



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

**KAMILA LIMA DE MACEDO**

**ESTUDO FITOQUÍMICO E TOXICOLÓGICO DA ESPÉCIE *Eleutherine bulbosa*  
(Miller) Urb.**

**PARNAÍBA  
2022**

KAMILA LIMA DE MACEDO

ESTUDO FITOQUÍMICO E TOXICOLÓGICO DA ESPÉCIE *Eleutherine bulbosa*  
(Miller) Urb.

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: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Buana Carvalho de Almeida

PARNAÍBA  
2022

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

---

Macedo , Kamila Lima de  
M141e      Estudo fitoquímico e toxicológico da espécie Eleutherine bulbosa (Miller)  
Urb. / Kamila Lima de Macedo . - 2022.  
91 f.: il. color.  
Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Química) - Instituto  
Federal do Piauí, Campus Parnaíba, 2022.  
Orientadora : Profa. Dra. Buana Carvalho de Almeida .  
1. Química . 2. Análise fitoquímica . 3. Toxicidade. 4. Eleutherine bulbosa  
(Espécie). I.Título.

CDD - 540

---

**Elaborado por Micheline Angélica Aragão Gouveia CRB 3/1244**

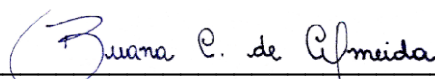
KAMILA LIMA DE MACEDO

ESTUDO FITOQUÍMICO E TOXICOLÓGICO DA ESPÉCIE *Eleutherine bulbosa*  
(Miller) Urb.

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: 11 / 02 / 2022 .

BANCA EXAMINADORA



Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Buana Carvalho de Almeida  
(Orientadora)

Instituto Federal do Piauí (IFPI) – *Campus Parnaíba*



Prof. Dr. Bartholomeu Araújo Barros Filho  
Instituto Federal do Piauí (IFPI) – *Campus Parnaíba*

Gizelle Angela Barroso  
Vieira:91652359320

Assinado de forma digital por Gizelle  
Angela Barroso Vieira:91652359320  
Dados: 2022.02.22 06:59:52 -03'00'

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Gizelle Angela Barroso Vieira  
Instituto Federal do Sertão Pernambucano

À Deus, pais, amigos, familiares e professores que contribuíram com apoio e incentivo ao longo dessa jornada.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Jeová Deus, por mais esta conquista, pela presença de pessoas admiráveis, em minha vida, que contribuíram para realização desse trabalho e pela força dada diante de desafios, pois sem ele nada seria possível.

Aos meus amados pais Lenilda Lima da Silva e Antônio Pereira de Macedo, ao meu padrasto Luiz Fernando da Silva, que sempre foi um segundo pai, e aos meus irmãos Kaio, Ilka Fernanda, Luiz Júnior e Íris Fernanda, por todo amor, incentivo, confiança e compreensão, que sempre contribuíram para continuar acreditando e realizando meus sonhos e objetivos.

Agradeço também a minha cunhada Conceição Memória, ao meu primo Clemer e a Dona Socorro por serem pessoas maravilhosas que com palavras e atitudes sempre me apoiaram e me incentivaram a persistir nos estudos.

À minha mãe científica Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Buana Carvalho de Almeida, pela orientação, amizade, oportunidade, incentivo e pelos conhecimentos transmitidos que sinceramente não se tem nem como mensurar.

Ao Prof. Dr. Bartholomeu Araújo Barros Filho, pelas contribuições, incentivo, disponibilidade, paciência e conhecimentos transmitidos.

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ana Maria Athayde Uchôa Thomaz, pelas orientações desde os Projetos Integradores até as aulas de TCC, conhecimentos estes que foram de suma importância para construção deste trabalho.

Ao Laboratório de Produtos Naturais da Universidade Federal do Piauí – *Campus* Teresina pela realização da atividade antioxidante.

À técnica do laboratório (IFPI- *Campus* Parnaíba) Isabel Pereira, pela sua disponibilidade em ajudar, pelas conversas e companhia durante o uso do laboratório.

A todos os professores do Curso de Licenciatura em Química do IFPI- *Campus* Parnaíba pelos conhecimentos transmitidos.

A todos os funcionários do IFPI- *Campus* Parnaíba, por todo apoio e por juntos tornarem este lugar um ambiente propício para o meu desenvolvimento profissional. Em especial quero agradecer ao Maykon, Tia Marli, Tia Lu e Adriana, pelo apoio, por sempre estarem de prontidão a ajudar e pelas conversas.

Aos meus conterrâneos de IFPI: Wellington Aguiar, Luana Crys, Cecília Sávia, Warley Braz, Mateus Galeno, Yasmin Priscilla, Leonardo Veras, Marcelo, Márcio

André, Antônio Ivany, Natália Araújo, Fernando (Kenay), Ana Luiza, Ingrid Cabral, Winklei Brandão, Diego Carvalho e Luciano Teófilo, por tornarem essa caminha mais alegre, pela amizade, carinho, ótima convivência, ajuda valiosa no dia a dia e momentos de descontração. Em especial quero agradecer aos meus queridos amigos, Wellington Aguiar, Luana Crys e Cecília Sávia, que juntos integramos o amado "quarteto", pelo companheirismo, conhecimentos compartilhados, amizade, comida (que não pode faltar) e carinho.

Aos meus companheiros de laboratório: Wellington, Ivany, Alicia, Cecília e Rafael, pela amizade, convivência, companhia, pelos momentos de descontração, pelo companheirismo e prontidão a ajudar (seja a noite, no fim de semana, férias e feriados kkk)

Enfim, agradeço a todos aqueles que de alguma maneira, direta ou indiretamente contribuíram para realização deste trabalho e estiveram comigo ao longo dessa trajetória. Muito obrigada!

“Suba o primeiro degrau com fé. Não é necessário que  
você veja toda a escada, apenas dê o primeiro passo.”

(Martin Luther King)

## RESUMO

A espécie *Eleutherine bulbosa* (Miller) Urb. é uma planta pertencente à família Iridaceae, conhecida popularmente como palmeirinha e marupazinho, utilizada tradicionalmente como planta medicinal. Sua distribuição e cultivo é amplo, sendo endêmica da América do Sul, podendo ser encontrada em países tropicais como Bolívia, Peru e Brasil, porém devido às suas propriedades terapêuticas a *E. bulbosa* tomou proporções mundiais. Este trabalho relata os constituintes químicos identificados na análise fitoquímica do extrato etanólico dos bulbos (EEB) e das palhas (EEP) da espécie *Eleutherine bulbosa*, coletada na microrregião do Baixo Parnaíba no Piauí, bem como a avaliação das atividades antioxidante, teor de flavonoides totais e o ensaio de toxicidade frente à *Artemia salina*. Analisando o perfil cromatográfico (CCD) dos extratos etanólicos de *E. bulbosa* foi possível identificar, no EEB, a presença de substâncias de natureza fenólica, especialmente flavonoides, derivados do antraceno e cumarinas, já os compostos terpênicos foram identificados em ambos os extratos (EEP e EEB). Os testes fitoquímicos, realizados com EEP e EEB, indicaram a presença de taninos condensados, leucoantocianidinas, flavanonas, quinonas, cumarinas, heterosídeos saponínicos e alcaloides. As chalconas, auronas e os triterpenos pentacíclicos foram identificados apenas no EEB, enquanto que, os esteroides livres foram detectados no EEP. Na avaliação da atividade antioxidante pelo método com DPPH, o EEP de *E. bulbosa* apresentou fraca atividade antioxidante (20,95%) na maior concentração testada (250  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ). Quanto ao teor de flavonoides totais, observou-se que o EEP apresentou um valor (118,30  $\pm$  1,01 mg ER/g EtOH) superior ao do teor obtido para o EEB (51,83  $\pm$  0,34 mg ER/g EtOH). Tanto EEP ( $\text{DL}_{50}$  = 803,52  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ) quanto o EEB ( $\text{DL}_{50}$  704,85  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ) apresentaram fraca toxicidade frente à *Artemia salina*, podendo ser, então, considerados seguros nas concentrações testadas. Este é o primeiro relato do perfil fitoquímico e toxicológico do EEP e EEB de *E. bulbosa* encontrada na região nordeste do Brasil, o que contribui para o enriquecimento dos estudos químico-toxicológicos da espécie, além da valorização da biodiversidade local.

**Palavras-chave:** *Eleutherine bulbosa*. Metabólitos secundários. Quinonas. Fitoquímica. Antioxidante. Flavonoides totais. Toxicidade.

## ABSTRACT

The species *Eleutherine bulbosa* (Miller) Urb. is a plant belonging to the Iridaceae family, popularly known as palmeirinha and marupazinho, traditionally used as a medicinal plant. Its distribution and cultivation is wide, being endemic to South America. It can be found in tropical countries such as Bolivia, Peru and Brazil, but due to its therapeutic properties, *E. bulbosa* has taken on worldwide proportions. This work reports the chemical constituents identified in the phytochemical analysis of the ethanol extract of bulbs (EEB) and straws (EEP) of the species *Eleutherine bulbosa*, collected in the micro-region of Baixo Parnaíba in Piauí, as well as the evaluation of the antioxidant activities, the content of total flavonoids and the toxicity test against *Artemia salina*. Analyzing the chromatographic profile (CCD) of the ethanolic extracts of *E. bulbosa*, it was possible to identify, in the EEB, the presence of substance of a phenolic nature, especially flavonoids, anthracene derivatives and coumarins, whereas terpene compounds were identified in both extracts (EEP and EEB). The phytochemical tests, carried out with EEP and EEB, indicated the presence of condensed tannins, leucoanthocyanidins, flavanones, quinones, coumarins, saponin heterosides and alkaloids. Chalcones, aurones and pentacyclic triterpenes were identified only in EEB, while free steroids were detected in EEP. In the evaluation of the antioxidant activity by the DPPH method, the EEP of *E. bulbosa* showed weak antioxidant activity (20.95%) at the highest concentration tested (250  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ). As for the total flavonoid content, it was observed that the EEP presented a value ( $118.30 \pm 1.01 \text{ mg ER/g EtOH}$ ) higher than the content obtained for the EEB ( $51.83 \pm 0.34 \text{ mg ER/g EtOH}$ ). Both EEP ( $\text{LD}_{50} = 803.52 \text{ } \mu\text{g.mL}^{-1}$ ) and EEB ( $\text{LD}_{50} = 704.85 \text{ } \mu\text{g.mL}^{-1}$ ) showed weak toxicity against *Artemia salina*, and can therefore be considered safe at the concentrations tested. This is the first report of the phytochemical and pharmacological profile of the EEP and EEB of *E. bulbosa* found in the northeast region of Brazil, which contributes to the enrichment of chemical-toxicological studies of the species, in addition to the appreciation of local biodiversity.

**Keywords:** *Eleutherine bulbosa*. Secondary metabolites. Quinones. Phytochemistry. Antioxidant. Total flavonoids. Toxicity.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

|                                                                                                                                                                                                              |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 1</b> - Exemplos das diferentes classes de alcaloides. ....                                                                                                                                        | 23 |
| <b>Figura 2</b> - Esqueleto básico das principais classes de compostos quinolínicos. Em (A) benzoquinona; (B) naftoquinona; (C) antraquinona.....                                                            | 26 |
| <b>Figura 3</b> - Espécie <i>Eleutherine bulbosa</i> (Miller) Urb. ....                                                                                                                                      | 28 |
| <b>Figura 4</b> - Substâncias isoladas e/ou identificadas dos bulbos da espécie <i>E. bulbosa</i> .....                                                                                                      | 38 |
| <b>Figura 5</b> - Local de coleta da espécie via satélite. ....                                                                                                                                              | 53 |
| <b>Figura 6</b> - Perfil cromatográfico, em Hex/AcOET (8:2), do EEP e EEB. (A) Após a eluição; (B) Após revelação física (UV 365 nm); (C) Após revelação química em Ce(SO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> . .... | 55 |
| <b>Figura 7</b> - Fórmula estrutural de um tanino hidrolisável e de um tanino condensado. ....                                                                                                               | 58 |
| <b>Figura 8</b> - Resultado qualitativo obtido no teste para fenóis e taninos. A coloração verde pode ser observada em ambos os extratos. Em (A) EEP e (B) EEB. ....                                         | 58 |
| <b>Figura 9</b> - Proposta de reação de complexação do ferro na caracterização de um tanino condensado (complexo ferro-polifenol).....                                                                       | 59 |
| <b>Figura 10</b> - Fórmula estrutural básica dos flavonoides e algumas das principais classes. ....                                                                                                          | 60 |
| <b>Figura 11</b> - Resultado colorimétrico obtido no teste para antocianinas, antocianidinas e flavonoides. Em (A) EEB em pH 11; (B) EEB em pH 3. ....                                                       | 61 |
| <b>Figura 12</b> - Isomerização da chalcona originando a flavanona.....                                                                                                                                      | 61 |
| <b>Figura 13</b> - Resultado colorimétrico obtido no teste para leucoantocianidinas, catequinas e flavanonas. Em (A) EEP; (B) EEB.....                                                                       | 62 |
| <b>Figura 14</b> - Fórmula estrutural básica das leucoantocianidinas.....                                                                                                                                    | 63 |
| <b>Figura 15</b> - Resultado do teste confirmatório para leucoantocianidinas. Em (A) EEP; (B) EEB. ....                                                                                                      | 64 |
| <b>Figura 16</b> - Reação de conversão de leucoantocianidina para antocianidina.....                                                                                                                         | 64 |
| <b>Figura 17</b> - Fórmula estrutural básica dos diidroflavonois .....                                                                                                                                       | 65 |
| <b>Figura 18</b> - Resultado do teste confirmatório para diidroflavonois. Em (A) EEP; (B) EEB.....                                                                                                           | 65 |
| <b>Figura 19</b> - Fórmula estrutural do esteroide estigmasterol e do triterpeno lupeol.....                                                                                                                 | 66 |

|                                                                                                                                                                               |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 20</b> - Resultado colorimétrico obtido no teste para esteroides livres e triterpenos pentacíclicos (Lieberman- Burchard). Em (A) EEP; (B) EEB.....                 | 67 |
| <b>Figura 21</b> - Reação de Lieberman-Burchard para a detecção de esteroide/ triterpeno. ....                                                                                | 67 |
| <b>Figura 22</b> - Fórmula estrutural de uma saponina triterpênica. ....                                                                                                      | 68 |
| <b>Figura 23</b> - Resultado obtido no teste para saponinas. Em (A) EEP; (B) EEB. ....                                                                                        | 69 |
| <b>Figura 24</b> - Exemplos de alcaloides que estão presentes em espécies vegetais. ....                                                                                      | 70 |
| <b>Figura 25</b> - Resultado obtido no teste para alcaloides utilizando o reagente de Dragendorff. Em (A) EEP; (B) EEB. ....                                                  | 70 |
| <b>Figura 26</b> - Resultado obtido no teste para alcaloides utilizando o reagente de Wagner. Em (A) EEP; (B) EEB.....                                                        | 71 |
| <b>Figura 27</b> - Reação de precipitação de alcaloides com os reagentes de Dragendorff e Wagner.....                                                                         | 71 |
| <b>Figura 28</b> - Fórmula estrutural básica das cumarinas e cromonas. ....                                                                                                   | 72 |
| <b>Figura 29</b> - Resultado obtido no teste para cumarinas. Em (A) EEP ( $\lambda$ 254 nm); (B) EEB ( $\lambda$ 365 nm). ....                                                | 73 |
| <b>Figura 30</b> - Proposta para a formação do isômero do ácido <i>cis</i> -O-hidroxinâmico. ...                                                                              | 73 |
| <b>Figura 31</b> - Resultado obtido no teste para quinonas. Em (A) EEP; (B) EEB.....                                                                                          | 74 |
| <b>Figura 32</b> - Proposta de reação de formação do fenolato em meio alcalino a partir de antraquinonas hidroxiladas.....                                                    | 75 |
| <b>Figura 33</b> - Reação de redução do radical DPPH· frente a um composto antioxidante. ....                                                                                 | 76 |
| <b>Figura 34</b> - Proposta de reação para a complexação de flavonoides como o íon $Al^{3+}$ . ....                                                                           | 79 |
| <br><b>Gráfico 1</b> - Percentual de DPPH. remanescente (%DPPH.) do extrato etanólico de <i>E. bulbosa</i> e relação as concentrações testadas. Tempo de reação: 30 min. .... | 78 |

## LISTA DE TABELAS, QUADROS, ESQUEMAS E EQUAÇÕES

|                                                                                                                                                                                              |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabela 1</b> - Classes de alcaloides e seus precursores.....                                                                                                                              | 23 |
| <b>Tabela 2</b> - Classificação dos compostos fenólicos de acordo com seu esqueleto básico.....                                                                                              | 25 |
| <b>Tabela 3</b> - Análise da coloração para o teste de antocianinas, antocianidinas e flavonoides .....                                                                                      | 46 |
| <b>Tabela 4</b> - Análise da coloração para o teste de leucoantocianidinas, catequinas e flavanonas.....                                                                                     | 47 |
| <b>Tabela 5</b> - Rendimento do EEP e EEB de <i>Eleutherine bulbosa</i> .....                                                                                                                | 54 |
| <b>Tabela 6</b> - Percentual de atividade antioxidante (%AA) do extrato etanólico de <i>E. bulbosa</i> e dos controles positivos (rutina e BHT) no tempo de reação com DPPH igual 30min..... | 77 |
| <b>Tabela 7</b> - Teor de flavonoides totais (FLAT) do EEP e EEB de <i>E. bulbosa</i> .....                                                                                                  | 79 |
|                                                                                                                                                                                              |    |
| <b>Quadro 1</b> - Substâncias isoladas e/ou identificadas e atividades biológicas dos bulbos da espécie <i>Eleutherine bulbosa</i> .....                                                     | 31 |
| <b>Quadro 2</b> - Composição fitoquímica do EEP e EEB da espécie <i>E. bulbosa</i> .....                                                                                                     | 57 |
|                                                                                                                                                                                              |    |
| <b>Esquema 1</b> - Metabolismo primário e secundário.....                                                                                                                                    | 21 |
| <b>Esquema 2</b> - Biossíntese dos terpenoides a partir do IPP e DMAPP.....                                                                                                                  | 24 |
|                                                                                                                                                                                              |    |
| <b>Equação 1</b> - Rendimento do extrato.....                                                                                                                                                | 45 |
| <b>Equação 2</b> - Percentual de atividade antioxidante (%AA).....                                                                                                                           | 50 |
| <b>Equação 3</b> - Determinação do teor de flavonoides totais.....                                                                                                                           | 51 |

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

|         |                                                                                   |
|---------|-----------------------------------------------------------------------------------|
| Abs     | Absorbância                                                                       |
| AcOEt   | Acetato de Etila                                                                  |
| BHT     | Butil-hidroxi-tolueno                                                             |
| CCD     | Cromatografia em Camada Delgada                                                   |
| DP      | Desvio Padrão                                                                     |
| DPPH·   | Radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazila                                            |
| DMSO    | Dimetilsulfóxido                                                                  |
| EEP     | Extrato Etanólico das Palhas                                                      |
| EEB     | Extrato Etanólico dos Bulbos                                                      |
| EtOH    | Etanol                                                                            |
| FDA     | <i>Food And Drug Administration</i>                                               |
| FLAT    | Flavonoides Totais                                                                |
| HDELTA  | Herbário Delta do Parnaíba                                                        |
| Hex     | Hexano                                                                            |
| IFPI    | Instituto Federal de Educação, Ciências e Tecnologia do Piauí                     |
| 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 |
| UFDPAr  | Universidade Federal do Delta do Parnaíba                                         |
| UV      | Ultravioleta                                                                      |
| UV-vis  | Ultravioleta-visível                                                              |

## LISTA DE SÍMBOLOS

|                     |                                         |
|---------------------|-----------------------------------------|
| %                   | Porcentagem                             |
| %AA                 | Porcentagem de atividade antioxidante   |
| °C                  | Graus Celsius                           |
| $\lambda$           | Comprimento de onda                     |
| DL <sub>50</sub>    | Dose Letal Média                        |
| cm                  | Centímetro                              |
| ER/g                | Equivalente de Rutina por grama         |
| QE/g                | Equivalente de Quercetina por grama     |
| CE/100g             | Equivalente de Catequina por 100 gramas |
| g                   | Gramas                                  |
| M                   | Molar                                   |
| mg                  | Miligramas                              |
| mL                  | Mililitros                              |
| mg.L <sup>-1</sup>  | Miligramas por litro                    |
| mg.mL <sup>-1</sup> | Miligrama por mililitros                |
| µg.mL <sup>-1</sup> | Microgramas por mililitros              |
| µL                  | Microlitros                             |
| mol.L <sup>-1</sup> | Mol por litro                           |
| nm                  | Nanômetro                               |
| ppm                 | Partes por milhão                       |
| HCl                 | Ácido clorídrico                        |
| H <sub>2</sub> O    | Água                                    |
| AlCl <sub>3</sub>   | Cloreto de alumínio                     |

|                            |                    |
|----------------------------|--------------------|
| $\text{FeCl}_3$            | Cloreto férrico    |
| $\text{CHCl}_3$            | Clorofórmio        |
| $\text{NaOH}$              | Hidróxido de sódio |
| $\text{Na}_2\text{SO}_4$   | Sulfato de sódio   |
| $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ | Sulfato cérico     |
| $\text{BiI}_4^-$           | Iodeto de bismuto  |
| $\text{KI}_3$              | Iodeto de potássio |

## SUMÁRIO

|                                                                      |    |
|----------------------------------------------------------------------|----|
| <b>1 INTRODUÇÃO</b>                                                  | 19 |
| <b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>                                       | 21 |
| 2.1 METABOLISMO VEGETAL                                              | 21 |
| <b>2.1.1 Metabolismo secundário</b>                                  | 22 |
| 2.1.1.1 Quinonas                                                     | 25 |
| 2.2 CONSIDERAÇÕES TAXONÔMICAS DA ESPÉCIE                             | 26 |
| <b>2.2.1 Família Iridaceae</b>                                       | 26 |
| <b>2.2.2 Gênero <i>Eleutherine</i> Herbert</b>                       | 27 |
| <b>2.2.3 Espécie <i>Eleutherine bulbosa</i> (Miller) Urb.</b>        | 28 |
| <b>3 OBJETIVOS</b>                                                   | 43 |
| 3.1 OBJETIVO GERAL                                                   | 43 |
| 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS                                            | 43 |
| <b>4 METODOLOGIA</b>                                                 | 44 |
| 4.1 TIPO DA PESQUISA                                                 | 44 |
| 4.2 COLETA DA ESPÉCIE                                                | 44 |
| 4.3 PROCEDIMENTO DA PESQUISA                                         | 44 |
| <b>4.3.1 Preparação dos extratos</b>                                 | 44 |
| <b>4.3.2 Cromatografia em Camada Delgada (CCD)</b>                   | 45 |
| <b>4.3.3 Testes fitoquímicos para metabólitos secundários</b>        | 45 |
| 4.3.3.1 Preparo das soluções das amostras                            | 45 |
| 4.3.3.2 Testes para fenóis e taninos                                 | 45 |
| 4.3.3.3 Testes para antocianinas, antocianidinas e flavonoides       | 46 |
| 4.3.3.4 Testes para leucoantocianidinas, catequinas e flavonas       | 46 |
| 4.3.3.5 Teste para flavonois, flavanonas, flavononois e xantonas     | 47 |
| 4.3.3.6 Teste confirmatório para leucoantocianidinas                 | 47 |
| 4.3.3.7 Teste confirmatório para diidroflavonois – Ensaio de Pacheco | 47 |
| 4.3.3.8 Teste para esteroides e triterpenos – (Lieberman-Burchard)   | 47 |
| 4.3.3.9 Teste para heterosídeos saponínicos                          | 48 |
| 4.3.3.10 Teste para alcaloides                                       | 48 |
| 4.3.3.11 Teste para alcaloides e cumarinas                           | 48 |
| 4.3.3.12 Teste para quinonas                                         | 49 |
| <b>4.3.4 Avaliação da atividade antioxidante pelo ensaio do DPPH</b> | 49 |

|                                                                        |    |
|------------------------------------------------------------------------|----|
| 4.3.4.1 Leitura das medidas de absorbância das amostras .....          | 50 |
| <b>4.3.5 Teor de flavonoides totais (FLAT)</b> .....                   | 50 |
| 4.3.5.1 Construção da curva de calibração .....                        | 51 |
| 4.3.5.2 Determinação do teor de flavonoides totais .....               | 51 |
| <b>4.3.6 Ensaio de toxicidade frente à <i>Artemia salina</i></b> ..... | 51 |
| 4.4 TRATAMENTO DOS DADOS .....                                         | 52 |
| <b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....                                  | 53 |
| 5.1 COLETA E IDENTIFICAÇÃO DO MATERIAL VEGETAL .....                   | 53 |
| 5.2 RENDIMENTO DOS EXTRATOS .....                                      | 54 |
| 5.3 CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA (CCD).....                         | 55 |
| 5.4 TESTES FITOQUÍMICOS PARA METABÓLITOS SECUNDÁRIOS .....             | 56 |
| <b>5.4.1 Taninos</b> .....                                             | 57 |
| <b>5.4.2 Antocianinas, antocianidinas e flavonoides</b> .....          | 59 |
| <b>5.4.3 Flavanonas</b> .....                                          | 62 |
| <b>5.4.4 Leucoantocianidinas</b> .....                                 | 63 |
| <b>5.4.5 Diidroflavonois</b> .....                                     | 65 |
| <b>5.4.6 Esteroides livres e Triterpenos pentacíclicos</b> .....       | 66 |
| <b>5.4.7 Heterosídeos saponínicos</b> .....                            | 68 |
| <b>5.4.8 Alcaloides</b> .....                                          | 69 |
| <b>5.4.9 Cumarinas</b> .....                                           | 72 |
| <b>5.4.10 Quinonas</b> .....                                           | 74 |
| 5.5 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO ENSAIO DO DPPH· .....     | 75 |
| 5.6 TEOR DE FLAVONOIDES TOTAIS (FLAT) .....                            | 78 |
| 5.7 ENSAIO DE TOXIDADE FRENTE À <i>Artemia salina</i> .....            | 80 |
| <b>6 CONCLUSÃO</b> .....                                               | 81 |
| <b>7 PERSPECTIVAS FUTURAS</b> .....                                    | 82 |
| <b>REFERÊNCIAS</b> .....                                               | 83 |

## 1 INTRODUÇÃO

Os produtos naturais são uma fonte muito eficiente para a descoberta de medicamentos. Nos últimos 30 anos, um grande número das medicações desenvolvidas para a intervenção no tratamento do câncer e de doenças infecciosas foram provenientes de produtos naturais (REN; WANG; ZAO, 2017). Padmavathy e Saravanan (2017), relatam que cerca de 25% dos medicamentos atuais foram desenvolvidos a partir de plantas, 25% de origem animal e 10% de micro-organismos.

A química de produtos naturais é uma ciência bastante consolidada no Brasil e, nos últimos anos, tem crescido exponencialmente entre os pesquisadores brasileiros, os quais desenvolvem principalmente pesquisas com metabólitos vegetais, onde estes são utilizados como fontes para a investigação de novas moléculas, com o objetivo de promover o desenvolvimento da química medicinal e a descoberta de novos fármacos (IÓCA; NICACIO; BERLINCK, 2018).

Os princípios ativos identificados nas plantas são oriundos do metabolismo secundário. Dentre as principais classes de metabólitos secundários destacam-se os compostos fenólicos, alcaloides e terpenos estes, por sua vez, são responsáveis pelos seus efeitos medicinais e/ ou tóxicos encontrados nas plantas. Estes compostos possuem grande importância quanto ao seu potencial farmacológico, contribuindo assim no tratamento de inúmeras doenças (LÓPEZ, 2006).

Os produtos naturais possuem grande importância econômica, pois além do enorme potencial para o desenvolvimento de novos medicamentos, estes compostos, devido sua diversidade estrutural única, também podem ser empregados na agricultura como agentes no controle de pragas, ou ainda na indústria alimentícia, veterinária e de cosméticos (PINTO et al., 2002; DIAS, URBAN, ROESSNER, 2012).

Dentro da Química de Produtos Naturais (QPN) existe o ramo da fitoquímica, que compreende o estudo de compostos de origem vegetal. A fitoquímica abrange o maior número de trabalhos experimentais publicados (MATOS, 2009). Estes contribuem para a identificação de constituintes químicos de espécies vegetais e na determinação da existência de princípios ativos, a partir do estudo dos metabólitos secundários.

A orientação para estudos fitoquímicos a partir de indicativos populares, tem se mostrado de grande eficácia, uma vez que os metabólitos secundários obtidos dessas plantas apresentam relevantes atividades biológicas. Fazendo com que as plantas utilizadas na medicina tradicional sejam cada vez mais estudadas, visto que, vários dos metabólitos secundários obtidos possuem importantes potenciais farmacológicos, muitos dos quais têm sido utilizados pela indústria farmacêutica (BESSA et al., 2013; FUMAGALI et al, 2008).

Dentre as plantas com elevado potencial medicinal destaca-se a *Eleutherine bulbosa* (Miller) Urb., uma planta pertencente à família Iridaceae, conhecida por vários nomes populares, como: palmeirinha, marupazinho, marupari, coquinho, marupa, alho do mato, lírio folha de palmeira, anajai etc. Esta planta foi incluída na Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde (RENISUS) (BRASIL, 2009). No Brasil, a espécie é amplamente utilizada na medicina tradicional das regiões norte e nordeste, para o tratamento de diarreias, dor de estômago, cólica e amebíase (MARTINS et al., 2005; BIANCHI, CERIOTTI, 1975; GALUCIO, 2014).

Nesse sentido, fica evidente que o reino vegetal fornece uma incrível fonte de compostos bioativos que podem ser utilizados no desenvolvimento de possíveis fármacos. Entretanto, até 1996 estimava-se que apenas cerca de 15 a 17% de aproximadamente 500.000 espécies vegetais existentes no mundo já tenham estudo científico quanto as suas propriedades terapêuticas. No Brasil, somente 8% de cerca 100.000 espécies vegetais catalogadas foram estudas em busca de compostos bioativos e somente 1.100 das mesmas foram avaliadas quanto as suas potencialidades médicas (VARANDA, 2006).

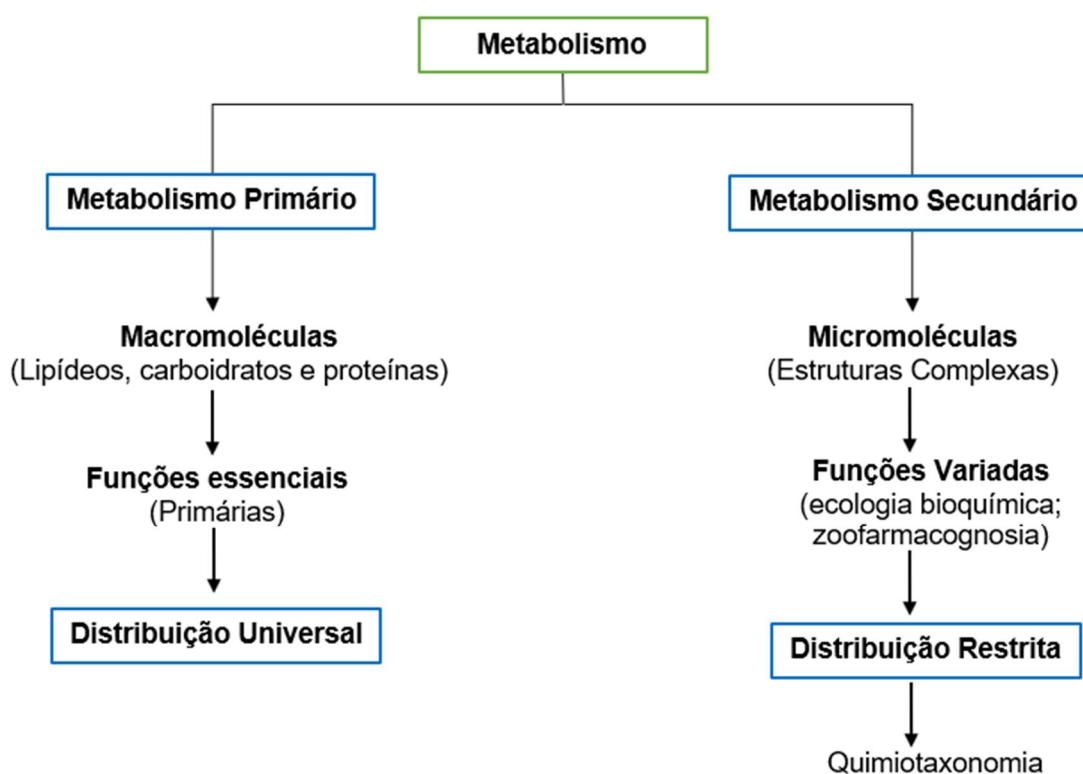
Nesse contexto, o presente trabalho visa avaliar a composição química e o potencial farmacológico do extrato etanólico dos bulbos e das palhas de *Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb., encontrada na microrregião do Baixo Parnaíba no Piauí, contribuindo dessa maneira, para o enriquecimento dos estudos quimiotaxonômico e farmacológicos da espécie, além da valorização da biodiversidade local.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 METABOLISMO VEGETAL

O metabolismo envolve um conjunto de reações químicas que estão sempre ocorrendo dentro de cada célula, seja vegetal ou animal. Os compostos químicos formados, degradados ou transformados são denominados metabólitos, sendo divididos em dois grupos: metabólitos primários e secundários (ESQUEMA 1) (SIMÕES et al., 2007).

**Esquema 1 - Metabolismo primário e secundário.**



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

Os metabólitos primários são macromoléculas que podem ser encontradas em todas as espécies vegetais, onde desempenham importantes funções vitais como crescimento, desenvolvimento e respiração. Carboidratos, lipídios, proteínas e ácidos nucleicos são exemplos de metabólitos primários (RÍOS, 2016; DEWICK, 2009).

Embora os metabólitos sejam classificados de formas diferentes, os mesmos estão diretamente correlacionados, visto que os metabólitos secundários são gerados

a partir dos primários utilizando pequenas moléculas orgânicas produzidas através de suas vias biossintéticas (EMERY, SANTOS, BIANCHI, 2010).

### **2.1.1 Metabolismo secundário**

Os metabólitos secundários em termos químicos expressam as particularidades de uma determinada espécie. Pois cada família, gênero e espécie de planta sintetiza um conjunto de compostos químicos, cuja a acumulação e produção são restritas, sendo características únicas que podem ser utilizadas como marcadores taxonômicos (EMERY, SANTOS, BIANCHI, 2010; WAKSMUNDZKA-HAJNOS, SHERMA, KOWALSKA, 2008; SIMÕES et al., 2007).

Todas as plantas produzem metabólitos secundários, mas como mencionado anteriormente, estes variam de espécie para espécie, em categoria e quantidade. Esses metabólitos podem se diferenciar até mesmo de um ciclo de cultivo para outro ou em decorrência do local de plantio, pois a maioria desses compostos têm sua síntese desencadeada por estímulos externos, como: sazonalidade, índice pluviométrico, radiação ultravioleta (UV), temperatura e altitude (MARTÃO, 2013; GOBBO-NETO, LOPES, 2007).

Os metabólitos secundários, permitem a sobrevivência das plantas no ecossistema, podendo exercer diferentes funções, como por exemplo, a defesa contra organismos patogênicos, insetos e herbívoros, a atração de organismos polinizadores e dispersores de sementes, bem como a participação em alelopatias (NEVES, CUNHA, 2012; SANGEETHA, BASKAR, 2015).

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

Os alcaloides são caracterizados por serem compostos orgânicos cíclicos que contém em sua estrutura pelo menos um átomo de nitrogênio. Em sua maioria, apresentam caráter alcalino, devido ao nitrogênio que possui um par de elétrons não compartilhados. Essa classe de metabólitos têm uma distribuição limitada entre os organismos vivos, sendo encontrada, geralmente, em vegetais específicos, além disso, os alcaloides são conhecidos pelas suas atividades que estão relacionadas ao seu acentuado efeito no sistema nervoso, sendo utilizado como medicamento, veneno

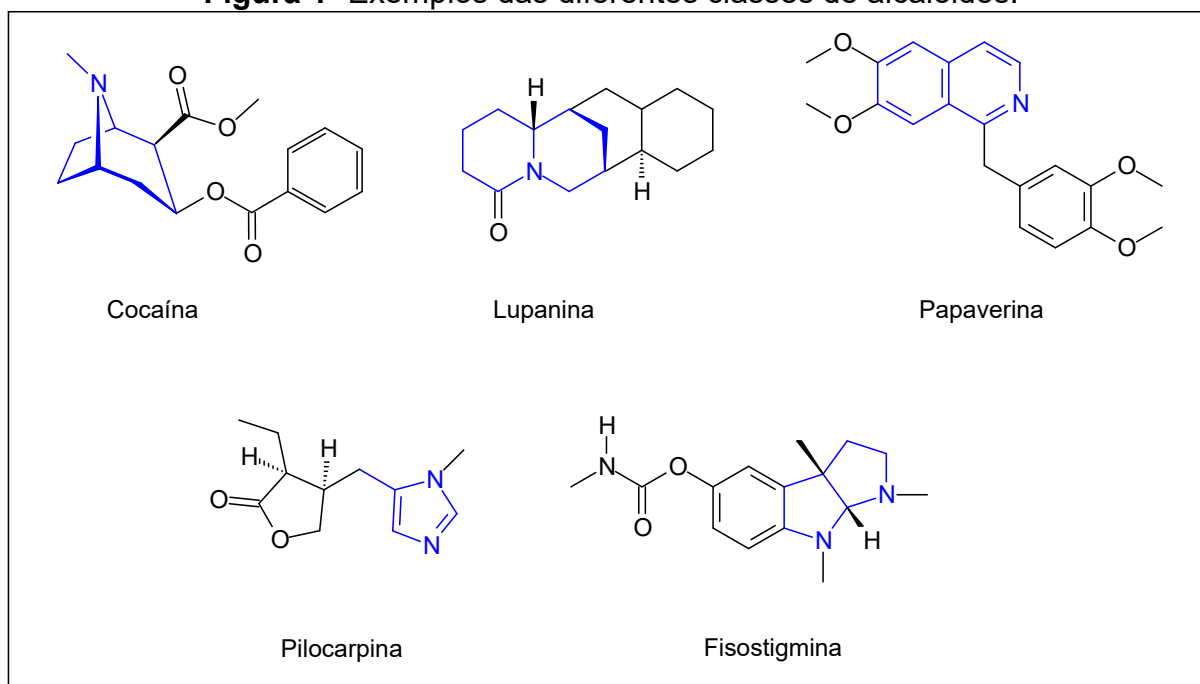
ou alucinógeno (VIZZOTTO; KROLOW; WEBER, 2010). Algumas classes de alcaloides têm os aminoácidos ornitina, lisina, tirosina, histidina e triptofano como precursores, na Tabela 1 e Figura 1 pode-se observar algumas destas classes (DEWICK, 2009).

**Tabela 1 - Classes de alcaloides e seus precursores**

| <b>Classes</b>        | <b>Aminoácidos precursores</b> | <b>Exemplos</b> |
|-----------------------|--------------------------------|-----------------|
| Tropânicos            | Ornitina                       | Cocaína         |
| Quinolizidínicos      | Lisina                         | Lupanina        |
| Benzilisoquinolínicos | Tirosina                       | Papaverina      |
| Imidazólicos          | Histidina                      | Pilocarpina     |
| Pirrolizidínicos      | Triptofano                     | Fisostigmina    |

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

**Figura 1- Exemplos das diferentes classes de alcaloides.**

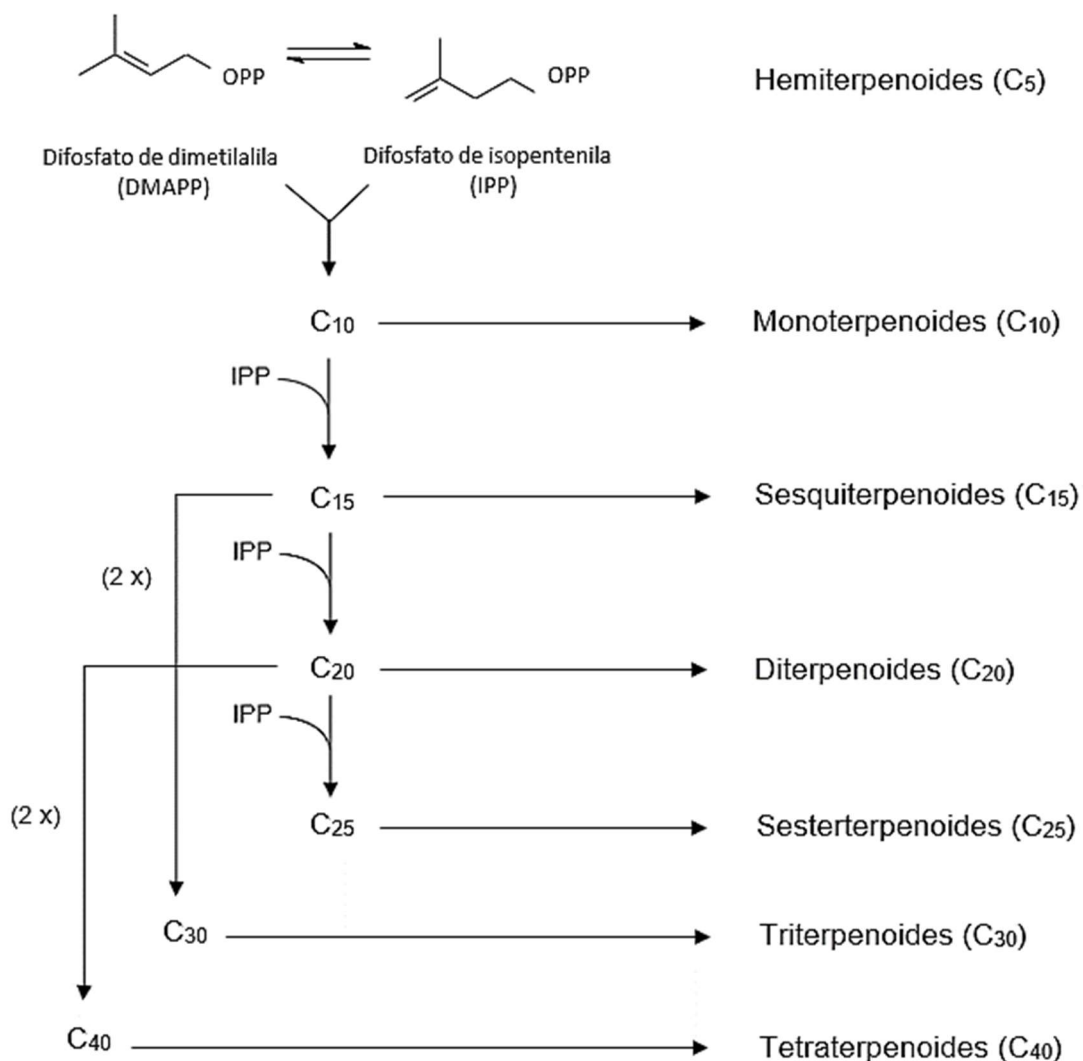


Fonte: Adaptado de Simões et al., (2007).

Os terpenoides constituem uma vasta classe de metabólitos secundários estruturalmente diversos. São formados a partir da condensação de unidades de isopreno ( $C_5$ ) ativadas, difosfato de isopentenila (IPP) e difosfato de dimetilalila (DMAPP). Os terpenoides são classificados de acordo com a quantidade de resíduos de isopreno que compõem seu esqueleto carbônico, podendo

ser hemiterpenoides ( $C_5$ ), sesquiterpenoides ( $C_{15}$ ), diterpenoides ( $C_{20}$ ), sesterterpenoides ( $C_{25}$ ), triterpenoides ( $C_{30}$ ), tetraterpenoides ( $C_{40}$ ) e politerpenoides ( $C_5$ ) $_n$ , conforme demonstrado no Esquema 2 (DEWICK, 2009).

**Esquema 2** - Biossíntese dos terpenoides a partir do IPP e DMAPP



Fonte: Adaptado de Dewick (2009).

Os compostos fenólicos são uma classe de substâncias aromáticas que possuem ao menos um hidrogênio substituído por um grupamento hidroxila (-OH), podem ser biossintetizados tanto por meio da rota do ácido chiquímico como pela via do acetato. Estes compostos são amplamente distribuídos nas plantas com uma grande diversidade estrutural e são responsáveis por funções importantes nos vegetais, bem como pelos potenciais antioxidantes, antivirais e antibacterianos. Os

compostos fenólicos podem ser classificados segundo o tipo de esqueleto principal, como pode ser observado na Tabela 2 (SIMÕES et al., 2007).

**Tabela 2** - Classificação dos compostos fenólicos de acordo com seu esqueleto básico.

| <b>Esqueleto básico</b>                                        | <b>Classe de compostos fenólicos</b>                                                                                                                           |
|----------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| C <sub>6</sub>                                                 | Fenóis simples e benzoquinonas                                                                                                                                 |
| C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub>                                 | Ácidos fenólicos                                                                                                                                               |
| C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub>                                 | Acetofenonas e ácidos fenilacéticos                                                                                                                            |
| C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>                                 | Fenilpropanoides: ácidos cinâmicos e compostos análogos, Fenilpropenos, cumarinas, isocumarinas e cromonas                                                     |
| C <sub>6</sub> -C <sub>4</sub>                                 | Naftoquinonas                                                                                                                                                  |
| C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub> -C <sub>6</sub>                 | Xantonas                                                                                                                                                       |
| C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub> -C <sub>6</sub>                 | Estilbenos e antraquinonas                                                                                                                                     |
| C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub>                 | Isoflavonoides e Flavonoides: flavonois, flavonas, flavanonas, flavononas, flavononois, chalconas, auronas, antocianinas, antocianidinas e leucoantocianidinas |
| (C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>                 | Lignanas                                                                                                                                                       |
| C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> ) <sub>n</sub>  | Diflavonoides                                                                                                                                                  |
| (C <sub>6</sub> ) <sub>n</sub>                                 | Melaninas vegetais                                                                                                                                             |
| (C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> ) <sub>n</sub>                 | Ligninas                                                                                                                                                       |
| (C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub> ) <sub>n</sub>                 | Taninos hidrolisáveis                                                                                                                                          |
| (C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> ) <sub>n</sub> | Taninos condensados                                                                                                                                            |

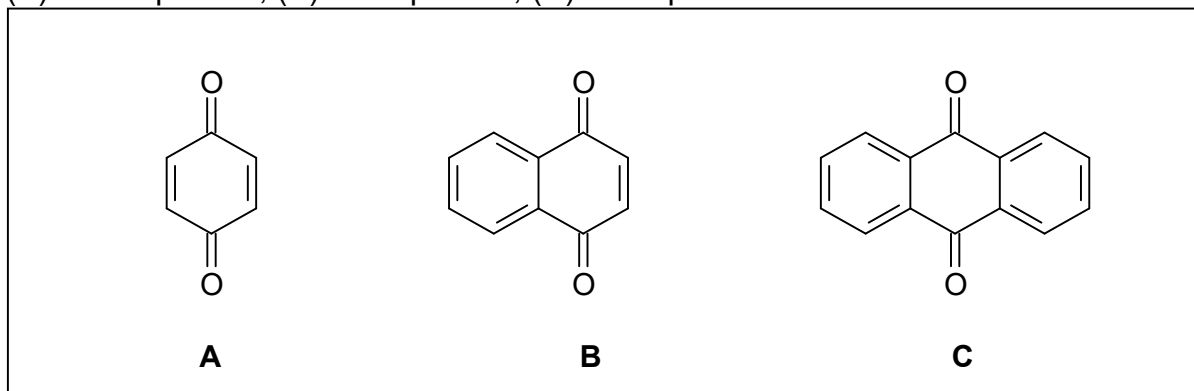
Fonte: Adaptado de Simões et al. (2007).

#### 2.1.1.1 Quinonas

As quinonas são substâncias orgânicas provenientes da oxidação de fenóis, esta classe de compostos possui como principal característica a presença de dois grupos carbonílicos, nas posições *orto* ou *para*, formando um sistema conjugado. As quinonas podem ainda ser classificadas de acordo com a sua estrutura, diferenciando-se a partir do sistema aromático que sustenta o anel quinonoídico. Dentre as principais classes de quinonas destacam-se as benzoquinonas, naftoquinonas e antraquinonas.

Na Figura 2 pode-se observar as fórmulas estruturais básicas destas moléculas (SIMÕES et al., 2007; SILVA et al., 2003).

**Figura 2** - Esqueleto básico das principais classes de compostos quinolínicos. Em (A) benzoquinona; (B) naftoquinona; (C) antraquinona.



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

Atualmente, são conhecidas na natureza mais de 1.500 quinonas, presentes em plantas, bactérias, líquens e fungos. Estas, apresentam grande potencial farmacológico, sendo empregadas como laxantes, anti-inflamatórios e agentes antimicrobianos. As quinonas podem ser encontradas em diversas famílias de plantas superiores, sobretudo nas famílias Rubiaceae, Verbenaceae, Bignoniaceae, Boraginaceae, Myrsinaceae e Iridaceae. (SIMÕES et al., 2007; DE MOURA, 2001).

## 2.2 CONSIDERAÇÕES TAXONÔMICAS DA ESPÉCIE

### 2.2.1 Família Iridaceae

A Iridaceae é uma família de monocotiledôneas petalóides que apresenta mais de 2.030 espécies e aproximadamente 66 gêneros, distribuídos principalmente no hemisfério sul, sendo os maiores centros de diversidade o sul da África e a América do sul. No Brasil, a família apresenta 18 gêneros e 160 espécies, sendo dois endêmicos *Pseudotrimezia* R. C. Foster e *Pseudiris* Chukr & A. Gil. (REEVES et al., 2001; DIAS, 2010).

As espécies da família Iridaceae têm ganhado destaque como plantas ornamentais, além de apresentarem grande importância econômica, como por exemplo a espécie *Crocus sativus*, popularmente conhecida como açafrão que é muito utilizado na culinária, além de possuir propriedades antitumorais e anti-inflamatórias

(DIAS, 2010). Já as espécies do gênero *Iris* L. são muito utilizadas na indústria de cosméticos e em perfumarias, embora também apresentem um grande potencial farmacológico, por possuírem uma ampla variedade de compostos como, flavonoides e seus glicosídeos, triterpenoides, benzoquinonas, estilbenos glicosídeos e isoflavonoides (WANG, CUI, ZHAO, 2010).

Singab et al. (2016) relatam que os iridais foram reconhecidos como um dos metabólitos secundários característicos da família Iridaceae, isolados pela primeira vez da espécie *Iris* sp., além disso os autores mencionam ainda que os constituintes mais comumente encontrados nas folhas das Iridaceae são as flavonas C-glicosídeo e os flavonois. Já os derivados de naftaleno são considerados os metabólitos secundários usuais do gênero *Eleutherine*.

Pesquisas realizadas na *Web of Science* em maio de 2021, utilizando a palavra-chave “Iridaceae”, revelaram a existência de cerca de 1349 publicações sobre a família Iridaceae, onde o Brasil apresentou um lugar de destaque, sendo o quarto país com maior número de publicações (87), atrás apenas dos Estados Unidos (330), da África do Sul (238) e da Inglaterra (90). Além disso constatou-se que destas publicações, 65% são na área de ciências das plantas, 9% na área de farmacologia, 8% na área de química medicinal e menos de 1% na área de química orgânica, demonstrando, dessa forma, que ainda há uma carência de estudos sobre a natureza orgânica das espécies que compõem a família Iridaceae.

### 2.2.2 Gênero *Eleutherine* Herbert

*Eleutherine* Herbert é um gênero de plantas bulbosas e nativas da América, com distribuição desde a América do Sul e Central, até o México e Índias Ocidentais, além de serem cultivadas, e atualmente naturalizadas, na África e na Ásia, especialmente nas Filipinas e Indochina (GOLDBLATT, SNOW, 1991).

Pertencente à família Iridaceae, subfamília Iridoideae e tribo Tigridieae, *Eleutherine* é um gênero constituído por três espécies: *E. bulbosa*, *E. angusta* e *E. latifolia*, sendo duas destas ocorrentes no Brasil, onde podem ser encontradas principalmente na região Amazônica, Cerrado e Mata Atlântica (EGGERS, 2020; GOLDBLATT, SNOW, 1991).

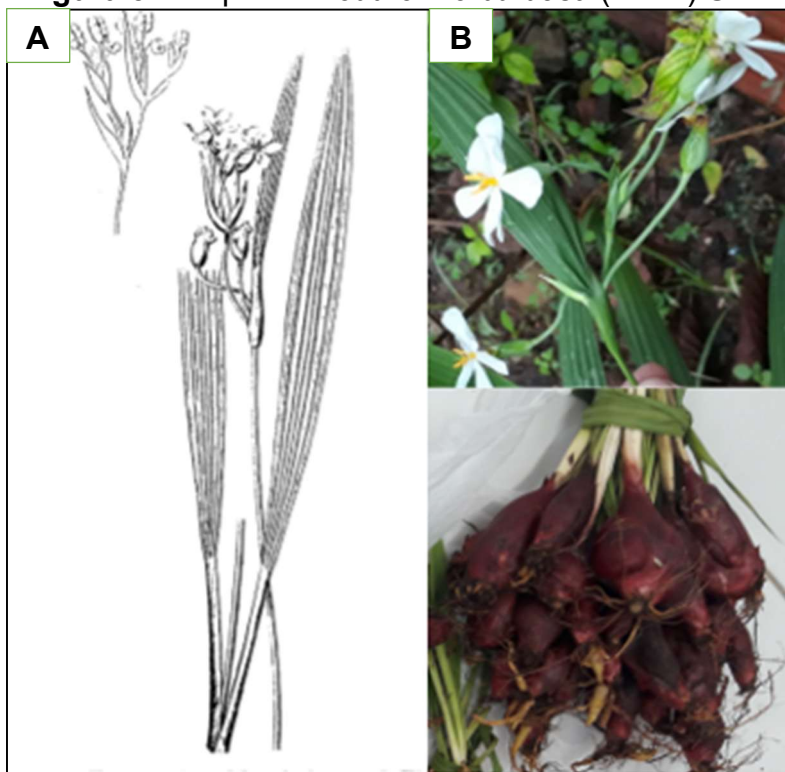
Singab e colaboradores (2016) relatam que os derivados de naftaleno são considerados os metabólitos secundários usuais do gênero *Eleutherine*. Ainda, há

relatos na literatura que as atividades biológicas dos extratos obtidos da *E. bulbosa* estão relacionadas a três principais grupos de compostos naftalenos, antraquinonas e naftoquinonas, além de outras substâncias também relatadas (KAMARUDIN et al., 2020).

### 2.2.3 Espécie *Eleutherine bulbosa* (Miller) Urb.

A espécie *Eleutherine bulbosa* (Miller) Urb. (FIGURA 3) é uma planta herbácea pertencente à família da Iridaceae, possui como sinônimas botânicas *Eleutherine plicata*, *Eleutherine americana* e *Eleutherine palmifolia*, sendo a primeira mais conhecida entre elas. É uma planta perene com bulbos ovóides e rizomáticos, que possuem escamas de cor avermelhada externamente. As folhas são simples, estreitamente lanceoladas e plissadas com veias proeminentes, suas flores brotam a partir de hastes bifurcadas e possuem cor branca ou rosa (GOLDBLATT, SNOW, 1991; PADHI, PANDA, 2015; SHI et al., 2019; MUNAENI et al., 2019; GALUCIO, 2014).

**Figura 3 - Espécie *Eleutherine bulbosa* (Miller) Urb.**



Fonte: (A) Goldblatt, Snow, (1991); (B) Autoria própria, (2021).

Sua distribuição e cultivo é amplo, sendo endêmica da América do Sul, *E. bulbosa* pode ser encontrada em países tropicais como Bolívia, Peru e Brasil, porém devido às suas propriedades terapêuticas a *E. bulbosa* tomou proporções mundiais. No Brasil a espécie está presente na medicina popular das regiões norte e nordeste (PADHI, PANDA, 2015; RANI, NAIR, 2016; BIANCHI, CERIOTTI, 1975).

A *E. bulbosa* é uma das poucas Iridaceae neotrópicas com usos medicinais conhecidos (GOLDBLATT, SNOW, 1991). Hanh e colaboradores (2018), relatam que a *E. bulbosa* é amplamente utilizada pela medicina tradicional para tratar fadigas, anemias, tosse e dor de garganta; além de ser utilizada pela medicina oriental, para tratar insuficiência cardíaca, distúrbios intestinais, câncer, infertilidade e doenças de pele.

Pesquisas realizadas na *Web of Science* em maio de 2021 (palavras-chave: *Eleutherine bulbosa* e sinônimos) revelam que a composição química da espécie *E. bulbosa* é bastante diversificada, visto que diferentes extratos (em etanol (EtOH), acetato de etila (AcOEt) e metanol (MeOH)) apresentaram resultados positivos para uma variedade de metabólitos secundários tais como: quinonas, naftalenos, taninos e flavonoides (RANI, NAIR, 2016; HA et al., 2013; VALE et al., 2020).

A literatura relata ainda que os extratos obtidos da *E. bulbosa* manifestam uma variedade de atividades biológicas, que estão relacionadas principalmente a três grandes grupos de compostos naftalenos, antraquinonas e naftoquinonas; além de outras substâncias também relatadas (KAMARUDIN et al., 2020).

Segundo Vale et al. (2020), as naftoquinonas isoladas a partir do extrato etanólico (EE) dos bulbos da *E. bulbosa* apresentam potencial antimalárico. Na literatura é relatado ainda que o extrato etanólico dos bulbos da *E. bulbosa* apresentam atividades anti-inflamatória (HANH et al., 2018), anti-HIV (HARA et al., 1997), antibacteriana (PADHI, PANDA, 2015), além do potencial anti-hipertensivo (BAHTIAR, CHUMALA, 2018).

Shi e colaboradores (2019) relatam ainda que as flores da *E. bulbosa* apresentam um potencial antioxidante maior que dos bulbos ou das folhas, assim como o teor de flavonoides. Outro estudo realizado a partir do extrato diclorometânico (DCM) relatam o potencial antifúngico de algumas naftoquinonas (**32** e **36**) encontradas nos bulbos da planta (ALVES, KLOOS, ZANI, 2003).

Investigações fitoquímicas anteriores a partir do extrato etanólico dos bulbos da espécie *E. bulbosa* revelaram a presença de ésteres de ácidos graxos (**1**, **2** e **3**),

além da existência de outras classes de metabólitos secundários, tais como: isoquinolina (**4**), xantona (**5**), diterpeno (**6**), cumarina (**7**), ácidos fenólicos (**8 e 9**), flavonóis (**10-13**) e catequinas (**14**) (MUNAENI et al., 2019; KAMARUDIN et al., 2020).

Outros estudos realizados também com os bulbos da *E. bulbosa* obtiveram a partir de seus extratos (EtOH, MeOH, DCM e hexano (Hex)) os naftalenos (**15 - 29**), tetralonas (**30**), e alguns compostos quinolínicos como, naftoquinonas (**31 - 39**), e antraquinonas (**40 - 48**), no qual é relatado a manifestação de vários potenciais farmacológicos (SHI et al., 2019; VALE et al., 2020; HARA et al., 1997; GALLO et al., 2010; HA et al., 2013; ALVES, KLOOS, ZANI, 2003; MAHABUSARAKAM et al., 2010).

O Quadro 1 (Pág. 31) apresenta as atividades biológicas relatadas para os metabólitos secundários isolados e/ou identificados da espécie *E. bulbosa* (FIGURA 4, pág. 38). Foi observado a partir dessa revisão que as atividades biológicas mais frequentes são antioxidante, antibacteriana e anti-inflamatória, ao passo que, os compostos mais relatados são os naftalenos, naftoquinonas e as antraquinonas.

O levantamento bibliográfico realizado na base de dados do *Web of Science* mostrou a inexistência de publicações científicas sobre o estudo fitoquímico e farmacológico da espécie *Eleutherine bulbosa* encontrada na região nordeste do Brasil. Tendo em vista isso, o presente trabalho tem como objetivo avaliar a composição química e o potencial farmacológico do extrato etanólico dos bulbos das palhas da espécie *E. bulbosa* nativa do estado do Piauí, contribuindo para o enriquecimento dos estudos quimiotaxonômico da espécie.

**Quadro 1** - Substâncias isoladas e/ou identificadas e atividades biológicas dos bulbos da espécie *Eleutherine bulbosa*.

|          |                             |                      |      |                                                                                                                                                                                               |                       |
|----------|-----------------------------|----------------------|------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| <b>1</b> | Hexadecanoato de etila      | Éster de ácido graxo | EtOH | Antibactericida;<br>antioxidante                                                                                                                                                              | Munaeni et al., 2019. |
| <b>2</b> | Octadecanoato de etila      | Éster de ácido graxo | EtOH | Antimicrobiano                                                                                                                                                                                | Munaeni et al., 2019. |
| <b>3</b> | Linolato de etila           | Éster de ácido graxo | EtOH | Hipocolesterolêmico,<br>nematicida, antiartrítico,<br>hepatoprotetor, anti-<br>androgênico, inibidor da 5-<br>alfa redutase, anti-<br>histamínico, anticoronário,<br>anti-eczêmico, anti-acne | Munaeni et al., 2019. |
| <b>4</b> | Isoquinolina-1-carbonitrila | Isoquinolina         | EtOH | Antibactericida;<br>anticâncer; anti-<br>inflamatória;<br>antidepressivo;<br>antimalárico, anti-HIV                                                                                           | Munaeni et al., 2019. |
| <b>5</b> | Securixanthone E            | Xantona              | EtOH | Antioxidante                                                                                                                                                                                  | Munaeni et al., 2019. |

**Quadro1** – Continuação.

|           |                        |                |      |                                                       |                             |
|-----------|------------------------|----------------|------|-------------------------------------------------------|-----------------------------|
| <b>6</b>  | 2(1H)-fenantrenona     | Diterperpeno   | EtOH | Antioxidante; anti-inflamatória                       | Munaeni et al., 2019.       |
| <b>7</b>  | 2H-1-benzopiran-2-ona  | Cumarina       | EtOH | Antioxidante; Atividade bacteriostática e antitumoral | Munaeni et al., 2019.       |
| <b>8</b>  | Ácido clorogênico      | Ácido fenólico | EtOH | Antioxidante                                          | Kamarudin et al.,2020.      |
| <b>9</b>  | Ácido gálico           | Ácido fenólico | EtOH | Antioxidante                                          | Kamarudin et al.,2020.      |
| <b>10</b> | Miricetina             | Flavonois      | EtOH | Antioxidante                                          | Kamarudin et al.,2020.      |
| <b>11</b> | Quercetina             | Flavonois      | EtOH | Antioxidante                                          | Kamarudin et al.,2020.      |
| <b>12</b> | Canferol               | Flavonois      | EtOH | Antioxidante                                          | Kamarudin et al.,2020.      |
| <b>13</b> | Rutina                 | Flavonois      | EtOH | Antioxidante                                          | Kamarudin et al.,2020.      |
| <b>14</b> | Galato de epicatequina | Catequina      | EtOH | Antioxidante                                          | Kamarudin et al.,2020.      |
| <b>15</b> | Eleucanarol            | Naftaleno      | Hex  | -----                                                 | Mahabusarakam et al., 2010. |

**Quadro1** – Continuação.

|           |                                                       |           |      |                                                                                                                     |                                                                          |
|-----------|-------------------------------------------------------|-----------|------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------|
| <b>16</b> | Eleutherol                                            | Naftaleno | EtOH | Antimicrobiano,<br>antifúngico, antiviral,<br>anticancerígena,<br>antioxidante,<br>antiparasitária,<br>Antimalárica | Shi et al., 2019;<br>Vale et al., 2020;<br>Mahabusarakam et<br>al.,2010. |
| <b>17</b> | Isoeleutherol                                         | Naftaleno | EtOH | Anti-HIV                                                                                                            | Hara et al., 1997.                                                       |
| <b>18</b> | Isoeleutosídeo C                                      | Naftaleno | MeOH | -----                                                                                                               | Gallo et al., 2010.                                                      |
| <b>19</b> | Eleutherinol                                          | Naftaleno | MeOH | -----                                                                                                               | Ha et al., 2013.                                                         |
| <b>20</b> | Eleutherinosídeo A                                    | Naftaleno | MeOH | -----                                                                                                               | Ha et al., 2013.                                                         |
| <b>21</b> | Eleutosídeo A                                         | Naftaleno | MeOH | -----                                                                                                               | Ha et al., 2013.                                                         |
| <b>22</b> | Eleutosídeo B                                         | Naftaleno | MeOH | -----                                                                                                               | Ha et al., 2013.                                                         |
| <b>23</b> | Hongconina                                            | Naftaleno | MeOH | Anti-inflamatória                                                                                                   | Ha et al., 2013.                                                         |
| <b>24</b> | (2S) Dihidroeleutherinol-8-<br>O-β-D-glicopiranosídeo | Naftaleno | MeOH | Anti-inflamatória                                                                                                   | Ha et al., 2013.                                                         |

**Quadro1** – Continuação.

|           |                                                     |              |      |                                                                                                    |                                                   |
|-----------|-----------------------------------------------------|--------------|------|----------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------|
| <b>25</b> | Dihidroeuletherinol                                 | Naftaleno    | MeOH | -----                                                                                              | Ha et al., 2013.                                  |
| <b>26</b> | Eleutosídeo C                                       | Naftaleno    | MeOH | -----                                                                                              | Ha et al., 2013.                                  |
| <b>27</b> | Eleuterineosídeo C                                  | Naftaleno    | MeOH | -----                                                                                              | Ha et al., 2013.                                  |
| <b>28</b> | Eleuterinosídeo B                                   | Naftaleno    | MeOH | -----                                                                                              | Ha et al., 2013.                                  |
| <b>29</b> | Eleuterinosídeo D                                   | Naftaleno    | MeOH | -----                                                                                              | Ha et al., 2013.                                  |
| <b>30</b> | ( <i>R</i> )-7-acetil-3,6-dihidroxi-8-metiltetraona | Tetralona    | MeOH | -----                                                                                              | Ha et al., 2013.                                  |
| <b>31</b> | Elecanacina                                         | Naftoquinona | EtOH | Antimicrobiano,<br>antifúngico, antiviral,<br>anticancerígena,<br>antioxidante,<br>antiparasitária | Shi et al., 2019;<br>Hara et al., 1997.           |
| <b>32</b> | Eleutherinona                                       | Naftoquinona | DCM  | Antimicrobiano,<br>antifúngico, antiviral,<br>anticancerígena,<br>antioxidante,<br>antiparasitária | Shi et al., 2019;<br>Alves, Kloos, Zani,<br>2003. |

**Quadro1** – Continuação.

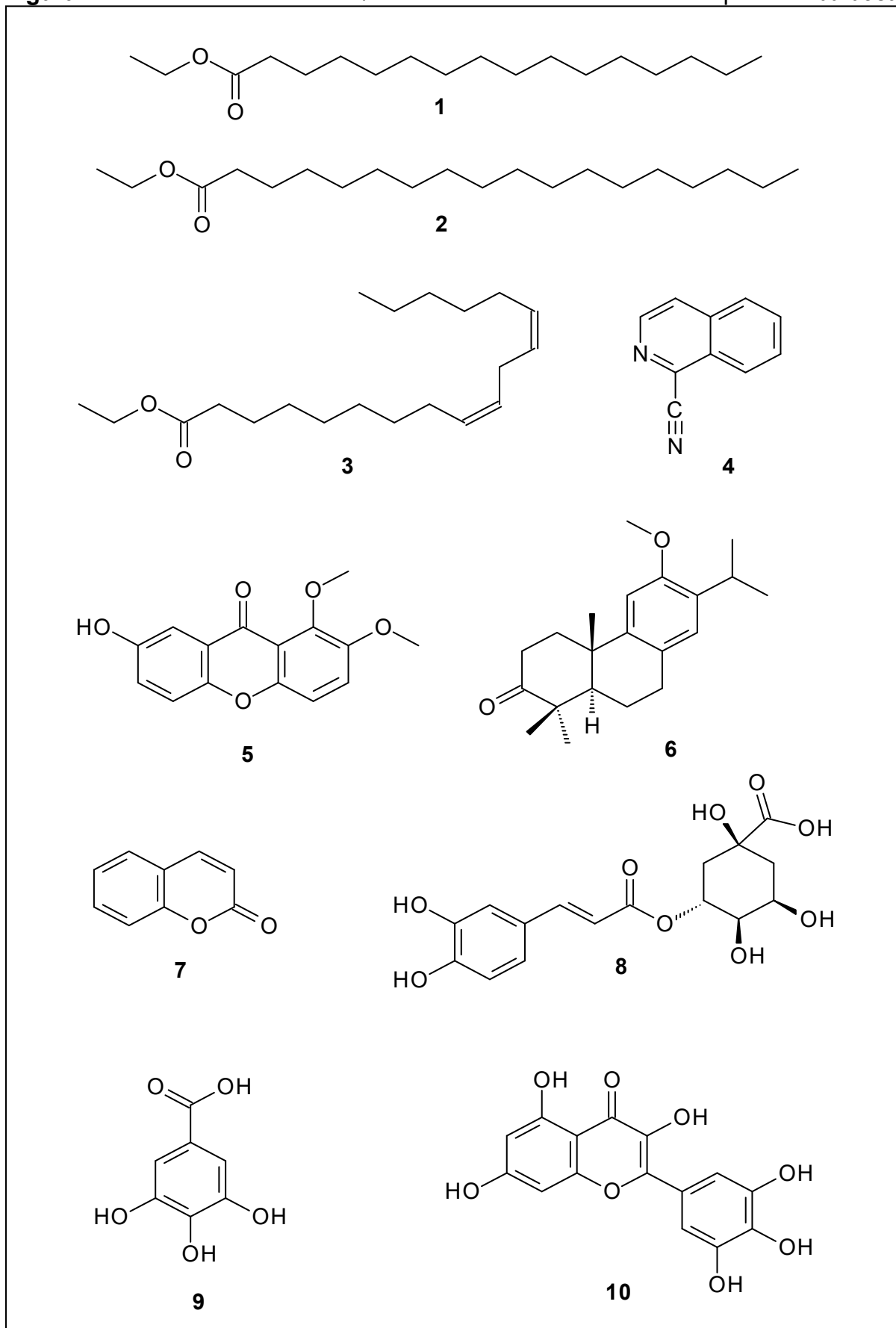
|           |                                                                               |              |                       |                                                                                                                                           |                                                                        |
|-----------|-------------------------------------------------------------------------------|--------------|-----------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------|
| <b>33</b> | ( <i>R</i> ) -4-hidroxi-eleuterina                                            | Naftoquinona | MeOH                  | -----                                                                                                                                     | Gallo et al., 2010.                                                    |
| <b>34</b> | Eleuthona                                                                     | Naftoquinona | MeOH                  | -----                                                                                                                                     | Gallo et al., 2010.                                                    |
| <b>35</b> | Eleuterina                                                                    | Naftoquinona | MeOH/<br>EtOH         | Anti-inflamatória,<br>antimicrobiano,<br>antifúngico, antiviral,<br>anticancerígena,<br>antioxidante,<br>antiparasitária,<br>antimalárica | Ha et al., 2013;<br>Shi et al., 2019;<br>Vale et al., 2020.            |
| <b>36</b> | Isoeleuterina                                                                 | Naftoquinona | MeOH/<br>EtOH/<br>DCM | Anti-inflamatória, efeito<br>inibidor contra a<br>replicação do HIV,<br>antimalárica                                                      | Ha et al., 2013;<br>Vale et al., 2020;<br>Alves, Kloos, Zani,<br>2003. |
| <b>37</b> | 3,4-dihidro -9-hidroxi-1,3-<br>dimetil-1H-nafto [2,3-c] -<br>piran-5,10-diona | Naftoquinona | Hex                   | Antibacteriana                                                                                                                            | Mahabusarakam et<br>al., 2010.                                         |

**Quadro1** – Continuação.

|           |                                                                                  |              |      |                |                            |
|-----------|----------------------------------------------------------------------------------|--------------|------|----------------|----------------------------|
| <b>38</b> | Eleutinona A                                                                     | Naftoquinona | Hex  | -----          | Mahabusarakam et al.,2010  |
| <b>39</b> | 3-[2-(acetiloxi) propil] -2-hidroxi-8-metoxi-1,4-naftoquinona                    | Naftoquinona | Hex  | Antibacteriana | Mahabusarakam et al.,2010  |
| <b>40</b> | 3,6,8 - trihidroxi -1-metil - antraquinona                                       | Antraquinona | MeOH | -----          | Ha et al., 2013.           |
| <b>41</b> | 2 - acetil - 3,6,8 -trihidroxi-1-metilantraquinona                               | Antraquinona | MeOH | -----          | Ha et al., 2013.           |
| <b>42</b> | Éster metílico de ácido 4,8-dihidroxi-3-metoxi-1-metilantraquinona-2-carboxílico | Antraquinona | Hex  | Antibacteriana | Mahabusarakam et al.,2010. |
| <b>43</b> | Éster metílico de ácido 8-hidroxi-3,4-dimetoxi-1-metilantraquinona-2-carboxílico | Antraquinona | Hex  | Antibacteriana | Mahabusarakam et al.,2010. |

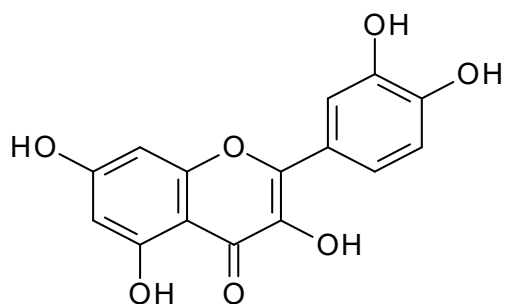
**Quadro1** – Continuação.

|           |                                                                                      |              |     |                |                            |
|-----------|--------------------------------------------------------------------------------------|--------------|-----|----------------|----------------------------|
| <b>44</b> | Eleutraquinona B                                                                     | Antraquinona | Hex | Antibacteriana | Mahabusarakam et al.,2010. |
| <b>45</b> | Éster metílico de ácido 6,8-dihidroxi-3,4-dimetoxi-1-metilantraquinona-2-carboxílico | Antraquinona | Hex | -----          | Mahabusarakam et al.,2010. |
| <b>46</b> | Eleutraquinona A                                                                     | Antraquinona | Hex | Antibacteriana | Mahabusarakam et al.,2010. |
| <b>47</b> | Eritrolacina                                                                         | Antraquinona | Hex | Antibacteriana | Mahabusarakam et al.,2010. |
| <b>48</b> | 1,2-dihidroxi-8-metoxi-3-metilantraquinona                                           | Antraquinona | Hex | Antibacteriana | Mahabusarakam et al.,2010. |

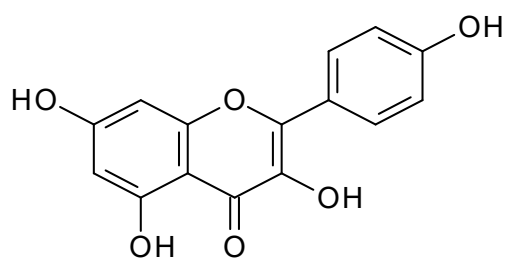
**Figura 4** - Substâncias isoladas e/ou identificadas dos bulbos da espécie *E. bulbosa*

Fonte: Adaptado de PubChem, 2021 e Altameme, Hameed, Abu-serag, 2015.

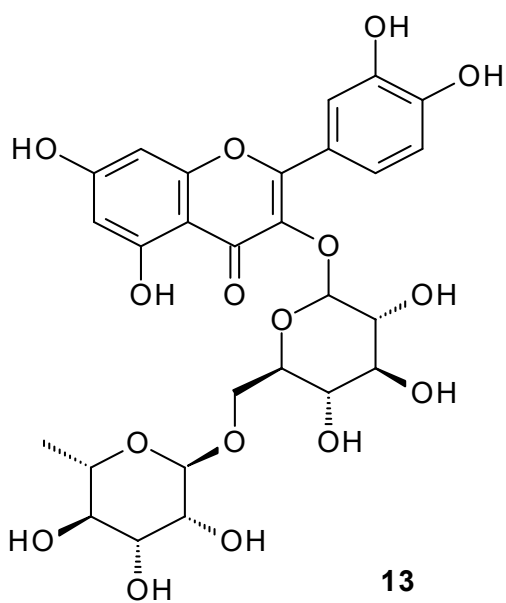
Figura 4 - Continuação



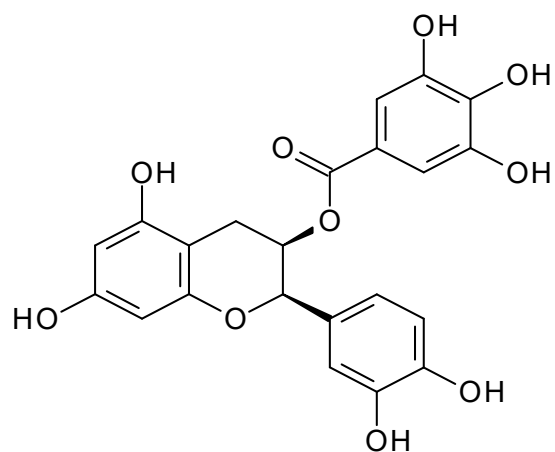
11



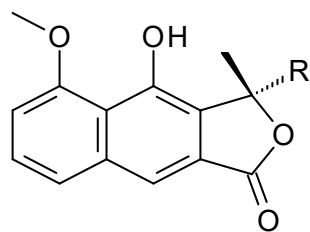
12



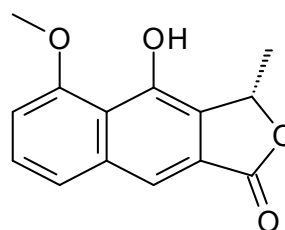
13



14

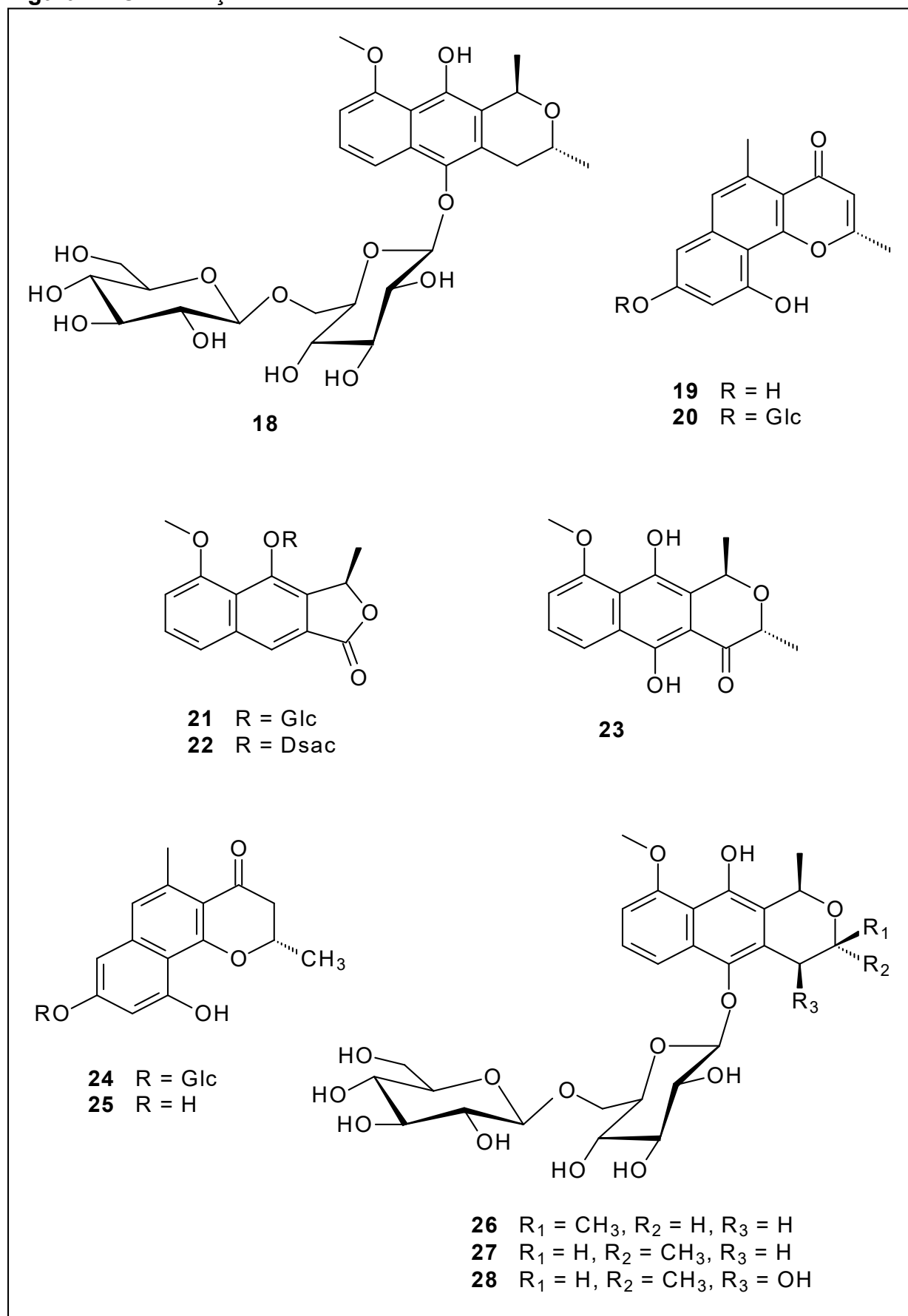


15 R = OH  
16 R = H



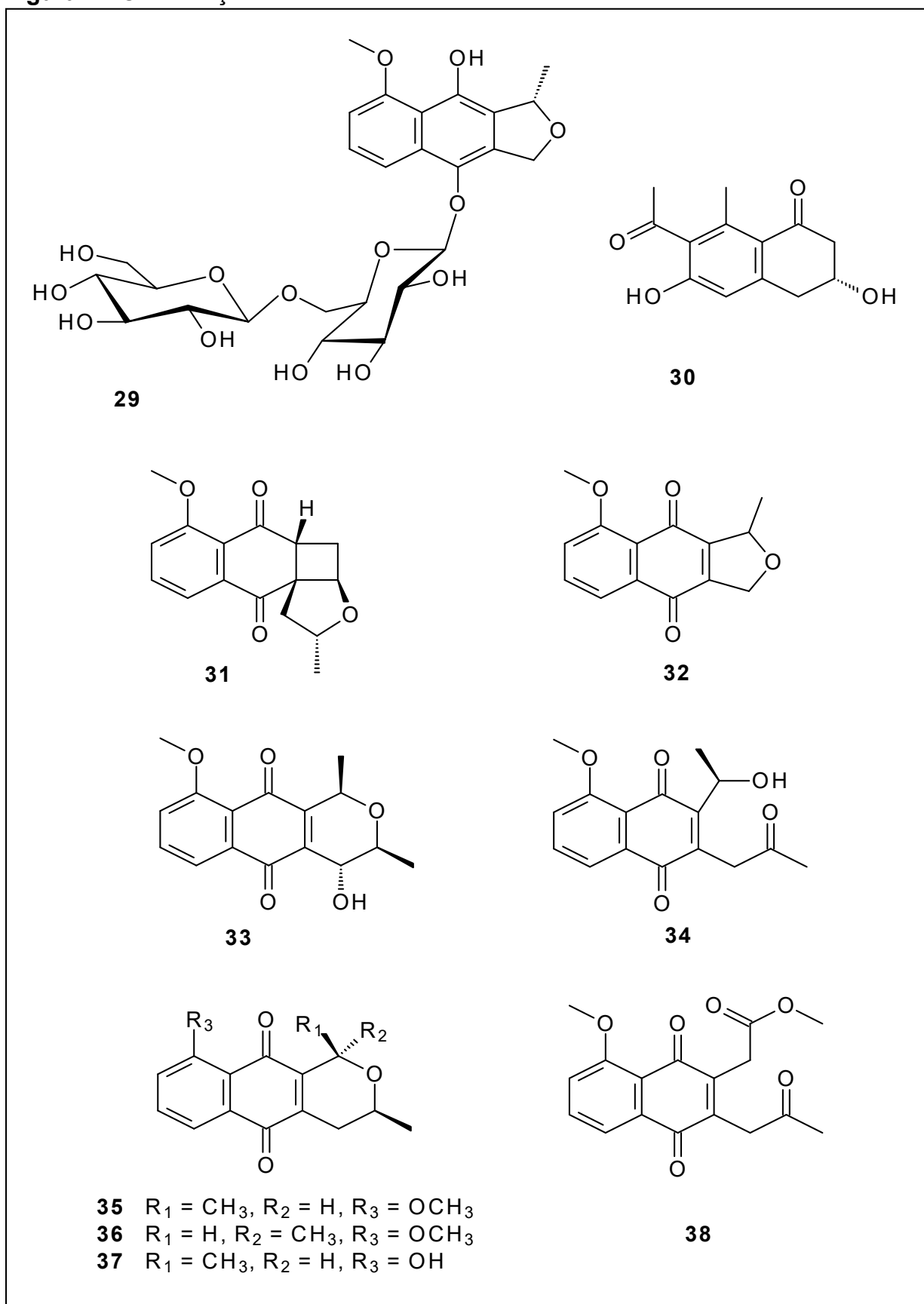
17

Figura 4 - Continuação



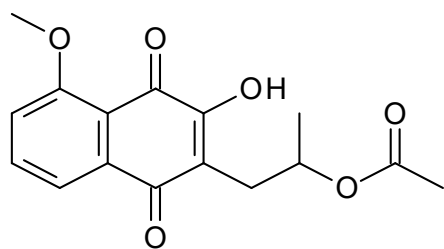
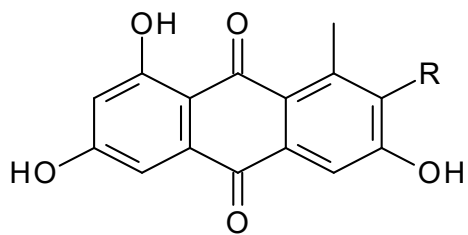
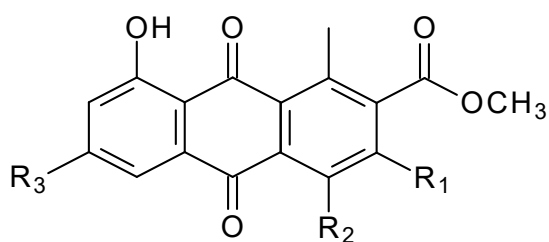
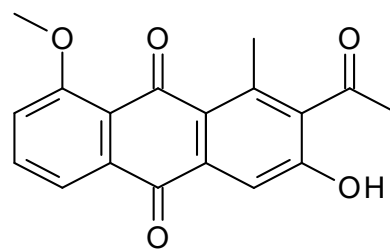
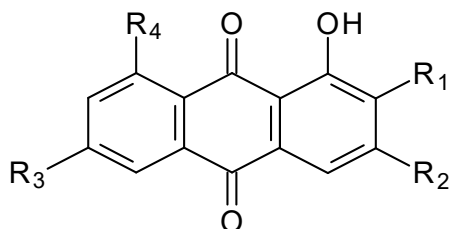
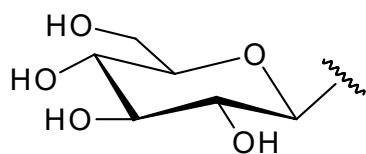
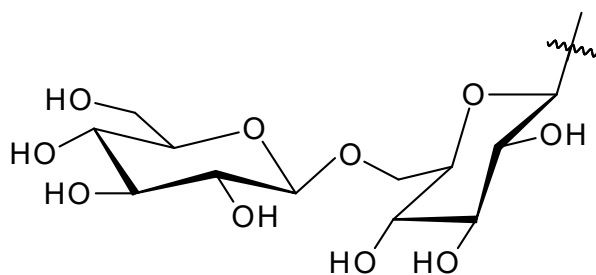
Fonte: Adaptado de Gallo et al., 2010 e Ha et al., 2013.

Figura 4 - Continuação



Fonte: Adaptado de Ha et al., 2013; Hara et al., 1997; Gallo et al., 2010; Alves, Kloos, Zani, 2003 e Mahabusarakam et al., 2010

Figura 4 - Continuação

**39****40** R = H**41** R = COCH<sub>3</sub>**42** R<sub>1</sub> = OCH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub> = OH, R<sub>3</sub> = H**43** R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = OCH<sub>3</sub>, R<sub>3</sub> = H**44** R<sub>1</sub> = OH, R<sub>2</sub> = OCH<sub>3</sub>, R<sub>3</sub> = OH**45** R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = OCH<sub>3</sub>, R<sub>3</sub> = OH**46****47** R<sub>1</sub> = H, R<sub>2</sub> = R<sub>3</sub> = OH, R<sub>4</sub> = CH<sub>3</sub>**48** R<sub>1</sub> = OH, R<sub>2</sub> = CH<sub>3</sub>, R<sub>3</sub> = H, R<sub>4</sub> = OCH<sub>3</sub>**Glc****Dsac**

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a composição química e o potencial farmacológico do extrato etanólico dos bulbos e das palhas da espécie *Eleutherine bulbosa* (Miller) Urb., encontrada na microrregião do Baixo Parnaíba no Piauí.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Coletar o material vegetal (palhas e bulbos) de *Eleutherine bulbosa*, no município de Joaquim Pires - PI;
- Realizar a exsicata para a identificação e registro da espécie vegetal no Herbário Delta do Parnaíba (HDELTA) da Universidade Federal do Delta do Parnaíba (UFDPAr) - *Campus* Ministro Reis Velloso;
- Preparar o extrato etanólico das palhas (EEP) e dos bulbos (EEB) da espécie *E. bulbosa*;
- Analisar qualitativamente o perfil fitoquímico dos EEP e EEB de *E. bulbosa*;
- Avaliar o potencial antioxidante dos EEP;
- Realizar ensaios para a quantificação do teor de flavonoides totais dos EEP e EEB de *E. bulbosa*;
- Avaliar a toxicidade (DL<sub>50</sub>) dos EEP e EEB de *E. bulbosa* frente à *Artemia salina*.

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 TIPO DA PESQUISA

O presente trabalho é classificado como experimental e bibliográfico, tendo em vista as etapas que serão realizadas durante o seu desenvolvimento. 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).

A pesquisa bibliográfica segundo Marconi e Lakatos (2007), tem como objetivo realizar um estudo mais aprofundado sobre temática, de modo que, o pesquisador terá contato direto com os materiais que já foram elaborados, fazendo com que tenha um conhecimento maior do assunto estudado.

### 4.2 COLETA DA ESPÉCIE

O material vegetal foi coletado na microrregião do Baixo Parnaíba no município de Joaquim Pires – PI, onde os bulbos foram coletados no mês de novembro e as palhas no mês de maio. Após a coleta, foi realizada a exsiccata da espécie para a 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 e identificação taxonômica, as palhas e os bulbos de *E. bulbosa* foram separados e secos em estufa à temperatura de 45 °C, até estarem com um peso constante. Posteriormente, o material vegetal foi triturado em um liquidificador e submetido à extração com etanol à temperatura ambiente. As extrações foram realizadas sucessivamente, por três vezes consecutivas. Cada extração tinha a duração de quatro dias e durante esse período, os frascos extratores foram submetidos a banho de ultrassom. Após a extração, o solvente orgânico foi removido com auxílio de um evaporador rotativo à pressão reduzida, de forma a obter o extrato

etanólico das palhas (EEP) e o extrato etanólico dos bulbos (EEB). O rendimento dos extratos foi calculado a partir da Equação 1.

**Equação 1- Rendimento do extrato.**

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

#### **4.3.2 Cromatografia em Camada Delgada (CCD)**

Alíquotas dos extratos etanólicos (EEP e EEB) de *E. bulbosa* foram dissolvidas em metanol e submetidas ao método cromatográfico em cromatoplaças de alumínio com sílica da Macherey-Nagel (MN) com indicador de fluorescência. Os eluentes clorofórmio/metanol (9:1), hexano/acetato de etila (8:2), e clorofórmio/metanol/água (65:30:5) foram utilizados como fase móvel. Após a eluição, as placas foram expostas à luz UV ( $\lambda$  254 e 365 nm) para observação do aparecimento de fluorescência e em seguida, reveladas com solução de sulfato cérico  $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ .

#### **4.3.3 Testes fitoquímicos para metabólitos secundários**

Os seguintes testes fitoquímicos foram realizados segundo a metodologia descrita por Matos (2009), Kloss et al., (2016) e Saraiva et al. (2018).

##### **4.3.3.1 Preparo das soluções das amostras**

Os extratos etanólicos – EEP e EEB (500 mg) foram dissolvidos em 50 mL da mistura EtOH/H<sub>2</sub>O (8:2). Os testes foram realizados para cada extrato individualmente, conforme descrito a seguir. Para a realização dos testes foram utilizados 3 mL da solução hidroalcoólica.

##### **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 cloreto férrico  $\text{FeCl}_3$ , 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 (taninoscondensados 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 ( $1 \text{ mol.L}^{-1}$ ) 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. As colorações das amostras foram analisadas de acordo com a Tabela 3.

**Tabela 3** - Análise da coloração para o teste de antocianinas, antocianidinas e flavonoides

| Constituintes                  | Coloração da solução |          |                  |
|--------------------------------|----------------------|----------|------------------|
|                                | pH = 3               | pH = 8,5 | pH = 11          |
| Antocianinas e antocianidinas  | Vermelho             | Lilás    | Azul- púrpura    |
| Flavonas, flavonois e xantonas | —                    | —        | Amarela          |
| Chalconas e auronas            | Vermelho             | —        | Vermelho-púrpura |
| Flavanonois                    | —                    | —        | Vermelho-laranja |

Fonte: Adaptado de Matos (2009).

#### 4.3.3.4 Testes para leucoantocianidinas, catequinas e flavonas

Em dois tubos de ensaio contendo a solução hidroalcoólica do extrato, foi acidificado o primeiro, por adição de HCl ( $1 \text{ mol.L}^{-1}$ ) até pH 1-3, e o segundo foi alcalinizado com NaOH até pH 11. Os tubos foram aquecidos em banho-maria durante 2-3 minutos. O aparecimento ou intensificação da cor, por comparação com os tubos correspondentes no teste anterior, indica a presença dos constituintes especificados na Tabela 4 (Pág. 47).

**Tabela 4** - Análise da coloração para o teste de leucoantocianidinas, catequinas e flavanonas.

| Constituintes                      | Coloração da solução |                  |
|------------------------------------|----------------------|------------------|
|                                    | pH = 1-3             | pH = 11          |
| Leucoantocianidinas                | Vermelho             | —                |
| Catequinas<br>(taninos catéquicos) | Pardo-amarelada      | —                |
| Flavanonas                         | —                    | Vermelho-laranja |

Fonte: Adaptado de Matos (2009).

#### 4.3.3.5 Teste para flavonóis, flavanonas, flavononóis e xantonas

Em um tubo de ensaio contendo a solução hidroalcoólica do extrato, foi adicionada uma fita de magnésio e 0,5 mL de HCl concentrado. Após o término da reação, indicado pelo fim da efervescência, observou-se a coloração resultante. O aparecimento ou intensificação da coloração vermelha é indicativo da presença de flavonóis, flavanonas, flavononóis 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 sulfato de sódio anidro ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) 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<sup>-1</sup>, 1 mL dessa solução foi dissolvida com HCl e transferida para dois tubos de ensaio, após a adição de 2 gotas do reagente de Mayer (tetraiodeto mercúrio de potássio) e 2 gotas do reagente de Dragendorff (tetraiodeto bismuto de potássio), 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 alaranja.

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.

#### 4.3.3.12 Teste para quinonas

O teste para quinonas seguiu a metodologia adaptada de Saraiva et al., (2018) e Matos (2009).

Os extratos etanólicos (10 mg) foram dissolvidos em 2 mL de metanol. Após isso, foram acrescentados 5,0 mL de clorofórmio com agitação. Em seguida, adicionou-se 1,0 mL da solução de NaOH a 5% e agitou-se novamente a mistura. Posteriormente, a mistura foi mantida em repouso por 15 minutos, para que as fases fossem formadas. O aparecimento da coloração roxa ou vermelha na camada aquosa alcalina indica a presença de quinonas.

#### 4.3.4 Avaliação da atividade antioxidante pelo ensaio do DPPH·

A atividade antioxidante do extrato etanólico das palhas de *E. bulbosa* foi determinada pelo ensaio do radical livre DPPH· (2,2-difenil-1-picril-hidrazila), em que é observado o consumo desse radical pela amostra testada em diferentes concentrações através da medida do decréscimo da absorbância. Estas medidas foram realizadas em espectrofotômetro UV-Vis, no comprimento de onda de 516 nm. A equação da curva de calibração do DPPH· utilizada foi  $C = 35,846A - 0,230$ , onde C corresponde à concentração de DPPH· no meio, A é a absorbância medida no

comprimento de onda de 516 nm e o coeficiente de correlação  $R = 0,9997$  (SOUSA et al., 2007).

#### 4.3.4.1 Leitura das medidas de absorbância das amostras

Preparou-se uma solução estoque do extrato etanólico - EEP em metanol na concentração de  $250 \mu\text{g.mL}^{-1}$ . Esta solução foi diluída em metanol nas concentrações de 200, 150, 100, 50 e  $25 \mu\text{g.mL}^{-1}$ . As medidas da absorbância das misturas reacionais (0,3 mL da solução da amostra e 2,7 mL da solução estoque de DPPH·) foram feitas a 516 nm, no 1º, 5º, 10º, 20º e 30º minutos. A mistura de metanol (2,7 mL) e solução metanólica da amostra (0,3 mL) foi utilizada como branco (SOUSA et al., 2007). A rutina e o BHT (butil-hidroxi-tolueno) foram utilizados como controles positivos e avaliados nas mesmas concentrações.

O valor da absorbância na concentração de  $250 \mu\text{g.mL}^{-1}$  no tempo de 30 minutos foi convertido em porcentagem de atividade antioxidante (%AA), de acordo com a Equação 2:

#### **Equação 2 – Percentual de atividade antioxidante (%AA)**

$$\%AA = \frac{Abs_{DPPH} - (Abs_{amostra} - Abs_{branco})}{Abs_{DPPH}}$$

Onde:

$Abs_{DPPH}$  = Absorbância inicial da solução metanólica de DPPH· ( $40 \mu\text{g.mL}^{-1}$ )

$Abs_{amostra}$  = Absorbância da mistura reacional (DPPH· + amostra)

$Abs_{branco}$  = Absorbância do branco (MeOH + amostra).

#### **4.3.5 Teor de flavonoides totais (FLAT)**

O teor de flavonoides totais (FLAT) do EEP e EEB de *E. bulbosa* foi determinado por espectrofotometria de absorção molecular utilizando uma solução metanólica de cloreto de alumínio ( $\text{AlCl}_3$ ), segundo a metodologia Pozzi (2007) com modificações.

#### 4.3.5.1 Construção da curva de calibração

Foi preparada uma solução padrão de rutina a  $1000 \text{ mg.L}^{-1}$ , dissolvendo-se 0,1 g de rutina em 100 mL de metanol/água (7:3). As diluições para a construção da curva de calibração foram preparadas nas concentrações de  $2,5\text{-}20 \text{ mg.L}^{-1}$  (2,5; 5; 7,5; 10; 12,5; 15; 17,5; 20  $\text{mg.L}^{-1}$ ). Foi preparada ainda uma solução metanólica padrão dissolvendo 1,25 g de  $\text{AlCl}_3$  em 25 mL de metanol ( $\text{AlCl}_3$  5%).

#### 4.3.5.2 Determinação do teor de flavonoides totais

Inicialmente, a solução-mãe foi preparada dissolvendo 10 mg do extrato etanólico em 10 mL de metanol para obter a concentração de  $1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$ . Uma alíquota de 500  $\mu\text{L}$  desta solução foi transferida para balões volumétricos de 10 mL e acrescido 500  $\mu\text{L}$  do reagente  $\text{AlCl}_3$  5%. Em seguida, a solução teve seu volume acertado para 10 mL com metanol. Os testes foram feitos em triplicata e o controle negativo foi constituído por 500  $\mu\text{L}$  da solução-mãe e 10 mL de metanol. Após 30 minutos, a absorbância das amostras foi medida em espectrofotômetro à 420 nm. O teor de flavonoides totais (FLAT) foi determinado usando a curva analítica de rutina na faixa de  $2,5\text{-}20 \text{ mg.L}^{-1}$ , 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:

**Equação 3-** Determinação do teor de flavonoides totais.

$$A = 0,0375 C - 0,0301$$

Onde:

A = absorbância

C = concentração, com coeficiente de correlação linear  $r = 0,9951$

#### 4.3.6 Ensaio de toxicidade frente à *Artemia salina*

Como meio de eclosão e cultivo dos náuplios, foi utilizada a água do mar coletada no município de Luís Correia -PI. Os cistos de *Artemia salina* foram colocados

em aquário com água do mar para eclodir por 24 h sob aeração contínua e ausência de luz.

O ensaio de toxicidade frente à *A. salina* foi realizado conforme a metodologia de McLaughlin et al. (1991) com modificações. Foram preparadas soluções estoque em metanol na concentração de  $10000 \mu\text{g.mL}^{-1}$  dos extratos (EEP e EEB) de *E. bulbosa*. A partir da solução estoque, alíquotas foram transferidas para tubos de ensaio de 30 mL para obtenção de soluções nas concentrações finais de 100, 120, 140, 160, 180, 200, 500, 800, 1100, 1400, 1700 e  $2000 \mu\text{g.mL}^{-1}$ .

Após completa evaporação do metanol à temperatura ambiente, foram adicionados em cada tubo 0,1 mL de dimetilsulfóxido (DMSO) e 5 mL de água do mar para solubilização das amostras. Em seguida, após a eclosão dos ovos, 10 larvas de *A. salina* foram transferidas para os tubos de ensaio contendo as amostras e os controles, sendo o volume final (10 mL) 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 o controle negativo foi constituído por 0,1 mL de DMSO, 10 mL de água do mar e as larvas. Após 24 horas de exposição, foi realizada a contagem dos náuplios vivos e mortos em placas de Petri, sendo considerados vivos todos aqueles que apresentavam qualquer tipo de movimento quando observados próximo a uma fonte luminosa. Só foram considerados válidos os testes nos quais o controle não apresentou mortalidade

#### 4.4 TRATAMENTO DOS DADOS

Devido as análises fitoquímicas serem baseadas nas observações de mudanças de coloração, formação de precipitado, formação de espuma e absorção de fluorescência no UV, os resultados obtidos foram considerados de natureza qualitativa. Dessa forma, para os testes considerados negativos utilizou-se o símbolo (-), a presença fraca ou traços por (+), presença moderada (++) e a presença abundante por (+++).

O teor de flavonoides totais e o potencial antioxidante, bem como o ensaio de toxicidade foram realizados em triplicata e os dados obtidos, tratados quantitativamente, utilizando o *software* Excell. Para o ensaio de toxicidade os resultados foram submetidos a tratamento estatístico utilizando o método Probitos, o qual forneceu o valor da  $DL_{50}$  (Concentração do extrato que tem 50% de toxicidade).

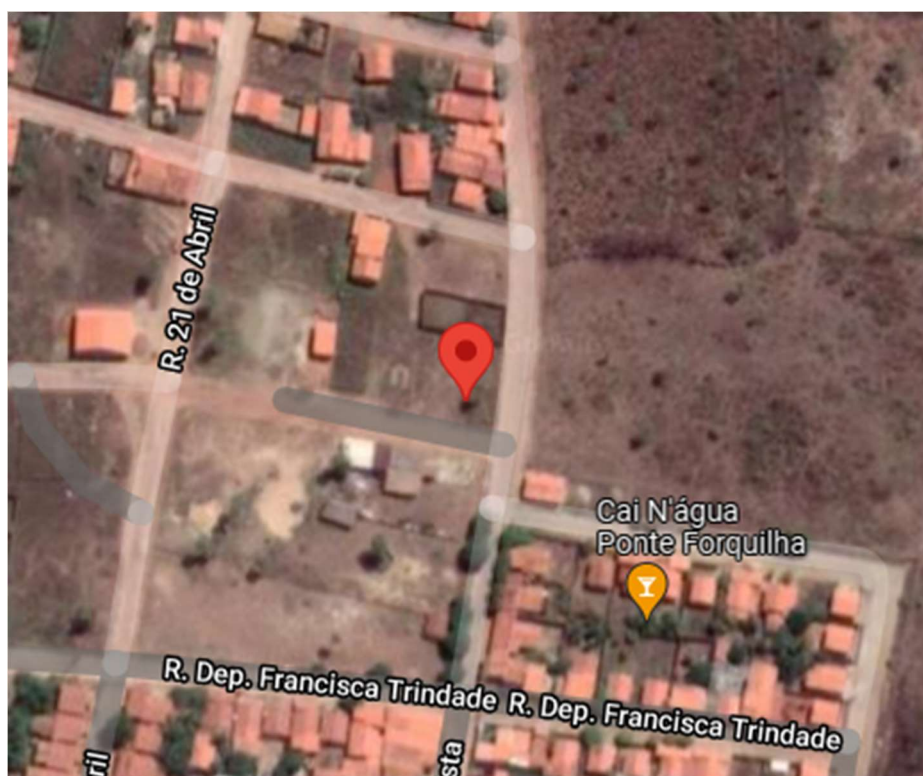
## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Esta seção discorre sobre os dados observados ao longo do trabalho e da discussão dos resultados obtidos, sendo estes apresentados na ordem descrita na metodologia.

### 5.1 COLETA E IDENTIFICAÇÃO DO MATERIAL VEGETAL

A espécie *Eleutherine bulbosa* foi coletada no município de Joaquim Pires – PI (3°30'00.2"S, 42°11'31.4"W) (FIGURA 5), em seguida o material vegetal foi levado ao Laboratório de Produtos Naturais e Biotransformação do IFPI – *Campus* Parnaíba para o preparo da exsicata. Posteriormente, a exsicata foi identificada e registrada no Herbário Delta do Parnaíba (HDELTA) da Universidade Federal do Delta do Parnaíba (UFDPar) - *Campus* Ministro Reis Velloso, sob número de tombo científico HDELTA 6977.

**Figura 5** - Local de coleta da espécie via satélite.



Fonte: Google Maps (2021).

Segundo Verdam e Da Silva (2020), os nomes populares das plantas variam de acordo com a região em que é encontrada, de modo que um mesmo nome pode indicar diversas espécies diferentes, com constituintes químicos, atividades biológicas e dados toxicológicos distintos ou até mesmo desconhecidos. Dessa forma, os estudos com plantas devem ser iniciados pela etapa de identificação botânica, garantindo a seguridade e fidelidade dos resultados, bem como o controle de qualidade farmacognóstica de plantas medicinais (FÉLIX-SILVA et al., 2012).

## 5.2 RENDIMENTO DOS EXTRATOS

As massas das palhas e dos bulbos e os respectivos rendimentos dos extratos etanólicos (EEP e EEB) de *E. bulbosa*, podem ser verificados na Tabela 5.

**Tabela 5** - Rendimento do EEP e EEB de *Eleutherine bulbosa*

|                                       | <b>EEP</b> | <b>EEB</b> |
|---------------------------------------|------------|------------|
| <b>Massa do material vegetal seco</b> | 46,22 g    | 127,65 g   |
| <b>Massa do extrato</b>               | 9,91 g     | 12,87 g    |
| <b>Rendimento (%)</b>                 | 21,44 %    | 10,08 %    |

Fonte: Autoria própria (2021).

Neste trabalho, observou-se que o EEP apresentou um rendimento superior ao do EEB, com uma diferença de 11,36 %, relacionada à grande quantidade de clorofila presente nas palhas. A clorofila é um pigmento de coloração verde que pode ser facilmente extraído das palhas (ou folhas) em presença de um solvente com características polares (ROCHA; ROYO, 2016). A coloração verde no EEP confirma a extração deste pigmento.

A escolha do etanol (EtOH) como solvente para as extrações foi realizada com base em algumas de suas características, como o fato ser um solvente de baixa toxicidade e biodegradável, e principalmente em virtude de ser uma molécula de caráter anfifílico, podendo extrair tanto compostos polares como apolares, resultando em extrações com taxas de perdas mínimas (TANAMATI et al., 2010; OLIVEIRA et al., 2016).

O EEB exibiu um rendimento superior comparado ao rendimento relatado por Galucio (2014) de 8,65% utilizando o mesmo solvente e parte da planta para a

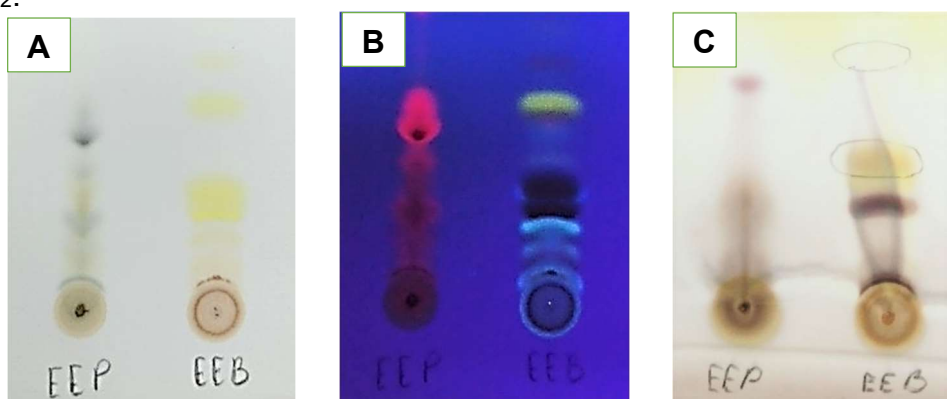
extração. Essa diferença pode estar relacionada a diversos fatores como: época de coleta, idade e desenvolvimento da planta, exposição à radiação ultravioleta, altitude, dentre outras variáveis ambientais, todos estes fatores podem influenciar não só a quantidade total de metabólitos produzidos, mas também nas proporções destes compostos na mistura (GOBBO-NETO, LOPES, 2007).

### 5.3 CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA (CCD)

A Cromatografia em Camada Delgada (CCD) é destinada à caracterização preliminar dos extratos por meio da determinação qualitativa do perfil cromatográfico, onde a cor, o número e a posição dos pontos na placa são registrados após a análise em vários sistemas de eluentes, associados aos reveladores específicos. A partir dessas avaliações, é possível identificar as classes de compostos presentes nos extratos analisados para permitir, posteriormente, a correlação com os resultados obtidos nos ensaios de atividades biológicas (RODRIGUES; SOUZA FILHO; FERREIRA, 2009).

Neste teste, a placa eluída em Hex/AcOEt (8:2), sugeriu a presença de metabólitos de média polaridade. Após a eluição da placa, a mesma foi exposta à luz UV nos comprimentos de onda em  $\lambda$  254 e 365 nm, no entanto, em 365 nm, foi possível visualizar a presença de fluorescência vermelho alaranjada, azul e amarela (FIGURA 6-B).

**Figura 6** - Perfil cromatográfico, em Hex/AcOET (8:2), do EEP e EEB. (A) Após a eluição; (B) Após revelação física (UV 365 nm); (C) Após revelação química em  $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ .



Fonte: Autoria própria (2021).

A observação da placa, em luz UV à 365 nm (FIGURA 6-B, pág. 55), permitiu a visualização de manchas fluorescentes com coloração vermelho-alaranjada no EEP, segundo Marinho et al. (2018), estas manchas correspondem, possivelmente, a pigmentos vegetais, como a clorofila. As manchas de coloração verde no EEP antes da exposição aos reveladores (FIGURA 6-A, pág. 55) confirmam a presença deste pigmento. Já a cor amarela-fluorescente apresentada no EEB sob luz UV ( $\lambda$  365 nm) pode ser característica da presença de compostos derivados do antraceno (WAGNER; BLADT, 1996). Ainda segundo Wagner e Bladt (1996), o aparecimento da cor azul-fluorescente observada no EEB sob luz UV pode ser característica da presença de cumarinas.

Após a revelação química da cromatoplaça em  $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$  (FIGURA 6-C, pág. 55), observou-se, em ambos os extratos, a presença da cor roxa, característica de compostos terpênicos, e da coloração amarela no EEB característica de compostos fenólicos, especialmente flavonoides (CHAVES, 1997).

#### 5.4 TESTES FITOQUÍMICOS PARA METABÓLITOS SECUNDÁRIOS

A triagem fitoquímica realizada a partir da solução hidroalcoólica dos extratos etanólicos das palhas (EEP) e bulbos (EEB) de *E. bulbosa* seguiram o método de Matos (2009), no qual foram selecionados nove testes para a análise qualitativa de diferentes classes de metabólitos secundários, além do teste para quinonas no qual utilizou-se a metodologia adaptada de Saraiva et al. (2018) e Matos (2009). Ademais o método estabelecido por Kloss et al. (2016) foi utilizado para analisar a presença de alcaloides e cumarinas.

Durante as análises fitoquímicas, observou-se que os metabólitos secundários presentes em ambos os extratos de *E. bulbosa* foram taninos condensados, leucoantocianidinas, flavanonas, quinonas, cumarinas, heterosídeos saponínicos e alcaloides. Os resultados obtidos para o EEP foram de difícil interpretação, devido a sua coloração escura, causada pela presença da clorofila, o que pode ocasionar o mascaramento das cores. No entanto, pôde-se determinar com clareza a presença predominantemente de esteroides livres e cumarinas em relação aos bulbos. Já as chalconas, auronas, triterpenos pentacíclicos e quinonas apresentaram-se em maior evidência nos bulbos, conforme apresenta o Quadro 2 (Pág. 57).

**Quadro 2** - Composição fitoquímica do EEP e EEB da espécie *E.bulbosa*.

| <b>Classe</b>              | <b>Metabólito</b>                    | <b>Palha</b> | <b>Bulbo</b> |
|----------------------------|--------------------------------------|--------------|--------------|
| <b>Compostos Fenólicos</b> | Fenóis                               | -            | -            |
|                            | Taninos Hidrolisáveis ou pirogálicos | -            | -            |
|                            | Taninos Condensados ou catéquicos    | +++          | +++          |
|                            | Antocianinas e Antocianidinas        | -            | -            |
|                            | Flavonas                             | -            | -            |
|                            | Flavonois e Xantonas                 | -            | -            |
|                            | Chalconas e auronas                  | -            | +++          |
|                            | Leucoantocianidinas                  | +++          | ++           |
|                            | Flavanonas                           | +            | ++           |
|                            | Diidroflavonois                      | -            | -            |
|                            | Cumarinas                            | +++          | +            |
|                            | Quinonas                             | +            | +++          |
| <b>Terpenos</b>            | Esteroides livres                    | +++          |              |
|                            | Triterpenos pentacíclicos            | -            | +++          |
|                            | Heterosídeos saponínicos             | ++           | +++          |
| <b>Alcaloides</b>          | Alcaloides                           | ++           | +++          |

Fonte: Autoria própria (2021).

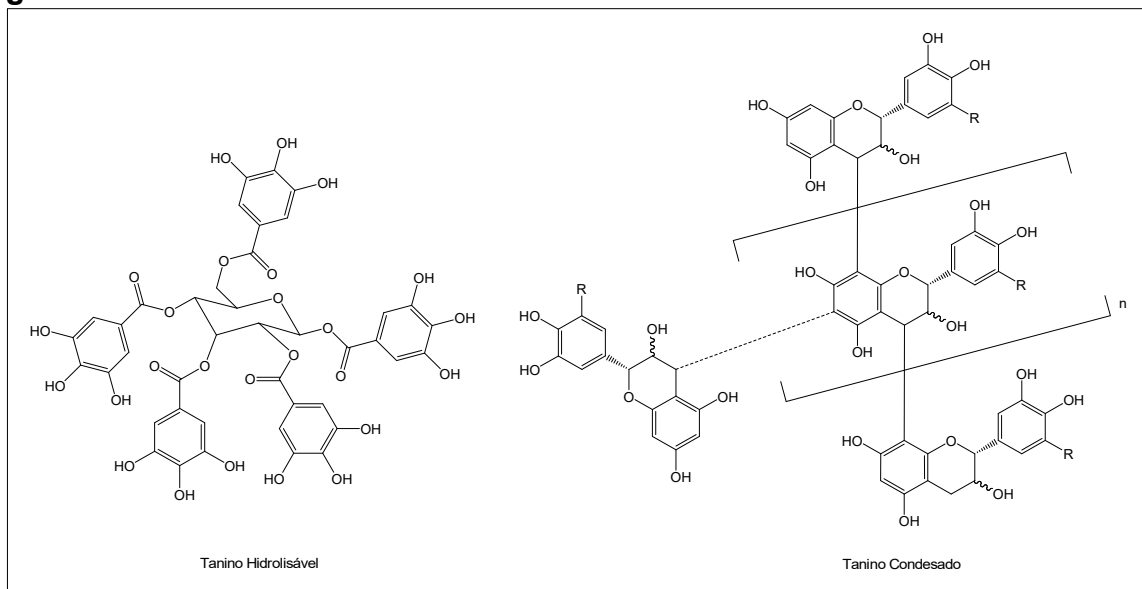
Para os testes a seguir, o primeiro tubo (posicionado ao lado esquerdo) contém a solução hidroalcoólica (padrão) e o segundo tubo (posicionado ao lado direito) a solução obtida logo após os procedimentos experimentais.

#### 5.4.1 Taninos

Os taninos pertencem a um grupo de compostos polifenólicos de ocorrência natural em plantas, são substâncias hidrossolúveis de peso molecular elevado. Dependendo da estrutura química, os taninos são classificados em dois grupos: hidrolisados e condensados. Os taninos hidrolisáveis (galotaninos) são caracterizados pela presença de um poliálcool central, geralmente  $\beta$ -D-glicose, cuja as funções

hidroxiladas são esterificadas com os ácidos fenólicos, como o ácido gálico. Já os taninos condensados (proantocianidinas) são polímeros formados pela condensação de flavan-3-ol e flavan-3,4-diol (FIGURA 7) (MONTEIRO et al., 2005; SIMÕES et al., 2007).

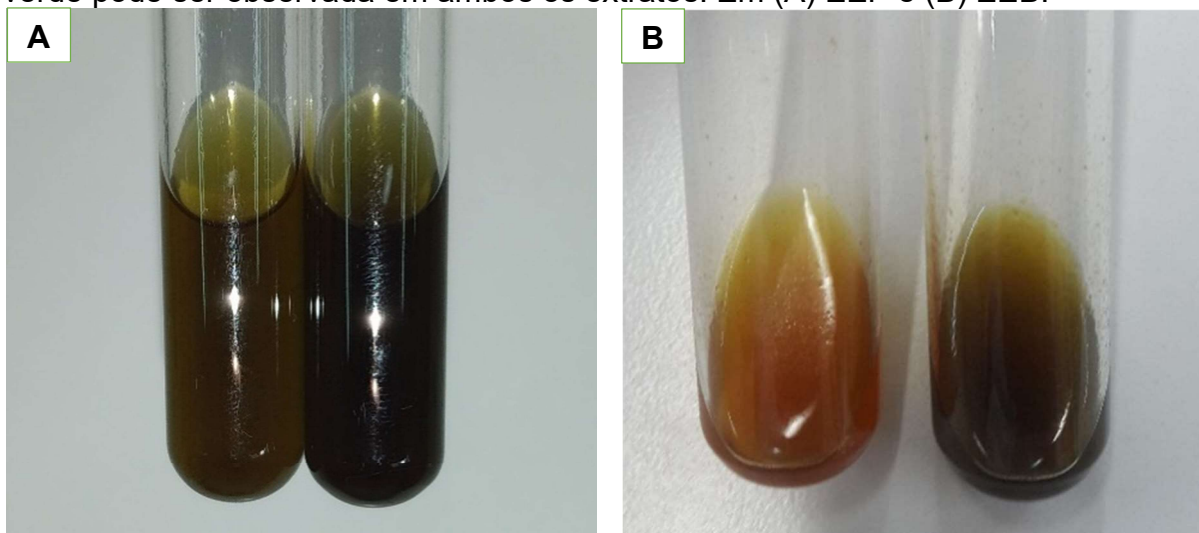
**Figura 7** - Fórmula estrutural de um tanino hidrolisável e de um tanino condensado.



Fonte: Adaptado de Silva (2018).

Neste teste, foi identificada a presença de taninos condensados em ambos os extratos (EEP e EEB), a partir da coloração esverdeada (FIGURA 8). O resultado obtido para o EEP foi de difícil interpretação, devido a sua coloração escura causada pela presença da clorofila, o que dificultou a leitura do resultado para as palhas. Apesar disso, foi possível observar a intensificação da coloração verde.

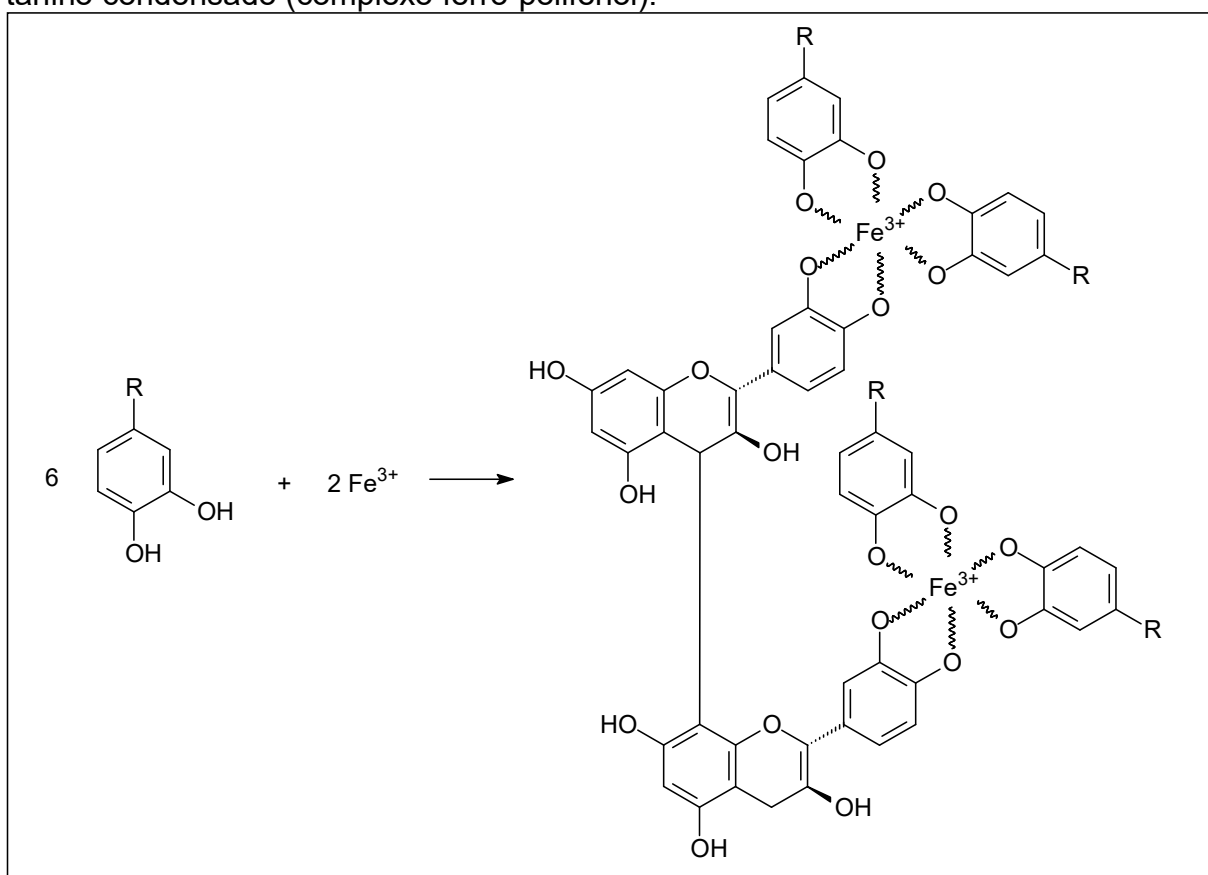
**Figura 8** - Resultado qualitativo obtido no teste para fenóis e taninos. A coloração verde pode ser observada em ambos os extratos. Em (A) EEP e (B) EEB.



Fonte: Autoria própria (2021).

Esse método se baseia na redução do  $\text{Fe}^{3+}$ , pois os compostos fenólicos, como os taninos, têm a capacidade de reduzir o  $\text{Fe}^{3+}$  em  $\text{Fe}^{2+}$ , formando um complexo colorido resultante do  $\text{Fe}^{2+}$  (TEXEIRA, RODRIGUES, SANTOS, 2016). O  $\text{Fe}^{2+}$  é fortemente estabilizado por ligantes polifenóis, mas é oxidado rapidamente na presença de oxigênio para formar complexos (ferro-polifenóis), fenômeno comumente conhecido como autoxidação. Os polifenóis vegetais se quelam com os íons  $\text{Fe}^{3+}$  de forma esférica, como pode ser observado na Figura 9 (SAIF, TAHIR, CHEN, 2016).

**Figura 9** - Proposta de reação de complexação do ferro na caracterização de um tanino condensado (complexo ferro-polifenol).



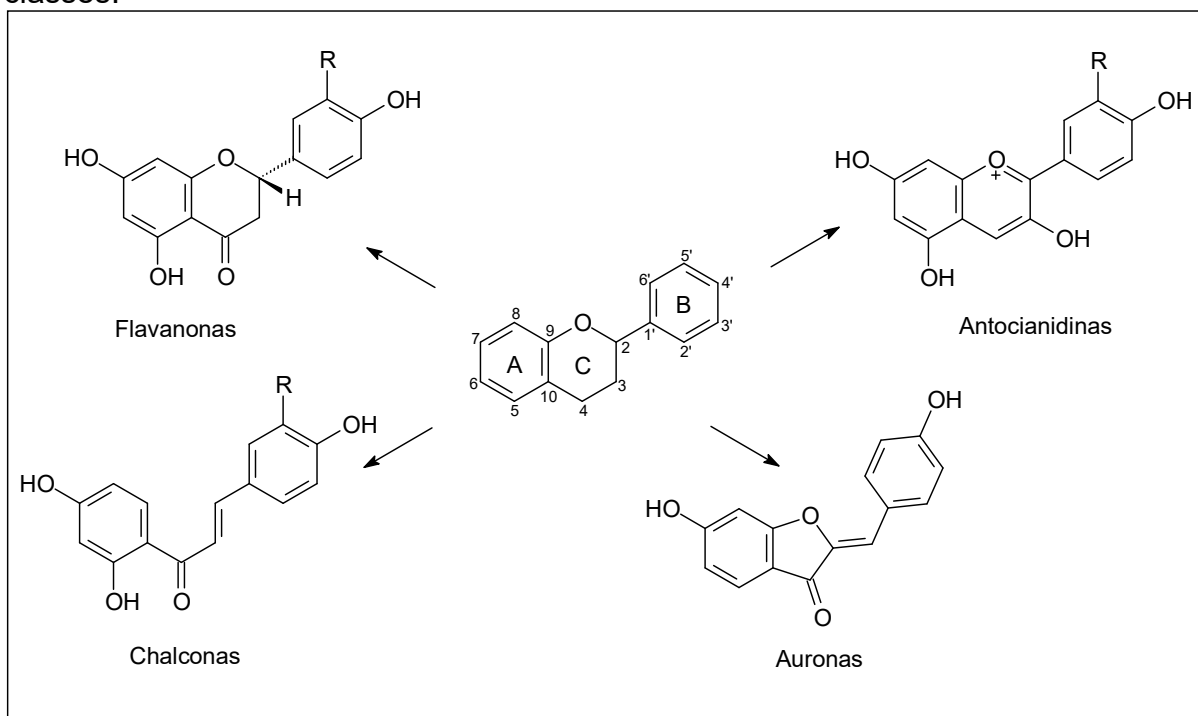
Fonte: Adaptado de Saif, Tahir e Chen, (2016).

#### 5.4.2 Antocianinas, antocianidinas e flavonoides

Os flavonoides compõem uma das principais classes de compostos fenólicos. A fórmula estrutural básica destes compostos consiste em 15 carbonos, normalmente, distribuídos em dois anéis aromáticos (A e B) que estão interligados a uma estrutura heterocíclica central, o pirano (anel C) (FIGURA 10, pág. 60). Por apresentarem mais de um anel aromático hidroxilado, os flavonoides são comumente referidos como

polifenois (NEVES, 2015; DALLORSOLETA, 2019). Cheynier (2005), relata que dependendo do estado de oxidação da cadeia heterocíclica do pirano, têm-se diferentes grupos de flavonoides. Algumas dessas classes podem ser observadas na Figura 10, logo abaixo.

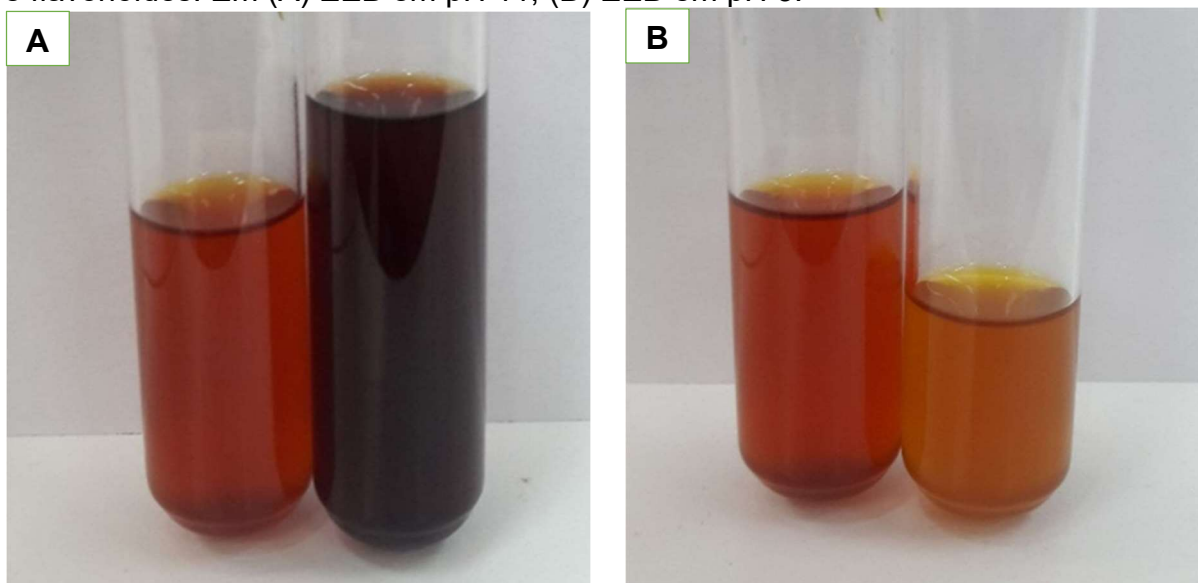
**Figura 10** - Fórmula estrutural básica dos flavonoides e algumas das principais classes.



Fonte: Adaptado de Dallorsoleta, (2019).

Neste teste qualitativo de controle de pH, o aparecimento de diversas cores pode indicar a presença de alguns compostos, tais como: antocianina, antocianidina e flavonoides. O aparecimento da coloração vermelho-púrpura no EEB ao ser alcalinizado com NaOH 10% à pH 11 indicou a presença de chalconas e auronas (FIGURA 11-A, pág. 61), a coloração amarelada no EEB ao ser acidificada a pH 3 também sugere a presença dessa classe de substâncias (FIGURA 11-B, pág. 61). Neste teste não foi possível observar com clareza as variações de cor do EEP devido a coloração verde intensa decorrente à presença da clorofila.

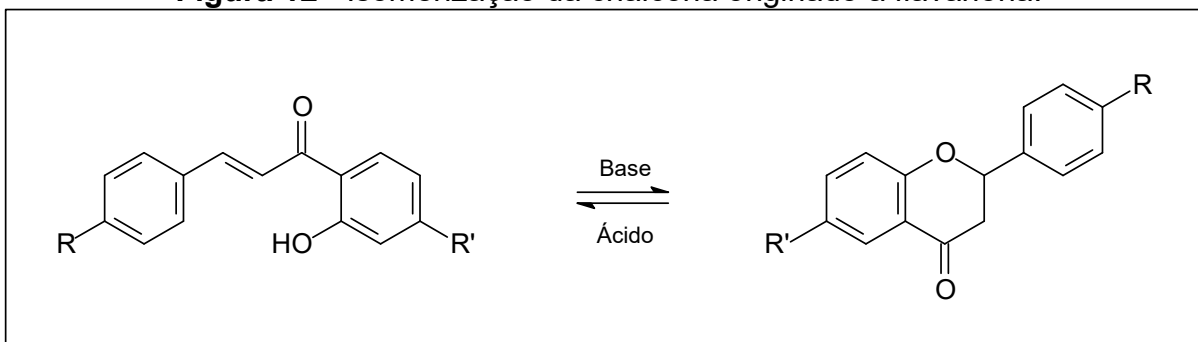
**Figura 11** - Resultado colorimétrico obtido no teste para antocianinas, antocianidinas e flavonoides. Em (A) EEB em pH 11; (B) EEB em pH 3.



Fonte: Autoria própria (2021).

O aparecimento de cor em pigmentos vegetais está relacionado a sua estrutura química, podendo sofrer alterações de acordo com a variação de pH. As chalconas são precursoras dos flavonoides e uma de suas características marcantes (também observada nas auronas) é apresentar uma coloração amarela que passa para vermelho em meio básico. Essa mudança de coloração pode ser claramente observada no EEB (FIGURA 11). As chalconas podem sofrer hidrólise alcalina e serem, então, isomerizadas a flavanonas, produzindo uma coloração vermelha (SIMÕES et al., 2007; DEWICK, 2009). Porém, Magalhães (2006), relata ainda que essa isomerização também pode ocorrer em meio ácido (FIGURA 12).

**Figura 12** - Isomerização da chalcona originando a flavanona.



Fonte: Adaptado de Magalhães, (2006).

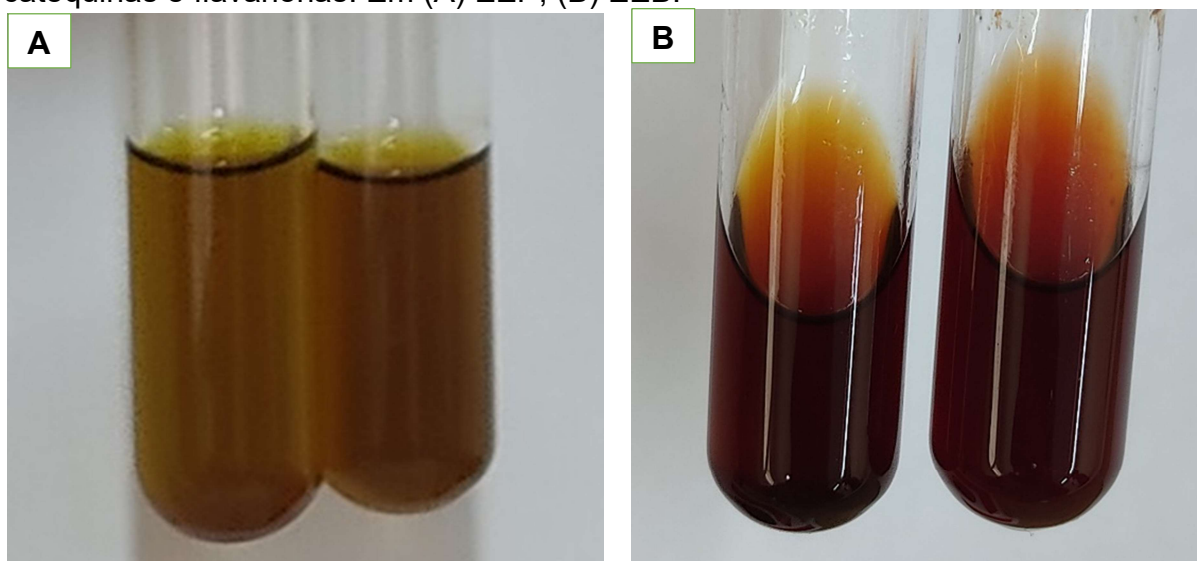
Segundo Ferreira et al. (2018), as chalconas são alvo de grande interesse químico-farmacológico especialmente devido a sua estrutura relativamente simples e a vasta gama de atividades farmacológicas que apresentam, das quais podem se destacar as atividades antioxidante, anti-inflamatória, anticonceptiva e anticonvulsivante.

#### 5.4.3 Flavanonas

As flavanonas representam um pequeno grupo de compostos derivados dos flavonoides, são caracterizadas pela presença de uma cadeia com três carbonos saturados e um oxigênio no C4, sendo normalmente glicosiladas por um dissacarídeo na posição C7. Estas se diferenciam das flavonas pela ausência da ligação dupla entre os carbonos C2 e C3 do anel pirano. A fórmula estrutural das flavanonas pode ser observada na Figura 10 (D'ARCHIVIO et al., 2007; FLORENTINO, 2018).

No presente teste foi observada a intensificação da coloração avermelhada em ambos os extratos (FIGURA 13) ao serem alcalinizados a pH 11 e colocados sob aquecimento, indicando um resultado positivo para flavanonas. Neste teste não foi possível visualizar uma mudança significativa da cor após o aquecimento das soluções acidificadas, sugerindo a ausência de catequinas e leucoantocianidinas. Segundo Matos (2009), em uma mistura com mais de um constituinte reativo, a presença de uma substância pode mascarar a coloração indicativa da outra classe.

**Figura 13** - Resultado colorimétrico obtido no teste para leucoantocianidinas, catequinas e flavanonas. Em (A) EEP; (B) EEB.



Fonte: Autoria própria (2021).

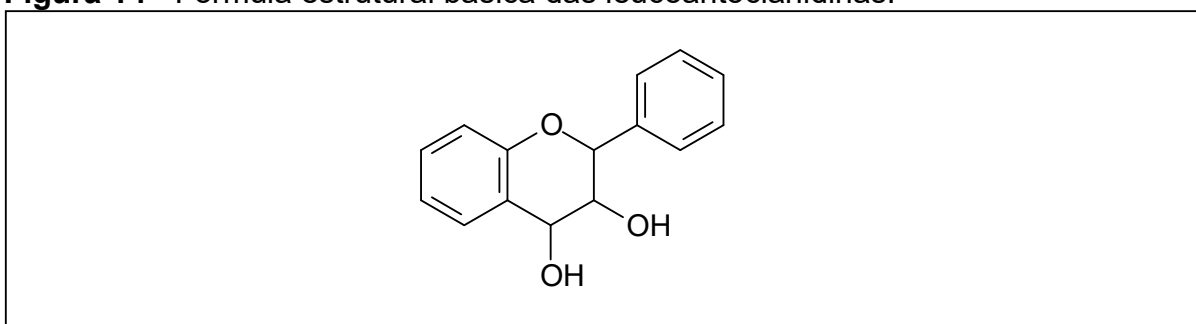
Devido à parte glicosilada das flavanonas estas podem sofrer hidrólises alcalina e ácida, facilitando a identificação de núcleos flavônicos. Nesse processo o aquecimento da amostra ocasiona a hidrólise de flavonoides O-heterosídeos, o que favorece o isolamento da genina flavônica (SIMÕES et al., 2007).

Sousa et al., (2005 apud OLIVEIRA, 2019, p. 49) relatou em seu trabalho a existência de flavanonas nos extratos hidroalcoólicos de *E. bulbosa*. As flavanonas podem desempenhar algumas propriedades benéficas à saúde, como as atividades antioxidante, hipolipidêmicas, anti-hipertensivas, anti-inflamatórias e antidiabéticas (SILVEIRA, 2014).

#### 5.4.4 Leucoantocianidinas

As leucoantocianidinas pertencem à família dos polifenóis naturais pertencentes à classe dos flavonoides (FIGURA 14), sua formação ocorre por meio da redução de diidroflavonois, originando estruturas intermediárias que podem produzir outros metabólitos, tais como catequinas, protoantocianidinas e antocianinas. A principal característica das leucoantocianidinas é a sua ação antioxidante hidrossolúvel que chega a ser superior a vitamina E, esse potencial antioxidante está relacionado ao fato de estabilizarem qualquer espécie de radical livre (FERNANDES et al., 2013; SIMÕES et al., 2007).

**Figura 14** - Fórmula estrutural básica das leucoantocianidinas.

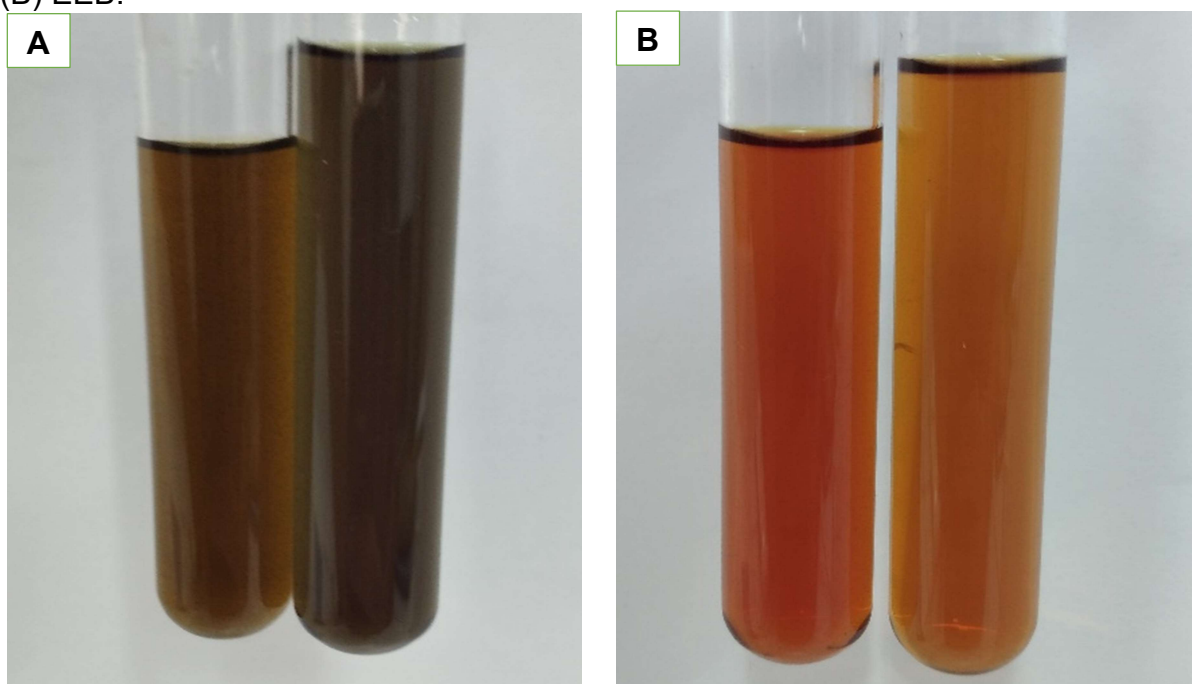


Fonte: Adaptado de Pozzi, (2007).

O teste do item anterior (5.4.3) sugeriu a ausência de leucoantocianidinas no extrato etanólico de *Eleutherine bulbosa*. No entanto, o teste confirmatório para essa classe de substância evidencia um resultado positivo para a presença deste metabólito em ambos os extratos, entretanto, para o EEP observou-se o desenvolvimento de uma cor verde escura (FIGURA 15-A, pág. 64), enquanto que

para EEB evidenciou-se uma coloração alaranjada (FIGURA 15-B). Segundo a metodologia de Matos (2009), a presença de leucoantocianidinas é confirmada pelo desenvolvimento da coloração na amostra aquecida.

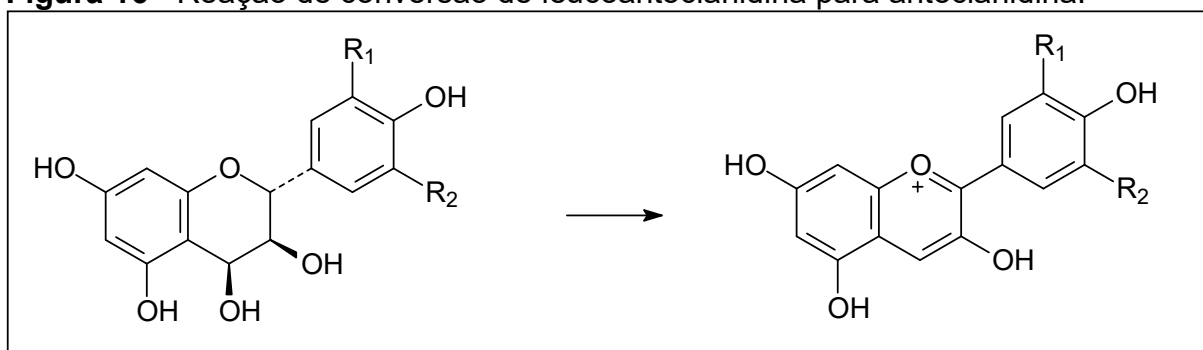
**Figura 15** - Resultado do teste confirmatório para leucoantocianidinas. Em (A) EEP; (B) EEB.



Fonte: Autoria própria (2021).

A reação para a identificação de leucoantocianidinas (FIGURA 16) consiste na formação de antocianidinas em meio ácido. O mecanismo de reação compreende a desidrogenação do C2 e a desidratação dos C3 e C4, como as antocianidinas são moléculas instáveis, ainda é possível ocorrer a glicosilação no grupo hidroxila do carbono C3, originando a antocianidina-3-glicosídeo. O desenvolvimento da coloração ocorre em virtude da formação do íon flavílico que é colorido (NAKAJIMA et al., 2001).

**Figura 16** - Reação de conversão de leucoantocianidina para antocianidina.

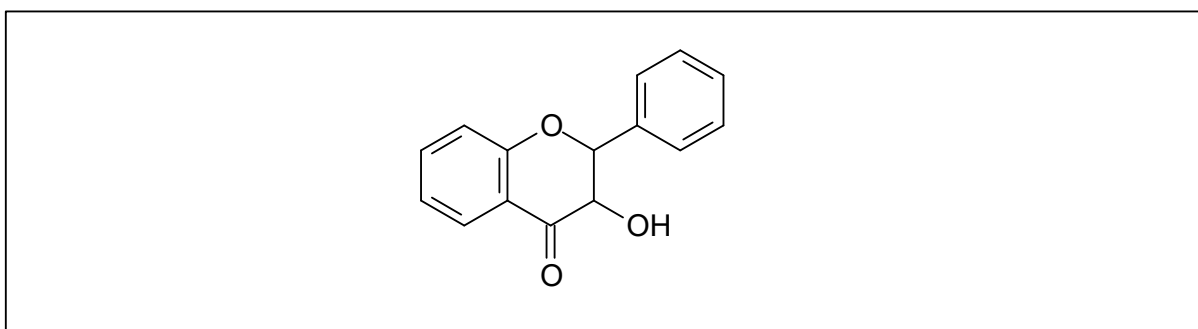


Fonte: Adaptado de Nakajima et al., (2001).

#### 5.4.5 Diidroflavonois

Os diidroflavonois são também conhecidos como flavanonois e possuem o anel C saturado com uma função carbonila no carbono C4, estes se diferenciam das flavanonas pela presença de uma hidroxila na posição C3, e devido a isso têm atividade antioxidante superior (FIGURA 17). Além do mais, são importantes intermediário na formação de flavonois e antocianinas (BRASOVEANU, 2018).

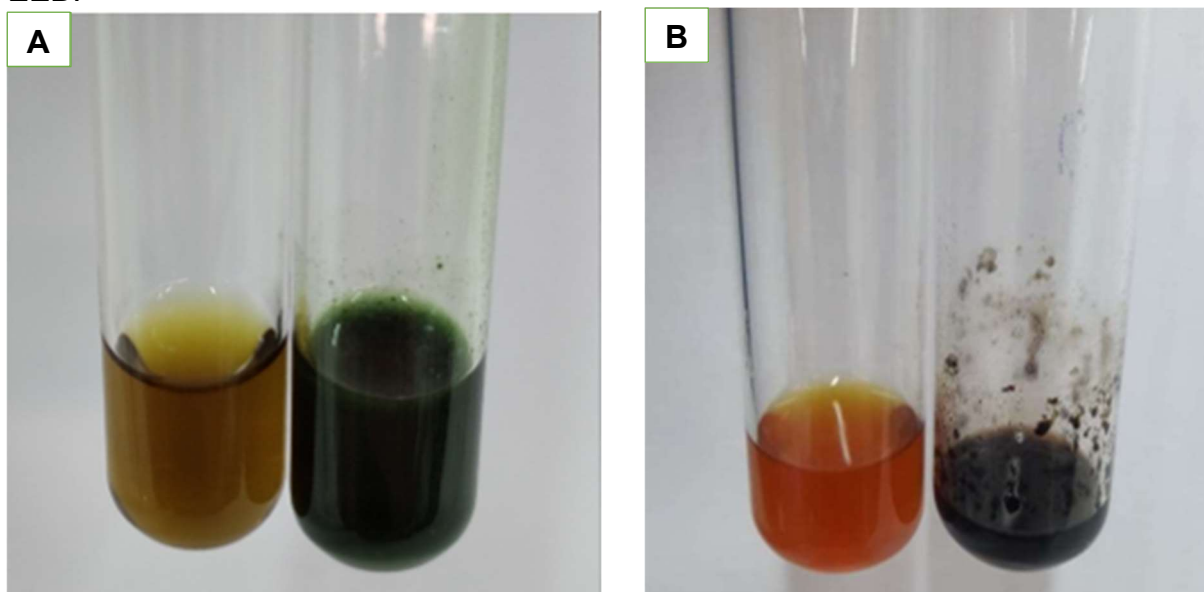
**Figura 17** - Fórmula estrutural básica dos diidroflavonois



Fonte: Adaptado de Brasoveanu, (2018).

No presente teste, conhecido como ensaio de Pacheco, foi possível observar que o EEP desenvolveu uma cor verde intensa (FIGURA 18-A), após a adição dos reagentes, enquanto que, o EEB apresentou uma coloração marrom (FIGURA 18-B).

**Figura 18** - Resultado do teste confirmatório para diidroflavonois. Em (A) EEP; (B) EEB.



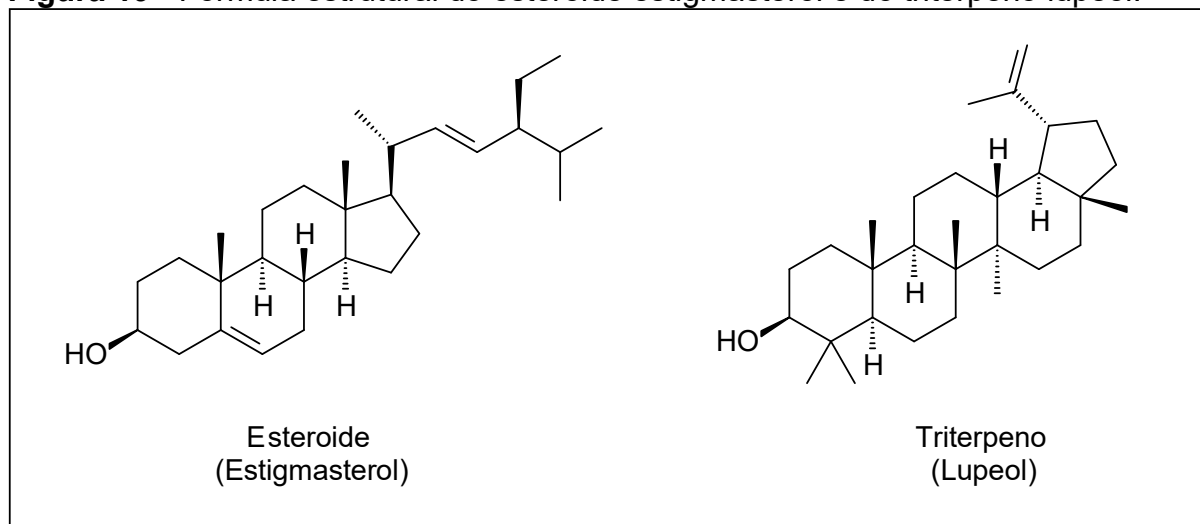
Fonte: Autoria própria (2021).

A metodologia de Matos (2009) não especifica a coloração esperada, relata apenas que o possível desenvolvimento de coloração na amostra é considerado um resultado positivo para diidroflavonois. Entretanto, Oliveira (2015), detalha em sua metodologia que no ensaio de Pacheco a confirmação da presença de diidroflavonois acontece a partir do surgimento da coloração roxa, que está relacionada ao aumento do número de hidroxilas no núcleo flavônico (SIMÕES et al., 2007). Dessa forma, o teste para diidroflavonois nos extratos etanólicos de *E. bulbosa* foi considerado como negativo.

#### 5.4.6 Esteroides livres e Triterpenos pentacíclicos

Os triterpenos pentacíclicos originam-se a partir da ciclização do escaleno, um composto que possui uma estrutura de cadeia linear com 30 carbonos. Já os esteroides são triterpenos modificados contendo o sistema de anéis tetracíclicos do lanosterol, mas sem os três grupos metil em C4 e C14 (GARCÍA, CARRIL, 2009; DEWICK, 2009). A Figura 19 apresenta a fórmula estrutural de um esteroide e de um triterpeno.

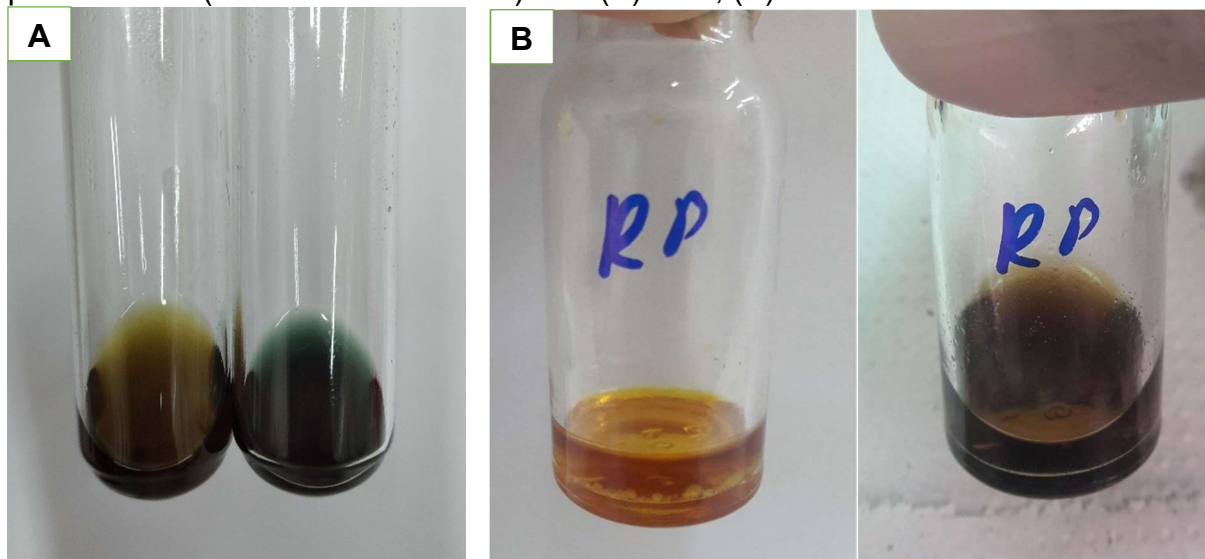
**Figura 19** - Fórmula estrutural do esteroide estigmasterol e do triterpeno lupeol.



Fonte: Adaptado de Dewick, (2009).

Neste teste, também conhecido como reação de Lieberman-Burchard, a variação da coloração de azul-efanescente para verde constante no EEP indicou a presença de esteroides livres (FIGURA 20-A, pág. 67), enquanto que, o aparecimento da cor parda no EEB sugeriu a presença de triterpenos pentacíclicos (FIGURA 20-B).

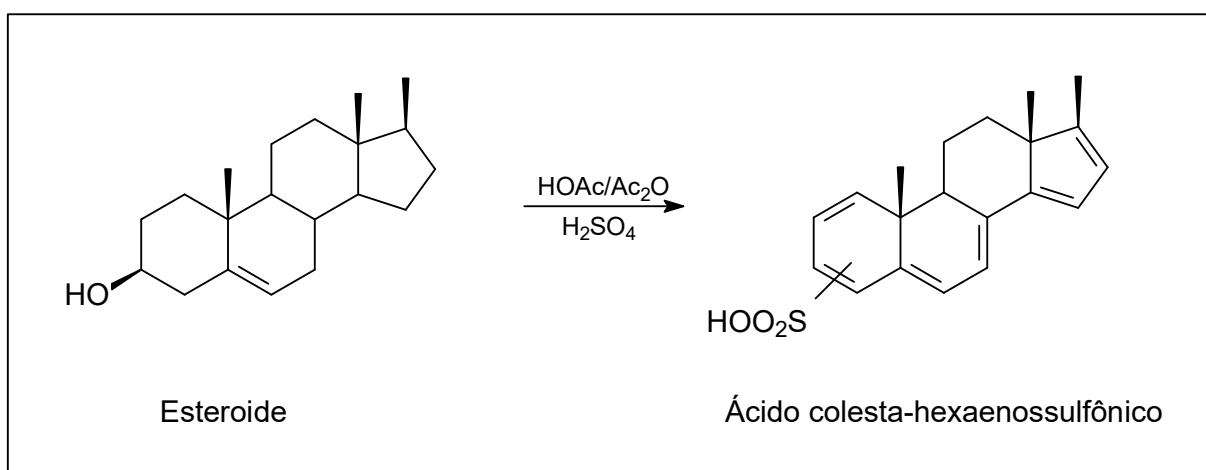
**Figura 20** - Resultado colorimétrico obtido no teste para esteroides livres e triterpenos pentacíclicos (Lieberman- Burchard). Em (A) EEP; (B) EEB.



Fonte: Autoria própria (2021).

A reação de Lieberman-Burchard, de acordo com Simões et al., (2007), consiste na desidratação, seguida de oxidação dos anéis do ciclopentanoperifenantreno, resultando na formação de um derivado aromático (FIGURA 21), evidenciado pelo surgimento de uma coloração azul-esverdeada, e especificamente para os triterpenos ocorre o desenvolvimento de uma coloração avermelhada.

**Figura 21** - Reação de Lieberman-Burchard para a detecção de esteroide/ triterpeno.



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

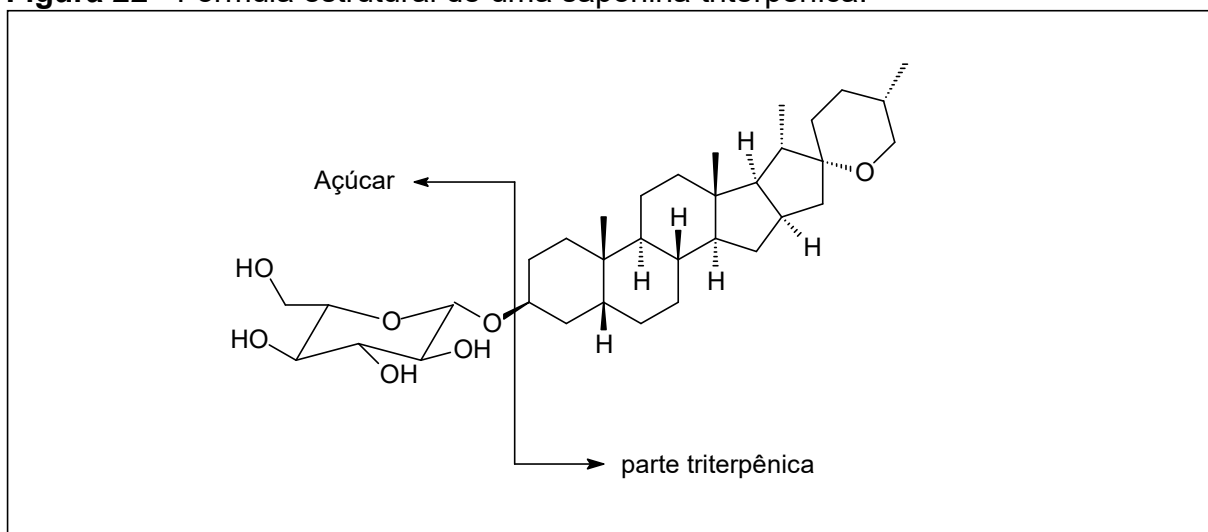
Um estudo fitoquímico sobre do extrato etanólico de *E. bulbosa* também apresentou resultado positivo para esteroides e triterpenos (MALHEIROS, 2008). Os

fitoesteróis são geralmente relacionados a ação hipocolesterolêmica, porém, esta classe de substâncias também apresenta atividades antiaterogênica, anti-inflamatória, anticonceptiva e antidiabética, além de indícios da efetividade no tratamento e prevenção de alguns tipos de câncer, como cólon, próstata e mama (FUJIWARA, 2012).

#### 5.4.7 Heterosídeos saponínicos

As saponinas são glicosídeos de esteroides ou de terpenos policíclicos, e possuem caráter anfifílico capaz de apresentar ação detergente e emulsificante (FIGURA 22). O comportamento anfifílico das saponinas e a capacidade de formar complexos com proteínas, esteroides e fosfolipídeos de membranas possibilitam ações biológicas variadas. Dentre estas pode-se destacar as atividades hemolíticas, citotóxica e molusquicida (CASTEJON, 2011).

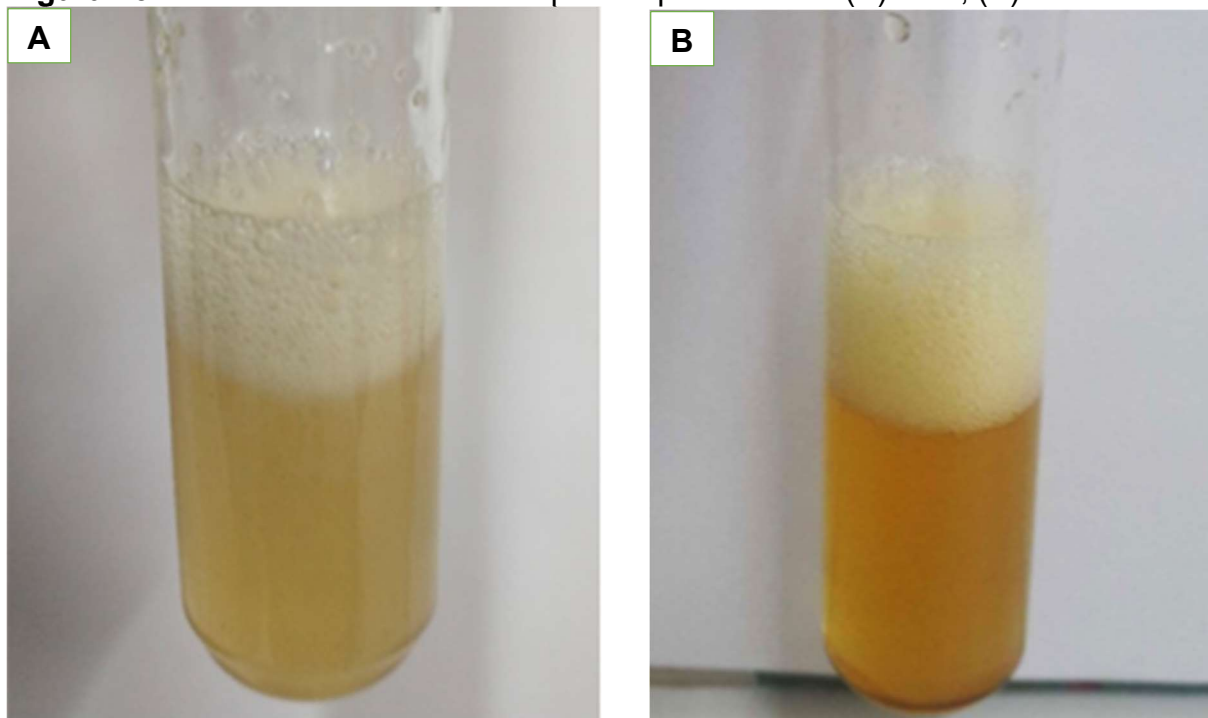
**Figura 22** - Fórmula estrutural de uma saponina triterpênica.



Fonte: Adaptado de Silva, (2018).

No presente teste, foi possível observar a formação de espuma em ambos os extratos etanólicos de *E. bulbosa*, porém, o EEB apresentou uma quantidade de espuma levemente maior que o EEP (FIGURA 23, pág. 69), esse efeito espumante evidencia a presença de heterosídeos saponínicos.

**Figura 23** - Resultado obtido no teste para saponinas. Em (A) EEP; (B) EEB.



Fonte: Autoria própria (2021).

O efeito espumante observado é decorrente da estrutura das saponinas, que possuem uma parte com característica lipofílica (triterpenos e esteroides) e outra parte hidrofílica (açúcares), o que define seu caráter anfifílico, permitindo que essa classe de compostos reduza a tensão superficial da água, observar Figuras 22 e 23 (SIMÕES et al., 2007).

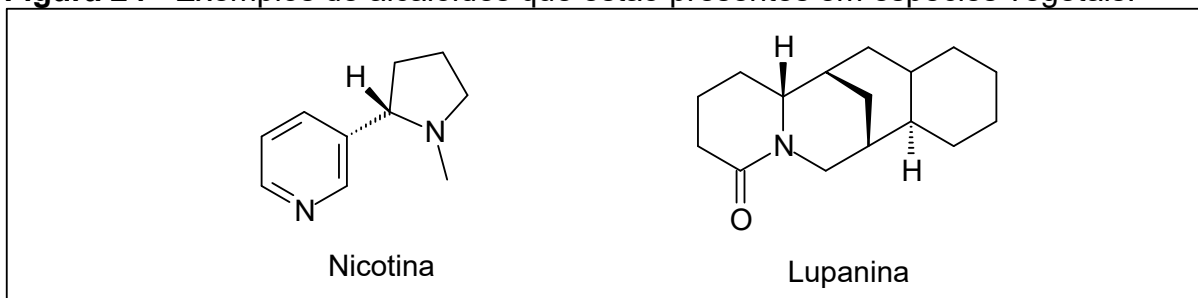
Oliveira (2019) relatou a detecção de saponinas no extrato hidroalcoólico das folhas obtido por Soxhlet. Já Malheiros (2008) constatou a presença de heterosídeos saponínicos nas frações residuais e acetato de etila. As saponinas podem ser identificadas em extratos com diferentes polaridades devido ao seu caráter anfifílico. Essa classe de substâncias é tradicionalmente utilizada como expectorante e diurética, além de serem empregadas como adjuvante para aumentar a resposta imunológica (SIMÕES et al., 2007).

#### **5.4.8 Alcaloides**

Como já mencionado no item 2.1.1 deste trabalho, os alcaloides são caracterizados por serem compostos cíclicos com pelo menos um nitrogênio na cadeia (FIGURA 24, pág. 70). Em geral apresentam caráter alcalino, onde o grau de basicidade varia de acordo com sua estrutura e seus ligantes, essa característica

facilita a sua identificação, pois formam sais solúveis em água na presença de ácidos (VIZZOTTO; KROLOW; WEBER, 2010; DEWICK, 2009).

**Figura 24** - Exemplos de alcaloides que estão presentes em espécies vegetais.

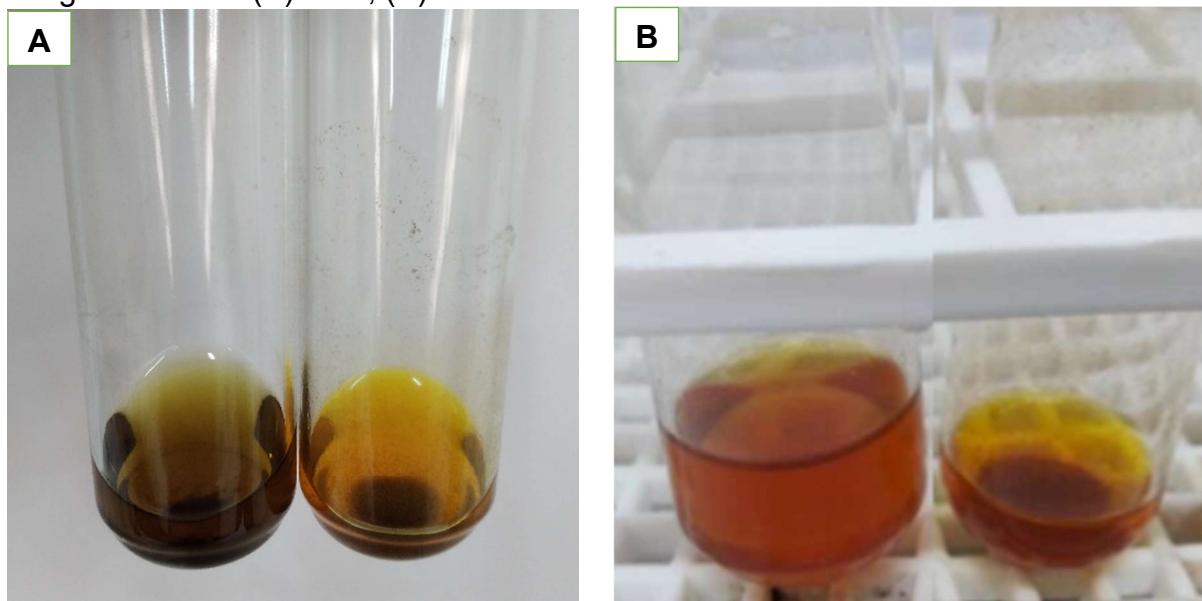


Fonte: Adaptado de Dewick, (2009).

Ferreira (2016) relata ainda que a variação estrutural dos alcaloides está relacionada com o amplo espectro das atividades biológicas observadas nesses compostos. Esses metabólitos, em humanos, produzem respostas fisiológicas e psicológicas que normalmente são consequências da sua interação com neurotransmissores.

As reações para a identificação de alcaloides se baseiam na formação de complexos insolúveis (precipitado) quando adicionado um reagente específico, como os reativos de Dragendorff e Wagner (TOMITA, 2014). Neste teste, foram utilizados estes reagentes para a detecção alcaloides. Na Figura 25, após a adição do reagente de Dragendorff, é possível observar a formação de precipitado em ambos os extratos etanólicos de *E. bulbosa*.

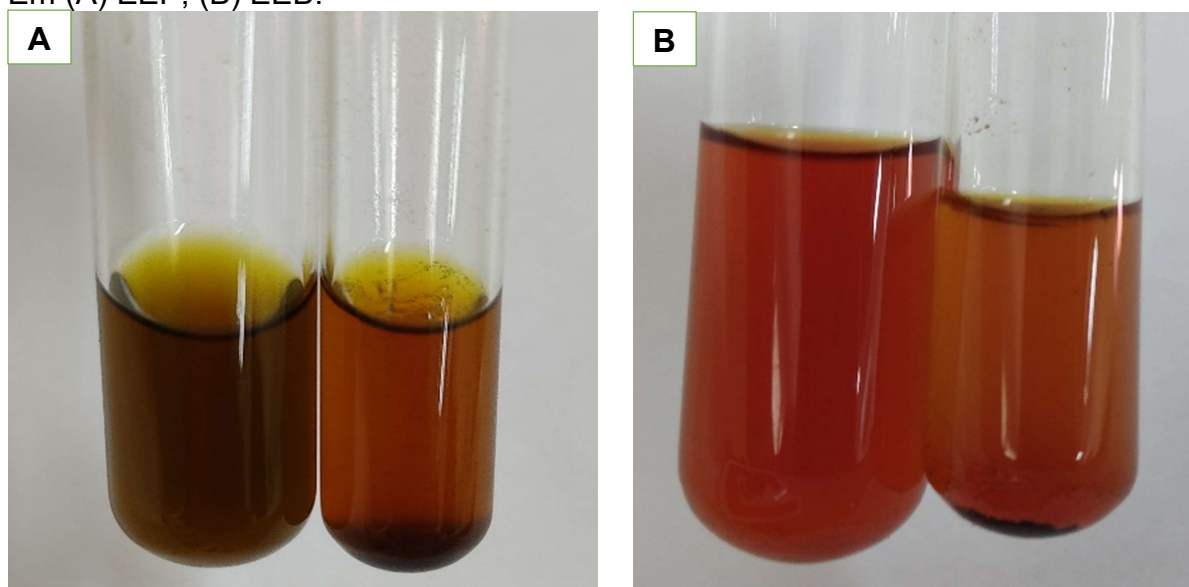
**Figura 25** - Resultado obtido no teste para alcaloides utilizando o reagente de Dragendorff. Em (A) EEP; (B) EEB.



Fonte: Autoria própria (2021).

Segundo Denny (2007), o reativo de Dragendorff é capaz reagir e formar precipitado com outros compostos nitrogenados, podendo ocasionar um falso positivo. Diante disso, realizou-se um segundo teste com o reagente de Wagner, que também apresentou um resultado positivo para alcaloides nos extratos etanólicos de *E. bulbosa* (FIGURA 26).

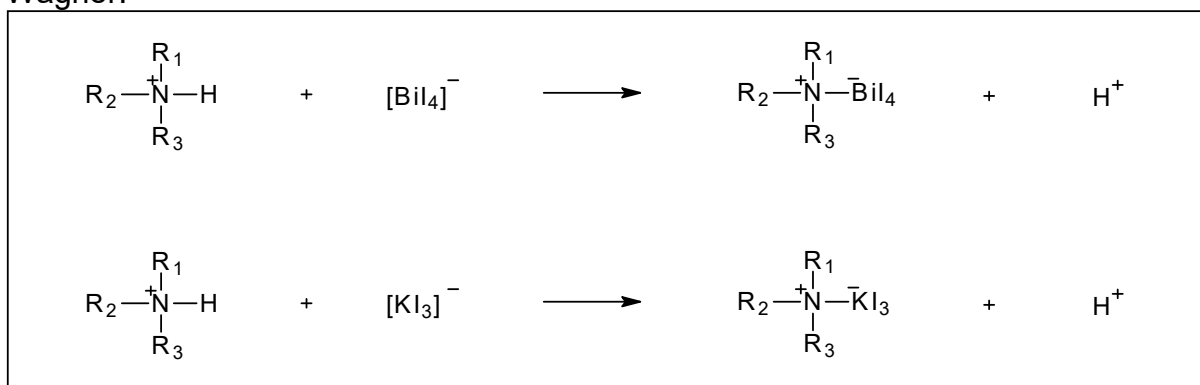
**Figura 26** - Resultado obtido no teste para alcaloides utilizando o reagente de Wagner. Em (A) EEP; (B) EEB.



Fonte: Autoria própria (2021).

De acordo com Ferreira (2016), em condições ácidas as aminas terciárias (presentes nos alcaloides) ficam na sua forma protonada e a adição do reativo de Dragendorff leva à formação de um precipitado corado, entre  $[\text{BiI}_4]^-$  (iodeto de bismuto) e o radical amina  $[\text{HNR}_3]^+$  (FIGURA 27). Uma reação semelhante ocorre com o reagente de Wagner a partir do iodeto de potássio  $\text{KI}_3$ .

**Figura 27** - Reação de precipitação de alcaloides com os reagentes de Dragendorff e Wagner.



Fonte: Adaptado de Souza, (2019).

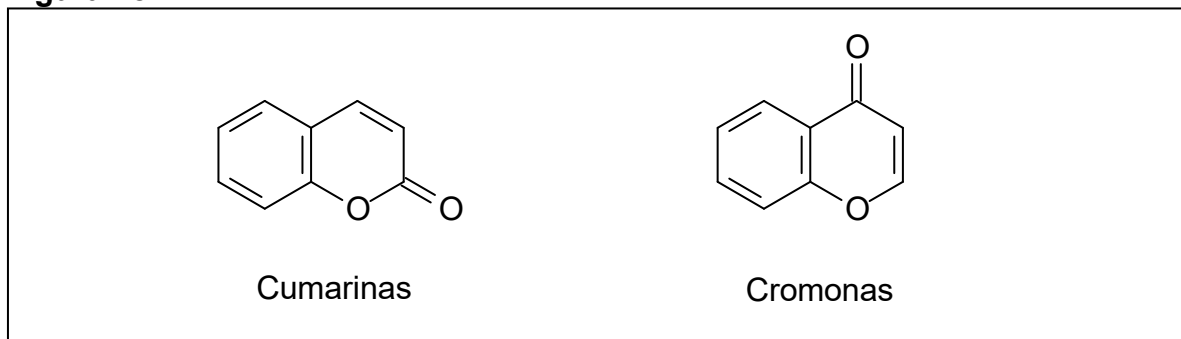
O presente estudo apresentou um resultado positivo para alcaloides comparado ao trabalho de Almeida (2016), que utilizou o extrato hexânico dos bulbos. Já Sousa et al., (2005 apud OLIVEIRA, 2019, p. 49), relata a presença de alcaloides no extrato hidroalcoólico dos bulbos e das palhas de *E. bulbosa*. Essa diferença de resultados pode estar relacionada a variáveis ambientais, processos bioquímicos e fisiológicos da planta ou ainda por conta das diferentes técnicas de extração utilizadas e o tipo de solvente empregado (OLIVEIRA et al., 2016; GOUVEA, 2010).

Devido ao fato de os alcaloides manifestarem funções relacionadas à defesa nas plantas, esses metabólitos passaram a ser de grande interesse farmacológico, uma vez que muitos alcaloides de origem vegetal têm sido utilizados como modelos na produção de fármacos sintéticos, como a atropina, que é modelo para a tropicamida, uma droga empregada em exames oftalmológicos para dilatar as pupilas e a quinina, que é um alcaloide com propriedades antimaláricas, analgésicas e antipiréticas (SOUZA, 2016).

#### 5.4.9 Cumarinas

As cumarinas são amplamente distribuídas nos vegetais, e encontradas em fungos e bactérias, estruturalmente, são lactonas do ácido *o*-hidróxi-cinâmico (2H-1-benzopiran-2-onas), possuindo com representante mais simples da classe a cumarina (1,2-benzopirona), e as cromonas (5H-1-benzopiran-5-onas) que são isômeros das cumarinas (FIGURA 28) (SILVA, 2018).

**Figura 28** - Fórmula estrutural básica das cumarinas e cromonas.

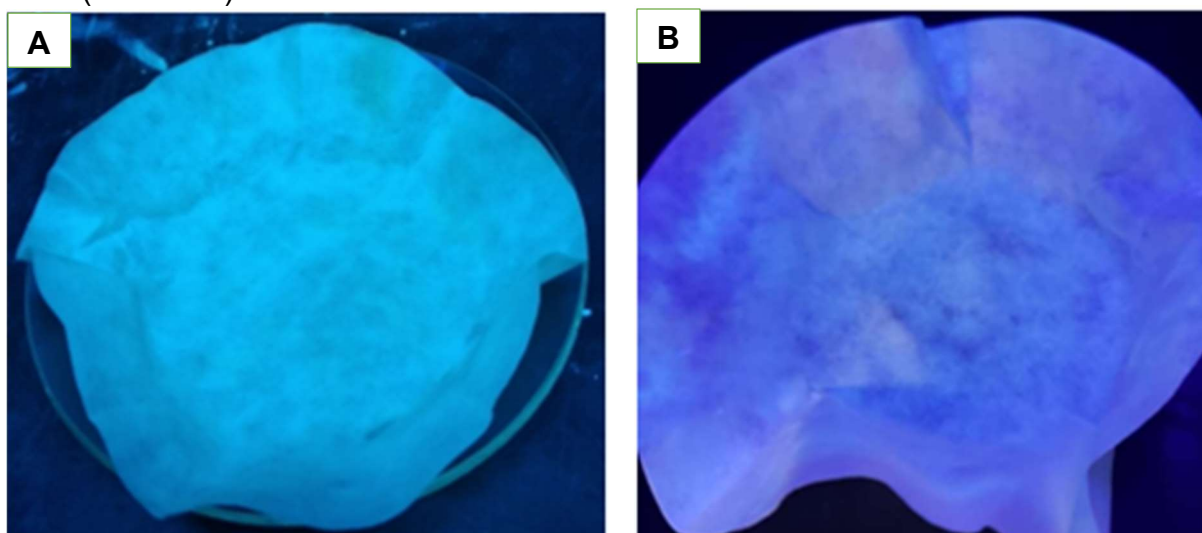


Fonte: Adaptado de Silva, (2018).

No presente teste, foi possível visualizar a presença de manchas verde-fluorescentes (UV nos comprimentos de onda em  $\lambda$  254 e 365 nm) características de

cumarinas (FIGURA 29). Na análise, o EEP apresentou uma quantidade de manchas fluorescentes superior ao EEB, indicando que em *E. bulbosa* há uma predominância de cumarinas nas palhas.

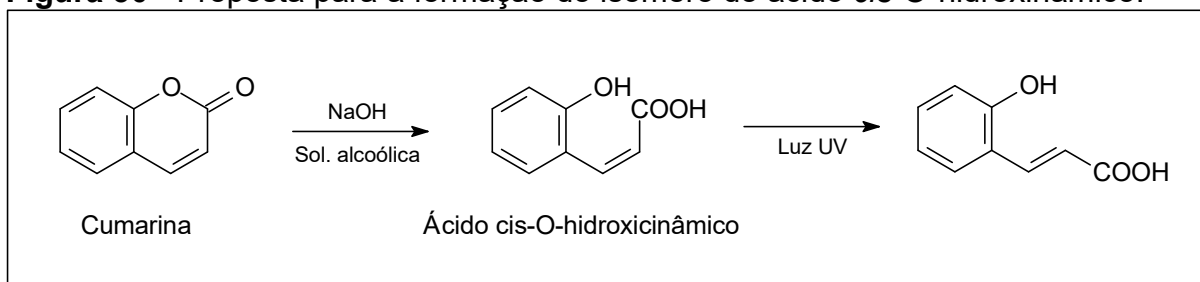
**Figura 29** - Resultado obtido no teste para cumarinas. Em (A) EEP ( $\lambda$  254 nm); (B) EEB ( $\lambda$  365 nm).



Fonte: Autoria própria (2021).

A fluorescência observada no teste é decorrente da abertura do anel lactônico em meio alcalino, formando o ácido *cis*-O-hidroxicinâmico, este composto quando exposto à radiação ultravioleta origina o seu isômero *trans* que apresenta fluorescência, a reação pode ser observada na Figura 30 (SOUZA, 2019).

**Figura 30** - Proposta para a formação do isômero do ácido *cis*-O-hidroxicinâmico.



Fonte: Adaptado de Souza, (2019).

A cumarina 2H-1-benzopiran-2-ona identificada no extrato etanólico dos bulbos de *E. bulbosa* apresentou as atividades bacteriostática, antioxidante e antitumoral (MUNAENI et al., 2019). As cumarinas são frequentemente relacionadas a uma variedade de atividades biológicas, como a atividade antimicrobiana, anti-inflamatória,

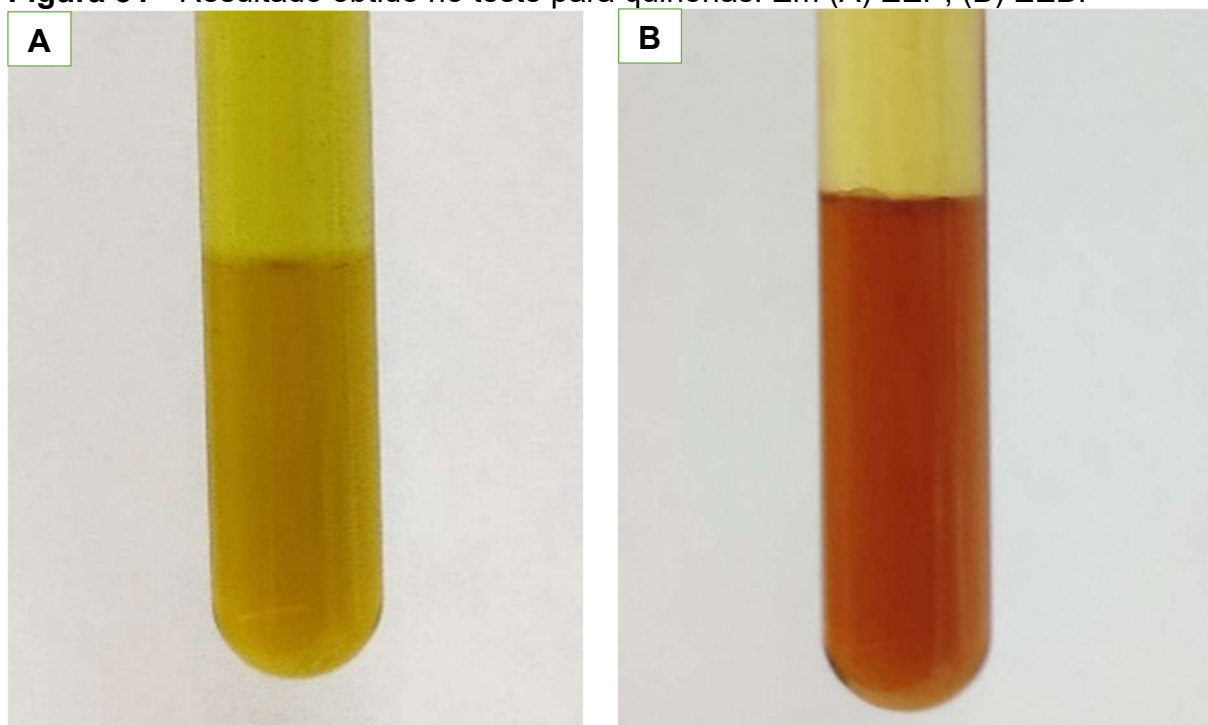
antiviral, antiespasmódica, anticoagulante, broncodilatadora, antioxidante e antitumoral (COUTINHO; GONÇALVES; MARCUCCI, 2020).

#### 5.4.10 Quinonas

Como citado no item 2.1.1.1, deste trabalho, as quinonas são compostos provenientes da oxidação de fenóis, sendo a sua principal característica a presença de dois grupos carbonílicos, nas posições *orto* ou *para*. Normalmente são classificadas em três grupos principais, as benzoquinonas, naftoquinonas e antraquinonas (SIMÕES et al., 2007; SILVA et al., 2003).

Neste teste, conhecido como reação de Borntrager, observou-se o aparecimento da coloração vermelha na fase aquosa no teste para o EEB (FIGURA 31-B), indicando a presença de quinonas. Já o resultado colorimétrico do EEP indicou a presença dessa classe de metabólitos em baixa intensidade (FIGURA 31-A).

**Figura 31** - Resultado obtido no teste para quinonas. Em (A) EEP; (B) EEB.

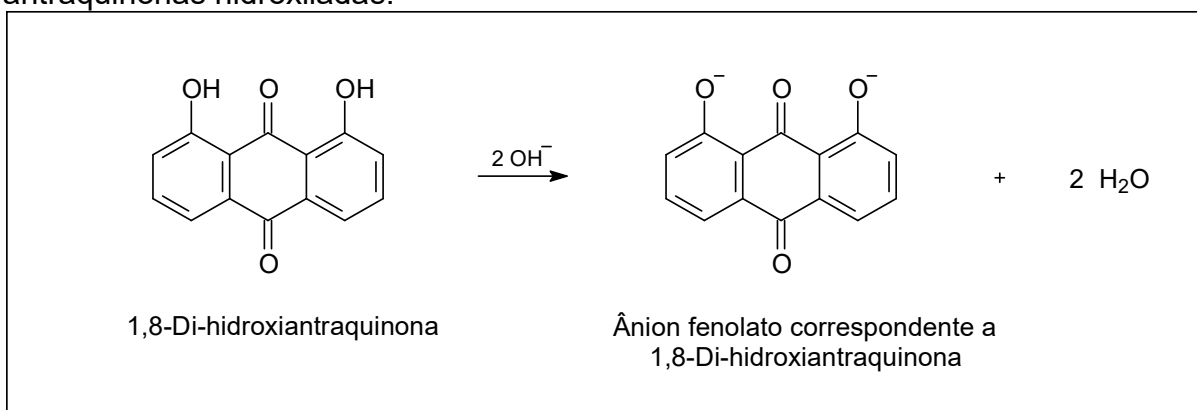


Fonte: Autoria própria (2021).

Segundo Matos (2009), a coloração vermelha na fase aquosa alcalinizada indica a presença de quinonas, especificamente antraquinonas hidroxiladas. De acordo com Simões et al., (2007) na reação para detecção de antraquinonas ocorre a

ionização das hidroxilas fenólicas para fenolatos hidrossolúveis que apresentam coloração azul-violeta em meio alcalino no caso das 1,2-di-hidroxiantraquinonas e cor vermelha no caso das 1,8-di-hidroxiantraquinonas (FIGURA 32).

**Figura 32** - Proposta de reação de formação do fenolato em meio alcalino a partir de antraquinonas hidroxiladas.



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

A revisão bibliográfica realizada no item 2.2.3, apresenta que as naftoquinonas e as antraquinonas estão entre os compostos, provenientes dos bulbos de *E. bulbosa*, mais relatados. As quinonas apresentam grande potencial farmacológico podendo ser empregadas como laxantes, anti-inflamatórios e agentes antimicrobianos, dentre outras atividades biológicas (DE MOURA, 2001).

## 5.5 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO ENSAIO DO DPPH·

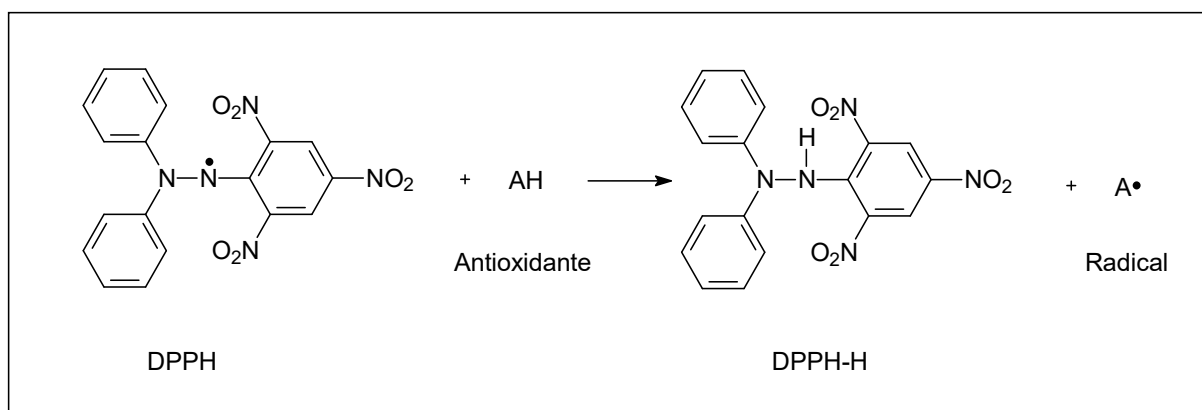
Os radicais livres podem ser definidos como qualquer espécie química que contenha um ou mais elétrons desemparelhados, desse modo são extremamente reativos e podem provocar diversas desordens metabólicas ao reagirem com biomoléculas. O excesso de radicais livres tem sido associado à ocorrência de várias doenças, incluindo inflamações crônica, diabetes, doenças neurodegenerativas, câncer, envelhecimento precoce, problemas respiratórios e desordens cardiovasculares (MACHADO et al., 2008; ANDRADE et al., 2007).

Antioxidantes são substâncias naturais capazes de prevenir ou reduzir a difusão do dano oxidativo, pois sequestram e estabilizam os radicais livres evitando que essas moléculas altamente reativas provoquem danos às células e, por

consequência, prevenindo o desenvolvimento de doenças (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007).

A avaliação da atividade antioxidante frente ao radical DPPH· (2,2-difenil-1-picril-hidrazila) é um dos métodos mais utilizados devido a sua maior sensibilidade e praticidade. O DPPH· É um radical estável de cor púrpura, que absorve em comprimento de onda de 516 nm. Na presença de compostos antioxidantes, o radical DPPH· pode receber um elétron ou um átomo de hidrogênio, por meio de uma reação de redução, produzindo a 2,2-difenilpicril-hidrazina (DPPH-H), que é menos reativa e tem coloração amarela. Com os resultados obtidos, nas análises por absorbância, determina-se o percentual de atividade antioxidante (%AA), que representa a quantidade de DPPH· consumida pelo antioxidante (OLIVEIRA et al., 2009). A redução do radical DPPH· é representada na Figura 33.

**Figura 33** - Reação de redução do radical DPPH· frente a um composto antioxidante.



Fonte: Adaptado de Oliveira et al., (2009).

O percentual de atividade antioxidante (%AA) para o extrato etanólico das palhas de *E. bulbosa* e dos controles positivos (rutina e BHT) frente ao radical DPPH· são apresentados na Tabela 6 (Pág. 77).

Os resultados demonstram que o EEP apresentou fraca atividade antioxidante no ensaio do radical DPPH·, pois em todas as concentrações avaliadas os percentuais foram inferiores aos obtidos para os padrões rutina e BHT. Na maior concentração testada (250 µg.mL<sup>-1</sup>) o %AA foi de 20,95 ± 3,50, enquanto que o padrão de rutina apresentou um %AA = 94,14 ± 0,22 e de BHT um %AA = 89,88 ± 0,83. A baixa atividade antioxidante é confirmada pelos valores altos de porcentagem de DPPH· remanescente do EEP (com 81% na concentração de 250 µg.mL<sup>-1</sup>), conforme o Gráfico 1 (Pág. 78). O DPPH· remanescente é a quantidade do radical (DPPH·) que

não reagiu com o antioxidante, de modo que quanto maior é a % DPPH remanescente menor é a atividade antioxidante da amostra analisada.

Esses resultados sugerem que o EEP de *E. bulbosa*, apesar de ser polar, não deve possuir uma concentração significativa de compostos fenólicos, os quais são geralmente sequestradores de radicais livres (NEVES, 2015).

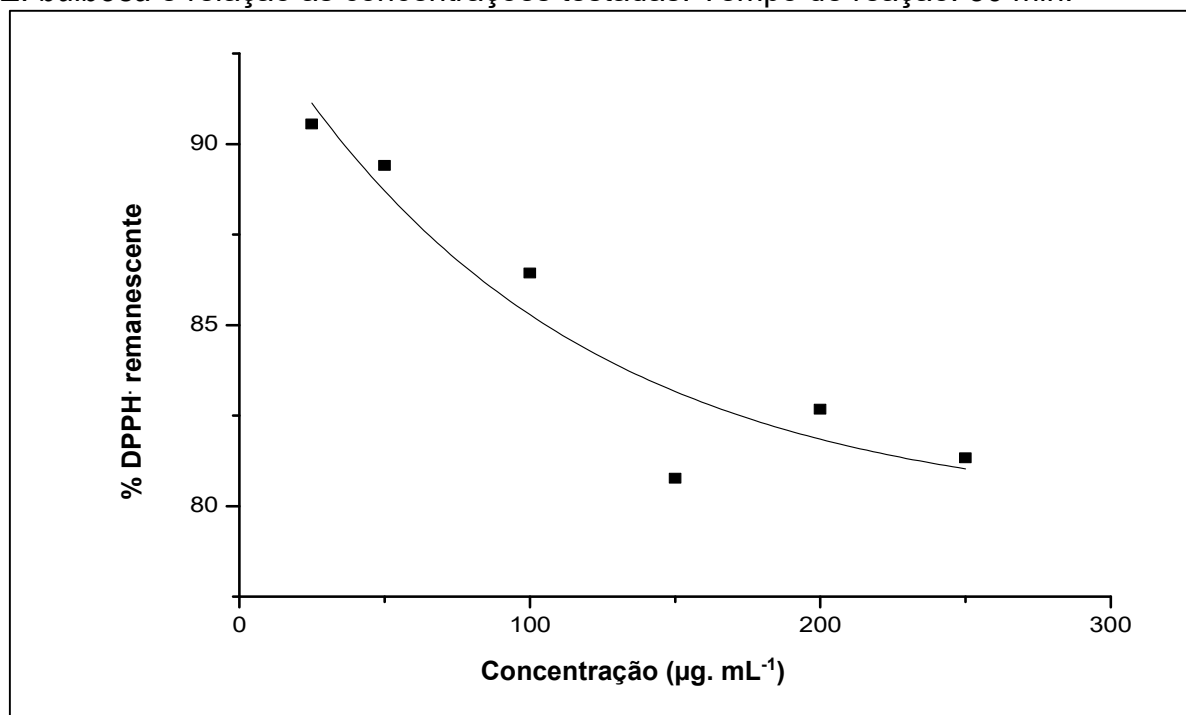
Porém, na determinação do teor de flavonoides (próximo item) foi observado que o EEP apresentou maior teor de flavonoides totais ( $118,30 \pm 1,01$  mg ER/g EtOH) quando comparado ao EEB ( $51,83 \pm 0,34$  mg ER/g EtOH). Essa discordância pode ser atribuída à presença majoritária de flavonoides mono-hidroxilados ou glicosilados no EEP, pois a presença desses compostos confere baixa capacidade antioxidante ao extrato (SOUZA, 2019).

**Tabela 6** - Percentual de atividade antioxidante (%AA) do extrato etanólico de *E. bulbosa* e dos controles positivos (rutina e BHT) no tempo de reação com DPPH igual 30min.

| Concentração avaliada      | DPPH<br>%AA $\pm$ DP |                  |                  |
|----------------------------|----------------------|------------------|------------------|
|                            | Rutina               | BHT              | EEP              |
| 25 $\mu\text{g. mL}^{-1}$  | $28,41 \pm 1,19$     | $25,41 \pm 1,82$ | $11,02 \pm 1,79$ |
| 50 $\mu\text{g. mL}^{-1}$  | $48,79 \pm 6,60$     | $39,55 \pm 3,99$ | $12,49 \pm 1,54$ |
| 100 $\mu\text{g. mL}^{-1}$ | $85,09 \pm 4,68$     | $61,02 \pm 2,11$ | $14,16 \pm 3,78$ |
| 150 $\mu\text{g. mL}^{-1}$ | $93,72 \pm 1,14$     | $73,58 \pm 1,84$ | $21,12 \pm 1,99$ |
| 150 $\mu\text{g. mL}^{-1}$ | $93,90 \pm 0,45$     | $83,03 \pm 2,37$ | $19,37 \pm 2,70$ |
| 250 $\mu\text{g. mL}^{-1}$ | $94,14 \pm 0,22$     | $89,88 \pm 0,83$ | $20,95 \pm 3,50$ |

Fonte: Autoria própria (2021).

**Gráfico 1** - Percentual de DPPH. remanescente (%DPPH.) do extrato etanólico de *E. bulbosa* e relação as concentrações testadas. Tempo de reação: 30 min.

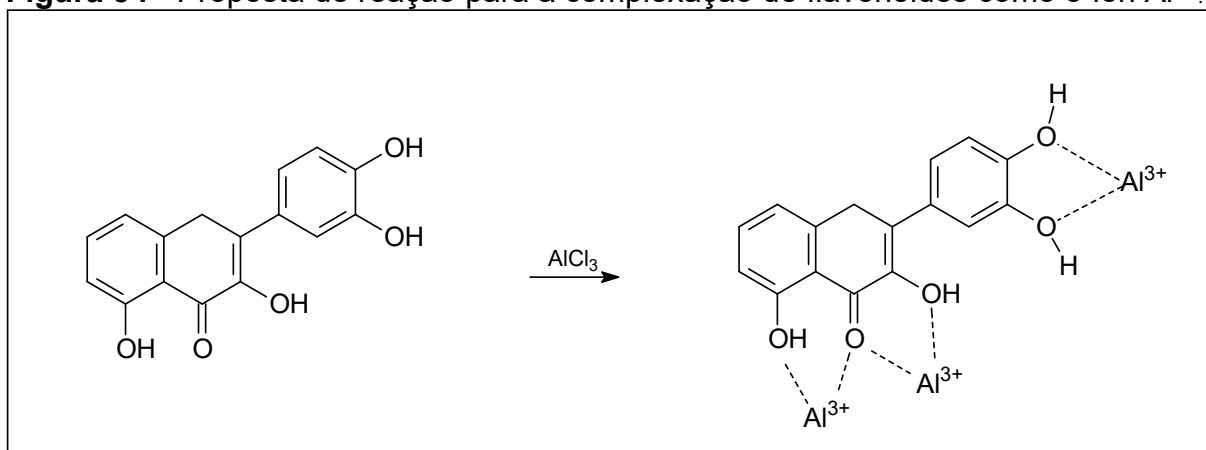


Fonte: Autoria própria (2021).

## 5.6 TEOR DE FLAVONOIDES TOTAIS (FLAT)

Os flavonoides são compostos antioxidantes devido a sua capacidade de estabilizar radicais livres e quelar metais (JABEEN et al., 2017). Além do potencial antioxidante, os flavonoides também apresentam propriedades antimicrobianas, antiviral, antiulcerogênica, citotóxicas, antineoplástica, antihepatotóxica, antihipertensiva, anti-inflamatória, hipolipidêmica e antiplaquetária (MACHADO et al., 2008).

O método utilizado para a determinação do teor de flavonoides total é baseado na complexação com o cloreto de alumínio (FIGURA 34, pág. 79) (PEIXOTO SOBRINHO et al., 2012). A formação desse complexo ocasiona um desvio para comprimentos de onda maiores e uma intensificação da absorção quando analisado por UV-vis (Ultravioleta-visível) (QUEIROZ, 2009).

**Figura 34** - Proposta de reação para a complexação de flavonoides como o íon  $\text{Al}^{3+}$ .

Fonte: Adaptado de Pozzi, (2007).

O teor de flavonoides totais, nos extratos, pode ser corroborado pela análise fitoquímica realizada, onde verificou-se a presença de chalconas, auronas, leucoantocianidinas e flavanonas. Além disso, observou-se a partir dos resultados expressos na Tabela 7 que o EEP apresentou maior teor de flavonoides totais ( $118,30 \pm 1,01$  mg ER/g EtOH) quando comparado ao EEB ( $51,83 \pm 0,34$  mg ER/g EtOH), porém, nos testes colorimétricos evidenciou-se uma proporção maior de classes flavonoídicas no EEB (Quadro 2, pág. 57). Essa discordância pode estar relacionada ao fato de que a identificação fitoquímica dos flavonoides pode ter sido mascarada pela coloração verde-escura do EEP durante as análises colorimétricas. Ademais, Matos (2009) detalha em sua literatura, em relação a essas análises, que em uma mistura com mais de um constituinte reativo, a presença de uma substância pode causar interferência na coloração indicativa da outra classe, podendo assim ser identificado apenas um ou nenhum grupo de flavonoides.

**Tabela 7** - Teor de flavonoides totais (FLAT) do EEP e EEB de *E. bulbosa*.

| Extrato etanólico | FLAT<br>mg de ER/g EtOH |
|-------------------|-------------------------|
| EEP               | $118,30 \pm 1,01$       |
| EEB               | $51,83 \pm 0,34$        |

Fonte: Autoria própria (2021).

Os extratos etanólicos (bulbos e palhas) exibiram teor de flavonoides inferior aos extratos etanólicos obtidos por Shi et al., (2019) que relata em seu trabalho um

FLAT igual a  $365,20 \pm 4,58$  mg CE/100g para as palhas e um FLAT de  $448,24 \pm 5,89$  mg CE/ 100g para os bulbos.

### 5.7 ENSAIO DE TOXIDADE FRENTE À *Artemia salina*

A *Artemia salina* é um microcrustáceo muito sensível a substâncias tóxicas, e devido a isso foi introduzido nos laboratórios de Produtos Naturais com o intuito de selecionar e monitorar a investigação fitoquímica de extratos vegetais na busca por compostos bioativos. Estudos já evidenciaram a correlação entre a toxidade da *A. salina* e a citotoxicidade, e a partir disso diversos trabalhos tentam correlacionar a toxicidade sobre *A. salina* com outras atividades biológicas como, antifúngica, viruscida e antimicrobiana. Outra característica desse bioensaio é que ele pode ser utilizado como indicador prévio da possível atividade antitumoral e pesticida (SCHNEIDER et al., 2015; SIQUEIRA et al., 1998; McLAUGHLIN, ROGERS, ANDERSON, 1998).

Quanto a determinação do grau de toxidade dos extratos, Ramli, Harada e Ruangrunsi (2011) relatam que o extrato é considerado atóxico se a  $DL_{50} > 1000$   $\mu\text{g.mL}^{-1}$ , fracamente tóxico se a  $DL_{50}$  estiver entre 500 e 1000  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ , tóxico se a  $DL_{50}$  estiver entre 100 e 500  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  e muito tóxico se a  $DL_{50} < 100$   $\mu\text{g.mL}^{-1}$ .

O extrato etanólico das palhas de *E. bulbosa* apresentou  $DL_{50}$  igual a 803,52  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ , considerando o intervalo de confiança de 95%, o que sugere fraca toxidade ao extrato. Este valor corrobora com o resultado de Couto et al., (2016), pois em seu trabalho foi relatado uma  $DL_{50} < 1000$  ppm para o extrato etanólico das partes aéreas de *E. bulbosa*.

A partir do extrato etanólico dos bulbos obteve-se a  $DL_{50}$  igual a 704,85  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ , considerando assim, fraca toxidade ao extrato. Santos et al. (2020) também realizaram o ensaio de toxidade do extrato etanólico dos bulbos frente à *A. salina* e obtiveram um valor de  $DL_{50} < 1000$   $\mu\text{g.mL}^{-1}$ , confirmando que o extrato possui baixa toxidade.

Tanto EEP ( $DL_{50} = 803,52$   $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ) quanto o EEB ( $DL_{50} 704,85$   $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ) apresentaram fraca toxicidade frente à *Artemia salina*, podendo ser, então, considerados seguros nas concentrações testadas.

## 6 CONCLUSÃO

A espécie vegetal *Eleutherine bulbosa* foi identificada e registrada no Herbário Delta do Parnaíba (HDELTA) da Universidade Federal do Delta do Parnaíba (UFDPAr) - *Campus* Ministro Reis Velloso, sob o número de tombo científico HDELTA 6977. O extrato etanólico das palhas (EEP) apresentou rendimento igual a 21,44% e o extrato etanólico dos bulbos (EEB) apresentou rendimento de 10,08%.

Analisando o perfil cromatográfico (CCD) dos extratos etanólicos de *E. bulbosa* foi possível identificar, no EEB, a presença de substâncias de natureza fenólica, especialmente flavonoides, derivados do antraceno e cumarinas, já os compostos terpênicos foram identificados em ambos os extratos (EEP e EEB). Os testes fitoquímicos, realizados com EEP e EEB, indicaram a presença de taninos condensados, leucoantocianidinas, flavanonas, quinonas, cumarinas, heterosídeos saponínicos e alcaloides. As chalconas, auronas e os triterpenos pentacíclicos foram identificados apenas no EEB, enquanto que, os esteroides livres foram detectados no EEP.

O extrato etanólico das palhas de *E. bulbosa* (EEP) apresentou fraca atividade antioxidante no ensaio do radical DPPH·, com %AA de 20,95% na maior concentração testada ( $250 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ), o que sugere a presença majoritária de flavonoides monohidroxilados ou glicosilados no EEP, pois a presença desses compostos confere baixa capacidade antioxidante ao extrato.

Com relação ao teor de flavonoides totais (FLAT) o EEP apresentou um valor ( $118,30 \pm 1,01 \text{ mg ER/g EtOH}$ ) superior ao do teor obtido para o EEB ( $51,83 \pm 0,34 \text{ mg ER/g EtOH}$ ), porém, nos testes colorimétricos evidenciou-se uma proporção maior de classes flavonoídicas no EEB. Essa discordância pode estar relacionada ao fato de que a presença e/ou a intensidade dessas de flavonoides foi mascarada pela coloração verde escura do EEP durante as análises.

Tanto EEP ( $\text{DL}_{50} = 803,52 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ) quanto o EEB ( $\text{DL}_{50} 704,85 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ) apresentaram fraca toxicidade frente à *Artemia salina*, podendo ser, então, considerados seguros nas concentrações testadas.

Este é o primeiro relato do perfil fitoquímico e toxicológico do EEP e EEB de *E. bulbosa* encontrada na região nordeste do Brasil, o que contribui para o enriquecimento dos estudos químico-toxicológicos da espécie, além da valorização da biodiversidade local.

## 7 PERSPECTIVAS FUTURAS

Diante da ausência de estudos com os extratos etanólicos de *Eleutherine bulbosa* encontrada na região nordeste do Brasil, pretende-se futuramente acrescentar ao estudo já realizado:

- A avaliação da atividade antioxidante do EEB;
- A realização da atividade antimicrobiana dos extratos (EEP) e (EEB);
- O isolamento dos metabólitos identificados.

## REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, Y.S. A. P. **Estudo fitoquímico e bioatividade de *Eleutherine bulbosa* (Miller) URB.** 2016. 133 f. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Programa de Pós-Graduação em Botânica, Manaus, 2016.
- ALTAMEME, H.J., HAMEED, I.H., ABU-SERAG, N. A. Analysis of bioactive phytochemical compounds of two medicinal plants, *Equisetum arvense* and *Alchemilla vulgaris* seeds using gas chromatography-mass spectrometry and Fourier-transform infrared spectroscopy. **Malays Appl Biol**, v. 44, n. 4, p. 47- 58, 2015.
- ALVES, T. M. A.; KLOOS, H.; ZANI, C. L. Eleutherinone, a novel fungitoxic naphthoquinone from *Eleutherine bulbosa* (Iridaceae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 98, n. 5, p. 709-712, 2003.
- BAHTIAR, A.; CHUMALA, D. Y. Dayak Onions (*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb.) Bulbs Extracts Reduces Blood Pressure of Hypoestrogen Model Rats by Controlling Lipids Profile. **International Journal of Morphology**, v. 36, n. 3, p. 1016- 1021, 2018.
- BESSA, N. G. F. et al. Prospecção fitoquímica preliminar de plantas nativas do cerrado de uso popular medicinal pela comunidade rural do assentamento vale verde - Tocantins. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 15, n. 4, p. 692-707, 2013.
- BIANCHI, C.; CERIOTTI, G. Chemical and Pharmacological Investigations of Constituents of *Eleutherine bulbosa* (Miller) Urb. (Iridaceae). **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 64, n. 8, p. 1305- 1308, 1975.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Plantas de interesse ao SUS. Portal da saúde, Brasília-DF, 2009. Portal da Saúde. Disponível em: [http://bysms.saude.gov.br/bvs/sus/pdf/marco/ms\\_relacao\\_plantas\\_medicinais\\_sus\\_0603.pdf](http://bysms.saude.gov.br/bvs/sus/pdf/marco/ms_relacao_plantas_medicinais_sus_0603.pdf). Acesso em: 25 jun. 2021.
- BRASOVEANU, O. **Caracterização do perfil fenólico e atividade antioxidante de sumo de uvas portuguesas.** 2018. 101 f. Dissertação (Mestrado em Segurança Alimentar) - Universidade de Coimbra, 2018.
- CASTEJON, F.V. **Taninos e saponinas.** 2011. 29 f. Seminário Aplicados, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2011.
- CHAVES, M. H. Análise de extratos de plantas por CCD: uma metodologia aplicada à disciplina "química orgânica". **Química Nova**, v. 20, p. 560-562, 1997.
- CHEYNIER, V. Polyphenols in foods are more complex than often thought. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 81, n. 1, p. 223S-229S, 2005.
- COUTINHO, L. A.; GONÇALVES, C. P.; MARCUCCI, M. C. Composição química, atividade biológica e segurança de uso de plantas do gênero *Mikania*. **Revista Fitos**, v. 14, n. 1, p. 118-144, 2020.

DALLORSOLETA, J. C. S. **Avaliação do potencial antioxidante in vitro dos frutos de amoreira-preta (*Rubus spp.*)**. 2019. 58 f. TCC (Graduação em Agronomia) - Universidade Federal de Santa Catarina, Curitibanos, 2019.

D'ARCHIVIO, M. et al. Polyphenols, dietary sources and bioavailability. **Annali dell'Istituto Superiore di Sanità**, v. 43, p. 348-61, 2007.

DE MOURA, K. C. G. et al. Trypanocidal activity of isolated naphthoquinones from *Tabebuia* and some heterocyclic derivatives: a review from an interdisciplinary study. **Journal of the Brazilian chemical society**, v. 12, p. 325-338, 2001.

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.

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

DIAS, D. A.; URBAN, S.; ROESSNER, U. A historical overview of natural products in drug discovery. **Metabolites**, v. 2, n. 2, p. 303-336, 2012.

DIAS, E. B. A. **Iridaceae Juss.** no Distrito Federal, Brasil. 2010. 61 f. Dissertação (Mestrado em Botânica). Universidade de Brasília, Distrito Federal, 2010. Disponível em: <https://repositorio.unb.br/handle/10482/7311>. Acesso em: 10 jul. 2021.

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](https://sites.chem.colostate.edu/diverdi/all_courses/CRC%20reference%20data/special%20analytical%20reagents.pdf). Acesso em: 30 nov. 2021.

EGGERS, L. *Eleutherine in*. **Flora do Brasil 2020**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB8048>>. Acesso em: 25 nov. 2021.

EMERY, F. S.; SANTOS, G. B.; BIANCHI, R. C. A química na natureza. **Coleção Química no Cotidiano**, v. 7. São Paulo: Sociedade Brasileira de Química, 2010.

FÉLIX-SILVA, J. et al. Identificação botânica e química de espécies vegetais de uso popular no Rio Grande do Norte, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Medicinas**, v. 14, p. 548-555, 2012.

FERNANDES, P. R. D. et al. Ensaios fitoquímicos em extratos de *Aspidosperma pyrifolium*. In: **IX Congresso de Iniciação Científica do IFRN**. 2013.  
FERREIRA, M. K. A. et al. Potencial Farmacológico de Chalconas: Uma Breve Revisão. **Revista Virtual de Química**, v. 10, n. 5, 2018.

FERREIRA, L. M. B.. **Prospecção fitoquímica e avaliação do potencial antifúngico de *Sida ciliaris* Linné (Malvaceae)**. 2016. 60 f. Monografia (Bacharel em Farmácia) - Universidade Federal de Campina Grande, Cuité, 2016.

FLORENTINO, J. V. **SÍNTESE DE CHALCONAS E FLAVONAS E AVALIAÇÃO DOS POTENCIAIS INIBITÓRIOS FRENTE AS ISOFORMAS DE ATP-DIFOSFOHIDROLASE DE *S. MANSONI***. 2018. 122 f. Dissertação (Mestrado em Química Orgânica) – Universidade Federal de Juiz de Fora, Programa de Pós-graduação em Química, Juiz de Fora, 2018.

FUJIWARA, G.M. **Microencapsulação de estigmasterol utilizando alginato de sódio, quitosana e amido**. 2012. 120 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Paraná, Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Curitiba, 2012.

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, 2008.

GALLO, F. R. et al. Polyketides from *Eleutherine bulbosa*. **Natural product research**, v. 24, n. 16, p. 1578-1586, 2010.

GALUCIO, N. C. R. **Estudos de citotoxicidade e genotoxicidade de *Eleutherine plicata* Herb.** 2014. 95 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal do Pará, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Belém, 2014.

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

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

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química nova**, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.

GOLDBLATT, P.; SNOW, N. Systematics and chromosome cytology of *Eleutherine herbert* (Iridaceae). **Annals of The Missouri Botanical Garden**, v. 78, p. 942- 949, 1991.

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

GOUVEIA, E. V. A. et al. CONSUMO DE MEDICAMENTOS FITOTERAPICOS EM UMA FACULDADE PARTICULAR DO SERTÃO CENTRAL CEARENSE. **Mostra Científica da Farmácia**, v. 3, n. 1, 2016.

HA, L. M. et al. Chemical Constituents of the Rhizome of *Eleutherine bulbosa* and Their Inhibitory Effect on the Pro-Inflammatory Cytokines Production in Lipopolysaccharide -Stimulated Bone Marrow-derived Dendritic Cells. **Bulletin-Korean Chemical Society**, v. 34, n. 2, p. 633- 636, 2013.

HANH, P.T. B. et al. Toxicity and Anti-inflammatory Activities of an Extract of the *Eleutherine bulbosa* Rhizome on Collagen Antibody-induced Arthritis in a Mouse Model. **Natural Product Communications**, v. 13, n. 7, p. 883- 886, 2018.

HARA, H. et al. Elecanacin, a novel new naphthoquinone from the bulb of *Eleutherine americana*. **Chemical and pharmaceutical bulletin**, v. 45, n.10, p. 1714-1716, 1997.

IÓCA, L. P.; NICACIO, K. J.; BERLINCK, R. G. Natural Products from Marine Invertebrates and Microorganisms in Brazil between 2004 and 2017: Still the challenges, more rewards. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 29, n. 5, p. 998–1031, 2018.

KAMARUDIN, A. A. et al. Heat assisted extraction of phenolic compounds from *Eleutherine bulbosa* (Mill.) bulb and its bioactive profiles using response surface methodology. **Industrial Crops & Products**, v. 144, p.1- 8, 2020.

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/468/622>>. Acesso em: 10 jul. 2021.

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

MAGALHÃES, J. B. T. **Síntese de peneiras moleculares MCM-41 ativas em catálise básica para a produção de chalconas**. 2006. 67 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2006.

MAHABUSARAKAM, W. et al. Naphthoquinones, anthraquinones and naphthalene derivatives from the bulbs of *Eleutherine americana*. **Planta medica**, v. 76, n. 4, p. 345-349, 2010.

MALHEIROS, L. C. S. **Isoeleuterol e isoeleuterina: potenciais marcadores químicos da tintura de *Eleutherine plicata* Herb. (Iridaceae) e atividades microbiológica e antioxidante**. 2008. 68 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal do Pará, Belém, 2008.

MARCONI, M. A; LAKATOS, E. M. **Fundamentos da metodologia científica**. 5.ed. São Paulo: Atlas, 2007

MARTÃO, V. M. **Atividade antioxidante in vitro de plantas medicinais da Amazônia Ocidental**. 2013. 97 f. Dissertação (Mestrado)- Fundação Universidade Federal de Rondônia, Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento Regional e Meio Ambiente, Porto Velho, 2013.

MARTINS, A. G. et al. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais, alimentares e tóxicas da Ilha do Combu, Município de Belém, Estado do Pará, Brasil. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 86, n. 1, p. 21–30, 2005.

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

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

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

MONTEIRO, J. M. et al. Taninos: uma abordagem da química à ecologia. **Química Nova**, v. 28, p. 892-896, 2005.

MUNAENI, W. et al. Phytochemical analysis and antibacterial activities of *Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb. extract against *Vibrio parahaemolyticus*. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 9, n. 9, p. 397- 404, 2019.

NAKAJIMA, J. et al. Reaction mechanism from leucoanthocyanidin to anthocyanidin 3-glucoside, a key reaction for coloring in anthocyanin biosynthesis. **Journal of Biological Chemistry**, v. 276, n. 28, p. 25797-25803, 2001.

NATIONAL Center for Biotechnology Information. PubChem Database. Ácido clorogênico (**8**), CID: 1794427. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/#query=Chlorogenic%20acid>. Acesso em: 06 jun. 2021.

\_\_\_\_\_. PubChem Database. Ácido gálico (**9**), CID: 370. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/#query=Gallic%20acid>. Acesso em: 06 jun. 2021.

\_\_\_\_\_. PubChem Database. Canferol (**12**), CID: 5280863. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/#query=kaempferol>. Acesso em: 06 jun. 2021.

\_\_\_\_\_. PubChem Database. 2H-1-benzopirano-2-ona (**7**), CID: 323. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Coumarin>. Acesso em: 10 mai. 2021.

\_\_\_\_\_. PubChem Database. Galato de epicatequina (**14**), CID: 107905. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/#query=Epicatechingallate>. Acesso em: 06 jun. 2021.

\_\_\_\_\_. PubChem Database. Hexadecanoato de etila (**1**), CID: 12366. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/#query=%22Ethyl%20hexadecanoate%22>. Acesso em: 06 jun. 2021.

\_\_\_\_\_. PubChem Database. Isoquinolina-1-carbonitrila (**4**), CID: 306057. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/#query=1-Isoquinolinecarbonitrile>. Acesso em: 06 jun. 2021.

\_\_\_\_\_. PubChem Database. Linoleado etílico (**3**), CID: 5282184. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/#query=%22ETHYL%20LINOLEATE%22>. Acesso em: 06 jun. 2021.

\_\_\_\_\_. PubChem Database. Miricetina (**10**), CID: 5281672. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/#query=myricetin>. Acesso em: 06 jun. 2021.

\_\_\_\_\_. PubChem Database. Octadecanoato de etilo (**2**), CID: 8122. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/#query=%22Ethyl%20octadecanoate%22>. Acesso em: 06 jun. 2021.

\_\_\_\_\_. PubChem Database. Quercetina (**11**), CID: 5280343. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5280343>. Acesso em: 06 jun. 2021.

\_\_\_\_\_. PubChem Database. Rutina (**13**), CID: 6728944. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/#query=Rutina>. Acesso em: 06 jun. 2021.

\_\_\_\_\_. PubChem Database. Securixanthone E (**5**), CID: 86062550. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/#query=Securixanthone%20E>. Acesso em: 06 jun. 2021.

NEVES, J. M.; CUNHA, S. Plantas Medicinais. **Revista da Faculdade de Ciências da Saúde**, v. 3. p. 50-57, 2012.

NEVES, P. D. O. **Importância dos compostos fenólicos dos frutos na promoção da saúde**. 2015. 93 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Fernando Pessoa, 2015.

OLIVEIRA, M. A. **Estudo de validação da espécie de *Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb.(Iridaceae): Aspectos de farmacobotânica, química e biologia**. 2019. 140 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Universidade Federal do Maranhão, Programa de Pós-graduação, São Luís, 2019.

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

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, p. 230-239, 2016.

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: 28 nov. 2021.

PADHI, L.; PANDA, S. Antibacterial activity of *Eleutherine bulbosa* (Miller) Urban (Iridaceae) against multidrug resistant bacteria. **Journal of Acute Medicine**, v. 5, n. 3, p. 53- 61, 2015.

PINTO, A.C. et al. Produtos naturais: atualidade, desafios e perspectivas. **Química nova**, v. 25, supl. 1. p. 45-61, Maio 2002. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/qn/v25s1/9413.pdf>. Acesso em: 27 out. 2021.

POZZI, A. C. S. **Desenvolvimento de métodos de análise Espectrofotométrica de flavonóides do “maracujá” (*Passiflora alata* e *Passiflora edulis*)**. 2007. 86 f. Dissertação (Mestrado em Química Analítica). Universidade de São Paulo, São Carlos, 2007.

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.

RANI, V. S.; NAIR, B. R. GC-MS ANALYSIS OF ETHYL ACETATE EXTRACT OF *ELEUTHERINE BULBOSA* (URBAN) MILLER (IRIDACEAE). **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 7, n.4, p. 1729-1733, 2016.

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. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/search/advanced?pub=Current%20Opinion%20in%20Biotechnology&cid=272028&volume=48&page=21>. Acesso em: 25 jun. 2021

REEVES, G. et al. Molecular systemics of Iridaceae: Evidence from four plastid DNA regions. **American Journal of Botany**, v. 88, n. 11, p. 2074-2087, 2001. Disponível em: [www.botanicus.org/item/31753999990077](http://www.botanicus.org/item/31753999990077). Acesso em: 10 jul. 2021.

RÍOS, D. H. G. **Caracterización de algunos metabolitos primarios y secundarios en dos variedades comerciales de lúcumá (*Pouteria lucuma*)**. Universidade Nacional Agraria La Molina ,2016.

RODRIGUES, I. M. C.; SOUZA FILHO, A. P. S.; FERREIRA, F. A. Estudo fitoquímico de *Senna alata* por duas metodologias. **Planta daninha**, v. 27, p. 507-513, 2009.

ROCHA, J. A.; ROYO, V.. A. Separação de clorofilas e carotenóides como ferramenta para o ensino de cromatografia preparativa. **Conexão Ciência (Online)**, v. 10, n. 2, p. 40-46, 2016.

SAIF, S.; TAHIR, A.; CHEN, Y. Green synthesis of iron nanoparticles and their environmental applications and implications. **Nanomaterials**, v. 6, n. 11, p. 209, 2016.

SANGEETHA, C.; BASKAR, P. Allelopathy in weed management: A critical review. **African Journal of Agricultural Research**, v. 10, n. 9, p. 1004-1015, 2015.

SANTOS, D. L. et al. Fitoterapia tradicional em uma comunidade do nordeste do Pará: o uso de *Eleutherine plicata* Herb. no tratamento da Amebíase. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 7, p. e620974539-e620974539, 2020.

SARAIVA, L. C. F. et al. Triagem fitoquímica das folhas de *Moringa oleifera*. **Boletim Informativo Geum**, v. 9, n. 2, p. 12, 2018.

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

SILVA, C. M. **ESTUDO FITOQUÍMICO COM FINS FARMACOLÓGICOS DE *Pavonia glazioviana* GORKE (MALVACEAE)**. 2018. 67 f. TCC (Bacharel em Química) - Universidade Federal da Paraíba, 2018.

SILVA, F. et al. An overview of the chemistry and pharmacology of naphthoquinones with emphasis on  $\beta$ -Lapachone and derivatives. **Química Nova**, v. 26, n. 3, p. 407-416, 2003.

SILVEIRA, J. Q. **BIODISPONIBILIDADE DE FLAVANONAS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO SUCO DE LARANJA FRESCO VERSUS SUCO DE LARANJA PASTEURIZADO EM HUMANOS SAUDÁVEIS**. 2014. 105 f. Tese (Doutorado em Ciências Nutricionais) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Programa de Pós-graduação em Alimentos e Nutrição da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, Araraquara, 2014.

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

SINGAB, A. N. B. et al. Shedding the light on Iridaceae: Ethnobotany, phytochemistry and biological activity. **Industrial Crops and Products**, v. 92, p. 308-335, 2016.

SIQUEIRA, J. M. et al. Estudo Fitoquímico de *Unonopsis lindmanii* - Anonaceae, biomonitorado pelo ensaio de toxicidade sobre *Artemia salina* LEACH. **Química Nova**, v. 21, n. 5, p. 557-559, 1998.

SHI, P. et al. Total phenolic, flavonoid content, and antioxidant activity of bulbs, leaves, and flowers made from *Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb. **Food science & nutrition**, v. 7, p. 148-154, 2019.

SOUSA, C. M. M. et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v. 30, p. 351-355, 2007.

SOUZA, A. D. **Isolamento de Alcaloides e atividades biológicas de espécies de Lauraceae da Amazônia**. 2014. 184 f. Dissertação (Mestrado em Química Orgânica) - Universidade Federal do Amazonas, Programa de Pós-Graduação em Química, Manaus, 2014.

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

TANAMATI, A. A. C. et al. Estudo comparativo de métodos de extração de lipídios totais me amostras de origem animal e vegetal. **Revista Brasileira de Pesquisa em Alimentos, Curitiba**, v. 1, n. 2, p. 73-77, 2010.

TEIXEIRA, J. B., RODRIGUES, M. R. S., SANTOS, R. P. **Avaliação fitoquímica qualitativa de extratos da folha e caule da spondias purpúrea I. (seriguela) – um estudo preliminar**. Anais I CONIDIS... Campina Grande: Realize Editora, 2016. Disponível em: <<https://www.editorarealize.com.br/artigo/visualizar/23564>>. Acesso em: 27 dez. 2021

TOMITA, L. K. **Caracterização fitoquímica e ensaios biológicos de *Syngonium podophyllum***. 2014. 54 f. TCC (Graduação em Farmácia) - Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2014.

VALE, V. V. et al. Naphthoquinones isolated from *Eleutherine plicata* herb: in vitro antimalarial activity and molecular modeling to investigate their binding modes. **Medicinal Chemistry Research**, v. 29, n. 3, p. 487- 494, 2020.

VARANDA, E. A. Atividade mutagênica de plantas medicinais. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 27, n.1, p.1-7, Agosto 2006. Disponível em: [http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/Cien\\_Farm/issue/view/v.27%20n.1%202006](http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/Cien_Farm/issue/view/v.27%20n.1%202006) Acesso em: 25 jun. 2021.

VERDAM, M. C. S.; DA SILVA, C. B. O ESTUDO DE PLANTAS MEDICINAIS E A CORRETA IDENTIFICAÇÃO BOTÂNICA. **Visão Acadêmica**, v. 11, n. 1, 2020.

VIZZOTTO, 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: 30 out. 2021.

WAGNER, H; BLADT, S. **Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas**. 2. ed. Springer Science & Business Media, 1996.

WAKSMUNDZKA-HAJNOS, M; SHERMA, J.; KOWALSKA, T. Thin layer chromatography in phitochemistry. **Chromatographic Science Series**. v. 99, 2008.

WANG, H.; CUI, Y.; ZHAO, C. Flavonoids of the genus Iris (Iridaceae). **Mini reviews in medicinal chemistry**, v. 10, n. 7, p. 643-661, 2010.