



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

JOSÉ RAFAEL DOS SANTOS PEREIRA

**ANÁLISE FITOQUÍMICA DO EXTRATO ETANÓLICO DAS FOLHAS,
CAULES E FLORES DE *Crotalaria pallida* Aiton**

PARNAIBA
2023

JOSÉ RAFAEL DOS SANTOS PEREIRA

**ANÁLISE FITOQUÍMICA DO EXTRATO ETANÓLICO DAS FOLHAS,
CAULES E FLORES DE *Crotalaria pallida* Aiton**

Trabalho de Conclusão de Curso 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: Profa. Dra. Buana Carvalho de
Almeida

PARNAIBA
2023

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

Pereira, José Rafael dos Santos

P436a Análise fitoquímica do extrato etanólico das folhas, caules e flores de
Crotalaria pallida Aiton /José Rafael dos Santos Pereira. — 2023.
55 f.: il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Química) –
Instituto Federal do Piauí, Campus Parnaíba, 2023.

Orientadora: Prof^a. Dra.Buana Carvalho de Almeida.

1.Química. 2.Metabólitos secundários. 3.Cromatografia - Camada
Delgada. I.Título.

CDD - 540

Elaborado por Micheline Angélica Aragão Gouveia CRB 3/1244

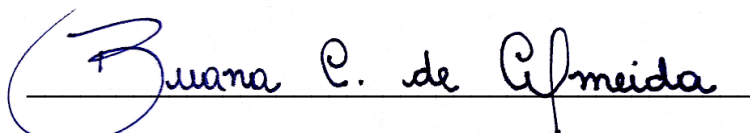
JOSÉ RAFAEL DOS SANTOS PEREIRA

**ANÁLISE FITOQUÍMICA DO EXTRATO ETANÓLICO DAS FOLHAS,
CAULES E FLORES DE *Crotalaria pallida* Aiton**

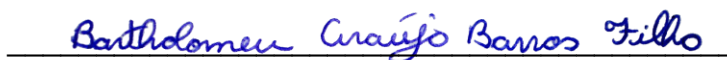
Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
como exigência parcial para obtenção do diploma
do Curso de Licenciatura em Química do Instituto
Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do
Piauí. Campus Parnaíba.

Aprovada em: 16/01/2023.

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr^a. Buana Carvalho de Almeida (Orientador)
Instituto Federal do Piauí (IFPI)



Prof. Dr. Bartholomeu de Araújo Barros Filho
Instituto Federal do Piauí (IFPI)



Prof. Ma. Renata Brito dos Reis
Universidade do Federal Delta do Parnaíba – (UFDPAr)

AGRADECIMENTOS

À Deus, que sempre esteve presente me dando forças, coragem e saúde para enfrentar todas as barreiras impostas durante a realização deste trabalho mesmo em tempos tão difíceis.

Ao meu pai Francisco da Costa Pereira, por sempre me motivar a seguir firme e por sempre acreditar que eu posso, também por sua paciência em me trazer ao instituto quando não havia transporte ou quando eu estava muito cansado pra pegar ônibus. Essa conquista é nossa!

À minha mãe Maria Marlúcia Barbosa dos Santos, por me apoiar e me aturar todos os dias. Você é um exemplo de garra e força que sempre busco me inspirar.

À minha irmã Francisca Maria dos Santos Pereira, pela sua companhia e apoio em toda minha jornada acadêmica e por sempre estar por perto.

Aos meus tios, meus primos e demais familiares que de forma direta ou indireta contribuíram com minha graduação nesses últimos anos, Muito Obrigado!

À minha orientadora, Prof.^a. Dr^a. Buana Carvalho de Almeida, pelo seu acolhimento quanto a ser seu orientando, por todas as contribuições para o desenvolvimento e realização deste, pelo auxílio e por todo conhecimento compartilhado.

À minha professora de TCC, Prof.^a. Dr^a. Ana Maria Athayde Uchôa Thomaz, por todas suas orientações que contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho, pela sua gigante paciência com seus alunos e muito obrigado por sempre acreditar em nós.

Agradeço a todos os servidores do IFPI, que de alguma forma foram presentes na minha formação. Em especial quero agradecer a “Tia Lu” que sempre nos deu tanta atenção e carinho (e muitas refeições no refeitório) cada dia nos dando mais motivação e forças para continuarmos firme. Muito obrigado, tia!

Aos meus companheiros de laboratório: Cecília Sávia, Kamila Macedo e Wellington Aguiar, pela sua amizade, por toda ajuda e por todo conhecimento repassado, por todas as horas de conversa e conselhos. Muito obrigado!

Aos meus amigos do IFPI: Bianca Cristina, Ana Beatriz, Ana Raquel, Cibele Sousa, Eduardo Roberto (Sabino), Expedito Moraes, Thalia Silva, Tháбата Fernandes, Vinicius Carvalho, Lucas Gabriel, Clara Luz, Leanderson, Leomir Alves, Emanuelle Nunes, Letícia Rodrigues, Warley Soares e também não poderia deixar de citar meu amigo Luiz Fernando: o cara que sem ele eu nada seria. Muito obrigado por toda paciência, dedicação e disposição em sempre estar disposto a ajudar, tenha certeza que você tem um coração gigante e você merece o mundo! Também agradeço a “galera da piscina” pelas festinhas para descontrair logo depois que a correria acalmava.

Agradeço meus amigos de infância: Luiz Felipe, Natalia Silva, Gabriela Santos e Mariana Nascimento, pela motivação e sempre estarem perto nos melhores e piores momentos, apoiando e dando suporte necessário para continuar firme.

A todas as pessoas que passaram pela minha vida acadêmica e que mesmo não citadas fizeram parte desta etapa, meu muito obrigado e tenham certeza que carrego um pouco de cada um comigo.

O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis.

José de Alencar

RESUMO

As árvores pertencentes a família Fabaceae apresentam tamanha importância ecológica e econômica devido a associação da maioria de suas espécies com bactérias fixadoras de Nitrogênio, sendo as principais responsáveis pela entrada do Nitrogênio nos ecossistemas terrestres. A *Crotalaria pallida* Aiton é uma leguminosa pertencente à família Fabaceae. Plantas da família Leguminosae são muito conhecidas e vem sendo estudadas por diversas áreas da saúde para comprovarem a ação de compostos isolados entre estes os alcaloides pirrolizidínicos como antiinflamatórios, antibióticos e até como veneno para pragas. O Brasil possui uma grande e diversa flora e a ampla utilização das plantas como medicamentos pela população justificam os estudos e o aumento do interesse pela descoberta de novos compostos bioativos provenientes dos vegetais. O presente trabalho visa descrever as classes de metabólitos secundários das folhas, caule e flores de *Crotalaria pallida* a fim de colaborar para o conhecimento químico-farmacológico da espécie. A análise qualitativa dos constituintes químicos foi realizada por Cromatografia em Camada Delgada (CCD) e a identificação das classes de metabólitos secundários, feita a partir de testes fitoquímicos. A análise por CCD sugeriu a presença flavonoides e cumarinas nos extratos etanólicos das folhas (EEF), caules (EEC) e flores (EEFL) de *C. pallida*. A análise fitoquímica dos extratos permitiu identificar leucoantocianidinas, diidroflavonois, heterosídeos saponínicos, cumarinas e esteroides livres em todos os extratos analisados. Quanto ao rendimento dos extratos, o (EEF) apresentou maior rendimento com 52,54%, seguido pelo (EEC) com um rendimento de 9,86% e (EEFL) com um rendimento de 4,75%.

Palavras- chave: Metabólitos Secundários. Fabaceae. Cromatografia em Camada Delgada.

ABSTRACT

Trees belonging to the Fabaceae family are of such ecological and economic importance due to the association of most of their species with Nitrogen-fixing bacteria, being the main responsible for the entry of Nitrogen into terrestrial ecosystems. *Crotalaria pallida* Aiton is a legume belonging to the Fabaceae family. Plants of the Leguminosae family are well known and have been studied by several areas of health to prove the action of isolated compounds, including pyrrolizidine alkaloids, as anti-inflammatories, antibiotics, and even as a poison for pests. Brazil has a large and diverse flora and a wide use of plants as medicines by the population, justifying the studies and the increased interest in discovering new bioactive compounds originating from plants. The present work aims to describe the classes of secondary metabolites of the leaves, stems, and flowers of *Crotalaria pallida* to contribute to the chemical-pharmacological knowledge of the species. The qualitative analysis of chemical constituents was performed by Thin Layer Chromatography (TLC) and the identification of classes of secondary metabolites, was made from phytochemical tests. A TLC analysis suggested the presence of flavonoids and coumarins in the ethanolic extracts of the leaves (EEF), stems (EEC), and flowers (EEFL) of *C. pallida*. The phytochemical analysis of the extracts allowed the identification of leucoanthocyanidins, dihydroflavonols, saponin heterosides, coumarins, and free steroids in all analyzed extracts. As for the yield of extracts, (EEF) showed the highest yield with 52.54%, followed by (EEC) with a yield of 9.86% and (EEFL) with a yield of 4.75%.

Keywords: Secondary Metabolites. Fabaceae. Thin Layer Chromatography.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- A espécie <i>Crotalaria pallida</i> Aiton	17
Figura 2- <i>Crotalaria pallida</i> Aiton: (A) Exsicata da espécie; (B) Flores; (C) caule; (D) folhas.....	18
Figura 3- Esquema das vias biossintéticas do metabolismo primário e secundário.....	19
Figura 4- Exemplos de alcaloides.....	23
Figura 5- Localização da planta via satélite.....	25
Figura 6- Perfil cromatográfico, em CHCl ₃ /meOH (8:2) do EEF, EEC e EEFL. A) CCD revelação com UV (λ 365nm); B) CCD com revelador Ce(SO ₄) ₂	32
Figura 7 - Fórmula estrutural de um tanino hidrolisável e um tanino condensado	35
Figura 8 - Resultado qualitativo para o teste de fenois e taninos. A) EEF indicando a presença de um precipitado de cor verde; B) EEC indicando a intensificação na cor e a presença de um precipitado de cor verde	36
Figura 9- Complexação do ferro na caracterização de um tanino condensado.....	37
Figura 10- Resultado do teste confirmatório para leucoantocianidinas do EEC (A), EEF (B) e EEFL(C)	38
Figura 11- Formação do cátion flavílico.....	39
Figura 12- Representação do esqueleto base das xantonas	39
Figura 13- Resultado colorimétrico evidenciando a presença de flavonóis, flavononas, flavonóis e/ou xantonas no EEC.	40
Figura 14- Estrutura química de um flavonoide após a reação com HCl e Mg.....	41
Figura 15- Estrutura de um diidroflavonol.....	41
Figura 16- Resultado do teste confirmatório para diidroflavonóis (Ensaio de Pacheco). A) EEF; B) EEC; C) EEFL.	42
Figura 17- Fórmula estrutural do esteroide estigmasterol	42
Figura 18- Mecanismo da reação de Lieberman- Burchard	43
Figura 19- Resultado do teste confirmatório para esteroides livres (Lieberman-Burchard). A) EEF; B) EEC; C) EEFL.	44
Figura 20- Fórmula estrutural de uma saponina triterpênica	44
Figura 21- Resultado do teste para heterosídeos saponínicos. A) EEF; B) EEC; C) EEFL.....	45
Figura 22- Identificação de alcaloides. A)EEF B)EEC C) EEFL	46
Figura 23- Reação de precipitação de alcaloides com os reagentes: (1) Dragendorff; (2) Wagner.	46
Figura 24- Fórmula estrutural básica de cumarinas	47
Figura 25- Evidência de cumarinas a partir da fluorescência verde em UV λ 254 nm e λ 365 nm. A) EEF; B) EEC; C) EEFL	47
Figura 26- Reação de formação e isomerização do ácido <i>cis</i> -O-hidroxicinâmico	48

LISTAS TABELAS, QUADROS E EQUAÇÕES

Tabela 1- Classificação de terpenos segundo o número de unidades isoprênicas e números de carbonos.....	22
Tabela 2- Classes de alcaloides	22
Quadro 1- Principais classes de compostos fenólicos.....	21
Quadro 2- Rendimento dos extratos obtidos de <i>C. pallida</i> Aiton	31
Quadro 3- Classes de constituintes químicos identificados nos extratos EEC, EEFL e EEFL de <i>C. pallida</i> Aiton.	34
Equação 1- Rendimento dos Extratos	26

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AcOEt	Acetato de Etila
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
EEC	Extrato Etanólico do Caule
EEF	Extrato Etanólico das Folhas
EEFL	Extrato Etanólico das Flores
EtOH	Etanol
IFPI	Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do
Piauí	
MeOH	Metanol
pH	Potencial Hidrogeniônico
QPN	Química de Produtos Naturais
UFDPAr	Universidade Federal do Delta do Parnaíba
UV	Ultravioleta
UV-VIS	Ultravioleta- Visível

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
cm	Centímetro
g	Gramas
M	Molar
mg	Miligramas
mL	Mililitros
mg.L ⁻¹	Miligramas por litro
mg.mL ⁻¹	Miligramas por mililitro
µg/mL	Microgramas por mililitro
λ	Comprimento de onda
°C	Graus Celsius
nm	Nanômetros
HCl	Ácido Clorídrico
H ₂ O	Água
AlCl ₃	Cloreto de alumínio
FeCl ₃	Cloreto férrico
NaOH	Hidróxido de sódio
Na ₂ SO ₄	Sulfato de sódio
Ce(SO ₄) ₂	Sulfato cérico
KI	Iodeto de potássio

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
2.1 A QUÍMICA DE PRODUTOS NATURAIS (QPN) NO BRASIL	14
2.2 CONSIDERAÇÕES TAXONÔMICAS DA ESPÉCIE	15
2.2.1 Família Fabaceae.....	15
2.2.2 Gênero <i>Crotalaria</i>	16
2.2.3 <i>Crotalaria pallida</i> Aiton	16
2.3 METABOLISMO VEGETAL.....	18
2.3.1 Metabólitos primários	19
2.3.2 Metabólitos secundários	20
3 OBJETIVOS.....	24
3.1 OBJETIVOS GERAIS.....	24
3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	24
4 METODOLOGIA	25
4.1 TIPO DE PESQUISA.....	25
4.2 COLETA DA ESPÉCIE.....	25
4.3 PROCEDIMENTO DA PESQUISA.....	26
4.3.1 Preparação dos extratos.....	26
4.3.2 Cromatografia em Camada Delgada.....	26
4.3.3 Testes fitoquímicos para metabólitos secundários	26
4.3.3.1 Preparo das amostras (soluções hidroalcoólicas)	26
4.3.3.2 Teste para fenóis e taninos	27
4.3.3.3 Teste para antocianinas, antocianidinas e flavonoides	27
4.3.3.4 Teste para leucoantocianidinas, catequinas e flavonas	27
4.3.3.5 Teste para flavonóis, flavononas, flavonóis e xantonas	28
4.3.3.6 Teste confirmatório para leucoantocianidinas	28
4.3.3.7 Teste confirmatório para dihidroflavonóis – Teste de Pacheco	28
4.3.3.8 Teste para esteroides e triterpenos – (Lieberman-Buchard)	28
4.3.3.9 Teste para heterosídeos saponínicos.....	29
4.3.3.10 Teste para alcaloides	29
4.3.3.11 Teste para alcaloides e cumarinas	29
4.4 TRATAMENTO DOS DADOS	30
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	31

5.1 COLETA DAS ESPÉCIES.....	31
5.2 RENDIMENTO DOS EXTRATOS.....	31
5.3 CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA (CCD).....	32
5.4 TESTES FITOQUÍMICOS PARA METABÓLITOS SECUNDÁRIOS.....	32
5.4.1 Taninos.....	35
5.4.2 Leucoantocianidinas.....	37
5.4.3 Flavonois, flavononas, flavononois e xantonas	39
5.4.4 Diidroflavonois	41
5.4.5 Esteroides Livres	42
5.4.6 Heterosídeos saponinicos.....	44
5.4.7 Alcaloides	45
5.4.8 Cumarinas.....	47
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	49
REFERÊNCIAS.....	50

1 INTRODUÇÃO

O conhecimento sobre plantas medicinais simboliza, muitas vezes, o único recurso terapêutico de muitas comunidades e grupos étnicos. O uso de plantas no tratamento e na cura de enfermidades é tão antigo quanto a espécie humana. De acordo com RDC n. 14, publicada em 05 de abril de 2010, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), planta medicinal é “espécie vegetal, cultivada ou não, utilizada com propósitos terapêuticos”. Derivado vegetal é o “produto da extração de planta medicinal *in natura* ou da droga vegetal, podendo ocorrer na forma de extrato, tintura, alcoolatura, óleo fixo e volátil, cera, exsudato e outros derivados”. A matéria-prima vegetal compreende “a planta medicinal, a droga vegetal ou o derivado vegetal”. São considerados medicamentos fitoterápicos “os obtidos com emprego exclusivo de matérias-primas ativas vegetais, cuja eficácia e segurança são validadas por meio de levantamentos etnofarmacológicos, de utilização, documentações tecnocientíficas ou evidências clínicas” (ALMEIDA, 2011).

De acordo com as definições farmacotécnicas, considera-se medicamento, todo produto farmacêutico empregado para modificar ou explorar sistemas fisiológicos ou estados patológicos, em benefício da pessoa a quem se administra, com finalidade profilática, curativa, paliativa ou de diagnóstico (OMS, 2002). No Brasil, são consideradas cinco regiões com abundância de espécies medicinais: Floresta Amazônica, Mata Atlântica, Pantanal Mato-grossense, Cerrado e Caatinga. Algumas dessas regiões possuem plantas medicinais indicadas popularmente, das quais ainda não foram realizados estudos químicos, farmacológicos ou toxicológicos. (ALMEIDA, 2011)

A química de produtos naturais é a subárea mais antiga da química orgânica. Tendo parte de seus aspectos formais estabelecidos já nos tempos da alquimia, diante do seu vasto histórico é natural que seja bem consolidada e reconhecida. Com um desenvolvimento relativamente lento até os anos 1960, experimentou seu primeiro apogeu com o advento das ferramentas de análise espectroscópica. O desenvolvimento recente de técnicas hífenadas permitiu obter um amplo conhecimento sobre o metabolismo secundário dos organismos vivos (BERLINCK et al., 2017). O Brasil está em uma posição vantajosa para a ciência de produtos naturais por ser uma das superpotências de biodiversidade

e tem contribuído com um grande número de pesquisadores químicos de produtos naturais.

A família Fabaceae inclui 795 gêneros e quase 20.000 espécies, estando entre as três maiores famílias de plantas (Lewis et al. 2005; LPWG 2017). Atualmente a família é dividida em seis subfamílias Cercidoideae, Caesalpinioideae, Papilionoideae, Detarioideae, Dialioideae, Duparquetioideae (subfamília monoespecífica africana não é representada no Brasil) (LPWG 2017).

Os metabólitos secundários são compostos orgânicos produzidos pela célula vegetal como derivação do metabolismo primário. Não possuem função vital para a planta, mas garantem a sua sobrevivência, reprodução e dispersão, por possuírem a capacidade de proteção contra raios UV, atração de polinizadores e dispersores de sementes, ação contra herbívoros, comunicação entre plantas, bem como outras funções (OOTANI et al., 2013; WINK, 2013).

A fitoquímica é um estudo que possibilita detectar a existência dos compostos de determinada planta e caracterizá-los. Assim, tratando-se de um estudo básico para a investigação de plantas medicinais, sendo importante para orientar as etapas seguintes a serem realizadas na produção de fitoterápicos ou medicamentos de origem vegetal. A fitoquímica tem importância no estudo dos metabólitos secundários, pois tem a finalidade de elucidar, caracterizar a estrutura química e avaliar as propriedades biológicas, além de registrar as substâncias provenientes das drogas vegetais (FILHO, 2010).

A fim de contribuir para as pesquisas relacionadas à *Crotalaria pallida* Aiton, este trabalho teve como finalidade a investigação fitoquímica desta espécie, contribuindo, dessa forma, para o conhecimento quimiotaxonômico da mesma. Na literatura poucos são os trabalhos encontrados para a espécie, sendo necessários estudos que elucidem quais os componentes fitoquímicos que a mesma possui. Observa-se então, o quão importante é a química de produtos naturais para o avanço da ciência, agindo como um fator de potenciais descobertas terapêuticas, que pode promover a recuperação ou o tratamento de doenças.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 A QUÍMICA DE PRODUTOS NATURAIS (QPN) NO BRASIL

A química de produtos naturais é a subárea mais antiga da química orgânica. Tendo parte de seus aspectos formais estabelecidos já nos tempos da alquimia, é natural que seja bem consolidada e reconhecida. Com um desenvolvimento relativamente lento até os anos 1960, experimentou seu primeiro apogeu com o advento das ferramentas de análises espectroscópicas. O desenvolvimento recente de técnicas hífenadas permitiu obter um amplo conhecimento sobre o metabolismo secundário dos organismos vivos. (BERLINCK et al., 2017)

O Brasil se situa em posição privilegiada para a ciência de produtos naturais, em decorrência de ser um dos países mega-biodiversos e ter constituído um grande corpo de pesquisadores em Química de Produtos Naturais (QPN). 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 esplêndida fauna e flora, foi um desses territórios explorados. Com isso, através dessa exploração e convivência do homem civilizado com os nativos que foram descobertos quando chegaram em territórios brasileiros, as diversas aplicações das espécies vegetais, de total conhecimento dos povos indígenas puderam ser de certa forma compartilhada com os exploradores de outros lugares do mundo. Essa convivência contribuiu significativamente para o conhecimento de substâncias que eram tóxicas ou que tinham propriedades medicinais (VIEGAS JR et al., 2006).

Pioneiro nos estudos da fitoquímica no país, Otto Richard Gottlieb foi responsável por inúmeros avanços na química de produtos naturais, na pesquisa de evolução botânica e na ecologia química. Contribuiu também para o desenvolvimento de fármacos a partir de seu trabalho com as neolignanas. (CAPARICA, 2012). Segundo Newman e Cragg (2016), a pesquisa na área de produtos naturais bioativos não apenas permite identificar novos compostos como também propõe novas estruturas moleculares para serem utilizadas como modelos para novos fármacos.

2.2 CONSIDERAÇÕES TAXONÔMICAS

Diversas espécies podem ser facilmente confundidas em razão de suas semelhanças morfológicas. Diante disto, Moreira et al. (2014) destacam a importância da taxonomia vegetal, principalmente quando se trata da identificação e classificação de plantas que são utilizadas para fins terapêuticos e medicinais. A Taxonomia ou Sistemática Vegetal é uma área da Botânica que visa estabelecer uma imagem completa da grande diversidade de organismos, através da organização das plantas em um sistema filogenético, considerando suas características morfológicas internas e externas, suas relações genéticas e suas afinidades. Compreende a identificação, a nomenclatura e a classificação (Lawrence, 1956; Weberling & Schwantes 1986).

2.2.1 Família Fabaceae

Leguminosae ou Fabaceae constitui uma das maiores famílias de angiospermas do mundo, distribuídas em todo o globo, sendo reconhecidos cerca de 795 gêneros e aproximadamente 20.000 espécies (LEWIS et al., 2005). É considerada a terceira maior família de angiospermas do planeta e a maior família botânica do Brasil, ocorrendo 2.826 espécies (1.524 endêmicas) agrupadas em 222 gêneros, encontradas na maioria das regiões e distribuídas por quase todas as formações vegetacionais (LIMA 2000; BFG, 2015). Trabalhos florísticos e taxonômicos que indicam as leguminosas como uma das famílias mais representativas em formações florestais (OLIVEIRA-FILHO et al., 1994; RIBEIRO, 1998; LIMA, 2000). Apesar de não ser consenso entre autores, Leguminosae é considerada como uma única família, com seis subfamílias Cercidoideae, Caesalpinioideae, Papilionoideae, Detarioideae, Dialioideae, Duparquetioideae esta por sua vez é uma subfamília monoespecífica africana que não é representada no Brasil (LPWG 2017).

Crotalaria constitui-se em um dos maiores gêneros da família Leguminosae, com cerca de 690 espécies, distribuídas em regiões tropicais e subtropicais, principalmente no hemisfério sul, sendo mais rico na África e na Índia (GARCIA et al., 2013).

2.2.2 Gênero *Crotalaria*

O gênero *Crotalaria* L. (Leguminosae-Faboideae), segundo Polhill (1981) e Lewis et al. (2005), está inserido na tribo Crotalarieae (Benth.) Hutch., sendo o único, dentre os 11 gêneros dessa tribo que apresenta representantes nativos no Brasil (FLORES E MIOTTO 2005).

As espécies do gênero caracterizam-se por apresentar porte herbáceo ou arbustivo; folhas digitado-trifolioladas, unifolioladas ou simples; flores com corola predominantemente amarela; estames, monadelfos, formando um tubo aberto por uma fenda, anteras dimorfas e legumes inflados. As espécies são encontradas em diferentes condições ambientais, como áreas próximas a rios, morros litorâneos, restingas, orlas de florestas, campos e cerrados. Além disso, são oportunistas e muito comuns como invasoras de culturas e de locais alterados como, por exemplo, em margem de estradas e pastagens (FLORES & MIOTTO 2005; LEWIS et al. 2005). Para o Brasil, os principais estudos taxonômicos de *Crotalaria* foram os de Bentham (1859) que, baseando-se no tipo foliar, citou 32 espécies reunidas em duas séries, Foliolatae e Simplicifoliae sendo esta última, subdividida em dois grupos, um de espécies nativas e outro de introduzidas (FLORES, 2004).

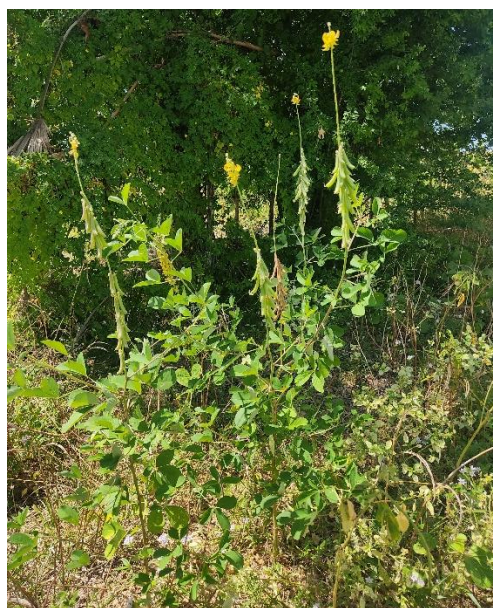
Diversos são os usos citados para suas espécies, como por exemplo, adubo orgânico; forragem; no combate a nematoides de plantações; em programas de revegetação de áreas contaminadas com substâncias tóxicas; na produção de fibras para confecção de papel; na medicina popular e com aplicações farmacológicas (BURKART 1952; POLHILL 1982; MORRIS 1997; MEDA & FURLANI 2005; NARENDER et al. 2005; AHMED et al. 2006; SILVA et al. 2007; GARRIDO et al. 2008; FELIPE et al. 2009; ROCHA et al. 2009).

2.2.3 *Crotalaria pallida* Aiton

Arbustos, com cerca de 1,80 m de altura. ramos pubescentes, sem alas intermodais, estípulas filiformes, 1-2 mm, pilosas; folhas digitado-trifolioladas; pecíolo pubescente, 1,5-4,5 cm, frequentemente mais curtas que o folíolo terminal; folíolos elípticos a obovados, base cuneada, ápice emarginado-

mucronulado, face abaxial pubérula a adaxial glabra; os terminais com 3,3-7,2 x 1,6-3,8 cm, peciólulos com 2,5-3 cm; os laterais com 2,2-5,8 x 1,1-3 cm, peciólulos com 1,5-2 cm, racemos terminais, raramente axilares, curtos a longos, 4,8-37,5 cm, multifloros, flores distribuídas ao longo da ráquis; pedúnculo piloso, 2,3-10,5 cm; ráquis pilosa, 2,5-27 cm; brácteas filiformes, 0,3-0,4 cm, caducas; pedicelo ereto, 0,3-0,5 cm, piloso; bractéolas filiformes, 0,1-0,2 cm, caducas, inseridas na base do cálice. Flores 1-1,2 cm; cálice laciniado, 6-9 cm, externamente piloso, internamente glabro; lacínias com um par superior conato no ápice e três inferiores livres, pilosas, maiores que o tubo calicino; estandarte ovado, 1,2-1,4 x 0,7-0,8 cm, com estrias avermelhadas, glabro, exceto na unguícula, base com dois apêndices extensos até a unguícula, ápice emarginado; alas oblongas, 0,9-1 x 0,3-0,4 cm, com estrias avermelhadas, curvas, glabras, exceto na unguícula, base unguiculada, ápice arredondado; pétalas da carena arredondadas, 1,2-1,4 cm, estrias avermelhadas, base unguiculada, ápice acuminado, pouco prolongado, reto; estames 1,3- 1,4 cm; ovário pubérulo, pubescente na sutura ventral, 0,6-1 x 0,1-0,2 cm; estilete curvo, 0,7-0,8 cm, glabro, exceto em uma linha abaxial na porção superior; estigma capitado. Legumes pêndulos, 3,5-4 x 0,5-0,7 cm, castanhos com manchas marrons, pubérulos, pubescentes na sutura ventral, ápice rostrado, curvo; estípites pilosos, 2,5-3,5 mm. Sementes castanhas a marrons, 0,2-0,3 x 0,3 cm (QUEIROZ, 2012). Como apresenta a figura a seguir.

Figura 1- A espécie *Crotalaria pallida* Aiton

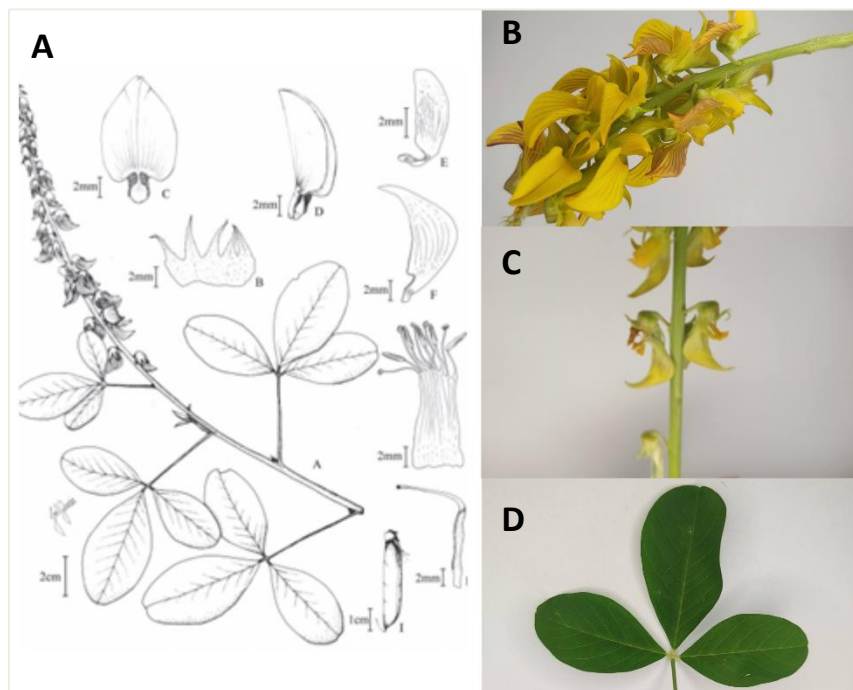


Fonte: Acervo pessoal, 2021.

No Brasil, a *Cratolaria pallida*, é conhecida como “xique-xique”, “guizo de cascavel”, “chocalho de cascavel” e possui vagens secas que, quando tocadas se assemelham ao som emitido pela cauda da cascavel (BOGHOSSIAN et al, 2007).

Acerca de sua distribuição geográfica: nativa nos trópicos do Velho Mundo (FLORES, 2004). No Brasil é encontrada no Amazonas, Bahia, Ceará, Piauí, Espírito Santo, Mato Grosso do Sul, Pará, Paraná, Rio de Janeiro, Rio Grande do Sul, Roraima, Santa Catarina e São Paulo, nos domínios fitogeográficos da Amazônia, Cerrado, Mata Atlântica e Pampas (FLORES, 2010).

Figura 2- *Cratolaria pallida* Aiton: (A) Exsicata da espécie; (B) Flores; (C) caule; (D) folhas.



Fonte: (A) GARCIA et. al., (2013); (B) Autoria própria, (2021).

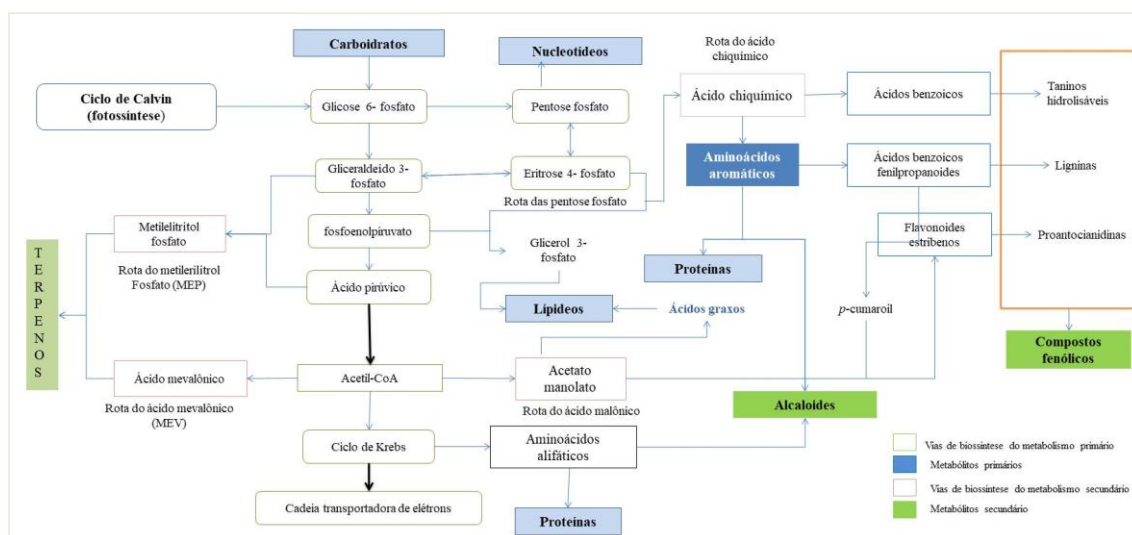
2.3 METABOLISMO VEGETAL

Os seres vivos apresentam o organismo constituído de reações químicas, que em conjunto compõem o metabolismo necessário para gerar e manter a vida. Para o crescimento e desenvolvimento de um organismo é indispensável o metabolismo fisiológico, já que por meio deste ocorre a degradação e síntese de compostos químicos essenciais, denominados metabólitos (ALMEIDA, 2017).

2.3.1 Metabólitos primários

O metabolismo primário desempenha funções essenciais para o desenvolvimento celular e manutenção da vida, sendo geral para todos os seres vivos (animais e vegetais) (ALMEIDA, 2017). Em espécies vegetais, os metabólitos primários exercem funções essenciais para o desenvolvimento, sobrevivência e reprodução, tais como: fotossíntese, respiração e absorção de nutrientes (SOUZA, 2013; ALMEIDA, 2017). As principais classes de moléculas sintetizadas pelo metabolismo primário são: carboidratos, lipídeos, proteínas e nucleotídeos (MOREIRA, 2015).

As espécies vegetais apresentam como diferencial o metabolismo secundário, que possibilita a produção, transformação e acumulação de substâncias que não estão relacionadas diretamente com funções vitais (SILVA, 2014). Tais metabólitos são provenientes do metabolismo primário (FIGURA 2, p. 19). Por meio das rotas biossintéticas são sintetizados compostos orgânicos que possuem atividade biológica, podendo ser utilizado na produção de medicamentos, aromatizantes e corantes (CUNHA et al., 2016; ALMEIDA, 2017). **Figura 3-** Esquema das vias biossintéticas do metabolismo primário e secundário



Fonte: Adaptado de Moreira (2015).

2.3.2 Metabólitos secundários

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

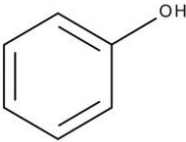
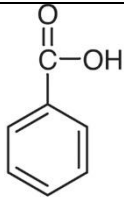
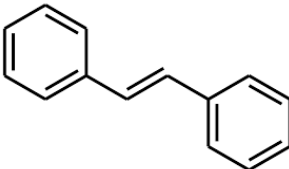
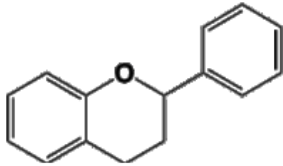
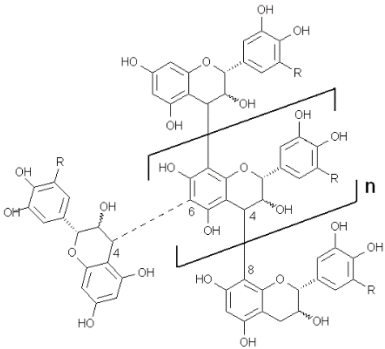
Tais substâncias possuem restrição quanto a sua distribuição, sendo característica de uma dada espécie ou de um certo grupo de espécies, se diferenciando dos metabólitos primários, que são encontrados amplamente no reino vegetal (TAIZ e ZEIGER, 2013). A produção de metabólitos secundários por uma espécie vegetal depende das condições de crescimento, da fisiologia e do impacto das condições ambientais nas vias metabólicas associadas à biossíntese, sendo influenciados por fatores bióticos e abióticos (ISAH, 2019).

Segundo López (2006), as substâncias produzidas pelo metabolismo secundário estão especialmente relacionadas às propriedades terapêuticas das plantas. Dentre as principais classes de metabólitos secundários destacam-se compostos fenólicos, terpenos e alcaloides.

A classe dos compostos fenólicos inclui compostos com anéis aromáticos e substituição de pelo menos um hidrogênio do ciclo por um grupo hidroxila, sendo sintetizados pelas rotas metabólicas do ácido chiquímico e do ácido mevalônico (VIZZOTO, KROLOW e WEBER, 2010). Devido a grande quantidade de substâncias identificadas, não há um consenso comum quanto à classificação de tais compostos, podendo ser classificados por diferentes critérios: (1) flavonoides e não flavonoides; (2) quanto ao número de anéis aromáticos; (3) quanto ao esqueleto de carbono; (4) quanto a estrutura química básica (SANTANA-GÁLVEZ e JACOBO VELÁZQUES, 2018).

Os compostos fenólicos podem ser classificados segundo o tipo de esqueleto principal (SIMÕES et. al., 2007). Haja vista tais critérios de classificação, os compostos fenólicos podem ser organizados em 20 classes diferentes, onde algumas principais podem ser observadas no Quadro 1 (p. 21).

Quadro 1- Principais classes de compostos fenólicos

Nº de anéis aromáticos	Esqueleto Carbônico	Classe	Estrutura Química Básica
1	C ₆	Fenóis Simples	
2	C ₆ -C ₁	Ácidos Fenólicos	
2	C ₆ -C ₂ -C ₆	Estilbenos	
2	C ₆ -C ₃ -C ₆	Flavonoides	
3 ou mais	(C ₆ -C ₃ -C ₆) _n	Taninos Condensados	

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

Segundo DEWICK (2009), os terpenoides constituem uma vasta classe de metabólitos secundários estruturalmente diversos. São formados a partir da condensação de unidades de isopreno (C₅) ativadas, difosfato de isopentenila (IPP) e difosfato de dimetilalila (DMAPP). Tais compostos são sintetizados pela via biosintética do ácido mevalônico e do metileritritol fosfato (SILVA, 2014). Estruturalmente são divididos de acordo com o número de unidades de isoprenos, sendo classificados em monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos,

triterpenos, tetraterpenos e politerpenos (TAIZ e ZEIGER, 2013), como se pode observar na Tabela 1.

Tabela 1- Classificação de terpenos segundo o número de unidades isoprênicas e números de carbonos

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

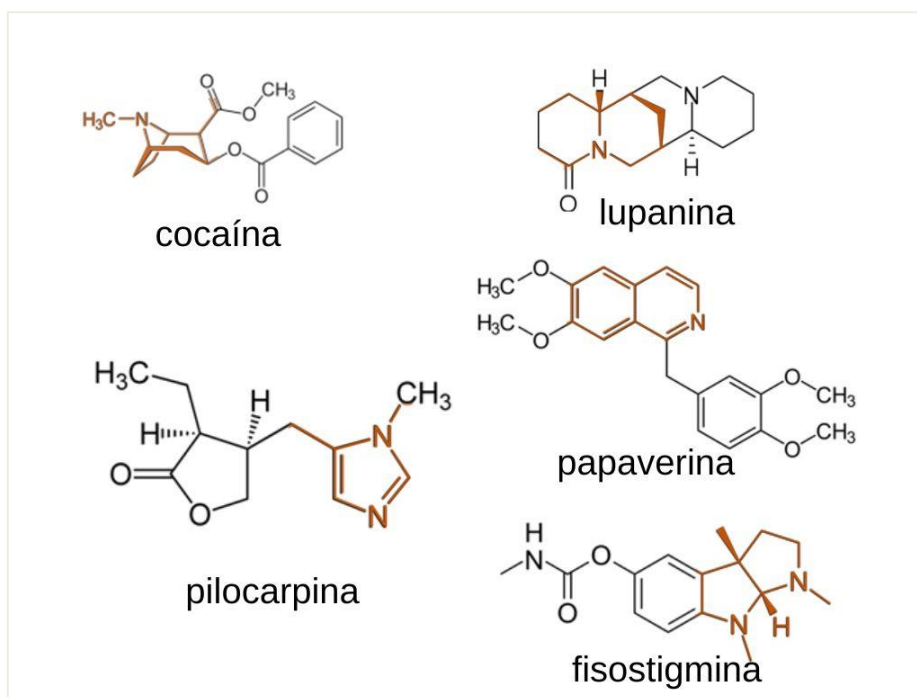
Fonte: Autoria própria, (2022).

Os alcaloides são substâncias orgânicas de baixo peso molecular, que apresentam como características cadeias cíclicas com átomos de nitrogênio. Tais metabólitos são derivados de aminoácidos alifáticos, podendo também serem produzidos de bases nitrogenadas, como o caso da cafeína (SILVA, 2014). Essa classe de metabólitos tem uma distribuição limitada entre os organismos vivos, sendo encontrada, geralmente, em vegetais específicos, além disso, os alcaloides são conhecidos por suas atividades relacionadas ao seu acentuado efeito no sistema nervoso, sendo utilizado como medicamento, veneno ou alucinógeno (VIZZOTO; KROLOW; WEBER, 2010). Algumas classes de alcaloides possuem os aminoácidos ornitina, lisina, tirosina, histidina e triptofano como precursores, na Tabela 2 e Figura 3 onde observam-se algumas destas classes (DEWICK, 2009).

Tabela 2- Classes de alcaloides

Classes	Aminoácidos precursores	Exemplos
Tropânicos	Ornitina	Cocaína
Quinolizidínicos	Lisina	Lupanina
Benzilisoquinolínicos	Tirosina	Papaverina
Imidazólicos	Histidina	Pilocarpina
Pirrolizidínicos	Triptofano	Fisostigmina

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

Figura 4- Exemplos de alcaloides

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

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVOS GERAIS

O presente trabalho tem como objetivo identificar as classes de metabólitos secundários presentes no extrato etanólico do caule, folha e flores da espécie *Crotalaria pallida* Aiton.

3.1 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Coletar o material vegetal da espécie *Crotalaria pallida* Aiton;
- Registrar as exsicatas de *Crotalaria pallida* Aiton, no Herbário da Universidade Federal do Delta do Parnaíba (UFDPAr);
- Obter extratos etanólicos das folhas (EEF), caule (EEC) e flores (EEFL) de *Crotalaria pallida* Aiton;
- Realizar testes fitoquímicos para as diferentes classes de metabólitos secundários.

4 METODOLOGIA

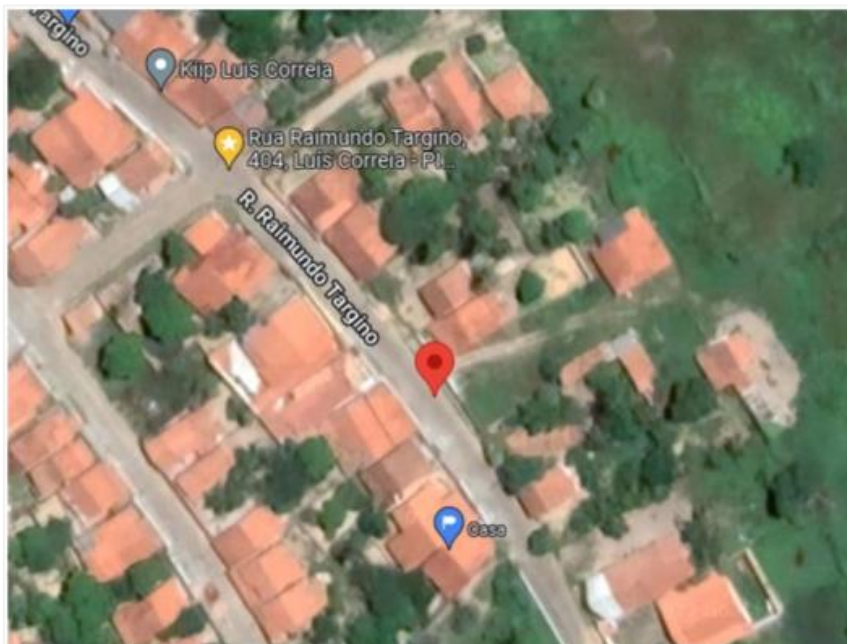
4.1 TIPO DE PESQUISA

O estudo realizado é classificado como uma pesquisa explicativa e experimental, pois 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 pesquisa experimental caracteriza-se por verificar diferentes variáveis relacionadas com o objeto de estudo, além de definir as formas de controle e de observação para analisar os efeitos que as variáveis produzem no fato estudado (GIL, 2008).

4.2 COLETA DA ESPÉCIE

A espécie *Crotalaria pallida* Aiton foi coletada no município de Luís Correia – PI (coordenadas 2°53'31.8"S 41°39'49.9"W), no dia 10 de julho de 2022. Para a confirmação da espécie científica, uma exsicata da espécie foi depositada no Herbário da Universidade Federal do Delta do Parnaíba (HDELTA) sob o número de tombo 7236 (*C. pallida* Aiton).

Figura 5- Localização da planta via satélite



Fonte: Google maps, 2022.

4.3 PROCEDIMENTO DA PESQUISA

4.3.1 Preparação dos extratos

As folhas, flores e caules de *C. pallida* Aiton foram separados e secos à temperatura ambiente, trituradas e submetidas à extração com etanol à temperatura ambiente, de forma a obter o extrato etanólico das folhas, flores e caules da espécie. 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 devidamente calculados de acordo com a Equação 1.

Equação 1- Rendimento dos Extratos

$$\text{Rendimento (\%)} = \frac{\text{massa do extrato}}{\text{massa do material vegetal seco}} \times 100$$

4.3.2 Cromatografia em Camada Delgada

Os extratos etanólicos de *C. pallida* Aiton foram dissolvidos em metanol e submetidos à cromatografia em camada delgada (CCD). Os eluentes éter etílico/MeOH (9:1); hexano/AcOEt (8:2), CHCl₃/MeOH (8:2) e éter etílico/MeOH/H₂O (65:30:05) foram utilizados como fase móvel e as cromatoplasas reveladas em luz UV (λ 254 e 365 nm) e com sulfato cérico - Ce(SO₄)₂.

4.3.3 Testes fitoquímicos para metabólitos secundários

Os testes fitoquímicos foram desenvolvidos baseados segundo a metodologia de Matos (2009) com adaptações.

4.3.3.1 Preparo das amostras (soluções hidroalcoólicas)

Para o preparo dos extratos etanólicos- EEF, EEC e EEFL (0,25g) foram dissolvidos em 50mL da mistura EtOH/H₂O (8:2). Cada teste foi realizado para cada extrato de acordo com as informações abaixo:

4.3.3.2 Teste para fenois e taninos

Em um tubo de ensaio, contendo a solução hidroalcoólica do extrato, foram adicionadas três gotas de solução alcoólica de FeCl_3 . Uma variação de cor entre o azul e vermelho é indicativo da presença de fenóis, quando o teste apresentar a cor branca é 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 Teste 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, flavonóis 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 flavonóis.

4.3.3.4 Teste para leucoantocianidinas, catequinas e flavonas

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

4.3.3.5 Teste para flavonóis, flavononas, flavonóis e xantonas

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

4.3.3.6 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. A mistura foi transferida para um tubo de ensaio e aquecida em banho-maria até a ebulição. Espera-se o possível desenvolvimento de coloração na amostra aquecida indicando a confirmação desta classe de metabólitos secundários.

4.3.3.7 Teste confirmatório para dihidroflavonóis – Teste de Pacheco

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

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

Foram adicionados 10 mL do extrato em um béquer até evaporação do solvente em banho-maria a 60°C, o resíduo seco foi extraído com 2 mL de éter etílico. A solução etílica foi filtrada, em seguida adicionados alguns cristais de Na₂SO₄ anidro e 1 mL de anidrido acético, e submetido à agitação, cuidadosamente. Após agitação, foram adicionadas três gotas de HCl concentrado, em seguida, suavemente agitado. O aparecimento da coloração seguida de verde permanente é indicativo da presença de esteroides livres. A coloração parda ou vermelha é indicativa de triterpenoides pentacíclicos livres.

4.3.3.9 Teste para heterosídeos saponínicos

O resíduo insolúvel em clorofórmio (teste 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 e foram feitas as observações com relação à formação de espuma. A espuma persistente e abundante indica a presença de saponinas (heterosídeos saponínicos).

4.3.3.10 Teste para alcaloides

O solvente do extrato hidroalcoólico (20 mL) foi evaporado em banho-maria a 70°C. O resíduo seco foi redissolvido em 1 mL de álcool etílico e acrescidos 20 mL de ácido clorídrico (0,1 mol.L⁻¹). 1 mL dessa solução foi dissolvida com HCl e transferido para um tubo de ensaio, onde foram adicionadas 2 gotas do reagente de Dragendorff (tetraiodeto bismuto de potássio) e feitas as observações quanto a formação de precipitado ou turvação das amostras, a formação de precipitado indica a presença de alcaloides na forma de sal.

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, foi preparado o reagente de Wagner, com a metodologia de DiVerdi (2019), na qual foram dissolvidos 2 g de iodo ressublimado e 6g de iodeto de potássio em 100 mL de água destilada.

Para realizar o ensaio, foram utilizados 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: o precipitado vermelho indica a presença de alcaloides;

Tubo 2 - Reativo de Wagner: o precipitado alaranjado indica a presença de alcaloides.

Para o ensaio de detecção de cumarinas, em um béquer foram adicionados 2,00 mL da solução hidroalcoólica, sendo o béquer vedado com papel de filtro impregnado em solução 10% de NaOH e submetido à aquecimento

em banho maria a 100°C por 10 minutos. O papel filtro foi removido e observado sob luz ultravioleta nos comprimentos de onda de 254 e 365 nm. A fluorescência amarela ou verde indica a presença de cumarinas.

4.4 TRATAMENTO DOS DADOS

Como a análise fitoquímica é baseada apenas em observações de descoloração, precipitação, formação de espuma e absorção de UV, todos os resultados serão tratados como qualitativos. Portanto, para aqueles considerados positivos, os dados são tratados com o sinal (+), cujas variações podem ocorrer duas (++) ou três (+++) sinais, dependendo da intensidade do resultado obtido. Os resultados negativos serão tratados com um sinal (-). Todos os dados obtidos dos testes fitoquímicos serão organizados em uma tabela com a finalidade de facilitar a discussão dos resultados.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 RENDIMENTO DOS EXTRATOS

As massas do caule, flores e folhas de *C. pallida* Aiton com os respectivos rendimentos dos extratos EEC, EEFL e EEF foram obtidas como demonstra o Quadro 2.

Quadro 2- Rendimento dos extratos obtidos de *C. pallida* Aiton

	EEF	EEC	EEFL
Massa do material vegetal seco	103,46g	100,57g	104,22g
Massa do extrato etanólico	54,36g	9,92g	4,96g
Rendimento	52,54%	9,86%	4,75%

Fonte: Autoria própria, 2022.

Analisando o Quadro 2, percebe-se grande diferença quando se compara o rendimento das folhas em relação aos rendimentos dos caule e flores com uma diferença de 42,6% e 47,7% respectivamente entre os mesmos. Essa diferença pode estar associada a inúmeros fatores, no entanto o que explica essa diferença no rendimento é o fato da presença da clorofila nas folhas. Além disso, a extração pode ser realizada por diferentes processos, métodos, solventes e tempo de extração dependendo da espécie, acarretando assim em diferenças no rendimento (FRANZEN et al., 2018).

O etanol (EtOH) foi escolhido como solvente devido algumas de suas características, como a presença de baixa toxicidade, também por ser obtido por meio de fontes renováveis e por ter uma grande produtividade no país. Em virtude de ser uma molécula de caráter anfifílico, o etanol consegue extrair tanto compostos polares quanto os compostos de média polaridade e mais apolares, resultando em extrações com taxas de perdas mínimas (TANAMATI et al., 2010; OLIVEIRA et al., 2016).

A clorofila é um pigmento de coloração verde que pode ser facilmente extraída das folhas em presença de um solvente com características polares (ROCHA; ROYO, 2016). Mesmo que as folhas após a secagem tenham perdido

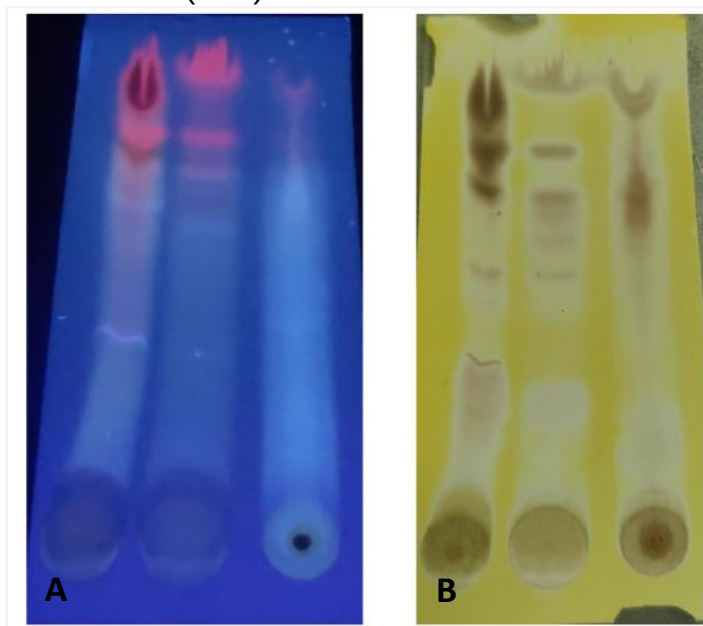
de forma considerável sua coloração verde intenso, ou seja, a sua clorofila, ainda pode-se observar a presença desta coloração verde após a extração, podendo ser indicativo da presença de clorofila que por sua vez possa ser um dos motivos pelo qual o extrato EEF apresentou maior rendimento.

5.3 CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA (CCD)

A cromatografia em camada delgada (CCD) é um método rápido, eficiente, de baixo custo e largamente empregado na Química de Produtos Naturais. (JULIÃO et al., 2003). Na CCD, a fase estacionária é suportada sobre uma placa plana e a fase móvel desloca-se sobre a fase estacionária por ação da capilaridade (SKOOG et al., 2010). O ambiente precisa ser hermeticamente fechado e saturado com vapores da fase móvel (OLIVEIRA et al., 2010).

Esta técnica foi utilizada de forma preliminar para análise a respeito do perfil fitoquímico de cada extrato. Onde após a eluição da cromatoplaça, a mesma foi submetida a exposição de luz UV nos comprimentos de onda de 254 e 365 nm. Nas placas CCD, mostradas na Figura 5, os extratos EEF, EEC e EEFL foram aplicados da esquerda para a direita, respectivamente.

Figura 6- Perfil cromatográfico, em $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (8:2) do EEF, EEC e EEFL. A) CCD revelação com UV (λ 365nm); B) CCD com revelador $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$



Fonte: Acervo pessoal, 2022.

Ao fazer uma análise das placas (FIGURA 6-A) pode-se observar fluorescência azul, amarela e vermelho-alaranjado no EEF, o EEC apresentou fluorescência azul claro, rosa e vermelho-alaranjado e no EEFL, azul e vermelho alaranjado.

Segundo Soares (2010), a coloração laranja refere-se a flavonoides, enquanto para Silva (2021) dependendo da estrutura do flavonoide, ele também pode apresentar as fluorescências amarelo, azul ou verde quando irradiado por luz UV em 365 nm. Confirmando as afirmativas, segundo Wagner e Bladt (1996) o aparecimento da cor azul-fluorescente pode ser característica da presença de cumarinas.

Chaves (1997), utilizando o mesmo eluente e revelador químico, ocorre o surgimento de manchas rosadas e segundo o mesmo, pode ser indicativo da presença de compostos de natureza terpênica.

5.4 TESTES FITOQUÍMICOS PARA METABÓLITOS SECUNDÁRIOS

O desenvolvimento dos testes fitoquímicos realizados a partir da solução hidroalcoólica dos extratos das folhas, caule e flores de *C. pallida* Aiton, para diferentes classes de metabólitos secundários deu-se por meio da metodologia adaptada de Matos (2009). Durante as análises fitoquímicas, foram observadas a presença de leucoantocianidinas, diidroflavonois, heterosídeos saponínicos, cumarinas e esteroides livres em todos os extratos analisados. As flavonas foram identificadas somente no EEC e os triterpenos pentacíclicos, somente no EEF. Os taninos flobatênicos foram evidenciado tanto no EEF quanto no EEC, já os alcaloides foram identificados tanto no EEF quanto no EEFL. O Quadro 3 (p. 34) mostra os resultados obtidos com a realização dos testes fitoquímicos.

Quadro 3- Classes de constituintes químicos identificados nos extratos EEF, EEC e EEFL de *C. pallida* Aiton.

METABÓLITOS	EEF	RESULTADO	EEC	RESULTADO	EEFL	RESULTADO
Fenois	-	*ND	-	ND	-	ND
Taninos condensados	-	ND	-	ND	-	ND
Taninos flabotênicos	+++	*ppt verde	+++	intensificação na cor + ppt verde	-	ND
Catequinas	-	ND	-	ND	-	ND
Leucoantocianidinas	+	intensificação na cor verde	+	avermelhado	+	avermelhado
Flavononas	-	ND	+++	vermelho	-	ND
Flavonois, flavononas, flavonóis e xantonas	-	ND	+++	vermelho	-	ND
Antocianinas, antocianidinas e flavonoides	-	ND	-	ND	-	ND
Xantonas	-	ND	-	ND	-	ND
Flavonóis	-	ND	-	ND	-	ND
Diidroflavonóis	+++	intensificação da cor	+++	intensificação da cor	+++	intensificação da cor
Triterpenos pentacíclicos livres	+++	Verde	-	ND	-	ND
Heterosídeos saponínicos	+	espuma	++	Espuma	+++	espuma
Alcaloides	++	ppt laranja	-	ND	+++	ppt laranja
Cumarinas	+++	Verde	+++	amarelo fluorescente	++	verde
Esteroides livres	+++	verde intenso	+++	transição do azul p/ verde intenso	+++	transição do azul p/ verde intenso

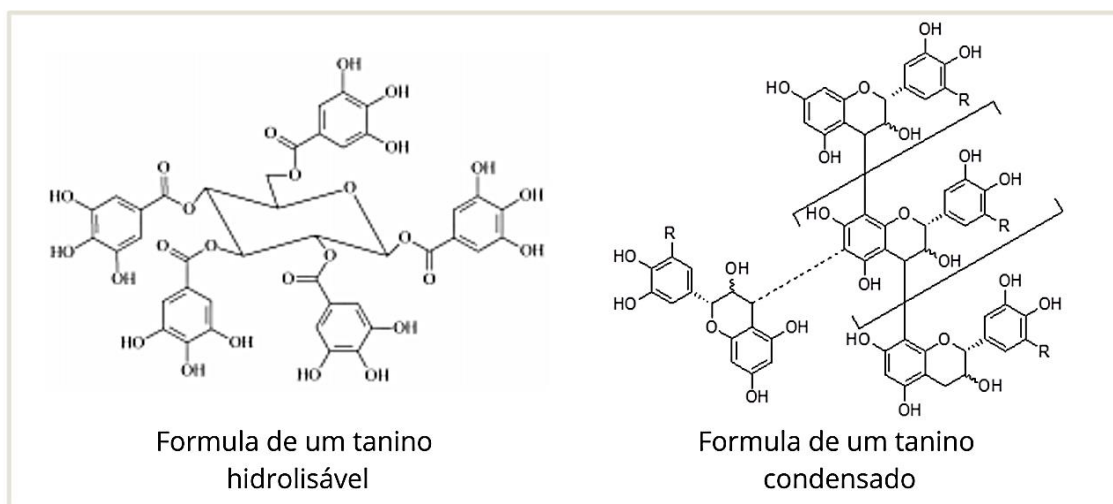
ND* - Não identificado; ppt – precipitado.

Fonte: Autoria própria, (2022).

5.4.1 Taninos

Taninos são metabólitos secundários provenientes da classe de compostos fenólicos. Além disso, os taninos possuem efeitos antibacterianos (SRISOD et al., 2018). De acordo com Simões (2003), a atividade antimicrobiana apresentada por algumas plantas está diretamente relacionada à presença deste metabólito, possuindo também caráter bactericida. Os taninos podem ser divididos em dois grupos: taninos hidrolisáveis ou condensados. Os hidrolisáveis consistem de ésteres de ácidos gálicos e ácidos elágicos glicosilados, formados a partir do chiquimato (HELDT, 1997), onde os grupos hidroxila do açúcar são esterificados com os ácidos fenólicos (VICKERY et al., 1981).

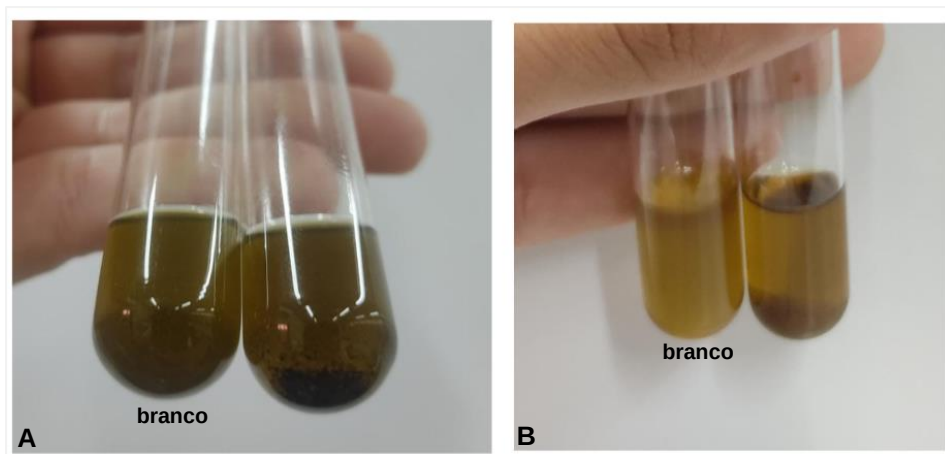
Figura 7 - Fórmula estrutural de um tanino hidrolisável e um tanino condensado



Fonte: Adaptado de Silva (2018)

Na literatura algumas existem registros da presença desta classe de metabólitos secundários em algumas plantas do gênero *Crotalaria*. A presença de taninos nos extratos EEF e EEC foi observada através da formação de um corpo de fundo de coloração verde (FIGURA 8-A e 7-B, página 36), característico da presença de taninos flobatênicos (taninos condensados ou catéquicos).

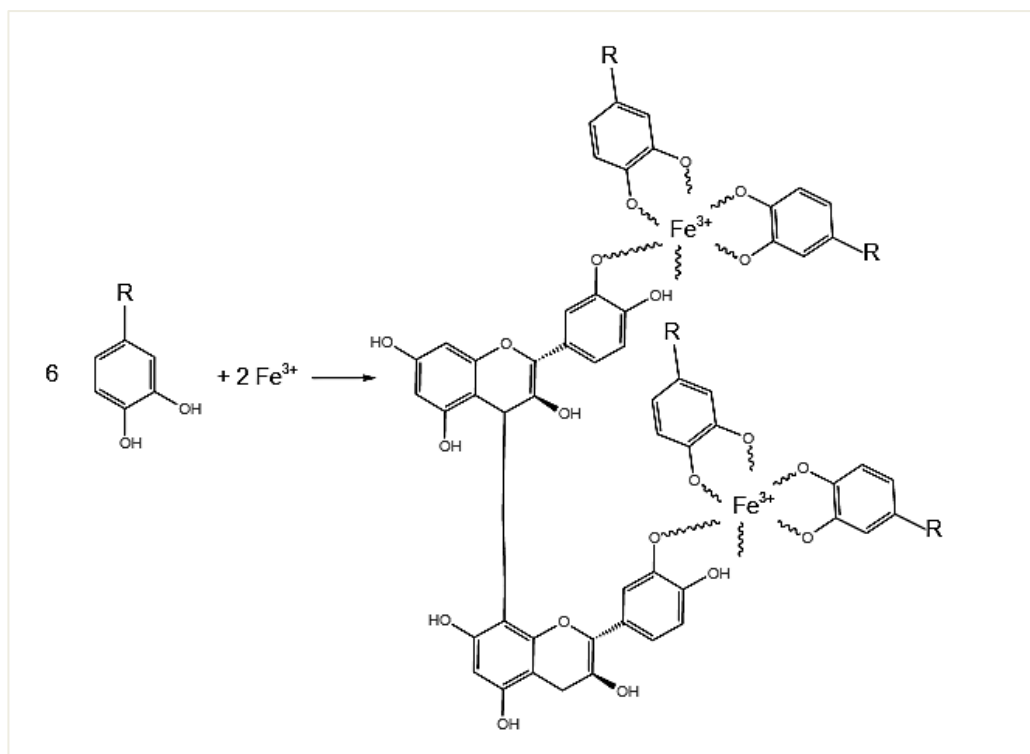
Figura 8 - Resultado qualitativo para o teste de fenois e taninos. A) EEF indicando a presença de um precipitado de cor verde; B) EEC indicando a intensificação na cor e a presença de um precipitado de cor verde



Fonte: Acervo pessoal (2022).

Esse método de identificação de taninos, é baseado na redução de Fe^{3+} , que determina o poder redutor. Compostos fenólicos, tais como os taninos, têm a capacidade de reduzir o Fe^{3+} , formando um complexo colorido resultante do Fe^{2+} . (TEIXEIRA, RODRIGUES, SANTOS, 2016). Isso ocorre devido algumas hidroxilas dos grupos fenólicos se localizarem na posição *orto*, o que favorece a ligação com metais (MARCHINI, 2015). A reação pode ser esquematizada de acordo com a Figura 9 (página 37), (OLEGÁRIO et al., 2019; WANG, FANG E MALLAVARAPU, 2015).

Figura 9- Complexação do ferro na caracterização de um tanino condensado



Fonte: Adaptado de Saif, Tahir e Chen, (2016).

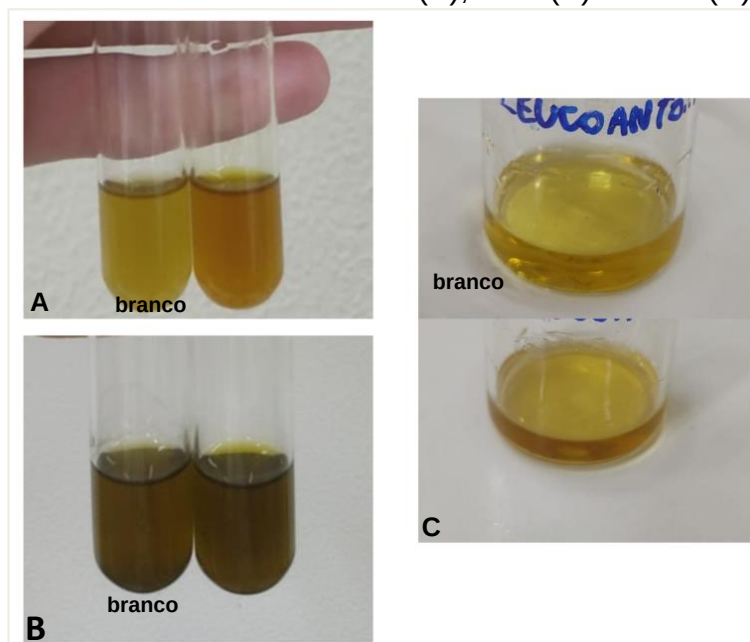
Os taninos são substâncias produzidas, principalmente, pelas forrageiras tropicais com o objetivo de proteger a planta contra o ataque de bactérias, fungos, vírus e também de herbívoros (seus predadores), ou em resposta a limitações no crescimento das plantas (Giner-Chaves, 1996).

5.4.2 Leucoantocianidinas

Dornas et al. (2010) descreve que as flavanas, leucoantocianidinas e proantocianidinas são flavonoides com eficácia comprovada na eliminação de radicais livres e inibidores de danos oxidativos. Assim a classe das leucoantocianidinas pertence à família dos polifenóis naturais pertencentes à classe dos bioflavonoides, cuja ação antioxidante hidrossolúvel chega a ser superior a da Vitamina E (FERNANDES et al., 2012).

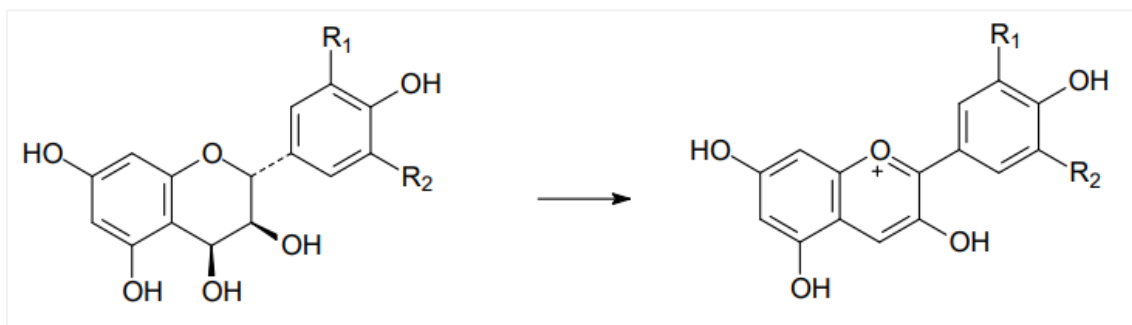
No teste confirmatório para leucoantocianidinas (4.3.3.6), o mesmo sugere resultado positivo quando ocorre o desenvolvimento de coloração. Para EEC e EEFL pode ser observado o desenvolvimento da coloração levemente avermelhada. Para o EEF pode-se observar a intensificação na cor do extrato, conforme representa a Figura 10 (página 38).

Figura 10- Resultado do teste confirmatório para leucoantocianidinas do EEC (A), EEF (B) e EEFL(C)



Fonte: Acervo pessoal, (2022).

Segundo Matos (2009), a presença de leucoantocianidinas é indicada pelo desenvolvimento de coloração vermelha em pH 3, após aquecimento. Pode-se observar a coloração vermelha tanto no EEC quanto no EEFL. Em meio extremamente ácido (pH entre 1-2), as antocianidinas apresentam coloração intensamente avermelhada devido ao predomínio da forma do cátion flavílico (TERCI, ROSSI, 2002). O mecanismo da reação consiste na desidrogenação do C2 e a desidratação dos C3 e C4, devido à antocianidinas serem moléculas instáveis, podendo ocorrer a glicosilação do grupo hidroxila do carbono C3, dando origem a antocianidina-3-glicosídeo. O desenvolvimento da coloração é devido ao íon flavílico, que é colorido (NAKAJIMA et al., 2001). Como apresenta a figura 11 (página 39).

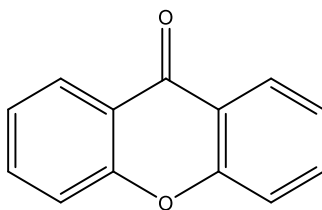
Figura 11- Formação do cátion flavílico

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

5.4.3 Flavonóis, flavononas, flavononois e xantonas

Flavanonas e flavonóis são tipos de flavonoides encontrados em flores. Os flavonoides, por sua vez, fazem parte de um grupo particular de metabólitos secundários, os compostos fenólicos. As flavonas e os flavonóis são protetores químicos que absorvem luz em comprimentos de onda mais curtos do que àqueles visíveis ao olho humano, protegendo as células vegetais dos danos causados pela fotoxidação (FERREIRA et al., 2008).

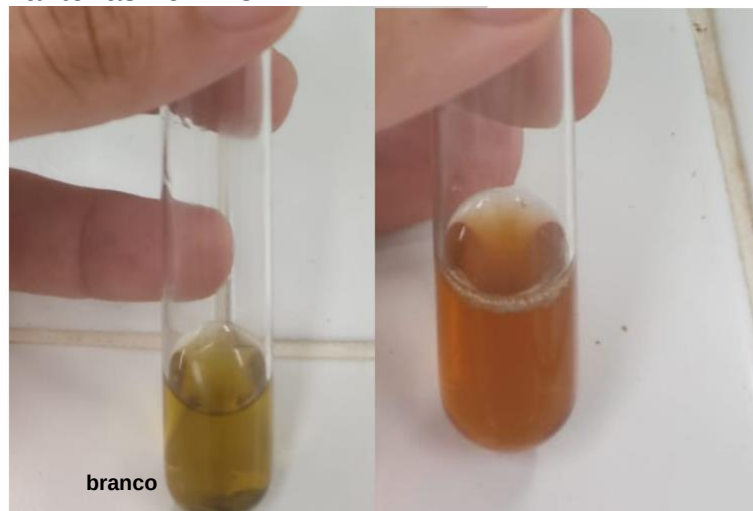
Xantonas são uma classe de compostos heterocíclicos que contém oxigênio, e apresentam uma coloração amarela e todos eles têm dibenzo-γ-pirona como a base esqueleto como mostra a figura 12. Apresentam importantes atividades sobre o sistema cardiovascular.

Figura 12- Representação do esqueleto base das xantonas

Fonte: Diniz, 2014.

No teste 4.3.3.5, ao serem acidificados e colocados em contato com a fita de magnésio tanto os flavonóis, flavononas, flavonóis e/ou xantonas apresentam a coloração vermelha. O EEC foi o único que apresentou a presença destes constituintes livres ou seus heterosídeos, como representa a Figura 13 (p. 40).

Figura 13- Resultado colorimétrico evidenciando a presença de flavonóis, flavononas, flavonois e/ou xantonas no EEC.

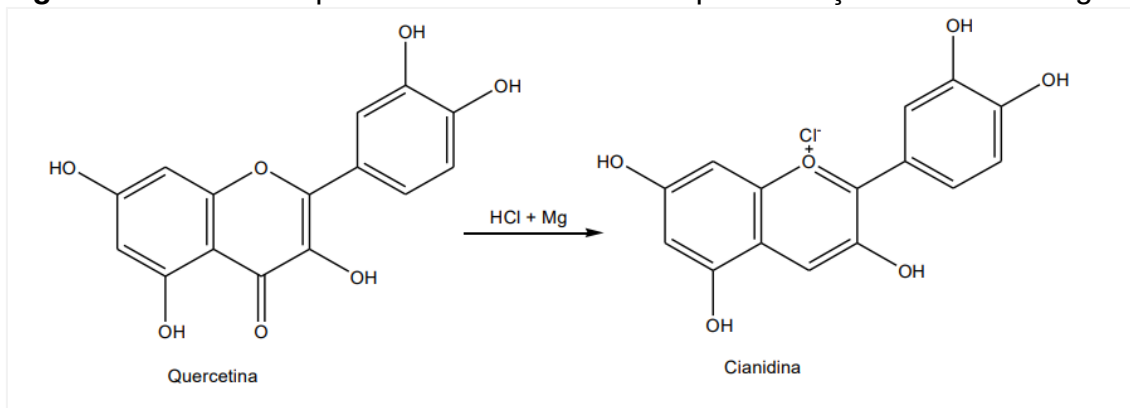


Fonte: Acervo pessoal, (2022).

Krepsky (2013) aborda que o ocorrido nesta reação é uma reação chamada de reação de Shinoda ou da cianidina. Onde essa reação promove a redução dos compostos flavônicos derivados provocando o desenvolvimento de uma cor dependente das estruturas químicas. As flavanonas podem atuar como algumas propriedades que causam benefícios a saúde como atividade antioxidante, hipolipidemicas, antihipertensivas, antiinflamatórias e antidiabéticas. (SILVEIRA, 2014).

Uma vez que a mistura adquire a coloração vermelha significa que existe a presença de flavonoides no composto, pois para que haja a mudança de cor é necessário que contenham alguns compostos de benzopirona na estrutura química, tais como, os flavonóis, flavononas e as flavonas. A figura 14 (página 41) representa a estrutura química do flavonoide após a reação com o Mg e o HCl (VARGAS et al., 2005).

Figura 14- Estrutura química de um flavonoide após a reação com HCl e Mg.

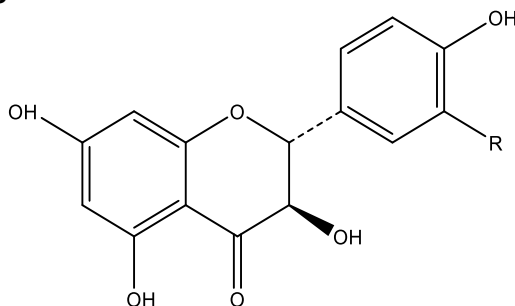


Fonte: Vargas, 2005.

5.4.4 Diidroflavonois

Também conhecidos como flavanonois, os diidroflavonois possuem um anel C saturado carbonilado no C4, estes se diferenciam das flavanonas devido a presença de uma hidroxila na posição C3, e assim, proporciona uma melhor atividade antioxidante. Ademais, são intermediários importantes na formação de flavonois e antocianinas (BRASOVEANU, 2018).

Figura 15- Estrutura de um diidroflavonol



Fonte: Marcucci, 1995.

No teste (4.3.3.7), também conhecido como Ensaio de Pacheco ou Teste de Pacheco, foi possível observar o desenvolvimento da coloração nos três extratos (EEF, EEC e EEFL). A metodologia de Matos (2009) não especifica a coloração esperada com a realização do teste, apenas relata um possível desenvolvimento de cor à amostra. Dessa forma, foi considerado um resultado positivo para o mesmo. No entanto, autores como Oliveira (2015), Machado et al., (2011) e Ocampos (2013), abordam que a confirmação da presença de diidroflavonois é positiva com a mudança de coloração para roxo. O qual está relacionado com o número de hidroxilas no núcleo flavônico. Dessa forma o teste

para diidroflavonois nos extratos de *C. pallida* Aiton foram considerados como não definido (ND).

Figura 16- Resultado do teste confirmatório para diidroflavonois (Ensaio de Pacheco). A) EEf; B) EEC; C) EEFL.

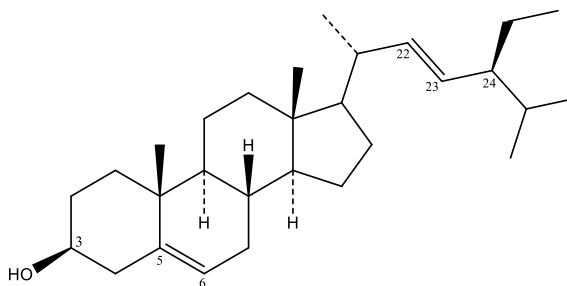


Fonte: Acervo pessoal, (2022).

5.4.5 Esteroides Livres

Esteroides são triterpenoides modificados, que possuem um sistema tetracíclico de lanosterol. O colesterol é um representante fundamental para essa classe de metabólitos secundários (DEWICK, 2009). A Figura 17 representa a fórmula estrutural de um esteroide bastante comum nos vegetais, o estigmasterol, caracteristicamente, derivado de lanosterol, com hidroxila na posição 3 β , ligação dupla entre C-5 e C-6 e uma segunda ligação dupla com configuração *trans* entre C-22 e C-23.

Figura 17- Fórmula estrutural do esteroide estigmasterol

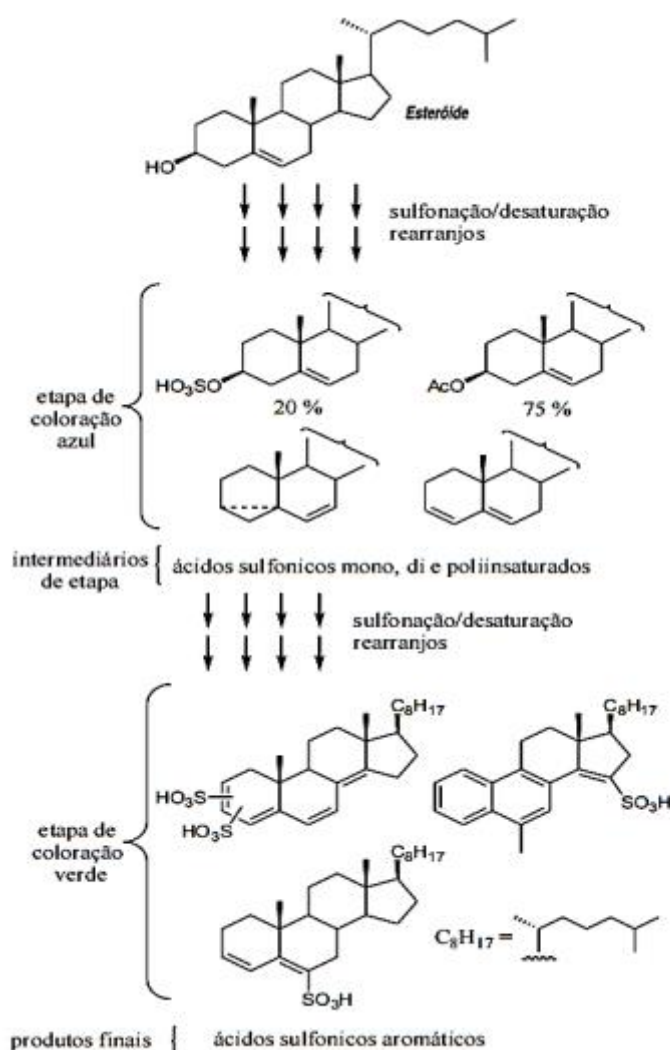


Fonte: Adaptado de Dewick (2009).

O teste (4.3.3.8) para a identificação de esteroides livres, também conhecido como Lieberman-Burchard. Onde a transição da coloração de azul para verde permanente após os extratos serem acidificados, indica a presença de esteroides livres.

A reação de Liebermann-Burchard consiste no tratamento da amostra com anidrido acético em presença de ácido acético e algumas gotas de ácido sulfúrico. Assim, ocorre a desidratação seguida de desidrogenação do sistema de anéis do ciclopentanoperidrofenantreno dando formação a um esteróide aromático que é evidenciado pelo aparecimento de uma coloração azul esverdeada (Xiong et al., 2007; FERREIRA, 2016). A Figura 18 mostra o mecanismo da reação que ocorre no presente teste.

Figura 18- Mecanismo da reação de Liebermann- Burchard

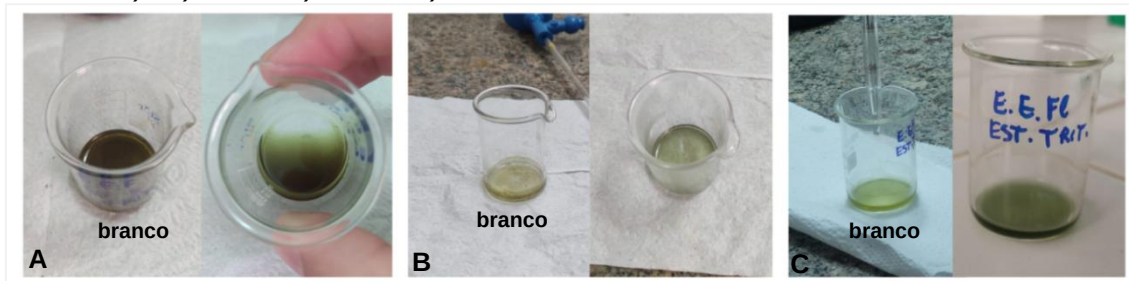


Fonte: XIONG; WILSON; PANG, 2007

Em plantas, os esteroides são encontrados na composição química das membranas, compreendendo os chamados fitoesteroides, equivalente ao colesterol nos mamíferos. Os fitoesteroides são geralmente relacionados à ação hipocolesterolêmica, no entanto esta classe também apresenta atividades antiaterogênica, anti-inflamatória, anticonceptiva e antidiabética. (CASTRO,

2018, FUJIWARA, 2012). A representação da transição de coloração como proposta na metodologia é apresentada na figura 19 .

Figura 19- Resultado do teste confirmatório para esteroides livres (Lieberman-Burchard). A) EEF; B) EEC; C) EEFL.

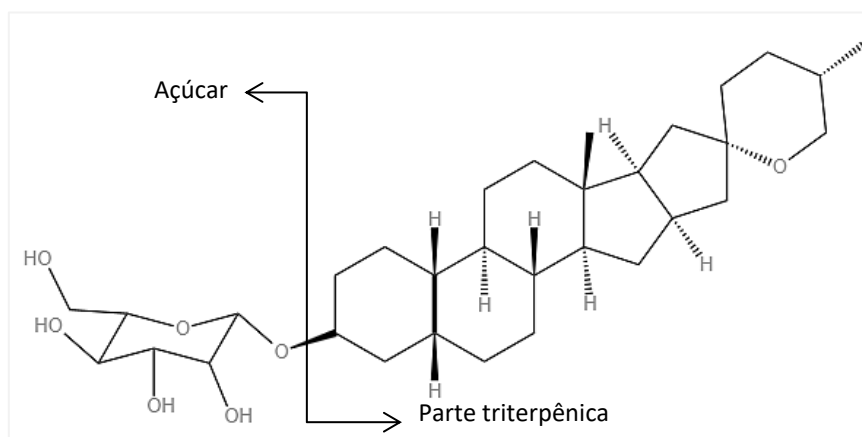


Fonte: Acervo pessoal, (2022)

5.4.6 Heterosídeos saponínicos

Saponinas são glicosídeos de esteroides ou de terpenos policíclicos, e apresentam caráter anfifílico capazes de apresentar ação detergente e emulsificante (FIGURA 20). Em plantas, estão relacionadas aos sistemas de defesa, atuando nos tecidos de maior vulnerabilidade a ataques fúngicos, bacterianos e predatórios de insetos. Tais atividades estão relacionadas a sua interação com esteróis de membrana, assim sendo indicadas como fitoprotetoras (CASTEJON, 2011; FERNANDES et. al., 2019).

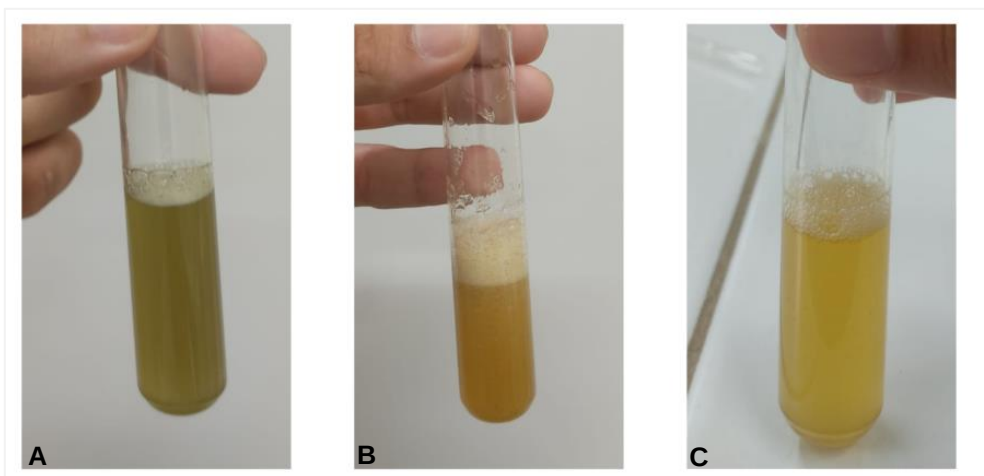
Figura 20- Fórmula estrutural de uma saponina triterpênica



Fonte: Adaptado de Silva (2018).

No teste para heterosídeos saponínicos, foi possível observar a formação de espuma em EEC, EEF e EEFL (FIGURA 21, página 45), esse efeito espumante evidencia a presença de heterosídeos saponínicos.

Figura 21- Resultado do teste para heterosídeos saponínicos. A) EEF; B) EEC; C) EEFL



Fonte: Acervo pessoal, (2022).

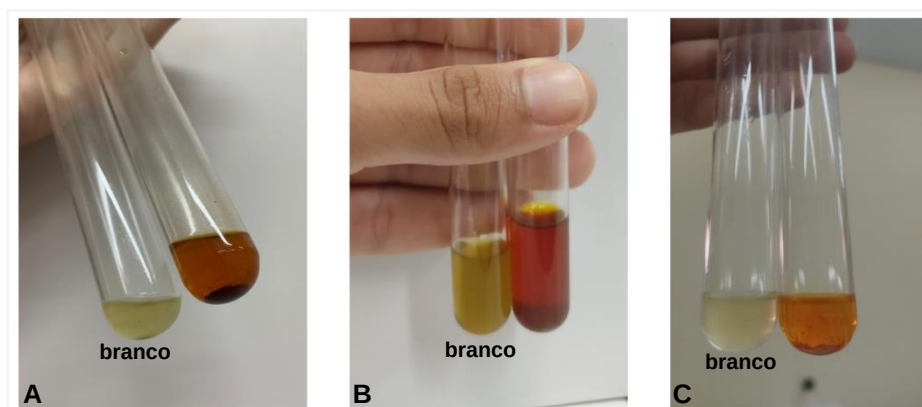
Simões et. al., (2007) e Ribeiro (2012) citam que o efeito espumante é decorrente da estrutura das saponinas, que possuem característica lipofílica (triterpenos e esteroides) e outra parte hidrofílica (açúcares), o que possibilita o caráter anfifílico, permitindo que essa classe de metabólitos secundários reduza a tensão superficial da água.

5.4.7 Alcaloides

Como já mencionado no item 2.3.2 deste trabalho, alcaloides são compostos cíclicos com no mínimo um nitrogênio na cadeia (FIGURA 4, pág. 23). Apresentam sabor amargo e quase todos apresentam caráter alcalino. Em plantas, agem contra a proteção de insetos, fungos e bactérias. No organismo humano, por sua interação com neurotransmissores, podem atuar como depressores ou estimulantes do sistema nervoso central (VIZZOTO; KROLOW; WEBER, 2010; DEWICK, 2009; BARRETO, 2018).

No ensaio para a verificação destes compostos (4.3.3.11), utilizando o reagente de Dragendorff, pode-se observar teste positivo para EEF, EEC e EEFL com a formação de um precipitado de cor escura, assim como proposto na metodologia de Matos (2009) e observado na Figura 22 (página 46).

Figura 22- Identificação de alcaloides. A)EEF B)EEC C) EEFL

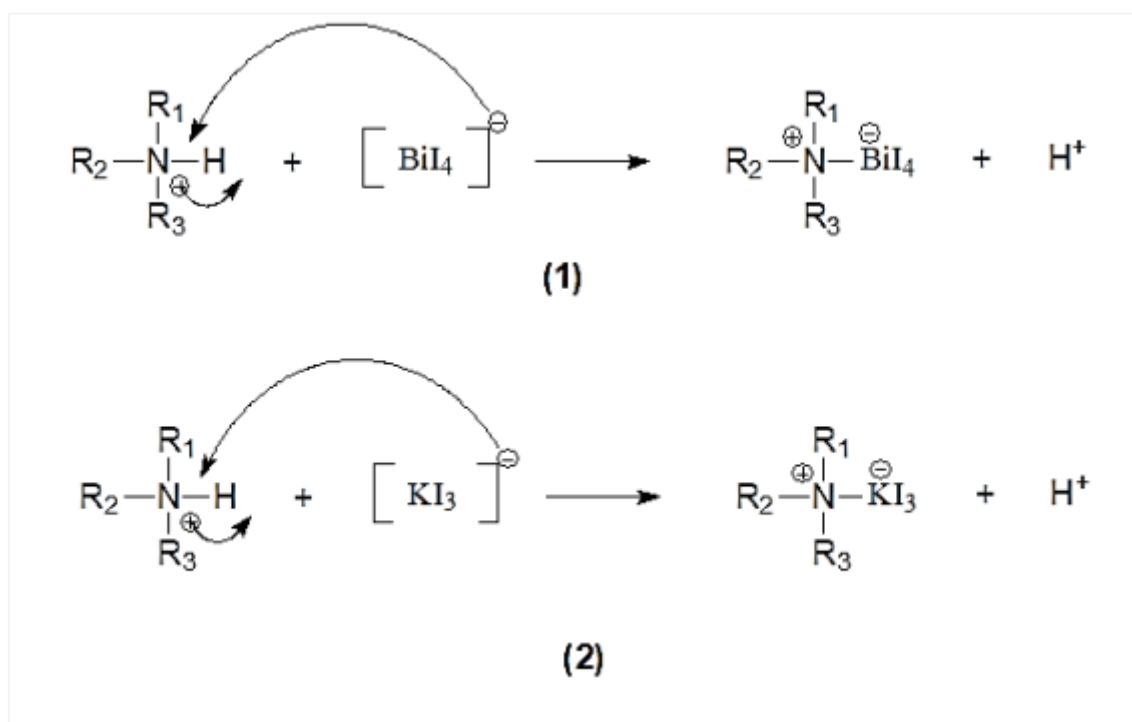


Fonte: Acervo pessoal, (2022)

Ferreira (2016) aborda que em condições ácidas, as aminas terciárias que estão presentes nos alcaloides encontram-se protonadas e a adição do reagente de Dragendorff acarreta na formação de um precipitado corado, entre $[\text{BiI}_4]^-$ (iodeto de bismuto) e o radical amina $[\text{HNR}_3]^+$ (FIGURA 23). Uma reação bastante semelhante ocorre com o reagente de Wagner a partir do tri-iodeto de potássio (KI_3).

Figura 23- Reação de precipitação de alcaloides com os reagentes: (1) Dragendorff; (2) Wagner.

4

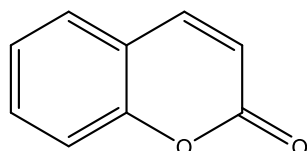


Fonte: Adaptado de Souza e Silva (2019).

5.4.8 Cumarinas

As cumarinas são heterociclos orgânicos amplamente estudados e caracterizados como 1,2 benzopirona. Estruturalmente, consistem em um anel pirano fundido a benzeno com a carbonila da pirona na posição 2 (Figura 24) e são também denominadas como 2H-cromen-2-onas (KOSTOVA, 2006).

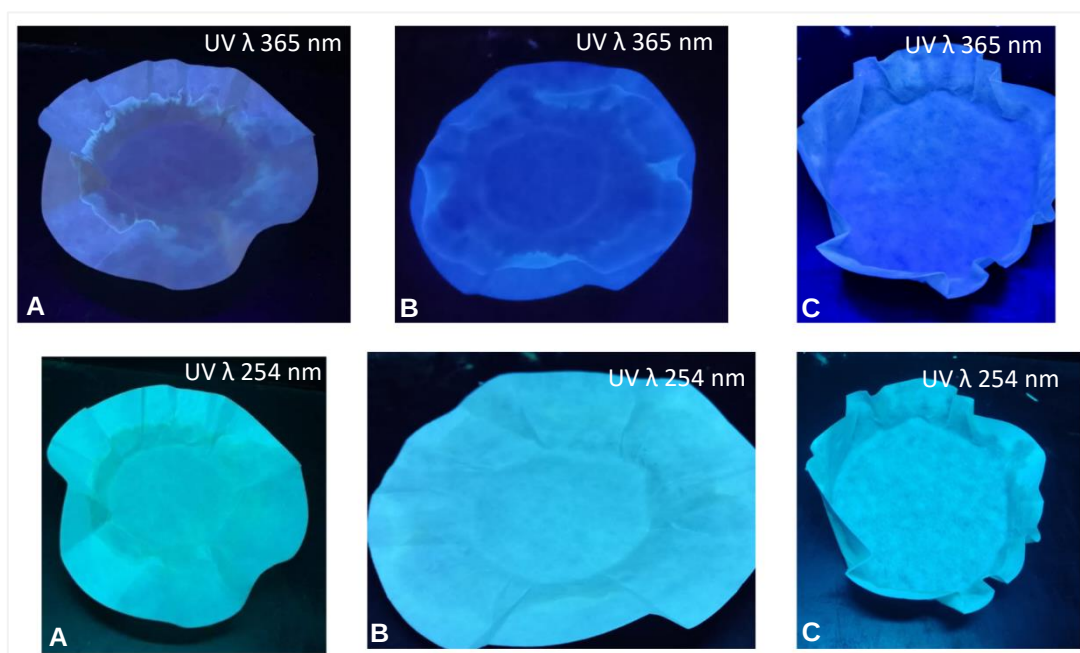
Figura 24- Fórmula estrutural básica de cumarinas



Fonte: Adaptado de KOSTOVA (2006).

No teste para identificação de cumarinas (4.3.3.11), foi possível observar teste positivo para todos os extratos EEF, EEC e EEFL. O aparecimento de manchas verdes- fluorescentes em 254 e 365nm indicam a presença dessa classe (FIGURA 25).

Figura 25- Evidência de cumarinas a partir da fluorescência verde em UV λ 254 nm e λ 365 nm. A) EEF; B) EEC; C) EEFL

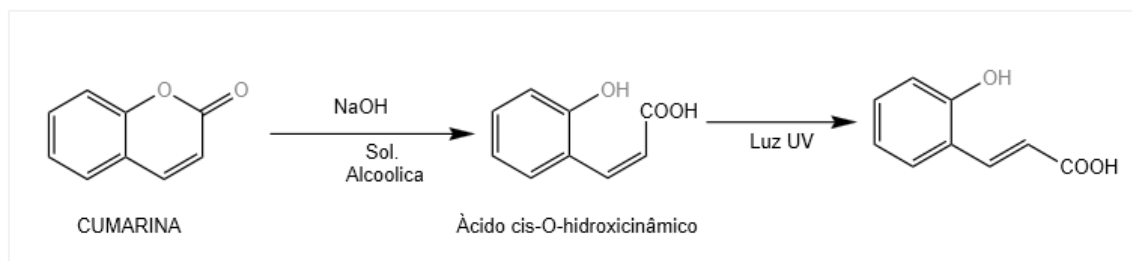


Fonte: Acervo pessoal, (2022)

A fluorescência observada é decorrente da abertura do anel lactônico em meio básico, formando o ácido *cis*-O-hidroxicinâmico, este por sua vez, quando exposto a radiação UV dá origem ao seu isoômero *trans* que apresenta

fluorescência (SOUSA, 2019; KUSTER, ROCHA 2007). A reação a seguir, permitiu a visualização das cumarinas em λ 254 e 365nm (FIGURA 26).

Figura 26- Reação de formação e isomerização do ácido *cis*-O-hidroxicinâmico



Fonte: Adaptado de Sousa (2019)

As cumarinas, são uma classe de metabólitos secundários que são frequentemente relacionadas a diversas atividades biológicas, como atividade antimicrobiana, anti-inflamatória, antiviral, antiespasmódica, anticoagulante, broncodilatadora, antioxidante e antitumoral (COUTINHO; GONÇALVES; MARCUCI, 2020).

Os resultados citados acima corroboram com alguns estudos presentes na literatura quando estudados sobre o Gênero da espécie, diante disso vale ressaltar a presença de metabólitos secundários como leucoantocianidinas, cumarinas, diidroflavonois e esteroides livres em abundancia e presente em todos os extratos da espécie. Este é o primeiro estudo do perfil fitoquímico de *Crotalaria pallida* Aiton na região nordeste, o que contribui para as pesquisas quimiotaxonômicas da espécie.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com relação ao rendimento das extrações, o EEF (Extrato Etanólico das Folhas) apresentou o maior rendimento (52,54%), seguido do EEC (Extrato Etanólico dos Caules) com rendimento de 9,86% e EEFL (extrato etanólico para as flores) com rendimento de 4,75%.

A análise por CCD dos extratos EEF e EEC sugeriu a presença de flavonoides e cumarinas. Os testes fitoquímicos indicaram a presença de leucoantocinidinas, diidroflavonois, heterosídeos saponínicos, cumarinas e esteroides livres no EEF, EEC e EEFL. As flavonas foram identificadas somente no EEC e os triterpenos pentacíclicos, somente no EEF. Os taninos flobatênicos foram evidenciados tanto no EEF quanto no EEC, já os alcaloides foram identificados tanto no EEF quanto no EEFL.

Portanto, este trabalho contribui para o enriquecimento dos estudos quimiotaxonômicos de *C. pallida* e, sobretudo, sugere a investigação do potencial farmacológico da espécie em questão, que pode ser atribuído a presença de metabólitos secundários bioativos como os identificados qualitativamente neste trabalho.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, Mara Zélia de. Plantas medicinais / Mara Zélia de Almeida. - 3. ed. - Salvador: EDUFBA, p. 221, 2011.

ALMEIDA, D. F. L. S. **Estudo das vias metabólicas das Plantas na Síntese de Pigmentos Naturais**. Projeto de pós graduação (mestrado em ciências farmacêuticas), Universidade Fernando Pessoa Faculdade de Ciências da Saúde – Porto. 2017.

AHMED, B.; AL-HOWIRINY, T.A. & MOSSA, J.S. 2006a. Crostateroiridocin: a new steroidal steroid from *Crotalaria emarginella* and its anti-inflammatory activity. **Zeitschrift fur Naturforschung**, 61(b): 629-635.

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

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. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S010040422017000600706&script=sci_abstract&lng=pt. Acesso em: 15 de fevereiro de 2021.

BENTHAM, G. Leguminosae: Papilionaceae. In: MARTIUS, C.F.P.; ENDLICHER, A.C. & URBAN, J. (Eds.). **Flora Brasiliensis**. Munique, v. 15, pt. 1, p. 17-32, 1859.

BFG - The Brazil Flora Group. Growing knowledge: an overview of Seed Plant diversity in Brazil. **Rodriguésia**, v.66, n.4, p.1085-1113. 2015.

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. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643895800085>. Acesso em: 09 de jun. 2022.

BOGHOSSIAN, M.R.; PEIXOTO, P.V.; BRITO, M.F. & TOKARNIA, C.H. 2007. Aspectos clínico-patológicos da intoxicação experimental pelas sementes de *Crotalaria mucronata* (Fabaceae) em bovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 27(4): 149-156.

BOGHOSSIAN, MR; PEIXOTO, PV; BRITO, MF; TOKARNIA, CH. Aspectos clinicopatológicos da intoxicação experimental pelas sementes de *Crotalaria mucronata* (Fabaceae) em bovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira** v.27, n.4, p.149-156, 2007..

BURKART, A. Las leguminosas argentinas: silvestres y cultivadas. 2. ed. Buenos Aires: **Acme Agency**, p. 579, 1952.

CAPARICA, C. Otto Gottlieb impulsionou a química de produtos naturais. **Ciência e Cultura**, v. 64, n. 1, p. 10-11, jan. 2012. Disponível em:

http://cienciaecultura.bvs.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S000967252012000100005. Acesso em: 08 de julho de 2021.

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

DOYLE, J. J.; LUCKOW, M. A. The rest of the iceberg. Legume diversity and evolution in a phylogenetic context. **Plant Physiology**, v. 131, n. 3, p. 900-910, 2003.

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

DINIZ, T, F. **Mecanismos da atividade vasodilatadora de xantonas**. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas Fisiologia e Farmacologia), Universidade Federal de Minas Gerais- Belo Horizonte, 2014.

FELIPE, R.T.A.; OLIVEIRA, J.A. de & LEÃO, G.A. 2009. Potencial de Cajanus cajan e Crotalaria spectabilis para fitorremediação: absorção de arsênio e respostas antioxidativas. **Revista Árvore**, 33(2): 245-254.

FILHO, R. B. Contribuição da Fitoquímica Para o Desenvolvimento de um País Emergente. **Química Nova**, v. 33, n. 1, 2010. Disponível em: . doi: 10.1590/S0100- 40422010000100040.

FLORES, A.S. Taxonomia, números cromossômicos e química de espécies de Crotalaria L. (Leguminosae-Papilionoideae) no Brasil. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) - **Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas**, Campinas, 2004.

FLORES, A.S. 2010. Crotalaria in Lista de Espécies da Flora do Brasil. **Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2010/FB022903>>. Acesso em: 09 de julho de 2021.

FLORES, A.S.; TOZZI, A.M.G.A.; TRIGO, J.R. Pyrrolizidine alkaloid profiles in Crotalaria species from Brazil: Chemotaxonomic significance. **Biochemical Systematics and Ecology**, v.37, p.459-469, 2009.

FLORES, A.S. & MIOTTO, S.T.S. 2005. Aspectos fitogeográficos das espécies de Crotalaria L. (Leguminosae – Faboideae) na região Sul do Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, 19(2): 245-249.

GARCIA, J. M.; KAWAKITA, K.; MIOTTO, S. T. S.; SOUZA, M. C. O gênero Crotalaria L. (Leguminosae, Faboideae, Crotalarieae) na Planície de Inundação do Alto Rio Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**. 11(2): 209-226. 2013

GARRIDO, M. da S.; SOARES, A.C.F.; COIMBRA, J.L. & SOUSA, C da S. 2008. Manejo da crotalária e do guandu no controle de nematoses do inhame. **Summa Phytopathologica**, 34(3): 222-227.

Gerson, Elizabeth A.; Kelsey, Rick G. Foliar Storage and Extraction Methods for Quantitative Analysis of Piperidine Alkaloids from Ponderosa Pine (*Pinus ponderosa*), 1999.

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

GIL, A. **Como elaborar um projeto de pesquisa**. 6. ed. São Paulo: Atlas, 2008.

HEYWOOD, W. H. The Leguminosae, a systematic purview, 1-29. In: HARBORNE, J. B.; BOULTER, D; TURNER, B.L. Chemotaxonomy of the leguminosae. Academic Inc. New York, 1971

ISAH, T. Stress and defense responses in plant secundar metabolites production. **Biological Reserach**, v.52, n.39, p. 25, 2019, Disponível em: <https://biolres.biomedcentral.com/track/pdf/10.1186/s40659-019-0246-3.pdf>: Acesso em: 06 de jun. de 2022.

JÉSSICA MAGON GARCIA; KAZUE KAWAKITA; CONCEIÇÃO, Maria; et al. O gênero *Crotalaria* L. (Leguminosae, Faboideae, Crotalarieae) na Planície de Inundação do Alto Rio Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 11, n. 2, 2013. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/seerbio/ojs/index.php/rbb/article/view/2361>>. Acesso em: 10 de julho de 2021.

LAWRENCE, G.H.M. Taxonomy ot vascular plants. New York: [s.n.], p. 210, 1956

LEWIS, G.P.; SCHRIRE, B.; MACHINDER, B. & LOCK, M. Legumes of the world. **Kew: Royal Botanic Gardens**. v.14, p.577, 2005.

LIMA, H. C. **Leguminosas Arbóreas da Mata Atlântica**: Uma análise da riqueza, padrões de distribuição geográfica e similaridades florísticas em remanescentes florestais do estado do Rio de Janeiro. Tese (Doutorado em Ecologia) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, p. 156, 2000.

LORENZI, H. 2008. Plantas daninhas do Brasil: terrestres, aquáticas, parasitas e tóxicas. 4. ed. São Paulo: **Instituto Plantarum**. p. 327-330.

LÓPEZ, C. A. A. Considerações gerais sobre plantas medicinais. **Ambiente: Gestão e Desenvolvimento**, v.1, n.1, p.19-27, 2006.

LPWG (The Legume Phylogeny Working Group) 2017. A new subfamily classification of the Leguminosae based on a taxonomically comprehensive phylogeny. *Taxon* 66: 44-77.

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

Marcucci, M C (1995) Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. **Apidologie** 26(2): 83-99.

McLAUGHLIN, J. L. **In Methods in Plant Biochemistry**. London: Hostettmann K., Academic Press, 1991, p. 1-32.

MEDA, A.R. & FURLANI, P.R. Tolerance to aluminum toxicity by tropical leguminous plants used as cover crops. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, 48(2): 309-317, 2005.

MORRIS, J.B. Special-purpose legume genetic resources conserved for agricultural, industrial, and pharmaceutical use. **Economic Botany**, 51(3): 251-263, 1997.

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

MOREIRA, R.D.F.; RODRIGUES, E.S.R.; REZENDE, A.A.B.; RODRIGUES, V.E.G. Ocorrência de plantas medicinais e tóxicas em residências de escolares e seu impacto sobre a saúde. **Amazônia: Science & Health**, v. 2, n. 2, p. 35-43, 2014.

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

NARENDER, T.; SHWETA; TANVIR, K.; RAO, M.S.; SRIVASTAVA, K. & PURI, S.K. Prenylated chalcones isolated from *Crotalaria* genus inhibits in vitro growth of the human malaria parasite *Plasmodium falciparum*. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, 15(10): 2453- 2455, 2005.

Newman, D. J.; Cragg, G. M.; *J. Nat. Prod.* 2016, 79, 629.

OLIVEIRA-FILHO, A. T.; VILELAS, E. A.; GAVILANES, M.L.; CARVALHO, D. A. Comparison of the flora and soils of six areas of Montane Semideciduous Forest in southern Minas Gerais, Brazil. **Endinburgh Journal of Botany**. v. 51, n. 3, p. 355-389, 1994.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS).Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2002-2005. Genebra, Suíça, 2002. 65p

OOTANI, M. A.; AGUIAR, R.W.; RAMOS, A. C. C.; BRITO, D. R.; SILVA, J. B.; CAJAZEIRA, J. P. Use of Essential Oils in Agriculture. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 4, n. 2, p. 162-174, 2013. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/296484575_Use_of_Essential_Oils_in_Agriculture> .

Ribeiro, J. F. Cerrado: Matas de galeria. Embrapa-CPAC, Planaltina, p. 164, 1998.

ROCHA, L.G. de; ARAGÃO, C.F.S.; LOIOLA, M.I.B.; BEZERRIL, R.A.; PAIVA, N.R.F.; HOLANDA, C.M.C.X. de & BRITO, M.E.F. de. 2009. Evaluation of the leishmanicide action of ethanol extracts of *Crotalaria retusa* L. (Fabaceae). **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, 19(1A): 51-56.

Polhill, R.M. Dalbergieae Bronn ex DC. In: R.M. Polhill & P.H. Raven (eds.). *Advances in legume systematics*. v. 1. **Royal Botanic Gardens**, Kew, 1981.

POLHILL, R.M. *Crotalaria* in Africa and Madagascar. Kew: **Royal Botanic Gardens**, 1982.

QUEIROZ, R. **Fabaceae - *Crotalaria pallida* Aiton**. Disponível em: <<http://rubens-plantasdobrasil.blogspot.com/2012/07/fabaceae-crotalaria-pallida-aiton.html>>. Acesso em: 01 de jul. 2022.

SALCEDO, I.H. & SILVEIRA, L.M. da. Adubação orgânica da batata com esterco e, ou, *Crotalaria juncea*. I – Produtividade vegetal e estoque de nutrientes no solo em longo prazo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 31(1): 39-49, 2007.

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

SILVA, T. O. da; MENEZES, R.S.C.; TIESSEN, H.; SAMPAIO, E.V. de S.B.;

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

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

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

SIMÕES, C. M. O. et. al. (Orgs.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6. ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS; Editora da UFSC, 2007.

SOUZA, Alícia Ludymilla Cardoso de. Análise fitoquímica e atividades farmacológicas da espécie *Vachellia farnesiana* (L.) Wight & Arn. [sin. *Acacia farnesiana* (L.) Willd.]. Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Química) - Instituto Federal do Piauí - *Campus Parnaíba*. p. 57, 2019.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. *Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG II*. 2. ed. Nova Odessa, SP: **Instituto Plantarum**, p. 704, 2008.

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

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

WEBERLING, F.; SCHWANTES, H. O Taxonomia vegetal. São Paulo: **Editora Pedagógica e Universitária**, p. 314, 1986.

VARGAS, A.D., SOTO, H.M., GONZÁLEZ, H.V.A., ENGLEMAN, E. M., MARTÍNEZ, G.Á. Variación del contenido de flavonoides en hojas de guayaba en condiciones de estrés. 2005.

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. Disponível em:
<<https://www.scielo.br/j/qn/a/gQqYVTzykDtcSVtKvYDxWTP/?format=pdf&lang=pt>> Acesso em: 04 de jul de 2022.

VIZZOTO, M.; KROLOW, A. C. R.; WEBER, G. E. B. **Metabólitos secundários encontrados em plantas e sua importância**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2010. Disponível em:
<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/886074>. Acesso em: 08 de jun de 2022.