



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

ALICIA LUDYMILLA CARDOSO DE SOUZA

**ANÁLISE FITOQUÍMICA E ATIVIDADES FARMACOLÓGICAS DA ESPÉCIE
Vachellia farnesiana (L.) Wight & Arn. [sin. *Acacia farnesiana* (L.) Willd.]**

**PARNAÍBA
2019**

ALICIA LUDYMILLA CARDOSO DE SOUZA

ANÁLISE FITOQUÍMICA E ATIVIDADES FARMACOLÓGICAS DA ESPÉCIE
Vachellia farnesiana (L.) Wight & Arn. [sin. *Acacia farnesiana* (L.) Willd.]

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

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

PARNAÍBA
2019

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

Souza , Alícia Ludymilla Cardoso de
S719a Análise fitoquímica e atividades farmacológicas da espécie Vachellia
farnesiana (L.) Wight & Arn. [sin. Acacia farnesiana (L.) Willd.] / Alícia Ludymilla
Cardoso de Souza . - 2019.
74 f.: il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Química) - Instituto
Federal do Piauí, Campus Parnaíba, 2019.

Orientadora : Profa Dra. Buana Carvalho de Almeida .

Coorientador : Prof Dr. Bartholomeu Araújo Barros Filho.

1. Análise fitoquímica . 2. Toxicidade - avaliação. 3. Vachellia farnesiana -
espécie vegetal . 4. Delta do Parnaíba - PI. I.Título.

CDD - 540

Elaborado por Micheline Angélica Aragão Gouveia CRB 3/1244

ALICIA LUDYMILLA CARDOSO DE SOUZA

ANÁLISE FITOQUÍMICA E ATIVIDADES FARMACOLÓGICAS DA ESPÉCIE
Vachellia farnesiana (L.) Wight & Arn. [sin. *Acacia farnesiana* (L.) Willd.]

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

Aprovada em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Buana Carvalho de Almeida
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí (IFPI)

Prof. Me. Armenio André de Carvalho Almeida da Silva
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí (IFPI)

Prof. Dr. Éverton Leandro de França Ferreira
Universidade Federal do Vale do São Francisco (UNIVASF)

À Deus, à minha família, professores e amigos.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente à Deus, que nos criou e foi criativo, por ter me dado coragem, sustento, sabedoria e discernimento para entender que tudo de fato tem o seu tempo e o seu propósito.

À minha mãe, Selma Maria Moraes Cardoso, pelo grande apoio, sua compreensão em meus dias mais estressantes e por ser meu maior exemplo de mulher. É por sua causa que nunca desisto de meus objetivos. Mãe, estou quase conquistando nossos sonhos, aguento firme.

Ao meu irmão, Erik Magnus Cardoso de Souza, por sua grande paciência em me trazer todos os dias para o Instituto e por compartilhar o computador para a escrita desse trabalho. Seu estresse valeu a pena!

Aos meus avós, Sebastião da Costa Cardoso e Maria de Lourdes Moraes Cardoso, por serem sempre meu ponto de apoio. Meu avô com sua grande sabedoria e minha avó com seu gênio forte, que apenas significa zelo e cuidado com os seus. Eu os admiro!

Ao meu pai, tios, primos e demais familiares que contribuíram com a minha formação, de forma direta ou indireta, durante esses quatro anos. Obrigada!

À minha orientadora, Prof^a. Dr^a. Buana Carvalho de Almeida, pelos conhecimentos repassados, por compartilhar comigo seu tempo, suas pertinentes contribuições em meu trabalho, pela confiança, paciência, companhia, grande ajuda e por ser minha primeira mãe científica.

Ao meu coorientador, Prof. Dr. Bartholomeu Araújo Barros Filho, pelas suas contribuições, seu auxílio, companhia, paciência e principalmente, seu grande incentivo.

À minha professora de TCC, Prof^a. Dr^a. Ana Maria Athayde Uchôa Thomaz, pelas suas orientações e auxílio em meu trabalho, sua paciência e compreensão e por acreditar sempre em seus alunos.

À técnica de laboratório, Isabel (IFPI - Campus Parnaíba), pela grande ajuda, pelas ótimas conversas e companhia durante o uso do laboratório, seu auxílio e paciência, e ao Laboratório de Análise de Alimentos - Química de Saneamento, do IFPI - Campus Teresina Zona Sul, pela grande contribuição nas análises de atividade antioxidante dos extratos.

Agradeço, ainda, a todo o corpo docente do IFPI, que foram essenciais para a minha formação. Carrego um pedacinho de cada um em meu coração. A todos esses mestres, meu muito obrigada!

Aos funcionários desta instituição de ensino, por todo apoio e por juntos tornarem este lugar um ambiente propício para o meu desenvolvimento profissional.

Um agradecimento especial ao Prof. Dr. Haroldo Luís de Sousa Neres, grande professor e coordenador que conquistou cada um dos seus alunos com seu jeito leve de ser. Parabéns por ser essa excelente pessoa e um bom profissional!

Ao meu namorado, João Victor da Silva Santos pelo carinho, apoio e incentivo de sempre. Obrigada por ser tão atencioso, por entender minha ausência em diferentes momentos e por me ajudar muitas vezes a achar soluções quando elas parecem não aparecer.

Aos meus companheiros do IF: Fernando Sousa, Tayane Andrade, Rebeca Andrade, Antonio Ivany, Marcio André, Sabrina Teixeira, Ruth Helly, Rayanne Carvalho, Jessica Lopes, Jarline Marques, Adrianna Freire e Ingrid Cabral, por tornarem essa jornada mais leve feito uma brisa. Essa rotina seria bem mais desgastante sem pessoas maravilhosas como vocês! Agradeço pela grande companhia, pelos momentos descontraídos e até mesmo por todos os estresses que passamos juntos. Com vocês, hoje sei que cresci bastante como pessoa. Obrigada! Contem comigo sempre.

Aos meus companheiros de laboratório, Kamila, Wellington e Ivany, pela grande ajuda em muitos momentos. Em especial Antonio Ivany, que me acompanhava na maioria das análises, contou e recontou artemias aguentando minhas piadas sem graça e as doidices. Obrigada!

Aos meus amigos, William Fontenele, Geraldo Neto, João Victor Evaristo, Estela Santos, por sempre estarem comigo, não importando o tempo e a distância, por entenderem os momentos de ausência e por nunca negarem uma palavra de apoio, força e cumplicidade ao longo dessa etapa em minha vida. Em especial Márcio André, que compartilhou comigo as aflições, as alegrias e as conquistas na graduação, sou muito grata pela sua companhia.

Agradeço também ao meu eterno terceiro, turma que virou família e vou carregar no peito até o fim da vida. E a todos aqueles que não mencionei, mas que de alguma forma estiveram e estão próximos a mim, fazendo esta vida valer cada vez mais a pena, meu muito obrigada!

Botas... as botas apertadas são uma das maiores venturas da terra, porque, fazendo doer os pés, dão azo ao prazer de as descalçar.

(Machado de Assis)

RESUMO

Os produtos naturais são a base para o desenvolvimento de um grande número de drogas, e o interesse crescente de estudos de fármacos a partir de produtos naturais deve-se à falha das drogas farmacêuticas. A espécie *Vachellia farnesiana* (sin. *Acacia farnesiana*) pertence à família Fabaceae (Leguminosae) é a terceira maior família de angiospermas com 751 gêneros e 19500 espécies. Dentre os metabólitos secundários já identificados em espécies de *Acacia* podem ser citados terpenoides, fitosteróis, saponinas, flavonoides e taninos. Desta forma, o objetivo principal deste trabalho foi o estudo do perfil fitoquímico e avaliação da toxicidade, atividade antioxidante e teor de flavonoides totais dos extratos etanólicos das folhas (EEF e EEF_{Soxhlet}) e do caule (EEC) de *Acacia farnesiana*, coletada na região do Delta do Parnaíba-PI. A análise do perfil fitoquímico por cromatografia em camada delgada (CCD) indicou a presença de compostos de natureza terpenoídica, açúcares, flavonoides e cumarinas. Os testes fitoquímicos indicaram a presença de constituintes das classes dos flavonoides, esteroides livres, cumarinas e alcaloides. O EEF ($DL_{50} = 8,3 \text{ mg mL}^{-1}$) e EEC ($DL_{50} = 21 \text{ mg mL}^{-1}$) não apresentaram toxicidade frente à *Artemia salina*. Apesar do teor de flavonoides totais encontrado no EEF ser maior (71,85 ER/g extrato) do que o teor obtido para o EEC (21,65 ER/g extrato), o percentual de atividade antioxidante, utilizando o radical DPPH, do EEC foi maior (aproximadamente 90% a $625 \mu\text{g mL}^{-1}$), comparável ao padrão Trolox®. Isso se deve à presença majoritária de flavonoides glicosilados ou mono-hidroxilados no EEF, uma vez que esses compostos conferem baixo potencial antioxidante ao extrato. Este é o primeiro relato do perfil fitoquímico do EEC de *V. farnesiana*, o que contribui para o conhecimento quimiotaxônomico desta espécie.

Palavras-chave: Metabólitos secundários. Antioxidante. Flavonoides Totais

ABSTRACT

Natural products are the basis for the development of a large number of drugs, and the growing interest in studies of drugs from natural products is due to the failure of pharmaceutical drugs. The species *Vachellia farnesiana* (sin. *Acacia farnesiana*) belongs to the Fabaceae family (Leguminosae), the third largest angiosperma family with 751 genera and 19500 species. Among the secondary metabolites already identified in *Acacia* species are terpenoids, phytosterols, saponins, flavonoids and tannins. Thus, the main objective of this work was the study of the phytochemical profile and evaluation of the toxicity, antioxidant activity and total flavonoid content of ethanolic leaf extracts (ELE and ELE_{Soxhlet}) and stem (ESE) of *Acacia farnesiana*, collected in the region of the Parnaíba-Pi Delta. Analysis of the phytochemical profile by thin-layer chromatography (TLC) indicated the presence of terpenoid compounds, sugars, flavonoids and coumarins. Phytochemical tests indicated the presence of constituents of the flavonoid, free steroid, coumarin and alkaloid classes. The ELE (DL₅₀ = 8,3 mg mL⁻¹) and ESE (DL₅₀ = 21 mg mL⁻¹) were not toxic to *Artemia salina*. Although the total flavonoid content found in the ELE was higher (71,85 ER/g extract) than that obtained for ESE (21,65 ER/g extract), the percentage of antioxidant activity, using the DPPH radical, of ESE was higher (approximately 90% to 625 µg mL⁻¹), comparable to the Trolox[®] standard. This is due to the majority presence of glycosylated or monohydroxylated flavonoids in the ELE, since these compounds confer low antioxidant potential on the extract. This is the first report of the phytochemical profile of the ESE of *V. Farnesiana*, which contributes to the chemotaxonomic knowledge of this species.

Keywords: Secondary metabolites. Antioxidant. Total Flavonoids.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - A espécie <i>Vachellia farnesiana</i> (L.) WIGHT & ARN.....	21
Figura 2 - Estrutura básica de um alcaloide representado pela cafeína.....	23
Figura 3 - Núcleo fundamental dos flavonoides e sua numeração.....	24
Figura 4 - Constituintes químicos isolados e/ou identificados em <i>V. farnesiana</i>	26
Figura 5 - (A) Localização da planta obtida por satélite; (B) Local de coleta.....	39
Figura 6 - Cromatoplasmas dos extratos etanólicos EEC, EEF e EEF _{soxhlet} de <i>V. farnesiana</i> . (A) CCD após revelação física no UV λ 365 nm; (B) CCD após revelação química: hexano/AcOEt (8:2); (C) CCD após revelação química: CHCl ₃ /MeOH/H ₂ O (65:30:5).....	41
Figura 7 - Resultado colorimétrico obtido no teste para fenóis e taninos. A coloração verde pode ser observada em ambas as partes da planta. Em (A) EEC; (B) EEF; (C) EEF _{Soxhlet}	44
Figura 8 - Proposta de reação de complexação do ferro na caracterização de um tanino condensado.....	45
Figura 9 - Classe dos flavonóis representada pelos polifenóis Quercetina e Canferol.....	46
Figura 10 - Resultado colorimétrico obtido no teste para antocianinas, antocianidinas e flavonoides. Em (A) EEC; (B) EEF; (C) EEF _{Soxhlet}	47
Figura 11 - Proposta de reação de formação do fenolato em meio alcalino.....	47
Figura 12 - Classe dos flavonóis representada pelos polifenóis Luteolina e Apigenina.....	48
Figura 13 - Resultado colorimétrico obtido no teste para leucoantocianidinas, catequinas e flavanonas. Em (A) EEC; (B) EEF; (C) EEF _{Soxhlet}	49
Figura 14 - Estrutura básica das xantonas.....	50
Figura 15 - Resultado colorimétrico obtido no teste para flavonóis, flavononas, flavononóis e xantonas. Em (A) EEC; (B) EEF; (C) EEF _{Soxhlet}	50
Figura 16 - Proposta de reação de Shinoda ou reação da cianidina.....	51
Figura 17 - Resultado colorimétrico obtido no teste confirmatório para leucoantocianidinas. Em (A) EEC; (B) EEF; (C) EEF _{Soxhlet}	52
Figura 18 - Proposta de reação de identificação de leucoantocianidinas.....	52
Figura 19 - Resultado colorimétrico obtido no teste confirmatório para diidroflavonóis. Em (A) EEC; (B) EEF; (C) EEF _{Soxhlet}	53
Figura 20 - Estruturas dos esteroides lanosterol e colesterol.....	54
Figura 21 - Resultado colorimétrico obtido no teste para esteroides livres (Lieberman-Burchard). Em (A) EEC; (B) EEF; (C) EEF _{Soxhlet}	55
Figura 22 - Proposta para a reação de Lieberman-Burchard.....	55
Figura 23 - Resultado obtido no teste para alcaloides utilizando o reagente de Dragendorff. Em (A) EEC; (B) EEF.....	56
Figura 24 - Resultado obtido no teste para alcaloides utilizando o reagente de Wagner. Em (A) EEC; (B) EEF.....	57
Figura 25 - Mecanismos propostos para a reação de precipitação com o reativo de Dragendorff (1) e de Wagner (2).....	57
Figura 26 - Proposta de reação para a formação do isômero do ácido <i>cis</i> -O-hidroxicinâmico.....	58
Figura 27 - Resultado obtido no teste para cumarinas. Em (A) EEC; (B) EEF.....	58

LISTA DE GRÁFICOS, QUADROS E TABELAS

Gráfico 1 - Citotoxicidade do EEF e do EEC de <i>V. farnesiana</i>	59
Gráfico 2 - Percentual de inibição do radical livre DPPH [*] no EEC.....	61
Gráfico 2 - Percentual de inibição do radical livre DPPH [*] no EEF	61
Quadro 1 - Classificação taxonômica de <i>Vachellia farnesiana</i> (L.) Wight & Arn.....	20
Quadro 2 - Exemplos de terpenos, variando as unidades de isoprenos.....	24
Quadro 3 - Constituintes identificados em EEF e EEC da espécie <i>Vachellia farnesiana</i> (L.) Wight & Arn.....	42
Tabela 1 - Rendimento dos extratos etanólicos obtidos das folhas e do caule da espécie <i>Vachellia farnesiana</i> (L.) Wight & Arn.....	40
Tabela 2 - Concentração eficaz para inibir 50% do radical DPPH [*] (CE ₅₀).....	60
Tabela 3 - Teor de flavonóides totais (FLAT) do EEF e EEC de <i>V. farnesiana</i>	62

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

%AA	Percentual de atividade antioxidante
AA	Ácido ascórbico
Abs	Absorbância
AcOEt	Acetato de Etila
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
DPPH	2,2-difenil-1-picril-hidrazil
EEC	Extrato etanólico do caule
EEF	Extrato etanólico das folhas
EEF _{Soxhlet}	Extrato etanólico das folhas extraído em Soxhlet
EtOH	Etanol
FLAT	Teor de flavonoides totais
HDELTA	Herbário Delta do Parnaíba
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
MeOH	Metanol
MN	Machery-Nagel®
ND	Não determinado
pH	Potencial hidrogeniônico
ppt	Precipitado
QPN	Química de Produtos Naturais
RENISUS	Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse para o Sistema Único de Saúde
SUS	Sistema Único de Saúde
UFDPAr	Universidade Federal do Delta do Parnaíba

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
AlCl_3	Cloreto de Alumínio
BiI_4^-	Tetraiodeto Bismutato
$^{\circ}\text{C}$	Graus Celcius
cm	Centímetro
$\text{Ce}(\text{SO}_4)$	Sulfato Cérico
CL_{50}	Concentração Letal
ER/g	Equivalente de Rutina por grama
FeCl_3	Cloreto de Ferro
HCl	Ácido clorídrico
H_2O	Água
M	Molar
mg	Miligrama
mL	Mililitro
mm	Milímetro
μL	Microlitro
mg L^{-1}	Miligrama por litro
mg mL^{-1}	Miligrama por mililitro
$\mu\text{L mL}^{-1}$	Microlitro por mL
mol L^{-1}	Mol por litro
Na_2SO_4	Sulfato de Sódio
NaOH	Hidróxido de Sódio
nm	Nanômetros
UV	Ultravioleta

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
2.1 A QUÍMICA DE PRODUTOS NATURAIS (QPN) NO BRASIL	17
2.2 CONSIDERAÇÕES TAXONÔMICAS DA ESPÉCIE	19
2.2.1 Família Fabaceae	19
2.2.2 Gênero <i>Acacia</i>	20
2.2.3 <i>Vachellia farnesiana</i> (L.) WIGHT & ARN.	20
2.3 METABOLISMO VEGETAL.....	21
2.3.1 Metabólitos primários	22
2.3.2 Metabólitos secundários.....	22
2.4 APLICAÇÕES E ATIVIDADES BIOLÓGICAS ENCONTRADAS EM ESPÉCIES DO GÊNERO <i>Acacia</i>	25
3 OBJETIVOS	30
3.1 OBJETIVO GERAL.....	30
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	30
4 METODOLOGIA	31
4.1 TIPO DA PESQUISA.....	31
4.2 COLETA DA ESPÉCIE.....	31
4.3 PROCEDIMENTO DA PESQUISA	31
4.3.1 Preparação dos extratos.....	31
4.3.2 Cromatografia em Camada Delgada (CCD)	32
4.3.3 Testes fitoquímicos para metabólitos secundários	32
4.3.3.1 Preparo das soluções das amostras.....	32
4.3.3.2 Testes para fenóis e taninos.....	32
4.3.3.3 Testes para antocianinas, antocianidinas e flavonoides.....	33
4.3.3.4 Testes para leucoantocianidinas, catequinas e flavonas.....	33
4.3.3.5 Teste para flavonois, flavanonas, flavononois e xantonas.....	33
4.3.3.6 Teste confirmatório para leucoantocianidinas	34
4.3.3.7 Teste confirmatório para diidroflavonois – Ensaio de Pacheco	34
4.3.3.8 Teste para esteróides e triterpenos – (Lieberman-Burchard).....	34
4.3.3.9 Teste para heterosídeos saponínicos.....	34
4.3.3.10 Teste para alcaloides	35
4.3.3.11 Teste para alcaloides e cumarinas	35
4.3.4 Atividades farmacológicas	36
4.3.4.1 Ensaio de toxicidade frente à <i>Artemia salina</i>	36
4.3.4.2 Atividade antioxidante pelo método de sequestro de radicais livres (DPPH)	36
4.3.4.3 Avaliação do teor de flavonoides.....	37

4.3.4.3.1 Preparo das soluções.....	37
4.3.4.3.2 Determinação de flavonóides totais.....	37
4.4 TRATAMENTO DOS DADOS	38
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
5.1 COLETA DA ESPÉCIE.....	39
5.2 RENDIMENTO DOS EXTRATOS	39
5.3 CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA (CCD)	40
5.4 TESTES FITOQUÍMICOS PARA METABÓLITOS SECUNDÁRIOS	42
5.4.1 Taninos.....	43
5.4.2 Flavonois.....	46
5.4.3 Flavononas.....	48
5.4.4 Flavonois, flavononas, flavononois e xantonas	49
5.4.5 Leucoantocianidinas.....	51
5.4.6 Diidroflavonois	53
5.4.7 Esteroides livres.....	54
5.4.8 Alcaloides.....	56
5.4.9 Cumarinas.....	58
5.5 ENSAIO DE TOXICIDADE FRENTE À <i>Artemia salina</i>	59
5.6 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO DE SEQUESTRO DE RADICAIS LIVRES (DPPH')	60
5.7 AVALIAÇÃO DO TEOR DE FLAVONOIDES	61
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	63
7 PERSPECTIVAS FUTURAS.....	64
REFERÊNCIAS.....	65

1 INTRODUÇÃO

Segundo Fialová et al., (2017) as plantas medicinais são fontes de compostos biologicamente ativos de interesse científico e farmacêutico para o tratamento de diversas doenças infecciosas. No Brasil, o sistema público de saúde Brasileiro começou a prover para a população, desde 2007, fitoterápicos derivados de plantas nacionais. Em 2009, o Ministério da Saúde publicou uma Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse para o Sistema Único de Saúde – RENISUS, com o objetivo de encorajar o uso de terapias complementares no SUS, assim como promover pesquisas em plantas medicinais e estabelecer o uso correto e seguro das mesmas (MARMITT et al., 2018).

Dos medicamentos prescritos, 25% são de origem de plantas, 25% de animais e 10% são de microorganismos. Desta forma, os produtos naturais são a base para o desenvolvimento de um grande número de drogas. Atualmente, há um interesse crescente de estudos de fármacos a partir de produtos naturais devido à falha das drogas farmacêuticas e em virtude da presença de metabólitos em espécies vegetais que as conferem atividades biológicas (PADMAVATHY e SARAVANAN, 2017).

Além disso, existe um número considerável de pesquisas que tratam sobre a atividade dos produtos naturais contra diversas doenças. Nos últimos 30 anos, muitos fármacos desenvolvidos para o tratamento de câncer ou doenças infecciosas derivaram de produtos naturais (REN; WANG; ZAO, 2017). Zacchinno e colaboradores (2017) relataram o potencial de polifenóis e terpenoides como adjuvantes para a atividade antibacteriana. Metabólitos secundários, incluindo flavonoides, cumarinas, quinonas, saponinas, alcaloides e terpenoides mostraram-se efetivos para o tratamento da doença de Parkinson (ZHANG et al., 2017).

A espécie *Vachellia farnesiana* (sin. *Acacia farnesiana*) pertencente à família Leguminosae (Fabaceae), a terceira maior família de angiospermas com 751 gêneros e 19500 espécies, tem uma distribuição global, abrangendo os biomas de clima temperado, tropical, árido, seco e savanas, se desenvolvendo bem em solos considerados não propícios (BRUNEAU et al., 2013).

Segundo Guzzi (2012), no seu trabalho de compilação de espécies que fazem parte da biodiversidade do Delta do Parnaíba, a espécie *Vachellia farnesiana*, também encontrada em Parnaíba, é utilizada como planta medicinal, porém, Guzzi (2012) não relatou as atividades medicinais que esta espécie apresenta, o que mostra a

necessidade de investigação dos constituintes fitoquímicos de tal espécie, bem como a avaliação do seu potencial antifúngico, citotóxico e antioxidante, como forma de analisar, identificar os seus metabólitos secundários e correspondentes potenciais biológicos.

Diante disso, fica claro o quanto a química de produtos naturais contribui substancialmente para o desenvolvimento da ciência na busca de potenciais terapêuticos que podem levar à cura de muitas doenças. Nesta perspectiva, este trabalho visa o estudo químico-farmacológico da espécie *Vachellia farnesiana*, contribuindo desta forma, para a valorização da biodiversidade na região do Delta do Parnaíba-PI.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 A QUÍMICA DE PRODUTOS NATURAIS (QPN) NO BRASIL

Desenvolvidos tanto nas civilizações ocidentais quanto nas orientais, os produtos naturais foram, por muito tempo, utilizados para o alívio de doenças pela ingestão de ervas, como também para conservação de múmias ou até mesmo para a pintura de corpos. Logo, pouco a pouco, se tornou comum o abastecimento dos navios expedicionários com um grande número de especiarias levadas para prover as cidades com esses produtos que possuíam grandes utilizações (PINTO et al., 2002).

Ao longo dos anos essas especiarias começaram a ser exploradas nos próprios territórios, e o Brasil, com seu vasto litoral e uma grande área detentora de uma esplêndida fauna e flora, foi um desses territórios explorados. Com isso, através dessa exploração e convivência do homem civilizado com os nativos que foram descobertas as diversas aplicações das espécies vegetais, de total conhecimento dos povos indígenas. Essa convivência contribuiu significativamente no conhecimento de substâncias que eram tóxicas ou que tinham propriedades medicinais (VIEGAS JR et al., 2006).

A Química de Produtos Naturais (QPN) é uma das áreas mais antigas dentro da Química Orgânica, e visa o estudo e caracterização de substâncias obtidas naturalmente, ou seja, sintetizadas a partir do metabolismo secundário de plantas, microrganismos e animais marinhos, com maior destaque o estudo da química das plantas ou fitoquímica. Os produtos naturais ganharam espaço devido ao seu importante uso na medicina, visto que as suas propriedades farmacológicas estão relacionadas aos seus princípios ativos (BERLINCK et al., 2017).

Um pesquisador com grande destaque na QPN no Brasil, que impulsionou significativamente essa subárea da Química Orgânica, foi Otto Richard Gottlieb, um dos pioneiros do estudo da fitoquímica no Brasil (CAPARICA, 2012). Segundo Pinto et al. (2002), Otto Gottlieb disseminou a QPN por todo país objetivando a formação de grupos de pesquisa e o desenvolvimento de trabalhos na área da QPN. Com isso, o crescimento dos estudos no ramo da QPN no Brasil foi significativo, e dentre as linhas de pesquisa, as que mais se destacam no país com maior número de pesquisadores cadastrados e resumos apresentados são a fitoquímica e a atividade biológica.

Segundo os autores Falkenberg, Santos e Simões (2007), esses estudos fitoquímicos auxiliam na identificação de constituintes químicos de espécies vegetais ou na avaliação da presença destes princípios ativos. Estes princípios ativos contidos nas drogas vegetais, são chamados de metabólitos secundários, ou especiais, assim definidos por Gottlieb et al., (1996 apud SANTOS, 2007, p. 404) por serem sintetizados pelo metabolismo primário dessas plantas e por atuarem na proteção contra insetos, doenças e pragas. Esses metabólitos apresentam atividades biológicas que oferecem diversos benefícios para a saúde humana.

Em virtude dessas atividades biológicas, as plantas medicinais, como fontes de compostos biologicamente ativos de interesse científico e farmacêutico, podem ser utilizadas hoje na produção de fármacos a partir da identificação de princípios ativos que são eficazes para o tratamento de doenças infecciosas que acometem os seres humanos (FIALOVÁ et al., 2017). Além disso, muitas dessas espécies vegetais conferem uma grande variedade de metabólitos que sequer foram identificados ou avaliados quanto ao seu potencial farmacológico. Assim, o estudo fitoquímico tem crescido significativamente visando à descoberta de novos constituintes com atividades biológicas que possam ser utilizadas na produção de medicamentos menos tóxicos, ou seja, que não apresentem tantos efeitos adversos e sejam mais eficazes (MONTANARI e BOLZANI, 2001; MOTA, 2016).

No Brasil, o sistema público de saúde brasileiro provê para a população, desde 2007, fitoterápicos derivados de plantas nacionais. Em 2009, o Ministério da Saúde publicou uma Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse para o Sistema Único de Saúde – RENISUS, com objetivo de encorajar o uso de terapias complementares no SUS, assim como promover pesquisas em plantas medicinais e estabelecer o uso correto e seguro das mesmas (MARMITT et al., 2018).

Dos medicamentos prescritos, 25% são de origem de plantas, 25% de animais e 10% são de microorganismos, o que mostra com clareza como os produtos naturais são a base para o desenvolvimento de um grande número de drogas. Atualmente, há um interesse crescente de estudos de fármacos a partir de produtos naturais devido à falha das drogas farmacêuticas (PADMAVATHY e SARAVANAN, 2017).

2.2 CONSIDERAÇÕES TAXONÔMICAS DA ESPÉCIE

Devido à grande diversidade de espécies, existe a demanda pelos biólogos de um sistema de classificação, a fim de reconhecer todas essas entidades de seres vivos e classificá-los hierarquicamente na natureza. Dessa forma, estes seres podem ser identificados, realizando a comparação com outra espécie já descrita na literatura, ou classificados, na qual essa espécie será estudada e posicionada em uma categoria específica em um sistema hierárquico. Segundo Mentz e Bordignon (2007, p.212) “A classificação é feita apenas uma vez para cada ser vivo, ou poucas vezes, quando evidências posteriores obrigam sua realocação em outra categoria taxonômica.”

Nesse sentido, a taxonomia é a ciência da identificação de espécies, sendo extremamente necessária e imprescindível em diversos estudos, visto que ela trata da biodiversidade de diferentes áreas, facilita e dá suporte a trabalhos que dependem de informações sobre o acervo vegetal presente em uma determinada localidade (BICUDO, 2004).

2.2.1 Família Fabaceae

A família Fabaceae ou Leguminosae compreende uma das maiores famílias de angiospermas dicotiledôneas com cerca de 650 gêneros e aproximadamente 18.000 espécies pelo mundo, mais precisamente nas regiões tropicais ou subtropicais. Essa família está geralmente associada tanto a serras montanhosas e solos arenosos quanto a ambientes úmidos ou aquáticos, podendo chegar a grandes árvores ou a pequenos arbustos (OLIVEIRA, 2017).

Além disso, a família Fabaceae é uma das quatro famílias da ordem Fabales, representada por plantas herbáceas ou arbustos, está subdividida em três subfamílias: Mimosoideae, Caesalpinioideae e Faboideae. Os principais gêneros de Mimosoideae são *Acacia*, *Albizia*, *Archidendron*, *Entada*, *Mimosa* e *Pithecellobium* (LACAILLE-DUBOIS et al., 2011). Segundo Andrade (2003) a subfamília Mimosoideae, na qual pertence a espécie *Vachellia farnesiana*, é a menor dentre as três e geralmente é encontrada nas regiões tropicais, a menor delas possuindo cerca de 40 gêneros com aproximadamente 2.800 espécies dos quais se destacam os gêneros *Acacia* e *Mimosa*.

2.2.2 Gênero *Acacia*

O gênero *Acacia* (*sin. Vachellia*), pertencente à subfamília Mimosoideae (Fabaceae) encontra-se nas regiões mais quentes e áridas do mundo com mais de 1350 espécies (SEIGLER, 2003). Foi determinado em 1754 por Philip Miller, e seu nome deriva do grego *Akakia* que se refere a espinhos, deixando evidente uma das características principais das espécies deste gênero. Geralmente se apresentam como árvores, arbustos ou trepadeiras com bastantes espinhos nos caules e ramos, e folhas caracteristicamente em forma de lâminas (ANDRADE, 2003).

Recentemente, houve a segregação deste gênero, que passou a incluir algumas espécies no gênero *Vachellia*, sendo posteriormente usado e descrito por diversos autores. Segundo Machado, Marchiori e Siegloch (2016) este gênero compreende atualmente 163 espécies, com grande parte de origem americana e outras de origem australianas.

2.2.3 *Vachellia farnesiana* (L.) WIGHT & ARN.

A espécie *Vachellia farnesiana* (L.) Wight & Arn. foi primeiramente descrita por Linnaeus como *Mimosa farnesiana* L. e por muito tempo possuiu a nomenclatura de *Acacia farnesiana* (L.) Willd em diversos trabalhos na área da botânica mesmo após a mudança do seu gênero para *Vachellia*, a nomenclatura atual, que permitiu a classificação taxonômica (QUADRO 1) desta espécie (MARCHIORI, 2010).

Quadro 1 – Classificação taxonômica de *Vachellia farnesiana* (L.) Wight & Arn.

<i>Vachellia farnesiana</i>	
Reino	Plantae
Filo	Tracheophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordem	Fabales
Família	Fabaceae
Subfamília	Mimosoideae
Gênero	<i>Vachellia</i>
Nomes comuns	Acácia, Coronha, Esponjeira, Mimosa, Coroa de Cristo

Fonte: Adaptado de Maslin B. R., (2018).

Essa espécie de origem nas Antilhas e no norte da América do Sul (FIGURA 1), possui diversos nomes populares, dentre eles coronha, mimosa e esponjeira. Tem como características a copa baixa e espinhos por toda extensão do tronco e ramos. Seu tronco com cerca de 1 a 7 m, geralmente tortuoso carrega folhas bipenadas. Possui flores de cor amarela com aroma característico, podendo ser utilizado em perfumaria, e uma vagem preta, lisa e curvada contendo as sementes (SILVA et al., 2012).

Figura 1 - A espécie *Vachellia farnesiana* (L.) WIGHT & ARN.



Fonte: Autoria própria, (2018).

2.3 METABOLISMO VEGETAL

Os organismos em geral necessitam das atividades de um grande número de compostos orgânicos para a sobrevivência, crescimento e reprodução, e todo esse conjunto de reações químicas que ocorrem nas células, como o armazenamento de energia e construção de tecidos, são denominadas metabolismo. Muitas dessas reações necessitam de enzimas específicas para garantir os processos catalíticos ou as vias metabólicas essenciais para a obtenção de produtos que servirão para outros processos reacionais (DEWICK, 2009). Assim, esses produtos, ou compostos, químicos que são formados, degradados ou transformados são denominados metabólitos e se dividem em dois grupos: os metabólitos primários e os metabólitos secundários (SANTOS, 2007).

2.3.1 Metabólitos primários

Os organismos variam muito quanto a capacidade de sintetizar e transformar os metabólitos. Por exemplo, as plantas são muito eficientes na síntese de compostos orgânicos via fotossíntese, enquanto outros organismos, como os animais, obtêm através da sua dieta, por exemplo, consumindo plantas. Apesar das características extremamente variadas, a síntese de carboidratos, proteínas, gorduras e ácidos nucleicos é semelhante em todos os organismos, com algumas pequenas variações. Todos esses metabólitos citados são essenciais para a vida dos organismos e são geralmente descritos como metabólitos primários (DEWICK, 2009).

Nas plantas, ao metabolismo primário estão associados todos os processos fotossintéticos que originam a formação de ácidos carboxílicos do ciclo de Krebs, α -aminoácidos, carboidratos, ácido graxos, proteínas e ácidos nucleicos, todos envolvidos nos processos vitais, conferindo função estrutural, plástica e de armazenamento de energia (ALMEIDA, 2017). No entanto, é fundamental realçar que os metabólitos primários são os grandes precursores dos metabólitos secundários, de que tratam o presente trabalho.

2.3.2 Metabólitos secundários

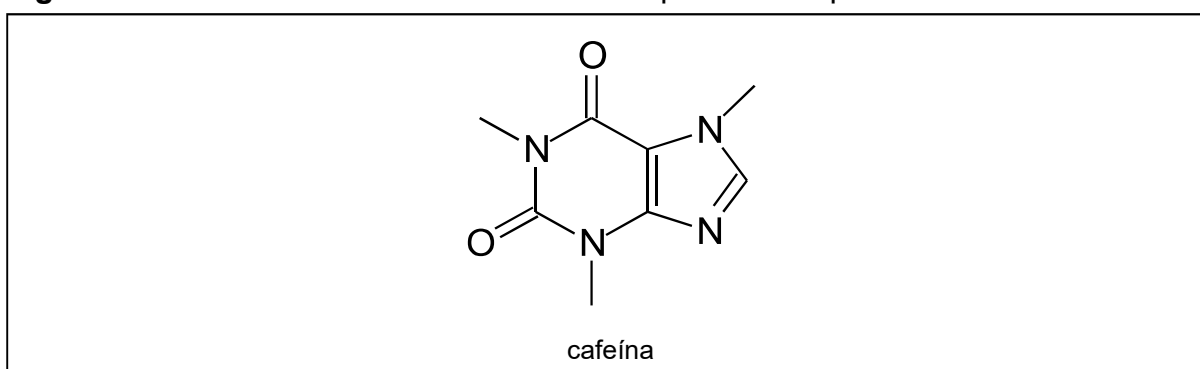
Em contraste com as vias metabólicas primárias, que sintetizam e degradam compostos comumente encontrados nos organismos, existe uma via metabólica secundária responsável por compostos que tem uma distribuição limitada na natureza. Esses compostos são chamados metabólitos secundários e não são necessariamente produzidos sob quaisquer condições, e na grande maioria dos casos a função destes compostos e seus benefícios para o organismo ainda não são conhecidos (DEWICK, 2009).

Os metabólitos secundários fornecidos pelo reino vegetal, são utilizados pelas plantas para a defesa, não estando relacionados ao seu crescimento e desenvolvimento. Segundo Vizzotto, Krolow e Weber (2010), a síntese de metabólitos apesar de ser possível para qualquer planta, é mais comumente realizada por plantas consideradas selvagens ou exóticas, visto que durante a sua evolução elas desenvolvem mecanismos defensores para competirem com outras, como forma de defesa ou sobrevivência, ou como atrativos para insetos polinizadores. Além disso,

certos pesquisadores atribuem a sua origem e importância ecológica para a atuação medicinal nos seres humanos.

Fumagali et al., (2008) relatam que esses compostos secundários são classificados em três grupos quimicamente distintos: alcaloides, terpenos e compostos fenólicos. Os alcaloides são compostos cíclicos contendo nitrogênio e compreendem alguns derivados de aminoácidos. Estes aparecem geralmente em vegetais específicos e suas atividades estão relacionadas a atuação no sistema nervoso humano (FIGURA 2).

Figura 2 - Estrutura básica de um alcaloide representado pela cafeína.



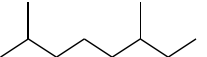
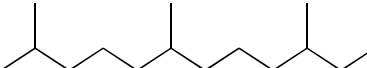
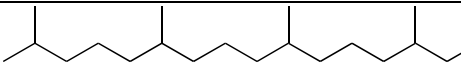
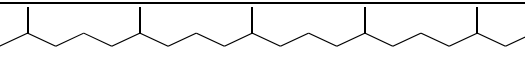
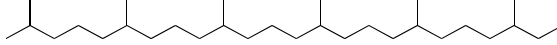
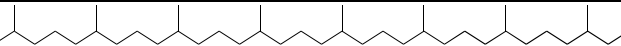
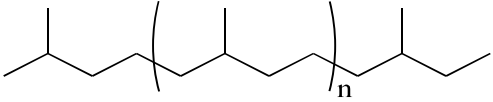
Fonte: Adaptado de Henriques et al., (2007)

Já os terpenoides, conforme descreve Dewick (2009), são uma classe mais variada de metabólitos cuja fórmula geral é $(C_5H_8)_n$, são derivados do isopreno, e assim formados a partir da sua justaposição sucessiva, dando origem a outros terpenos, como os monoterpenoides (C_{10}), sesquiterpenoides (C_{15}), diterpenoides (C_{20}), triterpenoides (C_{30}), tetraterpenoides (C_{40}), entre outros (QUADRO 2). Geralmente voláteis, eles são frequentemente constituintes de óleos essenciais, contribuindo para a atração de insetos polinizadores e utilizados na fabricação de perfumes e essências.

Os compostos fenólicos, compostos aromáticos com pelo menos um hidrogênio substituído por um grupo hidroxila ($-OH$), conferem sabor, odor e cor ao vegetal, servindo para a atração de insetos e também visualmente atrativos para o homem (VIZZOTTO; KROLOW; WEBER, 2010). Em relação ao metabolismo secundário dos vegetais, um dos grupos de compostos fenólicos mais importantes e diversificados são os flavonoides, estando presentes em sua grande maioria nas angiospermas. Conforme Zuanazzi e Montanha (2007, p. 579) os flavonoides apresentam a estrutura básica mostrada na Figura 3, com a presença de dois anéis fusionados (A e C), ligado a um terceiro anel fenílico (B):

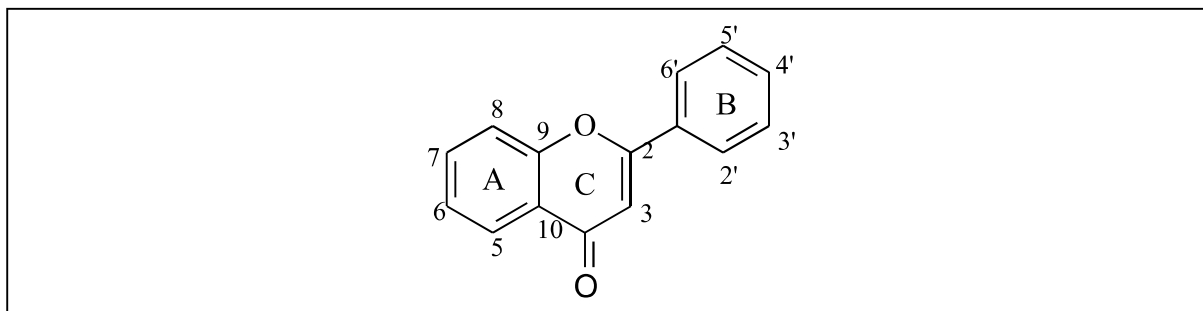
[...] a maioria dos representantes dessa classe possui 15 átomos de carbono em seu núcleo fundamental, sendo assim constituído de duas fenilas ligadas por uma cadeia de três carbonos entre elas. Nos compostos tricíclicos, as unidades são chamadas núcleos A, B e C e os átomos de carbono recebem a numeração com números ordinários para os núcleos A e C e os mesmos números seguidos de uma linha (') para o núcleo B.

Quadro 2 – Exemplos de terpenos, variando as unidades de isoprenos.

Nº de Unid.	Número de átomos de carbono	Nome ou classe
1	5 	Isopreno
2	10 	Monoterpenoides
3	15 	Sesquiterpenoides
4	20 	Diterpenoides
5	25 	Sesterpenoides
6	30 	Triterpenoides
8	40 	Tetraterpenoides
n		Poliisoprenoides

Fonte: Adaptado de Simões e Spitzer, (2007)

Figura 3 – Núcleo fundamental dos flavonoides e sua numeração.



Fonte: Adaptado de Zuanazzi e Montanha, (2007)

Em suma, a presença desses metabólitos nas espécies vegetais pode conferir atividades biológicas como a inibição do crescimento de microorganismos ou até

mesmo a morte desses. Como exemplo, tem-se as infecções causadas por fungos, as quais podem ser avaliadas as atividades de determinados metabólitos contra esse agente infeccioso. Além disso, o crescente aumento de uma resistência a antibióticos decorrentes do mau uso de medicamentos, justificam o aumento de testes com extratos de espécies vegetais que possam apresentar atividades fungicidas ou fungistáticas (AMARAL e BARA, 2005; MARIATH et al., 2006).

2.4 APLICAÇÕES E ATIVIDADES BIOLÓGICAS ENCONTRADAS EM ESPÉCIES DO GÊNERO *Acacia*

Muitas espécies de *Acacia* são usadas para tratar tuberculose e pneumonia devido as suas propriedades antibacterianas. Extratos etanólicos de espécies deste gênero apresentam excelentes propriedades contra bactérias de alta resistência e de crescimento rápido (McGAW et al., 2008). Dentre os metabólitos secundários das espécies de *Acacia* podem ser citados terpenoides, fitosteróis, saponinas, flavonoides e taninos (SEIGLER, 2003).

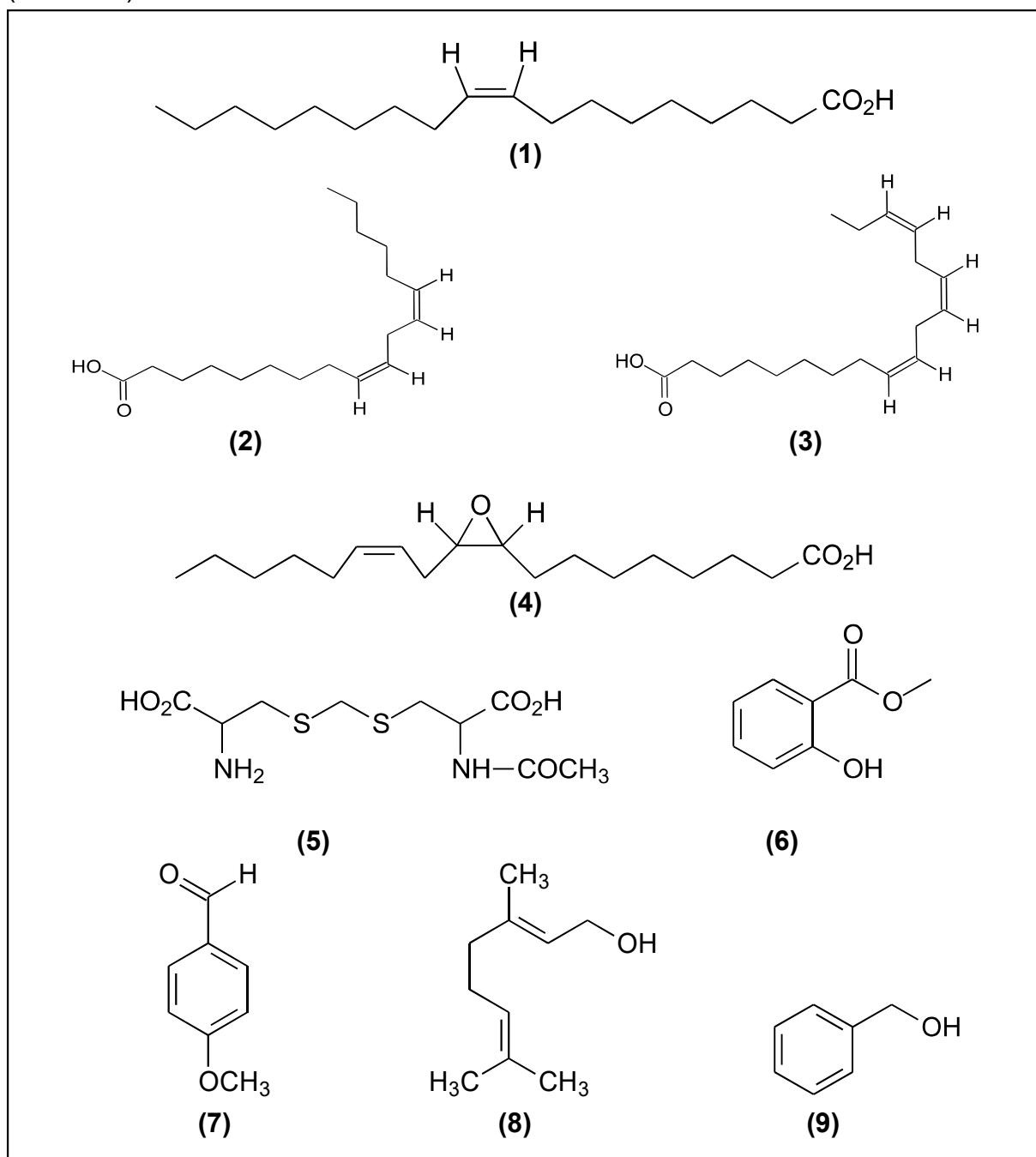
Os trabalhos já publicados sobre a constituição química de *Acacia farnesiana* que datam das décadas de 50-80 mostram que o óleo da semente de *A. farnesiana* contém percentuais significativos de ácidos graxos insaturados - 13% de ácido oleico **(1)**, 43% de ácido linoleico **(2)** e 54% de ácido linolênico **(3)**, além da presença do ácido graxo coronárico (cis-9,10-epoxioctadec-cis-12-enoico) **(4)**. Espécies de *Acacia* contém o aminoácido não proteico designado ácido *N*-acetildjenkolico **(5)**, que foi isolado pela primeira vez da espécie *Acacia farnesiana* (GMELIN; KJAER; LARSEN, 1962; SEIGLER, 2003).

O óleo essencial das flores de *A. farnesiana* é utilizado há muito tempo pela perfumaria, sendo uma espécie bastante cultivada nos países tropicais e subtropicais para este fim. O óleo essencial contém principalmente salicilato de metila **(6)** (47,5%), p-anisalaldeído **(7)** (17,3%) e geraniol **(8)** (9,8%), e, em menor proporção, contém álcool benzílico **(9)** (0,5%), linalol **(10)** (0,4%) e α -ionona **(11)** (0,4%) (FLATH et al., 1983).

Dentre os flavonoides, foi relatada a presença de apigenin-6,8-bis-C- β -D-glicopiranosídeo **(12)**, guibourtacidina **(13)**, canferol **(14)**, canferol-7-6"-galoilglicosídeo **(15)**, (+)-molisacacidina **(16)**, miricetina-7-6"-galloilglicosídeo **(17)**, naringenina-7-4,6-digaloilglicosídeo **(18)**, (-)-naringenina-7-O- β -d-[6-O-galoil]-glicopiranosídeo **(19)**, quercetina-7-6"-galoilglicosídeo **(20)** e rutina **(21)** (SEIGLER,

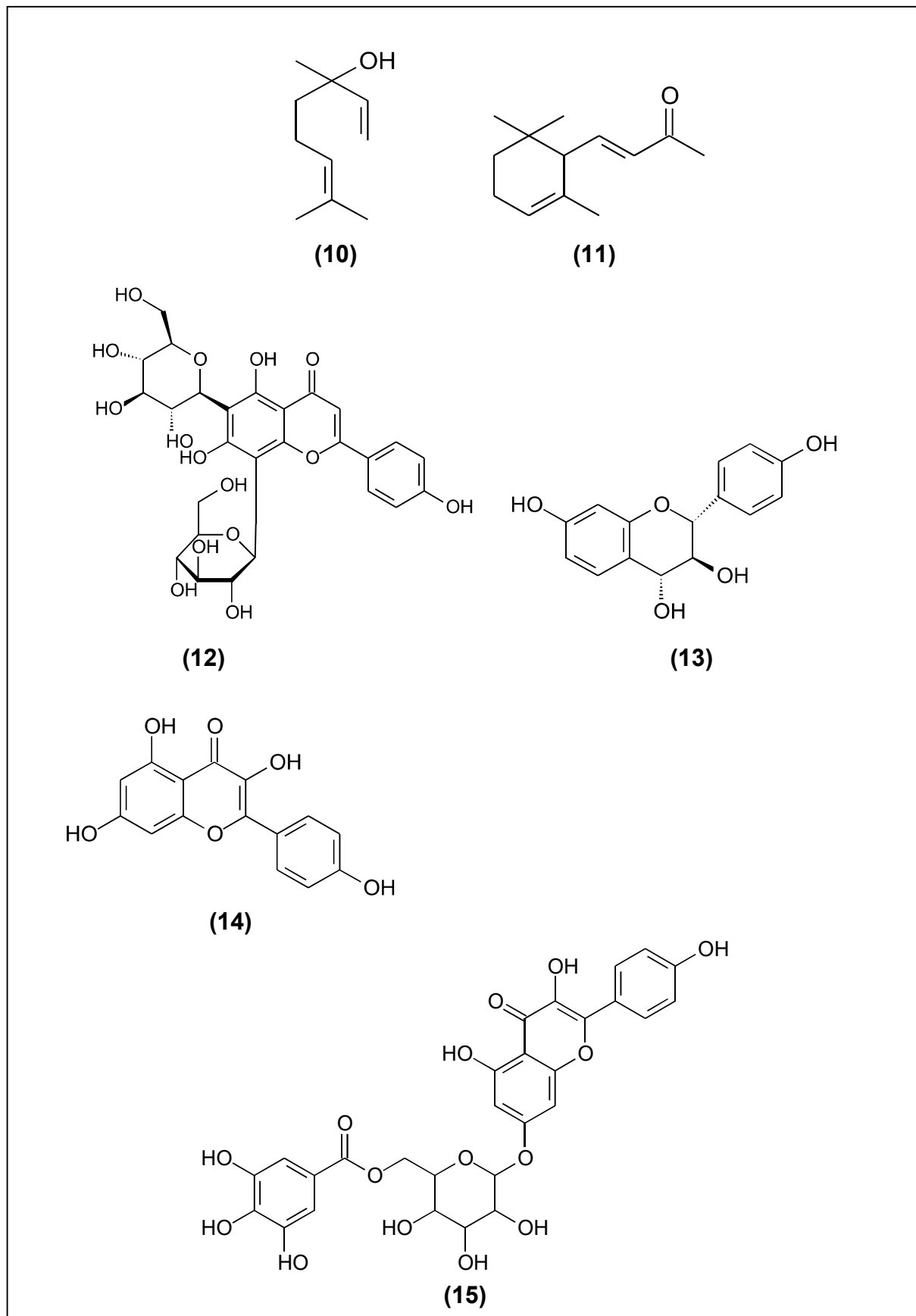
2003). Trabalhos publicados com a espécie *A. farnesiana* nos últimos 5 anos, somente um relata a ação de um constituinte químico, o farnesol **(22)**, um sesquiterpeno presente no óleo essencial de *A. farnesiana*, como um fitoterápico protetor dos pulmões, mostrando a necessidade de mais estudos sobre a constituição química desta espécie e seu potencial farmacológico. A Figura 4 mostra as estruturas dos constituintes químicos já identificados ou isolados nas espécies do gênero *Acacia*. (QAMAR et al., 2012).

Figura 4 – Constituintes químicos isolados e/ou identificados em *V. farnesiana*. (Continua).



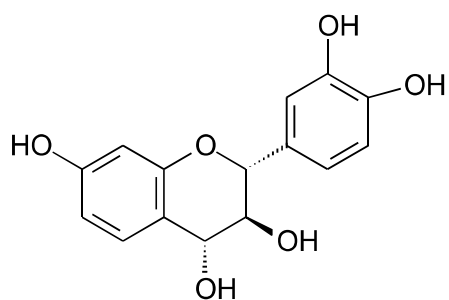
Fonte: Adaptado de Seigler, (2003) e PubChem, (2019).

Figura 4 – Constituintes químicos isolados e/ou identificados em *V. farnesiana*. (Continua).

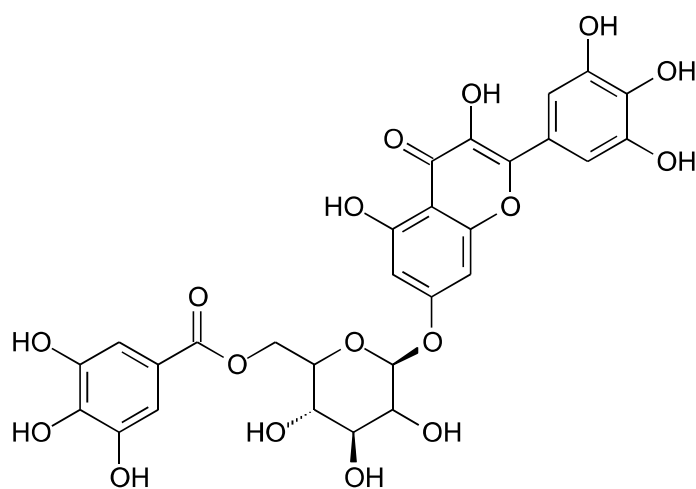


Fonte: Adaptado de Seigler, (2003) e PubChem, (2019).

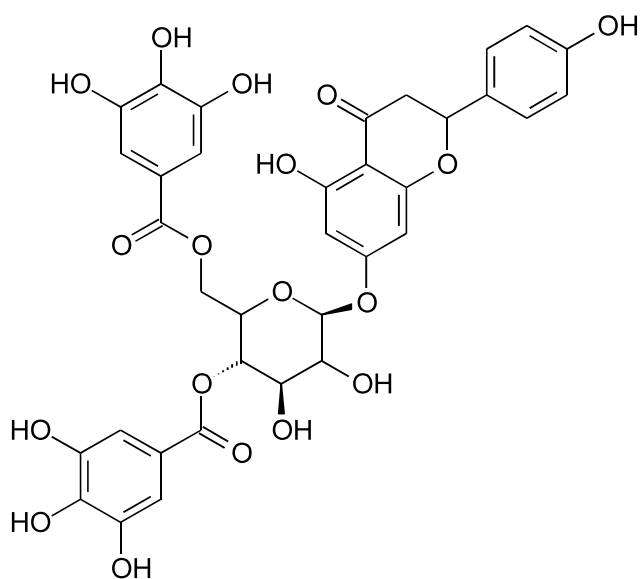
Figura 4 – Constituintes químicos isolados e/ou identificados em *V. farnesiana*. (Continua).



(16)

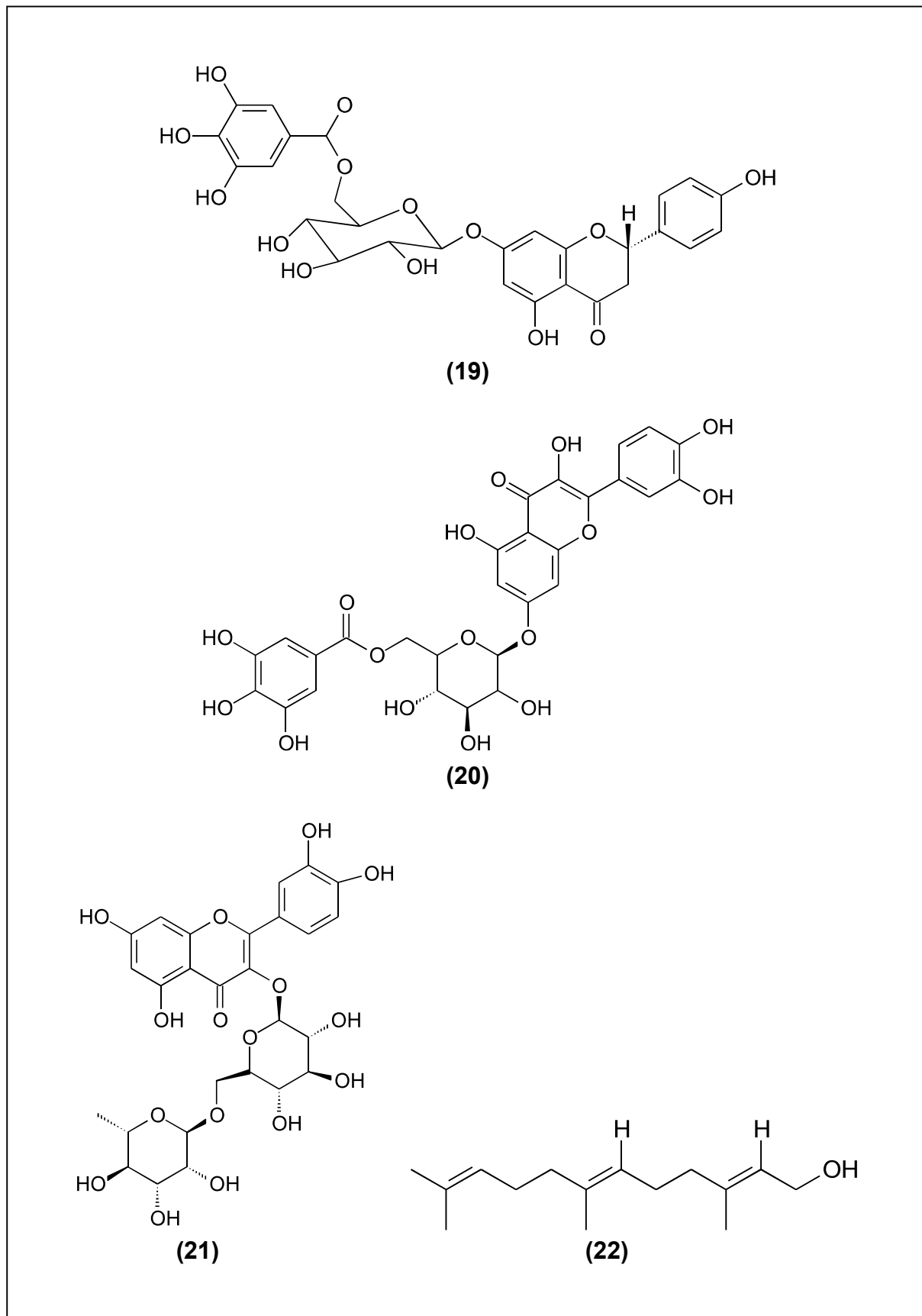


(17)



(18)

Figura 4 – Constituintes químicos isolados e/ou identificados em *V. farnesiana*. (Conclusão).



Fonte: Adaptado de Seigler, (2003) e PubChem, (2019).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Analisar o perfil fitoquímico, potencial antioxidante, teor de flavonoides totais e a citotoxicidade do extrato etanólico das folhas (EEF) e do caule (EEC) da espécie *Vachellia farnesiana* (L.) Wight & Arn.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Coletar o material vegetal, folhas e caule, de *Vachellia farnesiana*, no município de Luís Correia - PI;
- Realizar a exsicata para a identificação e registro da espécie vegetal no herbário da Universidade Federal do Delta do Parnaíba (UFDPAr) – Campus Ministro Reis Velloso;
- Obter o extrato etanólico das folhas (EEF e EEF_{Soxhlet}) e do caule (EEC) de *Vachellia farnesiana*;
- Analisar qualitativamente o perfil fitoquímico do EEF e EEC de *Vachellia farnesiana*;
- Avaliar o potencial antioxidante, teor de flavonoides totais e toxicidade do EEF e EEC

4 METODOLOGIA

4.1 TIPO DA PESQUISA

O trabalho realizado é classificado como uma pesquisa explicativa, visto que, segundo Gil (2017), nas ciências naturais esse tipo de pesquisa utiliza muitos métodos experimentais como forma de identificação dos fatores que possam afetar ou contribuir na ocorrência dos fenômenos, além de explicar de forma empírica a razão desses fenômenos aproximando o conhecimento da realidade.

A abordagem qualitativa realizada a partir dos estudos fitoquímicos, segundo Mascarenhas (2012), auxilia na descrição do objeto estudado por seus dados levantados serem analisados imediatamente.

4.2 COLETA DA ESPÉCIE

A espécie *A. farnesiana* foi coletada na região do Delta do Piauí no município de Luís Correia – (coordenadas 2°53'26.2"S, 41°39'31.4"W). Após a coleta, foi feita a exsiccata da amostra vegetal para a determinação inequívoca do gênero e espécie da planta e posterior identificação e registro no herbário da Universidade Federal do Delta do Parnaíba (UFDPAr) – Campus Ministro Reis Velloso.

4.3 PROCEDIMENTO DA PESQUISA

4.3.1 Preparação dos extratos

Após a coleta, as folhas e caule de *V. farnesiana* foram separados, secos à temperatura ambiente, triturados e submetidos à extração com etanol à temperatura ambiente, de forma a obter o extrato etanólico das folhas (EEF) e o extrato etanólico do caule (EEC). Após a extração, o solvente orgânico foi removido com auxílio do evaporador rotativo modelo 801 da FISATOM, no Laboratório de Produtos Naturais do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí – Campus Parnaíba, e o rendimento dos extratos foi calculado pela Equação 1.

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

Uma pequena parte das folhas secas foram submetidas a outro método extrativo, sendo utilizado o aparato de Soxhlet, que é um sistema de refluxo o qual a amostra não entra em contato direto com o solvente. Ao final obteve-se o extrato etanólico das folhas extraído em Soxhlet (EEF_{Soxhlet}).

4.3.2 Cromatografia em Camada Delgada (CCD)

Alíquotas dos extratos etanólicos (EEF, EEC e EEF_{Soxhlet}) de *Vachellia farnesiana* foram dissolvidas em metanol e submetidas ao método cromatográfico em cromatoplasmas de alumínio com sílica da Macherey-Nagel (MN) com indicador de fluorescência. Os eluentes hexano/acetato de etila (8:2), e clorofórmio/metanol/água (65:30:5) foram utilizados como fase móvel e as placas, após o processo, foram expostas à luz UV (λ 254 e 365 nm) para observação do aparecimento de fluorescência e em seguida reveladas com solução de Ce(SO₄)₂ (sulfato cérico) e aquecidas em placa aquecedora.

4.3.3 Testes fitoquímicos para metabólitos secundários

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

4.3.3.1 Preparo das soluções das amostras

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

4.3.3.2 Testes para fenóis e taninos

Em um tubo de ensaio, contendo a solução hidroalcoólica do extrato, foram adicionadas três gotas de solução alcoólica de FeCl₃, após agitação, observou-se a possível alteração na coloração da solução. Uma variação de cor entre o azul e vermelho é indicativo da presença de fenóis, quando o teste branco for negativo. A formação de um precipitado escuro de tonalidade azul indica a presença de taninos

pirogálicos (taninos hidrolisáveis) e verde, a presença de taninos flobatênicos (taninos condensados ou catéquicos).

4.3.3.3 Testes para antocianinas, antocianidinas e flavonoides

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

4.3.3.4 Testes para leucoantocianidinas, catequinas e flavonas

Em dois tubos de ensaio contendo a solução hidroalcoólica do extrato, foi acidificado ao primeiro, HCl (1 mol L^{-1}) na faixa de pH entre 1 e 3, e ao segundo foi alcalinizado com NaOH (10%) até pH 11. Os tubos foram aquecidos em banho-maria durante 2-3 minutos. O aparecimento ou intensificação da cor indica a presença de constituintes especificados: Em meio ácido, a cor vermelha indica a presença de leucoantocianidinas, a cor pardo-amarelada indica a presença de catequinas (taninos catéquicos); em meio alcalino, a cor vermelho-laranja indica a presença de flavononas.

4.3.3.5 Teste para flavonois, flavanonas, flavononois e xantonas

Em um tubo de ensaio contendo a solução hidroalcoólica do extrato, foi adicionada uma fita de magnésio e 0,5 mL de HCl concentrado. Após o término da reação, indicado pelo fim da efervescência, observou-se a coloração resultante. O

aparecimento ou intensificação da coloração vermelha é indicativo da presença de flavonóis, flavanonas, flavanonóis e/ou xantonas, livres ou seus heterosídeos.

4.3.3.6 Teste confirmatório para leucoantocianidinas

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

4.3.3.7 Teste confirmatório para diidroflavonóis – Ensaio de Pacheco

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

4.3.3.8 Teste para esteroides e triterpenos – (Lieberman-Burchard)

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

4.3.3.9 Teste para heterosídeos saponínicos

O resíduo insolúvel em clorofórmio (item anterior) foi redissolvido com 10 mL de água destilada. A solução filtrada foi colocada em um tubo de ensaio, após agitação

vigorosa, durante 3 minutos, observou-se a formação de espuma. A espuma persistente e abundante indica a presença de saponinas (heterosídeos saponínicos).

4.3.3.10 Teste para alcaloides

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

4.3.3.11 Teste para alcaloides e cumarinas

Estes testes seguiram a metodologia adaptada de Kloss et al., (2016), onde primeiramente para o ensaio de alcaloides, preparou-se o reagente de Wagner, com a metodologia de DiVerdi (2019), na qual dissolveu-se 2 g de Iodo ressublimado e 6 g de Iodeto de Potássio em 100 mL de água destilada.

Para realizar o ensaio utilizaram-se 2,0 mL da solução hidroalcoólica do extrato etanólico, sendo adicionados 2,0 mL de ácido clorídrico (10%), e posterior aquecimento durante 10 minutos. Após o resfriamento, o extrato foi dividido em dois tubos de ensaios e colocaram-se oito gotas, utilizando pipeta de Pasteur, dos seguintes reativos:

Tubo 1 - Reativo de Dragendorff: observou-se a possível formação de precipitado de coloração laranja a vermelho;

Tubo 2 - Reativo de Wagner: observou-se a possível formação de precipitado de coloração alaranjada.

Para o ensaio de detecção de cumarinas, em um béquer adicionaram-se 2,00 mL da solução hidroalcoólica, vedou-se o béquer com papel de filtro impregnado em solução 10% de NaOH e aqueceu-se em banho maria a 100°C por 10 minutos. Removeu-se o papel-filtro e examinou-se sob luz ultravioleta nos comprimentos de onda de 254 e 365 nm. A fluorescência amarela ou verde indica a presença de cumarinas.

4.3.4 Atividades farmacológicas

4.3.4.1 Ensaio de toxicidade frente à *Artemia salina*

O ensaio de toxicidade frente à *A. salina* foi realizado conforme McLaughlin e Rogers (1998) com modificações. Foram preparadas soluções estoque em metanol na concentração de $10000 \mu\text{g mL}^{-1}$ do EEF e EEC de *V. farnesiana*. A partir da solução estoque alíquotas foram transferidas para tubos de ensaio de 30 mL para obtenção de soluções nas concentrações finais de 500, 600, 700, 800, 900 e $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$.

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

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

4.3.4.2 Atividade antioxidante pelo método de sequestro de radicais livres (DPPH)

Todas as amostras foram solubilizadas inicialmente em álcool etílico P.A. e diluídas em concentrações seriadas. Para realização das análises, adicionaram-se 1,5 mL da solução etanólica do radical DPPH $\cdot$ ($6 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) e uma alíquota de 0,5 mL das amostras nas diferentes concentrações. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro a 517 nm, após 30 minutos do início da reação. As determinações foram feitas em triplicata acompanhada de um controle negativo (sem antioxidante) e dois controles positivos (ácido ascórbico e Trolox®). A queda na leitura da densidade ótica das amostras foi correlacionada com o controle (somente o radical), estabelecendo-se a porcentagem de descoloração do radical DPPH $\cdot$ conforme a

Equação 2 a seguir (BRAND-WILLIAMS, CUVELIER e BERSET, 1995; VIEIRA et al., 2011).

$$\% \text{ de inibição do radical DPPH} \bullet = \frac{\text{Abs}_{\text{controle}} - \text{Abs}_{\text{branco}}}{\text{Abs}_{\text{controle}}} \times 100 \quad \text{Eq. 2}$$

Onde:

Abs = absorbância

Além do percentual de inibição do radical DPPH• também foi calculada, a concentração eficaz para inibir 50% desse radical (CE₅₀).

4.3.4.3 Avaliação do teor de flavonoides

4.3.4.3.1 Preparo das soluções

O teor de flavonóides totais (FLAT) do EEF e EEC de *V. farnesiana* foi determinado por espectrofotometria de absorção molecular utilizando uma solução metanólica de AlCl₃ (SOBRINHO et al., 2010).

Foi preparada uma solução padrão de rutina a 1000 mg L⁻¹, dissolvendo-se 0,1 g de rutina em 100 mL de MeOH/H₂O (7:3). As diluições para a construção da curva de calibração foram preparadas nas concentrações entre 3-21 (3; 6,5; 10; 13,5; 17; 21) mg L⁻¹. Foram ainda preparadas soluções metanólicas de piridina 20% em balão volumétrico de 50 mL e de AlCl₃ dissolvendo-se 2,5 g em 50 mL de MeOH.

4.3.4.3.2 Determinação de flavonoides totais

Inicialmente, a solução mãe foi preparada dissolvendo-se 10 mg do extrato etanólico em 10 mL de MeOH obtendo-se a concentração de 1000 µg mL⁻¹. Uma alíquota de 300 µL desta solução foi transferida para balões de 10 mL e acrescido 0,24 mL de ácido acético, 4 mL da solução metanólica de piridina 20% e 1 mL do reagente de cloreto de alumínio (50 mg mL⁻¹). Finalmente a solução teve seu volume acertado para 10 mL com água destilada. Realizou-se o branco em paralelo. Após 30 minutos, a absorbância das amostras foi medida a 420 nm utilizando-se cubetas de vidro. O teor de flavonóides totais (FLAT) foi determinado usando uma curva analítica de rutina na faixa de 3-21 mg L⁻¹, os valores foram expressos em miligramas de

equivalente de rutina por grama de extrato (mg de ER/g de amostra), a partir da Equação 3 e todas as análises foram realizadas em triplicata (n=3).

$$A = 0,0027C - 0,0052 \quad \text{Eq. 3}$$

Onde:

A = absorbância

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

4.4 TRATAMENTO DOS DADOS

Em virtude das análises fitoquímicas serem baseadas apenas nas observações de mudanças de coloração, formação de precipitado, formação de espuma e absorção de fluorescência no UV, todos os resultados obtidos foram considerados dados qualitativos. Dessa forma, para aqueles considerados positivos, os dados foram tratados com o símbolo (+), podendo ocorrer sua variação para dois (++) ou três (+++) símbolos, dependendo da intensidade do resultado obtido. O mesmo ocorre para os resultados negativos, que foram tratados com o símbolo (-). Todos os dados obtidos a partir dos testes fitoquímicos foram organizados em uma tabela, a fim de facilitar as devidas discussões.

As atividades farmacológicas foram realizadas em triplicata e tratadas quantitativamente utilizando o *software* Excel.

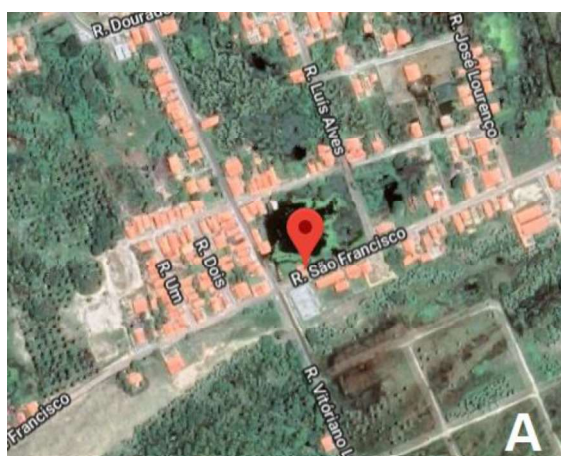
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Esta seção trata da descrição dos dados e discussão dos resultados obtidos, sendo apresentados e discutidos na ordem apresentada na metodologia deste trabalho.

5.1 COLETA DA ESPÉCIE

Uma exsicata de *V. farnesiana* foi preparada em laboratório, após a coleta no município de Luís Correia - PI (Figura 5), posteriormente foi identificada e registrada no acervo do Herbário Delta do Parnaíba (HDELTA) da Universidade Federal do Delta do Parnaíba (UFDPAr) – Campus Ministro Reis Velloso, sob o número de tombo científico HDELTA 6026. A taxonomia da planta foi confirmada através dos estudos de Maslin e Stirton (1997); Marchiori (2010); Machado, Marchiori e Siegloch (2016) e Maslin et al., (2019).

Figura 5 – (A) Localização da planta obtida por satélite; (B) Local de coleta.



Fonte: Google Maps, (2019).



Fonte: Autoria própria, (2018).

5.2 RENDIMENTO DOS EXTRATOS

As massas das folhas e caules e os respectivos rendimentos dos extratos etanólicos (EEF e EEC) de *V. farnesiana* foram obtidos como demonstra a Tabela 1.

Tabela 1 – Rendimento do EEF e EEC de *Vachellia farnesiana* (L.) Wight & Arn.

	EEF	EEC
Massa inicial do material vegetal	123,48 g	234,24 g
Massa do extrato obtido (EtOH)	25,03 g	17,57 g
Rendimento (%)	20,3%	7,5%

Fonte: Autoria Própria, (2018).

Embora a massa das folhas seja menor que a do caule, observou-se que o EEF apresentou um rendimento superior ao do caule, com uma diferença de 12,8%. Além disso, com relação à solubilidade, o EEF dissolveu parcialmente em metanol 100% e na mistura etanol/água (8:2), sendo necessária a utilização do banho de ultrassom para facilitar o processo de dissolução da amostra. Essa diferença pode ser atribuída à presença majoritária de ácidos graxos nas folhas, uma vez que o EEF apresentou aspecto mais oleoso quando comparado ao EEC.

Outro fator importante para um rendimento superior, é a presença de clorofila em maior quantidade no EEF, que possui coloração verde intensa, característica confirmatória para a presença deste pigmento que é facilmente extraído das folhas. No estudo realizado por Oliveira et al., (2016) é mostrado que para diferentes espécies, o método em que é realizado a extração, o tipo do solvente utilizado, o tempo e a temperatura influenciam diretamente no rendimento total do extrato.

A escolha do etanol para este estudo foi feita em virtude dessa molécula ser anfifílica, ou seja, tem a capacidade de extrair substâncias tanto com caráter polar quanto apolar e ainda, compostos de polaridade intermediária. Estudos com *V. farnesiana* indicaram a presença de terpenoides, esteroides, fenóis, flavonoides, taninos, e alcaloides em quantidades traço, em diferentes partes da planta, demonstrando a eficiência da extração do solvente etanol (BARAKAT et al., 1999; BIRADAR e RACHETTI, 2013; GABR et al., 2018).

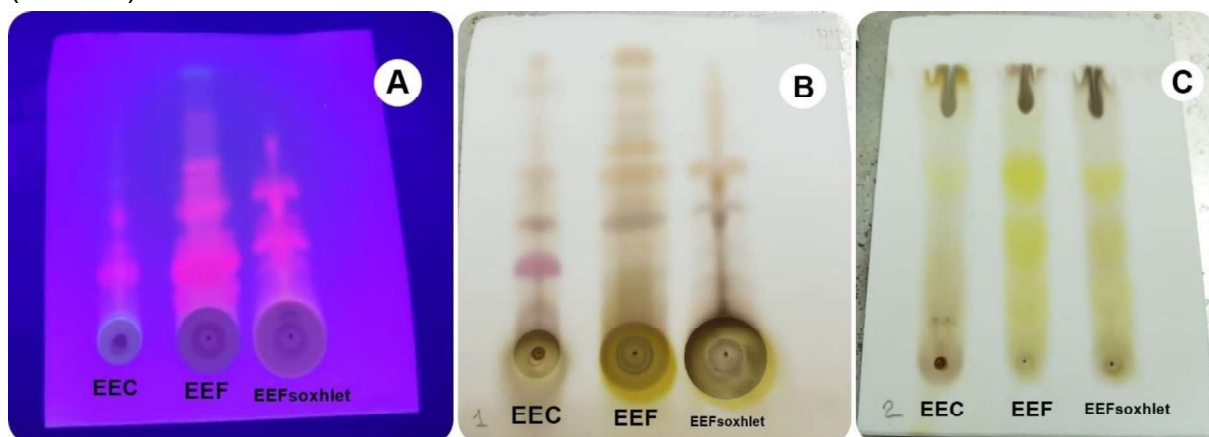
5.3 CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA (CCD)

Na técnica de cromatografia em camada delgada (CCD) a fase estacionária consiste em uma placa fina, que pode conter um sólido, como a sílica, depositado sobre uma placa de vidro, alumínio ou outro material inerte. Nela serão inseridas pequenas gotas da amostra em pontos próximos e, posteriormente, a placa é colocada em um recipiente saturado com a fase móvel, que contém a mistura de

solventes desejada para a eluição. Com a base da placa submersa, o solvente começa a molhar a fase estacionária e os componentes migrarão por capilaridade (PERES, 2002).

Dessa forma, a partir da técnica é possível traçar o perfil cromatográfico e sugerir as classes de metabólitos secundários presentes nos extratos analisados. Neste teste, descrito no item 4.3.2, foi utilizado um eluente de média polaridade, o hexano/AcOEt (8:2). Em um primeiro momento, a placa após eluída foi exposta à luz UV em ambos os comprimentos de onda (λ 254 e 365 nm), porém, o comprimento de melhor visualização foi o de 365 nm, sendo observada a predominância de fluorescência laranja e verde (Figura 6-A). A placa eluída em $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ (65:30:5) apresentou uma fluorescência mais discreta, sendo melhor analisada após revelação química com sulfato cérico.

Figura 6 – Cromatoplasmas dos extratos etanólicos EEC, EEF e EEF_{soxhlet} de *V. farnesiana*. (A) CCD após revelação física (UV λ 365 nm); (B) CCD após revelação química: hexano/AcOEt (8:2); (C) CCD após revelação química: $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ (65:30:5).



Fonte: Autoria Própria, (2018).

Após as placas serem reveladas com $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ (FIGURA 6-B e 6-C), foi possível observar a presença de uma mancha rosada no EEC e amarela intensa no EEF e EEF_{soxhlet}. Chaves (1997) fazendo uso do mesmo eluente e revelador químico, relata o aparecimento de manchas rosadas e sugere a presença de compostos de natureza terpenoídica. Ao utilizar o eluente $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ (65:30:5) também com o mesmo revelador, relata o aparecimento de manchas cinzas e amarelas, indicando a presença de açúcares e flavonoides, respectivamente. Hubinger (2009), também sugere a presença de compostos flavônicos para a coloração amarela-esverdeada. Já cor azul-fluorescente apresentada no EEC sob luz UV pode ser característica da presença de cumarinas e laranja característica para a presença de flavonas ou

flavonois (ARNOLD e TISSOT-SQUALLI, 2015; KLOSS et al., 2016; KUSTER e ROCHA, 2007).

5.4 TESTES FITOQUÍMICOS PARA METABÓLITOS SECUNDÁRIOS

A prospecção fitoquímica realizada a partir dos extratos hidroalcoólicos das folhas e caules seguiram o método de Matos (2009), no qual foram selecionados dez testes para classes de metabólitos secundários, e a metodologia adaptada de Kloss et al. (2016) para alcaloides e cumarinas. Durante a análise fitoquímica, os resultados obtidos para o EEF de *V. farnesiana* foram de difícil interpretação, em virtude do ensaio realizado ser colorimétrico e do extrato obtido das folhas ser bastante escuro devido à presença de clorofila, podendo ocasionar o mascaramento das cores. Observou-se que os metabólitos predominantes em ambos os extratos (EEF e EEC) foram os flavonois, flavanonas, flavononois, taninos condensados, cumarinas, esteroides livres e alcaloides, em diferentes intensidades. As leucoantocianidinas foram identificadas apenas no EEC, conforme apresenta o Quadro 3.

Quadro 3 – Constituintes identificados em EEF e EEC da espécie *Vachellia farnesiana* (L.) Wight & Arn. (Continua).

Metabólito Indicado	*Folhas	Resultado Colorimétrico	Caule	Resultado Colorimétrico
Fenóis	-	-	-	-
Taninos Hidrolisáveis	-	-	-	-
Taninos condensados ou catéquinos	+++	ppt verde	+++	verde escuro
Chalconas e Auronas	-	-	-	-
Antocianinas e Antocianidinas	-	-	-	-
Xantonas	-	-	ND**	-
Flavonois	+	alaranjado	+	alaranjado
Flavanonas	+	alaranjado	+	alaranjado
Leucoantocianidinas	-	-	+++	alaranjado

Fonte: Autoria Própria, (2018).

*Este resultado refere-se tanto ao EEF quanto ao EEF_{Soxhlet}.

ND** Não determinado

Quadro 3 – Constituintes identificados em EEF e EEC da espécie *Vachellia farnesiana* (L.) Wight & Arn. (Conclusão).

Metabólito Indicado	*Folhas	Resultado Colorimétrico	Caule	Resultado Colorimétrico
Catequinas	-	-	-	-
Flavononois	+	alaranjado	+	alaranjado
Diidroflavonois	-	cor verde intensa	-	marrom intenso
Esteróides livres	+++	transição de azul p/ verde intenso	++	verde claro
Triterpenos	-	-	-	-
Heterosídeos Saponínicos	-	-	-	-
Alcalóides	+	ppt alaranjado	+++	ppt alaranjado
Cumarinas	+	verde fluorescente	+	verde fluorescente

Fonte: Autoria Própria, (2018).

*Este resultado refere-se tanto ao EEF, quanto ao EEF_{Soxhlet}.

ND** Não determinado

5.4.1 Taninos

Os taninos são polifenóis de elevado peso molecular que apresentam nos vegetais a função de defesa contra herbívoros. Historicamente, a sua importância ligava-se as suas propriedades de curtimento da pele animal, transformando-a em couro por meio da precipitação de proteínas, que consequentemente evitava a putrefação da pele, a partir do uso de plantas chamadas taníferas por serem ricas em taninos. Além disso, eles são responsáveis pelos sabores adstringentes característicos de certos alimentos, devido as suas fortes interações com as proteínas salivares (SANTOS e MELLO, 2007; DEWICK, 2009).

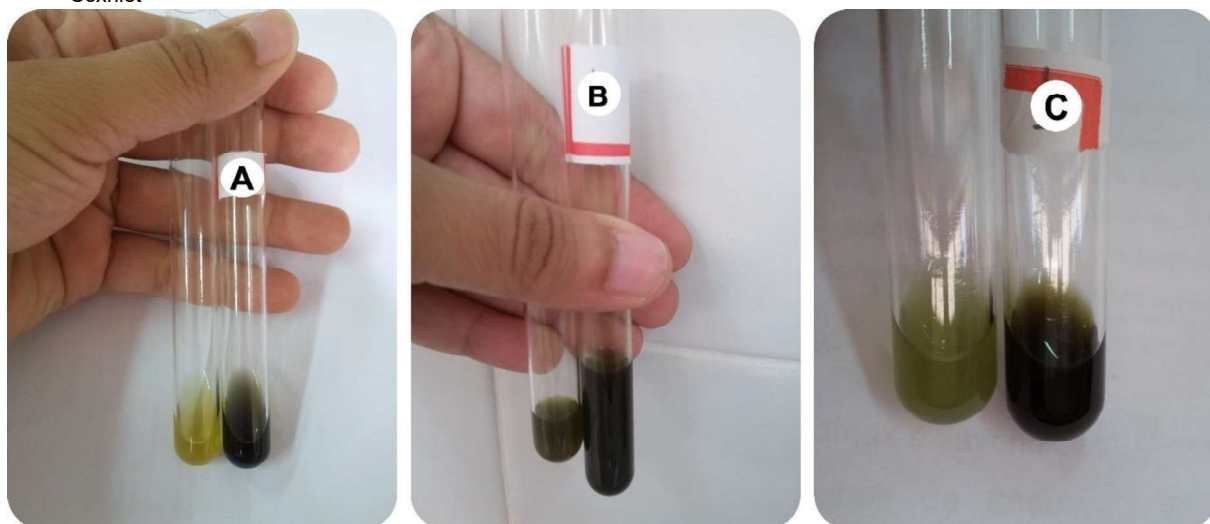
Quanto as suas estruturas químicas, estes, são classificados em dois tipos: hidrolisáveis e condensados. Os taninos hidrolisáveis têm como unidade básica estrutural um poliol central (resíduo de glicose), podendo ser a β -D-glicose, com seus grupos hidroxilas esterificados pelo ácido gálico ou outros ácidos fenólicos. Seu nome

provém justamente da suscetibilidade que as ligações ésteres têm para sofrer hidrólise por ácidos ou bases (BATTESTIN, MATSUDA e MACEDO, 2004; MONTEIRO et al., 2005; SANTOS e MELLO, 2007).

Já os taninos condensados, ou proantocianidinas, incluem todos os taninos verdadeiros, visto que suas moléculas são mais resistentes às fragmentações. Eles são polímeros constituídos por unidades de flavan-3-ol (catequinas) ou flavan-3,4-diol (leucoantocianidias), com cerca de duas a cinquenta unidades ou mais, e possui justamente a nomenclatura proantocianidinas por apresentar a pigmentação avermelhada da classe das antocianidinas, principalmente nas cascas de plantas (SANTOS e MELLO, 2007).

No presente teste, na qual ocorre a complexação desses polifenóis com cloreto férrico, a mudança da coloração em ambos os extratos para verde-escuro indicou a presença de taninos condensados, conforme apresenta o item 4.3.3.2. Como observa-se a Figura 7, o teste branco do EEF já apresenta uma coloração verde, o que dificultou a leitura do resultado para folhas, sendo confirmado com o extrato etanólico realizado em Soxhlet, que apresentou um resultado colorimétrico mais acentuado.

Figura 7 – Resultado colorimétrico obtido no teste para fenóis e taninos. A coloração verde pode ser observada em ambas as partes da planta. Em (A) EEC; (B) EEF; (C) EEF_{Soxhlet}.

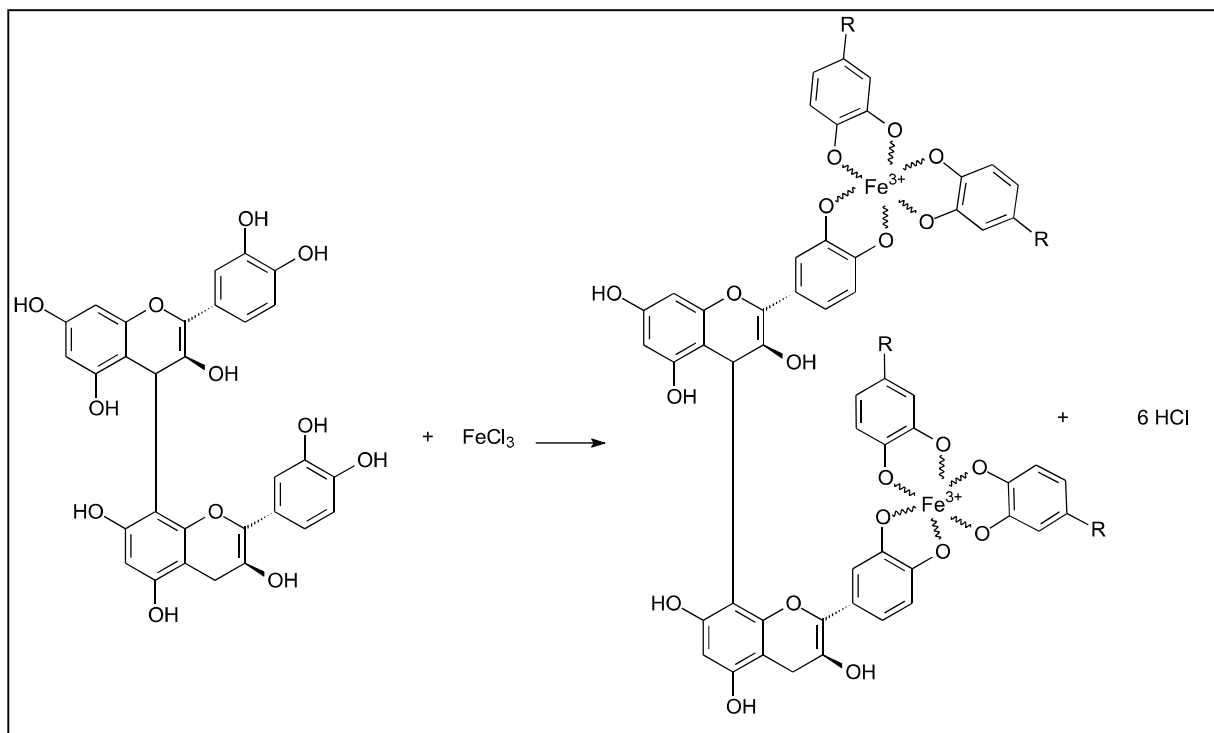


Fonte: Autoria própria, (2018).

No processo, a adição do cloreto férrico leva à formação de um complexo, através de uma troca de ligantes, visto que os taninos quando entram em contato com sais de metais pesados formam quelatos, como exemplo, o ferro, e as trocas de ligantes causam uma mudança de cor. Segundo Marchini (2015, p. 38), “o processo ocorre devido às hidroxilas do anel B estarem presentes na posição orto, e o anel A

ser formado por floroglucinol, com hidroxilas não adjacentes, que não favorecem a ligação com metais”. A Figura 8 propõe o mecanismo de complexação para caracterização de um tanino.

Figura 8 – Proposta de reação de complexação do ferro na caracterização de um tanino condensado.



Fonte: Adaptado de Wang, Fang e Mallavarapu, (2015).

A presença desta classe de metabólitos na composição fitoquímica de espécies vegetais conferem algumas atividades farmacológicas. Chung, Wei e Johnson (1998) em sua revisão, relataram atividades antimicrobianas, algumas propriedades anticarcinogênicas e anti-HIV, que são confirmadas pela revisão de Monteiro et al. (2005) que também relata a atividade sequestradora de radicais livres, apesar de no trabalho de Chung e colaboradores ser evidenciado que podem ser responsáveis pela incidência de câncer e toxicidade hepática, sugerindo assim um duplo efeito da presença desses metabólitos.

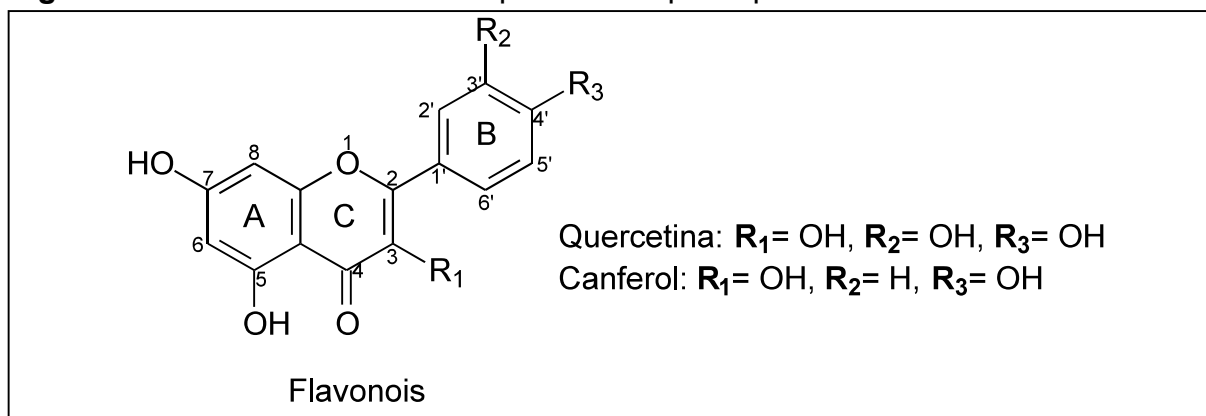
Devi e Prasad (1991) relataram, para diferentes espécies de *Acacia*, a presença de maior concentração de taninos na casca do caule. Subhan et al. (2018) detalha que os taninos condensados são os mais abundantes nas espécies de *Acacia*, perdendo apenas para os flavonoides. A madeira de *Acacia* rica em taninos é constantemente utilizada para o curtimento do couro, produção de papel e de cola de alta qualidade, muitas vezes superior à goma arábica (FRANCIS e LOWE, 2000).

5.4.2 Flavonóis

Os flavonoides, já anteriormente mencionados no item 2.3.2, são metabólitos que pertencem ao grupo dos compostos fenólicos e atuam nas plantas para a atração de insetos polinizadores, na pigmentação, na fertilidade das espécies e na defesa. Sua estrutura básica sintetizada a partir da hidrólise do ácido cinâmico leva a formação de uma chalcona, onde a partir dela origina-se e compreendem-se diversas classes de flavonoides (como os flavonóis, flavonas, isoflavonas e flavanonas), em que seu anel C pode assumir uma carbonila na posição C-4, ou pode ser um pirano heterocíclico (HUBER e RODRIGUEZ-AMAYA, 2008).

Segundo Zuanazzi e Montanha (2007 p. 581), os “[...] flavonóis são flavonas substituídas na posição C-3 por uma hidroxila [...]” sendo geralmente classificados juntos por possuírem a mesma “base teórica”. Dentre os tipos de flavonóis mais encontrados em espécies vegetais tem-se o canferol e a quercetina, este último conferindo propriedades antioxidantes, antitumorais, antiinflamatórias e antivirais. Na Figura 9, pode ser observado a estrutura genérica dos flavonóis, com substituintes R diferentes para os compostos apresentados.

Figura 9 – Classe dos flavonóis representada pelos polifenóis Quercetina e Canferol.

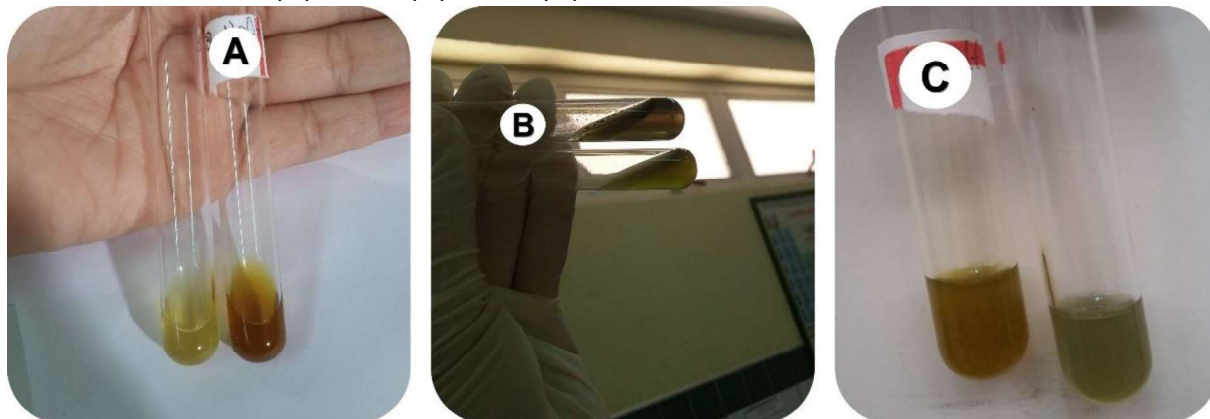


Fonte: Adaptado de Huber e Rodriguez-Amaya, (2008).

Neste teste de controle de pH, item 4.3.3.3, o aparecimento de cores diversas indica a presença de alguns constituintes. A mudança de coloração do EEC para vermelho-laranja ao ser alcalinizado com NaOH 10% a pH 11, indicou a presença de flavonóis. Como observa-se na Figura 10-B, o teste para o EEF não forneceu resultados precisos devido à coloração verde intensa decorrente da presença de clorofila. Dessa forma, foi necessário colocar o tubo contra a luz, sendo observada uma coloração rosada, diferente do tubo que continha o branco. O resultado positivo

foi evidenciado para $\text{EEF}_{\text{Soxhlet}}$, que apresentou a coloração alaranjada. O resultado colorimétrico do EEF indicou a presença de flavonois em baixa intensidade.

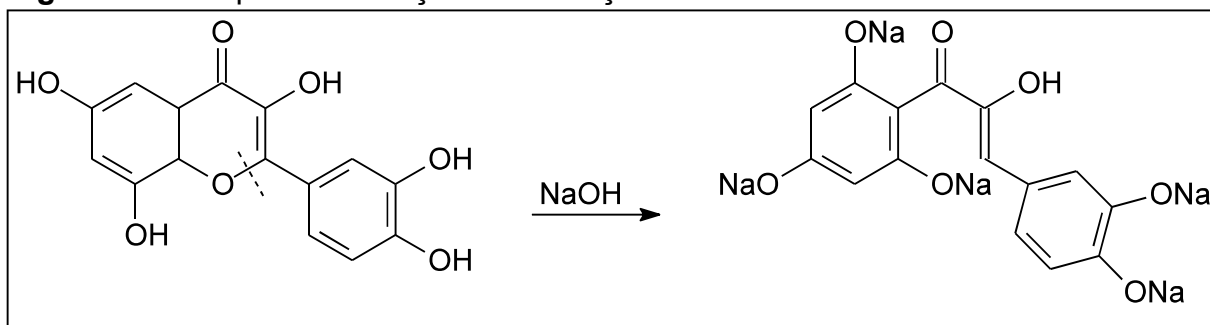
Figura 10 - Resultado colorimétrico obtido no teste para antocianinas, antocianidinas e flavonoides. Em (A) EEC; (B) EEF; (C) $\text{EEF}_{\text{Soxhlet}}$.



Fonte: Autoria própria, (2018).

Os hidróxiflavonoides reagem a frio com soluções alcalinas e como produto origina fenolatos que são corados e solúveis em água, mas que podem ser decompostos por ácidos (FIGURA 11). O aparecimento da coloração em pigmentos vegetais está associado a sua estrutura química, e dependerá das modificações que ocorrerão na molécula, quando o mesmo é submetido a diferentes valores de pH, podendo variar a estrutura conforme o núcleo, número e disposição dos substituintes. Zuanazzi e Montanha (2007) detalham que tanto a hidrólise alcalina quanto a ácida facilitam a identificação dos núcleos flavônicos.

Figura 11 – Proposta de reação de formação do fenolato em meio alcalino.



Fonte: Adaptado de *Ternopil State Medical University*, (2013).

Andrade et al. (2003) relatou o isolamento de alguns derivados flavânicos, dentre eles a apigenina 6-8-Bis-C- β -D-glucopiranosídeo em espécies do gênero *Acacia*. Subhan et al. (2018) em sua revisão sobre a fitoquímica das espécies de *Acacia* relatou que já foram encontrados mais de 100 tipos de flavonoides, sendo o grupamento químico mais predominante do gênero. Mais precisamente na espécie V.

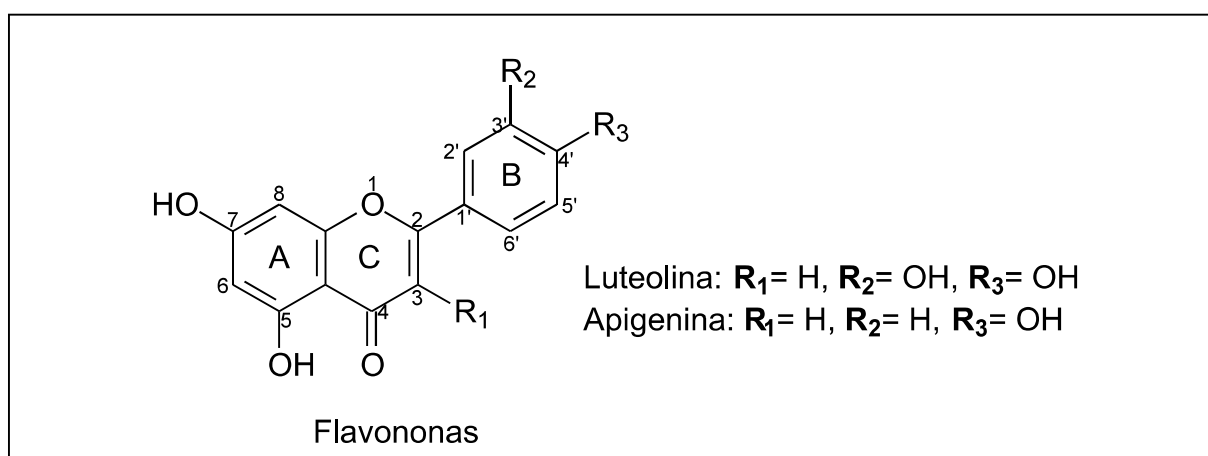
farnesiana, foi encontrado um flavonol, o canferol, nas flores e vagem, bem como narigenina, miricetina e quercetina, este último com maior presença nas folhas.

5.4.3 Flavononas

As flavononas são classificadas junto com os flavonóis por terem a mesma origem biossintética e estrutura semelhante, mudando apenas no C-3, que não é hidroxilado (FIGURA 12), e dessa forma, ambos possuem análises e reações semelhantes. A flavonona é derivada da 2-fenilcromona, sendo mais abundantemente encontrada nas plantas a apigenina e a luteolina, nas suas formas livres ou conjugadas (ZUANAZZI e MONTANHA, 2007).

Segundo Silveira (2014), as flavononas, em geral, são glicosiladas por um dissacarídeo na posição C-7, dessa forma ela se comporta como aglicona fazendo parte da estrutura de diversos glicosídeos, dentre eles hesperidina e narirutina, os principais glicosídeos que podem ser encontrados no suco de laranja.

Figura 12 – Classe dos flavonóis representada pelos polifenóis Luteolina e Apigenina.



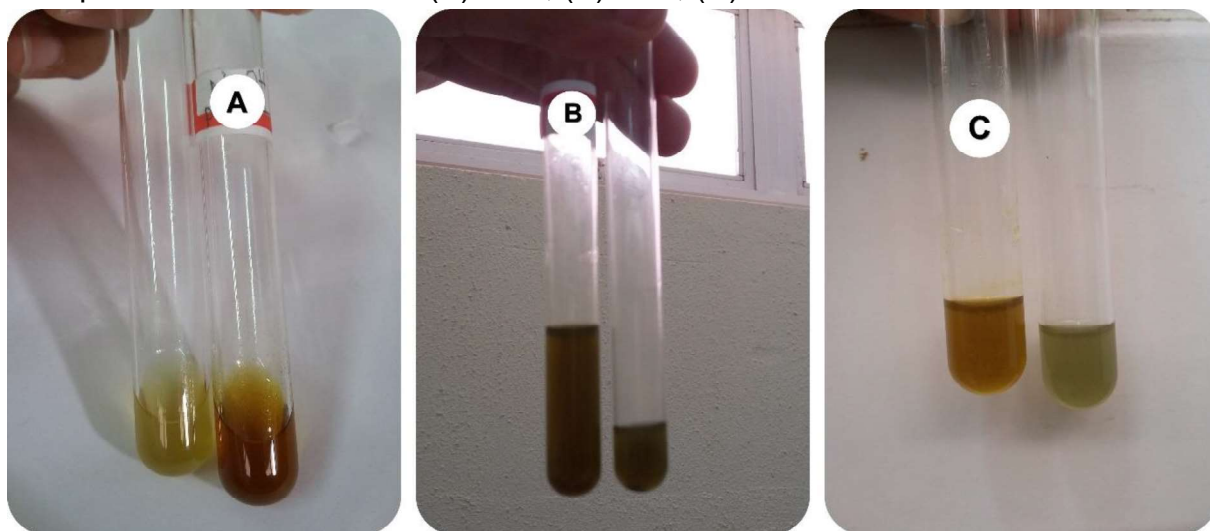
Fonte: Adaptado de Huber e Rodriguez-Amaya, (2008).

No presente teste, também de controle de pH, executado conforme o item 4.3.3.4, houve o aparecimento de uma coloração vermelho-laranja mais acentuada no EEC, que foi alcalinizado a pH 11 e colocado em aquecimento, demonstrando um resultado positivo para flavononas. Tanto o EEF quanto o EEF_{Soxhlet} apresentaram aparente mudança de coloração, porém assumindo um tom fracamente alaranjado, em virtude da coloração verde escura dos extratos, que interfere o resultado colorimétrico do teste (Figura 13). Além disso, Matos (2009) detalha em sua literatura, que em relação a essa análise, pode ocorrer que o extrato apresente

leucoantocianidinas, catequinas e flavononas, causando assim interferência na cor observada para cada classe isoladamente.

Devido a sua parte glicosilada, o aquecimento do extrato contendo as flavonas provoca a hidrólise dos seus O-heterosídeos, o que favorece o isolamento dos núcleos flavônicos. Essa identificação estrutural dos flavonoides é ainda mais favorecida pela ocorrência dessa hidrólise em meio ácido ou básico (ZUANAZZI e MONTANHA, 2007).

Figura 13 – Resultado colorimétrico obtido no teste para leucoantocianidinas, catequinas e flavononas. Em (A) EEC; (B) EEF; (C) EEF_{Soxhlet}.



Fonte: Autoria própria, (2018).

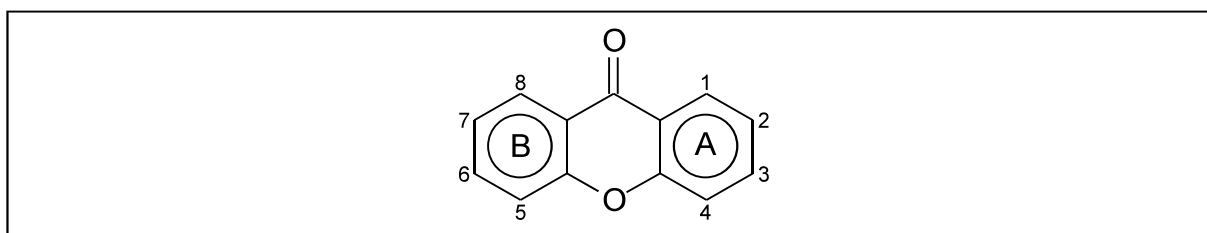
Seigler (2003), em sua revisão sobre a fitoquímica da Acacia, relatou a ocorrência de apigenina em algumas espécies principalmente em *A. farnesiana*. Mais recentemente, Subhan et al. (2018) reportou a presença de narigenina nas vagens de *A. farnesiana*. A presença das flavononas no extrato pode conferir algumas especificidades, visto que no organismo, as flavononas apresentam propriedades de proteção à saúde, como antioxidantes, hipolipidêmicas, anti-hipertensivas, anti-inflamatórias e antidiabéticas (SILVEIRA, 2014).

5.4.4 Flavonois, flavononas, flavononois e xantonas

Como já dito, os flavonoides possuem estrutura básica formada por C6-C3-C6, podendo variar suas subclasses quanto a sua estrutura química, principalmente em relação aos seus substituintes. Pode-se citar como as principais classes de flavonoides os flavonois, flavonas, flavononas, catequinas, antocianidinas, isoflavonas, di-hidroflavonois e chalconas (COOK e SAMMAN, 1996).

Já as xantonas possuem como estrutura base a dibenzo-γ-pirona (FIGURA 14), também proveniente da via do chiquimato. Apesar de serem quimicamente diferentes, essa classe tem um comportamento reacional colorimétrico e cromatográfico muito semelhante aos flavonoides e por isso podem ser identificadas em um mesmo tipo de análise (KUSTER e ROCHA, 2007).

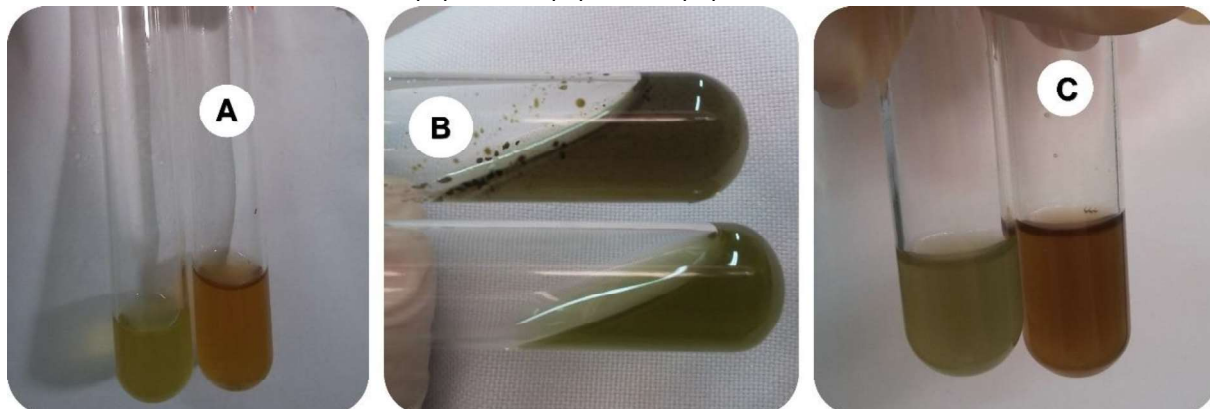
Figura 14 – Estrutura básica das xantonas.



Fonte: Adaptado de Kuster e Rocha, (2007)

No presente teste, como descrito no item 4.3.3.5, ao término da reação, ambos os extratos obtiveram uma coloração alaranjada, com dificuldade de visualização apenas para o EEF, onde foi possível visualizar uma pequena diferença entre a amostra-teste e o branco (Figura 15-B). Porém, o resultado foi evidenciado com o EEF_{Soxhlet}, como mostra a Figura 15-C, que apresentou uma coloração também alaranjada.

Figura 15 – Resultado colorimétrico obtido no teste para flavonóis, flavononas, flavononóis e xantonas. Em (A) EEC; (B) EEF; (C) EEF_{Soxhlet}.

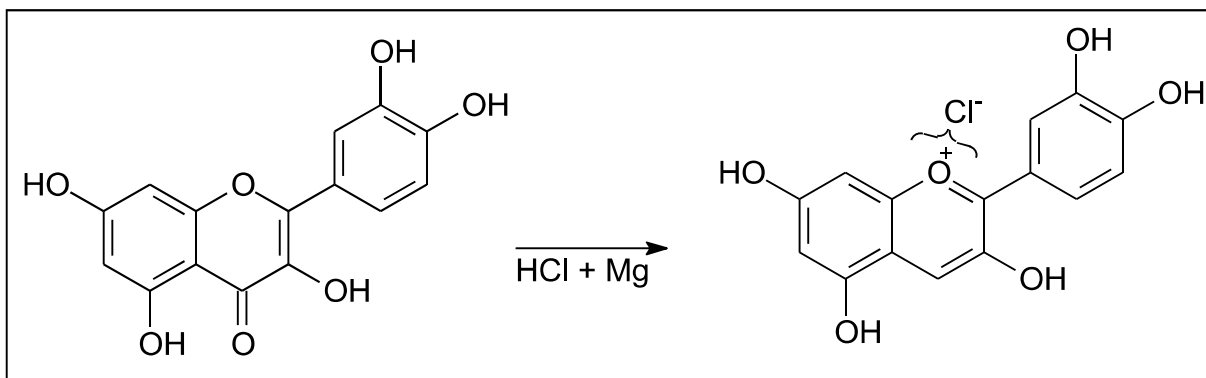


Fonte: Autoria própria, (2018).

A reação ocorrida no teste é conhecida como reação de Shinoda ou reação da cianidina. Essa reação se baseia na redução em meio ácido dos derivados flavônicos (que caracteristicamente possuem a cor amarela) em antociânicos com a coloração entre vermelho-laranja e vermelho-violeta, e em decorrência da sua estrutura, o mesmo acontece com as xantonas. O aparecimento da cor laranja sugere a presença de flavonas, vermelho sugere flavonóis e violeta sugere flavanonas (HUBINGER, 2009).

De acordo com Reichert (2011, p. 35), essa é a reação mais utilizada para caracterização de flavonoides, mas com uma certa limitação visto que as chalconas, isoflavonas e xantonas não produzem coloração, ou seja, permanecem amarelas. Detalha ainda, que: “A redução efetua-se, em geral, pelo hidrogênio. O composto, como por exemplo a quercetina, reage na presença de HCl concentrado e magnésio em pó, sendo reduzido à cianidina, resultando em coloração característica” (FIGURA 16).

Figura 16 – Proposta de reação de Shinoda ou reação da cianidina.



Fonte: Adaptado de Reichert, (2011).

5.4.5 Leucoantocianidinas

As leucoantocianidinas fazem parte da classe dos flavonoides, mais precisamente dos bioflavonoides, e tem como principal característica seu alto poder antioxidante, que segundo Pereira (2018, p. 23), essa ação “[...] chega a ser mais forte que a vitamina E”. Exatamente por esse comportamento, o estudo dos flavonoides, como as leucoantocianidinas, proantocianidinas e antocianidinas, vem se intensificando, visto que já demonstraram grande potencial na redução de doenças cardiovasculares, diabetes, obesidade e câncer.

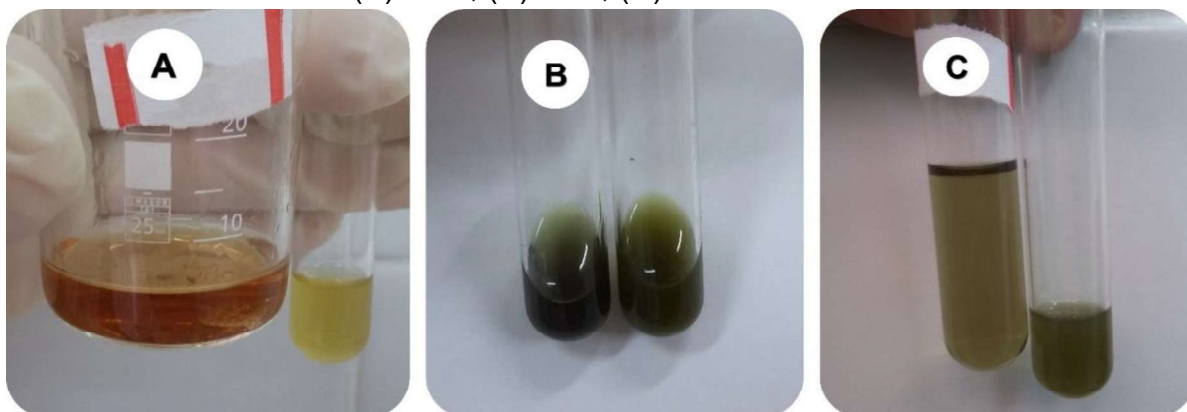
Conforme relatam Santos e Mello (2007) e Dewick (2009), os flavan-3,4-dióis, mais conhecidos como leucoantocianidinas (ou leucocianidinas) são formados diretamente a partir da redução de di-hidroflavonois ou flavononas, ocorrendo modificação nos padrões de hidroxilação no anel aromático. Posteriormente, essa estrutura formada, considerada um intermediário, contribui na formação de outros compostos como catequinas, proantocianidinas e antocianidinas.

Neste teste para confirmação da presença de leucoantocianidinas, conforme o item 4.3.3.4, observou-se o desenvolvimento de coloração do EEC em um tom

alaranjado após o aquecimento brando em banho maria (Figura 17-A). Porém, para o EEF não houve mudança aparente e o mesmo ocorreu com o EEF_{Soxhlet}. Esse comportamento nos extratos das folhas pode ser resultante da presença de outros constituintes como catequinas e flavonas, que podem ter interferido na visualização da cor, apesar de nos outros testes os extratos não terem apresentado coloração em meio ácido.

Em sua literatura, Matos (2009) detalha que em alguns testes de confirmação no qual são usados extratos escuros, o aparecimento e modificação de cores não podem ser bem observados. Para visualizar melhor a mudança, é orientado a realização do teste no extrato diluído, que foi realizado apenas no EEF_{soxhlet}, porém novamente não foi observada mudança aparente, como é visto na Figura 17-C, o que indica um resultado negativo para leucoantocianidinas no EEF de *V. farnesiana*.

Figura 17 – Resultado colorimétrico obtido no teste confirmatório para leucoantocianidinas. Em (A) EEC; (B) EEF; (C) EEF_{Soxhlet}.

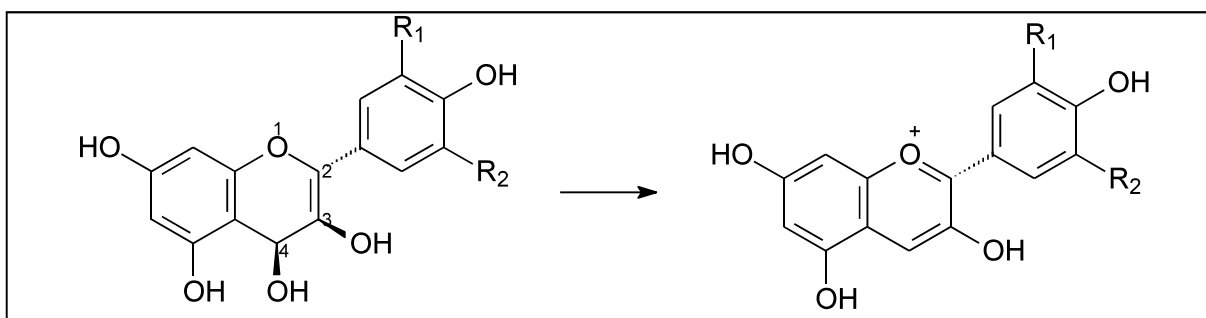


Fonte: Autoria Própria, (2018).

Como citado anteriormente, as leucoantocianidinas são intermediários para a formação de outros compostos. A reação de formação de antocianidinas (FIGURA 18) é influenciada pelo meio ácido, desenvolvendo a desidrogenação do C-2 da estrutura das leucoantocianidinas, com a posterior desidratação dos C-3 e C-4 e como consequência do meio reacional, a adição de um grupo hidroxila no carbono 3 (C-3) e o desenvolvimento de uma coloração avermelhada ocorrendo em virtude da predominância de sua estrutura na forma do cátion flavílico (SANTOS, 2018; MARÇO, POPPI e SCARMINIO, 2008).

Nas espécies do gênero *Acacia*, há poucos relatos quanto à presença de leucoantocianidinas, sendo observadas em apenas alguns trabalhos, como relatado por Andrade et al. (2003), o isolamento de 2,3-*cis*-leucoantocianidina, nas flores de *A. melanoxylon*, e a teracacidina na espécie *A. interdexta*.

Figura 18 – Proposta de reação de identificação de leucoantocianidinas.



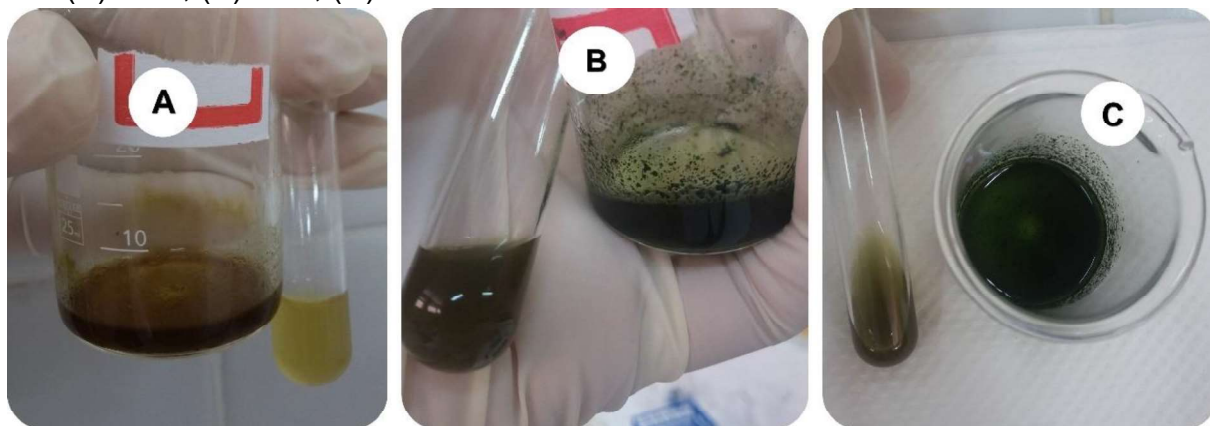
Fonte: Adaptado de Santos, (2018).

5.4.6 Diidroflavonois

Essa classe também pertencente aos flavonoides, tem como característica comum a ligação simples entre os carbonos 2 e 3, sendo dessa forma di-hidrogenado, o que os torna diferentes das outras classes. Muitas vezes eles são também denominados flavanonois, e na rota biossintética são intermediários e auxiliam na formação de chalconas e flavonois. Eles possuem uma atividade farmacológica em potencial, visto que muitos representantes de sua classe atuam nas plantas como protetores de doenças (BARREIROS, 2005).

No presente teste, detalhado no item 4.3.3.7, após a adição de ambos os reagentes, todos os extratos desenvolveram sua coloração para um tom mais forte. O EEC que possuía um tom amarelo claro, como pode ser visto na Figura 19-A, passou para uma coloração alaranjada. O que também foi visto tanto no EEF quanto no EEF_{Soxhlet}, que possuíam um tom verde fraco, e passaram a assumir uma coloração verde intensa.

Figura 19 – Resultado colorimétrico obtido no teste confirmatório para diidroflavonois. Em (A) EEC; (B) EEF; (C) EEF_{Soxhlet}.



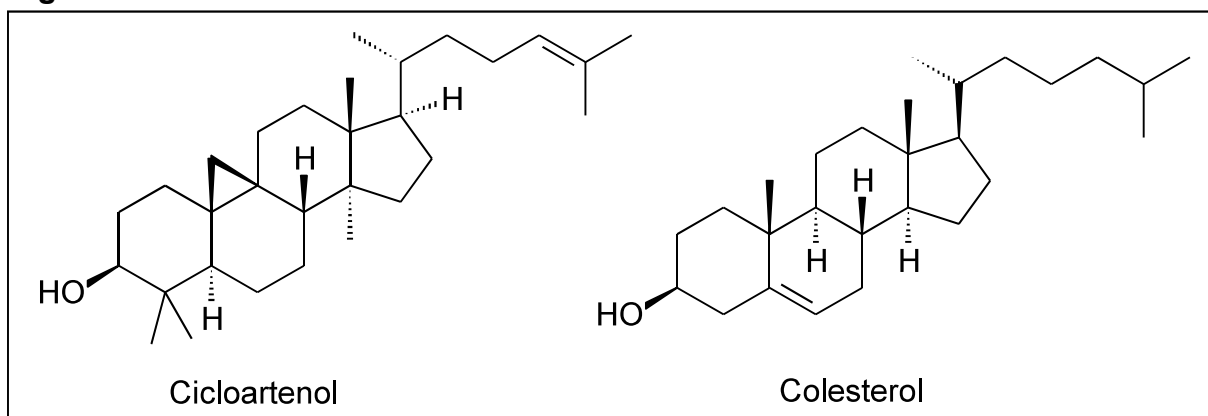
Fonte: Autoria Própria, (2018).

Apesar de apresentar um resultado colorimétrico significativo e a metodologia detalhar que o possível desenvolvimento de coloração é considerado positivo para a presença de diidroflavonois, Machado et al. (2011) relatam em sua metodologia que na reação de Pacheco deve-se considerar como positivo a mudança de coloração do extrato para roxo. Dessa forma, novamente observando ambos os extratos na Figura 19, nenhum deles assumiu essa coloração, sendo considerado posteriormente o resultado negativo para a presença de diidroflavonois.

5.4.7 Esteroides livres

Conforme é descrito por Dewick (2009), os esteroides são um tipo de triterpenoides modificados, no qual contém um anel tetracíclico conhecido por cicloartenol, em que a partir dele os esteroides vegetais são derivados. Um dos esteroides fundamentais é o colesterol (FIGURA 20), e as suas modificações nas cadeias laterais que dão origem a ampla gama de compostos esteroides. Muitas atividades biológicas são conferidas aos esteroides, uma delas é a sua eficiência contra doenças cardiovasculares ao reduzir os níveis de colesterol.

Figura 20 – Estruturas dos esteroides lanosterol e colesterol.



Fonte: Adaptado de Dewick, (2009).

Queiroz (2009) discorre que a presença desses esteroides nas plantas leva a mudança de sua nomenclatura para fitoesteroides. Apesar de serem encontrados comumente nas porções apolares dos extratos vegetais muitas vezes de forma abundante, sendo em geral os primeiros a serem identificados, poucos dados são publicados em relação a essa classe, sendo bem menos descritos na literatura.

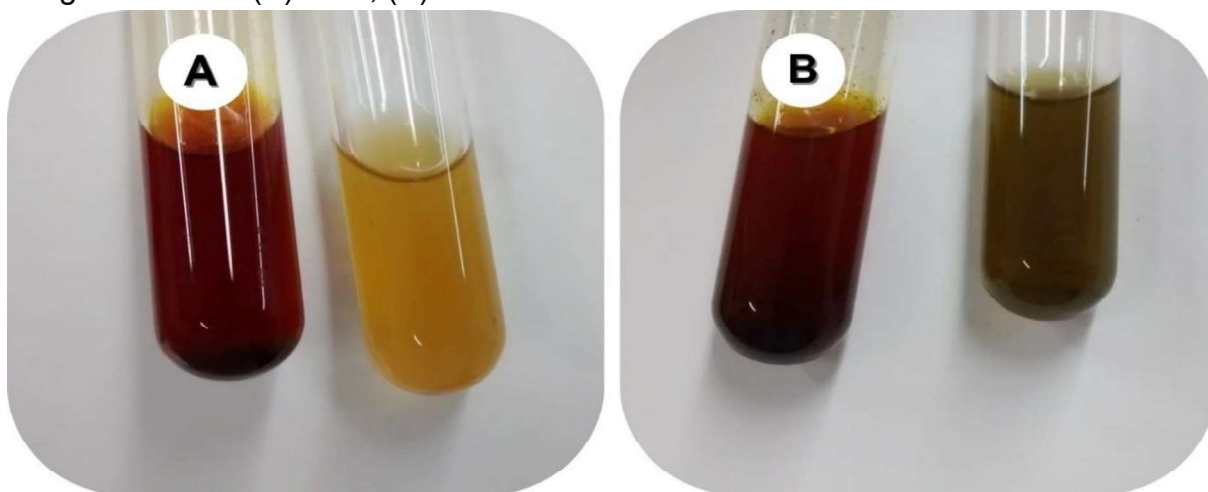
No presente teste, conhecido como reação de Lieberman-Burchard, conforme descreve o item 4.3.3.8, o resultado foi observado rapidamente, com a transição de

5.4.8 Alcaloides

Como já citado anteriormente no item 2.3.2, os alcaloides possuem atuação no sistema nervoso humano, são nitrogenados e ativos farmacologicamente e seu nome deriva de alcali, justamente por possuírem um ou mais átomos de hidrogênio, formando aminas primárias, secundárias ou terciárias que conferem a sua basicidade. O grau de basicidade varia conforme a sua estrutura e seus ligantes, e esse caráter básico facilita a sua caracterização, visto que formam sais solúveis em água na presença de ácidos (DEWICK, 2009).

Visto que a maioria dos alcaloides precipitam em soluções neutras ou levemente ácidas com reagentes específicos, como o reativo de Dragendorff e o reativo de Wagner, o presente teste descrito nos itens 4.3.3.10 e 4.3.3.11, utiliza estes reagentes para a identificação desta classe de metabólitos. Conforme a Figura 23 e a Figura 24, é possível observar o aparecimento de um precipitado laranja apenas no EEC após a adição dos reagentes, assim determinando o resultado positivo para a presença de alcaloides apenas no caule.

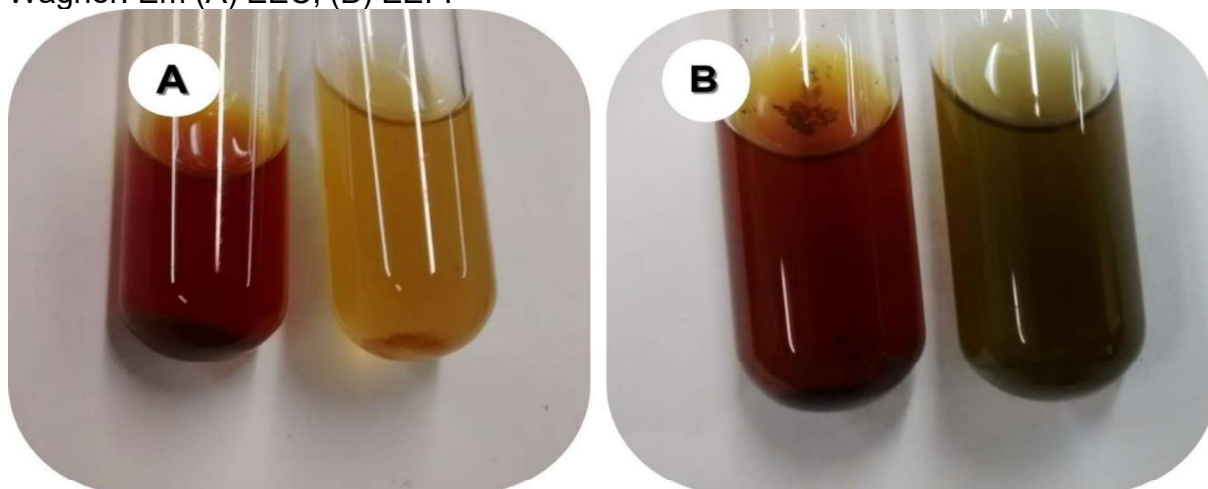
Figura 23 – Resultado obtido no teste para alcaloides utilizando o reagente de Dragendorff. Em (A) EEC; (B) EEF.



Fonte: Autoria Própria, (2019).

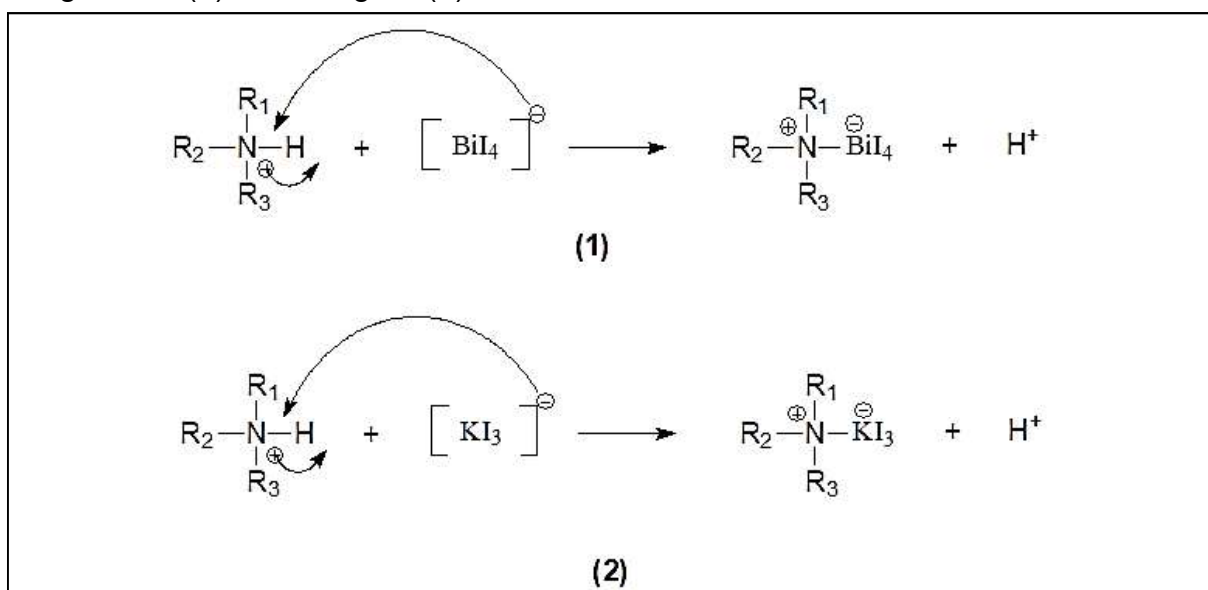
Em relação ao reagente de Dragendorff (tetraiodobismutato de potássio) a detecção é feita por sua adição à amostra. Rodrigues (2015, p. 1) detalha que “Em condições ácidas, as aminas terciárias ficam no seu estado protonado e a adição do reagente leva à formação de um precipitado corado, entre $[BiI_4]^-$ e $[HNR_3]^+$ ”, e esse sal formado precipita com uma coloração laranja. O mecanismo reacional pode ser visualizado na Figura 25.

Figura 24 – Resultado obtido no teste para alcaloides utilizando o reagente de Wagner. Em (A) EEC; (B) EEF.



Fonte: Autoria Própria, (2019).

Figura 25 – Mecanismos propostos para a reação de precipitação com o reativo de Dragendorff (1) e de Wagner (2).



Fonte: Autoria Própria, (2019) com adaptações de Santos, (2018).

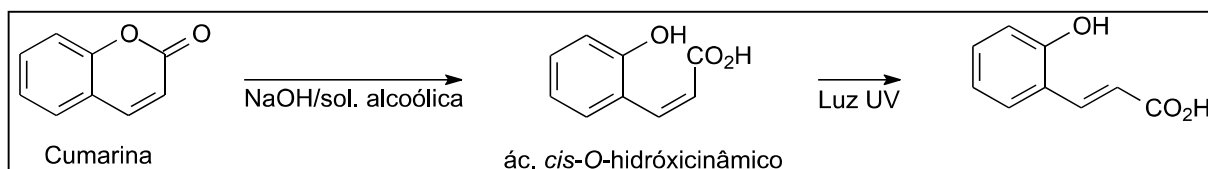
Porém, segundo Denny (2007), essa não é uma reação específica de alcaloides, podendo ocorrer a precipitação com outros compostos nitrogenados, resultando em um falso positivo e causando interferência no resultado.

Tratando-se do reativo de Wagner (iodo-iodeto de potássio), que também realiza a detecção a partir da adição da amostra, Gomberg (1896) relata que é feito o uso desse reagente para detecção de alcaloides desde 1839. Nessa reação, o alcaloide também fica protonado em água acidulada, e à solução é adicionado o reagente que precipita os alcaloides, conforme a proposta já apresentada do mecanismo na Figura 25.

5.4.9 Cumarinas

As cumarinas são lactonas derivadas do ácido *O*-hidroxicinâmico, a partir da hidroxilação no carbono 4 (C-4), orto ao substituinte. Uma de suas propriedades biológicas conhecidas é a ação anticoagulante e vasodilatadora de um dicumarol muito conhecido, a varfarina. No seu processo de caracterização em meio alcalino ocorre a abertura do anel, promovendo a formação do ácido *cis*-*O*-hidroxicinâmico que exposto à radiação ultravioleta origina o isômero *trans*, que é fluorescente, conforme é mostrado na Figura 26 (KUSTER e ROCHA, 2007; DEWICK, 2009).

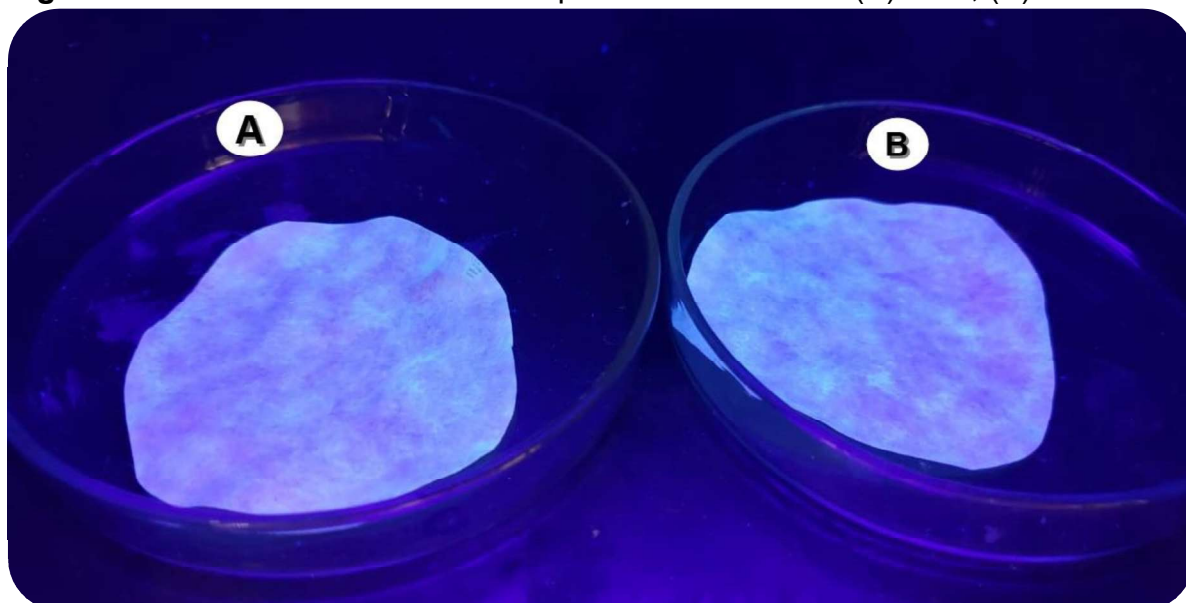
Figura 26 – Mecanismo proposto para a formação do isômero do ácido *cis*-*O*-hidroxicinâmico.



Fonte: Adaptado de Duarte, (2012).

No presente teste, detalhado no item 4.3.3.11, após o aquecimento e posterior exposição do papel filtro sob a luz UV no comprimento de λ 365 nm, foi possível visualizar, na Figura 27, pequenas manchas verde-fluorescentes indicando o resultado positivo para a presença de cumarinas no EEF e EEC. Nessa reação, o ácido *trans*-*O*-hidroxicinâmico formado em meio alcalino possui a fluorescência verde ou azul.

Figura 27 – Resultado obtido no teste para cumarinas. Em (A) EEC; (B) EEF.



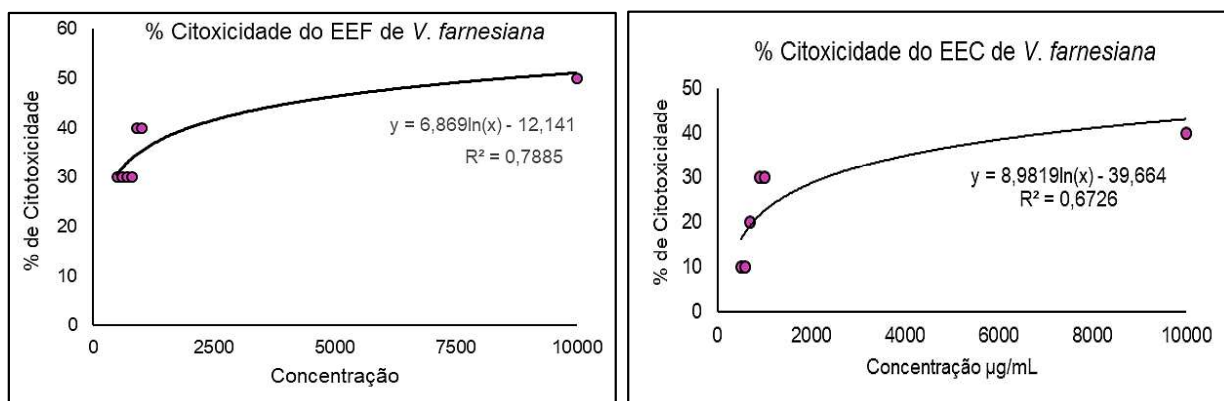
Fonte: Autoria Própria, (2019).

5.5 ENSAIO DE TOXICIDADE FRENTE À *Artemia salina*

Como alternativa ao uso de animais em testes toxicológicos e em razão do alto custo de reagentes químicos, realizou-se o ensaio de citotoxicidade com *Artemia salina* (Artemiidae), um microcrustáceo, utilizado como alimento de peixes e camarões. O aumento da letalidade com o aumento linear da concentração permite a determinação da dose (concentração) do extrato que causa 50% de letalidade (DL_{50}). O extrato é considerado não tóxico se a $DL_{50} > 1000 \mu\text{g mL}^{-1}$, fracamente tóxico se a DL_{50} 500-1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e muito tóxico se $DL_{50} < 100 \mu\text{g mL}^{-1}$. O ensaio de citotoxicidade com *A. salina* é uma indicação da segurança do extrato testado e apresenta boa correlação com atividade citotóxica frente a tumores humanos (RAMLI, HARADA e RUANGRUNGSI, 2011).

A partir da extrapolação logarítmica da curva do Gráfico 1 para o EEF, obteve-se a equação $y = 6,869\ln(x) - 12,141$, em que a DL_{50} calculada para o EEF foi de 8,3 mg mL^{-1} ($\cong 8300 \mu\text{g mL}^{-1}$). Este valor é próximo ao valor encontrado por Ramli, Harada e Ruangrungsi (2011), apesar de ter sugerido que na concentração de 10 mg mL^{-1} o extrato etanólico das folhas de *V. farnesiana* não seja tóxico. Para o EEC, a extrapolação logarítmica da curva (GRÁFICO 1) forneceu a equação $y = 8,9819\ln(x) - 39,664$ que permitiu calcular a DL_{50} igual a 21 mg mL^{-1} ($\cong 21000 \mu\text{g mL}^{-1}$), mais de duas vezes maior do que a obtida para o EEF. Tanto o EEF quanto EEC, portanto, são considerados seguros para as concentrações testadas.

Gráfico 1 – Citotoxicidade do EEF e do EEC de *V. farnesiana*.



Fonte: Autoria Própria, (2019).

5.6 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO DE SEQUESTRO DE RADICAIS LIVRES (DPPH[•])

A atividade antioxidante foi determinada através da capacidade dos antioxidantes presentes nas amostras em sequestrar o radical estável 2,2-difenil-1-picril hidrazil (DPPH). Segundo Nascimento et al., (2011, p. 3) “[...]o DPPH que possui cor púrpura é reduzido formando difenil-picril-hidrazina, de coloração amarela, com conseqüente desaparecimento da absorção, podendo a mesma ser monitorada pelo decréscimo da absorbância”.

No presente teste, no qual os diferentes extratos foram submetidos à interação com o radical DPPH[•], a concentração eficaz do EEC para inibir 50% do radical DPPH[•] foi de $255,0 \pm 3,3 \mu\text{g mL}^{-1}$, enquanto o EEF apresentou a CE_{50} de $465,5 \pm 5,8 \mu\text{g mL}^{-1}$, como mostra a Tabela 2. Segundo Ramli, Harada e Ruangrunsi (2011), o extrato etanólico das folhas de *V. farnesiana* apresentou CE_{50} de $56 \mu\text{g mL}^{-1}$, maior que o controle positivo utilizado, a quercetina, que apresenta CE_{50} de $3,25 \mu\text{g mL}^{-1}$. Esses resultados fornecem uma razão de 17:1, enquanto para o EEF a razão entre a CE_{50} obtida e o padrão ácido ascórbico é de 20:1.

Tabela 2 - Concentração eficaz para inibir 50% do radical DPPH[•] (CE_{50}).

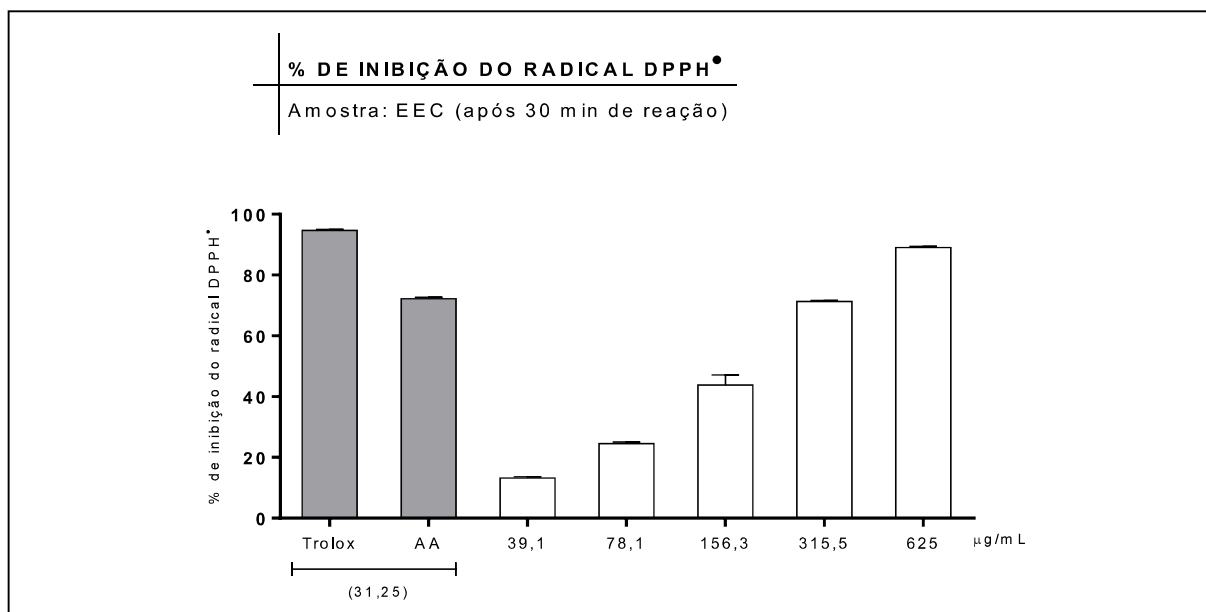
AMOSTRAS	$\text{CE}_{50} \mu\text{g/mL}$	IC 95%*
EEC	$255,0 \pm 3,3$	246,8 – 263,2
EEF	$465,5 \pm 5,8$	451,0 – 480,0
Ácido Ascórbico	$22,7 \pm 0,1$	22,4 – 23,0
Trolox®	$14,9 \pm 0,4$	13,9 – 15,9

Fonte: Autoria Própria, (2019).

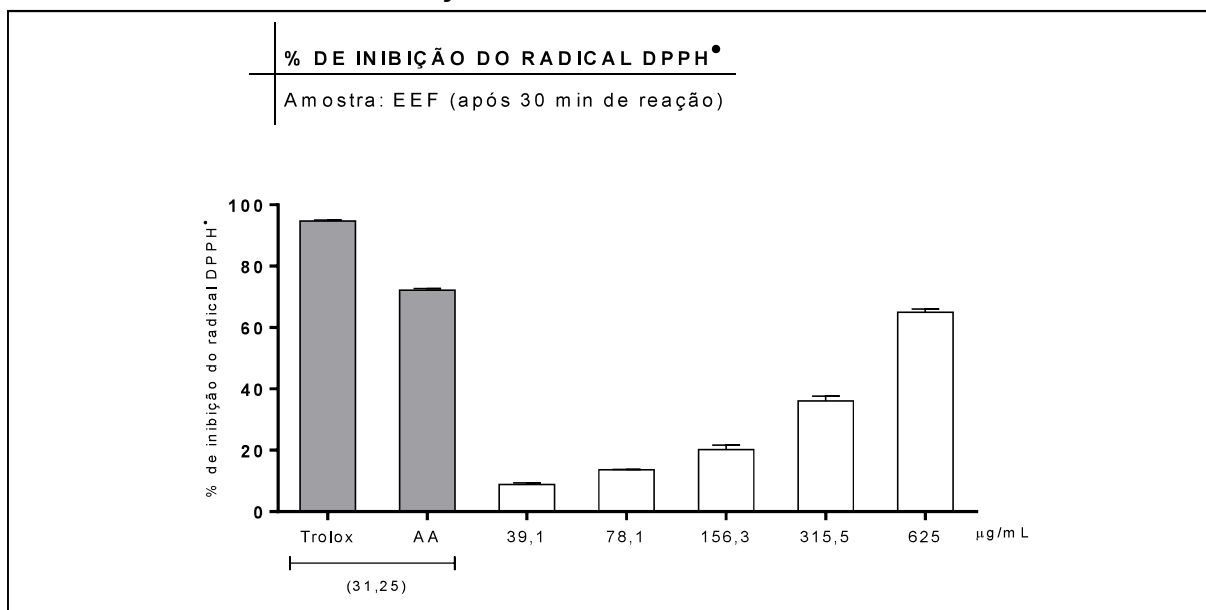
± desvio padrão da média, n=3.

*Intervalo com 95% de confiança

Além disso, quando comparados em relação ao percentual de atividade antioxidante (%AA), o EEC demonstrou maior atividade, visto que para inibir 90% do radical DPPH[•], é necessário cerca de $625 \mu\text{g mL}^{-1}$, enquanto para o EEF na mesma concentração, o %AA é cerca de 65%. Isso indica que o EEC apresenta uma maior capacidade antioxidante frente ao radical livre DPPH[•] (Gráficos 3 e 4). Observou-se que a $625 \mu\text{g mL}^{-1}$, o EEC apresentou %AA comparável ao padrão Trolox®, dessa forma, para o EEC apresentar o mesmo %AA do Trolox, é necessária uma concentração cerca de vinte vezes maior de EEC e dez vezes maior para obter o %AA do ácido ascórbico.

Gráfico 2 - Percentual de inibição do radical livre DPPH[•] no EEC.

Fonte: Autoria Própria, (2019).

Gráfico 3 - Percentual de inibição do radical livre DPPH[•] no EEF.

Fonte: Autoria Própria, (2019).

5.7 AVALIAÇÃO DO TEOR DE FLAVONOIDES

Flavonoides são difenilpropanoides que ocorrem comumente em plantas e são componentes da dieta humana. Dentre as principais subclasses de flavonoides estão as flavonas, isoflavonas e os derivados 2,3-di-hidroflavonas, chamadas flavanonas, que podem ser convertidas isomericamente a chalconas. Flavanonas podem sofrer

alterações no anel C, originando outras subclasses de flavonoides, incluindo as antocianinas.

Com base nos resultados mostrados na Tabela 3, observou-se que o EEF apresentou maior teor de flavonoides totais ($71,85 \pm 1,23$ mg ER/g EtOH) quando comparado ao EEC ($21,65 \pm 0,21$ mg ER/g EtOH), embora o EEF tenha apresentado menor percentual de atividade antioxidante (%AA) em todas as concentrações testadas. Este fato é atribuído à presença de outros compostos com potencial antioxidante que não sejam necessariamente flavonoides e, além disso, à presença majoritária de flavonoides glicosilados ou mono-hidroxilados no EEF que possuem potencial antioxidante reduzidos (CAO, SOFIC e PRIOR, 1996; RAMLI, HARADA e RUANGRUNGSI, 2011).

A presença de flavonoides glicosilados é comum em *V. farnesiana*, conforme relatado por Subhan et al. (2018). Dentre os flavonoides, foram identificados apigenin-6,8-bis-C- β -D- glicopiranosídeo (**12**), canferol-7-6"-galoilglicosídeo (**15**), miricetina 7-6"-galloilglicosídeo (**17**), naringenina 7-4,6-digaloilglicosídeo (**18**), (-) naringenina-7-O- β -d-[6-O-galoil]-glicopiranosídeo (**19**), quercetina-7-6"-galoilglicosídeo (**20**) e rutina (**21**) em diferentes partes de *V. farnesiana*. Ramli, Harada e Ruangrungsi (2011) relataram a identificação de rutina, quercetina glicosilada e diosmetina glicosilada no extrato etanólico das folhas de *V. farnesiana*, o que corrobora para o reduzido poder antioxidante do EEF em relação ao EEC de *V. farnesiana*, apesar de EEF apresentar maior teor de flavonoides totais.

Tabela 3 – Teor de flavonóides totais (FLAT) do EEF e EEC de *V. farnesiana*.

Extrato	FLAT mg de ER/g EtOH
EEF <i>V. farnesiana</i>	$71,85 \pm 1,23$
EEC <i>V. farnesiana</i>	$21,65 \pm 0,21$

Fonte: Autoria Própria, (2019).
 FLAT:(Flavonoides totais)
 ER: Equivalente de rutina
 Média $\pm$ desvio padrão (DP)

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A espécie vegetal *Vachellia farnesiana* foi identificada e devidamente registrada no acervo do Herbário Delta do Parnaíba (HDELTA) da Universidade Federal do Delta do Parnaíba (UFDPAr) – Campus Ministro Reis Velloso, sob o número de tombo científico HDELTA 6026. O extrato etanólico das folhas (EEF) e do caule (EEC) apresentaram rendimento de 20,3% e 7,5% respectivamente.

A cromatografia em camada delgada e os testes fitoquímicos realizados com EEF, EEC e EEF_{soxhlet} de *V. farnesiana* traçaram o perfil fitoquímico da espécie, onde a CCD indicou a presença de compostos de natureza terpenoídica, açúcares, flavonoides e cumarinas, e os testes fitoquímicos realizados indicaram a presença de flavonóis, flavanonas, flavononóis, taninos condensados, cumarinas, esteroides livres e alcaloides, em diferentes intensidades. As leucoantocianidinas foram identificadas apenas no EEC.

Tanto EEF ($DL_{50} = 8,3 \text{ mg mL}^{-1}$) quanto o EEC ($DL_{50} = 21 \text{ mg mL}^{-1}$) não apresentaram toxicidade frente à *Artemia salina*, considerados seguros nas concentrações testadas.

Apesar do teor de flavonoides totais encontrado no EEF ser maior (71,85 ER/g extrato) do que o teor obtido para o EEC (21,65 ER/g extrato), o percentual de atividade antioxidante do EEC foi maior (aproximadamente 90% a $625 \mu\text{g mL}^{-1}$), comparável ao padrão Trolox, o que é atribuído à presença majoritária de flavonoides glicosilados ou mono-hidroxilados no EEF, uma vez que a presença desses compostos conferem baixo potencial antioxidante ao extrato. Este é o primeiro relato do perfil fitoquímico do EEF e EEC de *V. farnesiana*, o que contribui para o conhecimento quimiotaxônomico desta espécie.

7 PERSPECTIVAS FUTURAS

Pretende-se posteriormente acrescentar ao estudo já realizado, o isolamento dos metabólitos identificados, bem como a realização da atividade antifúngica e antimicrobiana dos extratos (EEF) e (EEC).

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, D. F. L. S. **Estudo das vias metabólicas das plantas na síntese de pigmentos naturais**. 2017. 61 f. t (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2017. Disponível em: <https://bdigital.ufp.pt/handle/10284/6104>. Acesso em: 18 mar. 2019.
- AMARAL, M. F. Z. J.; BARA, M. T. F. Avaliação da atividade antifúngica de extratos de plantas sobre o crescimento de fitopatógenos. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 2, n. 2, out. 2005. Disponível em: <https://www.revistas.ufg.br/REF/article/view/1959>. Acesso em: 20 mar. 2019.
- ANDRADE, C. A. et al. Revisão do gênero *Acacia* - atividades biológicas e presença de fenóis derivados do núcleo flavânico. **Visão Acadêmica**, v. 4, n. 1, p. 47-56, 2003. DOI: <http://dx.doi.org/10.5380/acd.v4i1.522>.
- ANDRADE, C. A. **Flores de *Acaciapodalyriaefolia* A. Cunn.(Leguminosae–Mimosoideae)**: avaliação fitoquímica e das atividades antibacteriana e alelopática. 2003. 104 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2003. Disponível em: <https://www.acervodigital.ufpr.br/bitstream/handle/1884/27908/R%20-%20D%20-%20CLAUDIA%20ALEXANDRA%20DE%20ANDRADE.pdf?sequence=1>. Acesso em: 20 mar. 2019.
- ARNHOLD, A. L.; TISSOT-SQUALLI, M. L. ANÁLISE PRELIMINAR POR CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA DOS EXTRATOS DA FRAÇÃO HEXÂNICA DAS FOLHAS DE TRÊS ESPÉCIES DE *Eriocaulaceae* mart. **Salão do Conhecimento**, v. 2, n. 2, p. 169-174, 2016. Disponível em: <https://www.publicacoeseventos.unijui.edu.br/index.php/salaconhecimento/article/view/6404>. Acesso em: 13 dez. 2019.
- BARAKAT, H. H. et al. Flavonoid galloyl glucosides from the pods of *Acaciafarnesiana*. **Phytochemistry**, v. 51, n. 1, p. 139-142, 1999. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(97\)00010-1](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(97)00010-1)
- BARREIROS, A. L. B. S. **Constituintes químicos bioativos de *dioclea violacea***. 2005. 286 f. Tese (Doutorado em Química). Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2005. Disponível em: <https://repositorio.ufba.br/ri/handle/ri/9952>. Acesso em: 24 nov. 2019.
- BATTESTIN, V.; MATSUDA, L. K.; MACEDO, G. A. Fontes e aplicações de taninos e tanases em alimentos. **Alimentos e Nutrição**, v. 15, n. 1, p. 63-72, 2004. Disponível em: <http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/alimentos/article/viewArticle/58>. Acesso em: 24 nov. 2019.
- BERLINCK, R. G. S. et al. A Química de Produtos Naturais do Brasil do Século XXI. **Química Nova**, v. 40, n. 6, p. 706-710, maio 2017. DOI: <https://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20170070>.

BICUDO, C. E. M. Taxonomia. **Biota Neotrop.**, Campinas, v. 4, n. 1, p. I-II, 2004. DOI: <https://dx.doi.org/10.1590/S1676-06032004000100001>.

BIRADAR, S.; RACHETTI, B. Qualitative Analysis of Legume Pericarp (Pod Wall) and Seeds of *Acacia Farnesiana* L. **Journal of Pharmacy and Biological Sciences**. v. 6, n. 3, p. 43-46, jun. 2013. DOI: [10.9790/3008-0634346](https://doi.org/10.9790/3008-0634346).

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT-Food science and Technology**, v. 28, n. 1, p.25-30, 1995. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5).

BRUNEAU, A. et al. Legume phylogeny and classification in the 21st century: Progress, prospects and lessons for other species-rich clades. **Taxon**, v. 62, n. 2, p. 217-248, abr. 2013. DOI: <https://doi.org/10.5167/uzh-78167>.

CAO, G.; SOFIC, E.; PRIOR, R. L. Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: structure-activity relationships. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 22, n. 5, p. 749-760, 1997. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(96\)00351-6](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(96)00351-6).

CAPARICA, C. Otto Gottlieb impulsionou a química de produtos naturais. **Ciência e Cultura**, v. 64, n. 1, p. 10-11, jan. 2012. DOI: <https://dx.doi.org/10.21800/S0009-67252012000100005>.

CHAVES, M. H. Análise de extratos e plantas por CCD: uma metodologia aplicado à disciplina “Química Orgânica”. **Quím. Nova**, v. 20, n. 5, p. 560-562, 1997. DOI: <https://dx.doi.org/10.1590/S0100-40421997000500019>.

CHUNG, K.-T.; WEI, C.-I.; JOHNSON, M. G. Are tannins a double-edged sword in biology and health?. **Trends in Food Science & Technology**, v. 9, n. 4, p. 168-175, 1998. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(98\)00028-4](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(98)00028-4).

COOK, N.C.; SAMMAN, S. Flavonoids—chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. **The Journal of nutritional biochemistry**, v. 7, n. 2, p. 66-76, 1996. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0955-2863\(95\)00168-9](https://doi.org/10.1016/S0955-2863(95)00168-9).

DIVERDI, J. A. Preparation of Special Analytical Reagents. Department of Chemistry, College of Natural Sciences, Colorado State University. Disponível em: https://sites.chem.colostate.edu/diverdi/all_courses/CRC%20reference%20data/special%20analytical%20reagents.pdf. Acesso em: 20 nov. 2019.

DENNY, C. et al. Atividade antiproliferativa dos extratos e da fração orgânica obtidos das folhas de *Virola sebifera* Aubl.(Myristicaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, p. 598-603, 2007. DOI: <https://dx.doi.org/10.1590/S0102-695X2007000400020>.

DEVI, S. R.; PRASAD, M. N. V. Tannins and related polyphenols from ten common *Acacia* species of India. **Bioresource technology**, v. 36, n. 2, p. 189-192, 1991. DOI: [https://doi.org/10.1016/0960-8524\(91\)90179-N](https://doi.org/10.1016/0960-8524(91)90179-N)

DEWICK, P. M. **Medicinal Natural Products**: a biosynthetic approach. 3rd ed. New York: John Wiley & Sons, 2009. 546p.

DUARTE, A. F. S. **Cumarinas**. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2012. Disponível em: <https://slideplayer.com.br/slide/3800380/>. Acesso em: 08 dez. 2019.

DUARTE-ALMEIDA, J. M. et al. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema beta-caroteno/ácido linoléico e método de seqüestro de radicais DPPH. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 2, p. 446-452, jun. 2006. DOI: <https://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612006000200031>.

FALKENBERG, M. B.; SANTOS, R. I.; SIMÕES, C. M. O. Introdução à análise fitoquímica. In: SIMÕES, C. M. O. et al. (Orgs.). **Farmacognosia**: da planta ao medicamento. 6. ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, 2007. 1104p.

FIALOVÁ, S. et al. Plant Natural Agents: Polyphenols, Alkaloids and Essential Oils as Perspective Solution of Microbial Resistance. **Current Organic Chemistry**, v. 21, n. 18, p. 1875-1884, out. 2017. DOI: [10.2174/1385272821666170127161321](https://doi.org/10.2174/1385272821666170127161321).

FLATH, R. A. et al. Volatile compounds of *Acacia* sp. blossoms. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 31, n. 6, p. 1167–1170, 1983. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf00120a008>.

FRANCIS, J. K.; LOWE, C. A. **Bioecología de Arbóreas Nativos y Exóticos de Puerto Rico y las Indias Occidentales**. Gen. Tech. Rep. IITF-15. Río Piedras, Puerto Rico: Departamento de Agricultura de los Estados Unidos, Servicio Forestal, Instituto Internacional de Dasonomía Tropical. 582 p. jun. 2000. Disponível em: https://data.fs.usda.gov/research/pubs/iitf/Bioecologia_gtr15.pdf. Acesso em: 30 nov. 2019.

FUMAGALI, E. et al. Produção de metabólitos secundários em cultura de células e tecidos de plantas: o exemplo dos gêneros *Tabernaemontana* e *Aspidosperma*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 4, p. 627-641, dez. 2008. DOI: <https://dx.doi.org/10.1590/S0102-695X2008000400022>.

GABR, S. et al. Characterization and optimization of phenolics extracts from *Acacia* species in relevance to their anti-inflammatory activity. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 78, p. 21-30, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bse.2018.03.001>.

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

GMELIN, R.; KJAER, A.; LARSEN, P. O. *N*-acetyl-L-djenkolic acid, a novel amino acid isolated from *Acacia farnesiana* willd. **Phytochemistry**, v. 1, n. 4, p. 233–236, 1962. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)82830-7](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)82830-7).

GOMBERG, M. On the action of wagner's reagent upon caffeine and a new method for the estimation of caffeine. **Journal of the American Chemical Society**, v. 18, n. 4, p. 331–342, 1896. DOI: <https://doi.org/10.1021/ja02090a002>.

GUZZI, A. (Org.). **Biodiversidade do Delta do Parnaíba**: litoral piauiense. Parnaíba: EDUFPI, 2012, 466 p. Disponível em: <http://www.andersonguzzi.com.br/images/downloads/livro2.pdf>. Acesso em: 18 out. 2018.

HENRIQUES, A. T. et al. Alcalóides: generalidades e aspectos básicos. In: SIMÕES, C. M. O. et al. (Orgs.). **Farmacognosia**: da planta ao medicamento. 6. ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, 2007. 1104p.

HUBER, L. S.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Flavonóis e flavonas: fontes brasileiras e fatores que influenciam a composição em alimentos. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 19, n. 1, p. 97-108, jan./mar. 2008. Disponível em: <http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/alimentos/article/viewArticle/205>. Acesso em: 30 nov. 2019.

HUBINGER, S. Z. **Estudo farmacognóstico e desenvolvimento de fitocosmético de ação antioxidante dos frutos de Dimorphandra mollis Benth. (Leguminosae-Caesalpinioideae)**. 2009. 148 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, 2009. Disponível em: <http://hdl.handle.net/11449/91686>. Acesso em: 08 dez. 2019.

KLOSS, L. C. et al. IDENTIFICAÇÃO DE CLASSES DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS DO EXTRATO ETANÓLICO DE *Piper umbellatum* L. (PIPERACEAE). **South American Journal of Basic Education, Technical and Technological**, v. 3, n. 2, p. 118-128, 2016. Disponível em: <https://periodicos.ufac.br/index.php/SAJEBTT/article/view/468/0>. Acesso em: 20 nov. 2019.

KUSTER, R. M.; ROCHA, L. M. Cumarinas, cromonas e xantonas. In: SIMÕES, C. M. O. et al. (Orgs.). **Farmacognosia**: da planta ao medicamento. 6. ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, 2007. 1104p.

LACAILLE-DUBOIS, M. A. et al. A review of acacic acid-type saponins from Leguminosae-Mimosoideae as potent cytotoxic and apoptosis inducing agentes. **Phytochemistry Reviews**, v. 10, n. 4, p. 565-584, set. 2011. DOI: 10.1007/s11101-011-9218-0.

MACHADO, A. A. et al. CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO FITOQUÍMICO E CITOTÓXICO DE *Synadenium carinatum* Boiss (EUPHORBIACEAE). **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 8, n. 2, p. 1-24, 2011. DOI: <https://doi.org/10.5216/ref.v8i2.14932>.

MACHADO, P. F. S.; MARCHIORI, J. N. C.; SIEGLOCH, A. M. A taxonomia do antigo gênero *Acacia* Mill., com base na análise de agrupamento de caracteres do lenho. **Balduinia**, n. 51, p. 1-11, 2016. DOI: [10.5902/2358198021421](https://doi.org/10.5902/2358198021421).

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

Branco, 2015. Disponível em: <http://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/1510>. Acesso em 30 nov. 2019.

MARCHIORI, J. N. C. Anatomia da madeira de *Vachellia farnesiana* (L.) Wight & Arn. **Balduinia**, n. 22, p. 09-14, 2010. DOI: 10.5902/2358198014103.

MARCO, P. H.; POPPI, R. J.; SCARMINIO, I. S. Procedimentos analíticos para identificação de antocianinas presentes em extratos naturais. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 31, n. 5, p. 1218-1223, 2008. DOI: <https://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422008000500051>.

MARIATH, I. R. et al. Atividade antifúngica do óleo essencial de *Eugenia aromática* B. contra fungos dematiáceos. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 87, n. 3, p. 81-84, 2006. Disponível em: http://rbfarma.org.br/files/pag_81a84_ATIVIDADE_ANTIFUNGICA.pdf. Acesso em: 20 mar. 2019.

MARMITT, D. J. et al. Medicinal plants used in Brazil Public Health System with neuro protective potential – A systematic review. **BOLETÍN LATINOAMERICANO Y DEL CARIBE DE PLANTAS MEDICINALES Y AROMÁTICAS**, v. 17, n. 2, p. 84-103, mar. 2018. Disponível em: <http://revistas.usach.cl/ojs/index.php/blacpma/article/download/3240/2966/>. Acesso em: 18 out. 2018.

MASCARENHAS, S. A. (Org.). **Metodologia científica**. São Paulo: Pearson Education do Brasil, 2012. 124p.

MASLIN B. R. (2019). WWW: World Wide Wattle (version 2, Jan 2018). In: Species 2000 & ITIS **Catalogue of Life, 2019 Annual Checklist** (Roskov Y., Ower G., Orrell T., Nicolson D., Bailly N., Kirk P.M., Bourgoin T., DeWalt R.E., Decock W., Nieukerken E. van, Zarucchi J., Penev L., eds.). Disponível em: <http://www.catalogueoflife.org/annual-checklist/2019/details/species/id/0f87aa9f76f32e15d041c8c490e02520>. Acesso em: 06 nov. 2019.

_____. et al. Revision of *Senegalia* in China, and notes on introduced species of *Acacia*, *Acaciella*, *Senegalia* and *Vachellia* (Leguminosae: Mimosoideae). **Plant Diversity**, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pld.2019.09.001>.

_____; STIRTON, C. H. Generic and infrageneric classification in *Acacia* (Leguminosae: Mimosoideae): a list of critical species on which to build a comparative data set. **Bulletin of the International Group for the Study of Mimosoideae**, v. 20, p. 22-44, 1997. Disponível em: <http://worldwidewattle.com/socgroups/igsm/20/22-44.pdf>. Acesso em: 06 nov. 2019.

MATOS, F. J. A. **Introdução à Fitoquímica Experimental**. 3ª ed. Fortaleza: Edições UFC, 2009. 150p.

McGAW, L. J. et al. The potential of South African plants against Mycobacterium infections. **Journal of ethnopharmacology**, v. 119, n. 3, p. 482-500, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2008.08.022>.

MCLAUGHLIN, J.L; ROGERS, L.L. The use of biological assays to evaluate botanicals. *Drug Information Journal*, v. 32, p.513-24, 1998. DOI: <https://doi.org/10.1177/009286159803200223>.

MENTZ, L. A.; BORDIGNON, S. A. L. Nomenclatura botânica, classificação e identificação de plantas medicinais. In: SIMÕES, C. M. O. *et al.* (Orgs.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6. ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, 2007. 1104p.

MONTANARI, C. A.; BOLZANI, V. S. Planejamento racional de fármacos baseado em produtos naturais. **Química Nova**, v. 24, n. 1, p. 105-111, fev. 2001. DOI: <https://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422001000100018>.

MONTEIRO, J. M. et al. Taninos: uma abordagem da química à ecologia. **Química Nova**, v. 28, n. 5, p. 892-896, 2005. DOI: <https://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422005000500029>.

MOTA, A. C. C. **PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA E ATIVIDADE BIOLÓGICA DA CASCA DO CAULE DA ESPÉCIE VEGETAL ARATICUM BRAVO (*Annona tomentosa* R.E. Fr.)**. 2016. 66 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Licenciatura em Química) – Campus Bacanga, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2016. Disponível em: <https://monografias.ufma.br/jspui/handle/123456789/1419>. Acesso em: 18 dez. 2018.

NASCIMENTO, J. C. et al. Determinação da atividade antioxidante pelo método DPPH e doseamento de flavonóides totais em extratos de folhas da *Bauhinia variegata* L. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 92, n. 4, p. 327-332, 2011. Disponível em: <http://rbfarma.org.br/files/rbf-2011-92-4-14-327-332.pdf>. Acesso em: 20 maio 2019.

NATIONAL Center for Biotechnology Information. PubChem Database. Vicenin (**12**), CID=3084407. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Vicenin>. Acesso em: 03 nov. 2019.

_____. PubChem Database. Kaempferol (**14**), CID=5280863. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Kaempferol>. Acesso em: 03 nov. 2019.

_____. PubChem Database. Kaempferol 7-(6"-galloylglucoside) (**15**), CID=74978085. Disponível em: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Kaempferol-7-_6__-galloylglucoside. Acesso em: 03 nov. 2019.

_____. PubChem Database. Myricetin 7-(6"-galloylglucoside) (**17**), CID=44259469. Disponível em: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Myricetin-7-_6__-galloylglucoside. Acesso em: 03 nov. 2019.

_____. PubChem Database. Naringenin 7-(4,6-digalloylglucoside) (**18**), CID=42607923. Disponível em: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Naringenin-7-_4_6-digalloylglucoside. Acesso em: 03 nov. 2019.

_____. PubChem Database. Quercetin 7-(6"-galloylglucoside) (**20**), CID=44257998. Disponível em: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Quercetin-7-_6__-galloylglucoside. Acesso em: 03 nov. 2019.

_____. PubChem Database. Rutin (**21**), CID=5280805. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Rutin>. Acesso em: 03 nov. 2019.

OLIVEIRA, C. A. M. **AVALIAÇÃO TECNOLÓGICA E FITOQUÍMICA DE SEMENTES DE Parapiptadenia zehntneri (Harms) M.P. Lima & H.C. Lima**. 2017. 112 f. Tese (Doutorado em Ciências Florestais) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2017. Disponível em: http://www.ppgcf.ufrpe.br/sites/www.ppgcf.ufrpe.br/files/documentos/cassia_alzira_mendes_de_oliveira_0.pdf. Acesso em: 18 dez. 2018.

OLIVEIRA, V. B. et al. Efeito de diferentes técnicas extrativas no rendimento, atividade antioxidante, doseamentos totais e no perfil por CLAE-DAD de *Dicksonia sellowiana* (presl.). Hook, dicksoniaceae. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 18, n. 1, p. 230-239, 2016. DOI: https://dx.doi.org/10.1590/1983-084X/15_106.

OSTROSKY, E. A. et al. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da Concentração Mínima Inibitória (CMI) de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 2, p. 301-307, jun. 2008. DOI: <https://dx.doi.org/10.1590/S0102-695X2008000200026>.

PADMAVATHY, J.; SARAVANAN, D. Natural product as a source of prodrug. **Bangladesh Journal of Pharmacology**, v. 12, n. 2, p. 151-161, maio 2017. Disponível em: <https://www.banglajol.info/index.php/BJP/article/view/31020>. Acesso em: 18 out. 2018.

PEREIRA, R. F. **Efeitos da leucoantocianidina no tecido hepático de coelhos albinos (*oryctolagus cuniculus*) submetidos à esteatose hepática não alcoólica experimental**. 2018. 77 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas) - Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2018. Disponível em: <https://app.uff.br/riuff/handle/1/8410>. Acesso em: 30 nov. 2019.

PERES, T. B. Noções básicas de cromatografia. **Biologia**, São Paulo, v. 64, n. 2, p. 227-229, 2002. Disponível em: http://www.biologico.agricultura.sp.gov.br/uploads/docs/bio/v64_2/peres.pdf. Acesso em: 08 dez. 2019.

PINTO, A.C. et al. Produtos naturais: atualidade, desafios e perspectivas. **Química nova**, v. 25, supl. 1. p. 45-61, maio 2002. DOI: <https://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422002000800009>.

QAMAR, W. et al. Benzo (a) pyrene-induced pulmonary inflammation, edema, surfactant dysfunction, and injuries in rats: alleviation by farnesol. **Experimental lung research**, v. 38, n. 1, p. 19-27, 2012. DOI: 10.3109/01902148.2011.632064.

QUEIROZ, G. S. **Análise de esteróides em extratos vegetais e estudo fitoquímico e biológico preliminar de Brunfelsia uniflora**. 2009. 56 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Química) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas, Florianópolis, 2009. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/99787?show=full>. Acesso em: 08 dez. 2019.

RAMLI, S.; HARADA, K.; RUANGRUNGSI, N. Antioxidant, antimicrobial and cytotoxicity activities of *Acacia farnesiana* (L.) Willd. Leaves ethanolic extract. **Pharmacognosy Journal**, v. 3, n.23, p. 50-58, 2011. DOI: <https://doi.org/10.5530/pj.2011.23.8>.

REICHERT, C. L. **Avaliação da aplicação de modelos comportamentais na busca de planta promissora para produção de novos produtos para ansiedade e depressão na indústria farmacêutica nacional**. 2011. 136 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Florianópolis, 2011. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/xmlui/handle/123456789/96044>. Acesso em: 08 dez. 2019.

REN, H.; WANG, B.; ZHAO, H. Breaking the silence: new strategies for discovering novel natural products. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 48, p. 21–27, dez. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2017.02.008>.

RODRIGUES, J. **Teste de Dragendorff** – Laboratório Online, nov. 2015. Disponível em: <https://www.fcencias.com/2015/11/05/teste-de-dragendorff-laboratorio-online/>. Acesso em: 07 nov. 2019.

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

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

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

SEIGLER, D. S. Phytochemistry of *Acacia*—*sensu lato*. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 31, n. 8, p. 845–873, 2003. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0305-1978\(03\)00082-6](https://doi.org/10.1016/S0305-1978(03)00082-6).

SILVA, M. et al. Infestação em sementes de *Vachellia farnesiana* (L.) Wight&Arn.— Leguminosae-Mimosoidae por Bruchidae: Coleoptera. **Scientia Plena**, v. 8, n. 4 (b),

2012. Disponível em: <https://scientiaplenua.emnuvens.com.br/sp/article/view/1003>. Acesso em: 18 dez. 2018.

SILVA, R. M. **Estudo farmacognóstico, prospecção fitoquímica e composição química do óleo essencial das folhas de *Bryophyllum calycinum* Salisb (CRASSULACEAE)**. 2015. 70 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) – Centro Universitário de Anápolis, UniEVANGÉLICA, Anápolis, 2015. Disponível em: <http://repositorio.aee.edu.br/handle/aee/253>. Acesso em: 08 dez. 2019.

SILVEIRA, J. Q. **Biodisponibilidade de flavanonas e atividade antioxidante do suco de laranja fresco versus suco de laranja pasteurizado em humanos saudáveis**. 2014. 104 f. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, 2014. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/114027>. Acesso em: 07 dez. 2019.

SIMÕES, C. M. O.; SPITZER, V. Óleos Voláteis. In: SIMÕES, C. M. O. et al. (Orgs.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6. ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, 2007. 1104p.

SOBRINHO, T. J. S. P. et al. Otimização de metodologia analítica para o doseamento de flavonóides de *Bauhinia cheilantha* (Bongard) Steudel. **Quim. Nova**, Brasil, v. 33, n. 2, p. 288-291, 2010. DOI: <https://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422010000200011>.

SOUSA, C. M. M. et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química nova**, v. 30, n. 2, p. 351-355, abr. 2007. DOI: <https://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422007000200021>.

SUBHAN, N. et al. Phytochemistry, Ethnomedicine, and Pharmacology of Acacia. In: **Studies in Natural Products Chemistry**, v. 57, p. 247-326. Elsevier, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64057-4.00009-0>.

TERNOPIL *State Medical University*. Quality analysis of medical drugs from the vitamins of the aromatic and heterocyclic raws, jul. 2013. Disponível em: http://intranet.tdmu.edu.ua/data/kafedra/internal/pharma_2/classes_stud/en/pharm/prov_pharm/ptn/pharmaceutical%20chemistry/4%20course/35.%20Quality%20analysis%20of%20medical%20drugs%20from%20the%20vitamins%20of%20the%20aromatic%20and%20heterocyclic%20raws.htm. Acesso em: 08 dez. 2019.

VIEGAS JR, C.; BOLZANI, V. S.; BARREIRO, E. J. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Química Nova**, v. 29, n. 2, p. 326-337, abril 2006. DOI: <https://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422006000200025>.

VIEIRA, L. M.; SOUSA, M. S. B.; MANCINI-FILHO, J.; LIMA, A. Fenólicos totais e capacidade antioxidante in vitro de polpas de frutos tropicais. **Revista Brasileira de Fruticultura**. Jaboticabal – SP, v. 33, n. 3, p. 888-897, 2011. DOI: <https://dx.doi.org/10.1590/S0100-29452011005000099>.

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

2010. 16p. Disponível em:
<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/886074>. Acesso em: 18 dez. 2018.

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. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.eti.2015.05.004>.

ZACCHINO, S. A. et al. Plant phenolics and terpenoids as adjuvants of antibacterial and antifungal drugs. **Phytomedicine**, v. 37, n. 15, p. 27-48, dez. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2017.10.018>.

ZHANG, H. et al. Recent advances in discovery and development of natural products as source for anti-Parkinson's disease lead compounds. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 141, n. 1, p. 257-272, dez. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.09.068>.

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