

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUTOS NATURAIS
E SINTÉTICOS BIOATIVOS

TAINÁ SOUZA SILVA

Estudo químico, atividade antioxidante e fotoprotetora de
Chamaecrista sp. e *Senna splendida*

SAPIENTIA AEDIFICAT

João Pessoa – PB

2017

TAINÁ SOUZA SILVA

**Estudo químico, atividade antioxidante e fotoprotetora de
Chamaecrista sp. e *Senna splendida***

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba, em cumprimento às exigências para obtenção do título de Doutor em Farmacoquímica de Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos.

ORIENTADOR: Prof. Dr. Josean Fechine Tavares

João Pessoa – PB

2017

S586e Silva, Tainá Souza.
Estudo químico, atividade antioxidante e fotoprotetora de
Chamaecrista sp. e *Senna splendida* / Tainá Souza Silva. -
João Pessoa, 2017.
203 f. : il.

Orientador: Josean Fachine Tavares.
Tese (Doutorado) - UFPB/CCS

1. *Chamaecrista*. 2. *Senna splendida*. 3. Indicador natural
de pH. 4. Fotoprotetor. 5. Antioxidante. I. Título.

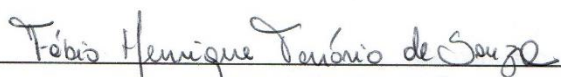
UFPB/BC

CDU: 615.32(043)

TAINÁ SOUZA SILVA

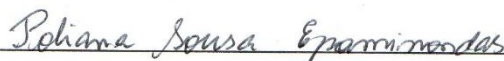
**Estudo químico, atividade antioxidante e fotoprotetora de
Chamaecrista sp. e *Senna splendida***

COMISSÃO EXAMINADORA



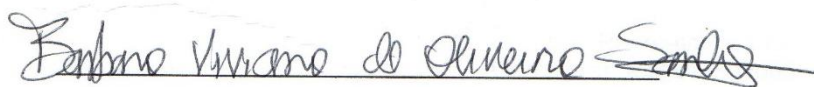
Prof. Dr. FÁBIO HENRIQUE TENÓRIO DE SOUZA

PhD em Química de Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos
Faculdade de Ciências Médicas da Paraíba – Campus II
(Membro Externo)



Profa Dra. POLIANA EPAMINONDAS SOUSA

PhD em Ciência e Tecnologia de Alimentos
Instituto Federal da Paraíba – Campus Sousa
(Membro Externo)



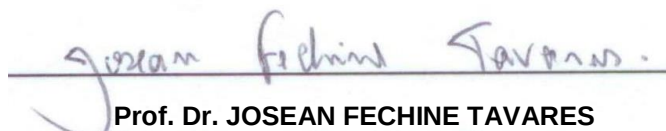
Profa. Dra. BARBARA VIVIANA DE OLIVEIRA SANTOS

PhD em Química de Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos
Universidade Federal da Paraíba – Campus I
(Membro Interno)



Prof. Dr. ALEXSANDRO FERNANDES MARINHO

PhD em Química de Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos
Associação Paraibana de Ensino Renovado - ASPER
(Membro Externo)



Prof. Dr. JOSEAN FECHINE TAVARES

PhD em Química de Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos
Universidade Federal da Paraíba – Campus I
(Orientador)

“Pra começar
Cada coisa em seu lugar
E nada como um dia após o outro

Pra quê apressar?
Se nem sabe onde chegar
Correr em vão se o caminho é longo

Quem se soltar, da vida vai gostar
E a vida vai gostar de volta em dobro

E se tropeçar
Do chão não vai passar
Quem sete vezes cai levanta oito

Quem julga saber
E esquece de aprender
Coitado de quem se interessa pouco

E quando chorar
Tristeza pra lavar
Num ombro cai metade do sufoco

O novo virá
Pra re-harmonizar
A terra, o ar, a água e o fogo

E sem se queixar
As peças vão voltar
Pra mesma caixa no final do jogo

Pode esperar
O tempo nos dirá
Que nada como um dia após o outro

O tempo dirá
O tempo é que dirá
E nada como um dia após o outro”

Tiago Iorc

*Dedico este trabalho a todos que
apoiam direta ou indiretamente a
pesquisa com produtos naturais.*

AGRADECIMENTOS

Gostaria de aqui demonstrar o meu sincero agradecimento a todos que fizeram parte desta etapa da minha vida pois é preciso saber que sozinha não conseguiria nada...

Quero agradecer primeiramente aos meus pais, **José Luciano Silva** e **Maria Isonete de Goes Souza**, por todo o amor, o carinho, a preocupação e a dedicação que sempre demonstraram ter a mim. Pelos esforços e noites mal dormidas em favor de minha educação e que me permitiram chegar até aqui.

As minhas irmãs, **Lara Souza Silva** e **Dandara Souza Silva** pelo carinho, ajuda e compreensão. A meu sobrinho, Luca Silva Lucena, que a cada dia me ensina mais e mais sobre a vida.

A meu esposo, **João Jarllys Nóbrega de Souza**, por todo amor, carinho, amizade, apoio, dedicação, incentivo, compreensão, paciência e ajuda. Este trabalho também é seu, pois muito do que foi feito, teve sua participação.

Aos meus sogros, **Geralda e João** e meus cunhados por todo carinho, incentivo e apoio.

Ao meu orientador, o professor **Josean Fachine Tavares**, por todos os ensinamentos, por ter confiado e acreditado sempre em mim e por permitir e apoiar a realização desse trabalho.

A **Juliana Gomes**, pela realização conjunta deste trabalho, pela amizade, dedicação e companhia. Você foi fundamental para realização e conclusão do meu doutorado.

A **Poliana e Aline**, pela amizade e por me ensinarem a fazer os testes de atividade antioxidante.

A **Clarice e Rafaela**, pelos estudos, ajuda e amizade nos momentos bons e ruins das análises dos antioxidantes.

Aos amigos e técnicos do Núcleo de Caracterização e Análise (NUCAL), **Vicente, Alexandro e Sócrates**, pela amizade, paciência, generosidade e pelo apoio na obtenção dos espectros de RMN e Massas.

Ao amigo **Evandro Ferreira**, pelo incentivo, pelos inúmeros espectros de RMN, pela amizade e pelas conversas sempre tão importantes nos momentos bons e ruins dessa etapa da vida.

Ao professor e amigo, **Jailson Machado**, pela confiança, pelos conhecimentos compartilhados e por ter aberto as portas do LANANO para nossas análises.

As amigas **Camila Holanda e Eugênia**, que fiz durante o mestrado e que espero mantê-las por muito tempo. Obrigada por todos os momentos de felicidade e angústia que compartilhamos.

A equipe de pesquisa do professor Marcelo e Josean, em especial a **Yuri**, pela amizade e disponibilidade em ajudar em todos os momentos.

Ao doutorando **Márcio Cahino**, pela ajuda e conhecimentos compartilhados sobre atividade fotoprotetora.

A professora **Maria de Fátima Agra**, pela coleta e identificação da espécie.

Ao professor **Marcus Scotti**, pelo auxílio nas análises estatísticas.

Ao professor **Marcelo Sobral**, pela ajuda na análise dos espectros de massa.

Aos professores **Bárbara Viviana, Petrônio Filgueiras e Sócrates Golzio** por toda contribuição dada na qualificação.

Aos professores participantes da banca de defesa de doutorado, pela disponibilidade e contribuição no trabalho.

As alunas do LACOM, **Arnayra, Laís e Juliana**, pela ajuda na utilização do espectrofotômetro UV-Vis.

A todos os técnicos de laboratório, em especial, **Raimundo Nonato da Silva Filho** pela enorme ajuda nos experimentos, bem como, pela amizade, convivência.

A **Caroline Medeiros**, secretária do curso de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos e a todos os seguranças e funcionários da limpeza e da manutenção por estarem sempre presentes e dispostos a ajudar.

Aos **alunos do IFPB – Campus Catolé do Rocha** pela compreensão nessa reta final do doutorado e participação na pesquisa com a emodina.

A **Universidade Federal da Paraíba** pelo suporte técnico e estrutural; ao Conselho Nacional de desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro concedido através da bolsa e do projeto universal 470750/2013-8.

A **Deus**, que com certeza foi e é responsável para que tudo isto fosse real no dia de hoje, a quem eu devo a vida e o privilégio de conhecer todas estas pessoas.

Há muito mais a quem agradecer... A todos aqueles que, embora não nomeados, me brindaram com seus inestimáveis apoios em distintos momentos, o meu reconhecido e carinhoso muito obrigado!

Tainá Souza Silva

RESUMO

A família Fabaceae apresenta aproximadamente 30% do total de espécies presente na Caatinga. Dentre os gêneros pertencentes a essa família, encontram-se *Chamaecrista* e *Senna*, dos quais já foram isoladas antraquinonas, flavonoides, diterpenos, alcaloides, entre outros. Espécies desses gêneros apresentam diversas utilizações populares e atividades farmacológicas relatadas na literatura, entre as quais, destaca-se a atividade antioxidante. Diante disso, este trabalho teve como objetivo ampliar o conhecimento acerca dos gêneros *Chamaecrista* e *Senna* através do estudo fitoquímico de *Chamaecrista* sp. e *Senna splendida*, isolando seus constituintes químicos, avaliar as possíveis atividades antioxidante e fotoprotetora dos extratos e fases obtidas por partição líquido-líquido e buscar substâncias que apresentassem atividade como indicadores naturais de pH. Para isso, foram utilizadas as seguintes metodologias: cromatografia líquida em coluna, cromatografia gasosa, espectrometria de massas, ressonância magnética nuclear de ^1H e ^{13}C , determinação do teor de fenólicos por Follin-Ciocalteu, determinação de flavonoides totais, determinação da porcentagem de redução do difenil-picrilhidrazina (DPPH) e espectroscopia no ultravioleta visível (UV-Vis). O estudo fitoquímico de *Chamaecrista* sp. resultou no isolamento de cinco substâncias, sendo elas, β -sitosterol e estigmasterol, emodina, vitexina e orientina, enquanto que o estudo de *Senna splendida* resultou no isolamento de 5 substâncias (justicidina, β -sitosterol glicosilado, estigmasterol glicosilado, rubrofusarina glicosilada, quinquangulina glicosilada) e identificação por CG-EM de doze substâncias (ácido 3- β -acetiloxi-lup-20(29)-en-28-óico, dihidroactinodiolideo, fitona, metoxsalen, metilhexacosano, heptacosano, octacosano, nonacosano, triacontano, hentriacontano, β -sitosterol, 4,22-estigmastadien-3-ona e sitostenona). A emodina, isolada de *Chamaecrista* sp., apresentou a propriedade de indicar o caráter ácido e básico de soluções e foi aplicada em aula prática como indicadora natural de pH para discentes de ensino médio, observando um resultado positivo. Na determinação de fenólicos, flavonóis e flavonas e avaliação da atividade antioxidante por DPPH, a fase acetato de etila (FA) de *Chamaecrista* sp. foi a que apresentou melhor resultado em relação às outras amostras ($229,7 \pm 5,21$ mg EAG/g de amostra, $8,73 \pm 0,22$ μg querc/mg de amostra e CE_{50} $9,3 \pm 0,23$ $\mu\text{g/mL}$, respectivamente) e na avaliação da atividade fotoprotetora, a emodina apresentou maior FPS (24,25), seguida da fase acetato de etila de *S. splendida* que apresentou melhor fator de proteção solar (FPS = 10,76) em relação aos extratos e fases testados.

Palavras-chave: *Chamaecrista*, *Senna splendida*, indicadores naturais de pH, fotoprotetor, antioxidante.

ABSTRACT

The Fabaceae family presents approximately 30% of the total species present in Caatinga. Among the genera belonging to this family are *Chamaecrista* and *Senna*, of which anthraquinones, flavonoids, diterpenes, alkaloids, among others have already been isolated. Species of these genera present several popular uses and pharmacological activities reported in the literature, among which, the antioxidant activity stands out. In view of this, this work had the objective of increasing the knowledge about the genera *Chamaecrista* and *Senna* through the phytochemical study of *Chamaecrista* sp. and *Senna splendida*, isolating their chemical constituents, evaluating the possible antioxidant and photoprotective activities of the extracts and phases obtained by liquid-liquid partition and searching for substances that showed activity as natural pH indicators. For this, the following methodologies were used: liquid column chromatography, gas chromatography, mass spectrometry, ^1H and ^{13}C nuclear magnetic resonance, Follin-Ciocalteu determination of phenolic content, determination of total flavonoids, percentage reduction of Diphenyl-picrylhydrazine (DPPH) and visible ultraviolet (UV-Vis) spectroscopy. The phytochemical study of *Chamaecrista* sp. resulted in the isolation of five substances, β -sitosterol, stigmasterol, emodin, vitexin and orientin, while the study of *Senna splendida* resulted in the isolation of five substances (acid 3- β -acetiloxi-lup-20(29)-en-28-oic, justicidin, β -sitosterol and stigmasterol glucosides, rubrofusarin and quinquangulin glucosides) and identification by GC-MS of twelve substances (dihydroactinodiolide, phytone, methoxsalen, methylhexacosane, heptacosane, octacosane, nonacosane, triacontane, hentriacontane, β -sitosterol, 4,22-estigmastadien-3-one e sitostenone). Emodin, isolated of *Chamaecrista* sp., presented the property of indicating the acid and basic character of solutions and was applied in practical class as a natural indicator of pH for teaching students, showing positive results. In the determination of phenolics, flavonoids and flavones and evaluation of the antioxidant activity by DPPH, the ethyl acetate phase of *Chamaecrista* sp. showed better results in relation to other samples (229.7 ± 5.21 mg EAG / g sample, 8.73 ± 0.22 μg querc / mg sample and EC_{50} 9.3 ± 0.23 μg / ML, respectively) and in the evaluation of the photoprotective activity, emodin showed the best sun protection factor (24, 25), followed by the ethyl acetate phase of *S. splendida*, which presented the best SPF = 10.76) in relation to the other extracts and phases tested.

Key words: *Chamaecrista*, *Senna splendida*, natural indicators of pH, photoprotector and antioxidant.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

APT	<i>Attached Proton Test</i>
CC	Cromatografia em coluna
CCDA	Cromatografia em Camada Delgada Analítica
CE₅₀	Concentração Efetiva de 50%
CI₅₀	Concentração inibitória de 50%
COSY	<i>Correlation Spectroscopy</i>
<i>d</i>	Dubleto
<i>dd</i>	Duplo dubleto
EAG	Equivalente de ácido gálico
EB	Extrato Bruto
EMB	Extrato Metanólico Bruto
EROs	Espécies reativas de oxigênio
FA Ch	Fase acetato de etila de <i>Chamaecrista</i> sp.
FA Se	Fase acetato de etila de <i>Senna splendida</i>
FD Ch	Fase diclorometano de <i>Chamaecrista</i> sp.
FD Se	Fase diclorometano de <i>Senna splendida</i>
FH Ch	Fase hexânica de <i>Chamaecrista</i> sp.
FH Se	Fase hexânica de <i>Senna splendida</i>
HMBC	<i>Heteronuclear Multiple Bond Correlation</i>
HMQC	<i>Heteronuclear Multiple Quantum Correlation</i>
HSQC	<i>Heteronuclear Single Quantum Correlation</i>
IES-EM	Espectro de massas por ionização de electrospray
<i>J</i>	Constante de acoplamento
<i>M</i>	Multipeto
NOESY	Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy
NUCAL	Núcleo de Caracterização e Análise
<i>Q</i>	Quarteto
<i>R_f</i>	Fator de Retenção
RMN ¹³C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13
RMN ¹H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
<i>S</i>	Singleto
<i>SI</i>	Singleto largo

<i>T</i>	Tripleto
UV	Ultravioleta
Δ	Deslocamento químico em ppm

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1. Etapas envolvidas no processo de obtenção, particionamento e extração do extrato etanólico bruto de <i>Chamaecrista</i> sp.	56
Esquema 2. Etapas envolvidas no processo de obtenção, particionamento e extração do extrato etanólico bruto de <i>Senna splendida</i>	59
Esquema 3. Processo para obtenção da fase diclorometano de <i>Senna splendida</i>	60

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. <i>Chamaecrista</i> sp.	35
Figura 2. <i>Senna splendida</i> : partes aéreas (a), folhas (b) e flor (c)	37
Figura 3. Substâncias isoladas anteriormente de <i>Senna splendida</i>	38
Figura 4. Ataque da ERO à cadeia de ácido graxo poliinsaturado e dano à membrana celular	41
Figura 5. Estruturas fenólicas dos antioxidantes sintéticos	42
Figura 6. Estrutura básica de flavonoide, ácido fenólico, tanino e tocoferol	43
Figura 7. Faixas de ultravioleta e penetração na atmosfera e na pele	45
Figura 8. Mecanismos de ação dos filtros orgânicos e inorgânicos	46
Figura 9. Possíveis mudanças estruturais das antiocianidinas em meio aquoso em função do pH	49
Figura 10. Formação do complexo entre o cloreto de alumínio e um flavonoide	64
Figura 11. Estabilização do radical DPPH com um antioxidante.....	65
Figura 12. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) de Ch-1	69
Figura 13. Expansão do espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) de Ch-1 na região de 3,3 a 5,5 ppm	70
Figura 14. Expansão do espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) de Ch-1 na região de 0,5 a 2,4 ppm	70
Figura 15. Espectro RMN de ^{13}C – APT (CDCl_3 , 50 MHz) de Ch-1	71
Figura 16. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C - APT (CDCl_3 , 50 MHz) de Ch-1 na região de 35,0 – 58,0 ppm	72
Figura 17. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C - APT (CDCl_3 , 50 MHz) de Ch-1 na região de 11,0 – 34,0 ppm	72
Figura 18. Estrutura química de Ch-1: β -sitosterol (à esquerda) e estigmasterol (à direita)	73
Figura 19. Espectro de RMN de ^1H ($\text{DMSO}-d_6$, 500 MHz) de Ch-2	75
Figura 20. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de Ch-2 na região de 6,5 a 7,6 ppm	76
Figura 21. Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de Ch-2	77
Figura 22. Esqueleto básico de 9,10-antraquinona	77

Figura 23. Biossíntese da emodina	78
Figura 24. Estrutura da 1,6,8-trihidroxi-3-metil-9,10-antraquinona (emodina)	79
Figura 25. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) de Ch-3	82
Figura 26. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) na região de 8,4 a 6,0 ppm de Ch-3	82
Figura 27. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) na região de 5,0 a 2,8 ppm de Ch-3	83
Figura 18. Possibilidades estruturais inferidas para I e II pelo RMN de ^1H	83
Figura 29. Espectro de RMN de ^{13}C - APT (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) de Ch-3	84
Figura 30. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C - APT (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) de Ch-3 na região de 188 a 144 ppm	85
Figura 31. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C - APT (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) de Ch-3 na região de 130 a 55 ppm	85
Figura 322. Expansão do mapa de contorno HMBC de Ch-3 ($\text{DMSO-}d_6$, 500 e 125 MHz) na região de (85-65 ppm) x (5,0 – 2,8 ppm)	86
Figura 33. Expansão do mapa de contorno HMQC de Ch-3 ($\text{DMSO-}d_6$, 500 e 125 MHz) na região de (135-90 ppm) x (9,0-5,5 ppm)	87
Figura 34. Expansão do mapa de contorno HMQC de Ch-3 (DMSO , 500 e 125 MHz) na região de (90 - 30 ppm) x (5,4-1,6 ppm)	87
Figura 35. Expansão do mapa de contorno COSY ($\text{DMSO-}d_6$, 500 MHz) de Ch-3 na região de (9,5 - 4,5 ppm) x (9,0 – 5,5 ppm)	88
Figura 36. Espectro NOESY ($\text{DMSO-}d_6$, 500 MHz) de Ch-3	89
Figura 37. Expansão do mapa de contorno NOESY ($\text{DMSO-}d_6$, 500 MHz) de Ch-3 na região de (8,3-7,2 ppm) x (7,5 – 6,5 ppm)	89
Figura 38. Mapa de contorno HMBC ($\text{DMSO-}d_6$, 500 e 125 MHz) de Ch-3 na região de (109-100 ppm) x (13,5-6,0)	90
Figura 39. Mapa de contorno HMBC ($\text{DMSO-}d_6$, 500 e 125 MHz) de Ch-3 na região de (190-60 ppm) x (13,8-11,5)	91
Figura 40. Valores de RMN ^1H para os hidrogênios 6 e 8	91
Figura 41. Inserção das hidroxilas em (I) e (II)	92
Figura 42. Estrutura de Ch-3 (I), vitexina, e Ch-3 (II), orientina	93
Figura 43. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) de Se-1	95

Figura 44. Expansão do espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) de Se-1 na região de 5,6 a 2,7 ppm	96
Figura 45. Expansão do espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) de Se-1 na região de 2,3 a 0,6 ppm	96
Figura 46. Estrutura básica de triterpeno da classe lupano	97
Figura 37. Espectro de RMN de ^{13}C - APT (CDCl_3 , 125 MHz) de Se-1.....	98
Figura 448. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 125 MHz) de Se-1 na região de 59 a 31 ppm	98
Figura 49. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 125 MHz) de Se-1 na região de 31 a 14 ppm	99
Figura 50. Estrutura do ácido 3- β -acetiloxi-lup-20(29)-en-28-óico	99
Figura 51. Expansão do espectro HMBC (CDCl_3 , 500 e 125 MHz) de Se-1 na região de (40-57 ppm) x (6,0-0,0 ppm)	101
Figura 52. Cromatograma de Se-1 obtido por CG-EM	102
Figura 535. Espectro de massas de Se-1(1) e comparação com biblioteca	103
Figura 54. Fórmula estrutural do dihidroactinidiolideo	103
Figura 55. Espectro de massa do pico 2 e da fitona (FFNSCI.3.lib)	104
Figura 56. Estrutura da fitona	104
Figura 57. Espectro de massas de baixa resolução de Se-1(3) e do methoxsalen (NIST08.LIB)	105
Figura 58. Fragmentação da xantotoxina de acordo com Wang <i>et al.</i> , 2014	105
Figura 59. Expansão do espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) de Se-1 na região de 4,1 a 7,9 ppm	106
Figura 60. Furanocumarina linear e angular.....	107
Figura 61. Inserção da metoxila no esqueleto base	107
Figura 62. Expansão do espectro HMBC (CDCl_3 , 500 e 125 MHz) de Se-1 na região de (0-210 ppm) x (4,8-3,5 ppm)	108
Figura 63. Valores de C-5 e C-8 de acordo com a posição da metoxila.	108
Figura 64. Fórmula estrutural da xantotoxina	109
Figura 65. Espectro de massas de Se-1(12) e comparação com biblioteca (NIST08.LIB)	110
Figura 66. Fragmentação do β -sitosterol de acordo com Santana (2011).	111

Figura 67. Expansão do espectro de RMN de ^1H de Se -3 (CDCl_3 , 500 MHz) na região de 5,9 a 3,4 ppm.....	112
Figura 68. Expansão do espectro bidimensional HMQC (CDCl_3 , 500 e 125 MHz) de Se-1 na região (140-10 ppm) x (5,5-2,9 ppm)	113
Figura 69. Expansão do espectro bidimensional HMBC (CDCl_3 , 500 e 125 MHz) de Se-1 na região (70-0,0 ppm) x (5,6-5,16 ppm)	113
Figura 70. Estrutura do β -sitosterol	114
Figura 71. Espectro de massas do pico 13 de Se-1 e comparação com biblioteca (NIST)	114
Figura 72. Fragmentação da 4,22-estigmastadien-3-ona de acordo com adaptação de Santana (2011)	115
Figura 73. Expansão do espectro de correlação indireta heteronuclear HMBC (CDCl_3 , 500 e 125 MHz) de Se-1 na região de (180-100 ppm) x (6,5-0,0 ppm)	116
Figura 74. Fórmula estrutural da 4,22-estigmastadien-3-ona	116
Figura 75. Espectro de massas do pico 14 de Se-1 e comparação com biblioteca (NIST)	117
Figura 76. Fragmentação da estigmast-4-en-3-ona	118
Figura 77. Expansão do espectro bidimensional HMQC (CDCl_3 , 500 e 125 MHz) de Se-1 na região (132-114 ppm) x (6,4-4,8 ppm)	119
Figura 78. Expansão do espectro bidimensional HMBC (CDCl_3 , 500 e 125 MHz) de Se-1 na região (100-10 ppm) x (6,0-5,1 ppm)	119
Figura 79. Expansão do espectro bidimensional HMBC (CDCl_3 , 500 e 125 MHz) de Se-1 na região (210-150 ppm) x (2,7-0,8 ppm)	120
Figura 80. Fórmula estrutural da sitostenona	120
Figura 81. Espectro de RMN de ^1H ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 500 MHz) de Se-2	122
Figura 82. Expansão do espectro de RMN de ^1H ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 500 MHz) de Se-2 na região de 2,2 a 5,8 ppm	123
Figura 83. Expansão do espectro de RMN de ^1H ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 500 MHz) de Se-2 na região de 3,8 a 5,6 ppm	123
Figura 84. Expansão do espectro de RMN de ^1H ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 500 MHz) de Se-2 na região de 0,5 a 1,2 ppm.....	124
Figura 85. Espectro de RMN de ^{13}C – APT ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 125 MHz) de Se-2....	125
Figura 86. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C – APT ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 125 MHz) de Se-2 na região de 12 a 52 ppm.	125

Figura 87. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C – APT ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 125 MHz) de Se-2 na região de 56 a 104 ppm	126
Figura 88. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C – APT ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 125 MHz) de Se-2 na região de 114 a 156 ppm.....	126
Figura 89. Estrutura de sitosterol-3-O-D-glicopiranosídeo (Se-2a) e estigmasterol-3-O-D-glicopiranosídeo (Se-2b)	127
Figura 90. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de Se-3 com expansão na região de 13 a 16 ppm	129
Figura 91 Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de Se-3 na região de 7,4 - 6,5 ppm	130
Figura 692. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de Se-3 na região de 5,2 - 3,8 ppm	130
Figura 93. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de Se-3 na região de 2,4 - 2,2 ppm	131
Figura 94. Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de Se-3	132
Figura 95. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de Se-3 na região de 190 - 134 ppm	132
Figura 96. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de Se-3 na região de 120 - 93 ppm	133
Figura 97. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de Se-3 na região de 85 - 51 ppm	133
Figura 98. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de Se-3 na região de 28 - 0 ppm	134
Figura 99. Estrutura da metil-benzocromona ou metil-naftopirona	134
Figura 100. Inserção da hidroxila em C-5	135
Figura 101. Espectro HMQC ($\text{DMSO}-d_6$, 500 e 125 MHz) de Se-3	135
Figura 102. Espectro HMBC ($\text{DMSO}-d_6$, 500 e 125 MHz) de Se-3.	136
Figura 7103. Expansão do espectro HMBC ($\text{DMSO}-d_6$, 500 e 125 MHz) de Se-3 na região de (106-102 ppm) x (8,2-5,5 ppm)	137
Figura 104. Possibilidades estruturais para Se-3	137
Figura 105. Expansão do espectro HMBC (500 e 125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de Se-3 na região de (106-97 ppm) x (7,4-6,3 ppm)	138
Figura 106. Expansão do mapa de contorno NOESY (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de Se-3 a região de (7,5-3,5) x (7,0-4,0)	139
Figura 107. Estrutura de Se-3	139

Figura 108. Expansão do espectro HMBC de Se-3 na região de (9,5-1,5 ppm) x (130-90 ppm)	140
Figura 109. Fórmula estrutural da rubrofusarina-6-O- β -D-glicopiranosídeo (Se-3) e da quinquangulina-6-O- β -D-glicopiranosídeo (Se-3')	142
Figura 110. Espectro de RMN de ^1H de Se-4 (500 MHz, CDCl_3)	144
Figura 111. Expansão do espectro de RMN de ^1H de Se-4 (500 MHz, CDCl_3) na região de 7,75 a 6,90 ppm	145
Figura 112. Expansão do espectro de RMN de ^1H de Se-4 (500 MHz, CDCl_3) na região de 6,99 a 6,75 ppm	145
Figura 113. Expansão do espectro de RMN de ^1H de Se-4 (500 MHz, CDCl_3) na região de 5,6 a 3,6 ppm	146
Figura 114. Espectro de RMN de ^{13}C – APT (125 MHz, CDCl_3) de Se-4.	147
Figura 115. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de Se-4 na região de 131 a 103 ppm	147
Figura 116. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de Se-4 na região de 70 a 50 ppm	148
Figura 117. Espectro HSQC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Se-4	149
Figura 118. Espectro HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Se-4.....	149
Figura 119. Expansão do espectro NOESY (500 MHz, CDCl_3) de Se-4 na região de (8,2-5,0 ppm) x (8,5-5,0 ppm)	150
Figura 120. Estrutura do núcleo do tipo naftaleno lactona	150
Figura 1821. Expansão do espectro HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Se-4 na região de (6,3-3,9 ppm) x (170-100 ppm)	151
Figura 122. Expansão do espectro HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Se-4 na região de (7,9-6,8 ppm) x (160-100 ppm)	152
Figura 123. Inserção das metoxilas no núcleo naftaleno lactona	152
Figura 124. Expansão do espectro HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Se-4 na região de (7,20-6,76 ppm) x (144-136 ppm)	153
Figura 125. Estrutura da lignana do tipo arilnaftaleno lactona	153
Figura 126. Possibilidades estruturais para inserção do anel γ -lactônico.	154
Figura 127. Expansão do espectro HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Se-4 na região de (7,4-5,8 ppm) x (149-145,8 ppm)	155

Figura 128. Estrutura de Se-4 com inserção do grupo metilenodioxí no anel arílico (justicidina B)	156
Figura 129. Estrutura química da emodina	157
Figura 130. Colorações observadas na reação entre emodina e soluções de pH 1 a 14	157
Figura 131. Efeito do pH no espectro de absorção da emodina ($2,5 \times 10^{-5}$ mol/L), em água:metanol (1:1), pH 1 (2,23), 2 (5,25), 3 (6,04), 4 (6,80), 5 (8,34), 6 (9,67), 7 (10,10), 8 (10,80), 9 (11,36) (CUNHA, 2009)	158
Figura 132. Participação dos alunos em aula prática sobre indicadores ácido-base	159
Figura 133. Flores da beldroega e cores observadas do extrato em contato com (a) ácido muriático, (b) soda cáustica, (c) água sanitária e (d) vinagre (Foto retirada pelos alunos)	160
Figura 134. Flores da papoula e cores observadas do extrato em contato com (a) ácido muriático, (b) soda cáustica, (c) água sanitária e (d) vinagre (Foto retirada pelos alunos)	160
Figura 135. Flor da buquê-de-noiva e cores observadas do extrato em contato com (a) ácido muriático, (b) soda cáustica, (c) água sanitária e (d) vinagre (Foto retirada pelos alunos)	160
Figura 136. Emodina em contato com (a) ácido muriático e (b) soda cáustica	161
Figura 137. Fórmulas estruturais das substâncias isoladas de <i>Chamaecrista</i> sp. e <i>Senna splendida</i>	181

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Deslocamentos químicos e tipos de sinais para os átomos de carbono e hidrogênio de Ch-1, verificados nos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (200 e 50 MHz, respectivamente) em CDCl_3 , bem como, os deslocamentos químicos dos carbonos (δ_{C}^*) apresentados por Tomaz (2008) para as mesmas substâncias.....	73
Tabela 2. Deslocamentos químicos, tipos de sinal e constantes de acoplamento (J) para os átomos de hidrogênio (δ_{H}) e carbono (δ_{C}) de Ch-2, verificados nos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (500 e 125 MHz, respectivamente, $\text{DMSO}-d_6$), bem como, aqueles apresentados por Chu e colaboradores (2005) para o 1,6,8-trihidroxi-3-metil-9,10-antraquinona (500 e 125 MHz, respectivamente, $\text{DMSO}-d_6$).....	79
Tabela 3. Correlações observadas no espectro HMQC de Ch-3	88
Tabela 4. Comparação entre os dados de RMN de ^1H de Ch-3 com a literatura (CUONG <i>et al.</i> , 2015)	92
Tabela 5. Comparação entre os dados de RMN de ^{13}C de Ch-3 com a literatura (CUONG <i>et al.</i> , 2015)	93
Tabela 6. Comparação dos dados de RMN de Se-1 e literatura (DAVID <i>et al.</i> , 2004)	100
Tabela 7. Comparação dos dados do RMN ^1H de Se-1 (3) com a literatura (CAI <i>et al.</i> , 2012)	109
Tabela 8. Dados de RMN de ^{13}C (pyd5, 500 MHz) para Se-2 e comparação com os dados da literatura (SAEIDNIA <i>et al.</i> , 2011; MAIA, 2008)	127
Tabela 9. Comparação dos dados de RMN de ^1H de Se-3 com a literatura (MESSANA <i>et al.</i> , 1991; LI <i>et al.</i> , 2001)	141
Tabela 10. Comparação dos dados de RMN de ^{13}C de Se-3 com a literatura (MESSANA <i>et al.</i> , 1991; LI <i>et al.</i> , 2001)	142
Tabela 11. Dados de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) e de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de Se-4 e comparação com literatura (CDCl_3) (ZHOU <i>et al.</i> , 2015)	156
Tabela 12. Teor de fenólicos totais em mg EAG/g do extrato bruto e das fases de <i>Chamaecrista</i> sp. amostra por dia (n=3)	162
Tabela 13. Teor de fenólicos totais em mg EAG/g do extrato bruto e das fases de <i>Senna splendida</i> amostra por dia (n=3)	164

Tabela 14. Teor de flavonois e flavonas totais ($\mu\text{g querc/mg}$) por dia (n=3) de <i>Chamaecrista</i> sp.	165
Tabela 15. Teor de flavonoides totais ($\mu\text{g querc/mg}$) por dia (n=3) de <i>Senna splendida</i>	169
Tabela 16. CE_{50} das amostras de <i>Chamaecrista</i> pelo método do DPPH (n = 3)	170
Tabela 17. Poder antirradicalar das amostras de <i>Chamaecrista</i>	171
Tabela 18. CE_{50} das amostras de <i>S. splendida</i> pelo método do DPPH (n = 3)	172
Tabela 19. Poder antirradicalar das amostras de <i>Chamaecrista</i>	172
Tabela 20. Fator de proteção das amostras analisadas	178

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Ponderação empregada no cálculo por espectrofotometria (SAYRE <i>et al</i> , 1979)	64
Quadro 2. Fórmulas estruturais correspondentes aos picos 4, 5, 7, 9, 10 e 11, índices de Kovats calculados (IKC) e encontrados na literatura (IKL)	104
Quadro 3. Teor de fenólicos totais de quatro espécies de <i>Senna</i>	165

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Curva padrão da quantificação de fenólicos totais empregando ácido gálico como substância de referência. Absorbância: 765 nm	162
Gráfico 2. Teor de fenóis totais nas amostras (n=9). Dados expressos como média $\pm$ desvio padrão da média com n = 9. Os dados foram analisados por ANOVA seguida de Tukey (p<0,05)	163
Gráfico 3. Teor de fenóis totais nas amostras (n=9) de <i>Senna splendida</i> . Dados expressos como média $\pm$ desvio padrão da média com n = 9. Os dados foram analisados por ANOVA seguida de Tukey	164
Gráfico 4. Teor de fenóis totais nas amostras (n=9) de <i>S. splendida</i> e <i>Chamaecrista</i> . Dados expressos como média $\pm$ desvio padrão da média com n = 9. Os dados foram analisados por ANOVA seguida de Tukey	166
Gráfico 5. Curva de calibração da quercetina (0-250 $\mu\text{g/mL}$)	167
Gráfico 6. Média $\pm$ d. p. do teor de flavonoides e flavonas totais nas amostras de <i>Chamaecrista</i> sp.	168
Gráfico 7. Média $\pm$ d. p. do teor de flavonois e flavonas totais nas amostras de <i>Senna splendida</i>	169
Gráfico 8. Média $\pm$ d. p. do teor de flavonois e flavonas totais nas amostras de <i>Senna splendida</i> e <i>Chamaecrista</i>	170
Gráfico 9. Média da CE ₅₀ das amostras de <i>Chamaecrista</i> para o teste de sequestro de radicais DPPH	171
Gráfico 10. Média da CE ₅₀ das amostras de <i>S. splendida</i> para o teste de sequestro de radicais DPPH. (ANOVA seguida do teste de Tukey, n=9)...	173
Gráfico 11. Média da CE ₅₀ das amostras de <i>S. splendida</i> e <i>Chamaecrista</i> para o teste de sequestro de radicais DPPH (ANOVA seguida do teste de Tukey, n=9).....	174
Gráfico 12. Espectro de varredura do UV-Vis na região de 220-400 nm das amostras de <i>Chamaecrista</i> sp.	174
Gráfico 13. Espectro de varredura de UV-Vis na região de 220-400 nm das amostras de <i>Senna splendida</i>	177
Gráfico 14. Espectro de varredura de UV-Vis na região de 220-400 nm das amostras de <i>Chamaecrista</i> sp. e <i>Senna splendida</i>	177

SUMÁRIO

RESUMO

ABSTRACT

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

LISTA DE ESQUEMAS

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

LISTA DE QUADROS

LISTA DE GRÁFICOS

1 INTRODUÇÃO	27
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	31
2.1 CONSIDERAÇÕES SOBRE A FAMÍLIA FABACEAE.....	32
2.2 CONSIDERAÇÕES SOBRE <i>Chamaecrista</i> Moench	34
2.3 CONSIDERAÇÕES SOBRE <i>Senna</i>	35
2.4 CONSIDERAÇÕES SOBRE <i>Senna splendida</i>	36
2.5 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	40
2.6 RADIAÇÃO E PROTETORES ULTRAVIOLETA.....	44
2.7 INDICADORES ÁCIDO-BASE NATURAIS	47
3 OBJETIVOS	51
3.1 OBJETIVO GERAL	52
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	52
4 MATERIAL E MÉTODOS	53
4.1 MATERIAL VEGETAL	54
4.2 ESTUDO FITOQUÍMICO	54
4.2.1 Obtenção do extrato etanólico bruto de <i>Chamaecrista</i> sp. e seu particionamento	54
4.2.2 Fracionamento cromatográfico da fase hexânica de <i>Chamaecrista</i> sp.	55
4.2.3 Fracionamento cromatográfico da fase diclorometano de <i>Chamaecrista</i> sp.	55
4.2.4 Fracionamento cromatográfico da fase acetato de etila de <i>Chamaecrista</i> sp.	55

4.2.5 Obtenção do extrato metanólico bruto de <i>Senna splendida</i> e seu particionamento	56
4.2.6 Fracionamento cromatográfico da fase hexânica de <i>Senna splendida</i>	57
4.2.7 Fracionamento cromatográfico da fase acetato de etila de <i>Senna splendida</i>	58
4.2.8 Fracionamento cromatográfico da fase diclorometano (2) de <i>Senna splendida</i>	59
4.3 APLICAÇÃO DE CONSTITUINTE ISOLADO COMO INDICADOR ÁCIDO-BASE	61
4.4 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE FENÓLICOS E FLAVONOIS E FLAVONAS E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE <i>Chamaecrista</i> sp. e <i>Senna splendida</i>	63
4.4.1 Determinação do teor de fenólicos	63
4.4.2 Determinação do teor de flavonois e flavonas.....	63
4.4.3 Determinação da atividade antioxidante pelo método de sequestro de radicais – DPPH	65
4.5 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE FOTOPROTETORA <i>IN VITRO</i>	66
4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA	67
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	68
5.1 ESTUDO FITOQUÍMICO	69
5.1.1 Determinação estrutural de Ch-1	69
5.1.2 Determinação estrutural de Ch-2	75
5.1.3 Determinação estrutural de Ch-3	81
5.1.4 Determinação estrutural de Se-1	95
5.1.4.1 Determinação da composição de Se-1 por CG-EM	101
5.1.5 Determinação estrutural de Se-2	122
5.1.6 Determinação estrutural de Se-3	129
5.1.7 Determinação estrutural de Se-4	144
5.2 APLICAÇÃO DA EMODINA COMO INDICADOR ÁCIDO-BASE	157
5.2.1 Observação da coloração em função do pH	157
5.2.2 Utilização da emodina como indicador ácido-base em sala de aula .	158

5.3 DETERMINAÇÃO DE FENÓLICOS e FLAVONOIS E FLAVONAS TOTAIS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE <i>Chamaecrista</i> sp. E <i>Senna splendida</i>	162
5.3.1 Teor de compostos fenólicos no extrato e nas fases de <i>Chamaecrista</i> sp. e <i>Senna splendida</i>	162
5.3.2 Determinação do teor de flavonois e flavonas totais	167
5.3.3 Determinação da atividade antioxidante por método de sequestro de radicais – DPPH	170
5.4 RESULTADOS DA AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE FOTOPROTETORA <i>IN VITRO</i>	175
6 CONCLUSÃO E CONSIDERAÇÕES FINAIS	180
REFERÊNCIAS.....	185

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

O uso de plantas no tratamento e na cura de enfermidades é tão antigo quanto a espécie humana. Ainda hoje nas regiões mais pobres do país e até mesmo nas grandes cidades brasileiras, plantas medicinais são comercializadas em feiras livres, mercados populares e encontradas em quintais residenciais (MACIEL *et al.*, 2002).

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), 65-80% da população dos países em desenvolvimento dependem das plantas medicinais como única forma de acesso aos cuidados básicos de saúde, sendo este fato devido a fácil obtenção e a grande tradição do uso de plantas medicinais (VEIGA JR *et al.*, 2005).

De maneira indireta, este tipo de cultura medicinal desperta o interesse de pesquisadores em estudos envolvendo áreas multidisciplinares, como por exemplo botânica, farmacologia e química, que juntas enriquecem os conhecimentos sobre a inesgotável fonte medicinal natural: a flora mundial (MACIEL *et al.*, 2002).

Um exemplo de atividade farmacológica apresentada pelas plantas é a fotoproteção. No Brasil, bem como no semiárido nordestino, a incidência de radiação solar é muito grande, apresentando índice de radiação ultravioleta (UV) geralmente entre 9 a 14 (para uma condição de céu claro) nos últimos anos, numa escala que vai de 1 a 18, sendo considerado um valor extremo a partir de 11 (BRASIL - INPE, 2016). Segundo o Instituto Nacional do Câncer (BRASIL – INCA, 2016), o câncer mais frequente é o câncer de pele que compreende cerca de 25% de todos os tumores malignos registrados no país.

A melhor forma de evitar os danos causados pela radiação ultravioleta, é protegendo a pele da forte incidência solar, utilizando, como por exemplo, os filtros solares, que podem agir absorvendo a radiação ultravioleta (filtros orgânicos) ou absorvendo, refletindo e dispersando a luz UV (filtros inorgânicos) (MANCIBO *et al.*, 2014). Os produtos naturais, por apresentarem diversidade e complexidade muito maior que as substâncias produzidas sinteticamente, e também devido a grande quantidade de compostos fenólicos, que são uma classe de substâncias com comprovada propriedade de absorver a radiação solar ultravioleta, são boas alternativas para utilização como protetores solares.

Da mesma forma, o interesse por novos antioxidantes de origem natural, vem crescendo bastante, pois, embora os radicais livres produzidos no corpo humano possam ser eliminados por sistemas antioxidantes fisiológicos, em inúmeros casos, as enzimas e antioxidantes não são suficientes para eliminar o excesso deles, o que leva a um desequilíbrio entre a produção e sua eliminação (PIETTA, 2000).

Este desequilíbrio é chamado de estresse oxidativo e provoca distúrbios em vários processos fisiológicos, como: asma, doenças autoimunes, gastrointestinais e cardíacas, bem como Alzheimer (CERVELLATI *et al*, 2014; KUMAR, 2011; LUSHCHAK, 2014; SIES, 2005; COQUEIRO, 2010). Além disso, é visto que a exposição excessiva ao sol causa a formação de radicais livres, resultando em estresse oxidativo da pele, que pode afetar a integridade genética do organismo, causando câncer. Por isso, é uma tendência do mercado a descoberta de novos antioxidantes além de incorporar esses compostos nas formulações fotoprotetoras, já que eles têm potencial para diminuir os níveis de radicais gerados pela exposição ao sol (CHEN *et al*, 2012).

Outra utilização das plantas é como indicadora de pH, uma vez que elas contém substâncias que têm a capacidade de alterar sua cor mediante ao meio que seja exposto (ácido ou básico) (SANTOS; PORTO, 2015). A utilização de extratos naturais indicadores de pH pode ser explorada didaticamente, desde a etapa de obtenção até a caracterização visual e/ou espectrofotométrica das diferentes formas coloridas que aparecem em função das mudanças de pH do meio (TERCI; ROSSI, 2002), como forma de melhorar a formulação teórica e prática acerca dos estudos de ácidos e bases, trabalhando com materiais alternativos e naturais em substituição dos reagentes e indicadores convencionais (SANTOS *et al.*, 2012).

A família Fabaceae é a terceira maior família das Angiospermas, representando 30% do total de espécies vegetais descritas na Caatinga. Dentre os gêneros pertencentes à Fabaceae, estão *Chamaecrista* e *Senna*, sendo este último, o segundo maior das leguminosas. Espécies desses gêneros são conhecidas pela população por apresentarem atividade laxante e purgativa e apresentam antraquinonas e flavonoides como metabólitos secundários.

Diante da necessidade de estudos multidisciplinares com as plantas, este trabalho teve como objetivo, realizar análise fitoquímica, avaliar a atividade

antioxidante e fotoprotetora de *Chamaecrista* sp. e *Senna splendida* e aplicar uma substância isolada (emodina) como indicador natural de pH, em sala de aula.

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 CONSIDERAÇÕES SOBRE A FAMÍLIA FABACEAE

A família Fabaceae (classificada pelos botânicos mais antigos como Leguminosae) pertence à divisão Angiospermae, maior divisão do reino vegetal, que compreende as plantas superiores que contém sementes encerradas no ovário e, portanto podem formar frutos (JOLY, 2002).

Três subgrupos são geralmente reconhecidos como pertencentes à família Fabaceae: Caesalpinoideae, Mimosidae e Faboideae. Em muitas classificações, estas são consideradas como subfamílias, mas algumas vezes são tratadas como famílias separadas. Dentre estes três grupos, Faboideae apresenta-se como o maior, seguido por Caesalpinoideae e Mimosoideae (JUDD *et al*, 1999 *apud* MAIA, 2008).

Segundo Joly (2002), a família das leguminosas compreende mais de seiscentos gêneros que reúnem mais de 13 mil espécies (uma das maiores dentre as dicotiledôneas) e estão espalhadas em todo o mundo especialmente nas regiões tropicais e subtropicais.

No Brasil, foram catalogados 212 gêneros e 2712 espécies da família Fabaceae, sendo encontrados em maior quantidade na região norte, no domínio do cerrado (LIMA *et al.*, 2012).

Ressalta-se que em ambiente de Caatinga, esta é a família melhor representada, correspondendo a aproximadamente 30% do total de espécies vegetais descritas para esse bioma, onde foram registrados 77 gêneros e 293 espécies. Além disso, as espécies de Leguminosae estão completamente inseridas na cultura da população rural da Caatinga, sendo utilizada como alimento, lenha, forragem, produtos medicinais e até nos rituais religiosos destas populações, indicando ser esse grupo de plantas uma fonte significativa de recursos naturais, especialmente para os habitantes do semiárido (QUEIROZ, 2006 *apud* LOIOLA *et al.*, 2010).

De modo geral, plantas dessa família caracterizam-se como ervas anuais ou perenes, eretas, prostradas, difusas ou escadentes, subarbustos, arbustos eretos e árvores de pequeno, médio e grande porte, com sistema radicular bem

desenvolvido e predominância da raiz principal sobre suas ramificações (MAIA, 2008).

Seu valor econômico é significativo e junto com as gramíneas representam as mais importantes famílias produtoras de alimentos vegetais. Produz drogas medicinais, espécies ornamentais, forrageiras, produtoras de azeites e inseticidas, fixadoras de nitrogênio e muitas outras funções (SALINAS, 1992). Dentre as atividades farmacológicas podemos destacar a atividade antimicrobiana, analgésica, anti-inflamatória, antidiabética e antioxidante (SILVA *et al.*, 2008; OLIVEIRA *et al.*, 2009).

Espécies dessa família são reputadas pelo grande número de ocorrências de flavonoides, alcaloides, terpenoides, taninos e esteroides (CORDELL *et al.*, 2001).

A subfamília Caesalpinioideae possui cerca de 154 gêneros e 2.800 espécies, com ocorrência nas regiões tropicais e subtropicais, principalmente na América do Sul, África tropical e sudeste da Ásia, sendo pouco representada na América do Norte e em outras regiões temperadas (COWAN, 1981; LEWIS, 1987; LEWIS; POLHILL, 1998).

Abordagens taxonômicas sobre Caesalpinioideae, em âmbito global, incluindo espécies sul-brasileiras são citadas em Irwin (1964) e Irwin & Barneby (1982). Tratamentos locais, envolvendo os gêneros *Chamaecrista* Moench e *Senna* Mill, são encontrados no Rio Grande do Sul (MATTOS, 1983; CAMARGO; MIOTTO, 2004; RODRIGUES *et al.*, 2005 *apud* BORTOLUZZI, 2007), Santa Catarina (BORTOLUZZI, 2004) e Paraná (ANGELY, 1965). Estudos complementares com abordagens citotaxonômicas e citogenéticas, em espécies de ambos os gêneros ocorrentes nos três Estados, foram realizados por Biondo (2004).

A presença de espécies pertencentes a subfamília Caesalpinioideae foi relatada também no sertão Pernambucano, estando esta representada por 22 espécies distribuídas em sete gêneros. *Senna* é o mais bem representado com oito espécies, seguido de *Chamaecrista* (6 spp.), *Caesalpinia* (3 spp.), *Bauhinia* (2 spp.) e os demais com uma espécie cada (CÓRDULA *et al.*, 2008).

O gênero *Senna* Mill., juntamente com *Cassia* L. e *Chamaecrista* Moench., pertencem à subtribo Cassiinae, a segunda maior da tribo Cassieae. *Senna* surgiu a partir da segregação das espécies de *Cassia*, anteriormente

composto por cerca de 700 espécies, hoje reduzido a aproximadamente 30, enquanto *Senna* e *Chamaecrista* possuem cerca de 300 e 330 espécies, respectivamente. Para distinguir *Senna* e *Chamaecrista* as principais características são: *Senna*, ausência de bractéolas (excepcionalmente presentes), androceu zigomorfo, os legumes podem ser indeiscentes ou tardiamente deiscentes, carnosos ou plano-compressos, e nectários extraflorais sempre convexos, enquanto que em *Chamaecrista* observa-se a presença de bractéolas, os frutos sempre plano-compressos com deiscência elástica e as valvas se tornando espiraladas durante a deiscência (IRWIN; BARNEBY, 1981; RODRIGUES *et al*, 2005; QUEIROZ, 2009).

2.2 CONSIDERAÇÕES SOBRE *Chamaecrista* Moench.

Este gênero possui aproximadamente 265 espécies circuntropicais, destas, 239 são nativas no continente americano. Algumas espécies da seção *Chamaecrista* e *Chamaecrista absus* (L.) H. S. (Irwin & Barneby), pertencente à seção monotípica *Grimaldia*, também ocorrem na África, Ásia e Austrália, entretanto poucas espécies atingem as áreas temperadas de ambos os hemisférios (LEWIS, 1987 *apud* CAMARGO; MIOTTO, 2004).

O Brasil possui cerca de 250 espécies, sendo que o centro de radiação do gênero está localizado no sudeste, mais especificamente, em Minas Gerais (SOUZA; BORTOLUZZI, 2010).

São árvores, arbustos ou ervas, anuais, bianuais ou perenes, filotaxia alterna; folhas paripinadas, flores amarelas, levemente zigomorfas, 5 sépalas imbricadas, 5 pétalas, geralmente heteromórficas e algumas vezes com manchas vermelhas (Figura 1) (CAMARGO; MIOTTO, 2004).

Figura 9. *Chamaecrista* sp.



Fonte: Rubens Texeira de Queiroz.

As espécies de *Chamaecrista* podem ser utilizadas economicamente por fixar nitrogênio no solo, sendo indicadas para recuperação de solos pobres ou degradados (FARIA *et al.*, 1989 *apud* CAMARGO; MIOTTO, 2004).

Espécies desse gênero são utilizadas na medicina popular como purgativa, antimalárica (MONACHE *et al.*, 1991), feridas no útero e artrite (SCIO *et al.*, 2012) e apresentam, segundo estudos anteriores, atividade antioxidante e inibidora de acetilcolinesterase (importante no tratamento da doença de Alzheimer) (ADEWUSI *et al.*, 2011) e atividade antiviral *in vitro* contra vírus da herpes simplex (URIBE *et al.*, 2004).

As principais classes de metabólitos secundários encontradas em *Chamaecrista* são diterpenos cassanos e antraquinonas (BARBA *et al.*, 1994).

2.3 CONSIDERAÇÕES SOBRE *Senna*

Senna é um gênero monofilético (MARAZZI *et al.*, 2006) e o segundo maior de Leguminosae subfamília Caesalpinioideae com cerca de 300 espécies com distribuição pantropical (LEWIS *et al.*, 2005). No Brasil está representado por aproximadamente 81 espécies, sendo 33 delas endêmicas, encontradas no nordeste, sudeste e sul do Brasil, como por exemplo na Bahia, Ceará, Minas Gerais, Paraná, Sergipe, São Paulo (TROPICOS, 2017). Espécies de *Senna* ainda são encontradas na Índia, Austrália e África (RAHMAN *et al.*, 2013 *apud* SILVA *et al.*, 2016).

As espécies desse gênero são conhecidas na medicina tradicional desde a antiguidade, principalmente por suas atividades purgativas e laxativas, atribuídas à presença de glicosídeos antraquinônicos em sua composição química. Além dessas atividades, também há relatos de utilização popular para hipertensão, anemia, diabetes, malária, asma, eczema, hepatite, úlcera, escabioses, impigens, vermífugo (MACEDO *et al.*, 2016).

O gênero *Senna* destaca-se por ser uma importante fonte de compostos com diversas propriedades biológicas e farmacológicas, apresentando em algumas espécies atividades laxativa, hepatoprotetora, antimicrobiana, antitumoral, anti-inflamatória, antioxidante, antipirética, analgésica e antimalárica comprovadas (VIEGAS JR. *et al.*, 2006; SILVA *et al.*, 2010), o que desperta um grande interesse na sua aplicabilidade no mercado.

A literatura já descreve o isolamento de mais de 350 metabólitos secundários em espécies do gênero *Senna*, distribuídas em regiões tropicais e subtropicais de várias partes do mundo. Dentre as classes de compostos conhecidos, foi evidenciada a ocorrência marcante de antraquinonas e flavonoides, além de esteroides, alcaloides piperidínicos, isoquinolinas, cromonas, lactonas, estilbenos, triterpenos e polissacarídeos (CÂNDIDO *et al.*, 2010; RODRIGUES, 2008).

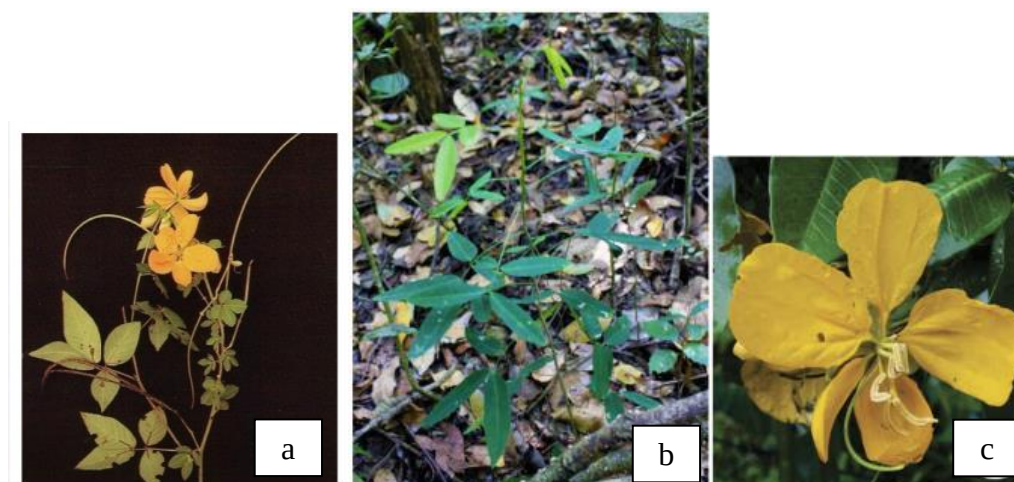
2.4 CONSIDERAÇÕES SOBRE *Senna splendida*

Conhecida como amendoim-bravo, *Senna splendida* ocorre no Paraguai, Uruguai e Brasil, sendo neste último registrada nas regiões Nordeste, Centro-Oeste, Sudeste e Sul em Matas Ciliares ou de galerias, Floresta Ombrófila e Cerrado, entre 700-1300 m. Foi encontrada no interior da mata seca, a leste da sede e trechos abertos próximos a curso d'água (IRWIN; BARNEBY 1982 *apud* SOUZA; SILVA, 2016).

São subarbustos com 0,7 – 1,5 cm de altura, folhas 3,2 – 6 cm com face adaxial verde-escuro, face abaxial verde-clara opaco, flores 3–7 cm de comprimento, assimétricas e amarelas; legumes com 17–22 × 05–0,7 cm, cilíndricos, retos a levemente curvos e marrom escuro, sementes 4–4,3 × 2,7–3,3 mm, orbiculares, castanho escuras, lisas, arranjas em uma única série nos

frutos, e florescem em dezembro (IRWIN & BARNEBY, 1981 *apud* SOUZA; SILVA, 2016) (Figura 2).

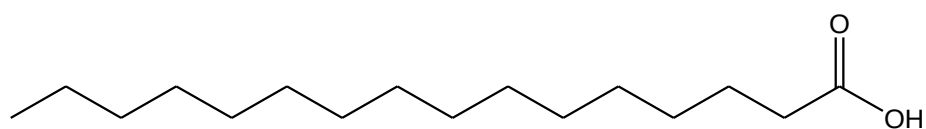
Figura 10. *Senna splendida*: partes aéreas (a), folhas (b) e flor (c).



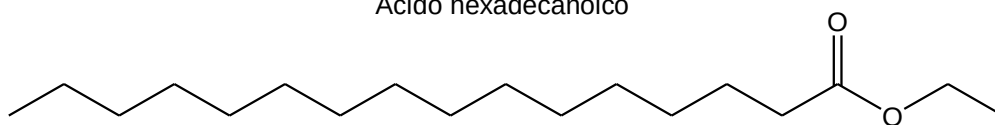
Fonte: POTT, POTT, 1994; SOUZA & SILVA, 2016.

Em screening fitoquímico do extrato etanólico de *Senna splendida* foram observados resultados positivos para taninos, fenóis, flavonóis, esteroides e triterpenoides, saponinas e heterosídeos antraquinônicos e em estudos fitoquímicos realizados com essa espécie já foram isolados ácidos graxos, hidrocarbonetos, ésteres, terpenos, esteroides e flavonoides (Figura 3) (FERREIRA, 2011).

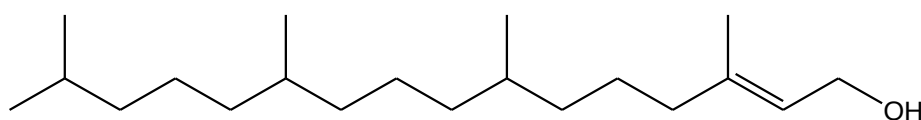
Figura 3. Substâncias isoladas anteriormente de *Senna splendida*.



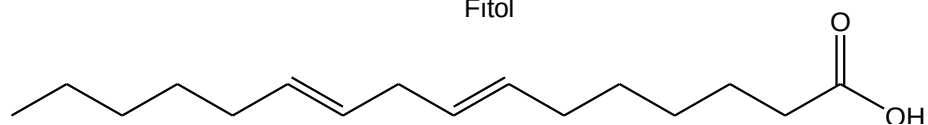
Ácido hexadecanoico



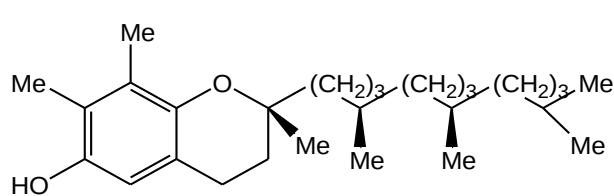
Hexadecanoato de etila



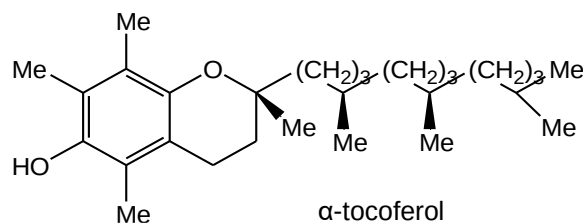
Fitol



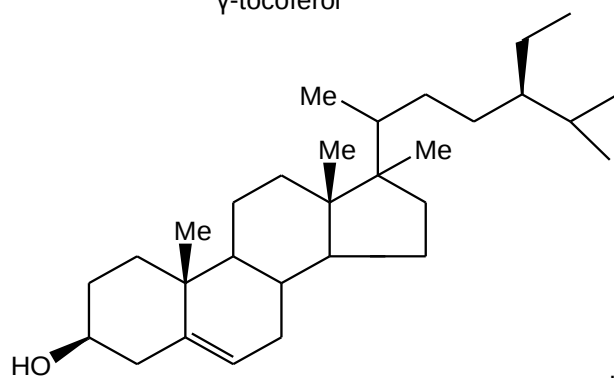
Ácido 9,12-octadecadienoico



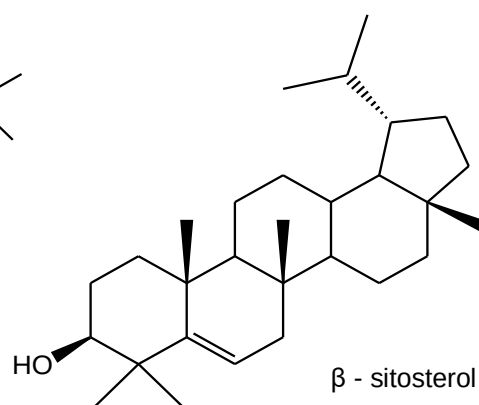
γ-tocoferol



α-tocoferol



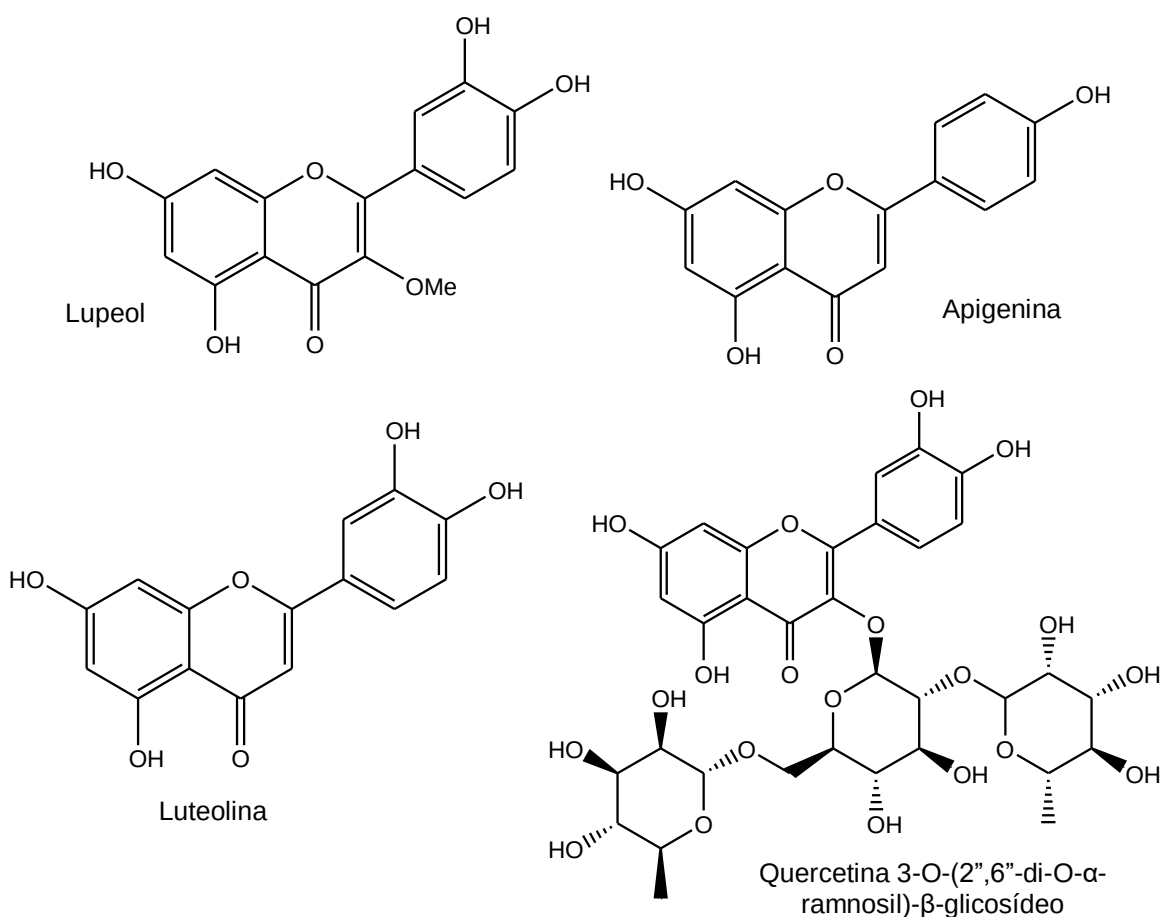
estigmasterol



β - sitosterol

Fonte: FERREIRA, 2011.

Figura 11 (cont.). Substâncias isoladas anteriormente de *Senna splendida*.



Fonte: FERREIRA, 2011.

Ainda nesse trabalho, realizado por Ferreira (2011), foi avaliada atividade antimicrobiana das frações obtidas do extrato de *S. splendida*, observando-se que estas apresentaram atividade contra *Klebsiela pneumoniae* / 13883 (100-200 µg/mL), *Proteus mirabilis* / 29906 (100 µg/mL) *Staphylococcus aureus* / 6538 (200 µg/mL) e *Enterobium faecalis* / 19433 (200 µg/mL). Foram avaliadas também a citotoxicidade e a atividade tripanocida do extrato e das frações de *S. splendida* frente a linhagens de células tumorais humanas MDAMB-435 (glândulas mamárias), HCT-8 (adenocarcinoma colorretal ileocecal) e SF-295 (glioblastoma), observando-se baixo percentual de inibição do crescimento celular tanto do extrato quanto das frações e atividade tripanocida da fração AcOEt (CI₅₀ 8,2 µg/mL). Entretanto, apesar da baixa citotoxicidade frente às linhagens humanas, no teste com *Artemia salina*, todos os microcrustáceos

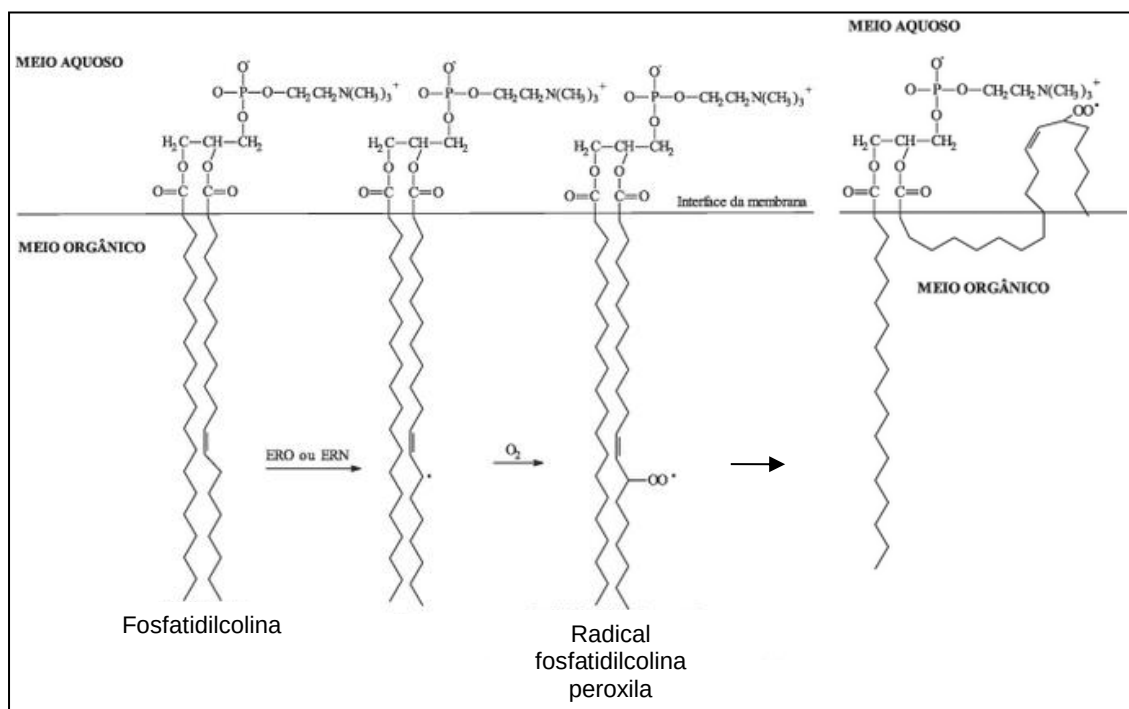
apresentaram comprometimento da motilidade ou morte nas concentrações 500 e 1000 µg/mL.

2.5 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Espécies reativas de oxigênio (EROs), tais como radical hidroxila ($\cdot\text{OH}$), radical superóxido ($\text{O}_2\cdot^-$) e hidroperoxila ($\text{ROO}\cdot$), são formadas nas células, como consequência de reações bioquímicas oxidativas. Esses radicais desempenham papéis importantes no organismo, atuando na produção de energia, fagocitose, regulação do crescimento celular e sinalização intercelular, e na síntese de compostos biologicamente importantes (PIETTA, 2000; SOUSA *et al.*, 2007).

No entanto, EROs podem ser danosas se sua produção for excessiva sob condições anormais (inflamação, fatores externos), causando danos em membranas lipídicas, inativação de enzimas e proteínas e danos no DNA (PIETTA, 2000). Estes danos são causados devido ao ataque das EROs às cadeias de ácidos graxos poliinsaturados dos fosfolipídios e do colesterol, abstraindo um hidrogênio do grupo metileno *bis*-alílico, iniciando assim o processo de peroxidação lipídica nas membranas celulares. Os radicais de carbono formados podem reagir com oxigênio originando radicais peroxila, que por sua vez podem atacar novas cadeias de ácidos graxos poliinsaturados, propagando a reação (Figura 4) (BARREIROS *et al.*, 2006).

Figura 12. Ataque da ERO à cadeia de ácido graxo poliinsaturado e dano à membrana celular.



Fonte: BARREIROS *et al.*, 2006.

Esses danos podem estar relacionados na etiologia de diversas doenças humanas, como artrite, catarata, envelhecimento precoce, doenças cardíacas, inflamação, doenças neurodegenerativas (Parkinson e Alzheimer) e câncer, podendo ser a causa ou o fator agravante do quadro geral (BARREIROS *et al.*, 2006; PIETTA, 2000).

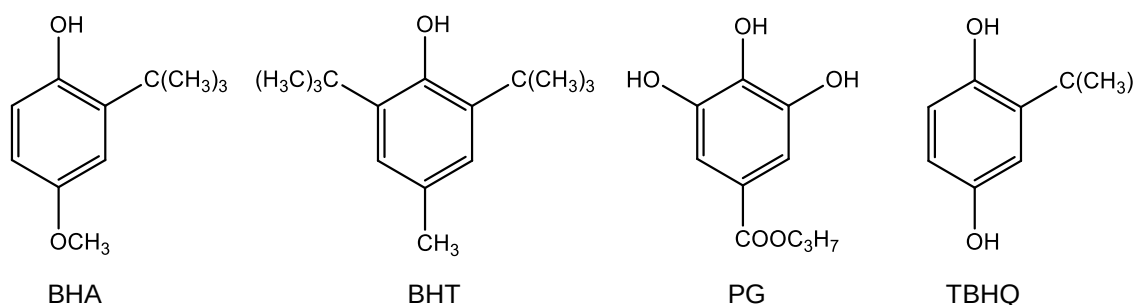
O excesso de radicais livres no organismo é combatido por antioxidantes, sendo estes definidos como substâncias que presentes em concentrações baixas, comparadas ao substrato oxidável, retardam significativamente ou inibem a oxidação do substrato. Os radicais formados a partir de antioxidantes não são reativos para propagar a reação em cadeia, sendo neutralizados por reação com outro radical, formando produtos estáveis ou podem ser reciclados por outro antioxidante (ATOUI *et al.*, 2005; BARREIROS *et al.*, 2006).

O organismo humano possui substâncias antioxidantes endógenas (ex. Se-glutationa peroxidase, catalase e superóxido dismutase), porém quando estas não são capazes de conter a produção excessiva de EROs, o uso de antioxidantes exógenos através de dieta se faz necessário (PIETTA, 2000). Destas últimas destacam-se tocoferóis (vitamina E), ácido ascórbico (vitamina C), polifenóis, selênio e carotenoides (HASLAM, 1996).

Além da diminuição dos danos causados pela oxidação excessiva no corpo humano, outro interesse ligado aos antioxidantes é a sua aplicação na indústria, para a proteção de cosméticos, fármacos e alimentos, prevenindo a decomposição oxidativa desses pela ação da luz, temperatura e umidade (FAURÉ *et al.*, 1984 *apud* BARREIROS *et al.*, 2006).

Segundo Ramalho e Jorge (2006), os antioxidantes podem ser classificados, no geral, em sintéticos ou naturais. Os antioxidantes sintéticos mais utilizados na indústria de alimentos são o butil-hidroxi-anisol (BHA), o butil-hidroxitolueno (BHT), o terc-butil-hidroquinona (TBHQ) e o propil galato (PG) (Figura 5).

Figura 5. Estruturas fenólicas dos antioxidantes sintéticos.



Fonte: RAMALHO; JORGE, 2006.

Esses compostos possuem uma estrutura fenólica que atuam doando um próton a um radical livre (RL), regenerando, assim, a molécula do ácido graxo e interrompendo o mecanismo de oxidação por RL, por formar um radical inerte, que se estabiliza por ressonância, sem promover ou propagar reações oxidativas. Entretanto, apresentam a desvantagem de serem voláteis, e facilmente decompostos em altas temperaturas. Além disso, estudos toxicológicos têm demonstrado possíveis efeitos carcinogênicos e hiperplásicos por parte de seu consumo. Desta forma, o uso destes antioxidantes no Brasil é controlado pelo Ministério da Saúde, que limita 200 mg/kg (0,02 g/ 100 g) para BHA e TBHQ e 100 mg/kg (0,01 g/ 100 g) para BHT, como concentrações máximas permitidas (ANDREO; JORGE, 2006; RAMALHO; JORGE, 2006).

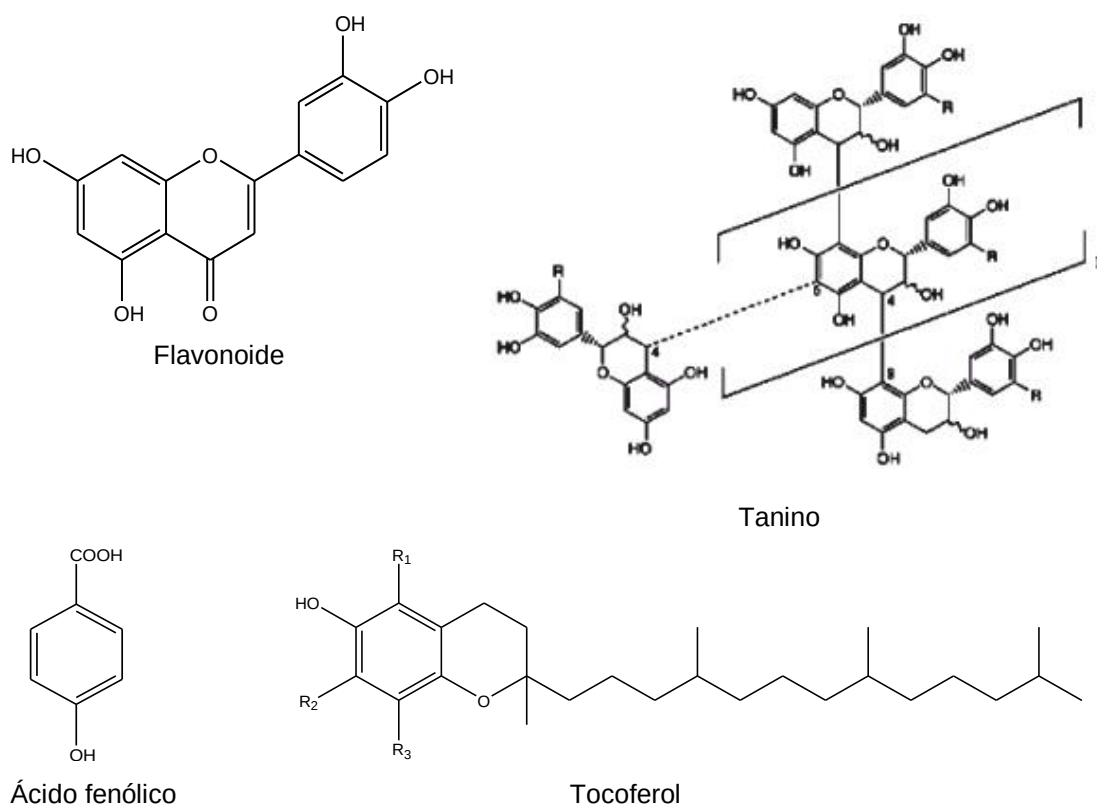
Os possíveis efeitos prejudiciais dos antioxidantes sintéticos e a crescente preocupação com a saúde do consumidor têm contribuído para o

desenvolvimento de pesquisas voltadas para a descoberta do potencial antioxidante de produtos naturais (MELO; GUERRA, 2002).

As substâncias fenólicas ou polifenóis são um dos mais importantes grupos de substâncias que ocorrem nas plantas e que contribuem para as propriedades antioxidantes e sensoriais (cor, aroma, adstringência) de frutas, bebidas e vegetais (ANGELO; JORGE, 2007).

Os compostos fenólicos apresentam hidroxilas e anéis aromáticos, nas formas simples ou de polímeros, e quando presentes em vegetais, podem estar em formas livres ou complexadas a açúcares e proteínas. Dentre eles, destacam-se os flavonoides, os ácidos fenólicos, os taninos e os tocoferóis (Figura 6) como os antioxidantes fenólicos mais comuns de fonte natural (ANGELO; JORGE, 2007).

Figura 13. Estrutura básica de flavonoide, ácido fenólico, tanino e tocoferol.



A atividade antioxidante dos tocoferóis é principalmente devida à capacidade de doar seus hidrogênios fenólicos aos radicais livres lipídicos, interrompendo a propagação em cadeia, enquanto que, os antioxidantes

fenólicos (ácido fenólico, flavonoide e tanino) funcionam como sequestradores de radicais e, algumas vezes, como quelantes de metais, agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo (FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2009).

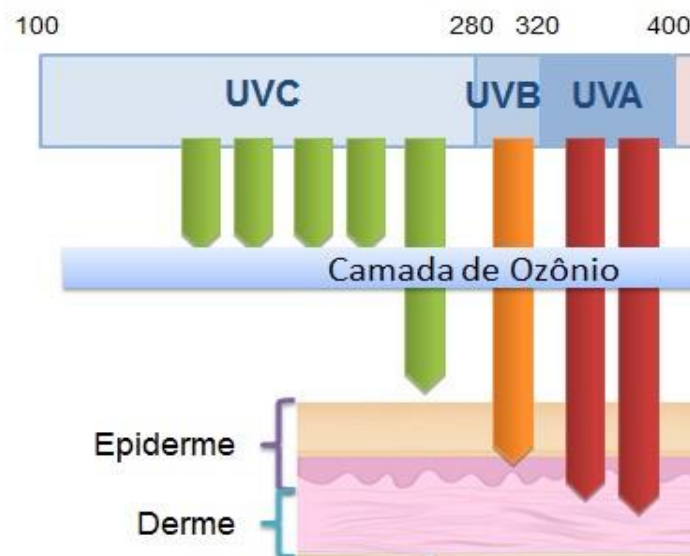
2.6 RADIAÇÃO E PROTETORES ULTRAVIOLETA

A pele é o órgão mais extenso do corpo humano constantemente exposta à radiação solar, quer seja por padrões estéticos, profissionais, ou meramente através da exposição das pessoas no deslocamento diário entre a moradia e o local de trabalho (GUARATINI *et al.*, 2009).

A radiação ultravioleta (UV) é importante do ponto de vista fisiológico e traz benefícios à saúde pois é a principal fonte de conversão da vitamina D, a qual é responsável por regular a homeostase do cálcio, formação e reabsorção óssea através de sua interação com as paratireoides, rins e intestino (ARNSON *et al.*, 2007). Além disso, a radiação UV apresenta efeitos benéficos no funcionamento do sistema imunológico e no tratamento de doenças como vitiligo e psoríase (GONZÁLEZ *et al.*, 2011).

Entretanto, apesar dos benefícios da radiação UV, esta também é responsável por uma ampla variedade de problemas agudos e crônicos de pele. Essa radiação é a parte do espectro eletromagnético referente aos comprimentos de onda entre 100 e 400 nm. De acordo com a intensidade que é absorvida pelo oxigênio e ozônio e, em função dos efeitos fotobiológicos costuma-se dividir em três regiões distintas: os raios UVA (320 – 400 nm), que são os mais longos do espectro de ação UV, sofrem pouca absorção pelo O₃ (ozônio) estratosférico e podem causar queimaduras em excesso de exposição (KHURY, 2010); a radiação UVB (290 – 320 nm), que é fortemente absorvida pelo O₃ estratosférico, importante para síntese de vitamina D no organismo, entretanto, devido a sua alta energia, é responsável pelos danos agudos e crônicos à pele, tais como manchas, queimaduras, descamação e câncer de pele (ARAUJO, 2008); e os raios UVC (100 – 290 nm), que são os mais energéticos, sendo extremamente lesivos aos seres vivos mas que não chegam à superfície da Terra devido à absorção pelo oxigênio e pelo ozônio na estratosfera (Figura 7) (MELO, 2015).

Figura 7. Faixas de ultravioleta e penetração na atmosfera e na pele.



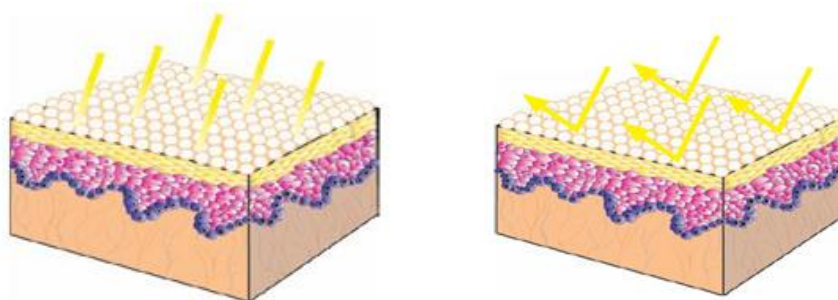
Fonte: ISIC.

Os danos causados pela radiação UV à pele, acontecem devido a diversos cromóforos da pele que absorvem essa radiação, tais como: melanina, DNA, RNA, proteínas, aminoácidos aromáticos, como a tirosina e o triptofano, ácido urânico, entre outros, gerando assim, reações fotoquímicas diferentes e interações secundárias, envolvendo espécies reativas do oxigênio, que resulta em efeitos prejudiciais quando da exposição em excesso ao sol (BAZYLKO *et al.*, 2015; MIYATA *et al.*, 2014).

A utilização de protetores solares é a principal abordagem cosmética contra os efeitos nocivos da radiação ultravioleta. Por isso, o maior desafio a ser atingido pela ciência, é o estabelecimento de métodos confiáveis e reprodutíveis de avaliação de fotoprotetores (PETRAZZUOLI, 2000).

Os filtros ultravioletas são moléculas ou partículas capazes de interagir com a radiação incidente sobre a pele, refletindo ou absorvendo essa radiação e, desta forma, reduzindo sua interação com superfície cutânea. São divididos em dois grupos: filtros orgânicos e filtros inorgânicos. Enquanto os primeiros agem absorvendo a radiação UV, os segundos são partículas capazes de refletir essa radiação. Ambos os filtros podem oferecer proteção à radiação UVA (filtros UVA), à radiação UVB (filtros UVB) ou as duas (filtros de amplo espectro) (Figura 8).

Figura 8. Mecanismos de ação dos filtros orgânicos e inorgânicos.



Fonte: <http://www.volp.com.br>.

Os filtros químicos ou orgânicos são geralmente, compostos de substâncias aromáticas com carbonilas/carboxilas e um substituto liberador de elétrons na posição orto ou para do anel aromático, como uma amina ou uma metoxila (FLOR *et al*, 2007; SCHUELLER *et al*, 1999). É importante destacar também que o aumento das ligações duplas conjugadas na molécula faz com que o nível máximo de absorção seja deslocado para comprimentos de onda mais longos, dando origem a uma seção transversal de absorção maior, consequentemente, a uma absorção mais forte (SCCS, 2011). Eles interferem na radiação UV absorvendo-a, quando atuam como cromóforos exógenos que absorvem o fóton de energia e evoluem para um estado excitado. Quando eles retornam para o estado não excitado (estável), há a liberação de energia em um comprimento de onda mais longo, que pode ser na faixa da luz visível (na forma de fluorescência) ou na faixa de radiação infravermelha (na forma de calor), e esse processo pode se repetir várias vezes através do mecanismo de ressonância. Nesse sentido, a depender da faixa de comprimento de onda que o filtro químico é capaz de absorver, eles podem ser subclassificados em filtros UVA, filtros UVB ou de amplo espectro, os quais contemplam tanto as faixas da radiação UVB quanto UVA (FORESTIER, 2008).

Já os filtros solares físicos ou inorgânicos são compostos de substâncias minerais, geralmente óxidos, se apresentando sob forma de pós inertes e insolúveis no meio. Uma vez aplicados na pele, eles criam uma barreira física, promovendo a reflexão ou dispersão da radiação UV (RIBEIRO, 2006).

Inúmeros testes para avaliação da eficácia de protetores ultravioleta vêm sendo realizados e, sem dúvida, os testes mais adequados e realistas são aqueles realizados *in vivo*, segundo o Registro Federal dos Estados Unidos de

25 de Agosto de 1978 (43 FR 166), entretanto, a fim de facilitar as determinações e eliminar os riscos para a saúde dos seres humanos, várias técnicas experimentais *in vitro* foram desenvolvidas e têm se mostrado uma alternativa prática para determinação aproximada e de guia para testes finais com seres humanos. Os métodos *in vitro* mais usados e de maior confiabilidade são baseados em técnicas de análises espectrofotométricas envolvendo medidas de transmissão ótica na região UVB (MELO, 2015).

Segundo a Food and Drugs Administration (FDA) nos Estados Unidos (EUA), os fabricantes não podem usar o termo “protetor solar” visto que na verdade, não há uma proteção total contra a luz solar, e esse termo seria um exagero da eficácia do produto. Nesse contexto, já que os filtros solares não proporcionam uma proteção de 100% e considerando que a maior parte dos danos causados pela radiação UVA se dá pela formação de espécies reativas, a incorporação de antioxidantes tem sido bastante incentivada e recomendada (FREITAS *et al*, 2015).

Diante disso, tem-se buscado opções de fotoprotetores na natureza, uma vez que, as espécies vegetais brasileiras, principalmente aquelas que vivem em regiões de temperaturas mais elevadas, têm desenvolvido ao longo do tempo, mecanismo para se protegerem contra os raios ultravioletas e apresentam moléculas com uma boa atividade antioxidante. Essas moléculas apresentam grupos cromóforos, semelhantes aos filtros orgânicos sintéticos, com a vantagem de serem mais estáveis frente à radiação UV e atenderem a um grupo crescente de consumidores que optam por produtos de origem natural (MELO, 2015).

A presença de compostos aromáticos, como flavonoides e antraquinonas em espécies de *Chamaecrista* e *Senna*, assim como a comercialização de uma espécie de *Senna*, *Senna alata*, como fotoprotetor, pelo laboratório La Roche-Posay, sob o nome de Anthelius Fluide Protetor Solar (FPS 60), incentiva o desenvolvimento de estudos com outras espécies desses gêneros.

2.7 INDICADORES ÁCIDO-BASE NATURAIS

Inúmeras espécies de plantas, flores e frutas possuem substâncias em sua seiva que mudam de cor conforme o pH do meio em que estão inseridas,

sugerindo que tais espécies podem atuar como indicadores ácido-base (CUCHINSKI *et al.*, 2010).

Indicadores ácido-base naturais são substâncias orgânicas, fracamente ácidas ou fracamente básicas, encontradas em flores de plantas ou na casca das frutas, que apresentam cores diferentes para suas formas protonadas e desprotonadas, isto é, que mudam de cor em função do pH da solução (TERCI; ROSSI, 2002).

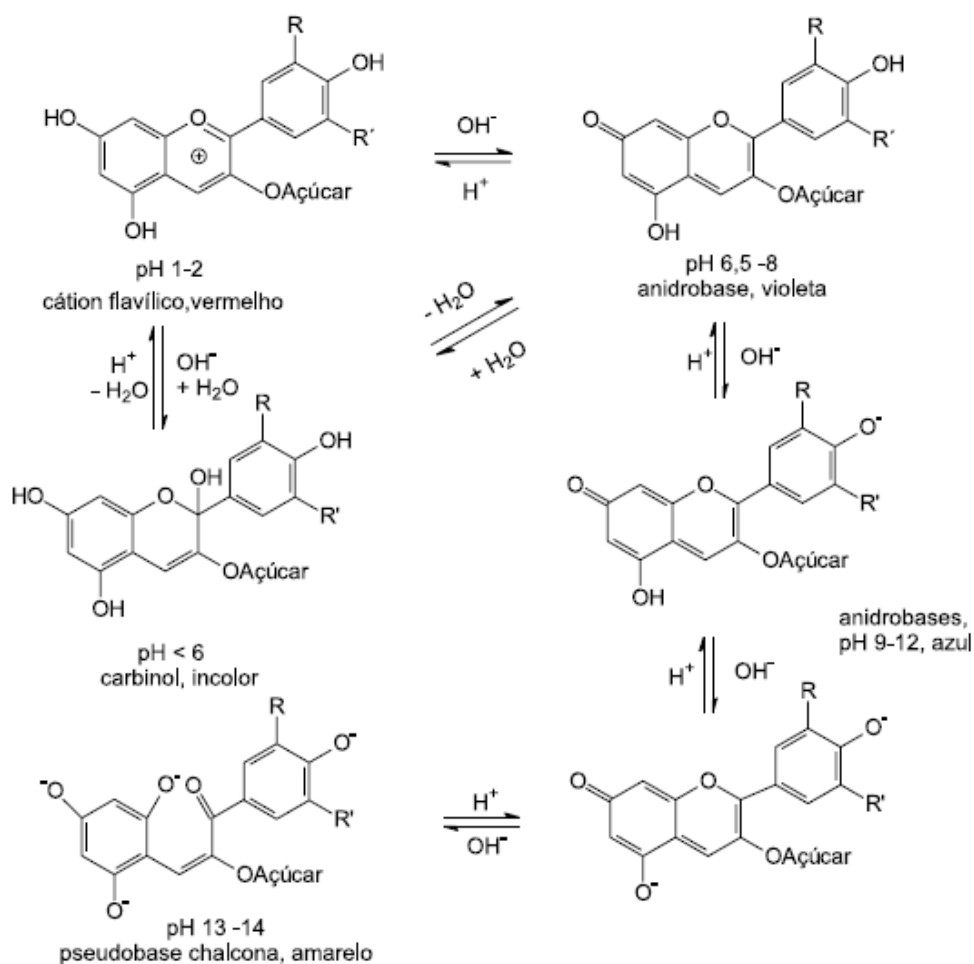
O uso de indicadores começou no século XVII com Robert Boyle ao preparar um licor de violeta e observar que o extrato desta flor tornava-se vermelho em solução ácida e verde em solução básica. Entretanto, essa prática só foi reconhecida cientificamente no século XIX, por Arrhenius (PRADO; CÔRTEZ, 2007; PALÁCIO *et al.*, 2012).

Em 1767, Lewis usou pela primeira vez o extrato de plantas em titulações de neutralização e nos dias atuais inúmeras plantas são citadas na literatura por apresentarem pigmentos que, quando submetidos a diferentes graus de acidez ou basicidade, alteram sua coloração, como por exemplo, jabuticaba, repolho roxo, amora, pau-brasil, entre outros (PRADO; CÔRTEZ, 2007).

No início do século XX, Willstätter e Robinson relacionaram as antocianinas como sendo os pigmentos responsáveis pela coloração de diversas flores e que seus extratos apresentavam cores que variavam em função da acidez ou alcalinidade do meio, uma vez que estas possuem coloração avermelhada em meio ácido, violeta em meio neutro e azul em condições alcalinas (WILLSTÄTTER *et al.*, 1913; PRATT *et al.*, 1922 *apud* TERCI; ROSSI, 2002).

Essa propriedade das antocianinas apresentarem cores diferentes, dependendo do pH do meio em que elas se encontram, faz com que estes pigmentos possam ser utilizados como indicadores naturais de pH e podem ser explicadas pelo esquema das principais transformações ilustradas na Figura 9 (TERCI; ROSSI, 2002).

Figura 9. Possíveis mudanças estruturais das antiocianidinas em meio aquoso em função do pH.



Fonte: TERCÍ & ROSSI, 2002.

Além das antocianinas, outra classe de metabólitos secundários encontrados nas plantas que apresentam mudança de coloração em contato com soluções de caráter básico são as antraquinonas, uma vez que estas, coram as bases de vermelho, variando a intensidade da cor de acordo com o número e a posição das hidroxilas e de outros substituintes (SIMÕES *et al.*, 2004).

A utilização de indicadores ácido-base sintéticos é bastante comum atualmente, entretanto, a possibilidade de utilização de indicadores naturais na aprendizagem de química faz com que estes se revelem como um providencial recurso didático, uma vez que a interdisciplinaridade está contida neste caso desde os procedimentos de extração até a explicação da mudança de cor, envolvendo conceitos e procedimentos da química geral, analítica, orgânica, de produtos naturais e físico-química, oferecendo através destes aspectos grande quantidade de detalhes e informações a alunos em diferentes estágios de

aprendizado. Além disto, o baixo custo dos experimentos propicia sua utilização em qualquer escola (COUTO *et al.*, 1998).

As perspectivas de trabalho pedagógico que podem ser desenvolvidas com a utilização dessas amostras em atividades didáticas representam uma importante ferramenta para fortalecer a articulação da teoria com a prática. Isto é bastante desejável por favorecer o sucesso do processo de ensino/aprendizagem, o que nem sempre é tarefa trivial, principalmente quando o tema é a Química (TERCI; ROSSI, 2002).

A contextualização do ensino é fundamental para que a aprendizagem seja efetiva e isto fica bem claro na essência dos Parâmetros Curriculares Nacionais – PCN's nos quais se preconiza que *“a concepção curricular seja transdisciplinar e matricial, de forma que as marcas das linguagens, das ciências, das tecnologias e, ainda, dos conhecimentos históricos, sociológicos e filosóficos, como conhecimentos que permitem uma leitura crítica do mundo, estejam presentes em todos os momentos da prática escolar”* (BRASIL, 2006).

Com relação ao ensino de Química, além de temas interdisciplinares, os PCN's enfatizam a exploração de conceitos químicos a partir do cotidiano dos alunos, destacando-se que a experimentação na escola média tem função pedagógica e desenvolve habilidades cognitivas, tais como controle de variáveis, tradução da informação de uma forma de comunicação para outra (gráficos, tabelas e equações químicas), elaboração de estratégia para resolução de problemas, tomada de decisão baseada em análises de dados e valores, respeito às ideias dos colegas e colaboração no trabalho coletivo (BRASIL, 2006).

OBJETIVOS

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Contribuir para o conhecimento dos gêneros *Chamaecrista* e *Senna* e da família Fabaceae, enfatizando os aspectos fitoquímico, químico e farmacológico de *Chamaecrista sp.* e *Senna splendida*.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estudar fitoquimicamente as espécies *Chamaecrista sp.* e *Senna splendida*, por meio do isolamento e determinação estrutural dos constituintes químicos.
- Determinar o teor de compostos fenólicos, flavonóis e flavonas totais nos extratos brutos e fases de *Chamaecrista sp.* e *Senna splendida*.
- Avaliar a atividade antioxidante do extrato bruto e das fases hexânica, diclorometano e acetato de etila das espécies em estudo pelo método do DPPH.
- Avaliar a atividade fotoprotetora *in vitro* do extrato bruto e das fases hexânica, diclorometano e acetato de etila e de substâncias isoladas das espécies em estudo.
- Isolar antraquinonas que tenham propriedade de indicar o caráter ácido ou básico de soluções a fim de aplicá-las em sala de aula

MATERIAL E
MÉTODOS

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAL VEGETAL

As partes aéreas de *Chamecrista* sp. (3 kg) e *Senna splendida* (4 Kg) foram coletadas no município de Maturéia – Estado da Paraíba) pela professora Maria de Fátima Agra (CBiotec/UFPB), sendo uma exsicata destas espécies depositadas no herbário Professor Lauro Pires Xavier (JPB) do Centro de Ciências Exatas e da Natureza.

4.2 ESTUDO FITOQUÍMICO

4.2.1 Obtenção do extrato etanólico bruto de *Chamaecrista* sp. e seu particionamento

Depois de coletado, o material vegetal foi desidratado em estufa com ar circulante a temperatura média de 45 °C, durante 3 a 4 dias, sendo em seguida submetido a um processo de pulverização em moinho mecânico, reduzindo-se a pó.

O material vegetal seco e pulverizado foi submetido à maceração com etanol (EtOH) a 95% (10 L) por 72 h, sendo este processo repetido por três vezes, para obter a máxima extração dos constituintes químicos. A solução extrativa resultante, depois de filtrada, foi concentrada com o auxílio de um evaporador rotativo, sob pressão reduzida, a uma temperatura não superior a 50 °C, obtendo-se 210 g de extrato etanólico bruto (EEB). Uma alíquota (100g) do EEB foi solubilizada em 200 mL de MeOH:H₂O (1:1 v/v) sob agitação mecânica, resultando na solução hidroalcoólica, a qual, foi submetida à partição líquido/líquido, em ampola de separação, utilizando-se os solventes hexano (900mL), diclorometano (750 mL) e acetato de etila (750mL) separadamente. As soluções obtidas foram tratadas com sulfato de sódio (Na₂SO₄) anidro e submetidas à filtração. Após esse processo, os solventes foram evaporados em evaporador rotativo sob pressão reduzida, fornecendo as fases hexânica (19,6 g), diclorometano (4 g) e acetato de etila (14,3 g) (Esquema 1).

4.2.2 Fracionamento cromatográfico da fase hexânica de *Chamaecrista* sp.

Uma alíquota da fase hexânica (1 g) foi submetida à cromatografia em coluna utilizando sílica gel 60 como fase estacionária e hexano, acetato de etila e metanol, puros e em misturas binárias como fase móvel, resultando em 20 frações de 5 mL que foram analisadas por cromatografia em camada delgada analítica (CCDA). A fração 10 (40 mg) se apresentou na forma de cristais incolores e com melhor perfil cromatográfico, sendo solúvel em clorofórmio. Essa fração foi codificada como Ch-1 e encaminhada para análise espectroscópica de ressonância magnética nuclear de ^1H e ^{13}C em espectrômetro VARIAN, operando para hidrogênio (RMN de ^1H) a 200 MHz e para carbono (RMN de ^{13}C) a 50, com a utilização de clorofórmio delterado (7,24 ppm / 77,0 ppm).

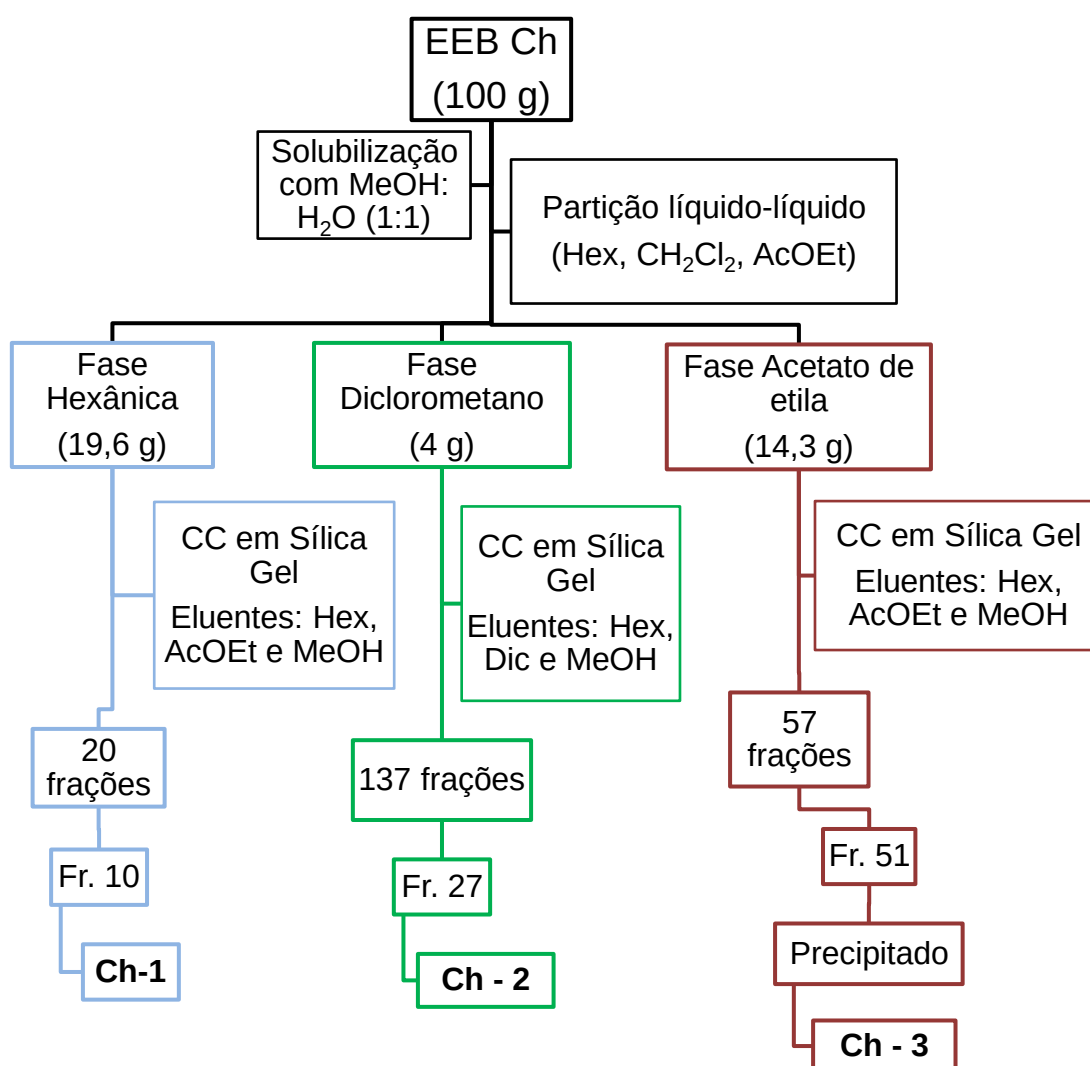
4.2.3 Fracionamento cromatográfico da fase diclorometano de *Chamaecrista* sp.

Parte da fase diclorometano (3 g) foi submetida à cromatografia em coluna utilizando sílica gel 60 como fase estacionária e hexano, diclorometano e metanol, puros e em misturas binárias como fase móvel, aumentando-se a polaridade de 10 em 10%. Este processo resultou em 137 frações, que após serem analisadas por CCDA, foram reunidas em 62 grupos de acordo com seus fatores de retenção (Rf). A fração 27 (100 mg), eluída da coluna com o sistema hexano:diclorometano (9:1), se mostrou como um pó amarelo alaranjado e uma única mancha na CCDA, sendo corada com vapores de hidróxido de amônio, indicando possibilidade de esqueleto de antraquinona. Essa substância foi codificada com Ch-2 e encaminhada para análise espectroscópica de ressonância magnética nuclear de ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz), em espectrômetro VARIAN, utilizando DMSO delterado como solvente (2,49 ppm / 39,5 ppm).

4.2.4 Fracionamento cromatográfico da fase acetato de etila de *Chamaecrista* sp.

Parte da fase acetato de etila de *Chamaecrista sp.* (5 g) foi submetida à cromatografia em coluna utilizando sílica gel 60 como fase estacionária e hexano, acetato de etila e metanol, puros e em misturas binárias, como fase móvel. A eluição ocorreu com o aumento de 2% na polaridade a cada 100 mL de fase móvel, resultando em 57 frações. As frações foram analisadas por CCDA, e a fração 51 (40 mg) apresentou um precipitado amarelo, que foi separado por diferença de polaridade, codificado como Ch-3 e encaminhado para análise espectroscópica de ressonância magnética nuclear de ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz), em espectrômetro VARIAN, utilizando DMSO delterado como solvente.

Esquema 1. Etapas envolvidas no processo de obtenção, particionamento e extração do extrato etanólico bruto de *Chamaecrista sp.*



4.2.5 Obtenção do extrato metanólico bruto de *Senna splendida* e seu particionamento

Depois de coletado (4 Kg), o material vegetal foi desidratado em estufa com ar circulante a temperatura média de 45 °C, durante 3 a 4 dias, sendo em seguida submetido a um processo de pulverização em moinho mecânico, reduzindo-se a pó.

O material vegetal seco e pulverizado foi submetido à maceração exaustiva com 10 L de metanol (MeOH) a 95% por 72 h, sendo este processo repetido por três vezes, para obter a máxima extração dos constituintes químicos. A solução extrativa resultante, depois de filtrada, foi concentrada com o auxílio de um evaporador rotativo, sob pressão reduzida, a uma temperatura não superior a 50 °C, obtendo-se 382,4 g de extrato metanólico bruto de *Senna splendida* (EMB-Se).

Uma alíquota (15 g) do EMB-Se foi solubilizada em 60 mL de MeOH sob agitação mecânica. Essa solução metanólica foi submetida à partição líquido/líquido, em ampola de separação, utilizando-se hexano (350 mL), diclorometano (350 mL) e acetato de etila (350 mL). As soluções obtidas foram tratadas com sulfato de sódio (Na₂SO₄) anidro e submetidas à filtração. Após esse processo, os solventes foram evaporados em evaporador rotativo sob pressão reduzida, fornecendo as fases hexânica (4,0 g), diclorometano (1,7 g) e acetato de etila (5 g) (Esquema 2).

Parte do EMB Se (10 g) foi solubilizado em uma solução de ácido sulfúrico 5% (150 mL), filtrado e submetido à partição com hexano (3 x 50 mL) para retirada dos ácidos graxos. O pH da solução aquosa obtida foi ajustado para 9,0 adicionando hidróxido de amônia concentrado (30 mL). Em seguida, foi realizada partição com diclorometano (4 x 50 mL). A solução diclorometano (2) obtida foi seca no rotaevaporador obtendo-se a fase diclorometano (2) (154,8 mg) de *Senna splendida* (Esquema 3) (SRIPHONG *et al.*, 2003).

4.2.6 Fracionamento cromatográfico da fase hexânica de *Senna splendida*

Parte da fase hexânica de *Senna splendida* (1,5 g) foi submetida à cromatografia em coluna utilizando sílica gel 60 como fase estacionária e hexano, diclorometano e metanol, puros e em misturas binárias, como fase móvel (10% / 200mL). Este processo resultou em 21 frações, que foram analisadas por CCDA (Hex:Dic - 1:1 v/v). A fração 8 (60 mg) apresentou-se como

um precipitado branco, que foi separado por filtração, sendo codificado como Se-1 e encaminhado para análise espectroscópica de ressonância magnética nuclear de ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) em espectrógrafo VARIAN MERCURY, utilizando CDCl_3 como solvente, e em seguida para análise em cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM), por impacto de elétrons, afim de confirmar sua estrutura e identificar as impurezas observadas no RMN.

Para realização da cromatografia gasosa e obtenção do espectro de massas foi utilizado cromatógrafo gasoso acoplado a espectrômetro de massas (CG-EM) da marca Shimadzu, modelo GCMS-QP2010 Ultra, com ionizador por impacto de elétrons, 70 eV. Coluna RTX-5MS capilar (5% difenil / 95% dimetil polisiloxano), com 30 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 μm df. Para isso, foram utilizados os seguintes parâmetros: temperatura de injeção: 250°C; pressão 57 KPa; gás carreador: hélio; fluxo total: 7,9 mL/min; fluxo da coluna: 0,82 mL/min; temperatura do forno: 100°C; Temperatura da fonte de íons: 200°C; temperatura da interface: 250°C, modo de injeção: split; método: 100 – 300°C / 20 min, faixa de 3°C/min; faixa de massa: m/z 40-500 Da.

Após obtenção do cromatograma e espectros de massas, foi calculado o índice de Kovats através da injeção de padrões de hidrocarbonetos utilizando a mesma metodologia das amostras. Os dados do espectro de massas e o índice de Kovats foram comparados com a biblioteca do equipamento e com a literatura.

4.2.7 Fracionamento cromatográfico da fase acetato de etila de *Senna splendida*

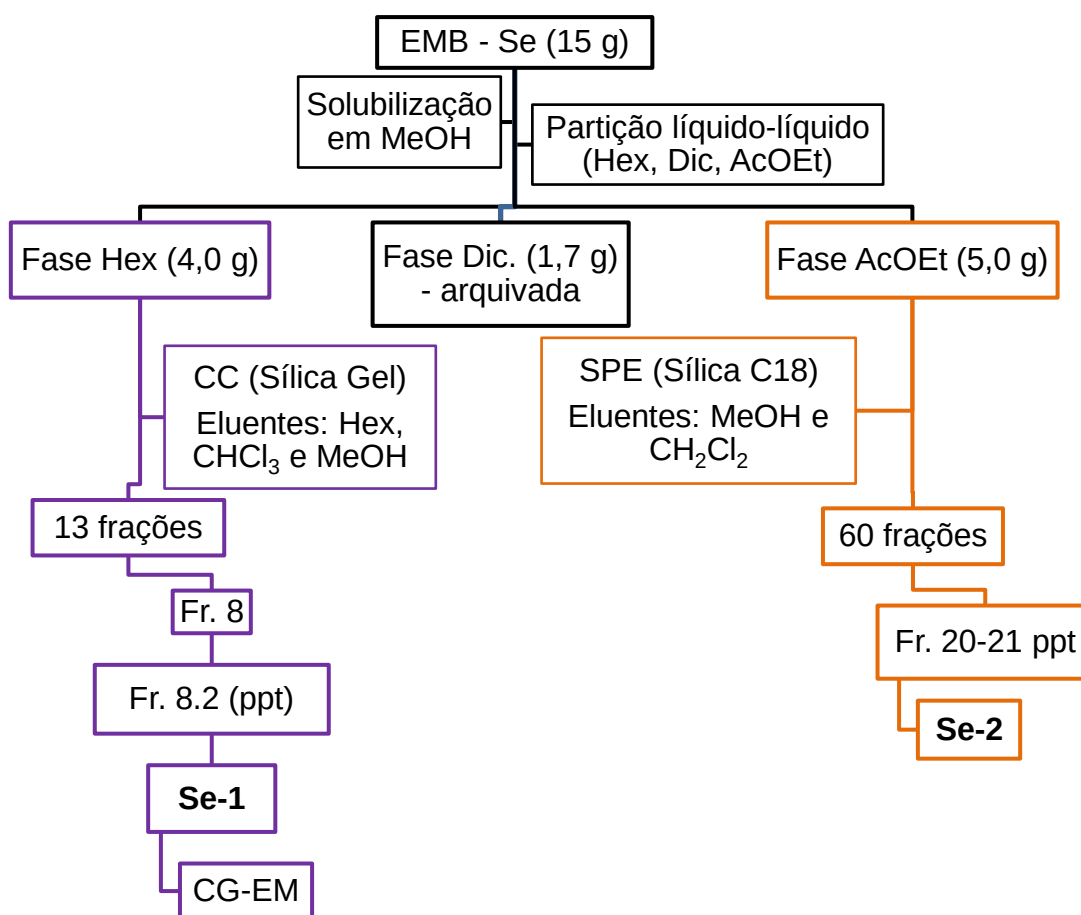
Uma alíquota da fase acetato de etila (1,0 g) foi submetida à cromatografia em coluna, utilizando sílica C18 como fase estacionária e metanol e Diclorometano puros e em mistura na proporção 1:1 de volume, resultando em 31 frações. As frações foram analisadas por CCDA e reunidas em grupos de acordo com seus Rfs. O grupo 20-21 (30 mg) se apresentou como precipitado branco, foi codificado como Se-2 e encaminhado para análise espectroscópica de ressonância magnética nuclear de ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) uni e bidimensionais, utilizando espectrômetro VARIAN MERCURY e piridina delterada como solvente.

4.2.8 Fracionamento cromatográfico da fase diclorometano (2) de *Senna splendida*

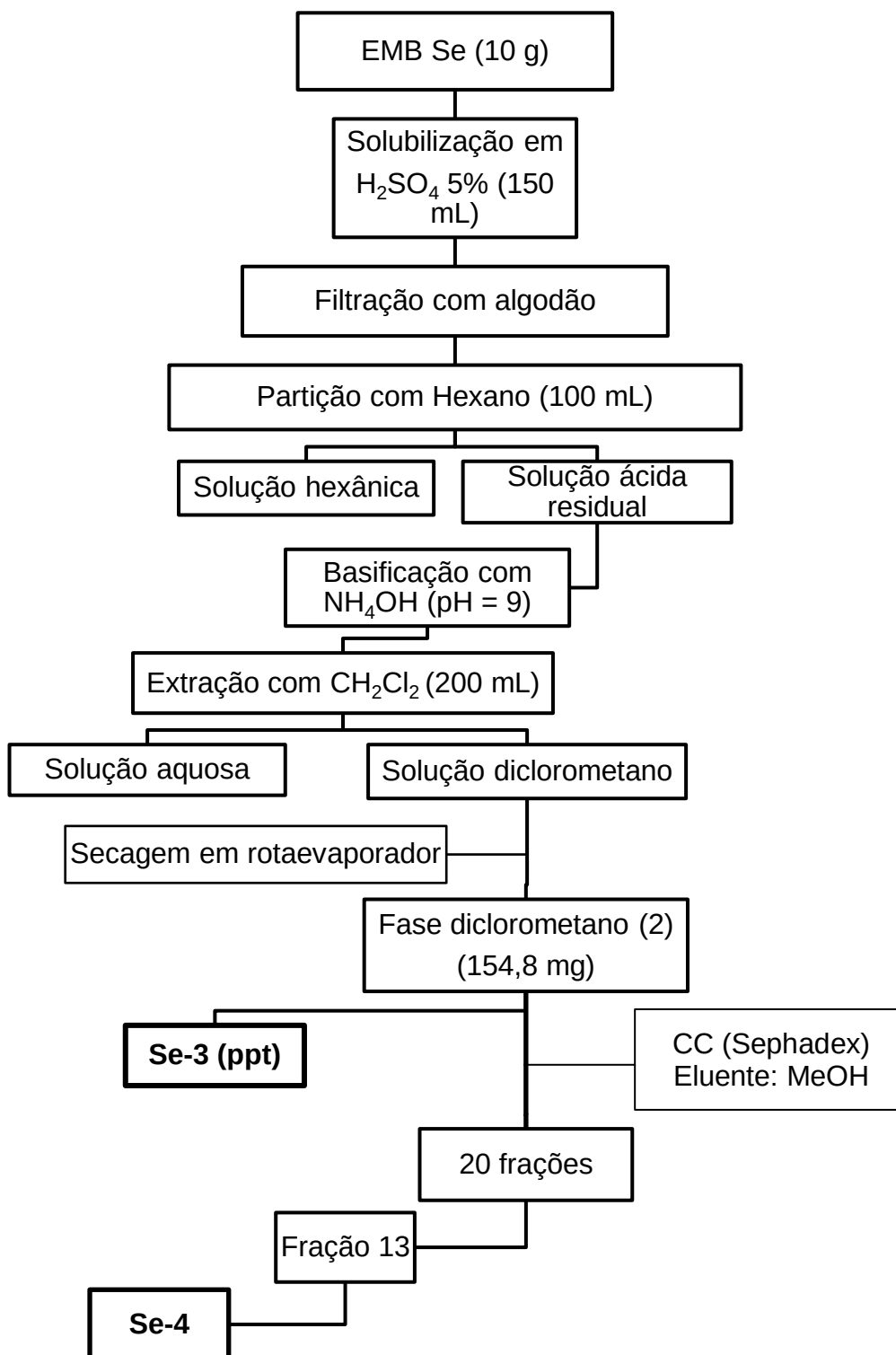
Na fase diclorometano (2) de *S. splendida* foi observado a formação de um precipitado amarelo (30 mg), que foi isolado por filtração, codificado como Se-3 e encaminhado para análise espectroscópica de ressonância magnética nuclear de ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) uni e bidimensionais, utilizando espectrógrafo VARIAN MERCURY e DMSO delterado como solvente.

Uma alíquota dessa fase (150 mg) foi submetida à cromatografia em coluna, utilizando Sephadex como fase estacionária e metanol como fase móvel. Foram obtidas 20 frações, sendo que a fração 13, após ser analisada por CCDA, se apresentou como uma única mancha, sendo codificada como Se-4 (10 mg) e encaminhada para análise espectroscópica de RMN de ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) uni e bidimensionais, utilizando equipamento da VARIAN MERCURY e clorofórmio delterado como solvente.

Esquema 2. Etapas envolvidas no processo de obtenção e particionamento do extrato metanólico bruto de *Senna splendida*.



Esquema 3. Processo para obtenção da fase diclorometano (2) de *Senna splendida* (SRIPHONG *et al.*, 2003).



4.3 APLICAÇÃO DE CONSTITUINTE ISOLADO COMO INDICADOR ÁCIDO-BASE

Segundo a literatura alguns constituintes isolados de plantas apresentam atividade como indicadores de caráter ácido-básico de soluções, dentre eles estão, as antocianinas e as antraquinonas. Como existem relatos de isolamento de antraquinonas de *Chamaecrista* e *Senna* e nesse trabalho foi isolada a emodina (Ch-2), foram realizados testes químicos de variação de coloração da solução contendo a substância de acordo com o pH das soluções.

Para isso, inicialmente, foram preparados 10 mL de soluções com pH 1,0 a 14,0, utilizando um pHmetro e adicionados 1 mL da solução de emodina (1 mg/mL) em etanol a cada uma delas afim de observar a variação da coloração da solução.

Após observar a coloração que a emodina apresenta em contato com soluções de pH 1 – 14, esta foi aplicada em aula prática como indicador ácido-base.

Inicialmente foi ministrada aula teórica abordando o conteúdo funções inorgânicas (ácido e base) para duas turmas do primeiro ano do curso técnico integrado em Edificações do Instituto Federal da Paraíba - Campus Catolé do Rocha (turmas do turno matutino e vespertino). Em seguida, foi realizada uma aula prática sobre indicadores ácido-base naturais, utilizando extratos alcoólicos de flores trazidos pelos alunos e a solução etanólica da substância isolada no presente trabalho, emodina.

Por se tratar de um campus em implantação e não contar ainda com a presença de laboratório de química, foram utilizados para essa aula, copos descartáveis e soluções ácidas e básicas encontrados no dia-a-dia, como, ácido muriático, vinagre, soda cáustica e água sanitária, a fim de observar a coloração obtida ao colocar a emodina e os extratos das flores em contato com as soluções.

Após observarem as cores adquiridas pelos extratos das flores e pela solução de emodina em contato com as soluções de caráter ácido e básico, os alunos tiveram que identificar a acidez ou basicidade de duas amostras desconhecidas utilizando a solução de emodina.

Com essa metodologia, buscou-se mostrar aos alunos a possibilidade de utilização de extratos e de substâncias puras isoladas de plantas como indicadores ácido-base naturais.

4.4 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE COMPOSTOS FENÓLICOS, FLAVONOIS E FLAVONAS E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE *Chamaecrista* sp. e *Senna splendida*

4.4.1 Determinação do teor de fenólicos

O teor de fenólicos foi determinado pelo método de Folin-Ciocalteu, que é um dos mais utilizados para este fim. O reagente de Folin é composto de uma mistura dos ácidos fosfomolibdídico e fosfotungstúico, onde os elementos molibdênio e o tungstênio apresentam estado de oxidação 6+, entretanto, na presença de alguns compostos redutores, como os compostos fenólicos, há formação de molibdênio azul e o tungstênio azul, onde a média dos estados de oxidação está entre 5 e 6, permitindo através da coloração a determinação da concentração das substâncias redutoras (NACZK; SHAHIDI, 2004; IKAWA *et al.*, 2003 *apud* CHAVES *et al.*, 2010).

Para a realização do método empregou-se o ácido gálico como composto fenólico padrão, como descrito por Gulcin *et al.* (2004). Adicionou-se 0,5 mL do reagente Folin-Ciocalteu (10 %) a 120 µL da amostra (extrato e fases, na concentração de 600 µg/mL). A reação foi mantida em repouso por 5 minutos, sendo adicionado em seguida 400 µL de carbonato de sódio (7,5 %) para neutralizar a mistura. As amostras foram mantidas a temperatura ambiente e no escuro por 120 minutos, sendo transferidas para placa de 96 poços (200 microlitros/poço) e a absorbância foi medida a 765 nm em espectrofotômetro UV-visível (UV-2550, Shimadzu). As análises foram realizadas em triplicatas (repetidas por três dias) para o extrato e as fases de *Chamaecrista* sp e *Senna splendida*.

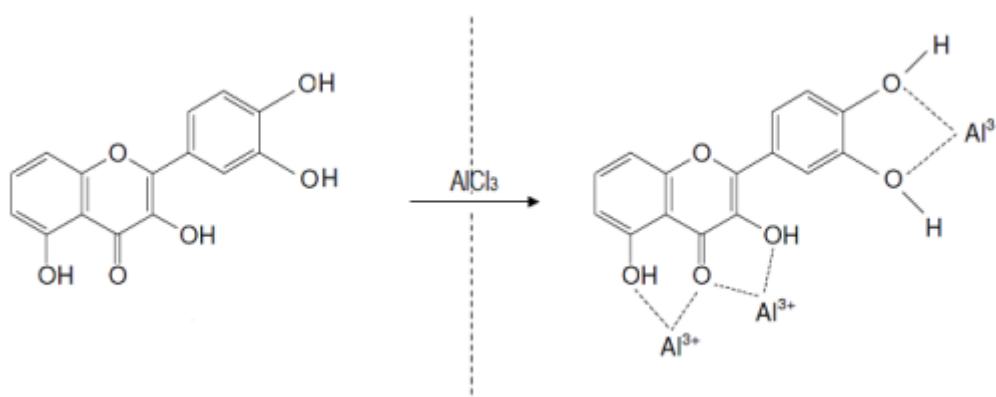
O teor de fenólicos totais foi determinado pela equação de regressão linear a partir da curva de calibração construída com solução padrão de ácido gálico (300; 100; 50; 15 e 7,5 µg / mL) e expresso em miligramas de equivalente de ácido gálico por grama de extrato (mg EAG / g de amostra), sendo as análises realizadas em triplicatas (repetidas por três dias). As concentrações do padrão foram escolhidas de acordo com análises prévias.

4.4.2 Determinação do teor de flavonois e flavonas

O teor desses dois tipos de flavonoides (flavonois e flavonas) foi determinado pelo método espectrofotométrico proposto por Schmidt e Ortega (1983), com adaptações, utilizando cloreto de alumínio (AlCl_3).

O cloreto de alumínio tem a característica de formar complexos coloridos e estáveis com os flavonoides quando dissolvidos em metanol (Figura 8), ocorrendo um desvio para maiores comprimentos de onda e um aumento na absorção. Quando isso acontece, é possível analisar o teor de flavonoides sem que outros compostos fenólicos, como os ácidos fenólicos que também formam complexos com o cloreto de alumínio interfiram nos resultados (SOUZA; GIOVANI, 2005; PETRY *et al.*, 1998; MARCUCCI *et al.*, 1998).

Figura 10. Formação do complexo entre o cloreto de alumínio e um flavonoide.



Fonte: MARCUCCI *et al.*, 1998 apud LUNA, 2013.

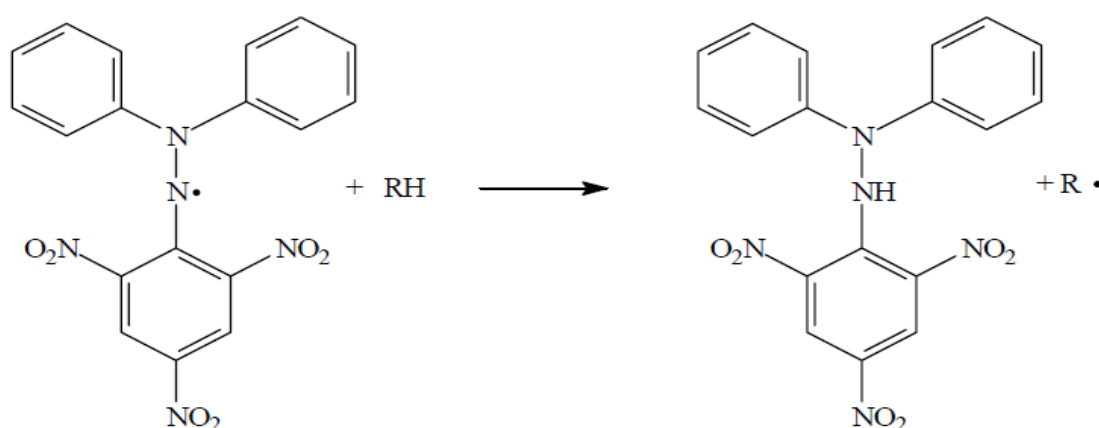
Para realização desse teste, 0,1 mL das amostras (1 mg / mL) foram tratadas com 0,1 mL da solução de cloreto de alumínio (2,5%) em placas de 96 poços, sendo a reação mantida ao abrigo da luz por 30 minutos e, em seguida, a absorbância medida a 410 nm em espectrômetro UV-Visível (UV-2550, Shimadzu) (MARQUES *et al.*, 2012). As análises foram realizadas em triplicatas (repetidas por três dias) e o teor de flavonoides foi determinado pela equação de regressão linear a partir da curva de calibração construída com solução de quercetina (0,25; 0,5; 5; 25; 50; 200 μg / mL) e o resultado foi expresso em μg de quercetina / mg de amostra, sendo essas concentrações determinadas através de testes realizados anteriormente.

Após a obtenção do teor de flavonas e flavonois nas amostras, foi calculada a porcentagem destas em relação ao teor de fenólicos determinado para cada amostra.

4.4.3 Determinação da atividade antioxidante pelo método de sequestro de radicais - DPPH

O teste DPPH é uma técnica rápida, simples e sensível, baseada na redução do radical orgânico DPPH• (2,2-difenil-1-picril-hidrazina), que apresenta o máximo de absorção a 515-520 nm na coloração violeta. Após a abstração do radical hidrogênio do antioxidante em estudo, é possível observar uma diminuição da absorbância e da coloração das soluções, passando da cor violeta para amarelo (Figura 11) (ALEZANDRO, 2009; BERTOLDI, 2006).

Figura 11. Estabilização do radical DPPH com um antioxidante.



Fonte: OLDONI, 2007.

A metodologia utilizada foi a descrita por Garcez *et al.* (2009), com algumas alterações, onde 100 µL da solução de DPPH (0,3 mM) foram adicionados à 100 µL de diferentes concentrações das amostras (extrato e fases: 1,625; 3,125; 6,25; 12,5 e 25 µg / mL), determinadas de acordo com triagem inicial. A mistura foi mantida em repouso e no escuro por trinta minutos e em seguida a absorbância foi medida em espectrofotômetro UV-Visível (UV-2550, Shimadzu) em comprimento de onda de 518 nm. A porcentagem da atividade sequestradora (% AS) foi calculada conforme a equação 1 abaixo:

Equação 1 – Fórmula para o cálculo da Atividade sequestradora de radicais.

$$(\% AS) = \frac{(A \text{ controle negativo} - A \text{ amostra})}{A \text{ controle negativo} \times 100}$$

Onde,

$A_{\text{controle negativo}}$ = absorbância do DPPH em solução metanólica.

A_{Amostra} = absorbância do radical na presença dos extratos ou do padrão ácido ascórbico.

A atividade antioxidante das amostras foi expressa como CE_{50} , que é a concentração (em $\mu\text{g/mL}$) da amostra que induziu a redução de 50% dos radicais DPPH. Como controle positivo foi utilizado o ácido ascórbico e os extratos foram considerados ativos quando apresentaram $CE_{50} < 500 \mu\text{g/mL}$ (CAMPOS *et al.*, 2003). As análises foram realizadas em triplicatas (repetidas por três dias).

Além da CE_{50} , os resultados da atividade antioxidante também foram expressos através do poder antirradicalar ($1 / CE_{50}$).

4.5 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE FOTOPROTETORA *IN VITRO*

Inicialmente foi determinada a absorbância máxima (A_{max}) dos extratos, fases e da substância isolada, emodina, e em seguida calculado o Fator de Proteção Solar (FPS).

Para determinação da absorbância máxima, as amostras foram solubilizadas em álcool metílico absoluto PA. As amostras foram preparadas na concentração de $100 \mu\text{g} / \text{mL}$ p/v e realizada varredura entre os comprimentos de onda de 220 a 400 nm (Espectrofotômetro UV visível, UV-2550 Shimadzu, em cubeta de quartzo de 1 cm de caminho óptico), para verificar a absorção nas regiões ultravioleta A, B e C (UVA, UVB e UVC). Foi utilizado o álcool metílico absoluto PA como branco.

O FPS é calculado com relação à radiação UVB que é a causadora de eritemas (FLOR *et al.*, 2007), através do método espectrofotométrico (*in vitro*) desenvolvido por Mansur *et al.* (1986). Esse método tem sido muito utilizado até hoje e se destaca pela boa correlação com o teste *in vivo*, onde é possível calcular o FPS pela equação 2, sendo rápido e acessível (NASCIMENTO *et al.*, 2014).

Equação 2 - Fórmula do fator de proteção solar *in vitro*.

$$\text{FPS} = \text{FC} \times \sum_{290}^{320} \text{EE}(\lambda) \times \text{I}(\lambda) \times \text{Abs}(\lambda)$$

Onde,

FC = 10 (FPS 4 em homossalato a 8%)

EE = efeito eritematogênico

I = intensidade do sol

Abs = absorbância da amostra

Os valores do produto das variáveis: efeito eritematogênico (EE) e intensidade do sol, são tabelados e estão apresentados no quadro 1 abaixo.

Quadro 1. Ponderação empregada no cálculo por espectrofotometria.

Comprimento de onda (nm)	EE x i (normalizado) Valores relativos
290	0,015
295	0,0817
300	0,2874
305	0,3278
310	0,1864
315	0,0839
320	0,0180
Total	1,000

Fonte: SAYRE *et al*, 1979.

4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para avaliação de reprodutibilidade do método e comparação dos resultados obtidos na determinação de compostos fenólicos, flavonóis e flavonas e atividade antioxidante, foi realizada análise estatística, utilizando análise de Variância (ANOVA), onde os resultados foram considerados estatisticamente diferentes quando o nível de significância foi menor de 5% ($p < 0,05$), com posterior teste de Tukey, para determinar as diferenças significativas entre as médias, sendo para isso utilizando o programa GraphPad Prism 5.0.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ESTUDO FITOQUÍMICO

5.1.1 Determinação estrutural de Ch-1

No espectro de RMN de ^1H e suas expansões de Ch-1 (Figuras 12, 13 e 14) foi observado um envelope de sinais entre δ_{H} 0,60 e δ_{H} 2,50 característico de núcleo esteroidal ou triterpênico (KOJIMA *et al.*, 1990), além se deslocamentos químicos condizentes com a presença de hidrogênios oximetínico [δ_{H} 3,49 (m, H-3)] e hidrogênios olefínicos [δ_{H} 5,32 (d, H-6); 4,98 (dd, $J = 8,2$ e $15,2$ Hz, H-22) e 5,13 (dd, $J = 8,2$ e $15,2$ Hz, H-23) (SILVERSTEIN *et al.*, 2007; PAVIA *et al.*, 2010).

Figura 142. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) de Ch-1.

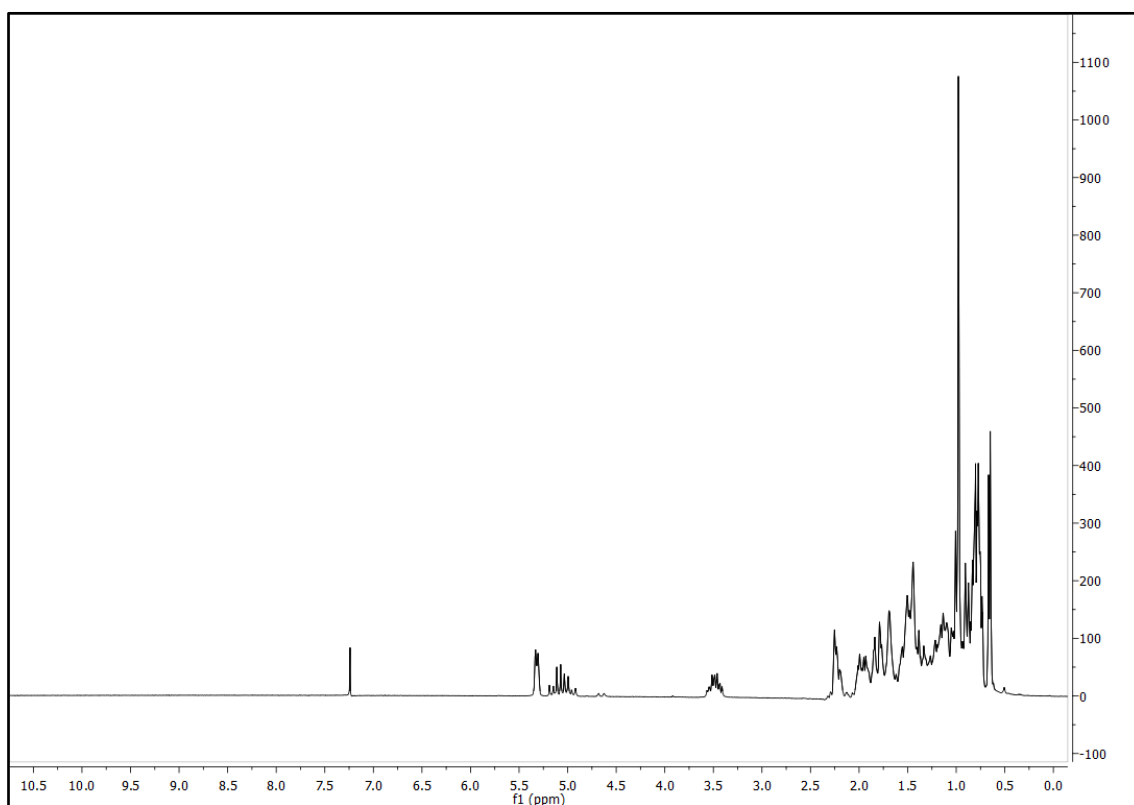


Figura 13. Expansão do espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) de Ch-1 na região de 3,3 a 5,5 ppm.

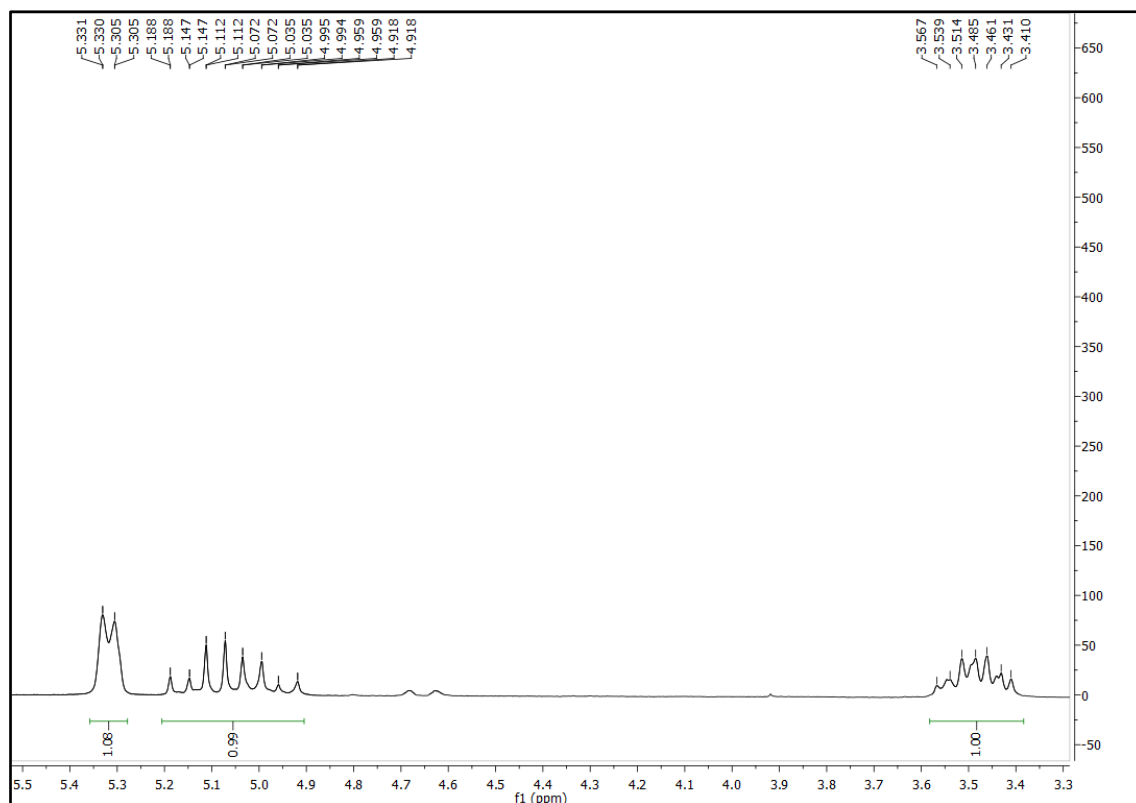
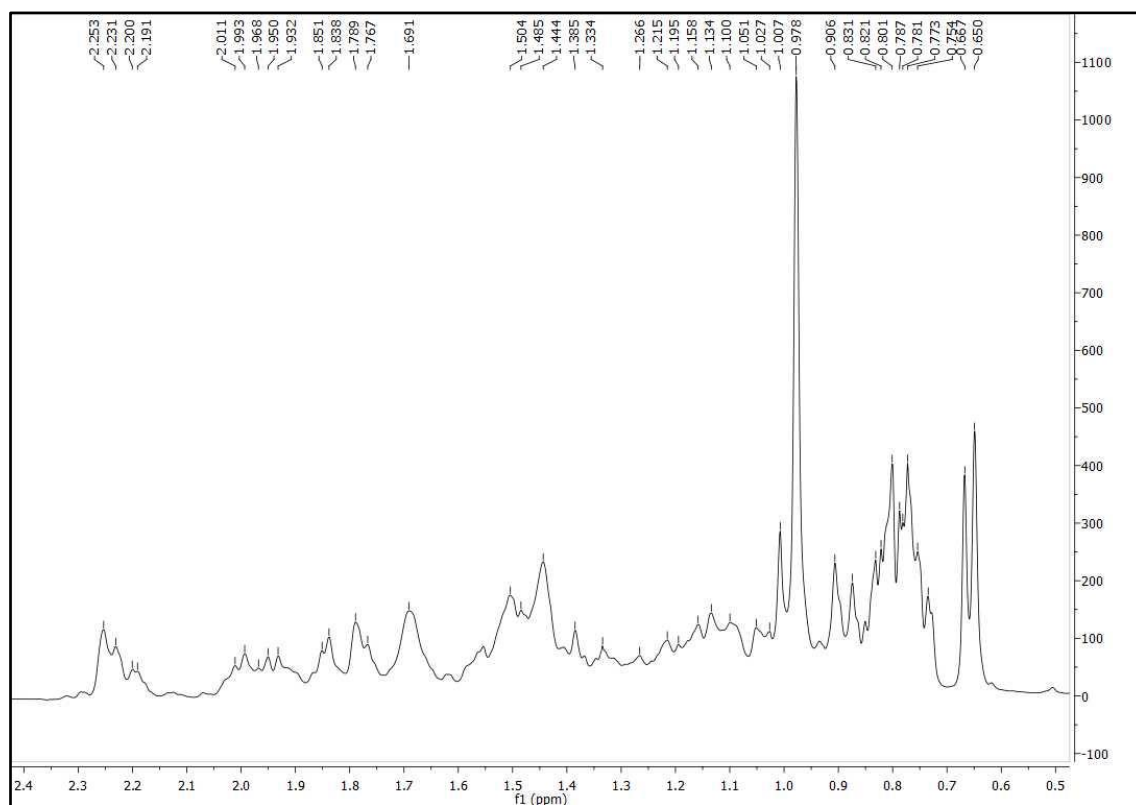


Figura 14. Expansão do espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) de Ch-1 na região de 0,5 a 2,4 ppm.



No espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) de Ch-1 e suas expansões (Figuras 15, 16 e 17), obtidos segundo a técnica APT, foram observados sinais intensos e outros duplicados permitindo identificar Ch-1 como uma mistura de esteroides (KOJIMA *et al.*, 1990).

Neste espectro foram observados picos referentes a carbonos metílicos de esteróides, com valores entre δ_c 11,80 e 19,90 (BREITMAIER & VOELTER, 1990), sinais em δ_c 140,71 e δ_c 121,67, correspondentes, respectivamente, aos carbonos 5 e 6 do esqueleto de esteróides como o sitosterol e o estigmasterol, sendo que, para este último, observou-se ainda dois picos em δ_c 138,28 e δ_c 129,22, referentes aos carbonos olefínicos 22 e 23 do estigmasterol, respectivamente, confirmando a presença de uma mistura do β -sitosterol e estigmasterol.

Figura 155. Espectro RMN de ^{13}C – APT (CDCl_3 , 50 MHz) de Ch-1.

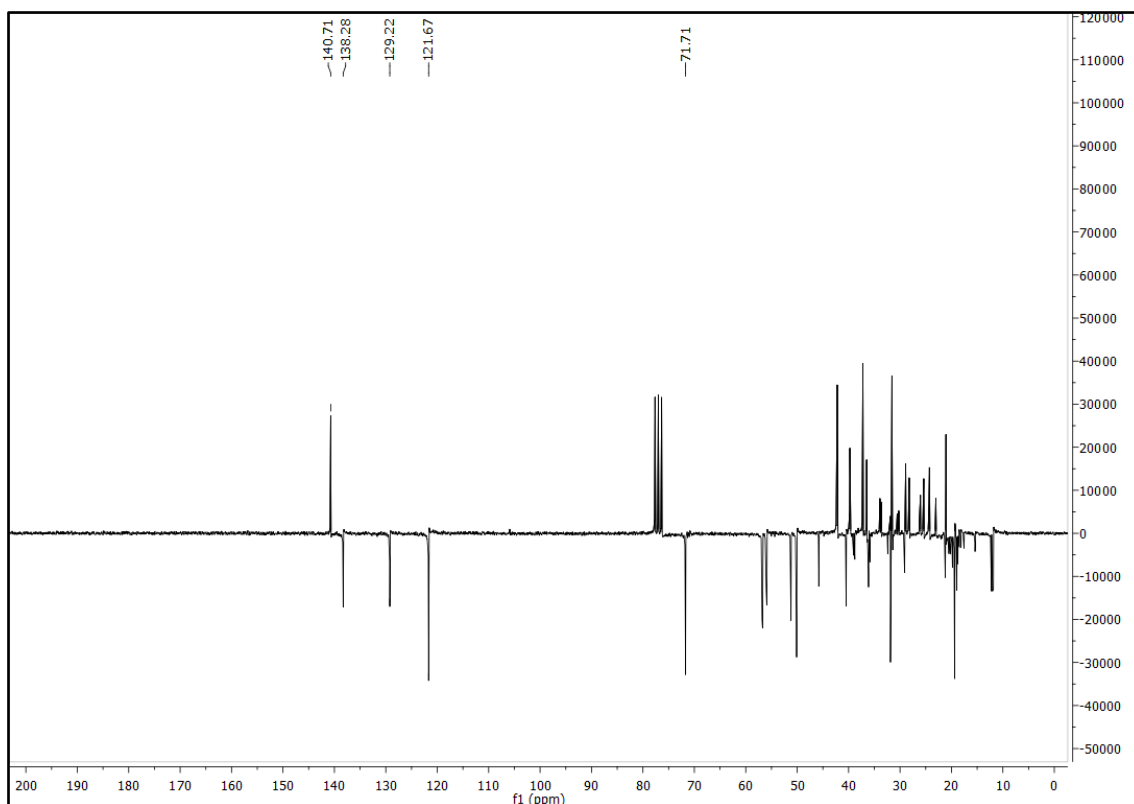


Figura 16. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C - APT (CDCl_3 , 50 MHz) de Ch-1 na região de 35,0 – 58,0 ppm.

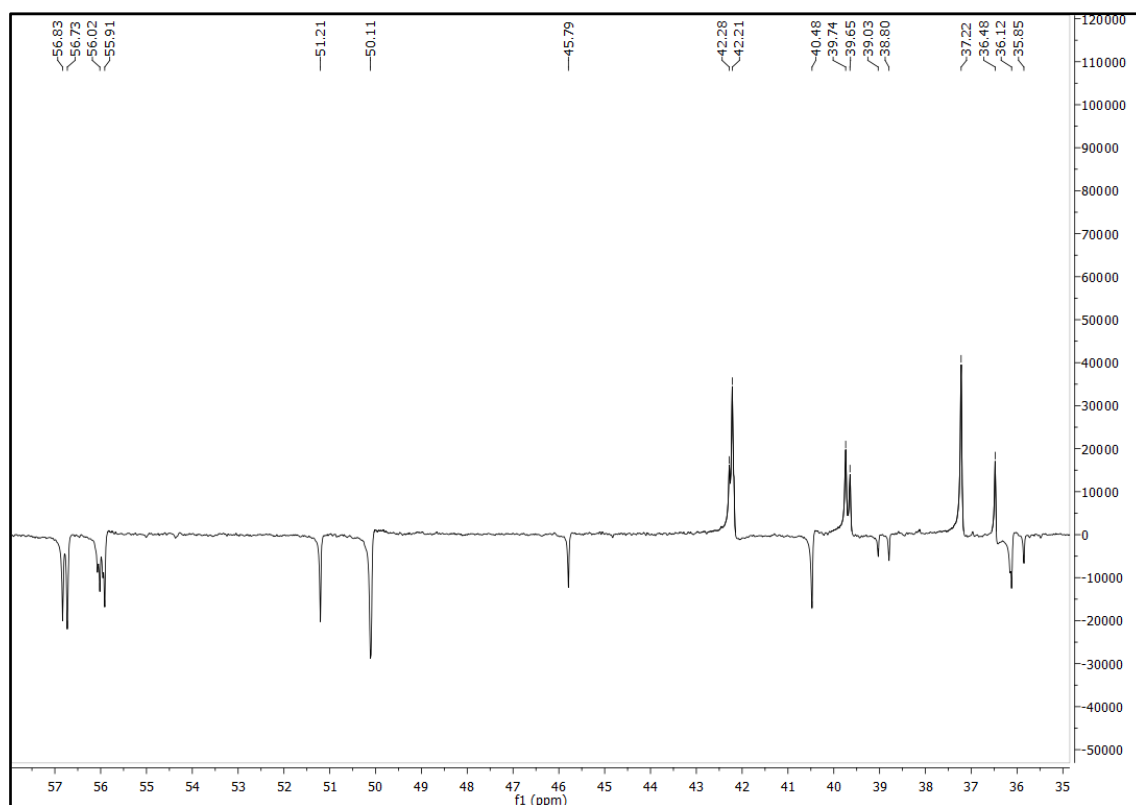
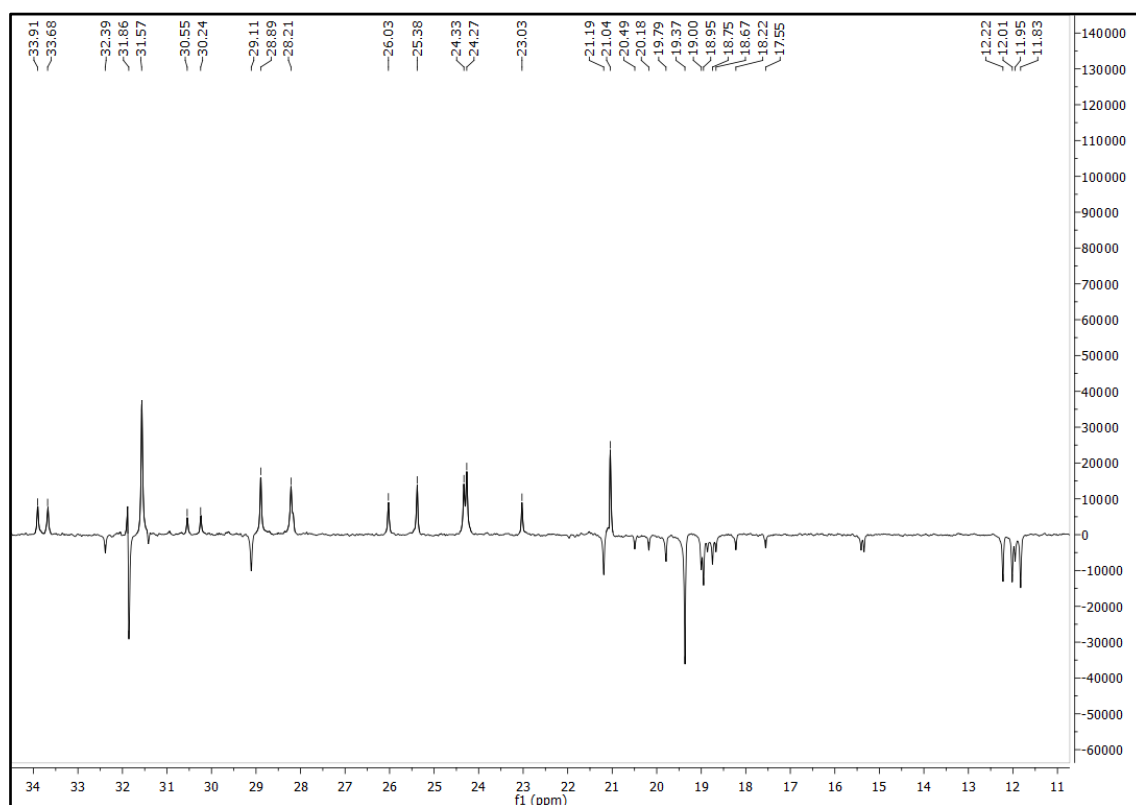


Figura 17. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C - APT (CDCl_3 , 50 MHz) de Ch-1 na região de 11,0 – 34,0 ppm.



Após observação dos dados espectrais de dessa substância e sua comparação com a literatura (Tabela 1) (TOMAZ, 2008) foi possível identificarmos Ch-1 como uma mistura de β -sitosterol e estigmasterol (Figura 18).

Figura 18. Estrutura química de Ch-1: β -sitosterol (à esquerda) e estigmasterol (à direita).

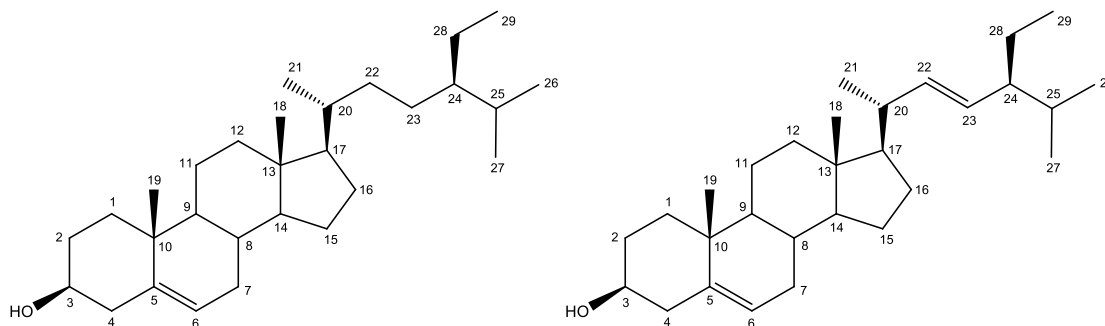


Tabela 1. Deslocamentos químicos e tipos de sinais para os átomos de carbono (δ_c) e hidrogênio (δ_H) de Ch-1, verificados nos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (200 e 50 MHz, respectivamente) em $CDCl_3$, bem como, os deslocamentos químicos dos carbonos (δ_{c^*}) apresentados por Tomaz (2008)* para as mesmas substâncias.

C	β -sitosterol			Estigmasterol		
	δ_c	δ_{c^*}	δ_H	δ_c	δ_{c^*}	δ_H
1	37,2	37,2	-	37,2	37,2	-
2	31,6	31,4	-	31,6	31,4	-
3	71,7	71,7	3,49 (m, 1H)	71,7	71,7	3,49 (m, 1H)
4	42,2	42,1	-	42,2	42,1	-
5	140,7	140,7	-	140,7	140,7	-
6	121,7	121,6	5,32 (d, J = 5,0 Hz, 1H)	121,7	121,6	5,32 (d, J = 5,0 Hz, 1H)
7	31,9	31,9	-	31,9	31,9	-
8	31,9	31,8	-	31,9	31,8	-
9	50,1	50,1	-	50,1	50,1	-
10	36,5	36,4	-	36,5	36,4	-
11	21,0	21,0	-	21,0	21,0	-
12	39,7	39,7	-	39,6	39,6	-
13	42,2	42,2	-	42,2	42,2	-
14	56,7	56,7	-	56,8	56,8	-
15	24,3	24,3	-	24,3	24,3	-
16	28,2	28,2	-	28,9	28,9	-
17	56,0	56,0	-	55,9	55,9	-
18	11,8	11,8	0,65 (s, 3H)	11,9	11,9	0,67 (s, 3H)
19	19,4	19,3	0,98 (s, 3H)	19,4	19,3	0,98 (s, 3H)
20	36,1	36,1	-	40,5	40,5	-
21	18,8	18,7	-	21,2	21,2	-
22	33,9	34,0	-	138,3	138,3	-
23	26,0	26,0	-	129,2	129,2	-
24	45,8	45,7	-	51,2	51,2	-
25	29,1	29,0	-	32,4	29,0	-
26	19,8	19,8	0,89 (d, J = 6,4 Hz, 3H)	20,2	20,1	0,89 (d, J = 6,4 Hz, 3H)
27	19,0	19,0	0,79 (d, J = 5,6 Hz, 3H)	18,9	18,9	0,79 (d, J = 5,6 Hz, 3H)
28	23,0	23,0	-	25,4	25,4	-
29	12,0	12,0	-	12,2	12,2	-

β -Sitosterol e estigmasterol já foram relatados em espécies de *Chamaecrista* (SEBEL *et al.*, 2014) e em *Senna splendida* (SILVA *et al.*, 2016).

Os fitosteróides são compostos sintetizados somente pelas plantas e se encontram presentes nos animais como consequência de sua ingestão na dieta. Diversos estudos epidemiológicos demonstram uma estreita correlação no consumo de dietas ricas em vegetais e frutas com a redução da incidência de diversas enfermidades (HUNG-LLAMOS, 2005).

O β -sitosterol é conhecido por apresentar atividades antiúlcera (LING & JONES, 1995), gastroprotetora (NAVARRETE *et al.*, 2002), anticancerígena (AWAD *et al.*, 2005), antiofídica (GALOTTA & BOAVENTURA, 2005) e hipoglicemiante (LINDO, 1999 *apud* MCANUFF *et al.*, 2005). Já o estigmasterol, de acordo com a literatura, revelou atividades anti-inflamatória (PEREIRA *et al.*, 2006), anticancerígena (AWAD *et al.*, 2005), bem como, antihepatotóxica, hipocolesterolêmica e sedativa (AGRICULTURAL RESEARCH SERVICES, 2009).

5.1.2 Determinação estrutural de Ch-2

No espectro de RMN de ^1H (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) (Figura 19) e sua expansão (Figura 20) foram observados sinais característicos de hidrogênios ligados a anel aromático, sendo dois dubletos em δ_{H} 7,13 (d, $J = 2,0$, H-2) e 6,60 (d, $J = 2,5$ Hz, H-7) referentes a hidrogênios com acoplamento *meta* e dois dubletos em δ_{H} 7,17 (d, $J = 0,5$ Hz, H-5) e 7,50 (d, $J = 0,5$ Hz, H-4). Na região de alifáticos foi possível observar um singlete em δ_{H} 2,42, com integral para três hidrogênios, nos permitindo sugerir a presença de uma metila ligada a carbono sp^2 . Ainda nesse espectro, também foram observados dois sinais em δ_{H} 12,08 e 12,01, característicos de hidrogênios de hidroxila quelada.

Figura 169. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) de Ch-2.

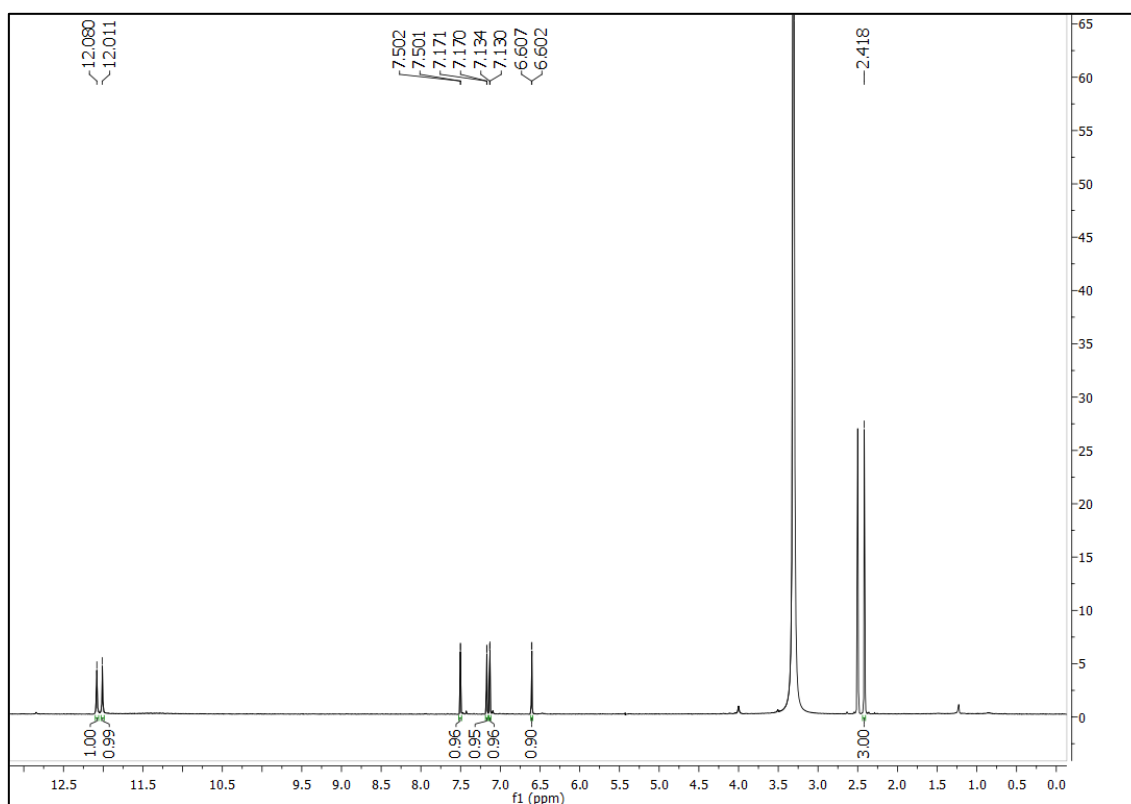
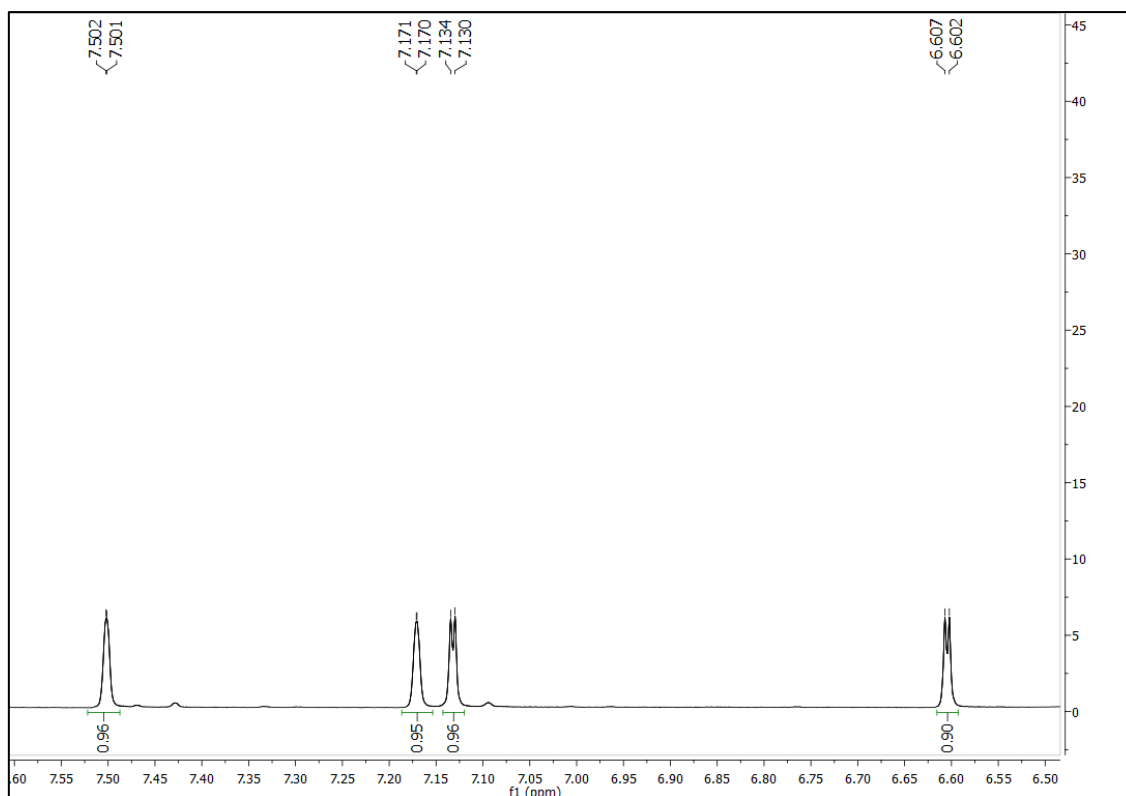
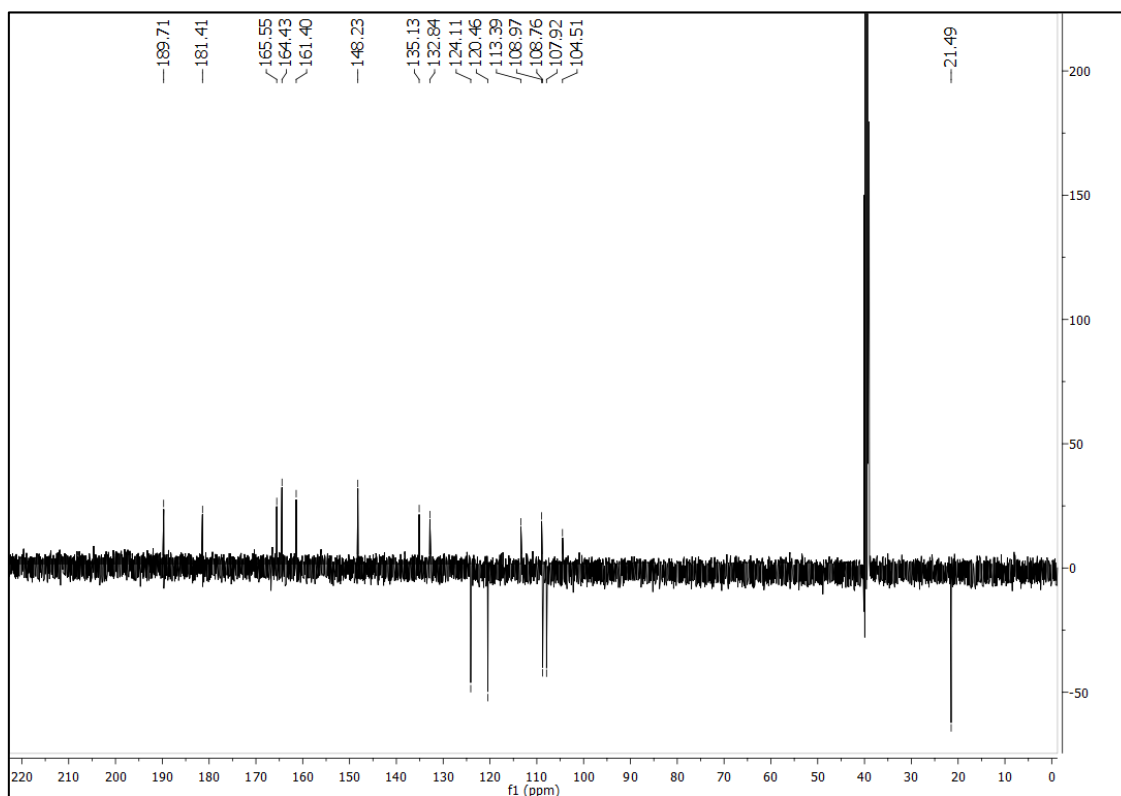


Figura 2017. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de Ch-2 na região de 6,5 a 7,6 ppm.



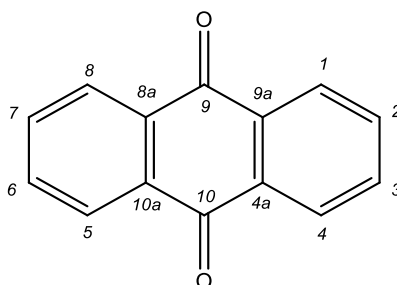
No espectro de RMN de ^{13}C – APT (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) (Figura 21) foram observados doze sinais na região de aromáticos, sendo quatro de carbono metínico (δ_{C} 124,11; 120,46; 108,97 e 107,92) e oito de carbono não hidrogenado (δ_{C} 165,55; 164,43; 161,40; 148,23; 135,13; 132,84; 113,39 e 108,76). Estes sinais, associados com sinais de aromáticos observados no RMN ^1H nos permitiram sugerir a presença de dois anéis aromáticos tetrassubstituídos (SILVERSTEIN *et al.*, 2007; PAVIA *et al.*, 2010).

Figura 21. Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) de Ch-2.



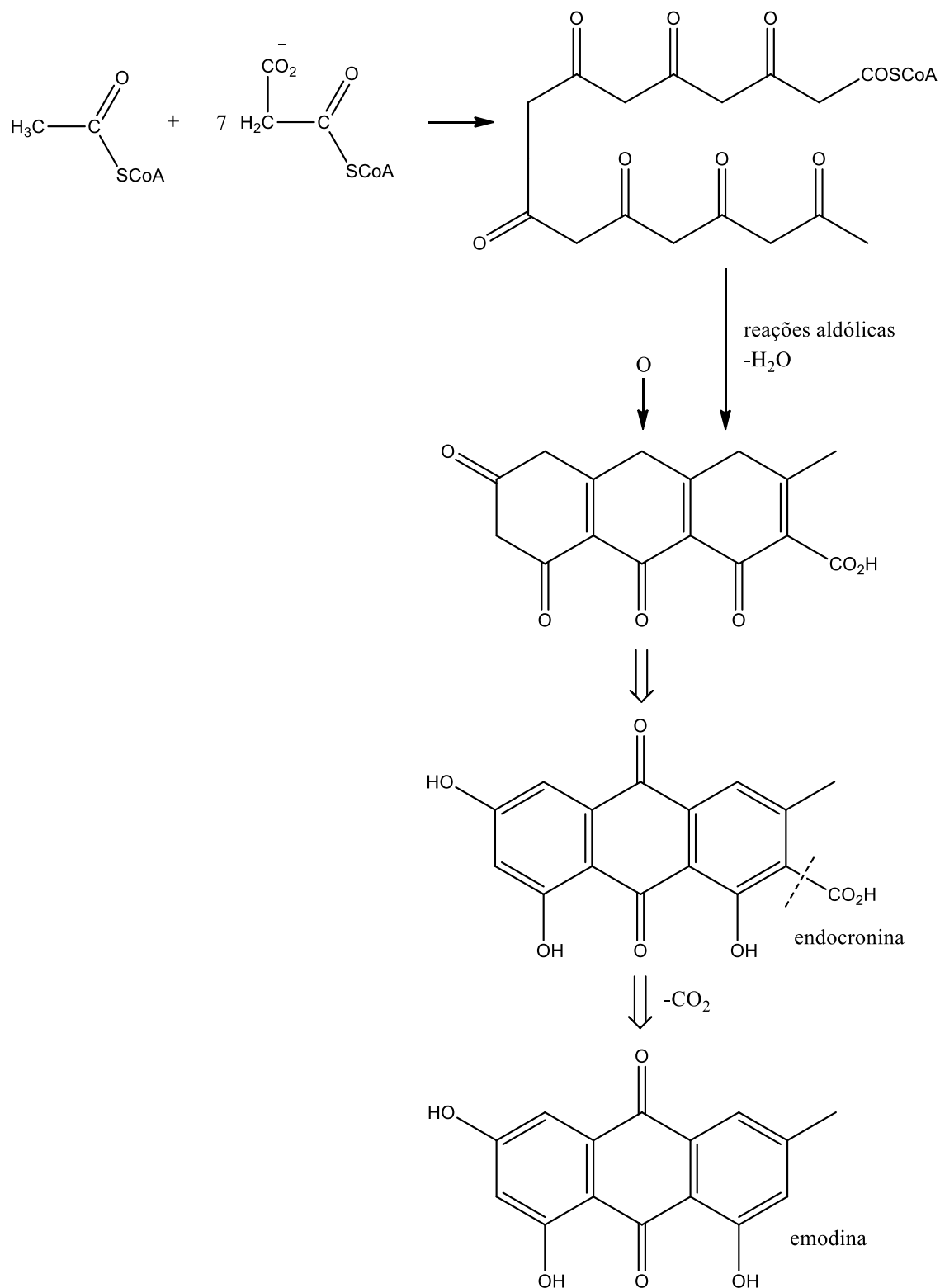
Nesse espectro também foram observados sinais típicos de carbonila em δ_{C} 189,71 e 181,41 caracterizando um núcleo antraquinônico (Figura 22). Estes sinais, associados com os picos em 12,08 e 12,01, observados no RMN ^1H , nos permitiram sugerir a presença de duas hidroxilas queladas nas posições 1 e 8 do esqueleto básico.

Figura 22. Esqueleto básico de 9,10-antraquinona.



Ainda no espectro de RMN de ^{13}C , foi observado um sinal em δ_{C} 21,49, corroborando com o espectro de RMN de ^1H para a presença de uma metila como substituinte na molécula. Essa metila foi inserida na posição três devido a biossíntese das antraquinonas (Figura 23).

Figura 23. Biossíntese da emodina.



Fonte: SANTOS 2007.

A ausência de outros sinais no RMN ^1H e ^{13}C , associada com os três sinais característicos de carbono aromático não hidrogenado e ligado a oxigênio,

permitiu sugerir a presença de outra hidroxila como substituinte (SIMÕES *et al.*, 2010).

Após análise dos dados de RMN de ^1H e ^{13}C , bem como sua comparação com a literatura (CHU *et al.*, 2005) (Tabela 2) foi possível identificar Ch-2 como sendo a 1,6,8-trihidroxi-3-metil-9,10-antraquinona, mais conhecida como emodina (Figura 24), isolada pela primeira vez no gênero *Chamaecrista*.

Figura 184. Estrutura da 1,6,8-trihidroxi-3-metil-9,10-antraquinona (emodina).

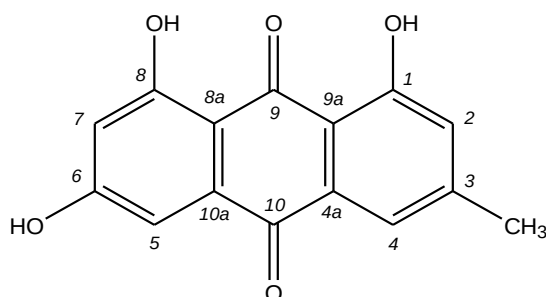


Tabela 2. Deslocamentos químicos, tipos de sinal e constantes de acoplamento (J) para os átomos de hidrogênio (δ_{H}) e carbono (δ_{C}) de Ch-2, verificados nos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (500 e 125 MHz, respectivamente, DMSO- d_6), bem como, aqueles apresentados por Chu e colaboradores (2005) para o 1,6,8-trihidroxi-3-metil-9,10-antraquinona (500 e 125 MHz, respectivamente, DMSO- d_6).

C	Ch-2		Emodina	
	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}
1	164,4	-	164,4	-
2	120,5	7,13 (<i>d</i> , $J = 2,5$ Hz, 1H)	120,4	7,13 (<i>s</i> , 1H)
3	148,2	-	148,2	-
4	124,1	7,50 (<i>sl</i> , 1H)	124,0	7,50 (<i>s</i> , 1H)
4 ^a	132,8	-	132,7	-
5	108,9	7,17 (<i>sl</i> , 1H)	108,8	7,17 (<i>s</i> , 1H)
6	161,4	-	161,4	-
7	107,9	6,60 (<i>d</i> , $J = 2,0$, 1H)	107,9	6,60 (<i>s</i> , 1H)
8	165,5	-	165,6	-
8 ^a	108,8	-	108,7	-
9	189,7	-	189,6	-
9 ^a	113,4	-	113,3	-
10	181,4	-	181,2	-
10 ^a	135,1	-	135,0	-
3-CH ₃	21,5	2,42 (<i>s</i> , 3H)	21,5	2,42 (<i>s</i> , 3H)
OH-1	-	12,01 (<i>s</i> , 1H)	-	11,96 (<i>s</i> , 1H)
OH-8	-	12,08 (<i>s</i> , 1H)	-	12,04 (<i>s</i> , 1H)

Legenda: (*d*) duplete; (*s*) singleto; (*sl*) singleto.

A emodina apresenta atividades antiviral frente a herpes simplex (XIONG *et al.*, 2011), anti-ulcerogênica (GOEL *et al.*, 1991), anticancerígena (LIU *et al.*, 2011), analgésica (SUI *et al.*, 2010), antiinflamatória (GAO *et al.*, 2011), antimicrobiana, antimultagênica, imunomoduladora (IZHAKI, 2002; SHRIMALI *et al.*, 2013), proteção contra lesão hepática crônica (DANG *et al.*, 2008), contra lesões induzidas por acetaminofeno (BHADAURIA, 2010), mastites induzidas por lipopolissacarídeos (LI *et al.*, 2013), estresse oxidativo induzido por cisplatina (WALY *et al.*, 2013) e inibidor da sintase de óxido nítrico (CHEN *et al.*, 2002). Além disso, também apresenta atividade fotoprotetora (DEMIREZER; UZUN, 2016) e antioxidante por inibição da peroxidação do ácido linoleico, pelo método do tiocianato (YEN *et al.*, 1998), não apresentando, entretanto, atividade antioxidante pelo método DPPH (MASALDAN; IYER, 2012).

5.1.3 Determinação estrutural de Ch-3

No espectro de RMN de ^1H e suas expansões (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) (Figuras 25, 26 e 27) de Ch-3 foram observados sinais característicos de flavonoide, sendo estes, um dubleto em δ_{H} 8,01 (2H, $J = 8,5$ Hz) referente aos hidrogênios H-2' e H-6', e outro dubleto em δ_{H} 6,88 (2H, $J = 8,5$ Hz) referente aos hidrogênios H-3' e H-5', evidenciando um sistema AA'BB', ou seja, um anel B para substituído. O anel A foi caracterizado como trissubstituído, pela presença de singlete em δ_{H} 6,28, referente ao H-6, e a classe de flavonoide foi determinada pela presença de um singlete em 6,77 (1H), característico de H-3 de flavonas (MOREIRA *et al.*, 2003).

Foram observados também um singlete em δ_{H} 13,16, característico de hidroxila quelada, inserida na posição 5, um sinal em δ_{H} 4,69, característico de hidrogênio anomérico e sinais entre 3,0 e 4,0 ppm, sugerindo presença de unidade osídica em ligação C-C com a flavona.

Além desses sinais também foram observados picos característicos de um sistema ABX em δ_{H} 7,52 (1H, dd, $J = 2,0$ e $8,5$ Hz), 7,47 (1H, d, $J = 1,5$ Hz) e 6,86 (1H, d, $J = 8,5$ Hz), além de um singlete em δ_{H} 6,64 (1H) característico do hidrogênio 3 de flavonas (MOREIRA *et al.*, 2003). Esses sinais associados a integral do sinal em δ_{H} 6,27 (H-6) para dois hidrogênios, nos permitiram sugerir que Ch-3 se tratava de uma mistura de flavonas glicosiladas (I e II) (Figura 28).

Figura 195. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de Ch-3.

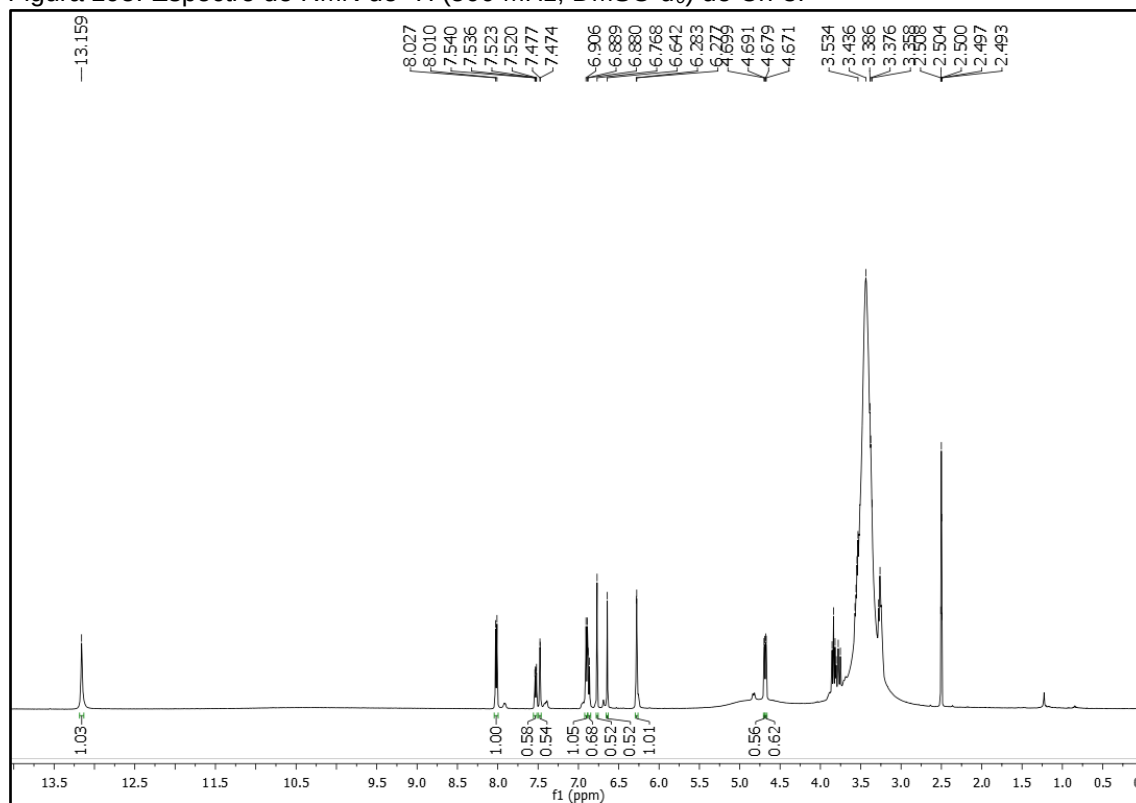


Figura 206. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) na região de 8,4 a 6,0 ppm de Ch-3.

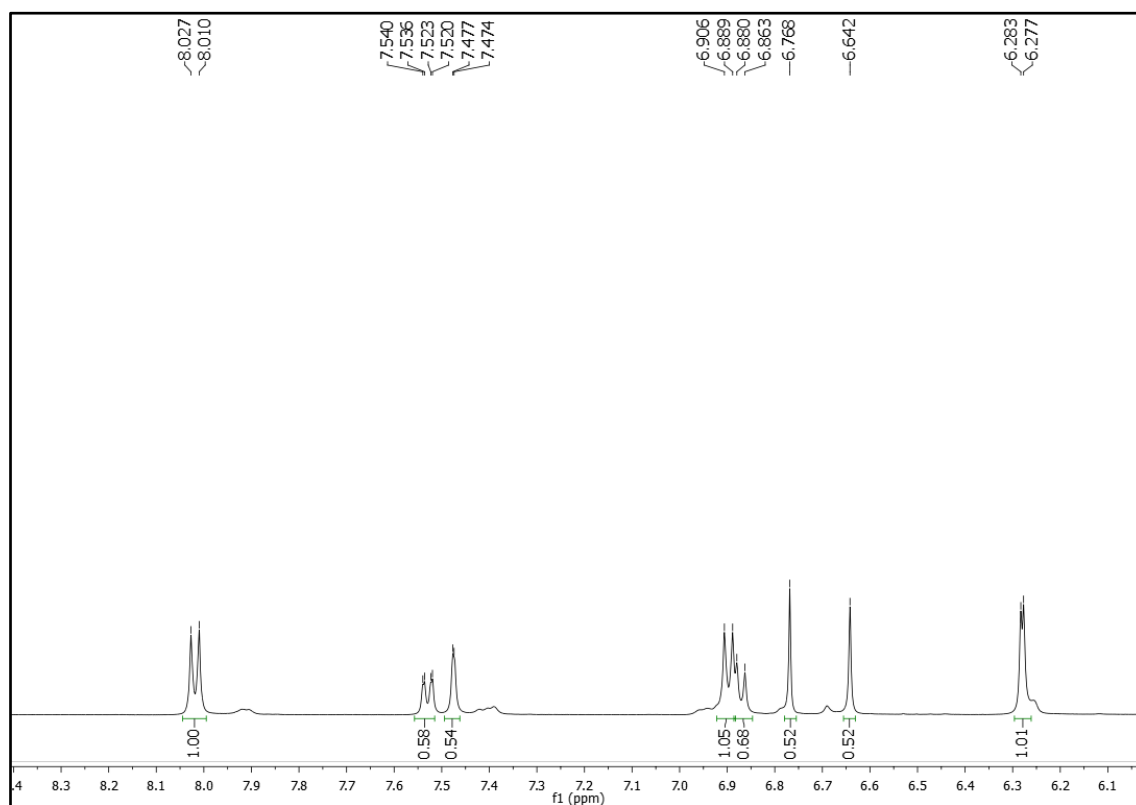


Figura 217. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) na região de 5,0 a 2,8 ppm de Ch-3.

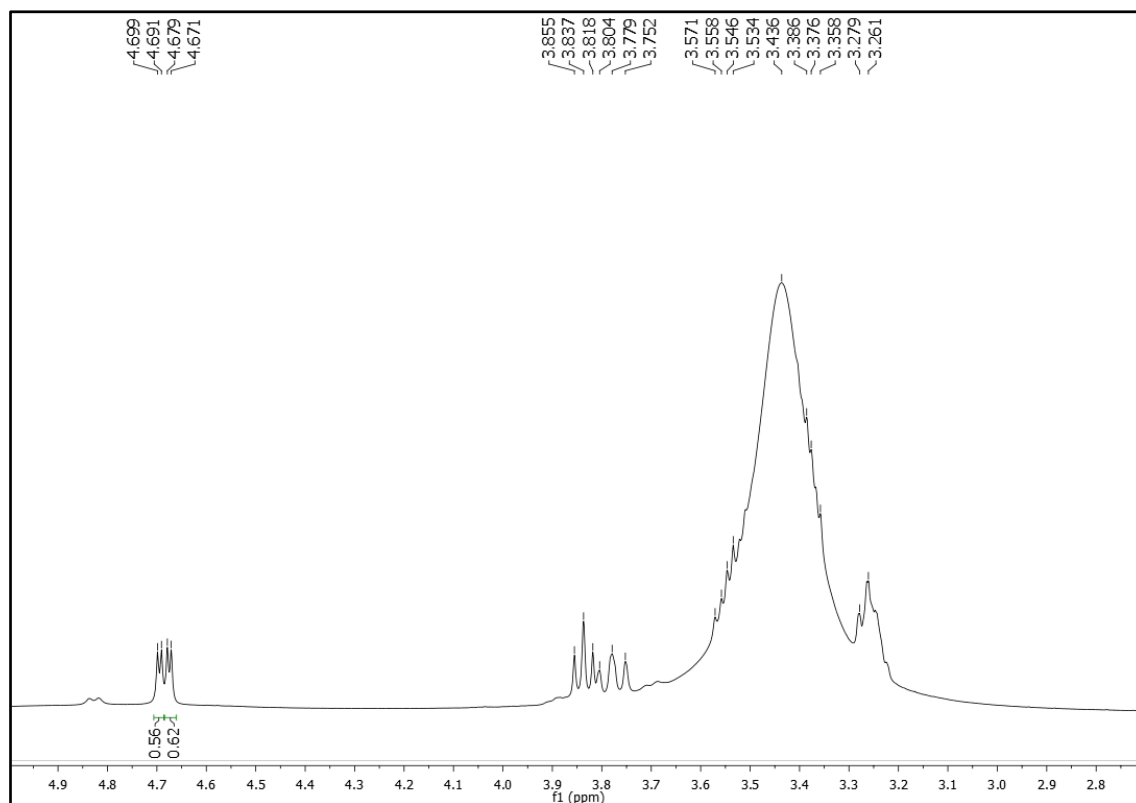
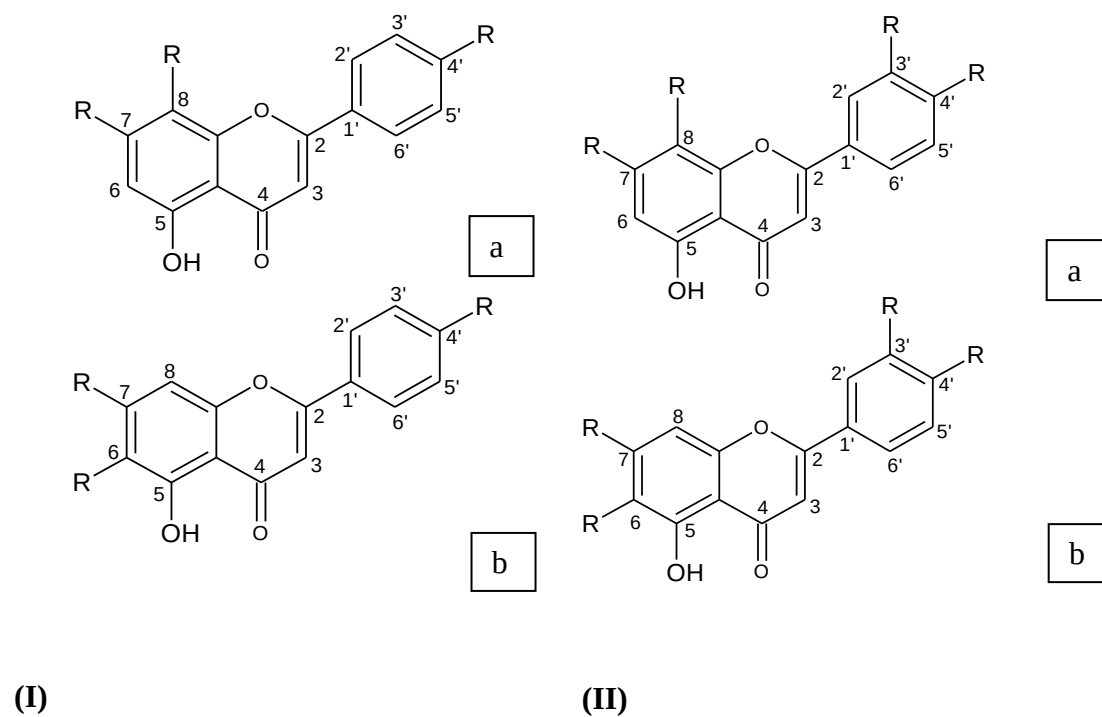


Figura 228. Possibilidades estruturais inferidas para I e II pelo RMN de ^1H .



No espectro RMN de ^{13}C (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) e suas expansões (Figuras 29, 30 e 31) foram observados 29 sinais, correspondentes a 42 carbonos, sendo quatorze não hidrogenados, treze sinais correspondentes a quinze carbonos metínicos e dois sinais para carbonos metilênicos.

Os sinais dobrados em δ_{C} 164,02, 102,43 e 182,14, corroboraram com a presença de esqueleto de flavona, sendo estes atribuídos a C-2, C-3 e C-4 de I e II.

Os sinais na região de 60 a 80 ppm, corroboraram com a presença de unidade osídica, sendo o sinal em δ_{C} 73,42, característico de C-glicosídeo, associado ao sinal em δ_{H} 4,69, através da correlação observada na expansão do espectro HMBC (Figura 32). Os sinais em δ_{C} 61,69 e 61,35 foram atribuídos ao carbono metilênico oxigenado da glicose.

Figura 239. Espectro de RMN de ^{13}C - APT (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) de Ch-3.

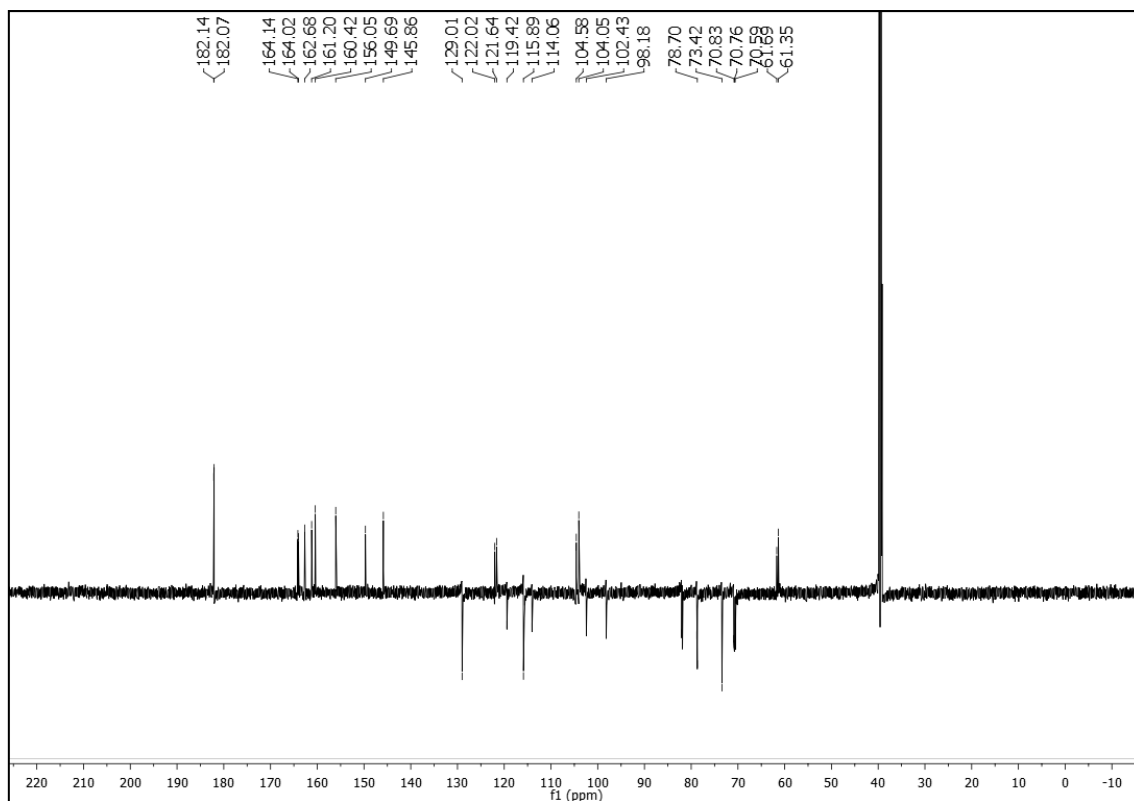


Figura 30. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C – APT (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de Ch-3 na região de 188 a 144 ppm.

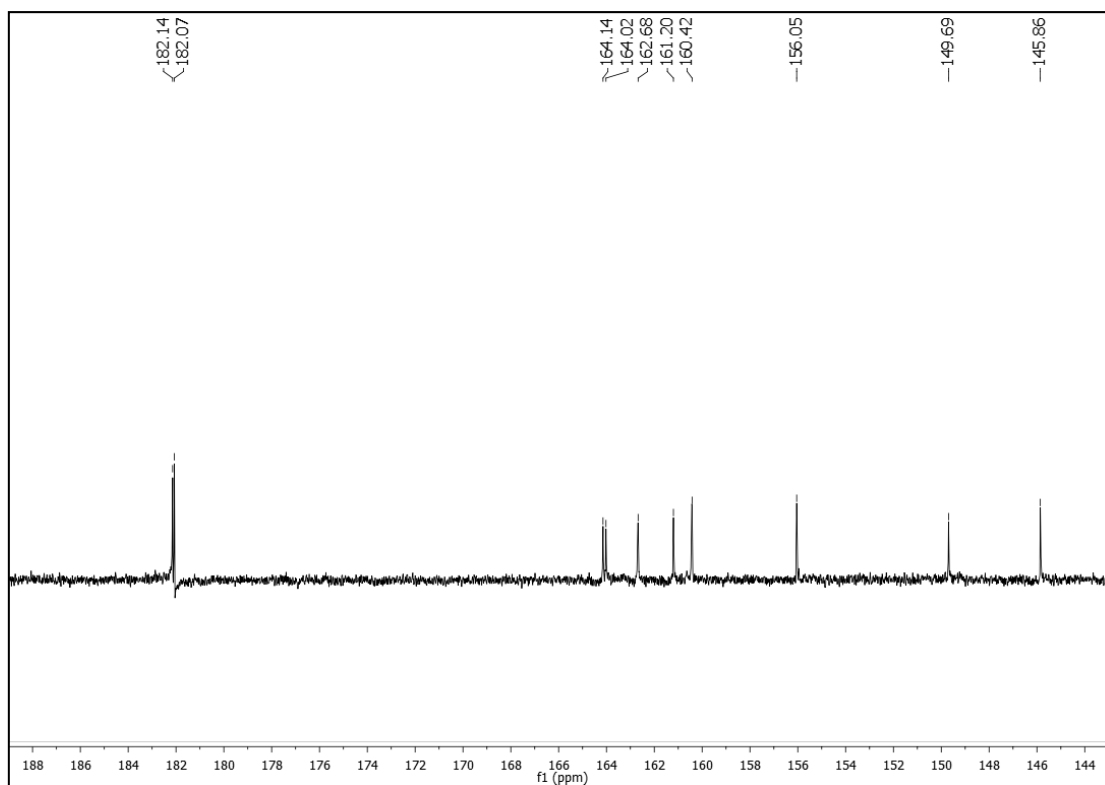


Figura 31. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C - APT (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de Ch-3 na região de 130 a 55 ppm.

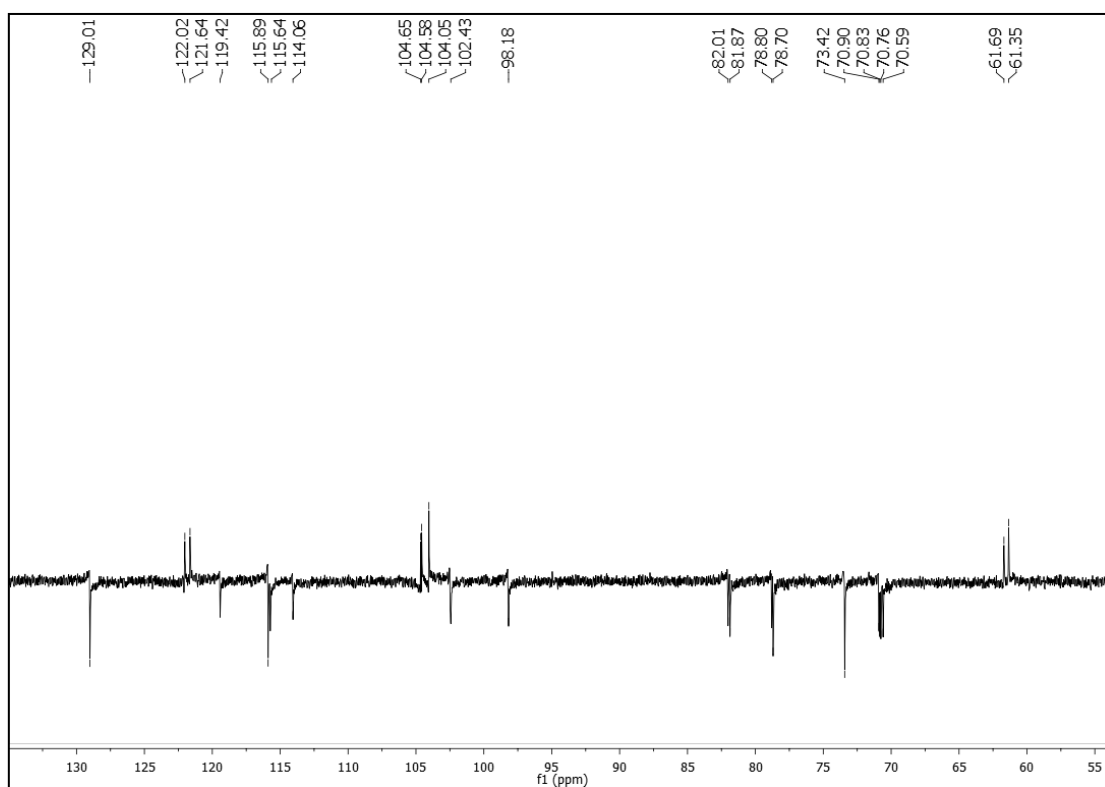
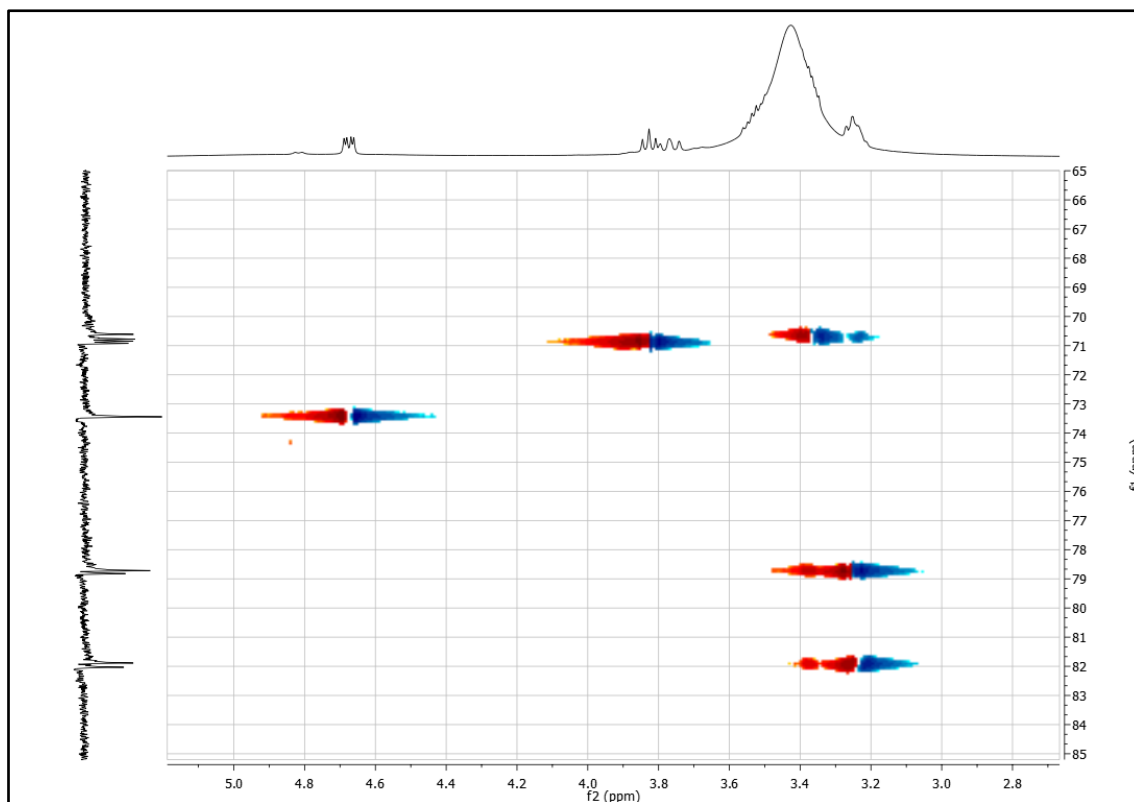


Figura 3224. Expansão do mapa de contorno HMBC de Ch-3 (DMSO- d_6 , 500 e 125 MHz) na região de (85-65 ppm) x (5,0 – 2,8 ppm).



Os sinais para carbonos metínicos foram atribuídos através das correlações observadas no HMQC (Figuras 33 e 34, Tabela 3).

Figura 33. Expansão do mapa de contorno HMQC de Ch-3 (DMSO- d_6 , 500 e 125 MHz) na região de (135-90 ppm) x (9,0-5,5 ppm).

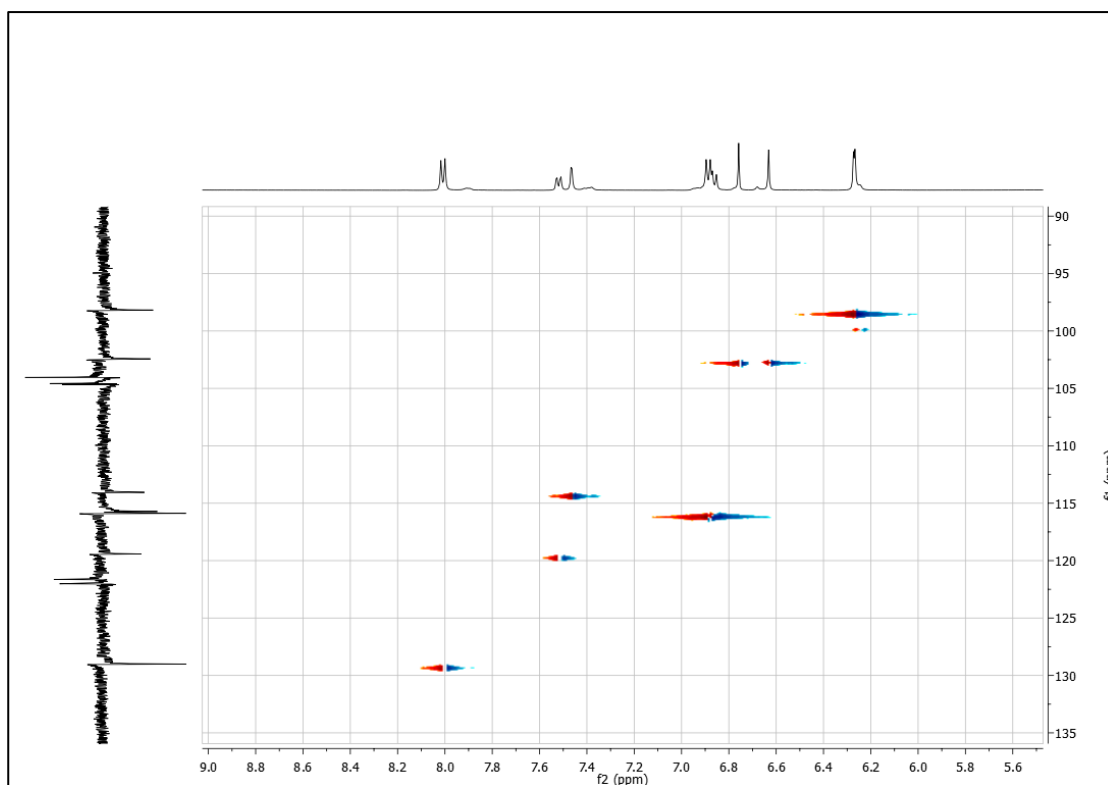


Figura 34. Expansão do mapa de contorno HMQC de Ch-3 (DMSO, 500 e 125 MHz) na região de (90 - 30 ppm) x (5,4-1,6 ppm).

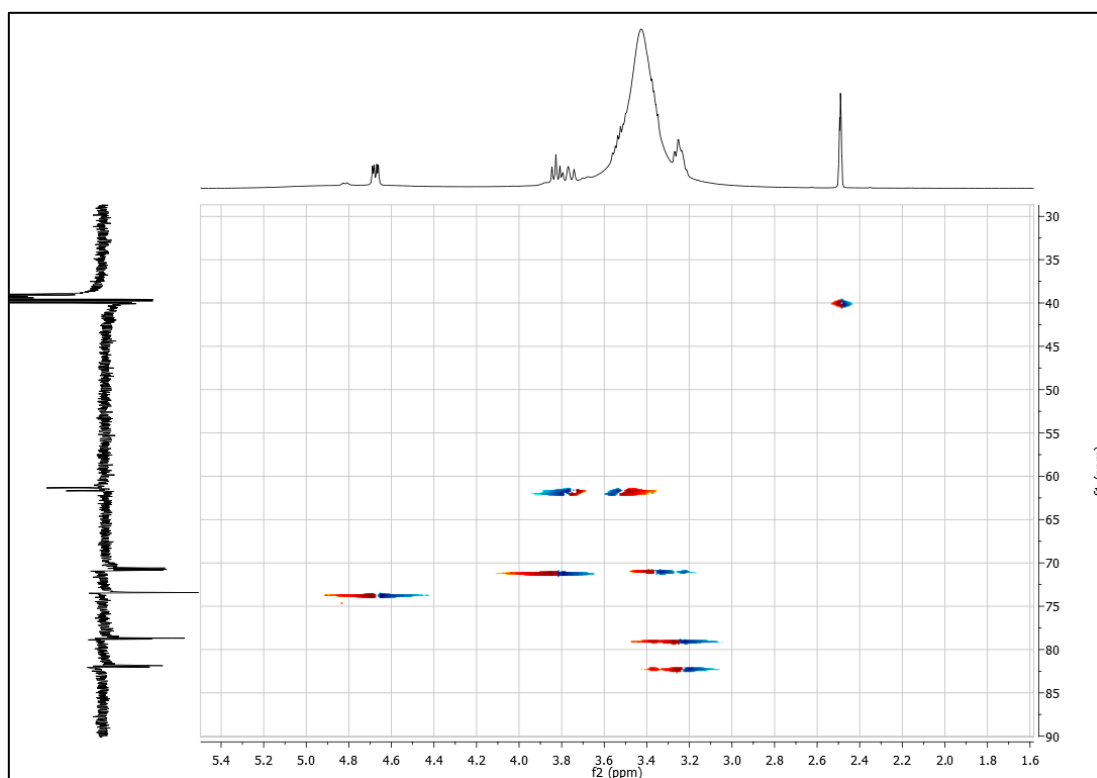
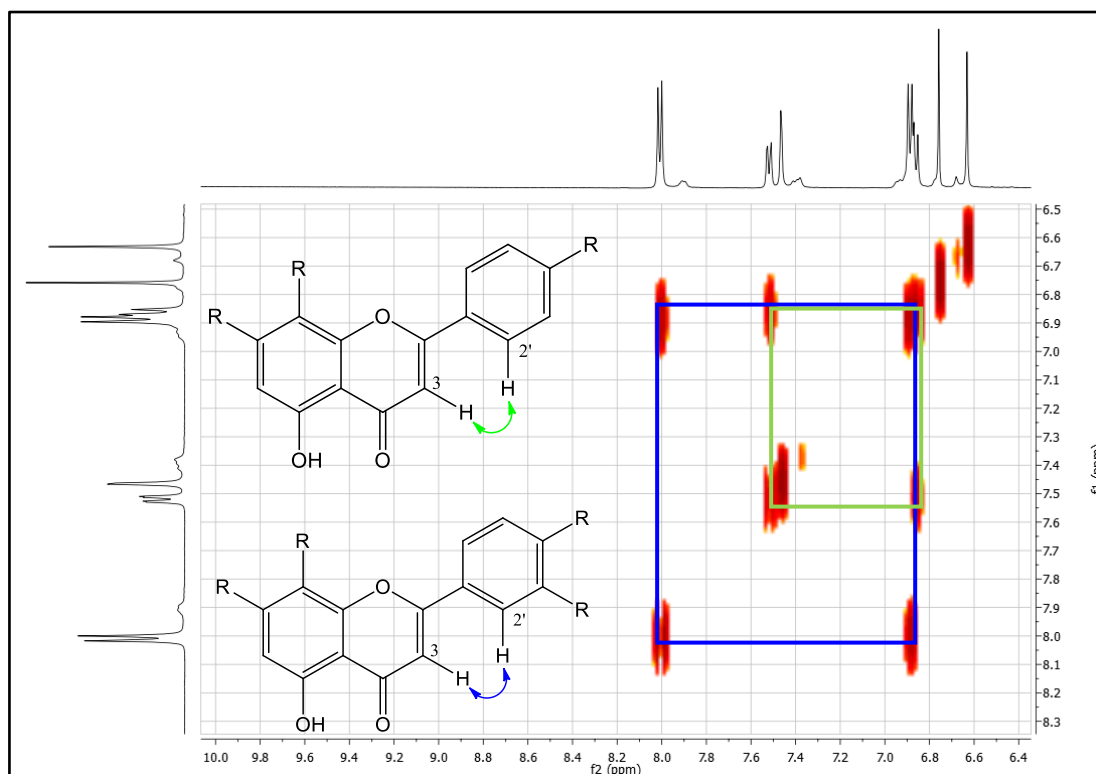


Tabela 3. Correlações observadas no espectro HMQC de Ch-3.

Hidrogênio	Correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$
H-2'/6' (I)	8,01 x 129,02
H-3'/5' (I)	6,88 x 115,90
H-3'/5' (I)	6,88 x 115,74
H-3 (I)	6,76 x 102,44
H-3 (II)	6,63 x 102,43
H-2' (II)	7,46 x 114,07
H-6' (II)	7,51 x 119,43
H-6 (I e II)	6,27 x 98,19
H-6''	3,74 x 61,36
H-1''	4,68 x 73,43

O mapa de contorno COSY (Figura 35) corroborou com a presença do sistema AA'BB' para I e ABX para II através das correlações entre os hidrogênios δ_{H} 8,01 x 6,88 (H-2'/6' x H-3'/5') e 7,51 x 6,86 (H-6' x H-5'), respectivamente.

Figura 35. Expansão do mapa de contorno COSY (DMSO- d_6 , 500 MHz) de Ch-3 na região de (9,5 - 4,5 ppm) x (9,0 - 5,5 ppm).



No mapa de contorno NOESY (Figuras 36 e 37) foi possível observar correlação entre os sinais δ_H 6,63 (H-3 de II) e 7,46 (H-2' de II) e entre δ_H 8,01 (H-2'/6' de I) e 6,76 (H-3 de I).

Figura 36. Espectro NOESY (DMSO- d_6 , 500 MHz) de Ch-3.

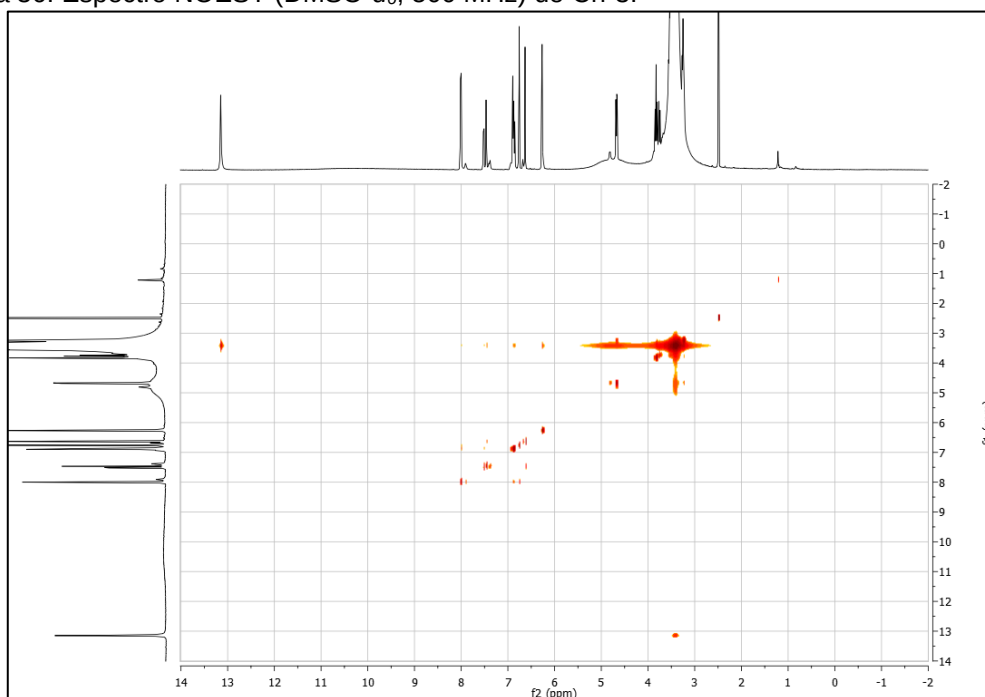
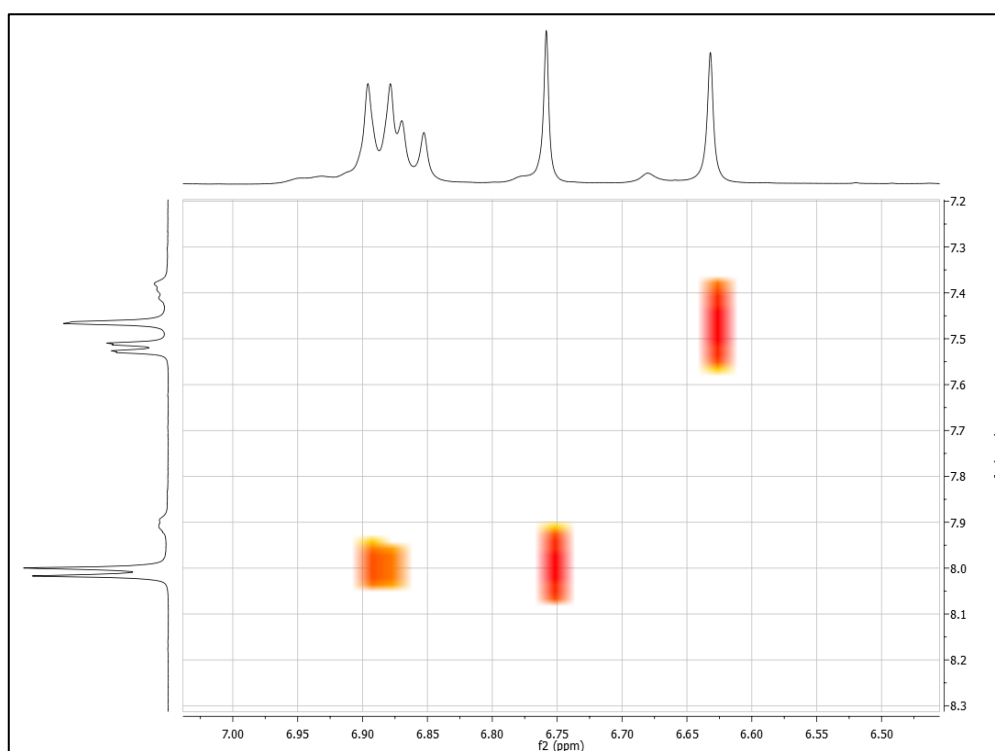
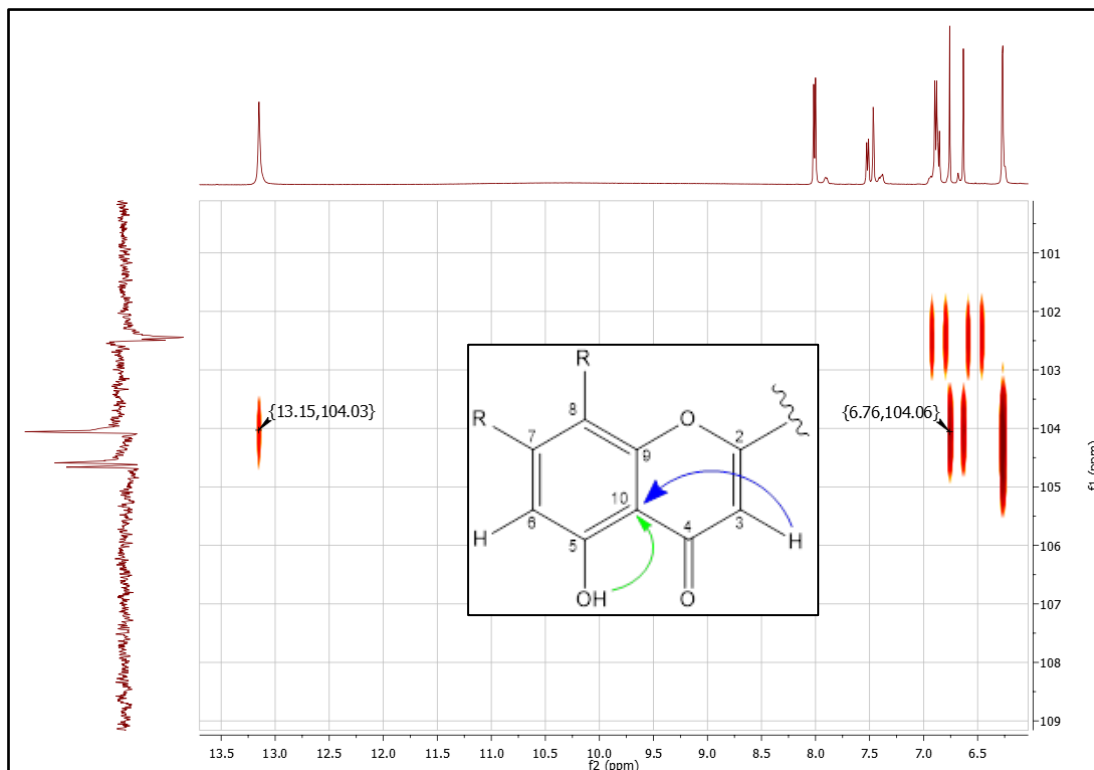


Figura 37. Expansão do mapa de contorno NOESY (DMSO- d_6 , 500 MHz) de Ch-3 na região de (8,3-7,2 ppm) x (7,5 – 6,5 ppm).



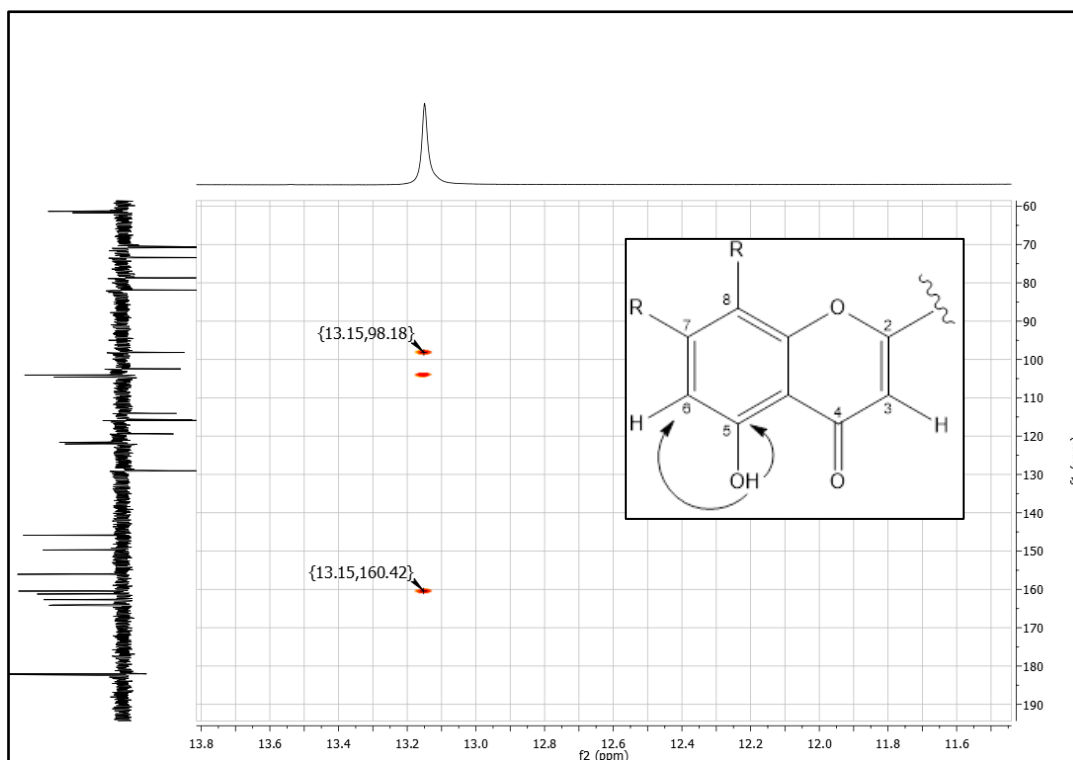
As correlações observadas no HMBC (Figura 38) de δ_H 6,76 (H-3) e 13,16 (OH-5) com o sinal em δ_C 104,06, permitiram atribuir esse sinal para o carbono 10.

Figura 38. Mapa de contorno HMBC (DMSO- d_6 , 500 e 125 MHz) de Ch-3 na região de (109-100 ppm) x (13,5-6,0).



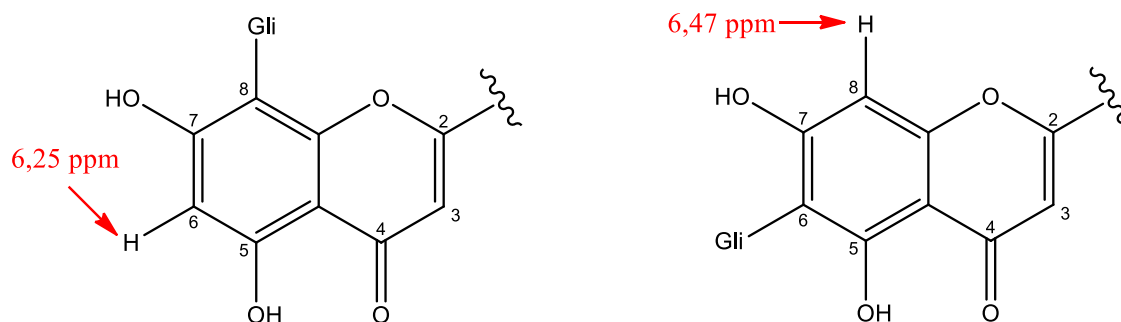
As correlações entre δ_H 13,16 (OH-5) e os sinais em δ_C 98,19 e 160,44 (Figura 39) observadas no HMBC, permitiram sugerir que estes correspondem a C-6 e C-5, respectivamente.

Figura 39. Mapa de contorno HMBC (DMSO- d_6 , 500 e 125 MHz) de Ch-3 na região de (190-60 ppm) x (13,8-11,5).



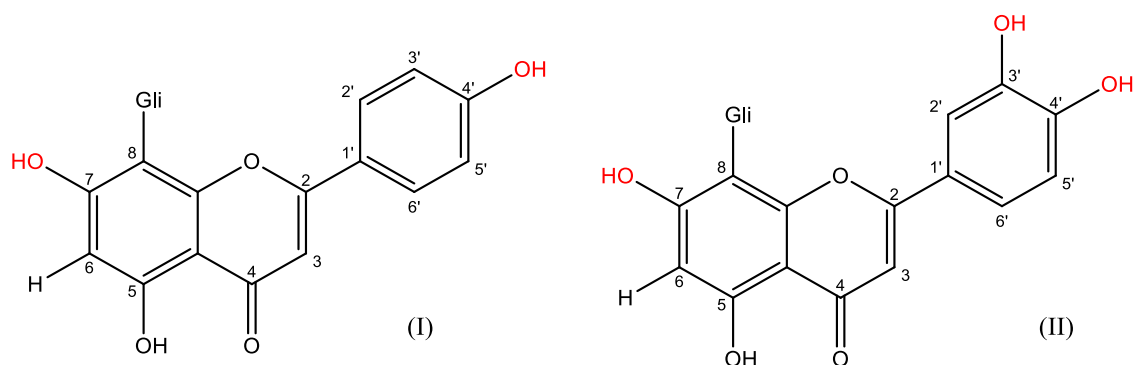
A ausência de correlação entre o hidrogênio anomérico (δ_H 4,67) e o carbono 6 (δ_C 98,19), associada ao valor do hidrogênio em δ_H 6,28, nos permitiram inserir a unidade osídica na posição 8 (Figura 40) (RINALDO *et al*, 2007).

Figura 40. Valores de RMN ^1H para os hidrogênios 6 e 8.



Os valores dos carbonos 7 (δ_C 162,70) e 4' (δ_C 161,21) da substância I e do C-3' (δ_C 149,70) e C-4' (δ_C 145,86) da substância II, associados a ausência de outros sinais de hidrogênio nos permitiram inserir hidroxilas nesses carbonos como substituintes (Figura 41).

Figura 41. Inserção das hidroxilas em (I) e (II).



Após análise dos dados de RMN de ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais e comparação com a literatura (CUONG *et al.*, 2015) (Tabelas 4 e 5) foi possível identificar Ch-3 como uma mistura de vitexina (I) e orientina (II) (Figura 42).

Tabela 4. Comparação entre os dados de RMN de ^1H de Ch-3 com a literatura (CUONG *et al.*, 2015).

H	Vitexina	Ch-3	H	Orientina	Ch-3
3	6,77 (1H, s)	6,77 (1H, s)	3	6,63 (1H, s)	6,64 (1H, s)
6	6,27 (1H, s)	6,28 (1H, s)	6	6,26 (1H, s)	6,27 (1H, s)
2'/6'	8,02 (2H, d, $J=8,0$ Hz)	8,02 (2H, d, $J=8,5$ Hz)	2'	7,48 (1H, brs)	7,47 (1H, d, $J=1,5$ Hz)
3'/5'	6,89 (2H, d, $J=8,0$ Hz)	6,88 (2H, d, $J=8,5$ Hz)	5'	6,86 (1H, d, $J=8,0$ Hz)	6,86 (1H, d, $J=8,5$ Hz)
			6'	7,53 (1H, br d, $J=8,0$ Hz)	7,51 (1H, dd, $J=2,0$ e $8,5$ Hz)
5-OH		13,16 (1H, s)	5-OH		13,16 (1H, s)
1''	4,69 (1H, d, $J=10,0$)	4,69 (d, $J=10$ Hz)	1''	4,69 (1H, d, $J=10,0$ Hz)	4,67 (d, $J=10$ Hz)
2''	3,84 (dd, $J=9,0$ e $10,0$ Hz)	3,82 (dd, $J=9,0$ e $10,0$ Hz)	2''	3,84 (dd, $J=9,0$ e $10,0$ Hz)	3,82 (dd, $J=9,0$ e $10,0$ Hz)
3''	3,29	3,28	3''	3,30	3,28
4''	3,34	3,37	4''	3,37	3,37
5''	3,26	3,26	5''	3,27	3,26
6''	3,52 (dd, $J=5,5$ e 11 Hz) 3,76 (br d, $J=11$ Hz)	3,55 3,75 (br s)	6''	3,52 (dd, $J=5,5$ e 11 Hz) 3,76 (br d, $J=11$ Hz)	3,55 3,78 (br s)

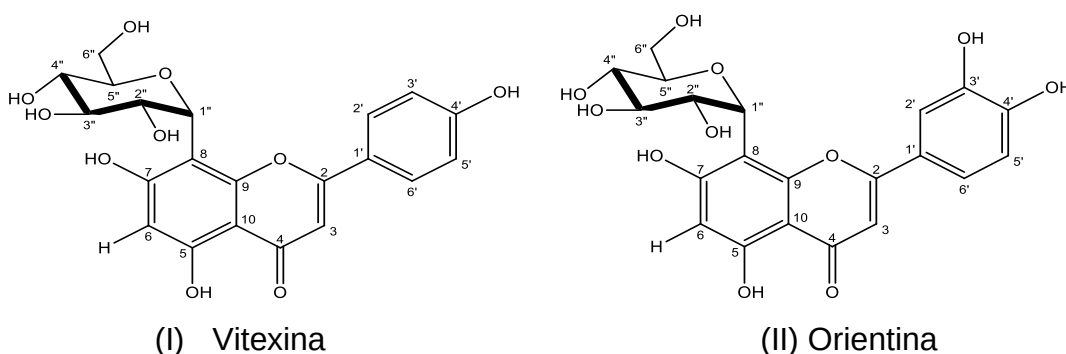
* Solvente utilizado na literatura e na análise: DMSO- d_6 .

Tabela 5. Comparação entre os dados de RMN de ^{13}C de Ch-3 e a literatura (CUONG *et al.*, 2015).

C	Vitexina	Ch-3	Orientina	Ch-3
2	163,91	164,02	164,05	164,14
3	102,41	102,43	102,34	102,43
4	182,04	182,14	181,95	182,07
5	160,38	156,05	160,35	160,42
6	98,14	98,18	98,11	98,18
7	162,68	162,68	162,69	162,68
8	104,59	104,65	104,52	104,58
9	155,98	160,43	155,97	156,05
10	104,00	104,05	103,94	104,05
1'	121,59	121,64	121,93	122,02
2'	128,92	129,01	113,99	114,06
3'	115,80	115,89	145,79	149,69*
4'	161,12	161,20	149,66	145,86*
5'	115,80	115,89	115,62	115,64
6'	128,92	129,01	119,33	119,42
1''	73,36	73,42	73,37	73,42
2''	70,84	70,90	70,76	70,83
3''	78,65	78,80	78,74	78,70
4''	70,54	70,76	70,68	70,59
5''	81,80	82,01	81,95	81,87
6''	61,28	61,35	61,62	61,69

*Solvente utilizado: DMSO- d_6 .

Figura 42. Estrutura de Ch-3 (I), vitexina, e Ch-3 (II), orientina.



Vitexina e orientina já foram isoladas anteriormente de espécies da família Fabaceae (EL-MASRY *et al.*, 2010; KRASTEVA; NIKOLOV, 2008; PAL *et al.*, 2011), entretanto é o primeiro relato de isolamento no gênero *Chamaecrista*.

A vitexina possui atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* e *Pseudomonas aeruginosa* (AFIFI *et al.*, 1997). É um potente hipotensivo, anti-inflamatório e antiespasmódico (PRABHAKAR *et al.*, 1981) e

sequestradora de radicais livres (antioxidante), sendo indicada na prevenção de reações adversas da pele induzidas por radiação UV (KIM *et al.*, 2005).

A orientina apresenta atividade antioxidante, antiviral, antibacteriana, anti-inflamatória, vasodilatadora, efeito cardioprotetor, radioprotetor, neuroprotetor, antidepressivo e antinociceptivo (LAM *et al.*, 2016).

5.1.4 Determinação estrutural de Se-1

No espectro de RMN de ^1H de Se-1 e suas expansões (Figuras 43, 44 e 45) foi observado um envelope de sinais entre δ_{H} 0,62 e 2,50, característico de núcleo esteroidal ou triterpênico (KOJIMA *et al.*,1990), além de, sinais característicos de hidrogênios ligados a carbonos olefínicos em δ_{H} 4,72 e 4,59 e de metila alílica em 1,67 ppm, sugestivos de unidade de isoprenil, permitindo sugerir a presença de triterpeno do grupo lupano (Figura 46), como composto majoritário.

Além desses sinais, também foi possível observar um duplo dubleto em 4,44, com integral para um hidrogênio, o qual foi atribuído à hidrogênio ligado a carbono oxigenado (H-3), estando este mais desprotegido que o comum (δ_{H} 3,5, quando carbono está ligado à hidroxila).

Figura 43. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) de Se-1.

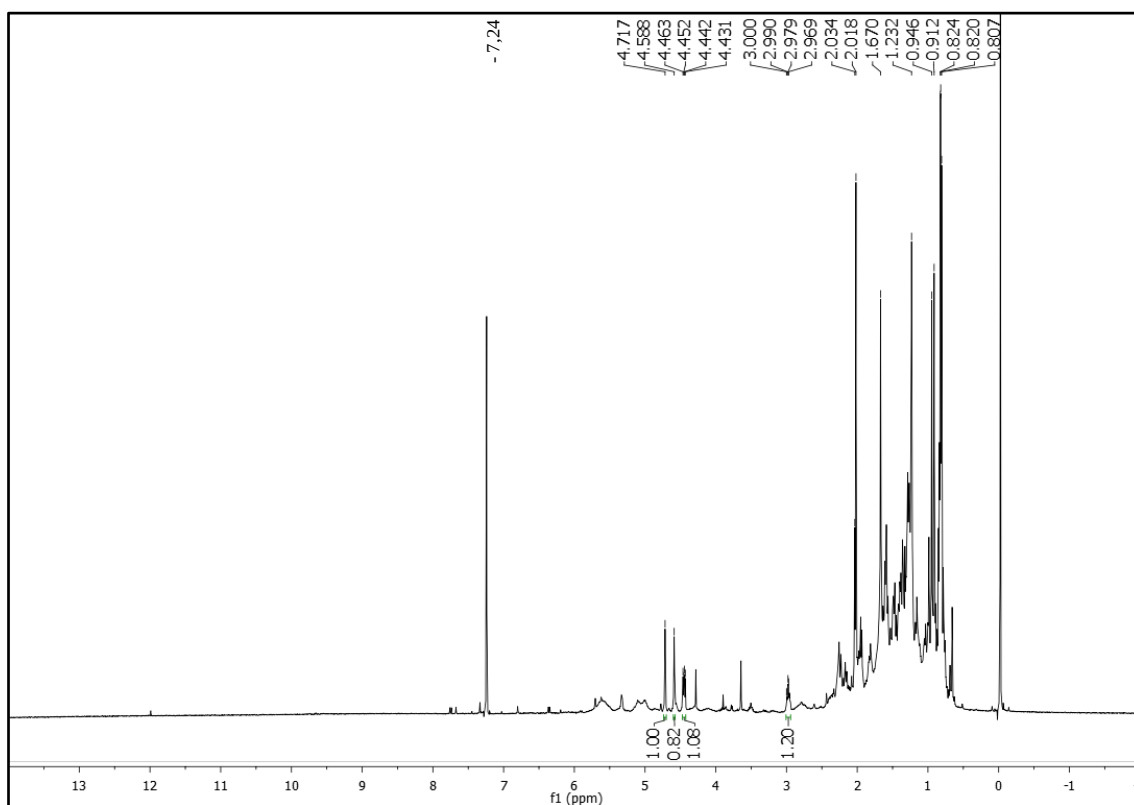


Figura 44. Expansão do espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) de Se-1 na região de 5,6 a 2,7 ppm.

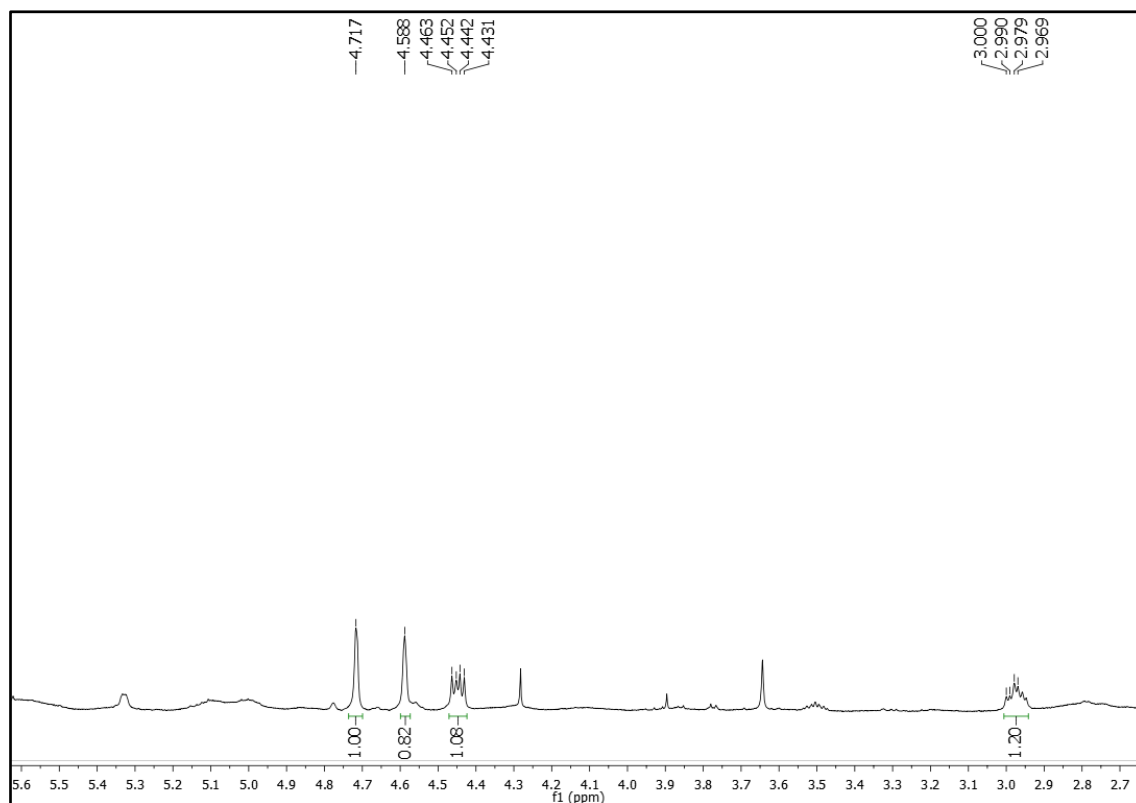


Figura 45. Expansão do espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) de Se-1 na região de 2,3 a 0,6 ppm.

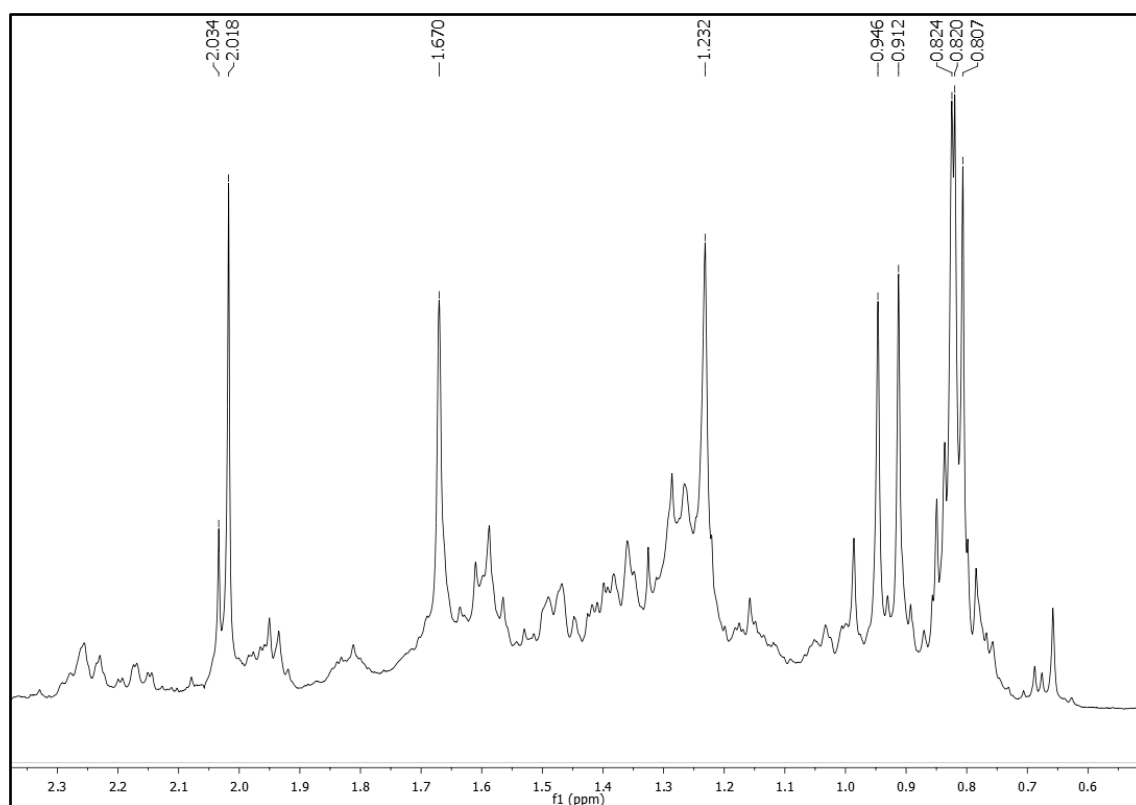
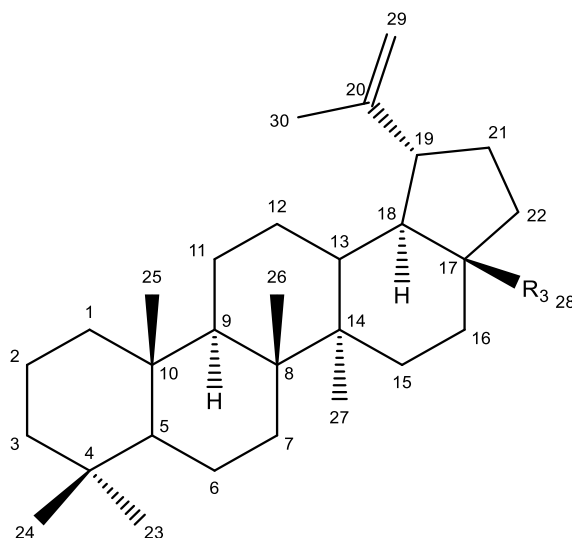


Figura 46. Estrutura básica de triterpeno da classe lupano.



Nos espectros de RMN de ^{13}C - APT (Figuras 47, 48 e 49) foram verificados 32 sinais para carbono, sendo seis carbonos metínicos, sete metílicos (sendo um de grupo acetato), onze metilênicos e oito não hidrogenados (sendo 2 característicos de carbonila). A quantidade de sinais observados, associados aos sinais característicos de carbonos olefínicos em δ_c 150,4 (C-20) e 109,7 (C-29), corroboraram com o espectro de RMN de ^1H , para presença de triterpeno do grupo lupano.

Os sinais em δ_c 171,0 e 21,3 para carbonos carbonílico e metílico de grupo acetoxila, respectivamente, bem como o sinal para carbono oximetínico (C-3) mais desprotegido que o esperado em δ_c 80,9, permitiram sugerir a esterificação da hidroxila na posição 3. Neste mesmo espectro, também foi possível observar sinal referente à grupo carboxílico de ácido (C-28) em δ_c 181,4.

Figura 257. Espectro de RMN de ^{13}C - APT (CDCl_3 , 125 MHz) de Se-1.

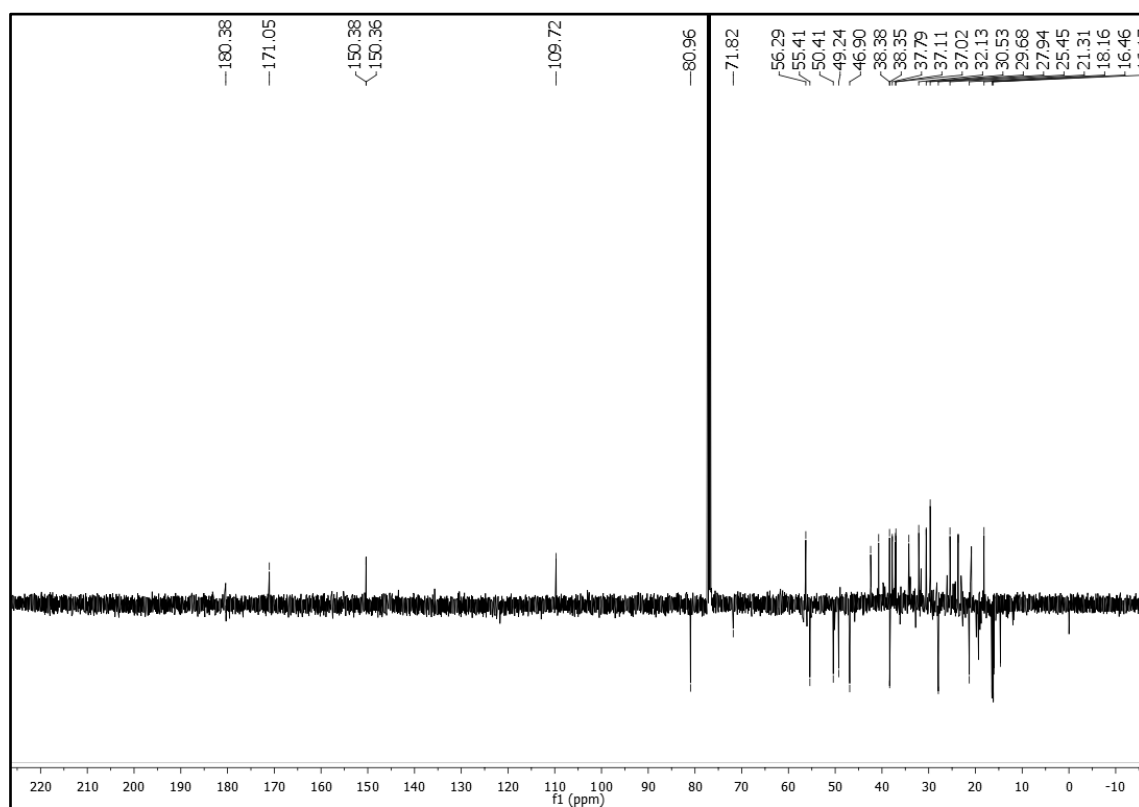


Figura 4268. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 125 MHz) de Se-1 na região de 59 a 31 ppm.

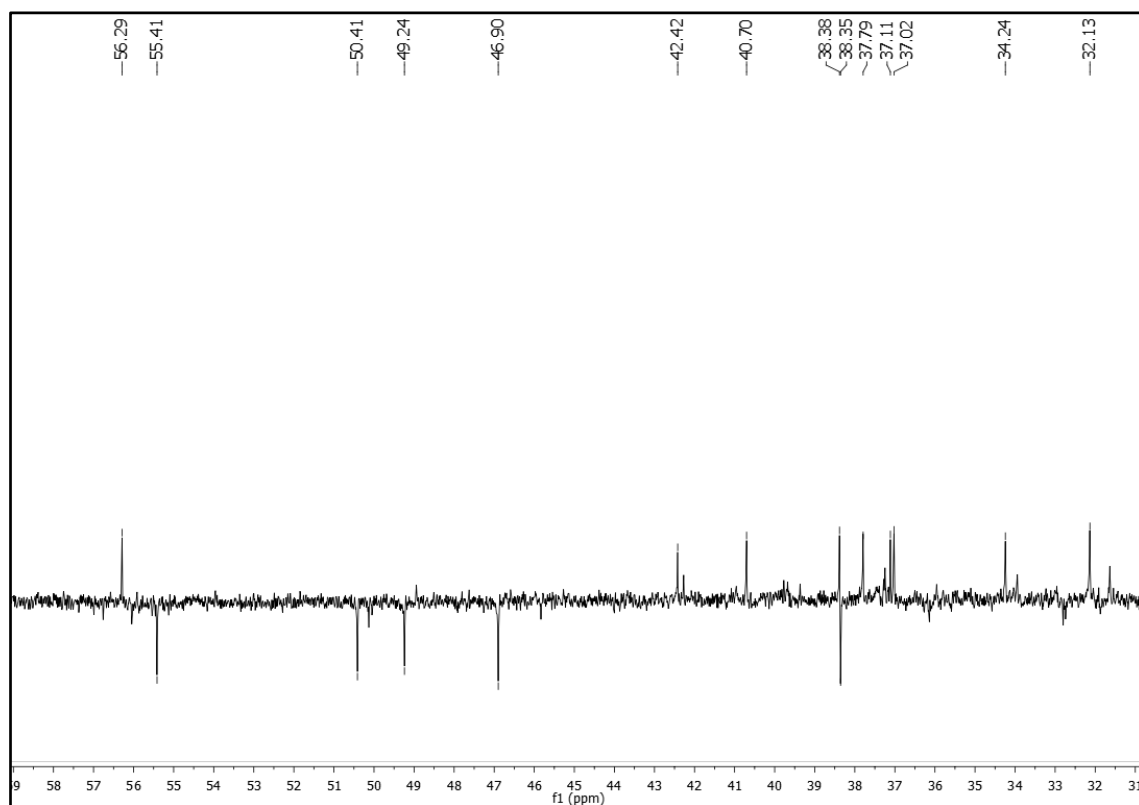
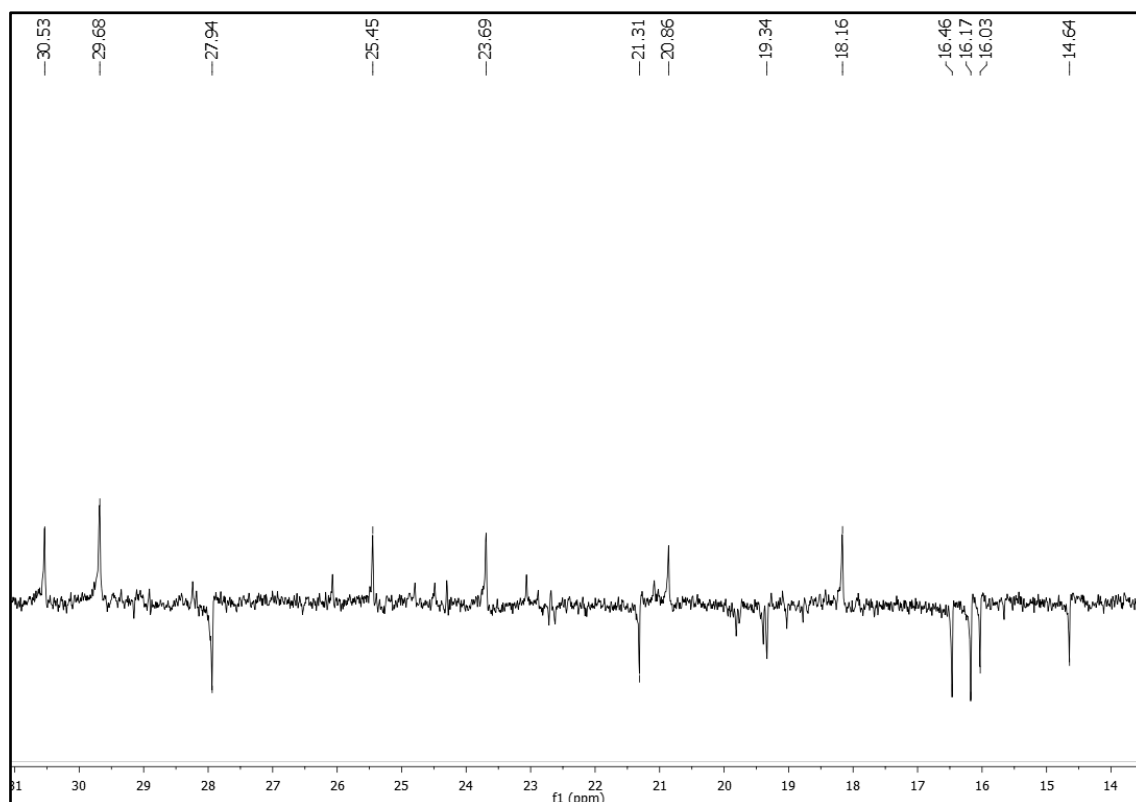


Figura 49. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 125 MHz) de Se-1 na região de 31 a 14 ppm.



Após análise dos dados de RMN de ^1H e ^{13}C de Se-1 e sua comparação com a literatura (Tabela 6), foi possível identificar essa substância como sendo ácido 3 β -acetiloxi-lup-20(29)-eno-28-óico (Figura 50). Este é o primeiro relato dessa substância no gênero *Senna*.

Figura 50. Estrutura do ácido 3- β -acetiloxi-lup-20(29)-en-28-óico.

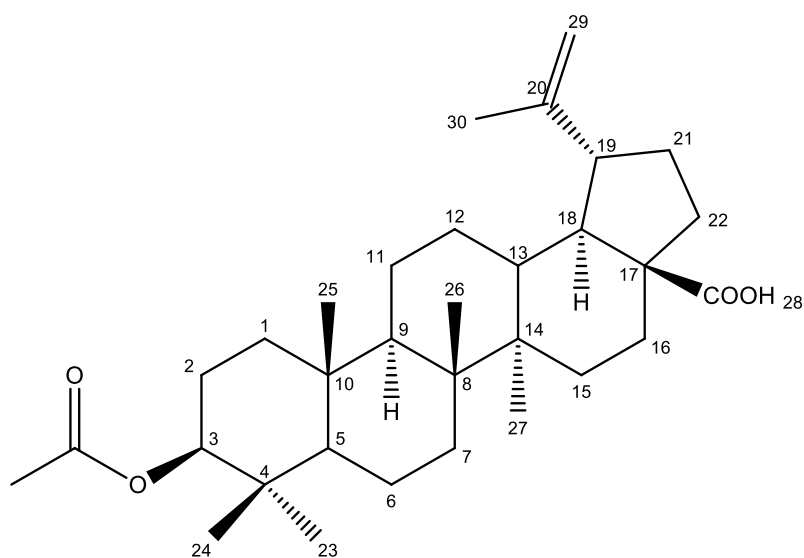


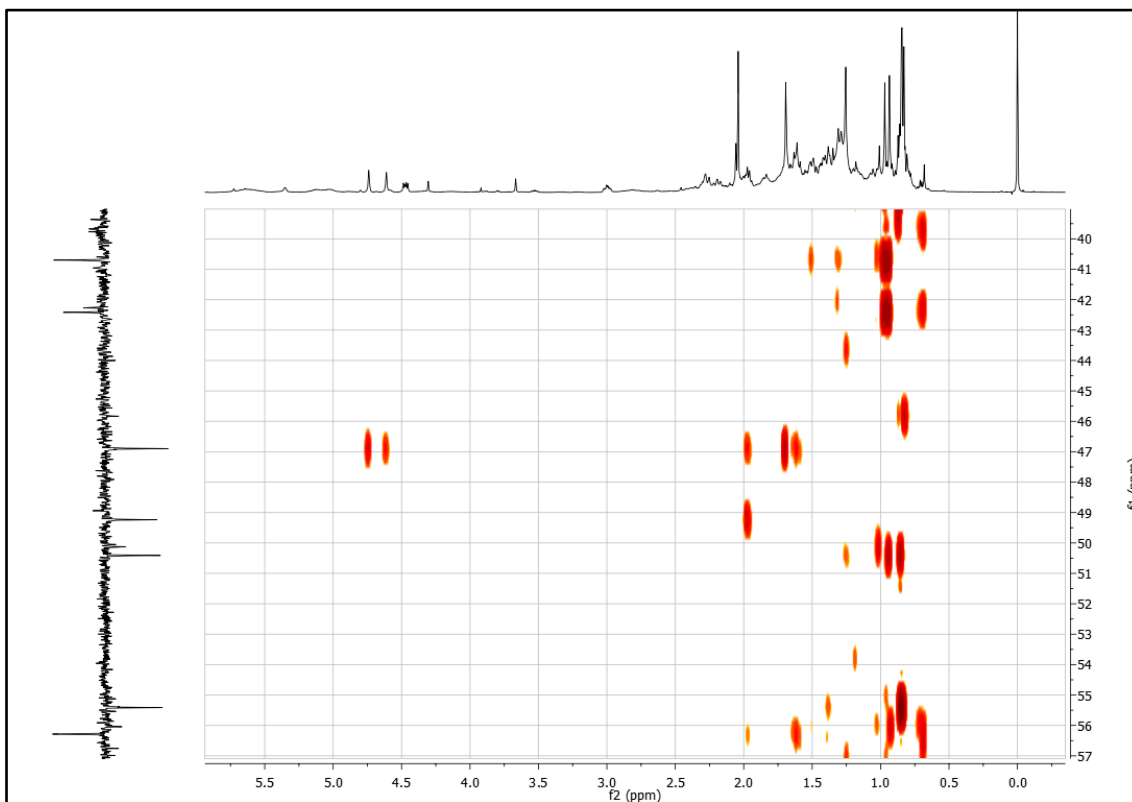
Tabela 6. Comparação dos dados de RMN de Se-3 e literatura em CDCl_3 (DAVID *et al.*, 2004).

δ_c / δ_H		
	3- β -acetiloxi-lup-20(29)-en-28-óico*	Se – 1
1	38,40	38,38
2	23,69	23,69
3	80,96 / 4,49 (dd, J = 9,7 e 5,9 Hz)	80,96 / 4,44 (dd, J = 10,5 e 5,5 Hz)
4	37,80	37,79
5	55,43	55,4
6	18,17	18,16
7	34,25	34,24
8	40,71	40,70
9	50,41	50,41
10	37,13	37,11
11	20,87	20,86
12	25,46	25,45
13	38,40	38,35
14	42,42	42,42
15	30,57	30,53
16	32,16	32,13
17	56,37	56,3
18	46,94	*49,24
19	49,27	*46,90 / 2,98
20	150,36	150,38
21	29,69	29,68
22	37,04	37,02
23	27,95 / 0,98 (s)	27,94
24	16,49 / 0,94 (s)	16,46
25	16,17 / 0,86 (s)	16,17
26	16,06 / 0,85 (s)	16,03
27	14,65 / 0,84 (s)	14,64
28 <u>COOH</u>	181,50	180,38
29	109,71 / 4,75 a (d) e 4,62 b (d)	109,72 / 4,72 (sl) e 4,59 (sl)
30	19,34 / 1,71 (s)	19,33 / 1,67 (s)
H ₃ <u>CCO</u>	171,04	171,05
H ₃ <u>CCO</u>	21,29 / 2,06 (s)	21,31 / 2,02 (s)

* Dados da literatura. ** Sinais invertidos de acordo com análises dos espectros bidimensionais.

Os sinais para os carbonos 18 e 19 foram modificados de acordo a correlação observada no espectro bidimensional de correlação heteronuclear indireta – HMBC (Figura 51) entre os hidrogênios da metila 30 em δ_H 1,67 e os hidrogênios do carbono 29 (δ_H 4,72 e 4,59), com o sinal em 46,9 (C-19) e através de comparação com literatura (SULEIMEN *et al.*, 2013).

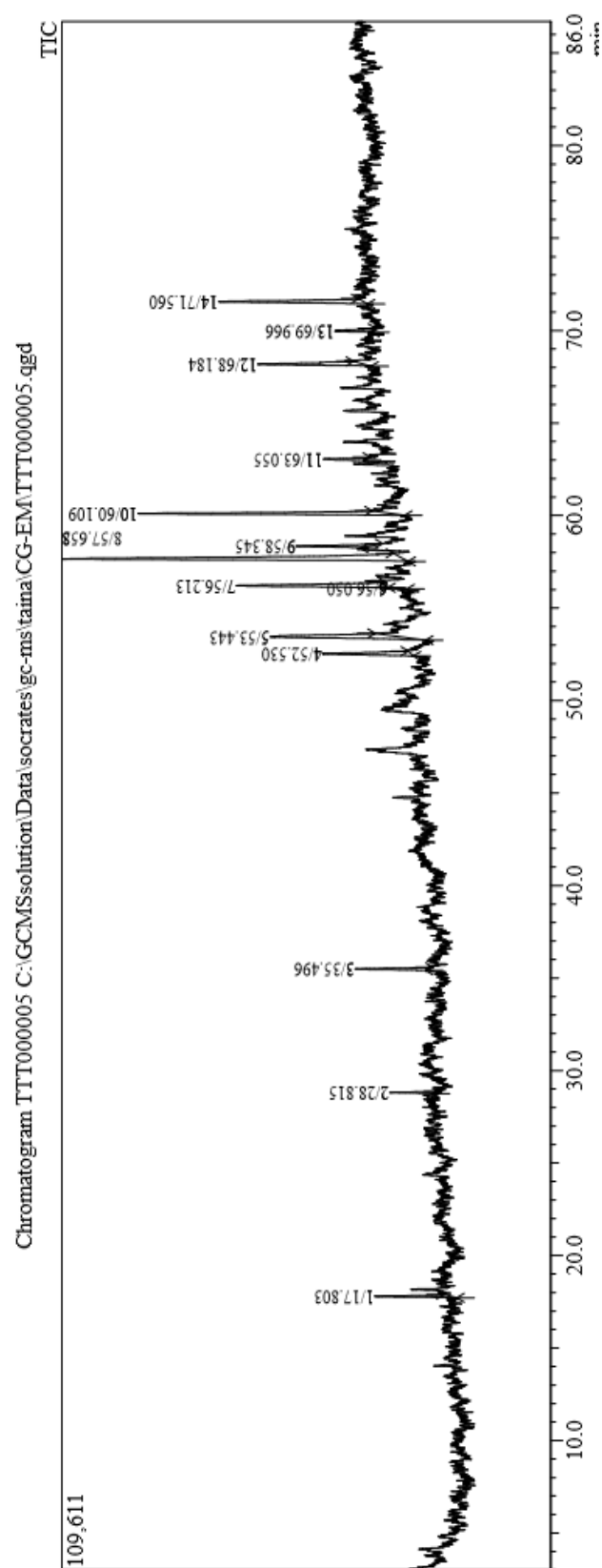
Figura 51. Expansão do espectro HMBC (CDCl_3 , 500 e 125 MHz) de Se-1 na região de (40-57 ppm) x (6,0-0,0 ppm).



5.1.4.1 Análise de Se-1 por CG-EM

Ao analisar os espectros de RMN de Se-1 foi possível observar a presença de impurezas e para tentar identificá-las, a amostra foi encaminhada para análise em CG-EM, obtendo-se um cromatograma com 14 picos (Figura 52). O ácido 3 β -acetiloxi-lup-20(29)-eno-28-óico, identificado por RMN de ^1H e ^{13}C , não foi observado no cromatograma obtido devido a sua alta polaridade e consequente alto ponto de fusão, ficando retido na coluna (NASSER *et al.*, 2013).

Figura 52. Cromatograma de Se-1 obtido por CG-EM.



O pico 1, Se-1(1), apresentou tempo de retenção 17,803 min e seu espectro de massas mostrou pico para íon base de m/z 111, que ao ser comparado com a biblioteca NIST08.LIB (Figura 53), foi identificado como sendo 4,4,7a-trimetil-6,7-dihidro-5H-1-benzofuran-2-ona, mais conhecido como diidroactinidiolideo (Figura 54), com um índice de similaridade de 93%. Para confirmar, o índice de Kovats foi calculado (1542) e comparado com literatura (1532) (NICKAVAR *et al.*, 2002).

Figura 5327. Espectro de massas de Se-1(1) e comparação com biblioteca.

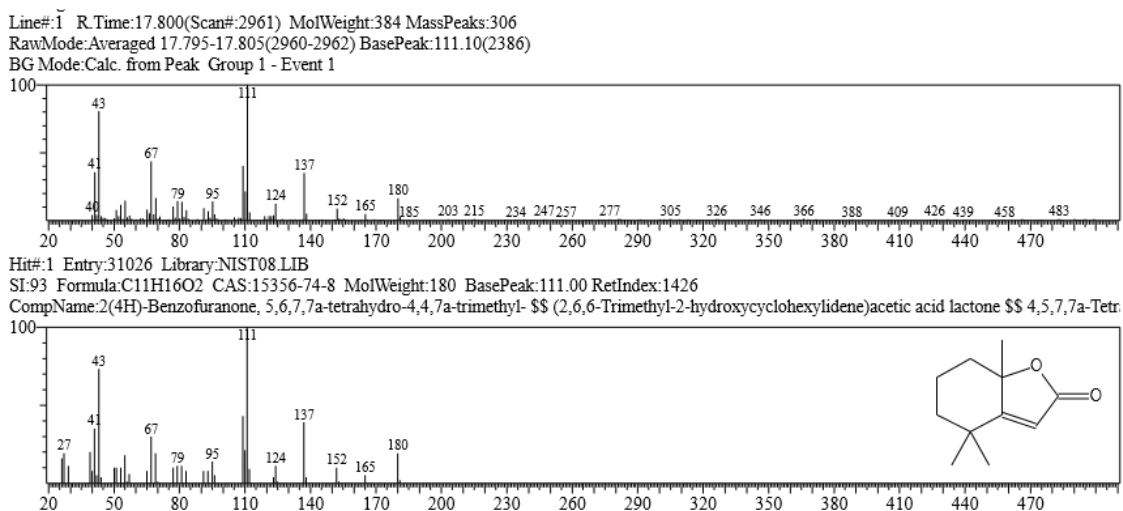
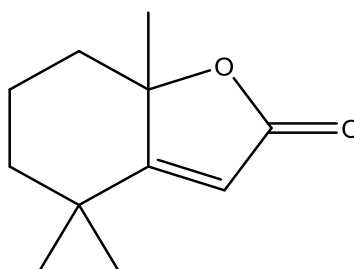


Figura 54. Fórmula estrutural do diidroactinidiolideo.



Segundo a literatura, o diidroactinidiolideo é um importante constituinte aromático formado a partir da degradação térmica do β -caroteno (HAZRULRIZAWATI *et al.*, 2016) (STEVENS & MERRILL, 1981). Este é o primeiro relato de identificação dessa substância no gênero *Senna*.

O pico 2, Se-1(2), tempo de retenção 28,815 min, após ser comparado com biblioteca FFNSC1.3 (Figura 55), foi identificado como sendo a fitona (Figura 56). Foi calculado também o índice de Kovats (1847) e comparado com

a literatura (1845) (KARIOTI *et al.*, 2003), corroborando com proposta para presença de fitona. Esse é o primeiro relato dessa substância no gênero *Senna*.

Figura 55. Espectro de massa do pico 2 e da fitona (FFNSCI.3.lib).

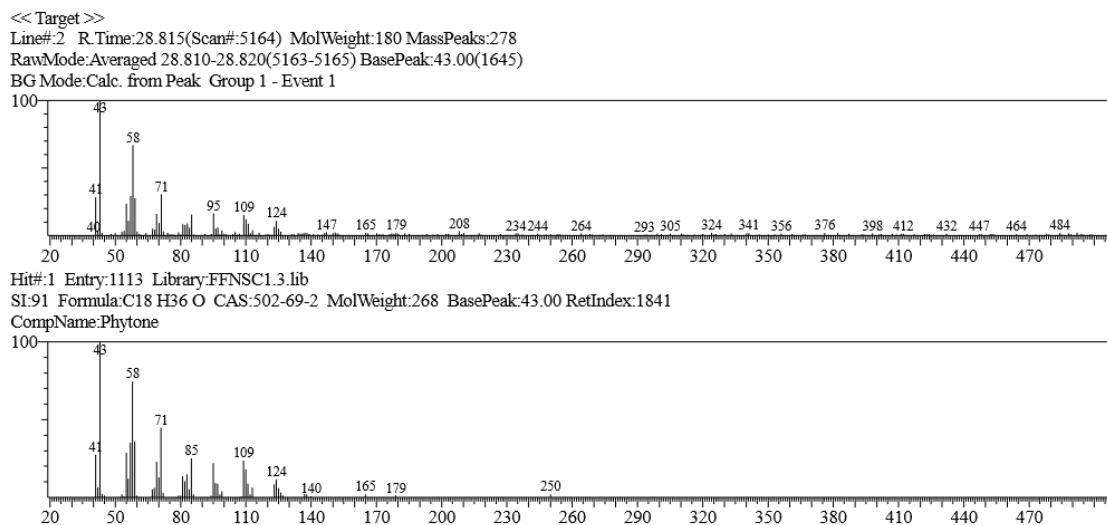
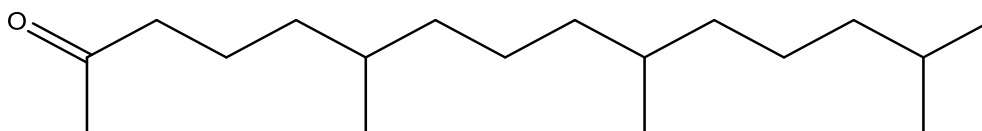


Figura 56. Estrutura da fitona.



No cromatograma de Se-1 foi observado também o pico 3, Se 1(3), com tempo de retenção (TR) 35,495 min. O espectro de massas correspondente a esse pico (Figura 57) apresentou íon base em m/z 216, correspondente com a fórmula molecular $C_{12}H_{18}O_4$, e fragmentos em m/z 201, 188, 173 e 145 (Figura 58), que quando comparados com o espectro de massas da biblioteca NIST08.LIB foi possível determinar que a substância em análise seria a xantotoxina ou metoxsalen, com um índice de similaridade de 94%.

Figura 57. Espectro de massas de baixa resolução de Se-1(3) e do methoxsalen (NIST08.LIB).

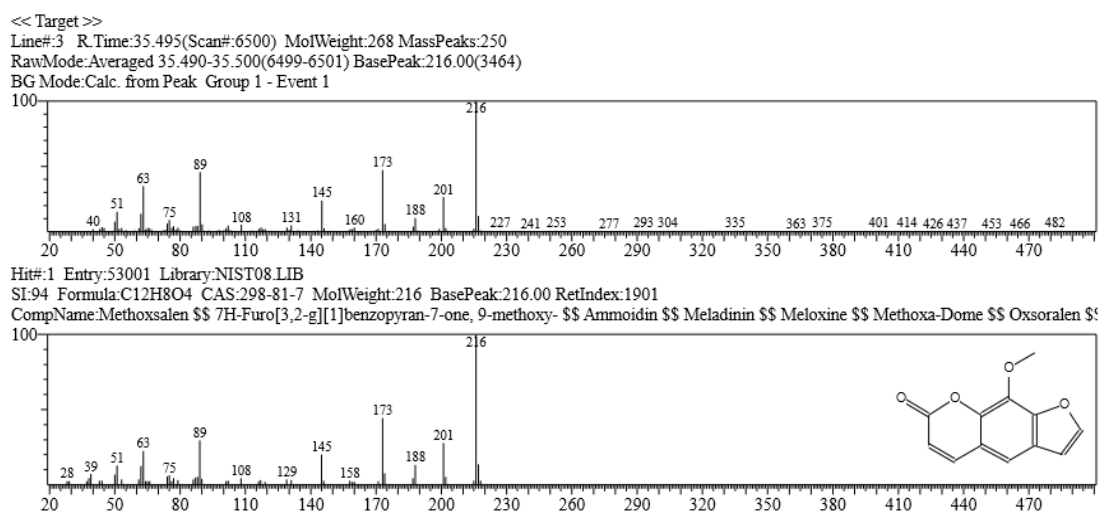
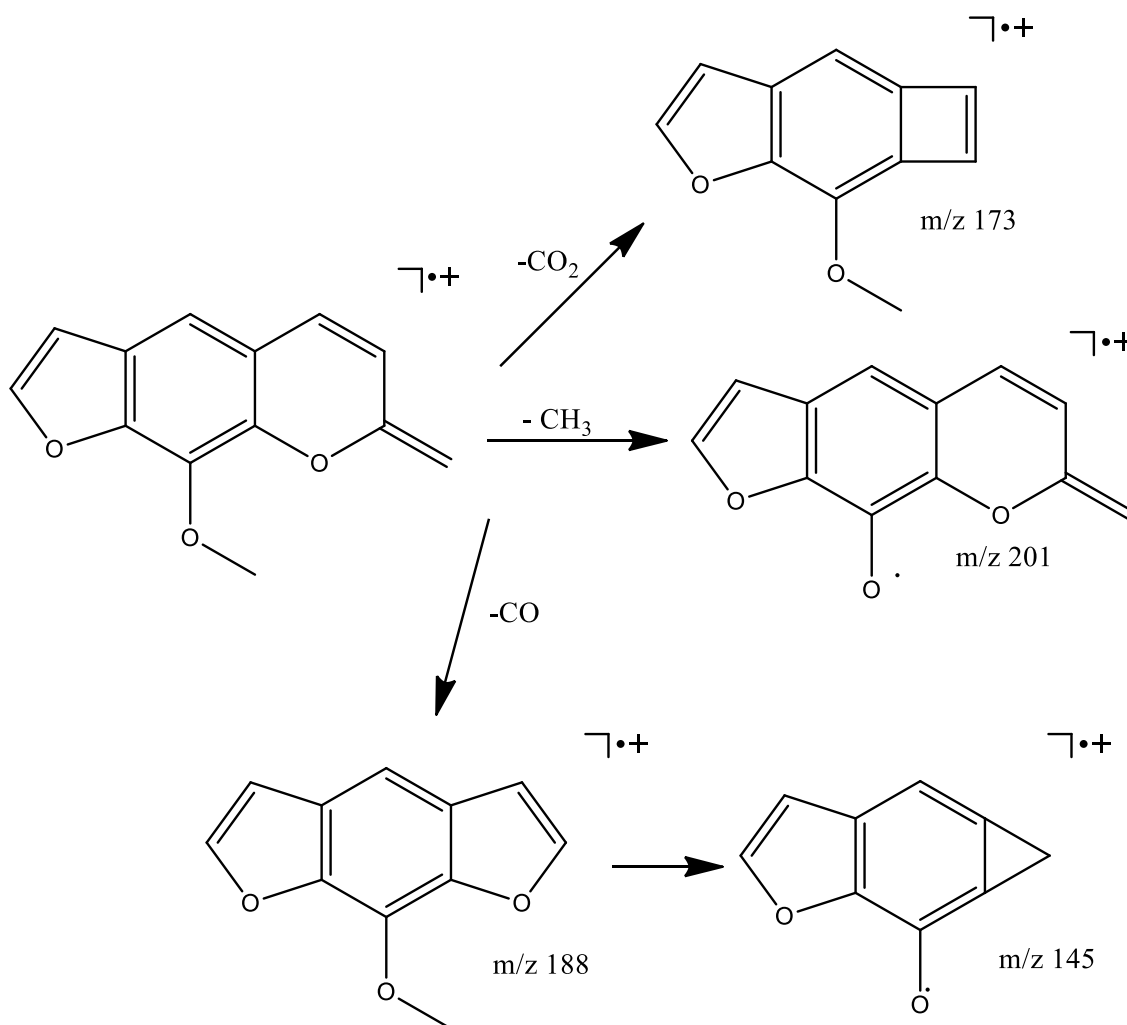


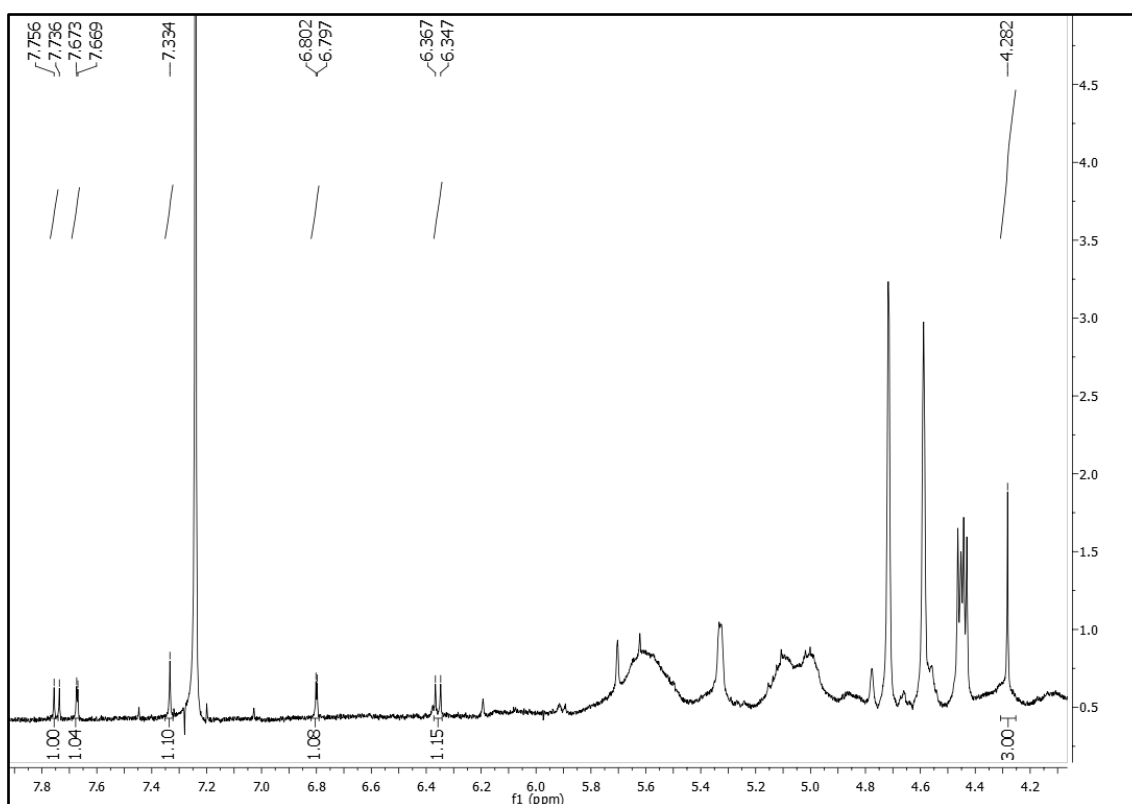
Figura 58. Fragmentação da xantotoxina de acordo com Wang *et al.*, 2014.



Para consolidar essa proposta foram analisados espectros de RMN de ^{13}C e ^1H e calculado o índice de Kovats – IKC (2049), comparando este com a literatura - IKL (NIST) (2040).

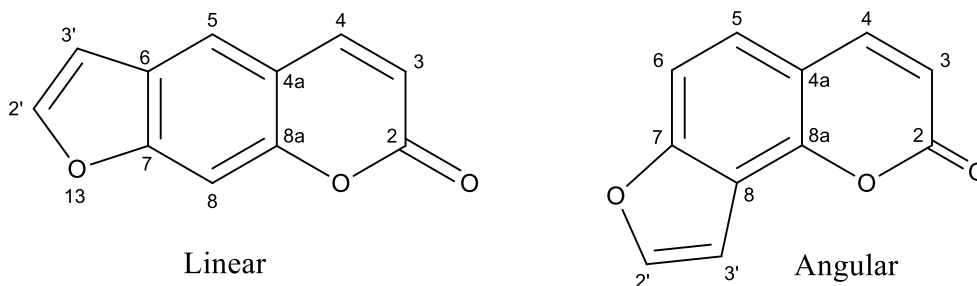
Esses dados corroboram com o espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) (Figura 59), no qual, foram observados sinais compatíveis com substâncias que apresentam esqueleto cumarínico, ou seja, um par de dubletos acoplando cis entre si em δ_{H} 6,35 ($J = 10 \text{ Hz}$) e 7,74 ($J = 10 \text{ Hz}$) correspondentes aos hidrogênios H-3 e H-4, respectivamente, do anel δ -lactônico α,β -insaturado (CAI *et al.*, 2012; CHEN *et al.*, 2006). A presença do anel furânico foi evidenciada pelos sinais característicos em δ_{H} 7,67 (d, $J = 2,0 \text{ Hz}$) e 6,80 (d, $J = 2,5 \text{ Hz}$) atribuídos aos hidrogênios H-2' e H-3', respectivamente, nos permitindo inferir que Se-1(3) tratava-se de uma furanocumarina.

Figura 59. Expansão do espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) de Se-1 na região de 4,1 a 7,9 ppm.



De acordo com o posicionamento do anel furânico, as furanocumarinas podem ser classificadas em lineares ou angulares (Figura 60).

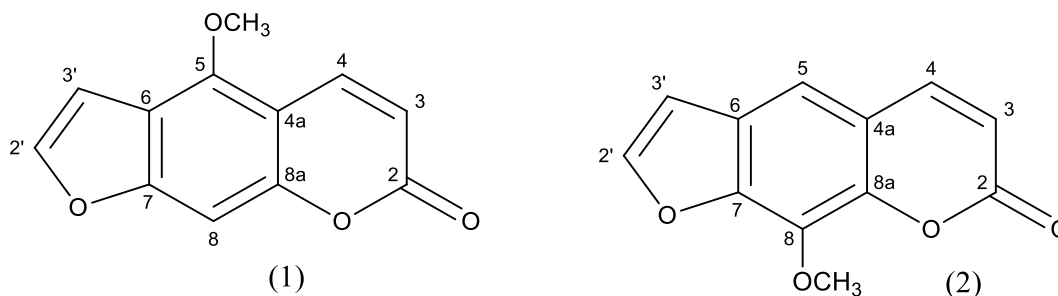
Figura 60. Furanocumarina linear e angular.



Deslocamentos químicos de grupos metoxilas com valores maiores que δ_H 4,15 indicam linearidade nas furanocumarinas e quando menores que δ_H 4,15 caracterizam as angulares (MURRAY; JORGE, 1984; O'NEILL *et al.*, 2013). Sendo assim, o singlete em δ_H 4,28, com integral para três hidrogênios, condizente com o grupo metoxila, nos permitiu sugerir uma furanocumarina do tipo linear para Se-1(3).

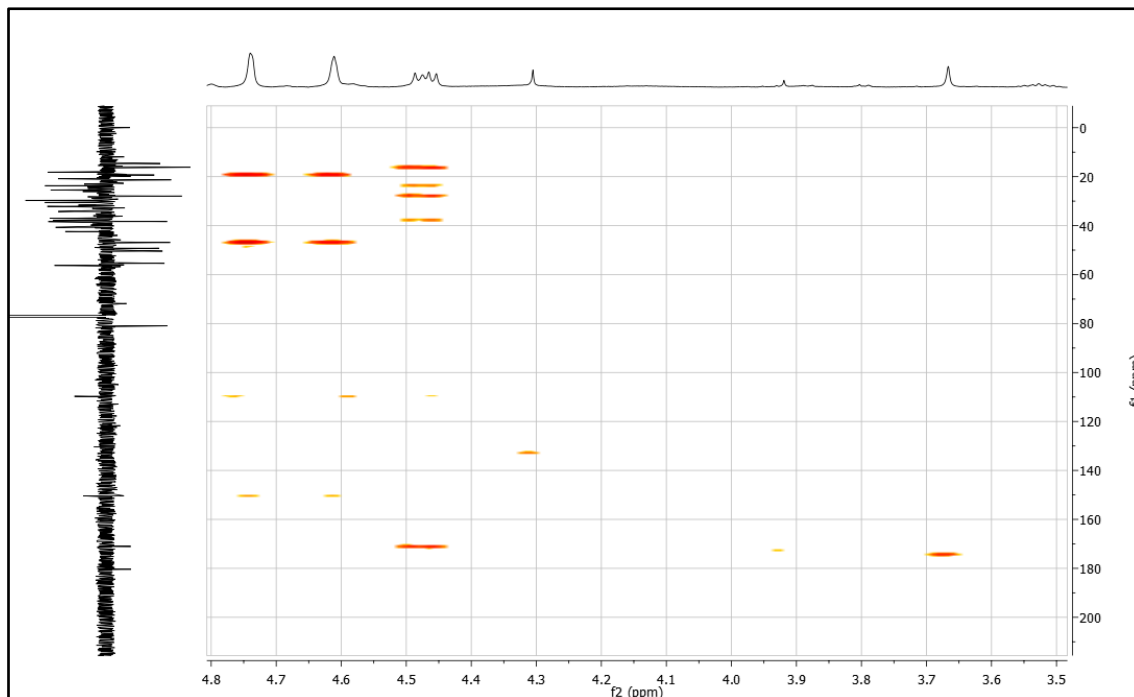
Dessa forma, sugeriu-se duas possibilidades estruturais para Se-1(3), com a metoxila inserida nos carbonos C-5 (1) ou C-8 (2) do anel aromático da cumarina (Figura 61).

Figura 61. Inserção da metoxila no esqueleto base.



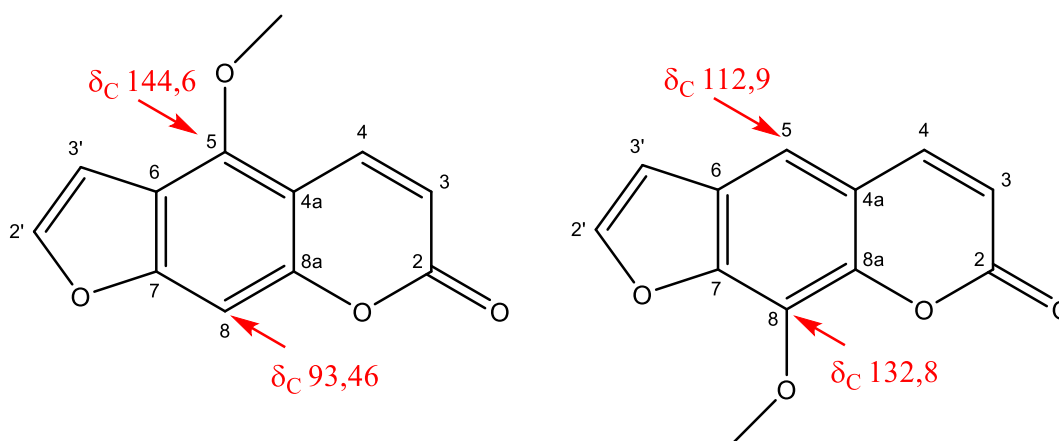
Na expansão do espectro bidimensional de correlação heteronuclear indireta – HMBC, foi observada uma correlação a três ligações entre os hidrogênios da metoxila em δ_H 4,28 com o sinal em 132,8 (Figura 62).

Figura 62. Expansão do espectro HMBC (CDCl_3 , 500 e 125 MHz) de Se-1 na região de (0-210 ppm) x (4,8-3,5 ppm).



Ao compararmos os valores da literatura (BALESTRIN *et al.*, 2008) para os carbonos 5 e 8, com inserção da metoxila nessas posições, podemos observar o seguinte (Figura 63).

Figura 63. Valores de C-5 e C-8 de acordo com a posição da metoxila.



Dessa forma, através da correlação observada no HMBC e a comparação com a literatura (Tabela 7), foi possível inserir a metoxila na posição 8 e confirmar o resultado observado no CG-EM para presença da furanocumarina xantotoxina,

também conhecida como metoxsalen (Figura 64), sendo este o primeiro relato dessa substância no gênero.

Figura 64. Fórmula estrutural da xantotoxina.

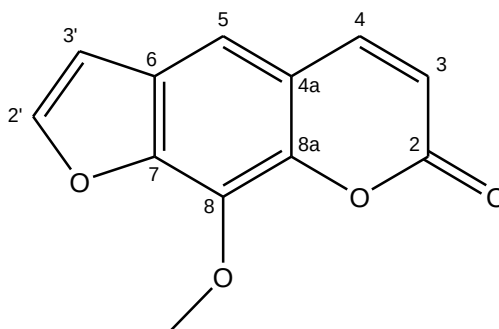


Tabela 7. Comparação dos dados do RMN ^1H de Se-1 (3) com a literatura (CAI *et al.*, 2012).

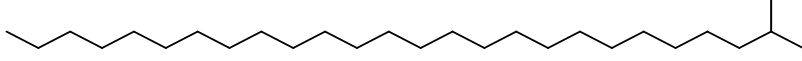
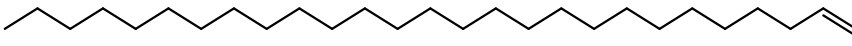
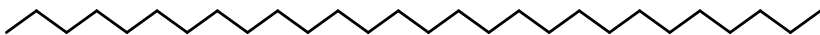
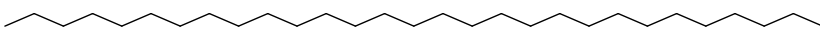
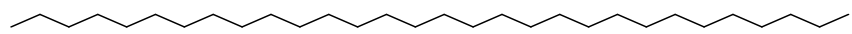
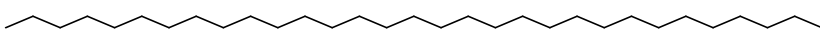
Se-1 (3)		Xantotoxina (CAI <i>et al.</i> , 2012)
H	δ_{H}	δ_{H}
3	6,35 (d, $J = 10$ Hz)	6,32 (d, $J = 10$ Hz)
4	7,74 (d, $J = 10$ Hz)	7,74 (d, $J = 10$ Hz)
5	7,33 (s)	7,31 (s)
2'	7,67 (d, $J = 2,0$ Hz)	7,66 (d, $J = 2,5$ Hz)
3'	6,80 (d, $J = 2,5$)	6,79 (d, $J = 2,5$ Hz)
OCH ₃	4,28 (s)	4,25 (s)

Farmacologicamente, a xantotoxina foi estudada no que diz respeito à atividade antitumoral (SUMIYOSHI *et al.*, 2014; DIWAN & MALPATHAK, 2009; XIU-JUAN *et al.*, 2014; ASENSI *et al.*, 2011), imunomodulatória (CHERNGET *et al.*, 2008) e antimicrobiana (BARROS & SIQUEIRA-JUNIOR, 2002; SILVA *et al.*, 2014).

Os picos 4 (52,530 min), 5 (53,445 min), 7 (56,215 min), 9 (58,345 min), 10 (60,110 min) e 11 (63,055) apresentaram espectros de massa característicos de hidrocarbonetos de acordo com a comparação com literatura (Quadro 2).

Quadro 2. Fórmulas estruturais correspondentes aos picos 4, 5, 7, 9, 10 e 11, índices de Kovats calculados (IKC) e encontrados na literatura (IKL).

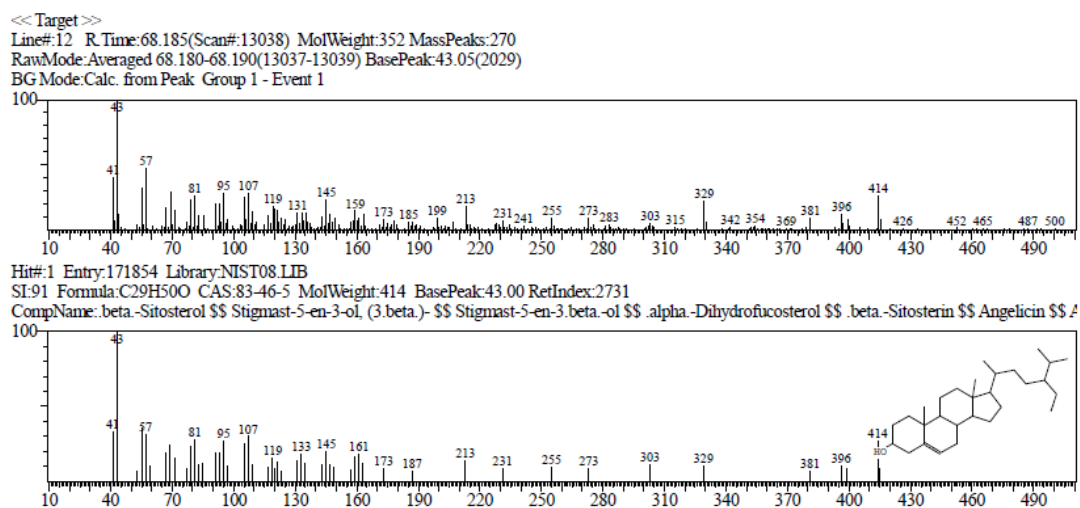
Pico	Fórmula estrutural	IKC	IKL
4	Metilhexacosano – C ₂₇ H ₅₆	2653	2656

			
5	Heptacoseno – C ₂₇ H ₅₄ 	2689	2688
7	Octacosano – C ₂₈ H ₅₈ 	2803	2800
9	Nonacosano – C ₂₉ H ₆₀ 	2894	2904
10	triacontano – C ₃₀ H ₆₂ 	3000	3003
11	Hentriacontano – C ₃₁ H ₆₄ 	3106	3100

O pico 6 não foi identificado devido a baixa concentração em que se encontrava e também não foi possível identificar o pico 8 apenas com o espectro de massas dessa substância.

O pico 12, Se-1(12), apresentou tempo de retenção 68,185 min e seu espectro de massas mostrou íon base em m/z 43, além de outros picos em m/z 57, 81, 95, 107, 145, 213, 329 e 414, que ao serem comparados com biblioteca NIST08.LIB (Figura 65), possibilitaram sugerir que se tratava do β -sitosterol, com índice de similaridade de 91%. Os possíveis fragmentos observados no espectro de massas encontram-se na figura 66.

Figura 65. Espectro de massas de Se-1(12) e comparação com biblioteca (NIST08.LIB).



hidrogênio 6 e os sinais em δ_c 31,8, 36,5 e 42,3, sendo estes atribuídos aos carbonos 7, 10 e 4, respectivamente, do β -sitosterol.

Figura 67. Expansão do espectro de RMN de ^1H de Se -3 (CDCl_3 , 500 MHz) na região de 5,9 a 3,4 ppm.

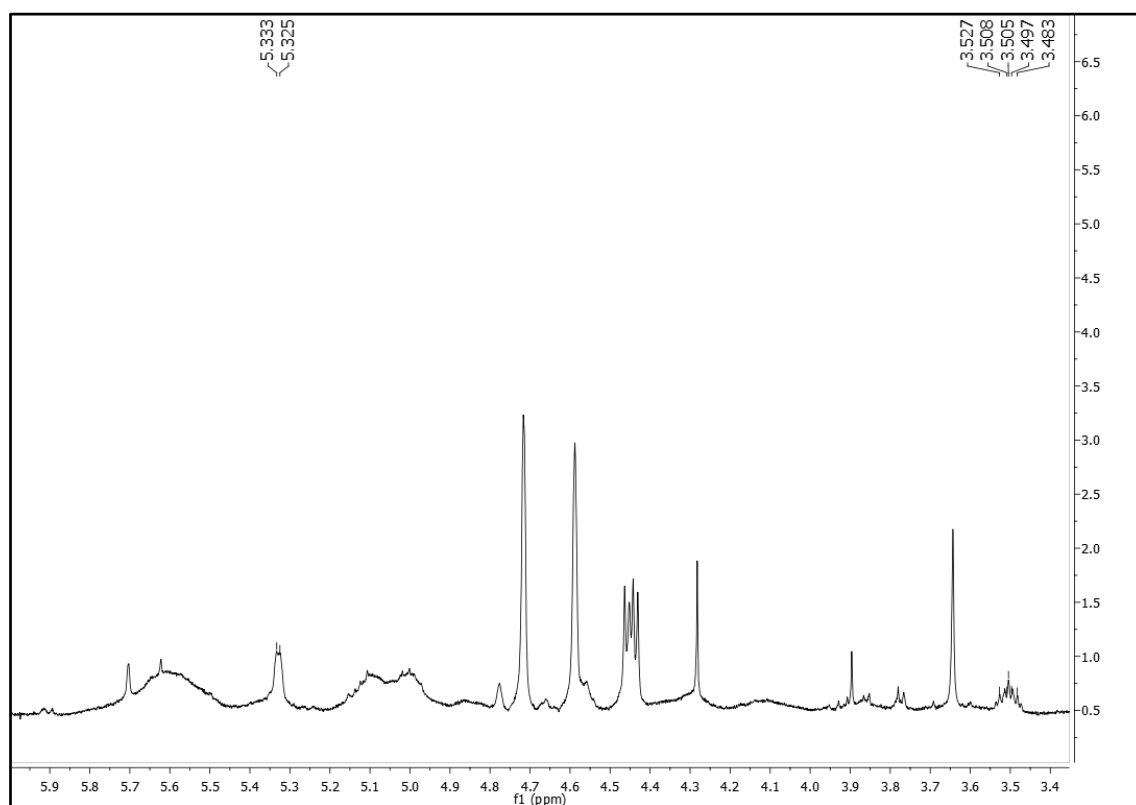


Figura 68. Expansão do espectro bidimensional HMQC (CDCl_3 , 500 e 125 MHz) de Se-1 na região (140-10 ppm) x (5,5-2,9 ppm).

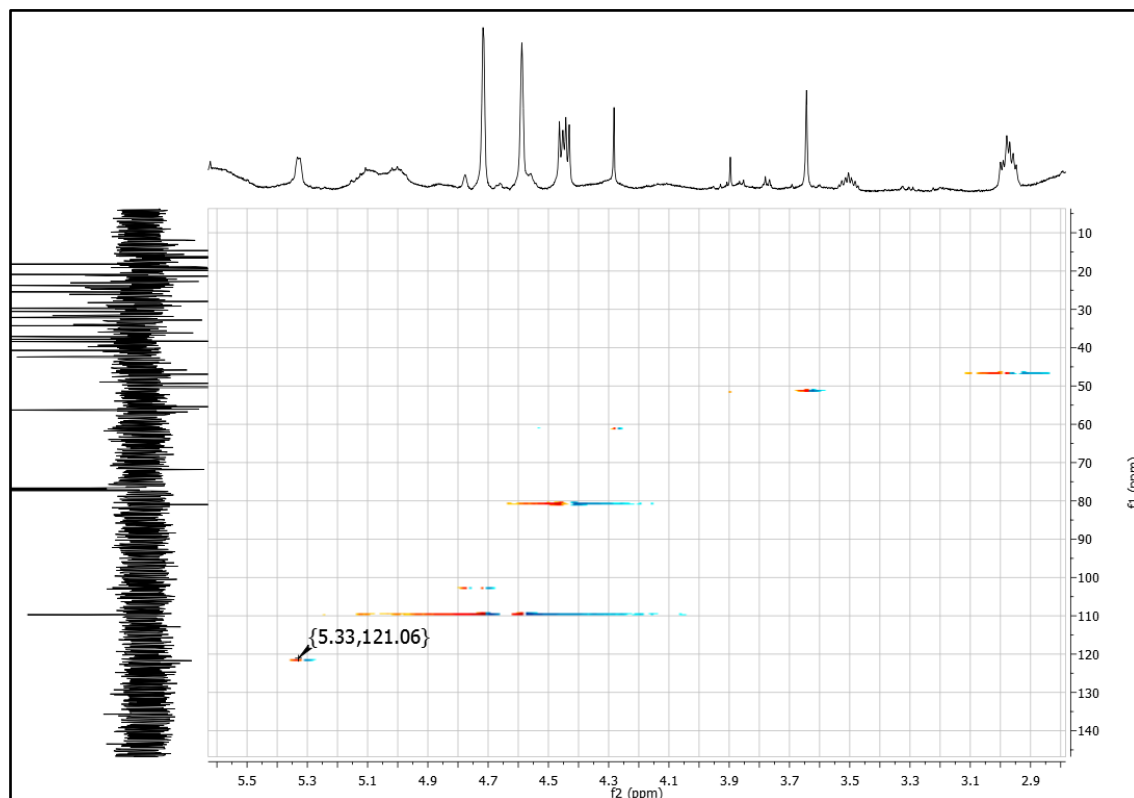
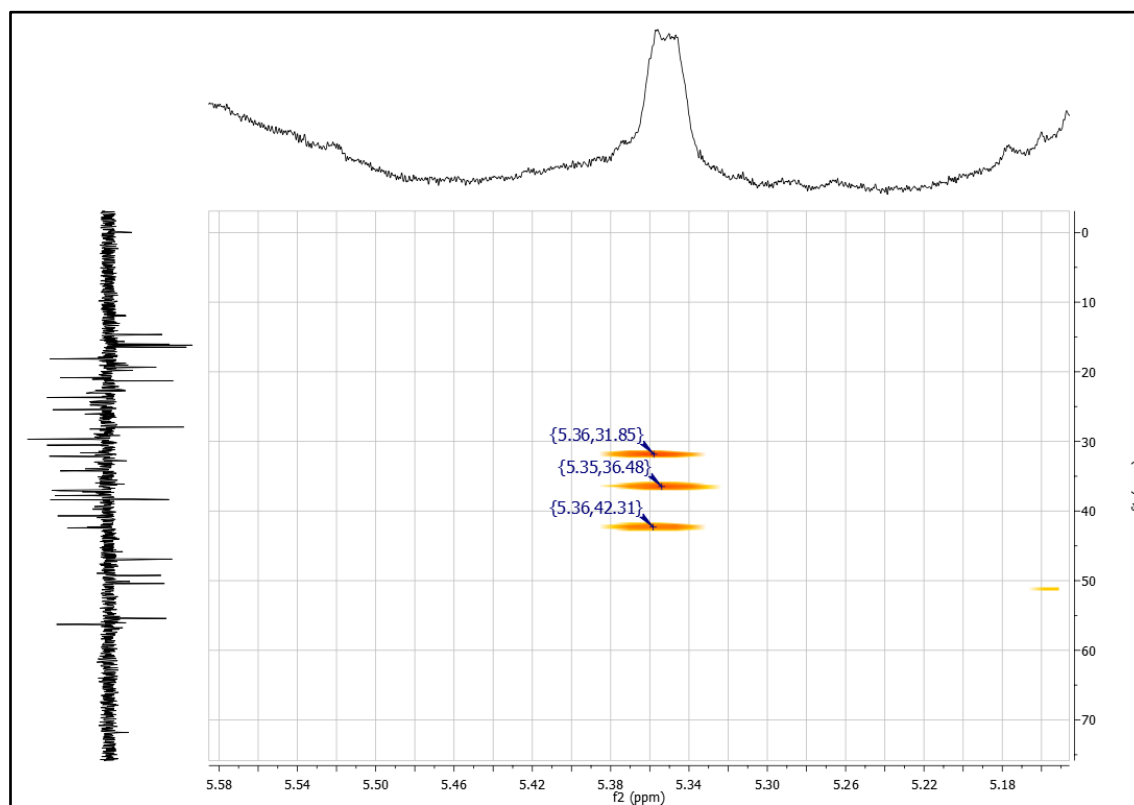
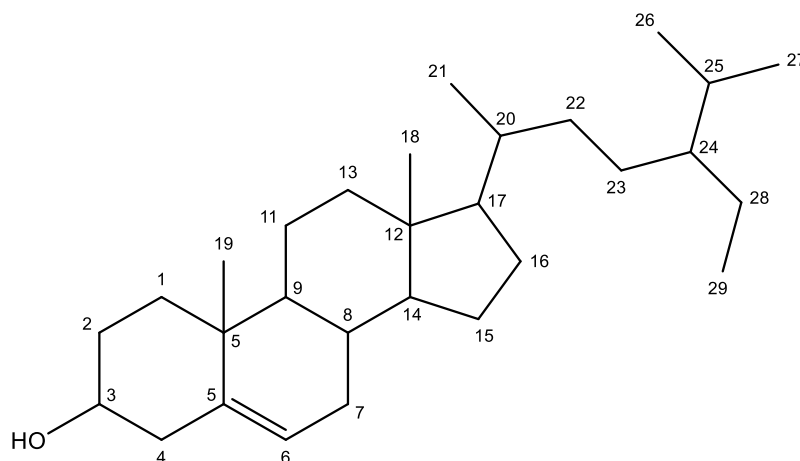


Figura 69. Expansão do espectro bidimensional HMBC (CDCl_3 , 500 e 125 MHz) de Se-1 na região (70-0,0 ppm) x (5,6-5,16 ppm).



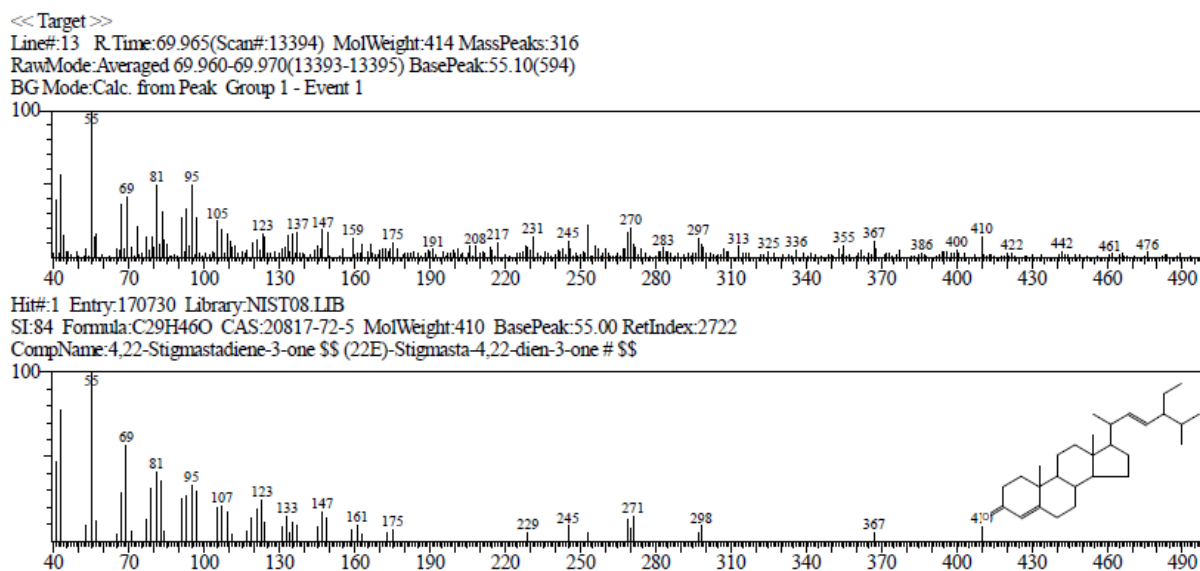
Após análise dos dados de CG-EM e de RMN ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais e sua comparação com a literatura (SANTANA, 2011), foi possível identificar Se-1(12) como sendo β -sitosterol (Figura 70). Essa substância já foi isolada anteriormente nessa espécie (SILVA *et al.*, 2016).

Figura 70. Estrutura do β -sitosterol.



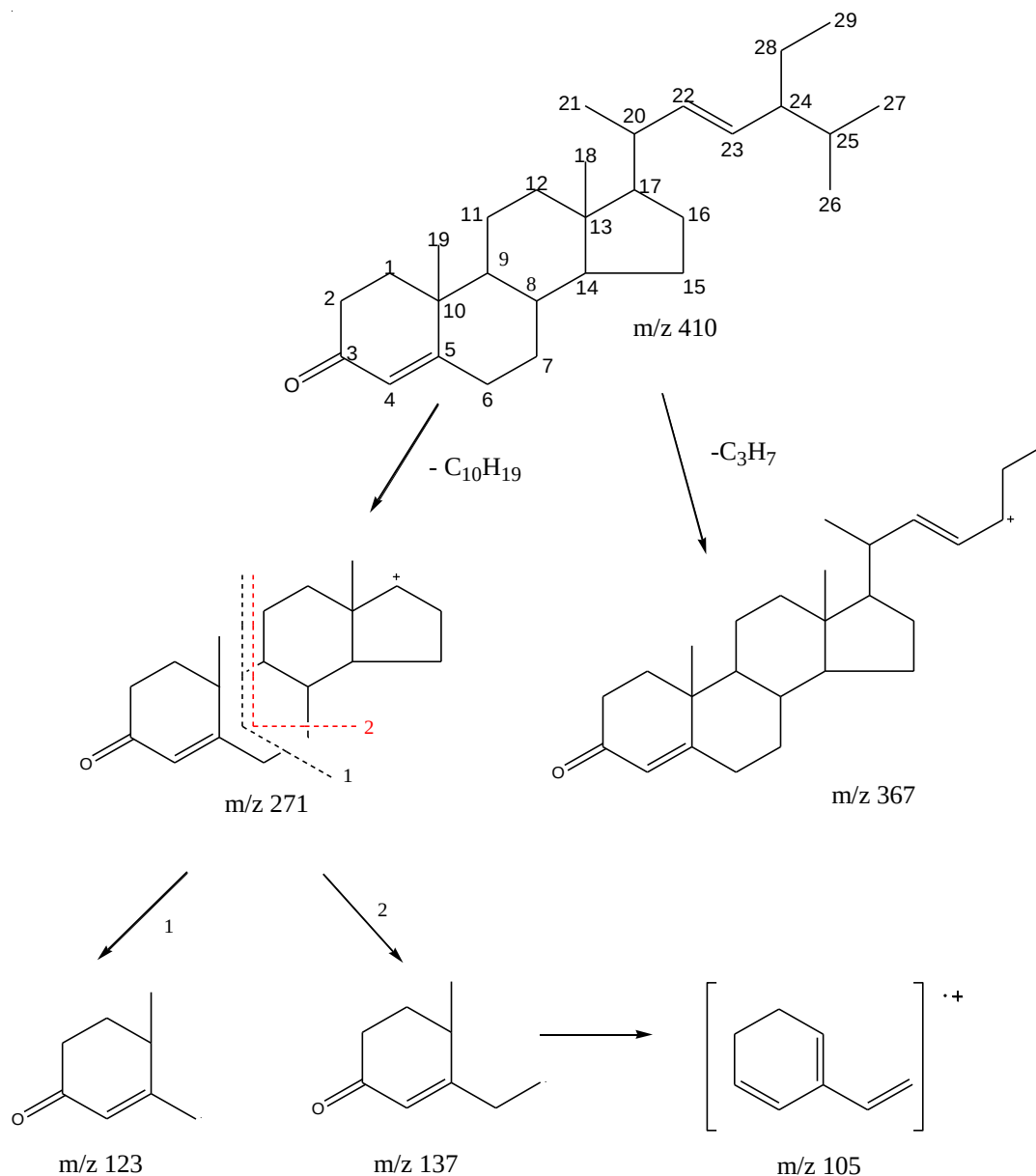
O pico 13, Se-1(13), apresentou tempo de retenção 69,965 min e seu espectro de massas mostrou pico para íon base em m/z 55 e outros fragmentos que ao serem comparados com a biblioteca NIST08.LIB (Figura 71), apresentaram índice de similaridade de 84% com o espectro de massa, indicando tratar-se da 4,22-estigmastadien-3-ona.

Figura 2871. Espectro de massas do pico 13 de Se-1 e comparação com biblioteca (NIST).



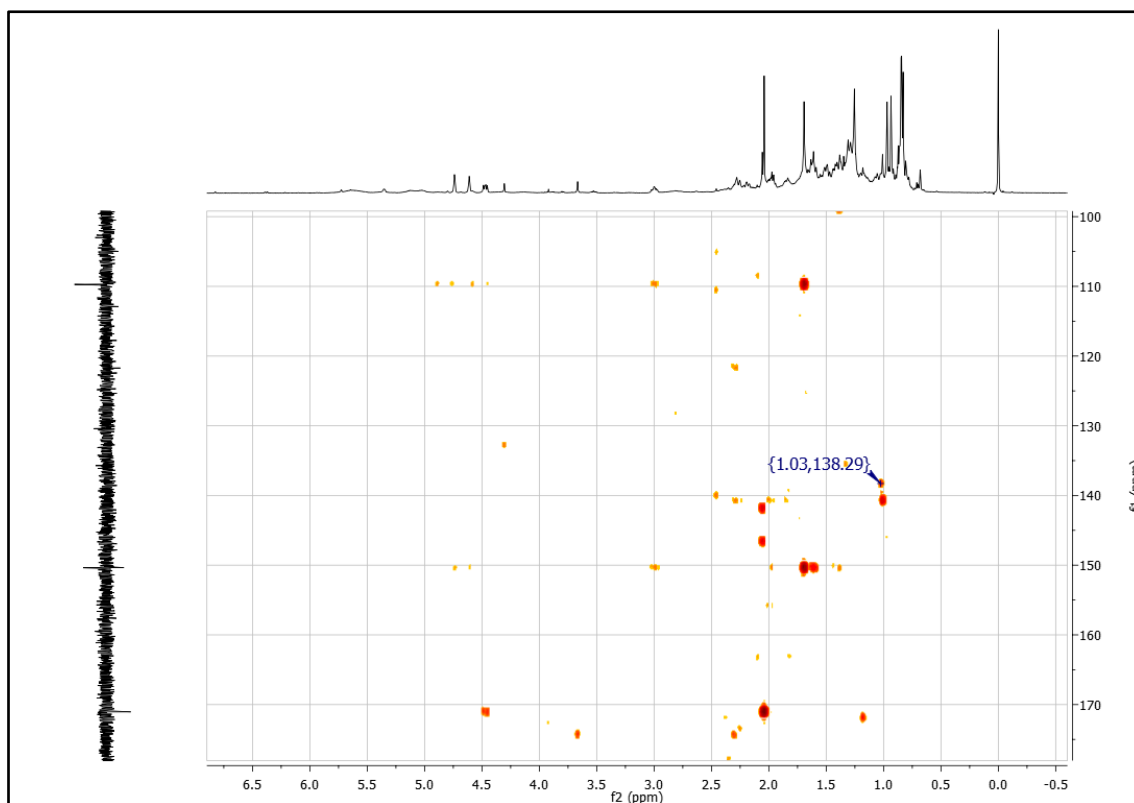
Os padrões de fragmentação da 4,22-stigmastadien-3-ona encontram-se abaixo na figura 72.

Figura 72. Fragmentação da 4,22-stigmastadien-3-ona de acordo com adaptação de Santana (2011).



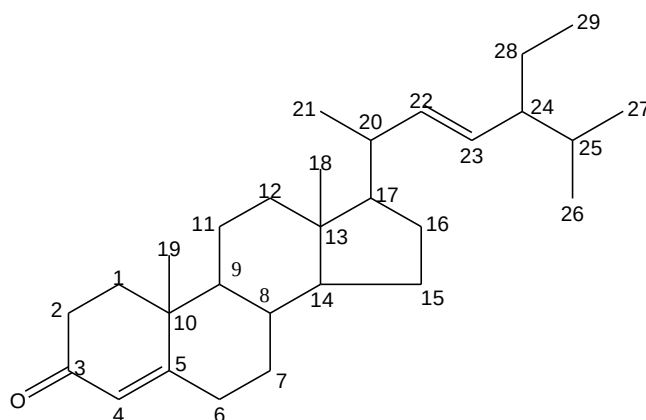
Para corroborar a presença da 4,22-stigmastadien-3-ona, no espectro bidimensional HMBC ($CDCl_3$, 500 MHz) de Se-1 (Figura 73) foi observado correlação entre os sinais em δ_H 1,03 e δ_C 138,3, sendo estes atribuídos ao hidrogênio 21 e ao carbono 22, respectivamente, de acordo com Hoa *et al.* (2014).

Figura 73. Expansão do espectro de correlação indireta heteronuclear HMBC (CDCl_3 , 500 e 125 MHz) de Se-1 na região de (180-100 ppm) x (6,5-0,0 ppm).



Após análise dos espectros de massas e RMN, Se-1(13) foi identificado como sendo 4,22-estigmastadien-3-ona (Figura 74), sendo este o primeiro relato dessa substância na família Fabaceae.

Figura 74. Fórmula estrutural da 4,22-estigmastadien-3-ona.



O pico 14, Se-1(14), apresentou tempo de retenção 71,560 min e seu espectro de massas mostrou pico para íon base em m/z 43 e outros fragmentos em m/z 124, 229, 288 e 412, mostrados na figura 69, que ao serem comparados com a biblioteca NIST08.LIB (Figura 75), foi identificado como sendo estigmast-4-en-3-ona, com um índice de similaridade de 89%, índice de Kovats calculado igual a 3486 e da literatura igual a 3483. Os fragmentos correspondentes aos picos observados no espectro de massas encontram-se na Figura 76.

Figura 75. Espectro de massas do pico 14 de Se-1 e comparação com biblioteca (NIST).

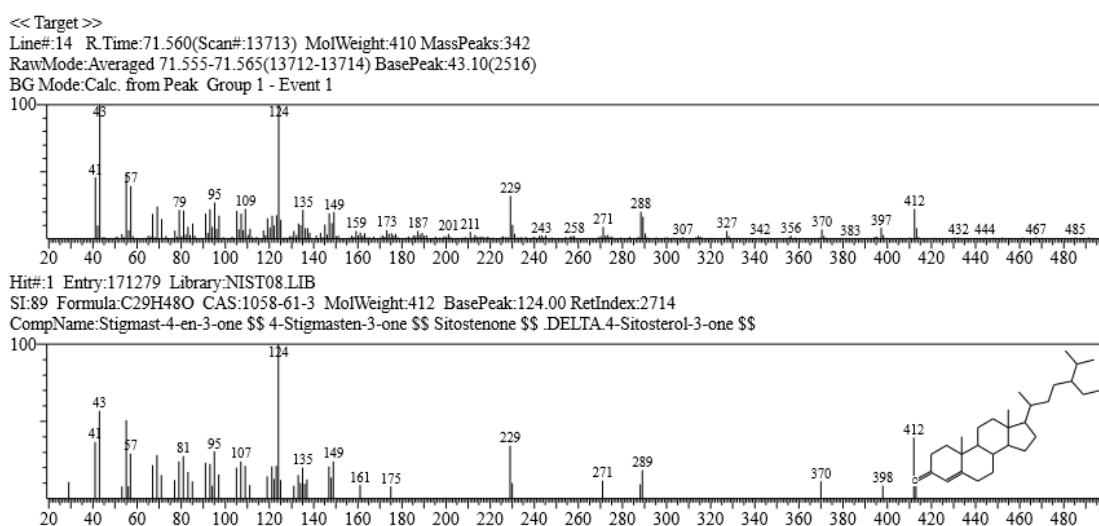
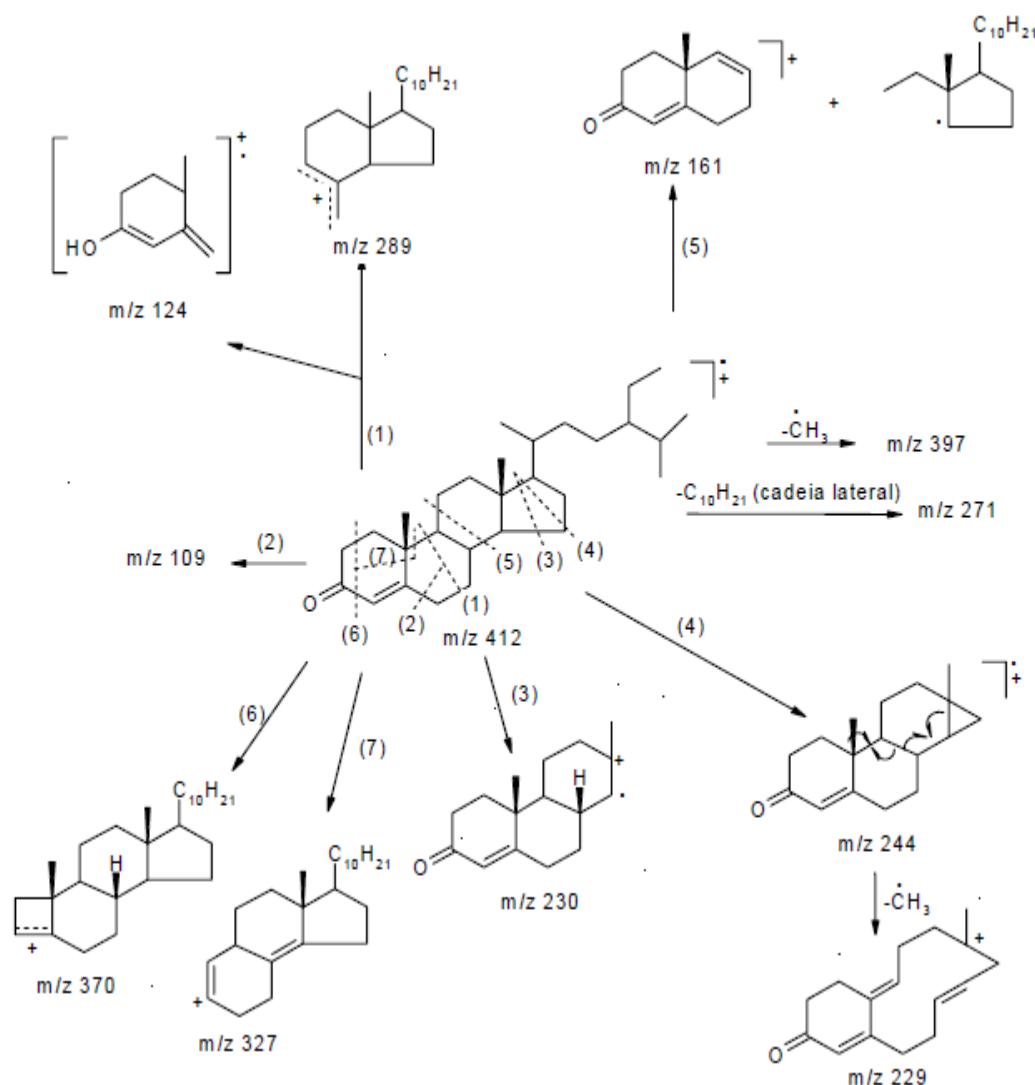


Figura 76. Fragmentação da estigmast-4-en-3-ona.



Fonte: Santana (2011).

A presença do estigmast-4-en-3-ona em Se-1(14) foi corroborada através da correlação entre o sinal em δ_H 5,70 e δ_C 123,5 no espectro HMQC (Figura 77), característicos do H-4 e C-4, respectivamente, e das correlações observadas no HMBC (Figuras 78 e 79), entre δ_H 5,70 (H-4) e δ_C 32,8 (C-6) e δ_C 38,6 (C-10), entre δ_H 1,18 e δ_C 171,9 (C-5), corroborando com a presença de ligação dupla, e entre δ_H 1,35 e δ_C 201,6, evidenciando a presença da carbonila de cetona.

Figura 77. Expansão do espectro bidimensional HMQC (CDCl_3 , 500 e 125 MHz) de Se-1 na região (132-114 ppm) x (6,4-4,8 ppm).

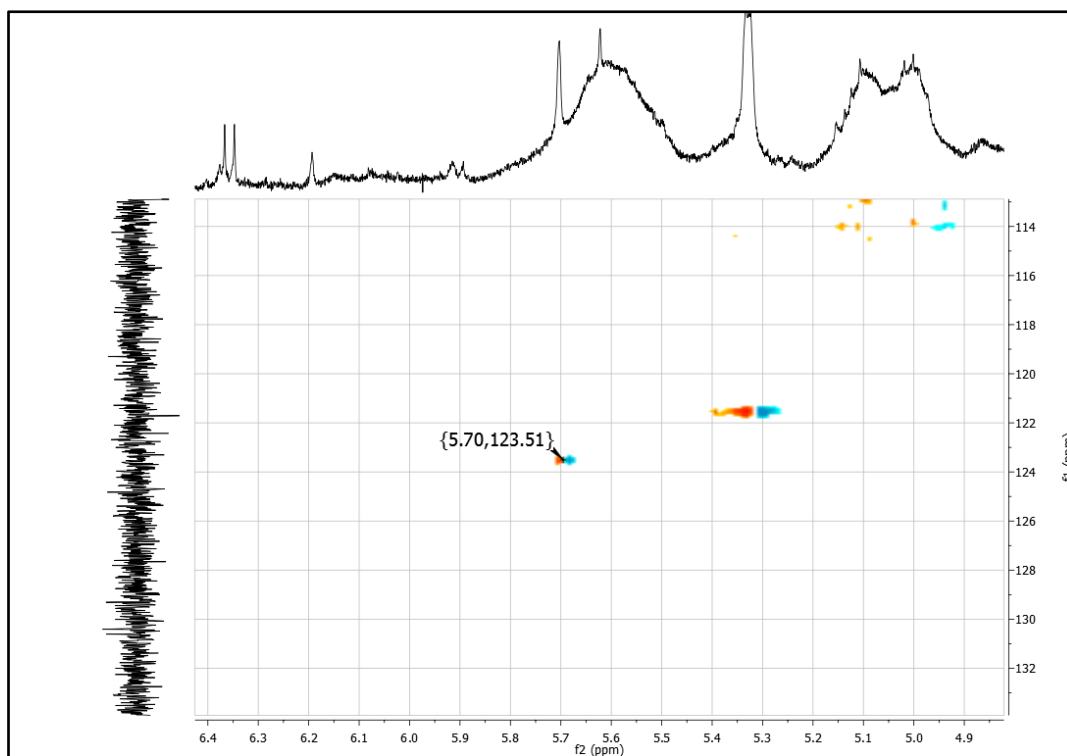


Figura 78. Expansão do espectro bidimensional HMBC (CDCl_3 , 500 e 125 MHz) de Se-1 na região (100-10 ppm) x (6,0-5,1 ppm).

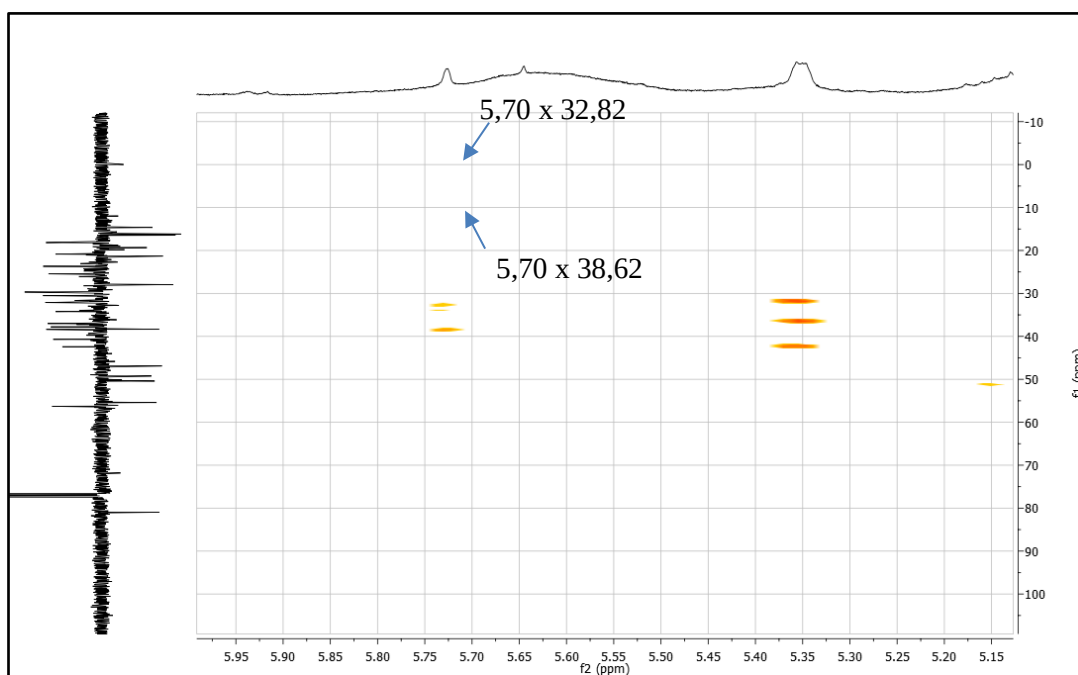
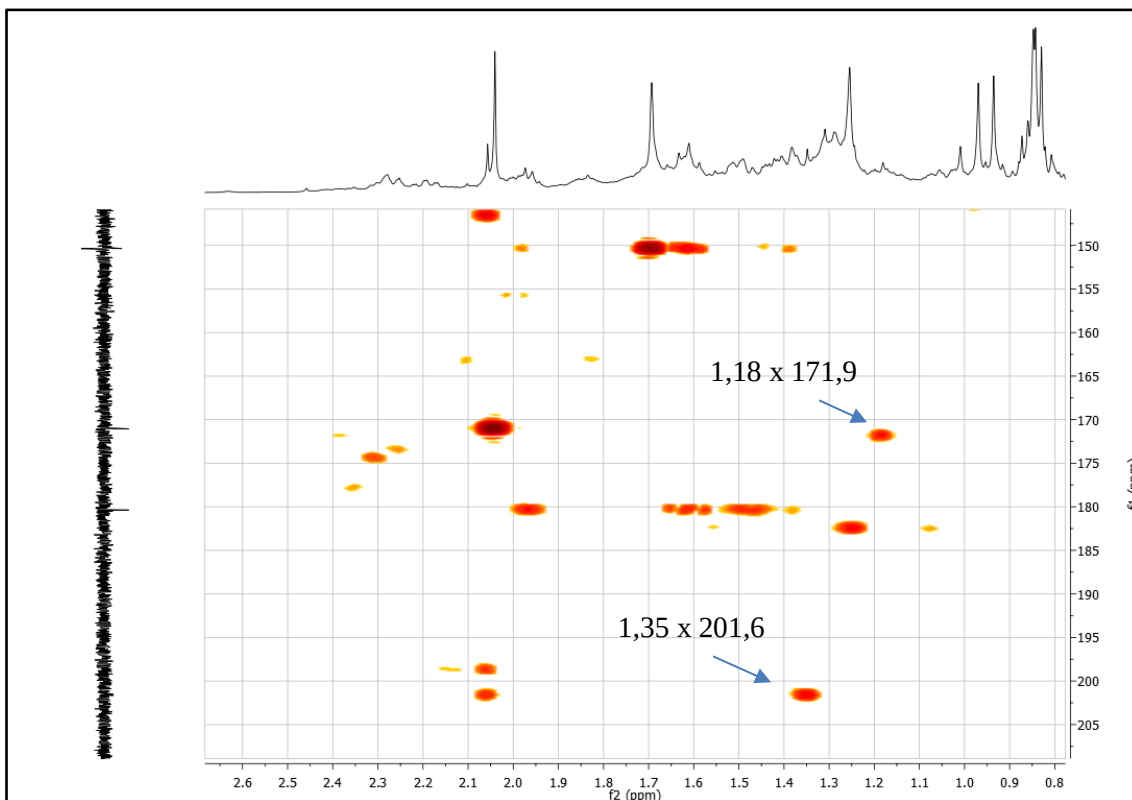
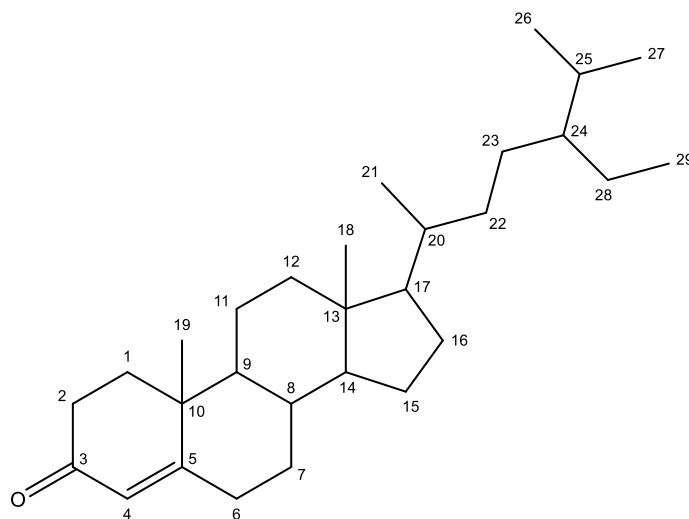


Figura 79. Expansão do espectro bidimensional HMBC (CDCl_3 , 500 e 125 MHz) de Se-1 na região (210-150 ppm) x (2,7-0,8 ppm).



Após análise dos dados de CG-EM e de RMN de ^1H e ^{13}C , uni e bidimensionais, e sua comparação com a literatura (JAMALUDDIN *et al.*, 1995), foi possível identificar Se-1(14) como sendo estigmast-4-en-3-ona, mais conhecido como sitostenona (Figura 80).

Figura 80. Fórmula estrutural da sitostenona.



Esse é o primeiro relato de identificação da sitostenona no gênero *Senna*. Segundo a literatura, a sitostenona apresenta atividade citotóxica sobre a *Artemia salina* com uma $DL_{50} = 39 \mu\text{g/mL}$ (GALOTTA & BOAVENTURA, 2005).

5.1.5 Determinação estrutural de Se-2

No espectro de RMN de ^1H ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 500 MHz) e suas expansões de Se-2 (Figuras 81 a 84) também foram observados sinais característicos de fitosteróides assim como Ch-1, entretanto a presença de um conjunto de picos entre δ_{H} 4,00 e δ_{H} 4,60 nos permitiu sugerir a presença da uma unidade osídica, sendo estes, típicos de hidrogênios oximetínicos da referida unidade. Esta proposta foi fortalecida pela presença de um duplete em δ_{H} 5,07 com $J = 7,5$ Hz, atribuído ao hidrogênio anomérico, comum em unidade de glicose com configuração β (KASAI *et al.*, 1987).

Ainda nesse espectro, um multiplete em δ_{H} 4,00, referente ao hidrogênio carbinólico, permitiu propor a inserção de unidade osídica em C-3, tendo em vista seu deslocamento para campo baixo em Se-2 quando comparado com o mesmo hidrogênio (H-3) no Ch-1, que absorve em δ_{H} 3,49 (KOJIMA *et al.*, 1990).

Figura 2981. Espectro de RMN de ^1H ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 500 MHz) de Se-2.

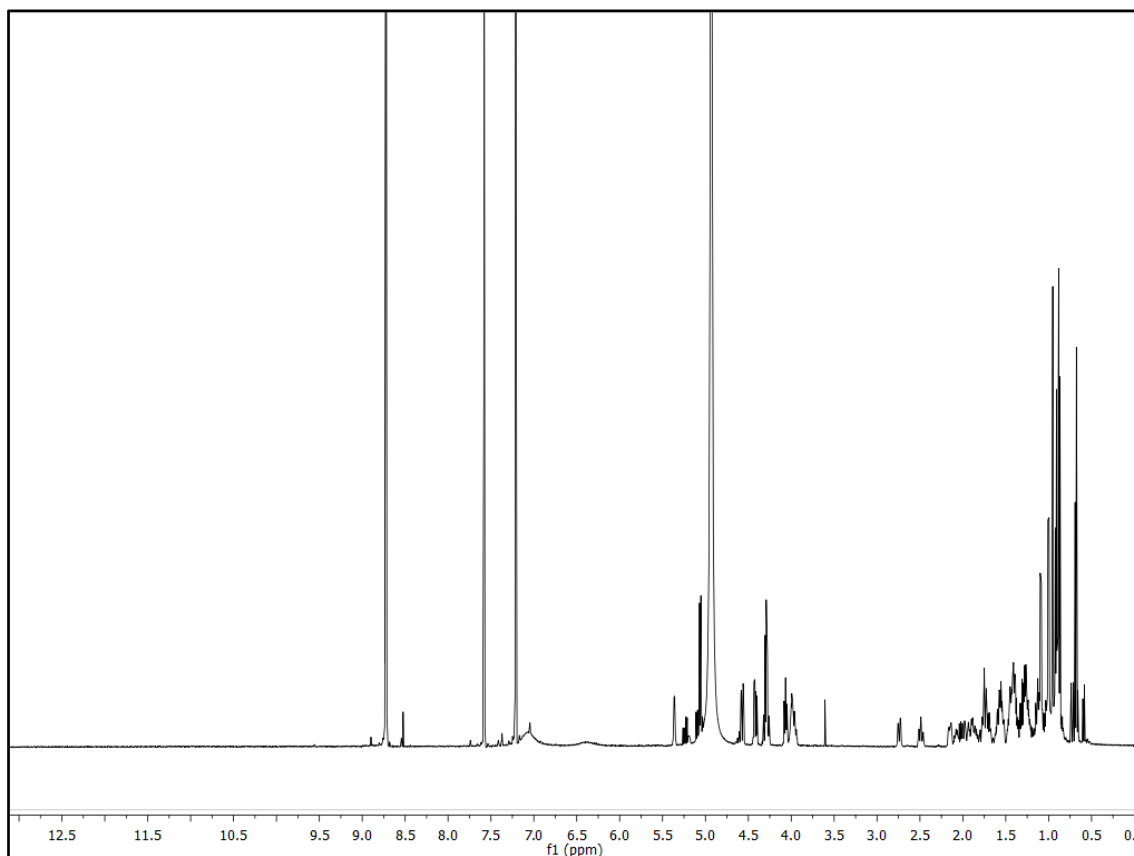


Figura 82. Expansão do espectro de RMN de ^1H ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 500 MHz) de Se-2 na região de 2,2 a 5,8 ppm.

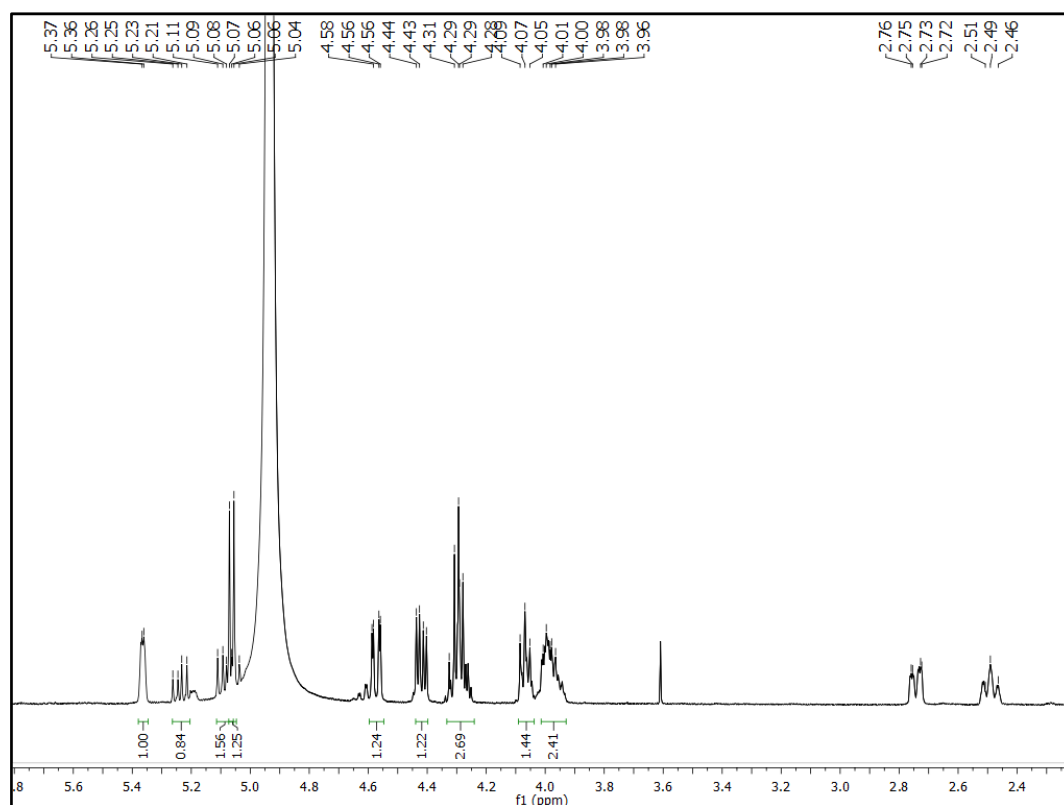


Figura 83. Expansão do espectro de RMN de ^1H ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 500 MHz) de Se-2 na região de 3,8 a 5,6 ppm.

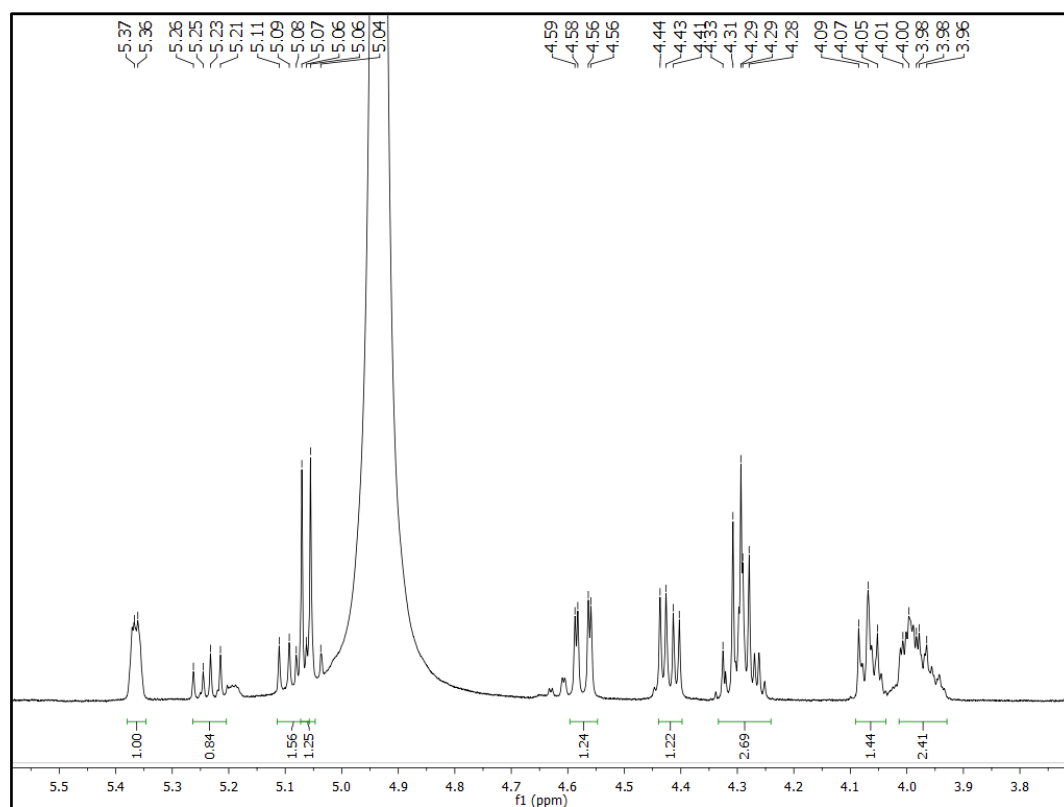
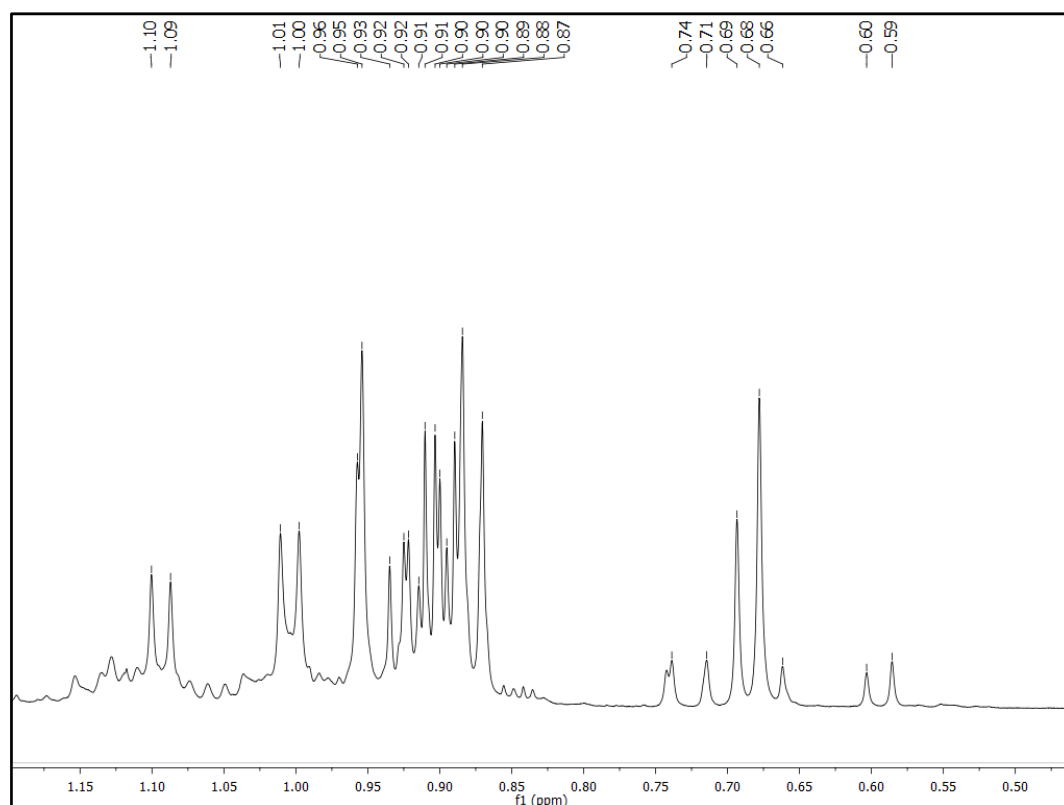


Figura 84. Expansão do espectro de RMN de ^1H ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 500 MHz) de Se-2 na região de 0,5 a 1,2 ppm.



O espectro de RMN de ^{13}C - APT ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 125 MHz) e suas expansões, (Figuras 85 a 88), corroboraram com a proposta anterior, da presença da unidade de glicose, ao mostrar um sinal em δ_{C} 102,9 referente ao carbono anomérico (C-1') da unidade osídica (AQUINO *et al.*, 1988).

Figura 85. Espectro de RMN de ^{13}C – APT ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 125 MHz) de Se-2.

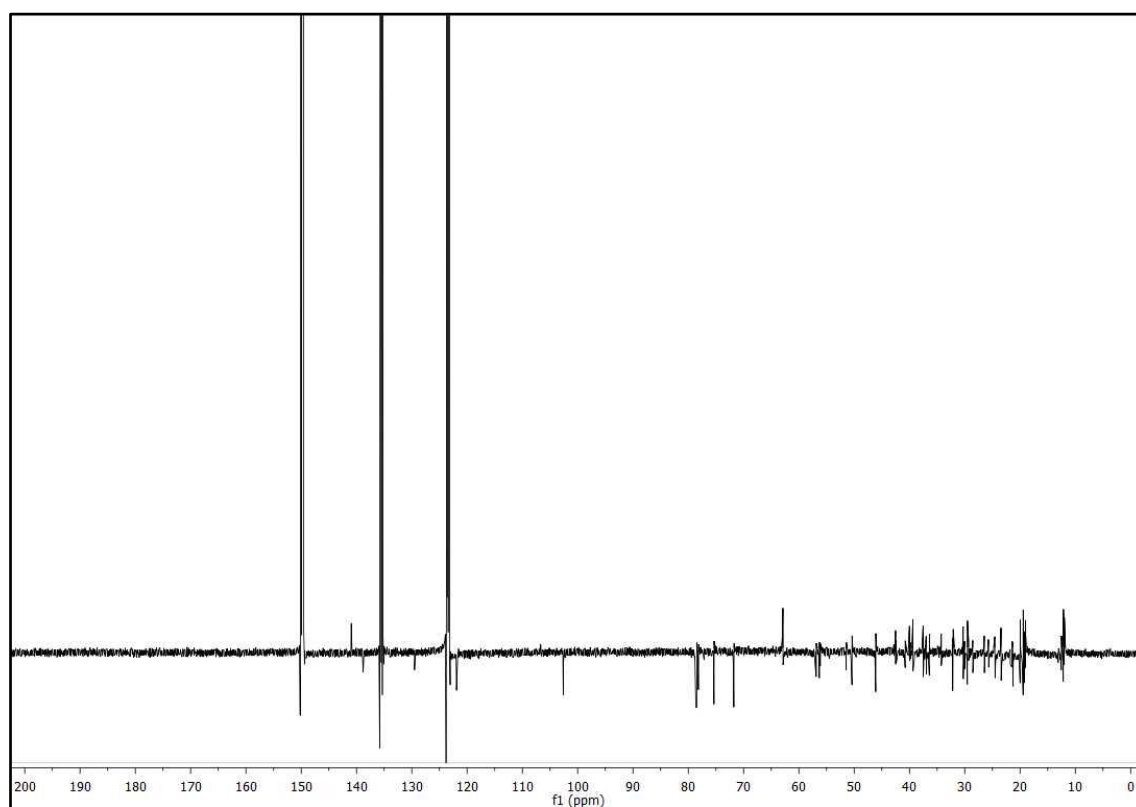


Figura 86. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C – APT ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 125 MHz) de Se-2 na região de 12 a 52 ppm.

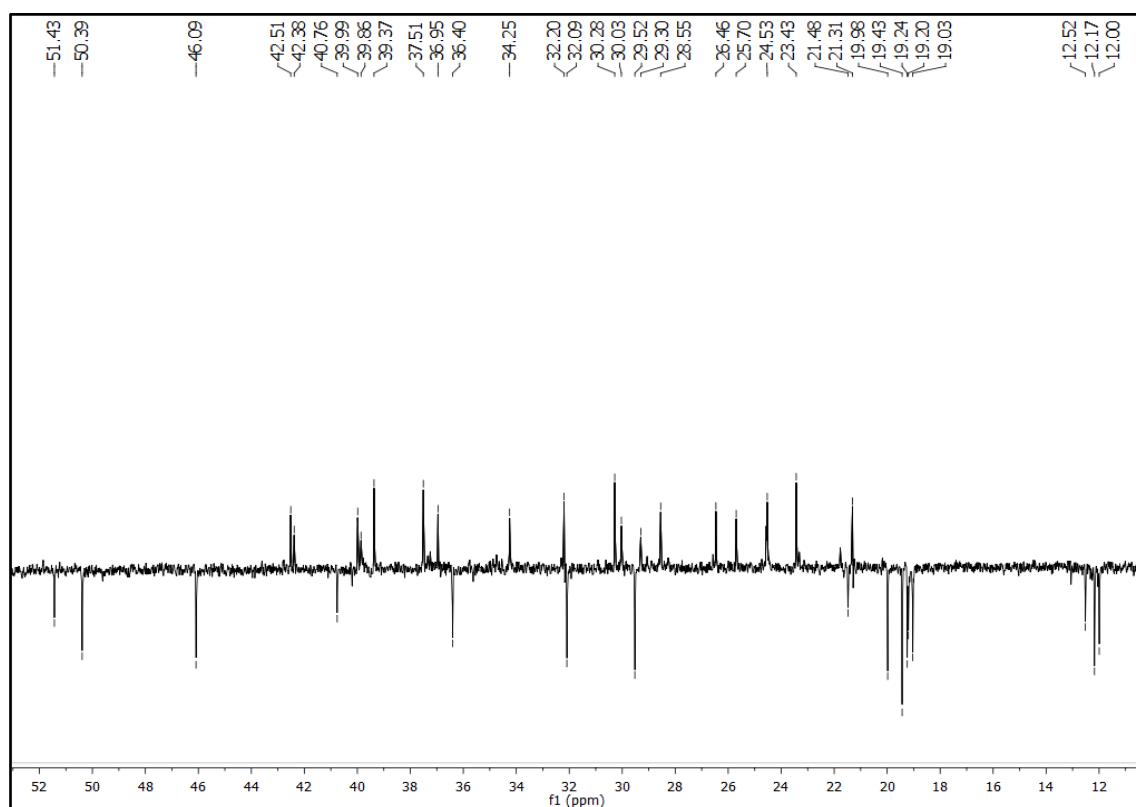


Figura 87. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C – APT ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 125 MHz) de Se-2 na região de 56 a 104 ppm.

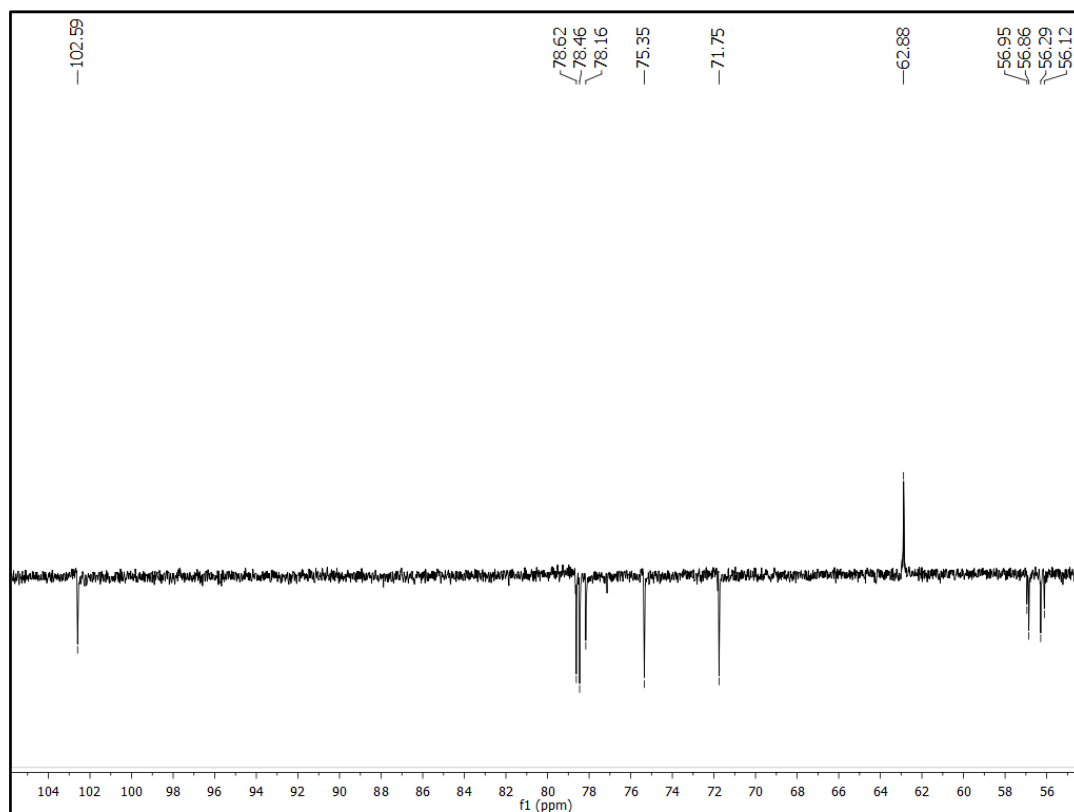
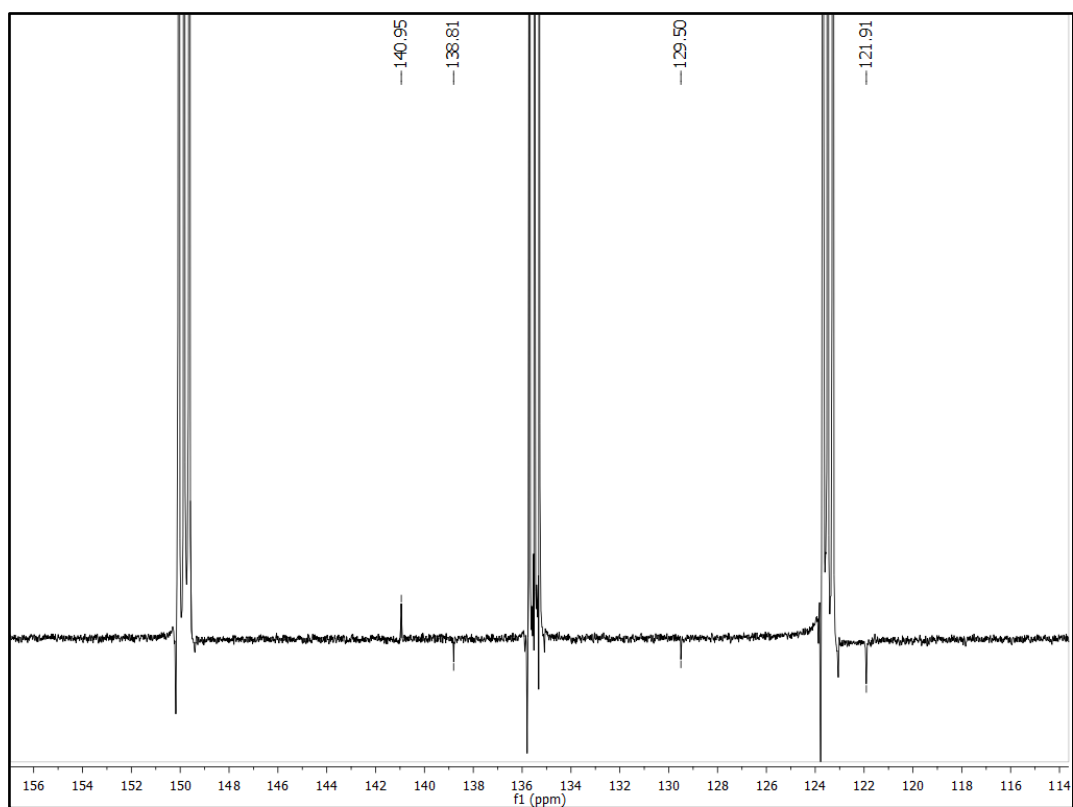


Figura 88. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C – APT ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 125 MHz) de Se-2 na região de 114 a 156 ppm.



Os dados de RMN de ^1H e ^{13}C da mistura foram comparados com valores da literatura (Tabela 8), permitindo identificá-la como estigmasterol-3-O-D-glicopiranosídeo (Se-2a) e sitosterol-3-O-D-glicopiranosídeo (Se-2b) (Figura 89). Estas substâncias já foram isoladas anteriormente em espécies de *Senna*, entretanto não há relato de isolamento em *Senna splendida*.

Figura 89. Estrutura de sitosterol-3-O-D-glicopiranosídeo (Se-2a) e estigmasterol-3-O-D-glicopiranosídeo (Se-2b).

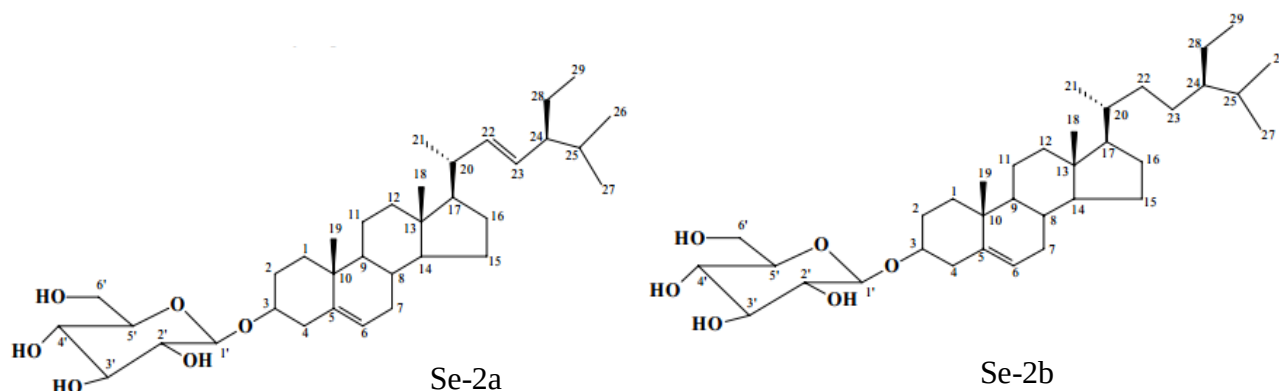


Tabela 8. Dados de RMN de ^{13}C ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 500 MHz) para Se-2 e comparação com os dados da literatura (SAEIDNIA *et al.*, 2011; MAIA, 2008).

	Estigmasterol Glicosilado (SAEIDNIA <i>et al.</i>, 2011)	Se-2a	Se-2b	β-sitosterol Glicosilado (MAIA, 2008)
1	37,4	37,51	37,51	37,33
2	30,2	30,29	30,04	30,11
3	78,5	78,46	78,46	78,30
4	43,9	42,52	39,37	39,40
5	141,5	140,95	140,95	141,0
6	121,1	121,67	121,67	122,0
7	31,9	32,20	32,20	32,20
8	31,9	32,09	32,09	32,10
9	50,7	50,39	50,39	50,40
10	36,9	36,96	36,96	37,00
11	21,1	21,31	21,31	21,4
12	39,9	39,96	39,99	40,0
13	43,0	42,39	42,39	42,40
14	56,9	56,96	56,29	56,3
15	24,5	24,56	24,53	24,6
16	28,9	29,30	28,55	28,7
17	56,0	56,12	56,87	56,5
18	12,0	12,00	12,00	12,0

19	19,4	19,25	19,25	19,3
20	40,5	40,76	36,41	36,25
21	21,9	21,77	19,20	19,10
22	138,9	138,81	34,25	34,3
23	129,1	129,5	26,47	26,4
24	52,1	51,44	46,09	46,10
25	32,9	29,53	29,53	29,5
26	19,0	19,04	19,44	19,50
27	21,7	21,48	19,98	20,10
28	25,6	25,70	23,44	23,40
29	12,2	12,52	12,18	12,20
1'	102,8	102,6	102,6	102,6
2'	74,2	75,35	75,35	75,4
3'	79,8	78,62	78,62	78,7
4'	70,6	71,76	71,76	71,7
5'	76,7	78,17	78,17	77,5
6'	62,3	62,89	62,89	62,9

Estudos *in vivo* em animais demonstraram que o β -sitosterol glicosilado exibiu atividades antiinflamatória, antineoplásica, antipirética e imunomodulatória (BOUIC *et al.*, 1999), enquanto que o estigmasterol glicosilado apresenta atividade anti-inflamatória e analgésica (CARVALHO, 2009). Apesar de serem substâncias bastante comuns em plantas, esse é o primeiro relato do isolamento desses compostos em *Senna splendida*.

5.1.6 Determinação estrutural de Se-3

No espectro de RMN de ^1H (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) de Se-3 e suas expansões (Figura 90 a 93), foram observados cinco sinais para hidrogênios aromáticos, sendo estes, dois dubletos em δ_{H} 6,73 (2H, d, $J = 2,0$ Hz) e δ_{H} 6,94 (2H, d, $J = 1,5$ Hz), acoplando meta entre si, e três singletos em δ_{H} 7,19 (2H, s), δ_{H} 7,17 (1H, s) e δ_{H} 7,10 (1H).

Além disso, também foi observado um singlete em δ_{H} 6,19 (2H) característico de próton olefínico, um dubleto em δ_{H} 5,00 ($J = 8,0$ Hz) e sinais na região de δ_{H} 4,5 a 5,5, característicos de hidrogênios de unidade osídica, e 4 singletos em δ_{H} 2,39 (6H), 2,29 (3H), 3,91 (3H) e 3,87 (6H), sendo os dois primeiros, característicos de metila ligada a carbono sp^2 e os dois últimos característicos de metoxila.

Um aumento na janela do RMN de ^1H para 16 ppm (Figura 90) também possibilitou observar um singlete largo para hidrogênio de hidroxila quelada em δ_{H} 14,90.

Figura 90. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) de Se-3 com expansão na região de 13 a 16 ppm.

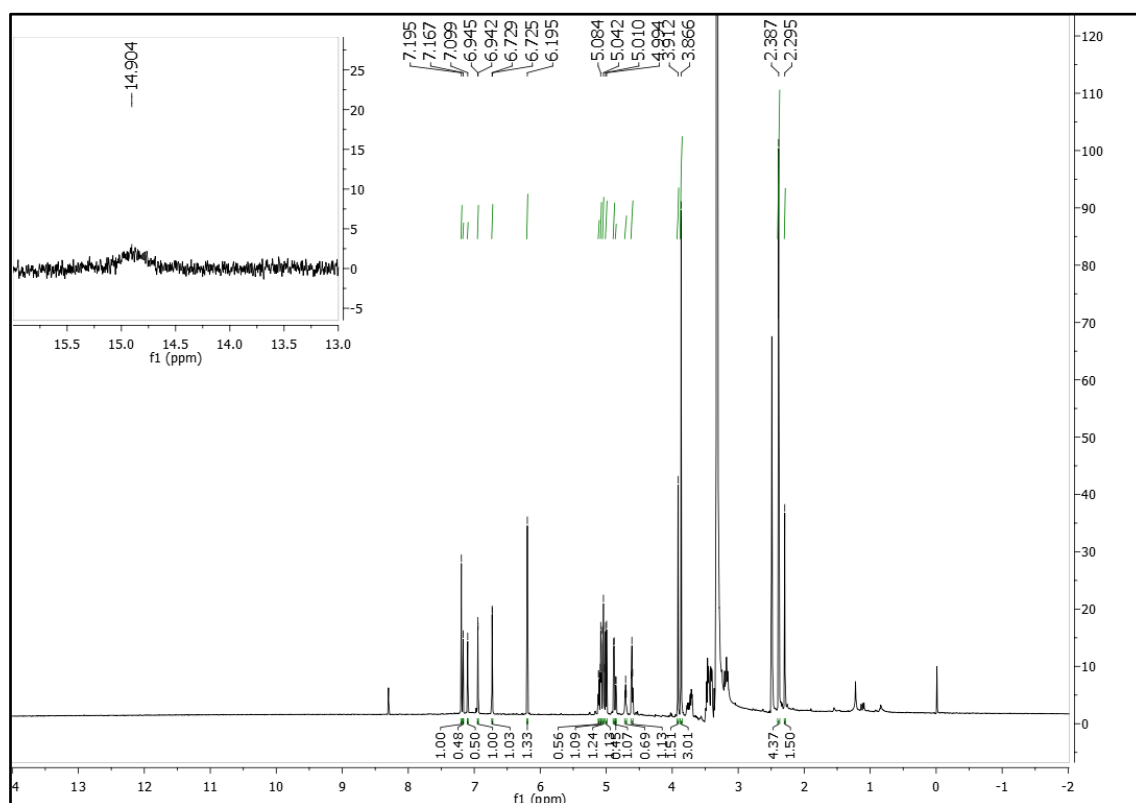


Figura 91. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de Se-3 na região de 7,4 - 6,5 ppm.

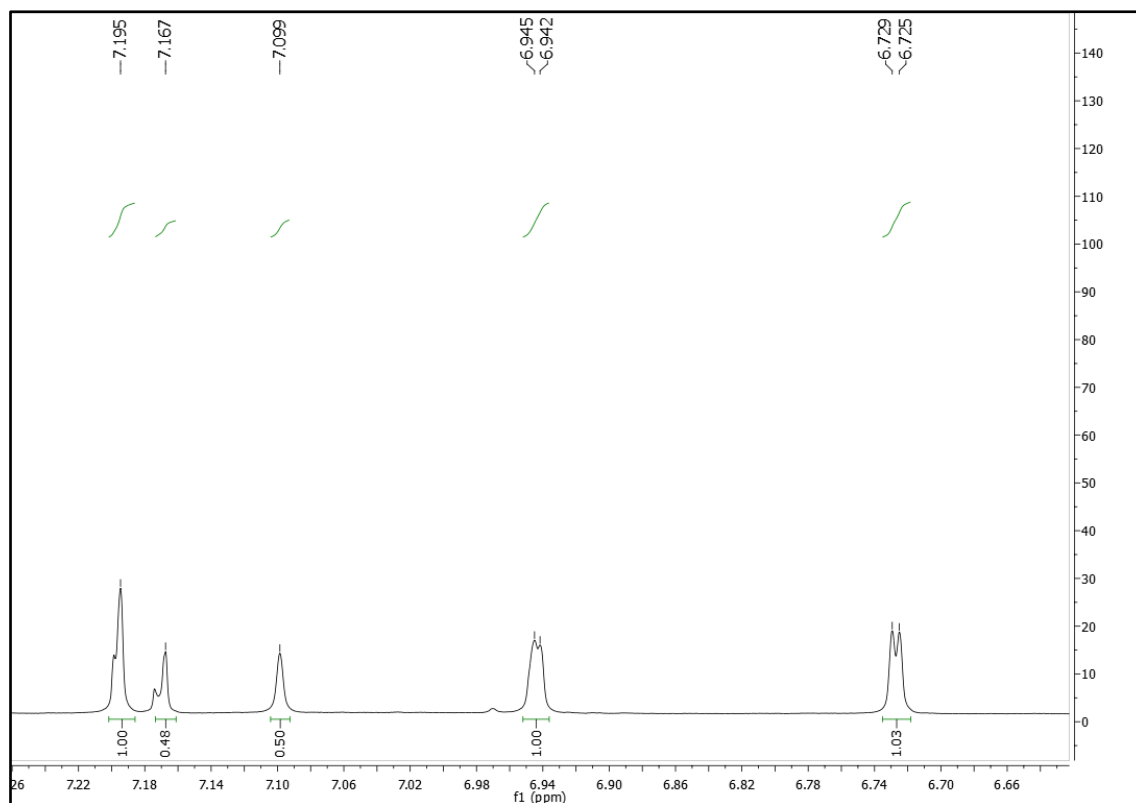


Figura 3092. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de Se-3 na região de 5,2 - 3,8 ppm.

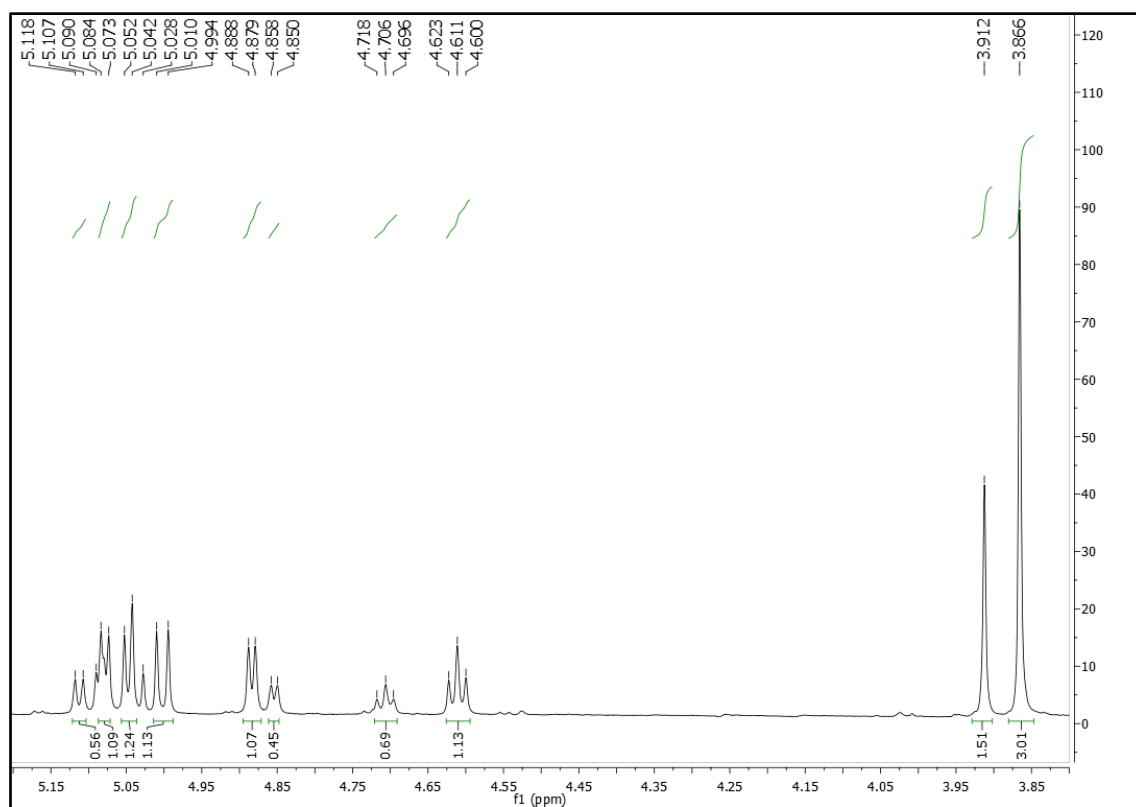
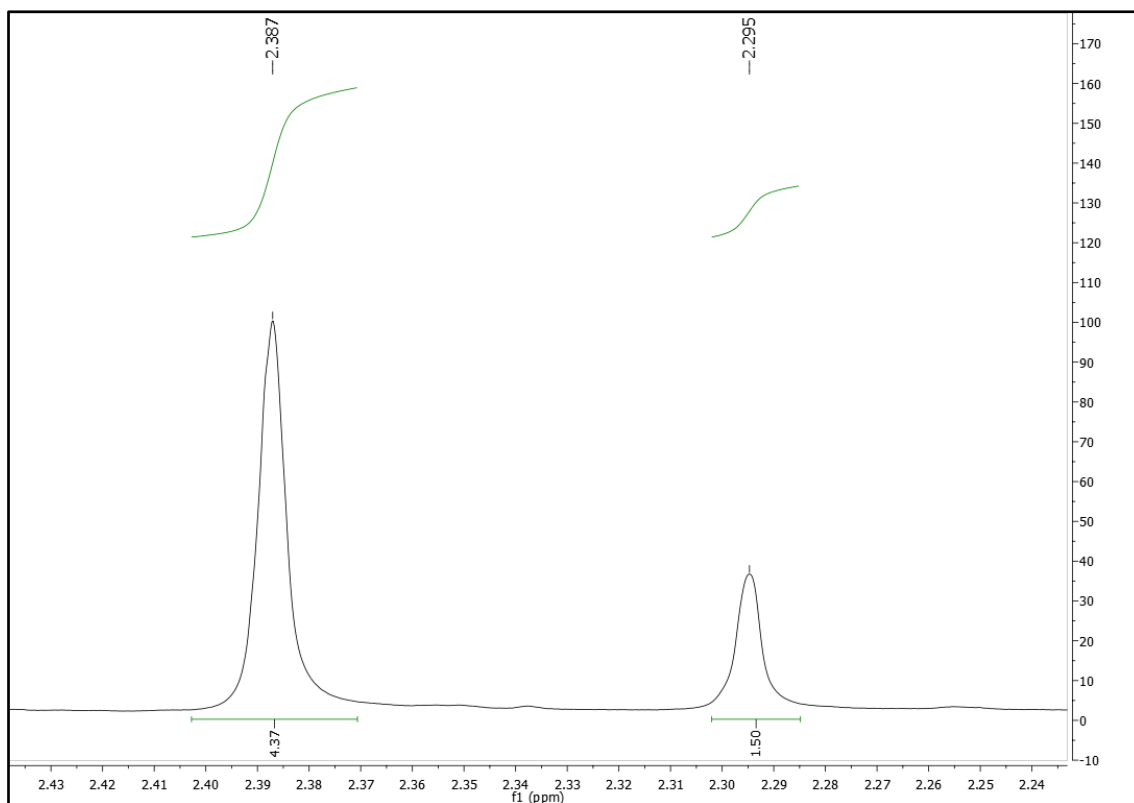


Figura 93. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de Se-3 na região de 2,4 - 2,2 ppm.



No espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de Se-3 e suas expansões (Figura 94 a 98) foram observados trinta e cinco sinais, correspondentes a quarenta e dois carbonos, sendo quinze sinais correspondentes à 19 carbonos não hidrogenados, dezesseis à carbono metínico (sendo sete destes atribuídos a carbonos sp^2 – δ_{C} 97,4; 97,8; 99,7; 100,9; 101,1; 106,7 e 107,5 e nove a carbonos sp^3 oxigenados, característicos de unidade osídica), um à metilênico (δ_{C} 60,8), atribuído à dois, e quatro à metílico (sendo dois característicos de metila sobre dupla, δ_{C} 20,2 e 10,5, e dois característicos de metoxilas, δ_{C} 55,9 e 55,4).

Figura 94. Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de Se-3.

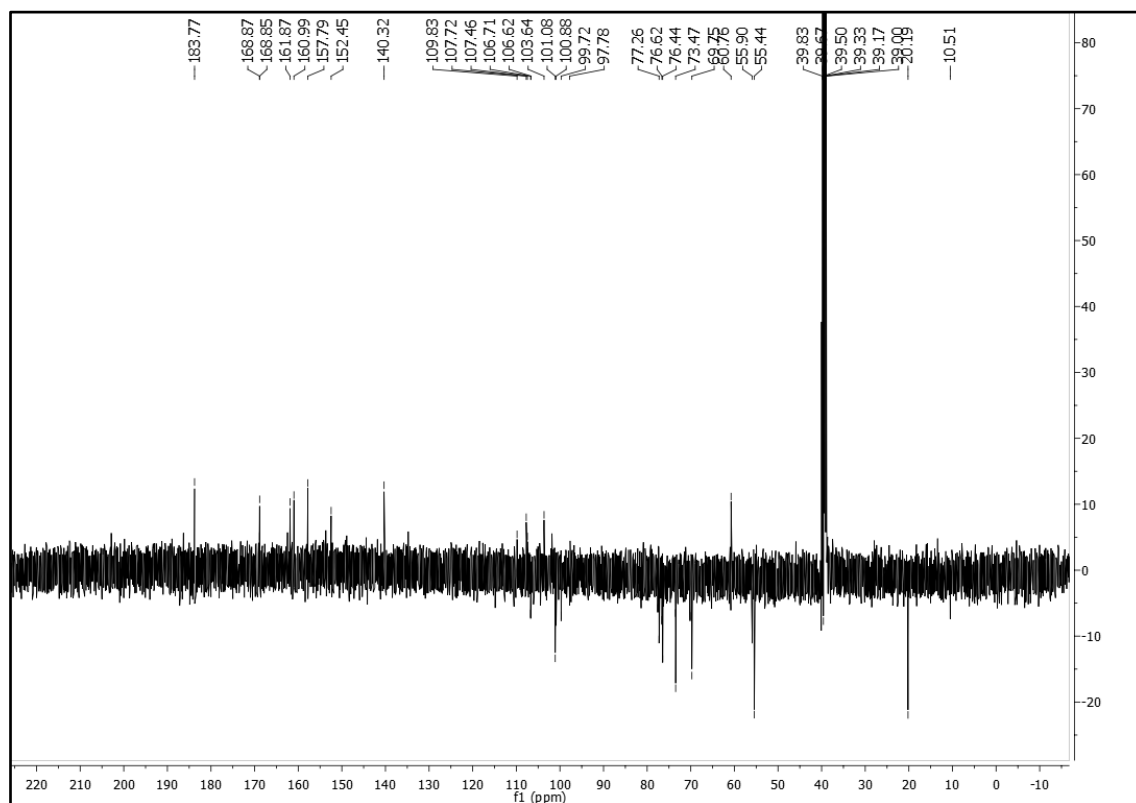


Figura 95. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de Se-3 na região de 190 - 134 ppm.

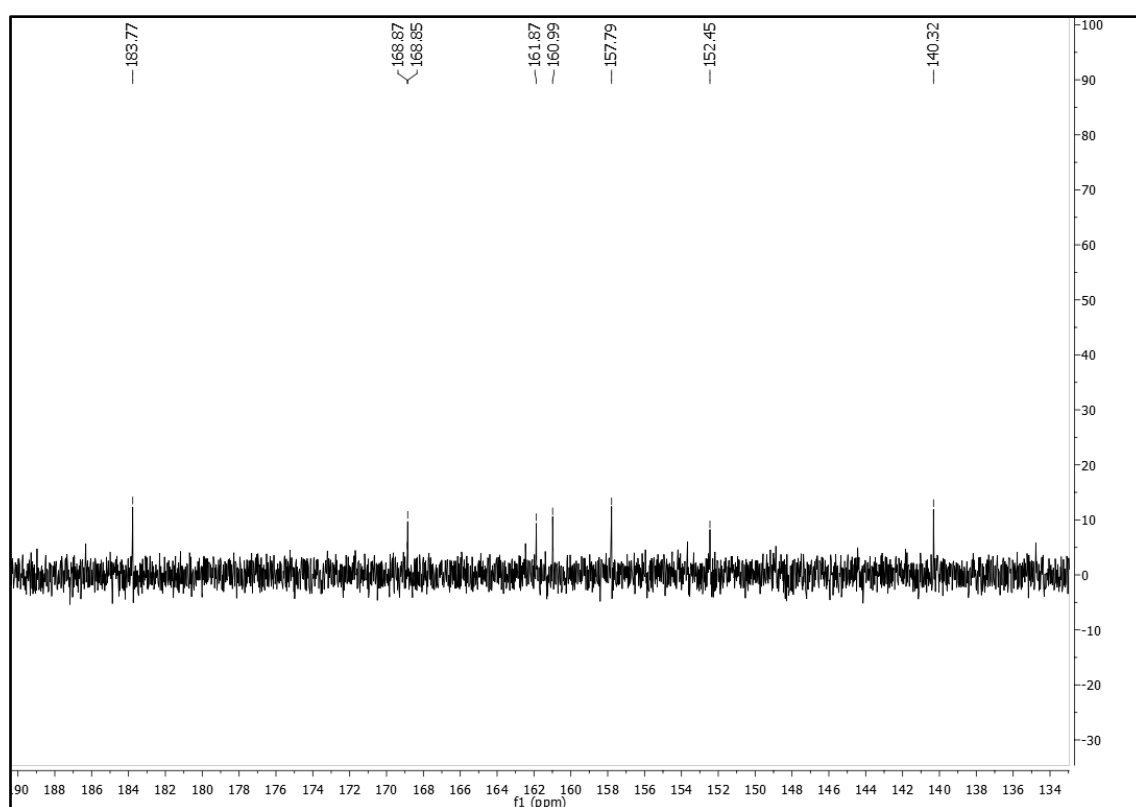


Figura 96. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) de Se-3 na região de 120 - 93 ppm.

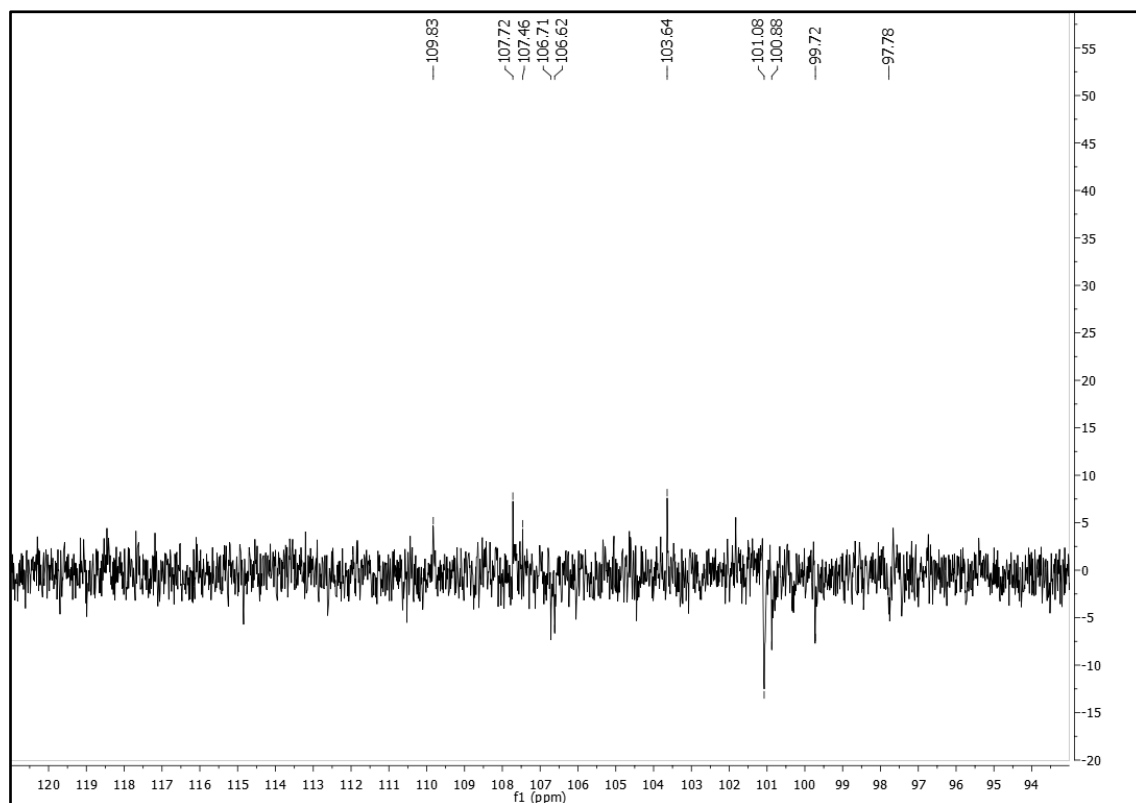


Figura 97. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) de Se-3 na região de 85 - 51 ppm.

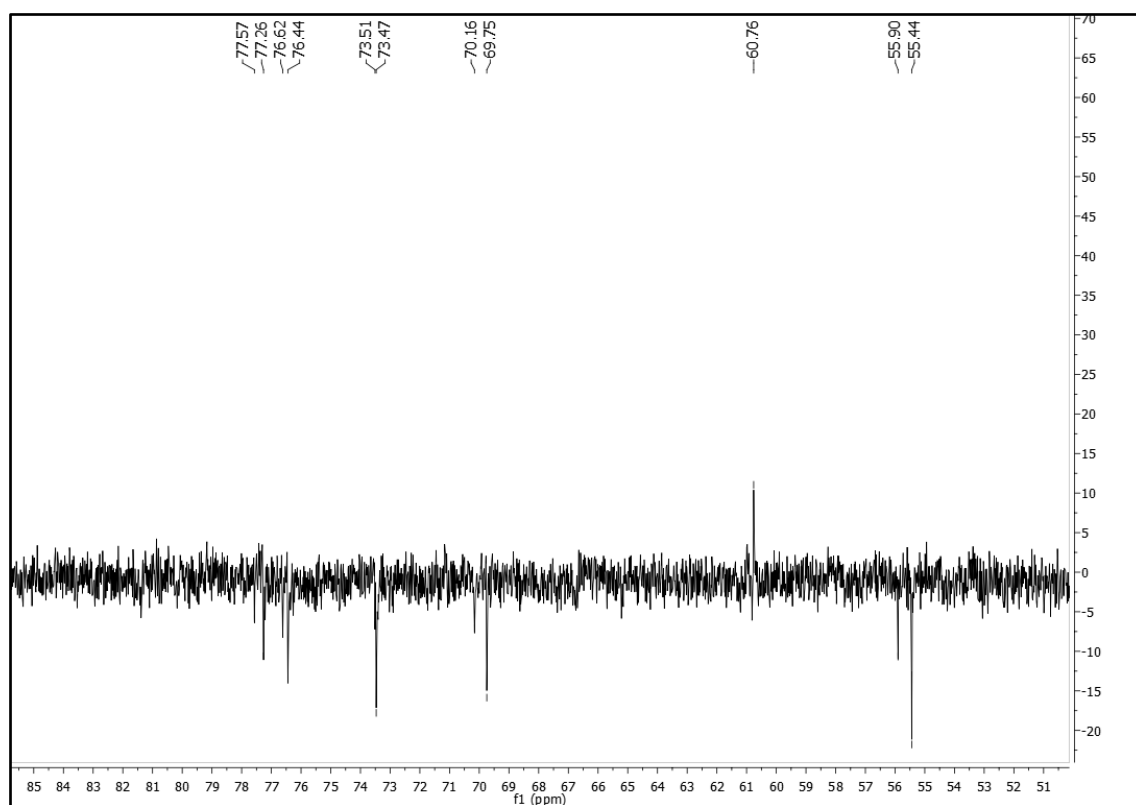
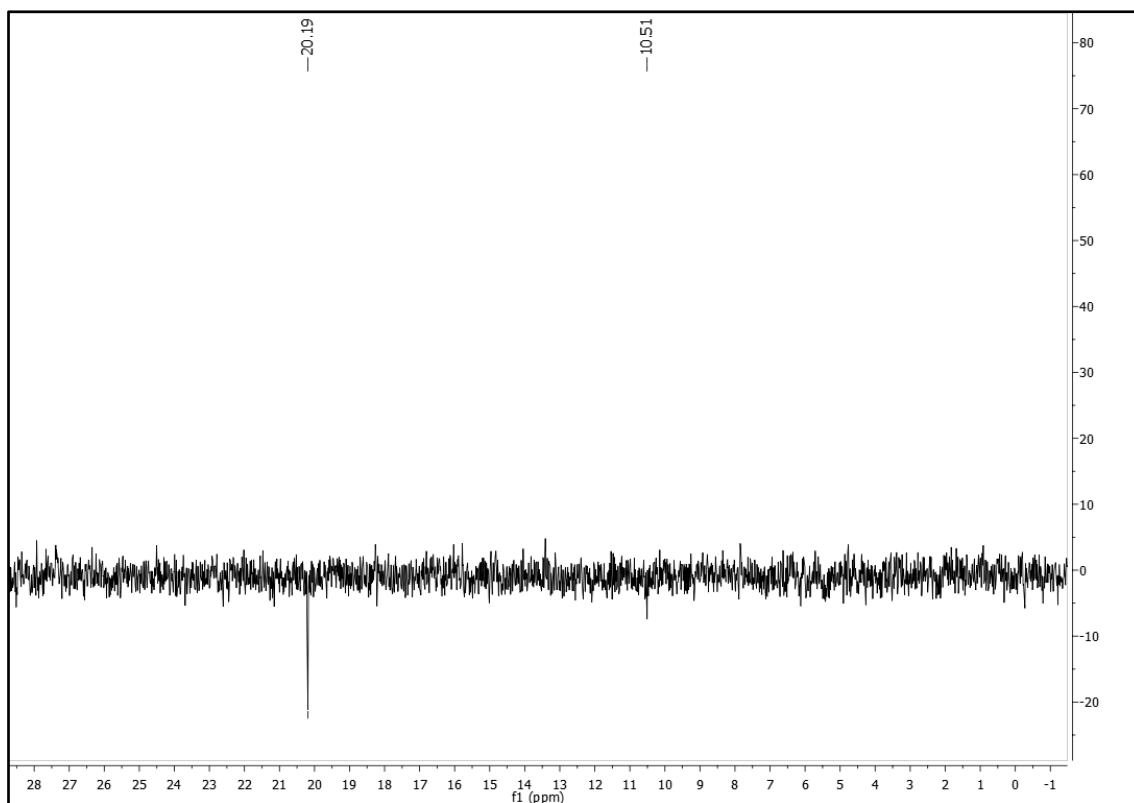
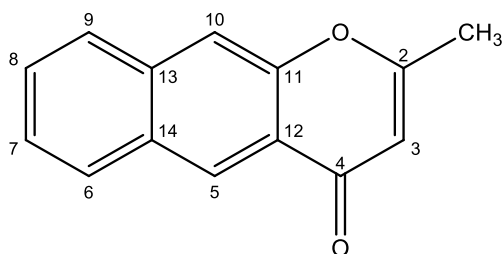


Figura 98. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de Se-3 na região de 28 - 0 ppm.



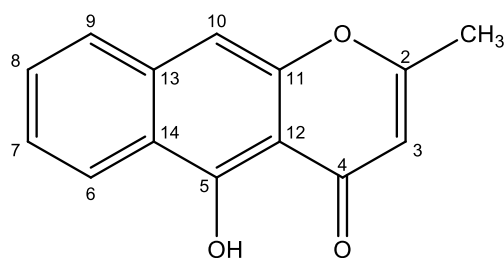
De acordo com Shen e colaboradores (2006), a presença de 12 sinais para carbonos aromáticos, um sinal em δ_c 183,8, característico de carbonila de γ -lactona e um sinal para metila em δ_c 20,2, possibilitam sugerir um esqueleto do tipo metil-benzocromona ou metil-naftopirona (Figura 99) para Se-3.

Figura 99. Estrutura da metil-benzocromona ou metil-naftopirona.



A presença de sinal para hidrogênio de hidroxila quelada no RMN de ^1H , nos possibilitou inserí-la na posição 5 do esqueleto, como demonstrado na figura 100.

Figura 100. Inserção da hidroxila em C-5.



O sinal para próton olefínico observado no espectro de RMN de ^1H em δ_{H} 6,19 foi atribuído ao hidrogênio 3 do esqueleto. Após essa atribuição foi possível identificar C-3 pelo HMQC (Figura 101), como sendo o sinal em δ_{C} 106,6. A inserção da metila na posição 2 foi confirmada através das correlações observadas no HMBC (Figura 102) entre o hidrogênio 3 (δ_{H} 6,19) e o carbono da metila em δ_{C} 20,2 (CH_3) e entre os hidrogênios da metila em δ_{H} 2,39 e o C-3 (δ_{C} 106,6).

Figura 101. Espectro HMQC (DMSO- d_6 , 500 e 125 MHz) de Se-3.

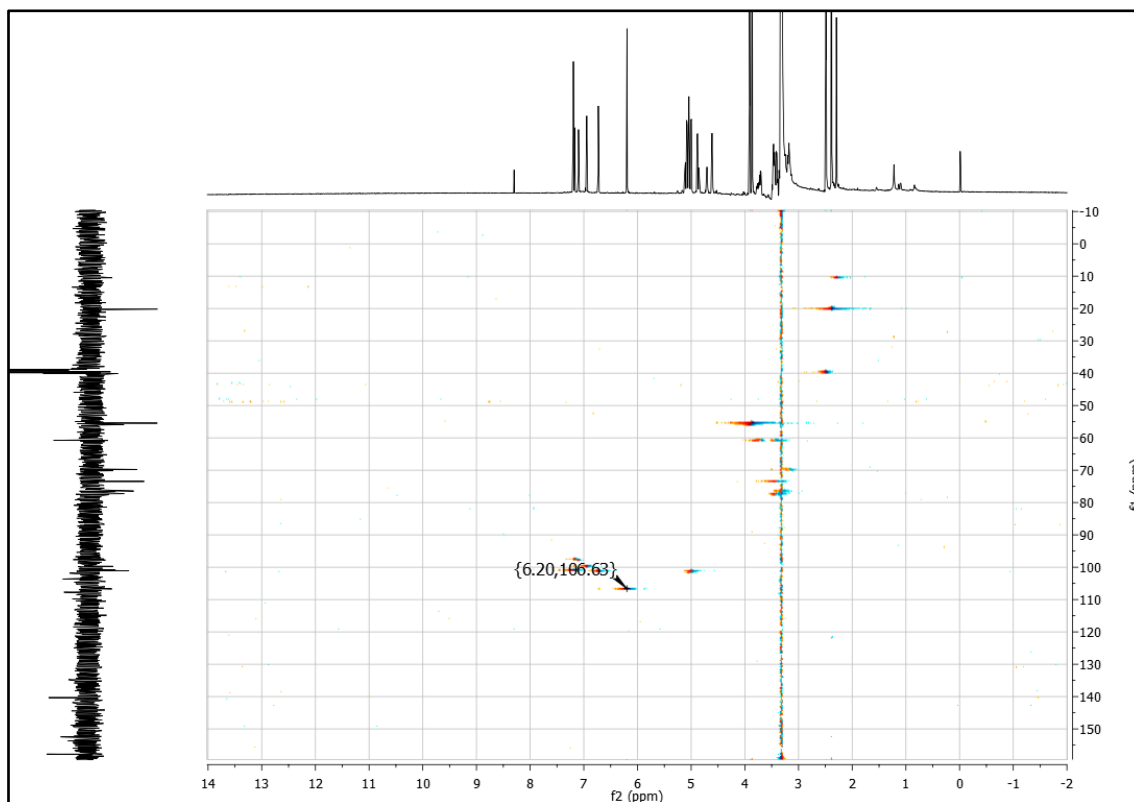
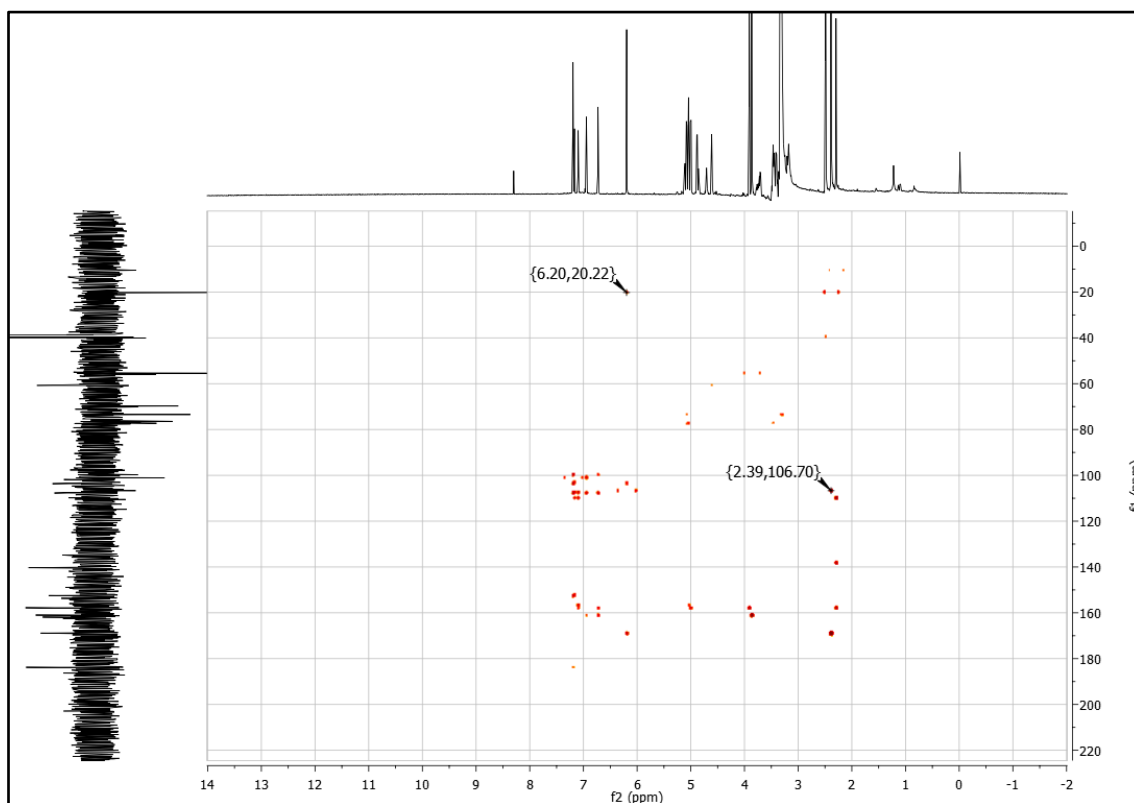


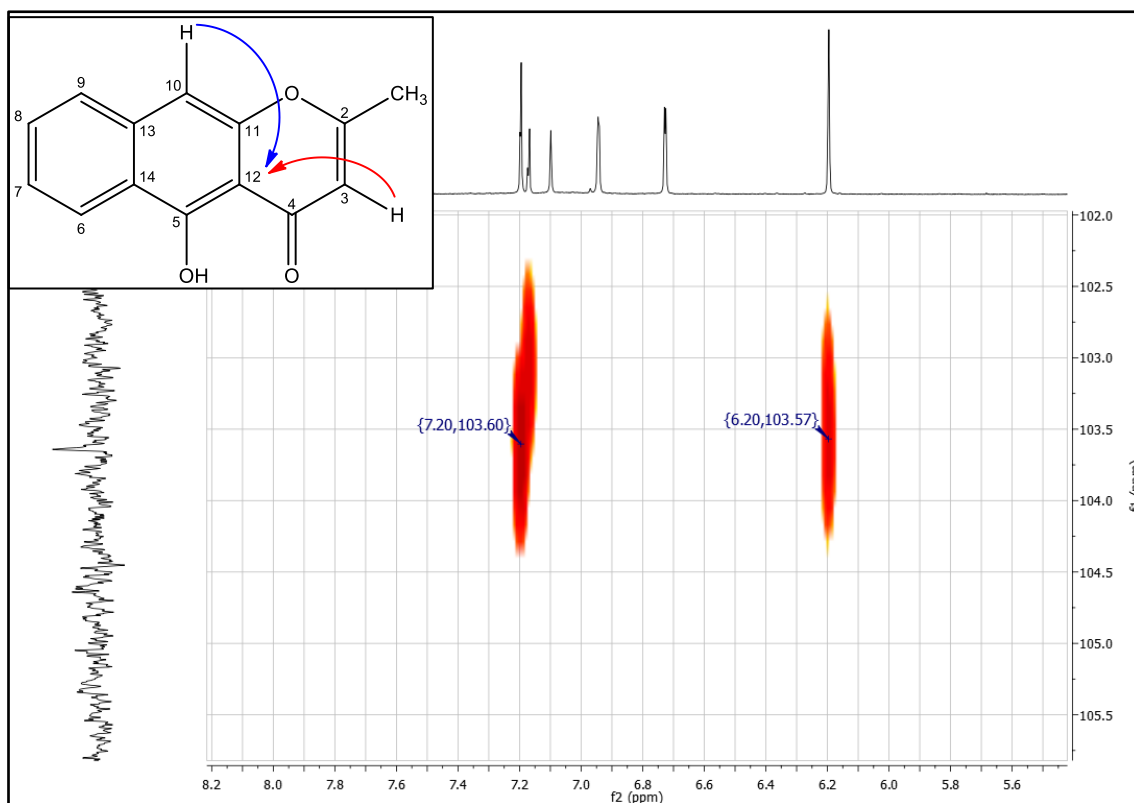
Figura 102. Espectro HMBC (DMSO- d_6 , 500 e 125 MHz) de Se-3.



Dentre os sinais para carbonos aromáticos, os sinais desprotegidos em δ_c 157,7, 160,9 e 161,7, nos permitiram inferir a presença de substituintes oxigenados no esqueleto de Se-3 (MESSANA *et al*, 1991).

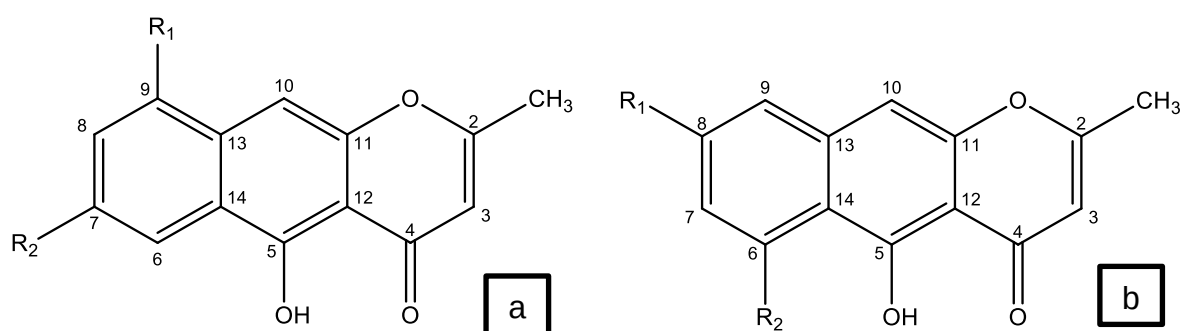
A correlação observada no HMBC (Figura 103) entre o hidrogênio δ_H 6,19 e δ_c 103,6 permitiu atribuir este valor ao C-12. A correlação entre δ_H 7,19 e o sinal para carbono C-12, contribuiu para determinar que C-10 é um carbono sem substituição, já que esta correlação só é possível se C-10 for hidrogenado (δ_H 7,19).

Figura 31103. Expansão do espectro HMBC (DMSO- d_6 , 500 e 125 MHz) de Se-3 na região de (106-102 ppm) x (8,2-5,5 ppm).



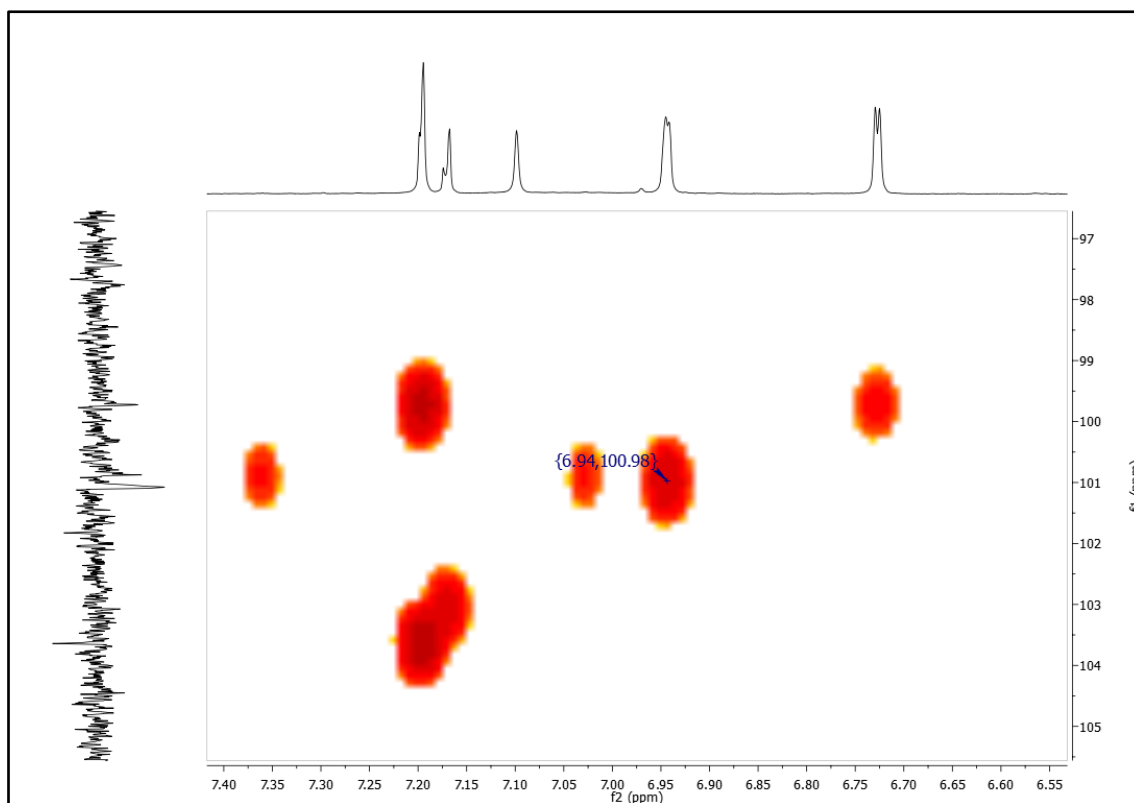
A presença dos dois dubletos acoplando meta entre si, no RMN de ^1H nos permitiram sugerir duas possibilidades estruturais, (a) e (b) (Figura 104).

Figura 104. Possibilidades estruturais para Se-3.



No espectro HMBC (Figura 105), a correlação entre o sinal δ_{H} 6,94 e o carbono em δ_{C} 100,9, atribuído a C-10 pelo HMQC, nos permitiu atribuir o primeiro ao hidrogênio 9. Dessa forma, foi possível identificar que Se-3 apresentava possibilidade estrutural (b).

Figura 105. Expansão do espectro HMBC (500 e 125 MHz, DMSO- d_6) de Se-3 na região de (106-97 ppm) x (7,4-6,3 ppm).



Os sinais em δ_H 3,87 e δ_C 55,4, observados no RMN de ^1H e ^{13}C , respectivamente, nos permitiram inferir a presença de uma metoxila com substituinte, sinais na região de 5 ppm e entre 3 - 4 ppm, indicaram uma unidade osídica como outro substituinte.

No mapa de contorno NOESY (Figura 106) foram observadas correlações entre os hidrogênios da metoxila (δ_H 3,87) e H-7 (δ_H 6,72) e H-9 (δ_H 6,94) e entre o hidrogênio anomérico da unidade osídica (δ_H 5,01) com o H-7, possibilitando inserir a metoxila na posição 8 e a unidade osídica na posição 6 (Figura 107).

Figura 106. Expansão do mapa de contorno NOESY (500 MHz, DMSO- d_6) de Se-3 a região de (7,5-3,5) x (7,0-4,0).

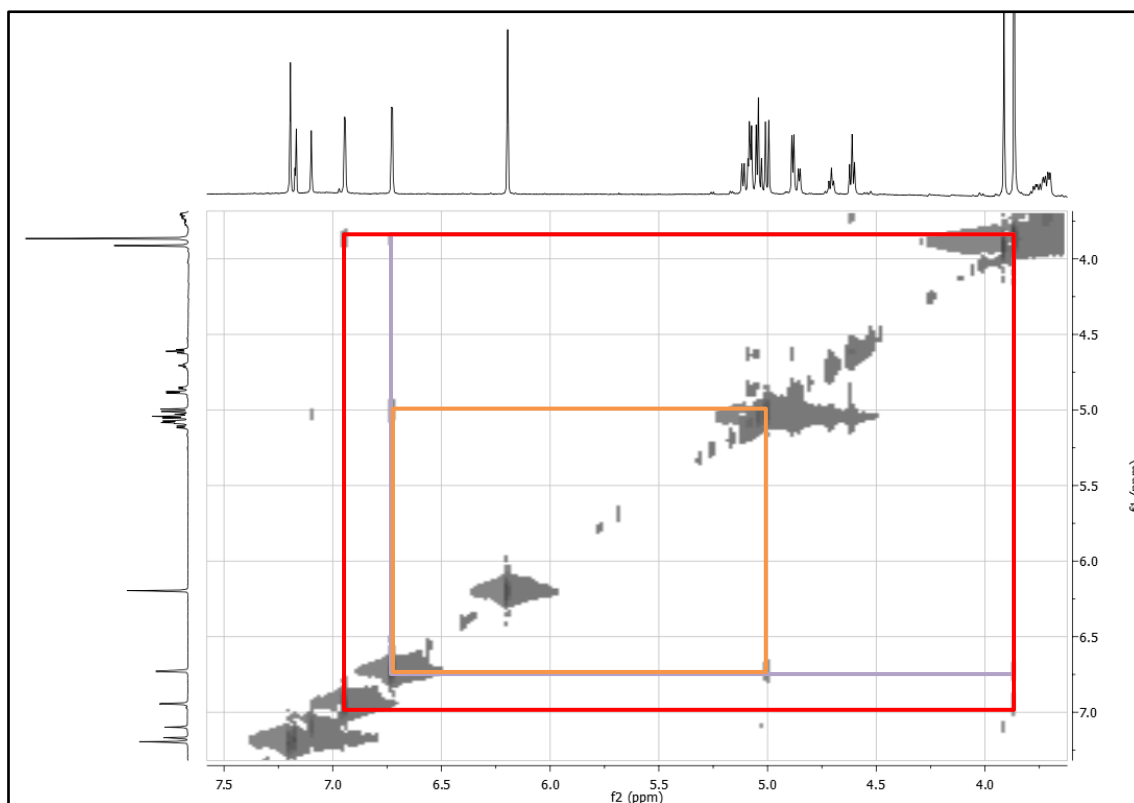
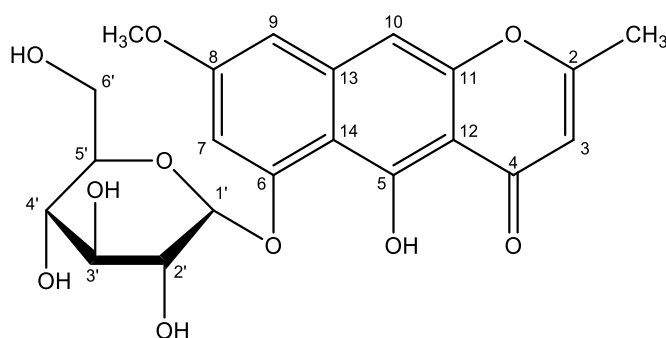


Figura 107. Estrutura de Se-3.

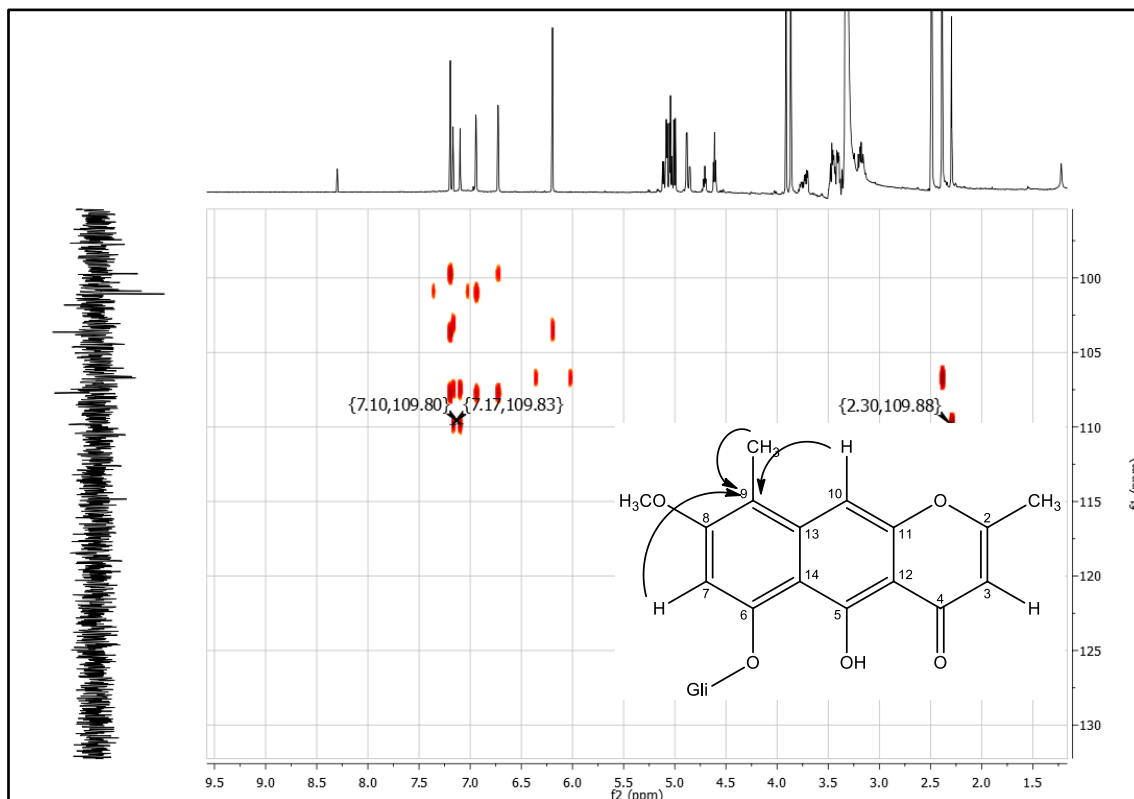


A diferença entre a integral dos sinais em δ_H 7,17, 7,10, 6,19 e 2,29 observados no RMN de ^1H e a integral dos outros sinais de hidrogênio discutidos até o momento, associada à presença de sinais dobrados no RMN de ^{13}C , nos permitiu sugerir que Se-3 se tratava de uma mistura (Se-3 e Se-3').

A multiplicidade dos sinais δ_H 7,17 (s, 1H), 7,10 (s, 1H) e 6,19 (s, 1H) e a presença dos sinais δ_H 2,29 e δ_C 10,5, nos permitiu inferir que Se-3' se tratava de Se-3 com a inserção de um metila.

A metila foi inserida na posição 9 devido a observação de correlação entre os hidrogênios da metila (δ_H 2,29) e o sinal em δ_C 109,8 e entre esse último e o H-10 (δ_H 7,17) e o H-7 (δ_H 7,10), no espectro HMBC (Figura 108).

Figura 108. Expansão do espectro HMBC de Se-3 na região de (9,5-1,5 ppm) x (130-90 ppm).



Após análise dos espectros uni e bidimensionais de RMN de Se-3 e sua comparação com a literatura (LI *et al.*, 2001; MESSANA *et al.*, 1991) (Tabelas 9 e 10), foi possível identificarmos essa amostra como sendo uma mistura da rubrofusarina-6-O- β -D-glicopiranosídeo (Se-3) e da quinquangulina-6-O- β -D-glicopiranosídeo (Se-3') (Figura 109).

Tabela 9. Comparação dos dados de RMN de ^1H de Se-3 com a literatura (MESSANA *et al.*, 1991; LI *et al.*, 2001).

Posição	Se-3	Rubrofusarina -6-O- β -D- glicopiranosídeo* (MESSANA <i>et al.</i> , 1991)	Se-3'	Quinquangulina- 6-O- β -D- glicopiranosídeo* (LI <i>et al.</i> , 2001)
	^1H		^1H	
2	-	-	-	-
3	6,19	6,18	6,19	6,18
4				
5				
6				
7	6,72 (d, $J = 2,0$ Hz)	6,72 (d, $J = 2,0$ Hz)	7,10 s	7,09 s
8				
9	6,94 (d, $J = 1,5$ Hz)	6,93 (d, $J = 2,1$ Hz)		
10	7,19	7,19	7,17	7,15
11				
12				
13				
14				
Me-2	2,39 s		2,39 s	2,38 s
OMe	3,87 s		3,92 s	3,91 s
Me-9			2,29 s	2,29 s
1'	5,01 (d, $J = 8,0$ Hz)		5,03 (d, $J = 8,0$ Hz)	5,03 (d, $J = 7,6$ Hz)

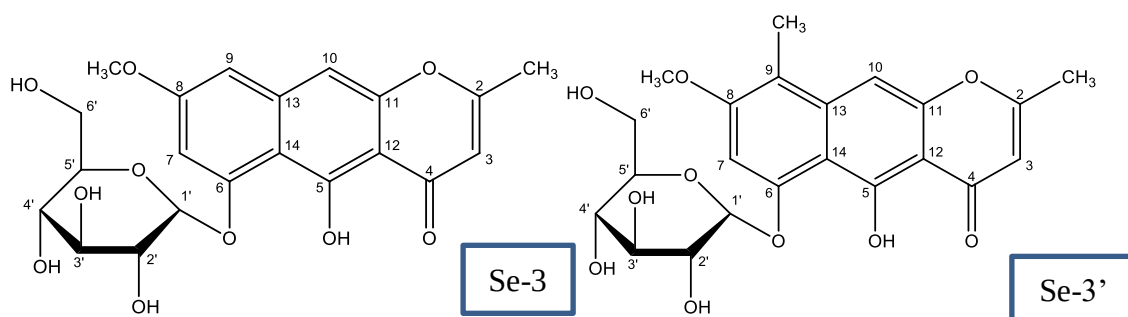
* Solvente utilizado: DMSO- d_6 .

Tabela 10. Comparação dos dados de RMN de ^{13}C de Se-3 com a literatura (MESSANA *et al.*, 1991; LI *et al.*, 2001).

Posição	Se-3	Rubrofusarina -6-O- β -D- glicopiranosídeo* (MESSANA <i>et al.</i> , 1991)	Se-3'	Quinquangulina-6-O- β -D- glicopiranosídeo* (LI <i>et al.</i> , 2001)
2	168,8	168,7	168,9	169,0
3	106,7	106,6	106,6	106,7
4	183,8	183,6	183,8	183,8
5	161,9	160,9	161,9	162,4
6	157,8	157,7	156,6	156,7
7	101,1	99,8	97,8	97,9
8	160,9	161,7	157,8	157,7
9	99,7	100,8	109,8	109,9
10	100,9	101,2	97,4	97,5
11	152,4	152,3	152,4	152,2
12	103,6	103,6	103,6	103,1
13	107,7	108,0	107,5	106,6
14	140,3	140,2	138,2	138,2
Me-2	20,2	20,2	20,2	20,1
OMe	55,4	55,5	55,9	55,9
Me-9	-	-	10,5	10,5
1'	101,1	101,1	101,7	101,8
2'	73,5	73,4	73,5	73,5
3'	77,3	77,2	76,6	76,6
4'	69,7	69,8	69,7	70,2
5'	76,4	76,4	77,6	77,6
6'	60,8	60,7	60,8	61,0

* Solvente utilizado: DMSO.

Figura 109. Fórmula estrutural da rubrofusarina-6-O- β -D-glicopiranosídeo (Se-3) e da quinquangulina-6-O- β -D-glicopiranosídeo (Se-3').



Rubrofusarina-6-O- β -D-glicopiranosídeo e quinquangulina-6-O- β -D-glicopiranosídeo já foram isoladas *Senna alata* e *Senna quinquangulata* (MACEDO, 2011), sendo seu primeiro relato na espécie em estudo. Segundo

Messana e colaboradores (1991), compostos da classe das naftopironas glicosiladas apresentam atividade hepato-protetora e segundo Jing *et al.* (2011), rubrofusarina-6-*O*- β -D-glicopiranosídeo apresenta atividade forte atividade como sequestradora do radical DPPH (atividade antioxidante), apresentando uma CE₅₀ de 40,2 micromol/L (17,46 μ g/mL)

5.1.7 Determinação estrutural de Se-4

O espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Se-4 e suas expansões (Figura 110 a 113) mostrou três singletos para hidrogênios aromáticos (δ_{H} 7,68, 7,17 e 7,09), três duplos dubletos em δ_{H} 6,95 (1H, $J = 8,0$ e $0,5$ Hz), δ_{H} 6,84 (1H, $J = 2,0$ e $0,5$ Hz) e δ_{H} 6,81 (1H, $J = 8,0$ e $1,5$ Hz), característicos de um sistema ABX e dois dubletos em δ_{H} 6,07 (1H, $J = 1,0$ Hz) e 6,03 (1H, $J = 1,5$ Hz), característicos de grupo metilenodioxí. Além desses sinais, também foi observado um dubleto em δ_{H} 5,36 (2H, $J = 1,0$ Hz) e dois singletos em δ_{H} 4,03 e 3,79, para três hidrogênios cada, indicativos de duas metoxilas.

Figura 110. Espectro de RMN de ^1H de Se-4 (500 MHz, CDCl_3).

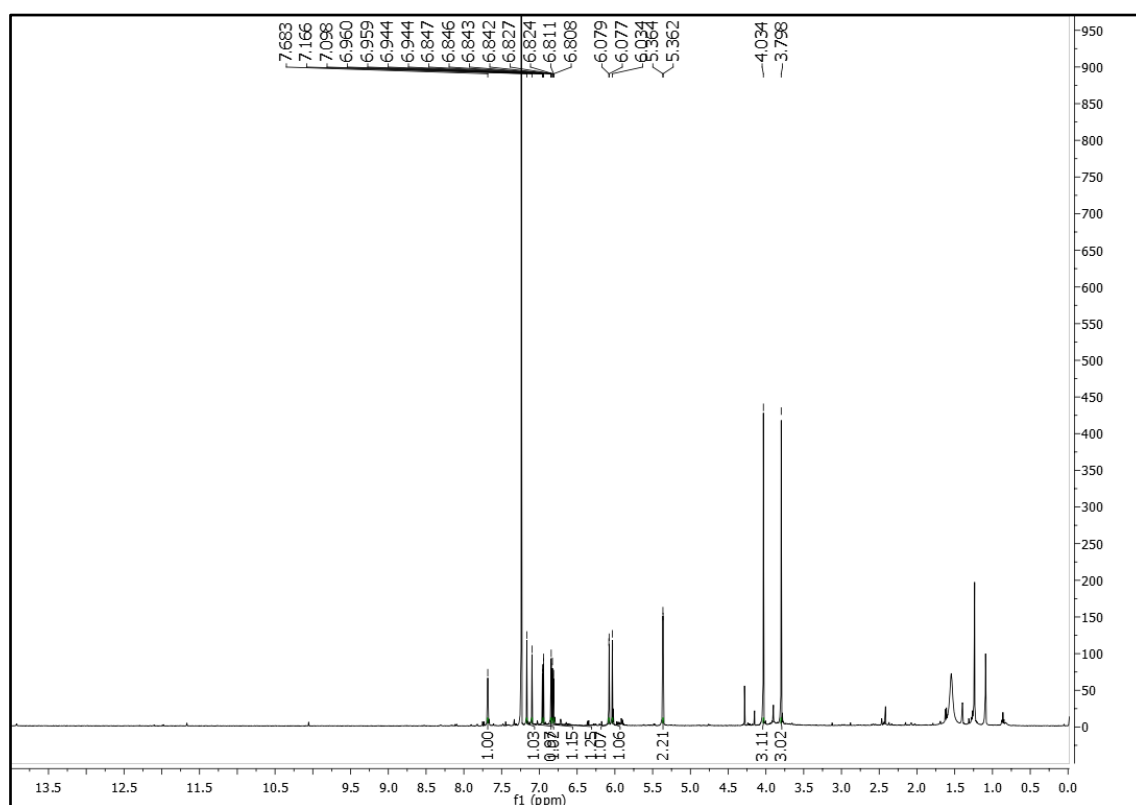


Figura 111. Expansão do espectro de RMN de ^1H de Se-4 (500 MHz, CDCl_3) na região de 7,75 a 6,90 ppm.

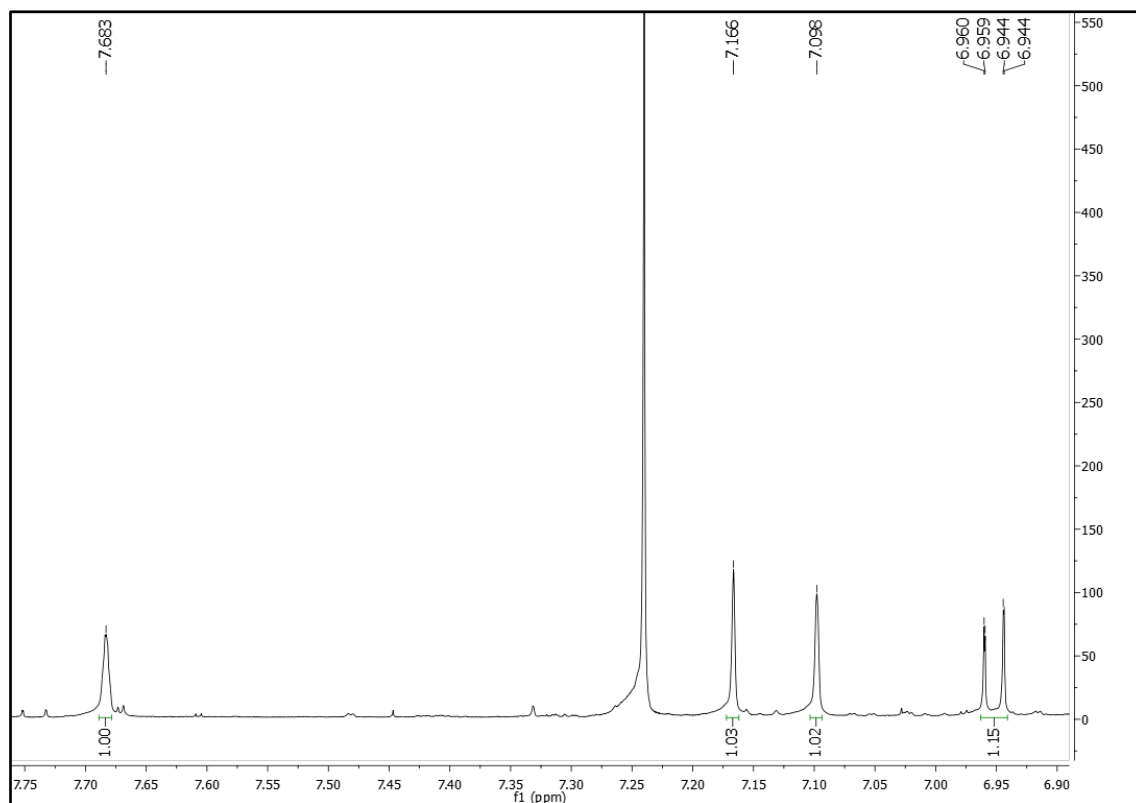


Figura 112. Expansão do espectro de RMN de ^1H de Se-4 (500 MHz, CDCl_3) na região de 6,99 a 6,75 ppm.

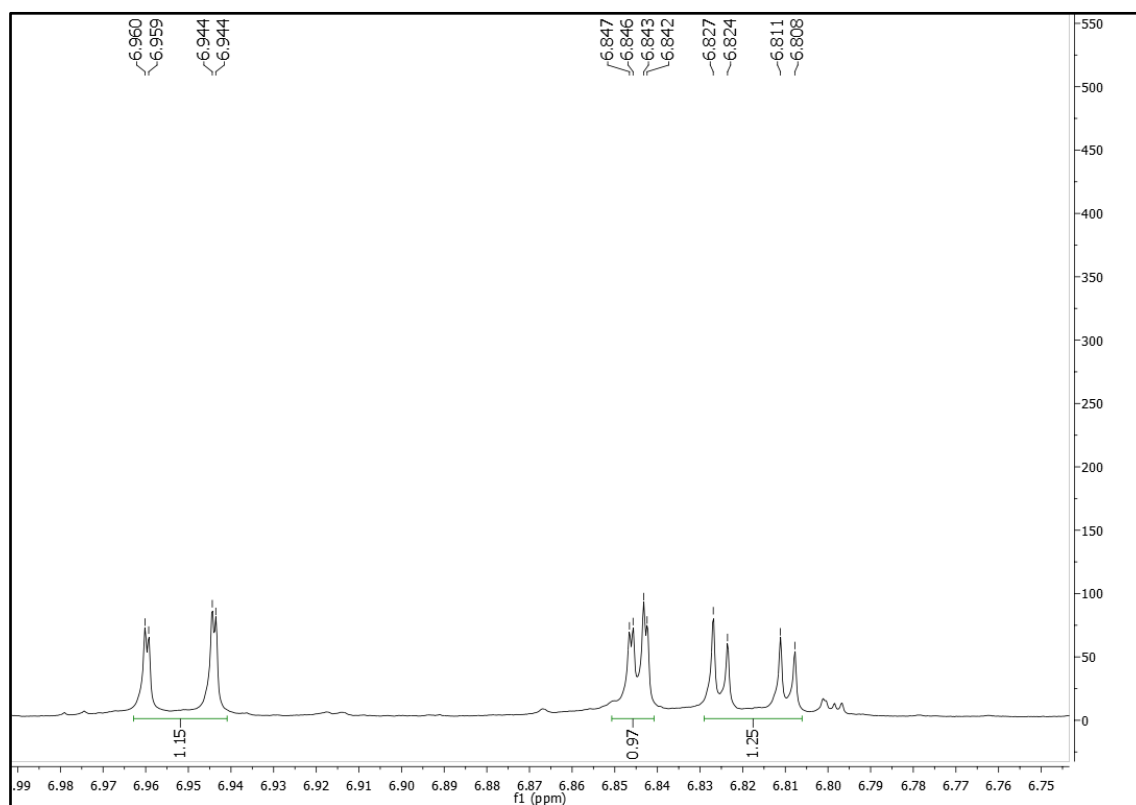
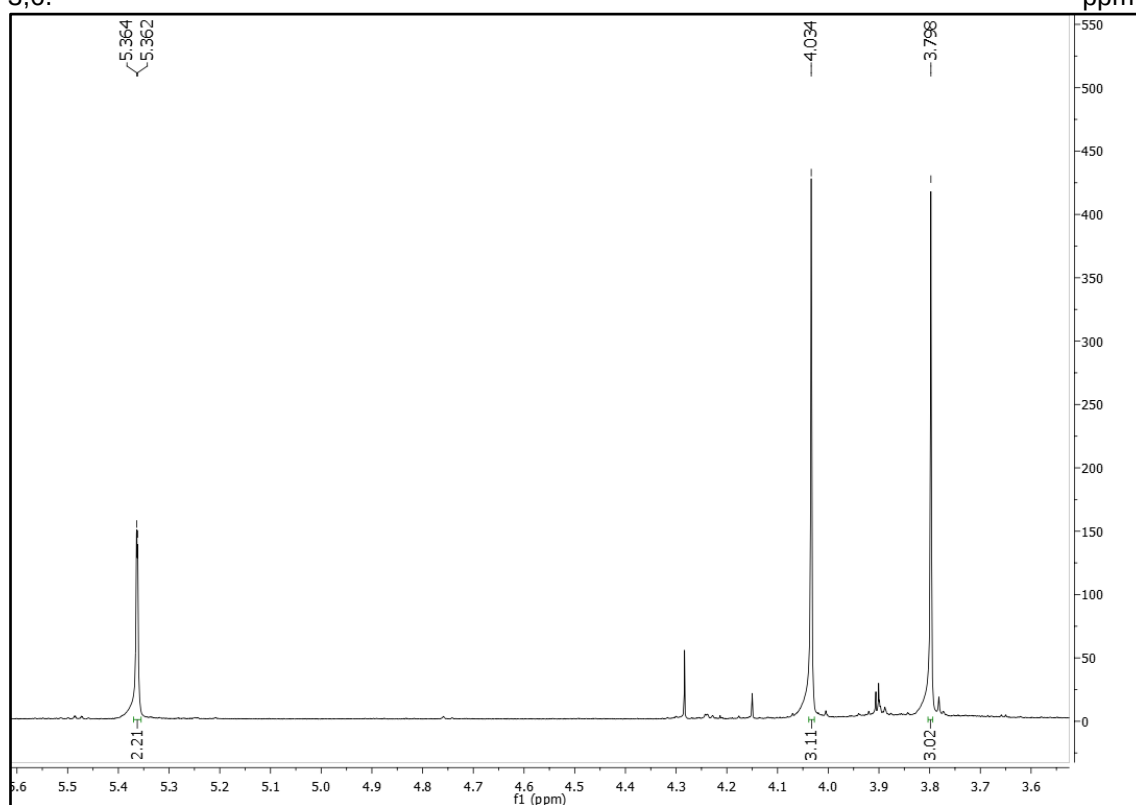


Figura 113. Expansão do espectro de RMN de ^1H de Se-4 (500 MHz, CDCl_3) na região de 5,6 a 3,6 ppm.



No espectro de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) e suas expansões (Figura 114, 115, 116) foi possível observar a presença de vinte e um sinais, sendo onze característicos de carbonos não hidrogenados, seis de carbonos metínicos, dois de carbonos oximetilênicos e dois de carbonos metoxílicos.

Figura 114. Espectro de RMN de ^{13}C – APT (125 MHz, CDCl_3) de Se-4.

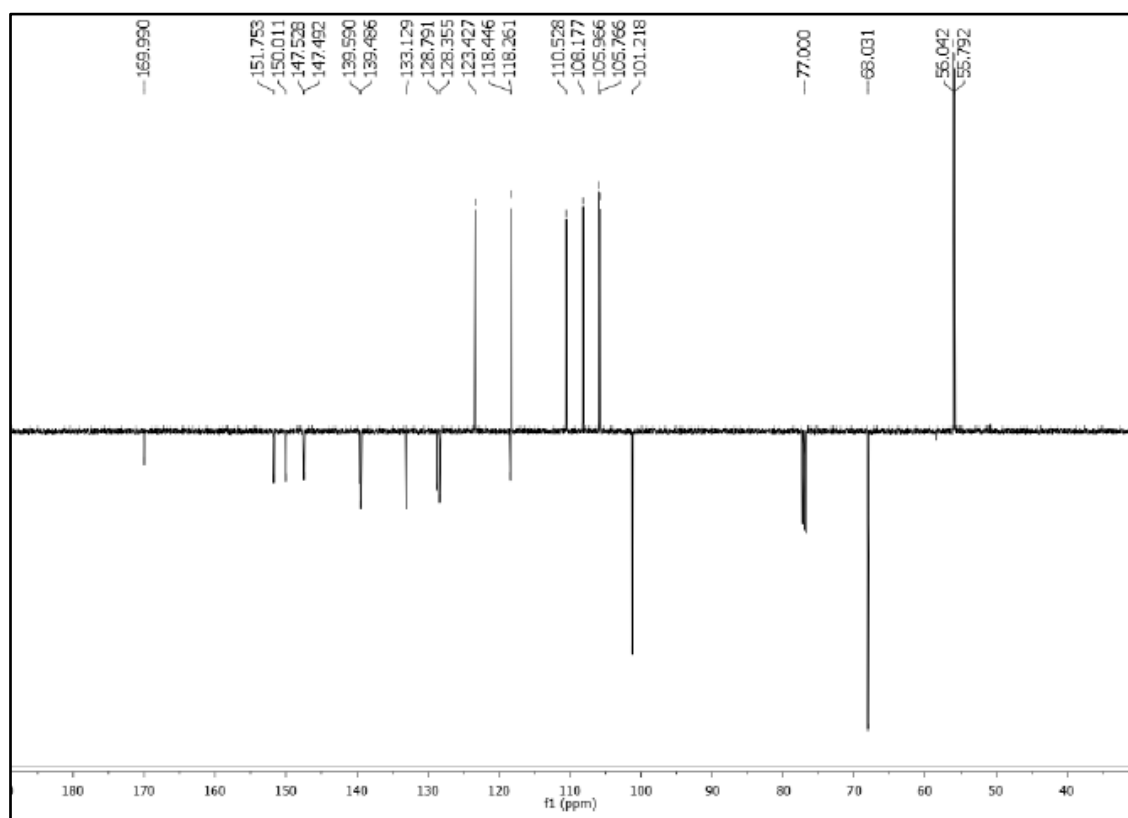


Figura 115. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de Se-4 na região de 131 a 103 ppm.

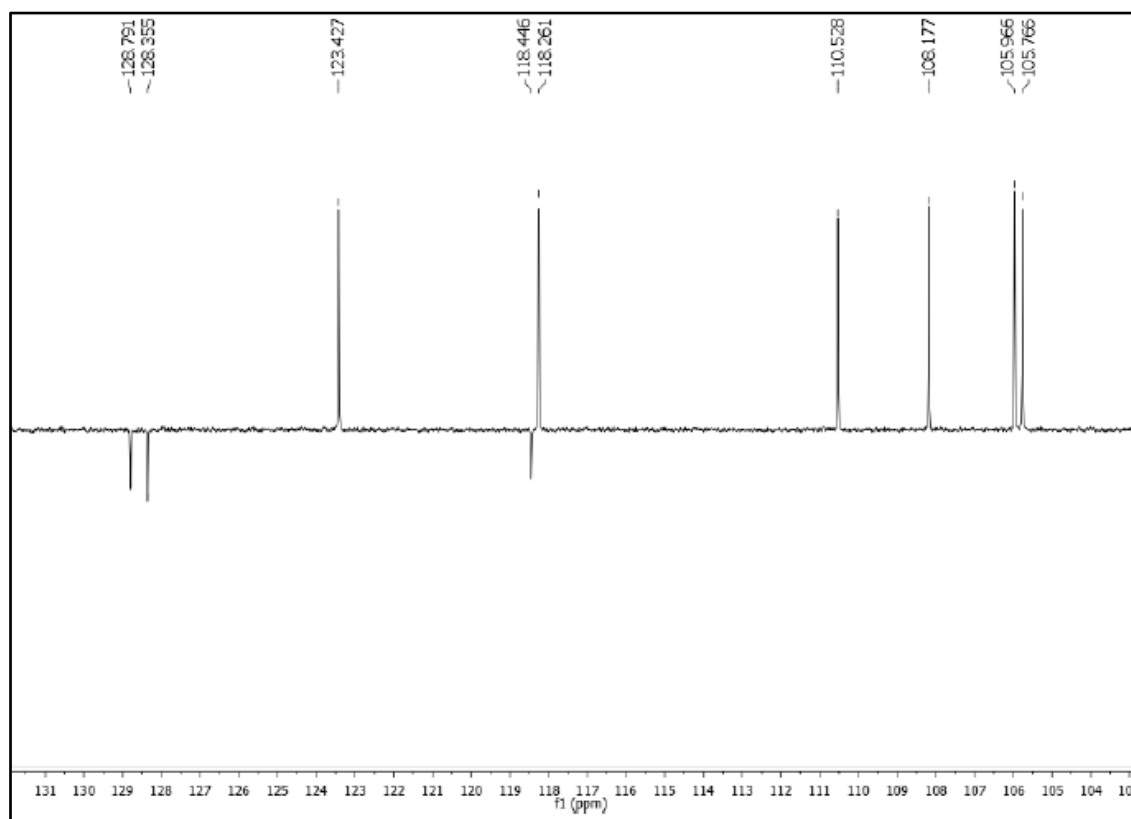
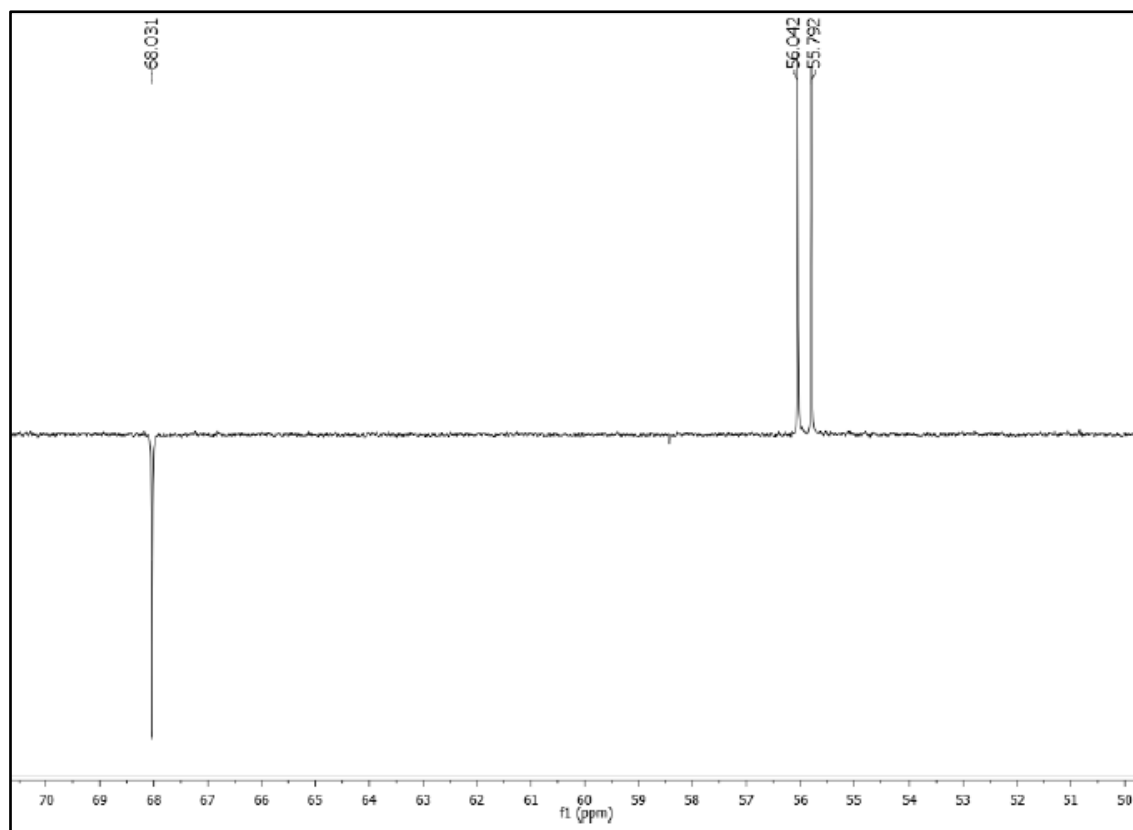
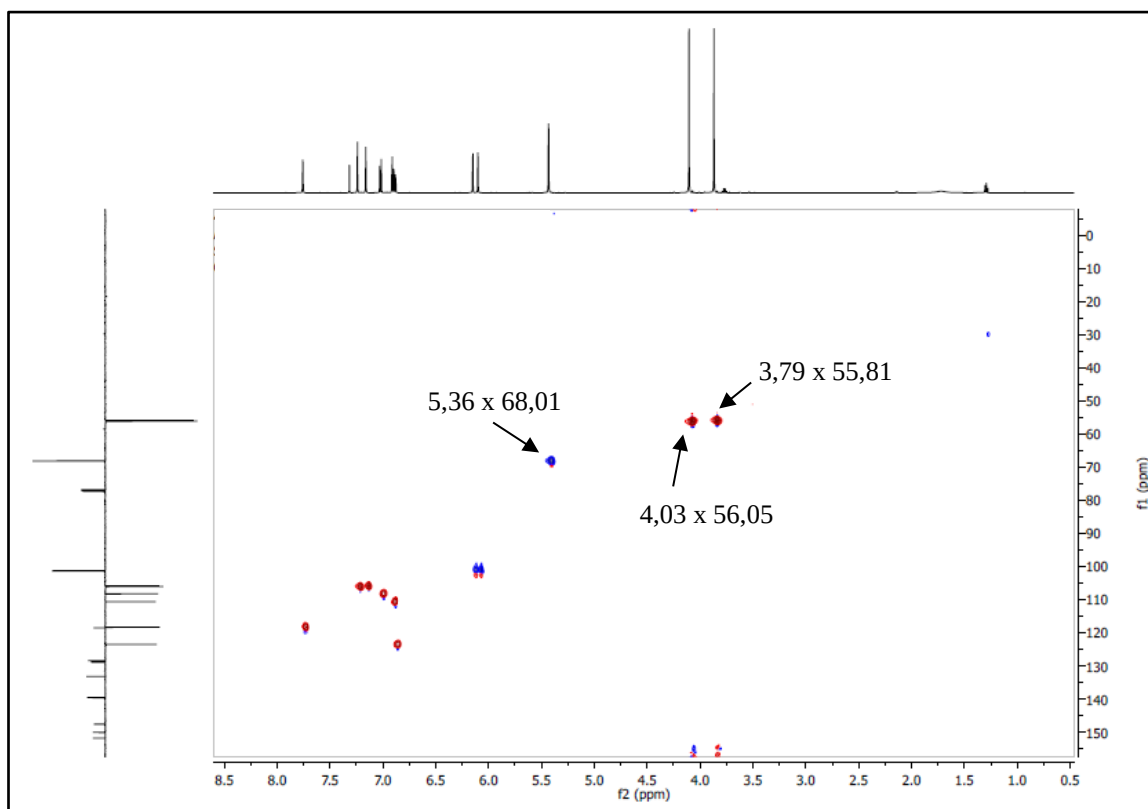
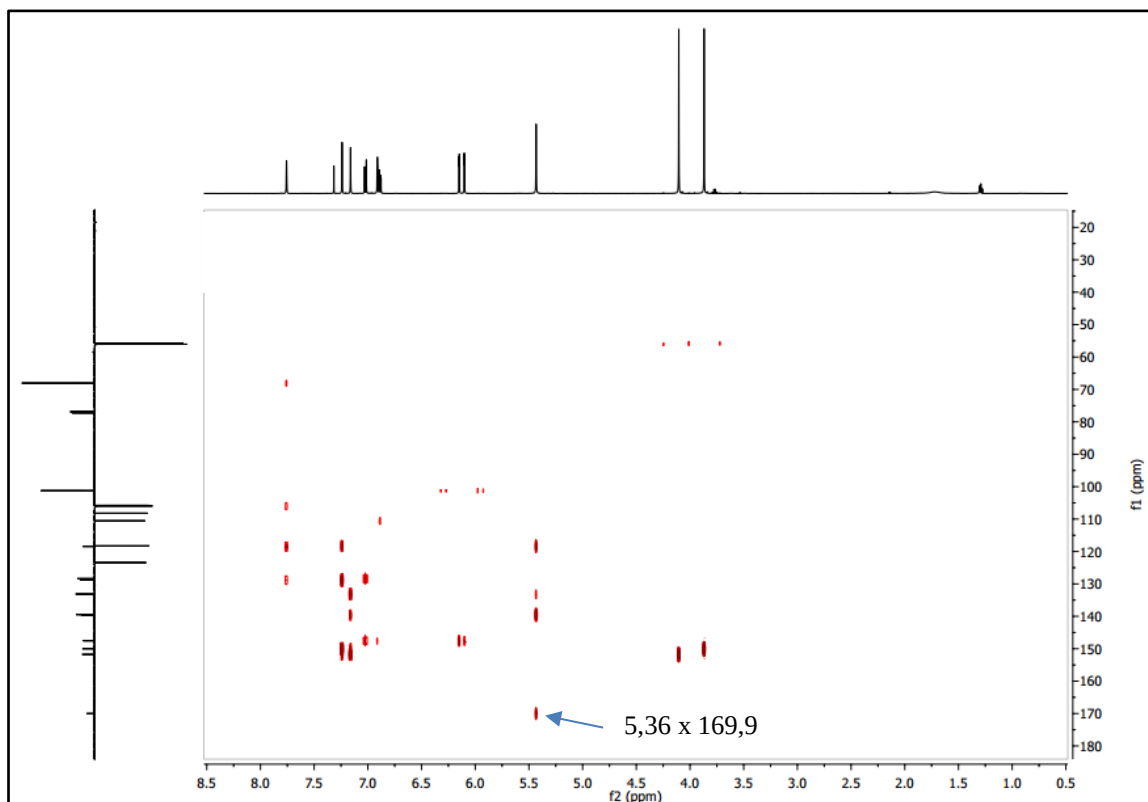


Figura 116. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de Se-4 na região de 70 a 50 ppm.



Os sinais em δ_{C} 169,99 e 68,03, associados ao sinal em δ_{H} 5,36, observado no RMN de ^1H e a correlação observada no espectro HSQC (Figura 117) entre δ_{H} 5,36 e δ_{C} 68,03 e no HMBC (Figura 118) entre δ_{H} 5,36 e δ_{C} 169,99, nos possibilitou inferir a presença de um anel γ -lactônico em Se-4.

Figura 117. Espectro HSQC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Se-4.Figura 118. Espectro HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Se-4.

O deslocamento químico dos carbonos observados no RMN de ^{13}C , na região de carbonos aromáticos, associado às correlações observada no espectro NOESY (Figura 119) entre os hidrogênios do grupo metileno do anel γ -lactônico (δ_{H} 5,36) e o sinal de hidrogênio aromático em δ_{H} 7,68, e entre esse último e o sinal em δ_{H} 7,16, nos permitiu inferir a presença de um núcleo do tipo naftaleno lactona (Figura 120).

Figura 119. Expansão do espectro NOESY (500 MHz, CDCl_3) de Se-4 na região de (8,2-5,0 ppm) x (8,5-5,0 ppm).

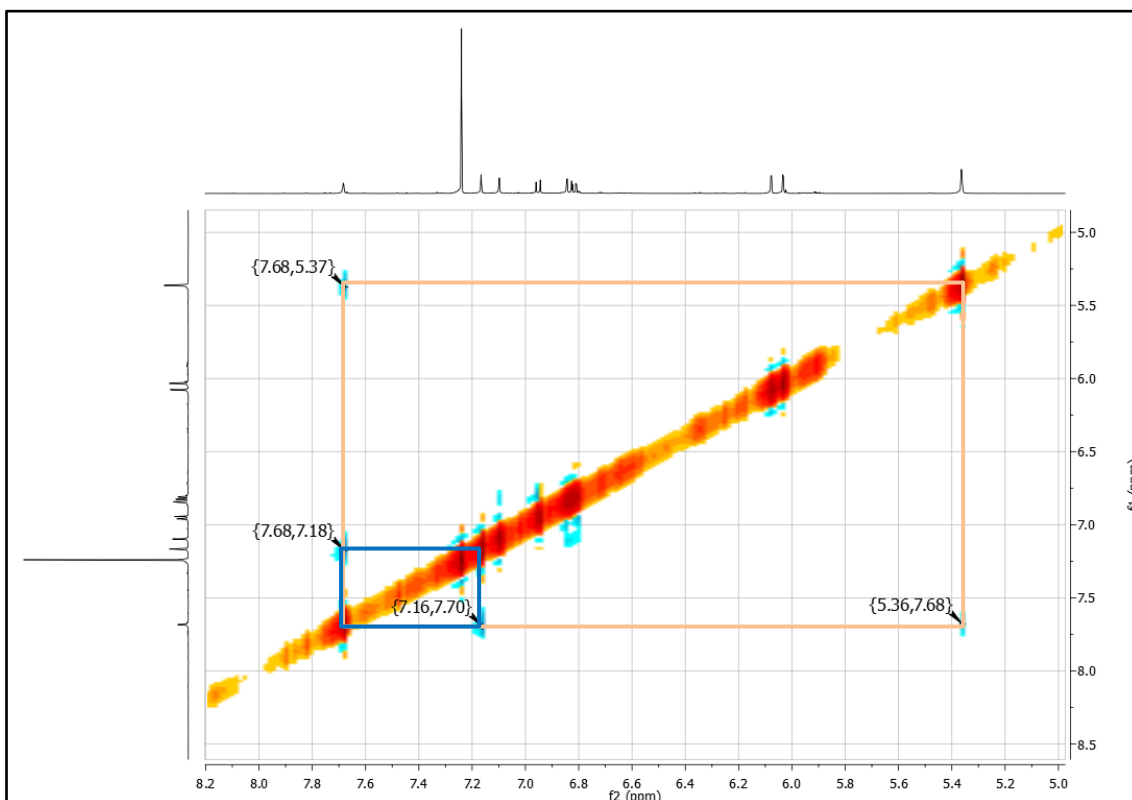
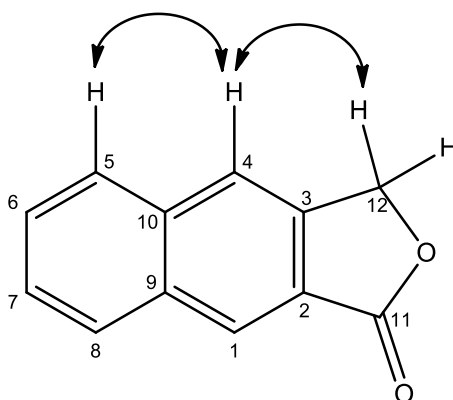


Figura 120. Estrutura do núcleo do tipo naftaleno lactona.



Na expansão do espectro HMBC (Figura 121 e 122), a correlação entre o sinal $\delta_{\text{H}} 7,16$ (H-5) e os sinais δ_{C} 151,7 e 150,0, permitiu inferir a presença de substituintes oxigenados nas posições 6 e 7. A correlação observada entre esses carbonos e os hidrogênios característicos de metoxilas (δ_{H} 4,03 e 3,79) nos permitiu inseri-las nessas posições (Figura 123).

Figura 13221. Expansão do espectro HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Se-4 na região de (6,3-3,9 ppm) x (170-100 ppm).

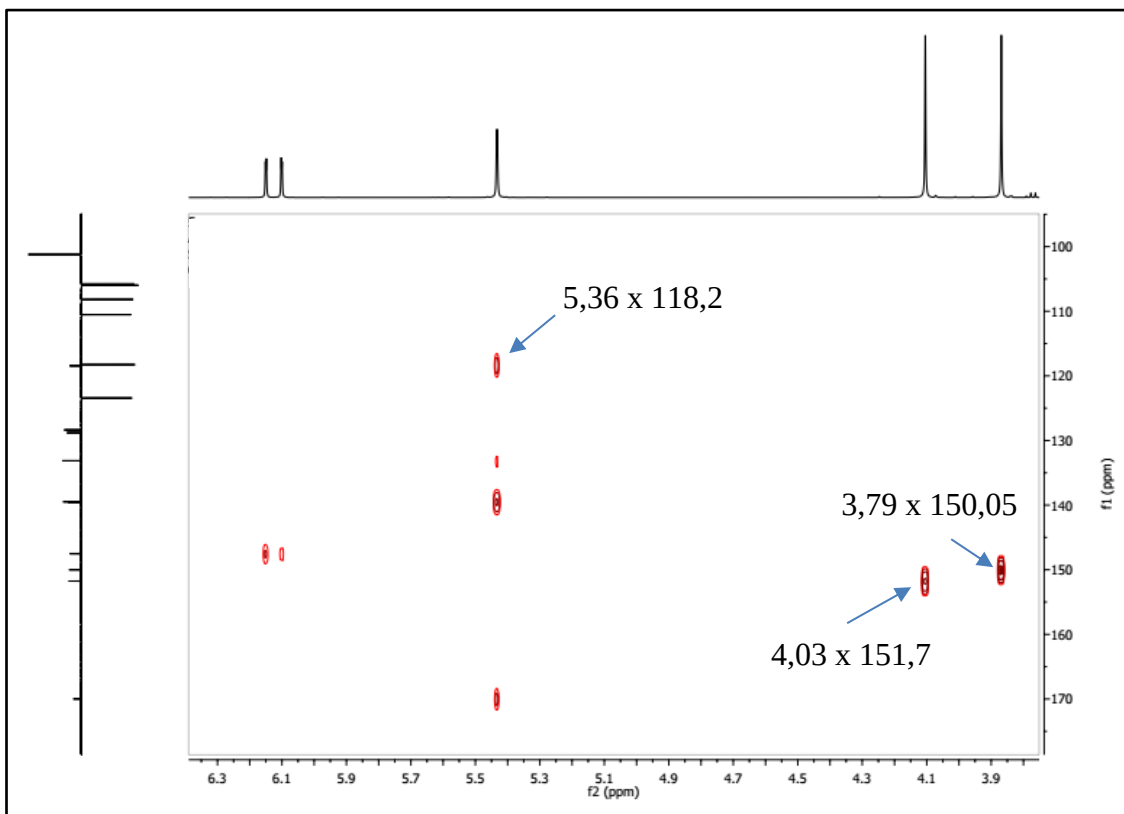


Figura 122. Expansão do espectro HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Se-4 na região de (7,9-6,8 ppm) x (160-100 ppm).

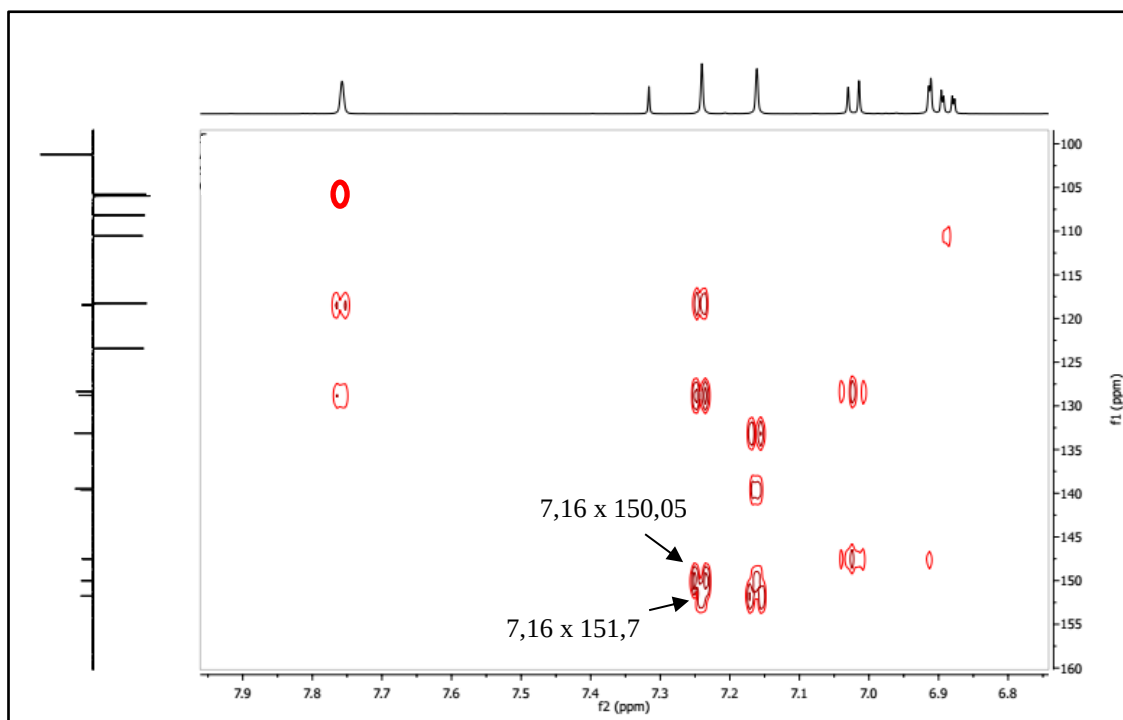
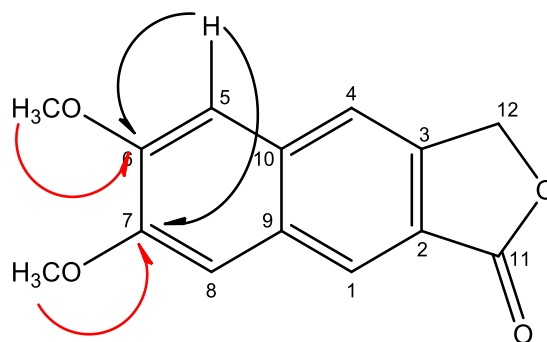


Figura 123. Inserção das metoxilas no núcleo naftaleno lactona.



As correlações observadas na expansão do HMBC (Figura 124) entre o δ_{H} 7,09 (H-8) e o sinal em δ_{H} 6,81, atribuído à hidrogênio presente no anel aromático com sistema ABX, com sinal para carbono em δ_{C} 139,6, nos permitiu inserir esse anel na posição 1 do núcleo naftaleno e caracterizar Se-4 como uma lignana do tipo arilnaftaleno lactona (Figura 125).

Figura 124. Expansão do espectro HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Se-4 na região de (7,20-6,76 ppm) x (144-136 ppm).

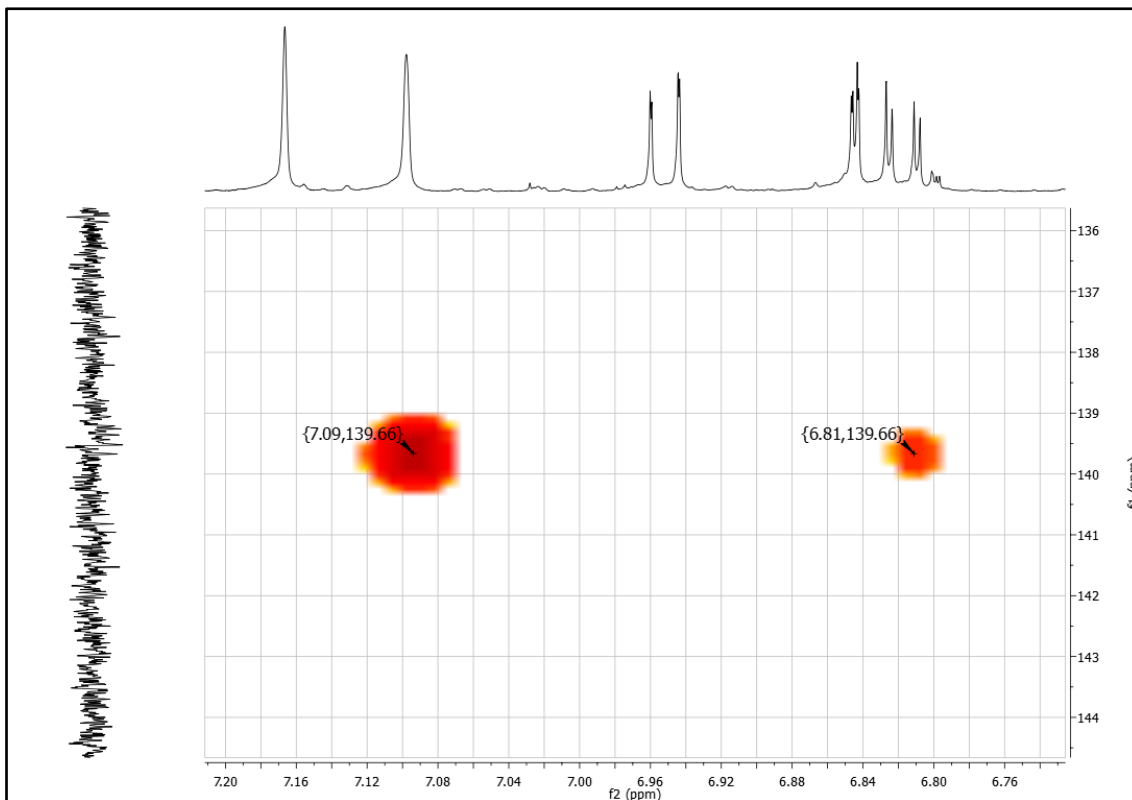
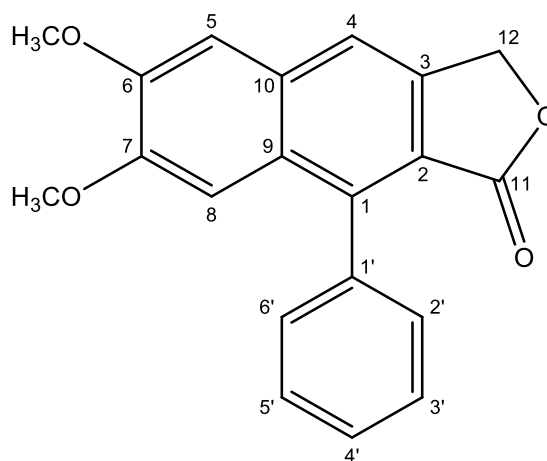


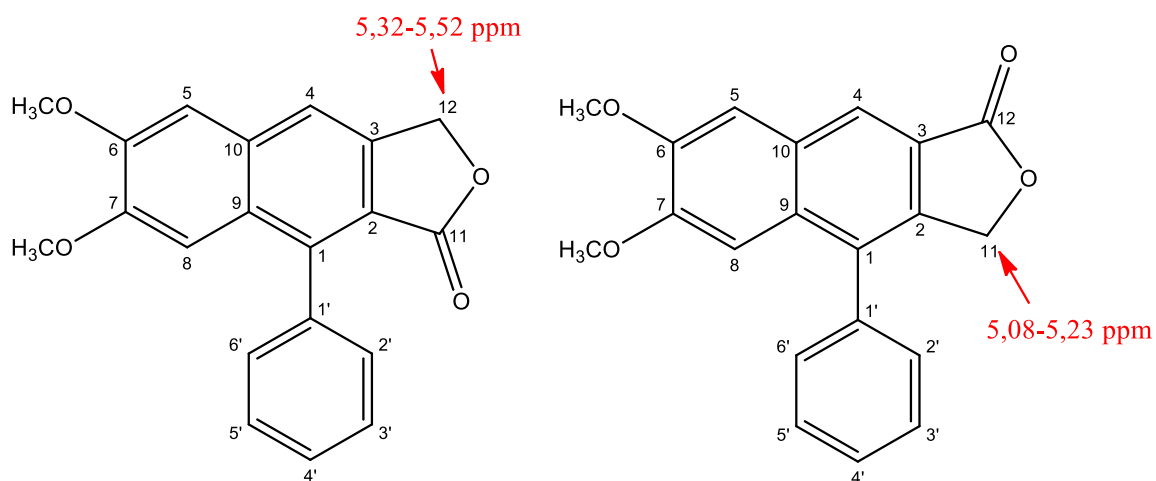
Figura 125. Estrutura da lignana do tipo arilnaftaleno lactona.



De acordo com a literatura (HORII *et al.*, 1969 *apud* YANG *et al.*, 2006), quando o sinal dos hidrogênios do anel γ -lactônico está entre 5,08 e 5,23 ppm no RMN de ^1H , significa que estes estão na posição vicinal em relação ao grupo arílico, enquanto que, quando aparece entre δ_{H} 5,32 e 5,52 ppm, estão opostos ao grupo arílico (Figura 126). Dessa forma, como o sinal para os prótons

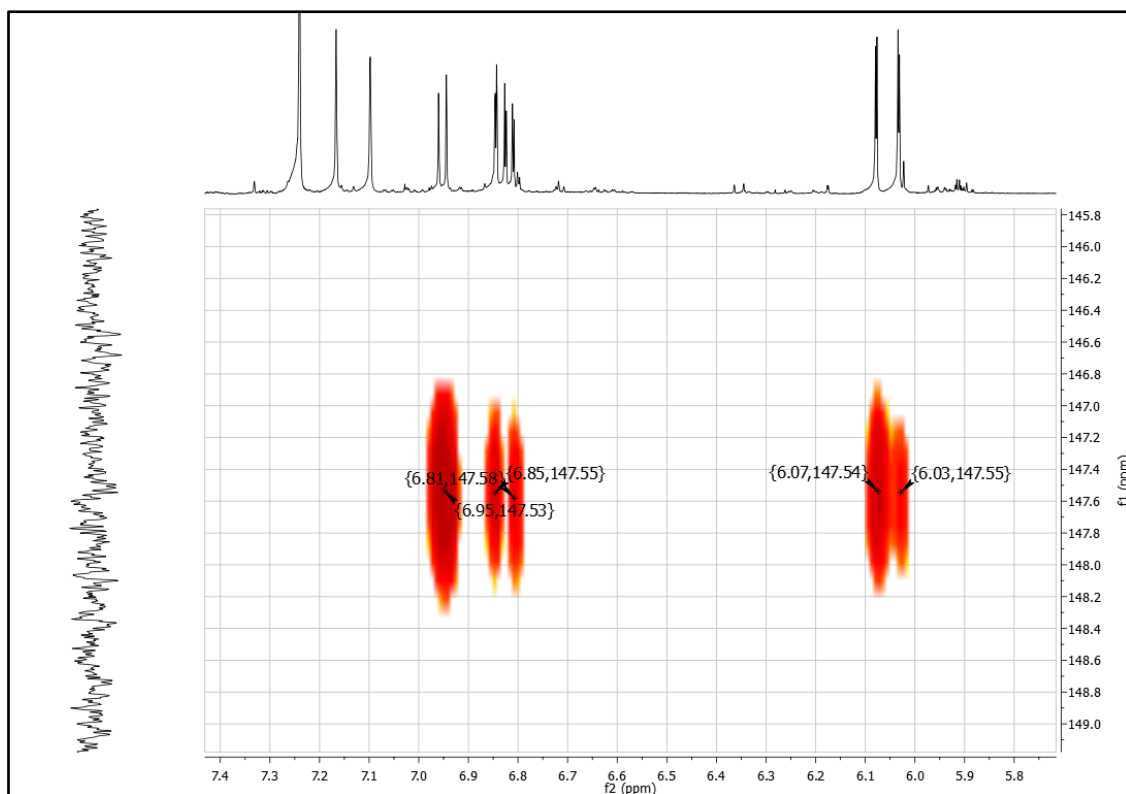
metilênicos do anel γ -lactônico aparece em δ_H 5,36, estes estão em posição oposta ao grupo aril. É possível corroborar essa informação através da análise da correlação entre os sinais em δ_H 5,36 e δ_C 118,2 (C-4) observada no espectro HMBC (Figura 121).

Figura 126. Possibilidades estruturais para inserção do anel γ -lactônico.



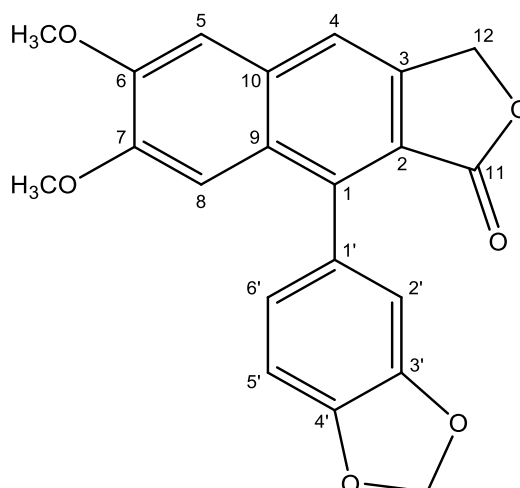
As correlações observadas na expansão do HMBC (Figura 127), entre os hidrogênios do anel ABX (δ_H 6,95, 6,84 e 6,81) e os hidrogênios em δ_H 6,07 e 6,03, característicos de grupo metilenodioxí, com o sinal em δ_C 147,5 nos permitiu inserir esse grupo nesse anel.

Figura 127. Expansão do espectro HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Se-4 na região de (7,4-5,8 ppm) x (149-145,8 ppm).



Assim, após análise dos dados e comparação com a literatura (Tabela 11), foi possível sugerir que Se-4 trata-se de uma lignana arilnaftaleno lactona denominada justicidina B (Figura 128). Esta substância apresenta atividade farmacológica como antifúngica, antitumoral, antirreumática, antimalárica, antiprotozoária contra formas tripomastigota de *T. brucei*, atividade moderada contra *T. cruzi*, antiviral, anti-inflamatória e antioxidante moderada com CI_{50} de $65,0 \pm \mu\text{M/L}$ pelo teste do DPPH, descritas na literatura (GERTSCH *et al.*, 2003; PETTIT *et al.*, 1984; FONSECA, 2009; RAO *et al.*, 2007). Essa substância já foi isolada anteriormente de uma espécie de Fabaceae (HUI *et al.*, 1986), entretanto este é o primeiro relato para o gênero *Senna*.

Figura 128. Estrutura de Se-4 com inserção do grupo metilenodioxi no anel arílico (justicidina B).

Tabela 11. Dados de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) e de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de Se-4 e comparação com literatura (CDCl_3) (ZHOU *et al.*, 2015).

C	Se-4		Justicidina B	
	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}
1	139,5		139,7	-
2	118,4		118,5	-
3	139,5		139,6	-
4	118,2	7,68 (1H, s)	118,3	7,72 (1H, s)
5	105,9	7,16 (1H, s)	106,0	7,20 (1H, s)
6	150,0		150,1	-
7	151,7		151,8	-
8	105,7*	7,10 (1H, s)	108,3*	7,12 (1H, s)
9	128,7		128,9	-
10	133,1		133,2	-
11	169,9		170,0	-
12	68,0	5,36 (2H, s)	68,1	5,40 (2H, s)
1'	128,3		128,4	-
2'	110,5	6,84 (1H, dd, $J = 2,0$ e $0,5$ Hz)	110,6	6,87 (1H, s)
3'	147,6		147,6	-
4'	147,5		147,6	-
5'	108,2*	6,95 (1H, dd, $J = 8,0$ e $0,5$ Hz)	106,0*	6,98 (1H, d, $J = 7,9$ Hz)
6'	123,4	6,81 (1H, dd, $J = 1,5$ e $8,0$ Hz)	123,5	6,85 (1H, d, $J = 7,9$ Hz)
OCH_3- 6	56,0	4,03 (3H, s)	56,1	4,07 (3H, s)
OCH_3- 7	55,8	3,79 (3H, s)	55,9	3,83 (3H, s)
OCH_2O	101,2	6,07 (1H, d, $J = 1,0$ Hz) 6,03 (1H, d, $J = 1,5$ Hz)	101,3	6,11 (1H, d, $J = 1,5$ Hz) 6,07 (1H, d, $J = 1,2$ Hz)

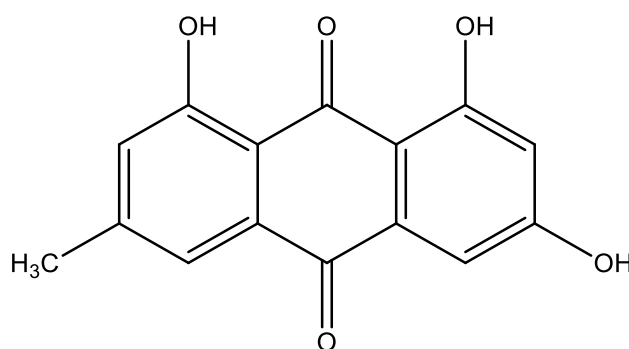
*Os sinais foram invertidos devido à observação do espectro HMQC que mostra correlação do H-8 com δ_{C} 105,7 e do H-5' com δ_{C} 108,2.

5.2 APLICAÇÃO DA EMODINA COMO INDICADOR ÁCIDO-BASE

5.2.1 Observação da coloração em função do pH

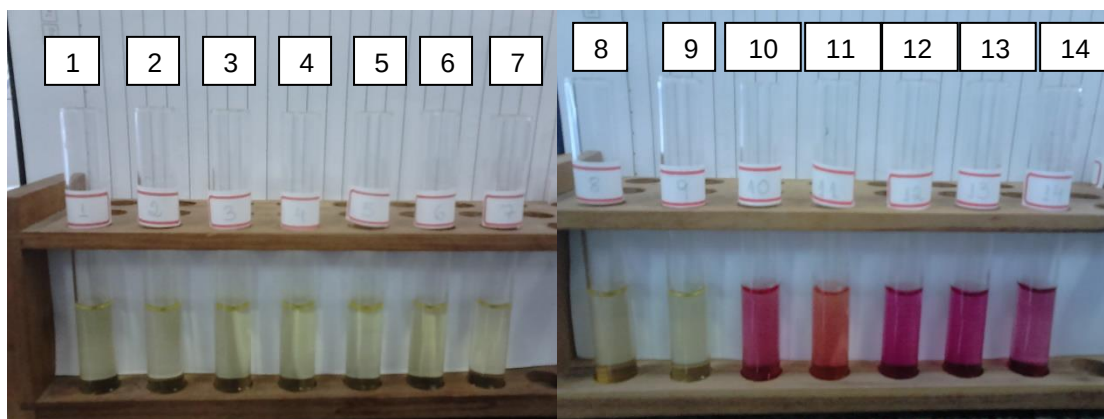
Uma das classes de metabólitos secundários encontrados nas plantas que apresentam mudança de coloração em contato com soluções de caráter básico são as antraquinonas. Um exemplo de antraquinona, isolada de plantas e líquens, é a emodina (Figura 129).

Figura 129. Estrutura química da emodina.



Ao colocar em contato 1 mL da emodina com soluções de pH 1,0 à 14,0 foram observadas as seguintes colorações (Figura 130).

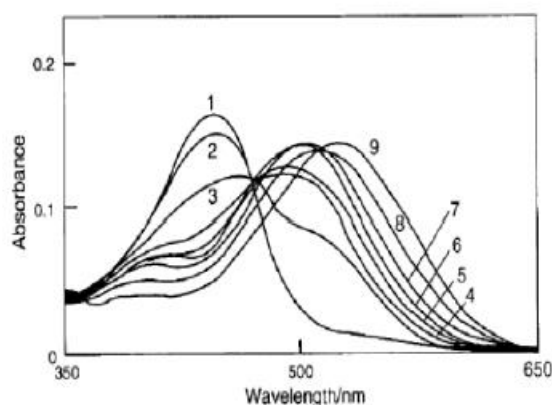
Figura 130. Colorações observadas na reação entre emodina e soluções de pH 1 a 14.



Segundo Nguyen e colaboradores (2008), a desprotonação da emodina para sua base conjugada devido ao pH básico, causa uma mudança de coloração. Essa mesma informação é dada no trabalho de Pal *et al.* (1993), no qual menciona-se que em pH alcalino, essa molécula é solúvel em água, apresentando uma mudança de cor de amarelo para vermelho.

Essa hipótese de desprotonação da emodina em solução foi levantada por Pal *et al* (1993) e Cunha (2009) através de um estudo da dependência do espectro eletrônico de absorção dessa molécula com o pH da solução água-metanol, onde a emodina em $\text{pH} < 6,0$ é caracterizada por uma banda intensa na região de 440 nm, já em solução com pH entre 6,0 e 7,5, essa banda sofre um deslocamento para 496 nm, atribuída a desprotonação na posição 3, não mudando mais a posição para variações no pH de 7,5 a 10,0. Quando o pH aumenta para 12, observa-se um deslocamento para 526 nm, atribuída à desprotonação na posição 8 (Figura 131).

Figura 131. Efeito do pH no espectro de absorção da emodina ($2,5 \times 10^{-5}$ mol/L), em água:metanol (1:1), pH 1 (2,23), 2 (5,25), 3 (6,04), 4 (6,80), 5 (8,34), 6 (9,67), 7 (10,10), 8 (10,80), 9 (11,36) (CUNHA, 2009).



Segundo CUNHA (2009), esse deslocamento para menor energia (amarelo para vermelho) em meio básico, também observado por ele, está em concordância com a seguinte análise: retirando um H^+ da molécula espera-se que os elétrons de valência fiquem menos ligados, apresentando, portanto um menor gasto energético para promover a excitação para o 1º estado excitado, acarretando um deslocamento para a banda do vermelho.

5.2.2 Utilização da emodina como indicador ácido-base em sala de aula

Após ministrar aula teórica sobre funções inorgânicas, os alunos tiveram a oportunidade de realizar uma aula prática sobre indicadores ácido-base, utilizando materiais alternativos encontrados no dia-a-dia (Figura 132).

Figura 132. Participação dos alunos em aula prática sobre indicadores ácido-base.



Nesta aula foi introduzido o conceito de indicadores naturais, uma vez que cada aluno levou uma flor de sua escolha imersa em etanol para analisar se a mesma apresenta atividade como indicadora ácido-base. Além disso, também foi mostrado que é possível isolar e utilizar substâncias de plantas e utilizá-las como indicadores, a exemplo da emodina, no lugar de usar substâncias sintéticas. Essa aplicação é bastante importante pois em algumas escolas e em campus em implantação do IFPB, como é o caso campus Catolé do Rocha, não há ainda laboratório e nem reagentes/vidrarias para se utilizar em aulas práticas, ficando o a cargo do professor procurar materiais alternativos, que o aluno possa encontrar no cotidiano e consiga visualizar melhor os conteúdos teóricos.

Segundo Del Pino e Machado Lopes (1997) *apud* Lucas *et al.*, (2013) “para o ensino de Química ser eficiente e significativo, é preciso que os conteúdos abordados reflitam a realidade cotidiana dos alunos, sem descuidar da experimentação, a qual deve estar na base da metodologia adotada e pode ser praticada com materiais de fácil aquisição.” Dessa forma, os professores precisam desmistificar a ideia dos alunos de que as aulas experimentais ocorrem somente em laboratórios futuristas, superequipados e de alta tecnologia.

Dentre as flores analisadas, tivemos, por exemplo, beldroega (*Portulaca* sp.) (Figura 133), papoula (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) (Figura 134), e buquê-de-noiva (*Plumeria pudica*) (Figura 135), que apresentaram cores características e

ao utilizar a emodina, foi observada uma coloração amarela em contato com ácido muriático e rosa em contato com soda cáustica (Figura 136).

Figura 133. Flores da beldroega e cores observadas do extrato em contato com (a) ácido muriático, (b) soda cáustica, (c) água sanitária e (d) vinagre (Foto retirada pelos alunos).



Figura 134. Flores da papoula e cores observadas do extrato em contato com (a) ácido muriático, (b) soda cáustica, (c) água sanitária e (d) vinagre (Foto retirada pelos alunos).

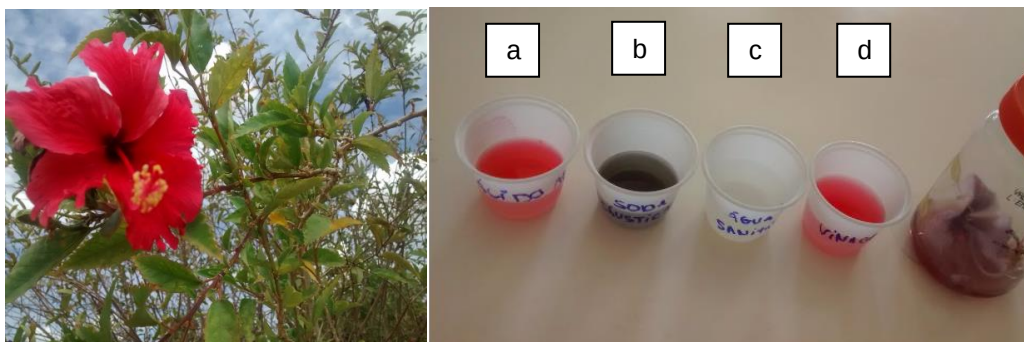


Figura 135. Flor da buquê-de-noiva e cores observadas do extrato em contato com (a) ácido muriático, (b) soda cáustica, (c) água sanitária e (d) vinagre (Foto retirada pelos alunos).

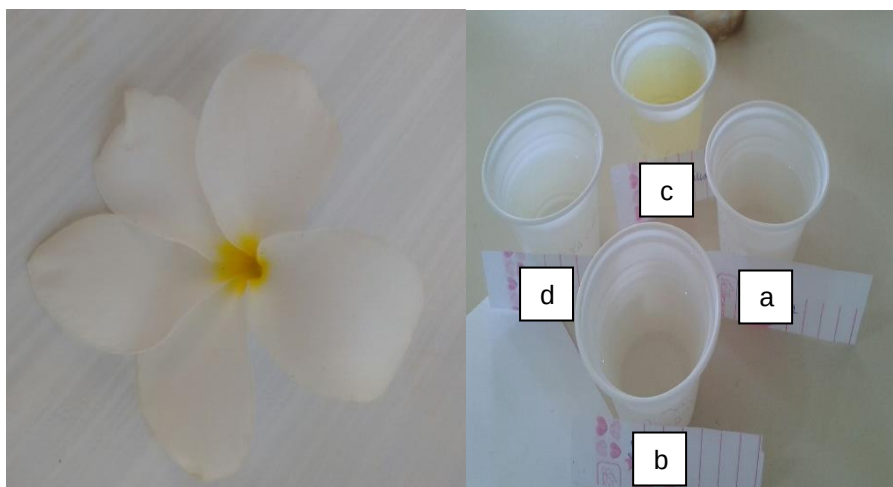
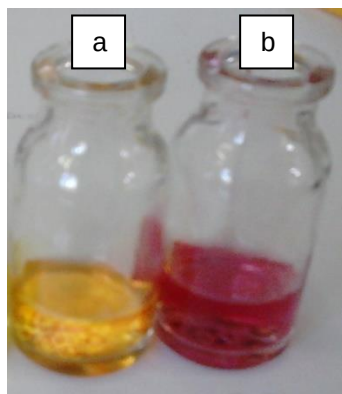


Figura 136. Emodina em contato com (a) ácido muriático e (b) soda cáustica.



Ao finalizar a prática, os alunos entregaram um relatório sobre a aula, no qual eles deveriam inserir fotos da flor utilizada e das cores observadas, procurar saber o nome popular das plantas, identificar o caráter ácido ou básico das soluções utilizadas que são encontradas no cotidiano e identificar a acidez ou basicidade de duas substâncias desconhecias utilizando a emodina.

Com o desenvolvimento do relatório, os estudantes começaram a aprender como relatar uma atividade prática, realizaram processo de extração com etanol, identificaram substâncias ácidas e básicas presentes no dia-a-dia e aprenderam que existem substâncias que indicam o caráter ácido ou básico de amostras desconhecidas.

Segundo Nascimento *et al.* (2014), o estudo da Química é, muitas vezes, encarado pelos alunos como algo abstrato e fora do seu alcance, uma vez que os conteúdos são recheados de fórmulas, símbolos e teoria, cabendo aos professores buscar novas metodologias de ensino que possam favorecer a desmistificação da Ciência Química, relacionando-a de forma direta com o cotidiano do aluno. Essa aula prática, segundo os alunos, se mostrou interessante em relação à melhora na compreensão do conteúdo teórico, permitindo relacionar a química com o cotidiano, uma vez que foram utilizados reagentes do dia-a-dia e flores que eles encontraram em suas casas ou no caminho para escola, despertando-os também para essa função que algumas flores possuem.

5.3 DETERMINAÇÃO DE FENÓLICOS E FLAVONOIS E FLAVONAS TOTAIS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE *Chamaecrista* sp. E *Senna splendida*

5.3.1 Teor de compostos fenólicos no extrato e nas fases de *Chamaecrista* sp. e *Senna splendida*

Para a realização da quantificação do teor de fenólicos das amostras testadas, foi utilizado o método do Folin-Ciocalteu. A equação de regressão linear e o r^2 do padrão (ácido gálico) encontram-se no Gráfico 1 abaixo. Esta foi feita para posterior interpolação dos dados e para calcularmos o teor de fenóis em mg EAG/g de amostra (Tabela 12 e Gráfico 2).

Gráfico 1. Curva padrão da quantificação de fenólicos totais empregando ácido gálico como substância de referência. Absorbância: 765 nm.

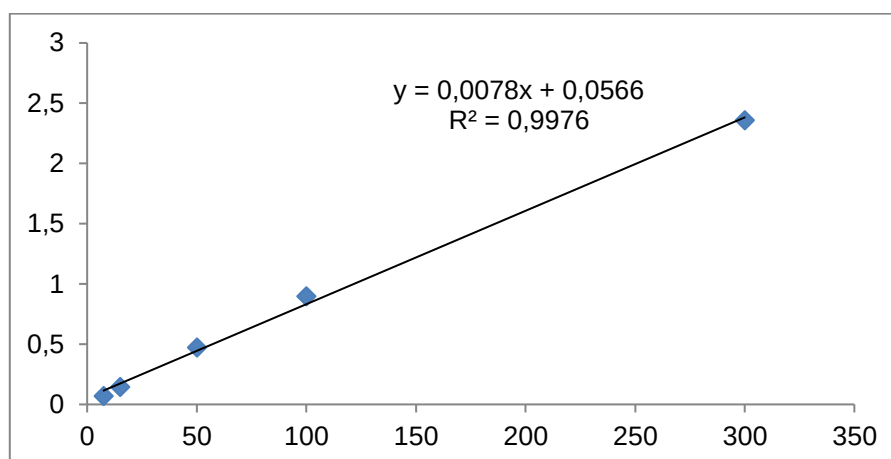


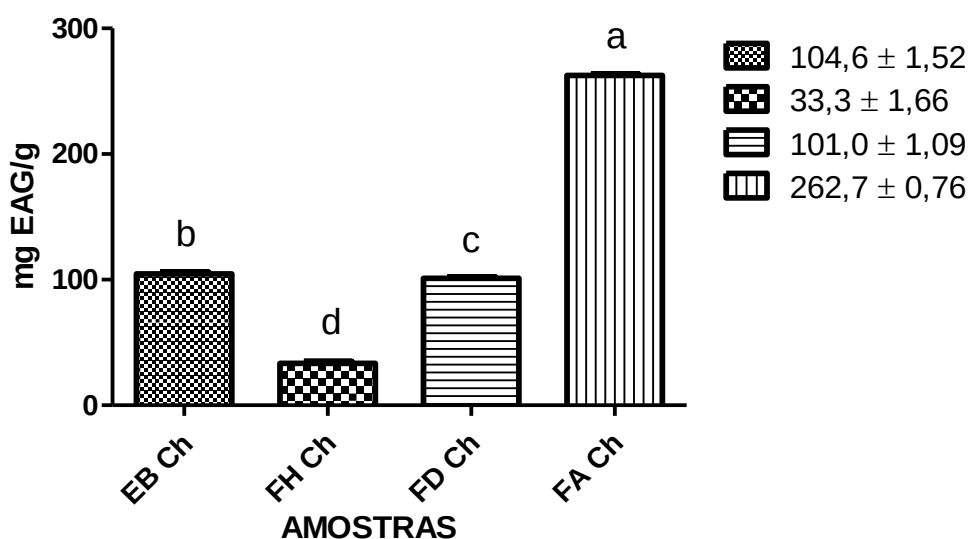
Tabela 12. Teor de fenólicos totais em mg EAG/g do extrato bruto e das fases de *Chamaecrista* sp. amostra por dia (n=3).

Amostras	Teor de Fenólicos (mg EAG / g)			
	1º dia	2º dia	3º dia	p
EB-Ch	105,6 ± 0,6 ^{a,B}	103,1 ± 1,3 ^{a,B}	105,1 ± 1,4 ^{a,B}	0,0856
FH-Ch	32,0 ± 2,5 ^{a,D}	33,4 ± 0,2 ^{a,C}	34,34 ± 0,6 ^{a,D}	0,2528
FD-Ch	101,4 ± 0,4 ^{a,C}	101,1 ± 1,2 ^{a,B}	100,7 ± 1,7 ^{a,C}	0,7764
FA-Ch	263.1 ± 0,8 ^{a,A}	262,1 ± 0,3 ^{a,A}	262,9 ± 0,9 ^{a,A}	0,2315

Dados expressos como média ± desvio padrão, em triplicata. Foram comparados os dados interdia e intradia, analisados por ANOVA seguida de Tukey. EB = extrato bruto; FH = fase hexânica; FD = fase diclorometano; FA = fase acetato de etila. * Médias seguidas de diferentes

letras minúsculas na mesma linha e maiúsculas na mesma coluna diferem significativamente ($p \leq 0,05$) pelo teste de Tukey.

Gráfico 2. Teor de fenóis totais nas amostras ($n = 9$). Dados expressos como média $\pm$ desvio padrão. Os dados foram analisados por ANOVA seguida de Tukey ($p < 0,05$).



EB = extrato bruto; FH = fase hexânica; FD = fase diclorometano; FA = fase acetato de etila.

Através dos dados mostrados na tabela 12, foi possível concluir que não há diferença significativa entre os dias de teste ($p > 0,05$), sendo o método reprodutível na concentração utilizada. Diante dos dados apresentados no gráfico 4, foi possível observar que a fase acetato de etila apresentou um maior teor de compostos fenólicos ($262,7 \pm 0,76$ mg EAG / g) quando comparada às outras amostras de *Chamaecrista* sp.

A determinação do teor de compostos fenólicos totais (TFT) em espécies de *Chamaecrista* já foi realizada anteriormente por Sebei *et al.* (2014), os quais observaram que o TFT de *C. absus* foi $7,56 \pm 0,32$ mg EAG/g; Adewusi e colaboradores (2011) que determinaram que *Chamaecrista mimosoides*, apresentava TFT de $141,53 \pm 0,21$ mg EAG/g para o extrato DCM:MeOH (1:1) e $64,16 \pm 0,13$ mg EAG/g para o extrato aquoso.

Após a determinação do teor de compostos fenólicos de *Senna splendida* (Tabela 13, Gráfico 3), foi possível concluir que não há diferença significativa entre os dias de teste ($p > 0,05$), sendo o método reprodutível na concentração utilizada e que a fase acetato de etila apresentou um maior teor de compostos

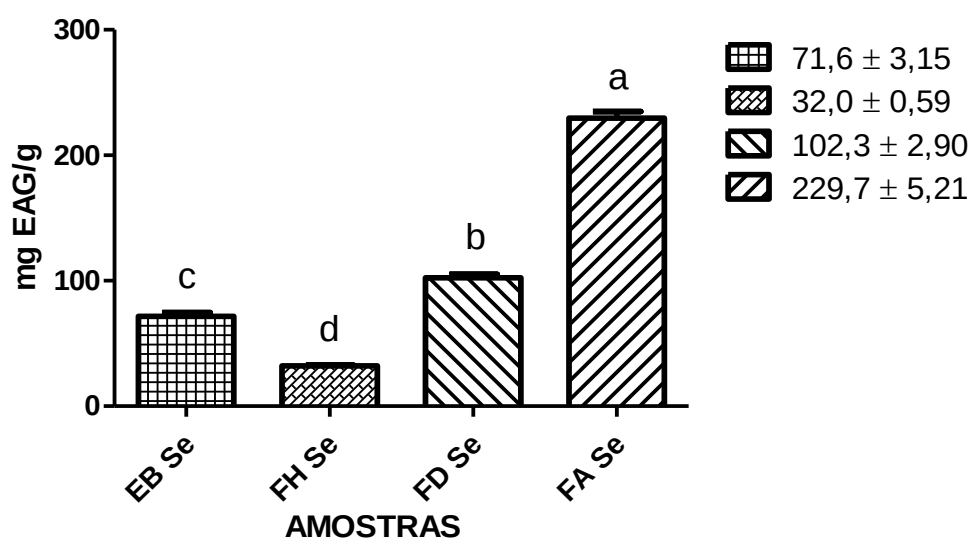
fenólicos ($229,7 \pm 5,21$ mg EAG / g) quando comparada às outras amostras dessa espécie.

Tabela 13. Teor de compostos fenólicos totais em mg EAG/g do extrato bruto e das fases de *Senna splendida* amostra por dia (n=3).

Amostras	Teor de Fenólicos (mg EAG / g)			
	1° dia	2° dia	3° dia	p
EB-Se	$73,2 \pm 4,2$ ^{a,C}	$70,7 \pm 3,7$ ^{a,C}	$70,8 \pm 1,4$ ^{a,C}	0,5982
FH-Se	$31,5 \pm 0,2$ ^{b,D}	$32,5 \pm 0,5$ ^{a,D}	$32,3 \pm 0,7$ ^{a,b,D}	0,1344
FD-Se	$101,3 \pm 3,8$ ^{a,B}	$104,1 \pm 2,6$ ^{a,B}	$101,6 \pm 2,3$ ^{a,B}	0,4788
FA-Se	$225,9 \pm 6,1$ ^{b,A}	$234,8 \pm 0,9$ ^{a,A}	$228,3 \pm 2,4$ ^{b,A}	0,0712

Dados expressos como média $\pm$ desvio padrão, em triplicata. Foram comparados os dados interdia e intradia, analisados por ANOVA seguida de Tukey. EB = extrato bruto; FH = fase hexânica; FD = fase diclorometano; FA = fase acetato de etila. * Médias seguidas de diferentes letras minúsculas na mesma linha e maiúsculas na mesma coluna diferem significativamente ($p \leq 0,05$) pelo teste de Tukey.

Gráfico 3. Teor de fenóis totais nas amostras (n=9) de *Senna splendida*. Dados expressos como média $\pm$ desvio padrão da média com n = 9. Os dados foram analisados por ANOVA seguida de Tukey.



EB = extrato bruto; FH = fase hexânica; FD = fase diclorometano; FA = fase acetato de etila.

O teor de compostos fenólicos totais das partes aéreas e raízes de quatro espécies de *Senna* (*Senna gardneri* - Sg, *S. macranthera* - Sm, *S. splendida* - Ss e *S. trachypus* - St) foi determinado anteriormente por Silva *et al.* (2014), o

qual observou que o extrato das raízes de *S. trachypus* foi a amostra que mais apresentou compostos fenólicos ($1277,34 \pm 79,54$ mg EAG/g) (Quadro 3).

Quadro 3. Teor de fenólicos totais de quatro espécies de *Senna*.

Amostras	Teor de fenólicos totais
SgA	$338,76 \pm 7,09$
SgR	$214,25 \pm 4,42$
SmA	$207,71 \pm 4,63$
SmR	$122,09 \pm 9,62$
SsA	$148,24 \pm 4,90$
SsR	$146,60 \pm 4,63$
StA	$322,09 \pm 2,83$
StR	$1277,34 \pm 79,54$

* A = partes aéreas; R = raízes.

Fonte: Silva *et al.*, 2014.

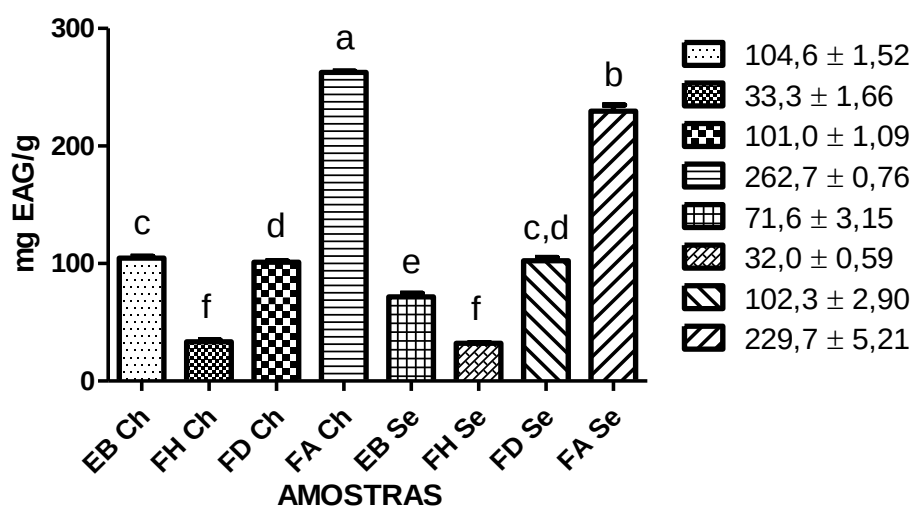
Ao compararmos os resultados obtidos com o trabalho realizado com *S. splendida* por Silva *et al.* (2014), foi possível observar um menor teor de compostos fenólicos totais no extrato etanólico apresentado agora ($71,6$ mg EAG/g). Segundo Moure *et al.* (2001), além do rendimento, há grande variação na composição do extrato em função do sistema solvente utilizado e segundo Santos e Martins (2007), fatores como localização geográfica (fatores edáficos), disponibilidade de nutrientes na área de cultivo, poluição ambiental, altitude, estágio de desenvolvimento, estação do ano, calor e umidade podem afetar o teor desses constituintes fazendo com que, muitas vezes, uma determinada substância ou classe de substâncias se acumule em maior ou menor quantidade. Dessa forma, esta diferença observada entre o teor de fenólicos pode estar relacionada ao local de coleta ou até mesmo ao tipo de solvente utilizado para extração, uma vez que Silva e colaboradores (2014) coletaram a espécie na Chapada Ibiapaba, Ceará e realizaram a extração com etanol enquanto neste trabalho a espécie foi coletada no Pico do Jabre – Paraíba e a extração foi feita com metanol.

Além desses autores, Sulaiman e Balachandran (2012), determinaram o teor de compostos fenólicos totais (TFT) de *Senna tora* como sendo 65,54 mg EAG/g e Pamulaparthi *et al.* (2016) determinaram o TFT de *S. alata* como sendo $52,3 \pm 0,03$ para o extrato aquoso, $41,6 \pm 0,41$ para o extrato metanólico, $32,4 \pm 0,32$ para o extrato clorofórmico, $31,4 \pm 0,71$ para o extrato benzênico e $21,6 \pm 0,09$ para o extrato de éter de petróleo.

Ao compararmos as médias das amostras de *Chamaecrista* sp. e *S. splendida* por ANOVA, seguida de Tukey (Gráfico 4), foi possível observar que a fase acetato de etila de *Chamaecrista* apresentou o maior teor de fenólicos em relação às outras amostras e que não houve diferença estatística entre o teor de fenólicos das fases hexânicas das duas espécies e entre as fases diclorometano das duas.

O fato da fase acetato de etila de ambas as espécies apresentar maior teor de fenólicos em relação às outras amostras da mesma espécie não é incomum, uma vez que os compostos fenólicos são polares e fase acetato de etila é a mais polar dentre as testadas e mais concentrada em relação a estes compostos. Esse resultado também está de acordo com o observado por Rolim *et al.* (2013), em que foram avaliadas fases e extratos de *Byrsonima gardneriana* e determinou-se que a fase acetato de etila, ao ser comparada com a fase hexânica e diclorometano, apresentava maior teor de fenólicos.

Gráfico 4. Teor de fenóis totais nas amostras (n=9) de *S. splendida* e *Chamaecrista*.



EB = extrato bruto; FH = fase hexânica; FD = fase diclorometano; FA = fase acetato de etila. Dados expressos como média $\pm$ desvio padrão. Os dados foram analisados por ANOVA seguida de Tukey.

5.3.2 Determinação do teor de flavonóis e flavonas totais

O procedimento utilizado para determinar o conteúdo total de flavonoides, mais especificamente flavonóis e flavonas, foi o ensaio espectrofotométrico baseado na formação de um complexo estável entre o íon Al^{+3} e os flavonoides, ocorrendo na análise espectrofotométrica um desvio para maiores comprimentos de onda e uma intensificação da absorção.

A equação de regressão linear e o r^2 do padrão (quercetina) encontram-se no Gráfico 5, abaixo. Através dessa equação foi possível calcularmos o teor de flavonas e flavonóis em μg querc/mg de amostra (Gráfico 6 e Tabela 14).

Gráfico 5. Curva de calibração da quercetina (0,25-200 $\mu g/mL$).

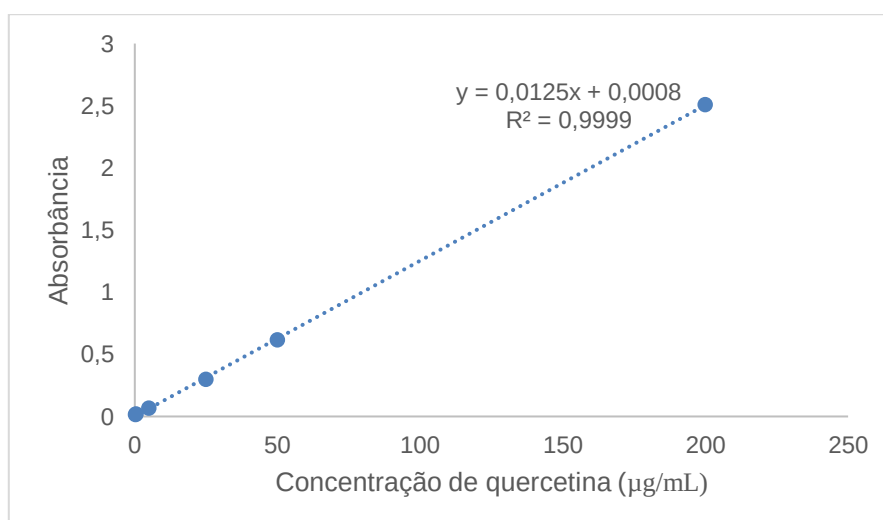


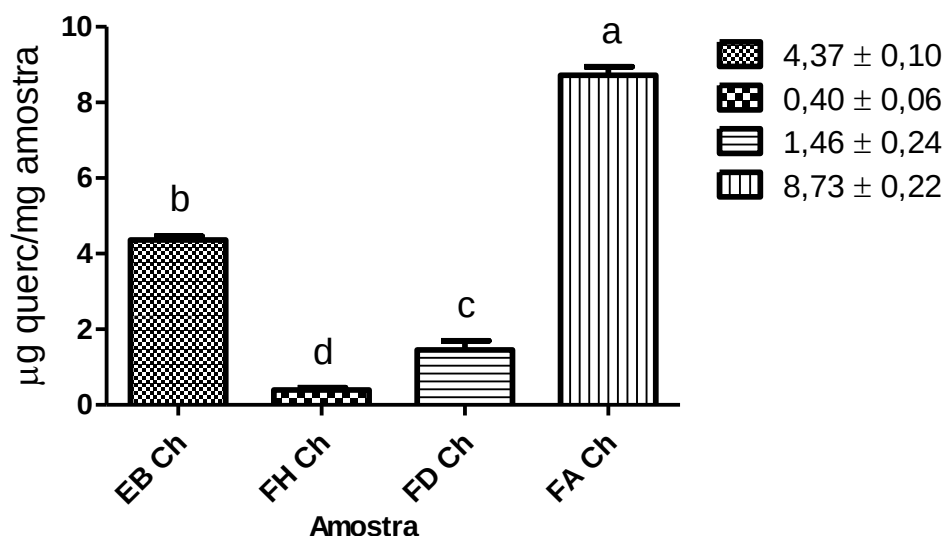
Tabela 14. Teor de flavonóis e flavonas totais (μg querc/mg) por dia (n=3) de *Chamaecrista* sp.

Amostra	Média $\pm$ d.p. de flavonóis e flavonas totais (μg querc/mg) por dia			
	1 dia	2 dia	3 dia	p
EB-Ch	4,39 $\pm$ 0,01 ^{a,B}	4,35 $\pm$ 0,03 ^{a,B}	4,34 $\pm$ 0,19 ^{a,B}	0,7949
FH-Ch	0,35 $\pm$ 0,09 ^{a,D}	0,43 $\pm$ 0,04 ^{a,D}	0,41 $\pm$ 0,01 ^{a,D}	0,3078
FD-Ch	1,28 $\pm$ 0,09 ^{b,C}	1,55 $\pm$ 0,31 ^{ab,C}	1,54 $\pm$ 0,22 ^{a,C}	0,3282
FA-Ch	8,61 $\pm$ 0,07 ^{a,A}	8,79 $\pm$ 0,23 ^{a,A}	8,77 $\pm$ 0,33 ^{a,A}	0,3010

Dados expressos como média $\pm$ desvio padrão da média, em triplicata. Foram comparados os dados interdia e analisados por ANOVA seguida de Tukey ($p < 0,05$). *Médias seguidas de diferentes letras minúsculas na mesma linha e maiúsculas na mesma coluna diferem

significativamente ($p \leq 0,05$) pelo teste de Tukey. EB = extrato bruto; FH = fase hexânica; FD = fase diclorometano; FA = fase acetato de etila.

Gráfico 6. Média $\pm$ d. p. do teor de flavonóis e flavonas nas amostras de *Chamaecrista* sp.



Dados expressos como média $\pm$ desvio padrão com $n = 9$. Os dados foram analisados por ANOVA seguida de Tukey ($*p < 0,05$). EB = extrato bruto; FH = fase hexânica; FD = fase diclorometano; FA = fase acetato de etila.

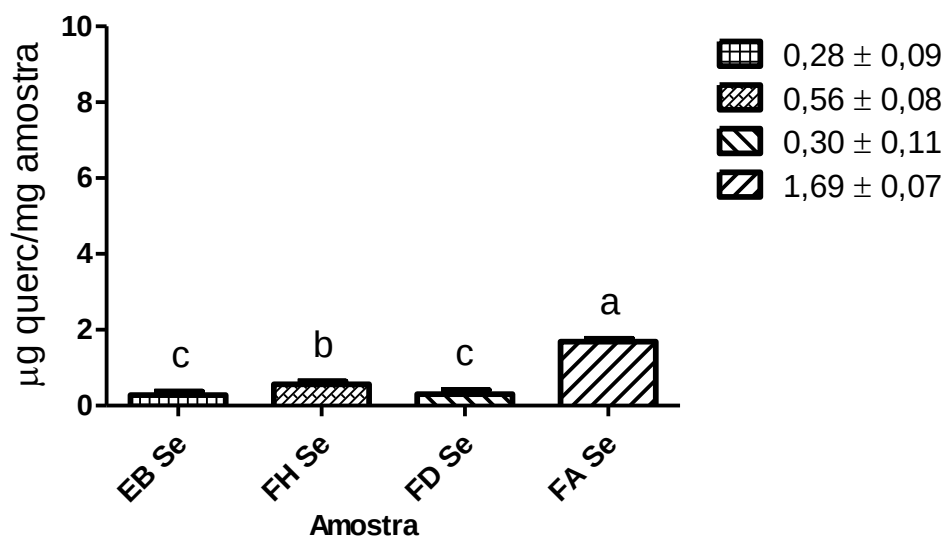
Ao analisar a Tabela 15 e o gráfico 6, foi possível observar que não houve diferença significativa entre os dias, sendo o método reprodutível na concentração utilizada e que o teor de flavonoides é maior na fase acetato de etila em comparação às outras amostras, representando estes, 4,2%, 1,2%, 1,4% e 3,3% do teor de fenóis no EB-Ch, FH-Ch, FD-Ch e FA-Ch, respectivamente.

Ao realizar a determinação do teor de flavonoides em *S. splendida* (Tabela 15, Gráfico 7) foi possível observar que não houve diferença significativa entre os dias ($p > 0,05$) e nem entre o teor de flavonoides do extrato bruto e da fase diclorometano de *S. splendida*, e que o maior teor de flavonoides se encontra na fase acetato de etila, representando estes componentes as seguintes porcentagens em relação ao teor de fenólicos: 0,4% do extrato, 1,8% da fase hexânica, 0,3% da fase diclorometano e 0,7% da fase acetato de etila de *S. splendida*.

Tabela 15. Teor de flavonóis de flavonas totais ($\mu\text{g querc/mg}$) por dia ($n=3$) de *Senna splendida*.

Amostra	Média $\pm$ d.p. de flavonóis e flavonas ($\mu\text{g querc/mg}$) por dia			
	1 dia	2 dia	3 dia	p
EB-Se	$0,27 \pm 0,02$ ^{a,C}	$0,25 \pm 0,13$ ^{a,C}	$0,31 \pm 0,12$ ^{a,C}	0,7931
FH-Se	$0,52 \pm 0,11$ ^{ab,B}	$0,54 \pm 0,02$ ^{b,B}	$0,61 \pm 0,1$ ^{a,B}	0,3532
FD-Se	$0,30 \pm 0,10$ ^{a,C}	$0,30 \pm 0,15$ ^{a,C}	$0,30 \pm 0,12$ ^{a,C}	0,9987
FA-Se	$1,71 \pm 0,08$ ^{a,A}	$1,71 \pm 0,01$ ^{a,A}	$1,64 \pm 0,13$ ^{a,A}	0,4623

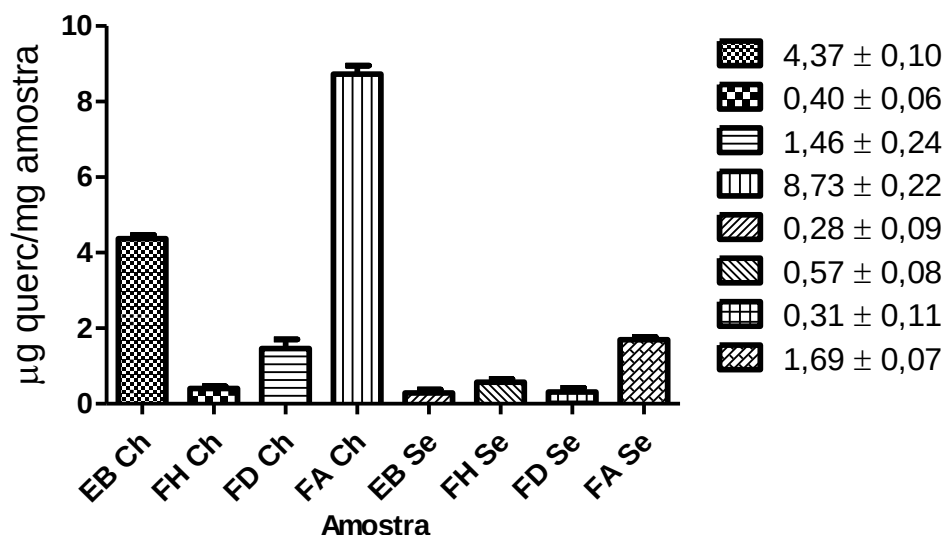
Dados expressos como média $\pm$ desvio padrão da média, em triplicata. Foram comparados os dados interdia e analisados por ANOVA seguida de Tukey ($p < 0,05$). *Médias seguidas de diferentes letras minúsculas na mesma linha e maiúsculas na mesma coluna diferem significativamente ($p \leq 0,05$) pelo teste de Tukey. EB = extrato bruto; FH = fase hexânica; FD = fase diclorometano; FA = fase acetato de etila.

Gráfico 7. Média $\pm$ d. p. do teor de flavonóis e flavonas totais nas amostras de *Senna splendida*.

Dados expressos como média $\pm$ desvio padrão com $n = 9$. Os dados foram analisados por ANOVA seguida de Tukey. EB = extrato bruto; FH = fase hexânica; FD = fase diclorometano; FA = fase acetato de etila.

Ao compararmos as médias das amostras de *Chamaecrista sp.* e *S. splendida* por ANOVA, seguida de Tukey (Gráfico 8), foi possível observar que não houve diferença estatística entre o teor flavonoides de FH-Ch e FH-Se e entre EB-Se e FD-Se, e foi possível observar também que a fase acetato de etila de *Chamaecrista* apresentou o maior teor de flavonoides em comparação com todas as amostras de *S. splendida* e *Chamaecrista*.

Gráfico 81. Média $\pm$ d. p. do teor de flavonóis e flavonas nas amostras de *Senna splendida* e *Chamaecrista* sp.



Dados expressos como média $\pm$ desvio padrão com $n = 9$. Os dados foram analisados por ANOVA seguida de Tukey. EB = extrato bruto; FH = fase hexânica; FD = fase diclorometano; FA = fase acetato de etila.

5.3.3 Determinação da atividade antioxidante por método de sequestro de radicais - DPPH

Após avaliar a atividade antioxidante das amostras através do teste do sequestro do radical livre estável, DPPH, foi determinada concentração necessária de amostra para que 50% dos radicais recebessem átomos de hidrogênio (CE_{50}), reduzindo-se à hidrazina. As $CE_{50} \pm$ d.p. no teste do DPPH de *Chamaecrista* sp. encontram-se na Tabela 16 e no Gráfico 9 e o poder antirradicalar encontra-se na Tabela 17.

Tabela 16. CE_{50} das amostras de *Chamaecrista* pelo método do DPPH ($n = 3$).

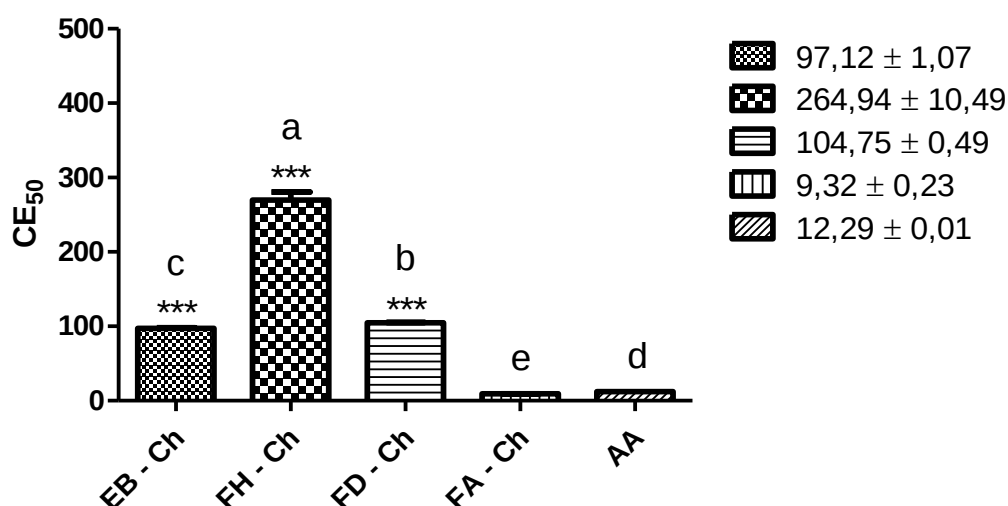
Amostra	CE_{50} ($\mu\text{g/mL}$)			
	1º dia	2º dia	3º dia	p
EB - Ch	97,80 $\pm$ 0,71 ^{a,C}	97,66 $\pm$ 1,01 ^{a,C}	95,90 $\pm$ 0,98 ^{a,C}	0,9988
FH - Ch	265,27 $\pm$ 8,72 ^{b,A}	282,01 $\pm$ 2,40 ^{a,A}	262,82 $\pm$ 3,57 ^{b,A}	0,9850
FD - Ch	104,21 $\pm$ 0,12 ^{a,B}	105,17 $\pm$ 0,51 ^{a,B}	104,89 $\pm$ 0,90 ^{a,B}	0,9997
FA - Ch	9,25 $\pm$ 0,03 ^{b,D}	9,14 $\pm$ 0,16 ^{b,D}	9,58 $\pm$ 0,05 ^{a,D}	0,9971

Dados expressos como média da CE_{50} ($\mu\text{g/mL}$) $\pm$ desvio padrão da média, em triplicata. Os dados foram comparados entre os dias e analisados por ANOVA seguida de Tukey ($p < 0,05$). *Médias seguidas de diferentes letras minúsculas na mesma linha e maiúsculas na mesma coluna diferem significativamente ($p \leq 0,05$) pelo teste de Tukey.

Tabela 17. Poder antirradicalar das amostras de *Chamaecrista*.

Amostra	Poder antirradicalar ($1/CE_{50}$)		
	1º dia	2º dia	3º dia
EB - Ch	0,01	0,01	0,01
FH - Ch	0,004	0,004	0,004
FD - Ch	0,01	0,01	0,01
FA - Ch	0,10	0,11	0,10

Gráfico 92. Média da CE_{50} das amostras de *Chamaecrista* para o teste de sequestro de radicais DPPH.



Dados expressos como média da CE_{50} ($\mu\text{g/mL}$) $\pm$ desvio padrão da média, $n=9$. Os dados foram comparados com o controle positivo (ácido ascórbico) por ANOVA seguida do teste de Tukey (***) $p < 0,001$ em relação à AA). EB = extrato bruto; FH = fase hexânica; FD = fase diclorometano; FA = fase acetato de etila; AA = ácido ascórbico.

Na Tabela 16, foi possível observar que não houve diferença significativa entre as médias das CE_{50} nos três dias ($p > 0,05$) e no gráfico 12 foi possível observar que todas as amostras apresentam atividade antioxidante ($CE_{50} < 500 \mu\text{g/mL}$) de acordo Campos *et al.*, 2003. Entretanto, ao comparar as CE_{50} das amostras e do padrão, ácido ascórbico, a fase diclorometano e o extrato bruto não apresentaram diferença estatística significativa entre si, entretanto a única amostra a não apresentar diferença estatística com relação ao padrão ($p <$

0,001) foi a fase acetato de etila. Esse padrão foi escolhido para esse estudo por ser utilizado comercialmente.

Para as amostras de *S. splendida* foi possível observar que não houve diferença estatística entre os dias (Tabela 18 e 19) e que a fase acetato de etila foi a que mais se aproximou da CE₅₀ do ácido ascórbico, entretanto, todos apresentaram diferença estatística em relação padrão (Gráfico 10).

Tabela 18. CE₅₀ das amostras de *S. splendida* pelo método do DPPH (n = 3).

Amostra	CE ₅₀ (µg/mL)			
	1º dia	2º dia	3º dia	P
EB – Se	102,75	108,01	105,22	0,9935
FH – Se	403,12	402,48	394,62	0,9991
FD – Se	229,63	232,52	232,14	0,9989
FA – Se	52,32	52,30	52,47	0,9998

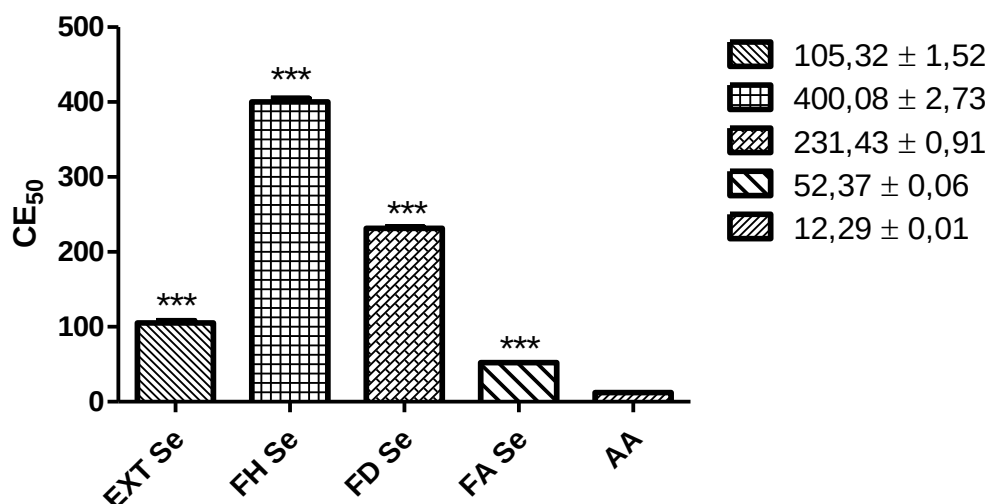
Dados expressos como média da CE₅₀ (µg/mL), em triplicata. Os dados foram comparados entre os dias e analisados por ANOVA seguida de Tukey (p<0,05). EB = extrato bruto; FH = fase hexânica; FD = fase diclorometano; FA = fase acetato de etila.

Tabela 19. Poder antirradicalar das amostras de *S. splendida* pelo método do DPPH (n = 3).

Amostra	Poder antirradicalar (1/CE ₅₀)		
	1º dia	2º dia	3º dia
EB – Se	0,01	0,01	0,01
FH – Se	0,002	0,002	0,002
FD – Se	0,004	0,004	0,004
FA – Se	0,02	0,02	0,02

Dados expressos como média da CE₅₀ (µg/mL), em triplicata. Os dados foram comparados entre os dias e analisados por ANOVA seguida de Tukey (p<0,05). EB = extrato bruto; FH = fase hexânica; FD = fase diclorometano; FA = fase acetato de etila.

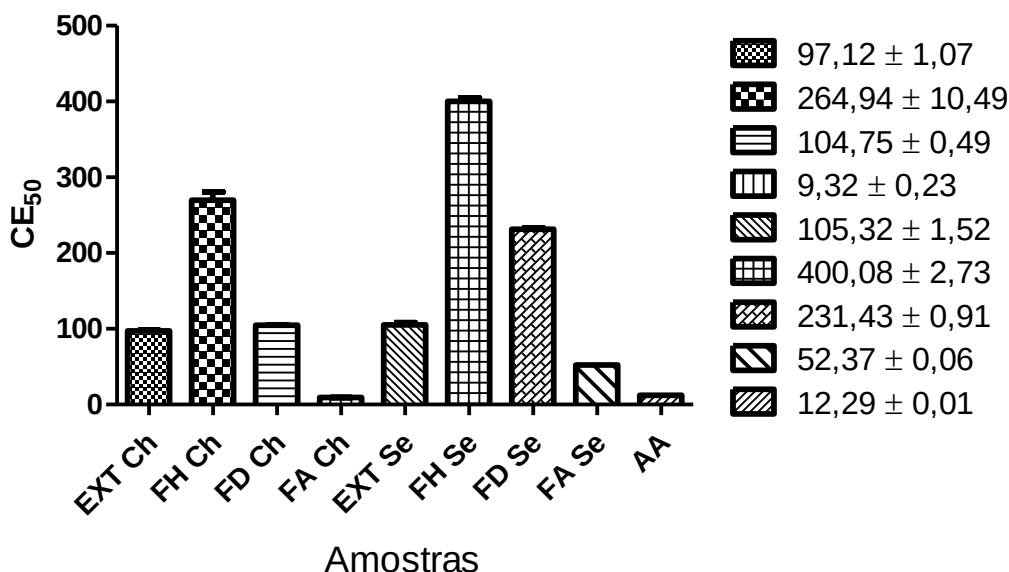
Gráfico 30. Média da CE_{50} das amostras de *S. splendida* para o teste de sequestro de radicais DPPH. (ANOVA seguida do teste de Tukey, $n=9$).



Dados expressos como média da CE_{50} (µg/mL) ± desvio padrão da média, $n=9$. Os dados foram comparados com o controle positivo (ácido ascórbico) por ANOVA seguida do teste de Tukey (***) $p < 0,001$ em relação ao ácido ascórbico). EB = extrato bruto; FH = fase hexânica; FD = fase diclorometano; FA = fase acetato de etila; AA = ácido ascórbico.

Ao compararmos as médias das amostras de *Chamaecrista* sp. e *S. splendida* por ANOVA, seguida de Tukey ($p < 0,05$) (Gráfico 11), foi possível observar que não houve diferença estatística entre a CE_{50} do extrato bruto de *Senna* e de *Chamaecrista* sp. e que a fase acetato de etila de *Chamaecrista* apresentou a menor CE_{50} , seguida da FA-Se, em comparação com todas as amostras testadas, e uma relevante atividade antioxidante.

Gráfico 41. Média da CE_{50} das amostras de *S. splendida* e *Chamaecrista* para o teste de sequestro de radicais DPPH. (ANOVA seguida do teste de Tukey, $n=9$).



Dados expressos como média da CE_{50} (µg/mL) ± desvio padrão da média, $n=9$. Os dados foram comparados com o controle positivo (ácido ascórbico) por ANOVA seguida do teste de Tukey. EB = extrato bruto; FH = fase hexânica; FD = fase diclorometano; FA = fase acetato de etila; AA = ácido ascórbico.

Tomados juntos, os resultados desta atividade mostram que a partição do extrato é uma boa opção para obtenção de fases enriquecidas com as substâncias de interesse, nesse caso, compostos com atividade antioxidante. Esse resultado também está de acordo com o teor observado de fenólicos e flavonoides para as amostras, uma vez que a atividade antioxidante observada no teste (DPPH) se dá principalmente por esses constituintes, os quais funcionam como sequestradores de radicais livres e, algumas vezes, como quelantes de metais (SHAHIDI *et al.*, 1992). Além disso, a presença das substâncias que já tem atividade antioxidante relatada na literatura, como a emodina, justicida, rubrofusarina glicosilada e vitexina, nas espécies em estudo, também corroboram para atividade antioxidante destas.

Também podemos concluir que a fase acetato de etila de *Chamaecrista* sp. apresenta uma boa atividade antioxidante, podendo ser uma boa fonte de compostos fenólicos, devendo ser encaminhada para outros testes de atividade antioxidante, uma vez que apresentou CE_{50} estatisticamente semelhante ao

controle positivo, ácido ascórbico, substância pura amplamente utilizada na medicina.

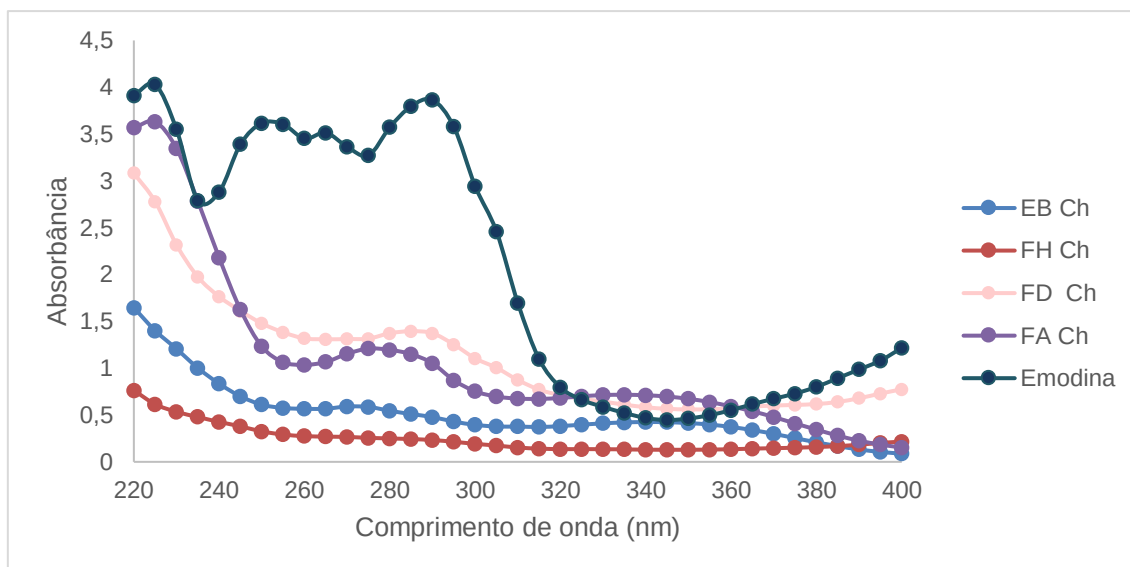
5.4 RESULTADOS DA AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE FOTOPROTETORA *IN VITRO*

Segundo Violante *et al.* (2008), um dos fatores que determinam a eficácia de um produto natural como fotoprotetor é sua composição e consequentemente sua capacidade de absorver o espectro ultravioleta. Dessa forma, com a avaliação da atividade fotoprotetora, através de análise espectrofotométrica do extrato e fases de *Chamaecrista* sp e *Senna splendida* e da emodina, substância isolada de *Chamaecrista* sp., foram obtidos os resultados apresentados nos gráficos 12 e 13, que expressam no eixo y os valores da absorbância e no eixo x, os comprimentos de onda (nm).

Ao observarmos o espectro de varredura do extrato bruto e das fases de *Chamaecrista* sp. (Gráfico 12) na região de 220 a 400 nm, foi possível visualizar que a FH-Ch e o EB-Ch apresentam baixa absorção na região analisada, entretanto as fases diclorometano e acetato de etila apresentaram absorções relevantes, com bandas na região de 275 (absorbância máxima de 1,209) e 335 nm (absorbância máxima de 0,716) para FA-Ch e 285 nm (absorbância máxima de 1,395) para FD-Ch, mostrando que ambas absorvem na região do UVB (280-320 nm) e a FD-Ch ainda absorve com baixa intensidade na região do UVA (320-400 nm).

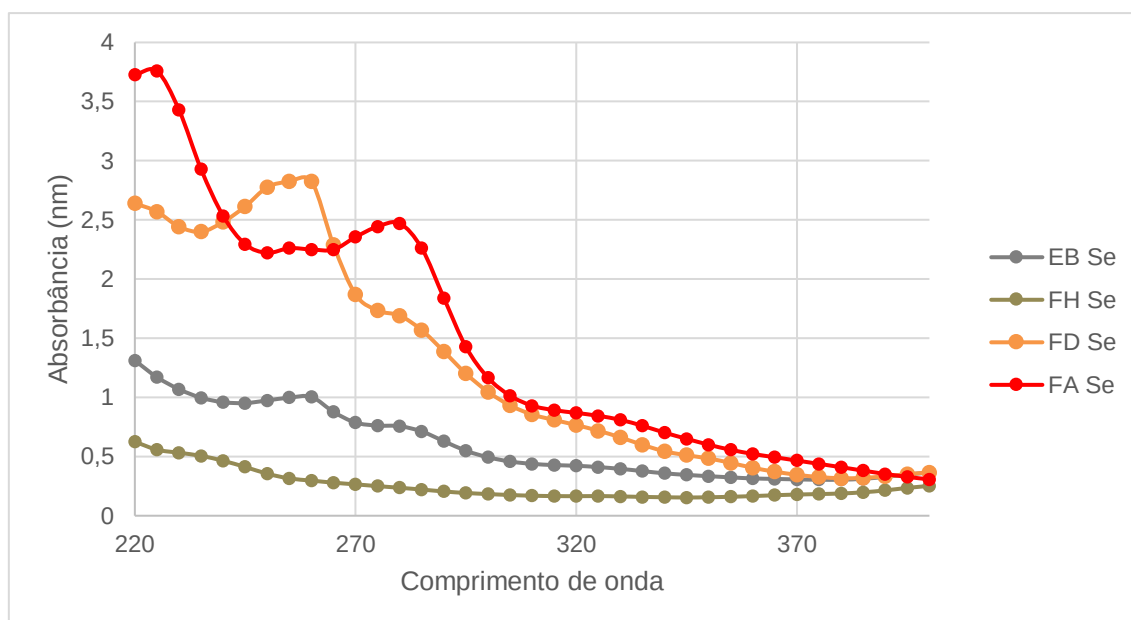
Com relação à emodina, foi possível observar que esta apresenta grande absorção na região de UVC (100-280 nm) e UVB (280-320 nm), compartilhando um perfil parecido com a FD-Ch, de onde ela foi isolada em maior quantidade, e podendo ser responsável pela atividade fotoprotetora desta fase.

Gráfico 52. Espectro de varredura do UV-Vis na região de 220-400 nm das amostras de *Chamaecrista* sp.



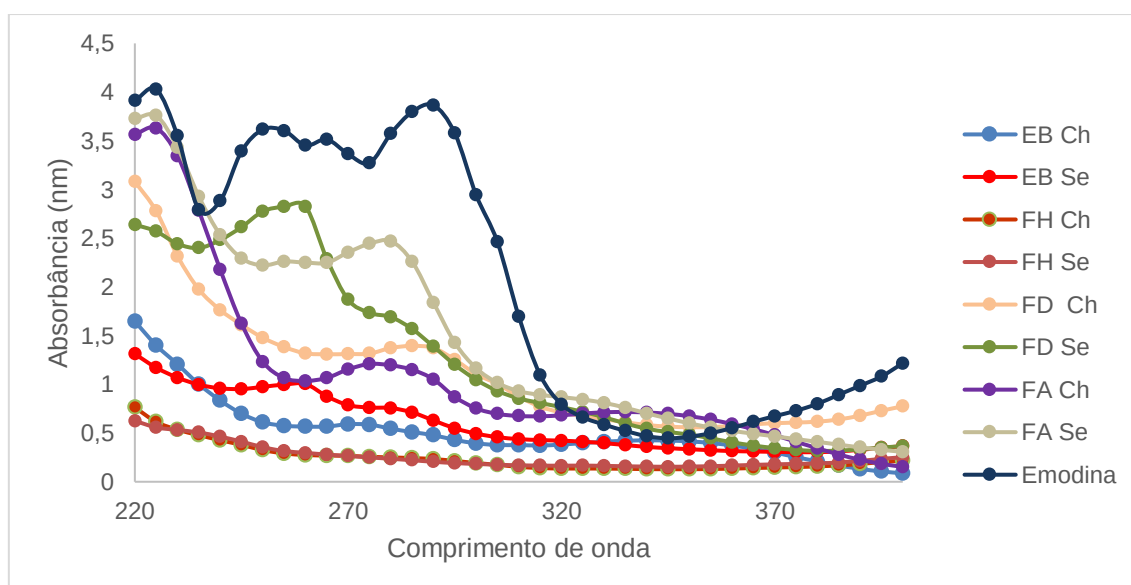
Observando o espectro de varredura do extrato bruto e das fases de *Senna splendida* (Gráfico 13), na região de 220 a 400 nm, foi possível visualizar que a FH-Ch e o EB-Ch apresentam baixa absorção na região analisada, sendo que o EB-Se ainda apresenta bandas de baixa intensidade na região de 260 e 280 nm. As fases FD-Se e FA-Se apresentaram absorções relevantes, com bandas na região de 260 nm (absorbância máxima de 2,826) e 280 nm (absorbância máxima de 1,691) para FD-Ch e 255 nm (absorbância máxima de 2,261) e 280 nm (absorbância máxima de 2,47) para FA-Ch, mostrando que ambas absorvem principalmente na região de UVC (100-280) e UVB.

Gráfico 63. Espectro de varredura de UV-Vis na região de 220-400 nm das amostras de *Senna splendida*.



Ao compararmos todas as amostras (Gráfico 14) foi possível observar que as fases diclorometano e acetato de etila de *Chamaecrista sp* e *Senna splendida* apresentaram maiores absorções na região de UVB e UVC em relação aos extratos e fases hexânica dessas espécies.

Gráfico 74. Espectro de varredura de UV-Vis na região de 220-400 nm das amostras de *Chamaecrista sp.* e *Senna splendida*.



Diversos trabalhos demonstraram que as plantas que absorvem na região ultravioleta apresentam em sua composição metabólitos especiais como

flavonoides, taninos, antraquinonas, alcaloides e os polifenóis (BOBIN *et al.*, 1994; HENRIQUES *et al.*, 2000; FALKENBERG *et al.*, 2000; ZUANAZI, 2000; SOUZA *et al.*, 2005; DI MAMBRO & FONSECA, 2006).

Segundo Bobin *et al.* (1994) e Violante *et al.*, (2009), os flavonoides, quando dispersos em etanol, apresentam dois picos de absorção sendo um entre 240-280nm e o outro no comprimento de 300-550 nm, sinalizando um potencial para a absorção da radiação UV, cujo comprimento de onda está compreendido entre 290-320 (UVB) e 320-400 (UVA).

Estudos *in vitro* e *in vivo* têm demonstrado que os flavonoides inibem enzimas que estão envolvidas na produção de EROs, atuam como agentes quelantes contra metais envolvidos no metabolismo do oxigênio que aumenta a produção de EROs e são capazes de reduzir os radicais livres gerados por meio da doação de elétrons a estes radicais (HANASAKI *et al.*, 1994 *apud* DALBELO, 2009; KORINA & AFANA'EV, 1997; BROWN *et al.*, 1998).

Apesar dos flavonoides serem citados como principais responsáveis pela atividade fotoprotetora dos extratos, a amostra que apresentou maior absorbância na região de ultravioleta não apresentou o maior teor de flavonoides nem de fenólicos em relação às outras amostras, dessa forma, outros constituintes podem estar determinando essa ação, ou o sinergismo entre as substâncias presentes nesse extrato faz com ele apresente maior fotoproteção.

Após essa análise, foi então calculado o fator de proteção solar para cada uma das amostras, obtendo-se os seguintes dados da tabela 20.

Tabela 20. Fator de proteção das amostras analisadas.

Amostra	FPS
EB Ch	3,88
FH Ch	1,76
FD Ch	9,56
FA Ch	7,26
Emodina	24,25
EB Se	4,72
FH Se	1,77
FD Se	9,66
FA Se	10,76

Segundo a RDC Nº 30 de 1º de junho de 2012, que regulamenta a produção de protetores solares em cosméticos (ANVISA), o valor mínimo aceitável para fator de proteção solar é seis (BRASIL, 2012). As fases diclorometano e acetato de etila de *Chamaecrista* sp. e *Senna splendida* e a emodina apresentaram maior FPS e são promissores protetores solares, uma vez que apresentaram FPS maior que seis.

O fator de proteção solar obtido para emodina (24,25) está de acordo com a literatura (FPS = 20.23 - 100 µg/ml) (DEMIREZER & UZUN, 2016) e indica que essa substância apresenta promissora atividade fotoprotetora, sugerindo que esta seja encaminhada para incorporação em bases e avaliação por outros testes.

Segundo Mansur *et al.* (1986) *apud* Nascimento *et al.* (2014), para o desenvolvimento e produção de um produto cosmético com filtro solar, o valor do FPS precisa ser calculado por meio da adição do extrato vegetal na formulação em questão e sua absorbância deve ser medida, para então ter-se o valor real do FPS, entretanto, foi de interesse realizar esse cálculo antes da incorporação dos extratos em alguma formulação, como forma de selecionar aqueles com melhores resultados, evitando desperdícios de excipientes e outras matérias primas que precisam ser utilizadas em estudos mais aprofundados nesse sentido.

O extrato de uma espécie de *Senna* (*Senna alata*) já é comercializado como protetor solar em associação com filtros Mexoplex pelo laboratório La Roche-Posay, sob o nome de Anthelius Fluide Protetor Solar (FPS 60), corroborando para continuação dos estudos com a fase acetato de etila de *Senna splendida*. Já o extrato de *Chamaecrista desvauxii* foi submetido a análise espectrofotométrica por UV-Vis, observando que o mesmo absorvia na região de UVA, não sendo encaminhado para incorporação em emulsões para cálculo do FPS por não absorver radiações UVB (VIOLANTE *et al.*, 2008).

Diante do exposto, as fases diclorometano e acetato de etila de *Chamaecrista* sp e *Senna splendida* se mostraram promissoras e devem ser encaminhadas para incorporação em bases afim de avaliar seu FPS para determinar a possibilidade de conduzi-las para análises *in vivo*.

CONCLUSÃO E
CONSIDERAÇÕES
FINAIS

6 CONCLUSÃO E CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo fitoquímico de *Chamaecrista* sp. resultou na identificação de cinco substâncias, sendo elas, β -sitosterol e estigmasterol (Ch-1), emodina (Ch-2), vitexina e orientina (Ch-3), enquanto que o estudo de *Senna splendida* resultou na identificação de cinco substâncias por RMN ^1H e ^{13}C , ácido 3- β -acetiloxi-lup-20(29)-en-28-óico (Se-1), β -sitosterol glicosilado, estigmasterol glicosilado (Se-2), rubrofusarina glicosilada e quinquangulina glicosilada (Se-3) e justicidina (Se-4) e identificação por CG-EM de doze substâncias, dihidroactinodiolideo [Se-1(1)], fitona [Se-1(2)], metoxsalen [Se-1(3)], metilhexacosane [Se-1(4)], heptacosane [Se-1(5)], octacosane [Se-1(7)], nonacosane [Se-1(9)], triacontane [Se-1(10)], hentriacontane [Se-1(11)], β -sitosterol [Se-1(12)], 4,22-estigmastadien-3-ona [Se-1(13)] e sitostenona [Se-1(14)] (Figura 137).

Figura 137. Fórmulas estruturais das substâncias isoladas de *Chamaecrista* sp. e *Senna splendida*.

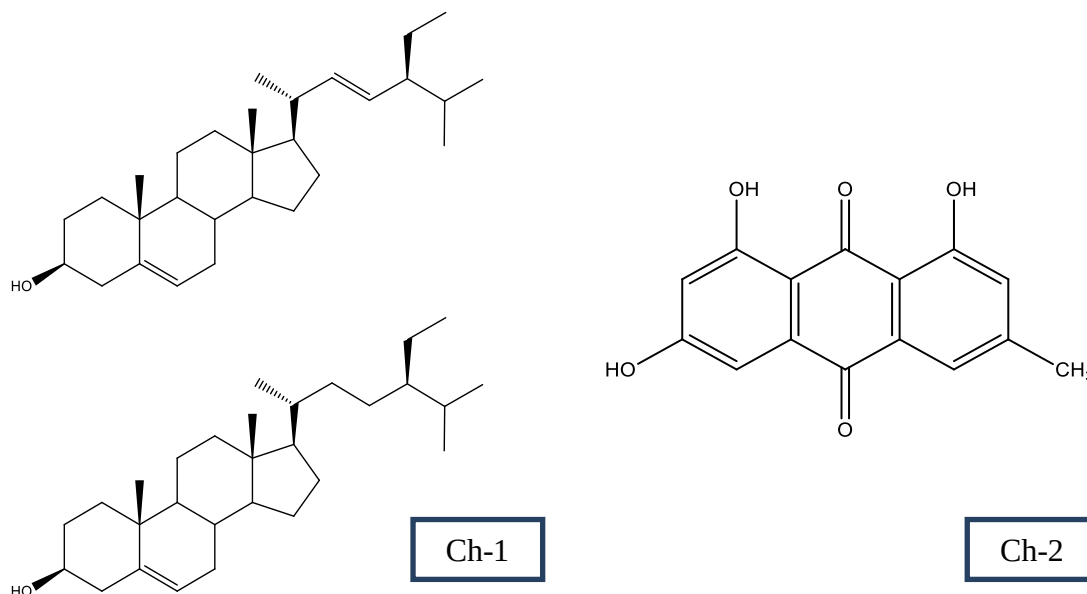


Figura 137 (continuação). Fórmulas estruturais das substâncias isoladas de *Chamaecrista* sp. e *Senna splendida*.

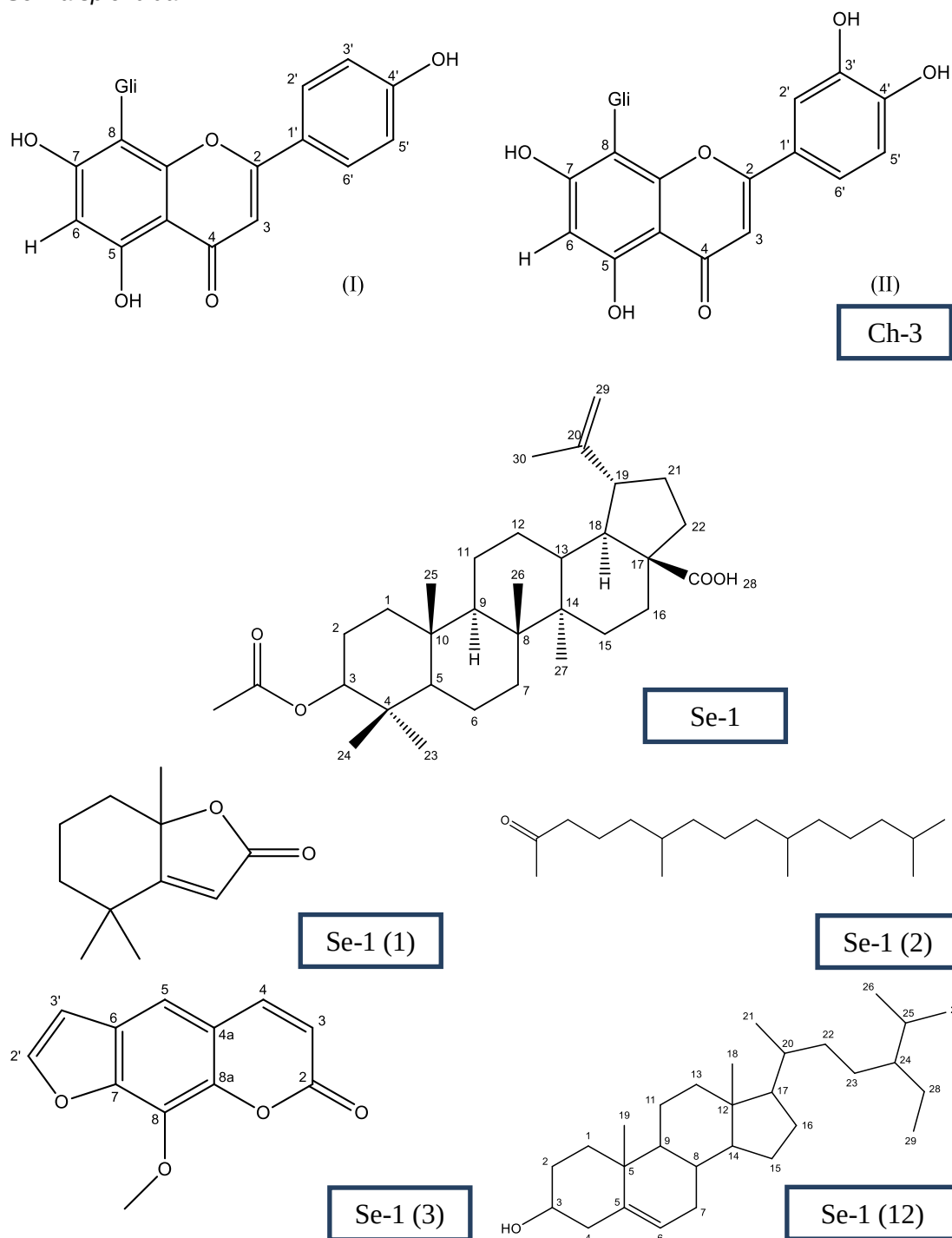


Figura 137 (continuação). Fórmulas estruturais das substâncias isolas de *Chamaecrista* sp. e *Senna splendida*.

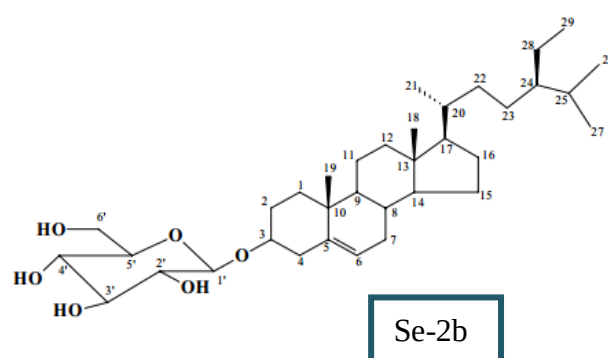
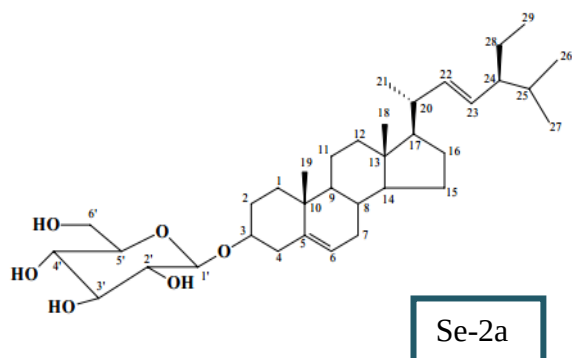
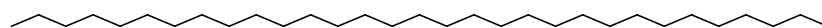
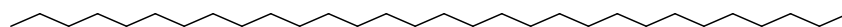
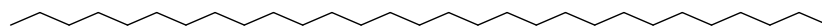
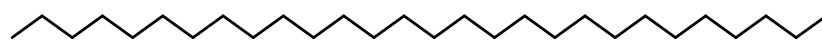
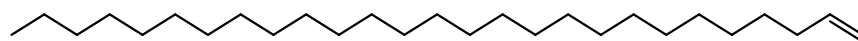
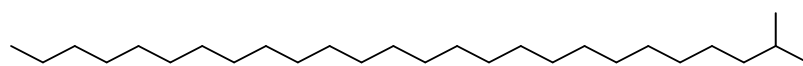
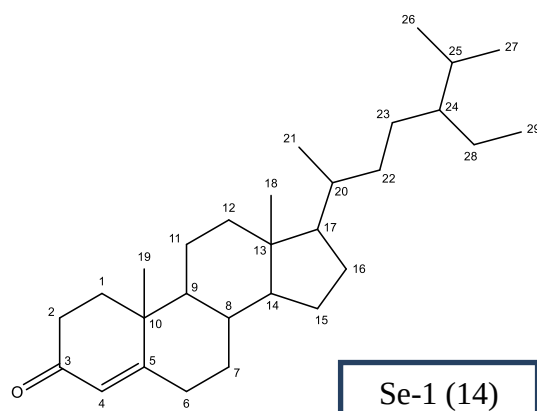
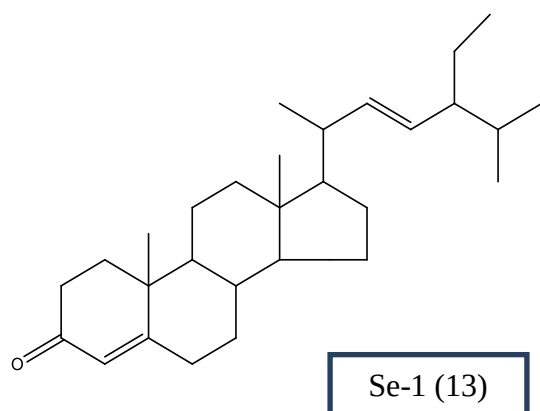
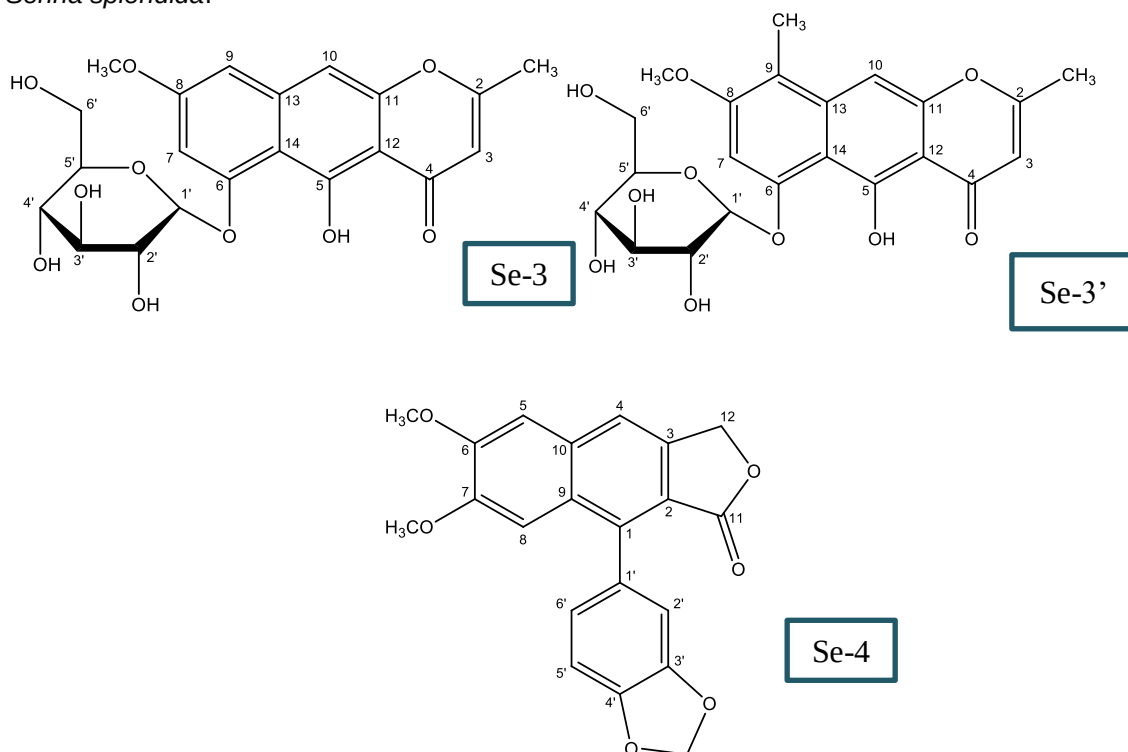


Figura 137 (continuação). Fórmulas estruturais das substâncias isoladas de *Chamaecrista* sp. e *Senna splendida*.



A substância isolada de *Chamaecrista* sp. que apresentou atividade como indicador ácido-base natural foi a emodina. Esta substância foi aplicada em aula prática para turmas de ensino técnico integrado do IFPB tornando a aula bastante interessante pois os alunos tiveram a oportunidade de visualizar o conteúdo estudado na teoria, reportando a prática aos princípios básicos da extração, que passam despercebidos no cotidiano.

Na avaliação da atividade antioxidante, a fase acetato de etila de *Chamaecrista* sp. foi a que apresentou maior teor de fenólicos e flavonoides e maior poder redutor frente ao DPPH, devendo esta atividade estar relacionada com os constituintes isolados dessa fase (vitexina e orientina).

Na avaliação da atividade fotoprotetora *in vitro*, as fases diclorometano e acetato de etila de *Senna splendida* e *Chamaecrista* sp. apresentaram FPS maior que 6 e a emodina, substância isolada de *Chamaecrista* sp. apresentou um excelente FPS (24,25), devendo essas fases e essas substâncias serem encaminhadas para incorporação em base e realização de testes mais aprofundados de fotoproteção.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

- ADEWUSI, E. A.; MOODLEY, N.; STEENKAMP, V. Antioxidant and acetylcholinesterase inhibitory activity of selected Southern African medicinal plants. **South African Journal of Botany**, v. 77, n. 3, p. 638-644, 2011.
- AFIFI, F. U.; SHERVINGTON, A.; DARWISH, R. M. Phytochemical and biological evaluation of *Arum palastium*. Part 1: Flavone C-glycosides. **Acta Technologiae et Legis Medicamenti**, v. 8, p. 105-111, 1997.
- AGRICULTURAL RESEARCH SERVICES. **Phytochemical and Ethnobotanical databases**. Disponível em: <http://www.ars-grin.gov/cgi-bin/duke/chemical.plstigmasterol>.
- ALEZANDRO, M. R. Determinação de isoflavonas e capacidade antioxidante de alimentos industrializados à base de soja e/ou produtos derivados consumidos no Brasil. **Dissertação de mestrado**, Universidade de São Paulo, 2009.
- ANDREO, D.; JORGE, N. Antioxidantes naturais: técnicas de extração. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos (CEPPA)**, Curitiba, v. 24, n. 2, p. 319-336, 2006.
- ANGELO, P. M., JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, n. 1, p. 232-240, 2007.
- ANGELY, J. Flora analítica do Paraná. **Phyton**, p. 353-381, 1965.
- AQUINO, R. DE SIMONE, F.; PIZZA, C.; CERRI, R.; MELOO, J. F. Quinovic acid glycosides from *Guettarda platypoda*. **Phytochemistry**, v. 27, p. 2927-2930, 1988.
- ARAÚJO, T. S.; SOUZA, O. Protetores solares e o efeito da radiação ultravioleta. **Scientia Plena**, v. 4, n.11, 2008.
- ARNSON Y, AMITAL H, SHOENFELD Y. Vitamin D and autoimmunity: new etiological and therapeutic considerations. **Annals of the Rheumatic Diseases**, v. 66, p. 1137-42, 2007.
- ASENSI, M.; ORTEGA, A.; MENA, S.; FEDDI, F.; ESTRELA, J. M. Natural polyphenols in cancer therapy, **Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences**, v. 48, n. 5, p. 197-216, 2011.
- ATOUI, A.K.; MANSOURI, A.; BOSKOU, G.; KEFALAS, P. Tea and herbal infusions: their antioxidant activity and phenolic profile. **Food Chemistry**, v. 89, p. 27-36, 2005.
- AWAD, A. B.; BURR, A. T.; FINK, C. S. Effect of resveratrol and β -sitosterol in combination on reactive oxygen species and prostaglandin release by PC-3 cells. **Prostaglandins, Leucotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 72, p. 219-226, 2005.

BALESTRIN, L. Estudo fitoquímico e avaliação das atividades alelopáticas, antibacterianas e antioxidantes de *Dorstenia multiformis* Miguel, Moraceae. Curitiba: Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, 111p, 2006.

BHADARIA, M. Dose-dependent hepatoprotective effect of emodin against acetaminophen-induced acute damage in rats. **Experimental Toxicology Pathology**, v. 62, p. 627 – 635, 2010.

BARBA, B.; DIAZ, J. G.; HERZ, W. Cassanes and anthraquinones from *Chamaecrista greggii*. **Phytochemistry**, v. 37, n. 3, p. 837-845, 1994.

BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, v. 29, n. 1, p. 113-116, 2006.

BARROS, S. M. D.; SIQUEIRA-JUNIOR, J. P. Decreased survival of UV-irradiated *Staphylococcus aureus* in the presence of 8-methoxypsoralen in the post-irradiation plating medium. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 66, p. 153-156, 2002.

BAZYLKO, A.; BORZYM, J.; PARZONKO, A. Determination of in vitro antioxidant and UV-protecting activity of aqueous and ethanolic extracts from *Galinsoga parviflora* and *Galinsoga quadriradiata* herb. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 149, p. 189–195, 2015.

BERTOLDI, M. C. Atividade antioxidante *in vitro* da fração fenólica, das oleorresinas e do óleo essencial de pimenta rosa (*Schinus terebinthifolius* Raddi). **Dissertação de mestrado**, Universidade Federal de Viçosa, 2006.

BIONDO, E. Citotaxonomia e citogenética de espécies da subfamília Caesalpinioideae (Leguminosae) ocorrentes na região Sul do Brasil. 144f. **Tese. (Doutorado em Ciências: Botânica)**, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2004.

BOBIN, M.F.; RAYMOND, M & MARTINI, M.C. UVA/UVB absorption properties of natural products. **Cosmetics & Toiletries**. 1994 (109):63-78.

BORTOLUZZI, R. L. C.; MIOTTO, S. T. S.; REIS, A. Novos registros de *Chamaecrista* Moench e Senna Mill. (Leguminosae-Caesalpinioideae-Cassieae) na flora sul-brasileira. **Iheringia, Sér. Bot.**, Porto Alegre, v. 62, n.1-2, p. 121-130, 2007.

BORTOLUZZI, R. L.; A subfamília Caesalpinioideae (Leguminosae) no estado de Santa Catarina, Brasil. 319f. **Tese. (Doutorado em Ciências: Botânica)**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2004.

BOUIC, P. J. D.; LAMPRECHT, J. H. Plant sterol and sterolins: A review of their immune-modulating properties. **Alternative Medicine Review**, v. 4, p. 170-177, 1999.

BRASIL. Ministério da educação e cultura. Orientações curriculares nacionais: Ensino médio. Volume 2: Ciência da natureza, matemática e tecnologia. Brasília: MEC, p. 101, 104, 110 e 114, 2006.

BRASIL. Resolução - RDC Nº 30 de 1º de junho de 2012. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA)**, 2012. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/content/Anvisa+Portal/Anvisa/Inicio/Cosmeticos/Assuntos+de+Interesse/Legislacoes/Registro>

BRASIL. **Instituto Nacional de pesquisas Espaciais (INPE): Divisão de satélites e sistemas ambientais (DSA)**, 2016. Disponível em: <http://satelite.cptec.inpe.br/uv/>. Acesso em 04 jan 2017.

BRASIL. **Instituto Nacional do Câncer (INCA): Câncer de Pele**, 2016. Disponível em: http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/tiposdecancer/site/home/pele_mela_nomasp?id=333. Acesso em 03 jan 2017.

BREITMAIER, E.; VOELTER, W. Carbono-13 NMR Spectroscopy: High Resolution Methods And Applications In Organic Chemistry And Biochemistry. 3ª Ed. Weinheim, New York: VHC, 1990.

BROWN JE, KHODR H, HIDER RC, RICE-EVANS C. Structural dependence of flavonoid interactions with Cu²⁺ ions; implications for their antioxidant properties. **Biochemical Journal**, v. 33, n. 3, p. 1173-8, 1998.

CAI, T.; QI, W.; YANG, L.; TU, G.; YANG, R.; XIE, K.; FU, H. Chemical constituents of *Pseudolarix kaempferi* Gord, **Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences**, v. 21, p. 428-435, 2012.

CAMARGO, R. A.; MIOTTO, S.T.S. O gênero *Chamaecrista* Moench (Leguminosae-Caesalpinioideae) no Rio Grande do Sul. **Iheringia, Série Botânica**, v. 59, n. 2, p. 131-148, 2004.

CAMPOS, M. G.; WEBBY, R. F.; MARKHAM, K. R.; DA CUNHA, A. O. Age-induced diminution of free radical scavenging capacity in bee pollens and the contribution of constituent flavonoids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 742-745, 2003.

CÂNDIDO, A. C. S.; SCHMIDT, V.; LAURA, V. A.; FACCENDA, O.; HESS, S. C.; SIMMIONATTO, E.; PERES, M. T. L. P. Potencial alelopático da parte aérea de *Senna occidentalis* (L.) Link (Fabaceae, Caesalpinioideae): bioensaios em laboratório. **Acta Botanica Brasilica**, v. 24, n.1, p. 235-242, 2010.

CARVALHO, P. R. C. Estudo da atividade farmacológica dos glicosídeos isolados da *Herissantia crispa* L. (Brizicky) e *Sidastrum paniculatum* L. (Fryxell) Malvaceae. **Tese (Doutorado em Ciências Biológicas)**, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2009.

CERVELLATI, C.; ROMANI, A.; SERIPA, D.; CREMONINI, E.; BOSI, C.; MAGON, S.; BERGAMINI, C.M.; VALACCHI, G.; PILOTTO, A.; ZULIANI, G.

Systemic oxidative stress and conversion to dementia of elderly patients with Mild Cognitive Impairment, **BioMed Research International**, 1–7 ID 309507, 2014.

CHAVES, M. H.; CITÓ, A. M. G. L.; LOPES, J. A. D.; COSTA, D. A.; OLIVEIRA, C. A. A.; COSTA, A. F.; *et al.* Fenóis totais, atividade antioxidante e constituintes químicos de extratos de *Anacardium occidentale* L., Anacardiaceae. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 20, n. 1, p. 106-12, 2010.

CHEN, L.; HU, J.Y.; WANG, S. Q. The role of antioxidants in photoprotection: a critical review. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 67, p. 1013-24, 2012.

CHEN, Y.; CHANG, F.; WU, C.; YEN, M.; LIAW, C.; HUANG, H.; KUO, Y.; WU, Y. New cytotoxic 6-oxygenated 8,9-dihydrofurocoumarins, hedyotiscone A - C, from *Hedyotis biflora*. **Planta Medica**, v. 72, n. 1, p. 75-78, 2006.

CHEN, Y. C.; SHEN, S.C.; LEE, W. R.; HSU, F. L.; LIN, H. Y.; KO, C. H.; TSENG, S. W. Emodin induces apoptosis in human promyeloleukemic HL-60 cells accompanied by activation of caspase 3 cascade but independent of reactive oxygen species production. **Biochemical Pharmacology**, v. 64, p. 1713 – 1724, 2002.

CHERNG, J.; CHIANG, W.; CHIANG, L. Immunomodulatory activities of common vegetables and spices of Umbelliferae and its related coumarins and flavonoids. **Food Chemistry**, v. 106, p. 944–950, 2008.

CHU, X.; SUN, A.; LIU, R. Preparative isolation and purification of five compounds from the Chinese medicinal herb *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc by high-speed counter-current chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1097, p. 33-39, 2005.

CHUKWUJEKWU JC, COOMBES PH, MULHOLLAND DA, VAN STADEN J. Emodin, an antibacterial anthraquinone from the roots of *Cassia occidentalis*. **South African Journal of Botany**, v. 72, p. 295-297, 2006.

COQUEIRO, A. Fracionamento bioguiado para seleção de substâncias antioxidante, antimalárica e antibiótica potenciais nas espécies *Kielmeyera variabilis* (Clusiaceae) e *Brosimum glaziovii* (Moraceae). **Tese de doutorado**, Instituto de Química da Universidade Estadual Paulista, 2010.

CORDELL, G. A.; QUINN-BEATTIE, M. L.; FARNSWORTH, N. R. The potential of alkaloids in drug discovery. **Phytochemistry Research**, v. 15, p. 183-205, 2001.

CÓRDULA, E.; QUEIROZ, L. P.; ALVEZ, M. Checklist da flora de Mirandiba, Pernambuco: Leguminosae. **Rodriguésia**, v.59, n.3, p. 597-602, 2008.

COUTO, A. B.; *et. al.* Aplicação de pigmentos de flores no ensino de química. **Química Nova**. São Paulo, vol.21, n.2, p.221-227, 1998.

COWAN, R.S. Caesalpinioideae. In: POLHILL, R.M.; RAVEN, P.H. **Advances in Legume Systematics**, Kew: Royal Botanic Gardens. v. 1, p. 57-64, 1981.

CUCHINSKI, A. S.; CAETANO, J.; DRAGUNSKI, D. C. Extração do corante da beterraba (*Beta vulgaris*) para utilização como indicador ácido-base. **Eclética Química**, v. 35, n. 4, 2010.

CUNHA, A. R. Estudos teóricos de propriedades estruturais e eletrônicas da molécula emodina em solução. **Dissertação (Mestrado em Física)**. Universidade de São Paulo – Instituto de Física, São Paulo, 2009.

CUONG, L. C. V.; TRANG, D. T.; CUC, N. T.; NHIEM, N. X.; YEN, P. H.; ANH, H. L. T.; HUONG, L. M.; MINH, C. V.; KIEM, P. V. Flavonoid glycosides from *Antidesma ghaesembilla*. **Vietnam Journal of Chemistry**, v. 53, n. 2, p. 94-97, 2015.

DALBELO, S.E. Avaliação da eficácia fotoprotetora, penetração cutânea e segurança de formulações cosméticas contendo extratos de Chá Verde e Ginkgo Biloba. **[Dissertação]**. Ribeirão Preto: Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, 2008.

DANG, S. S.; ZHANG, X.; JIA, X. L.; CHENG, Y. A.; SONG, P.; LIU, E. Q.; HE, Q.; LI, Z. F. Protective effects of emodin and astragalus polysaccharides on chronic hepatic injury in rats. **Chinese Medical Journal (English Edition)**, v. 121, p. 1010 – 1014, 2008.

DAVID, J. P.; MEIRA, M.; DAVID, J. M.; GUEDES, M. L. S. Triterpenos e ferulatos de alquila de *Maprounea guianensis*. **Química Nova**, v. 27, n. 1, p. 62-65, 2004.

DEL PINO, J. C. & LOPES, C. V. M. Uma Proposta para o Ensino de Química Construída na Realidade de Escola, **Espaço da Escola**, v. 25, n. 4, p. 43-54, 1997.

DEMIREZER, L. O.; UZUN, M. Determination of sun protection fator (SPF) of *Rumex crispus* and mais anthraquinones. **Planta Medica**, v. 82 (S 01), p. 381, 2016.

DI MAMBRO, V. M & FONSECA, M.J.V. Avaliação da eficácia fotoprotetora in vivode formulações contendo extratos de Ginkgo biloba e Glycirriza glabra 2006. In: Congresso Brasileiro de Cosmetologia, São Paulo, **Anais eletrônicos...** SãoPaulo: B2 automação, 2006. 1 CD-Rom.

DIWAN, R.; MALPATHAK, N. Furanocoumarins: Novel topoisomerase I inhibitors from *Ruta graveolens* L. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 17, p. 7052-7055, p. 2009.

DUKE, J. A. Handbook of phytochemical constituents of gras herbs and other economic plants. Boca Raton: CRC Press. 1992.

EL-MASRY, S.; HAMMODA, H. M.; RADWAN, M. M.; ROSS, S. A.; ZAATOUT, H. H. C-Flavonoidal Glycosides from *Erythrina caffra* flowers. **Natural Product Sciences**, v. 14, n.4, p. 217-222, 2010.

FALKENBERG, M.B.; SANTOS, R.I & SIMÕES, C.M.O. Introdução à análise fitoquímica. In: Farmacognosia: da planta ao medicamento. Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS/UFSC, 2000. 2ª. ed. p. 171.

FARIA, S. M.; LEWIS, G. P.; SPRENT, J. I.; SUTHERLAND, J. M. Occurrence of nodulation in the Leguminosae. **The New Phytologist**, London, v. 111, p. 607-619, 1989.

FAURÉ, M.; LESSI, E.; TORRES, R.; VIDELA, C. A.; **Phytochemistry**, v.29, p. 3773, 1984.

FERREIRA, F. P. **Gêneros tóxicos da nossa flora: química e biologia**. 248 p. Tese (Doutorado em Ciências). Universidade de São Paulo – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, 2011.

FLOR, J.; DAVOLOS, M. R.; CORREA, M. A.; **Protetores solares**. Química Nova, v. 30, n. 1, p. 153-158, 2007.

FONSECA, F. N. Desenvolvimento tecnológico de fitoproduto a partir de *Justicia pectoralis* – chambá: Obtenção do extrato padronizado (CLAE-DAD) e avaliação farmacológica. **Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas)**, Universidade Federal do Ceará, 130 p. Fortaleza, 2009.

Food Ingredients Brasil, Dossiê Antioxidantes, nº 6, 2009. Disponível em: www.revista.ti.com.

FORESTIER, S. Rationale for sunscreen development. **Journal of American Academy of Dermatology**, v. 58, p.133-138, 2008.

FREITAS, J. V.; PRAÇA, F. S. G.; BENTLEY, M. V. B. L. L. R.; GASPAR, L. R. Trans-resveratrol and beta-carotene from sunscreens penetrate viable skin layers and reduce cutaneous penetration of UV-filters. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 484, pp. 131–137, 2015.

GALOTTA, A. L. Q. A.; BOAVENTURA, M. A. D. Constituintes químicos da raiz e do talo da folha do açai (*Euterpe precatoria* Mont., Arecaceae). **Química Nova**, v. 28, n. 4, 2005.

GAO, Q.; WANG, F.; GUO, S.; LI, J.; ZHU, B.; CHENG, J.; JIN, Y.; LI, B.; WANG, H.; SHI, S.; GAO, Q.; ZHANG, Z.; CAU, W.; TIAN, Y. Sonodynamic effect of an anti-inflammatory agent - emodin on macrophages. **Ultrasound in Med. & Biol.**, v. 37, n. 9, p. 1478-1485, 2011.

GARCEZ, F. R.; GARCEZ, W. S.; HAMERSKI, L.; MIGUITA, C. H. Fenilpropanóides e outros constituintes bioativos de *Nectandra megapota*. **Química Nova**, v. 32, n. 2, p. 407-411, 2009.

GERTSCH, J.; TOBLER, R. T.; BRUN, R.; STICHER, O.; HEILMANN, J. Antifungal, antiprotozoal, cytotoxic and piscicidal properties of justicidin B and a new aryl-naphthalide lignan from *Phyllanthus piscatorum*. **Planta Medica**, v.69, n.5, p. 420-424, 2003.

GOEL, R. K.; DAS GUPTA, G.; RAM, S. N.; PANDEY, V. B. Antiulcerogenic and anti-inflammatory effects of emodin, isolated from *Rhamnus triquertawall*. **Indian Journal of Experimental Biology**, v.29, p. 230–232, 1991.

GONZALEZ, S, GILABERTE, Y., PHILIPS, N., & JUARRANZ, A. Current Trends in Photoprotection-A New Generation of Oral Photoprotectors. **Open Dermatology Journal**, v. 5, n. 1, p. 6-14, 2011.

GUARATINI, T.; CALLEJON, D. R.; PIRES, D. C.; LOPES, J. N. C. Fotoprotetores derivados de produtos naturais: perspectivas de mercado e interações entre o setor produtivo e centros de pesquisa. **Química Nova**, v. 32, n. 3, pp. 717-721, 2009.

GULCIN, I.; SAT, I. G.; BEYDEMIR, S.; ELMASTAS, M.; KUFREVIOGLU, O. I. Comparison of antioxidant activity of clove (*Eugenia caryophyllata Thunb*) buds and lavender (*Lavandula stoechas L.*). **Food Chemistry**, v.87, n.3, p.393-400, 2004.

HANASAKI, Y.; OGAWA, S.; FUKUI, S. The correlation between active oxygens scavenging and antioxidative effects of flavonoids. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 16, n. 6, p. 845-850, 1994.

HAZRULRIZAWATI, HAMID AND SURIA, KUPAN AND MASHITAH, M. Y. Dihydroactinidiolide from thermal degradation of β -carotene. **International Journal of Food Properties**. p. 1-7. ISSN 1094-2912 (Print); p. 1532-2386 (Online), 2016.

HASLAM E. Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs and medicines: possible modes of action. **Journal of Natural Products**, v. 59, p. 205-15,1996.

HENRIQUES, A.T.; KERBER, V.A & MORENO, P.R.H. Alcalóides: generalidades e aspectos básicos. In: Farmacognosia: da planta ao medicamento. Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS/UFSC, 2000. 2. ed., p. 641-642.

HOA, N. T.; DIEN, P. H.; QUANG, D. N. Cytotoxic steroids from the stem barks of *Padanustectorius*. **Research Journal of Phytochemistry**, v. 8, n.2, p. 52-56, 2014.

HORII, Z., TSUJIUCHI, M., MOMOSE, T. On the structure of Taiwanin E. Tetrahedron Letters, v. 10, n.14, p. 1079-1082, 1969.

HUI, Y. H.; CHANG, C. J.; MCLAUGHLIN, J. L. Justicidin B, a bioactive trace lignan from the seeds of *Sesbania Drummondii*. **Journal of Natural Products**, v. 49, n. 6, 1986.

HUNG-LLAMOS, B. R. *et al.* Fitosteroles. Parte 1. Tendencias actuales y aplicaciones biomédicas. **Revista CENIC. Ciências Biológicas**, v. 36, n.1, p. 23-33, 2005.

IKAWA, M.; SCHAPER, T. D.; DOLLARD, C. A.; SASNER, J. J. Utilization of Folin-Ciocalteu phenol reagent for the detection of certain nitrogen compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 1811-1815, 2003.

IRWIN, H. S. Monographic studies in *Cassia* (Leguminosae-Caesalpinioideae): seção *xerocalyx*. **Memoirs of the New York Botanical Gardens**, v. 12, n. 1, p. 1-114, 1964.

IRWIN, H. S.; BARNEBY, R.C. Cassieae Bronn. In: POLHILL, R. M.; RAVEN, P. H. (Ed.). **Advances in legume systematics**. Kew: Royal Botanic Gardens., pt. 1, p. 97-106, 1981.

ISIC - INSTITUTO SCHULMAN DE INVESTIGAÇÃO CIENTÍFICA, Proteção Solar. Disponível em: <http://isic.net.br/artigo-32>. Acesso em: 13/05/2017.

IZHAKI, I. Emodin – a secondary metabolite with multiple ecological functions in higher plants. **New Phytologist**, v. 155, p. 205 – 217, 2002.

JAMALUDDIN, F.; MOHAMED, S.; LAJISB, N. Hypoglycaemic effect of Stigmast-4-em-3-one, from *Parkia speciosa* empty podds. **Food Chemistry**, v. 54, p. 9, 1995.

JING, Y.; YANG, J.; WU, L.; ZHANG, Z.; FANG, L. Rubrofusarin glucosides of *Berchemia polyphylla* var. *leioclada* and their scavenging activities for DPPH radical. **China Journal of Chinese Materia Medica**, v. 36, n. 15, p. 2084-2087, 2011.

JOLY, A. B. **Botânica: introdução à taxonomia vegetal**. 13ª Ed. São Paulo: Companhia Editora Nacional, 2002.

JUDD, W. S.; CAMPBELL, C. S.; KELLOGG, E. A.; STEVENS, P. F. Plant Systematics. A phylogenetic approach. Inglaterra, Sinauer Associates Inc.. p. 383-5, 1999.

KARIOTI, A., SKAL TSA, H., DEMETZOS, C., PERDETZOGLU, D., ECONOMAKIS, C.D., AND SALEM, A.B. Effect of nitrogen concentration of the nutrient solution on the volatile constituents of leaves of *Salvia fruticosa* Mill. in solution culture. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 6505-6508, 2003.

Kasai R, Matsumoto K, Nier RL, Morita T, Awazu A, Zhou J, Tanaka O. Sweet and bitter curcubitane glycosides from *Hemsleya carnosiflora*, **Phytochemistry**. 26, p. 1731-1736, 1987.

KHURY, E.; SOUSA, E. B. Protetores Solares. **Cosmetics & Toiletries**, São Paulo, v. 22, p.66-78, nov./dez. 2010.

KIM, J. H.; LEE, B. C.; KIM, J. H.; SIM, G. S.; LEE, D. H.; LEE, K. E.; YUN, Y. P.; PYO, H. B. The isolation and antioxidative effects os vitexin from *Acer palmatum*. **Archives on Pharmacal Research**, v. 28, n. 2, p. 195-202, 2005.

KOJIMA H, SATO N, HATANO A, OGURA H. Sterol glucosides from *Prunella vulgaris*. **Phytochemistry**,v. 29, p.2351-2355, 1990.

KORINA LG, AFANA'EV IB. KORINA LG. Antioxidant and chelating properties of flavonoids. **Advances in Pharmacology**, v.38, p.151-63, 1997.

KRASTEVA, I.; NIKOLOV, S. Flavonoids in *Astragalus corniculatus*. **Química Nova**, v. 31, n. 1, p. 59-60, 2008.

KREMER, D.; KOSALEC, I.; LOCATELLI, M.; EPIFANO, F.; GENOVESE, S.; CARLUCCI, G.; KONCIC, M. Z. Anthraquinone profiles, antioxidant and antimicrobial properties of *Frangula rupestris* (Scop.) Schur and *Frangula alnus* Mill. Bark. **Food Chemistry**, v. 131, p. 1174-1180, 2012.

KUMAR, S. Free Radicals and Antioxidants: Human and Food System. **Advances in Applied Science Research**, v. 2, n. 1, p. 129, 2011.

LAM, K. Y.; LING, A. P. K.; KOH, R. Y.; WONG, Y. P.; SAY, Y. H. A review on medicinal properties of orentin. **Advances in Pharmacological Sciences**, 2016.

LEWIS, G. P. Legumes of Bahia. *Royal Botanic Gardens*. p. 369, 1987.

LEWIS, G. P.; POLHILL, R. M. A situação atual da sistemática de Leguminosae neotropicais. In: CONGRESS LATINOAMERICANO DE BOTÂNICA, 6., 1994. Mar del Plata. **Proceedings...** St. Louis: Missouri Botanical Garden Press. p.113-145, 1998.

LEWIS, G.P. 2005. Tribe Cassieae. In: Lewis, G.P.; Schrire, B.; Mackinder, B. & Lock, M. (eds.). Legumes of the world. **Royal Botanic Gardens**, Kew. Pp. 111-161.

LI, X. C.; DUNBAR, C. D.; ELSOHL, H. N.; JACOB, M. R.; NIMROD, A. C. A new Naphthopyrone Derivative from *Cassia quinquangulata* and Structural Revision of Quinquangulin and Its Glycosides. **Journal of Natural Products**, v. 64, p. 1153-1156, 2001.

LI, D.; ZHANG, N.; CAO, Y.; ZHANG, W.; SU, G.; SUN, Y.; LIU, Z.; LI, F.; LIANG, D.; LIU, B.; GUO, M.; FU, Y.; ZHANG, X.; YANG, Z. Emodin ameliorates lipopolysaccharide-induced mastitis in mice by inhibiting activation of NF- κ B and MAPKs signal pathways. *European Journal of Pharmacology*, v. 705, p. 79 – 85, 2013.

LIMA, H. C. DE; QUEIROZ, L. P.; MORIM, M. P.; SOUZA, V. C.; DUTRA, V. F.; BORTOLUZZI, R. L. C.; IGANCI, J. R. V.; FORTUNATO, R. H.; VAZ, A. M. S. F.; SOUZA, E. R. DE; FILARDI, F. L. R.; VALLS, J. F. M.; GARCIA, F. C. P.; FERNANDES, J. M.; MARTINS-DA-SILVA, R. C. V.; PEREZ, A. P. F.; MANSANO, V. F.; MIOTTO, S. T. S.; TOZZI, A. M. G. A.; MEIRELES, J. E.; LIMA, L. C. P.; OLIVEIRA, M. L. A. A.; FLORES, A. S.; TORKE, B. M.; PINTO, R. B.; LEWIS, G. P.; BARROS, M. J. F.; SCHÜTZ, R.; PENNINGTON, T.; KLITGAARD, B. B.; RANDO, J. G.; SCALON, V. R.; CARDOSO, D. B. O. S.; COSTA, L. C. DA; SILVA, M. J. DA; MOURA, T. M.; BARROS, L. A. V. DE; SILVA, M. C. R.; QUEIROZ, R. T.; SARTORI, A. L. B.; CAMARGO, R. **Fabaceae** in Lista de Espécies da Flora do Brasil. **Jardim Botânico do Rio de Janeiro**, 2012. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2012/FB000115>.

LINDO, L. A. The hypoglycemic effect of *Anacardium occidentale* (Cashew). Ph.D. **Thesis**, University of the West Indies, Mona, Jamaica, 1999.

LING, W. H.; JONES, P. J. H. Dietary phytosterols: a review of metabolism, benefits and side effects. **Life Sciences**, v. 57, p. 195-206, 1995.

LIU, A.; CHEN, H.; WEI, W.; YE, S.; LIAO, W.; GONG, J.; JIANG, Z.; WANG, L.; LIN, S. Antiproliferative and antimetastatic effects of emodin on human pancreatic cancer. **Oncology Reports**, v. 26, n. 1, p. 81-89, 2012.

LOIOLA, B.; IRACEMA, M.; GUSTAVO, B. DE C. P.; DINIZ, J. A.; CALADO, J. F.; OLIVEIRA, A. C. P. Leguminosas e seu potencial de uso em comunidades rurais de São Miguel do Gostoso – RN. **Revista Caatinga**, v. 23, n. 3, p. 59-70, 2010.

LUCAS, M.; CHIARELLO, L. M.; SILVA, A. R.; BARCELLOS, I. O. Indicador natural como material instrucional para o ensino de química. **Experiências em Ensino de Ciências**, v.8, n.1, 2013.

LUNA, V. S. **Padronização química e botânica de *Senna occidentalis* LINK.** 125 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal da Pernambuco, Recife, 2013.

LUSHCHAK, V. I. Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification, **Chem.-Biol. Interact**, v. 24, p. 164–175, 2014.

MACEDO, E. M. S. **Estudo químico e farmacológico de *Senna martiana*.** Tese (Doutorado em Química Orgânica). Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2011.

MACEDO, E. M. S.; ALAN E SILVA, J. G.; SILVA, M. G. V. Quimiodiversidade e propriedades biofarmacológicas de espécies de *Senna* nativas do nordeste do Brasil. **Revista Virtual de Química**, v. 8, n.1, p.169-195, 2016.

MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; VEIGA Jr, V. F.; GRYNBERG, N. F.; ECHEVARRIA, A. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, v. 25, n. 3, p. 429-438, 200.

MAIA, G. L. A. Estudo Fitoquímico de *Anadenanthera colubrina* var. cebil (Griseb.) Reis (Fabaceae). **Dissertação (Mestrado)**. Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2008.

MAIA, G. L. A. Estudo Fitoquímico de *Anadenanthera colubrina* var. cebil (Griseb.) Reis (Fabaceae). **Dissertação (Mestrado)**. Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2008.

MANCEBO, S. E.; HU, J. Y.; WANG, S.Q. Sunscreens: A Review of Health Benefits, Regulations, and Controversies. **Dermatologic Clinics**. 32 pp. P. 427–438, 2014.

MANSUR, J. S.; BREDER, M. N. R.; MANSUR, M. C. D'Á.; AZULAY, R. D. Determinação do fator de proteção solar por espectrofotometria. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 61, p. 121, 1986.

MARAZZI, B.; ENDRESS, P.K.; QUEIROZ, L.P. & CONTI, E. Phylogenetic relationships within *Senna* (Leguminosae, Cassinae) based on three chloroplast regions: patterns in the evolution of floral symmetry and extrafloral nectaries. **American Journal of Botany**, v. 93, p. 288-303, 2006.

MARCUCCI, M. C.; WOISKY, R. G.; SALATINO, A. Uso de cloreto de alumínio na quantificação de flavonoides em amostras de própolis. **Mensagem Doce**, v. 46, p. 3-8., 1998.

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

MASALDAN, S.; IYER, V. V. Exploration of effects of emodin in selected cancer cell lines: enhanced growth inhibition by ascorbic acid and regulation of LRP1 and AR under hypoxia-like conditions. **Journal of Applied Toxicology**, v. 34, n. 1, p. 95-104, 2014.

MATTOS, N.F. Leguminosae-Caesalpinioideae do RioGrande do Sul. **Roessléria**, v. 5, n. 1, p. 3-74, 1983.

MCANUFF, M. A.; HARDING, W. W.; OMORUYI, F. O.; JACOBS, H.; MORRISON, E. Y.; ASEMOTA, H. N. Hypoglycemic effects of steroidal sapogenins isolated from Jamaican bitter yam, *Dioscorea polygonoids*. **Food and Chemical Toxicology**, v. 43, p. 1667-1672, 2005.

MELO, C. N. Desenvolvimento e validação da metodologia para determinação do FPS in vitro de formulações fotoprotetoras naturais. **Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica)**, Universidade Federal de Minas Gerais, 2015.

MELO, E. A.; GUERRA, N. B. Ação antioxidante de compostos fenólicos naturalmente presentes em alimentos. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 36, n. 1, p. 1-11, 2002.

MESSANA, I.; FERRARI, F.; CAVALCANTI, M. S. B.; MORACE, G. Na anthraquinone and three naphthopyrone derivatives from *Cassia pudibunda*. **Phytochemistry**, v. 30, n. 2, p. 708-710, 1991.

MIYATA, M.; ICHIHARA, M.; TAJIMA, O. ; SOBUE, S.; KAMBE, M.; SUGIURA, K. UVB-irradiated keratinocytes induce melanoma-associated ganglioside GD3 synthase gene in melanocytes via secretion of tumor necrosis factor α and interleukin 6. **Biochem. Biophys. Res. Commun**, v. 45, n. 2, pp.504–510, 2014.

MONACHE, G. D.; DE ROSA, M. C.; SCURRIA, R.; MONACELLI, B.; PASQUA, G.; DALL'OLLIA, G.; BOTTA, B. Metabolites from in vitro cultures of *Cassia didymobotrya*. **Phytochemistry**, v. 30, n. 6, p. 1849-1854, 1991.

MOREIRA, F. de P. M., et al. Flavonoides e triterpenos de *Baccharis pseudotenuifolia* – Bioatividade sobre *Artemia salina*. **Química Nova**, v. 26, n. 3, p. 309-311, 2003.

MOURE, A.; CRUZ, J. M.; FRANCO, D.; DOMINGUEZ, J. M.; SINEIRO, J.; DOMINHUEZ, H.; NUNEZ, M. J.; PARAJÓ, J. C. Natural antioxidants from residual sources. **Food Chemistry**, v. 72, n. 2, p. 145-171, 2001.

MURRAY, R. D.H.; JORGE, Z. D. A simple method for differentiating between angular and linear 5-methoxyfuranocoumarins. **Phytochemistry**, v. 23, n. 3, p. 697-699, 1984.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **J Chromatogr A**, ;v. 1054, n1-2, p. 95-111, 2004.

NASCIMENTO, L. F.; SANTOS, E. P.; AGUIAR, A. P. Fotoprotetores Orgânicos: Pesquisa, Inovação e a Importância da Síntese Orgânica. **Revista Virtual de Química**, v. 6, n.2, p. 190-223, 2014.

NASCIMENTO, N. R.; MOREIRA, G.; BARBOSA, N. Introdução de materiais alternativos no ensino de química. **Anais do V Encontro de Iniciação à Docência da UEPB**, 2015.

NASSER, A. L. M.; PAVAN, F. R.; BORALLE, N. ZOCOLO, G. J.; SANTOS, L. C.; MARCHI, M. R. R.; LEITE, C. Q. F.; VILEGAS, W. Esteróide e triterpenos de espécies de *Qualea* – Bioatividade sobre *Mycobacterium tuberculosis*. **Revista Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 34, n.4, p. 513-517, 2013.

NAVARRETE, A.; TREJO-MIRANDA, J. L.; REYES-TREJO, L. Principles of root bark of *Hippocrateae excelsa* (Hippocrataceae) with gastroprotective activity. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 79, p. 383-388, 2002.

NGUYEN, S. C.; HANSEN, B. K. V.; HOFFMANN S. V.; SPANGET-LARSEN, J. Electronic states of emodin and its conjugate base. Synchrotron linear dichroism spectroscopy and quantum chemical calculations. **Chemical Physics**, v. 352, p. 167, 2008.

NICKAVAR, B.; SALEHI-SORMAGI, M. H.; AMIN, G. H.; DANESHTALAB, M. Steam volatiles of *Vaccinium arctostaphylos*. **Pharmaceutical Biology**, v. 40, n. 6, p. 448-449, 2002.

OLDONI, T. L. C. Isolamento e identificação de compostos com atividade antioxidante de uma nova variedade de própolis brasileira produzida por abelhas da espécie *Apis mellifera*. **Dissertação (Mestrado)**, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz– Piracicaba, 2007.

OLIVEIRA, R. R. B.; GÓIS, R. M. O.; SIQUEIRA, R. S.; ALMEIDA, J. R. G. S.; LIMA, J. T.; NUNES, X. P.; OLIVEIRA, V. R.; SIQUEIRA, J. S.; QUINTANS-JÚNIOR, L. J. Antinociceptive effect of the ethanolic extract of *Amburana cearensis* (Allemão) A. C. Sm., Fabaceae, in rodents. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 3, p. 672-676, 2009.

O'NEILL, T.; JOHNSON, J. A.; WEBSTER, D.; GRAY, C. A. The Canadian medicinal plant *Heracleum maximum* contains antimycobacterial diynes and furanocoumarins. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 147, n. 1, p. 232-237, 2013.

PAL, T.; JANA, N. R. Emodin (1,3,8-trihydroxy-6-methylantraquinone): A spectrophotometric reagent for the determination of beryllium (II), magnesium (II) and calcium (II). **Analyst**, v. 118, p. 1337, 1993.

PAL, D.; MISHRA, P.; SACHAN, N.; GHOSH, A. K. Biological activities and medicinal properties of *Cajanus cajan* (L) Mill sp. **Journal of Advanced Pharmaceutical Technology and Research**, v.2, n.4, p. 207-214, 2011.

PALÁCIO, S. M.; OLGUIN, C. F. A.; CUNHA, M. B. Determinação de ácidos e bases por meio de extratos de flores. **Educación Química**, v. 23, n. 1, p. 41-44, 2012.

PAMULAPARTHI, A.; PRATHAP, V. R.; BANALA, M.; NANNA, R. S. Total phenolic, flavonoid contents and antioxidant assays in leaf extracts of *Senna alata* (L.) Roxb. **Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 8, n. 9, p. 981-985, 2016.

PAVIA, D. L. *et al.* Introdução à espectroscopia. 4. ed. São Paulo: Cengage, 2010.

PEREIRA, M. M.; SOUZA-JÚNIOR, S. N.; ALCÂNTARA, A. F. C.; PILÓ-VELOSO, D.; ALVES, R. B.; MACHADO, P. O.; AZEVEDO, A. O.; MOREIRA, F. H.; CASTRO, M. S. A.; RASLAN, D. S. Constituintes químicos e estudo biológico de *Aspidosperma nitidum* (Apocynaceae). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v. 8, n.3, p.1-8, 2006.

PETRAZZUOLI, M. Advances in sunscreens. **Current Problems in Dermatology**, v.12 (6), p. 287-290, 2000.

PETRY, R. D.; SOUZA, K. C. B.; BASSANI, V. L.; PETROVICK, P. R.; GONZÁLEZ-ORTEGA, G. Doseamento do teor de flavonoides totais em extratos hidroalcoólicos de *Passiflora alata* Dryander (maracujá). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 79, p. 7-10, 1998.

PETTIT, G. R.; CRAGG, G. M.; SUFFNESS, M. I.; GUST, D.; BOETTNER, F. E.; WILLIAMS, M.; SAENZ-RENAULD, J. A.; BROWN, P.; SCHIMIDT, J. M.; ELLIS, P. D. Antineoplastic agents. 104. Isolation and structure of the *Phyllanthus acuminatus* Vahl (Euphorbiaceae) glycosides. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 49, p. 4258-4266, 1984.

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

POTT, A.; POTT, V. J. Plantas do Pantanal. Planaltina: EMBRAPA; 1994.

PRABHAKAR, M. C.; BANO, H.; KUMAR, I.; SHAMSI, M. A.; KHAN, S. Y. Pharmacological investigations on vitexin. **Planta Medica**, v. 43, p. 396-403, 1981.

PRADO, A. C.; CÔRTEZ, C. E. S. Experimentos de titulação ácido-base utilizando indicadores naturais e materiais de baixo custo. **30ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, 2007.

PRATT, D. D.; ROBINSON, R.; A synthesis of pyrylium salts of anthocyanidin type. **Journal of the Chemical Society**, 1577, 1922.

QUEIROZ, L. P. Leguminosas da Caatinga, Universidade Estadual de Feira de Santana, 2009.

RAHMAN, M. O.; RAHMAN, M. D. Z.; BEGUN, A.; **Bangladesh J. Plant Taxon.** (Online) v. 20, p. 77, 2013.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 4, p. 755-760, 2006.

RAO, Y. K.; GEETHANGILI, M.; FANG, S. H.; TZENG, Y. M. Antioxidant and cytotoxic activities of naturally occurring phenolic and related compounds: A comparative study. **Food Chem. Toxicol**, v. 45, p. 1770–1776, 2007.

RIBEIRO, C. Cosmetologia aplicada a dermoestética. São Paulo: **Pharmabooks**, 2006.

RINALDO, D.; RODRIGUES, C. M.; RODRIGUES, J.; SANNOMIYA, M.; SANTOS, L. C.; VILEGAS, W. New flavone from the leaves of *Neea theifera* (Nyctaginaceae). **Journal of Brazilian Chemical Society**, v. 18, n. 6, p. 1132-1135, 2007.

RODRIGUES, I. M. C. Histoquímica e prospecção de compostos produzidos por *Senna alata* (L.) Roxb. com potencial atividade alelopática. 76p. **Dissertação (Mestrado em Fitotecnia)**. Universidade Federal de Viçosa, 2008.

RODRIGUES, R. S.; FLORES, A. S.; MIOTTO, S. T. S. & BAPTISTA, L. R. M. O gênero *Senna* (Leguminosae, Caesalpinioideae) no Rio Grande do Sul, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 19, p. 1-16, 2005.

RODRIGUES, R.S.; FLORES, A. S.; MIOTTO, S.T.S.;BAPTISTA, L.R.M. 2005. O gênero *Senna* (Leguminosae-Caesalpinioideae) no Rio Grande do Sul, Brasil. **Acta BotanicaBrasilica**, v. 19, n. 1, p.1-16.

ROLIM, T. L.; WANDERLEY, F. T. S.; CUNHA, E. V. L. Constituintes químicos e atividade antioxidante de *Byrsonima gardneriana* (Malpighiaceae). **Química Nova**, v. 36, n. 4, p. 524-527, 2013.

SAEIDNIA, S.; GOHARI, A. R.; MALMIR, M. MORADI-AFRAPOLI, F.; AJANI, Y. Tryptophan and Sterols from *Salvia limbata*. **Journal of Medicinal Plants**, v. 10, n. 37, p. 41-47, 2011.

SALINAS, M. H. R. Famílias de dicotiledôneas vazeoelanas II. Subclases Rosidae y Asteridae: evolution, filogenia, gêneros. Mérida: [s.n.], 1992.

SANTANA, A. L. B. D. Estudo químico, antitermítico e antifúngico da madeira de lei *Anadenanthera colubrina* (Vell) Brenan var-cebril (Griseb) von Reis Alt. (Angico-de-carço). **Tese (Doutorado em Química)**, Universidade Federal de Pernambuco, 2011.

SANTOS, L. G. V.; RODRIGUES, L. B.; LIMA, P. G.; SOUSA, T. O.; NETO, J. J. G.; CHAVES, D. C. Indicadores naturais ácido-base a partir de extração alcoólica dos pigmentos das flores de *Hibiscus rosa-sinensis* e *Iroxa chinensis*, utilizando materiais alternativos. **Anais do VII CONNEPI**, Palmas, 2012.

SANTOS, L. R.; PORTO, M. G. C. Proposta experimental para o ensino de química utilizando indicador natural de pH obtido a partir da biodiversidade da região da Serra da Capivara. **Revista de extensão da UNIVASF**, v. 3, n. 1, 2015.

SANTOS, R. T., MARTINS, R. C. C. Variação química da constituição do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (capim limão). **Revista PIBIC, Osasco**, v. 4 n. 1, p. 63-70, 2007.

SAYRE, R. M.; AGIN, P. P.; LEEVEE, G. J.; MARLOWE, E. Comparison of *in vivo* and *in vitro* testing of sunscreens formulas. **Photochem. Photochem. & Photo.** v. 29, p. 559-565, 1979.

SCCS - SCIENTIFIC COMMITTEE ON CONSUMER SAFETY. Opinion on 1,3,5-Triazine, 2,4,6-tris[1,1'-biphenyl]-4-yl- [Revision of December 2011]. Adopted by the 12th plenary session of the SCCS of 20 September 2011. Brussels: European Commission; 2011.

SHRIMALI, D.; SHANMUGAM, M. K.; KUMAR, A. P.; ZHANG, J.; TAN, B. K.; AHN, K. S.; SETHI, G. Targeted abrogation of diverse signal transduction cascades by emodin for the treatment of inflammatory disorders and cancer. **Cancer Letters**, v. 341, p. 139 – 149, 2013.

SCHMIDT, P. C.; ORTEGA, G. G. Passionsblumenkraut. Bestimmung des Gesamtflavonoidgehaltes von *Passiflorae herba*. **Deutsche Apotheker Zeitung**, n. 133, p. 17-26, 1983.

SCHUELLER, R.; ROMANOWSKI, P. The ABCs of SPFs: an introduction to sun protection products. **Cosmetics Toiletries**, v. 114, p. 49-57, 1999.

SCIO, E.; MENDES, R. F.; MOTTA, E. V. S.; BELLOZI, P. M. Q.; ARAGÃO, D. M. O.; MELLO J.; FABRI, R. L.; MOREIRA, J. R.; ASSIS, I. V. L.; BOUZADA, M. L. M. Antimicrobial and Antioxidant Activities of Some Plant Extracts, Phytochemicals as Nutraceuticals - Global Approaches to Their Role in Nutrition and Health, **Agricultural and Biological Sciences**, Editora Venketeshwer Rao, 2012.

SEBEI, K.; SBISSI, I.; ZOUHIR, A.; HERCHI, W.; SAKOUHI, F.; BOUKHCHINA, S. Phylogenetic identification, phytochemical analysis and antioxidant activity of *Chamaecrista absus* var. *absus* seed. **Journal of Plant Biology Research**, v. 3, n.1, p. 1-11, 2014.

SHAHIDI, F., JANITHA, P. K., WANASUNDARA, P. D. **Phenolic antioxidants. Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Amherst, v. 32, no. 1, p. 67-103, 1992.

SHEN, J. W.; JIANG, J. S.; ZHANG, X. F.; ZHENG, C. F.; ZHANG, P. C. Two new benzochromone glycosides from the stem of *Berchemia racemosa*. **Journal of Asian Natural Products Research**, v. 9, n.6, p. 499-503, 2007.

SIES, H. Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine. **Redox Biol.** v. 4, p. 180–183, 2005.

SILVA, C. L.; SILVA, K. G. S.; FEITOSA, A. C. S. A expansão do diabetes e o uso do fitoterápico extraído das plantas do gênero *Bauhinia*. **Revista Digital de Pesquisa CONQUER da Faculdade São Francisco de Barreiras**, v. 3, 2008.

SILVA, E. B. F.; BARBOSA, I. J. F.; BARRETO, H. M.; SIQUEIRA-JÚNIOR, J. P. Modulation of the UVB-induced lethality by furocoumarins in *Staphylococcus aureus*. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 130, p. 260-263, 2014.

SILVA, F. O.; OLIVEIRA IR, SILVA MGV, BRAZ-FILHO R. Constituintes químicos das folhas de *Senna spectabilis* (DC) Irwin & Barneby var. *excelsa* (Schrad.) Irwin & Barneby. **Química Nova**, v. 33, n. 9, p. 1874-1876, 2010.

SILVA, J. G. A.; MONTEIRO, J. A.; FERREIRA, E. B.; FERNANDES, M. I. B.; PESSOA, C. D. O.; SAMPAIO, C. G.; SILVA, M. G. V. Total phenolic content, antioxidante and anticâncer activities of four species of *Senna* Mill. From northeast Brazil. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 6, n. 7, 2014.

SILVA, J. G. A.; SILVA, A. A.; COUTINHO, I. D.; PESSOA, C. O.; CAVALHEIRO, A. J.; SILVA, M. G. V. Chemical profile and citotoxic activity of leaf extracts from *Senna* spp. from Northeast of Brazil. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 27, n 10, p. 1972-1880, 2016.

SILVERSTEIN, R. M.; BASSLER, G. P. C.; MORRIL, T. C. Identificação espectrométrica de compostos orgânicos. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 5. Ed. Florianópolis: Ed. Da UFSC, 2004.

SOUZA, V.C. & BORTOLUZZI, R.L.C. 2010. *Chamaecrista* In Catálogo de espécies de plantas e fungos do Brasil. (R.C. Forzza, P.M. Leitman, A.F. Costa, A.A. Carvalho Jr., A.L. Peixoto, B.M.T. Walter, C. Bicudo, D. Zappi, D.P. Costa, E. Lleras, G. Martinelli, H.C. Lima, J. Prado, J.R. Stehmann, J.F.A. Baumgratz, J.R. Pirani, L. Sylvestre, L.C. Maia, L.G. Lohmann, L.P. Queiroz, M. Silveira, M.N. Coelho, M.C. Mamede, M.N.C. Bastos, M.P. Morim, M.R. Barbosa, M. Menezes, M. Hopkins, R. Secco, T.B. Cavalcanti, & V.C. Souza, orgs.). Jardim Botânico do Rio de Janeiro Ministério do Meio Ambiente, Rio de Janeiro. v.2, p.1008-1021.

SOUSA, C. M. M. *et al.* Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química nova**, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007.

SOUZA, A. O.; SILVA, M. J. *Senna* (Leguminosae, Caesalpinioideae) na Floresta Nacional de Silvânia, Goiás, Brasil. **Rodriguésia**, v. 67, n. 3, p. 773-784, 2016.

SOUZA, R. F. V.; GIOVANI, W. F. Synthesis, spectral and electrochemical properties of Al (III) and Zn (II) complexes with flavonoids. **Spectrochimica Acta A**, n.61, p. 1985–1990, 2005.

SOUZA, T. M. & *et al.* Avaliação da atividade fotoprotetora de *Achillea millefolium* L. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, p. 36-38, 2005.

SRIPHONG L, SOTANAPHUN U, LIMSIRICHAIKUL S, WETWITAYAKLUNG P, CHAICHANTIPYUTH C, PUMMANGURA S. Cytotoxic alkaloids from the flowers of *Senna spectabilis*. **Planta Med**, v. 69, n. 11, p. 1054-6, 2003.

STEVENS, K. L.; MERRILL, G. B. Dihydroactinoliolide – a potente growth inhibitor from *Eleocharis coloradoensis* (spikerush). *Experientia*, v. 37, 1981.

SUI, F.; HOU, H. R.; YANG, N.; GUO, J. Y.; DU, X. L.; ZHAO, B. S. LIU, H. B.; LIU, H. B.; LI, L. F.; GUO, S. Y.; JIANG, T. L. Emodin down-regulates expression. Of TRPV1 mRNA and its function in DRG neurons in vitro. *The American Journal of Chinese Medicine*, v. 38, n.4, p. 789-800, 2010.

SULAIMAN, C. T.; BALACHANDRAN, I. Total phenolics and total flavonoids in selectes Indian medicinal plants. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 74, n.3, p. 258-260, 2012.

SULEIMEN, E. M.; HECKE, K. V.; MEERVELT, VL. V.; DEBORGGRAEVE, W.; DAHAEN, W. Absolute configuration of 3-acetylbetulinic acid. **Journal of Strutuctural Chemistry**, v. 54, n. 1, p. 189-191, 2013.

SUMIYOSHI, M.; SAKANAKA, M.; TANIGUCHI, M.; BABA, K.; KIMURA, Y. Anti-tumor effects of various furocoumarins isolated from the roots, seeds and fruits of *Angelica* and *Cnidium* species under ultraviolet A irradiation. **Journal of Natural Medicines**, v. 68, p. 83-94, 2014.

TERCI, D. B. L.; ROSSI, A. V. Indicadores naturais de pH: usar papel ou solução? **Química Nova**, v. 25, n. 4, p. 684-688, 2002.

TOMAZ, A. C. A.; NOGUEIRA, R. B. S. S.; PINTO, D. S.; AGRA, M. F.; SOUZA, M. F. V.; DA-CUNHA, E. V. L. Chemical constiutents from *Richardia grandiflora* (Cham. & Schltdl.) Steud. (Rubiaceae). **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 18, n. 1, p. 47-52, 2008.

TROPICOS. ORG. Missouri Botanical Garden, 2017. Disponível em: www.tropicos.org/Name/1341522.

URIBE, L. H.; OLARTE, E. C.; CASTILLO, G. T. In vitro antiviral activity of *Chamaecrista nictitans* (Fabaceae) against herpes simplex virus: Biological characterization of mechanisms of action. **Revista de Biologia Tropical**, v. 52, n. 3, 2004.

VEIGA JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. Plantas medicinais: cura segura? **Química Nova**, v. 28, n. 3, p. 519-528, 2005.

VIEGAS JR, C.; REZENDE, A.; SILVA, D.H.S.; CASTRO-GAMBÔA, I.; BOLZANI, V.S. Aspectos químicos, biológicos e etnofarmacológicos do gênero *Cassia*. **Química Nova**, v. 29, n. 6, p. 1279-1286, 2006.

VIOLANTE, I. M. P.; SOUZA, I. M.; VENTURINI, C. L.; RAMALHO, A. F. S.; SANTOS, R. A. N.; FERRARI, M. Estudo preliminar da atividade fotoprotetora in vitro de extratos vegetais do cerrado de Mato Grosso. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 89, n. 3, p. 175-179, 2008.

WALY, M. I.; ALI, B. H.; AL-LAWATI, I.; NEMMAR, A. Protective effects of emodin against cisplatin-induced oxidative stress in cultured human kidney (HEK 293) cells. **Journal of Applied Toxicology**, v. 33, p. 626 – 630, 2013.

WANG, B.; LIU, XIANHUA; ZHOU, AH.; MENG, MEI.; LI, QINGLIN. Simultaneous analysis of coumarin derivatives in extracts of *Radix Angelicae pubescentis* (Duhuo) by HPLC-DAD-ESI-MSn technique. **Analytical Methods**, v. 19, 2014.

WILLSTÄTTER, R.; EVERST, A. E.; Untersuchungen über die Anthocyane. I. Über den Farbstoff der Kornblume, **Justus Liebig's Annalen der Chemie**, v. 401, p. 189.1913.

XIONG, H. R.; LUO, J.; HUO, W.; XIAO, H.; YANG, Z. Q. The effect of emodin, an anthraquinone derivative extracted from the roots of *Rheum tanguticum*, against herpes simplex virus in vitro and in vivo. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 133, p. 718-723, 2011.

XIU-JUAN, Z.; ZONG-YAN, L.; LI-JUAN, H.; YU-BIN, J. Effect of xanthotoxin on SGC-7901 cells proliferation and Autophagy. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, v. 6, n. 10, p. 545-548, 2014.

YANG, M.; WU, J.; CHENG, F.; ZHOU, Y. Spectral Assignments and Reference data: Complete assignments of ^1H and ^{13}C NMR data for seven aryl-naphthalide lignans from *Justicia procumbens*. **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 44, p. 727-730, 2006.

YEN, G. C.; CHEN, H. W.; DUH, P. D. Extraction and identification of a antioxidative component from *Jue Ming Zi* (*Cassia tora* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, p. 820-824, 1998.

ZHOU, P.; LUO, Q.; DING, L.; FANG, F.; YUAN, Y.; CHEN, J.; ZHANG, J.; JIN, H.; HE, S. Preparative isolation and purification of lignans from *Justicia procubens* using high-speed counter-current chromatography in stepwise elution mode. **Molecules**, v. 20, p. 7048-7058, 2015.

ZUANAZZI, J.A.S. Flavonoides. In: *Farmacognosia: da planta ao medicamento*.