	Catequinas	+
Terpenos	Terpenoides	+
	Triterpenoides/Esteroides	+
Alcaloides	Reagente de Mayer	+
	Reagente de Wagner	+
	Reagente de Dragendorff	+

Fonte: AUTORA, 2016.

A partir dos resultados das análises, expostos na Tabela 3, às classes de metabólitos secundários encontrados na amostra do extrato etanólico das flores de *I. indica* indicou a presença de alcaloides, terpenos, além da classe dos

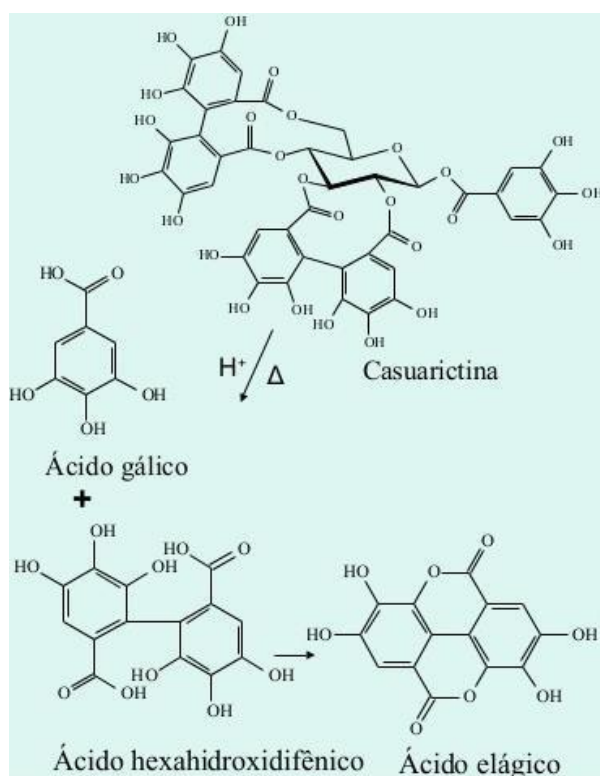
triterpenoides/esteroides, de compostos fenólicos, como, taninos condensados, flavonoides (flavonas, flavonóis, antocianinas, antocianidinas, xantonas, leucoantocianidinas e catequinas), glicosídeos cardiotônicos e cumarinas. Já saponinas e taninos hidrolisáveis não foram detectados pelos testes realizados. Além dos testes para atividade antioxidante e fotoprotetora e ação larvicidas e de toxicidade.

Diante dos resultados às discussões sobre estes seguem nos tópicos posteriores sendo comparados e contrastados na literatura existente.

## 6.1 Resultado para o teste de Fenóis e Taninos

Os taninos é a classe de substâncias mais comum no reino Plantae sendo frequentemente, encontrado em cascas de vegetais. Os taninos se classificam em hidrolisáveis (pirogálico) e os condensados (catéquico). Além disso, podem ser diferenciados baseando-se no seu comportamento no meio ácido ou enzimático a alta temperatura, pois enquanto, hidrolisados os taninos hidrolisáveis liberam o açúcar, e/ou ácido gálico (Figura 37) ou ácido hexahidrodidifênico, ou ambos.

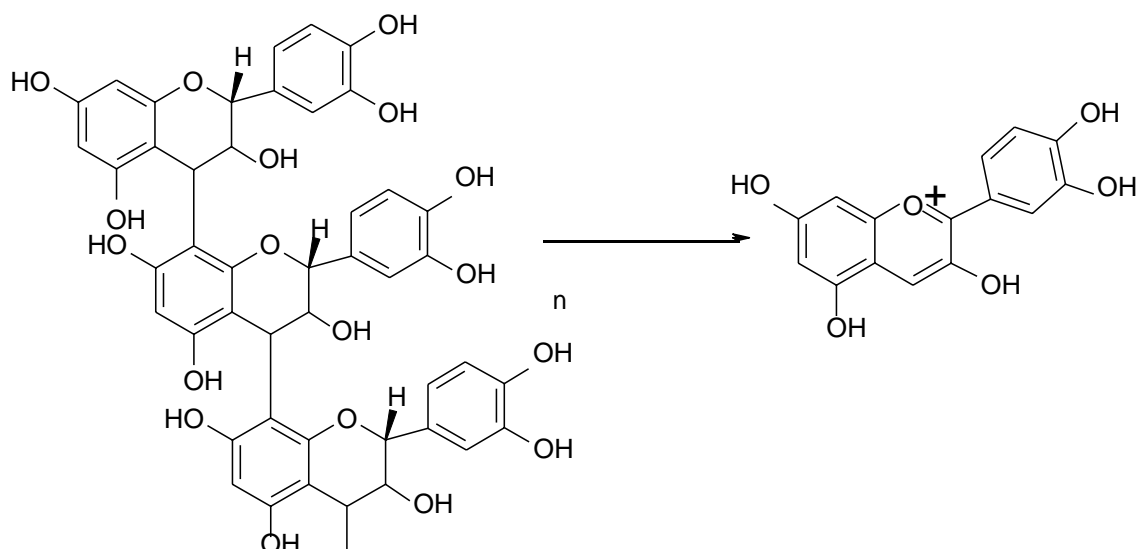
**Figura 267** – Reação em meio ácido dos taninos hidrolisáveis



Fonte: SOUSA, 2015.

Jáos taninos condensados sob as mesmas condições experimentais, terão suas ligações interflavonoídicas quebradas, e na presença de ar, o carbocátion formado se transforma em antocianidina (Figura 38).

**Figura 38** – Formação de uma antocianidina



Fonte: ARAÚJO, 2012.

Assim, no teste específico para taninos com adição de água e cloreto férrico ( $\text{FeCl}_3$ ) pois sua presença causa o escurecimento de suas soluções. Os galotaninos (tanino hidrossolúvel) e elagitaninos (tanino condensado) apresentam coloração e precipitados de azulado ao preto em contato com sais férricos (SOUSA, 2015). Conforme Araújo (2012), os taninos condensados apresentam precipitado verde-amarronzados.

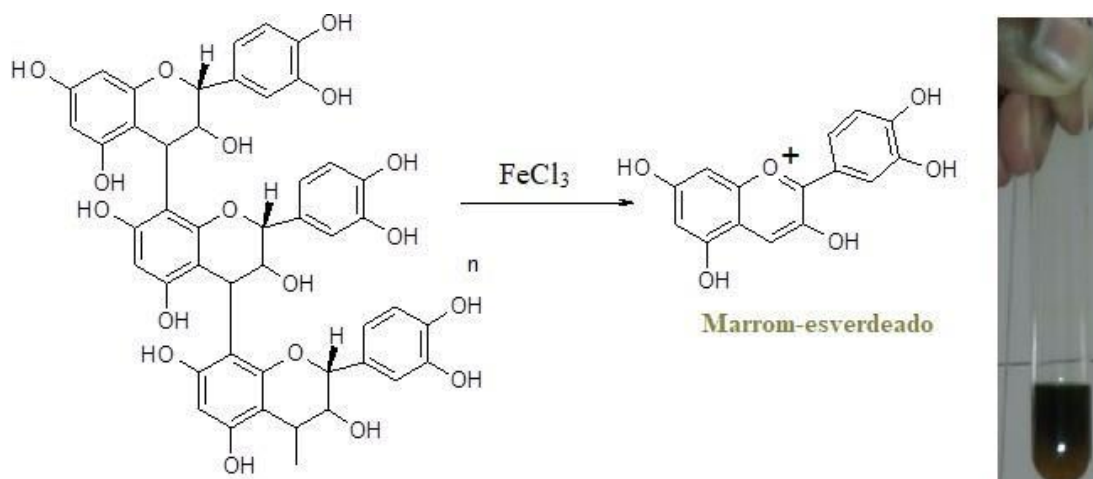
A amostra das flores de *I. indica* apresentou a tonalidade verde- amarronzado sem precipitado (Figura 39) indicando a presença de taninos condensados (catéquico) e dos fenóis mas negativa para taninos hidrolisáveis quando comparada com o teste controle.

Os taninos são solúveis em água, mas têm relativa estabilidade de acordo com o grau de polimerização do composto. A proposição descrita na literatura, afirmam que soluções na presença de taninos ocorrem precipitação com metais pesados, alcaloides, glicosídeos, gelatina e que em contato com sais férricos, pode ser feita a diferenciação de taninos condensáveis e taninos hidrolisáveis (EVANS, 1996).

Do mesmo modo, como em outros fenóis a amostra das flores de *I. indica* reagiu com o cloreto férrico adquirido o tom marrom-esverdeado, o que indica a presença de

taninos condensados. Isso se deve à quebra da ligação interflavânica dos taninos condensados, em meio ácido, a quente, e em contato com o ar, forma uma antocianidina e variando a coloração (Figura 39).

**Figura 39** – Reação química para detecção de taninos e fenóis



Fonte: AUTORA, 2016.

Estando os resultados de acordo com a literatura, que relata que “as plantas costumam apresentar uma relação inversa para os tipos de taninos, onde se uma apresentar alto teor para taninos condensados, provavelmente possuirá baixo teor para hidrolisáveis” (JORDAAN, 2013).

## 6.2 Resultado para o teste de flavonoides (flavonóis, flavonas e xantonas)

Flavonas e flavonóis são tipos de flavonoides encontrados em flores e acredita-se que auxiliam na localização do pólen e do néctar. Segundo Theunis *et al.* (2004), os flavonóis em uma flor, muitas vezes, formam padrões simétricos de listras, pontos ou círculos concêntricos chamados de guias de néctar. Tais padrões podem ser conspícuos a insetos para auxiliarem o local do pólen e do néctar.

As flavonas e os flavonóis são protetores químicos que absorvem luz em comprimentos de onda mais curtos do que àqueles visíveis ao olho humano, protegendo as células vegetais dos danos causados pela fotoxidação. Além dessa função protetora, esses dois flavonoides ainda funcionam como sinais atrativos para insetos como as abelhas, que enxergam na faixa extrema do ultravioleta. Segundo Buer & Muday (2004) as flavonas e os flavonóis não estão restritos às flores; eles também estão presentes nas

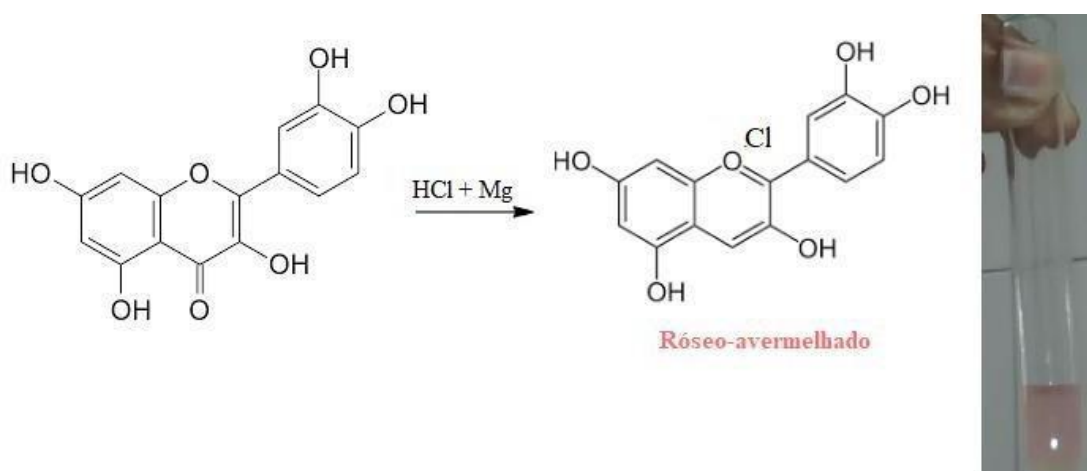


folhas de todas as plantas verdes. Essas duas classes de flavonoides agem na proteção das células contra o excesso de radiação UV-B (280-320 nm).

O teste foi considerado positivo quando o produto da reação desenvolveu coloração rósea a vermelho intenso. Assim, após a efervescência, o aparecimento ou intensificação da cor vermelha indicou a presença dessas subclasses flavonoides (flavonóis, flavonas e/ou xantonas livres).

Isso ocorre porque os flavonoides sofrem redução pelo hidrogênio liberado na reação do magnésio (Mg) com o ácido clorídrico (HCl) representada na equação química a seguir (Figura 40).

**Figura 40** – Reação química para detecção de flavonas, flavonóis e xantonas



Extraído de: AUTORA, 2016.

Dessa maneira, o extrato da flor *I. indica* ressalta a busca por espécies vegetais ricas em compostos fenólicos, sobretudo flavonoides, tornou-se alvo de estudo de muitos pesquisadores pela semelhança entre esses compostos e os filtros químicos, mostrando uma intensa absorção dos raios UV, além de exercerem atividade antioxidante (ROSA *et. al.*, 2008; NASCIMENTO *et. al.*, 2009; PESSUTO *et al.*, 2009).

### 6.3 Resultado para o teste de flavonoides (antocianidinas, antocianinas e flavonóis)

Outras subclasses relevantes de flavonoides são as antocianidinas e as antocianinas. Sendo as antocianidinas são menos estáveis que as antocianinas. Isso se dá pelo fato de que às antocianidinas também designados por proantocianidinas, se originam por cisão oxidativa (e não hidrólise) em álcool, a quente.

As antocianinas são pigmentos fenólicos solúveis em água, pertencentes à classe dos flavonoides, responsáveis pelas várias nuances entre laranja, vermelho e azul, exibidas pelas frutas, hortaliças, folhas, raízes e principalmente flores. Esses compostos são glicosídeos que, por hidrólise ácida, liberam agliconas também denominadas de antocianidinas e, dentre as encontradas na natureza, apenas seis estão presentes em alimentos: pelargonidina, cianidina, delphinidina, peonidina, petunidina e malvidina, que diferem entre si quanto ao número de hidroxilas e grau de metilação, presentes em um dos anéis da estrutura (anel B) (retornar a Figura 9).

A identificação das antocianidinas e antocianinas foram realizadas a partir da comparação da coloração da amostra do extrato etanólico das flores de *I. indica* na presença de em meio ácido e alcalino, visto que esses compostos possuem propriedades anfóteros, ou seja, se comportam diferentes em meio ácido e alcalino (retornar a figura 25).

Os resultados a partir da observação da mudança na coloração do material foram avaliados consoantes a literatura descrita por Matos (2009) e os resultados expostos no Quadro 1.

**Quadro 1** – Alterações observadas na coloração do meio avaliadas no teste para antocianidinas, antocianinas e flavonoides.

Classes de substâncias	Coloração do meio		
	Ácido (pH 3,0)	Alcalino (pH 8,5)	Alcalino (pH 11)
Antocianidinas e Antocianinas	Vermelho	Lilás	Azul púrpura
Flavonois	-	-	Vermelho-púrpura

Fonte: MATOS, 1997.

Dessa forma, o teste determinou a presença de antocianinas e antocianidinas nas amostras do extrato etanólico das flores *I. indica* sendo importante para a verificação de possíveis atividades antioxidante e uso de princípios ativos para diversos empregos na medicina.

Nos últimos anos, o interesse por esses pigmentos se intensificou uma vez que pesquisas têm demonstrado que as antocianinas e suas respectivas agliconas são compostos bioativos e que, entre os vários outros efeitos fisiológicos, possuem capacidade antioxidante e propriedade antiinflamatória, promovem vaso-dilatação, atuam na prevenção da hiperglicemia, estimulam a secreção de insulina, melhoram a adaptação da visão noturna e previnem a fadiga visual. Recentemente, Zhang, Vareed & Nair (2005) constataram o efeito inibitório da cianidina, delphinidina, pelargonidina, petunidina e malvidina na proliferação de células humanas cancerígenas, originadas em diferentes partes do corpo: estômago, cólon, mama, pulmão e sistema nervoso central.

#### **6.4 Resultado para o teste de flavonoides (leucoantocianidinas, catequinas e flavonas)**

A classe das leucoantocianidinas pertence à família dos polifenóis naturais pertencentes à classe dos bioflavonoides. Sua característica marcante é a ação antioxidante hidrossolúvel presente em sua estrutura que chega a ser mais forte que a vitamina E. Sua ação antioxidante se deve ao fato das leucoantocianidinas eliminarem qualquer espécie de radicais livres envolvidas no processo.

A classe das catequinas é encontrada na sua forma natural em diversos alimentos, mas sua fonte principal é no chá verde. Suas propriedades e características estão relacionadas com a ação antioxidante que “tem sido apontada como o principal fator contribuinte na prevenção e/ou no tratamento de diversas doenças crônico-degenerativas incluindo o câncer, doenças cardiovasculares e diabetes” (SENGER; SCHWANKE; GOTTLIEB, 2010, p. 295-296).

Para o teste das leucoantocianidinas, catequinas, flavanonas foi utilizado as variações do pH entre 1 e 3 sempre observando as mudanças ocorridas na solução. Em seguida a solução foi alcalinizada com solução básica NaOH até obtenção de pH 11. Após esse processo a solução foi aquecida, observando a mudança de coloração (Quadro 2).

**Quadro 2** – Alterações observadas na coloração do meio avaliadas no teste para leucoantocianidinas, catequinas e flavonas.

Classes de substâncias	Coloração do meio	
	Ácido	Alcalino

	(pH 1,0 a 3,0)	(pH 11)
Leucoantocianidinas	Vermelho	-
Catequinas	Pardo-amarelado	-
Flavonas	-	Vermelho-laranja

Fonte: MATOS, 1997.

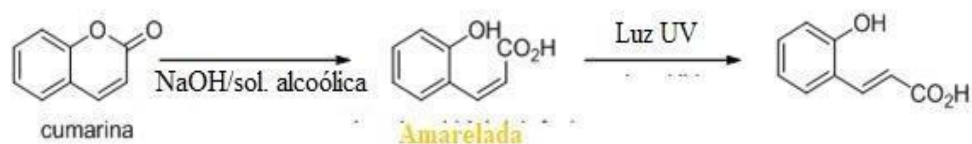
A presença de leucoantocianidinas, catequinas, flavanonas é indicada por diferentes cores apresentadas após esse procedimento. Sendo a coloração vermelha quando se encontrava em solução ácida, ou seja, indicando a presença de leucoantocianidinas e amarelo a vermelho para as catequinas quanto no pH alcalino a coloração vermelho-alaranjado indica as flavonas.

Cronquist (1981) afirma que plantas da família na qual a espécie *Ipomoea indica* possuem antocianinas aciladas, flavonoides, geralmente flavonas e flavanonas.

## 6.5 Resultado para o teste de Cumarinas

As cumarinas são heterosídeos que apresentam diversas propriedades, dentre elas a do dicumarol que é anticoagulante, a dos furano-derivados com ação sobre o vitiligo, entre outras propriedades. As cumarinas puras são fluorescentes, mas em meio alcalino, forma-se o ácido *cis-o-hidroxicinâmico* que sob a ação da radiação ultravioleta origina o isômero *trans*, que é fluoerescente (sob a ação da radiação ultravioleta possuem em geral fluorescência azul e alguns derivados já à luz natural; em meio alcalino torna-se verde ou desaparece). E, com a adição de solução alcalina há formação de condensado na nuance amarelo a parda (Figura 41).

**Figura 41** – Reação química para detecção de cumarinas



Fonte: AUTORA, 2016.

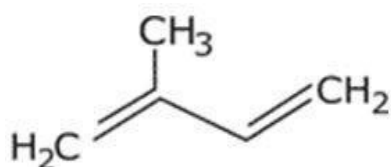
Esses heterosídeos fenólicos simples correspondem a substâncias com pelo menos um anel aromático, no qual, ao menos um hidrogênio é substituído por uma hidroxila (GAMA, 2011; MANZO, 2016).

Assim, o aparecimento de coloração amarela indicou resultado positivo para a presença de cumarinas. Esses compostos exercem ação antioxidante e anti-inflamatória, podendo ser agregados em cosméticos (MUNHOZ *et al.*, 2012).

## 6.6 Resultado para o teste de terpenos/terpenoides

Os terpenos são um grupo de compostos orgânicos derivados da junção de vários isoprenos (Figura 42), formam uma diversificada classe de substâncias naturais, ou metabólitos secundários de origem vegetal, especialmente das coníferas, de fórmula química geral  $(\text{C}_5\text{H}_8)_n$ .

**Figura 42** – Estrutura molecular do isopreno

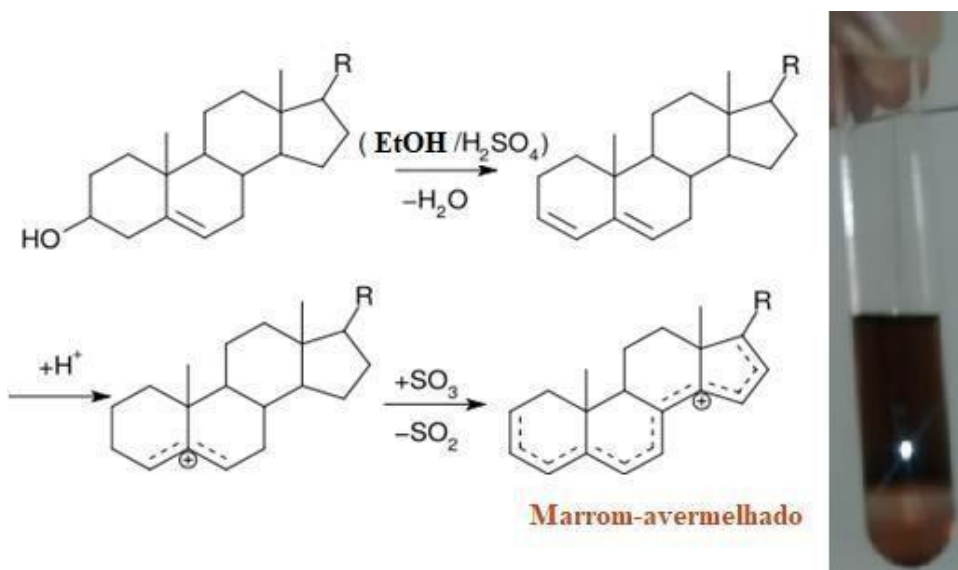


Fonte: ARAÚJO, 2010.

A cor marrom avermelhada indica a presença de terpenoides. Esse fato pode ser explicada pela análise da reação de Liebermann-Burchard (Figura 43).

Reação de Liebermann-Burchard → Anidrido acético + ácido sulfúrico concentrado. Cor vermelha que vira rapidamente para violeta, castanho e, por fim, azul esverdeado.

**Figura 43** – Reação de Liebermann-Burchard



Fonte: WALL, 2005 (modificado).

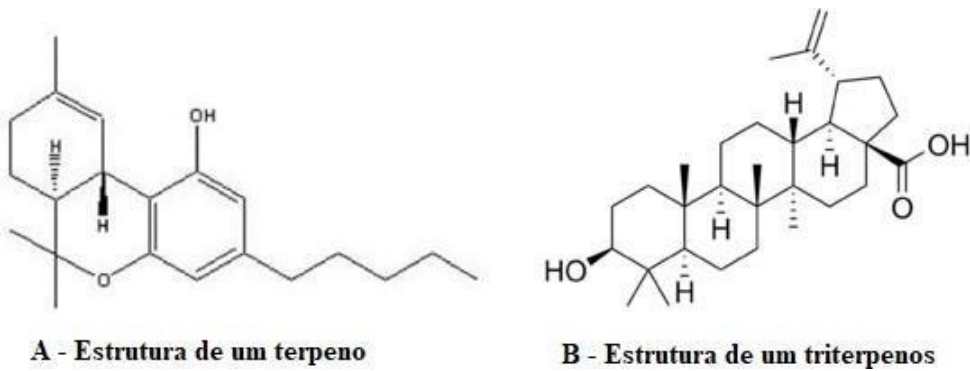
A formação de cor marrom-avermelhado indicou a presença de terpenos ou terpenoides.

### 6.7 Resultado para o teste de triterpenoides

O grupo triterpenoides (Figura 44b) se difere da classe de terpenoides (Figura 44a) apenas no número de átomos de carbono na estrutura química do composto e no número de unidade que vão formar o composto.

A formação de cor marrom indica a presença de esteroides. Além disso, a cor parda até vermelha indica a presença de esteroides estes também são de triterpenoides pentacíclicos livres (Figura 45).

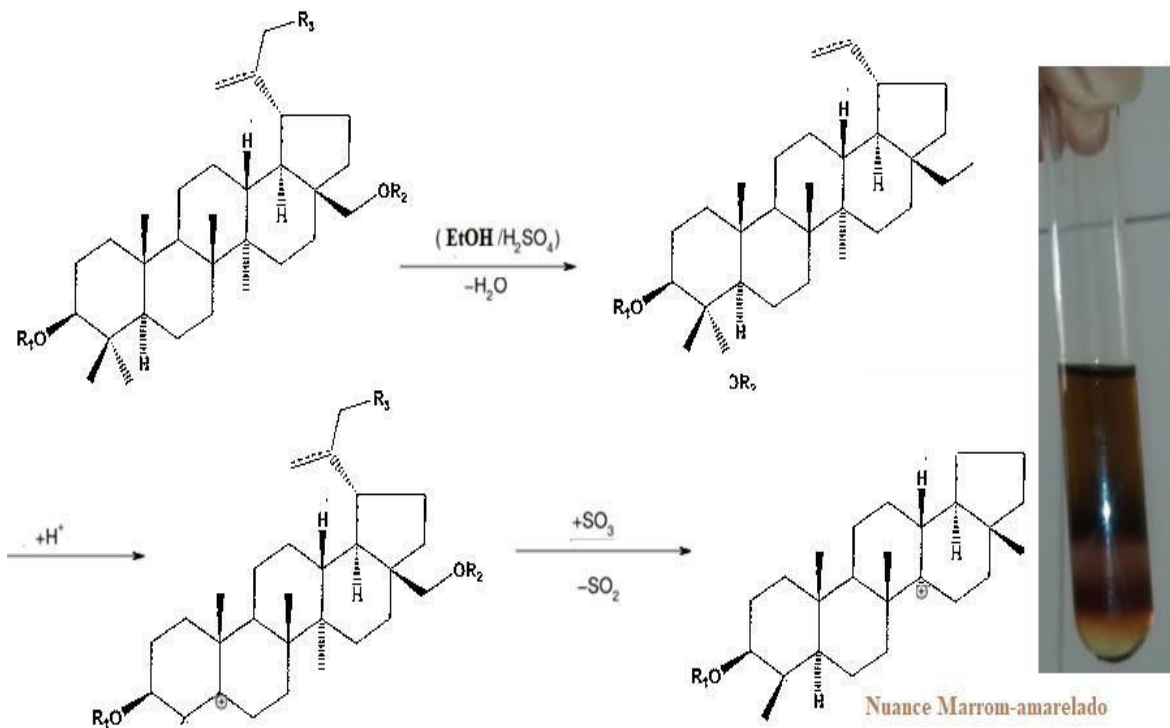
**Figura 274** – Estrutura química de um terpeno (A – à esquerda) e um triterpeno (B – à direita)



Fonte: ARDENGHI & SCHNEIDER, 2010.

A cor marrom avermelhada indica a presença de triterpenoides pentacíclicos livres. A reação se assemelha com a reação que ocorre com os terpenos mais de maneira mais intensa ocorrendo esterificação (Figura 45).

**Figura 45** – Reação química para presença de triterpenoide



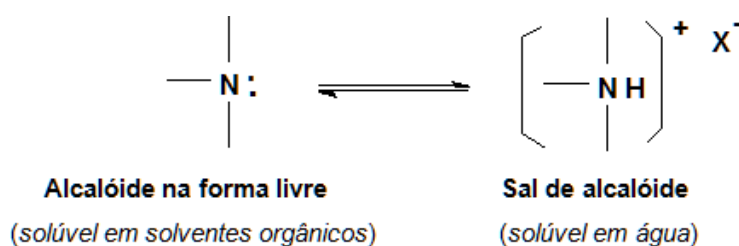
Extraído de: BOBBIO, 1989 (modificado).

## 6.8 Resultado para o teste de alcaloides

Os alcaloides constituem um grupo heterogêneo de substâncias nitrogenadas, geralmente de origem vegetal, de caráter básico e que apresentam acentuada ação farmacológica em animais.

Esses compostos são encontrados nos vegetais predominantemente na forma combinada, com ácidos orgânicos, e em concentração menor, na forma livre. Nesta forma, são insolúveis em meio aquoso e solúveis em solventes orgânicos como clorofórmio, éter e benzeno; na forma de sal, a solubilidade é inversa (Figura 46). O grau de alcalinidade que apresentam é variável, dependendo da disponibilidade do par de elétrons do nitrogênio, podendo revelar caráter ácido quando este é quaternário.

**Figura 46** – Representação da solubilidade dos alcaloides



Fonte: GAMA, 2010.

Usualmente, são detectados por meio dos reativos gerais de alcaloides (RGA), com os quais formam turvação a precipitação em meio ácido (SBF, 2009). Dessa maneira, o teste da nuance do extrato das flores de *I. indica* com cada reagente para avaliação positiva ou negativa de alcaloides foi feita da seguinte maneira:

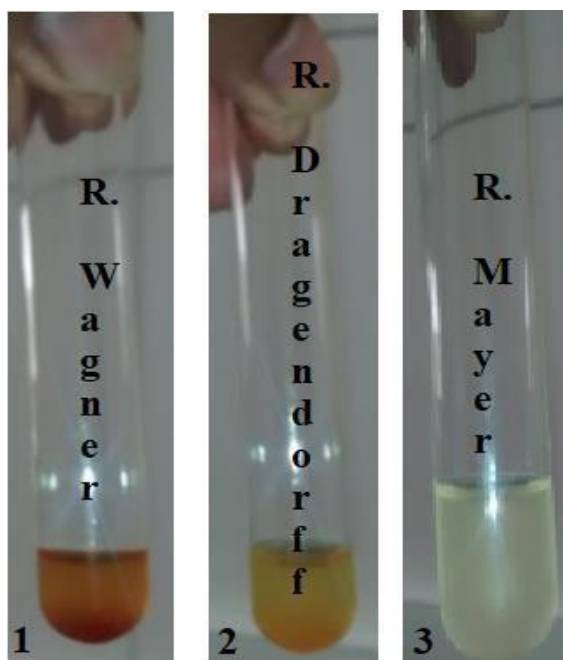
Tubo 1 - Reativo de Bouchardat/Wagner: observando formação de precipitado de laranja a vermelho intenso (Figura 47).

Tubo 2- Reativo de Dragendorff: observando formação de precipitado de coloração alaranjada (Figura 47).

Tubo 3 - Reativo de Mayer: observando formação de precipitado branco ou leve turvação branca (Figura 47).

**Figura 47** – Coloração da amostra com os reagentes gerais de alcaloides (RGA)





Fonte: AUTORA, 2016.

O uso desses reagentes citados se deu pelo fato de todos possuírem em suas composições químicas, o iodo que reagem com alcaloides formando complexos. O iodo atua como um reagente universal, visto que há exemplos de aplicação para várias classes de substâncias – ex.: aminoácidos, indóis, alcalóides, esteróides, psicotrópicos, lipídios. (JORK, FUNK, *et al.*, 1990). Os tipos de reações que poderão ocorrer com o iodo são a formação de complexos em contato com esses compostos (WALL, 2005).

Na Farmacopeia Americana (2006) um teste com o clotrimazol para manchas do analito aparecem com coloração alaranjada. Na monografia sobre clotrimazol possui um teste de identificação que faz uso deste reagente, mas utilizando ácido clorídrico no lugar no ácido acético (IBIDEM, 2006). Evidenciando o uso desde teste em outros países e sua confiabilidade.

Assim, nos três verificou-se o resultado positivo para a presença dos alcaloides. Segundo Cronquist (1981) a família da planta *I. indica* apresenta frequentemente alcaloides indólicos (especialmente do subgrupo ergolina), compostos cianogênicos, além de ácido caféico e compostos relacionados, não apresentam iridoides.

Os alcaloides tropânicos, podem ser substâncias isoladas em sua maioria de plantas pertencentes à Família *Solanaceae* (da qual pertence à flor estudada) sendo os alcaloides tropânicos e os alcaloides pirrolidínicos envolvidos na participação de

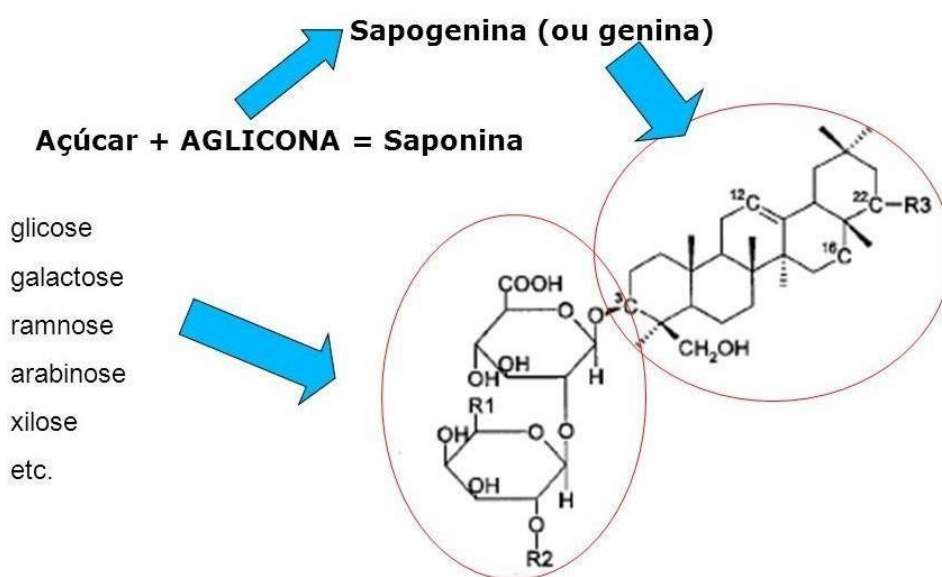
precursores comum na biossíntese, da putrescina, diamina derivada da descarboxilação do aminoácido ornitina (IBIDEM, 1981).

## 6.9 Resultado para o teste de saponinas

As saponinas podem ser encontradas de diversas formas como na alimentação humana, como por exemplo, na pimenta. As saponinas quando encontradas no reino vegetal se caracterizam quando uma planta está sobre defesa, o seu metabolismo secundário libera a substância de saponina para a proteção contra fungos (CASTEJON, 2011).

Elas se caracterizam por apresentar caráter básico, neutro e ácido. Esse caráter ácido se deve ao fato da presença de aglomerações de carboxila na aglicona ou na cadeia de açúcares (Figura 48). Já no seu caráter básico se deve a presença de nitrogênio na forma de amina. As saponinas são glicosídeos de esteroides ou de terpenos policíclicos (CASTEJON, 2011, p. 14).

**Figura 48**– Estrutura química das saponinas



Fonte: CASTEJON, 2011.

As saponinas em solução aquosa formam espuma persistente e abundante. Essa atividade provém como nos outros detergentes, do fato de apresentarem na sua estrutura, como já referido, uma parte lipofílica, denominada aglicona ou sapogenina (Figura 50) e uma parte hidrofílica constituída por um ou mais açúcares (SIMÕES *et. al.* 2001). Esses compostos possuem propriedades detergentes e, no organismo humano, exercem

atividade antioxidante e ação citotóxica atuando contra células tumorais (PEREIRA e CARDOSO, 2012).

A espuma formada é estável a ações de ácidos minerais diluídos, diferenciando-a daquela dos sabões comuns. Essa propriedade é a mais característica desse grupo de compostos, da qual deriva o seu nome (do latim *sapone* = sabão) (SIMÕES *et. al.* 2001, p. 608). Assim, são facilmente encontrados na natureza principalmente em reino vegetal, em alimentos que apresentem essa substancia quando misturada a água forma espuma.

Após o procedimento, foram agitados a solução com a amostra do extrato etanólico das flores de *I. indica* por alguns minutos e não foi observada a presença de espuma persistente e abundante, o que indica a ausência de saponinas (Figura 49).

**Figura 49** – Tubo de ensaio para teste de saponinas



Fonte: AUTORA, 2016.

Estando este resultado em conformidade com a literatura, que diz que no gênero *Ipomoea* da qual a espécie se encontra raramente produzem saponinas. Quanto à saponinas classifica-se como ausente, pois não teve a formação de espumas persistente (CRONQUIST 1981).

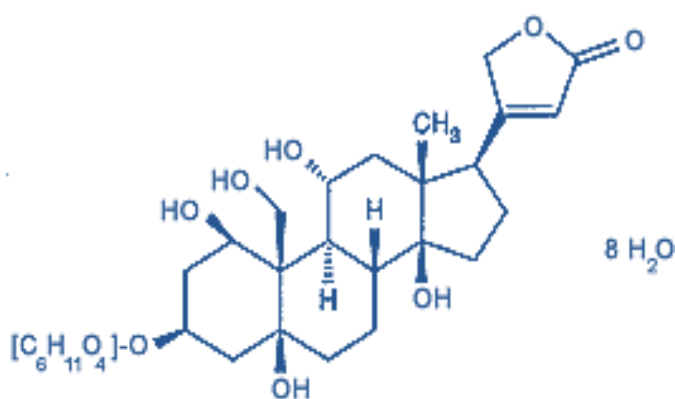
#### **6.10 Resultado para o teste de Glicosídeos cardiotônicos**

As plantas que contêm estes glicosídeos cardiotônicos são fontes para a indústria na fabricação de medicamentos utilizados no tratamento da insuficiência cardíaca congestiva (BRAGA & KREIS, 1997). Glicosídeos cardiotônicos (Figura 50) são

princípios ativos de origem animal ou vegetal, que aumentam a força de contração do coração.

Geralmente, os heterosídeos são preferencialmente solúveis em água e ligeiramente solúveis no etanol e clorofórmio. A polaridade da molécula depende da presença ou ausência de hidroxilas suplementares, que determinam o grau de lipofilia e de definem a farmacocinética dos heterosídeos cardioativos. A digoxina é bastante solúvel em etanol. A presença do anel lactônico nesses compostos torna a molécula frágil, podendo a sua abertura em meio alcalino (GAMA, 2010; ROBBERS; SPEEDIE; TYLER, 1997).

**Figura 50** – Estrutura química dos Glicosídeos cardiotônicos

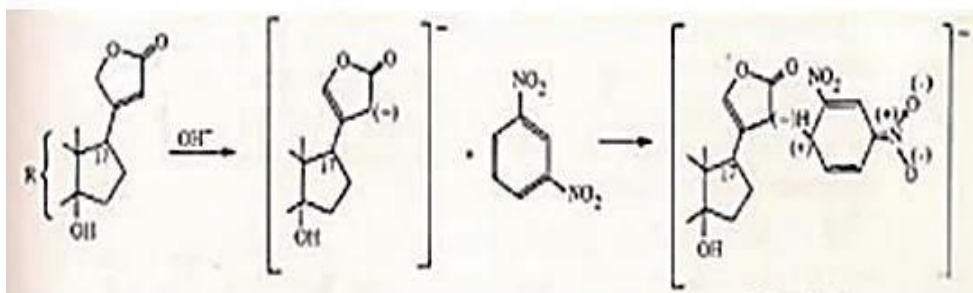


Fonte: GAMA, 2010.

Para caracterização desses compostos, usam-se reações que evidenciam isoladamente partes da molécula do glicosídeo, como: reações de caracterização dos esteroides (Pesez e Liebermann), reações relacionadas com o anel lactônico pentacíclico (Baljet e Raymond) ou com desoxiaçúcares (Keller-Kiliani e xantidrol) (ROBBERS; SPEEDIE; TYLER, 1997).

Os glicosídeos cardiotônicos foram analisados pela reação de Keller-Kiliani (SILVA *et al.*, 2010) sendo adicionados ácido acético glacial e de ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) concentrado, contendo sais férricos na amostra do extrato etanólico das flores de *I. indica*, conforme a reação e tonalidade, mostrada na Figura 51.

**Figura 51** – Reação para glicosídeos cardiotônicos

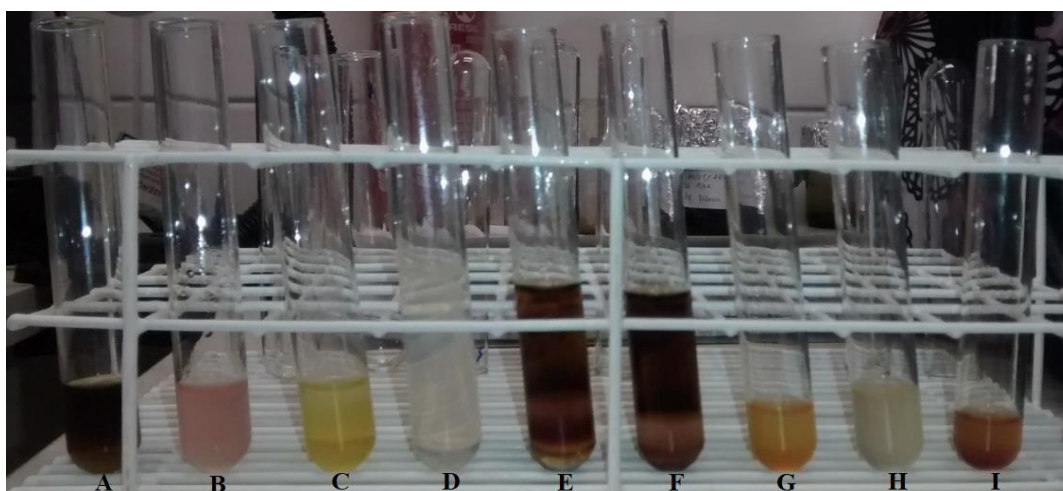


Fonte: BACCHI, 2016 (modificado).

O teste foi considerado positivo (Figura 51) porque ocorreu a formação de um anel vermelho pardo (formação de anel marrom) assim a presença de glicosídeos cardiotônicos, ou seja, indicou a presença dos açúcares.

Diante de todos os testes de prospecção fitoquímica as nuances da amostra do extrato etanólico das flores de *I. indica* estão apresentados seguir (Figura 52).

**Figura 52** – Triagem fitoquímica preliminar (TFP) dos extratos etanólicos das flores de *I. indica*



Fonte: AUTORA, 2016.

Nota:

\*A – Taninos e fenóis; B – Flavonoides; C – Cumarinas; D – Saponinas; E – Terpenoides; F – Triterpenoides; G – Alcaloides (R. Dragendoff); H – Alcaloides (R. Mayer) e I – Alcaloides (R. Wagner).

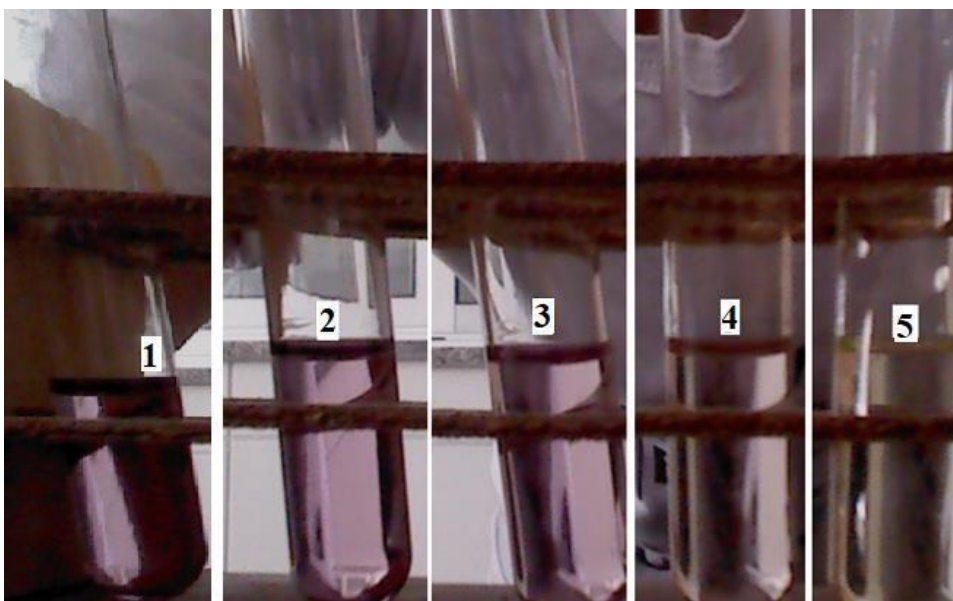
## 6.11 Resultado da avaliação da atividade antioxidante pelo sequestro de radicais DPPH

Após os testes fitoquímicos que indicaram a presença de compostos fenólicos na amostra dos extratos etanólicos das flores de *I. indica*. E, sendo estes compostos, citados por muitos na literatura como fator direto de sua concentração com a ação antioxidante em uma substância.

Segundo Pannala *et. al.* (2001) a concentração de fenóis totais e a capacidade de sequestrar radicais livres dos extratos parece ser bastante significativa, visto que os extratos com maior concentração de fenóis totais são justamente os extratos com maior atividade antioxidante.

Dessa forma, quanto maior o consumo de DPPH pela amostra, maior é sua atividade antioxidante (AA) (ALVES *et al.*, 2000). Assim, quanto maior a concentração da amostra e menor a absorbância, maior o consumo de DPPH (VASCONCELOS *et. al.*, 2007; MORAIS *et. al.*, 2009) (Figura 53).

**Figura 283** – Mudança na coloração de uma mesma amostra de extrato etanólicos das flores de *I. indica* devido ao consumo de DPPH em função do tempo



Fonte: AUTORA, 2017

Nota:

\* Tubo 1 – 0 minuto de reação da amostra com o DPPH (início da reação); Tubo 2 – 7 minutos de reação da amostra com o DPPH; Tubo 3 – 14 minutos de reação da amostra

com o DPPH; Tubo 4 – 21 minutos de reação da amostra com o DPPH; Tubo 5 – 28 minutos de reação da amostra com o DPPH.

De acordo com os resultados sugerem uma cinética de primeira ordem, uma vez que aumentando a atividade antioxidante também aumenta de maneira linear, conforme a Equação 3.

$$v = k.[AA]^a$$

Diante das observações e método efetivado verificou-se que a amostra de extrato etanólicos das flores de *I. indica* apresentou bom potencial em sequestrar radicais livres por possui baixo valor de IC<sub>50</sub> (potencial antioxidante). Desta forma, uma pequena quantidade de extrato foi capaz de decrescer a concentração inicial do radical DPPH em 50%, ou seja, inibir a oxidação do radical em 50%.

À medida que o DPPH foi reduzido por um antioxidante desaparece a banda de absorção em 520 nm e a coloração roxa muda para amarela (Figura 54). O tempo para a leitura das amostras foi de 30 minutos. E, uma das amostras foi verificada e registrada a cada 7 minutos para observar a mudança de cor da mesma.

A porcentagem de atividade antioxidante (%AA) corresponde à quantidade de DPPH consumida pelo antioxidante presente na amostra dos extratos etanólicos das flores de *I. indica* em diferentes concentrações (Tabela 4).

**Tabela 4** – Determinação da Atividade Antioxidante pelo consumo de DPPH pela amostra das flores de *I. indica* em diferentes concentrações

<b>Concentração da amostra das flores de <i>I. indica</i> (µg.mL<sup>-1</sup>)</b>	<b>Atividade Antioxidante (%)</b>	<b>IC<sub>50</sub> (µg.mL<sup>-1</sup>)</b>
0,5000	96,67	0,2590
0,2500	46,39	
0,1250	23,90	
0,0625	12,35	
0,0312	8,900	

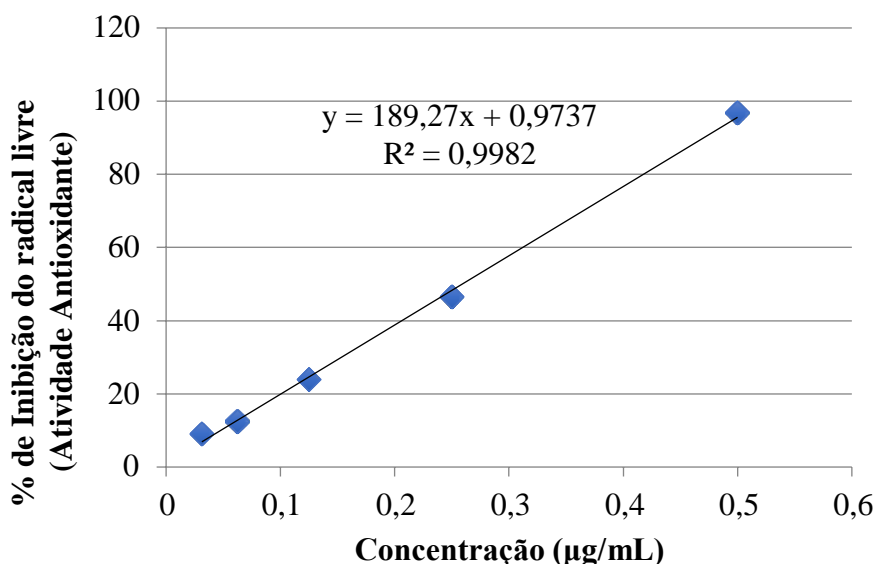
Fonte: AUTORA, 2017.

O valor de IC<sub>50</sub> foi definido com a concentração final em 2,22 µg.mL<sup>-1</sup> do extrato presente na cubeta, requerido para decrescer a concentração inicial de DPPH em 50%. Isso significa que são necessários 2,22 µg/mL da amostra de flores de *I. indica* para a redução de 50% do DPPH.

Foram feitas as leituras das absorvâncias das soluções, em duplicata, utilizando-se etanol como branco. Sendo construída a curva padrão de DPPH plotando-se o valor médio das absorvâncias obtidas x concentração da solução após o intervalo de 30 minutos.

O potencial em sequestrar radicais livres foi expresso como concentração final do extrato necessária para inibir a oxidação do radical DPPH em 50%, e os resultados são descritos na Tabela 4 e gráfico (Figura 54) refere-se à curva de calibração empregada para o experimento de DPPH. Esta curva também foi avaliada quanto à linearidade.

**Figura 54** – Percentual da atividade antioxidante em função da concentração do extrato etanólico de flores de *I. indica* para a redução de 50% do DPPH



Fonte: AUTORA, 2017.

Ainda que a atividade antioxidante das amostras provenientes do extrato etanólico de flores de *I. indica* tenha sido superior às convencionais, uma vez que apresentaram menores valores para o parâmetro de IC<sub>50</sub>, ainda assim essa ação foi inferior à atividade antioxidante exercida pelo padrão de vitamina C (IC<sub>50</sub> de 0,03 µg.mL<sup>-1</sup>). Isso pode ser justificado em virtude da vitamina C ser um padrão purificado e que os extratos etanólicos



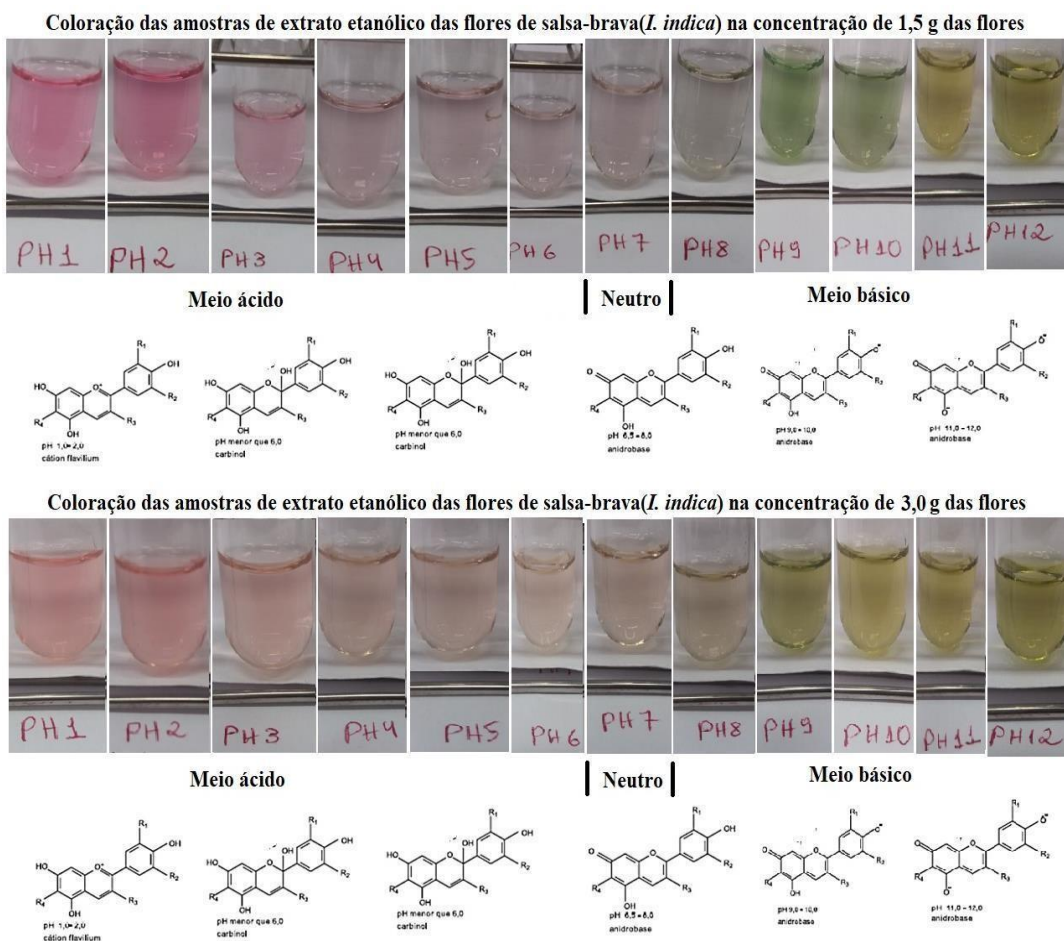
das flores de *I. indica* apresentam inúmeras substâncias que contribuem para o efeito antioxidante, como compostos fenólicos e flavonoides.

Considerando-se o conjunto dos resultados, amostras provenientes do extrato etanólico de flores de *I. indica* estudadas apresentaram ação antioxidante e sugere depois dos resultados uma cinética de reação de primeira ordem.

### 6.12 Resultado da variação do pH a partir dos extratos etanólicos das flores de salsa-brava (*I. indica*)

As amostras apresentaram cores que variam do vermelho (pH ácido) até o amarelo (pH básico). Os resultados quanto a coloração sendo correlacionados com as possíveis estruturas das antocianidinas das amostras, nas duas concentrações estudadas são apresentadas na Figura 55.

**Figura 55** – Coloração adquirida pelas amostras de extrato etanólico das flores de *I. indica* com variação de pH



Os resultados quanto à absorvância lida após a mistura da solução tampão padronizadas de pH de 1 a 12 com a amostra de extrato etanólico das flores de *I. indica* em comprimentos de onda de 380 nm das mesmas e em duas concentrações diferentes dos extratos estão dispostas na Tabela 5.

**Tabela 5** – Leitura das absorvâncias em 380 nm da mistura das soluções-tampão padronizadas com o extrato etanólico das flores de *I. indica*

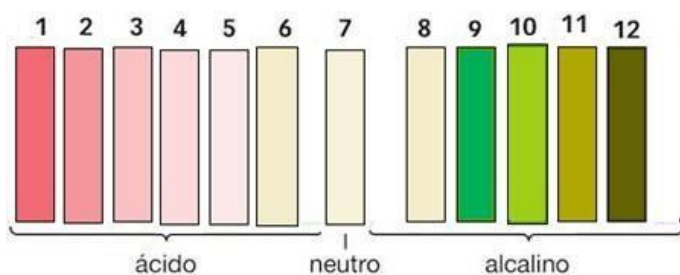
Soluções Tampão padronizadas		Análise do Extrato Etanólico das flores de <i>I. indica</i>	
pH	Meio	Extrato 1 – Concentração de 1,5 g	Concentração de 3,0 g
		Absorvância	Absorvância
1	Ácido	0.266	0.377
2		0.307	0.368
3		0.295	0.346
4		0.302	0.362
5		0.234	0.350
6		0.255	0.368
7	Neutro	0.270	0.364
8	Alcalino	0.264	0.381
9		0.611	1.301
10		1.276	1.801
11		0.484	1.780
12		0.430	0.599

Fonte: AUTORA, 2016.

Isso ocorre porque quando adicionados, frequentemente, ácidos ou bases fracas ligam-se aos íons  $H^+$  ou  $OH^-$ . Segundo Lima (2013) A ligação a estes íons,  $H^+$  ou  $OH^-$ , provoca uma alteração da configuração eletrônica destes indicadores e, conseqüentemente, altera-lhes a cor.

O extrato da flor (*I. indica*) mostrou-se um bom indicador de pH, modificando a coloração da solução de acordo com o pH do meio e medidas de absorbâncias em comprimentos de onda de 380 nm. Além disso, para se medir o pH (potencial hidrogeniônico) é usado escalas de colorimétricas para definir o grau de acidez ou basicidade de uma solução. Assim foi sugerida uma escala de pH do extrato etanólico das flores de salsa-brava (*I. indica*) os quais denotam vários graus de acidez ou alcalinidade, pH de 0 a 12 (Figura 56).

**Figura 296** – Escala colorimétrica para variação do pH a partir dos extratos etanólicos das flores de salsa-brava (*I. indica*)

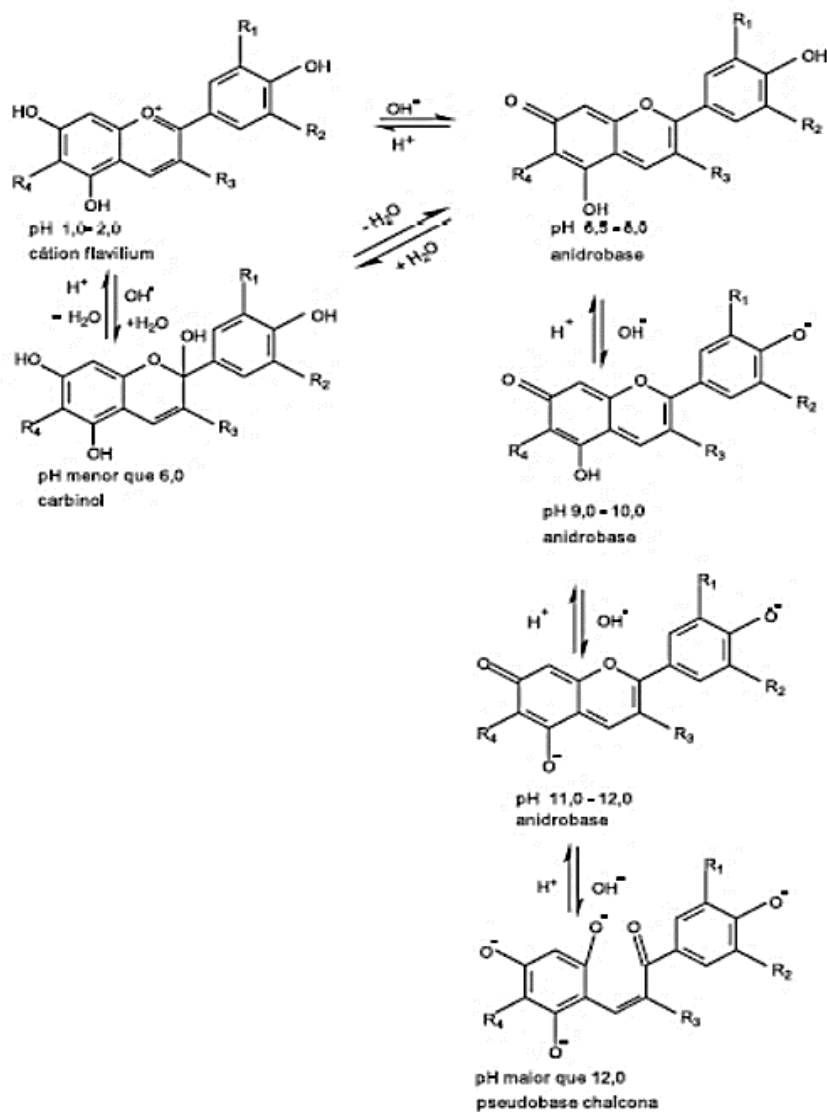


Fonte: AUTORA, 2016.

Corantes são dotados de propriedades halocrômicas, ou seja, é a capacidade de mudar de coloração em função do pH do meio. Sendo classificados como um dos indicadores de pH, também chamados indicadores ácido-base. Estes compostos químicos quando são adicionados em pequenas quantidades, a uma solução, permitem conhecer se a solução é ácida, básica ou neutra.

Os indicadores podem ser naturais ou sintéticos, como, exemplo de indicadores naturais, se destacam as antocianidinas, um tipo de antocianinas responsáveis por colorações das plantas. No caso dos indicadores naturais, segundo VOLP *et al.* (2008) trata-se quimicamente, das antocianinas que são glicosídeos das antocianidinas, cujo núcleo básico é o *cátion flavilium*. Esse núcleo básico pode adquirir as seguintes cores (Figura 56).

**Figura 56** – Estruturas das antocianidinas em função do pH



Fonte: GUIMARÃES; ALVES; FILHO, 2012.

### 6.13 Resultado da avaliação da atividade fotoprotetora *in vitro* dos extratos etanólicos das flores de salsa-brava (*I. indica*)

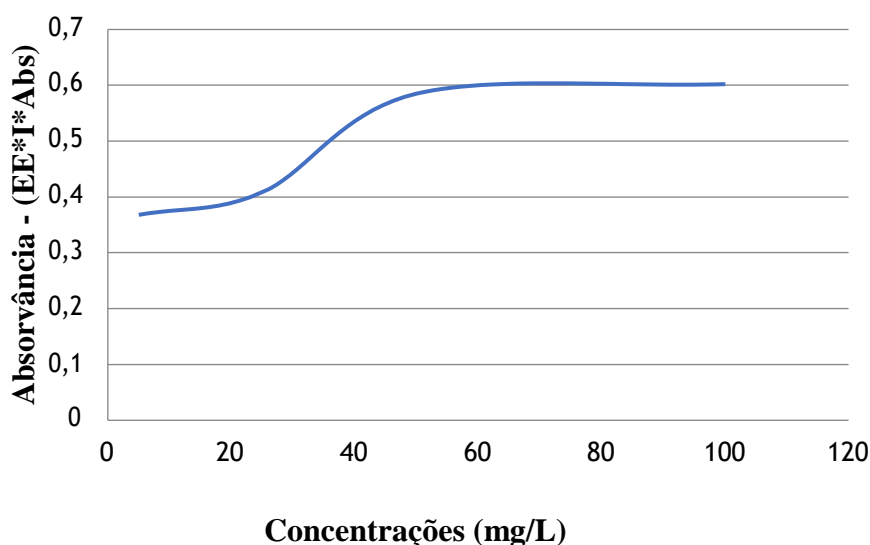
O método de Mansur (1986) foi escolhido para determinação do FPS, pois se trata de um método rápido, reprodutível e adequa-se facilmente às condições dos extratos e frações, já que os mesmos são solúveis no solvente utilizado. Segundo SAYRE *et. al.* (2008) os métodos *in vitro* apresentam vantagens, como a rapidez de execução, o custo acessível, a reprodutibilidade e a não exposição do voluntário ao risco.

Quanto aos produtos com FPS mais altos, a correlação entre os métodos humanos e espectrofotométricos é mais baixa, uma vez que a determinação do FPS humano dos

produtos está sujeita a uma margem de erro (MANSUR *et. al.*, 1986). Ou seja, os menores comprimentos de onda mais altos os FPS.

Embora o teste tenha sido realizado *in vitro*, foi demonstrado que este método correlaciona-se bem com os testes *in vivo*, porque relaciona a absorvância da substância em questão com o efeito eritematoscópico da radiação e intensidade da luz em comprimentos de onda específicos entre 290 e 320 nm (Região UVB) (Violante *et. al.*, 2009) (Figura 57).

**Figura 57** – Perfil de média absorção espectrofotométrica {[EE ( $\lambda$ ) \* I( $\lambda$ )]\*Abs} dos extratos secos de *I. indica* (290-320 nm).



Fonte: AUTORA, 2017.

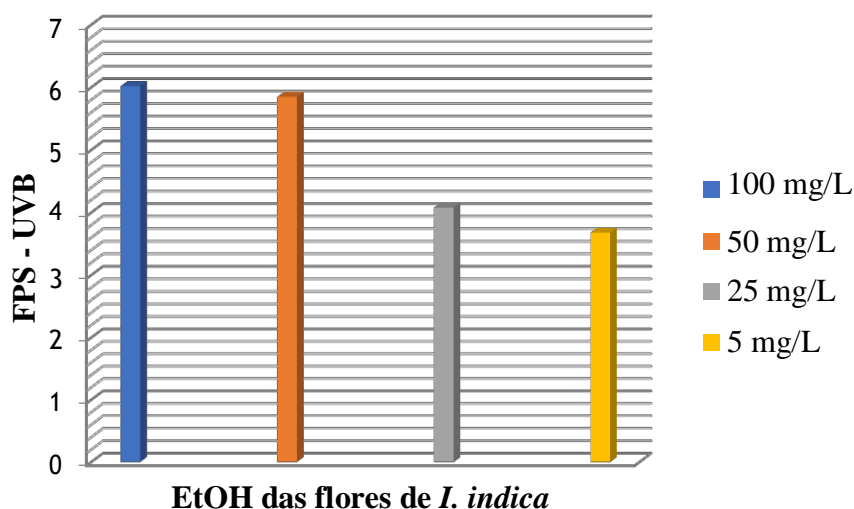
O recomendado é a utilização dos extratos vegetais como coadjuvantes aos filtros sintéticos, e, nos casos, dos extratos das flores da *Ipomoea indica*, devido a sua atividade fotoprotetora atuando como um efetivo para o preparo de um produto fotoprotetor nas absorvâncias encontradas na faixa de fotoproteção.

De acordo com a legislação brasileira, RDC N° 30 de 1° de junho de 2012 (BRASIL, 2012), um produto para ser utilizado em cosméticos fotoprotetores, deve apresentar FPS de no mínimo 6. Desta forma, não se justificaria a incorporação isolada dos extratos analisados nestas preparações.

Os resultados por espectrofotometria *in vitro*, apresentam uma boa correlação para os protetores solares com filtros orgânicos do teste. Em relação ao extrato comercial, foi

possível observar que o valor do FPS das concentrações de 5% e 10% é diferente de zero e crescentes, sendo relevantes fazer novos testes para a determinação do FPS. Segundo Rai & Srinivas (2007); Springsteen et al. (1999) como medida da variação média dos valores de FPS de cada ponto medido:  $\leq 10\%$  indica que a amostra foi bem preparada e  $> 10\%$  indica que a amostra pode não ter sido muito bem elaborada.

**Figura 58** – Fator de proteção solar (FPS) *in vitro* dos extratos secos de *I. indica*



Fonte: AUTORA, 2017.

De acordo com Cabral, Pereira e Partata (2011), os filtros solares naturais apresentam absorção consideravelmente baixa, o que se observado pelos dados obtidos no presente estudo.

Os resultados obtidos demonstraram que os extratos puros quando analisados pela sua capacidade fotoprotetora, apresentaram baixos FPS pois apenas em uma das concentrações atingiu o esperado (Figura 57) e (Figura 58) pela legislação.

#### **6.14 Resultado da avaliação do bioensaio de toxicidade com *ârtemia salina* dos extratos etanólicos das flores de salsa-brava (*I. indica*)**

Conforme a metodologia realizada em duplicata foi testada o extrato bruto das flores de salsa-brava (*I. indica*) nas concentrações de 31,2; 62,5; 125; 250; 500 ppm. Os resultados dos ensaios nas concentrações testadas podem ser visualizados na figura 59 e Tabela 6.

A Tabela 6 apresenta o número de óbitos de *A. salina* ocorridos na presença das diferentes concentrações das frações testadas sendo observadas após 24 h e 48 h.

**Tabela 6** – Número de óbitos de *A. salina* frente às frações testadas e suas respectivas concentrações do extrato etanólico das flores de salsa-brava (*I. indica*)

Amostras das concentrações (mg/mL)	Quantidade de <i>A. salina</i> expostos	Quantidade de cistos de <i>A. salina</i> mortos	
		24 horas	48 horas
Água salina (controle negativo)	20	0	0
0,5	20	19	20
0,25	20	19	20
0,125	20	15	20
0,0625	20	13	19
0,0312	20	10	19

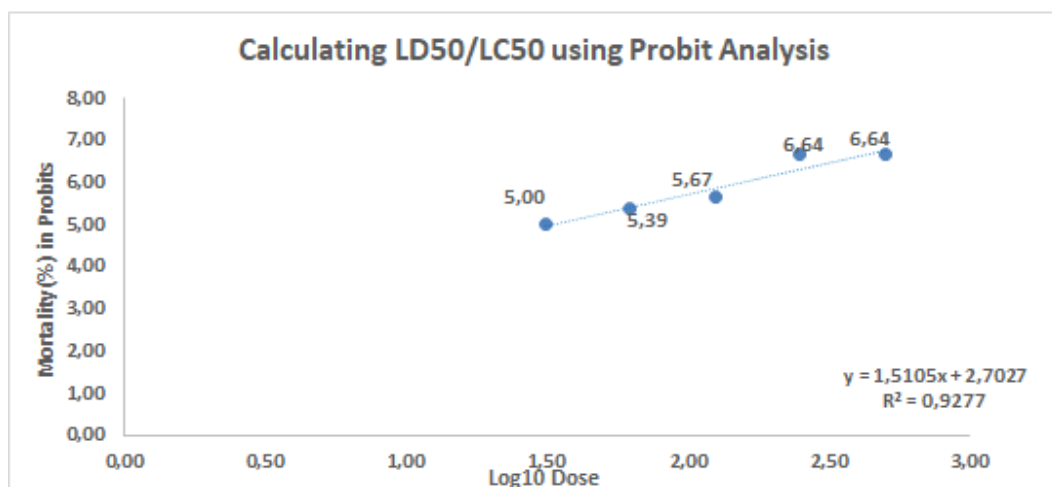
Fonte: AUTORA, 2017.

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), são consideradas tóxicas substâncias que apresentam valores de DL<sub>50</sub> ou CL<sub>50</sub> abaixo de 1000 ppm em *ârtemia salina* (MEYER *et al.*, 1982).

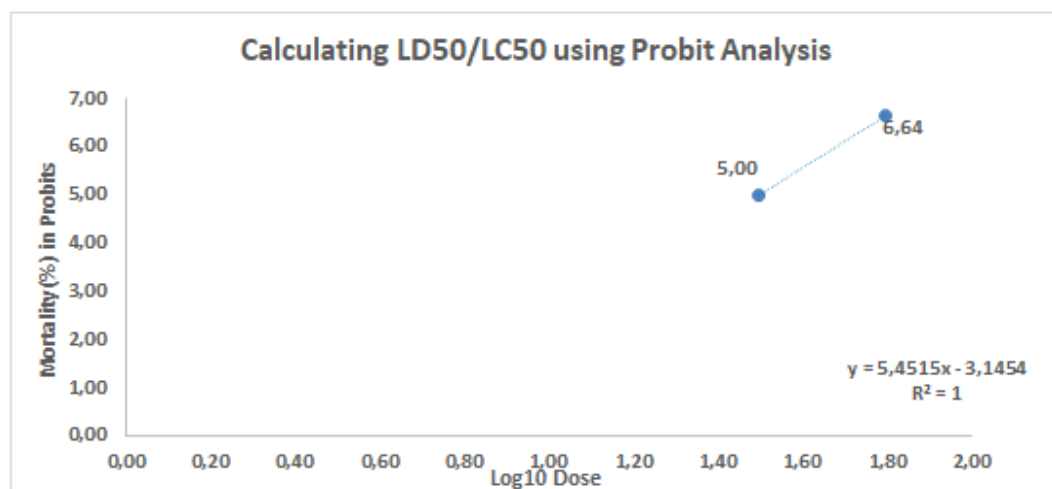
De acordo com a metodologia adotada e sugerida por Ramos *et. al.* (2007) que a define, o teste utilizado, como um bom indicador de potencial citotóxico de extratos de substâncias.

**Figura 59** – Taxas de mortalidade de *ârtemia salina* Leach. em função das concentrações dos extratos em 24 horas (Gráfico 1) e 48 horas (Gráfico 2).

**Gráfico 1 - Cálculo DL50 após 24 horas.**



**Gráfico 2 - Cálculo DL50 após 48 horas.**



Fonte: AUTORA, 2017.

O teste de toxicidade do extrato etanólico das flores *I. indica* frente à *A. salina* apresenta alta letalidade, demonstrando que mesmo em baixas concentrações se tem um alto bioindicador de toxicidade, ou seja, elevada citotoxicidade.

A análise gráfica (Figura 59) do bioensaio confere para o extrato etanólico das flores de salsa-brava (*I. indica*) uma concentração letal ( $CL_{50}$ ) de 33,218 ppm, já no primeiro dia de observação (24 horas), enquanto no segundo dia baixa ainda mais  $CL_{50}$  correspondendo a 31, 200 ppm após dois dias (48 horas), assim sendo, motivo que corrobora a observação da alta toxicidade do extrato etanólico das flores de *I. indica* sobre *A. salina*.



## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A investigação química do extrato etanólico das flores de salsa-brava apresentou metabólitos secundários satisfatórios para a maioria dos reagentes testados apresentando alcaloides, glicosídeos cardiotônicos, taninos condensados, triterpenos, terpenos, cumarinas e flavonoides (flavonas, flavonóis e xantonas). No entanto, saponinas e taninos hidrolisáveis foram negativos.

Após a avaliação fitoquímica das amostras do extrato etanólico das flores de *I. indica* que revelou dentre outros, a presença de flavonoides e outros compostos fenólicos tornou-se relevante para se sugerir uma escala de pH construída a partir das colorações obtidos de soluções diferentes pH.

Os testes da avaliação antioxidante pelo método de sequestro de DPPH sendo estabelecida uma cinética de primeira ordem. Quanto ao de toxicidade pelo bioensaio com a *ârtemia salina* se detectou altos índices de letalidade para baixas concentrações do extrato verificando assim um bom teor tóxico.

A investigação da avaliação fotoprotetora do extrato de flores secas de *I. indica* foi determinado pelo fator de proteção solar *in vitro* por meio de método espectrofotométrico mas revelou-se que o extrato etanólico possui baixa FPS sendo analisado isolado. Agora, o mesmo sendo analisado junto com produtos já credenciados no mercado ele pode indicar um bom intensificador desse fator.

Assim, o estudo permitiu para a verificação das atividades biológicas como: citotóxica, antioxidante e citoprotetora da planta representando uma contribuição para o conhecimento químico da espécie.

Com base nos resultados que foram obtidos deste trabalho permitem vislumbrar a continuidade do estudo fitoquímico desta espécie, visto que o mesmo possui diversas classes de substâncias, algumas com estruturas diversificadas e atividades biológicas ainda não descritas.

Assim, a pesquisa viabiliza aquisição de informações possibilitando a disseminação do conhecimento fitoquímico, ainda não descritos na literatura, à cerca da espécie e contribui para pesquisas futuras sobre a mesma.

## REFERÊNCIAS

ABIFISA, Associação Brasileira Das Empresas Do Setor De Fitoterápicos, **Suplemento Alimentar E De Promoção Da Saúde**. Disponível em: [http://www.abifisa.org.br/saibamais\\_historico.asp](http://www.abifisa.org.br/saibamais_historico.asp), 2012. Acesso em 19 mar. 2016.

ABREU Matos, F. J. de; LORENZI, H.; dos Santos, L.F.L.; MATOS, M.E.O.; SILVA, M.G.V.; de Souza, M.P. **Plantas tóxicas: estudo de fitotoxicologia química de plantas brasileiras**. Editora Plantarum, Nova Odessa – SP, p.64. 2011.

AGRA, C. A. & DANTAS, I. C. Identificação das plantas medicinais indicadas pelos raizeiros e utilizadas pelas mulheres no combate a enfermidades do aparelho geniturinário na cidade de Campina Grande, PB. 2007. **Revista de Biologia e Farmácia**, 1: 1-13.

AHERNE, S.A.; O'BRIEN, N.M. **Dietary flavonols: chemistry, food content, and, metabolism. Nutrition**. New York: v. 18, n. 1, p. 75-81, 2002.

ALBUQUERQUE, U. P.; ANDRADE, L. H. C. **Conhecimento botânico tradicional e conservação em uma área de caatinga no estado de Pernambuco, Nordeste do Brasil**. Acta Botanica Brasilica, v. 16, p.273–285, 2002b.

ALBUQUERQUE, U.P. de & LUCENA, R.F.P. de(Orgs.). **Métodos e técnicas na pesquisa etnobotânica**. Recife. Núcleo de Publicações em Ecologia e Etnobotânica Aplicada (NUPEEA), 2004, p.189.

ALBUQUERQUE, U.P. **Introdução à Etnobotânica**. 2ª ed. Bagaço, 2002. 87 p.

ALCOFORADO-FILHO, F. G., SAMPAIO, E. V. S. B., RODAL, M. J. N. **Florística e fitossociologia de um remanescente de vegetação caducifólia espinhosa arbórea em Caruaru, Pernambuco**. Acta Botanica Brasilica, v.17, n.2, p. 287-303, 2003.

ALVES A.R, SILVA M.J.P. O uso da fitoterapia no cuidado de crianças com até cinco anos em área central e periférica da cidade de São Paulo. **Revista Escola de Enfermagem**, USP. 2003; 37(4):85-91.

ALVES, T.M.A.; SILVA, A.F.; Brandão, M.; Grandi, T.S.M.; Smania, E.F.A.; Smania Júnior, A. & Zani, C.L. 2000. **Biological screening of Brazilian medicinal plants**. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 95: 367-373.

AMORIN, E.L.C. *et al.* **Fitoterapia: instrumento para uma melhor qualidade de vida**. Infarm., v. 15, n. 1, p. 66-69, 2003.

AMOROZO, M. C. M; FURLAN, A; PILLA, M. A. C; **Obtenção e uso das plantas medicinais no distrito de Martim Francisco, Município de Mogi-Mirim/SP, Brasil.** Acta Botânica Brasílica, São Paulo, v. 20, nº 4, p.789-802, out./dez., 2006.

AMOROZO, M.C.M. **Uso e diversidade de plantas medicinais em Santo Antônio de Leverger, MT, Brasil.** 2002. Acta Botanica Brasilica 16: 189-203.

ANDRADE, S.F.; CARDOSO, L.G.; BASTOS, J.K. Anti-inflammatory and antinociceptive activities of extract, fractions and populnoic acid from bark wood of *Austroplenckia populnea*. Journal of Ethnopharmacoly, v.109, n. 3, p. 464-471, 2007.

ANGELO, P.M. & JORGE, N. **Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão.** Instituto Adolfo Lutz. v.66, n.1, p. 1-9, 2007.

ANVISA – **Agência Nacional de Vigilância Sanitária.** Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/medicamentos/fitoterapicos/definicao.htm>, 2003. Acesso em 24 jun. 2015.

ARAGUAIA, Mariana. "**Angiospermas**"; *Brasil Escola*. Disponível em <<http://brasilecola.uol.com.br/biologia/angiospermas.htm>>. Acesso em 30 de setembro de 2017.

ARAÚJO J.A.S.; RIET-CORREA F.; MEDEIROS R.M.T.; SOARES M.P.; OLIVEIRA D.M.; CARVALHO F.K.L. **Intoxicação experimental por Ipomoea asarifolia (Convolvulaceae) em caprinos e ovinos.** Rio de Janeiro: Pesquisa Veterinária Brasileira, v. 28 n. 10, p. 488-494, 2008.

ARAÚJO, E. L.; FERRAZ, E. M. N. **Processos ecológicos mantenedores da diversidade vegetal na caatinga: estado atual do conhecimento.** In: SALES, V. C. (Org.). Ecosistemas brasileiros: manejo e conservação. Fortaleza: Expressão Gráfica. 2003, p. 115-128.

ARAÚJO, E.C. et al. Use of medicinal plants by patients with cancer of public hospitals in João Pessoa (PB). **Revista Espaço para a Saúde**, v. 8, n. 2, p. 44-52, 2007.

ARAÚJO, Marília. **Ordem Solanales.** Informações obtidas segundo Ordem Solanales. Disponível em: <[infoescola.com/plantas/ordem-solanales/](http://infoescola.com/plantas/ordem-solanales/)>. Acesso em: 29/06/2016.

AUSTIN, D.F.; CAVALCANTI, P.B. **Convolvulaceas da Amazônia.** Publicações Avulsas do Museu Goeldi, v.36, p.1-134, 1982.

BANDEIRA, M. A. M.; MATOS, F. J. A. **Manual de orientações farmacêutica sobre preparações de remédios caseiros com plantas medicinais.** Fortaleza: Farmácia Viva, 2010.

BARBOSA, J.D.; OLIVEIRA, C.M.C. de; DUARTE, M.D.; PEIXOTO, P.V.; TOKARNIA, C.H. **Intoxicação experimental e natural por Ipomoea asarifolia (Convolvulaceae) em búfalos e outros ruminantes.** Rio de Janeiro: Pesquisa Veterinária Brasileira, v.25, n.4, p.231-234, 2005.

BARBOSA, R.R.; RIBEIRO FILHO, M.R.; DA SILVA, I.P.; SOTO-BLANCO, B. **Plantas tóxicas de interesse pecuário: importância e formas de estudo.** Mossoró: Acta Veterinaria Brasília, v.1, n.1, p.1-7, 2007.

BARREIRO, E. J; BOLZANI, V. S. **Biodiversidade: fonte potencial para a descoberta de fármacos.** Revista Química Nova. Rio de Janeiro, v.32, n.3, p.679- 688, 2009.

BARREIRO, E.J. **Sobre a Química dos remédios, dos fármacos e dos medicamentos.** Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola. nº 3, Maio, 2001. Pg. 4 a 10.

BEGOSI, A.; HANAZAKI, N. & TAMASHIRO, Y. **Medicinal plants in the Atlantic Forest (Brazil): Knowledge, use and conservation.** Human Ecology nº 30, p. 281-299, 2002.

BELITZ, H.D.; GROSCH, W. **Química de los alimentos.** Zaragoza: Acribia, p. 645-656, 1988.

BIRCH, A.E. et al. **Antioxidant proprieties of evening primrose seed extracts.** J. Agric. Food Chemistry, Chicago: v.49, p. 4502-4507, 2001.

BOBBIO, F.O.; BOBBIO, P. A. **Introdução à química de alimentos.** 2.ed. São Paulo : Varela, 1989.

BOBBIO, P. A.; BOBBIO, F. O. **Química do processamento de alimentos.** 2.ed. São Paulo: Varela, 1992.

BOORHEN, R.L. **Legislação sobre a Biodiversidade e o Uso Sustentável.** In: Encontro de Biólogos do CRBio – 1 e Encontro Nacional de Biólogos do CFBio, 12, 2001, Campo Grande. Anais do 120 Encontro de Biólogos do CRBio – 1 e 30 Encontro Nacional de Biólogos do CFBio. Campo Grande: UFMS, 2001, p. 42.

BRAGA, F.C. de. **Pesquisa Fitoquímica.** In: LEITE, J.P.V. Fitoterapia: bases científicas e tecnológicas. 1. ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2009, 328p.

BRASIL. IBDF. **Fundação Brasileira para a Conservação da Natureza**. Plano de Manejo do Parque Nacional de Itatiaia. Brasília, 2004. 207p.

BRASIL. **Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos**. Departamento de Assistência Farmacêutica. Política nacional de plantas medicinais e fitoterápicos / Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de Assistência Farmacêutica. – Brasília: Ministério da Saúde, 2016. 60 p. – (Série B. Textos Básicos de Saúde).

BRASIL. **Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos**. Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos. Brasília: Ministério da Saúde, 2009. 60 p. – (Série B. Textos Básicos de Saúde, 1ª edição).

BRASIL. **Ministério do Meio Ambiente/Secretaria de Recursos Hídricos**. Atlas das áreas suscetíveis à desertificação do Brasil. 2014. Brasília: MMA. Disponível em: <[http://www.mma.gov.br/estruturas/sedr\\_desertif/\\_arquivos/129\\_08122008042625.pdf](http://www.mma.gov.br/estruturas/sedr_desertif/_arquivos/129_08122008042625.pdf)>. Acesso em: 13 fev. 2017.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. **Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity**. Lebensmittel-Wissenschaft Technologie, London, v. 28, p. 25-30, 1995.

BRENNA, O.V.; PAGLIARINI, E. **Multivariate analyses of antioxidant power and polyphenolic composition in red wines**. J. Agric. Food Chemistry. Chicago: v.49, p. 4841-4844, 2001.

BRUNETON, J. **Phenols and Phenolic acids In BRUNETON, J. Pharmacognosy, phytochemistry and medical plants**. Lavoisier Press. EUA. p. 211-227, 1995.

BURIL-VITAL, M.T.A. (2009). **Convolvulaceae**. In: Alves, M.; Araújo, M. F.; Maciel, J.R.; Martins, S. (Orgs.). Flora de Mirandiba. Recife: Associação Plantas do Nordeste. p 121-134.

CALDAS PINTO, M. S.; BORGES CAVALCANTE, M. A.; MEIRA DE ANDRADE, M. V. Potencial forrageiro da caatinga, fenologia, métodos de avaliação da área foliar e o efeito do déficit hídrico sobre o crescimento de plantas. **Revista Eletrônica de**

**Veterinária.** 2006. REDVET, v.7, n°. 04. Disponível no site: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet>.

CALIXTO, J. B.; YUNES, A. R. **Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna.** 1ªed., Santa Catarina, Argos, 2001.

CASTAÑEDA, Leticia Marisol Flores. **Antocianinas: O que são? Onde estão? Como atuam?** Disponível em: <http://www.ufrgs.br/agronomia/materiais/userfiles/Leticia.pdf>>. Acesso em: 20 nov. 2016.

CASTELLETTI, C. H. M.; SILVA, J. M. C.; TABARELLI, M.; SANTOS, A. M. M. **Quanto ainda resta da caatinga? Uma estimativa preliminar.** In: SILVA, J. M. C.; TABARELLI, M.; FONSECA, M. T.; LINS, L. V. (Eds). Biodiversidade da Caatinga: Áreas e Ações Prioritárias para Conservação. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2004, p. 92-100.

CAMPELLO, F. B. *et.al.* **Diagnostico florestal da Região Nordeste.** Natal: Projeto IBAMA/PNUD, 1999, p. 16. (Boletim técnico n. 2).

CARVALHO, J.C.T., GOSMANN, G., SCHENKEL, E.P. **Compostos fenólicos simples e heterosídicos.** In: SIMÕES, C.M.O., SCHENKEL, E.P., GOSMAN, G., MELLO, J.C.P., MENTZ, L.A. PETROVICK, P.R. **Farmacognosia – da planta ao medicamento.** 4ªed. Porto Alegre/Florianópolis. Editora da Universidade, p.443-461. 2002.

CESAR & CEZAR. **Biologia.** São Paulo: Saraiva, 2002.

COX, P. A. **The ethnobotanical approach to drug discovery: strengths and limitations.** In: PRANCE, G. T., DEREK, J. C., MARSH, J. Ethnobotany and the Search for New Drugs - CIBA Foundation Symposium 185. London: John Wiley & Sons Ltd, 1994, p. 25-41.

CORDENUNSI, B.R. *et. al.* **Influence of cultivar on quality parameters and chemical composition of strawberry fruits grown in Brazil.** J. Agric. Food Chemistry. Chicago: v. 50, n. 9, p. 2581-2586, 2002.

CRONQUIST, A. **An integrated system of classification of flowering plants.** Columbia University Press, 1981. New York.

CROTEAU, R, KUTCHAN, TM; LEWIS, NG. **Natural Products (Secondary Metabolites)**. In: BUCHANAN, B; GRUISSEM, W; JONES R (Eds.). *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*. Rockville: Courier Companies, Inc., 2000. p. 1250-318.

CUNHA, W. da. **Contexto histórico, uso popular e concepção científica sobre plantas medicinais**. São Luis: Cad. Pesq, 2011. 8 v.

DAL'BELO, Susi Elaine. **Avaliação da eficácia fotoprotetora, penetração cutânea e segurança de formulações cosméticas contendo extratos de chá verde e Ginkgo biloba**. 2008. 192f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

DANTAS, A.F.M.; GUEDES, K.M.R.; RIET-CORREA, F.; SIMÕES, S.V.D.; MIRANDANETO, E.G.; NOBRE, V.M.T.; MEDEIROS, R.M.T. **Doenças do sistema nervoso central em caprinos e ovinos no semi-árido**. 2007. Rio de Janeiro: Pesquisa Veterinária Brasileira, v. 27, n. 1, p.29-38.

DANTAS, I. C. & GUIMARAES, F. R. **Perfil dos raizeiros que comercializam plantas medicinais no município de Campina Grande, PB**. 2006. *Revista de Biologia e Ciências da Terra*, 6(1): 39-44.

DEGÁSPARI, Cláudia Helena; WASZCZYNSKYJ, Nina. **Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos**. Disponível em: <<http://www.visaoacademica.ufpr.br/v5n1/degaspari.htm>>. Acesso em: 15 jul. 2017.

DELBONE, C. A.C. **Importância ecológica e evolutiva dos principais grupos de metabólitos secundários nas espécies vegetais**. In: Congresso de Educação do Norte Pioneiro, 10., 2010, Jacarezinho. *Anais Jacarezinho: UENP – Universidade Estadual do Norte do Paraná – Centro e Ciências Humanas e da Educação e Centro de Letras Comunicação e Artes*, 2010, p. 396-404.

DÖBEREINER, J., TOKARNIA, C. H., CANELA, C. F. C. **Intoxicação experimental pela salsa *Ipomoea asarifolia* (R. et Schult) em ruminantes**. São Paulo: *Arquivos do Instituto Biológico Animal*, v.3, p.39-57, 1960.

DUTRA, R.K.D.; CANDEIA, E.S.P.; MUNGUBA, E.J.L.A.; PINTO, M.A.; SILVA, T.L.A. **Fotoenvelhecimento e fotoproteção na percepção de idosos**. *Revista Fisioterapia Brasil*. Campina Grande, 2013.

ELISABETSKY, E. Etnofarmacologia como ferramenta na busca de substâncias ativas. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G. (eds). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 2ed. Porto Alegre / Florianópolis: Universidades UFRGS / UFSC, 2000, p. 87- 99.

FACULDADE DE FARMÁCIA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA. **68481/2010: ALCALÓIDES: Relevância na farmácia e no medicamento**. Coimbra: Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, 2015.

FALKENBERG, M.B. Quinonas In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOMES, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, A. & PETROVICK, P.R. 2001. **Farmacognosia**. 3ª edição. Editora Universidade do Rio Grande do Sul. 833p.

FARNSWORTH, N.R. **Screening Plants for New Medicines**. In: WILSON, E. O. (ed.). Biodiversity. Washington D.C.: Nat. Acad. Press, 1989. 521 p.

FÁVERO, O. A.; PAVAN, S. **Botânica Econômica**. São Paulo: Catalise Editora, 1997, p. 175.

FENNEMA, O. R. **Química de los alimentos**. 2.ed. Zaragoza: Acribia, 1993.

FERNANDES, R. S. **Avaliação Antiofídica do Extrato de *Serjania erecta Radlk in natura in vitro*: Isolamento e Caracterização Estrutural e Compostos Bioativos**. Tese de Doutorado, Programa de Pós-Graduação em Toxicologia, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto- USP, 2010.

FERREIRA, Priscila Porto Alegre; SILVA, Teresinha Sfoggia Miotto. Sinopse das espécies de Ipomoea L. (Convolvulaceae) ocorrentes no Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Biociência**, Rio Grande do Sul, v. 7, n. 4, p.135-168, ago. 2009. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/seerbio/ojs/index.php/rbb/article/view/1229>>. Acesso em: 10 jul. 2017.

FLOR, J.; DAVOLOS, M. R.; CORREA, M. A. Protetores Solares. **Química Nova**, v. 30, n. 1, p. 153-158, 2007.

**Flora do Brasil 2020 em construção**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>>. Acesso em: 27 Set. 2017.



FOGAÇA, Jennifer Rocha Vargas. "Alcaloides"; **Revista Brasil Escola**. Disponível em <<http://brasilecola.uol.com.br/quimica/alcaloides.htm>>. Acesso em 27 de setembro de 2017.

FONSECA-KRUEL, V. S.; PEIXOTO, A. L. **Etnobotânica na Reserva Extrativista Marinha de Arraial do Cabo, RJ, Brasil**. Acta Botanica Brasilica, v. 18, n. 1, p. 177-190, 2004.

FORD, R.I. **Ethnobotany: historical diversity and synthesis**. In: R.I. Ford; M. Hodge & W.L. Merrill (eds.). The nature and status of ethnobotany. Annals of Arnold Arboretum. Michigan: Museum of Anthropology, University of Michigan. 1978. Anthropological Papers 67: 33-49.

FRANÇA I. S. X., *et al.* Medicina popular: benefícios e malefícios das plantas medicinais. **Revista Brasileira de Enfermagem**, Brasília. 2008; mar-abr; 61(2): 201-8.

FRANÇA, F.; Lago, E.L. & MARSDEN, P.D. 1996. Plants used in the treatment of leishmanial ulcers due to *Leishmania (Vannia) braziliensis* in an endemic area of Bahia, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. 29: 229-232.

FURLAN. **Flor das Angiospermas**. Disponível em: <<http://www.portalsaofrancisco.com.br/biologia/flor>>. Acesso em: 15 ago. 2017.

FUNCEME. **Climas do Brasil - Aratuba**. Disponível em: <<https://www.todamateria.com.br/climas-do-brasil/>>. Acesso em: 09 jun. 2016.

GONÇALVES, A.L.; ALVES FILHO, A.; MENEZES, H. **Estudo Comparativo da Atividade Antimicrobiana de Extratos de Algumas Árvores Nativas**. Arquivos do Instituto Biológico. v.72, n.3, p.353-358, 2005.

GOTLIEB, O. R.; KAPLAN, M. A. C. & BORIN, M. R. M. B. 1996. **Biodiversidade**. Um enfoque químico-biológico. Editora UFRJ, Rio de Janeiro, 267 pp.

GONZÁLEZ, F.H.D., BARCELLOS, J., PATIÑO, H.O., *et al.* **Perfil metabólico em ruminantes – seu uso em nutrição e doenças nutricionais**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2011, 106p.

HALLIWELL, B., AESCHBACH, R., LÖLINGER, J., ARUOMA, O.I. **The characterization on antioxidants.** Food and Chemical Toxicology, Oxford, v.33, n.7, p.601-617, 1995.

HAMILTON, A. **Medicinal plants and conservation: issues and approaches.** [s.l.]: International Plants Conservation Unit, 2003.

HASSIMOTO, N.M.; GENOVESE, M.I.; LAJOLO, F.M. **Antioxidant activity of dietary fruits, vegetables, and commercial frozen fruit pulps.** J. Agric. Food Chem., v. 53, n. 8, p. 2.928-2.935, 2005.

HELD, H. **Plant Biochemistry.** San Diego: Elsevier Academic Press, 2005.

HELFAND, W.H.; COWEN, D.L. **Pharmacy illustrated history.** New York: Harry N. Abrams, 1990.

HENRIQUES, A.T., KERBER, V.A., MORENO, P.R.H. **Alcaloides: generalidades e aspectos básicos.** In: SIMÕES, C.M.O., SCHENKEL, E.P., GOSMAN, G., MELLO, J.C.P., MENTZ, L.A. PETROVICK, P.R. **Farmacognosia – da planta ao medicamento.** 4ªed. Porto Alegre/Florianópolis. Editora da Universidade, p.651-666. 2002.

HERSCH-MARTÍNEZ, P. **Commercialization of wild medicinal plants from southwest puebla.** Economic Botany, Mexico, v. 49, n. 2, p. 197- 206, 1995.

HEYWOOD, V.H. **Flowering Plants of the world.** Oxford, Oxford University Press, 335p. 1993.

HOEHNE, F.C. 1922. **Convolvuláceas dos Herbários: Horto “Oswaldo Cruz”, Museu Paulista e Comissão Rondon.** Mems. Inst. Butantan Sec. Botânica, Anex.: 5-83-19 lam.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Contagem da População 2007. Disponível em:. Acesso em: 04 mar. 2016.

JOLY, A.B. & LEITÃO FILHO, H.F. 1979. **Botânica Econômica: as principais culturas brasileiras.** São Paulo, HUCITEC/EDUSP, 114p.

JUDD, W.S.; CAMPBELL, C.S.; KELLOGG, E.A; STEVENS, P. F. **Plant systematics: a phylogenetic approach.** 1999. Sunderland: Sinauer Associates.

KÄHKÖNEN, M.P.; HOPIA A.I.; HEINONEN, M. **Berry phenolics and their antioxidant activity.** J. Agric. Food Chemistry. Chicago: v.49, p. 4076-4082, 2001.

KHURY, E.; SOUSA, E. B. **Protetores Solares.** Cosmetics & Toiletries, São Paulo, v. 22, p.66-78, nov./dez. 2010.

KIILL, L.H.P.; RANGA, N.T. **Ecologia da polinização de Ipomoea asarifolia (Ders.) Roem. & Schult. (Convolvulaceae) na Região Semi-árida de Pernambuco.** São Paulo: Acta Botânica Brasílica, v. 17, n. 3, p. 355-362, 2003.

KOO, H.M.; SUHAILA, M. **Flavonoid (myricetin, quercetin, kaempferol, luteolin, and apigenin) content of edible tropical plants.** J. Agric. Food Chemistry. Chicago: v.49, n. 6, p. 3106-3112, 2001.

KUTCHAN, TM; LEWIS, NG. **Natural Products (Secondary Metabolites).** In: BUCHANAN, B; GRUISSEM, W; JONES R (Eds.). Biochemistry & Molecular Biology of Plants. Rockville: Courier Companies, Inc., 2000. p. 1250-318.

LAPA, A. J. **Importância da farmacologia tradicional e novas descobertas no estudo das plantas medicinais.** ARS Cvrandi, v.6, p.46-52, 1995.

LÉVÊQUE, C. **A biodiversidade.** Bauru: Ed. da Universidade Sagrado Coração, 1999.

LI, J.W.H. & VEDERAS, J.C. **Drug discovery and natural products: end of an era or an endless frontier?** Science, v.325, n.5837, p. 161-65, 2009.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas Medicinais no Brasil: nativas e exóticas.** 2. ed. Nova Odessa: Plantarum, 2008. p. 554.

LORENZI, Harri: **Plantas daninhas do Brasil.** Instituto Plantarum, Nova Odessa, SP, 4a. ed, p.240, 2008.

LUCENA, R. F. P.; ARAÚJO, E. L.; ALBUQUERQUE, U. P. **Does the Local Availability of Woody Caatinga Plants (Northeastern Brazil) Explain Their Use Value?** Economic Botany, v. 61, n. 4, p. 347–361. 2007a.

\_\_\_\_\_ ; ALBUQUERQUE, U. P.; MONTEIRO, J. M.; ALMEIDA, C. F. C. B. R.; FLORENTINO, A. T. N.; FERRAZ, J. S. F. **Useful Plants of the Semi-Arid**

**Northeastern Region of Brazil – A Look at their Conservation and Sustainable Use.**  
Environ Monit Assess, v.125, p. 281–290, 2007b.

\_\_\_\_\_ ; NASCIMENTO, V. T.; ARAÚJO, E. L.; ALBUQUERQUE, U.

**Local Uses of Native Plants in an Area of Caatinga Vegetation (Pernambuco, NE Brazil).** Ethnobotany Research & Applications, v. 6, p. 003-013, 2008.

MACIEL, M. A. M. et al. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, v. 25, n. 3, p. 429-438, 2002.

MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; VEIGA JR, V. F.; GRYNBERG, N. F. **Plantas medicinais:** a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, v.25, p. 429-438, 2002.

MACIEL, M. J. **Avaliação do extrato alcoólico de hibisco (hibiscus sadbariffa L.) como fato de proteção antibacteriana e antioxidante em alimentos.** 2011. 61f. Tese (dissertação em tecnologia de alimentos) – Instituto de ciencia e tecnologia de alimentos, Universidade federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

MAGNANINI, C. **Etnobotânica em Itatiaia, Rio de Janeiro:** plantas medicinais do Parque Nacional do Itatiaia e áreas do entorno/Cristina Magnanini. – Niterói : s. n., 2005.

MATOS, F. J. A. Introdução a fitoquímica experimental. Fortaleza: UFC, 1988.

MANSUR, J. de S.; BREDER, M. N. R.; MANSUR, M. C. D'; AZULAY, R. David. **Determinação do fator de proteção solar por espectrofotometria.** Anais Brasileiros de Dermatologia, Rio de Janeiro, v. 61, n. 3, p.121-124, maio/jun. 1986.

MARQUES, C.; DUTHOIT, M.; ALVARENGA, B.; ROSEIRO, L. B. **Implementação e validação do método de Folin-Ciocalteu para a determinação do teor em compostos fenólicos totais – aplicação a extratos de flor de cardo e queijo.** Tese de Licenciatura, Instituto Politécnico de Beja. Beja, 2004.

MATOS, F. J. A. Monografias das plantas medicinais no Ceará cientificamente validadas, sua descrição, propriedades e emprego. In: \_\_\_\_\_. 2000. **Plantas Mediciniais: guia de seleção e emprego de plantas usadas em fitoterapia no Nordeste do Brasil.** 2a Edição. Fortaleza: Imprensa Universitária, 2000, p 153-289.

MATOS, F.J. A. **Introdução à Fitoquímica Experimental.** 2. ed. Fortaleza: Edições UFC, 1997, 141p.

\_\_\_\_\_. **Plantas Medicinais:** Guia de seleção e emprego de plantas usadas em fitoterapia no Nordeste do Brasil. Vol. II. Fortaleza: IOCE. 1989.

MANELA-AZULAY, M. Vitamina C. **An. Bras. Dermatol.** Rio de Janeiro, v.78, n. 3. 2003.

MEDEIROS, M. F. T., FONSECA, V. S., ANDREATA, R. H. P. **Plantas medicinais e seus usos pelos sitiantes da Reserva Rio das Pedras, Mangaratiba, RJ, Brasil.** 2004. *Acta Botanica Brasílica*, 18(2): 391- 399.

MEISSNER, C.F. 1869. **Convolvulaceae.** In: MARTIUS C.P.F. EICHLER & A.G. (eds.). *Fl. bras.* 7: 199-730, tab. 72-124.

MELENDÉZ, P. A. & CAPRILES, V.A. **Antibacterial properties of tropical plants from Puerto Rico.** *Phytomedicine.* 2006. Porto Rico.

MELECCHI, S. I. M. **Caracterização química de extratos de Hibiscus tiliaceus L:** Estudo comparativo de métodos de extração. 2005. 197f. Tese (Doutorado em Química), Universidade Federal do Rio Grande Do Sul, Porto Alegre, 2005.

MELO, E.A.; GUERRA, N.B. **Ação antioxidante de compostos fenólicos naturalmente presentes em alimentos.** *Bol. SBCTA.* Campinas: v.36, n. 1, p. 1-11, 2002.

MELO, J. G.; AMORIM, E. L. C.; ALBUQUERQUE, U. P. **Native medicinal plants commercialized in Brazil priorities for conservation.** *Environmental Monitoring and Assessment*, v. 156, p. 567-580, 2009.

MELO, J.A. **Valorização da flora do cerrado com importância medicinal.** Universidade de Brasília. Trabalho de Conclusão de Curso, Luziânia: p.11-19, 11 dez. 2011.

MENDES, Z. F.; LIMA, E. R.; FRANCO, E. S.; OLIVEIRA, R. A.; ALEIXO, G. A. S.; MONTEIRO, V. L.; MOTA, R. A.; COELHO, C. O. M. C. **Avaliação da atividade antimicrobiana da tintura e pomada de Ruta graveolens (Arruda) sobre bactérias isoladas de feridas cutâneas em cães.** *Medicina Veterinaria, Recife*, v. 2, n. 3, p. 32-36, 2008.

MENEGATTI, R; FRAGA, C.A.M.; BARREIRO, E.J. **A importância da síntese de fármacos.** *Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola.* n° 3, Maio, 2001. Pg. 16 a 22.

MONTANARI Jr., I. **Aspectos da produção comercial de plantas medicinais nativas**. 2002. Disponível no site: <<http://www.cpqba.unicamp.br/plmed/index.html>>. Acesso em 15 de Fevereiro de 2017.

MONTEIRO, J. M.; ALBUQUERQUE, U. P.; ARAUJO, E. L.; AMORIM, E. L. C. Taninos: Uma abordagem da química a ecologia. **Revista Química Nova**, v. 28, p. 892–896, 2005.

MORAIS, S, M.; DANTAS, J. D. P.; SILVA, A. R. A.; MAGALHÃES, E. F. Plantas medicinais usadas pelos índios Tapebas do Ceará. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, p. 169-177, 2005.

MORGAN, R. **Enciclopédia das ervas e plantas medicinais**. São Paulo: Hemus, 1997.  
MORICAND, S. **Plantes Nouvelles d'Amérique**. Geneve. Jules G-me Fick. tab. 71- 84. 1844.

MOȚ, A. C.; SILAGHI-DUMITRESCU, R.; SÂRBU, C. Rapid and effective evaluation of the antioxidant capacity of propolis extracts using DPPH bleaching kinetic profiles, FT-IR and UV-vis spectroscopic data. **Journal of Food Composition and Analysis** v. 24, n. 4-5, p. 516-522, 2011.

MUNHOZ, V.M.; LONNI, A.A.S.G.; MELLO, J.C.P.; LOPES, G.C. Avaliação do fator de proteção solar em fotoprotetores acrescidos com extratos da flora brasileira ricos em substâncias fenólicas. **Rev Ciênc Farm Básica Apl**. 33(2):225-232, 2012.

NASCIMENTO, M.S.S.T. **Desenvolvimento tecnológico de formulação fotoprotetora a base de produtos naturais**. Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS). Dissertação de mestrado. Programa de Pós-Graduação em Farmácia. Campo Grande-MS, 2014.

NASCIMENTO, C.S.; NUNES, L.C.C.; LIMA, A.A.N.; GRANGEIRO JÚNIOR, S.; ROLIM NETO, P.J. **Incremento do FPS em formulação de protetor solar utilizando extratos de própolis verde e vermelha**. *Rev Bras Farm*. 90(4):334-339, 2008.

NEWMAN, D.J. Natural products as leads to potential drugs: an old process or the new hope for drug discovery? **Journal of Medicinal Chemistry**, v.51, n.9, p. 2589-99, 2008.

OLIVEIRA, R.B. 2008. **Terpenos e terpenoides**. Disponível no site: [www.geocities.com.br/plantas tóxicas](http://www.geocities.com.br/plantas_toxicas). Acesso em: 15 de Fevereiro de 2017.

OLIVEIRA, M.I.U. **O gênero Campomanesia Ruiz & Pavón (Myrtaceae) para o estado da Bahia.** Mestrado em botânica. Universidade Estadual de Fera de Santana. 2009. 158p.

PACHTER, I.J., ZACHARIAS, D.E., RIBEIRO, O. **Indole Alkaloids of Acer saccharinum (the Silver Maple), Dictyoloma incanescens, Piptadenia colubrina, and Mimosa hostilis.** Journal of Organical Chemistry. v.24, p.1285-1287, 1959.

PANNALA, A.S.; CHAN, T.S.; O'BRIEN, P.J.; RICE-EVANS, C.A. **Flavonoid b-ring chemistry and antioxidant activity: fast reaction kinetics.** Biochem. Biophys. Res. Commun., v. 282, n. 5, p. 1.161-1.168, 2001.

PELLETIER, D. A.; KALLURI, U. C.; HURST, G. B.; LANKFORD, P. K. **Shotgun proteome profile of Populus developing xylem.** Proteomics. Weinheim, v. 9, p. 4871-4880, 2009.

PERES, L.E.P. **Metabolismo Secundário.** Disponível no site: <http://www.ciagri.usp.br/~lazaropp>. Acesso em: 15 de Fevereiro de 2015.

PORTUGAL, Flora Digital de **Solanales.** Disponível em: <https://jb.utad.pt/ordem/solanales>>. Acesso em: 24 jul. 2017

QUIDEAU, S *et al.* **Plant polyphenols: chemical properties, biological activities, and synthesis.** Angewandte Chemie International Edition, v.50, n.3, p. 586-621, 2011.

RAMOS, Diovany Doffinger; CARDOSO, Claudia Andréa Lima; YAMAMOTO, Natanael Takeo. Avaliação do potencial citotóxico e atividade antioxidante em *Campomanesia adamantium* (Cambess.) O.Berg (Myrtaceae). **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, supl. 2, p. 774-776, jul. 2007

RASKIN, I. *et al.* **Plants and human health in the twenty-first century.** Trends in Biotechnology, v.20, n.12, p. 522-31, 2002.

RIET-CORREA, F.; TABOSA I.M.; AZEVEDO E.O.; MEDEIROS R.M.T.; SIMÕES S.V.D.; DANTAS A.F.M.; ALVES C.J.; NOBRE V.M.T.; ATHAYDE A.C.R.; GOMES A.A.; LIMA E.F. **Doenças dos ruminantes e eqüinos no semi-árido da Paraíba, Semi-árido em Foco.** 1(1): p.58-60, 2003.

RIGOTTI, Marcelo. **Metabolismo Secundário.** 2011. Disponível em: <http://farmacobotanica.xpg.uol.com.br/aula6.html>>. Acesso em: 26 jul. 2017.

RODAL, M.J.N., SAMPAIO, E.V.S.B.; **A vegetação do bioma caatinga.** In: SAMPAIO, E.V.S.B.; GIULIETTI, A.M.; VIRGÍNIO, J.; GAMARRA-ROJAS, C.F.L.

(eds). 2002. *Vegetação e flora da caatinga*. Recife: Associação de Plantas do nordeste/Centro Nordestino de Informação sobre Plantas, p.11-23.

RODAL, M. J. N ; NASCIMENTO, L.M.; MELO, A.L. **Composição florística de um trecho de vegetação arbustiva caducifólia, no município de Ibimirim, Pernambuco, Brasil**. *Acta botanica Brasilica*, v. 13, p. 15-28, 1998.

SAMPAIO, E. V. S. B., RODAL, M. J. N. **Florística e fitossociologia de um remanescente de vegetação caducifólia espinhosa arbórea em Pernambuco**. *Acta Botanica Brasilica*, v.17, n.2, p. 287-303, 2002.

SANTOS, J. F. L. **Uso popular de plantas medicinais na comunidade rural da Vargem Grande, Município de Natividade da Serra, SP**. Botucatu, 2006. 104f. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2006.

SANTOS, R.I. Metabolismo Básico e origem dos metabólitos secundários. In: SIMÕES, C.M.O., SCHENKEL, E.P., GOSMAN, G., MELLO, J.C.P., MENTZ, L.A.

PETROVICK, P.R. *Farmacognosia – da planta ao medicamento*. 4ªed. Porto Alegre/Florianópolis. Editora da Universidade, p.333-365. 2002.

SANT'ANA, P. J. P.; ASSAD, A. L. D. **Programa de pesquisa em produtos naturais: a experiência da CEME**. *Quim. Nova*, v. 27 n. 3, p. 508-512, 2004.

SCHALKA, S.; REIS, V.M.S. **Fator de proteção solar: significado e controvérsias**. *An Bras Dermatol*. 86(3):507-15. 2011.

SCHENKEL, E.P.; GOSMAN, G.; PETROVICK, P.R. **Produtos de origem vegetal e o desenvolvimento de medicamentos**. In: SIMÕES, C. M. O. et al. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 3. ed. Florianópolis: Ed. da UFRGS/UFSC, 2000. cap. 15.

SCHULZ, I. **Tratamento das dislipidemias – Como e quando indicar a combinação de medicamentos hipolipemiantes**. *Arq Bras Endocrinol Metab*. v. 50, n.2, p. 344-359, 2006.

SELLAPPAN, S.; AKOH, C.C.; KREWER, G. **Phenolic compounds and antioxidant capacity of Georgia-grown blueberries and blackberries**. *J. Agric. Food Chemistry*, Chicago: v.50, n. 8, p. 2432-2438, 2002.

SILVA A. C. O.; ALBUQUERQUE, U. P. Woody medicinal plants of the caatinga in the state of Pernambuco (Northeast Brazil). *Acta Botanica Brasilica*, v. 19, n. 1, p. 17-26, 2005. SILVA, T. M. S.; AGRA, M. F.; BHATTACHARYYA, J. Studies on the alkaloids



of Solanum of northeastern Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, n. 15, v. 4, p. 292- 293, 2005.

SILVA, V. A.; ALBUQUERQUE, U. P.; NASCIMENTO, V. T. **Técnicas para análise de dados etnobotânicos**. In: ALBUQUERQUE, U. P., LUCENA, R. F. P.; CUNHA, L. V. F. C. (Orgs). Métodos e técnicas na pesquisa etnobotânica. 2a ed. Revisada, atualizada e ampliada. 2010. Recife: COMUNIGRAF, 2008, p. 127-143.

SILVA, E.P., VILAS BOAS, E.V.B., RODRIGUES, L.J; SIQUEIRA, H.H. Caracterização física, química e fisiológica de gabioba (*Campomanesia pubescens*) durante o desenvolvimento. **Ciênc. Tecnol. Aliment.** Campinas, 29(4): 803-809, 2010.

SILVÉRIO, M.D.O; CASTRO, C.F.S; MIRANDA, A.R. Avaliação da atividade antioxidante e inibitória da tirosinase das folhas de *Dipteryx alata* Vogel (Baru).

**Rev.Bras. Pl. Med. Botucatu.** v.15, n.1, p.59-65, 2013.

\_\_\_\_\_; ANDRADE, L. H. C.; ALBUQUERQUE, U. P. Revising the Cultural Significance Index: The Case of the Fulni-ô in Northeastern Brazil. *Field Methods*, v. 18, n. 1, p. 98–108, 2006.

\_\_\_\_\_; ANDRADE, K. V. S. A.; SALES, M. F.; GOMES, A. P. S..

Fitossociologia do componente lenhoso de um refúgio vegetacional no município de Buíque, Pernambuco. **Revista Brasileira de Biologia**, Rio de Janeiro, v. 58, n. 3, p. 517-526, 1998.

\_\_\_\_\_; SAMPAIO, E. V. S.; FIGUEIREDO, M. A. **Manual sobre métodos de estudo florístico e fitossociológico - ecossistema caatinga**. Brasília: Sociedade Botânica do Brasil, 1992.

SIMÃO-BIANCHINI, R.; PIRANI, J.R. (1997). **Flora da Serra do Cipó, Minas Gerais: Convolvulaceae**. Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo, 16:125-149.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; SIMON, D. **O guia decepar chora de ervas: 40 receitas naturais para sua saúde perfeita**. Rio de Janeiro: Campus, 2001.

SIMÃO-BIANCHINI, R. Convolvulaceae. In: STANNARD, B.L. (Org.). 1995. **Flora of the Pico das Almas – Chapada Diamantina, Bahia, Brazil**. Kew: Royal Botanic Garden. p 271-281.

\_\_\_\_\_. **Ipomoea L. (Convolvulaceae no Sudeste do Brasil)**. Tese, Instituto de Biociências. 1998. Universidade de São Paulo, São Paulo. 463p.

\_\_\_\_\_. **Distribuição das espécies de Convolvulaceae na caatinga.**  
In: SAMPAIO, E.V.S.B.; GIULIETTI, A.M.; VIRGÍNIO, J.; GAMARRA-ROJAS, C.F.L. (Orgs.). *Vegetação e flora da Caatinga*. Recife: Associação Plantas do Nordeste e Centro Nordestino de Informações sobre Plantas. 2002. p 133-136.

SLUIS, A.A. et al. **Activity and concentration of polyphenolic antioxidants in apple: effect of cultivar, harvest year, and storage conditions.** *J. Agric. Food Chemistry*. Chicago: v.49, p. 3606-3613, 2001.

SOARES S. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, 2002, 15, 1, 71-81.

SOUZA, C.D.; FELFILI, J.M. **Uso de plantas medicinais na região de Alto Paraíso de Goiás, GO, Brasil.** *Acta Botânica Brasileira*, v. 20, p. 135-142, 2006.

SOUZA, S. R. P.; FISCHER, F. M.; SOUZA, J. M. P. Bronzeamento e risco de melanoma cutâneo: revisão da literatura. **Revista Saúde Pública**, v. 38, n. 4, p. 588-598, 2005.

SOUSA, F. B.; CARMO, E. S.; LIMA, E. O., SOUZA, E. L., &. **Effect of Cinnamomum zeylanicum Blume essential oil on the growth and morphogenesis of some potentially pathogenic Aspergillus species.** *Brazilian Journal of Microbiology*, 2008, 39, 91-97.

SOUSA, J. B. A. S. P. **Atividade Biológica de derivados do Ácido Cafeico: Efeito antioxidante e antiinflamatório.** Dissertação apresentada para a obtenção do grau de Mestre em Controle de Qualidade. Universidade do Porto. Porto, 2015.

STANDLEY, P.C. & WILLIAMS, L.O.. **Flora of Guatemala: Tubiflorae**, Fieldiana, Bot. 24: 5-85. 1970.

STEFANOVIĆ, S., AUSTIN, D.F., & OLMSTEAD, R.G. **Classification of Convolvulaceae: A phylogenetic approach.** *Syst. Bot.* 2003. 28(4): 797-806.

SU M.S., CHIEN, P.J. **Antioxidant activity, anthocyanins, and phenolics of rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei*) fluid products as affected by fermentation.** *Food Chemistry*, 104, 182-187. 2007.

TABARELLI, Marcelo; LEAL, Inara R.; SILVA, José Maria Cardoso da. **Ecologia e Conservação da Caatinga**. Recife: Universitária da Ufpe, 2003.

\_\_\_\_\_. **Manejo tradicional de plantas em regiões neotropicais.** Acta Botanica Brasilica, v. 13, n. 3, p. 307-315, 1999.

TABARELLI, M; VICENTE, A. **Lacunas de conhecimento sobre as plantas lenhosas da caatinga.** In: SAMPAIO, E. V. S. B. *et. al.* (Org) Vegetação e flora da caatinga. Recife: APNE/CNIP, 2002. p. 25 – 40.

\_\_\_\_\_; \_\_\_\_\_; MONTEIRO, J. M.; FLORENTINO, A. T. N.; ALMEIDA, C. F. C. B. R.. **Evaluating Two Quantitative Ethnobotanical Techniques.** Ethnobotany Research & Applications, v. 4, p. 51-60, 2006.

\_\_\_\_\_; MEDEIROS, P. M.; ALMEIDA, A. L.; MONTEIRO, J. M.; LINS NETO, E. M. F.; MELO, J. G.; SANTOS, J. P. **Medicinal plants of the caatinga (semi-arid) vegetation of NE Brazil: A quantitative approach.** Journal of Ethnopharmacology, v. 114, p. 325–354, 2007a.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant physiology.** 4. ed. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates Inc., 2006.

TEIXEIRA, N. L.; STRINGHETA, P. C; ALVES, O. F. Comparação de métodos para quantificação de antocianinas. **Revista Ceres**, v. 55, p. 297-304, 2008.

TEIXEIRA, João Batista Picinini; BARBOSA, Aretuza Ferreira; GOMES, Christiane Helena Carvalho; EIRAS, Naiara Silva Vilela. **A Fitoterapia no Brasil: da Medicina Popular à regulamentação pelo Ministério da Saúde.** Juiz de Fora: Universidade de Juiz de Fora, 2012.

VANIN, J.A. **Alquimistas e químicos: O passado, presente e o futuro.** 2a Edição. 27a Impressão. 2010. Editora Moderna. São Paulo.

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

VIEIRA, A. C. P.; CORNÉLIO, A. R.; SALGADO, J. M. **Alimentos funcionais: aspectos relevantes para o consumidor.** Disponível em: Acesso em: 01 de setembro de 2015.

VIEIRA, Vanessa Maria de Souza Fernandes. **Etnobotânica de plantas medicinais comercializadas em mercados públicos do Nordeste brasileiro.** 2012. 116 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Odontologia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2012.

VIZZOTO, M. et al. **Metabólitos secundários em plantas e sua importância**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2010.

VOLP, P. C. A.; RENHE, T. R. I.; BARRA, K.; STRINGUETA, C. P. Flavonóides antocianinas: características e propriedades na nutrição e saúde. **Revista Brasileira de Nutrição**. Minas Gerais, 2008.

WANG, S.Y.; ZHENG, W. **Effect of plant growth temperature on antioxidant capacity in strawberry**. J. Agric. Food Chemistry. Chicago: v.49, p. 4977-4982, 2001.

WEILER, C.B; FROHLICH, J.K; BOLIGON, A.A; JANOVIK, V; ATHAYDE, M.L. Potencial antioxidante in vitro das folhas de Ipomoea cairica L. sweet. **Saúde (Santa Maria)**. v. 36, n.2, p. 55-62, jul/dez. 2010.

YANCKER, T.G. **The genus Cuscuta**. Mem. Torrey Bot. Club 18(2): 113-331. 1932.

YANG, L & STÖCKIGT, J. **Trends for diverse production strategies of plant medicinal alkaloids**. Natural Products Reports, v.27, n.10, p. 1469-79, 2010.

YILDIRIM, A.; MAVI, A.; KARA, A.A. **Determination of antioxidant and antimicrobial activities of Rumex crispus L. extracts**. J. Agric. Food Chemistry. Chicago: v.49, p. 4083-4089, 2001.

YILMAZ, Y.; TOLEDO, R. T. Oxygen radical absorbance capacities of grape/wine industry byproducts and effect of solvent type on extraction of grape seed polyphenols. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 9, n. 1, p. 41-48, 2006.

ZHANG, W.J. & BJÖRN, L.O. **The effect of ultraviolet radiation on the accumulation of medicinal compounds in plants**. Fitoterapia, v.80, n. 4, p. 207-18, 2009.

ZHENG, W.; WANG, S.Y. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. **J. Agric. Food Chemistry**. Chicago: v.49, p. 5165-5170, 2001.