



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

PRÓ-REITORIA DE GRADUAÇÃO – PROGRAD

INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA - ICEN

**CURSO DE LICENCIATURA EM CIÊNCIAS DA NATUREZA E MATEMÁTICA -
CNeM**

Octavio Lisboa Guterres Fernandes

**ESTUDO FITOQUÍMICO, AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E
BIOLÓGICA DA ESPÉCIE JASMIM (*Plumeria rubra* L.)**

ACARAPE - CE

2017

Octavio Lisboa Guterres Fernandes

**ESTUDO FITOQUÍMICO, AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E
BIOLÓGICA DA ESPÉCIE JASMIM (*Plumeria rubra* L.)**

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) apresentado como parte dos requisitos para obtenção de grau licenciado do Curso de Ciências da Natureza e Matemática com Habilitação em Química, do Instituto de Ciências Exatas e da Natureza - ICEN da Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira – UNILAB, sob orientação do Prof. Dr. Alúcio Marques da Fonseca

ACARAPE - CE

2017

Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro- Brasileira
Sistema de Bibliotecas da UNILAB (SIBIUNI)
Biblioteca da Unidade Acadêmica dos Palmares
Catálogo na fonte

Fernandes, Octavio Lisboa Guterres.

F363e

Estudo fitoquímico, avaliação da atividade antioxidante e atividade biológica da espécie Jasmim (*Plumeria rubra* L.)/ Octavio Lisboa Guterres Fernandes. Acarape, 2017.

51f. il. Color.

Monografia (Graduação) do Curso de Ciências da Natureza e Matemática da Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira – UNILAB.

Orientador: Prof. Dr. Aluísio Marques da Fonseca.

1. Fitoquímica. 2. *Plumeria rubra* L. 3. Produtos naturais. 4. Antioxidante. 5. Toxicidade.
I. Título.

CDD 547

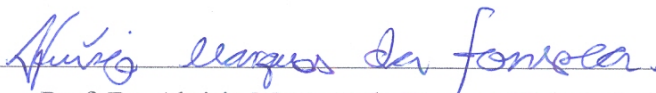
Octavio Lisboa Guterres Fernandes

**ESTUDO FITOQUÍMICO, AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E
BIOLÓGICA DA ESPÉCIE JASMIM (*Plumeria rubra* L.)**

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) apresentado como parte dos requisitos para obtenção de grau licenciado do Curso de Ciências da Natureza e Matemática com Habilitação em Química, do Instituto de Ciências Exatas e da Natureza - ICEN da Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira – UNILAB, sob orientação do Prof. Dr. Aluísio Marques da Fonseca

Aprovado em: 02 /08/2017

Banca Examinadora



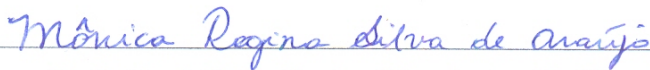
Prof. Dr. Aluísio Marques da Fonseca [Orientador]

Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira – UNILAB



Profa. Dra. Eveline de Abreu Menezes [Examinadora]

Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira – UNILAB



Profa. Dra. Mônica Regina Silva de Araújo [Examinadora]

Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira – UNILAB

AGRADECIMENTO

Chegou o momento de dizer que estou voltando...o momento de realizar a primeira etapa de um sonho que durante muito tempo eu e minha família esperavam.

Então, primeiramente gostaria de agradecer a Deus, por ter dado a vida e poder realizar meus sonhos, realizar as minhas atividades e alcançar todas as etapas até o presente momento. Agradecer também aos meus pais: Paulina Lisboa (mãe), Paulo Fernandes (pai), meus irmãos: Natércia Lisboa Fernandes, Irene Lisboa Fernandes, Adonis Júlio Fernandes, Laura Fernandes e mais dois irmãos (*in memórian*).

Ao Governo de Timor Leste, através do Ministério da Educação de ensino superior, que financiou parcialmente meu estudo até o momento aqui na UNILAB. A Universidade Nacional Timor Lorosa'e (UNTL) pela cooperação com a Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (UNILAB).

Aos meus amigos, companheiros de estudo de diferentes nacionalidades (Angola, Brasil, Cabo Verde, Guiné-Bissau, Moçambique, São Tomé e Príncipe), especial aos meus amigos timorenses por vivenciarmos juntos esta jornada e em especial aos amigos de habilitação em Química (Margareta, Maria Belina, Lizatória, Flávia, Alice, Januário, Blasco, Ramalho, Filomeno e Justino) pelas brincadeiras que sempre juntos, pelo acompanhamento, e pela ajuda direta e indiretamente da minha pesquisa.

A todos os professores e técnicos do laboratório (Davino Machado, Camila, Ethanielda e Ana Kátia), pelo conhecimento a nós transmitidos e especial para os professores do Instituto de Ciências da Exatas e da Natureza (ICEN) do curso de Ciências da Natureza e Matemática (CNeM). Ao especial também para meu orientador, professor Dr. Aluísio Marques da Fonseca, por toda a disponibilidade em ajudar e por todo o conhecimento. Agradeço também a Profa. Dra. Maria Iracema Bezerra Loiola que me ajudou a identificar a espécie vegetal que deu origem a minha pesquisa.

Só digo, muito obrigado a todos!

A Deus

Aos meus pais, Paulina Lisboa e Paulo Fernandes

Aos meus irmãos; Natércia Lisboa Fernandes, Irene Lisboa Fernandes,
Adonis Júlio Fernandes, Laura Fernandes,
e mais dois irmãos (*in memoriam*).

*“Eu não quero que vocês cinco não saibam ler e escrever
como eu e seu pai” – PORTUGUÊS*

*“Ha’u lakohi imi nain lima la hatene le no hakerek
hanesan ami rua o nian apa” - TÉTUM*

*“Aku da-hama’a kami wua lima da tada-osi le nua gere
naubotu kita-rua ga-ama” - NAUETI*

Paulina Lisboa

RESUMO

A espécie vegetal *Plumeria rubra* L. pertence à família Apocynaceae, que é originária da América Central e encontra-se amplamente distribuída pelas regiões de clima tropical do mundo, inclusive no Brasil, assim também como na Ásia e no Timor Leste. Esta planta conhecida popularmente como jasmim, jasmim-manga, frangipani, árvore-pagode, ou “*ai Santo Antonio*” nome vulgar em Timor Leste. Estudos revelam que os extratos da planta *Plumeria rubra* L. possuem algumas atividades biológicas importantes tais como antimicrobiana, anti-inflamatória, antioxidante, antitumoral, anticancerígena entre outros. O objetivo do presente trabalho foi identificar as classes dos metabólitos secundários, atividade antioxidante e teste toxicidade dos extratos etanólicos das flores e folhas desta espécie. A identificação das classes dos metabólitos secundários, baseado em surgimento de coloração e precipitação dos extratos diluídos em solução e reativos específicos por testes fitoquímicos, o ensaio da atividade antioxidante foi realizado com o método de sequestro de radical livre difenil picril hidrazil (DPPH) com a leitura de um espectrofotométrico modelo T80 UV/Vis., utilizando comprimento de onda 520 nm para obter o IC₅₀ e o teste da toxicidade foi realizado frente as larvas de artêmia salina (*Branchipus stagnalis*) e foi calculado o LD₅₀. Os resultados dos testes de metabólitos secundários revelaram a presença de taninos, fenóis, cumarinas, flavonóides (ausência nas folhas), alcaloides, terpenoides, esteróides e saponinas (ausência nas flores). Os resultados das leituras de espectrofotométricas mostraram que o extrato etanólico das flores apresentou o IC₅₀ de 495,17 ppm e o extrato etanólico das folhas apresentou o IC₅₀ de 782,35 ppm. Onde, o extrato etanólico das flores apresentou moderada atividade antioxidante e o extrato etanólico das folhas apresentou atividade antioxidante fraca, em comparação com padrão positivo do ácido ascórbico (vitamina C). O resultado dos teste de toxicidade frente a artêmia salina apresentaram dose letal (DL₅₀) 478,75 ppm do extrato das flores e dose letal (DL₅₀) 818,28 ppm do extrato das folhas. Os extratos das flores apresentaram toxicidade moderada e o extrato das folhas apresentou toxicidade baixa. Os resultados preliminares obtidos neste trabalho a planta apresenta boa atividade oxidante nas flores e atividade larvicida nos extratos das folhas e flores, porém, mais estudos devem ser realizadas na busca de atividade biológica, fitoquímicos, isolamento e demais atividades no futuro para o desenvolvimento de novos produtos na área farmacêutica, alimentícia entre outras aplicabilidades.

Palavras-Chave: *Plumeria rubra* L., fitoquímica, atividade antioxidante, toxicidade.

ABSTRACT

The species *Plumeria rubra* L. belongs to the family Apocynaceae, which originates from Central America and is widely distributed throughout the tropical regions of the world, including Brazil, as well as Asia and East Timor. This plant popularly known as *jasmim*, *jasmim-manga*, *frangipani*, *árvore-pagode*, or "*ai Santo Antonio*" common name in East Timor. Studies show that the extracts of the plant *Plumeria rubra* L. have some important biological activities such as antimicrobial, anti-inflammatory, antioxidant, antitumor, anticancer, among others. The objective of this study was to identify the classes of secondary metabolites, antioxidant activity and toxicity test of the ethanolic extracts of flowers and leaves of this species. The identification of the classes of the secondary metabolites, based on the appearance of staining and precipitation of the diluted extracts in solution and specific reagents by phytochemical tests, the antioxidant activity assay was performed with the free radical diphenyl picrilhydrazyl (DPPH) radical sequestration method with reading out of a spectrophotometer model T80 UV/Vis., using wavelength 520 nm to obtain the IC₅₀ and the toxicity test was performed against salmon artemia larvae (*Branchipus stagnalis*) and LD₅₀ was calculated. The results of the tests of secondary metabolites revealed the presence of tannins, phenols, coumarins, flavonoids (absence in leaves), alkaloids, terpenoids, steroids and saponins (absence in flowers). The results of the spectrophotometric readings showed that the ethanolic extract of the flowers showed the IC₅₀ of 495.17 ppm and the ethanolic extract of the leaves presented the IC₅₀ of 782.35 ppm. Where the ethanolic extract of the flowers presented moderate antioxidant activity and the ethanolic extract of the leaves had weak antioxidant activity, compared to positive standard ascorbic acid (vitamin C). The result of the toxicity test in front of saline brine shrimp showed lethal dose (LD₅₀) 478.756 ppm of the flower extract and lethal dose (LD₅₀) 818.284 ppm of the leaf extract. The extracts of the flowers presented moderate toxicity and the extract of the leaves presented low toxicity. The preliminary results obtained in this study show a good antioxidant activity in flowers and larvicidal activity in leaf and flower extracts. However, further studies should be carried out in the search for biological activity, phytochemicals, isolation and other activities in the future for the development of new products in the pharmaceutical, food and other applications.

Keywords: *Plumeria rubra* L., phytochemical, antioxidant activity, toxicity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 01	Folhas e flores de jasmim (<i>Plumeria rubra</i> L.)	22
Figura 02	Estabilidade do radical livre DPPH	23
Figura 03	Estrutura de ácido ascórbico	25
Figura 04	Criação de larvas de artêmia salina	29
Figura 05	Teste fitoquímico do extrato etanólico das flores de jasmim	32
Figura 06	Teste fitoquímico do extrato etanólico das folhas de jasmim	33
Figura 07	Reação de identificação de fenólicos simples pelo cloreto férrico	34
Figura 08	Reação de Shinoda para identificação de flavonóides	34
Figura 09	Reação de identificação de um galotanino (tanino hidrolisável)	35
Figura 10	Reação de identificação de cumarinas	36
Figura 11	Atividade antioxidante do extrato etanólico das flores da espécie <i>Plumeria rubra</i> L. avaliado pelo método de DPPH	37
Figura 12	Relação entre a concentração e a absorbância das amostras no consumo de DPPH	38

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 01	Porcentagem de atividade antioxidante em relação das concentrações de amostra do extrato etanólico das flores	39
Gráfico 02	Porcentagem de atividade antioxidante em relação das concentrações de amostra do extrato etanólico das folhas	40
Gráfico 03	Porcentagem de atividade antioxidante em relação as concentrações de ácido ascórbico	41
Gráfico 04	Porcentagem de mortalidade de larvas artêmia salina em concentrações das amostras do extrato etanólico das flores analisado por programa de Probit	42
Gráfico 05	Porcentagem de mortalidade de larvas artêmia salina em concentrações das amostras do extrato etanólico das folhas analisado por programa de Probit	43

LISTA DE TABELAS

Tabela 01	Resultados das extrações etanólicas da flor e folha de jasmim	31
Tabela 02	Resultado da identificação dos metabólitos secundários do extrato etanólico de <i>Plumeria rubra</i> L.	32
Tabela 03	Atividade antioxidante do extrato etanólico das flores	39
Tabela 04	Atividade antioxidante do extrato etanólico das folhas	40
Tabela 05	Atividade antioxidante do padrão ácido ascórbico	41
Tabela 06	Resultado do teste toxicidade do extrato etanólico das flores frente artêmia salina	42
Tabela 07	Resultado do teste toxicidade do extrato etanólico das folhas frente artêmia salina	43

LISTA DE SIGLAS

DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazil
BHA	Butil hidroxianisol
BHT	Butil hidroxitolueno
NO ₂	Grupos nitro
C	Átomo de carbono
H	Átomo de hidrogênio
IC ₅₀	Concentração de 50% de inibição
N	Átomo de nitrogênio
AA	Atividade antioxidante
DNA	Ácido desoxirribonucleico
UFC	Universidade Federal do Ceará
LABioCN	Laboratório de Biotecnologia e Ciências Naturais
UNILAB	Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira
HCl	Ácido clorídrico
NaOH	Hidróxido de sódio
KOH	Hidróxido de potássio
FeCl ₃	Cloreto férrico
DL ₅₀	Dose Letal 50%
λ	Comprimento de onda

LISTA DE SÍMBOLOS

nm	Nanômetros
g/mol	Gramas/molar
%	Porcentagem
°C	Graus Celsius
g/cm ³	Gramas/centímetro ao cubo
kg	Quilogramas
g	Gramas
mg	Miligramas
mL	Mililitros
μM	MicroMol
mM	MiliMol
cm	Centímetro
m	Metros
ppm	Parte por milhão

LISTA DE ABREVIATURAS

UV-Vis.	Ultravioleta-visível
Abs.	Absorbância
P. A.	Para análise

SUMÁRIO

1. Introdução	17
2. Objetivos	19
2.1 Objetivo Geral	19
2.2 Objetivos Específicos	19
3. Fundamentação teórico	20
3.1 Produtos naturais	20
3.2 Metabolismo secundário	20
3.3 Jasmim (<i>Plumeria rubra</i> L.)	21
3.4 Atividade antioxidante	22
3.5 DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil)	23
3.6 Atividade de Toxicidade	25
4. Metodologia	26
4.1 Obtenção do material botânico	26
4.2 Coleta e obtenção dos extratos vegetais	26
4.3 Prospecção fitoquímica	26
4.4 Teste da atividade antioxidante	28
4.5 Teste de toxicidade frente a artêmia salina	29
5. Resultados e Discussão	31
5.1 Obtenção dos extratos	31
5.2 Testes fitoquímicos	31
5.3 Análise de atividade antioxidante	37
5.4 Teste de toxicidade frente a artêmia salina	42
6. Conclusão	45
7. Referências	46

1. INTRODUÇÃO

A natureza produz a grande maioria das substâncias orgânicas que atualmente se conhece. Entretanto, o reino vegetal tem grande contribuição no fornecimento de substâncias que se consagram como princípios ativos eficazes e que hoje são empregados no tratamento de doenças (SOUSA *et al.*, 2011). O papel de produtos naturais como uma fonte para remédios tem sido reconhecido desde os tempos antigos (PRIYASAMY *et al.*, 2013).

Plantas têm sido tradicionalmente usadas por populações de todos os constituintes no controle de diversas doenças e pragas, além de representar uma fonte importante de produtos naturais biologicamente ativos, muitos dos quais se constituem modelos para síntese de um grande número de fármacos. O fato que gera interesse nos produtos encontrados na natureza é que esses apresentam enorme diversidade em termos de estrutura e de propriedades físico-químicas e biológicas (LUPE, 2007).

A medicina tradicional também é considerada como o uso de plantas medicinais no trato popular, especialmente no contexto de preventivos, promocionais e de reabilitação. Embora muitas pessoas assumem que o uso desses fitoterápicos são relativamente mais seguros do que a medicina moderna. O uso de produtos de origem natural (plantas, minerais, produtos de origem animal) para tratar as doenças é parte integrante do patrimônio cultural de todas as civilizações e constitui ainda atualmente o recurso medicinal mais importante das sociedades rurais dos países em vias de desenvolvimento (GOMES, 1990). Um dos países que atualmente ainda utilizam plantas medicinais como método alternativo para curar as doenças é o Timor Leste.

No Timor Leste existe um número de elevações montanhosas e principalmente floresta de monção e savana embora a área de estudo também inclui pequenos bolsões de floresta sempre verdes, florestas tropicais e florestas decíduais úmidas. Já no ambiente urbano, existe uma deficiência de vegetações que na maioria as populações utilizam como plantas medicinais (COLLINS *et al.*, 2007; COSTA, 2010). Uma das plantas medicinais comumente utilizado é o jasmim (*Plumeria rubra* L.).

A espécie vegetal conhecida como jasmim (*Plumeria rubra* L.) ou “*ai Santo Antonio*” nome vulgar em Timor Leste é uma planta cultivada popularmente usada como planta ornamental em residências e decoração de cemitérios. Além disso, ainda é utilizada popularmente no trato de doenças como dor de barriga. Pois, no Timor Leste no momento ainda tem os conhecimentos tradicionais associado ao uso de plantas como atividade

medicinais como estudo etnobotânico associado a etnofarmacológico. Esta espécie é endêmica também no Brasil, de acordo com Costa (2010), afirma que a maioria das plantas existentes no Timor Leste cresce em terras brasileiras.

Com interesse deste estudo, o trabalho, terá sua importância na contribuição do ensino, pesquisa e extensão para o desenvolvimento do Timor Leste, além de compartilhar na sociedade que as plantas medicinais, além de usos terapêuticos, também podem contribuir para o conhecimento multidisciplinar, na construção dos conhecimentos científicos em universidade e instituições de ensino, além disso, como uma referência para público alvo no futuro.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivos gerais

O objetivo central do presente trabalho é identificar possíveis metabólitos secundários e analisar potencial biológico dos extratos das folhas e flores de jasmim (*Plumeria rubra* L.)

2.2 Objetivos específicos

- Identificar classes de metabólitos secundários presentes nas folhas e flores de espécie *Plumeria rubra* L.
- Realizar ensaio químico de DPPH para caracterizar as atividades antioxidantes da espécie *Plumeria rubra* L.
- Avaliar a toxicidade da planta através do extrato etanólico frente a larva de artêmia salina (*Branchipus stagnalis*).

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Produtos Naturais

O uso de produtos naturais como matéria prima para a síntese de substâncias bioativas, especialmente fármacos, tem sido amplamente relatado ao longo do tempo (BARREIRO; FRAGA; ARAÚJO, 2001). Antioxidantes naturais são de grande interesse em diversas áreas, incluindo alimentos (conservantes) e farmacologia (proteção do organismo contra o dano oxidativo). Produtos naturais vêm tendo, atualmente, ampla aplicação terapêutica com a difusão da ideia de que são mais seguros do que medicamentos sintéticos e, inclusive, são fontes naturais de substâncias antioxidantes (VELLOSA; BARBOSA; OLIVEIRA, 2007).

A fitoquímica, reconhecida como química de vegetais ou química de produtos naturais, é a área do conhecimento que trata do isolamento e identificação, determinação e modificação estrutural de substâncias orgânicas presentes em plantas (SILVA, 2010).

Os fitoquímicos têm sido definidos como produtos alimentícios constituintes de origem vegetal, que podem fornecer as propriedades fisiológicas dos alimentos que vão além da nutrição adequada. Os fitoquímicos são substâncias encontradas em frutas e verduras que podem ser ingeridas diariamente em determinadas quantidades e mostram potencial para modificar o metabolismo humano de maneira favorável à prevenção do câncer e de outras doenças degenerativas (ADITIVOS & INGREDIENTES, 2012).

Os vegetais fazem parte da vida do homem desde seus primórdios como fonte de alimentos, de materiais para o vestuário, habitação, utilidades domésticas, defesa e ataque, na produção de meios de transporte, como utensílios para manifestações artísticas, culturais e religiosas e como meio restaurador da saúde. (SCHENKEL; GOSMANN; PETROVICK, 2001). A pesquisa fitoquímica tem por objetivos conhecer os constituintes químicos de espécies vegetais ou avaliar a sua presença.

3.2 Metabolismo secundário

Durante muito tempo, os metabólitos secundários foram considerados como produtos de excreção do vegetal, com estruturas químicas e, algumas vezes, propriedades biológicas interessantes. O aparecimento de metabólitos biologicamente ativos na natureza, é determinado por necessidades ecológicas e possibilidades biossintéticas, sendo que a co-evolução de plantas, insetos, microorganismo e mamíferos conduz à síntese de metabólitos

secundários com funções de defesa ou atração, principalmente. Assim, os metabólitos secundários, por serem fatores de interação entre organismos, frequentemente, apresentam atividades biológicas interessantes. Muitos são de importância comercial tanto na área farmacêutica quanto nas áreas alimentar, agrônômica e da perfumaria, entre outras. Do ponto de vista farmacêutico, o maior interesse deriva principalmente do grande número de substâncias farmacologicamente importantes (SANTOS, 2001).

Os metabólitos secundários produzidos pelos vegetais são formados por várias rotas biossintéticas que produzem moléculas dotadas de grande diversidade de esqueletos e grupamentos funcionais, como, entre outros, ácidos graxos (gorduras) e seus ésteres, hidrocarbonetos, álcoois, aldeídos e cetonas, compostos acetilênicos, alcaloides, compostos fenólicos e cumarinas. Os metabólitos secundários despertam grande interesse, não só pelas atividades biológicas produzidas pelas plantas em respostas aos estímulos do meio ambiente, mas pela imensa atividade farmacológica desses compostos (ALVES, 2001).

3.3 Jasmim (*Plumeria rubra* L.)

Plumeria rubra L. (Apocynaceae) cresce como um espalhando arbusto ou árvore pequena até uma altura de 2-8 m e largura semelhante. Tem um tronco suculenta e as folhas grandes verdes pode chegar de 30 a 50 cm. A decocção das flores de *P. rubra* é utilizada no México para o controle do diabetes mellitus. As folhas de *P. rubra* são utilizados em úlceras, lepra e inflamações. Os extratos das plantas são conhecidos por possuírem atividades biológicas importantes tais como antimicrobiana, anti-inflamatória, analgésica, anti-helmíntica, antioxidante, antipirética, abortiva, antiúlceras, antifertilidade, antitumoral, anticancerígena e hipolipemiante (LAWAL; OGUNWANDE; OPOKU, 2015; ZAHEER *et al.*, 2010).

Plumeria rubra L. (Fig. 01) é conhecida popularmente como jasmim, jasmim-manga, frangipani, ou árvore-pagode, sendo é originária da América Central e encontra-se amplamente distribuídas pelas regiões de clima tropical do mundo, inclusive no Brasil. Devido à beleza e perfume de suas flores, jasmim é facilmente encontrada como planta ornamental em praças e jardins de muitas regiões metropolitanas (ARAÚJO, 2009).

FIGURA 01: Folhas e flores de Jasmim (*Plumeria rubra* L.)



Fonte: Autor, 2016.

3.4 Atividade antioxidante

Os antioxidantes são um conjunto heterogêneo de substâncias formadas por vitaminas, minerais, pigmentos vegetais e, ainda, enzimas que bloqueiam o efeito danoso dos radicais livres. O termo antioxidante significa aquele que impede a oxidação de outras substâncias químicas, que ocorrem nas reações metabólicas ou por fatores exógenos, como as radiações ionizantes (FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2009).

Compostos químicos que possuem atividade antioxidante geralmente são aromáticos e contém, no mínimo uma hidroxila, podendo ser sintéticos, como o butil hidroxianisol (BHA) e o butil hidroxitolueno (BHT), largamente utilizados pela indústria de alimentos. Os naturais, denominados de substâncias bioativas, incluem os organosulfurados, os fenólicos (tocoferóis, flavonoides e ácidos fenólicos), os terpenos, carotenoides e o ácido ascórbico, que fazem parte da constituição de diversos alimentos. Evidências científicas permitem afirmar que a propriedade antioxidante de vegetais se deve, principalmente, a seus compostos fenólicos (FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2010).

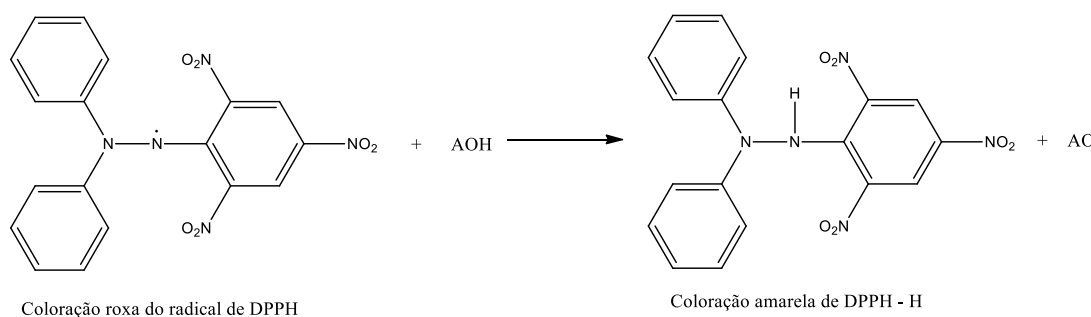
De um modo geral, os antioxidantes podem ser definidos como moléculas capazes de diminuir ou prevenir a oxidação de outras moléculas, podendo atuar em alimentos ou em sistemas biológicos. Os antioxidantes mais abundantes na natureza pertencem ao grupo dos compostos fenólicos, que engloba uma vasta gama de substâncias, as quais possuem no mínimo um anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos (BOROSKI *et al.*, 2015). A avaliação da atividade antioxidante se dá através da monitorização do consumo do radical livre 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), pelas alíquotas de ensaio das amostras,

através da medida do decréscimo das respectivas absorbâncias. As medidas são realizadas em espectrofotômetro UV-Vis. no comprimento de onda de 520 nm (BORGES *et al.*, 2011).

3.5 DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil).

O DPPH é um radical livre que pode ser obtido diretamente por dissolução do reagente em meio orgânico. Sua fórmula molecular é $C_{18}H_{12}N_5O_6$ e seu peso molecular é 394,3 g/mol. A estrutura e estabilização do radical livre DPPH estão na Figura 02.

FIGURA 02: Estabilização do radical livre DPPH



Fonte: Boroski *et al.*, 2015

O princípio da análise do método de DPPH é a determinação espectrofotométrica da captura radical pelos antioxidantes, avaliando a capacidade de transferir elétrons/hidrogênio para estabilizar o radical livre DPPH, monitorando-se a descoloração da solução do radical. O radical livre DPPH apresenta em sua estrutura dois anéis aromáticos de seis membros, contendo átomos de C e H, e um anel picrilhidrazila, constituído por um anel aromático de seis membros ligado a três grupos nitro (NO_2) e uma hidrazila, em que o átomo de N ligado diretamente ao anel está com um elétron desemparelhado, o que caracteriza espécie como um radical livre. Na reação de oxidação e redução entre o DPPH e a espécie antioxidante, o elétron desemparelhado do nitrogênio se emparelha com o elétron cedido por um radical hidrogênio fornecido por um composto antioxidante. O DPPH possui uma coloração púrpura/violeta com absorção máxima na região de 515 a 528 nm, tornando-se amarelo após receber o átomo de hidrogênio proveniente da espécie antioxidante, através de uma reação de oxirredução (BOROSKI *et al.*, 2015). Este ensaio se baseia na medida da capacidade antioxidante de uma determinada substância em sequestrar o radical DPPH, reduzindo-o a hidrazina. Quando uma determinada substância que age como doador de átomos de

hidrogênio é adicionada a uma solução de DPPH, a hidrazina é obtida com mudança simultânea na coloração de violeta a amarelo pálido (ALVES *et al.*, 2010).

Os estudos sobre radicais livres e o desenvolvimento de novos métodos para avaliação de atividade antioxidante (AA) têm aumentado consideravelmente nos últimos anos. As descobertas do efeito deletério dos radicais livre sobre as células e sua relação com certas doenças, agindo como causador ou agravante, impulsionou a busca por novas substâncias capazes de prevenir ou minimizar os danos oxidativos às células vivas (ALVES *et al.*, 2010).

Os antioxidantes doam radical H para o radical DPPH estabilizando-o e, em seguida, tornam-se radicais, que são facilmente estabilizados por ressonância. Na ausência de atividade antioxidante, não há descoloramento ou redução da solução com radical DPPH. Assim quanto maior atividade antioxidante, maior descoloramento da solução (MIRANDA, 2010).

Uma das maneiras de se expressar a atividade antioxidante pelo método do sequestro do radical livre DPPH, também muito utilizada em pesquisas que envolve o estudo da atividade antioxidante de algum material, é por meio do IC₅₀, ou seja, a concentração mínima necessária para o antioxidante reduzir em 50% do radical DPPH inicial (PRADO, 2009). Para determinação dos valores de IC₅₀, inicialmente calcula-se a inibição do DPPH (% inibição DPPH) por meio da equação seguinte (BOROSKI *et al.*, 2015).

$$\% \text{ Inibição DPPH} = \left(\frac{(Abs_{DPPH} - Abs_{amostra})}{Abs_{DPPH}} \right) \times 100\%$$

Onde:

Abs_{DPPH} = absorbância da solução metanólica do radical DPPH

Abs_{amostra} = absorbância da amostra após 30 min. de reação com a solução de DPPH

3.5.1 Ácido ascórbico

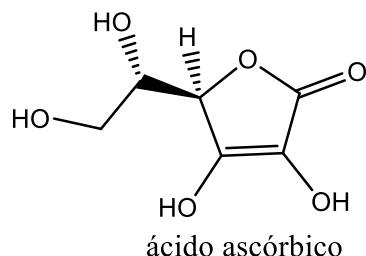
A vitamina C é uma vitamina que possui alto poder redutor, o que lhe confere sua atividade antioxidante. Ela pode atuar regenerando a vitamina E, outra vitamina com potencial antioxidante nos organismos vivos, evitando a oxidação dos lipídios da membrana celular e protegendo o DNA (BOROKSI *et al.*, 2015).

O ácido ascórbico atua como antioxidante em diversos produtos, como frutas e vegetais processados, carne, peixe, derivados do leite, bebidas etc. (ARAÚJO, 2008).

O ácido ascórbico é um sólido branco ou amarelado, cristalino com ponto de fusão de 190°C a 191°C, massa molecular 176,13 g/mol, densidade 1,65 g/cm³, acidez (pKa): 4,17 (primeira), 11,6 (segunda) bastante solúvel em água e etanol absoluto, insolúvel nos solventes

orgânicos comuns, como clorofórmio, benzeno e éter, tem sabor ácido com gosto semelhante ao suco de laranja. Possui fórmula química $C_6H_8O_6$. (ADITIVOS & INGRIDIENTES, 2016)

FIGURA 03: Estrutura de ácido ascórbico



Fonte: Araújo, 2008.

3.6 Atividade de toxicidade

Estudos com plantas medicinais buscam identificar substâncias ativas, ressaltando que o uso indiscriminado das plantas pela população pode trazer riscos, por isso é importante a realização de testes de toxicidade na busca de uma terapêutica eficaz, trazendo assim um maior confronto e melhor qualidade de vida aos pacientes (HOCAYEN *et al.*, 2012).

A verificação da toxicidade depende principalmente de experimentos em animais, que nem sempre reproduzem a toxicidade em seres humanos (SCHENKEL *et al.*, 2001). No presente trabalho foi utilizado a artêmia salina (*Branchipus stagnalis*) para a verificação da toxicidade da planta *Plumeria rubra* L.

O teste de toxicidade contra a artêmia salina (*Branchipus stagnalis*) é um ensaio biológico considerado como uma das ferramentas mais utilizadas para a avaliação preliminar de toxicidade. *B. stagnalis* tem sido usada como um organismo alvo para detectar compostos bioativos em extrato de plantas. Em comum, os extratos de plantas e derivados de alta toxicidade contra *B. stagnalis* sugerem alto potencial para atividades biológicas, sendo, portanto, muito útil a utilização deste bioensaio, no direcionamento de estudos fitoquímicos na busca de substâncias bioativas (AMARANTE *et al.*, 2011). Dessa forma, as larvas de *B. stagnalis* foram utilizadas neste trabalho como bioindicador de toxicidade.

4. METODOLOGIA

4.1 Obtenção do material botânico

A identificação do material vegetal foi realizada pela botânica Profa. Dra. Maria Iracema Bezerra Loiola, em Julho de 2016, na UFC, campus do PICI, no Herbário Prisco Bezerra, departamento de Biologia. A exsicata foi depositada no herbário sob o nº de registro EAC #59835.

4.2 Coleta e obtenção dos Extratos Vegetais

As folhas e flores frescas de jasmim (*Plumeria rubra* L.) foram coletados no município de Redenção, na região do Maciço de Baturité, Ceará, Brasil, nas coordenadas 04°13'34"S e 38°43'52"W, entre os meses de setembro a outubro de 2016.

Após a coleta, as folhas e as flores frescas foram secas em estufa a temperatura 50 °C durante 7 dias, e em seguida triturados manualmente. 1 kg das folhas trituradas e 500 g das flores trituradas foram submetidas a extração com álcool etílico P.A. e deixou-se até 7 dias na temperatura ambiente. Logo após, o extrato etanólico, foi filtrado e evaporado sob pressão reduzida a temperatura 50 °C. Os extratos secos obtidos foram submetidos aos testes fitoquímicos e biológicos.

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Biotecnologia e Ciências Naturais (LABioCN)/Química Orgânica e Química Inorgânica da Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (UNILAB), Campus das Auroras.

4.3 Prospecção fitoquímica

Os extratos obtidos foram submetidos a testes fitoquímicos para identificação das classes dos metabólitos secundários, baseado em surgimento de coloração e precipitação dos extratos diluídos em solução e reativos específicos em cada teste. Primeiramente, foi preparada uma solução estoque dos extratos etanólicos da espécie, onde pesou-se 500 mg de amostra e dissolveu-se em uma solução hidroalcolica (80%).

A metodologia que foi utilizada para a detecção dos grupos de metabólitos secundários foi adaptado por Silva e Lima, (2016); Silva *et al.*, (2015); Matos (2009); Patil *et al.*, (2016); Vishwakarma *et al.*, (2014).

No extrato etanólico das flores e folhas, foram realizadas as seguintes testes:

Alcalóides, Cumarinas, Flavonóides, Taninos e fenóis, Saponinas, Terpenóides e Esteróides.

4.3.1 Teste para identificação de alcalóides

Para realizar o ensaio utilizou-se 2,0 mL da solução estoque, adicionou-se 2,0 mL de HCl (10%) e aqueceu-se essa mistura por 10 minutos. Esfriou-se, filtrou-se, e dividiu-se o filtrado em três tubos de ensaios e colocaram-se algumas gotas dos reativos Dragendorff e Mayer. Uma leve turbidez ou precipitado (respectivamente roxo a laranja, branco a creme e marrom) evidencia a possível presença dos mesmos.

4.3.2 Teste para identificação de cumarinas

Em um tubo de ensaio colocou-se 2,0 mL da solução estoque, adicionou-se 2 mL de NaOH 10%, formação de cor amarela, que indicam a presença de cumarinas.

4.3.3 Teste para identificação de Flavonóides

Colocou-se em um tubo, 2,0 mL da solução estoque, alguns fragmentos de Mg e agregou-se, pelas paredes do tubo, algumas gotas de HCl concentrado. Observou-se a possível mudança de coloração para vermelha, vermelha a roxo ou rosa, cor laranja em solução é indicativo a presença de Flavonóides.

4.3.4 Teste para identificação de Taninos e Fenóis

Colocou-se 2 mL da solução estoque em um tubo de ensaio e adicionou-se 4-5 gotas de FeCl_3 10%. A formação de cor verde, azul verde ou azul preto ou entre azul e vermelho em solução é indicativo da presença de taninos e fenóis. Ou, aparecimento de precipitado escuro de tonalidade azul indica a presença de taninos hidrossolúveis e verde a presença de taninos condensados.

4.3.5 Teste para identificação de saponinas

Neste ensaio, com 2,0 mL da solução estoque, foi adicionado 5,0 mL de água destilada e aqueceu-se em banho maria por 10 minutos. Após resfriamento, agitou-se vigorosamente, deixando em repouso por 20 minutos. Classifica-se a presença de saponinas pela formação de espumas persistente.

4.3.6 Teste para identificação de terpenóides

Em um tubo de ensaio, colocou-se 2 mL da solução estoque e adicionou-se 2 mL de clorofórmio e 4 a 5 gotas de ácido sulfúrico concentrado, formação de cor marrom vermelho ou o surgimento de colorações que vai do azul ao verde indica a presença desse metabólito.

4.3.7 Teste para identificação de esteróides

Em um tubo de ensaio, adicionou-se 2 mL da solução estoque e acrescentou-se 2 mL de clorofórmio e 1 mL de ácido sulfúrico concentrado, formação de cor marrom vermelho ou o surgimento de colorações que vai do azul ao verde indica a presença desse metabólito.

4.4 Teste da atividade antioxidante

A preparação da solução de DPPH e ensaio de avaliação da atividade sequestrante do radical DPPH utilizou-se a metodologia adaptado por Rufino *et al.*, (2007); Sousa *et al.*, (2007); Alves *et al.*, (2010); Boroski *et al.*, (2015); Silva *et al.*, (2012); Silva *et al.*, (2013) e algumas modificações. Para preparar 60 µM ou 0,06 mM da solução de DPPH, pesou-se 2,4 mg de DPPH e dissolveu-se em álcool etílico P.A. completando o volume para 100 mL em um balão volumétrico. As amostras foram solubilizadas em etanol e diluídas até as concentrações de 1000, 500, 250,125, 62,5 e 31,2 ppm. Nas concentrações preparadas foram adicionados 2 mL da solução etanólica de DPPH 60µM. Em temperaturas ambientes, em local escuro, esperou-se 30 min. para a reação ocorrer. Em seguida realizou-se a leitura da absorbância das amostras e do branco em espectrofotométrico modelo T80 UV/Vis., utilizando comprimento de onda 520 nm. Etanol foi utilizado para calibrar o espectrofotômetro. Solução etanólica de DPPH 60µM e etanol foram usadas como controle negativo e o ácido ascórbico foi utilizado como controle positivo.

A percentagem de inibição ou atividade de eliminação de radicais livres foi calculada utilizando a seguinte fórmula;

$$\% \text{ inibição DPPH} = \frac{(Abs_{DPPH} - Abs_{amostra})}{Abs_{DPPH}} \times 100$$

Onde,

Abs_{DPPH} = absorbância da solução etanólica do radical DPPH;

$Abs_{amostra}$ = absorbância da amostra após 30 minutos de reação com a solução de DPPH.

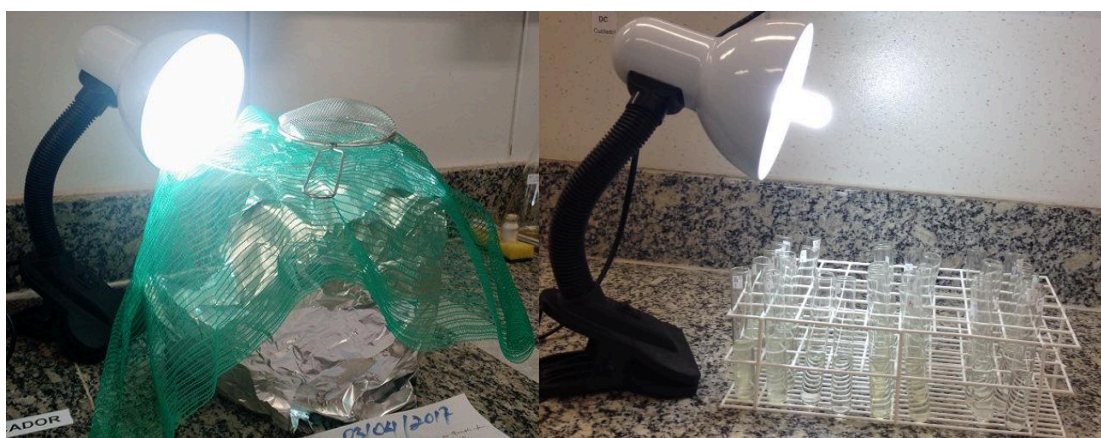
O valor IC_{50} (mg/mL) é a concentração necessária para inibir 50% do radical livre DPPH inicial, foi calculado através de regressão linear e equação da reta do gráfico. Todas as reações foram realizadas em triplicata e o valor foi expresso como a média \pm desvio padrão (r).

4.5 Teste de toxicidade frente a *Artemia salina*

O teste de toxicidade frente a artêmia salina (*Branchipus stagnalis*) foi realizado segundo a metodologia de Rosa *et al.*, (2016); Merino *et al.*, (2015); Amarante *et al.*, (2011); Meyer *et al.*, (1982) e algumas modificações.

Inicialmente preparou-se uma solução com sal marinho na concentração de 30 g/L. Esta solução foi utilizada para eclosão dos ovos de artêmia salina e no preparo das demais diluições das amostras. Os ovos foram colocados para eclodir na solução salina por 48 horas com iluminação artificial a temperatura ambiente 26°C à 29°C. Foram utilizadas 10 mg dos extratos etanólicos das flores e folhas e dissolvidos em 10 mL de DMSO 1%, na preparação da solução estoque de concentração 1mg/mL ou 1000 ppm. A partir da solução estoque, preparou-se diluições em água salina em cinco concentrações diferentes (500, 250, 125, 62,5, 31,2 ppm) em tubo de ensaio. Cerca de 10 larvas de artêmia salina com idade de 48 horas foram transferidas para tubos contendo as amostras testadas. As larvas de artêmia salina foram incubadas e sob iluminação artificial. Após 24 horas foram contadas as larvas mortas. O teste foi acompanhado de controle negativo (somente água salina). Os testes foram realizados em duplicatas.

FIGURA 04: Criação da larvas de Artêmia salina



Fonte: Autor, 2017.

De acordo com WHO (2009), se a mortalidade nos controles estiver entre 5% e 20%, os resultados com as amostras tratadas são corrigidos usando a fórmula de Abbott's:

$$\% \text{ mortalidade} = \frac{X - Y}{100 - Y} \times 100$$

Onde: X = percentual mortalidade na amostra tratada e Y = percentual mortalidade no controle.

Os intervalos de confiança do dose letal (DL₅₀) foram determinados a partir das contagens de 24 horas de larvas mortas utilizando o método de análise probit descrito por Finney (1952).

5. Resultados e Discussão

5.1 Obtenção dos extratos

O material vegetal seco da flor (500 g) e folha (1 kg) de *Plumeria rubra* L. foram macerados em etanol por período determinado e obtendo-se cerca de 16,29 g (3,26% de rendimento) do extrato seco da flor e 18,32 g (1,83% de rendimento) do extrato seco da folha. Os resultados estão na Tabela 01.

TABELA 01: Resultados das extrações etanólicas das flores e folhas de jasmim.

Amostra seca	Solventes	Massa obtido do extrato (g)	Rendimento do extrato (%)
Flores (500 g)	Etanol P. A.	16,29	3,26
Folhas (1kg)	Etanol P. A.	18,32	1,83

Fonte: Autor, 2017.

Através dos extratos etanólicos das folhas e das flores da espécie de *Plumeria rubra* L. obtidos, foram realizados os testes fitoquímicos, teste antioxidante e teste de toxicidade.

5.2 Teste fitoquímicos

A partir de uma solução estoque obtido foram realizados os testes de reagir a amostra com uma solução de reagente específico descrito na metodologia para a identificação dos metabólitos secundários presentes na amostra. As análises fitoquímicas fornecem informações sobre a presença de metabólitos secundários em plantas (ALMEIDA *et al.*, 2015). Os resultados obtidos estão descritos na Tabela 02. E, os resultados presentes ou não estão evidenciados na Figura 05 e 06.

TABELA 02: Resultado da Identificação dos metabólitos secundários do extrato etanólico de *Plumeria rubra* L.

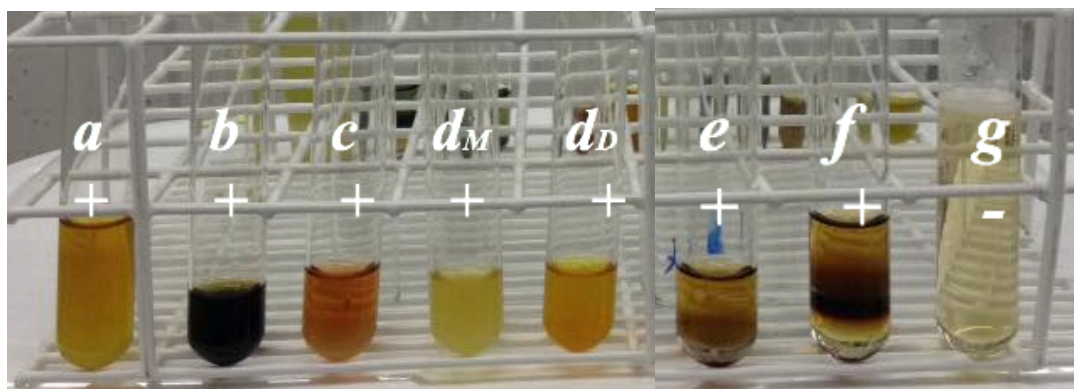
Metabólitos secundários	Reações	Extrato etanólico	
		Flores	Folhas
	Reagente Mayer	+	+
Alcalóides	Reagente Dragendroff	+	+
Cumarinas	Hidróxido de sódio 10%	+	+
Flavonóides	Shinoda	+	-
Taninos	Cloreto férrico 10%	+	+
Fenóis	Cloreto férrico 10%	+	+
Saponinas	Formação de espuma	-	+
Terpenoides	Salkowski	+	+
Esteróides	Salkowski	+	+

+ (positivo) - (negativo)

Fonte: Autor, 2017.

A realização dos testes fitoquímicos foram concretizados a partir do extrato das folhas e flores de jasmim (*Plumeria rubra* L.), estes testes utilizados para a caracterização dos metabólitos secundários.

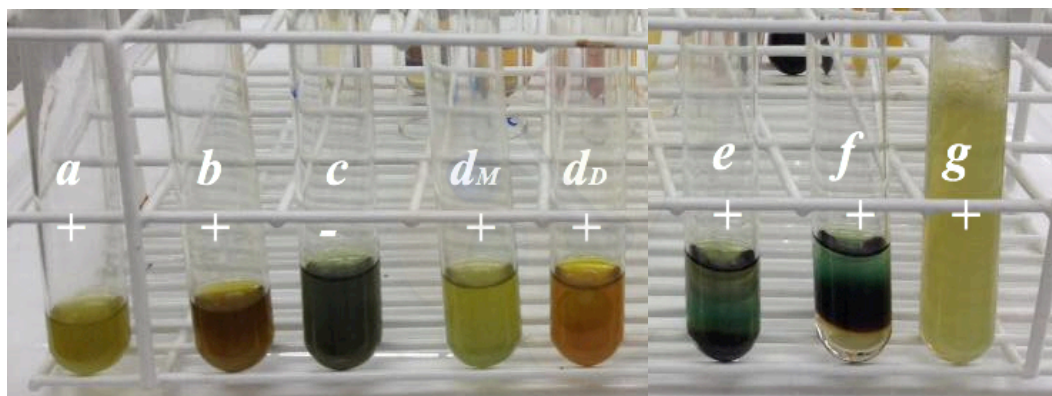
FIGURA 05: Teste fitoquímico do extrato etanólico das flores de jasmim



Fonte: Autor, 2017.

a) Cumarinas, b) Taninos e Fenóis, c) Flavonóides, dM,dD) Alcalóides (Mayer, Dragendroff), e) Terpenoides, f) Esteroides, g) Saponinas.

FIGURA 06: Teste fitoquímico do extrato etanólico das folhas de jasmim.



Fonte: Autor, 2017.

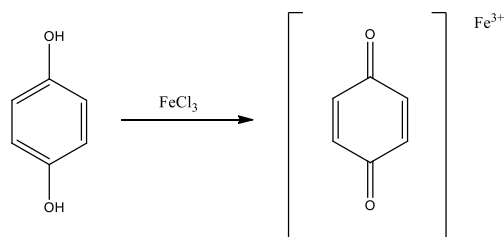
a) Cumarinas, b) Taninos e Fenóis, c) Flavonóides, dM,dD) Alcalóides (Mayer, Dragendroff), e) Terpenoides, f) Esteroides, g) Saponinas.

De acordo com os resultados obtidos, percebeu-se que alguns metabólitos secundários foram positivos e alguns foram negativos nas folhas e flores da espécie *Plumeria rubra* L. Os metabólitos secundários presentes no extrato etanólico das folhas foram alcalóides, cumarinas, taninos, fenóis, saponinas, terpenoides e esteróides, flavonóide foi o único que deu negativo no presente teste. E os metabólitos secundários presentes no extrato das flores são alcaloides, cumarinas, taninos, fenóis, flavonóides terpenoides e esteroides, a saponina foi o único teste que deu negativo no presente teste. A partir dos testes positivos para o metabólitos secundários, assim sinaliza potencial para atividade antioxidante (ZUANAZZI, 2001; BOROKSI *et al.*, 2015), e demais testes biológicos.

Para o extrato etanólico das folhas e flores, foi possível a identificação de fenóis. Esses compostos possuem ação antioxidante, em consequência da sua estrutura química e de suas propriedades redutoras, apresentando assim, características como antifúngico, antialérgico, desinfetantes e na fabricação de medicamentos (SOUZA *et al.*, 2016).

A identificação de fenólicos baseia-se na sua capacidade de sofrer oxidação perante agentes oxidantes como cloreto férrico, onde ocorre a complexação com os cátions Fe^{3+} da solução. A reação está mostrando na Figura 07.

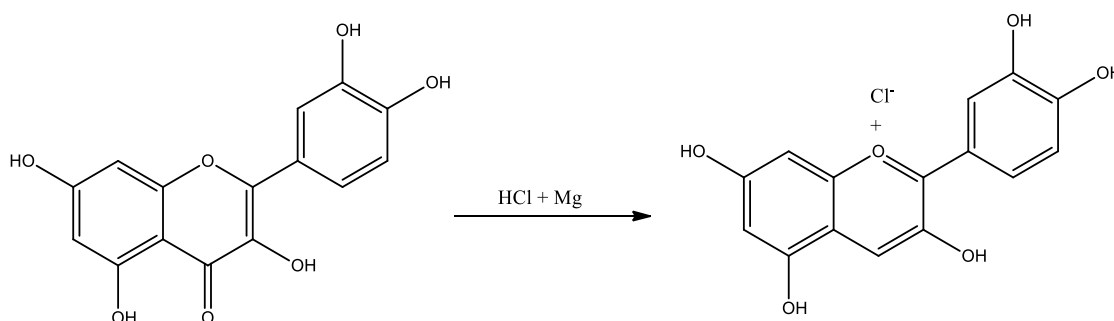
FIGURA 07: Reação de identificação de fenólicos simples pelo cloreto férrico.



Fonte: Wolf, 2008.

Os resultados da triagem fitoquímica realizada no extrato etanólico de espécie *Plumeria rubra* L. indicou presença de flavonóides nas flores e ausência nas folhas. A identificação de flavonóides foi realizado através da reação de Shinoda. Esta reação se baseia na capacidade de oxidação que a maioria dos flavonóides possui na presença de magnésio em pó e ácido clorídrico. A cor formada depende da estrutura química do flavonóide, passando por amarelo, violeta, vermelho a vermelho intenso (WOLF, 2008). A reação está mostrando na Figura 08.

FIGURA 08: Reação de Shinoda para identificação de flavonóides



Fonte: Wolf, 2008.

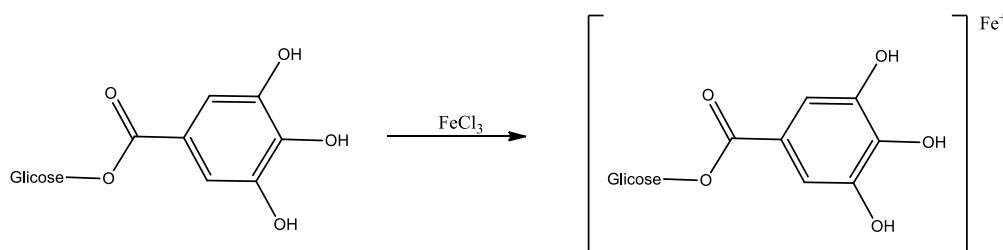
O resultado positivo de flavonóides pode indicar a presença de composto fenólicos, assim sinaliza potencial para atividade antioxidante. Pois, os flavonoides representam um dos grupos fenólicos mais importantes e diversificados entre os produtos de origem natural. Essa classe de compostos é amplamente distribuída no reino vegetal. E podem se encontrar flavonoides em diversas formas estruturais (ZUANAZZI, 2001).

A presença dos flavonoides nos vegetais está relacionada a proteção dos vegetais contra a incidência de raios ultravioleta e visível, proteção contra insetos, fungos, vírus e bactérias, atração de animais com finalidade de polinização; antioxidantes; controle de ação de hormônios vegetais; agentes alelopáticos; e inibição de enzimas (ZUANAZZI, 2001; BOROKSI *et al.*, 2015). Os flavonóides também apresentam atividade antibacteriana,

antiespasmódica, antioxidante, anti-inflamatória, além de dar uma resposta imunológica, porém, na qual há produção de anticorpos específicos contra determinado agente agressor (SOUZA *et al.*, 2016).

Os resultados obtidos neste teste, verificou-se taninos são presentes na folhas e flores de *Plumeria rubra* L. Os taninos podem ser caracterizados por reações de coloração ou de precipitação quando reagem com o cloreto férrico. Os taninos hidrossolúveis produzem, com solução diluída de cloreto férrico, uma forte coloração azul, principalmente em meio alcalino. Soluções aquosas de derivados de catequina, por sua vez, resultam numa coloração verde, com intensidade mais fraca do que os taninos hidrossolúveis. Em mistura de ambos os tipos de taninos, a coloração verde não é observada (WOLF, 2008). A reação dos taninos está mostrando na Figura 09.

FIGURA 09: Reação de identificação de um galotanino (tanino hidrolisável).



Fonte: Wolf, 2008.

Plantas ricas em taninos são empregados na medicina tradicional como remédios para o tratamento de doenças. Pois os taninos ajudam no processo de cura de feridas, queimaduras e inflamações através de formação de uma camada protetora (complexo tanino-proteína e polissacarídeo) sobre a pele ou mucosa danificada (MELLO e SANTOS, 2001).

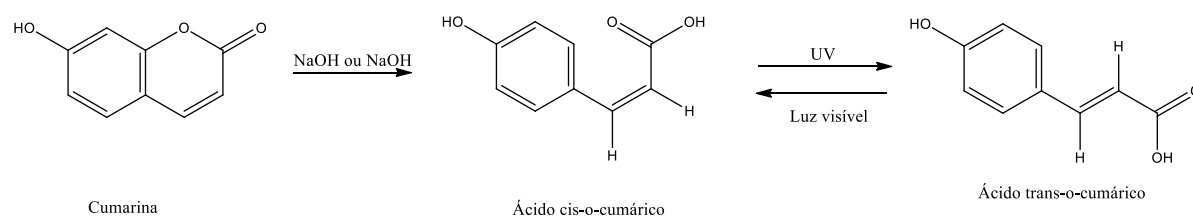
De acordo com os resultados obtidos verificou-se a presença de alcalóides no extrato etanólico das folhas e flores de *Plumeria rubra* L. Os alcaloides podem ser encontrados em todas as partes de um vegetal, contudo em um ou mais órgãos haverá um acúmulo referencial destas substâncias. Tem sido observado que muitas plantas que produzem alcaloides são evitadas por animais ou insetos em sua dieta, isto certamente devido à sua toxicidade ou ao fato de a maioria dos alcaloides terem gosto amargo (HENRIQUES, KERBER, MORENO, 2001). De acordo com Souza *et al.*, (2016), esse grupo tem uma variedade de ações, como: queimaduras, feridas, problemas respiratórios, ação antibacteriana e antifúngica, podem contribuir para uma dilatação da artéria coronária e no tratamento do câncer.

Para os grupos de saponinas foram comprovados através de duração da espuma existente por mais de 30 minutos, sendo positivo para o extrato da folha e negativo para o extrato da flor. Saponinas são compostos glicosilados, polares, que se caracterizam por apresentar propriedade tensoativa, ou seja, podendo formar espuma abundante e persistente após agitação de suas soluções aquosas. Podem formar complexos com proteínas e fosfolipídios da membrana celular, determinando suas ações biológicas (RODRIGUES *et al.*, 2010). A sua propriedade física principal é reduzir fortemente a tensão superficial da água. As plantas que contém saponinas também tem ação anti-helmíntica, antiinflamatória, larvicida, moluscicida, antifúngica, antibacteriana, antiviral, mucolítica, diurética e depurativa (SOUZA *et al.*, 2016; SCHENKEL *et al.*, 2001; RODRIGUES *et al.*, 2010; FILHO *et al.*, 2013).

Os esteróides são formados a partir dos triterpenos por meio de descarboxilações (ALMEIDA *et al.*, 2015). As principais funções biológicas e farmacológicas de esteróides envolvidos estão relacionadas ao desenvolvimento e controle do sistema reprodutor humano, funcionando como cardiotônicos, precursores de vitamina D, anticoncepcionais orais, agente anti-inflamatória, analgésica e agentes anabolizantes (BESSA *et al.*, 2013; RODRIGUES *et al.*, 2010) e para terpenóides, é reconhecido pelos efeitos antiinflamatórios, analgésicos, cardiovasculares e antitumorais (BESSA *et al.*, 2013).

Os metabólitos secundários de cumarinas apresentaram resultado positivos nas folhas e flores do extrato etanólico. As cumarinas puras não são fluorescente, mas em meio alcalino forma-se o ácido *cis-o*-hidroxicinâmico (WOLF, 2008). A reação de cumarinas está mostrando na Figura 10.

FIGURA 10: Reação de identificação de cumarinas.



Fonte: Wolf, 2008.

Os compostos de cumarinas também utilizadas no tratamento de doenças de pele, como psoríase, dermatoses, vitiligo e alguns compostos possuem efeito anticoagulante. As

principais funções biológicas e farmacológicas de cumarinas são; antimicrobiano, antiinflamatório, antiviral e antioxidante (BESSA *et al.*, 2013; LUZ *et al.*, 2014).

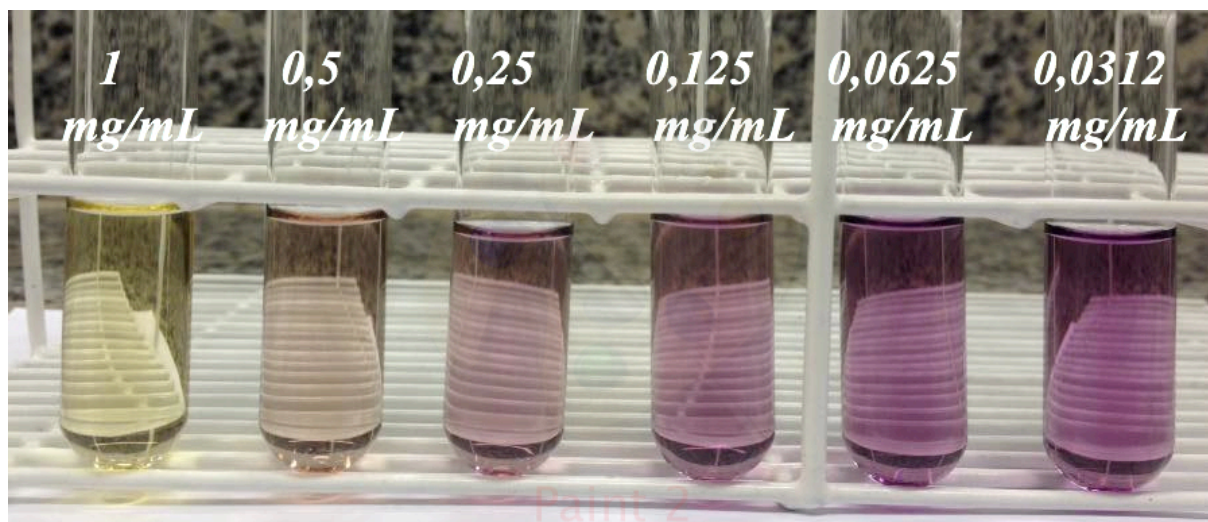
Com esses promissores potencial, mais estudos devem ser realizadas, como fracionamento, isolamentos para ensaios biológicos, como, antibactericida, larvicida, antioxidante e entre outros para contribuírem em novos fármacos.

5.3 Análise de atividade antioxidante

A avaliação da atividade antioxidante utilizada foi o método do DPPH, que é rápido, simples e sensível. Esse método é baseado na captura dos radicais livres DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) por antioxidante. Esta reação produz um decréscimo na absorbância. O radical livre reage com doadores de hidrogênio, na presença de substâncias antioxidantes, e este doadores recebem H^+ , sendo então reduzidos (SILVA *et al.*, 2013).

O DPPH possui uma coloração púrpura/violeta com absorção máxima na região de 515 a 528 nm, tornando-se amarelo após receber o átomo de hidrogênio proveniente da espécie antioxidante, através de uma reação de oxirredução (BOROSKI *et al.*, 2015). A coloração da solução de DPPH em contato com as amostras em testes passa da coloração roxa intensa para amarela. E a intensidade da cor varia de acordo com a concentração (VEDANA, 2008).

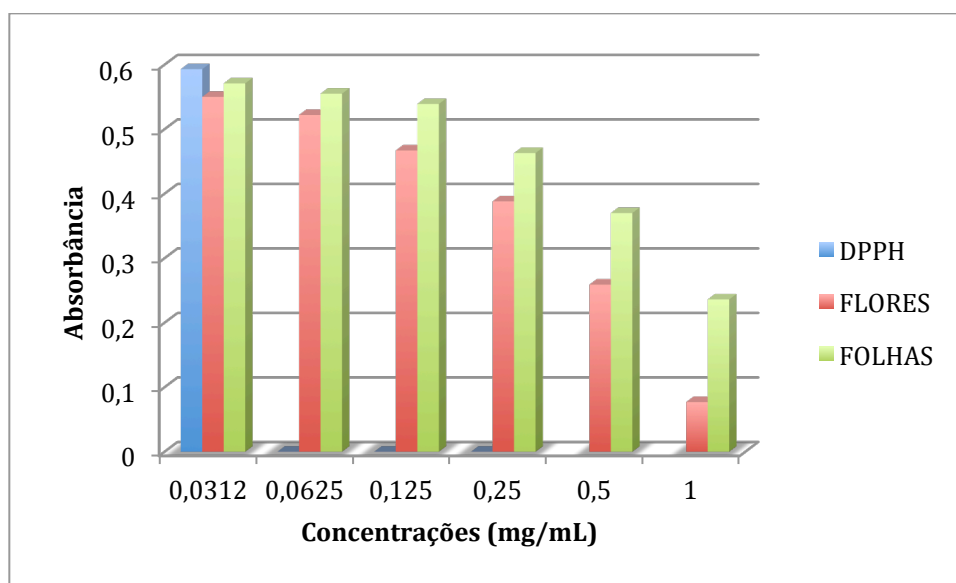
FIGURA 11: Atividade antioxidante do extrato etanólico das flores da espécie *Plumeria rubra* L. avaliado pelo método de DPPH.



Fonte: Autor, 2017.

Quanto maior o consumo de DPPH por uma amostra, menor será a sua IC₅₀ e maior a eficiência de antioxidante (SOUSA *et al.*, 2007; BOROKSI *et al.*, 2015). E, quanto maior a concentração da amostra e menor a absorbância, maior o consumo de DPPH (NASCIMENTO *et al.*, 2011).

FIGURA 12: Relação entre a concentração e a absorbância das amostra no consumo de DPPH.



Fonte: Autor, 2017.

A partir da Tabela 03 (extrato etanólico das flores), construiu-se uma curva dos valores da % AA em função da concentração do extrato. Considerando a % AA de uma amostra real, o valor de IC₅₀ é encontrado por meio de regressão linear (Gráfico 01). Considerando o Gráfico 01, os valores de IC₅₀ podem ser obtidos através da equação da reta: $y = 0,0812x + 9,792$, em que y corresponde ao eixo referente a % AA e o eixo x à concentração do extrato. Como o IC₅₀ representa a concentração de extrato necessária para inibir 50% do radical DPPH, substituiu-se o eixo y = 50 na equação da reta. Dessa forma, $50 = 0,0812x + 9,792$. Portanto $x = 495,17$ ppm. Assim, foi calculado também o IC₅₀ da Tabela 04 do extrato etanólico das folhas. Os resultados do IC₅₀ de atividades antioxidantes estão mostrando na Tabela 03 e 04.

De acordo com o resultado de pesquisa mostrou-se, que o extrato etanólico das flores tem maior potencial antioxidante do que o extrato etanólico das folhas. Porque o extrato

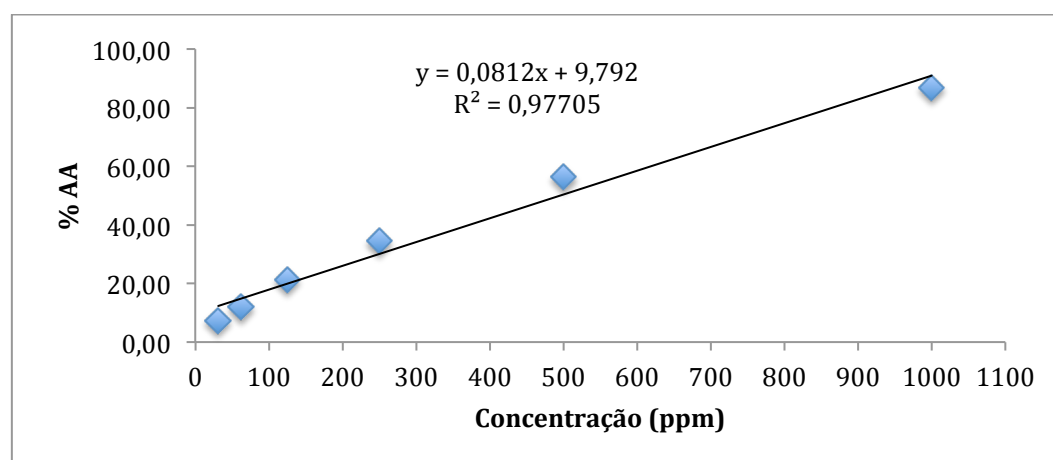
etanólico das flores na maior concentração apresentou 87,015% de porcentagem de inibição e da folha na maior concentração apresentou 60,202% de porcentagem de inibição. Os resultados do IC₅₀ (50% de inibição), no extrato das flores apresentou seu IC₅₀ (495,17 ppm) menor que o extrato das folhas que apresentou seu IC₅₀ (782,35 ppm). O valor do IC₅₀ representa a concentração de extrato necessária para inibir 50% do radical DPPH. Quanto menor esse valor, maior a eficiência do antioxidante (BOROSKI *et al.*, 2015). O padrão para o ensaio do DPPH foi utilizado o ácido ascórbico que possui atividade antioxidante comprovada. Assim que, ele pode ser usado como parâmetro para a comparação das atividades encontradas para as frações analisadas (WEILER *et al.*, 2010).

TABELA 03: Atividade antioxidante do extrato etanólico das flores

Concentração (ppm)	Abs ($\lambda = 520 \text{ nm}$)	%AA	r	IC ₅₀ (ppm)
1000	0,08	87,02	± 0,01	
500	0,26	56,38	± 0,02	
250	0,39	34,51	± 0,04	
125	0,47	21,30	± 0,01	495,17
62,5	0,52	12,03	± 0,02	
31,2	0,55	7,31	± 0,02	
DPPH	0,59	0	± 0,00	

Fonte: Autor, 2017.

GRÁFICO 01: Porcentagem de atividade antioxidante em relação das concentrações de amostra do extrato etanólico das flores.



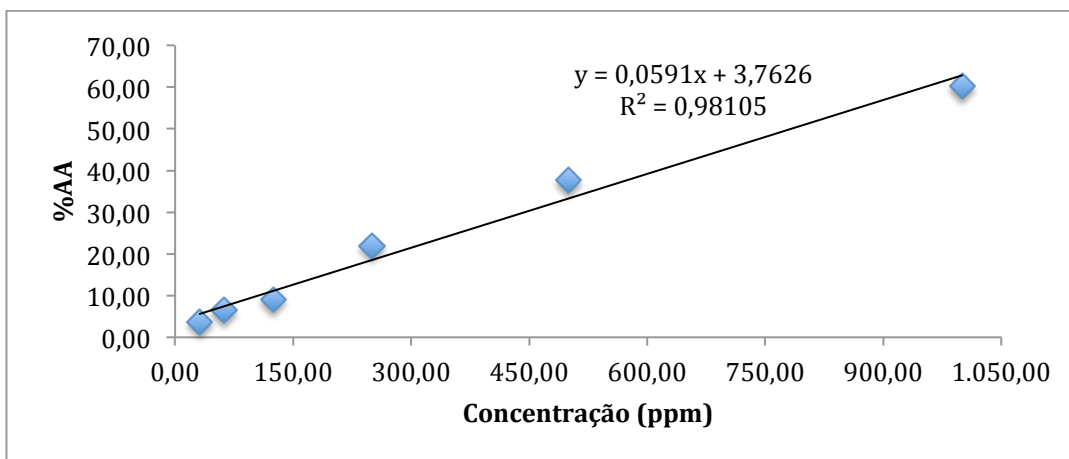
Fonte: Autor, 2017.

TABELA 04: Atividade antioxidante do extrato etanólico das folhas

Concentração (ppm)	Abs ($\lambda = 520 \text{ nm}$)	%AA	r	IC ₅₀ (ppm)
1000	0,24	60,20	$\pm 0,04$	
500	0,37	37,61	$\pm 0,01$	
250	0,46	21,92	$\pm 0,00$	
125	0,54	9,05	$\pm 0,00$	782,35
62,5	0,56	6,41	$\pm 0,01$	
31,2	0,57	3,65	$\pm 0,01$	
DPPH	0,59	0	$\pm 0,00$	

Fonte: Autor, 2017.

GRÁFICO 02: Porcentagem de atividade antioxidante em relação as concentrações de amostra do extrato etanólico das folhas.



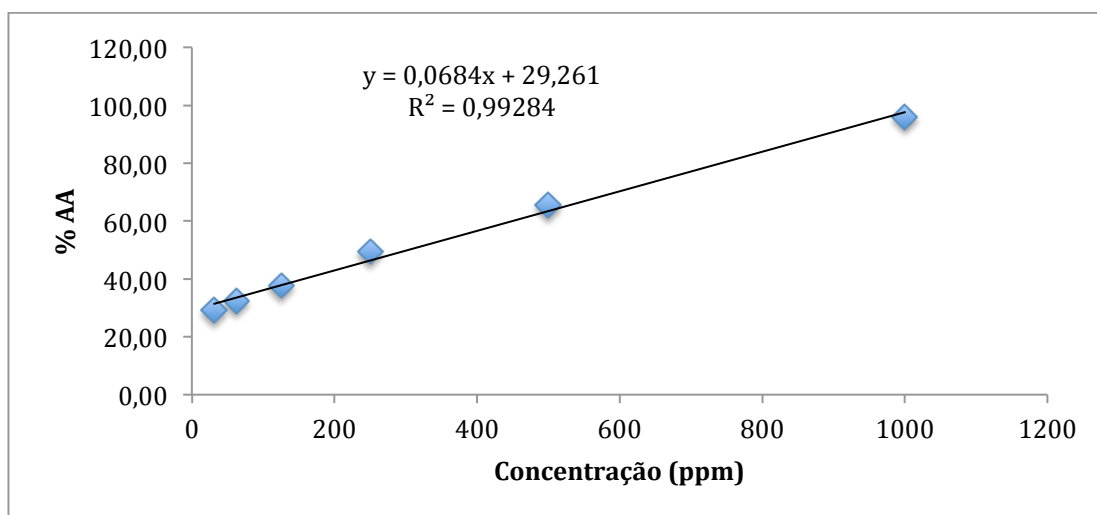
Fonte: Autor, 2017.

TABELA 05: Atividade antioxidante do padrão ácido ascórbico

Concentração (ppm)	Abs ($\lambda = 520 \text{ nm}$)	%AA	r	IC ₅₀ (ppm)
1000	0,02	96,01	± 0,00	
500	0,21	65,43	± 0,01	
250	0,30	49,52	± 0,00	
125	0,37	37,66	± 0,01	303,20
62,5	0,40	32,49	± 0,02	
31,2	0,42	29,06	± 0,02	
DPPH	0,59	0	± 0,00	

Fonte: Autor, 2017.

GRÁFICO 03: Porcentagem de atividade antioxidante em relação as concentrações de ácido ascórbico.



Fonte: Autor, 2017.

O ácido ascórbico (Tabela 05 e Gráfico 03) foi utilizado como padrão e apresentou o IC₅₀ igual à 303,20 ppm. Comparando o IC₅₀ de amostra com o padrão, o extrato de flor apresenta IC₅₀ aproximadamente ao padrão e o extrato da folha apresenta um pouco maior que o padrão de ácido ascórbico. Isso significa que o extrato etanólico das flores de jasmim provavelmente apresenta atividade antioxidante moderada e o extrato etanólico das folhas provavelmente apresenta atividade antioxidante fraca. A atividade antioxidante encontrada nos extratos, pode ser, devido a presença de compostos fenólicos, flavonóides, taninos, cumarinas e entre outros.

Com bases nos resultados obtidos, pode concluir-se que a flor e a folha de *Plumeria rubra* L. tem potencial como uma fonte de antioxidantes naturais.

5.4 Teste de toxicidade frente a Artêmia salina

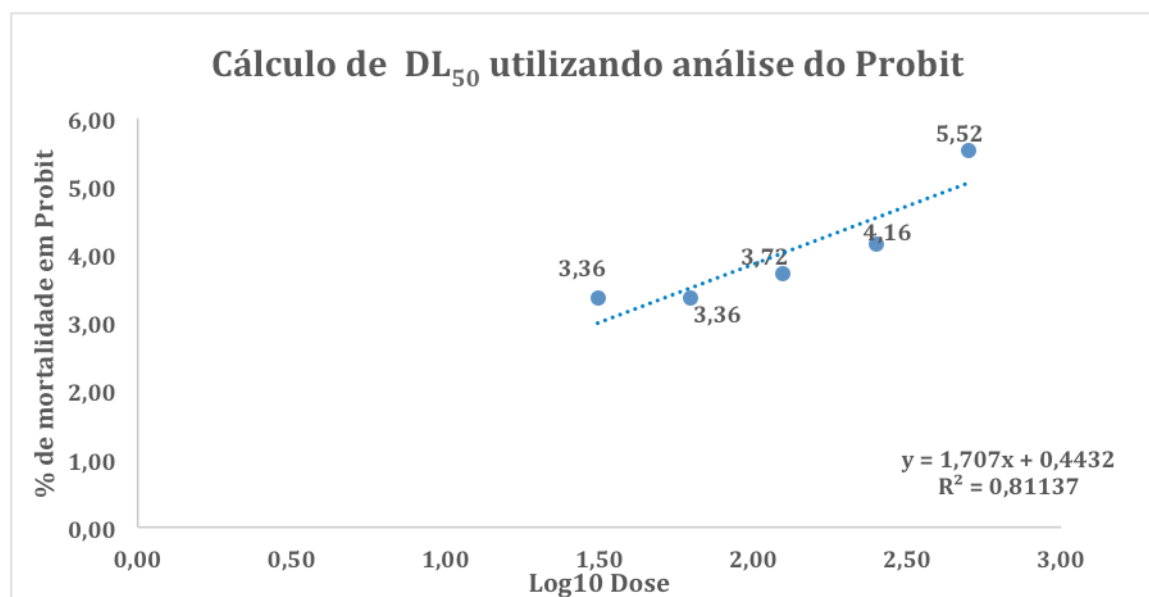
Os resultados dos testes de toxicidade dos extratos etanólicos das flores e folhas frente a *Artemia salina* estão mostrando na Tabela 05 e 06, e, no Gráfico 03 e 04.

TABELA 06: Resultado do teste toxicidade do extrato etanólico das flores frente a artêmia salina.

Concentração (ppm)	Total larvas	Larvas mortos	% mortalidade	DL ₅₀ (ppm)
500	20	14	70	
250	20	4	20	
125	20	2	10	
62,5	20	1	5	478,75
31,2	20	1	5	
Controle	20	0	0	

Fonte: Autor, 2017.

GRÁFICO 04: Porcentagem de mortalidade de larvas artêmia salina em concentrações das amostras do extrato etanólico das flores analisando por programa de Probit.



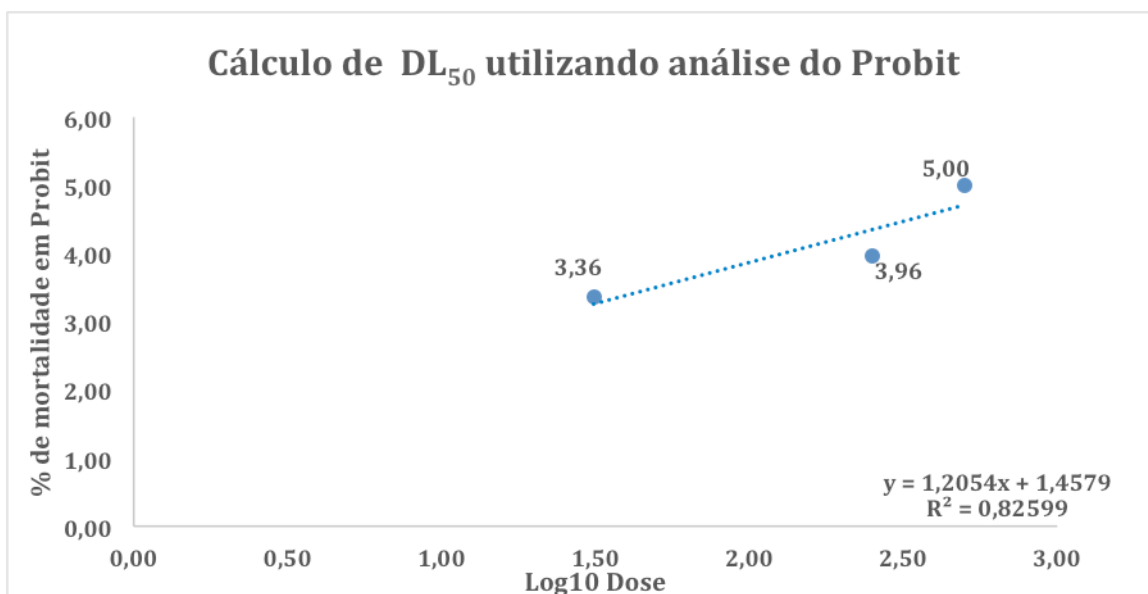
Fonte: Autor, 2017.

TABELA 07: Resultado do teste toxicidade do extrato etanólico das folhas frente a artêmia salina.

Concentração (ppm)	Total larvas	Larvas mortos	% mortalidade	DL ₅₀ (ppm)
500	20	10	50	
250	20	3	15	
125	20	0	0	
62,5	20	0	0	818,28
31,2	20	1	5	
Controle	20	0	0	

Fonte: Autor, 2017.

GRÁFICO 05: Porcentagem de mortalidade de larvas artêmia salina em concentrações das amostras do extrato etanólico das folhas analisando por programa de Probit.



Fonte: Autor, 2017.

De acordo com os resultados obtidos nos testes de toxicidades dos extratos etanólicos das flores e folhas de jasmim frente a *B. stagnalis*, obteve-se o resultado significativo. Onde, Dose Letal (DL₅₀) 478,75 ppm do extrato das flores e Dose Letal (DL₅₀) 818,28 ppm do extrato das folhas. Segundo a escala da toxicidade de Amarante *et. al.*, (2011), no seu estudo sobre avaliação da toxicidade dos extratos realizada através do bioensaio com Artêmia salina, considerou-se baixa toxicidade quando a dose letal 50% (DL₅₀) foi superior a 500 ppm;

moderada para DL_{50} entre 100 a 500 ppm e muito tóxico quando a DL_{50} foi inferior 100 ppm. De acordo com os resultados obtidos dos extratos de jasmim, considerados bastante tóxicos frente a *B. stagnalis*, onde o extrato etanólico das flores apresentou moderadamente tóxico com o valor de $DL_{50} = 478,75$ ppm, e o extrato etanólico das folhas apresentou leve toxicidade com o valor $DL_{50} = 818,28$ ppm. A dose letal mediana (DL_{50}) é a dose necessária para ocasionar a morte de 50% de microcrustáceos nas amostras em estudo.

De acordo com Johnson e Johnson (2006) no seu estudo sobre as classes das plantas tóxicas, a espécie de *Plumeria rubra* L. considerado como a planta tóxica com classe de baixa toxicidade.

Com os resultados obtidos, concluiu-se que, os extratos etanólicos das folhas e flores da espécie *Plumeria rubra* L. apresentaram uma possível ação tóxica, o que torna importante a possibilidade de dar a continuidade aos estudos dessa planta, com análise mais detalhada que poderá se utilizado na fabricação de fármacos, ornamentais e medicinais.

6. CONCLUSÃO

A espécie vegetal jasmim (*Plumeria rubra* L.) demonstrou os resultados satisfatórios durante a pesquisa. Onde, a planta revelou a presença de algumas das classes de metabólitos secundários, ação de atividade antioxidante e atividade de toxicidade.

A triagem fitoquímica preliminar revelou a presença de alcalóides, cumarinas flavonóides esteróides, terpenóides e taninos no extrato das flores de *Plumeria rubra* L. e alcalóides, cumarinas, esteróides, terpenóides, taninos e saponinas no extrato das folhas de *Plumeria rubra* L. A presença de fitoquímicos ativos, a planta pode ser utilizado medicinalmente no futuro. Estudo mais detalhado para desperta o interesse de isolamento de princípios ativos.

O ensaio de sequestro de radicais livres de DPPH das amostras obtidos pelos extrato etanólico das flores e folhas de espécie *Plumeria rubra* L. apresentaram atividade antioxidante significativa, comparando com o padrão de ácido ascórbico. Onde, o extrato etanólico da flor provavelmente apresentou-se moderadamente atividade antioxidante e o extrato etanólico da folha provavelmente apresentou sua atividade antioxidante fraco.

A toxicidade dos extratos das flores e das folhas de *Plumeria rubra* L. apresentaram atividade biológica frente ao crustáceo *B. stagnalis*, nos quais os extratos das flores apresentaram moderadamente tóxico e os extratos das folhas apresentaram ligeiramente tóxico.

De acordo com os resultados de pesquisa, a espécie *Plumaria rubra* L. demonstrou a presença de compostos de interesse terapêutico, o que torna importante dar continuidade aos estudos fitoquímicos e biológicos no futuro para desenvolvimento de novos produtos da área farmacêutica, alimentícia, cosmética e entre outros.

7. REFERÊNCIAS

- ALVES, *et. al.*, Métodos para determinação de atividade antioxidante *in vitro* em substratos orgânicos. **Qui. Nova**, v.33, n.10, p.2202-2210, 2010.
- ALVES, H. M. A diversidade química das plantas como fonte de fitofármacos. **Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola**. n.3, p.10-15, 2001.
- ALMEIDA, H. M.; OLIVEIRA, F. F. M.; FALCÃO, D. A. **Análise fitoquímica dos extratos hidroalcoólicos da entrecasca e da folha de *Pseudobombax marginatum* (St. Hill) Rob.** 5 Encontro Regional de Química, 4 Encontro Nacional de Química. v.3, n.1, 2015. ISSN: 2318-4043.
- AMARANTE, *et. al.*, Estudo fitoquímico biomonitorado pelos ensaios de toxicidade frente à *Artemia salina* e de atividade antiplasmódica do caule de aninga (*Montrichardia linifera*). **ACTA AMAZÔNICA**. v.41, n.3, p.431-434, 2011.
- ARAÚJO, E. L. **Látex de *Plumeria rubra* L. (Jasmim): Perfil Protéico, caracterização enzimática e ação contra insetos.** Fortaleza, 2009. Dissertação (Mestrado em bioquímica) – Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, 2009.
- BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M.; ARAÚJO, J. X. O uso de matérias-primas para a síntese de fármacos. In: SIMÕES, C. M O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. (Orgs.) **Farmacognosia da Planta ao medicamento**. Porto Alegre, 3 ed. Ed. Universidade/UFRGS, Ed. Da UFSC, 2001.
- BESSA, *et. al.*, Prospecção fitoquímica preliminar de plantas nativas do cerrado de uso popular medicinal pela comunidade rural do assentamento vale verde – Tocantins. **Rev. Bras. PI. Med.**, Campinas, v.15, n.4, p.692-707, 2013.
- BORGES, *et. al.*, **Uma abordagem sobre métodos analíticos para determinação da atividade antioxidante em produtos naturais**. Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer – Goiânia, v. 7, n. 12, p.1-20, 2011.
- BOROSKI, *et.al.*, **Antioxidantes: Princípios e Métodos Analíticas**. Curitiba, Editora; Appris. 1 Ed., 2015.
- COLLINS, *et. al.*, Fataluku medicinal ethnobotany and the East Timorese military resistance. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**. v.3, n.7, 2007.

- COSTA, M. **Plantas Medicinais no Ensino de Biologia do Timor Leste**. 2010. 103f. Dissertação (Mestrado em Educação em Ciências e Matemática) - Programa de Educação em Ciências e Matemática, Universidade Federal de Goiás. Goiânia, 2010.
- Extratos Vegetais. **Food Ingredients Brasil**. n.11, p.19, 2010. Disponível em: <http://www.revista-fi.com/materias/120.pdf>. Acesso em: 06 de fev. de 2016.
- FILHO, *et. al.*. **Prospecção fitoquímica do café e de seus sucedâneos**. VIII Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil. Salvador, 2013.
- FITOQUÍMICOS. **Aditivos & Ingredientes**. 2012. Disponível em: http://aditivosingredientes.com.br/upload_arquivos/201604/2016040021565001460639806.pdf. Acesso em: 23 de jan. de 2017.
- FINNEY, D. J. Probit Analysis. **Journal of the Institute of Actuaries**. 2nd. Ed. v.78, n.3, p.388-390, 1952.
- GOMES, E. T. **Medicamentos de Origem Vegetal. Substâncias Químicas de Origem Vegetal com Interesse Medicamentoso**. Boletim SPQ, 42, 1990.
- Guidelines for efficacy testing of insecticides for indoor and outdoor ground-applied space spray applications**. WHO, Geneva, 23-27 February 2009. Geneva, World Health Organization, 2009 (WHO/HTM/NTD/WHOPES/2009.2).
- HENRIQUES, A. T.; KERBER, V. A.; MORENO, P. R. H. Alcalóides: generalidades e aspectos básico. In: SIMÕES, C. M O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. (Orgs.) **Farmacognosia da Planta ao medicamento**. Porto Alegre, 3 ed. Ed. Universidade/UFRGS, Ed. Da UFSC, 2001.
- HOCAYEN, *et. al.*. Avaliação da toxicidade do extrato bruto metanólico de *Baccharis dracunculifolia* por meio do bioensaio com *Artemia salina*. *INSULA*. Florianópolis, **Revista de botânica.**, n.42, p.23-31, 2012. ISSN: 2178-4574.
- JOHNSON, A.; JOHNSON, S. **Garden plants poisonous to people**. NSW Department of Primary Industries. PRIMEFACT 359, NSW, 2006. ISSN: 1832-6668.
- LAWAL, O. A.; OGUNWANDE, I. A.; OPOKU, A. R. Chemical Composition of essential oils of *Plumeria rubra* L. Grown in Nigeira. **European Journal of Medicinal Plants**. v.6, n.1, p.55-61, 2015. ISSN: 2231-0894.

LUPE, F. A. **Estudo da Composição Química de Óleos Essenciais de Plantas Aromáticas da Amazônia**. 2007. 120f. Dissertação (Mestrado em Química Orgânica) – Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007.

LUZ, H. S.; SANTOS, A. C. G.; LIMA, F.C.; MACHADO, K. R. G. Prospecção fitoquímica de *Himatanthus drasticus* Plumel (Apocinaceae), da mesorregião leste maranhense. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Campinas, v.16, n.3, p.657-662, 2014.

MATOS, F. J. A. **Introdução à Fitoquímica Experimental**. 3 ed. Edições UFC, Fortaleza, 2009.

MELLO, J. C. P.; SANTOS, S. C. Taninos. In: SIMÕES, C. M O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. (Orgs.) **Farmacognosia da Planta ao medicamento**. Porto Alegre, 3 ed. Ed. Universidade/UFRGS, Ed. Da UFSC, 2001.

MERINO, *et. al.*,. Análise fitoquímica, potencial antioxidante e toxicidade do extrato bruto etanólico e das frações da espécie *Senecio westermanii* Dusén frente à artemia salina. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Campinas, v.17, n.4, p.1031-1040, 2015.

MEYER, *et. al.*,. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. **Planta Médica**, v.45, n.1, p.31-34, 1982.

MIRANDA, C. A. S. F. **Atividade antioxidante de óleos essenciais de folhas de diversas plantas**. 2010. 152f. Dissertação (Mestrado Agroquímica e Agrobioquímica) – Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, Universidade Federal de Lavras. Lavras, 2010.

NASCIMENTO, *et. al.*,. Determinação da atividade antioxidante pelo método DPPH e doseamento de flavonóides totais em extratos de folhas da *Bauhinia variegata* L. **Rev. Bras. Farm.** v.92, n.4, p.327-332, 2011.

Os antioxidantes. **Food Ingredients Brasil**. n.6, p.16, 2009. Disponível em: <http://www.revista-fi.com/materias/83.pdf>. Acesso em: 06 de fev. de 2016.

PATIL, *et. al.*,. Phytochemical, Antioxidant and Antibacterial activity of black tea (*Camellia sinensis*). **IJPPR**, v.8, n.2, p.341-346, 2016. ISSN: 0975-4873.

PRADO, A. **Composição fenólica e atividade antioxidante de frutas tropicais**. Dissertação (mestrado). Universidade de São Paulo. Piracicaba, 2009. 106f. Dissertação (Mestrado Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo. Piracicaba, 2009.

RODRIGUES, *et. al.*,. **Prospecção fitoquímica e atividade moluscicida de folhas de *Momordica charantia* L.** São Luís, Cad. Pesq., v.17, n. 2, 2010.

ROSA, *et. al.*,. Composição química e toxicidade frente *Aedes aegypti* L. *Artemia salina* Leach do óleo essencial das folhas de *Myrcia sylvatica* (G. Mey.) DC. **Rev. Bras. PI. Med.**, Campinas, v.18, n.1, p.19-29, 2016.

RUFINO, *et. al.*,. **Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH.** Comunicado técnico online. Fortaleza, 2007. ISSN: 1679-6535. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/426953/1/Cot127.pdf>. Acesso em: 12 de nov. de 2016.

SANTOS, R. I. Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários. In: SIMÕES, C. M O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. (Orgs.) **Farmacognosia da Planta ao medicamento.** Porto Alegre, 3 ed. Ed. Universidade/UFRGS, Ed. Da UFSC, 2001.

SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; ATHAYDE, M. L. Saponinas. In: SIMÕES, C. M O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. (Orgs.) **Farmacognosia da Planta ao medicamento.** Porto Alegre, 3 ed. Ed. Universidade/UFRGS, Ed. Da UFSC, 2001.

SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; PETROVICK, P. R. Produtos de origem vegetal e o desenvolvimento de medicamentos. In: SIMÕES, C. M O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. (Orgs.) **Farmacognosia da Planta ao medicamento.** Porto Alegre, 3 ed. Ed. Universidade/UFRGS, Ed. Da UFSC, 2001.

SCHENKEL, *et. al.*,. Plantas Tóxicas. In: SIMÕES, C. M O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. (Orgs.) **Farmacognosia da Planta ao medicamento.** Porto Alegre, 3 ed. Ed. Universidade/UFRGS, Ed. Da UFSC, 2001.

SILVA, A. C. O.; LIMA, R. A. Identificação das classes de metabólitos secundários no extrato etanólico dos frutos e folhas de *Eugenia uniflora* L. **REGET**, v.20, n.1, p.381-388. 2016.

SILVA, *et. al.*,. Identificação dos metabólitos secundários do extrato etanólico das folhas de *Schinus terebinthifolius* Raddi. **South American Journal of Basic Education, Technical and Technological**. v.2, n.2, p.84-93, 2015. ISSN: 2446-4821

SILVA, *et. al.*,. **Análise fitoquímica e atividade antioxidante do extrato hidroetanólico das folhas de *Psidium guajava* L. (Goiabeira)**. IV Jornada Acadêmica Internacional de Bioquímica e I Semana Científica de Biotecnologia. BBR, Edição especial, v.2, n.2, p.76-78, 2013. ISSN: 2316-5200.

SILVA, A. N. **Estudo da composição química e da atividade antimicrobiana in vitro dos óleos essenciais de espécies do gênero *Myrcia* DC. (*Mirtaceae*)**. Feira de Santana, Dissertação (mestrado). Universidade Estadual de Feira de Santana, p.28, 2010.

SILVA, *et. al.*,. Caracterização Fitoquímica, teor de fenóis e flavonoides e avaliação da capacidade antioxidante da folhas de *Lacistema pubescens* mart. **HU Revista, juiz de Fora**, v.37, n.3, p.347-352, 2012.

SOUSA, *et. al.*,. Fenóis Totais e Atividade Antioxidante de Cinco Plantas Medicinais. **Quim. Nova**, v.30, n.2, p.351-355, 2007.

SOUZA, *et. al.*,. **Triagem fitoquímica dos extratos e análises físico-química das folhas e flores da *Rolandra fruticosa* (L.) Kuntze (*Asteraceae*)**. 56° CBQ. Belém, 2016. ISBN: 978-85-85905-19-4. Disponível em: <http://www.abq.org.br/cbq/2016/trabalhos/1/9002-16254.html>. Acesso em: 03 de fev. de 2017.

SOUSA, *et. al.*,. **Análise fitoquímica e avaliação biológica de *Pithecoctenium crucigerum* (*Bignoniaceae*)**. Anais do IX Seminário de Iniciação Científica, VI Jornada de Pesquisa e Pós-Graduação e Semana Nacional de Ciências e Tecnologia, Goiás, 2011.

VEDANA, M. I. S. **Efeito do processamento na atividade antioxidante da uva**. 2008. 88f. Dissertação (Mestrado em tecnologia de alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos do Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2008.

VELLOSA, J. C. R.; BARBOSA, V. F.; OLIVEIRA, O. M. M. F. Pesquisas de produtos naturais: plantas e radicais livres. **Revista Eletrônica de Farmácia**. v.4, n.2, p.119-130, 2007.

VISHWAKARMA, *et. al.*,. Comparative study of qualitative phytochemical screening and antioxidant activity of *Mentha arvensis*, *Elettaria cardamomum* and *Allium porrum*. **Indo American Journal of Pharmaceutical Research**. v.4, 2014. ISSN: 2231-6876.

WEILER, *et. al.*,. **Potencial antioxidante in vitro das folhas de *ipomoea cairica* L. Sweet**. Saúde (Santa Maria), v.36, n.2, p.55-62, 2010. ISSN: 2236-5834.

WOLF, L. G. **Avaliação da qualidade físico-química de drogas vegetais**. 2008. 120f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual de Maringá. Maringá, 2008.

ZAHEER, *et. al.*,. Comparative Phytochemical Screening of flowers of *Plumeria alba* and *Plumeria rubra*. **Asian Journal of Pharmaceutical and clinical research**. v.3, 2010. ISSN: 0974-2441.

ZUANAZZI, J. A. S. Flavonóides. In: SIMÕES, C. M O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. (Orgs.) **Farmacognosia da Planta ao medicamento**. Porto Alegre, 3 ed. Ed. Universidade/UFRGS, Ed. Da UFSC, 2001.