



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

ANTONIO IVANY DA SILVA

ANÁLISE FITOQUÍMICA E TOXICIDADE DA ESPÉCIE *Brunfelsia uniflora*

**PARNAÍBA
2021**

ANTONIO IVANY DA SILVA

ANÁLISE FITOQUÍMICA E TOXICIDADE DA ESPÉCIE *Brunfelsia uniflora*

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

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Buana Carvalho de Almeida
Coorientador: Prof. Dr. Bartholomeu Araújo Barros Filho

PARNAÍBA
2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD

Silva , Antonio Ivany da
S586a Análise fitoquímica e toxicidade da espécie Brunfelsia uniflora / Antonio
Ivany da Silva . - 2021.
56 f.: il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Química) - Instituto
Federal do Piauí, Campus Parnaíba, 2021.

Orientadora : Profa. Dra. Buana Carvalho de Almeida.

Coorientador : Prof. Dr. Bartholomeu Araújo Barros Filho .

1. Química . 2. Avaliação fitoquímica - Espécie Brunfelsia uniflora. 3.
Toxicidade - Caules - Espécie Brunfelsia uniflora. 4. Prospeção
químico-farmacológica. I.Título.

CDD - 540

Elaborado por Micheline Angélica Aragão Gouveia CRB 3/1244

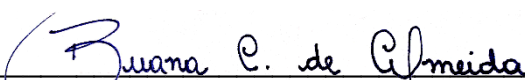
ANTONIO IVANY DA SILVA

ANÁLISE FITOQUÍMICA E TOXICIDADE DA ESPÉCIE *Brunfelsia uniflora*

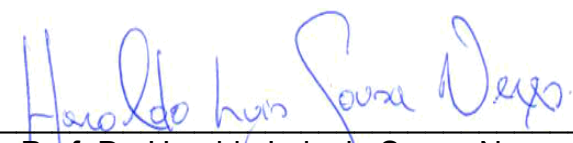
Trabalho de Conclusão de Curso (monografia)
apresentado como exigência parcial para obtenção do
diploma do Curso de Licenciatura em Química do Instituto
Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí.
Campus Parnaíba.

Aprovada em: ____/____/____.

BANCA EXAMINADORA


Prof.^a Dr.^a Buana Carvalho de Almeida (Orientadora)
Instituto Federal do Piauí (IFPI) – *Campus Parnaíba*


Pós-Dra Isabella Cristhina Gonçalves Costa


Prof. Dr. Haroldo Luis de Sousa Neres
Instituto Federal do Piauí (IFPI) – *Campus Parnaíba*

À Deus, pais, familiares e amigos que sempre
me acompanharam nessa jornada.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por me permitir realizar este trabalho, me concedendo sempre o discernimento necessário para a execução do mesmo.

Aos meus pais, Jose Araujo da Silva e Maria Celizenia Araujo da Silva, por sempre me incentivarem a prosseguir, mesmo tudo parecendo que não iria dar certo.

A todos os meus familiares, que de alguma maneira contribuíram para que eu chegasse até aqui.

A todos os professores do IFPI – Campus Parnaíba, por terem repassado para mim, um dos bens mais preciosos do mundo, que é o conhecimento. Em especial a Prof^a. Dr^a. Ana Maria Athayde Uchôa Thomaz, que sempre me incentivou à pesquisa, sendo inclusive minha orientadora de PIBIC.

A minha orientadora, Prof^a. Dr^a. Buana Carvalho de Almeida, pelos ensinamentos repassados, e é claro por acreditar no meu potencial sempre.

A técnica do laboratório do IFPI – Campus Parnaíba, Isabel Pereira pela disponibilidade de ajudar nos experimentos e pelos conselhos que ela deu ao longo dessa jornada.

A todos os funcionários do IFPI – Campus Parnaíba, desde os funcionários da limpeza até o Diretor Geral, pelos serviços prestados sempre com excelência.

As minhas amigas Ruth Ellen, Sabrina Teixeira, Rayna Relane, Jéssica Cristina e Alicia Ludymilla que sempre me ajudaram e suportaram no decorrer do curso.

Aos meus colegas de laboratório, Wellington e Kamila pelos vários momentos juntos de estudo no IFPI e também fora dele.

Enfim, a todos que de certa forma me ajudaram para que eu chegasse até aqui.

Sonhar é verbo: é seguir, é pensar, inspirar e fazer força, insistir, é lutar, transpirar. São mil verbos que vem antes do verbo realizar.

(Bráulio Bessa)

RESUMO

A espécie *Brunfelsia uniflora* é uma planta pertencente à família Solanaceae, conhecida popularmente como manacá. Esta planta pode ser encontrada no nordeste, sul e sudeste brasileiro e em países limítrofes como Bolívia, Peru, Venezuela e Equador. Existem relatos, relativamente recentes, no Piauí, de que a espécie *B. uniflora* é causadora de sinais neurotóxicos em jumentos, bovinos e pequenos ruminantes. Considerando a necessidade da análise fitoquímica da espécie bem como da investigação da sua toxicidade, realizaram-se a análise fitoquímica, teor de flavonoides totais (FLAT) e o ensaio de toxicidade frente à *Artemia salina*. A avaliação fitoquímica dos extratos etanólicos das folhas (EEF) e dos caules (EEC) de *B. uniflora*, permitiu identificar a presença de leucoantocianidinas, diidroflavonois, esteroides livres, heterosídeos saponínicos e alcaloides. Quanto ao teor de flavonoides totais, observou-se que o EEC apresentou maior teor de flavonoides totais ($44,42 \pm 1,22$ mg ER/g EtOH) quando comparado ao EEF ($25,32 \pm 1,17$ mg ER/g EtOH). A avaliação da toxicidade dos extratos forneceu a $DL_{50} = 766$ µg/mL para o EEF (fracamente tóxico) e $DL_{50} = 476,7$ µg/mL para o EEC (tóxico). Este é o primeiro relato da avaliação fitoquímica e da toxicidade dos caules de *B. uniflora*, o que contribui para a prospecção químico-farmacológica da espécie.

Palavras-chaves: *Brunfelsia uniflora*. Toxicidade. Metabólitos secundários.

ABSTRACT

Brunfelsia uniflora specie is a plant belonging to the Solanaceae family, popularly known as manacá. This plant can be found in the northeast, south and southeast of Brazil and in neighboring countries like Bolivia, Peru, Venezuela and Ecuador. There are relatively recent reports in Piauí that the species *B. uniflora* causes neurotoxic signs in donkeys, cattle and small ruminants. Need for phytochemical analysis of the species as well as investigation of its toxicity, a phytochemical analysis, total flavonoid content (TFC) and the toxicity test against *Artemia salina* were performed. The phytochemical evaluation of the ethanol extracts from leaves (EFL) and stems (EFS) of *B. uniflora*, should identify the presence of leucoanthocyanidins, dihydroflavonoids, free steroids, saponin heterosides and alkaloids. As for the content of total flavonoids, it was observed that the EFS presented a higher content of total flavonoids (44.42 ± 1.22 mg ER / g EtOH) when compared to EFL (25.32 ± 1.17 mg ER / g EtOH) The evaluation of the toxicity of the extracts provided the $LD_{50} = 766 \mu\text{g} / \text{mL}$ for the EFL (weakly toxic) and $LD_{50} = 476.7 \mu\text{g} / \text{mL}$ for the EFS (toxic). This is the first report of the phytochemical evaluation and toxicity of *B. uniflora* stems, which contributes to the chemical-pharmacological prospecting of the species.

Keywords: *Brunfelsia uniflora*. Toxicity. Secondary metabolites.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Espécie <i>Brunfelsia uniflora</i>	20
Figura 2 - Local de coleta da planta, imagem obtida por satélite.....	31
Figura 3 - Núcleo fundamental de leucoantocianidinas.	34
Figura 4 - Proposta de reação para identificação de leucoantocianinas.	35
Figura 5 - Teste positivo para leucoantocianidinas no EEF (5A) e no EEC (5B).	35
Figura 6 - Núcleo fundamental dos diidroflavonois.....	36
Figura 7 - Teste confirmatório para diidroflavonois no EEF (7A) e no EEC (7B).	37
Figura 8 - Fórmula estrutural do colesterol.....	38
Figura 9 - Teste positivo para esteroides no EEF (9A) e EEC (9B).	38
Figura 10 - Proposta para a reação Lieberman-Burchard.	39
Figura 11 - Estrutura do saponina estereoidal diosgenina.	39
Figura 12 - Espuma característica da presença de saponinas no EEF (12A) e EEC (12B).	40
Figura 13 - Fórmula estrutural da cafeína.	41
Figura 14 - Teste positivo para a presença de alcaloides no EEF (14A) e EEC (14B).	42
Figura 15 - Núcleo fundamental de alcaloides pirrolizidínicos.....	42

LISTA DE GRÁFICOS, QUADROS E TABELAS

Tabela 1 - Classificação taxonômica de <i>Brunfelsia uniflora</i>	19
Tabela 2 - Rendimento de EEF e EEC de <i>Brunfelsia uniflora</i>	32
Tabela 3 - Teor de flavonoides totais (FLAT) do EEF e EEC de <i>Brunfelsia uniflora</i> . ..	44
Gráfico 1 - Toxicidade do EEF de <i>Brunfelsia uniflora</i>	46
Gráfico 2 - Toxicidade do EEC de <i>Brunfelsia uniflora</i> . ..	46
Quadro 1 - Perfil fitoquímico de EEF e EEC da espécie <i>Brunfelsia uniflora</i>	33

LISTAS DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DMSO	Dimetil sulfóxido
EEC	Extrato Etanólico do Caule
EEF	Extrato Etanólico das Folhas
EtOH	Etanol
FDA	<i>Food And Drug Administration</i>
FLAT	Flavonoides Totais
pH	Potencial Hidrogeniônico
QPN	Química de Produtos naturais
UFDPAr	Universidade Federal do Delta do Parnaíba

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
AlCl_3	Cloreto de Alumínio
$^{\circ}\text{C}$	Graus Celsius
cm	Centímetro
ER/g	Equivalente de Rutina por gramas
FeCl_3	Cloreto de Ferro
g	Gramas
$\mu\text{g.mL}$	Microgramas por mililitros
HCl	Ácido clorídrico
H_2O	Água
MeOH	Metanol
mg	Miligramas
mL	Mililitros
μL	Microlitros
mg.L^{-1}	Miligramas por litro
$\mu\text{L.mL}^{-1}$	Microlitros por mililitros
mol.L^{-1}	Mol por litro
NaOH	Hidróxido de Sódio
Na_2SO_4	Sulfato de Sódio
nm	Nanômetro

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
2.1 PRODUTOS NATURAIS: HISTÓRICO	16
2.2 ASPECTOS TAXONÔMICOS DA ESPÉCIE	18
2.2.1 Família <i>Solanaceae</i>	18
2.2.2 Gênero <i>Brunfelsia</i>	18
2.2.3 Espécie <i>Brunfelsia uniflora</i>	19
2.3 METABOLISMO VEGETAL	20
2.3.1 Metabólitos secundários	21
3 OBJETIVOS	23
3.1 GERAL:	23
3.2 ESPECÍFICOS:	23
4 METODOLOGIA	24
4.1 TIPO DE PESQUISA	24
4.2 COLETA DA ESPÉCIE	24
4.3 PROCEDIMENTO DA PESQUISA	24
4.3.1 Preparação dos extratos	24
4.3.2 Testes fitoquímicos para metabólitos secundários	25
4.3.2.1 Preparo das soluções das amostras	25
4.3.2.2 Testes para fenóis e taninos	25
4.3.2.3 Testes para antocianinas, antocianidinas e flavonoides	25
4.3.2.4 Testes para leucoantocianidinas, catequinas e flavonas	26
4.3.2.5 Testes para flavonóis, flavanonas, flavononóis e xantonas	26
4.3.2.6 Testes confirmatório para leucoantocianidinas	26
4.3.2.7 Teste confirmatório para diidroflavonóis – Ensaio de Pacheco	26
4.3.2.8 Teste para esteroides e triterpenos – (Lieberman-Buchard)	26
4.3.2.9 Teste para heterosídeos saponínicos	27
4.3.2.10 Teste para alcaloides	27
4.3.3 Teor de flavonoides totais (FLAT)	28
4.3.3.1 Preparo das soluções	28
4.3.4 Atividade Farmacológica	29
4.3.4.1 Toxicidade frente à <i>Artemia salina</i>	29

4.4 TRATAMENTOS DOS DADOS.....	29
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
5.1 COLETA DA ESPÉCIE.....	31
5.2 RENDIMENTO DOS EXTRATOS	32
5.3 TESTES FITOQUÍMICOS PARA METABÓLITOS SECUNDÁRIOS.....	33
5.3.1 Leucoantocianidinas.....	34
5.3.2 Diidroflavonois	36
5.3.3 Esteroides livres.....	37
5.3.4 Heterosídeos saponínicos.....	39
5.3.5 Alcaloides	41
5.4 TEOR DE FLAVONOIDES TOTAIS (FLAT).....	43
5.5 TOXICIDADE FRENTE À <i>Artemia salina</i>	45
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	48
7 PERSPECTIVAS FUTURAS.....	49
REFERÊNCIAS.....	50

1 INTRODUÇÃO

O uso de plantas medicinais no tratamento e cura de algumas enfermidades é tão antigo quanto a espécie humana. Este conhecimento sobre as plantas, muitas vezes, é o único recurso terapêutico utilizado por algumas comunidades. Até hoje, em várias regiões do Brasil, as plantas medicinais são comercializadas em feiras livres e mercados populares (MACIEL, PINTO e JUNIOR, 2002).

A natureza, de forma geral, é responsável pela produção da maioria das substâncias orgânicas conhecidas atualmente, onde o reino vegetal tem contribuído de maneira mais significativa, para que hoje se tenha essa grande variedade de substâncias (MONTANARI e BOLZANI, 2001). As plantas são uma fonte de produtos naturais biologicamente ativos que são utilizados na síntese de uma infinidade de novos fármacos (SIMÕES, 2007).

O Brasil é um país com dimensões continentais, onde há grande diversidade na sua fauna e flora, sendo detentor da maior floresta equatorial e tropical úmida do planeta. Neste contexto, o Brasil é um país com grande potencial no desenvolvimento de novos fármacos, a partir dos produtos naturais (PINTO, et al., 2002). A Química de Produtos Naturais (QPN) é uma ciência bem consolidada no Brasil. Os produtos naturais fornecem as fontes primárias para o desenvolvimento de novas drogas. Da década de 40 até o final de 2014, quase metade dos medicamentos aprovados pela FDA (*Food and Drug Administration*) foram derivados ou inspirados em produtos naturais (IÓCA; NICACIO, BERLINCK, 2018, ZHANG; LIN, YE, 2018).

A maioria das pesquisas, associadas aos produtos naturais, estão relacionadas à investigação de metabólitos secundários provenientes de plantas. Dentre os principais metabólitos secundários, destacam-se os flavonoides, alcaloides e terpenos, com potencial farmacológico, auxiliando o tratamento de doenças como o câncer, doenças negligenciadas e com aplicações industriais (RIBEIRO et al., 2018).

A espécie *Brunfelsia uniflora* é uma planta pertencente à família Solanaceae, conhecida popularmente como manacá. Esta planta pode ser encontrada no sul e sudeste brasileiro e em países limítrofes como Bolívia, Peru, Venezuela e Equador. Este gênero é rico em alcaloides, e por esse motivo muitas espécies do gênero podem apresentar atividades farmacológicas (MARTINS, et al., 2009).

Desta forma, o objetivo principal deste trabalho é realizar a análise fitoquímica de *B. uniflora* assim como avaliar o teor de flavonoides totais e a toxicidade frente à

Artemia salina. Este trabalho contribuirá para o conhecimento químico farmacológico da espécie.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 PRODUTOS NATURAIS: HISTÓRICO

O uso de plantas medicinais ocorre desde as primeiras civilizações, o que demonstra o quanto o homem é sábio ao utilizar os produtos naturais em benefício próprio. Durante muito tempo, o uso de plantas medicinais era comum apenas em pequenas comunidades, foi somente no final do século XX, que essa prática se tornou mundialmente difundida (ESTEVAM et al., 2016).

A busca por alívio e cura de algumas doenças através de plantas, talvez tenha sido uma das primeiras formas de utilização de produtos naturais. Este fato pode ser comprovado através do estudo da história de antigas civilizações, tanto oriental como ocidental. A medicina tradicional chinesa, por exemplo, desenvolveu-se de tal maneira que até hoje muitas espécies vegetais medicinais são estudadas na busca pelo entendimento do seu mecanismo de ação (VIEGAS Jr e BOLZANI, 2006). São considerados medicamentos fitoterápicos aqueles obtidos com emprego exclusivo de matérias-primas ativas vegetais (SOARES, FREIRE e SOUZA, 2015).

A Química de Produtos Naturais (QPN) é a subárea mais antiga da química orgânica, tendo algumas de suas características observadas já desde os tempos da alquimia. Porém, só a partir da década de 1960, que essa subárea teve seu reconhecimento merecido (PINTO et al., 2002).

O Brasil se encontra em uma posição privilegiada, quando se fala na ciência de produtos naturais, e isso se deve ao fato de ser um país com uma ampla biodiversidade (BERLINCK et al., 2017). A QPN ao longo da história tem sido impulsionada para a descoberta de compostos úteis para o homem, como novos fármacos, agroquímicos, corantes e fragrâncias (OLIVEIRA, PUPO e VIEIRA, 2013).

No Brasil, algumas instituições tiveram relevante papel para o desenvolvimento da QPN, como é o caso da Faculdade de Medicina do Rio de Janeiro, onde é possível destacar o pesquisador Domingos José Freire Júnior (1842-1899), com trabalhos importantes para a fitoquímica. Domingos freire, descreveu, por exemplo, a grandiflorina, um alcaloide que hoje é conhecido como solasonina, este composto foi isolado da fruta do lobo (*Solanum grandiflora*) (PINTO et al., 2002). Além de Domingos Freire, outro grande pesquisador, com notável relevância para QPN é Otto Gottlieb, com várias contribuições para a fitoquímica. Em 1999, Otto Gottlieb foi

indicado ao Prêmio Nobel de Química, por seu trabalho pioneiro no estudo da composição das plantas, realizados nos últimos 40 anos (SANTIAGO, 2011).

Segundo Filho (2010), o desenvolvimento sustentável de um país está pautado em pilares como educação, ciência e tecnologia, sustentada na conservação da natureza, da biodiversidade e na exploração racional dos recursos naturais. As atividades da fitoquímica podem contribuir substancialmente para esse desenvolvimento sustentável através da investigação da flora e seu quimismo, da divulgação e geração de novos conhecimentos. A fitoquímica se dedica principalmente à caracterização estrutural, avaliação de propriedades e investigações biossintéticas de substâncias naturais produzidas por organismos vivos. Neste contexto, é possível observar a importância da fitoquímica para o avanço da ciência e do bem-estar da sociedade.

As plantas, sem dúvidas, abrangem a maior parte das pesquisas relacionadas aos produtos naturais, porém, hoje em dia outras fontes estão sendo utilizadas. Nas últimas décadas, os microorganismos estão recebendo uma atenção especial por parte da indústria e de pesquisadores em produtos naturais. Com vários avanços nos últimos anos no campo da biotecnologia, somados a técnicas modernas de fracionamento químico, tem revelado um grande potencial de microorganismos, como bactéria, fungos e leveduras (VIEGAS JR e BOLZANI, 2006).

Os oceanos cobrem cerca de 70% da superfície terrestre, onde vivem mais de 200.000 espécies de plantas e invertebrados marinhos, além de milhões de microorganismos. A evolução e sobrevivência das espécies marinhas resultaram em organismos que produzem substâncias únicas com funções ecológicas diversas (PINTO et al., 2002). No Brasil, estudos relacionados com organismos marinhos para a obtenção de substâncias para novos fármacos ainda permanecem pouco explorados por diversos motivos, tais como: as coletas biológicas marinhas são muito caras e o acesso aos biomas marinhos ainda é restrito, o que dificulta encontrar especialistas dispostos a enfrentar o desafio do isolamento de substâncias polares (BERLINCK et al., 2017).

2.2 ASPECTOS TAXONÔMICOS DA ESPÉCIE

2.2.1 Família Solanaceae

A família Solanaceae é da ordem Solanales, esta família inclui muitas plantas comestíveis e outras tóxicas. O nome dessa família vem do latim *solanum*, que significa “sombra noturna”. Algumas espécies desta família são bem conhecidas no dia-a-dia, como por exemplo, a batata, o tomate, a berinjela, a páprica e a pimenta. É importante ressaltar, que algumas espécies desta família possuem alcaloides glicosilados que podem ser fatais para seres humanos e outros animais (MELLO, 2006).

A família Solanaceae é uma das maiores famílias de Angiospermas, com cerca de 3.000 espécies distribuídas em 106 gêneros, podendo ser encontrados em todo o mundo, porém a América do Sul é um dos principais centros de sua diversidade (MORAES et al., 2009). No Brasil, existem 31 gêneros e cerca de 500 espécies nativas. Destes, 23 gêneros e 180 espécies nativas fazem parte da flora da região sul do Brasil (SOARES et al., 2008).

Segundo Marques, Miguel e Jascone (2012), a família Solanaceae é caracterizada por árvores de pequeno porte, arbustos, ervas ou trepadeiras. As folhas são simples, alternas ou opostas. Com relação às flores, podem ser pequenas ou grandes e são bastante vistosas, geralmente perfeitas e unissexuais. O fruto é uma baga, cápsula ou drupa. A família é conhecida por espécies que são comprovadamente de importância nutricional e condimentar.

2.2.2 Gênero *Brunfelsia*

Pertencente à família Solanaceae, o gênero *Brunfelsia* compreende algumas espécies conhecidas popularmente como manacá-de-cheiro, manacá-açu e manacá-da-serra. Algumas espécies, pela sua exuberância, também constam em catálogos como plantas ornamentais. Além da beleza, a algumas plantas deste gênero, são atribuídos poderes mágicos por curandeiros da região da Amazônia, onde eles

utilizam as plantas em rituais sagrados. Muitas plantas deste gênero possuem atividades farmacológicas, atribuídas a presença de flavonoides, alcaloides ou outros constituintes ativos (SCHNEIDER et al., 2015).

O gênero *Brunfelsia* compreende cerca de 50 espécies, é tradicionalmente utilizado na medicina popular dos povos americanos, devido seus efeitos medicinais. As plantas deste gênero são usadas como anti-inflamatório, antibacteriano e antifúngico (THIESEN et al., 2017). Este gênero ocorre em países da América do Sul, América Central e Índia Ocidental (CARVALHO et al., 2018).

2.2.3 Espécie *Brunfelsia uniflora*

A espécie *Brunfelsia uniflora* é uma planta que pertence à família Solanaceae, arbustiva, encontrada em várias regiões do Brasil, Bolívia, Peru, Equador, Venezuela e Colômbia (JORGE et al., 2017). No Brasil, é facilmente encontrada em regiões cujo o bioma é de mata atlântica (THIESEN et al., 2017). Além do bioma da mata atlântica, essa espécie também pode ser encontrada no bioma da caatinga, no nordeste brasileiro (CASTRO e CAVALCANTE, 2010). Na Tabela 1, podemos observar a classificação taxonômica da espécie.

Tabela 1 - Classificação taxonômica de *Brunfelsia uniflora*

Classificação taxonômica	
Reino	Plantae
Divisão	Magnoliophyta
Classe	Magnoliophida
Ordem	Solanales
Família	Solanaceae
Gênero	<i>Brunfelsia</i>
Espécie	<i>Brunfelsia uniflora</i>

Fonte: Adaptado de Queiroz G. S., (2010).

Brunfelsia uniflora, também conhecida como manacá, é utilizada na medicina popular no combate de algumas enfermidades, suas folhas por exemplo, são empregadas no tratamento contra artrite, reumatismo, sífilis e febre amarela. Esta planta possui folhas simples (Figura 1), onde seu tamanho varia de 4 a 7 cm de

comprimento, e suas flores são perfumadas, de cor inicialmente brancas, e violeta após a fecundação (MARTINS et al., 2009).

Segundo Carvalho (2018), em um estudo realizado recentemente, na mesorregião do norte do Piauí, *Brunfelsia uniflora* é classificada como uma planta tóxica. A toxicidade desta planta pode afetar o sistema nervoso central do animal que, por ventura, realize a ingestão de suas folhas. Os sinais clínicos de envenenamento incluem diarreia, vômito, tremores e convulsões. Os principais animais que consomem essa planta são bovinos e asininos.

Figura 1 - Espécie *Brunfelsia uniflora*.



Fonte: Autoria Própria, (2021).

2.3 METABOLISMO VEGETAL

O homem primitivo, na busca de alimentos, ao longo do tempo foi descobrindo uma infinidade de plantas, algumas tóxicas e outras com poder de cura de algumas enfermidades. No entanto, com a grande diversidade de vegetais encontradas, tornou-se necessária uma sistematização, levando em conta as principais características que se assemelhavam umas com as outras (SIMÕES et al., 2007).

Segundo Pereira e Cardoso (2012), o metabolismo é definido como o conjunto total de transformações das moléculas orgânicas catalisadas por enzimas, suprimindo a necessidade do organismo de energia, garantindo assim, a continuidade do estado organizado das células vivas. Essas reações que ocorrem nos organismos, possuem certa direção, devido à presença específica de enzimas, estabelecendo o que é chamado de rotas metabólicas. Os metabólitos primários são responsáveis pela síntese da celulose, lignina, proteínas, lipídeos, açúcares, ou seja, moléculas grandes, e outras substâncias importantes para a realização de funções vitais.

2.3.1 Metabólitos secundários

Vegetais, microorganismos e animais apresentam um grande arsenal metabólico, como enzimas, coenzimas e organelas capazes de produzir, transformar e acumular inúmeras outras substâncias, que não necessariamente estejam relacionadas de forma direta, à manutenção da vida do organismo produtor. A produção de substâncias deste grupo, estão restritas a um número limitado de organismos, com bioquímica e metabolismos bem específicos e únicos. A este conjunto metabólico, costuma-se definir como metabolismo secundário, onde mesmo que seu produto não seja essencial para o organismo produtor, garantem uma série de vantagens para a sobrevivência e perpetuação da sua espécie (SANTOS, 2007).

De acordo com Pereira e Cardoso (2012), os metabólitos secundários, geralmente apresentam estruturas complexas, de baixo peso molecular e possuem atividades biológicas marcantes. No passado, já foram considerados como produto de excreção de vegetais. Porém, sabe-se que muitas dessas substâncias estão diretamente ligadas aos mecanismos que permitem a adequação do seu produtor ao meio em que está inserido. Nesta perspectiva, estas substâncias despertam grande interesse, não só pelas atividades biológicas apresentadas pelas plantas em respostas a estímulos do meio ambiente, mas também pelas atividades farmacológicas que possuem.

Teoricamente, todas as plantas são capazes de produzir metabólitos secundários, porém, essa é uma característica mais comum em plantas selvagens, isso se deve ao fato, dessas plantas criarem mecanismos de adaptação para competir com outras e com microorganismos também. Embora os metabólitos secundários apresentem uma variedade de funções nas plantas, é possível que sua importância

ecológica tenha relação com o potencial efeito medicinal para os seres humanos. Os metabólitos secundários podem ser divididos em três grupos quimicamente diferentes: terpenos, compostos fenólicos e compostos contendo nitrogênio (VIZZOTTO, KROLOW e WEBER, 2010).

De acordo com Viegas Jr (2003) os terpenos abrangem uma grande variedade de compostos de origem vegetal, possuindo grande relevância ecológica, pois atuam como defensivos naturais de plantas. Dentre os terpenos, alguns monoterpenos, foram isolados e avaliados quanto a sua toxicidade frente a vários insetos.

Os flavonoides representam um dos grupos mais importantes e diversificados entre os produtos de origem vegetal. A distribuição desses compostos nos vegetais depende de alguns fatores, como por exemplo a ordem e a família, assim como a variedade das espécies. Geralmente, os flavonoides encontrados nas folhas podem ser diferentes dos encontrados em flores, raízes e galhos (MACHADO, et al., 2008)

Os alcaloides são compostos orgânicos cíclicos que possuem pelo menos um átomo de nitrogênio em sua estrutura. A maioria dos alcaloides apresentam caráter alcalino, isso se deve ao fato do átomo de nitrogênio possuir um par de elétrons não compartilhados. Esta classe de metabólitos secundários é sintetizada no retículo endoplasmático das células vegetais, concentrando-se, em seguida nos vacúolos, e por este motivo, não aparecem em células jovens. Alguns alcaloides são famosos por afetarem o sistema nervoso, atuando como venenos ou alucinógenos (VIZZOTTO, KROLOW e WEBER, 2010).

3 OBJETIVOS

3.1 GERAL:

Analisar a composição fitoquímica, o teor de flavonoides totais (FLAT) e a toxicidade do extrato etanólico das folhas (EEF) e do caule (EEC) da espécie *Brunfelsia uniflora*.

3.2 ESPECÍFICOS:

- ✓ Coletar o material vegetal, folhas e caules, da espécie *B. uniflora*, no município de Chaval – CE;
- ✓ Obter os extratos (EEF e EEC);
- ✓ Calcular o rendimento dos extratos;
- ✓ Avaliar qualitativamente os metabólitos secundários presentes no EEF e EEC;
- ✓ Avaliar o teor de flavonoides totais (FLAT) e a toxicidade (DL₅₀) do EEF e EEC.

4 METODOLOGIA

4.1 TIPO DE PESQUISA

O tipo de pesquisa realizada no trabalho é classificado como explicativa, onde, de acordo com Gil (2002), pesquisas desse tipo tem como preocupação central identificar os fatores que influenciam ou que contribuem para a ocorrência dos fenômenos. Ou seja, esse é o tipo de pesquisa que mais aprofunda o conhecimento da realidade, pois explica o porquê das coisas.

4.2 COLETA DA ESPÉCIE

A espécie *Brunfelsia uniflora* foi coletada no estado do Ceará, mais precisamente no município de Chaval – (3°06'31"S, 41°12'39"W). A amostra coletada foi levada ao laboratório de Química do IFPI, onde foi realizada a exsicata da amostra vegetal para a determinação correta do gênero e espécie da planta e posterior identificação e registro no herbário da Universidade Federal do Delta do Parnaíba (UFDPAr) – Campus Ministro Reis Velloso.

4.3 PROCEDIMENTO DA PESQUISA

4.3.1 Preparação dos extratos

Após a coleta, as folhas e caule de *B. uniflora* foram separados, secos em estufa a 40°C, triturados e submetidos à extração com etanol à temperatura ambiente, assistida por ultrassom, de forma a obter o extrato etanólico das folhas (EEF) e o extrato etanólico do caule (EEC). Após a extração, o solvente orgânico foi removido com auxílio do evaporador rotativo modelo 801 da FISATOM, no Laboratório de Produtos Naturais do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí – Campus Parnaíba.

O rendimento do extrato etanólico das folhas e do caule foram obtidos conforme a equação 1.

$$\text{Rendimento (\%)} = (\text{massa do extrato/massa do material vegetal}) \times 100\% \quad \text{Eq.1}$$

4.3.2 Testes fitoquímicos para metabólitos secundários

Os seguintes testes fitoquímicos foram realizados segundo a metodologia de Matos (2009).

4.3.2.1 Preparo das soluções das amostras

Os extratos etanólicos – EEF e EEC (500 mg) foram dissolvidos em 50 mL da mistura EtOH/H₂O (8:2). Cada teste foi realizado para cada extrato individualmente, conforme descrito a seguir.

4.3.2.2 Testes para fenóis e taninos

Em um tubo de ensaio, contendo a solução hidroalcoólica do extrato, foram adicionadas três gotas de solução alcoólica de FeCl₃. Uma variação de cor entre o azul e vermelho é indicativo da presença de fenóis, quando o teste branco for negativo. A formação de um precipitado escuro de tonalidade azul indica a presença de taninos pirogálicos (taninos hidrolisáveis) e verde, a presença de taninos flobatênicos (taninos condensados ou catéquicos).

4.3.2.3 Testes para antocianinas, antocianidinas e flavonoides

O teste foi realizado em três tubos de ensaio contendo a solução hidroalcoólica do extrato, com controle do pH da solução. Em um tubo de ensaio, a solução foi acidificada com HCl (1 mol.L⁻¹) a pH 3, no outro, alcalinizada com NaOH (10%) a pH 8,5 e no terceiro, a solução foi alcalinizada com NaOH (10%) a pH 11. Uma coloração vermelha em meio ácido, indica a presença de antocianinas e antocianidinas ou de chalconas e auronas. Uma coloração lilás em meio alcalino a pH 8,5, indica a presença de antocianinas e antocianidinas. Uma coloração azul-púrpura em meio alcalino a pH 11, indica a presença de antocianinas e antocianidinas. Neste meio, uma coloração amarela, indica a presença de flavonas, flavonois e xantonas. A pH 11, uma coloração vermelho-púrpura, indica a presença de chalconas e auronas, enquanto a coloração vermelho-laranja, indica a presença de flavonois.

4.3.2.4 Testes para leucoantocianidinas, catequinas e flavonas

Em dois tubos de ensaio contendo a solução hidroalcoólica do extrato, foi acidificado o primeiro, HCl (1 mol.L^{-1}) até pH 1-3, e o segundo foi alcalinizado com NaOH até pH 11. Os tubos foram aquecidos em banho-maria durante 2-3 minutos. O aparecimento ou intensificação da cor indica a presença de constituintes especificados: Em meio ácido, a cor vermelha indica a presença de leucoantocianidinas, a cor pardo-amarelada indica a presença de catequinas (taninos catéquicos); em meio alcalino, a cor vermelho-laranja indica a presença de flavononas.

4.3.2.5 Testes para flavonóis, flavanonas, flavononóis e xantonas

Em um tubo de ensaio contendo a solução hidroalcoólica do extrato, foi adicionada uma fita de magnésio e 0,5 mL de HCl concentrado. Após o término da reação, indicado pelo fim da efervescência, foi observada a coloração resultante. O aparecimento ou intensificação da coloração vermelha é indicativo da presença de flavonóis, flavanonas, flavanonois e/ou xantonas, livres ou seus heterosídeos.

4.3.2.6 Testes confirmatório para leucoantocianidinas

A solução hidroalcoólica do extrato (3 mL) foi colocada em banho-maria até a completa evaporação do solvente, em seguida, foram adicionados 5 mL de álcool etílico e 3 gotas de HCl concentrado, o material foi transferido para um tubo de ensaio e aquecido em banho-maria até a ebulição.

4.3.2.7 Teste confirmatório para diidroflavonóis – Ensaio de Pacheco

A solução hidroalcoólica (5 mL) dos extratos foi seca em banho-maria. Alguns cristais de acetato de sódio foram adicionados ao resíduo seco, 0,5 mL de anidrido acético e 0,5 mL de HCl concentrado. O possível desenvolvimento de coloração foi observado, após a adição dos reagentes.

4.3.2.8 Teste para esteroides e triterpenos – (Lieberman-Buchard)

Foi adicionado 10 mL do extrato hidroalcoólico do extrato em um béquer, em seguida, o mesmo foi seco em banho-maria a 60°C, o resíduo seco foi extraído com 2 mL de clorofórmio. A solução clorofórmica foi filtrada, em seguida adicionados alguns cristais de Na_2SO_4 anidro e 1 mL de anidrido acético, e agitado cuidadosamente. Após agitação, foram adicionadas três gotas de HCl concentrado, em seguida, foi agitado suavemente e observado o desenvolvimento de cores. A coloração azul seguida de verde permanente é indicativa da presença de esteróides livres. A coloração parda até vermelha é indicativa de triterpenóides pentacíclicos livres.

4.3.2.9 Teste para heterosídeos saponínicos

O resíduo insolúvel em clorofórmio (item anterior) foi redissolvido com 10 mL de água destilada. A solução filtrada foi colocada em um tubo de ensaio, após agitação vigorosa, durante 3 minutos. A espuma persistente e abundante indica a presença de saponinas (heterosídeos saponínicos).

4.3.2.10 Teste para alcaloides

A solução hidroalcoólica (20 mL) foi seca em banho-maria a 70°C. O resíduo foi dissolvido em 1 mL de álcool etílico e acrescido de 20 mL de ácido clorídrico a 0,1 mol.L⁻¹, 1 mL dessa solução foi dissolvida com HCl e transferida para dois tubos de ensaio, após a adição de 2 gotas do reagente de Mayer (tetraiodeto mercúrio de potássio) e 2 gotas do reagente de Dragendorff (tetraiodeto bismuto de potássio).

4.3.3 Teor de flavonoides totais (FLAT)

4.3.3.1 Preparo das soluções

O teor de flavonóides totais (FLAT) do EEF e EEC de *B. uniflora* foi determinado por espectrofotometria de absorção molecular utilizando uma solução metanólica de AlCl_3 .

Foi preparada uma solução padrão de rutina a 1000 mg.L^{-1} , dissolvendo-se 0,1 g de rutina em 100 mL de MeOH/ H_2O (7:3). As diluições para a construção da curva de calibração foram preparadas nas concentrações de 2,5-20 (2,5; 5; 7,5; 10; 12,5; 15; 17,5; 20) mg.L^{-1} . Foi preparada ainda uma solução metanólica de AlCl_3 dissolvendo-se 1 g em 50 mL de MeOH.

4.3.3.1.2 Determinação de flavonoides totais

Inicialmente, a solução mãe foi preparada dissolvendo-se 10 mg do extrato etanólico em 10 mL de MeOH obtendo-se a concentração de $1000 \mu\text{L/mL}$. Uma alíquota de 500 μL desta solução foi transferida para balões de 10 mL e acrescido 0,5 mL do reagente de cloreto de alumínio. Finalmente a solução teve seu volume acertado para 10 mL com metanol. Foi realizado o branco em paralelo. Após 30 minutos, a absorbância das amostras foi medida a 420 nm utilizando-se cubetas de vidro. O teor de flavonóides totais (FLAT) foi determinado usando uma curva analítica de rutina na faixa de 2,5-20 mg.L^{-1} , os valores foram expressos em miligramas de equivalente de rutina por grama de extrato (mg de ER/g de amostra), a partir da Equação 3. Todas as medidas de absorbância foram realizadas em triplicata ($n=3$).

$$A = 0,0027C - 0,0052$$

Eq. 3

Onde:

A = absorbância

C = concentração, com coeficiente de correlação linear $r = 0,9973$.

4.3.4 Atividade Farmacológica

4.3.4.1 Toxicidade frente à *Artemia salina*

O ensaio de toxicidade frente à *A. salina* foi realizado conforme McLaughlin et al. (1998) com modificações. Foram preparadas soluções estoque em metanol na concentração de 10000 µg/mL do EEF e EEC de *Brunfelsia uniflora*. A partir da solução estoque alíquotas foram transferidas para tubos de ensaio de 30 mL para obtenção de soluções nas concentrações finais de 500, 600, 700, 800, 900 e 1000 µg/mL.

Após completa evaporação do metanol à temperatura ambiente, foram adicionadas em cada tubo 0,1 mL de DMSO e 5 mL de água do mar para solubilização das amostras. Em seguida, com o auxílio de uma pipeta de Pasteur, foram transferidas 10 larvas de *A. salina* e o volume final (10 mL) foi completado com água do mar.

As larvas ficaram expostas às soluções das amostras por 24 horas. Os testes foram feitos em triplicata para cada concentração da amostra e controle negativo constituído por 0,1 mL de DMSO, 10 mL de água do mar e as larvas. Após 24 horas de exposição, foi feita a contagem das larvas vivas e mortas em placas de Petri, sendo consideradas vivas todas aquelas que apresentassem qualquer tipo de movimento quando observadas próximas a uma fonte luminosa. Só foram considerados válidos, os testes nos quais o controle não apresentou mortalidade. Os resultados foram analisados no *software* GraphPad Prism 9, para o cálculo da DL₅₀ (concentração do extrato que tem 50% de toxicidade).

4.4 TRATAMENTOS DOS DADOS

As análises fitoquímicas foram baseadas nas observações de mudanças de coloração, formação de precipitado, formação de espuma e absorção de fluorescência no UV, desta maneira, os resultados obtidos foram considerados dados qualitativos. Dessa forma, para aqueles considerados positivos, utilizou-se o símbolo positivo (+), podendo ocorrer sua variação para dois símbolos (++) ou três (+++), dependendo da intensidade do resultado obtido. Para os resultados negativos utilizou-se o símbolo negativo (-).

O teor de fenóis totais e a toxicidade foram realizados em triplicata e os dados obtidos, tratados quantitativamente, utilizando, os *softwares* Excel e GraphPad Prism 9, respectivamente.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Esta seção trata da apresentação dos dados, bem como da discussão dos resultados obtidos, na ordem apresentada na metodologia deste trabalho.

5.1 COLETA DA ESPÉCIE

A espécie *Brunfelsia uniflora* foi coletada no município de Chaval – CE (Figura 2), em seguida a planta foi levada ao laboratório de Produtos Naturais do IFPI – Campus Parnaíba, para a realização da exsicata.

Figura 2 - Local de coleta da planta, imagem obtida por satélite



Fonte: Google maps, (2021).

5.2 RENDIMENTO DOS EXTRATOS

As massas das folhas e dos caules e os respectivos rendimentos dos extratos etanólicos (EEF e EEC) de *B. uniflora*, podem ser verificados na Tabela 2.

Tabela 2 - Rendimento de EEF e EEC de *Brunfelsia uniflora*

EEF	EEC	
24,37 g	86,02 g	Massa do material vegetal
2,37 g	2,04 g	Massa do extrato
9,72%	2,37%	Rendimento

Fonte: Autoria própria, (2021).

No presente estudo, o solvente utilizado para as extrações de folhas e caules de *B. uniflora* foi o etanol. Dentre algumas de suas características, o solvente etanol é biodegradável e não apresenta toxicidade (TOMAZIN JUNIOR, 2008).

De acordo com Pinto (2005), apesar da ampla variedade de solventes conhecidos, chamados também de líquidos extratores, são poucos os solventes usados em extrações de compostos vegetais. Dessa forma, para a utilização em uma extração, o solvente tem que atender alguns requisitos básicos, tais como, propriedades extrativas, adequação tecnológica, inocuidade fisiológica e fatores econômicos.

Tanto o EEF quanto o EEC apresentaram baixos rendimentos: 9,72% e 2,37%, respectivamente. Os baixos rendimentos podem estar relacionados à técnica de extração, ao tipo de solvente utilizado e à natureza do material vegetal. Karabegovic et al., (2014) relata que o rendimento da extração depende do conteúdo da mistura e da natureza do material vegetal. Neste trabalho, observou-se que o rendimento do EEF foi maior (9,72%) que o do EEC (2,37%). Esta diferença pode ser atribuída a diferentes compostos que podem estar presentes em diferentes partes da planta. Além disso, Oliveira et al., (2016) relata que o solvente hidroalcolico a 70%, por exemplo, pode ser mais seletivo para a extração, uma vez que pode extrair uma quantidade maior de compostos mais polares como taninos hidrolisáveis, taninos condensados e flavonoides.

5.3 TESTES FITOQUÍMICOS PARA METABÓLITOS SECUNDÁRIOS

As análises fitoquímicas foram realizadas a partir dos extratos hidroalcóolicos das folhas e dos caules de *B. uniflora* (Manacá), seguindo a metodologia de Matos (2009), onde foram selecionados nove testes para a análise qualitativa de 17 classes de metabólitos secundários. Durante as análises fitoquímicas, observou-se que EEF e EEC apresentaram resultados negativos para fenóis, taninos, antocianinas, antocianidinas, chalconas, auronas, xantonas, flavonóis, flavanonas, flavanonois e catequinas. Por outro lado, ambos apresentaram leucoantocianidinas, diidroflavonois, esteroides, heterosídeos saponínicos e alcaloides.

QUADRO 1 - Perfil fitoquímico do EEF e EEC da espécie *Brunfelsia uniflora*.

Metabólito	Folhas	Caule
Fenois	-	-
Taninos	-	-
Antocianinas e antocianidinas ou de chalconas e auronas	-	-
Xantonas, flavonois, flavanonas e flavononois	-	-
Leucoantocianidinas	+	++
Catequinas	-	-
Diidroflavonois	+	+
Esteroides	+++	+++
Triterpenos	-	-
Heterosídeos saponínicos	++	+++
Alcaloides	+++	+++

Fonte: Autoria Própria, (2021).

(-) ausência do metabólito;

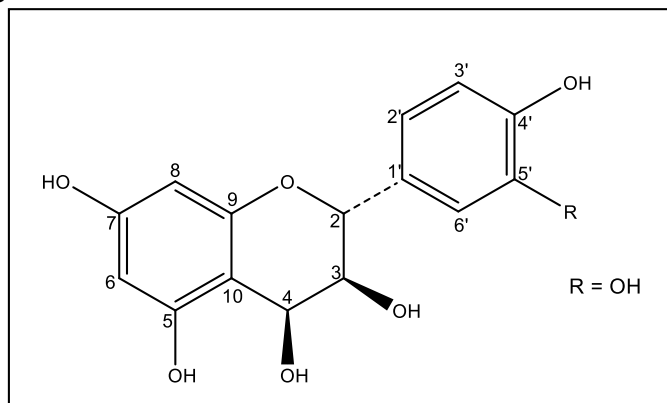
(+) presença moderada do metabólito;

(+++) presença abundante do metabólito.

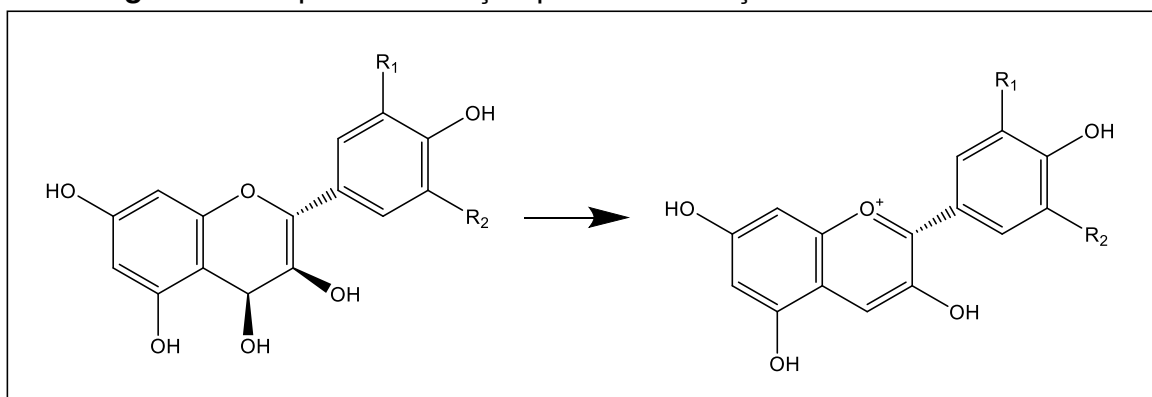
5.3.1 Leucoantocianidinas

As leucoantocianidinas são compostos pertencentes a família dos polifenóis naturais, que por sua vez, pertencem a classe dos bioflavonoides. Dentre as suas várias características, uma muito importante é a ação antioxidante hidrossolúvel que chega a ser mais forte que a vitamina E. Essa característica se deve ao fato das leucoantocianidinas estabilizarem quaisquer tipos de radicais livres (FRANKLIN, 2018). Souza (2019) relata que as leucoantocianidinas são intermediários para a formação de outros compostos como catequinas, proantocianidinas e antocianidinas. Estruturalmente, as leucoantocianidinas são flavonoides do tipo flavan-3,4-dióis, formados a partir da redução de diidroflavonois ou flavononas (Figura 3). Conforme descrito no procedimento da pesquisa (item 4.3.2.6, pág. 27), a reação química para a identificação de leucoantocianidinas (Figura 4) ocorreu em meio ácido, o que envolveu a desidratação do C4, levando à formação do cátion flavílico de coloração avermelhada (antocianidina) (MARÇO, POPPI e SCARMINIO, 2008).

Figura 3 - Núcleo fundamental de leucoantocianidinas



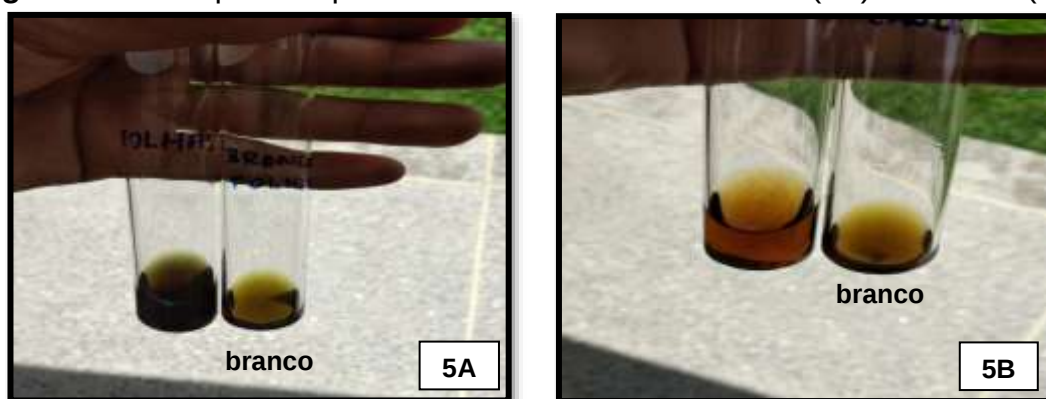
Fonte: Adaptado de Dewick, (2009).

Figura 4 - Proposta de reação para identificação de leucoantocianinas

Fonte: Adaptado de Souza, (2019).

Com relação a atividade antioxidante, Alves e Kubota (2013) relata que antioxidantes sintéticos amplamente utilizados como o butil hidroxianisol, butil hidroxitolueno e o galato de propila, tem sido questionado quanto a sua eficácia. Em contrapartida, alguns antioxidantes naturais como o tocoferol e os polifenóis tem apresentado grande relevância para a saúde humana, como por exemplo, na proteção da oxidação lipídica.

Como apresentado no quadro 1 (item 5.4, pág. 33), observaram-se resultados positivos para a presença de leucoantocianidinas tanto para o EEF, quanto para o EEC, porém, para o primeiro, observou-se uma coloração verde escuro, enquanto que para o segundo, observou-se uma coloração vermelha no final do ensaio. De acordo com a metodologia de Matos (2009), a presença de leucoantocianidinas é confirmada pela observação de uma mudança na coloração. As referidas mudanças na coloração, podem ser verificadas na Figura 5.

Figura 5 - Teste positivo para leucoantocianidinas no EEF (5A) e no EEC (5B)

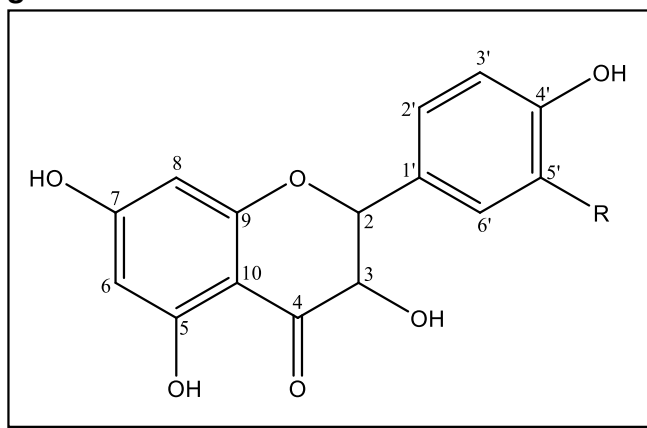
Fonte: Autoria própria, (2021).

Martins (2009) relata a presença de diferentes grupos de flavonoides nas folhas de várias espécies da família Solanaceae, tais como a *Browallia grandiflora*, *Chamaesaracha sórdida* e a *Nicotiana tabacum*.

5.3.2 Diidroflavonois

Os diidroflavonois são uma classe de compostos que, assim como as leucoantocianidinas, também pertencem ao grupo dos flavonoides. Os diidroflavonoides também são conhecidos como flavononois ou 3 – hidróxi-flavanonas. Como característica comum, possuem uma ligação simples entre os carbonos 2 e 3 em seu núcleo fundamental, dessa forma, possui uma estrutura diferente de outras classes de flavonoides (Figura 6). Uma característica muito importante dos diidroflavonois para as plantas, é a sua capacidade de protege-las contra doenças causadas por microrganismos (ZUANAZZI e MONTANHA, 2007). Na Figura 6 pode ser observado o núcleo fundamental dos diidroflavonois.

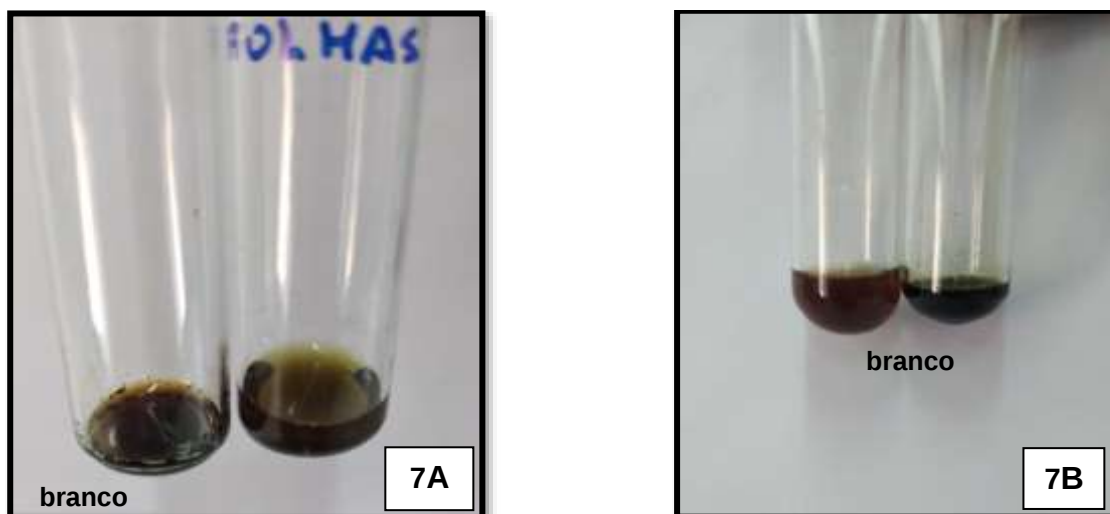
Figura 6 - Núcleo fundamental dos diidroflavonois



Fonte: Adaptado de Zuanazzi e Montanha, (2007).

No teste para diidroflavonois, após a adição de todos os reagentes descritos na metodologia de Matos (2009), os extratos (EEF e EEC) apresentaram uma coloração mais forte do que a coloração inicial, como pode ser vista na Figura 7.

Figura 7 - Teste confirmatório para diidroflavonois no EEF (7A) e no EEC (7B)

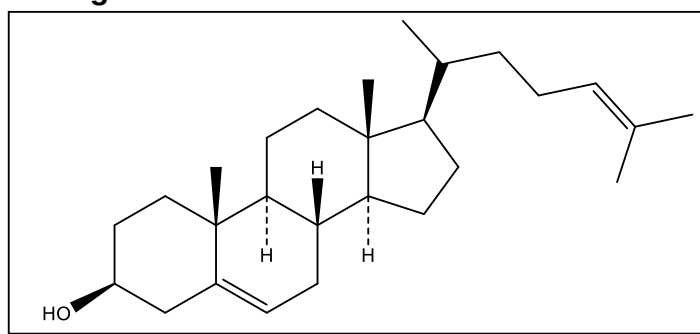


Fonte: Autoria própria, (2021).

5.3.3 Esteroides livres

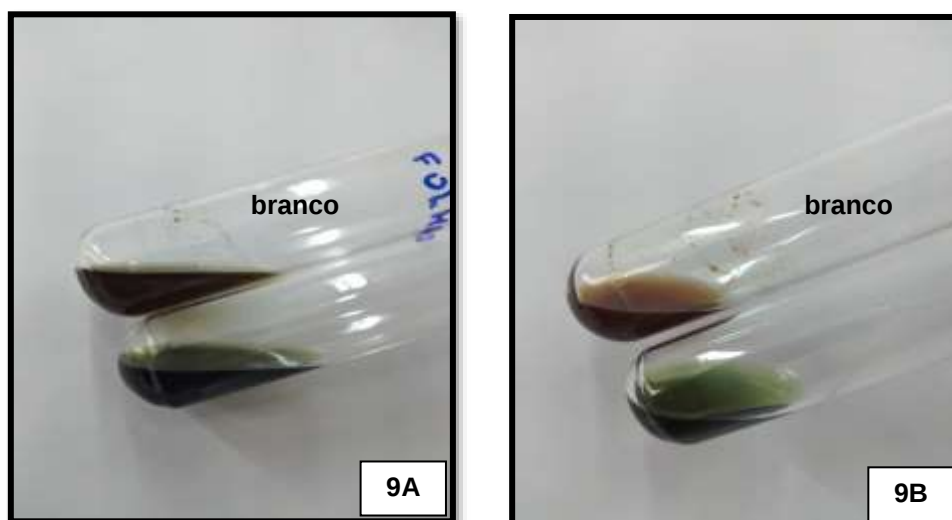
De acordo com Vizzotto, Krolow e Weber (2010), os terpenos são a classe estruturalmente mais variada de produtos naturais. Eles são formados através da justaposição sucessiva de isopentenilpirofosfato e este dá origem a todos os terpenos (monoterpenos, sequiterpenos, diterpenos, triterpenos, e os tetraterpenos).

Os esteroides são triterpenóides modificados, que contém um sistema de anel tetracíclico conhecido por lanosterol. Uma das principais estruturas de esteroides é a estrutura do colesterol (FIGURA 8). A partir de modificações nessa estrutura, principalmente nas cadeias laterais, pode se originar várias outras estruturas de esteroides (DEWICK, 2009). Segundo Bezerra e Filho (2015), os esteroides estão amplamente distribuídos na natureza, muitos deles são constantemente sintetizados em laboratório, para aplicações químicas e farmacêuticas.

Figura 8 - Fórmula estrutural do colesterol

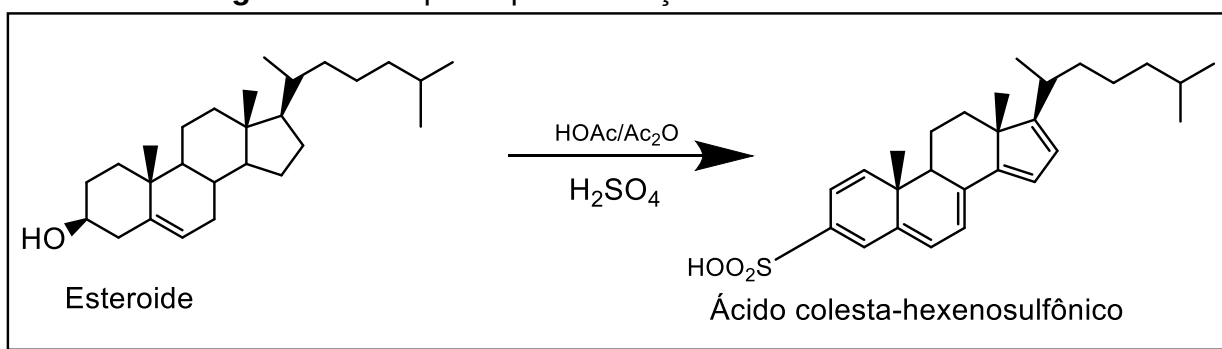
Fonte: Adaptado de Dewick, (2009).

Os extratos EEF e EEC apresentaram resultados positivos no teste de identificação de esteroides (Lieberman-Burchard) visto que se observou rapidamente a transição de cores do azul para o verde intenso e permanente, caracterizando a abundância desta classe de metabólitos secundários, como pode ser visto na Figura 9.

Figura 9 - Teste positivo para esteroides no EEF (9A) e EEC (9B)

Fonte: Autoria própria, (2021).

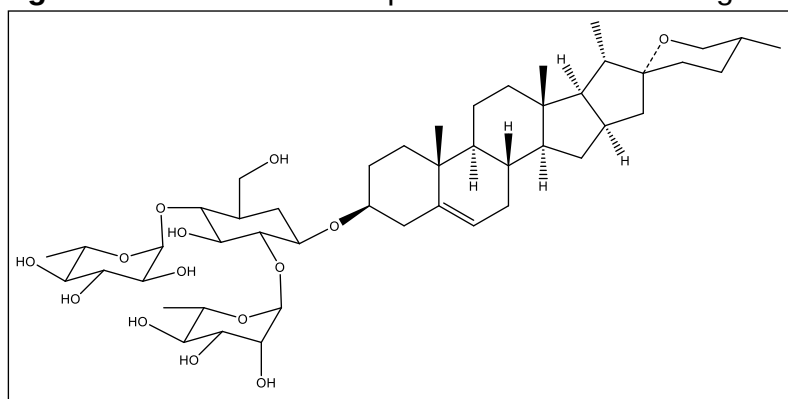
Souza (2019) detalha em seu trabalho, que a reação de Lieberman-Burchard é uma desidratação ou desidrogenação do núcleo esteroide (FIGURA 10). A desidratação, seguida da oxidação do sistema de anéis, resultam em derivados aromáticos, com ligações duplas conjugadas, o que confere à reação uma coloração azul-esverdeada.

Figura 10 - Proposta para a reação Lieberman-Burchard

Fonte: Adaptado de Souza, (2019).

5.3.4 Heterosídeos saponínicos

As saponinas são glicosídeos de esteroides ou de terpenos policíclicos. Uma característica marcante, com relação a estrutura das saponinas, é o fato delas apresentarem uma parte com característica lipofílica (triterpeno ou esteroide) e outra parte hidrofílica (açúcares), o que possibilita esses compostos apresentarem a propriedade de redução da tensão superficial da água e suas ações detergentes. As saponinas mais frequentemente encontradas na natureza possuem 30 átomos de carbonos e núcleo de triterpenoides, mas também podem possuir núcleo estereoidal C-27, como a diosgenina, amplamente distribuída na natureza (FIGURA 11), (DEWICK, 2009; SCHENKEL, GOSMANN e ATHAYDE, 2007).

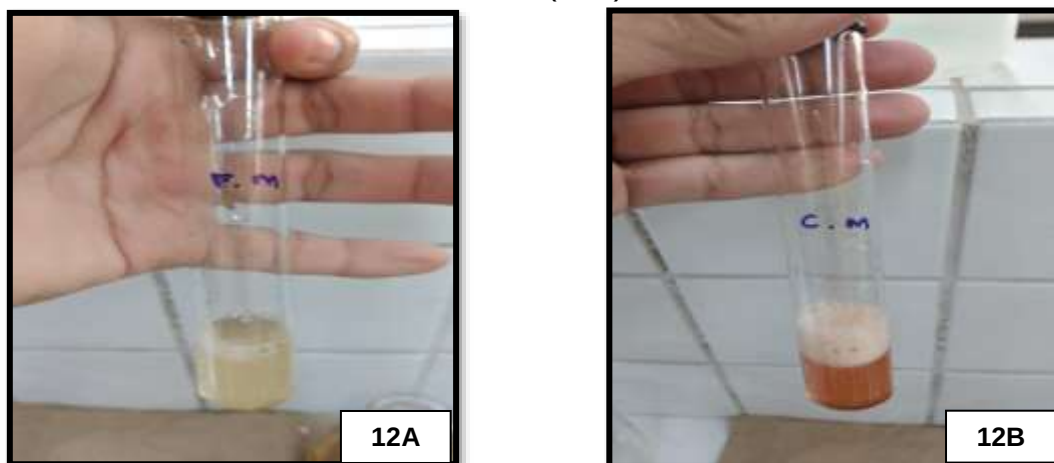
Figura 11 - Estrutura do saponina estereoidal diosgenina

Fonte: Adaptado de Dewick (2009).

Segundo Fernandes et. al., (2019), as saponinas são substâncias derivadas de metabólitos secundários das plantas que estão relacionados, principalmente, ao sistema de defesa. Por esse fato, são encontradas com maior facilidade, em tecidos com maior vulnerabilidade ao ataque de fungos e bactérias.

No presente teste, para a identificação de heterosídeos saponínicos, após a adição dos reagentes descritos na metodologia de Matos (2009), observou-se a formação de espumas no extrato etanolicos das folhas (EEF) e também no extrato etanolicos do caule (EEC), evidenciando a presença do metabólito. Verificou-se também que o EEC apresentou uma menor intensidade de espumas, quando comparado ao EEF, como pode ser visto na Figura 12, a seguir:

Figura 12 - Espuma característica da presença de saponinas no EEF (12A) e EEC (12B)



Fonte: Autoria própria, (2021).

Fernandes et. al., (2019) descreve em seu trabalho sobre a importância das saponinas provenientes de plantas. Dentre as famílias de plantas ricas em saponinas estereoidais destacam-se Agavaceae, Dioscoreaceae, Liliaceae, Solanaceae, Scrophulariaceae, Amaryllidaceae, Leguminosae e Rhamnaceae. As principais atividades farmacológicas das saponinas citadas na literatura, incluem a atividade hemolítica, moluscicida, antiinflamatória, antifúngica/antilevedura, antibacteriana e antimicrobiana.

Carvalho et. al., (2018), em seu trabalho sobre as propriedades tóxicas dos extratos das folhas de *Brunfelsia uniflora*, relatou que todos os camundongos que receberam a dose (5g Kg^{-1}) do extrato rico em saponinas, apresentaram neurotóxicos

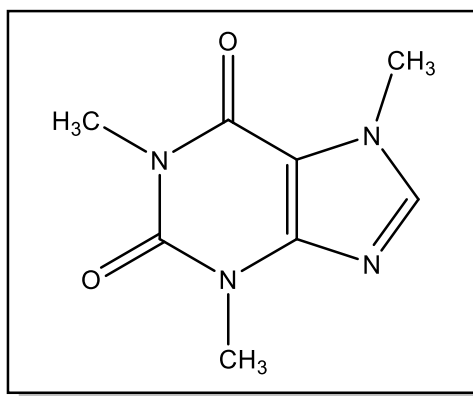
agudos como convulsões, piloereção, vocalização e morreram após 5 dias da administração do extrato, o que atribui a toxicidade das folhas às saponinas.

5.3.5 Alcaloides

Os alcaloides constituem-se num vasto grupo de metabólitos com uma grande diversidade estrutural. Esse grupo químico tem apresentado um grande impacto na economia e medicina. Devido ao elevado número de atividades biológicas atribuídas aos alcaloides, estes tem sido ao longo do tempo objeto de estudos. Com relação a sua distribuição nas plantas, os alcaloides podem ser encontrados em todas as partes de um vegetal (HENRIQUES et. al., 2007).

Segundo De Maria e Moreira (2007) a cafeína, identificado como 1,3,7-trimetilxantina (Figura 13), é um dos alcaloides, com atividades biológicas, mais consumidos no planeta. Este alcaloide apresenta ação farmacológica variada, provocando alterações no sistema nervoso central e sistema cardiovascular.

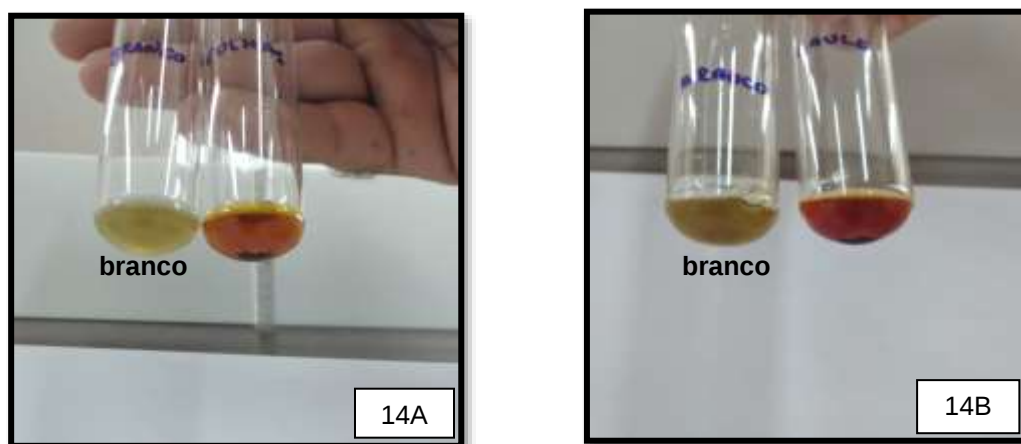
Figura 13 - Fórmula estrutural da cafeína



Fonte: Adaptado de De Maria e Moreira, (2007).

Para a identificação de alcaloides, utilizou-se o reagente de Dragendorff (tetraiodeto bismuto de potássio) que, de acordo com Matos (2009), ao entrar em contato com os extratos etanolicos formaria um precipitado. Após adição do reagente aos extratos, observou-se a formação de um precipitado em ambos (EEF e EEC), indicando a presença de alcaloides, como pode ser visto na Figura 14.

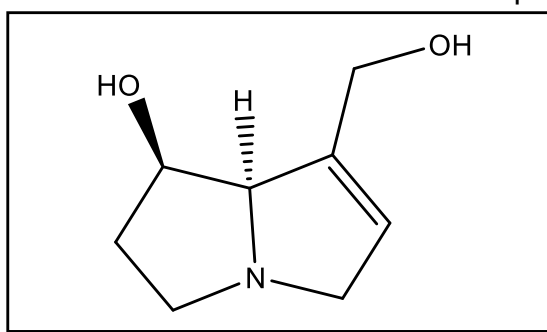
Figura 14 - Teste positivo para a presença de alcaloides no EEF (14A) e EEC (14B)



Fonte: Autoria própria, (2021).

Segundo Sandini, Berto e Spinosa (2013), os alcaloides pirrolizidínicos (Figura 15) possuem princípios ativos tóxicos. Por si só, esses alcaloides não são tóxicos, porém quando biotransformados no fígado a uma forma pirrólica altamente reativa, eles se tornam tóxicos. Alguns estudos relatam que a espécie *Brunfelsia uniflora* é uma planta tóxica, levando em consideração que o teste confirmatório para alcaloides foi positivo, pode-se sugerir que a atividade tóxica dessa planta esteja relacionada também a presença de tais constituintes.

Figura 15 - Núcleo fundamental de alcaloides pirrolizidínicos



Fonte: Adaptado de Dewick, (2009).

5.4 TEOR DE FLAVONOIDES TOTAIS (FLAT)

Os flavonoides constituem uma ampla classe de substâncias de origem natural, cuja síntese não ocorre na espécie humana. Porém, esses compostos apresentam uma série de propriedades farmacológicas que os fazem atuar em sistemas biológicos. Ou seja, muitas dessas propriedades são benéficas para a saúde dos seres humanos. Com relação a estrutura dos flavonoides, eles são constituídos de substâncias aromáticas com 15 átomos de carbono no seu esqueleto básico (LOPES, et. al., 2010).

Segundo Silva (2015) basicamente, todos os flavonoides podem sofrer variações químicas, como, hidroxilação, halogenação e sulfonação. Essa característica explica o fato da grande variedade de flavonoides conhecidos atualmente. Estudos apontam mais de quatro mil compostos diferentes. Suas principais classes são as antocianinas, flavanas, flavonas, flavononois e isoflavonoides.

Os resultados para a avaliação do Teor de Flavonoides Totais (FLAT) são mostrados na Tabela 2. Observou-se que o EEC apresentou maior teor de flavonoides totais ($44,42 \pm 1,22$ mg ER/g EtOH) quando comparado ao EEF ($25,32 \pm 1,17$ mg ER/g EtOH). O teor de flavonoides totais, nos extratos, pode ser corroborado pela análise fitoquímica realizada, onde verificou-se a presença de leucoantocianidinas e diidroflavonois. Além disso, observou-se que o EEC apresentou maior conteúdo de diidroflavonois, evidenciado pela intensidade da variação colorimétrica do teste realizado, o que corrobora o maior teor de flavonoides quando comparado ao EEF (verificar o Quadro 1, pág. 33).

Queiroz (2009) realizou o estudo fitoquímico e biológico com o extrato das folhas da espécie *Brunfelsia uniflora*. Em seu trabalho, realizou o ensaio para a avaliação do teor de flavonoides, no qual obteve o valor de FLAT igual a $28,19 \pm 0,21$, no extrato bruto das folhas, valor próximo ao encontrado no presente trabalho ($25,32 \pm 1,17$). Queiroz (2009) não relatou a avaliação do teor de flavonoides totais para o caule.

Tabela 3 - Teor de flavonoides totais (FLAT) do EEF e EEC de *Brunfelsia uniflora*

Extrato	FLAT
	mg de ER/g EtOH
EEF	25,32 ± 1,17
EEC	44,42 ± 1,22

Fonte: Autoria própria, (2021).

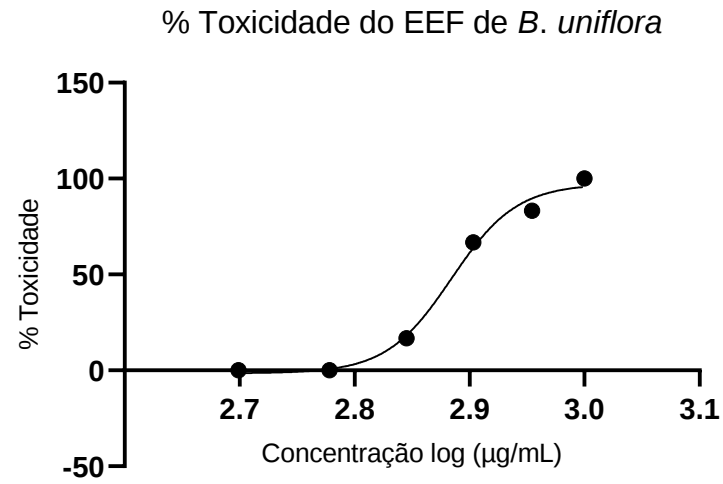
5.5 TOXICIDADE FRENTE À *Artemia salina*

A espécie *Brunfelsia uniflora* é considerada uma planta tóxica, visto que quando ingerida por alguns animais, como bovinos e asininos, estes apresentam alguns sinais de envenenamento. Considerando estas informações, no intuito de verificar a toxicidade desta planta, realizou-se o ensaio de toxicidade, utilizando larvas de *Artemia salina*. *A. salina* é um microcrustáceo de água salgada muito sensível a substâncias tóxicas. Este teste é uma maneira simples para a avaliação da toxicidade de extratos de plantas. Outra característica deste ensaio, é que ele pode também indicar a predisposição da atividade antitumoral ou pesticida de compostos (SCHNEIDER et al., 2015).

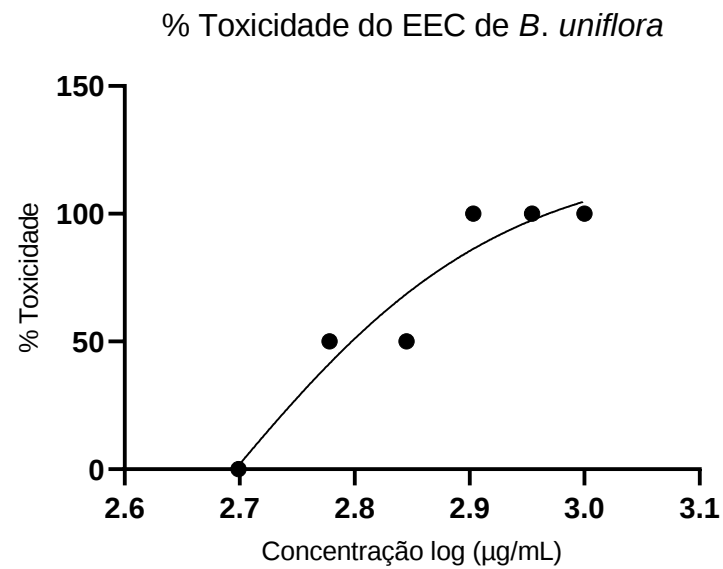
Com relação aos parâmetros de toxicidades dos extratos, Souza (2019) relata que o extrato é considerado não tóxico se a $DL_{50} > 1000 \mu\text{g/mL}$, fracamente tóxico se a $DL_{50} 500 - 1000 \mu\text{g/mL}$, tóxico se a $DL_{50} 100 - 500 \mu\text{g/mL}$ e muito tóxico se a $DL_{50} < 100 \mu\text{g/mL}$. Queiroz (2009) relata que são considerados ativos os extratos que apresentam valores de DL_{50} de até $1000 \mu\text{g/mL}$. Diante disso, pode-se relatar com mais propriedade se os extratos EEF e EEC, aqui apresentados, possuem toxicidade ou não, nas concentrações testadas.

Com base na análise matemática dos dados obtidos no ensaio de toxicidade, obtiveram-se as curvas dose-resposta (Gráfico 1 e Gráfico 2). A partir da curva, foi possível calcular a DL_{50} , concentração dos extratos capaz de matar 50% das *Artemias*. A DL_{50} pode ser utilizada para mensurar o potencial de envenenamento de um composto ou mistura de substâncias. Para o EEF de *B. uniflora*, obteve-se a DL_{50} igual a $766 \mu\text{g/mL}$, considerando o intervalo de confiança de 95%, o que atribui fraca toxicidade para o extrato. Queiroz (2009) também realizou o ensaio de toxicidade do extrato das folhas frente à *A. salina* e concluiu que o extrato não apresentou toxicidade, uma vez que valor da DL_{50} encontrada foi maior que $1000 \mu\text{g/mL}$.

O EEC apresentou DL_{50} igual a $476,7 \mu\text{g/mL}$, o que sugere toxicidade ao extrato. Este é o primeiro relato da toxicidade do extrato etanólico dos caules (EEC) em *B. uniflora*.

Gráfico 1 - Toxicidade do EEF de *Brunfelsia uniflora*

Fonte: Autoria própria, (2021).

Gráfico 2 - Toxicidade do EEC de *Brunfelsia uniflora*

Fonte: Autoria própria, (2021).

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O extrato etanólico das folhas (EEF) de *Brunfelsia uniflora* apresentou rendimento igual a 9,72% e o extrato etanólico do caule (EEC) apresentou rendimento igual a 2,37%.

A análise fitoquímica dos extratos EEF e EEC permitiu identificar a presença de leucoantocianidinas, diidroflavonois, esteroides livres, heterosídeos saponínicos e alcaloides.

Observou-se que o EEC apresentou maior teor de flavonoides totais ($44,42 \pm 1,22$ mg ER/g EtOH) quando comparado ao EEF ($25,32 \pm 1,17$ mg ER/g EtOH).

Com relação à toxicidade frente à *A. salina*, o EEF foi considerado fracamente tóxico ($DL_{50} = 766 \mu\text{g/mL}$) e o EEC ($DL_{50} = 476,7 \mu\text{g/mL}$), considerado tóxico.

A presença de saponinas e alcaloides, em concordância com dados da literatura, sugere que estes metabólitos podem ser os constituintes tóxicos majoritários causadores do envenenamento de animais.

A avaliação fitoquímica de *B. uniflora*, bem como a investigação da sua toxicidade contribuem para o conhecimento químico-farmacológico da espécie.

7 PERSPECTIVAS FUTURAS

Pretende-se futuramente, acrescentar ao estudo já realizado, o isolamento e determinação estrutural dos metabólitos secundários identificados qualitamente, assim como a realização das atividades antioxidante e antimicrobiana dos extratos (EEF e EEC) de *B. uniflora*.

REFERÊNCIAS

- ALVES, E.; KUBOTA, E. H. Conteúdo de fenólicos, flavonoides totais e atividade antioxidante de amostras de própolis comerciais. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 34, n. 1, 2013. Disponível em: <http://rcfba.fcfar.unesp.br/index.php/ojs/article/view/233>. Acesso em: 03 fev. 2021.
- BERLINCK, R. G. S. *et al.* A Química de Produtos Naturais do Brasil do Século XXI. **Química Nova**, v. 40, n. 6, p. 706-710, maio 2017.
- BEZERRA, K. S.; FILHO, N. R. A. Análise comparativa do conteúdo em esteroides livres de diferentes óleos, gorduras e biodiesel por cromatografia gasosa. **Química Nova**, v. 38, n. 4, p. 498-505, 2015.
- CARVALHO, C. J. S. *et al.* Different leaf extracts from *Brunfelsia uniflora* in mice. **Ciência Rural**, v. 48, n. 1, 2018. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0103-84782018000100552&script=sci_arttext. Acesso em: 30 mai. 2020.
- CASTRO, A. S.; CAVALCANTE, A. **Flores da caatinga**. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação, Instituto Nacional do Semiárido, 2010.
- DE MARIA, C. A. B.; MOREIRA, R. F. A. Cafeína: revisão sobre métodos de análise. **Química Nova**, v. 30, n. 1, p. 99-105, 2007.
- DEWICK, P. M. **Medicinal Natural Products: a biosynthetic approach**. 3rd ed. New York: John Wiley & Sons, 2009.
- ESTEVAM, E. B. B. *et al.* Avaliação das atividades antibacteriana, tripanocida e citotóxica do extrato hidroalcolico das raízes de *Tradescantia sillamontana* Matuda (Veludo Branco) (Commelinaceae). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 18, n. 2, p. 415-422, 2016.
- FERNANDES, B. F. *et al.* Estudo etnofarmacológico das plantas medicinais com presença de saponinas e sua importância medicinal. **Revista da Saúde da AJES**, v. 5, n. 9, 2019.
- FILHO, R. B.; Contribuição da fitoquímica para o desenvolvimento de um país emergente. **Química Nova**, vol. 33, No. 1, p. 229-239, 2010.
- GIL, A. C. **Como elaborar projetos de pesquisa**. 4. ed. São Paulo: Atlas, 2002.
- HENRIQUES, A. T. *et al.* Alcalóides: generalidades e aspectos básicos. In: SIMÕES, C. M. O. *et al.* (Orgs.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6. ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, 2007.
- IÓCA, L. P.; NICACIO, K. J.; BERLINCK, R. G. S. Natural Products from Marine Invertebrates and Microorganisms in Brazil between 2004 and 2017: Still the

Challenges, More Rewards. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 29, n. 5, p. 998-1031, 2018.

JORGE, L. F. et al. Antioxidant activity and chemical composition of oleoresin from leaves and flowers of *Brunfelsia uniflora*. **Genetics and Molecular Research**, v. 16, n. 3, 2017.

KARABEGOVIĆ, I.T. et al. The effect of different extraction techniques on the composition and antioxidant activity of cherry laurel (*Prunus laurocerasus*) leaf and fruit extracts. **Industrial Crops and Products**, v.54, p.142-148, 2014.

LOPES, R. M. et al. Flavonóides. **Biotecnologia Ciência& Desenvolvimento**, v. 3, n. 14, p. 18-22, 2010. Disponível em:
https://paulasennafarma.webnode.com.br/files/200000094-1f27420215/17_f.pdf.
Acesso em: 25 jan. 2021.

MACHADO, H.; et al. Flavonóides e seu potencial terapêutico. **Boletim do Centro de Biologia da Reprodução (Descontinuada)**, v. 27, n. 1/2, 2008.

MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; JUNIOR, V. F. V. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, vol. 25, No. 3, p. 429-438, 2002.

MARCO, P. H.; POPPI, R. J.; SCARMINIO, I. S. Procedimentos analíticos para identificação de antocianinas presentes em extratos naturais. **Química. Nova**, São Paulo, v. 31, n. 5, p. 1218-1223, 2008. Disponível em:
http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422008000500051&lng=en&nrm=iso. Acesso em: 03 fev. 2021.

MARQUES, R. S.; MIGUEL, J. R.; JASCONE, C. E. S. A família Solanaceae no Parque Natural Municipal da Taquara, Duque de Caxias, RJ, Brasil. **Saúde & Ambiente em Revista**, v. 7, n. 1, p. 19-23, 2012.

MARTINS, M. B. G. et al. Caracterização anatômica, química e antibacteriana de folhas de *Brunfelsia uniflora* (manacá) presentes na Mata Atlântica. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 1A, p. 106-114, 2009.

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

MCLAUGHLIN, J.L, ROGERS, L.L. The use of biological assays to evaluate botanicals. **Drug Information Journal**, v. 32, p.513-24, 1998.

MELLO, M. A. R. et al. **Interações entre o morcego *Sturnira lilium* (Chiroptera: Phyllostomidae) e plantas da família Solanaceae**. 2006.

MONTANARI, C. A.; BOLZANI, V. S. Planejamento racional de fármacos baseado em produtos naturais. **Química Nova**, vol. 24, No. 1, p. 105-111, 2001.

OLIVEIRA, L. G.; PUPO, M. T.; VIEIRA, P. C. Explorando produtos naturais microbianos nas fronteiras da química e da biologia. **Química Nova**, v. 36, n. 10, p. 1577-1586, 2013.

OLIVEIRA, V. B. et al. Efeito de diferentes técnicas extrativas no rendimento, atividade antioxidante, doseamentos totais e no perfil por CLAE-DAD de *Dicksonia sellowiana* (presl.). Hook, dicksoniaceae. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 18, n. 1, p. 230-239, 2016.

PEREIRA, R. J.; CARDOSO, M.G. Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes. **Journal of biotechnology and biodiversity**, v. 3, n. 4, 2012.

PINTO, Angelo C. et al. Produtos naturais: atualidade, desafios e desafios. **Química nova**, v. 25, p. 45-61, 2002.

PINTO, M. A. C. **Técnicas de separação e identificação aplicadas a produtos naturais**. 2005. Trabalho de Conclusão de Curso – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.

QUEIROZ, G. S. et al. **Análise de esteróides em extratos vegetais e estudo fitoquímico e biológico preliminar de *Brunfelsia uniflora***. 2009. 56 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Química) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas, Florianópolis, 2009. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/99787?show=full>. Acesso em: 29 jan. 2021.

RIBEIRO, F. F.; MENDONÇA JUNIOR, F. J. B.; GHASEMI, J. B.; ISHIKI, H. M.; SCOTTI, M. T.; SCOTTI, L. Docking of Natural Products Against Neurodegenerative Diseases: General Concepts. **Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening**, v. 21, p. 152-160, 2018.

SANDINI, T. M.; BERTO, M. S. U.; SPNOSA, H. S. Senecio brasiliensis e alcaloides pirrolizidínicos: toxicidade em animais e na saúde humana. **Biotemas**, v. 26, n. 2, p. 83-92, 2013.

SANTIAGO, Maximus T. Otto Richard Gottlieb (31/08/1920-20/06/2011). **Revista Virtual de Química**, v. 3, n. 3, p. 218-223, 2011.

SANTOS, R. I. Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários. In: SIMÕES, C. M. O. et al. (Orgs.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6. ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, 2007. 1104p.

SCHNEIDER, A. L. S. et al. Caracterização química e atividade biológica de extratos aquosos de *Brunfelsia cuneifolia* JA Schmidt (Solanaceae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 4, p. 1103-1111, 2015.

SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; ATHAYDE, M. L. Saponinas. In: SIMÕES, C. M. O. et al. (Orgs.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6. ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, 2007. 1104p.

SILVA, L. R. et al. Flavonóides: constituição química, ações medicinais e potencial tóxico. **Acta toxicológica argentina**, v. 23, n. 1, p. 36-43, 2015. Disponível em: https://www.toxicologia.org.ar/bibliotecavirtual/acta_toxicologica/vol_23_1/rodrigues.pdf. Acesso em: 06 fev. 2021.

SOUZA, A. L. C. **ANÁLISE FITOQUÍMICA E ATIVIDADES FARMACOLÓGICAS DA ESPÉCIE *Vachellia farnesiana* (L.) Wight & Arn. [sin. *Acacia farnesiana* (L.) Willd.]**. 2019. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Licenciatura em Química) - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí, Parnaíba, 2019.

THIESEN, L. C. T. et al. Antimicrobial activity and chemical composition of Brunfelsia uniflora flower oleoresin extracted by supercritical carbon dioxide. **Genetics and Molecular Research**, v. 16, n. 2, 2017.

TOMAZIN JUNIOR, C. **Extração de óleo de soja com etanol e transesterificação etílica na miscela**. 2008. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. São Paulo, 2008.

VIEGAS JÚNIOR, C.; BOLZANI, V. S. Os Produtos Naturais e a Química Medicinal Moderna. **Química Nova**, vol. 29, No. 2, p. 326-337, 2006.

VIEGAS JÚNIOR, C. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. **Química Nova**, v. 26, n. 3, p. 390-400, 2003.

VIZZOTTO, M.; KROLOW, A. C. R.; WEBER, G. E. B. **Metabólitos secundários encontrados em plantas e sua importância**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2010. 16p.

ZHANG, Q. W.; LIN, L.G.; YE, W. C. Techniques for extraction and isolation of natural products: a comprehensive review. **Chinese Medical Journal**, v. 13, n. 20, p. 1-26, 2018.

ZUANAZZI, J. A. S.; MONTANHA, J. A. Flavonoides. In: SIMÕES, C. M. O. et al. (Orgs.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6. ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, 2007. 1104p.

