

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE EDUCAÇÃO E SAÚDE
UNIDADE ACADÊMICA DE SAÚDE
CURSO DE BACHARELADO EM FARMÁCIA

PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA DE *Chloris gayana* Kunth (POACEAE)

CUITÉ - PB

2014

MARIA JOSÉ CÂNDIDO DE OLIVEIRA

PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA DE *Chloris gayana* Kunth (POACEAE)

Monografia apresentada à Coordenação do Curso de Bacharelado em Farmácia do Centro de Educação e Saúde da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito para obtenção do grau de bacharel em Farmácia.

Orientadora: Prof.^a. Dra. Danielly Albuquerque da Costa

CUITÉ - PB

2014

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA NA FONTE
Responsabilidade Msc. Jesiel Ferreira Gomes – CRB 15 – 256

O48p Oliveira, Maria José Cândido de.

Prospecção fitoquímica de *Chloris gayana* Kunth (Poaceae). / Maria José Cândido de Oliveira. – Cuité: CES, 2014.

53 fl.

Monografia (Curso de Graduação em Farmácia) – Centro de Educação e Saúde / UFCG, 2014.

Orientadora: Dra. Danielly Albuquerque da Costa.

1. Triagem fitoquímica. 2. *Chloris gayana*. 3. Metabólitos secundários. I. Título.

CDU 633.88

MARIA JOSÉ CÂNDIDO DE OLIVEIRA

PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA DE *Chloris gayana* Kunth (POACEAE)

Monografia apresentada à Coordenação do Curso de Bacharelado em Farmácia do Centro de Educação e Saúde da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito para obtenção do grau de bacharel em Farmácia.

Aprovada em ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a. Dr.^a. Danielly Albuquerque da Costa (Orientadora)

Prof. Dr. Wellington Sabino Adriano (Membro examinador)

Prof. Dr. Fillipe de Oliveira Pereira (Membro examinador)

DEDICATÓRIA

Decido este trabalho aos meus pais Antônio José de Oliveira e Maria do Céu Cândido de Oliveira que são a razão do meu viver e meu maior tesouro, á meus irmãos que são meus eternos companheiros e a minha orientadora Danielly Albuquerque da Costa que é um ser humano incrível e uma pesquisadora dedicada.

AGRADECIMENTOS

A Deus, que é um pai amoroso e misericordioso. Que me concedeu a coragem necessária para questionar realidades e propor sempre um novo mundo de possibilidades.

A minha família pela fé e confiança demonstrada.

Aos meus queridos pais Antônio José de Oliveira e Maria do Céu Cândido de Oliveira, que me trouxeram com todo o amor e carinho a este mundo, dedicaram, cuidaram e doaram incondicionalmente seu sangue e suor em forma de amor e trabalho por mim, despertando e alimentando em minha personalidade, ainda na infância, a sede pelo conhecimento e a importância deste em minha vida, auxiliando-me nos momentos mais difíceis e incentivando-me sempre, fazendo-me crer que é possível sonhar e viver ao mesmo tempo.

Aos meus amados irmãos, Fatima Cândido, Jailson Cândido e Josenildo Cândido por sua franqueza e ajuda sempre e por me apoiarem e fazerem sentir-me protegida em todos os momentos.

A minha orientadora Danielly Albuquerque da Costa pela paciência demonstrada no decorrer do curso (durante os anos de PIVIC sob sua orientação) e também deste trabalho, por todos os momentos de aprendizagem e conversas, por sua agradável companhia e simplicidade, por me permitir conhecer o grande ser humano e a pesquisadora otimista que existe em você.

Aos meus poucos, mas preciosos amigos pelo apoio incondicional.

Aos meus colegas pelas palavras amigas nas horas difíceis, pelo auxílio nos trabalhos e dificuldades e principalmente por estarem comigo nesta caminhada tornando-a mais fácil e agradável.

A Danilo Andrade por sua lealdade, amizade, carinho e cuidado para comigo. Por me ajudar, incentivar, puxar minha orelha, despertar-me para as oportunidades e até mesmo criá-las para mim.

A Rafaela Moreno por sua ousadia, franqueza e coragem de enfrentar a vida com bom humor.

A José Héber Arruda por me ensinar a ser leve, fazer-me sorrir, pelas nossas longas conversas filosóficas sobre a vida, pelo seu carinho e admiração. Pelas tardes, os cafés e as histórias que vivemos.

A Patrícia Duarte por sua força, amizade, coragem, apoio e incentivo.

A Rita de Cassia por sua ajuda no meu projeto, sua companhia durante o estágio I e seus incentivos.

A Natália Ferreira por sua admiração e respeito, e por acreditar sempre e muito no meu potencial.

A Vanessa Pinto por sua amizade, companhia e colaboração.

A Paulo Roberto Sampaio Fraga por seu maravilhoso hábito de alimentar minha alma com os mais belos trechos da literatura mundial.

A farmacêutica Marluce Aguiar e a técnica Danielly Azevedo, por seus ensinamentos e sua amizade, ao professor Carlos Poncion de Léon por sua assistência e incentivo durante o estágio em análises clínicas e ao colega Gilson por sua disposição, gentileza e companhia.

Ao botânico e professor da UFCG Carlos Alberto Garcia dos Santos por sua contribuição ao realizar a identificação da espécie em estudo.

A universidade Federal de Campina Grande- Campus Cuité, representada na figura do Diretor Dr. Ramilton Marinho Costa.

A todos que foram meus professores e me acompanharam de modo direto ou indireto durante essa jornada e pelo simples fato de estarem dispostos a ensinar.

Ao coordenador de Farmácia, o professor Egberto Santos Carmo por ser solícito, educado e atencioso.

A todos os funcionários do CES que sempre me atenderam com respeito e atenção, por sua educação e alegria, por sempre me receberem com caloroso sorriso.

Enfim a todos que de alguma forma tornaram este caminho mais fácil de ser percorrido.

“Sou um homem quieto, o que eu gosto é ficar num banco sentado, entre moitas, calado, anoitecendo devagar, meio triste, lembrando umas coisas, umas coisas que nem valiam a pena lembrar.”

Rubem Braga

“Um passo a frente e você não está mais no mesmo lugar.”

Chico Science

“A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu, mas pensar o que ninguém ainda pensou sobre aquilo que todo mundo vê.”

Arthur Schopenhauer

RESUMO

O crescente uso das plantas para fins medicinais tem despertado o interesse pelo conhecimento da composição química do reino vegetal. Os produtos naturais são conhecidos por serem fontes de fármacos, e apesar disso ainda são pouco explorados. A pesquisa fitoquímica tem por finalidade conhecer ou avaliar a presença dos constituintes químicos nas espécies vegetais. Quando não se dispõe de estudos químicos sobre a espécie de interesse, a análise fitoquímica pode identificar os grupos de metabólitos secundários relevantes. Portanto, o objetivo deste estudo foi realizar a triagem fitoquímica de *Chloris gayana* Kunth (Poaceae), planta nativa, não endêmica do Brasil, conhecida popularmente como capim pé de galinha e que não possui nenhum estudo químico descrito na literatura. A planta foi coletada no sítio Campo Comprido, município de Cuité-PB, submetida e secagem a temperatura ambiente, pulverizada em moinho mecânico e extraída com etanol 96%, resultando no extrato etanólico bruto (E.E.B.). Este foi submetido à partição com solventes em gradiente crescente de polaridade, fornecendo as seguintes fases: hexânica, clorofórmica e hidroalcoólica, respectivamente. Para prospecção (triagem) fitoquímica, foi adotada a metodologia proposta por MATOS (2009) ou BIAVATTI et al. (2007) empregando-se reagentes específicos para cada grupo químico. Foram pesquisados esteróides e triterpenos (Lieberman-Burchard), flavonóides (Shinoda; FeCl₃; NaOH), taninos (FeCl₃), alcaloides (Dragendorff; Bouchardat) e saponinas (Índice de espuma). Os resultados indicaram a constituição química desta espécie, com presença de taninos, alcaloides, esteroides, triterpenos e flavonoides e ausência de saponinas.

Palavras chave: Triagem fitoquímica, *Chloris gayana*, metabólitos secundários.

ABSTRACT

The increasing use of plants for medicinal purposes has aroused interest in the knowledge of the chemical composition of the plant kingdom. Natural products are known to be sources of drugs, and yet are still little explored. Phytochemical research aims to understand or evaluate the presence of chemical constituents in plant species. Where no studies on the chemical species of interest, the phytochemical analysis can identify the relevant groups of secondary metabolites. Therefore, the aim of this study was to phytochemical screening of *Chloris gayana* Kunth (Poaceae), a non-endemic native plant of Brazil, popularly known as crow's foot and that has no chemical study described in the literature. The plant was collected at the site Campo Comprido, municipality of Cuité-PB, submitted and drying at room temperature, pulverized in a mechanical grinder and extracted with 96% ethanol, resulting in crude ethanol extract (EEB). This was subjected to partitioning with solvents in increasing polarity gradient, providing the following phases: hexane, chloroform and ethanol-water, respectively. To prospecting (screening) phytochemistry was adopted the methodology proposed by MATOS (2009) employing reagents specific for each chemical group. Steroids and triterpenes (Lieberman-Burchard), flavonoids (Shinoda; FeCl₃/NaOH), tannins (FeCl₃), alkaloids (Dragendorff; Bouchardat) and saponins (Foam Index) were searched. The results indicated in the chemical constitution of this species the presence of tannins, alkaloids, steroids, triterpenes and absence of saponins.

Keywords: Phytochemical screening, *Chloris gayana*, secondary metabolites.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- <i>Chloris gayana</i> Kunth.....	26
Figura 2- Representação de um triterpeno (β -amirina).....	34
Figura 3- Representação de um esteroide (β -sitosterol)	34
Figura 4- Representação do ácido betulinico e seu análogo sintético.	35

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 -Processamento e obtenção do extrato etanólico bruto de <i>Chloris gayana</i> Kunth.....	28
Esquema 2 -Particionamento do extrato etanólico bruto de <i>Chloris gayana</i> Kunth.....	28

LISTA DE QUADROS

Quadro 1- Exemplos das principais classes de metabólitos secundários.	20
Quadro 2-Classes de metabólitos pesquisados e técnicas aplicadas para prospecção fitoquímica.....	29
Quadro 3- Relação entre reações cromáticas e a coloração obtida conforme o tipo de flavonoide presente na amostra analisada.....	31
Quadro 4- Triagem fitoquímica das partes aéreas de <i>Chloris gayana</i> Kunth.....	33

LISTA DE ABREVIATURAS, FÓRMULAS E SÍMBOLOS

CHCl ₃	Clorofórmio
E.E.B.....	Extrato Etanólico Bruto
EtOH	Etanol
FeCl ₃	Cloreto férrico
g.....	Grama
HCl.....	Ácido clorídrico
Hex.....	Hexano
H ₂ O.....	Água
MeOH.....	Metanol
mL.....	Mililitros
mg.....	Miligramas
Na ₂ CO ₃	Carbonato de sódio
%.....	Percentual

SUMÁRIO

RESUMO.....	08
ABSTRACT.....	09
LISTA DE FIGURAS.....	10
LISTA DE ESQUEMAS.....	10
LISTA DE QUADROS.....	10
LISTA DE ABREVIATURAS, FÓRMULAS E SÍMBOLOS.....	11
1 INTRODUÇÃO	14
2 OBJETIVOS.....	16
2.1 Objetivo geral.....	16
2.2 Objetivos específicos.....	16
3 REVISÃO DA LITERATURA	17
3.1 A relevância dos produtos naturais.....	17
3.2 Metabólitos secundários.....	18
3.2.1 Considerações gerais.....	18
3.2.2 Principais classes.....	19
3.2.2.1 <i>Triterpenos</i>	19
3.2.2.2 <i>Esteroides</i>	21
3.2.2.3 <i>Flavonoides</i>	21
3.2.2.4 <i>Taninos</i>	22
3.2.2.5 <i>Alcaloides</i>	22
3.2.2.6 <i>Saponinas</i>	23
3.3 Aspectos gerais da família Poaceae.....	23
3.3.1 Distribuição geográfica.....	23
3.3.2 Perfil químico e farmacológico da família Poaceae.....	24
3.4 Aspectos gerais do gênero <i>Chloris</i>.....	25
3.4.1 Distribuição geográfica e caracterização.....	25
3.4.2 Aspectos gerais de <i>Chloris gayana</i> Kunth.....	25
3.4.3 Fitoquímica de <i>Chloris gayana</i> Kunth.....	26
4 METODOLOGIA.....	27
4.1 Materiais.....	27
4.2 Métodos.....	27
4.2.1 Levantamento bibliográfico.....	27

4.2.2 Coleta e identificação da espécie vegetal	27
4.2.3 Processamento da planta e obtenção do extrato etanólico bruto.....	27
4.2.4 Particionamento do extrato etanólico bruto de <i>Chloris gayana</i> Kunth.....	28
4.2.5 Prospecção fitoquímica preliminar.....	29
4.2.5.1 Teste para triterpenos e esteroides.....	30
4.2.5.2 Teste para flavonoides	30
4.2.5.3 Teste para taninos.....	31
4.2.5.4 Teste para alcaloides.....	32
4.2.5.5 Teste para saponinas.....	32
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	33
5.1 Esteroides e triterpenos.....	33
5.2 Flavonoides.....	36
5.3 Taninos.....	38
5.4 Alcaloides.....	39
5.5 Saponinas	40
5.6 Considerações finais.....	41
6 CONCLUSÃO.....	43
REFERÊNCIAS.....	43

1 INTRODUÇÃO

A utilização das plantas para fins terapêuticos tem originado grande interesse pelo conhecimento de sua composição química. A compreensão do potencial terapêutico dos vegetais tem despertado interesse científico, visando obter a partir desse conhecimento, novos caminhos para o controle e tratamento de diversas doenças (FERREIRA, 2014). Assim sendo, a pesquisa fitoquímica tem por finalidade o conhecimento dos constituintes químicos das espécies vegetais ou analisar sua presença nos mesmos. No caso de não se dispor de estudos químicos sobre a espécie de interesse, a análise fitoquímica pode identificar os grupos de metabólitos secundários relevantes (SIMÕES, 2010). A fitoquímica possui uma estreita relação com diversas áreas do conhecimento, visando à produção de alimentos funcionais, plantas medicinais, fitoterápicos, pesticidas, fragrâncias, aromas, entre outros produtos de alto valor agregado (CENTRO DE GESTÃO E ESTUDOS ESTRATÉGICOS, 2010). O panorama da fitoquímica é muito importante e crucial para o Brasil, ao considerarmos sua diversidade vegetal exuberante que ainda não possui estudos e as possibilidades para o desenvolvimento de novos medicamentos (FOGLIO, 2006).

Convencionalmente, as plantas realizam dois tipos de metabolismo, o primário, cujos produtos são aminoácidos, lipídios, carboidratos e macromoléculas e o metabolismo secundário, onde são formados os compostos terpênicos, alcaloídicos, glicosídicos e vários outros. (GONÇALVES, 2010). Os compostos resultantes do metabolismo primário são estudados, principalmente, no âmbito da bioquímica e os últimos no âmbito do que se convencionou denominar química de produtos naturais (MATOS, 2009). Os estudos de metabólitos secundários produzidos pelos organismos continuam proporcionando a descoberta de diversas substâncias orgânicas, com atividades biológicas, que dependem da investigação farmacológica (BRAZ- FILHO, 2010).

As plantas apresentam várias vias metabólicas secundárias que dão origem a diversos compostos, como alcaloides, flavonoides, isoflavonóides, taninos, cumarinas, que por vezes, são exclusivos de determinadas famílias, gêneros ou espécies, e cujas funções, até pouco tempo, eram ignoradas (SOUZA et al., 2003). Com o progresso das pesquisas fitoquímicas, foram atribuídas às referidas substâncias papéis relevantes nos mecanismos de defesa das plantas contra seus predadores, sejam fungos, bactérias, vírus, parasitas, insetos, moluscos ou animais superiores (YUNES; CALIXTO, 2001).

A pesquisa dos constituintes químicos presentes nas plantas representa, na maioria das vezes, uma razão para novos estudos, pois permite o conhecimento prévio dos extratos e aponta a provável natureza das substâncias presentes, tornando mais fácil a escolha de uma futura técnica de identificação e fracionamento cromatográfico (MACIEL et al., 2002).

Para a prospecção fitoquímica preliminar, classicamente, a caracterização dos principais grupos de substâncias vegetais de interesse tem sido conseguida pela realização de reações químicas que resultem no surgimento de coloração e/ou precipitado característico (KIATKOSKI, 2011).

Este trabalho visa elucidar a natureza química de *Chloris gayana* Kunth, espécie de Poaceae, presente na flora nordestina, de grande representatividade na caatinga, e que não possui nenhum relato de estudo químico ou farmacológico na literatura. Sua importância consiste na ampliação dos conhecimentos quimiotaxonômicos da família Poaceae, bem como, da biodiversidade brasileira. Além disso, servirá para direcionar futuros trabalhos de isolamento dos metabólitos secundários, conduzindo à descoberta de novos potenciais bioativos para uso nas diversas áreas, destacando-se: farmácia (medicamentos para uso humano que permite justificar o valor real de remédios tradicionais), veterinária (medicamentos para animais), química orgânica (modelos para síntese de novos fármacos, novos reagentes), agricultura (defensivos agrícolas), entre outras.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Realizar a prospecção fitoquímica preliminar da *Chloris gayana* Kunth (Poaceae).

2.2 Objetivos específicos

- ✓ Coletar a espécie vegetal *Chloris gayana* Kunth.
- ✓ Preparar e particionar o extrato etanólico bruto da espécie em estudo.
- ✓ Determinar qualitativamente através da prospecção fitoquímica as classes de metabólitos secundários presentes no extrato etanólico bruto e nas fases obtidas do particionamento de *C. gayana* Kunth.
- ✓ Ampliar o conhecimento quimiotaxonômico da família Poaceae.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 A relevância dos produtos naturais

Evidências do uso de plantas medicinais e tóxicas foram encontradas nas civilizações mais antigas, indicando que esta é uma das práticas mais remotas utilizadas pelo homem para cura, prevenção e tratamento de doenças, atuando como fonte potencial de compostos biologicamente ativos (ANDRADE; CARDOSO; BASTOS, 2007). A necessidade de desenvolvimento de novos fármacos que se mostrem efetivos contra algumas doenças ainda sem tratamento adequado, e que possam substituir os já existentes, a menores custos e dotados de menos efeitos adversos, tem lançado a comunidade científica a novas e incessantes pesquisas no estudo com plantas para a obtenção de novas moléculas (PINHATTI, 2009).

O interesse em produtos naturais não é somente acadêmico, mas motivado por sua grande utilidade como corantes, polímeros, fibras, colas, óleos, ceras, agentes aromatizantes, perfumes e drogas. O reconhecimento das propriedades biológicas dos produtos naturais tem alimentado o foco atual desse campo, ou seja, a busca de novos medicamentos, inseticidas e herbicidas (CROTEAU; KUTCHAN; LEWIS, 2000). Para a área farmacêutica, tanto as plantas como os extratos vegetais são de suma importância devido à utilização das substâncias como protótipos para o desenvolvimento de fármacos (substâncias ativas isoladas), como matéria-prima farmacêutica (obtenção de adjuvantes), entre outros usos. (SIMÕES; SCHENKEL, 2002).

As fontes naturais são acessíveis e superabundantes, oferecendo as melhores perspectivas para obterem-se substâncias de interesse terapêutico. De fato, mais de uma centena de compostos originados de produtos naturais já estiveram em fase de testes clínicos, principalmente para tratamento do câncer e de doenças infecciosas (HARVEY, 2008).

Mais da metade das espécies de plantas estimadas no planeta estão nas florestas tropicais e menos de 1% destas têm sido estudadas. As plantas tropicais possuem de três a quatro vezes o número de constituintes químicos ativos, quando comparadas com as plantas de regiões temperadas (DI STASI et al.; 2002). Assim sendo, o Brasil, com sua grandeza litorânea e flora exuberante e, tendo no seu território a maior floresta equatorial e tropical úmida do planeta, não pode abdicar de sua vocação para os produtos naturais (PINTO et al., 2002).

3.2 Metabólitos secundários

3.2.1 Considerações gerais

Os metabólitos secundários são substâncias que possuem geralmente estruturas complexas, baixos pesos moleculares e atividades biológicas marcantes. Diferem-se dos metabólitos primários por apresentarem-se em baixas concentrações e em determinados grupos de plantas (BERG E LUBERT, 2008). Alguns são particularmente encontrados em uma única espécie, sendo também conhecidos como produtos naturais ou princípios ativos (MARCHIORI, 2004).

A formação dos compostos secundários dar-se em um órgão ou tecido específico, num tipo de célula que está num determinado estágio de desenvolvimento ou em vários sítios dentro dela, sendo armazenados inicialmente dentro de vacúolos. Esses constituintes produzidos, usualmente apresentam variação na sua concentração e geralmente são sintetizados em uma parte da planta e armazenados em outra (RAVEN et al., 2001).

Acreditou-se, durante muito tempo, que os metabólitos secundários eram simplesmente produtos finais das reações, sendo produzidos sem uma função específica, e até mesmo foram considerados como anomalias (MARCHIORI, 2004). No entanto, sabe-se que muitas dessas substâncias estão diretamente envolvidas nos mecanismos que permitem a adequação do produtor a seu meio. Assim, despertam grande interesse, não só pelas atividades biológicas exercidas pelas plantas em resposta aos estímulos do meio ambiente, mas também pela imensa atividade farmacológica que possuem (ALVES, 2001). Muitos são de importância comercial não apenas na área farmacêutica e agrônômica (SIMÕES et al., 2010), seu emprego destaca-se na área da farmacologia em virtude da gama de efeitos biológicos sobre a saúde da espécie humana (PERREIRA, 2012).

As plantas normalmente desenvolvem uma série de metabólitos com funções complementares na defesa contra pragas e doenças, isso explica a presença de vários princípios ativos nos extratos vegetais. Essas estratégias impedem o desenvolvimento de resistência por parte dos organismos maléficos. Muitos desses compostos, apesar de serem suficientes para matar insetos ou mesmo vertebrados de grande porte, quando utilizados em doses adequadas convertem-se em medicamentos. Desse modo, produtos secundários envolvidos na defesa através de atividade citotóxica contra patógenos podem ser úteis como agentes antimicrobianos na medicina. Além disso, aqueles envolvidos na defesa contra

herbivoria através de atividade neurotóxica podem ter efeitos benéficos no homem atuando como antidepressivos, sedativos, relaxantes musculares ou anestésicos (BRISKIN, 2000).

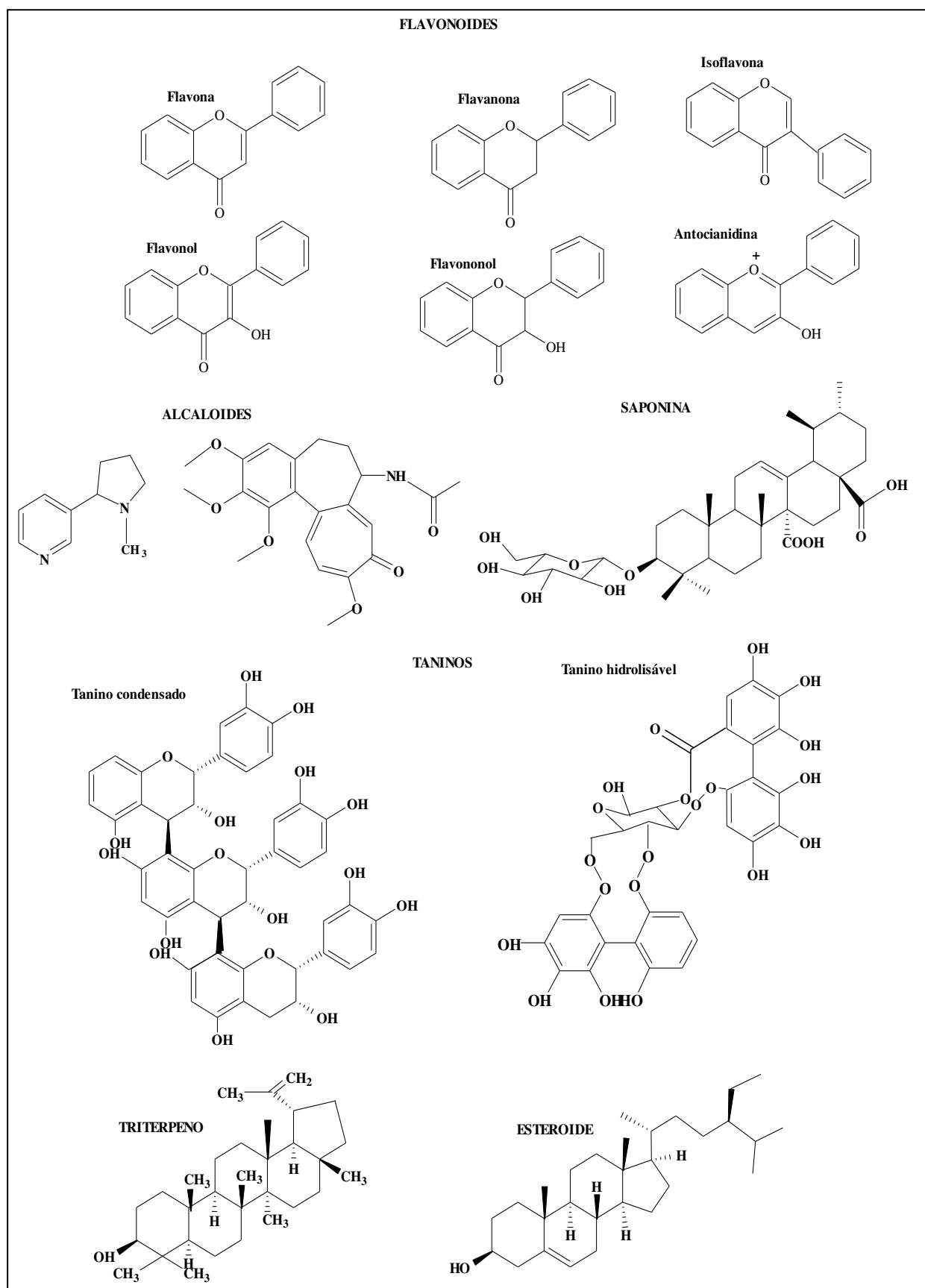
Por fim, algumas plantas evoluíram produzindo produtos secundários que interagem com alvos moleculares (ex. receptores) de organismos competidores como microrganismos, outras plantas e animais. Nesse sentido, alguns produtos secundários exercem suas funções pela semelhança com metabólitos endógenos, receptores, hormônios ou neurotransmissores, e devido a sua similaridade com moléculas do sistema nervoso central, sistema endócrino, etc., possuem efeito benéfico ou tóxico no homem (BRISKIN, 2000). Do ponto de vista de bioatividade, o interesse na descoberta e elucidação estrutural desses componentes secundários em espécies vegetais é de fundamental importância.

3.2.2 Principais classes

Dentre as classes de metabólitos secundários de interesse biológico destacam-se: alcaloides, saponinas, triterpenos, esteroides, taninos e flavonoides, exemplos dessas classes de metabólitos estão representadas a seguir (Quadro 1, p.20).

3.2.2.1 *Triterpenos*

Os terpenóides são o maior grupo de metabólitos secundários presente no reino vegetal, e aproximadamente 30.000 substâncias já foram isoladas. Este número é muito superior ao de qualquer outro grupo de derivado de produtos naturais. Os terpenóides distribuem-se amplamente na natureza e são encontrados em abundância nas plantas superiores, sendo também encontrados em menor quantidade em fungos e organismos marinhos. Os de origem vegetal desempenham funções importantes como repelentes de insetos, agentes de atração polínica, agentes de defesa contra herbívoros, feromônios, aleloquímicos, hormônios vegetais, além de funcionarem como moléculas de sinalização (VERPOOTE, 2000). O número de unidades de isoprenos incorporadas em determinado terpeno serve como base para a classificação desses compostos. Assim, os monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, triterpenos e os tetraterpenos ou carotenos possuem 2, 3, 4, 6 ou 8 unidades de isopreno, respectivamente (SILVA, 2011).



Quadro 1- Exemplos das principais classes de metabólitos secundários.

Fonte: Próprio autor.

Os triterpenos são moléculas formadas por 6 unidades de isopreno e constituídas por trinta átomos de carbono (C₃₀), cadeia policíclica, normalmente tetra ou pentacíclica, quase sempre hidroxilados na posição C-3. Comumente possuem grandes potencialidades em atividades biológicas, atuando como anti-inflamatórios, bacterianos, fungicidas, antivirais, analgésicos, cardiovasculares e antitumorais (CALIXTO, 2004).

3.2.2.2 Esteroides

Os esteroides são compostos estruturalmente muito semelhantes que se caracterizam por apresentar na sua estrutura química básica quatro anéis condensados denominados ciclopentanoperidrofenantreno, contendo 28 ou 29 átomos de carbonos (PEREIRA, 2012).

São empregados pelas ações farmacológicas que podem apresentar, como analgésicas, anti-inflamatórias (SILVA, 2005; ARAÚJO, 2008). Por representarem moléculas de partida para a obtenção semissintética de fármacos esteroidais, como anticoncepcionais, anti-inflamatórios esteroidais e anabolizantes, plantas ricas em esteroides despertam o interesse das indústrias farmacêuticas (OLIVEIRA, 2007).

3.2.2.3 Flavonoides

Os flavonoides são compostos naturais, derivados da benzo- γ -pirona, apresentando a estrutura química C₆-C₃-C₆, biossintetizados a partir das vias do ácido chiquímico e do ácido acético (CAZAROLLI, 2008). Eles podem ser encontrados como agliconas ou sob a forma de glicosídeos e/ou derivados metilados e/ou acilados (HAVSTEEN, 2002; SIMÕES, 2010; VEITCH, 2008). As modificações no anel central dessas substâncias levam à diferenciação em subclasses distintas, tais como: chalconas, flavanonas, flavanonois, flavonas, flavonois, isoflavonas, flavan-3-ols e antocianidinas (VEITCH, 2008; BOOTS, 2008).

Os flavonoides correspondem ao maior grupo dentro dos compostos fenólicos e são importantes devido as suas diversas atividades sobre o sistema biológico, particularmente, sobre o sistema cardiovascular e por apresentarem ação antioxidante (ARAÚJO et al., 2005; TAIZ; ZEIGER, 2009). Atualmente, já foram identificadas mais de 8.000 substâncias pertencentes a este grupo (FLAMBÓ, 2013).

Pesquisas sugerem que alguns flavonoides são responsáveis por ações antitumorais, antivirais, antibacterianas, antifúngicas, anti-hemorrágicas, hormonais, anti-inflamatórias entre outras (SIMÕES et al., 2010).

3.2.2.4 *Taninos*

Os taninos são definidos como compostos fenólicos hidrossolúveis que possuem um peso molecular compreendido entre 500 e 3.000 Dalton (alguns autores especificam entre 1.000 e 5.000) e que apresentam, junto às reações clássicas dos fenóis, a propriedade de precipitar alcaloides, gelatina e outras proteínas (BATTESTIN, 2004; SIMÕES, 2010). São divididos de acordo com a estrutura química em dois grandes grupos: taninos hidrolisáveis e taninos condensados.

Taninos hidrolisáveis possuem um grupo poliol central (em sua maioria, é β -D-glicose, mas também o ácido quínico, outros fenóis e outros glicósidos) e hidroxilas esterificadas pelo ácido gálico (parte fenólica), (KHANBABAEE; REE, 2001). Os taninos condensados são polímeros de flavan-3-ol e/ou flavan-3,4-diol, produtos do metabolismo do fenilpropanol (HEIL et al., 2002).

Esses constituintes são responsáveis pela adstringência de muitos frutos de plantas e sua complexação com proteína é à base de algumas de suas propriedades biológicas, tais como controle de insetos, fungos e bactérias. Na medicina tradicional, plantas ricas em taninos são empregadas no tratamento de diversas afecções, tais como diarreias, hipertensão arterial, reumatismo, hemorragias, feridas, queimaduras, problemas estomacais, renais e do sistema urinário e processos inflamatórios em geral (TIWARI et al., 2011).

3.2.2.5 *Alcaloides*

Os alcaloides são compostos heterocíclicos que geralmente são sintetizados a partir de aminoácidos tais como triptofano, tirosina, fenilalanina, lisina e arginina sozinhos ou combinados com terpenoides. Dentre os principais grupos de alcaloides destacam-se: alcaloides isoquinolécicos, alcaloides quinolizidínicos, alcaloides pirrolizidínicos, alcaloides tropânicos e alcaloides indólicos (FACCHINI, 2001).

São caracterizados como compostos orgânicos que possuem pelo menos um átomo de nitrogênio no seu anel e acentuada ação farmacológica. Na sua grande maioria possuem caráter alcalino, já que a presença do átomo de N representa um par de elétrons não compartilhado. Eles possuem bases orgânicas contendo aminas cíclicas, secundárias ou terciárias, das quais aproximadamente 10.000 foram isolados (SEPÚLVEDA, 2003).

Encontra-se principalmente nas plantas, mas também em menor grau, nos animais e microrganismos. Ocorrem nos vegetais predominantemente na forma combinada, com ácidos

orgânicos, e em concentração menor, na forma livre. Nesta forma, são insolúveis em meio aquoso e solúvel em solventes orgânicos como clorofórmio, éter e benzeno; na forma de sal, a solubilidade é inversa. O grau de alcalinidade que apresentam é variável, dependendo da disponibilidade do par de elétrons do nitrogênio, podendo revelar caráter ácido quando este é quaternário. Tais compostos representam cerca de 20% das substâncias naturais descritas (SEPÚLVEDA, 2003; HUXLEY, 2007).

Para os alcaloides são relatadas uma ampla gama de atividades biológicas como: anticolinérgica, emética, antimalárica, anti-hipertensivo, hipnoanalgésica, amebicida, estimulante do sistema nervoso central, antiviral, miorelaxante, anestésica, antitumoral, antitussígeno, colinérgica, dentre outras (BARBOSA-FILHO et al., 2006; TIWARI et al., 2011).

3.2.2.6 Saponinas

Saponinas são glicosídeos de esteroides ou de terpenos policíclicos, polares, que se caracterizam por apresentar propriedade tensoativa, ou seja, podendo formar espuma abundante e persistente após agitação de suas soluções aquosas. Podem formar complexos com proteínas e fosfolipídios da membrana celular, determinando suas ações biológicas. Essa propriedade pode alterar a permeabilidade das membranas, podendo ajudar na absorção de substâncias ou pode destruí-la, indicando uma característica tóxica (SCHENKEL; GOSMANN; ATHAYDEM, 2007). As principais atividades apresentadas por plantas que possuem saponinas são: anti-inflamatória, larvicida, hipocolesterolemiantes, moluscicida, expectorante, etc (PELAH; ABRAMOVICH; WIESMAN, 2002; SULEYMAN et al., 2003).

3.3 Aspectos gerais da família Poaceae

3.3.1 Distribuição geográfica

A família Poaceae está constituída por 700 gêneros e 12.000 espécies, que dominam os ambientes abertos. No Brasil está representada por cerca de 180 gêneros e 1500 espécies, disseminadas por quase todas as regiões do país (SILVA, 2008). Poaceae constitui uma família da classe Liliopsida (plantas monocotiledôneas) e estima-se que a superfície da terra

seja coberta por 20% de suas espécies. São representadas por ervas, quase sempre rizomatosas, perenes, ou anuais, além de lenhosas, como os vários gêneros e espécies de bambus (JUDD et al. 2002 apud VIANA; FILGUEIRAS, 2008).

No mundo, essa família ocupa a terceira posição em número de gêneros, após Asteraceae e Orchidaceae - o quinto em termos do número de espécies após a Asteraceae, Orchidaceae, Fabaceae e Rubiaceae- e o primeiro do ponto de vista econômico (CAÑAS, 2011).

3.3.2 Perfil químico e farmacológico da família Poaceae

O perfil químico da família é bastante diversificado, já tendo sido isolado uma variedade de metabólitos secundários como esteroides, terpenos, saponinas, alcaloides, flavonoides e compostos fenólicos (LORENZI; MATOS, 2002; PEREIRA, 2003; DUARTE; ZANETE, 2004; NEGRELLE; GOMES, 2007; SCRIVANTI et al., 2009;).

Algumas de suas espécies possuem uso na medicina popular, como, por exemplo: *Coix lacryma-jobi*, conhecida por lágrima-de-nossa-senhora é usada contra micoses e como antisséptica das vias urinárias, *Gynerium sagitum* utilizada contra queda de cabelos e *Saccharum officinarum*, a popular cana-de-açúcar, utilizada contra aftas (FENNER et al., 2006). *Cynodon dactylon* é outra espécie de grande importância por suas inúmeras utilizações populares, como, tratamento de infecções urinárias, cálculos e prostatite e por sua atividade antimicrobiana e antiviral (SINGH et al., 2008).

Além destas, merece destaque a *Cymbopogon citratus*, conhecida por capim-limão, que tem grande destaque na família por sua importância socioeconômica e financeira. O “chá” ou “abafado” preparado de suas folhas frescas ou secas é muito utilizado na medicina popular em quase todos os continentes e abrange uma ampla gama de indicações, como: fortificante, estomáquico, antitussígeno, antigripal, analgésico, antiemético, anticardiopatias, antitérmico, anti-inflamatório de vias urinárias, diurético, e antiespasmódico (GOMES; NEGRELLE, 2003; DUARTE; ZANETE, 2004; HAIDA et al., 2007).

Algumas das atividades, como estomáquica, analgésica, antiespasmódica e antimicrobiana foram confirmadas através de ensaios farmacológicos. É igualmente amplo o espectro de utilização de substâncias extraídas do capim-limão, especialmente do óleo essencial. Uma descoberta que tem merecido destaque na literatura científica refere-se à ação do óleo essencial contra células leucêmicas. Além do uso medicinal, o óleo essencial do capim-limão é também usado nas indústrias de alimentos (aromatizante), perfumaria e

cosméticos, sendo esta utilização de razoável importância econômica (GOMES; NEGRELLE, 2003).

Apesar da ampla gama de empregos apresentada anteriormente para algumas espécies da família Poaceae e sua grande diversidade metabólica, pouquíssimas foram estudadas, evidenciando que ainda há muito a se descobrir.

3.4 Aspectos gerais do gênero *Chloris*

3.4.1 Distribuição geográfica e caracterização

O gênero *Chloris* Sw. pertence à tribo Cynodonteae, subfamília Chloridoideae. As 55 espécies conhecidas se encontram distribuídas nos trópicos e regiões temperadas de ambos os hemisférios (CLAYTON; RENVOIZE, 1986) e se caracterizam por apresentar de 1–4 antécios estéreis, sendo o antécio inferior aristado, glumas similares, páleas menores que os lemas e lodículas geralmente soldadas na base (MOLINA, 1996).

O gênero *Chloris* é pouco conhecido e suas espécies são usadas principalmente como forrageiras, destacando-se: *C. barbata* Sw., *C. elata* Desv., *C. exilis* Renv., *C. gayana* Kunth, *C. orthonoton* Döll, *C. pycnothrix* Trin. e *C. virgata* Sw que são conhecidas como plantas daninhas (ervas daninhas, infestantes), denominação para as plantas que crescem em locais indesejados e que geralmente apresentam algum efeito econômico negativo. Este termo é mais utilizado no sentido agrônomo, pois muitas espécies são injustamente enquadradas como negativas, porque essas também apresentam empregos positivos conhecidos (alimentícia, medicinal, impedem a erosão, forrageira, apícola, pioneiras e fixadoras de nitrogênio) e outros, talvez ainda desconhecidos (SCHNEIDER, 2007; MACIEL et al., 2013).

3.4.2 Aspectos gerais de *Chloris gayana* Kunth

Chloris gayana Kunth (Figura 1, p.26), conhecida popularmente por capim de Rhodes ou capim pé-de-galinha, é nativa da África e foi introduzida no Brasil, tendo registros para os estados de São Paulo, Rio Grande do Sul e Pernambuco (MOLINA; RÚGOLO-DE-AGRASAR 2004; FILGUEIRAS 2012; MACIEL et al., 2013). Entre todas as espécies registradas do gênero, *C. gayana* é a que apresenta o maior potencial forrageiro (MACIEL et al., 2013).



Figura 1- *Chloris gayana* Kunth
Fonte: Google imagens

3.4.3 Fitoquímica de *Chloris gayana* Kunth

Até o momento não há estudos científicos com ênfase na constituição química de *C. gayana* Kunth, sendo este um estudo pioneiro para essa espécie.

4 METODOLOGIA

4.1 Materiais

Os solventes utilizados na preparação e particionamento dos extratos de *Chloris gayana* Kunth eram analiticamente puros (P.A) obtidos das marcas Vetec e Quimex, destacando-se o hexano, clorofórmio, metanol e etanol.

Na evaporação dos solventes foi utilizado evaporador rotativo Quimis modelo Q344B2 acoplado a bomba de vácuo Exipump, modelo AC (vazão 37 l/min; vácuo máx.600 mmHg; pressão: 20/25 pi).

Na dissolução das amostras foi utilizado chapa aquecedora Fisatom, modelo 725A. As medidas de massa foram realizadas em balança analítica, modelo FA2104N e a trituração do material vegetal em moinho mecânico de facas CienLab, modelo A-20-70.

4.2 Métodos

4.2.1 Levantamento bibliográfico

Foi realizada a pesquisa nos periódicos (*Chemical Abstract*, *Biological Abstracts*, NAPRALERT e *Web of Science*, *Scielo e Capes*) para atualização dos dados e fonte de referencial teórico. Utilizaram-se como entrada de pesquisa as palavras chaves: Triagem, metabólitos secundários e *Chloris gayana* Kunth.

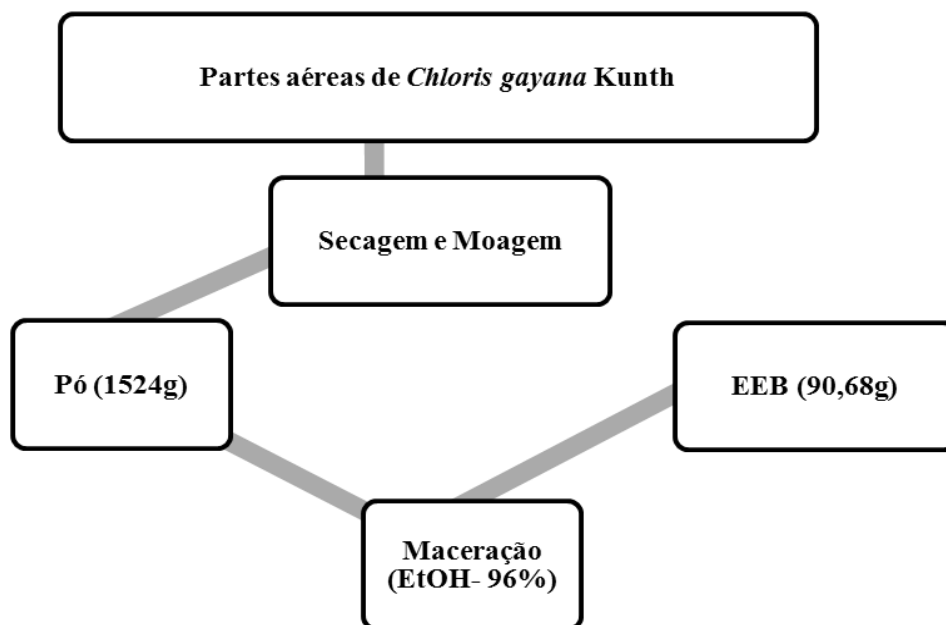
4.2.2 Coleta e identificação da espécie vegetal

As partes aéreas de *Chloris gayana* Kunth foram coletadas no sitio Campo Comprido, Cuité, Paraíba, Brasil. A identificação botânica foi realizada pelo Prof. Dr. Carlos Alberto Garcia Santos, sendo uma exsicata depositada no Herbário do Centro de Educação e Saúde, na Universidade Federal de Campina Grande, sob o número 0150.

4.2.3 Processamento da planta e obtenção do extrato etanólico bruto

O material vegetal foi desidratado ao ar livre com temperatura de 25-26°C, por um período de 20-25 dias. Posteriormente foi submetido à moagem empregando-se moinho de

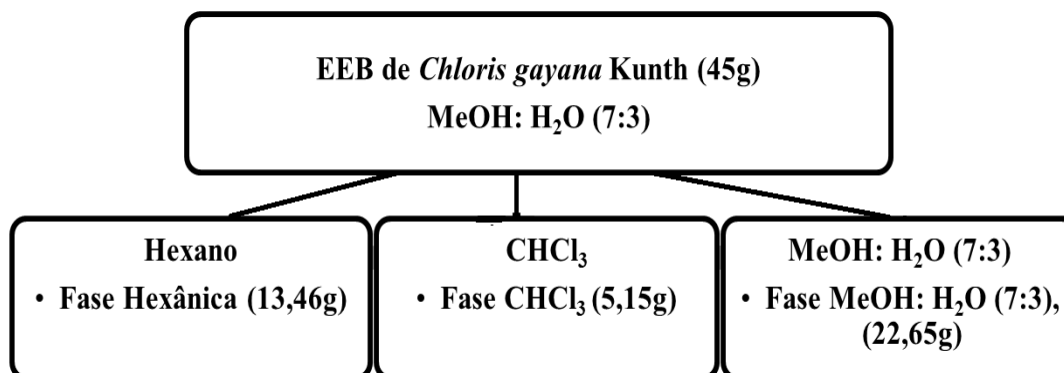
facas. O pó obtido (1524g) foi levado à maceração em etanol a 96%v/v, esse processo durou 72 horas e foi repetido cinco vezes. Em seguida, a solução extrativa foi concentrada em evaporador rotativo acoplado a bomba de vácuo, resultando no extrato etanólico bruto (E.E.B), esquema 1, p.28.



Esquema 1- Processamento e obtenção do extrato etanólico bruto de *Chloris gayana* Kunth.

4.2.4 Particionamento do extrato etanólico bruto de *Chloris gayana* Kunth

O extrato etanólico bruto (45 g) foi dissolvido em uma solução hidroalcoólica (MeOH: H₂O, 7:3), e submetida ao particionamento com solventes em gradiente crescente de polaridade, utilizando-se o hexano, clorofórmio e metanol. Após concentrados em evaporador rotativo, resultaram nas respectivas fases: hexânica (13,46g), clorofórmica (5,15g) e hidroalcoólica (22,65g). Esquema 2, p.28



Esquema 2- Particionamento do extrato etanólico bruto de *Chloris gayana* Kunth.

4.2.5 Prospecção fitoquímica preliminar

O extrato etanólico bruto das partes aéreas de *Chloris gayana* Kunth e as respectivas fases obtidas por particionamento (hexânica, clorofórmica e hidroalcoólica) foram submetidos à triagem fitoquímica preliminar. O quadro 2 a seguir mostra sucintamente a relação dos testes de caracterização e reagentes utilizados para cada classe de metabólitos.

METABÓLITOS	TESTE DE CARACTERIZAÇÃO	REAGENTES
Triterpenos e Esteroides	<i>Lieberman-Buchard</i>	Clorofórmio; anidrido acético e ácido sulfúrico concentrado.
Flavonoides	<i>Shinoda</i> <i>FeCl₃</i> <i>NaOH</i>	Etanol 96% v/v, anidrido acético, ácido clorídrico concentrado e magnésio metálico; Cloreto férrico; Hidróxido de sódio 5% m/v; água destilada.
Taninos	<i>FeCl₃</i>	Cloreto férrico 2% m/v.
Alcaloides	<i>Dragendorff</i> <i>Bouchardat</i>	Carbonato de bismuto; iodeto de potássio; ácido clorídrico concentrado e água destilada. Iodo, iodeto de potássio, água destilada, ácido clorídrico 1,5% m/v.
Saponinas	<i>Índice de espuma</i>	Água destilada.

Quadro 2- Classes de metabólitos pesquisados e técnicas aplicadas para prospecção fitoquímica.
Fonte: Próprio autor.

A pesquisa dos diferentes tipos de metabólitos secundários como esteroides, triterpenos, flavonoides, alcaloides, taninos, e saponinas foram baseados na metodologia descrita por MATOS (2009) e/ou BIAVATI et al. (2007).

4.2.5.1 *Teste para triterpenos e esteroides*

- Lieberman-Buchard

Os testes para esteroides/triterpenoides foram realizados pela reação de Lieberman-Burchard. Adicionou-se 1 mL do EEB e das fases hexânica, clorofórmica e hidroalcoólica resultantes do particionamento, solubilizados em clorofórmio, em tubos de ensaios distintos e devidamente identificados. Em seguida, colocou-se em cada um destes, 1 mL de anidrido acético, agitando-os suavemente e acrescentaram-se três gotas de H₂SO₄ concentrado. Observou-se o desenvolvimento de cores:

- Coloração azul evanescente seguida de verde permanente indicou a presença de esteroides livres;
- Coloração parda até vermelha indicou a presença de triterpenoides pentacíclicos livres.

4.2.5.2 *Teste para flavonoides*

- Shinoda ou cianidina

Foram transferidos 2 mL do EEB e das respectivas fases testadas, solubilizados em EtOH 96% v/v, para tubos de ensaios devidamente identificados. Em seguida, adicionou-se aproximadamente 0,5 cm de magnésio metálico em fita e 0,5 mL de HCl concentrado. O fim da reação deu-se pelo término de efervescência (Quadro 3, p. 31).

Aparecimento ou intensificação de coloração vermelha foi indicativo da presença de flavonóis, violeta (flavanonas) e laranja (flavonas).

Este ensaio produz reação negativa para chalconas, auronas, diidrochalconas, isoflavonas e isoflavanonas, não levando a alteração de coloração do extrato testado.

- FeCl₃

Diluiu-se o EEB e as fases testadas com água destilada na proporção 1:5, em seguida, transferiu-se 5 mL de cada para os respectivos tubos de ensaio. Adicionou-se pela parede de dos tubos 1 gota de cloreto férrico 2% m/v.

Observou-se o desenvolvimento de cor, que poderia variar entre verde, verde-castanha e violeta, de acordo com o tipo de composto flavonoídico (Quadro 3, p. 31).

- NaOH

Diluiu-se o EEB e as fases testadas com água destilada na proporção 1:5. Transferiu-se 5 mL desse extrato diluído e das respectivas fases para tubos de ensaio e adicionou-se então 1 ou 2 gotas de NaOH 5% m/v. Observou-se o desenvolvimento de coloração amarela, que poderia variar de intensidade de acordo com a classe identificada (Quadro 3, p. 31).

REAÇÃO	FLAVONOIS	FLAVANONAS	CHALCONAS	ISOFLAVONAS
Shinoda	Vermelha	Violeta	-----	-----
FeCl₃	Verde- castanha	Verde- castanha	Amarela	Verde
NaOH	Amarela-escura	Amarela	Amarela	Amarela

Quadro 3- Relação entre reações cromáticas e a coloração obtida conforme o tipo de flavonoide presente na amostra analisada.

Fonte: Costa (2000), adaptado pelo autor.

4.2.5.3 Teste para taninos

- FeCl₃

Em tubos de ensaios individuais contendo 2 mL do EEB ou das respectivas fases resultantes do particionamento, solubilizados em água destilada, adicionou-se 3 gotas de solução de cloreto férrico a 2% e agitou-se suavemente. Observou-se o desenvolvimento de cores:

- Coloração azul indicou a presença de taninos hidrolisáveis ou gálicos;
- Coloração verde indicou a presença de taninos condensados ou catéquicos.

4.2.5.4 Teste para alcaloides

- Dragendorff

Adicionou-se 1 mL do EEB e das fases testadas, alcalinizados previamente com Na_2CO_3 10% m/v, e solubilizadas em clorofórmio, em tubos de ensaios devidamente identificados. Em seguida, acrescentou-se 0,8 mL de HCl concentrado e 3 gotas de reativo de Dragendorff em cada tubo e observou-se alteração da solução.

A formação de precipitado vermelho tijolo floculoso ou turvação indicou possível presença de alcaloides.

- Bouchardat/ Wagner

Adicionou-se 1 mL do EEB e das fases testadas em tubos de ensaios devidamente identificados, alcalinizados previamente com Na_2CO_3 10% m/v e solubilizadas em clorofórmio. Em seguida acrescentou-se 0,8 mL de HCl concentrado e 3 gotas de reativo de Bouchardat/ Wagner em cada tubo e observou-se alteração da solução.

A formação de precipitado marrom avermelhado indicou possível presença de alcaloides

4.2.5.5 Teste para saponinas

- Índice de espuma

Foram transferidos 2 mL do EEB e das fases de *C. gayana* para tubos de ensaio em separado e devidamente identificados, que foram agitados por 15 segundos.

O teste foi considerado positivo quando houve a formação de espuma persistente por mais de 15 minutos;

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A triagem fitoquímica do extrato etanólico bruto (EEB) e das fases hexânica, clorofórmica e hidroalcoólica de *Chloris gayana* Kunth revelou a presença de importantes classes de metabólitos secundários, conforme verifica-se no Quadro 4, p. 33. Os resultados foram considerados positivos pela formação de precipitados, surgimento de coloração ou formação de espuma, e negativos pela ausência dos mesmos.

PESQUISA		RESULTADO			
METABÓLITO SECUNDÁRIO	TESTE	EEB	FASE HEX	FASE CHCl ₃	FASE MeOH:H ₂ O
Esteroides	Lieberman-Burchard	+	+	-	-
Triterpenos	Lieberman-Burchard	-	-	+	-
Flavonoides	Shinoda	-	-	-	-
	FeCl ₃	-	-	-	+
	NaOH	+	+	+	+
Taninos	FeCl ₃	+	-	-	+
Alcaloides	Dragendorff	+	+	+	-
	Bouchardat	+	+	+	-
Saponinas	Índice de espuma	-	-	-	-

Quadro 4- Triagem fitoquímica das partes aéreas de *Chloris gayana* Kunth.
O sinal (+) indica presença e (-) ausência do constituinte químico.
Fonte: Próprio autor.

5.1 Esteroides e triterpenos

O teste de Lieberman-Buchard utilizado para identificação de ambas as classes de metabólitos em *C. gayana* indicou a presença de esteroide no extrato etanólico bruto e na fase hexânica, através do surgimento de coloração azul evanescente, bem como de triterpenoides na fase clorofórmica pelo surgimento de coloração parda característica de triterpenoides pentacíclicos livres. O surgimento desses grupos nas fases de menor polaridade já era esperado, em virtude desses tipos de constituintes serem bastante comuns nos vegetais e caracterizarem-se por possuírem pouca polaridade.

Segundo KREPSKY (2014), o mecanismo exato como ocorre à reação colorimétrica ainda não foi totalmente comprovado. Contudo, acredita-se que o reagente de Liebermann-Burchard (anidrido acético + ácido sulfúrico concentrado) é o responsável por promover a desidratação e desidrogenação no núcleo fundamental, formando derivados corados com duplas conjugadas tanto em triterpenos como em esteroides. No caso dos triterpenos (Figura 2, p. 34) parece que o responsável pela reação é o grupo metileno do C11 (anel C). Enquanto que nos esteroides: 2 ligações duplas conjugadas no anel B ou 1 ligação dupla e um grupo metileno desimpedido no C7 (podendo sofrer oxidação e desidratação) seriam essenciais para a reação (Figura 3, p. 34).

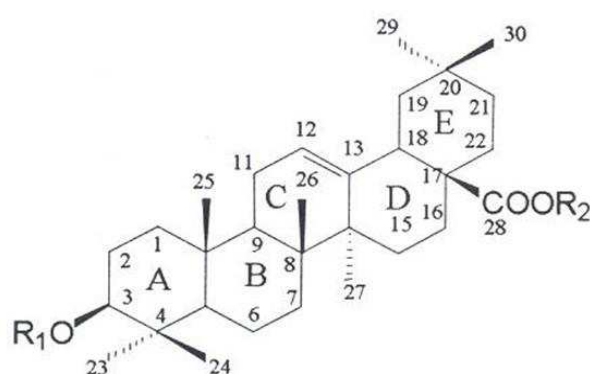


Figura 2- Representação de um triterpeno (β -amirina), $R_1=R_2=H$

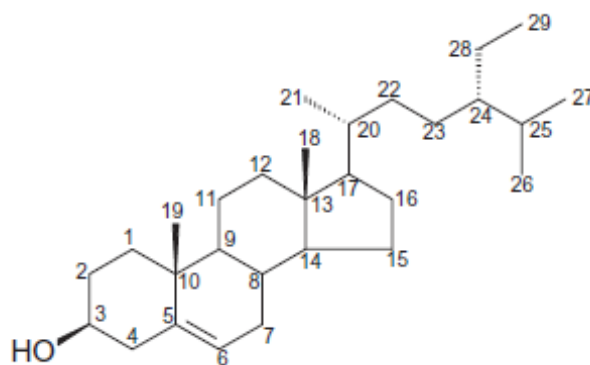


Figura 3- Representação de um esteroide (β -sitosterol)

Os triterpenos que ocorrem na natureza apresentam geralmente propriedades anti-inflamatórias através do estímulo a granulose e a fagocitose, auxiliando no combate às infecções. Alguns compostos triterpênicos têm sido relatados por apresentarem efeito inibitório da enzima lipoxigenase ou ciclooxygenase, anticonceptivos, inibirem a agregação plaquetária e interferirem a nível intracelular em vários passos da transdução. Podem atuar

também como analgésicos, cardiovasculares (glicósidos), antitumorais (TAIZ; ZEIGER, 2009), além de antibacterianos, antifúngicos, antivirais (DANG et al., 2013).

Devido às diversas atividades atribuídas aos terpenos, muitos estudos vêm sendo conduzidos no sentido de se obter derivados destes compostos e testá-los frente a diversos alvos biológicos (BORGATI, 2013; CORRÊA et al., 2012). Um dos exemplos de grande êxito na obtenção de derivados de terpenos é o antiviral bevirimat, um análogo do triterpeno pentacíclico ácido betulínico, representado na figura 4 (p. 35), a seguir.

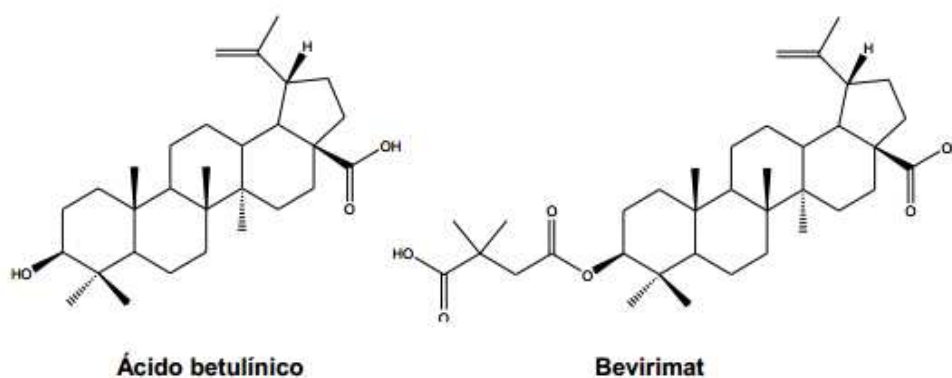


Figura 4- Representação do ácido betulínico e seu análogo sintético.

O bevirimat é o primeiro composto de uma nova classe de terapia antirretroviral, conhecido como inibidores de maturação do vírus HIV (SMITH et al., 2007). Kashiwada e colaboradores (1996) isolaram o ácido betulínico de *Syzygium claviflorum* e observaram a moderada atividade anti-HIV do composto. Porém, quando foi realizada a modificação na cadeia lateral do ácido, com a adição de um grupo na posição 3, a atividade do novo composto mostrou ser 1000 vezes maior que do ácido betulínico (KASHIWADA et al., 1996).

Os esteroides também conduzem a uma diversidade de ações biológicas, estão envolvidos no desenvolvimento e no controle do sistema reprodutor humano, funcionam como cardiotônicos (inibição da bomba de sódio e potássio), precursores de vitamina D, anticoncepcionais orais, agentes anti-inflamatórios e agentes anabolizantes e inibição do crescimento de certos tipos de tumores malignos (SALGADO, 2009). Podem atuar ainda sobre a hipertrofia da próstata, diabetes e nos processos inflamatórios em pacientes com doenças autoimunes (ARAÚJO, 2008).

5.2 Flavonoides

Os flavonoides são facilmente detectados experimentalmente por meio de ensaios colorimétricos. Uma das reações comuns, empregada na detecção e identificação de flavonoides é a reação de Shinoda ou, também chamada reação de cianidina. Esta reação baseia-se na adição de magnésio metálico seguido de HCl (ácido clorídrico) à uma alíquota do extrato vegetal, e o desenvolvimento de coloração (MATOS, 2009).

O mecanismo desta reação ainda não foi completamente elucidado. O que se sabe é que ocorre uma redução causada pelo magnésio na presença do ácido, que altera a coloração do composto flavonoídico. Esta reação acontece geralmente sobre os compostos de coloração amarela, tornando-os vermelhos ou no caso dos antociânicos, azuis ou violetas. Este teste é positivo para flavonoides que contenham o núcleo benzopirona na sua estrutura química, como por exemplo, as flavonas, flavonóis e flavanonas (MARTÍNEZ, 2005).

O teste de Shinoda utilizado para identificar a presença de flavonoides no extrato etanólico bruto e nas fases testadas mostrou-se negativo para as classes de flavonóis, flavonas e flavanonas por não apresentar alteração de coloração das soluções que variassem para tonalidades vermelhas ou azuis, após adição dos reagentes utilizados. Como este ensaio não detecta a presença de chalconas, auronas, diidrochalconas, isoflavonas e isoflavanonas (SIMÕES et al., 2010), optou-se por fazer outros ensaios que permitissem evidenciar também a presença de outros tipos de flavonoides em *C. gayana* Kunth.

As reações com hidróxido de sódio (NaOH) e cloreto férrico (FeCl_3) são muito utilizadas para a identificação de fenóis, na triagem de grupos funcionais (MOUCO; BERNADINO; CORNÉLIO, 2003) Como os flavonoides são polifenóis, estas reações podem ser utilizadas nas determinações dos mesmos e acrescentar informações na compilação dos resultados, uma vez que as colorações desenvolvidas fornecem características individuais de cada tipo de molécula (Quadro 3, p. 31).

Quando os fenóis reagem com FeCl_3 , ocorre liberação do íon Fe^{+3} na solução. Este íon forma um complexo colorido com grupamentos fenóis. Esta não é uma reação específica para fenóis, pois nem todos sofrem este tipo de complexação. Alguns enóis podem reagir e indicar um resultado positivo. Os testes com FeCl_3 para identificação de flavonoides mostrou-se positivo para a fase hidroalcoólica com surgimento de coloração verde, esta coloração pode indicar presença de isoflavonas (Quadro 3, p. 31). O resultado negativo para o extrato etanólico bruto (Quadro 4, p.33) sugere um resultado falso-negativo, ou seja, o constituinte químico pesquisado encontra-se presente, mas em pequena quantidade e misturado com

diversos outros metabólitos, alguns destes majoritários, dificultando sua detecção no material pesquisado.

Os fenóis também reagem com substâncias alcalinas, neste caso o NaOH, formando fenóxidos, que sofrem facilmente oxidação pelo ar, alterando sua coloração. O teste com hidróxido de sódio mostrou-se positivo tanto para o extrato como para as fases testadas, através do surgimento de coloração amarela que variou de intensidade. O ensaio com o E.E.B e fase hexânica indicou positividade para flavanonas, chalconas e isoflavonas pelo surgimento de coloração amarela e o realizado com a fase clorofórmica e hidroalcoólica mostrou-se positivo para flavonóis, pelo surgimento de coloração amarelo-escura, (Quadro 3, p. 31). Como é comum em ensaios qualitativos, a intensidade da cor obtida está relacionada com a concentração dos flavonoides na droga, sendo maior quanto mais intensa a coloração.

É importante ressaltar que estas são apenas suposições dos tipos de moléculas flavonóidica que podem estar presente no extrato bruto e fases testadas de *Chloris gayana* Kunth, considerando-se à inespecificidade das reações.

Mesmo os resultados do extrato bruto e fases testadas frente às reações de Shinoda terem sido divergentes, considerou-se que *C. gayana* possui flavonoides devido a reação positiva com NaOH e FeCl₃. A explicação baseia-se na possibilidade de ter ocorrido à extração de algum outro composto que impediu a reação com magnésio, ou ao fato do etanol usado na extração da droga não ter extraído a quantidade de analito necessária para que as reações de Shinoda ocorressem como deveriam.

Os flavonoides apresentam uma gama de ações sobre os sistemas biológicos demonstrando serem importantes moléculas ativas. Os mecanismos de ação antioxidante desses constituintes químicos são bastante discutidos e muitos autores sugerem que estes ocorrem de três maneiras: supressão da formação de espécies reativas de oxigênio através de inibição enzimática ou quelação de elementos envolvidos na produção de radicais livres; neutralização das espécies reativas de oxigênio e aumentando ou protegendo o sistema de defesa antioxidante (PIETTA, 2000; SÁ, 2012). Também foram reportados por atuar no trato gastrointestinal como agentes antiúlcera, antissecretório e antidiarreico (MACHADO et al., 2008 apud VIRGÍLIO, 2013).

Os flavonoides são potentes inibidores das vias da ciclooxigenase e do ácido araquidônico, consequentemente, possuem relevante atividade anti-inflamatória (HARBORNE; WILLIAMS, 2000; SIMÕES, 2010). A atividade antifúngica deve-se provavelmente à capacidade destes compostos em formar complexos com proteínas solúveis presentes nas paredes das células fúngicas (ARIF et al., 2011). Outro mecanismo possível é o

rompimento das membranas fúngicas devido à natureza lipofílica de alguns flavonoides (ARIF et al., 2011; SALAS et al., 2011).

A atividade antiviral dos flavonoides constitui uma área de investigação que se baseia particularmente na aparente ação destes compostos se comportarem como antioxidantes, inibirem enzimas, destruam membranas celulares, prevenirem a penetração e ligação do vírus às células e desencadearem mecanismos de autodefesa do hospedeiro (HAVSTEEN, 2002; CUSHNIE; LAMB, 2005). De uma forma geral, o efeito antibacteriano dos flavonoides deve-se também à atribuição de grupos fenólicos hidroxila que apresentam afinidade para as proteínas e, por essa razão, atuam como inibidores de enzimas bacterianas, assim como interferem nas suas vias de síntese (ÀVILA, et al., 2008; LI et al., 2012).

5.3 Taninos

O teste de cloreto férrico (FeCl_3) para caracterização de taninos em *C. gayana* indicou a presença de taninos condensados no extrato etanólico bruto e fase hidroalcoólica, através do surgimento de coloração verde. Este ensaio baseia-se numa reação colorimétrica onde ocorre a complexação de hidroxilas presente nos taninos com o Fe^{+2} levando ao desenvolvimento de coloração esverdeada quando há presença de taninos condensados ou catéquicos e de coloração azulada se houver presença de taninos hidrolisáveis (DIAS, 2014).

É comum o surgimento dos taninos em fases de maior polaridade pelo fato de apresentarem um grande número de hidroxilas, uma elevada massa molecular e serem moléculas bastante complexas. Este resultado corroborou com a afirmação anterior de que na espécie investigada há presença de flavonoides, uma vez que os taninos catéquicos são resultados da condensação de grupos flavan-3,4-dióis, que são conhecidos como leucoantocianidinas (SIMÕES et al., 2010).

Os taninos apresentam um elevado poder antisséptico que pode ser explicado pela sua capacidade de precipitar as proteínas das células superficiais das mucosas e dos tecidos, formando uma camada protetora (complexo tanino-proteína e/ou polissacarídeo) à pele ou à mucosa danificada, impedindo, assim, o desenvolvimento de microrganismos (PANCEIRA et al., 2003). Este mecanismo justifica ainda a ação benéfica dessa classe nos processos de cura de feridas, queimaduras e inflamações. Processo similar ocorre provavelmente em casos de úlcera gástrica, em que uma camada de tanino-proteína complexados protege a mucosa do estômago (SIMÕES et al., 2010).

A propriedade de ligar-se a proteínas também representa um importante mecanismo de inibição da formação de placas dentárias (placas são pressupostos para a formação de cáries e podem desencadear a formação de inflamações na gengiva e garganta). Isto deve-se à inativação pelos taninos da glicosiltransferase que é uma enzima produzida por bactérias bucais como *Streptococcus mutans* e *Streptococcus sobrinus*, cuja função é catalisar a formação de dextranas, que se sedimentam sobre os dentes e, com isso, facilitam à adesão dessas bactérias a superfície lisa dos dentes (SIMÕES et al, 2010).

As atividades bactericidas e fungicidas dos taninos ocorrem por três características gerais, comuns aos dois grupos de taninos (hidrolisáveis e condensados), são elas: a inibição de enzimas de bactérias e fungos e/ou a complexação com substratos dessas enzimas; a ação dos taninos sobre as membranas celulares dos microrganismos modificando seu metabolismo; e a terceira é a complexação com íons metálicos (ferro, manganês, vanádio, cobre, alumínio, cálcio, entre outros) diminuindo, assim, a disponibilidade destes elementos essenciais para o metabolismo dos microrganismos.

Os taninos ainda possuem importância na prevenção e tratamento de doenças causadas pela peroxidação de lipídeos, através de sua atividade antioxidante (NIEMETZ; GROSS, 2005; SIMÕES et al., 2010).

As propriedades antidiarreicas e anti-hemorragicas dessa classe de metabólitos secundários podem ser justificadas pelo seu poder adstringente. No primeiro caso, os movimentos peristálticos são diminuídos e no segundo a adstringência dos taninos desempenham um efeito vasoconstrictor sobre pequenos vasos superficiais. Ademais, esses constituintes precipitam alcaloides, podendo servir ainda como antídotos em casos de intoxicações (KAPU et al., 2001; BRUNETON, 1999).

5.4 Alcaloides

O teste com o reagente de Dragendorff (reagente geral) para identificação de alcaloides indicou sua possível presença no extrato etanólico bruto e nas fases hexânica e clorofórmica através da formação de precipitado vermelho tijolo, insolúvel e floculoso. O teste é apenas um indicativo da presença desse metabólito em *Chloris gayana* porque não é específico para alcaloides, podendo dar um falso-positivo na presença de outros compostos como, por exemplo, proteínas, aminas, purinas etc (SIMÕES et al, 2010).

O reagente de Dragendorff constitui uma solução de $K(BiI_4)$ em ácido diluído e por possuir metais pesados forma complexo e gera um precipitado vermelho-tijolo quando em

contato com alcaloides e outros compostos nitrogenados. Essa reação de complexação envolve os pares de elétrons do nitrogênio e os orbitais dos metais pesados desse reagente. Por isso, essas reações não estão limitadas aos alcaloides, mas a todas as substâncias (principalmente, nitrogenadas) com pares de elétrons livres que possam se complexar com estes reagentes (JOHANSON et al., 2010).

O teste com reagente de Bouchardat, que também é um reativo geral para identificar alcaloides, mostrou-se positivo para o extrato etanólico bruto e fases hexânica e clorofórmica testadas, através da formação de um precipitado marrom-avermelhado que indicou a presença de alcaloides. Semelhante ao que ocorre com o reagente de Dragendorff, neste ensaio, a base para a precipitação dos alcaloides é a formação de sais quartenários identificando seu núcleo com um nitrogênio em estado de oxidação negativa (FRIAS et al., 2011).

As atividades biológicas dos alcaloides estão diretamente relacionadas com a variedade estrutural encontrada nestes (FRIAS et al., 2011). Os alcaloides possuem inúmeras aplicações apresentando propriedades farmacológicas benéficas ou tóxicas para a saúde. Eles detêm um potencial efeito antimalárico, antimicrobiano, anticancerígeno, anti-inflamatório, no tratamento de diabetes, vasodilatador, antisséptico, cicatrizante, estomáquico, anti-helmíntico e antidiurético (TIWARI et al., 2011). Exatamente por sua diversidade de efeitos são moléculas de grande interesse farmacêutico.

5.5 Saponinas

Como as saponinas caracterizam-se por um núcleo esteroidal ou triterpênico unido ao resíduo de açúcar, fez-se anteriormente ao teste de espuma à reação de Lieberman-Burchard para a identificação do núcleo básico (sapogenina). Apesar deste ensaio ter demonstrado presença de esteroide na fase hexânica e triterpeno na fase clorofórmica, a reação foi negativa para o teste de espuma demonstrando ausência de saponinas em *C. gayana*.

O teste de espuma fundamenta-se na propriedade físico-química das saponinas de diminuir a tensão superficial (poder espumante) atribuída a seu caráter anfipático, ou seja, possuir uma parte lipofílica (esteroide ou triterpeno) e uma porção hidrofílica (resíduo de açúcar). Durante o ensaio não houve formação de espuma persistente durante um período de 15 minutos, indicando que os triterpenos e esteroides detectados não encontravam-se ligados à resíduos de açúcar.

Outros testes poderiam ser realizados, como o de hemólise, que baseia-se na ação das saponinas sobre membranas celulares podendo alterar a permeabilidade ou até mesmo levar à

destruição (SCHENKEL et al., 2007). Este ensaio não foi viável pela necessidade de utilização de material biológico, por ser mais complexo e apresentar risco de contaminação. Deu-se, então, preferência à análise com o teste de espuma por sua simplicidade, rapidez e confiabilidade, sendo este o teste padrão mais utilizado em estudos de triagem.

Do ponto de vista farmacológico, as saponinas apresentam ação expectorante cujo mecanismo de ação não está completamente elucidado, acredita-se que esteja relacionado à irritação causada no trato respiratório que aumentaria o volume do fluido respiratório, hidratando a secreção brônquica e diminuindo a viscosidade do muco, outra possibilidade seria devido à atividade superficial das saponinas, também originando menor viscosidade e maior facilidade de expulsão do muco. A atividade diurética seria devido à irritação no epitélio renal causada pelas saponinas (SIMÕES, 2010).

A ação hipocolesterolemiantes atribuída as saponinas deve-se à sua capacidade de formarem complexos com o colesterol, reduzindo o nível de colesterol sérico através do aumento da excreção do mesmo. O uso desse grupo como adjuvantes para aumentar a absorção de medicamentos ocorre pelo aumento da solubilidade deste ou por interferir nos mecanismos de absorção (SIMÕES, 2010).

A possibilidade de sintetizar hormônios animais a partir de saponinas tem ocorrido com a diosgenina, derivada de *Dioscorea macrostachya*, para produção industrial da progesterona. A produção industrial de hormônios animais a partir de saponinas vegetais causou uma significativa mudança no comportamento da sociedade contemporânea, pois foi à base da produção dos anticoncepcionais (PERES, 2004).

5.6 Considerações finais

Dados da literatura são escassos em termos fitoquímicos não só para espécie estudada, mas também para o gênero *Chloris*, assim sendo, esses componentes encontrados estão corroborando os registros de metabólitos secundários encontrados na família Poaceae. Um estudo recente de *Desmostachya bipinnata* L. (Poaceae) onde a triagem foi realizada nos extratos etanólico e aquoso das raízes da planta revelou a presença de alcaloides, terpenos e taninos (MEDHA et al., 2010). Componentes como alcaloides e terpenos também estão presentes em *Cymbopogon citratus* (capim-limão), cujo uso popular é bastante difundido e algumas de suas aplicações foram comprovadas por estudos científicos (DUARTE; ZANETE, 2004). Verificou-se a presença de flavonoides em *Paspalum maritimum* Trin, (capim-gengibre) foi o primeiro estudo fitoquímico com a espécie e apresentou como componentes

majoritários presentes nos extratos brutos analisados, esteroides e flavonoide (o flavonoide foi identificado como sendo a flavona tricina), (CORRÊA, 2010). Por isso a presença destes metabolitos em *Chloris gayana* torna-se um dado importante, devido à ampla variedade de atividades farmacológica que são relatadas a estas classes de compostos.

Os metabólitos secundários, hoje, são considerados como fontes potenciais de produtos farmacêuticos, agroindustriais e alimentícios. Por isso, necessita-se ainda explorar toda riqueza vegetal do país e intensificar as buscas por novos constituintes através de análises fitoquímicas das espécies de diversas famílias, em especial da família Poaceae que praticamente está desprovida de estudos.

Apesar da característica de simplicidade da análise preliminar das espécies, esta é uma atividade essencial e indispensável, levando o pesquisador a questionar-se sobre o que ainda não foi descoberto e estimulando-o a busca de novos conhecimentos que só visam à valorização da exuberante flora do Brasil e o avanço das pesquisas fitoquímicas com espécies comuns e que podem reservar grandes surpresas inerentes a sua composição. Assim, esse estudo traz consigo grande valor agregado ao ampliar os conhecimentos quimiotaxonômicos da família Poaceae.

6 CONCLUSÃO

Em conclusão pode-se dizer que *Chloris gayana* Kunth é uma planta com potencial para aplicação terapêutica, tendo em vista a presença de importantes classes de metabólitos secundários, como alcaloides, triterpenos, esteroides, flavonoides e taninos.

O indicativo da possível presença de alcaloides em *Chloris gayana* aliada à sua presença em outras espécies da família Poaceae é bastante animador, uma vez que essa classe de metabólitos secundários tem alcançado, cada vez mais, um significativo papel no mercado farmacêutico, e sua enorme variedade estrutural e diversidade de atividades tem sido base para desenvolvimento de importantes fármacos, a exemplo da morfina (hipnoanalgésico), codeína (antitussígeno), cocaína (analgésico periférico), entre tantos outros. Além disso, podem também ser utilizados como protótipos para descoberta de novos potenciais ativos.

Os resultados obtidos encorajam a realização de novos estudos com esta espécie vegetal para se determinar quais as substâncias presentes nos extratos podem contribuir para atividades biológicas, visando uma possível aplicação farmacêutica, agroindustrial ou alimentícia.

REFERÊNCIAS

- ANDRADE, S.F.; CARDOSO, L.G.; BASTOS, J.K. Anti-inflammatory and antinociceptive activities of extract, fractions and populnic acid from bark wood of *Austroplenckia populnea*. **Journal of Ethnopharmacoly**, v.109, n. 3, p. 464-471, 2007.
- ALVES, H.M. A diversidade química das plantas como fonte de fitofármacos. **Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola**, n.3, maio. 2001.
- ARAÚJO, J. M. **Química de Alimentos: Teoria e Prática**. 4. Ed. Viçosa: Editora UFV, 2008, 477p.
- ARAÚJO, P.W.B. et. al. Flavonóides e hipertensão. **Revista Brasileira de Hipertensão**, v. 13, n. 3, p. 188-189, 2005.
- ARIF, T., M. et al. Natural products: Anti – fungal agents derived from plants. **Opportunity, Challenge and Scope of Natural Products in Medicinal Chemistry**, n. 81, p.283 –311, 2011.
- ÁVILA, P.H. et al. Structure – activity relationship of antibacterial chalcones. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, n.16, p.9790–9794, 2008.
- BARBOSA-FILHO, J. M.; et. al. Anti-inflammatory activity of alkaloids: a twenty-century review. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, n. 1, p. 109-134, 2006.
- BARREIRO, E. J. Produtos Naturais e Bioativos de Origem Vegetal e o Desenvolvimento de Fármacos. **Química Nova**, v.13, n. 1, p. 29-39, 1990.
- BRAZ -FILHO, RAIMUNDO. Contribuição da fitoquímica para o desenvolvimento de um país emergente. **Química Nova**, v. 33, n. 1, p. 229-239, 2010.
- BATTESTIN, V. MATSUDA, L. K; MACEDO. G.A. Fontes e aplicações de taninos e tanases em alimentos. **Alimento e Nutrição**, Araraquara, v.15, n.1, p.63-72, 2004.
- BERG, J. M. T. e LUBERT, J. **Bioquímica**. 6. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008, 545p.

BIAVATTI, M. W. et al. Ethnopharmacognostic survey on botanical compendia for potential cosmeceutic species from Atlantic Forest. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v.17, n.4, p.640-653, 2007.

BRISKIN, D. P. Medical plants and phytomedicines. Linking plant biochemistry and physiology to human health. **Plant Physiology**, n.124, p.507-514, 2000.

BOOTS, A. W.; HAENEN, G. R. M. M.; BAST, A. **Journal of Pharmacology** , n.585, p.325, 2008.

BORGATI, T. F. —**Síntese e atividade antimalárica de derivados 1,2,3-triazólicos do Lupeoll**. [Dissertação]. Departamento de Química. Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, MG, 2013.

BRUNETTON, J. **Pharmacognosie: phytochimie plantas medicinales**, 2 ed. Paris: Lavoisier Tec & Doc, 1999, 1120p.

_____ - **Elementos de fitoquímica y de fármacognosia**. Zaragoza: Editorial Acribia, 1991. 594p.

CALIXTO, J.B. et. al. Kinin B1 receptors: key G-protein-coupled receptors and their role in inflammatory and painful processes. **Brazilian Journal Pharmacology**, n.143, v.7, p.803-18, 2004.

CAÑAS, G.D. Catálogo de las Poaceae de Colômbia. **Darwiniana**, v. 49, n. 2, p. 139-247, 2011, Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=66922010003>, acesso em 13 de Abril de 2014.

CLAYTON, W.D; RENVOIZE. S.A... Genera Graminum: Grasses of the World. **Kew Bulletin Additional Series 13, Royal Botanical Garden, Kew. Her Majesty's Stationery Office**, London, p .389, 1986.

CAZAROLLI, L. H.; ZANATTA, L.; ALBERTON, E. H.; FIGUEIREDO, M. S. R. B. Flavonoids: prospective drug candidates. **Mini-Revista Medical Chemical**, n.8, p.1429, 2008.

CENTRO DE GESTÃO E ESTUDOS ESTRATÉGICOS. **Química verde no Brasil: 2010-2030** - Ed. rev. e atual. Brasília-DF, 2010, p. 268.

COSTA, A.F. **Farmacognosia**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 3ª ed., v.3, 2001, 1032p.

CORRÊA, P. R. C. et al. Antimicrobial activity of synthetic bornyl benzoates against *Trypanosoma cruzi*. **Pathogens and Global Health**, v.106, n.2, p.107-112, 2012.

CORRÊA, M.J.C. **Paspalum maritimum Trin.: Estudo Químico, Isolamento de Endofíticos, Biotransformações, Sínteses e Atividade Alelopática**. [Tese]. Belém: Instituto de Ciências Exatas e Naturais (UFP), 2010, p.196.

CROTEAU. R.; KUTCHAN.T.M; LEWIS N. G. Natural Products (Secondary Metabolites), cap.24. p. 1250-1318, In: BUCHANAN B.; GRUISSEM, W. JONES, R., **Biochemistry & Molecular Biology of Plants**. Eds. American Society of Plant Physiologists, 2000.

CUSHNIE, T., LAMB, A.J. Antimicrobial activity of flavonoids. **International Journal of Antimicrobial Agents**, n.26, p.343–356, 2005.

_____. Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids. **International Journal of Antimicrobial Agents**, n.38, p.99–107, 2011.

DANG, Z.; H, P et al., New Betulinic Acid Derivatives for Bevirimat-Resistant Human Immunodeficiency Virus Type-1. **Journal of Medicinal Chemistry**, v.56, n.5 p.2029-2037, 2013.

DIAS, H.P. et al., Identificação de Polifenóis: Sequência Pedagógica para o Ensino Médio. **Revista Virtual de Química**, v.6, n.2, p. 467-477, 2014.

DI STASI, L. C. et al. Medicinal plants popularly used in the Brazilian Tropical Atlantic Forest. **Fitoterapia**, v. 73, p. 69-91, 2002.

DUARTE, M. R.; ZANETE, C. C. Estudo farmacobotânico de folhas de capim-limão: *Cymbopogon citratus* (DC.) STAPF, Poaceae. **Visão Acadêmica**, v. 5, n. 2, p. 117-124, 2004.

FAMBLÓ, D.F.A.L.P. **Atividades biológicas dos flavonoides: atividade antimicrobiana**. [Monografia]. Porto: Universidade Fernando Pessoa, 2013.

FACCHINI, P.J. Alkaloid biosynthesis in plants: Biochemistry, cell biology, molecular regulation, and metabolic engineering applications. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**. v.52, p. 29-66, 2001.

FENNER, R. et al. Plantas utilizadas na medicina popular brasileira com potencial atividade antifúngica. **Jornal Brasileiro de Ciências Farmacêuticas**. v. 42, n. 3, p.369-394, 2006.

FERREIRA, S.B.; DANTAS, I.C.; CATÃO, R.M.R. Avaliação da atividade antimicrobiana do óleo essencial de sucupira (*Pterodon emarginatus Vogel*). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas- SP, v.16, n.2, p.225-230, 2014.

FILGUEIRAS, T.S. *Chloris*. In: FORZZA, R.C. et al. (eds.). **Lista de espécies da flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro**, 2012. Disponível em <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2011/FB013081>>. Acesso em 22 Jun. 2012.

FOGLIO, M.A. et al. Plantas Mediciniais como Fonte de Recursos Terapêuticos: Um Modelo Multidisciplinar. **MultiCiência: Construindo a história dos produtos naturais**. CPQBA/UNICAMP, 2006.

FRIAS, A. et al. Caracterización fitoquímica y de las actividades antibacterianas y anticolinesterasa de *Banisteriopsis anisandra* A. Juss. (Malpighiaceae). **Revista Cubana Plantas Mediciniais**, Ciudad de la Habana, v. 16, n. 1, p.60-71, 2011 .

GOMES, E. C.; NEGRELLE, R. R. B. *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf: Aspectos botânicos e ecológicos. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 4, n. 2, p. 137-144, 2003.

GONÇALVES, J.M. **Avaliação da atividade antimicrobiana e triagem fitoquímica dos extratos de espécies da família Asteraceae encontradas no semiárido baiano**. [Dissertação]. Feira de Santana- BA: Universidade Estadual de Feira de Santana., 2010.

HAIDA, K. S. et. al. Avaliação in vitro da atividade antimicrobiana de oito espécies de plantas medicinais. **Arquivo de Ciência e Saúde Unipar**, Umuarama, v. 11, n. 3, p. 185-192, 2007.

HARBORNE, J.B., WILLIAMS, A.C. Advances in flavonoid research since 1992. **Phytochemistry**, n.55, p. 401–504, 2000.

HARVEY, A. L.; Natural products in drug Discovery. **Drug Discovery Today**. v.13,n.19-20, p.894-901, 2008. Disponível: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18691670>, acesso em: 12 de abril de 2014.

HAVSTEEN, B. H. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. **Pharmacology & Therapeutics**. n.96, p.67, 2002.

HEIL, M. et. al. Extraction and quantification of “condensed tannins” as a measure of plant anti-herbivore defence? Revisiting an old problem. **Naturwissenschaften**. v.89. p. 519-524, 2002.

HUXLEY, A. Chemical Plants. The Open University. 27 Sept. 2007. Disponível em: <<http://www.open2.net/sciencetechnologynature/worldaroundus/chemicalplants.html>>. Acesso em: 13 mai. 2014.

INACIO, J.P.F. **“Esteróides antitumorais: a funcionalização seletiva do anel D de esteróides da série pregnano no desenvolvimento de potenciais agentes anticancerígenos”**. [Relatório de Estágio]. Covilhã: Universidade da Beira Interior, 2012.

JOHANSON. L. et al. **Extração, isolamento e caracterização das metilxantinas**. [Trabalho], Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ. RJ, 2010. Disponível em: <http://dc348.4shared.com/doc/rc5Uk1Kd/preview.html>, acesso em 15/06/14, as 17h30min.

KASHIWADA, Y. et al. Betulinic acid and dihydrobetulinic acid derivatives as potent anti-HIV agents. **Journal of Medicinal Chemistry**, 39, 1016-1017, 1996.

KHANBABAEE, K.; REE, T. Tannins: Classification and Definition. **Natural Products Reports**, Londres, v.18, n.6, p.641-649, 2001. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1039/B101061L>. Acesso em: 16 ago. 2011.

KIATKOSKI, E.C. **Estudo fitoquímico dos frutos e sementes de *Pterodon emarginatus* Vogel e *Pterodon polygalaeflorus* Benth.** [Dissertação]. Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 2011.

KREPSKY, P. B. **Análise fitoquímica preliminar**. Disponível em: <http://pt.scribd.com/doc/130272094/analise-fitoquimica-041112#download>, acesso em 15/06/14, às 17h44min.

KAPU, S.D. et al. K. Anti-inflammatory, analgesic and anti-lymphocytic activities of the aqueous extract of *Crinum giganteum*. **Journal of Ethnopharmacology**. v.78, p.7-13, 2001.

LI, Y. et al. Design, synthesis and antimicrobial activities of nitroimidazole derivatives containing 1,3,4 – oxadiazole scaffold as FabH inhibitors. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, n.20, p.4316–4322, 2012.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas. Computação gráfica Osmar Gomes**. Nova odessa, SP: Instituto Platarum, 2002, 544p.

MACHADO, H.. Flavonoides e seu Potencial Terapêutico. **Boletim do Centro de Biologia de Reprodução- Juiz de Fora**, v. 27, n. (½), p. 33-39, 2008.

MACIEL, M.A.M. et al. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, vol. 25, n.3.p. 429-438, 2002.

MACIEL, J.R., SILVA, W.C; COSTA-E-SILVA, M.B. O gênero *Chloris* (Poaceae) em Pernambuco, Brasil. **Rodriguésia**, v.64, n.1, p. 169-177, 2013. Disponível em: <http://rodriguesia.jbrj.gov.br>, acesso em 19 de abril de 2014.

MARCHIORI, V.F. ***Rosmarinus officinalis*** — [Monografia]- Curso *On line* Fitomedicina. Fundação Herbarium – julho / 2004.

MARTÍNEZ A. **Flavonoides**. [Apostila] Facultad de Química Farmacéutica, Universidad de Antioquia. Medellín, setembro, 2005. Disponível em: <http://farmacia.udea.edu.co/~ff/flavonoides2001>, acesso em 13/06/14.

MATOS, F. J. A. **Introdução à Fitoquímica Experimental**. 2ª ed. Fortaleza: Edições UFC, 2009, 148 p.

MEDHA, M.H. et al., Assessment of antidiarrhoeal activity of *Desmostachya bipinnata* L.(Poaceae) root extracts. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**, n.9, v.4, p.312 -318. 2010.

MOLINA, A.M. Revisión taxonómica del género *Eustachys* Desv. (Poaceae: Chloridoideae, Cynodonteae) de Sudamérica. **Candollea**, n. 51, p.225-272. 1996.

MOLINA, A.M.; RÚGOLO-DE-AGRASAR, Z.E. Revisión taxonómica de las especies del género *Chloris* (Poaceae: Chloridoideae) em Sudamérica. **Candollea**, n.59, p. 347-428, 2004.

MOUCO, G; BERNADINO, M.J; CORNÉLIO, M.L. Controle de qualidade de ervas medicinais (Controle de qualidade de *Phyllanthus niruri* L. (quebra-pedra). **Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**. Edição nº 31 - julho/dezembro, 2003.

NEGRELLE, R. R. B.; GOMES, E. C. *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf: chemical composition and biological activities. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.9, n.1, p. 80-92, 2007.

NIEMETZ, R.; GROSS, G. G. Enzymology of gallotannin and ellagitannin biosynthesis. **Phytochemistry**, n.66, p. 2001-2011. 2005.

OLIVEIRA, B. H. **Obtenção de novos fármacos através da biotransformação de produtos naturais**. In: Yunes, R. A. & Chechin Filho, V (Org.). **Química de produtos naturais, novos fármacos e a moderna farmacognosia**. 1. ed. Itajaí: UNIVALI, 2007, p.303.

OLIVEIRA, F; AKISUE, G.; AKISUE, M. K. **Farmacognosia: teoria e prática [apostila]**. São Paulo: Pharmakon, 2002. 148p.

PANCEIRA, M. R. et al., A. Análise de taninos totais em plantas aromáticas e medicinais cultivadas no Nordeste do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 13, n. 1, p. 17-22, 2003.

PELAH, D.; ABRAMOVICH, Z.; WIESMAN, M. K. The use of commercial saponin from *Quillaga saponaria* bark as a natural larvicidal agent against *Aedes aegypti* and *Culex pipiens*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 81, p. 407-409, 2002.

PEREIRA, R. J; CARDOSO, M. G. Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes. **Jornal de Biotecnologia e Biodiversidade**. v.3, n.4, p.146-152, 2012.

PEREIRA, A. A. G. ***Brachiaria humidicola* (Rendle) Schweickerdt (POACEAE)- Composição fitoquímica dos extratos polares e análise da atividade alelopática** [Dissertação]. Pará: Universidade Federal do Pará, 2003.

PERES, L. E. P. **Metabolismo Secundário**. Piracicaba – São Paulo: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. ESALQ/USP, 2004, p. 1-10.

PINTO, A.C. et. al. Produtos naturais: atualidade, desafios e perspectivas. **Química Nova**. v. 25, Supl. 1, p.45-61, 2002.

PINHATTI, V. R. **Avaliação das atividades biológicas e genotóxicas em dois derivados de guanilhidrazonas**. [Dissertação]. Porto Alegre- RS: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2009.

PIETTA, P. G. Flavonoids as antioxidants. **Journal Natural Products**, v. 63, n. 7, p.1035-1042, 2000.

RAVEN, P. H, EICKHORN, S. E. & EVERT, R. F. **Biologia Vegetal**. 6ª ed. Editora: Guanabara Koogan S.A, Rio de Janeiro, 2001, 906p.

RENVOIZE, S.A. The grasses of Bahia. **Royal Botanic Gardens, Kew**. p.301, 1984.

ROCHA, M. **Pesquisa de taninos**. Disponível em:
<http://www.trabalhosfeitos.com/ensaios/Pesquisa-De-Taninos/586141.html>, acesso em 15/06/14, às 17h44min.

SÁ, P.G.S. et al., Fenóis totais, flavonoides totais e atividade antioxidante de *Selaginella convoluta* (Arn.) Spring (Selaginellaceae). **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v.33, n.4, p.561-566, 2012.

SALGADO, J. M., **Guia dos Funcionais: Dieta Alimentar para Manter a Saúde e Evitar Doenças**. 2ª ed. Rio de Janeiro: Ediouro, v.1, 2009, 192p.

SALAS, P.M. et al.. Antifungal activity and enzymatically – modified flavonoids isolated from citrus species. **Food Chemistry**, n.124, p.1411–1415, 2011.

SCRIVANTI, L. R.; ANTON, A. M.; ZYGADLO, J. A. Essential oil composition of *Bothriochloa* Kuntze (Poaceae) from South America and their chemotaxonomy. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 37, p. 206-213, 2009.

SCHNEIDER, A. A. A flora naturalizada no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil: herbáceas subespontâneas. **Biociências**, v. 15, n. 2, p. 257-268, 2007.

SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; ATHAYDEM, L. Saponinas. In: SIMÕES, M. O. et al. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 3. ed. Porto Alegre: UFRGS; Florianópolis: UFSC, 2007, p.711-740.

SHING, S. K.. et al. Evidence-based critical evaluation of glycemic potential of *Cynodon dactylon*. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, v.5, n. 4, p.415-420, 2008.

SEPÚLVEDA J.G. PORTA-DUCOING, H.; SOSA, M. R. La participacion de los metabólitos secundários en la defensa de las plantas. **Revista Mexicana de Fitopatologia**. v. 21, n.3, p.355-363, 2003.

SIMÕES, C.M. O; SCHENKEL, E. P. A pesquisa e a produção brasileira de medicamentos a partir de plantas medicinais: a necessária interação da indústria com a academia. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v.12, n.1, p.35-40, 2002.

SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6. ed. Porto Alegre: Ed. da UFSC, 2010, 1102p.

_____, **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6. ed. Porto Alegre: Ed. da UFSC, 2010, cap. 23, p.601-606.

SILVA, A. A. **Estudo químico e avaliação de atividades biológicas da planta *Cenchrus echinatus* L. (Poaceae)**. [Dissertação]. Maringá: Universidade Estadual de Maringá, 2008.

SILVA, M. M. da C. **Transformações químico-enzimáticas em esteróides**. [Dissertação]. Lisboa: Universidade de Coimbra, 2005.

SILVA, K.A.B. S, **efeito anti-hiperalgésico e antiinflamatório de triterpenos pentacíclicos em modelos experimentais de hiperalgesia crônica: participação do sistema canabinoide** [Tese]: UFSC, Florianópolis- SC, 2011.

SMITH, P. F. et al. Phase I and II study of the safety, virologic effect, and pharmacokinetics/pharmacodynamics of single-dose 3-O-(3',3' dimethylsuccinyl) betulonic Acid (Bevirimat) against Human Immunodeficiency Virus Infection. **Antimicrobians Agents Chemother**. v.51, n.10, p.3574-3581, 2007.

SOUZA, M. C. et. al. Evaluation of anti-inflammatory activity of essential oils from two Asteraceae species. **Pharmazie**. n.58, p.582-586, 2003.

SULEYMAN, H. et al. R. Acute and chronic anti-inflammatory profile of the ivy plant, *Hedera helix*, in rats. **Phytomedicine**, v. 10, p. 370-374, 2003.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4. Ed. Porto Alegre: Artmed, 2009, 820p.

TIWARI, P. et al.,. Phytochemical Screening and extraction. **A Review of Internationale Pharmaceutica Scientia**, v.1 n.1, p.98-106, 2011.

VEITCH, N. C.; GRAYER, R. E. J. Flavonoids and their glycosides, including anthocyanins. **Natural Products Report**. n.24, p.555, 2008.

VERPOORTE, R.; ALFERMANN, A. W. Metabolic engineering of plant secondary metabolism. **Kluwer Academic Publishers**, 2000.

VIANA. P.L., FILGUEIRAS. T.S. Inventário e distribuição geográfica das gramíneas (Poaceae) na Cadeia do Espinhaço, Brasil. **Megadiversidade**. n. 4, p.1-2, 2008.

VIRGILIO, V. **Estudo fitoquímico de algumas plantas medicinais usadas na província de Maputo**. [Monografia]. Maputo: Universidade Eduardo Mondlane, Faculdade de Ciências, Departamento de Química, 2013.

YUNES, R. A. CALIXTO, J.B. **Plantas medicinais sob a ótica da moderna química medicinal**. Chapeco: Argos, 2001, p.523.