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

SABRINA TEIXEIRA DE SOUSA SILVA

AVALIAÇÃO FITOQUÍMICA E TEOR DE FLAVONOIDES TOTAIS DAS FOLHAS DA ESPÉCIE *Chrysobalanus icaco* L.

PARNAÍBA
2021

SABRINA TEIXEIRA DE SOUSA SILVA

AVALIAÇÃO FITOQUÍMICA E TEOR DE FLAVONOIDES TOTAIS DAS FOLHAS DA ESPÉCIE *Chrysobalanus icaco* L.

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.

Orientador: Prof. Dr. Bartholomeu Araújo Barros Filho
Coorientadora: Prof.ª Dr.ª Ana Maria Athayde Uchôa Thomaz

PARNAÍBA
2021

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

Silva , Sabrina Teixeira de Sousa

S586a Avaliação fitoquímica e teor de flavonoides totais das folhas da espécie Chrysobalanus icaco L. / Sabrina Teixeira de Sousa Silva . - 2021.
67 f.: il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Química) - Instituto Federal do Piauí, Campus Parnaíba, 2021.
Orientador : Prof. Dr. Bartholomeu Araújo Barros Filho.
Coorientadora : Profa. Dra. Ana Maria Athayde Uchôa Thomaz.

1. Química . 2. Fitoquímica. 3. Flavonoides totais . 4. Chrysobalanus icaco L. - Espécie vegetal . I.Título.

CDD - 540

Elaborado por Micheline Angélica Aragão Gouveia CRB 3/1244

SABRINA TEIXEIRA DE SOUSA SILVA

AVALIAÇÃO FITOQUÍMICA E TEOR DE FLAVONOIDES TOTAIS DAS FOLHAS DA ESPÉCIE *Chrysobalanus icaco* L.

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.

Aprovado em: 02/03/2021

BANCA EXAMINADORA

Batholomeu Araújo Barros Filho

Prof. Dr. Batholomeu Araújo Barros Filho (Orientador)
Instituto Federal do Piauí (IFPI) – *campus* Parnaíba

Buana C. de Almeida

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

Isabella Cristhina Gonçalves Costa

Dr.ª Isabella Cristhina Gonçalves Costa

À Deus, à minha mãe Janaina Teixeira de Sousa. Aos meus professores, familiares e amigos.

AGRADECIMENTOS

A Deus, em suas variadas manifestações, por me dar força e auxílio, pela coragem, pela conquista alcançada.

A minha mãe Janaína Teixeira de Sousa, por sempre me apoiar nessa jornada, pelos ensinamentos e amor compartilhado, pela força diante de todas as dificuldades que enfrentamos sozinhas, por me inspirar a ser uma pessoa melhor, que não desanima diante das dificuldades e que vê na simplicidade da vida a riqueza de ser feliz. A senhora é a razão pela qual mantenho a esperança e os sonhos de conquistar o que almejo, minha grande inspiração. Obrigada!

Aos meus familiares e amigos, pelo apoio e incentivo ao decorrer do curso. Em especial, ao meu companheiro e amigo Hericles Kristhoflanny Pereira de Carvalho, pela ajuda, dedicação e apoio.

Ao meu orientador e professor Dr. Bartholomeu Araújo Barros Filho, por ter me acolhido como orientanda, pelas contribuições, pelo auxílio e conhecimentos ao decorrer das disciplinas.

A minha professora e coorientadora Dr.ª Ana Maria Athayde Uchôa Thomaz, pelo suporte durante a elaboração deste trabalho, pela inspiração como docente, pela paciência e dedicação, pelos ensinamentos.

Aos meus colegas de curso e amigos Antônia Maria de Sousa Silva, Antonio Ivany da Silva, Rayna Relane de Souza Teixeira e Ruth Helly Ferreira Cardoso por tudo ao decorrer do curso, sou grata por ter conhecido vocês.

Em especial agradeço a Rayna Relane e a Ruth Helly, pelos momentos vivenciados ao decorrer do curso, pelo apoio emocional nos momentos difíceis, pelas alegrias que partilhamos dentro e fora da sala de aula, pela troca de conhecimento e afeto. Obrigada!

A todos os colegas e amigos que fiz durante o curso, que me oportunizaram momentos de alegria, crescimento pessoal, compartilhamento de conquistas e conhecimento, sendo estes: Adriana Silva Freire, Alicia Ludymilla Cardoso de Souza, Fernando Sousa da Silva, Jarline dos Santos Marques, Jéssica Cristina Silva Lopes, João Victor da Silva Santos, José Augusto Carneiro de Oliveira, Lorena Maria Borges Pereira, Luma Brisa Pereira dos Santos, Márcio André Moreira Araujo, Maria Helena Alves Feitosa, Rayanne Cornélio Slva Carvalho e Vivian Larissa Sousa do Nascimento.

À professora Dr.ª Maria de Fátima Cardoso Soares, pelos ensinamentos ao decorrer do curso e do Programa Institucional de Residência Pedagógica, que me proporcionaram crescimento pessoal e profissional, pela sua dedicação como professora, pelo incentivo à produção científica, pela orientação nos trabalhos publicados e pelo exemplo de dedicação e profissionalismo.

À professora Me. Vilma Dias de Araujo Veloso, por ser uma pessoa inspiradora, pelo seu jeito cativante, pela sua alegria e paciência, por todo apoio desde o início ao fim do curso e pelos momentos em sala de aula.

Aos demais professores do IFPI – *campus* Parnaíba, que poderia falar especificamente de cada um, pois todos me proporcionaram educação de qualidade, seja no âmbito específico ou pedagógico, sendo inspiração para a profissional que almejo ser. Em especial agradeço à: Buana Carvalho de Almeida, Durciane Oliveira Brito, Haroldo Luis de Sousa Neres, Janete Cezar Ribeiro, Márcia Valéria Silva Lima, Rubens Oliveira de Sousa e Simone Cristiane Gallani Rodrigues.

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí (IFPI), pela educação proporcionada, pelo acolhimento e pelas oportunidades, agradeço imensamente.

A todos os funcionários do IFPI – *campus* Parnaíba, que por meio do seu trabalho possibilitam o funcionamento do *campus*. Em especial agradeço as “tias” do refeitório, que mesmo diante da rotina de trabalho, sempre nos receberam com um sorriso no rosto e entusiasmo, que muitas vezes me fez pensar o quanto um ato de gentiliza pode mudar um dia ruim para melhor. Obrigada!

Todo caminho da gente é resvaloso. Mas também, não prejudica cair demais – a gente levanta, a gente sobe, a gente volta! O correr da vida embrulha tudo, a vida é assim: esquenta e esfria, aperta e daí afrouxa, sossega e depois desinquieta. O que ela quer da gente é coragem.

Guimarães Rosa (Grande Sertão Veredas)

RESUMO

O uso de plantas medicinais está presente nas mais diversas civilizações desde os primórdios da humanidade, sendo um dos primeiros recursos terapêuticos para tratar e curar doenças. As propriedades fitoterapêuticas das espécies vegetais se dá devido aos metabólitos secundários oriundos do metabolismo vegetal. Os flavonoides são metabólitos secundários que possuem atividade antioxidante, auxiliando no combate de radicais livres prejudiciais ao organismo. Dentre as espécies vegetais utilizadas na medicina popular, tem-se a *Chrysobalanus icaco* L., conhecida comumente como guajiru, grageru, e ajuru. O emprego dessa espécie se dá diante das suas propriedades medicinais, sendo utilizada no tratamento de doenças como diabetes, reumatismo, leucorreia, dentre outras. Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivo realizar a avaliação fitoquímica e o teor flavonoides totais do extrato etanólico das folhas da espécie *C. icaco*, coletada na cidade de Parnaíba – PI. A avaliação fitoquímica se deu por meio de testes, que consistiam em reações de precipitação, formação de espuma e variação de coloração, sendo possível detectar a presença de taninos condensados, leucoantocianidinas, esteroides livres, heterosídeos saponínicos e alcaloides. A análise espectroscópica de flavonoides totais, do extrato das folhas de *C. icaco*, forneceu o teor de 106,61 $\pm$ 1,01 mg ER/g. O presente estudo apresenta o perfil fioquímico e o teor de flavonoides totais do extrato etanólico de *Chrysoblanus icaco* L., contribuindo assim com o conhecimento químico sobre a espécie.

Palavras-chave: *Chrysobalanus icaco* L.; Metabólitos Secundários; Flavonoides Totais.

ABSTRACT

The use of medicinal plants is present in the most diverse civilizations since the dawn of humanity, being one of the first therapeutic resources to treat and cure diseases. The phytotherapeutic properties of plant species are due to secondary metabolites derived from plant metabolism. Flavonoids are secondary metabolites that have antioxidant activity, helping to combat free radicals that are harmful to the body. Among the plant species used in folk medicine is *Chrysobalanus icaco* L., commonly known as guajiru, grageru, and ajuru. The use of this species is due to its medicinal properties, being used in the treatment of diseases such as diabetes, rheumatism, and leucorrhea, among others. In this context, the present work aimed to perform the phytochemical evaluation and the total flavonoid content of the ethanolic extract of the leaves of *C. icaco* species, collected in the city of Parnaíba - PI. The phytochemical evaluation was performed by means of tests, which consisted of precipitation reactions, foam formation and color variation, being possible to detect the presence of condensed tannins, leucoanthocyanidins, free steroids, saponin heterosides and alkaloids. The spectroscopic analysis of total flavonoids, from C. icaco leaf extract, provided a content of 106.61 ± 1.01 mg ER/g. The present study presents the yarachemical profile and total flavonoid content of the ethanolic extract of *Chrysoblanus icaco* L., thus contributing to the chemical knowledge about the species.

Keywords: *Chrysobalanus icaco* L.; Secondary Metabolites; Total Flavonoids.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Gráfico 1 – Curva de calibração em relação a rutina. 56
Figura 1 – Esquema geral da conexão das vias de biossíntese do metabolismo primário e metabolismo secundário.....20
Figura 2 – Exemplos de alcaloides presentes em espécies vegetais.....22
Figura 3 – Núcleo fundamental dos flavonoides.....26
Figura 4 – Proposta de inibição de dois radicais livres (R) por meio da doação de átomos de hidrogênio das hidroxilas de um flavonoide.....27
Figura 5 – Espécie *Chrysobalanus icaco* L.: arbusto (5A), folhas e fruto (5B). 28
Figura 6 – Principais metabólitos secundários relatados de *Chrysobalanus icaco* L.. 30
Figura 7 – Imagem via satélite do local de coleta do material vegetal.....33
Figura 8 – Espécie *Chrysobalanus icaco* L. coletada na cidade de Parnaíba – PI: arbusto (A), flor (B), frutos e folhas (C). 39
Figura 9 – Exsicata (9A) e registro de identificação (9B) da espécie *Chrysobalanus icaco* L.....40
Figura 10 – Estrutura de um tanino hidrolisável, constituído de glicose e oito moléculas de ácido gálico, e estrutura geral de um tanino condensado, onde *n* varia comumente de 1 a 10. 43
Figura 11 – Teste positivo para taninos condensados em comparativo com o branco. 44
Figura 12 – Sugestão para a reação de complexação entre ferro e taninos. 44
Figura 13 – Estrutura do cátion flavílico (13A), antocianidina cianidina (13B) e antocianina cianidina 3-glicosídeo (13C).....45
Figura 14 – Teste negativo para antocianidinas, antocianinas e flavonoides, pH 3 (14A), pH 8 (14B) e pH 11 (14C).....46
Figura 15 – Possíveis mudanças estruturais das antocianinas em meio aquoso em função do pH.....46
Figura 16 – Estruturas fundamentais de leucoantocianidina, catequinas e flavona. 47
Figura 17 – Teste negativo para leucoantocianidinas, catequinas e flavonas em pH 11 e pH 3 após aquecimento.....47
Figura 18 – Teste confirmatório positivo para leucoantocianidinas (18B) com leve variação de cor em relação á solução inicial (18A). 48

Figura 19 – Reação de conversão de leucoantocianidinas à antocianidina. 49
Figura 20 – Núcleo fundamental dos diidroflavonois. 49
Figura 21 – Resíduo obtido (21A) e teste para diidroflavanóis (21B). 50
Figura 22 – Fórmula estrutural do triterpeno lupeol (A) e do esteroide campesterol (B). 51
Figura 23 – Proposta para reação de derivação de um esteroide, como exemplo o colesterol, através da reação Liebermann-Burchard. 51
Figura 24 – Resíduo obtido (23A) e a variação da coloração de azul-evanescente (22B) para verde constante (23C). 52
Figura 25 – Núcleos comuns de saponinas esteroidais (A) e saponinas triterpênicas (B). 52
Figura 26 – Teste fracamente positivo para a presença de heterosídeos saponínicos (25A e 25B). 53
Figura 27 – Resíduo obtido (25A) e teste positivo com formação de precipitado (25B). 54
Figura 28 – Reação de precipitação de alcaloides com reagente de Drangedorff. ..54
Figura 29 – Proposta para a reação entre flavonoide com cloreto de alumínio para a formação do complexo flavonoide–Al.....55

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Fármacos obtidos por meio de matérias-primas de espécies vegetais...19
Tabela 2 – Classificação de terpenos de acordo com o número de unidades de isoprenos e número de carbonos. 23
Tabela 3 – Principais classes de compostos fenólicos. 24
Tabela 4 – Perfil fitoquímico qualitativa do extrato etanólico das folhas da espécie *Chrysobalanus icaco* L. 42
Tabela 5 – Análise em triplicata da leitura em espectrofotômetro do extrato etanólico de *Chryscobalanus icaco* L. 56

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CG	Cromatografia Gasosa
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
FLAT	Flavonoides Totais
HDELTA	Herbário Delta do Parnaíba
IFPI	Instituto Federal do Piauí
pH	Potencial hidrogeniônico
PIQ	Padrão de Identidade e Qualidade
UFDPar	Universidade Federal do Delta do Parnaíba
UV-Vis	Ultravioleta - Visível

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
µL	Microlitro
µL/mL	Microlitro por mililitro
$AlCl_3$	Cloreto de alumínio
ºC	Graus Celsius
CO_2	Dióxido de carbono
ER/g	Equivalente de rutina por grama
$FeCl_3$	Cloreto de ferro
g	Grama
HCl	Ácido clorídrico
H_2O	Água
K	Kelvin
KPa	Quilopascal
L	Litro
M	Massa
MeOH	Metanol
$mg.L^{-1}$	Miligrama por litro
mL	Mililitro
$mol.L^{-1}$	Mol por litro
nm	Nanômetro
NaOH	Hidróxido de sódio
Na_2SO_4	Sulfato de sódio

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 16
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 18
2.1 PLANTAS MEDICINAIS 18
2.2 METABOLISMO VEGETAL 20
2.2.1 Metabolismo secundário 21
2.3 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E FLAVONOIDES 25
2.4 *Chrysobalanus icaco* L. 27
2.5 ESTUDOS QUÍMICOS DE *Chrysobalanus icaco* L. 29
3 OBJETIVOS 32
3.1 OBJETIVO GERAL 32
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS 32
4 METODOLOGIA 33
4.1 TIPO DE PESQUISA 33
4.2 LOCAL DE PESQUISA 33
4.3 COLETA DO MATERIAL VEGETAL 33
4.4 PREPARAÇÃO DA AMOSTRA 34
4.5 TESTES FITOQUÍMICOS PARA METABÓLITOS SECUNDÁRIOS 34
4.5.1 Teste para fenóis e taninos 35
4.5.2 Teste para antocianidinas, antocianinas e flavonoides 35
4.5.3 Teste para catequinas, flavonas e leucoantocianidinas 35
4.5.4 Teste confirmatório para leucoantocianidinas 35
4.5.6 Teste confirmatório para diidroflavonois (Ensaio de Pacheco) 36
4.5.7 Teste para esteroides e triterpenos (Lieberman-Burchard) 36
4.5.8 Teste heterosídeos saponínicos 36
4.5.9 Teste para alcaloides 37
4.6 TEOR DE FLAVONOIDES TOTAIS 37
4.6.1 Preparação das soluções e curva padrão 37
4.6.2 Determinação de flavonoides totais 37
4.7 TRATAMENTO DOS DADOS 38

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO 39

5. 1 IDENTIFICAÇÃO DO MATERIAL VEGETAL 39

5.2 RENDIMENTO DO EXTRATO ETANÓLICO 40

5.3 AVALIAÇÃO FITOQUÍMICA DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS 41

5.3.1 Fenóis e Taninos 43

5.3.2 Antocianidinas, antocianinas e flavonoides 44

5.3.4 Confirmatório para leucoantocianidinas 48

5.3.5 Confirmatório para diidroflavonois 49

5.3.6 Esteroides e Triterpenos 50

5.3.7 Heterosídeos saponínicos 52

5.4 TEOR DE FLAVONOIDES TOTAIS 55

6 CONCLUSÃO 58

7 PERSPECTIVAS FUTURAS 59

REFERÊNCIAS 60

1 INTRODUÇÃO

Plantas medicinais são espécies vegetais que possuem princípios ativos de ação terapêutica, amplamente utilizadas no tratamento e na cura de doenças (FALEIRO et al., 2018). A maioria dessas espécies são encontradas em regiões tropicais, sendo assim, o território brasileiro apresenta potencialidade em estudos taxonômicos e farmacognósticos (CARVASAN, 2015; UGALDE, 2016). Alguns estudos com espécies vegetais são direcionados ao metabolismo, que pode se dividir em metabolismo primário e metabolismo secundário.

O metabolismo primário fornece substâncias (carboidratos, lipídeos, nucleotídeos e proteínas) relacionadas a funções básicas e vitais no organismo vegetal (SOUZA, 2013; MOREIRA, 2015; ALMEIDA, 2017). Já o metabolismo secundário, segundo a literatura, apresenta substâncias que assumem funções características de cada espécie, mantendo propícia a sobrevivência em condições ambientais específicas, sendo estes metabólitos divididos em três classes principais: alcaloides, terpenos e compostos fenólicos (VIZZOTO, KROLOW & WEBER, 2010; MORAIS et al., 2016; SILVA, BIZERRA & FERNANDES, 2018).

Na farmacologia, os metabólitos secundários têm importância devido o potencial fitoterapêutico. Dentre as atividades biológicas exercidas por estes compostos, destaca-se a atividade antioxidante (VIZZOTTO, KROLOW & WEBER, 2010). Antioxidantes apresentam como função a inibição da oxidação, fazendo com que a concentração de radicais livres no organismo diminua. O excesso desses radicais pode danificar células, propiciando o surgimento de doenças (ALVES et al., 2010). Dentre os antioxidantes de fontes naturais, destacam-se os flavonoides, metabólitos pertencentes a classe de compostos fenólicos.

A *Chrysobalanus icaco L*. é um arbusto da família Chrysobalanaceae, inserida nas Angiospermas, conhecido popularmente por diferentes nomes, como: guajiru, ajiru, grageru, dentre outros (PARACAMPO, 2017). Na medicina popular partes da planta são utilizadas para combater doenças infecciosas, diabetes, pedra nos rins, apresentando ação antitumoral, anestésica, anti-inflamatória e hipoglicemiante (FONSECA-KRUEL & PEIXOTO, 2004; OLIVEIRA, 2011). Tal espécie, apresenta potencial como fonte de pesquisa, uma vez que são poucos os trabalhos de cunho fitoquímico e quimio-taxonômicos relatados na literatura. Diante disto, o presente

trabalho objetiva realizar a avaliação fitoquímica e análise de flavonoides totais do extrato etanólico das folhas de *Chrysobalanus icaco L*., visando auxiliar no conhecimento químico-farmacológico dessa espécie.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 PLANTAS MEDICINAIS

Desde os primórdios, a humanidade faz uso de produtos naturais para tratar e curar doenças, podendo estes ser de origem microbiana ou vegetal. De acordo com Yang at al. (2019), os produtos naturais apresentam grande demanda no mercado global devido sua preferência em relação aos produtos sintéticos, possuindo amplos benefícios para a medicina popular, no desenvolvimento de fármacos, produtos alimentícios e cosméticos. Dentre as principais fontes de produtos naturais temos as plantas medicinais, que de acordo com Faleiro et al. (2018), são espécies vegetais que apresentam em seus órgãos (folhas, caule, flores e raízes) princípios ativos de ação terapêutica. A utilização de plantas medicinais no decorrer dos períodos da civilização concedeu ao homem o conhecimento empírico transmitido por gerações, e se tornou prática comum da medicina popular (UGALDE, 2016).

Há uma estimativa de que grande parte das espécies vegetais que possuem propriedades terapêuticas encontram-se em regiões tropicais, sendo assim, o Brasil apresenta grande potencial científico, podendo ser fonte para descoberta de tais espécies, uma vez que seu território é constituído em média por 60% de florestas tropicais (CARVASAN, 2015). A diversidade da flora brasileira, vinculada ao grande potencial medicinal das espécies vegetais presentes, necessita de estudos de cunho farmacognóstico, químico e taxonômico, possibilitando assim, a segurança e eficácia no conhecimento referente as espécies utilizadas medicinalmente (UGALDE, 2016).

É de suma importância pesquisas científicas que busquem comprovar o emprego de plantas medicinais, já que em sua maioria são utilizadas oralmente como extratos brutos. Tais extratos podem apresentar intermediários nocivos e/ou indesejados, que podem causar efeitos adversos com base na quantidade consumida (BARONE et al., 2019). Quanto aos fármacos provenientes de espécies vegetais, a RDC Nº 26, de 13 de maio de 2014, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), regulamenta o registro de fármacos fitoterápicos, sendo exigida a avaliação da matéria-prima e dos derivados vegetais, fazendo-se necessária a identificação botânica da espécie, o padrão de identidade e qualidade (PIQ) e a comprovação de eficácia e segurança (ANVISA, 2014).

Dentre as espécies vegetais aplicadas medicinalmente, e que possuem atividade fitoterapêutica comprovada, tem-se a babosa (*Aloe vera*) e a camomila (*Matricaria chamomilla*). A babosa apresenta atividade anti-inflamatória, antineoplástica e hiperglicemia, podendo ser utilizada para tratar dermatites e queimaduras (FREITAS, RODRIGUES & GASPI, 2014), além de possuir ampla aplicabilidade na indústria de cosméticos. Da camomila são utilizados o óleo essencial e a infusão de suas folhas, empregados para tratar espasmos, colite, gastrite, problemas de ansiedade e insônia, apresentando potencial nas indústrias farmacêutica, alimentícia e cosmética (SANTOS, S. A. 2018).

Na produção de fármacos os compostos bioativos presentes nas espécies vegetais podem ser utilizados como as principais substâncias que fornecem a ação terapêutica (componentes ativos), ou também como substâncias que viabilizam a obtenção, a administração e a manutenção da qualidade do medicamento (adjuvantes), com isso, apresentam amplo fornecimento de insumos para indústria farmacêutica (BERNARDES et al, 2017). A Tabela 1 apresenta algumas espécies vegetais utilizadas como matéria-prima na produção de fármacos

Tabela 1 – Fármacos obtidos por meio de matérias-primas de espécies vegetais.

Espécie	Fármaco	Utilização terapêutica
Artemisia annua L.	Artemisinina	Antimalárico
Atropa belladonna L.	Atropina	Anticolinérgico
Coffea spp.	Cafeína	Estimulante central
Colchicum autumnale L.	Colchicina	Antirreumático
Hyoscyamus muticus L.	Hiosciamina	Anticolinérgico
Papaver somniferum L.	Morfina	Analgésico
Rauvolfia spp.	Reserpina	Anti-hipertensivo

Fonte: adaptado Bernades et al., (2017).

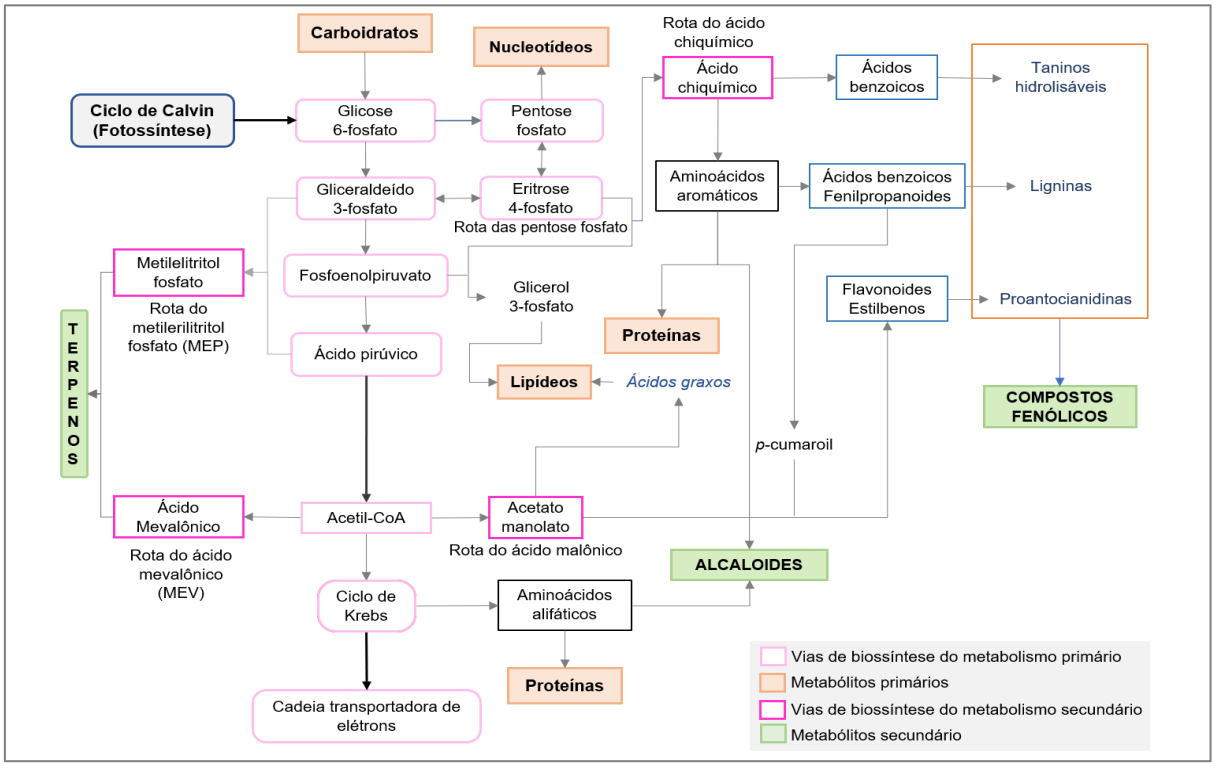
Mesmo com o desenvolvimento na área de síntese (orgânica, microbiológica industrial e biologia molecular), a produção de fármacos obtidos por matérias-primas provenientes de plantas medicinais tem suas potencialidades, uma vez que ainda há dificuldade de sintetizar moléculas com a estereoquímica encontrada naturalmente,

além da inviabilidade econômica de sínteses desenvolvidas em laboratório (BERNARDES et al., 2017).

2.2 METABOLISMO VEGETAL

Os seres vivos apresentam o organismo constituído de reações químicas, que em conjunto compõem o metabolismo necessário para gerar e manter a vida. Para o crescimento e desenvolvimento de um organismo é indispensável o metabolismo fisiológico, já que por meio deste ocorre a degradação e síntese de compostos químicos essenciais, denominados de metabólitos (ALMEIDA, 2017). O metabolismo primário desempenha funções essenciais para o desenvolvimento celular e manutenção da vida, sendo geral para todos os seres vivos (animais e vegetais) (ALMEIDA, 2017). Em espécies vegetais, os metabólitos primários exercem funções essenciais para o desenvolvimento, sobrevivência e reprodução, tais como: fotossíntese, respiração e absorção de nutrientes (SOUZA, 2013; ALMEIDA, 2017). As principais classes de moléculas sintetizadas pelo metabolismo primário são: carboidratos, lipídeos, nucleotídeos e proteínas (MOREIRA, 2015).

Figura 1 – Esquema geral da conexão das vias de biossíntese do metabolismo primário e metabolismo secundário.



Fonte: Adaptado de Moreira (2015).

As espécies vegetais apresentam como diferencial um metabolismo secundário, que possibilita a produção, transformação e acumulação de substâncias que não estão relacionadas diretamente com funções vitais (SILVA, 2014). Tais metabólitos são provenientes do metabolismo primário (FIGURA 1, p. 20). Por meio das rotas biossintéticas são originados compostos orgânicos que possuem atividade biológica, podendo ser utilizados na produção de medicamentos, aromatizantes e corantes (CUNHA et al., 2016; ALMEIDA, 2017).

2.2.1 Metabolismo secundário

Por algum tempo não era evidente a funcionalidade do metabolismo secundário. De acordo com Bergamaschi (2010), metabólitos secundários eram considerados apenas produtos do metabolismo ou resíduos sem função aparente. No decorrer de estudos, essas substâncias passaram a ser relacionadas a funções características de cada espécie, como defesa contra pestes e doenças, proteção ultravioleta, produção de substâncias atrativas de polinizadores e dispersores, aromas e cores, tendo função direta com o crescimento e desenvolvimento (BEEGAMASCHI, 2010; MORAIS et al., 2016; SILVA, BIZERRA & FERNANDES, 2018).

Tais substâncias possuem restrição quanto a sua distribuição, sendo característica de uma dada espécie ou de um certo grupo de espécies, se diferindo dos metabólitos primários, que são encontrados amplamente no reino vegetal (TAIZ & ZEIGER, 2013). A produção de metabólitos secundários por uma espécie vegetal depende das condições de crescimento, da fisiologia e do impacto das condições ambientais nas vias metabólicas associadas à biossíntese, sendo influenciados por fatores bióticos e abióticos (ISAH, 2019). Na farmacologia metabólitos secundários têm importância diante da atividade biológica proveniente de compostos orgânicos que possuem ação fitoterapêutica. Apresentam potencial econômico, uma vez que são comercializados nos setores alimentício, agronômico, perfumaria e principalmente farmacêutico (SILVA, BIZERRA & FERNANDES, 2018).

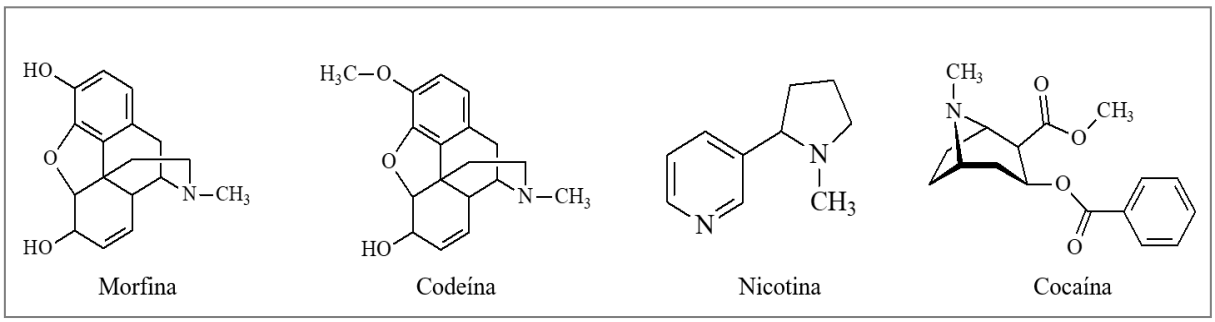
Para identificar e isolar tais compostos, faz-se o uso da Fitoquímica, ramo da Química que objetiva “[...] a caracterização estrutural, avaliação de propriedades e investigações biossintéticas de substâncias naturais” (FILHO, 2010, p. 229). Por meio de testes fitoquímicos é possível detectar classes de compostos orgânicos provenientes do metabolismo secundário, sendo aplicados em diferentes extratos e

partes de uma espécie vegetal (SILVA, BIZERRA & FERNANDES, 2018). Os metabólitos secundários podem ser divididos em três classes principais: alcaloides, terpenos e compostos fenólicos (TAIZ & ZEIGER, 2013; CUNHA et al. 2016). As vias biossintéticas pelas quais podem ser sintetizados são: via do metilerilitritol fosfato, via do ácido mevalônico, via do ácido chiquímico e via do ácido malônico (MOREIRA, 2015), conforme a Figura 1 (p. 20) apresentada anteriormente.

Os alcaloides são substâncias orgânicas de baixo peso molecular, que apresentam como característica cadeias cíclicas com átomos de nitrogênio. Tais metabólitos são derivados de aminoácidos aromáticos, provenientes do ácido chiquímico, e de aminoácidos alifáticos, podendo também derivar-se de bases nitrogenadas, como no caso da cafeína (SILVA, 2014). Podem ser classificados em três subclasses: alcaloides verdadeiros, que provém efetivamente de aminoácidos; protoalcaloides, os quais apresentam nitrogênio fora do heterociclo; pseudoalcaloides, que se originam de outras vias, mas que incorporam nitrogênio por meio de reações, como a transaminação (KLEIN-JÚNIOR & HENRIQUES, 2017).

De acordo com Carlos (2007), a função dessas substâncias em espécies vegetais está relacionada com a defesa contra insetos herbívoros. Em quantidades específicas a maioria desses compostos são tóxicos para humanos, entretanto em dosagens adequadas apresentam potencial farmacológico devido seus efeitos no sistema nervoso (TAIZ & ZEIGER, 2013; SILVA, 2014). Alguns alcaloides conhecidos, apresentados na Figura 2, possuem uso terapêutico no cotidiano, como a morfina e a codeína, utilizados na medicina como analgésico, já outros, como a nicotina e a cocaína, tem aplicabilidade do seu uso não-medicinal como sedativos e estimulantes (TAIZ & ZEIGER, 2013).

Figura 2 – Exemplos de alcaloides presentes em espécies vegetais.



Fonte: Autoria própria, (2021).

Os terpenos são constituídos pela união de unidades isoprênicas, provenientes de unidades pentacarbonadas (DEWICK, 2008). Quando submetidos a altas

temperaturas podem se decompor em isoprenos, com isso os elementos estruturais básicos dessas substâncias são normalmente chamados de unidades isoprênicas (TAIZ & ZEIGER, 2013). Tais compostos são sintetizados pela via biossintética do ácido mevalônico e do metilerilitritol fosfato (SILVA, 2014). Estruturalmente são divididos de acordo com o número de unidades de isoprenos, sendo classificados em monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, triterpenos, tetraterpenos e politerpenóides (TAIZ & ZEIGER, 2013), como apresentado na Tabela 2.

Tabela 2 – Classificação de terpenos de acordo com o número de unidades de isoprenos e número de carbonos.

Classe	Nº de unidades isoprenos	Nº de átomos de carbono
Monoterpenos	2	10
Sesquiterpenos	3	15
Diterpenos	4	20
Triterpenos	6	30
Tetraterpenos	8	40
Politerpenóides	N	N

Fonte: Autoria própria, (2021).

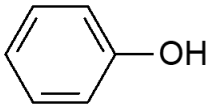
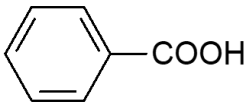
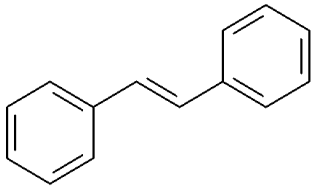
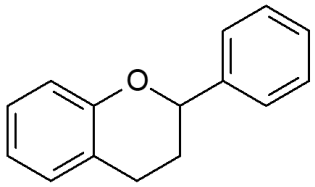
Misturas de monoterpenos e sesquiterpenos voláteis são conhecidas como óleos essenciais. Tais substâncias conferem o aroma característico das folhas das espécies, além de serem atribuídas a algumas funções como: proteção contra herbívoros, defesa contra patógenos, atração de polinizadores, proteção contra perda de água e proteção contra o estresse oxidativo (TAIZ & ZEIGER, 2013; HEINZMANN, SPITZER & SIMÕES, 2017). Terapeuticamente esses metabólitos são utilizados como antiespasmódicos, expectorantes, estimulantes, anestésicos locais, anti-inflamatórios e antissépticos (HEINZMANN, SPITZER & SIMÕES, 2017). Limão e hortelã-pimenta são exemplos de espécies vegetais que possuem óleos essenciais conhecidos, sendo o limoneno e mentol respectivamente, os componentes majoritários destes óleos voláteis.

A classe dos compostos fenólicos inclui compostos com anéis aromáticos e substituição de pelo menos um hidrogênio do ciclo por um grupo hidroxila, sendo sintetizados pelas rotas metabólicas do ácido chiquímico e do ácido mevalônico (VIZZOTTO, KROLOW & WEBER, 2010). Devido à grande quantidade de substâncias

identificadas, não há um consenso comum quanto a classificação de tais compostos, podendo ser classificados por diferentes critérios: (1) em flavonoides e não-flavonoides; (2) quanto ao número de anéis aromáticos; (3) quanto ao esqueleto de carbono; (4) quanto a estrutura química básica (SANTANA-GÁLVEZ & JACOBO-VELÁZQUEZ, 2018).

Dentre os métodos de classificação, o mais utilizado leva em consideração a estrutura química básica desses compostos. Essa classificação constitui-se na descrição ou imagem que específica átomos comuns (por exemplo, C, H, O), grupos funcionais, saturações, tipos de ligações e como estão ligados uns aos outros (SANTANA-GÁLVEZ & JACOBO-VELÁZQUEZ, 2018). Levando em consideração tais critérios de classificação, compostos fenólicos podem ser divididos em 20 classes diferentes, sendo algumas das principais representadas na Tabela 3.

Tabela 3 – Principais classes de compostos fenólicos.

Números de anéis aromáticos	Esqueleto carbônico	Classe	Estrutura química básica
1	C_6	Fenóis simples	
1	$C_6 – C_1$	Ácidos fenólicos	
2	$C_6 – C_2 – C_6$	Estilbenos	
2	$C_6 – C_3 – C_6$	Flavonoides	
3 ou mais	$(C_6 – C_3 – C_6)_n$	Taninos condensados	Múltiplo

Fonte: Adaptado de Santana-Gálvez & Jacobo-Velázquez, (2018).

Em espécies vegetais essas substâncias são associadas a estímulos de defesa contra herbívoros e microrganismos, além de estarem relacionadas a processos

germinativos (MOTA, 2019). De acordo com Ugalde (2016), esses compostos apresentam interesse farmacológico devido a suas atividades biológicas, destacando-se seu potencial antioxidante. Outras atividades exercidas por essas substâncias são: anti-inflamatória, antitumoral, anticancerígenas, analgésica e antimicrobiana (ISHIMOTO, 2008; UGALDE, 2016).

2.3 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E FLAVONOIDES

Radicais livres são espécies químicas instáveis e reativas, que apresentam elétrons desemparelhados. Devido a estes aspectos, essas moléculas são propícias a acoplarem seus elétrons não pareados com um outro que esteja presente em estruturas próximas à sua formação, passando a comportar-se assim como receptores ou como doadores de elétrons (FERREIRA et al., 2010). Durante os processos metabólicos ocorre a produção desses radicais, que atuam nas reações bioquímicas como mediadores nas transferências de elétrons (ALVES et al., 2010). No organismo desempenham funções relevantes, como a produção de energia, ativação de genes, mecanismos de defesa, dentre outras (CAVARSAN, 2015).

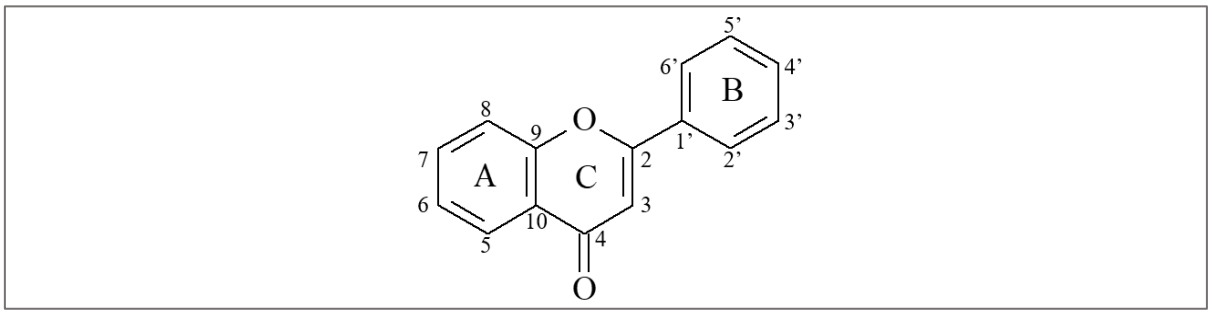
O excesso de radicais livres pode danificar células, e consequentemente desenvolver doenças cardiovasculares, degenerativas, neurológicas, além de favorecer o surgimento do câncer (ALVES et al., 2010). Sendo assim, quando a produção de radicais livres e os mecanismos de defesa antioxidante estão desequilibrados no organismo, ocorre o “estresse oxidativo”, havendo mais produção de radicais do que eliminação (FERREIRA et al., 2010; CAVARSAN, 2015). Alguns dos radicais livres relacionados com o estresse oxidativo são: espécies derivadas de oxigênio, como o radical superóxido ($O_2^{\bullet -}$) e radicais peroxila ($RO_2^{\bullet}$); espécies derivadas de nitrogênio e cloro, como peroxinitrito ($ONOO^-$) e cloreto de nitrila (NO_2Cl) (CAVARSAN, 2015).

Os antioxidantes são uma classe de substâncias que apresentam como função a inibição da oxidação, fazendo com que a concentração de radicais livres no organismo diminua. Essa inibição ocorre devido a capacidade de transferência de átomos de hidrogênio e/ou transferência de elétrons para o radial livre, eliminando sua condição desemparelhada que resulta o processo de oxidação (SUCUPIRA et al., 2012; BECKER et al., 2019). Tais substâncias podem ser classificadas em antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos.

Segundo Becker et al. (2019), os antioxidantes enzimáticos compreendem enzimas e cofatores enzimáticos que são produzidos endogenamente. Já os antioxidantes não enzimáticos, são provenientes de fonte dietéticas, como vitaminas (A, E e C), compostos fenólicos e minerais, normalmente encontrados em espécies vegetais (BECKER et al., 2019). Dentre os antioxidantes não enzimáticos mais comuns em fontes naturais, destacam-se os compostos fenólicos, que são amplamente distribuídos no reino vegetal, em especial a classe de flavonoides (PIRES et al., 2017; ROCHA & SOUZA, 2019).

Os flavonoides apresentam potencial para a inibição de radicais livres, podendo ser antioxidantes mais efetivos que o ácido ascórbico (ALVES et al., 2007). Estruturalmente possuem como característica a presença de átomos de oxigênio e de quinze átomos de carbono, constituindo três anéis na forma de C6 – C3 – C6 (FIGURA 3), divididos de acordo com o estado de oxidação do anel pirano central, sendo essa formação estrutural o núcleo fundamental dos flavonoides (MARÇO, POPPI & SCARMINIO, 2008).

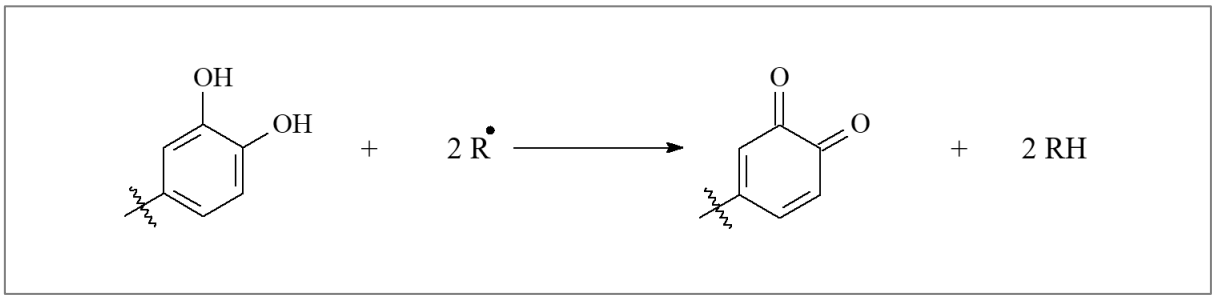
Figura 3 – Núcleo fundamental dos flavonoides.



Fonte: Adaptado de Zuanazzi, Montanha e Zucolloto, (2017).

A ação antioxidante dos flavonoides, e outros derivados fenólicos, consiste na captura e neutralização de espécies oxidantes, atuando sinergicamente com outros antioxidantes (ZUANAZZI, MONTANHA & ZUCOLOTTO, 2017). De modo geral, o mecanismo de inibição dos radicais ocorre por meio da doação de um átomo de hidrogênio, formando então o radical aroxila, que pode reagir novamente com outro radical, adquirindo assim a estrutura de quinona estável (ROCHA & SILVA, 2019) (FIGURA 4, p. 27).

Figura 4 – Proposta de inibição de dois radicais livres (R) por meio da doação de átomos de hidrogênio das hidroxilas de um flavonoide.



Fonte: Autoria própria, (2021) com adaptações de Rocha e Souza, (2019).

Como afirma Peixoto Sobrinho et al. (2010), são diversas as técnicas utilizadas para detectar e quantificar flavonoides em espécies vegetais, tais como: cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), cromatografia gasoso (CG), cromatografia em camada delgada (CCD), espectroscopia UV-Vis, entre outras. Dentre as tais metodologias, destaca-se a utilização de espectroscopia UV-Vis devido sua acessibilidade, sendo uma técnica simples e de baixo custo, mas que possibilita resultados significativos (POZZI, 2007; PEIXOTO SOBRINHO et al., 2010).

O método de espectroscopia de UV-Vis faz o uso de metais para tratar as amostras analisadas, comumente o cloreto de alumínio ($AlCl_3$), a fim de obter espectros de flavonoides, sem demais compostos fenólicos como interferentes (MARQUES et al, 2012). As hidroxilas livres dos flavonoides tendem a formar complexos estáveis com o cátion Al^{3+}, ocasionando um deslocamento da absorção para regiões de maior comprimento de onda (POZZI, 2007; MARQUES et al., 2012). Com isso, é possível avaliar o teor de flavonoides totais em comparativo a uma curva de calibração de um flavonoide padrão, como exemplo a quercetina e rutina.

2.4 *Chrysobalanus icaco* L.

O Brasil apresenta grande diversidade de espécies vegetais, sendo fonte de pesquisa de plantas que possuem ação fitoterapêutica. Dentre as espécies, encontradas na biodiversidade brasileira, tem-se a *Chrysobalanus icaco L*. (*C. icaco*) (FIGURA 5, p. 28), um arbusto pertencente à família Chrysobalanaceae, inserido em plantas Angiospermas. Tal espécie tem origem na América e África tropical, possuindo adaptação em regiões similares mundialmente, desde o Sul dos Estados Unidos até o Brasil, Equador e Venezuela, incluindo as Antilhas (BRITO et al., 2007).

Figura 5 – Espécie *Chrysobalanus icaco* L.: arbusto (5A), folhas e fruto (5B).

Fonte: Autoria própria, (2021).

No Brasil, *C. icaco* surge em regiões tropicais, como Pernambuco, Ceará, Piauí e Pará, ou em regiões como Rio de Janeiro, São Paulo, Rio Grande do Norte, dentre outras (VARGAS et al., 2010; OLIVEIRA, 2012; SOUZA et al., 2016). Possui boa adaptação às disposições ambientais, resistindo em solos salinos, ao fogo, geadas de nível médio e secas, podendo se desenvolver em brejos, mangues e restingas (FONSECA-KRUEL & PEIXOTO, 2004; OLIVEIRA & SOUZA, 2005).

A *C. icaco* possui flores pequenas, sendo estas esbranquiçadas e hermafroditas, seu fruto é comestível possuindo uma casca fina (FONSECA-KRUEL & PEIXOTO, 2004). Já as folhas apresentam comumente de 2-8 cm de comprimento e 1.2-6.0 cm de largura, sendo arredondadas ou com pequeno acúmem no ápice, de cor verde escura e brilhante na parte superior (ARAÚJO, 2012). Segundo Paracampo (2017), no nordeste brasileiro tal planta é reconhecida pela denominação de seu fruto, popularmente nomeado como guajiru, grageru, ajuru, dentre outros, podendo também receber denominação de acordo com a coloração do fruto no estágio de maturação, que se apresenta rosa, preto ou branco.

O consumo dessa espécie vegetal aplicada a medicina popular se dá por meio do fruto *in natura* ou de outras partes da planta como chá. No mercado brasileiro o fruto tem pouca importância, sendo considerada uma planta nativa e exótica, com isso não é comercializado, diferentemente de países como México e Cuba, onde seus frutos possuem potencial econômico (SANTANA & SILVA, 2000). O uso de suas folhas frescas é aplicado no tratamento de algumas patologias, podendo ser encontrado como produto em mercados populares (SILVA & PEIXOTO, 2009). Na literatura, há relatos de suas ações farmacológicas, como anticancerígena e antioxidante, podendo ser utilizada no controle de diversas patologias, como diabetes,

reumatismo, leucorreia, hemorragias e diarreia crônica. (FERREIRA-MACHADO et al., 2004; VARGAS et al., 2010).

2.5 ESTUDOS QUÍMICOS DE *Chrysobalanus icaco* L.

A literatura apresenta publicações de estudos com a espécie *Chrysobalanus icaco* L.*,* visando consolidar o conhecimento sobre suas ações farmacológicas, sendo em sua grande maioria relacionados ao fruto e a folha. Oliveira (2012) estudou os efeitos toxicológicos e farmacológicos do extrato aquoso da entrecasca do caule da espécie. Como resultado, obteve que o extrato não apresentou atividade citotóxica, mas apresentou atividades anti-inflamatória e antinociceptiva.

Vargas-Simón et al. (2000) realizou uma série de análises fitoquímicas com o fruto da espécie, utilizando cromatografia em papel e espectroscopia de UV-Vis, obtendo como resultados preliminares a presença de flavonol quercetina-3-*O*-arabinósido e da flavona apigenina-7-*O*-glucósido. Em estudo mais recente, ao analisar o fruto liofilizado, com exceção da semente, Venancio (2016) determinou a presença de antocianinas, sendo estas majoritariamente delfinidina, cianidina, pentunidina e peodina, além de concentrações significativas de polifenóis. Segundo o autor, os fitoquímicos e elementos químicos encontrados estão relacionados aos efeitos antigenotóxico, antimutagênico, antioxidante e anti-inflamatório (VENANCIO, 2016). A presença de selênio no fruto também já foi apresentada em outros trabalhos, assim como outros minerais que exercem atividade antioxidante, como cromo e cobre. (AGUIAR, SABAA-SRUR & SAMICO, 2011).

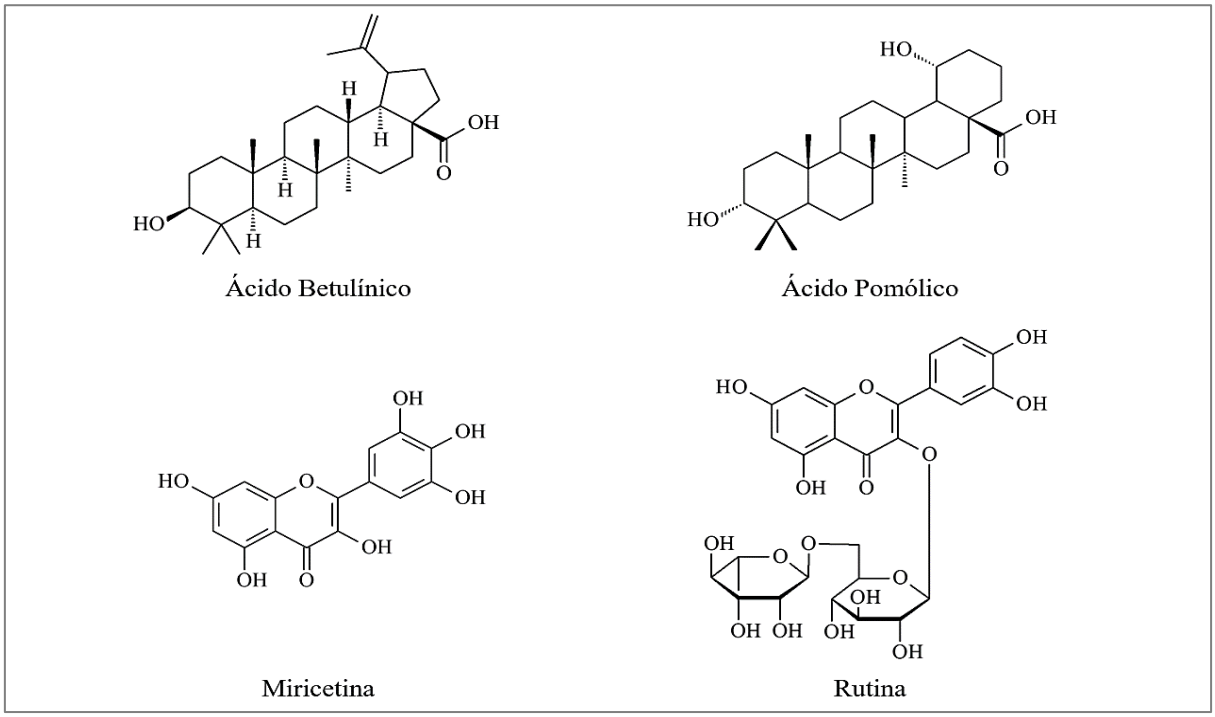
Fernandes et al. (2003), mostrou que o ácido pomólico, extraído das folhas da espécie, pode matar linhagens de células tumorais, eliminando experimentalmente 80 a 90% das células cancerígenas. Aguiar (2010), relatou a redução da glicemia de camundongos diabéticos utilizando o chá das folhas, nas concentrações de 2,5% e 5%, ao decorrer de um período de 28 dias, além disso o chá contribuiu para a cicatrização, o que de acordo com autora, comprova seu uso no tratamento de diabetes. Barbosa et al. (2013) identificou a presença de compostos no extrato aquoso das folhas por meio de triagem fitoquímica, incluindo taninos, flavonas, triterpenóides, esteroides, saponinas e alcaloides. Além disso o extrato exibiu atividade antidiabética quando cronicamente administrado, sendo esse efeito

relacionado ao produto químico constituinte e ao possível efeito antioxidante da espécie (BARBOSA et al, 2013).

Na investigação fitoquímica do extrato hidroalcoólico das folhas, Peres (2012), revelou a presença de ácidos orgânicos, açúcares redutores, saponinas, catequinas, depsídeos, fenóis, flavonoides, taninos, proteínas, purinas e aminoácidos. Na análise por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), o extrato apresentou majoritariamente flavonoides, com destaque para miricetina. Já em estudo de Barbosa at al. (2006) o extrato hidroalcoólico das folhas, ao ser analisado por e CLAE), associado à espectrometria de massa, apresentou miricetina-3-*O*-glucuronídeo (miricitrina) e quercitrina, entre outros derivados de miricetina minoritários (BARBOSA et al, 2006).

Vargas et al. (2010) extraiu o óleo essencial das folhas por meio de extração supercrítica utilizando CO_2, variando pressão e temperatura, e por meio de hidrodestilação e soxhlet, utilizando etanol como solvente. Por meio deste trabalho foi possível determinar que o melhor resultado utilizando CO_2 supercrítico foi na temperatura de 313,15 K à pressão de 20 kPa, apresentando potencial atividade hipoglicêmica (VARGAS et al, 2010). Dentre os metabólitos identificados na espécie *C. icaco*, Peres (2012), relata que os principais metabólitos identificados são o ácido betulínico, ácido pomólico, miricetina e rutina (FIGURA 6).

Figura 6 – Principais metabólitos secundários relatados de *Chrysobalanus icaco* L..



Fonte: Autoria própria (2021), com adaptações de Peres (2012).

Apesar da quantidade de estudos realizados com a espécie *Chrysobalanus icaco* L., ainda se tem uma escassez de trabalhos recentes acerca das possíveis classes de metabólitos secundários presentes na planta, assim como do seu potencial antioxidante, diante disto, se fazem necessários estudos que visem consolidar o potencial farmacológico dessa espécie vegetal.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Realizar a avaliação fitoquímica e o teor flavonoides totais do extrato etanólico das folhas da espécie *Chrysobalanus icaco* L..

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Coletar a espécie *C. icaco* na cidade de Parnaíba-PI;
- ✓ Produzir a exsicata da espécie *C. icaco* para identificação e registro em herbário;
- ✓ Preparar o extrato etanólico das folhas de *C. icaco*;
- ✓ Avaliar diferentes classes de metabólitos secundários presentes no extrato etanólico por meio da avaliação fitoquímica qualitativa.
- ✓ Determinar o teor de flavonoides totais do extrato etanólico por meio de espectroscopia de UV-Vis;

4 METODOLOGIA

4.1 TIPO DE PESQUISA

O presente trabalho foi baseado na pesquisa explicativa. Esse tipo de pesquisa objetiva a identificação de fatores que contribuem ou determinam certos fenômenos, sendo a mais profunda no que se refere a conhecimentos da realidade, uma vez que elucida a razão de acontecimentos (GIL, 2017). Além disso, é a mais utilizada nas ciências naturais, tendo como instrumento de pesquisa métodos experimentais (GIL, 2017).

4.2 LOCAL DE PESQUISA

A realização das análises requeridos para desenvolvimento da pesquisa ocorreram no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí – campus Parnaíba (IFPI) e na Universidade Federal do Delta do Parnaíba (UFDPar) – Campus Ministro Reis Velloso.

4.3 COLETA DO MATERIAL VEGETAL

O material vegetal, que consistia em folhas e galhos da espécie *Chysobalanus icaco* L., foi coletado no dia 18 de setembro de 2019, na Escola Municipal Roland Jacob (FIGURA 7), inserida na cidade de Parnaíba, situada na região nordeste no estado do Piauí. Tal localidade possui como coordenadas: 2°54'14.8"N 41°46'14.0"L.

Figura 7 – Imagem via satélite do local de coleta do material vegetal.

Fonte: Google Earth, (2021).

Após a coleta, o material vegetal foi levado ao laboratório de química do IFPI-*campus* Parnaíba, sendo partes das folhas e galhos utilizados para a produção da exsicata. A exsicata produzida foi posteriormente encaminhada ao Herbário Delta do Parnaíba (HDELTA) da UFDPar, onde foi realizado o registro e determinação inequívoca do gênero e espécie da planta coletada.

4.4 PREPARAÇÃO DA AMOSTRA

Para a preparação do extrato, as folhas da espécie *Chrysobalanus icaco* L. foram separadas e secas até que a massa ficasse constante. Posteriormente, foram pesadas, apresentando uma massa de 153,18 g. Em seguida, as folhas secas foram trituradas e adicionadas a dois erlemeyers de 1000 mL, para serem extraídas três vezes a temperatura ambiente com 2 L de álcool etílico. O extrato obtido foi concentrado com auxílio de rotaevaporador modelo 802 da FISATOM, a uma temperatura de aproximadamente 50º C. O extrato etanólico das folhas foi pesado e o rendimento obtido conforme a Equação 1.

$$Re = (M_{extrato} / M_{material\ seco}) \times 100\ \% \qquad \text{Eq. 1}$$

Onde:
Re = rendimento (%)
$M_{extrato}$ = massa do extrato final (g)
$M_{material\ seco}$ = massa do material seco (g)

4.5 TESTES FITOQUÍMICOS PARA METABÓLITOS SECUNDÁRIOS

Os testes fitoquímicos para identificação das classes de metabólitos secundários partiram da metodologia descrita por Matos (2009). Para a realização das análises, previamente foi preparada uma solução extrativa, que consistiu em dissolver 0,5 g do extrato obtido em 50 mL de uma solução hidroalcóolica (etanol/água) na proporção de 8:2. Em um tubo ensaio foi colocado 1 mL da solução obtida para ser utilizado como comparativo (branco) em relação aos testes realizados.

4.5.1 Teste para fenóis e taninos

Em um tubo de ensaio, contendo 1 mL da solução hidroalcóolica do extrato, foram colocadas três gotas de uma solução alcoólica de $FeCl_3$, após agitação, observou-se a ocorrência de variação de cor e/ou formação de precipitado em comparativo com o branco. A variação de coloração de azul á vermelho sugere a presença de fenóis. A formação de precipitado com coloração azul escuro, indica a presença de taninos hidrolisáveis, e já com coloração verde, indica a presença de taninos condensados.

4.5.2 Teste para antocianidinas, antocianinas e flavonoides

Em três tubos de ensaio foram adicionados 1 mL da solução hidroalcóolica do extrato. A solução de um dos tubos foi acidulada com HCl (0,1 mol L^{-1}) até atingir pH 3. Os outros dois tubos restantes foram alcalinizados com NaOH (0,1 mol L^{-1}), sendo um até pH 8, e o outro até pH 11. Observou-se a ocorrência de variação de coloração em comparativo com o branco. A presença de antocianinas e antocianidinas é indicativa caso se tenha o surgimento da coloração vermelha em pH 3, lilás em pH 8 e azul-púrpura em pH 11. Já em pH 11, uma variação de coloração para vermelho alaranjado é indicativa de flavonoides.

4.5.3 Teste para catequinas, flavonas e leucoantocianidinas

Os tubos de pH 3 e pH 11 do teste anterior foram aquecidos em banho-maria durante três minutos, sendo observada uma possível variação de coloração. Em pH 3 o surgimento da cor vermelha é indicativo de leucoantocianidinas, já em pH 11, o surgimento da coloração pardo-amarelada é indicativo de catequinas.

4.5.4 Teste confirmatório para leucoantocianidinas

Em um béquer foram adicionados 3 mL da solução hidroalcóolica do extrato, sendo posteriormente submetida ao banho-maria até total evaporação do solvente. O resíduo obtido foi dissolvido em 5 mL de álcool etílico e três gotas de HCl concentrado.

A solução obtida foi transferida para um tudo de ensaio e aquecida em banho-maria, sendo observado o desenvolvimento de coloração, indicando presença de leucoantocianidinas.

4.5.6 Teste confirmatório para diidroflavonois (Ensaio de Pacheco)

Em um béquer foram adicionados 5 mL da solução hidroalcóolica do extrato, sendo posteriormente submetida ao banho-maria até total evaporação do solvente. Ao resíduo obtido foram adicionados cristais de acetato de sódio, 0,5 mL de anidrido acético e 0,5 mL de HCl concentrado. Posteriormente, foi observado o possível desenvolvimento de coloração.

4.5.7 Teste para esteroides e triterpenos (Lieberman-Burchard)

Em um béquer foram adicionados 10 mL da solução hidroalcóolica do extrato, sendo posteriormente submetida ao banho-maria até total evaporação do solvente. Em seguida, o resíduo obtido foi dissolvido com 2 mL de clorofórmio, filtrado e o material consistente no filtro reservado para teste posterior. Em seguida à solução filtrada foram adicionados cristais de Na_2SO_4 anidro, sendo homogeneizada por agitação. Posteriormente a solução foi transferida para um tudo de ensaio e adicionadas três gotas de HCl concentrado, sendo submetida à agitação e o desenvolvimento de cor observado. O surgimento de da coloração azul evanescente seguida de verde constante indica a presença de esteroides livres, já a coloração parda seguida de vermelha é indicativa de triterpenos pentacíclicos livres.

4.5.8 Teste heterosídeos saponínicos

O resíduo obtido por meio da filtração do teste para esteroides e triterpenos foi dissolvido com 10 mL de água destilada. Em seguida a solução foi transferida para um tudo de ensaio e agitada vigorosamente durante 3 minutos. O surgimento de espuma persistente sugere a presença de heterosídeos saponínicos.

4.5.9 Teste para alcaloides

Em um béquer foram adicionados 20 mL da solução hidroalcóolica do extrato, sendo posteriormente submetida ao banho-maria até total evaporação do solvente. O resíduo obtido foi dissolvido em 1 mL de álcool etílico, e posteriormente adicionados 20 mL de HCl (0,1 mol L^{-1}). Em seguida, em dois tubos de ensaios foram adicionados1 mL da solução obtida. O primeiro tubo foi reservado para comparativo. Ao segundo tudo foram adicionadas 2 gotas do reagente Drangendoff (tetraiodeto bismuto de potássio). A formação de precitado ou turvação indica presença de alcaloides.

4.6 TEOR DE FLAVONOIDES TOTAIS

A determinação do teor de flavonoides totais partiu das metodologias descritas por Pozzi (2007) e Sousa et al. (2015), com adaptações.

4.6.1 Preparação das soluções e curva padrão

O teor de flavonoides totais (FLAT) do extrato etanólico das folhas de *C. icaco* foi apurado por meio do método espectroscópico de espectrofotometria de absorção molecular, na região UV-Vis, utilizando uma solução metanólica de $AlCl_3$. Primeiramente, foi preparada uma solução padrão de rutina a 1000 $mg.L^{-1}$, que consistiu na dissolução 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 á 20 (2,5; 5; 7,5; 10; 12,5; 15; 17,5; 20) $mg.L^{-1}$. A solução metanólica de $AlCl_3$ foi preparada dissolvendo-se 1 g em 50 mL de MeOH.

4.6.2 Determinação de flavonoides totais

Inicialmente, a solução mãe foi preparada dissolvendo-se 10 mg do extrato etanólico em 10 mL de metanol, obtendo-se a concentração de 1000 µL/mL. Uma alíquota de 500 µL desta solução foi transferida para balões volumétricos de 10 mL e adicionados 0,5 mL da solução de cloreto de alumínio. Finalmente, a solução teve seu volume acertado para 10 mL com metanol. O branco foi realizado em paralelo,

consistindo em 500 µL da solução mãe em balão de 10 mL, com o volume acertado com metanol.

Após 30 minutos, a absorbância das amostras foi medida a 420 nm utilizando-se cubetas de vidro em espectrofotômetro SP-22 da Biospectro. O teor de flavonoides totais (FLAT) foi determinado usando uma curva analítica de rutina na faixa de 2,5-20 $mg.L^{-1}$, sendo os valores expressos em miligramas de equivalente de rutina por grama de extrato (mg de ER/g de amostra), a partir da Equação 2, sendo a análise realizada em triplicata.

$$y = 0,0342\ x - 0,0263 \qquad R^2 = 0,9948 \qquad \text{Eq. 2}$$

Onde:
y = absorbância
x = concentração
R^2= coeficiente de correlação linear

4.7 TRATAMENTO DOS DADOS

Os resultados obtidos por meio dos testes fitoquímicos foram organizados em tabela, sendo a ausência do metabólito representado por (-), presença fraca ou traços por (+), presença moderada por (++) e presença abundante por (+++). Os dados do teor de flavonoides totais (FLAT) foram tratados com o *software* Excel. Já para desenhar as fórmulas estruturais necessárias foi utilizado o *software* ChemWindow 6.0.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5. 1 IDENTIFICAÇÃO DO MATERIAL VEGETAL

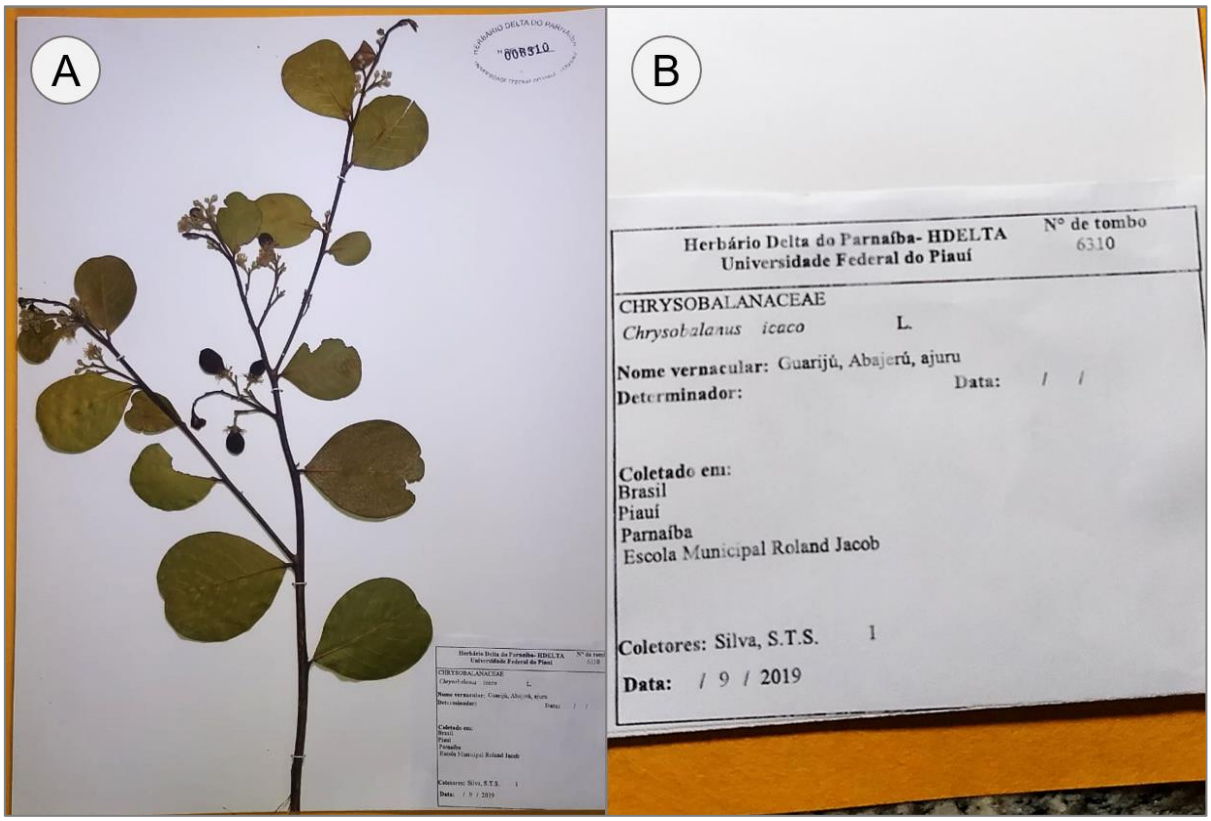
A identificação botânica da planta medicinal em estudo, no âmbito da pesquisa fitoquímica, é de suma importância, uma vez que o efeito terapêutico está relacionado com as características específicas de cada planta (BARBOSA et al., 2001), a. Tal identificação, “consiste na comparação da espécie vegetal em questão com uma espécie existente em uma coleção e/ou com descrições e ilustrações encontradas na literatura” (PERES, p. 68, 2012).

Parte do material vegetal coletado da espécie *Chrysobalanus icaco* L. (FIGURA 8) foi levado ao laboratório de Química do Instituto Federal do Piauí (IFPI) – *campus* Parnaíba, para produção da exsicata. Posteriormente, a exsicata (FIGURA 9A, p. 40) foi encaminhada para o Herbário Delta do Parnaíba (HDELTA) da Universidade Federal do Delta do Parnaíba (UFDPar), onde a espécie vegetal foi identificada e registrada no acervo sob o número de tombamento 6310 (FIGURA 9B, p. 40).

Figura 8 – Espécie *Chrysobalanus icaco L.* coletada na cidade de Parnaíba – PI: arbusto (A), flor (B), frutos e folhas (C).

Fonte: Autoria própria, (2021).

Figura 9 – Exsicata (9A) e registro de identificação (9B) da espécie *Chrysobalanus icaco* L.



Fonte: Autoria própria, (2021).

5.2 RENDIMENTO DO EXTRATO ETANÓLICO

Por meio da preparação do extrato etanólico das folhas secas (158,18 g) de *Chrysobalanus icaco* L. obteve-se um extrato final com a massa de 14,63 g. Partindo da Equação 1 (pag. 33), apresentada no item 4.4, foi possível calcular o rendimento do extrato etanólico, que resultou em 9,55%. São poucos os trabalhos na literatura que apresentam o rendimento dos extratos obtidos com a espécie em questão. Peres (2012) em sua pesquisa obteve um rendimento de 16,24% em relação ao extrato das folhas secas (pó) de *Chrysobalanus icaco* L., partindo de um macerado em solução hidroalcóolica 70%. Oliveira (2012), por meio do extrato aquoso da entrecasca liofilizada, obteve um rendimento de 3,9%.

O presente estudo exibiu um rendimento inferior comparado ao trabalho de Peres (2012), que utilizou a mesma parte da espécie, mas um solvente diferente para extração. Já comparado ao trabalho de Oliveira (2012), que utilizou outra parte da

espécie, apresentou um rendimento superior. Essa diferença de resultados em estudos com a mesma espécie vegetal pode estar relacionada a diversos fatores.

Diferentes técnicas de extração e o tipo de solvente utilizado podem afetar diretamente no rendimento dos extratos, bem como no teor de metabólitos presentes (OLIVEIRA et al., 2016). Como afirma Gouvea, “a presença e a quantidade desses compostos são influenciadas pela carga e expressão genética, pelos processos bioquímicos e fisiológicos da planta além de também sofrerem influências das variáveis ambientais” (GOUVEA, p.1, 2010). Além disso, as diferentes partes de uma espécie vegetal apresentam disparidade de compostos, havendo variabilidade da quantidade de metabólitos, ocasionando valores diferentes de rendimento. Em estudo Santos J. V. (2018), sugere que o rendimento superior das folhas em relação as demais partes da planta, como a entrecasca, está relacionado a quantidade de clorofila.

5.3 AVALIAÇÃO FITOQUÍMICA DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS

A análise fitoquímica preliminar possibilita a indicação de grupos de metabólitos presentes em uma espécie de interesse, podendo ser útil para determinar os constituintes abundantes e mais suscetíveis a caracterização em extratos de vegetais (QUEIROZ, 2009). Seguindo a metodologia de Matos (2009) foi possível analisar qualitativamente a presença de metabólitos secundários no extrato etanólico das folhas de *C. icaco*, sendo os testes baseados em colorimetria, precipitação e surgimento de espuma.

Nos ensaios colorimétricos, a presença de clorofila pode causar o mascaramento dos resultados obtidos, uma vez que o extrato das folhas apresentou uma coloração bem intensa. Por meio dos testes, foi possível sugerir a presença, em diferentes intensidades, de taninos condensados, leucoantocianidinas, esteroides livres, heterosídeos saponínicos e alcaloides, conforme a Tabela 4 (p. 42).

Tabela 4 – Perfil fitoquímico qualitativa do extrato etanólico das folhas da espécie *Chrysobalanus icaco* L.

Classe	Metabólito indicado	Resultado*	Resultado visível
Compostos fenólicos	Fenóis	-	-
	Taninos Hidrolisáveis ou pirogálicos	-	-
	Taninos Condensados ou catéquicos	+ + +	Surgimento da coloração verde escura
	Antocianinas	-	-
	Antocianidinas	-	-
	Flavonoides	-	-
	Leucoantocianidinas	+	Intensificação da coloração para avermelhado
	Catequinas	-	-
	Flavonas	-	-
	Diidroflavonois	-	-
Terpenos	Esteroides livres	+ + +	Surgimento da coloração azul evanescente seguida de verde constante
	Triterpenóides	-	-
	Heterosídeos saponínicos	+	Formação de espuma
Alcaloides	Alcaloides	+ +	Formação de precipitado

Fonte: Autoria Própria, (2021).

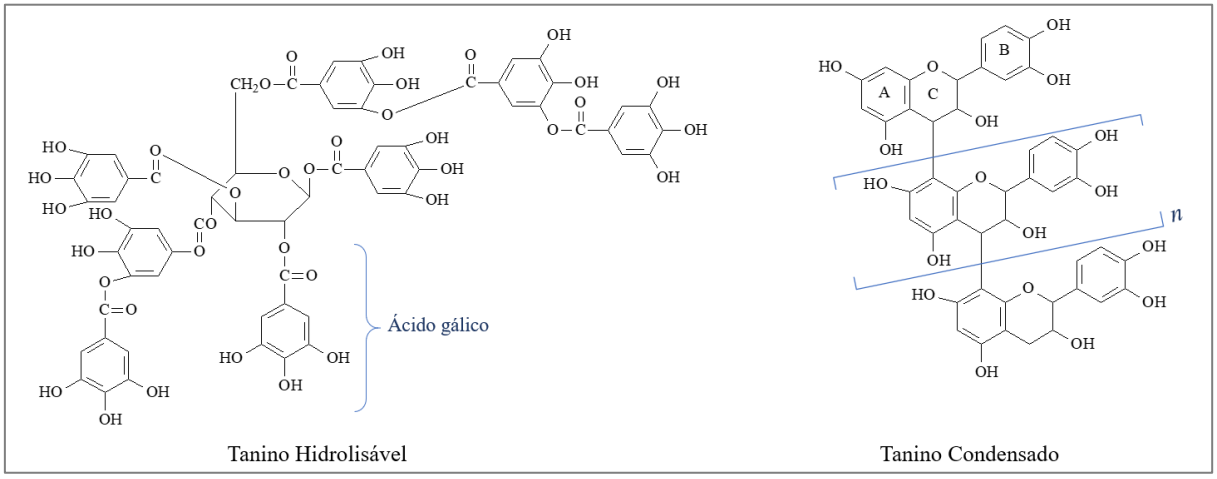
*Resultado: ausência (-); presença fraca ou traços (+); presença moderada (++); presença abundante (+++).

Na literatura, há relados da presença de metabólitos em diferentes extratos das folhas de *C. icaco.* Barbosa et al. (2013), no estudo com o extrato aquoso das folhas, identificou a presença de flavonoides, triterpenóides, esteroides e saponinas, que de acordo com os autores, estão relacionadas as atividades antidiabética e antioxidante. Peres (2012), através da abordagem fitoquímica do extrato hidroalcoólico das folhas, detectou a presença de metabolitos, tais como ácidos orgânicos, saponinas, catequinas, taninos, dentre outros.

5.3.1 Fenóis e Taninos

Os taninos compreendem um grande grupo de substâncias distribuídas no reino vegetal, geralmente encontradas em folhas, frutos ou caules de plantas (MARCHINI, 2015). Tais substâncias podem ser divididas em duas classes segundo sua estrutura química: taninos hidrolisáveis (pirogálicos) e taninos condensados (catéquicos). Os taninos hidrolisáveis são provenientes de ésteres de ácido gálico, sendo caracterizados por um poliol central, em grande maioria β-D-glicose, já os taninos condensados são polímeros provenientes da policondensação de duas ou mais unidades flavan-3-ol e flavan-3,4-diol (FIGURA 10) (MELLO & SANTOS, 2017).

Figura 10 – Estrutura de um tanino hidrolisável, constituído de glicose e oito moléculas de ácido gálico, e estrutura geral de um tanino condensado, onde *n* varia comumente de 1 a 10.



Fonte: Adaptado de Taiz & Zeiger, (2013).

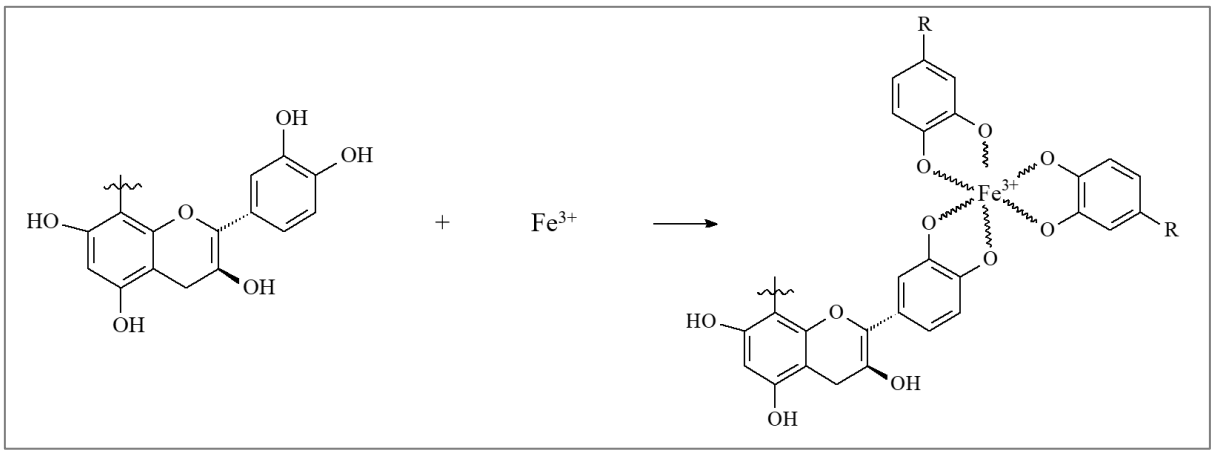
De acordo com Mello e Santos (2017), tais compostos possuem como característica comum a capacidade de se complexar com íons metálicos e com macromoléculas, como proteínas, além de apresentarem atividade antioxidante. O presente teste foi determinado como positivo para taninos condensados nas folhas da espécie estudada. Com a adição de cloreto férrico ($FeCl_3$) à solução hidroalcóolica do extrato, foi possível observar a mudança de coloração, devido a complexação dos polifenóis com a adição do regente, variando a cor para verde escuro em comparação com o teste branco (FIGURA 11, p. 44), sendo o mecanismo da reação proposto na Figura 12 (p. 44).

Figura 11 – Teste positivo para taninos condensados em comparativo com o branco.

Fonte: Autoria própria, (2021).

Espécies vegetais que apresentam taninos podem ser empregadas na medicina popular para o tratamento de diversas doenças, tais como pressão alta, hemorragias, reumatismo, problemas estomacais, além de apresentarem propriedades antioxidante antimicrobiana, antiviral, antifúngica e antisséptica (MONTEIRO, ALBUQUERQUE & ARAÚJO, 2005; MELLO & SANTOS, 2017). Industrialmente os taninos também são empregados no processo de curtimento do couro e na produção de solas (CASTEJON, 2011). Os taninos condensados apresentam maior presença na dieta humana, podendo ser encontrados em frutas e bebidas derivadas (CASTEJON, 2011).

Figura 12 – Sugestão para a reação de complexação entre ferro e taninos.



Fonte: Autoria própria (2021), com adaptações de Wang, Fang e Mallavarapu, (2015).

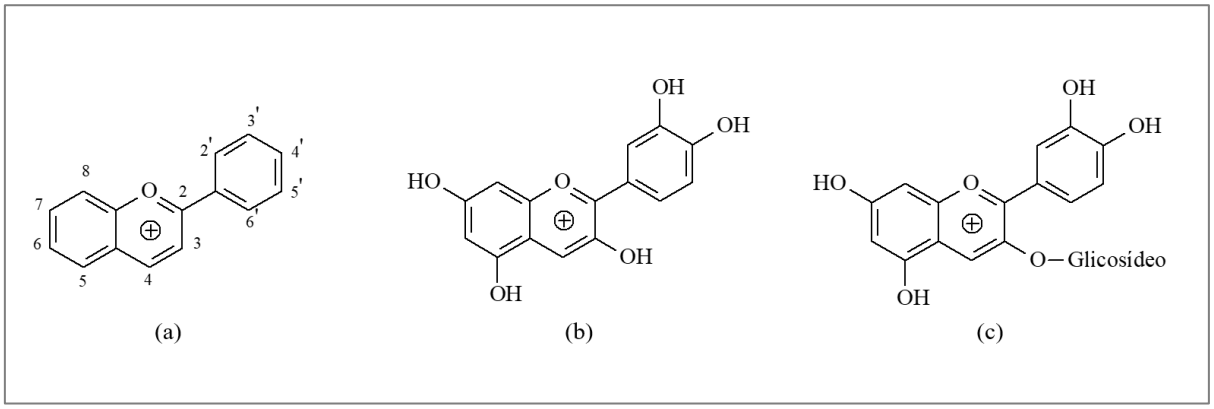
5.3.2 Antocianidinas, antocianinas e flavonoides

A coloração presente em espécies vegetais é em grande parte devido a presença de flavonoides. Esses compostos são sintetizados principalmente a partir de fenilpropanoides, sendo uma importante classe de polifenóis amplamente distribuídos

no metabolismo secundário de espécies vegetais. Diversas funções são atribuídas à presença de flavonoides em espécies vegetais, dentre elas: proteção ultravioleta e visível, atração de animais polinizadores, inibição de enzimas, dentre outras (ZUANAZZI, MONTANHA & ZUCOLLOTO, 2017). Dentre as atividades farmacológicas exercidas, destacam-se ações antiviral, anti-inflamatória, antiespasmódica, antibacteriana, antimutagênicas, diminuição da permeabilidade e fragilidade dos vasos sanguíneos, sendo comumente relacionados a atividade antioxidante. (POZZI, 2007; ZUANAZZI, MONTANHA & ZUCOLLOTO, 2017; COIMBRA, 2019).

De acordo com a formação, podem ser classificados em 10 categorias, sendo estas: antocianidinas, leucoantocianidinas, flavonóis, flavonas, glicoflavonas, biflavonas, chalconas, auronas, flavanonas e isoflavonas (POZZI, 2007). As antocianidinas são uma das classes mais importantes de flavonoides, que possuem como característica um cátion flavílico. Os pigmentos responsáveis pelas colorações vegetais normalmente são antocianinas, que se derivam de antocianididas, diferenciando-se devido a presença de açúcares comumente na posição 3 (MARÇO, POPPI & SCARMINIO, 2008; TAIZ & ZEIGER, 2013). As estruturas do cátion flavílico, antocianidina e antocianina estão apresentadas na Figura 13.

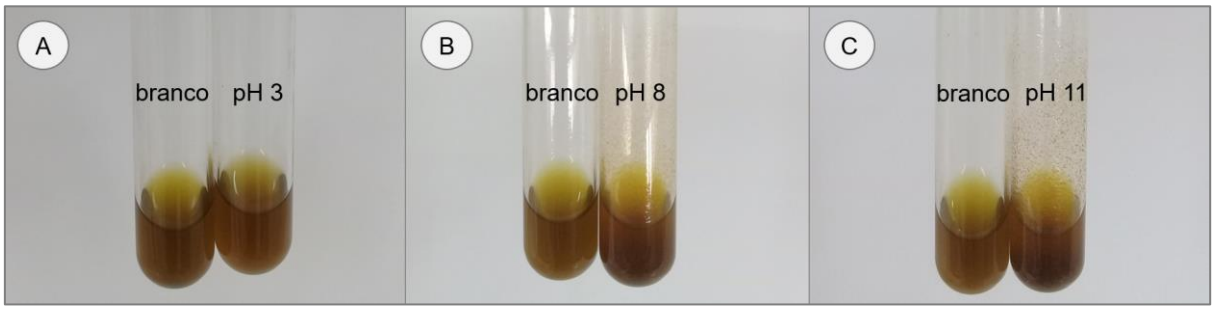
Figura 13 – Estrutura do cátion flavílico (13A), antocianidina cianidina (13B) e antocianina cianidina 3-glicosídeo (13C).



Fonte: Adaptado de Março, Poppi e Scarminio, (2008).

O teste qualitativo para antocianinas, antocianidinas e flavonoides ocorreu por meio da variação do pH e observação da variação de coloração. Como pode se notar na Figura 14 (p. 46), não houve variação de coloração do extrato em meio alcalino ou ácido, sendo o teste determinado como negativo para as classes supracitadas.

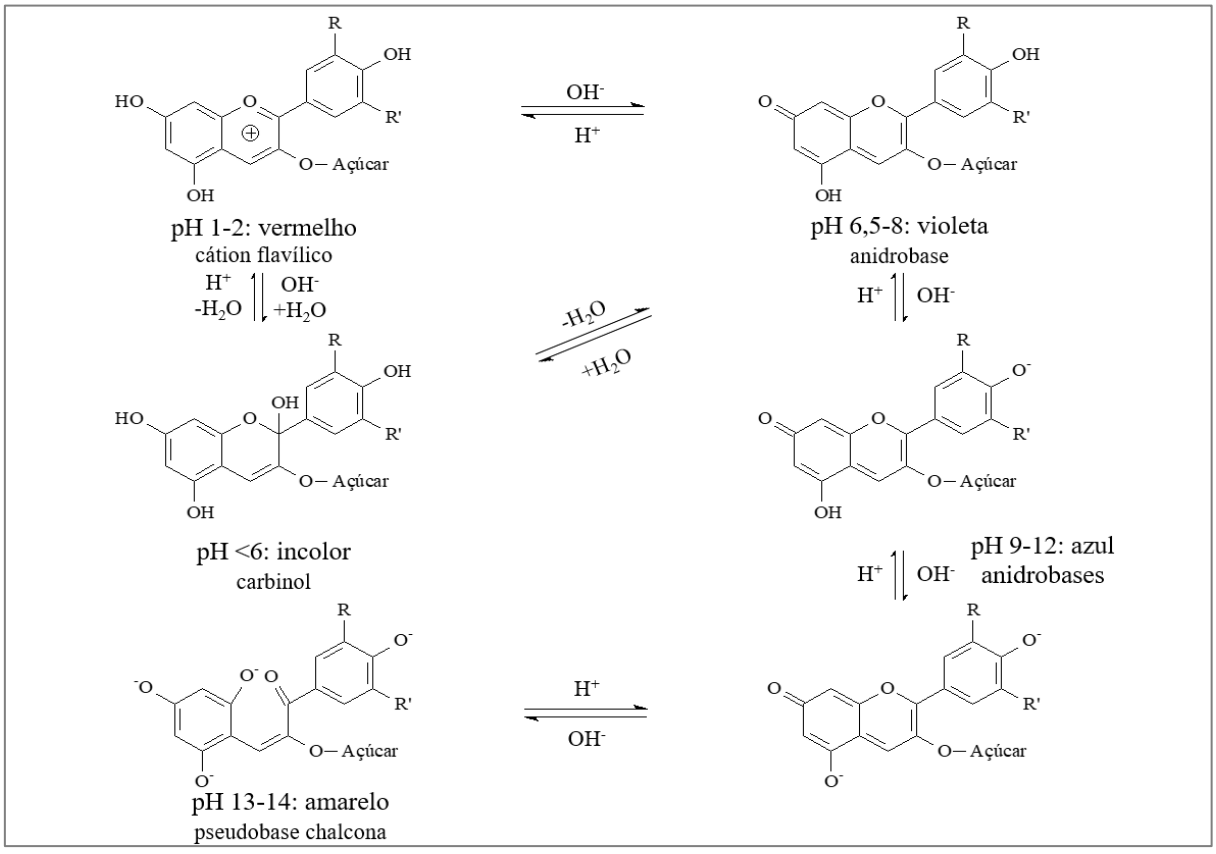
Figura 14 – Teste negativo para antocianidinas, antocianinas e flavonoides, pH 3 (14A), pH 8 (14B) e pH 11 (14C).



Fonte: Autoria própria, (2021).

As antocianinas possuem variação estrutural em função do pH, sendo assim, dependendo do meio podem apresentar diferentes colorações (FIGURA 15) (MARÇO, POPPI & SCARMINIO, 2008). Devido o equilíbrio ácido-base, em valores de pH até 3 as antocianinas apresentam coloração avermelhada proveniente do cátion flavílico, já em pH 8 e 11 é esperado a coloração lilás/violeta e azul, respectivamente, devido a formação de anidrobases (SAMPAIO, 2008).

Figura 15 – Possíveis mudanças estruturais das antocianinas em meio aquoso em função do pH.

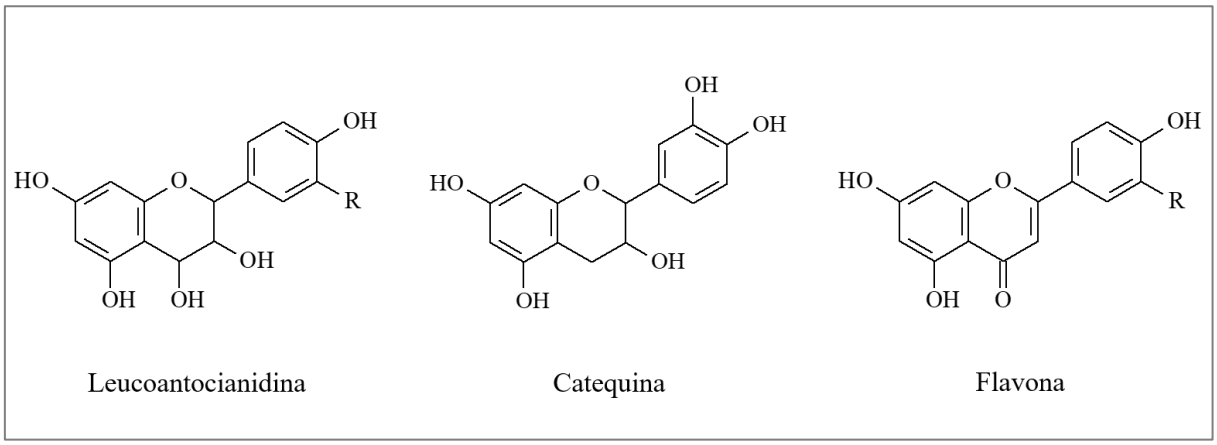


Fonte: Adaptado de Sampaio, (2008).

5.3.3 Catequinas, flavonas e leucoantocianidinas

As catequinas são polifenois que podem exercer diversas atividades biológicas que auxiliam na prevenção de doenças, protegendo o organismo dos efeitos maléficos causados por radicais livres (BARATA et al., 2020). Flavonas podem desempenhar função terapêutica, apresentando potencial como agentes anticancerígenos, antivirais, anti-hemorrágicos (VARGAS-SIMÓN et al. 2000). Já as leucoantocianidinas, são caracterizadas devido sua ação antioxidante hidrossolúvel, chegando a ser mais eficazes que a vitamina E (PEREIRA, 2018). A Figura 16 apresenta a estrutura fundamental de leucoantocianidina, catequina e flavona.

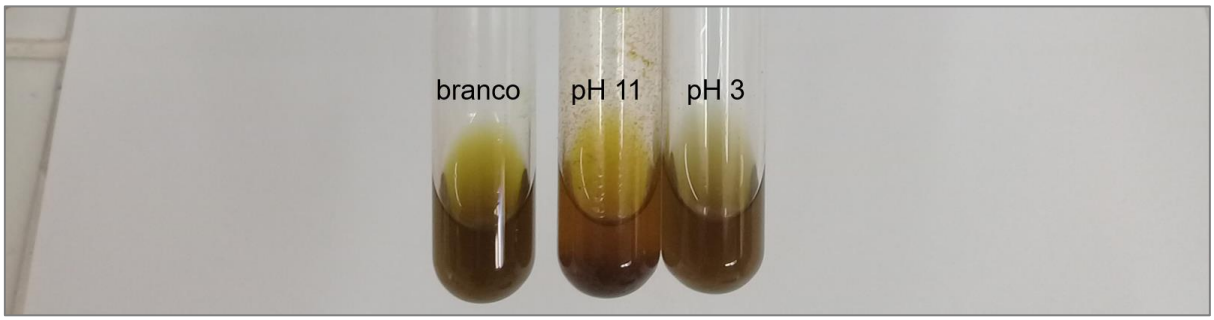
Figura 16 – Estruturas fundamentais de leucoantocianidina, catequinas e flavona.



Fonte: Autoria própria (2021), com adaptações de Pozzi (2007).

No presente trabalho obteve-se resultado negativo para leucoantocianidinas, catequinas e flavonas, não havendo variação de coloração ao se aquecer os tubos de pH 3 e pH 11 (FIGURA 17). Como se trata de um teste colorimétrico, é difícil detectar a presença de tais metabólitos quando estes estão presentes em pouca concentração, uma vez a variação de coloração pode ser mascarada pela cor intensa do extrato.

Figura 17 – Teste negativo para leucoantocianidinas, catequinas e flavonas em pH 11 e pH 3 após aquecimento.



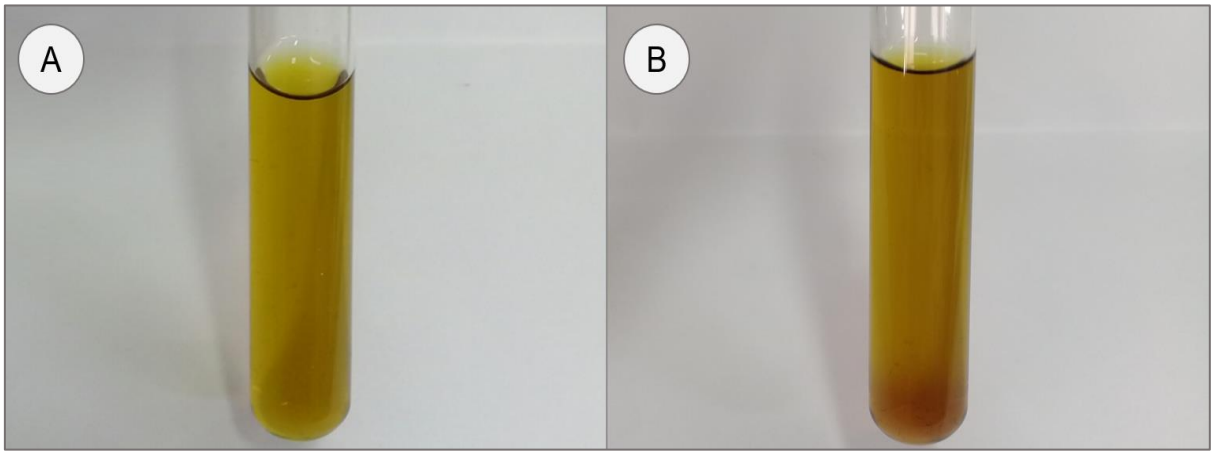
Fonte: Autoria própria, (2021).

5.3.4 Confirmatório para leucoantocianidinas

As leucoantocianidinas são metabólitos pertencentes a classe de flavonoides, conhecidos também como flavan-3,4-dióis (PEREIRA, 2018). Como citado anteriormente no item 5.3.3. (p. 47), apresentam potencial antioxidante significativo, sendo seu principal uso na farmacologia. De acordo com Mello e Santos (2007), a formação de leucoantocianidias ocorre por meio da redução de diidroflavonois, gerando estruturas intermediarias para a formação de outros metabólitos, tais como catequinas, protoantocianidinas e antocianidinas. Comumente em testes fitoquímicos a presença de leucoantocianidinas é evidenciada quando se tem o desenvolvimento da coloração vermelha (HORST, 2018).

O teste do item 5.3.3 (p. 47) foi negativo, sugerindo a ausência desse metabólito no extrato etanólico de *Chrysobalanus icaco L*. Entretanto, o teste confirmatório para leucoantocianidinas evidencia uma possível presença fraca deste metabólito (FIGURA 18), uma vez que é possível notar uma variação de coloração levemente avermelhada. Tal fato explica-se devido às condições nas quais a amostra foi submetida, a concentração do metabólito na amostra, e até mesmo interferentes presentes, como a clorofila, que dificultam a visualização no caso de testes colorimétricos.

Figura 18 – Teste confirmatório positivo para leucoantocianidinas (18B) com leve variação de cor em relação á solução inicial (18A).

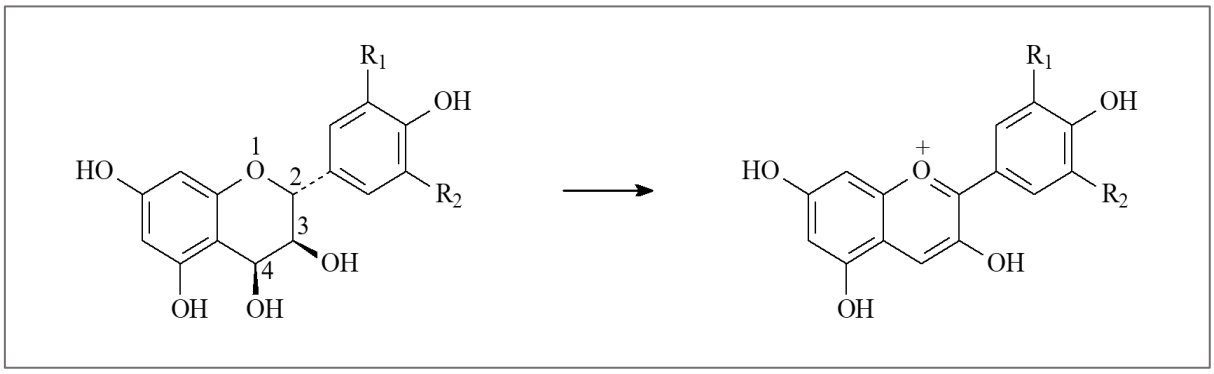


Fonte: Autoria própria, (2021).

A reação para a identificação deste metabólito consiste na transformação da leucoantocianidina à antocianidina (FIGURA 19, p. 49). De acordo com Nakajima (2001), as etapas da reação se baseiam na conversão da leuconantocianidida à 3-

flaven-2,3-diol (pseudoase), que posteriormente é convertida quimicamente em antocianidina (cátion flavílico). O mecanismo da reação envolve a desidrogenação do C-2 e desidratação dos C-3 e C-4, podendo ainda ocorrer glucosilação no grupo hidroxila do C-3, dando origem a antocianina cianidina 3-glicosídeo (NAKAJIMA, 2001; SANTOS J.V., 2018). O surgimento da coloração avermelhada ocorre devido à predominância da forma estrutural do cátion flavílico.

Figura 19 – Reação de conversão de leucoantocianidinas à antocianidina.

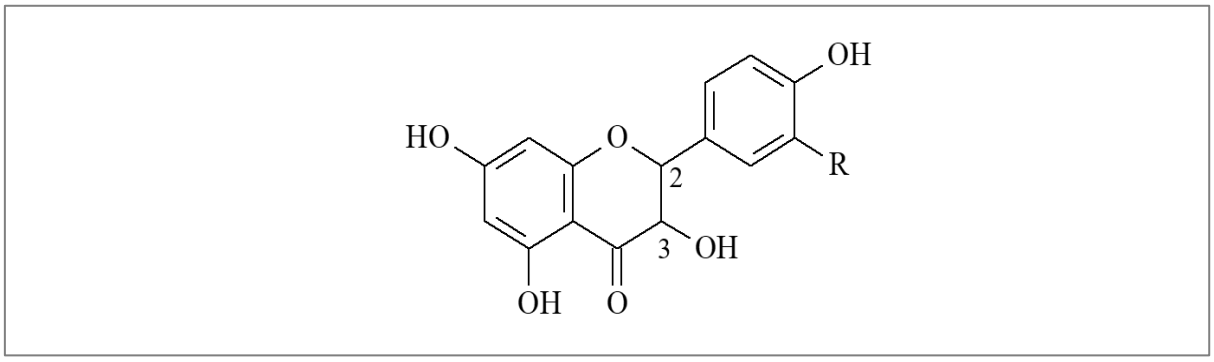


Fonte: Adaptado de Nakajima at al., (2001).

5.3.5 Confirmatório para diidroflavonois

Os diidroflavonois são flavonoides comumente conhecidos por flavanonois (ou 3-hidroxiflavanonas). Possuem como característica ligação simples entre os C-2 e C-3 em seu núcleo fundamental (FIGURA 20), o que os diferem das demais classes de flavonoides, além da presença de um grupo hidroxila no C-3 (MORAIS-DE-SOUZA, 2007; ZUANAZZI, MONTANHA & ZUCOLOTTO, 2017).

Figura 20 – Núcleo fundamental dos diidroflavonois.

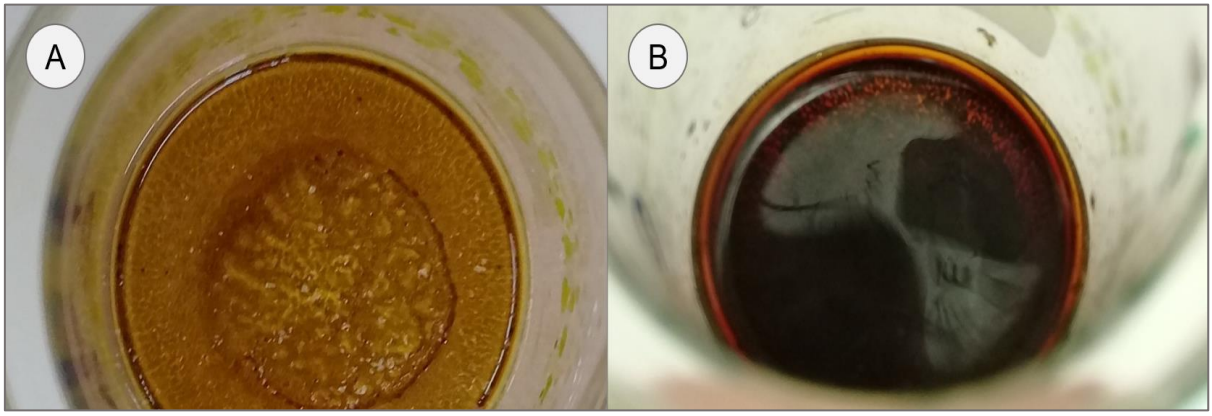


Fonte: Autoria própria, (2021).

O ensaio de Pacheco possibilita a determinação da presença de diidroflavonois em extratos vegetais. O teste, com o extrato etanólico das folhas de *C. icaco*, de início foi determinado como positivo para presença moderada do metabólito, já que foi

possível observar variação de coloração, sendo a resultante final marrom-avermelhado (FIGURA 21). Contudo na metodologia de Matos (2009) não há uma especificação para a coloração almejada, sendo sugestivo que qualquer variação é positiva para presença de diidroflavonois. Entretanto, demais estudos relatam o teste confirmatório diante do surgimento de uma coloração roxa característica, relacionada ao efeito batocrômico (CANSIAN, 2010; OLIVEIRA, 2015), sendo assim, o presente teste foi dado como negativo.

Figura 21 – Resíduo obtido (21A) e teste para diidroflavanóis (21B).



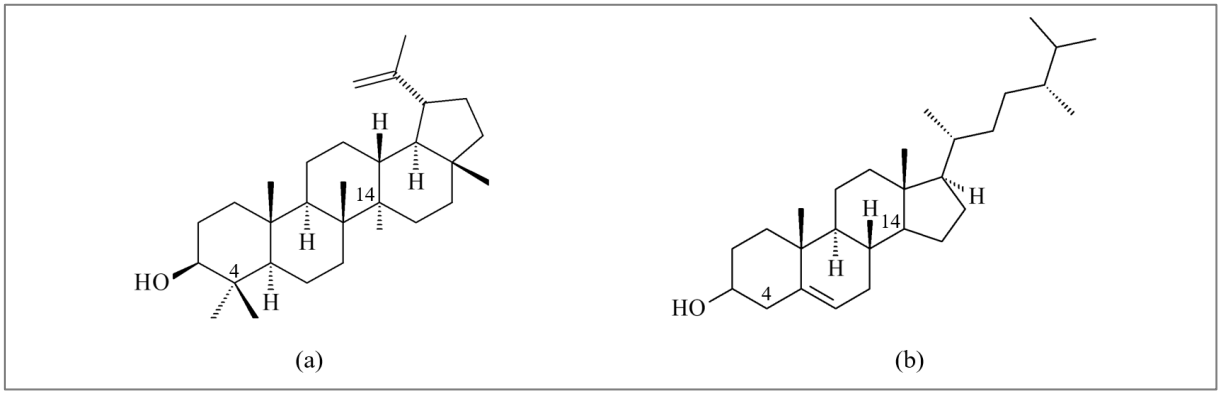
Fonte: Autoria própria, (2021).

5.3.6 Esteroides e Triterpenos

Dentre as subclasses de terpenos encontram-se os triterpenos. Tais substâncias, de acordo com García e Carril (2009), derivam-se da ciclização do esqualeno, que possui uma estrutura de cadeia linear com 30 carbonos. São diversos os estudos sobre triterpenos, comumente relacionados às atividades biológicas exercidas por estes metabólitos, podendo ser empregados como anticonvulsionante, antidepressivo, sedativo, anti-inflamatório, analgésico e antitumoral (FELIU, 2011; BESSA et al., 2013).

Os esteroides são provenientes de triterpenos, possuindo como diferença a perda de três metilas nos C-4 e C-14 da estrutura terpênica (DEWICK, 2008) (FIGURA 22, p. 51). O colesterol é o esteroide mais abundante em animais, podendo também estar presente em plantas, mesmo que em traços, sendo essa a razão pela qual os óleos vegetais são denominados de "esteroides livres" (GARCÍA E CARRIL 2009).

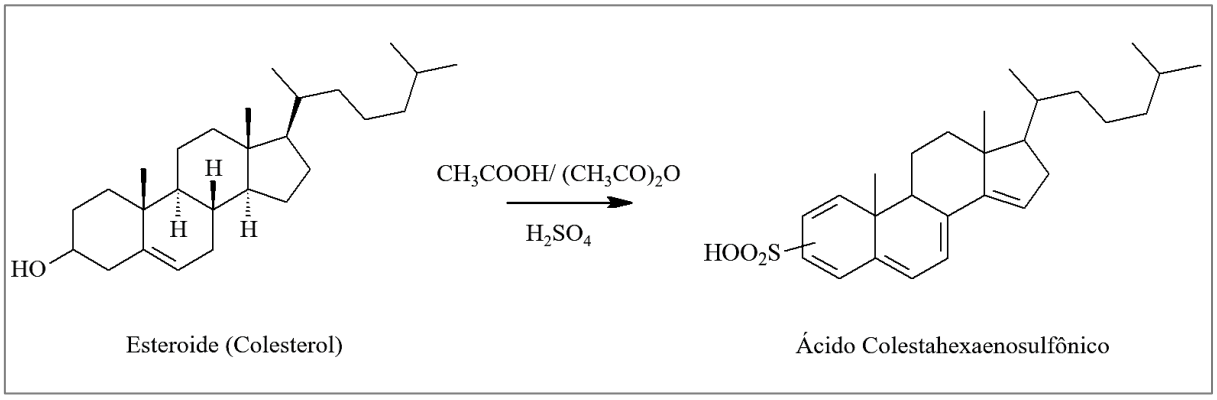
Figura 22 – Fórmula estrutural do triterpeno lupeol (A) e do esteroide campesterol (B).



Fonte: Adaptado de Feliu, (2011).

Um dos principais testes para terminação de esteroides baseia-se na reação de Liebermann-Burchard. De acordo com Adu et al. (2019), este é um método simples, sensível e específico para tais metabólitos. A reação se dá por meio do tratamento da amostra com anidrido acético e ácido sulfúrico, o que faz com que haja desidratação seguida de oxidação dos anéis ciclopentanoperidrofenantreno, ocorrendo a formação de um esteróide aromático (FIGURA 23), evidenciado pelo surgimento da coloração azul-esverdeada (QUEIROZ, 2009).

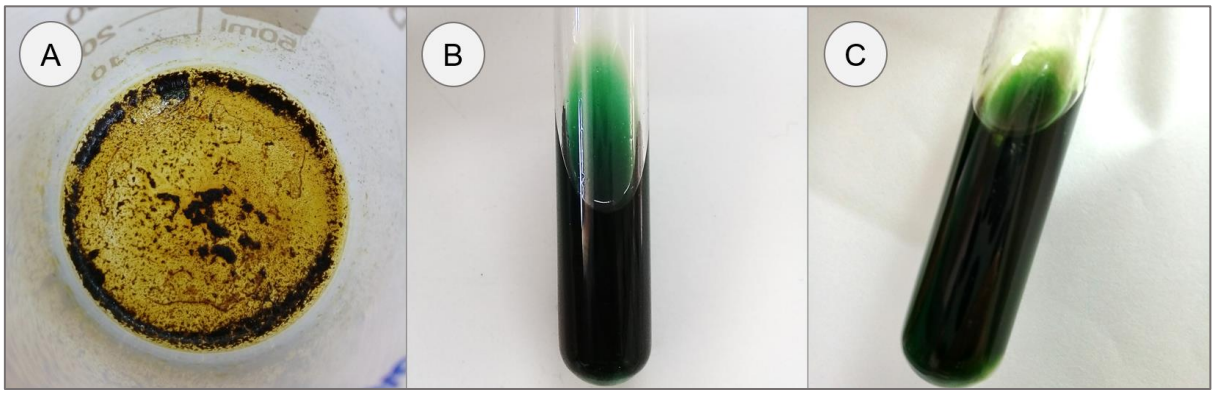
Figura 23 – Proposta para reação de derivação de um esteroide, como exemplo o colesterol, através da reação Liebermann-Burchard.



Fonte: Adaptado de Adu et al., (2019).

O teste realizado com o extrato etanólico das folhas de *C. icaco* apresentou resultado positivo para esteroides livres, tendo variação de coloração de azul-evanescente para um verde constante (FIGURA 24, p. 52). Os esteroides são comumente relacionados ao desenvolvimento e controle do sistema reprodutor humano, sendo cardiotônicos, precursores de vitamina D, anticoncepcionais, agentes antiinflamatórios e anabolizantes (BESSA et al., 2013).

Figura 24 – Resíduo obtido (23A) e a variação da coloração de azul-evanescente (22B) para verde constante (23C).

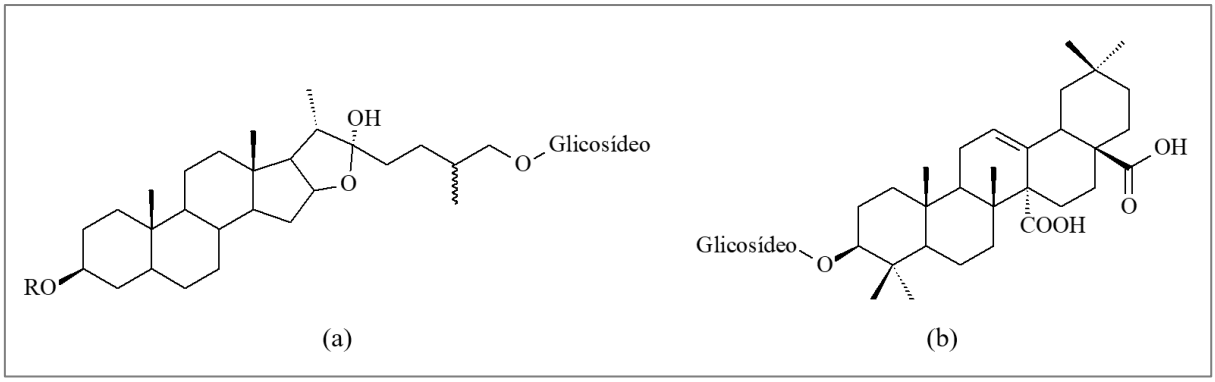


Fonte: Autoria própria, (2021).

5.3.7 Heterosídeos saponínicos

Os heterosídeos saponínicos, também conhecidos como saponinas, são metabólitos comumente encontrados no reino vegetal que desempenham papel relevante na defesa das espécies. De acordo com Athayde et al. (2017), podem ser classificados como saponinas esteroidais e triterpênicas (FIGURA 25). Possuem como característica a formação de espuma, quando em solução aquosa, apresentando ação emulsificante, além de formarem complexos com esteroides, proteínas e fosfolipídios de membranas, o que possibilita diversas ações biológicas (CASTEJON, 2011; ATHAYDE et al., 2017).

Figura 25 – Núcleos comuns de saponinas esteroidais (A) e saponinas triterpênicas (B).

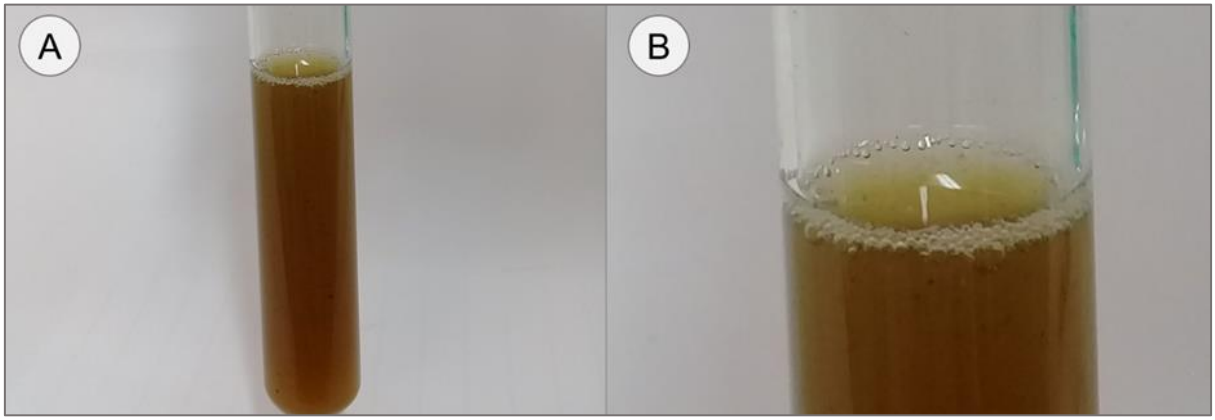


Fonte: Adaptado de Hamerski et al. (2005) e Athayde et al. (2017).

Os ensaios para a detecção de saponinas podem ser realizados diante das propriedades químicas e físico-químicas, e da diminuição da tensão superficial e/ou

pela ação hemolítica (ATHAYDE et al., 2017). O presente teste detectou a presença fraca deste metabólito, uma vez que pouca espuma permaneceu constante, como apresentado na Figura 26. Segundo Taiz e Zeiger (2013), por possuírem na mesma molécula elementos lipofílicos (esteroides ou triterpenos) e hidrofílicos (glicosídeos), as saponinas apresentam propriedades detergentes, o que ocasiona a formação de espuma quando misturadas à água.

Figura 26 – Teste fracamente positivo para a presença de heterosídeos saponínicos (25A e 25B).



Fonte: Autoria própria, (2021).

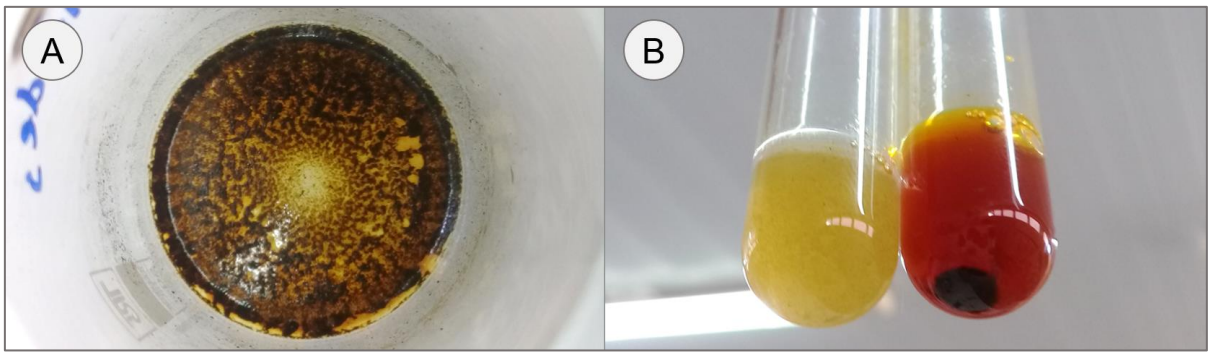
Normalmente saponinas são utilizadas como expectorantes e diuréticos, sendo importantes para a ação de drogas de origem vegetal. Podem ser empregadas em cosméticos e em produtos alimentícios, como como adjuvantes na produção de vacinas, e como matéria-prima para a semissíntese de hormônios esteroides (ATHAYDE et al., 2017). De acordo com Taiz e Zeiger (2013), podem apresentar toxicidade, estando relacionada à formação de complexos com esteroides, o que ocasiona interferência na absorção desses compostos ou desorganização das membranas celulares. As saponinas triterpênicas apresentam potencial medicinal, como glicirrizina (atividade corticóide e antiflamatória) e asisticosídeos (ação eficaz no tratamento da lepra) (DEWICK, 2009). Na alimentação humana, as saponinas esteroidais são amplamente encontradas, em alimentos como aveia, feijão, soja, berinjela, dentre outros (CASTEJON, 2011; FELIU, 2011).

5.3.8 Alcaloides

Como descrito anteriormente, no item 2.2.1 (p. 21), as funções terapêuticas dos alcaloides estão relacionadas ao sistema nervoso, podendo ser empregados como

analgésicos, sedativos e estimulantes (TAIZ & ZEIGER, 2013; SILVA, 2014). Taiz e Zeiger (2013) afirmam que, muitos desses metabólitos são alcalinos, apresentando o átomo de nitrogênio protonado entre valores de pH 5 a 7,2, o que ocasiona uma carga positiva e em geral solubilidade em água, sendo assim, hidrossolúveis. Na sua forma básica, os alcaloides são poucos solúveis em água e em solventes de alta polaridade (KLEIN-JÚNIOR & HENRIQUES, 2017). O teste detectou a presença de alcaloides no extrato etanólico das folhas de *C. icaco*, sendo evidenciada pela a formação de precipitado (FIGURA 27).

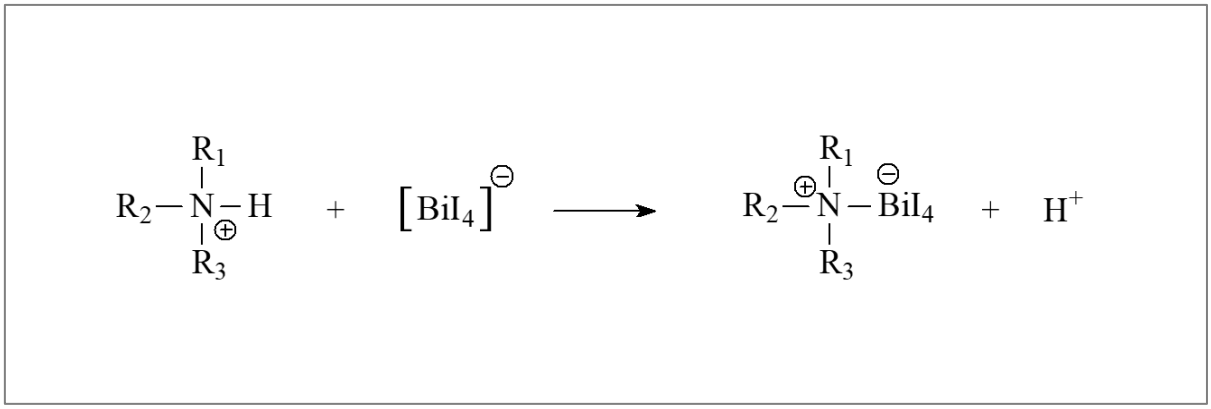
Figura 27 – Resíduo obtido (25A) e teste positivo com formação de precipitado (25B).



Fonte: Autoria própria, (2021).

As reações para identificação qualitativa de alcaloides (FIGURA 28) se baseiam na formação de precipitados (complexos insolúveis), quando a adicionado um regente, comumente o Dragendorff, à amostra (PAULA, 2015). Como afirma Oliveira (2015), tais metabólitos são estruturalmente diversificados, o que confere diversas possibilidades de ação, apresentando assim, potencial para o desenvolvimento de novas drogas e descoberta de moléculas para fins terapêuticos.

Figura 28 – Reação de precipitação de alcaloides com reagente de Drangedorff.



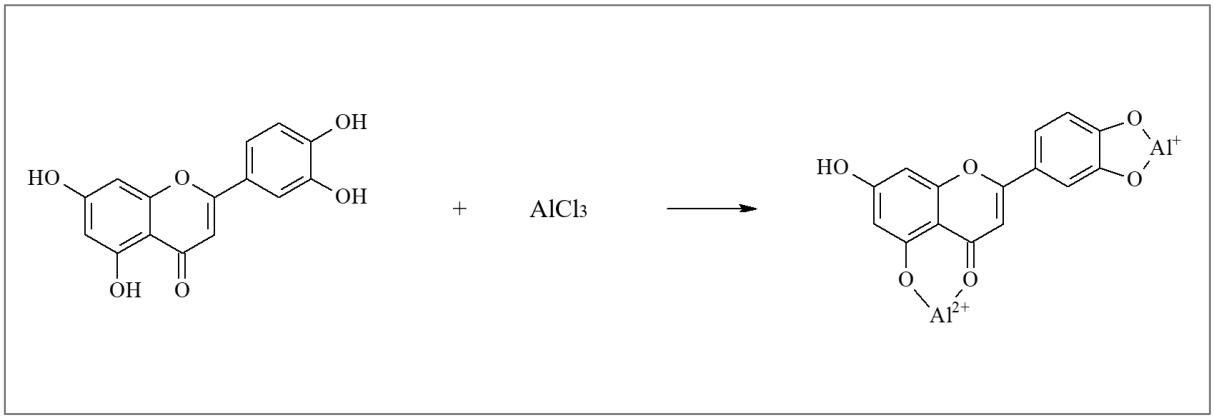
Fonte: Adaptado de Santos, J. V. S., (2018).

5.4 TEOR DE FLAVONOIDES TOTAIS

Os flavonoides apresentam ampla distribuição entre as espécies vegetais. De acordo com Coimbra (2019), devido as suas propriedades são indispensáveis nas mais diversas aplicações nutricionais, farmacêuticas, medicinais e cosméticas. Participam da captura e neutralização de espécies oxidantes, além de se ligarem a íons metálicos, que podem atuar como catalizadores na produção de radicais livres. (ZUANAZZI, MONTANHA & ZUCOLLOTO, 2017).

De acordo com Pozzi (2007), umas das técnicas comumente utilizadas para determinação de flavonoides totais é a análise da absorção por espectroscopia de UV-Vis, utilizando-se uma curva de calibração externa, comumente de rutina ou quercetina.Tal análise se fundamenta na formação de um complexo entre o flavonoide e um íon metálico, normalmente o Al^{3+} (FIGURA 29), ocasionando um desvio para comprimentos de onda maiores e uma intensificação da absorção quando analisado por UV-Vis (QUEIROZ, 2009; POZZI, 2009). Sendo assim, determina-se o teor de flavonoides totais sem interferência de outras substâncias fenólicas, uma vez que estas apresentam comprimentos de ondas inferiores quando comparados com o do complexo flavonoide-Al (HORST, 2008; QUEIROZ, 2009).

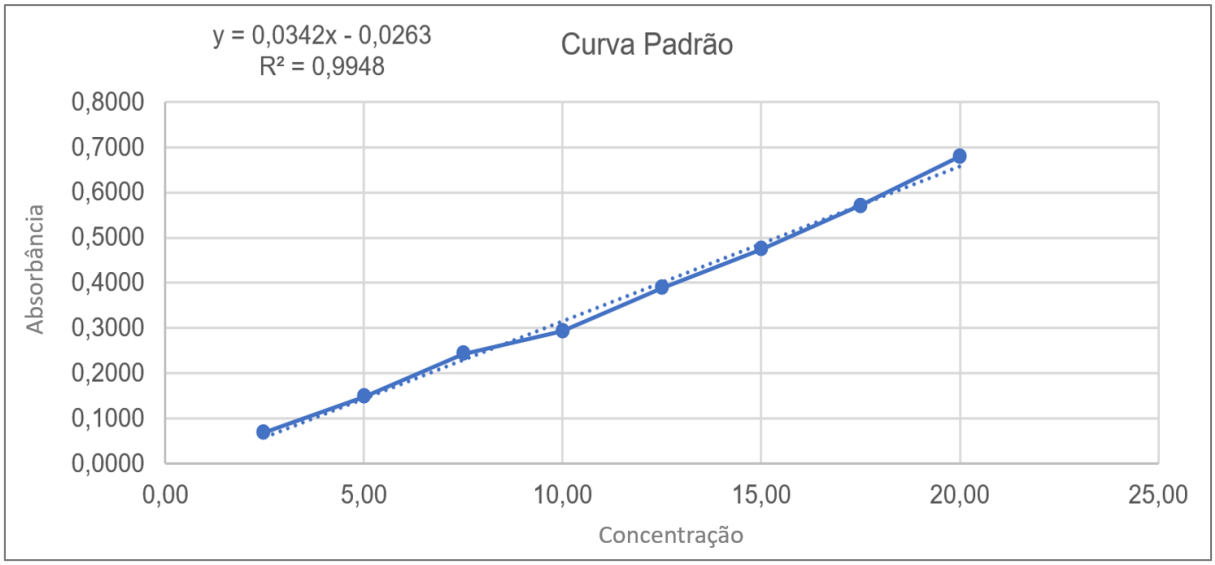
Figura 29 – Proposta para a reação entre flavonoide com cloreto de alumínio para a formação do complexo flavonoide–Al.



Fonte: Adaptado de Horst, (2008).

A curva de calibração para a determinação da concentração de flavonoides totais, presentes no extrato etanólico das folhas de *Chrysobalanus icaco* L., foi feita com concentrações de rutina de 2,5 à 20 $mg.L^{-1}$, apresentando as absorbâncias obtidas no Gráfico 1 (p. 56). O coeficiente de correlação linear obtido na construção da curva foi $R^2 = 0,9948$, sendo a equação $y = 0,0342\ x – 0,0263$.

Gráfico 1 – Curva de calibração em relação a rutina.



Fonte: Autoria própria, (2021).

Os cálculos para a concentração de flavonoides totais presentes no extrato das folhas, foram efetuados utilizando a equação resultante da curva de calibração com o padrão e os resultados expressos em miligrama de equivalentes de rutina por grama de amostra (mg ER/g), sendo os valores de concentração apresentados na Tabela 5. Como resultado, foi possível determinar um teor de 106,61 ± 1,01 mg ER/g de flavonoides presentes no extrato etanólico das folhas da espécie *C. icaco.*

Tabela 5 – Análise em triplicata da leitura em espectrofotômetro do extrato etanólico de *Chryscobalanus icaco* L.

Análises	ABS	CONC (mg/L)	FLAT (mg ER/g)
1	0,157	5,36	107,19
2	0,154	5,27	105,44
3	0,157	5,36	107,19
Média	0,1560	5,33	106,61
Desvio Padrão	± 0,0017	± 0,05	± 1,01

Fonte: Autoria própria, (2021).

De acordo com Peres (2012), há relatos da identificação de flavonoides na espécie, sendo a miricetina (FIGURA 6, p. 30), um possível marcador taxonômico. Em estudo do mesmo, foi relatado a presença de flavonoides no extrato hidroalcóolico das folhas da espécie, utilizando-se de uma abordagem fitoquímica (PERES, 2012). Port's et al. (2013) relatam, por meio do método espectrofotométrico á 510 nm, o teor de flavonoides de 6.64 ± 1.08 (mg CE/g) na espécie *Chrysobalanus icaco L.*, utilizando a

catequina como padrão. Plantas que possuem flavonoides são utilizadas amplamente devido suas ações terapêuticas (ZUANAZZI, MONTANHA & ZUCOLLOTO, 2017).

6 CONCLUSÃO

A produção da exsicata possibilitou a identificação da espécie *Chrysobalanus icaco* L. coletada na cidade de Parnaíba-PI, sendo registrada sob o número de tombo 6310 no Herbário Delta do Parnaíba (HDELTA) da Universidade Federal do Delta do Parnaíba (UFDPar). O extrato etanólico apresentou um rendimento de 9,55%, abaixo do que foi relatado na literatura, entretanto há uma quantidade escassa de trabalhos que elucidem o rendimento de extratos etanólicos e demais tipos extratos da espécie.

A avaliação fitoquímica qualitativa possibilitou a detecção das principais classes de metabólitos secundários do extrato etanólico das folhas da espécie, apresentando um perfil fitoquímico condizente com o existente na literatura. Por meio dos testes foi sugerida a presença de taninos condensados, leucoantocianidinas, esteroides livres, heterosídeos saponínicos e alcaloides. O teste para taninos condensados apresentou presença abundante, em comparação com os demais. É valido ressaltar que a presença de interferentes nas folhas da espécie vegetal, como a clorofila, dificulta a determinação qualitativa dos metabólitos, principalmente se estes estão presentes em baixas concentrações, visto que a maioria dos testes partiram de variações colorimétricas.

Por meio de espectroscopia de UV-Vis foi determinado um teor de 106,61 $\pm$ 1,01 mg ER/g de flavonoides presentes no extrato etanólico das folhas da espécie *Chrysobalanus icaco* L. São poucos os relatos na literatura que apresentam o teor de flavonoides presentes na espécie, principalmente relacionados às folhas e/ou ao extrato utilizando etanol como solvente.

Este é um dos poucos estudos que relata o perfil fitoquímico e o teor de flavonoides do extrato etanólico das folhas de *Chrysobalanus icaco* L., sendo assim, os resultados obtidos podem colaborar com o conhecimento da espécie, uma vez que os trabalhos sobre ainda são escassos, além de possibilitar o direcionamento para novas pesquisas.

7 PERSPECTIVAS FUTURAS

Diante dos poucos estudos de cunho farmagnóstico com a espécie *Chrysbalanus icaco* L., futuramente pretende-se:

- ✓ Complementar a avaliação fitoquímica das folhas com testes para demais classes de metabólitos e utilizar outras metodologias de análise fitoquímica.
- ✓ Realizar a avaliação fitoquímica e teor de flavonoides totais do caule;
- ✓ Avaliar as atividades antioxidante, citotóxica e microbiológicas dos extratos das folhas e caule.

REFERÊNCIAS

ADU, J. K.; AMENGOR, C. D. K.; KABIRI, N.; ORMAN, E.; PATAMIA, S. A. G.; OKRAN, B. K. Validation of a Simple and Robust Liebermann–Burchard Colorimetric Method for the Assay of Cholesterol in Selected Milk Products in Ghana. **International Journal of Food Science**, p. 1-7, 2019.

AGUIAR, T. M**. Caracterização química e física de folhas, frutos e sementes do bajuru (*Chrysobanalus icaco* L.) e avaliação do chá dessas folhas em camundongos (*swiss*) normais e diabéticos**. Dissertação (Mestrado em Ciências), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – Seropédica, RJ. p. 85, 2010.

AGUIAR, T. M.; SABAA-SRUR, A. U. O.; SAMICO, G. F. Potencial nutritivo e características físicas e químicas do abajeru. **Pesquisa Agropecuária Tropical**. Goiânia, v. 41, n. 1, p. 102-109, 2011.

ALMEIDA, D. F. L. S. **Estudo das Vias Metabólicas das Plantas na Síntese de Pigmentos Naturais**. Projeto de Pós Graduação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Fernando Pessoa Faculdade de Ciências da Saúde – Porto. 2017.

ALVES, C. Q.; BRANDÃO, H. N.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P.; LIMA, L. S. Avaliação da atividade antioxidante de flavonoides. **Diálogos & Ciência**. n. 12, 2007.

ALVES, C. Q.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P.; BAHIA, M. V.; AGUIAR, R. M. Métodos para determinação de atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos. **Química Nova**, v. 33, n. 10, p. 2202-2210, 2010.

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Ministério da Saúde. **Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 26, de 13 de maio de 2014**. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos e o registro e a notificação de produtos tradicionais fitoterápicos. ANVISA, 13 de maio de 2014.

ATHAYDE, M. T.; TAKETA, A. T. C.; GOSMANN, G.; SCHENKEL, E. P. Saponinas. In.: **Farmacognosia:** do produto natural ao medicamento. SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. – Porto Alegre: Artmed. 2017, Cap. 19.

BARATA, A. C.; ANTUNES, N. T. B.; PAIVA, R. C.; NOGUEIRA, R. P.; NUNES, J. S.; FREITAS, O. S. P. Análise fitoquímica e potencial alelopático do extrato etanólico das folhas de *Protium calendulinum* (Burseraceae) na germinação de *Lactuca sativa*. **Diversitas Journal**. v.5, n. 4, p. 2660-2675, 2020.

BARBOSA, A. P. O.; SILVEIRA, G. O.; MENEZRS, I. A. C.; REZENDE NETO, J. M.; BITENCURT, J. L. C.; ESTAVAM, C. S.; LIMA, A. C. B.; THOMAZZI, S. M. GUIMARÃES, A. G.; QUINTANS-JUNIOR, L. J.; SANTOS, M. R. V. Antidiabetic Effect of the Chrysobalanus icaco L. Aqueous Extract in Rats**. Journal of medicinal food.** v. 16, n. 6, p. 538–543, 2013.

BARBOSA, W. L. R.; PERES, A.; GALLORI, S.; VINCIERI, F. F. Determination of myricetin derivatives in Chrysobalanus icaco L. (Chrysobalanaceae). **Brazilian Journal of Pharmacognosy.** v. 16, n. 3, p. 333-337, 2006.

BARBOSA, W.L.R.; GUIGNARD, E.; TAVARES, I. C. C.; PINTO, L. N.; OLIVEIRA, L. Q.; OLIVEIRA, R. M. Manual para a Análise Fitoquímica e Cromatográfica de Extratos Vegetais. **Revista Cientifica da UFPA**, Belém-PA, 2001.

BARONE, R. P.; KNITTEL, D. K.; OOKA, J. K.; PORTER, L. N.; SMITH, N. T.; OWENS, D. K. The Production of Plant Natural Products Beneficial to Humanity by Metabolic Engineering. **Current Plant Biology**. 2019.

BECKER, M. M.; NUNES, G. S.; RIBEIRO, D. B.; SILVA, F. E. P. S.; CATANANTE, G.; MARTY, J. L. Determination of the Antioxidant Capacity of Red Fruits by Miniaturized Spectrophotometry Assays. **Journal the Brazilian Chemical Society**, v. 30, n. 5, p. 1108-1114, 2019.

BERGAMASCHI, K. **Capacidade antioxidante e composição química de resíduos vegetais visando seu aproveitamento**. Dissertação (Mestrado em Ciências). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo – Piracicaba. p. 96, 2010.

BERNARDES, L. S. C.; LANG, K. L.; PETROVICK, P. R.; SCHENKEL, E. P. Produtos naturais e o desenvolvimento de fármacos. In.: **Farmacognosia:** do produto natural ao medicamento. SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. – Porto Alegre: Artmed. 2017, Cap. 9.

BESSA, N. G. F. D.; BORGES, J. C. M.; BESERRA, F. P.; CARVALHO, R. H. A.; PEREIRA, M. A. B.; FAGUNDES, R.; CAMPOS, S. L.; RIBEIRO, L. U.; QUIRINO, M. S.; CHAGAS JUNIOR, A. F.; ALVES, A. Prospecção fitoquímica preliminar de plantas nativas do cerrado de uso popular medicinal pela comunidade rural do assentamento vale verde – Tocantins. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 15, n. 4, p. 692-707, 2013.

BRITO, E. S. D.; ARAÚJO, M. C. P.; ALVES, R. E.; CARKEET, C.; CLEVIDENCE, B. A.; NOVOTNY, J. A. Anthocyanins present in selected tropical fruits: acerola, jambolão, jussara, and guajiru. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 23, p. 9389-9394, 2007.

CANSIAN, F. C. **Estudo Fitoquímico e Atividades Biológicas da Espécie Tynanthus micranthus Corr. Méllo (Bignoniaceae).** Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Federal do Paraná – Curitiba, p. 101, 2010.

CARLOS, L. A. **Alcaloides de Rauvolfia grandiflora e de Rauvolfia mattfeldiana (Apocynaceae).** Tese (Doutorado em Produção Vegetal) – Universidade Estadual do Norte Fluminense – Rio de Janeiro. p. 173, 2007.

CASTEJON, F. V. **Taninos e Saponinas**. Seminário (Disciplina de Seminários Aplicados), Universidade Federal de Goiás – Goiânia. p. 29, 2011.

CAVARSAN, E. C. M. **Avaliação da atividade antioxidante de plantas coletadas na floresta amazônica e na mata atlântica**. Dissertação (Mestrado em Patologia Ambiental e Experimental), Universidade Paulista – São Paulo, p. 143, 2015.

COIMBRA, E. Q. **Composto fenólicos totais, flavonoides e atividade antioxidante de extratos metanólicos de *Senna rugosa***. Monografia (Bacharelado em Biotecnologia), Universidade Federal de Uberlândia – Minas Gerais, p. 27, 2019.

CUNHA, A. L.; MOURA, K. S.; BARBOSA, J. C.; SANTOS, A. F. Os metabólitos secundários e sua importância para o organismo. **Diversitas Journal**. Santana do Ipanema – Alagoas. v. 1, n. 2, p. 175-181, 2016.

DEWICK, P. M. **Medicinal natural products:** a biosynthetic approach. Wiley. 3ª ed. 2008.

FALEIRO, M. V.; SILVA, W. C.; NASCIMENTO, M. S. M. A.; ARRUDA, A. S.; MARQUES, N. E. Cultivo e uso das plantas medicinais tradicionais na comunidade Ipamerina, Goiás. In: **Produção e controle de produtos naturais**. PIOVESAN, N; VIERA, V. B. – Ponta Grossa (PR): Atena Editora, 2018.

FELIU, D. A. **Análise de terpenóides de espécies de *Croton* sect. *Lamprocoton* (Mull. Arg.) Pax (Euphorbiaceae)**. Dissertação (Mestrado em Ciências), Universidade de São Paulo – São Paulo. p. 117, 2011.

FERNANDES, J. CASTILHO, R. O.; COSTA, M. R.; WAGNER-SOUZA, K.; KAPLAN, M. A. C.; GATTASSA, C. R. Pentacyclic triterpenes from Chrysobalanaceae species: cytotoxicity on multidrug resistant and sensitive leukemia cell lines. **Cancer Letters**. p.165-169, 2003.

FERREIRA, R. M. A.; FERNANDES, P. L. O.; FONTES, L. O.; RODRIGUES, A. P. M. S.; SILVA, L. T. Antioxidantes e sua importância na alimentação. **Revista Verde de agroecologia e desenvolvimento sustentável.** (Mossoró – RN – Brasil) v. 5, n. 5, p. 26-30, 2010.

FERREIRA-MACHADO, S. C.; RODRIGUES, M.P.; NUNES, A.P.M.; DANTAS, F.J.S.; MATTOS, J.C.P.; SILVA, C.R.; MOURA, E.G.; BEZERRA, R.J.A.C.; CALDEIRA-DE-ARAUJO, A. Genotoxic potentiality of aqueous extract prepared from Chrysobalanus icaco L. leaves. **Toxicology Letters**. p. 481-487, 2004.

FILHO, R. B. Contribuição da Fitoquímica para o Desenvolvimento de um País Emergente. **Quimica Nova**. v. 33, n. 1, p. 229-239, 2012.

FONSECA-KRUEL, V. S.; PEIXOTO, A. L. Etnobotânica na reserva extrativista marinha de Arraial do Cabo, RJ, Brasil. **Acta Botânica Brasileira**. Porto Alegre – RS. v. 18, n. 1, p. 177-190, 2004.

FREITAS, V. S.; RODRIGUES, R. A. F.; GASPI, F. O. G. Propriedades farmacológicas da Aloe vera (L.) Burm. f. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**. Campinas. v. 16, n. 2, p. 299-307, 2014.

GARCÍA, A. Á.; CARRIL, E. P. Metabolismo secundário de plantas. **Reduca (Biología).** Serie Fisiología Vegetal. v. 2, n. 3, p. 119-145, 2009.

GIL, A. C. **Como elaborar projetos de pesquisa**. 6ª ed. São Paulo: Atlas, 2017.

GOUVEA, D. R. **Estudo da variação populacional dos metabólitos secundários do arnicão (*Lychnophora salicifolia* Mart., Vernoniae, Asteraceae)**. Dissertação (Mestrado em Ciências). Universidade de São Paulo – Ribeirão Preto. 2010.

HAMERSKI, L.; CARBONEZI, C. A.; CAVALHEIRO, A. J.; BOLZANI, V. S. Saponinas triterpênicas de *Tocoyena brasiliensis* Mart. (Rubiaceae). **Química Nova**. v. 28, n. 4, p.601-604, 2005.

HEINZMANN, B. M.; SPITZER, V.; SIMÕES, C. M. O. Óleos voláteis. In.: **Farmacognosia:** do produto natural ao medicamento. SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. – Porto Alegre: Artmed, 2017. Cap. 12.

HORST, F. F. **Estudo fitoquímico, atividades biológicas e propriedades antioxidantes da espécie vegetal *Chusquea pinifolia* Ness (Ness) (Poaceae).** Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Federal do Paraná – Curitiba. p. 86, 2018.

HORST, H. **Análise química e biológica dos constituintes fenólicos de *Croton celtidifolius baill***. Dissertação (Mestrado em Química), Universidade Federal de Santa Catarina – Florianópolis. p. 79, 2008.

KLEIN-JÚNIOR, L. C.; HENRIQUES, A.T. Alcaloides: generalidades e aspectos básicos. In.: **Farmacognosia:** do produto natural ao medicamento. SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. – Porto Alegre: Artmed. 2017. Cap. 20.

ISAH, T. Stress and defense responses in plant secondary metabolites production. **Biological Research**, v. 52, n. 39, p. 25, 2019. Disponível em: https://biolres.biomedcentral.com/track/pdf/10.1186/s40659-019-0246-3.pdf: Acesso em: 9 de mar. de 2021.

ISHIMOTO, E. Y. **Efeito hipolipemiante e antioxidante de subprodutos da uva em hamsters**. Tese (Doutorado em Saúde Pública), Universidade de São Paulo – São Paulo. p. 194, 2008.

MARCHINI, H. R. **Extração dos taninos da espécie Pinus taeda no município de curitibanos – SC e sua avaliação para aplicação industrial como adesivo modificado**. Dissertação (Mestrado em Processos Químicos e Bioquimícos), Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Pato Branco. p. 117, 2015.

MARÇO, P. H.; POPPI, R. J.; SCARMINIO, I. S. Procedimentos analíticos para identificação de antocianinas presentes em extratos naturais. **Química Nova**, v. 31, n. 5, p. 1218-1223, 2008.

MARQUES, G. S.; MONTEIRO, R. P. M.; LEÃO, W. F.; LYRA, M. A. M.; PEIXOTO, M. S.; ROLIM-NETO, P. J.; XAVIER, H. S.; SOARES, L. A. L. Avaliação de procedimentos para quantificação espectrofotométrica de flavonoides totais em folhas de *Bauhinia forficata* Link. **Química Nova**, v. 35, n. 3, p. 517-522, 2012.

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

MELLO, J. C. P.; SANTOS, S. C. Taninos. In.: **Farmacognosia:** do produto natural ao medicamento. SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. – Porto Alegre: Artmed. 2017. Cap. 16.

MONTEIRO, J. M., ALBUQUERQUE, U. P. e ARAÚJO, E. L. Taninos: uma abordagem da química à ecologia. **Química Nova**, v. 28, n. 5, p. 892-896, 2005.

MORAIS, N. R. L.; OLIVEIRA NETO, F.B.; MELO, A.R.; BERTINI, L.M.; SILVA, F.F.M.; ALVES, L.A. Prospecção fitoquímica e avaliação do potencial antioxidante de *Cnidoscolus phyllacanthus* (müll. Arg.) Pax & k.hoffm. Oriundo de apodi – RN. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**. Campinas, v. 18, n. 1, p. 180-185, 2016.

MORAIS-DE-SOUZA, R. A**. Potencial antioxidante e composição fenólica de infusões de ervas consumidas no Brasil**. Dissertação (Mestrado em Ciências), Universidade de São Paulo – São Paulo. p. 60, 2007.

MOREIRA, F. A. **Perfil da alteração na produção de substâncias fenólicas e açúcares livres na interação entre *Tapirira guianensis* Aubl. (Anacardiaceae) parasitada por *Phoradendron crassifolium* (Pohl ex DC.) Eichler (Santalaceae).** Dissertação (Mestrado em Botânica), Universidade de São Paulo – São Paulo. p. 112, 2015.

MOTA, M. M. **Caracterização genética, fitoquímica e das atividades biológicas de diferentes populações naturais de *Varronia curassavica* Jacq. e *Momordica charantia* L. no Espírito Santo**. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal). Universidade Federal do Espírito Santo – Vitória. p. 175, 2019.

NAKAJIMA, J.; TANAKA, Y.; YAMAZAKI, M.; SAITO, K. Reaction mechanism from leucoanthocyanidin to anthocyanidin 3-glucoside, a key reaction for coloring in anthocyanin biosynthesis. **The Journal o Biological Chemistry.** v. 276, n. 28. 2001.

OLIVEIRA, A. C. A.; SOUZA, R. M. Avaliação geoambiental dos sistemas dunares costeiros de Sergipe. **Revista Fapese**, Aracaju – SE. v. 1, p. 51-72, 2005.

OLIVEIRA, M**. Estudo fitoquímico e das atividades biológicas de *Temnadenia stellaris (Lindl.) Miers (Apocynaceae)*.** Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal do Paraná – Curitiba, p. 114, 2015.

OLIVEIRA, T. B. **Avaliação da toxicidade e atividade anti-inflamatória e antinociceptiva do extrato aquoso da entrecasca de Chrysobalanus Icaco L.** Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas). Universidade Federal de Pernambuco – Recife. p. 65, 2012.

OLIVEIRA, V. B.; DUARTE, A.; PAULA, C. S.; MIGUEL, M. D. 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 Medicinais**. v. 18, n. 1, p. 230-239, 2016.

PARACAMPO, N. E. N. P. **Fingerprinting e análise multivariada aplicados ao estudo de identidade e qualidade de fitoproduto de ajuru (Chrysobalanus icaco Linnaeus)**. Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química Campinas. Campinas-SP. 2017.

PAULA, C. S.; VERDAM, M. C. S.; HIROTA, B. C. K.; SOUZA, A. M.; SILVA, C. B.; MIGUEL, O. G.; MIGUEL, M. D. Caracterização fitoquímica, toxicidade e avaliação preliminar da atividade antibacteriana das folhas de Bauhinia ungulata L. **Revista Brasileira de Farmácia**, v.96, n.2, p.1315 – 1334, 2015. Disponível em: http://www.rbfarma.org.br/files/RBFARMA-Vol-96---Numero-2.pdf: Acesso em: 15 de fev. de 2021.

PEIXOTO SOBRINHO, T. J. S.; GOMES, T. L. B.; CARDOSO, K. C. M.; AMORIM, E. L. C. Otimização de metodologia analítica para doseamento de flavonoides de *Bauhinia cheilantha* (Bongard) Steudel. **Química Nova**, v. 33, n. 2, p. 288-291, 2010.

PEREIRA, R. F. **Efeitos da leucoantocianidina no tecido hepático de coelhos albinos (oryctolagus cuniculus) submetidos à esteatose hepática não alcoólica experimental**. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas), Universidade Federal Fluminense – Niterói, p. 77, 2018.

PERES, A. R. M. N. **Caracterização farmacognóstica e avaliação antifúngica das folhas de *Chrysobalanus icaco* (lin) em espécies de Candida.** Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Federal do Pará – Belém. P. 111, 2012.

PIRES, J. S.; TORRES, P. B.; SANTOS, D. Y. A. C.; CHOW, F. **Ensaio em microplaca de substâncias redutoras pelo método do Folin-Ciocalteu para extratos de algas**. Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, 2017.

PORT'S, P. S.; CHISTÉ, R. C.; GODOY, H. T.; PRADO, M. A. The phenolic compounds and the antioxidant potential of infusion of herbs from the Brazilian Amazonian region. **Food Research International**, 2013.

POZZI, A. C. S. **Desenvolvimento de métodos de análise espectrofotométrica de flavonoides do "maracujá"**. Dissertação (Mestrado em Ciências), Universidade de São Paulo – São Carlos. p. 73, 2007.

QUEIROZ, G. S**. Análise de esteroides em extratos vegetais e estudo fitoquímico e biológico preliminar de *Brunfelsia uniflora***. Relatório (Estágio Supervisionado II). Universidade Federal de Santa Catarina – Florianópolis. p. 45, 2009.

ROCHA, J. S.; SOUZA, R. F. V. Síntese, caracterização e estudo das propriedades antioxidantes de complexos contendo quercetina e íons cobre. **Revista Brasileira de Iniciação Cientifica**, Itapetininga, v. 6, n. 3, p. 143-156, 2019.

SAMPAIO, P. G. **Otimização da extração, esterilização e identificação de antocianinas obtidas a partir de frutas**. Dissertação (Mestrado em Química), Universidade Estadual de Campinas – São Paulo. p. 141,2008.

SANTANA, L. M.; SILVA, A. F. Características do solo do litoral onde ocorre o Guajurú (Chrysobalanus icaco L.) e os teores de N, P, K e Na nos órgãos desta espécie. **Revista Ceres**. v. 270, n. 47, p. 169-179, 2000.

SANTANA-GÁLVEZ, J.; JACOBO-VELÁZQUEZ, D. A. Classification of Phenolic Compounds. In: NOLLET, L. M. L.; GUTIERREZ-URIBE, J. (Ed.). **Phenolic Compounds in Food: Characterization and Analysis.** CRC Press, Taylor & Francis Group, New York. p. 3-21, 2018.

SANTOS, J. V. S. **Avaliação fitoquímica da espécie *Licania tomentosa (Benth.) Fritsch*.**. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Licenciatura em Química). Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí – Parnaíba. p. 53, 2018.

SANTOS, S. A. **Evidência de interação entre a camomila (*Matricaria recutita*) e o 5-fluorouracil frente à atividade antineoplásica em camundongos com sarcoma 180.** Dissertação (Mestrado em Ciências Fisiológicas). Universidade Federal de Sergipe – São Cristovão. p. 120, 2018.

SILVA, C. M. A. **Metabólitos secundários de plantas do Semi-árido de pernambuco – uma inovação no controle de fitopatógenos.** Dissertação (Mestrado em Bioquímica e Fisiologia), Universidade Federal de Pernambuco – Recife. p. 109, 2014.

SILVA, F. A.; BIZERRA, A. M. C.; FERNANDES, P. R. D. Testes fítoquimicos em extratos orgânicos de *Bixa orellana* L (urucum). **HOLOS**. ano 34, v. 2, p. 484 498, 2018.

SILVA, I. M.; PEIXOTO, A. L. O abajurú (*Chrysobalanus icaco* L. e *Eugenia rotundifolia* Casar.) comercializado na cidade do Rio de Janeiro, Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. p. 325-332, 2009.

SOUSA, E. O.; MIRANDA, C. M. B. A.; NOBRE, C. B.; BOLIGON, A. A.; ATHAYDE, M. L.; Costa, J. G. M. Phytochemical analysis and antioxidant activities of Lantana camara and Lantana montevidensis extracts. **Industrial Crops and Products**. p. 7-15, 2015.

SOUZA, S. B. P.; LAMEIRA, O.A.; ASSIS, R. M. A.; MOURA, R. C.; ALMEIDA, L. S. S.; FERNANDES, V. S. **Aspectos fenológicos do ajirú, *Chrysobalanus icaco L.* (CHRYSOBALANACEAE).** 4º Seminário de Pós-graduação da Embrapa Amazônia Oriental. Belém-PA. 2016.

SOUZA, W. **Avaliação da atividade antioxidante e compostos fenólicos de extratos vegetais**. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Tecnologia de Alimentos), Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campo Mourão. p. 31, 2013.

SUCUPIRA, N. R.; SILVA, A. B.; PEREIRA, G.; COSTA, J. N. Métodos para determinação da atividade antioxidante de frutos. **UNOPAR Cientifica. Ciências Biológicas e da Saúde**. v. 14, n. 4, p. 263-269, 2012.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 5ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2013.

UGALDE, G. A. ***Gleschon spathulata* Benth. (Lamiaceae) compostos fenólicos e atividade biológica**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Federal de Santa Maria – Santa Maria. p. 64, 2016.

VARGAS, C. E.; MENDES, M. F.; AZEVEDO, D. A.; PESSOA, F L. P.; ULLER, A. C. Extraction of the essential oil of abajeru (*Chrysobalanus icaco*) using supercritical CO_2. **The Journal of Supercritical Fluids**. p. 171-177, 2010.

VARGAS-SIMÓN, G.; SOTO-HERNÁNDEZ, R. M.; RODRÍGUEZ-GONZÁLEZ, Ma. T.; ESCALANTE-ESTRADA, J. A. Análisis fitoquímico preliminar del fruto de icaco (*Chrysobalanus icaco* L.): flavonoles y flavonas. **Revista Chapingo Serie Horticultura**. p. 195-202, 2000.

VENANCIO, V. P. **Atividades in vitro e in vivo do fruto do guajiruzeiro (Chrysobalanus icaco L.) em biomarcadores de estresse oxidativo, danos ao DNA e inflamação.** Tese (Doutorado em Ciências), Universidade de São Paulo – Ribeirão Preto. p. 100, 2016.

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

YANG, D.; PARK, S. Y.; PARK, Y. S.; EUN, H.; YUP-LEE, S. Metabolic Engineering of *Escherichia coli* for Natural Product Biosynthesis. **Trends in Biotechnology**, 2019.

WANG, Z.; FANG, C.; MALLAVARAPU, M. Characterization of iron–polyphenol complex nanoparticles synthesized by Sage (Salvia officinalis) leaves. **Environmental technology & innovation**. v. 4, p. 92-97, 2015.

ZUANAZZI, J. A. S.; MONTANHA, J. A.; ZUCOLOTTO, S. M. Flavonoides. In.: **Farmacognosia:** do produto natural ao medicamento. SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. – Porto Alegre: Artmed. 2017. Cap. 15.