



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS I
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E SAÚDE
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA
CURSO DE FARMÁCIA**

KAROLAYNE DA SILVA BARBOSA ALVES

**AVALIAÇÃO FITOQUÍMICA E ATIVIDADE BIOLÓGICA DE *Ipomoea hederifolia* L.
(Convolvulaceae)**

**CAMPINA GRANDE
2020**

KAROLAYNE DA SILVA BARBOSA ALVES

**AVALIAÇÃO FITOQUÍMICA E ATIVIDADE BIOLÓGICA DE *Ipomoea hederifolia* L.
(Convolvulaceae)**

Trabalho de Conclusão de Curso na forma de artigo, apresentado ao Curso de Graduação em Farmácia da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Orientador: Prof. Dra. Ivana Maria Fachine

**CAMPINA GRANDE
2020**

É expressamente proibido a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

A474a Alves, Karolayne da Silva Barbosa.
Avaliação fitoquímica e atividade biológica de *Ipomoea hederifolia* L. (Convolvulaceae) [manuscrito] / Karolayne da Silva Barbosa Alves. - 2020.
27 p. : il. colorido.
Digitado.
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2020.
"Orientação : Profa. Dra. Ivana Maria Fachine, Coordenação do Curso de Farmácia - CCBS."
1. Corda de viola. 2. Atividade antimicrobiana. 3. Toxicidade. I. Título

21. ed. CDD 615.9

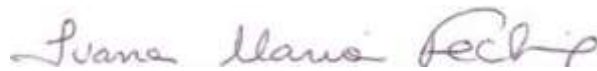
KAROLAYNE DA SILVA BARBOSA ALVES

AVALIAÇÃO FITOQUÍMICA E ATIVIDADE BIOLÓGICA DE *Ipomoea hederifolia* L.

Trabalho de Conclusão de Curso na forma de artigo, apresentado ao Curso de Graduação em Farmácia da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Aprovada em: 11/12/2020.


BANCA EXAMINADORA



Prof. Dra. Ivana Maria Fechine (Orientadora)
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)/CCBS/Farmácia



Prof. Dr. Thúlio Antunes de Arruda
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)/CCBS/Farmácia



Prof. Dr. Paulo César Dantas da Silva
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)/ CCBS/Farmácia

Dedico este trabalho a Deus por todo amparo, sustento e proteção durante essa caminhada, e a minha mãe e avó pelo incentivo e apoio.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus, meu amor maior, por ter me direcionado sempre aos melhores caminhos, permitindo que eu chegasse até aqui. Me dando forças, coragem, discernimento e sabedoria ao longo destes 5 anos. À Nossa Senhora, pela vossa intercessão, sendo meu amparo e proteção.

Aos meus familiares, por ter sido minha base sempre que precisei. Sendo eles os principais responsáveis pela realização deste sonho. À minha mãe, Kelina, por todos os ensinamentos e valores, e por cumprir tão bem a missão de ser mãe. A minha avó Rozilda por todo incentivo, apoio, orações e confiança em mim depositada. Ao meu irmão Ronaldo Junior, pelo companheirismo. Ao meu padrasto por todo apoio e incentivo moral.

A minha orientadora, Prof^a. Dr^a. Ivana Maria Fechine, por ter sido sempre presente na minha vida acadêmica, responsável pela minha formação na pesquisa, uma amiga, uma mãe, obrigada por todos os ensinamentos. Aos membros da banca Professores Thúlio Antunes de Arruda e Paulo César Dantas da Silva, por contribuírem de forma significativa com este trabalho e por terem aceitado fazer parte desse momento tão importante.

Aos meus amigos e colegas da universidade, Angélica Agra, Angélica ribeiro, Cristiane, Felipe, Natália e Pablo, pela amizade construída nesses anos de graduação. Vocês deram leveza a esta caminhada. Gratidão por sempre dividirem comigo os momentos tristes e felizes, amenizando o fardo e alimentando a conquista à nós compartilhada. Aos colegas de laboratório Genil, Geovana, Jessyka por todo companheirismo.

Aos meus amigos Joana, Ayrton e Gabriel por toda compreensão durante minhas ausências, companheirismo, inventivo e confiança.

A Universidade Estadual da Paraíba por ter possibilitado minha formação. Ao CNPq pela concessão das bolsas de estudos, ao longo das pesquisas que participei nesta instituição.

“Todas as vitórias ocultam uma abdicação”
(Simone de Beauvoir)

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 –	13
Figura 2 –	23

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	14
Tabela 2 –	21
Tabela 3 –	22
Tabela 4 –	23
Tabela 5 –	24
Tabela 6 –	25

RESUMO

A utilização de plantas medicinais e a prática de fitoterapia, fazem parte da medicina popular sendo então uma alternativa bastante eficaz no atendimento primário a saúde, principalmente a população de baixa renda. As plantas produzem uma grande variedade de substâncias, dentre elas, os metabólitos secundários. Estes compostos desempenham um importante papel na adaptabilidade às condições ambientais as quais estão expostas. *Ipomoea hederifolia* pertence à família das Convolvulaceae, popularmente é conhecida como corda-de-viola e glória-da-manhã. A família Convolvulaceae é conhecida por produzir uma ampla variedade de alcaloides como ergolinas, pirrolidinas. Este trabalho teve como objetivo realizar um estudo fitoquímico de *Ipomoea hederifolia* (Convolvulaceae). A partir do material seco e triturado, submetido a maceração com etanol e posterior rotaevaporação, foi obtido o extrato etanólico bruto (EEB) 29g. Para obtenção da Fração Alcaloidica Total (FAT), foram utilizadas 25g do extrato bruto e submetido a uma marcha para alcalóides, obtendo-se 300mg da FAT. O *screening* fitoquímico qualitativo foi positivo para alcalóides, saponinas e flavonoides. No *screening* quantitativo, determinou-se o teor de polifenóis totais, de flavonoides e taninos condensados através da espectrofotometria. A toxidez foi determinada através da quantificação de hemácias que sofreram lise celular frente às diferentes concentrações do extrato etanólico bruto (EEB), (0, 5 e 1,25 mg/ml). A atividade antimicrobiana do EEB foi testada através do método de microdiluição em caldo frente às cepas ATCC de *E.coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*. Foram determinados o teor dos metabólitos secundários, com destaque a concentração 59,97% de polifenóis e 1,03% de flavonoides. A caracterização térmica do EEB revelou 4 etapas de perda de massa e foi possível observar 3 eventos endotérmicos e 1 exotérmico. No teste da toxidez, a concentração de 1,25mg/mL atingiu a concentração citotóxica efetiva 50% (EC50). O EEB apresentou atividade antimicrobiana para bactérias gram negativas. Os resultados da pesquisa contribuem para enriquecer o conhecimento da família Convolvulaceae.

Palavras-chave: “Corda de viola”. Atividade antimicrobiana. Toxicidade.

ABSTRACT

The use of medicinal plants and the practice of phytotherapy are part of popular medicine and are therefore a very effective alternative in primary health care, especially for the low-income population. Plants produce a wide variety of substances, including secondary metabolites. These compounds play an important role in adapting to the environmental conditions to which they are exposed. *Ipomoea hederifolia* belongs to the family of Convolvulaceae, popularly known as "viola-rope" and "morning glory". The Convolvulaceae family is known for producing a wide variety of alkaloids such as ergolines, pyrrolidines. This work aimed to carry out a phytochemical study of *Ipomoea hederifolia* (Convolvulaceae). Crude ethanolic extract (CEE) 29g was obtained from the dry and crushed material, which was subjected to maceration with ethanol and subsequently evaporated. To obtain the Total Alkaloidal Fraction (FAT), 25g of the crude extract were used and submitted to a march for alkaloids, obtaining 300mg of FAT. Qualitative phytochemical screening was positive for alkaloids, saponins and flavonoids. In quantitative screening, the content of total polyphenols, flavonoids and condensed tannins was determined through spectrophotometry. Toxicity was determined by quantifying red blood cells that underwent cell lysis in relation to the different concentrations of crude ethanolic extract (CEE), (0, 5 and 1.25 mg / ml). The antimicrobial activity of CEE

was tested using the broth microdilution method against the ATCC strains of *E.coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*. The content of secondary metabolites was determined, with emphasis on the concentration of 59.97% of polyphenols and 1.03% of flavonoids. The thermal characterization of CEE revealed 4 stages of mass loss and it was possible to observe 3 endothermic and 1 exothermic events. In the toxicity test, the concentration of 1.25mg / mL reached the effective cytotoxic concentration 50% (EC50). CEE showed antimicrobial activity for gram negative bacteria. The research results contribute to enrich the knowledge of the family Convolvulaceae

Keywords: “Corda de viola”. Antimicrobial activity. Toxicity

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2.1. Plantas Medicinais	12
2.2.1 <i>Ipomoea hederifolia</i>	12
2.2. Análise térmica	15
2.3. Resistência bacteriana	15
2. METODOLOGIA	15
2.2. Coleta do material botânico	15
2.3. Obtenção do EEB.....	16
2.4. Fração Alcaloidica Total.....	16
3.4. Prospecção fitoquímica qualitativa	17
3.4.1. Alcaloides	17
3.4.2. Esteroides	17
3.4.3. Flavonoides	18
3.4.4. Taninos.....	18
3.4.5. Saponinas	18
3.4.6. Polissacarídeos	18
3.5. Prospecção fitoquímica quantitativa.....	18
3.5.1. Determinação do teor de flavanoides.....	18
3.5.2. Determinação do teor de polifenóis totais	19
3.5.3. Determinação do teor de taninos	19
3.6. Análises Térmica	19
3.6.1. Análise Térmica Diferencial (DTA)	19
3.6.2. Termogravimetria	19
3.7. Teste de hemólise	20
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
4.1. Screening fitoquímico qualitativo do extrato de <i>I. hederifolia</i>	21
4.2. Prospecção fitoquímica do EEB de <i>I. hederifolia</i>	21
4.3. Caracterização térmica.....	22
4.4. Toxidez	24
5. CONCLUSÃO.....	25
6. REFERÊNCIAS	26

INTRODUÇÃO

A população humana dispõe de numerosas informações sobre o ambiente onde vive, no qual, o conhecimento popular sobre as espécies vegetais é uma importante ferramenta para a busca de novas fórmulas terapêuticas. Durante séculos a sociedade vem recorrendo as plantas para tratar diferentes doenças. Todas as civilizações e culturas empregam ou já empregaram plantas com intuito medicinal. E esse conhecimento tradicional foi fundamental, como base, para a farmacologia moderna (BREITBACH *et al.*, 2013; FERREIRA *et al.*, 2014).

As plantas produzem uma grande variedade de substâncias, dentre elas, os metabólitos secundários. Estes compostos desempenham um importante papel na adaptabilidade às condições ambientais as quais estão expostas. Inúmeros estudos, *in vivo e in vitro*, tem validado alguns metabólitos secundários quanto a sua segurança de uso e eficácia farmacológica, para o desenvolvimento de novos produtos farmacêuticos e agroindustriais (SIMÕES *et al.*, 2017).

O estudo da química dos produtos naturais tem como objetivo o esclarecimento e registro dos constituintes resultantes do metabolismo secundário dos seres vivos, através do isolamento e elucidação das suas estruturas moleculares (MATOS, 1997).

A família, Convolvulaceae apresenta cerca de 60 gêneros e, provavelmente 1650 espécies. Os membros desta família são bem conhecidos como plantas de jardins vistosas, bem como ervas daninhas problemáticas, por isso essa família também é conhecida como família de trepadeiras (HOGADE,2015).

Ipomoea hederifolia pertence à família das Convolvulaceae, popularmente é conhecida como corda de viola e glória da manhã é nativa do sudeste dos EUA, desenvolve-se em regiões tropicais e subtropicais. Em canaviais e plantações, comporta-se como praga devido a competição por luz, água e nutrientes. Caso ações de controle sejam tomadas rapidamente pode controlar a sua disseminação que ocorre por meio de suas sementes (PANDURANGAN,A; RANA,K,2015).

O presente trabalho teve como objetivo realizar estudos Fitoquímicos de *Ipomoea hederifolia* (Convolvulaceae), iniciando com a preparação do extrato, determinação dos metabólitos secundários presentes no EEB através do *Screening* fitoquímico quantitativo e qualitativo, realização de uma marcha para alcaloides, avaliação do perfil térmico do extrato e toxidez do mesmo através do método de hemólise, bem como avaliação da CIM (Concentração Inibitória Mínima), frente a bactérias gram negativas.

1. REFERENCIAL TEÓRICO

1.1. Plantas Medicinais

A utilização de plantas medicinais por populações em todas as faixas de renda em diversas localidades, desde tribos indígenas até os grandes centros urbanos, merece atenção no contexto da incessante pesquisa de novos medicamentos. Através da etnofarmacologia podem-se identificar espécies com uma indicação já estabelecida, mesmo que baseada no senso comum, como possível fonte de novas moléculas. Porém, apesar do uso popular corriqueiro transmitido por várias gerações, a maioria dessas plantas não têm suas indicações cientificamente comprovadas, podendo provocar, muitas vezes, prejuízos ao invés de benefícios aos usuários (SOUZA, 2012).

Desde o início da medicina a plantas através de seus derivados tem auxiliado a humanidade na prevenção e cura de diversas patologias (MOGHADAMTOUSI *et al*, 2015). Plantas que apresentam um histórico longo de utilização por parte da comunidade, é comum em sua constituição a presença de inúmeros compostos responsáveis por suas atividades farmacológicas, sendo então uma rica fonte de metabólitos secundários (SILVA *et al*, 2020).

Dentre os principais grupos de constituintes químicos micromoleculares de origem vegetal, os metabólitos secundários, pode-se destaca-se: Alcaloides, Auronas, Chalconas, Cumarinas, Flavonoides, Taninos, Saponinas, Esteróides e Quinonas (MATOS, 1997).

A realização do Screening fitoquímico é bastante importante para bioprospecção das espécies vegetais de interesse farmacológico e/ou toxicológico, através de sua realização tem-se conhecimento da composição química de um extrato por meio de testes químicos qualitativos rápidos e de baixo custo, determinando assim as possíveis classes de metabólitos secundários de interesse (MATOS, 1997).

2.2.1 *Ipomoea hederifolia*

A família Convolvulaceae é conhecida por produzir uma ampla variedade de alcaloides como ergolínicos, pirrolidinas e os alcaloides de tropano intimamente relacionados (HOGADE, 2015).

O gênero *Ipomoea* é o mais representativo da família, compreendendo cerca de 700 espécies, presentes em regiões tropicais e temperadas. No nordeste brasileiro na região do semiárido foram encontradas 47 espécies da família Convolvulaceae de 10 gêneros diferentes, dentre estas 47 espécies o gênero *Ipomoea* está representado por 7 espécies (COELHO, 2006).

O gênero apresenta uma grande diversidade de constituintes químicos, em um estudo realizado por Meira *et al* (2012) mostrou a ocorrência de alcaloides do tipo:

calystegine, agroclavina, piroclavina, bem como curaminas glicolipideos, triterpenos isolados de espécies de *I. fistulosa*, *I. mueller*, *I. tricolor*, *I. asarifolia*, *I. hederacea*, *I. muelleri*, *I. corymbosa*, *I. tricolor*, *I. violácea*, *I. hederifolia*, *I. eremnobrocha*, *I. batata*.

Ipomoea hederifolia apresenta folhas de forma geralmente triangulares, geralmente tem 3 lóbulos e o pecíolo longo muitas vezes tão longo quanto a folha que sustenta. A sua inflorescência é de muitas flores, embora cada haste pode ter uma flor ou várias, a fruta é uma capsula com menos de 1cm e suas sementes são marrons escuras, sendo pequenas e poucas (PANDURANGAN,A; RANA,K, 2015).

A utilização da mesma na medicina popular se dar pela utilização de várias partes da planta como as raízes que são raspadas e comidas cruas para alívio de dores estomacais. Tem sido relatado que a espécie *I. hederifolia* possui propriedades oxitóxicas, anticarcinogênica, antipsicóticas, anti-inflamatórias, antioxidantes e antimicrobianas de acordo com os sistemas indígenas de medicina na Índia (PANDURANGAN,A; RANA,K, 2015). De *I. hederifolia* foram identificados os alcalóides ativos calistinas B1 e B2, além de A5. Além disso, vários alcalóides pirrolizidínicos do tipo ipangulina foram isolado de *I. hederifolia* (MEIRA, M.; SILVA, E.P.; DAVID, J.M.; DAVID, J.P, 2012). Também foram relatados alcalóides do tipo pirrolizidínicos nessa espécie.

Um estudo realizado por Joel *et al*, 2020, apresentou que a espécie *Ipomoea hederifolia* L. apresenta maior quantidade de metabolitos secundários do tipo: Alcaloides, Saponinas e Esteroides, quando comparada a outras espécies do gênero *Ipomoea*.

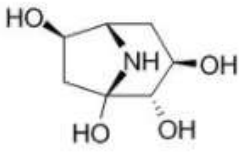
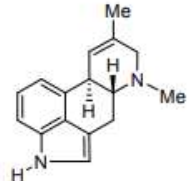
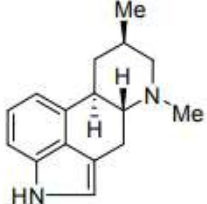
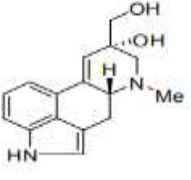
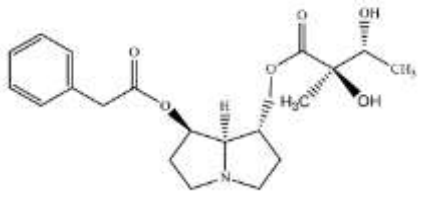
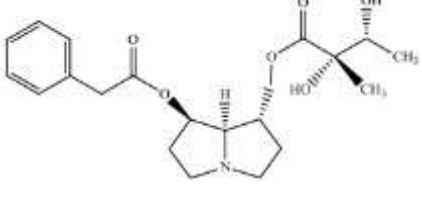
Figura 1: Folhas e flores de *Ipomoea hederifolia* L.



Fonte: Google imagens, 2020.

Metabólitos secundários identificados do gênero *Ipomoea*, podem ser observados na tabela 1:

Tabela 1: Alguns metabólitos secundários isolados do gênero *Ipomoea*

Estrutura	Espécie	Referência
 <p>calystegine B1</p>	<p>I. alba I. aquatica I. batatas I. carnea I. hederifolia</p>	<p>Meira <i>et al</i>, 2012</p>
 <p>Agroclavine</p>	<p>I. fistulosa I. mueller I. tricolor</p>	<p>Meira <i>et al</i>, 2012</p>
 <p>Festuclavine</p>	<p>I. muelleri</p>	<p>Meira <i>et al</i>, 2012</p>
 <p>Penniclavine</p>	<p>I. hederacea I. muelleri I. corymbosa I. violácea</p>	<p>Meira <i>et al</i>, 2012</p>
 <p>Ipangulina</p>	<p>I. hederifolia</p>	<p>Jennet-Siems, Kaloga, Eich, 1993</p>
 <p>Ipangulina A</p>	<p>I. hederifolia</p>	<p>Jennet-Siems, Kaloga, Eich, 1993</p>

1.2. Análise térmica

Análise térmica engloba uma série de grupos de procedimentos em que a propriedade física de uma substância, é analisado em função do tempo ou temperatura. Esse conjunto de técnicas vem sendo utilizadas com o intuito de determinar o ponto de fusão da amostra, bem como, o estudo de interação fármaco/excipientes, caracterização de polimorfismo, avaliação da cinética da reação, estabilidade e decomposição, entre outros parâmetros importantes na amostra. Os métodos mais utilizados são: Termogravimetria (TG), Análise térmica Diferencial (DTA) e Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) (COSTA *et al.*, 2013).

É de suma importância os métodos termoanalíticos, eles possuem uma relevância bastante crescente em todas as áreas da química básica e aplicada. A empregabilidade dessa técnica, é provido de uma grande potencialidade, favorecida pela presença de equipamentos que são regulamentados por microprocessadores capazes de inferir o comportamento térmico das amostras a serem analisadas em um intervalo de tempo pequeno. Esses métodos estão sendo cada vez mais utilizados na determinação de produtos naturais e sintéticos, pois, permitem com velocidade aspectos sobre a estabilidade da amostra analisada em relação ao seu comportamento térmico (COSTA *et al.*, 2013; FEIST, 2015)

1.3. Resistência bacteriana

Com o aumento da resistência bacteriana aos antibióticos já disponíveis no mercado, iniciou-se a necessidade da busca de novas alternativas farmacológicas bem como o desenvolvimento de novas classes de fármacos antibacterianos (NASCIMENTO *et al.*, 2000).

Com a utilização de plantas no tratamento de doenças infecciosas, foi possível observar que os micro-organismos possuem uma capacidade reduzida de resistência aos antimicrobianos à base de plantas. Explicando-se este fato devido à presença de diferentes metabólitos secundários produzidos pelas plantas, que exercem ação de defesa contra estes patógenos. Adicionalmente, o sinergismo gerado pelos vários compostos presentes em um único extrato pode ser atribuído aos diversos alvos que esses constituintes podem atuar na estrutura desses microrganismos (SILVA *et al.*, 2020). Além disto, antibióticos oriundos de produtos naturais apresentam menos efeitos colaterais, maior economia, melhor tolerância e boa aceitação (YUAN *et al.*, 2016).

2. METODOLOGIA

2.2. Coleta do material botânico

O material botânico, *Ipomoea hederifolia* L. (planta total), foi coletada no município de Monteiro – PB. A identificação da espécie vegetal foi realizada pelo botânico José Iranildo Miranda de Melo, e a exsicata depositada no Herbário Arruda Câmara, localizado no Laboratório de Botânica da Universidade Estadual da Paraíba – UEPB, com voucher de número HACM 1068.

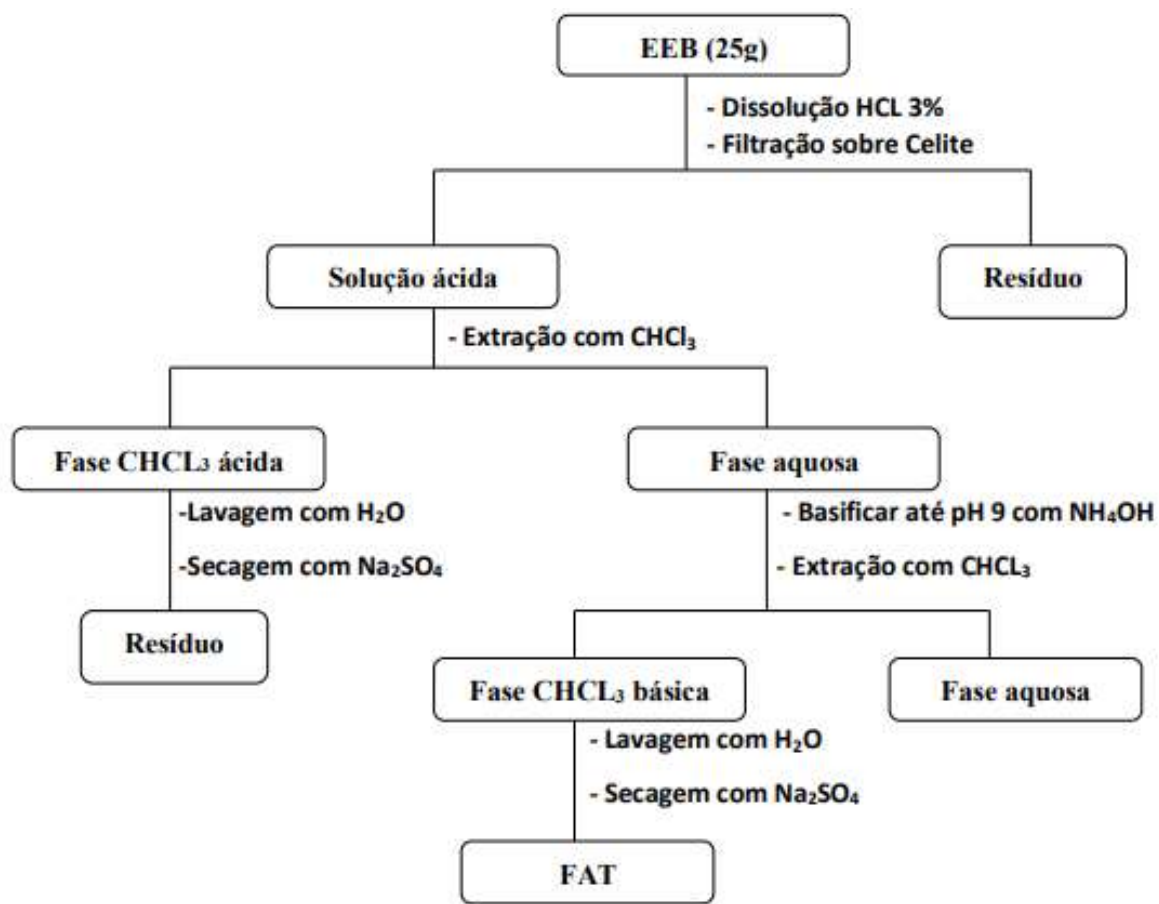
2.3. Obtenção do EEB

A partir do material botânico seco e triturado com peso de 203,63g foi realizado o processo extrativo de maceração a frio, com etanol a 96% (PRISTA *et al.*, 1990). A solução extrativa foi então filtrada e em seguida submetida ao processo de evaporação de solvente em evaporador rotativo sob pressão reduzida em temperatura de 55°C, obtendo-se 29 g de EEB.

2.4. Fração Alcaloídica Total

Os 25g do EEB foi submetido a marcha para obtenção dos alcaloides sendo tratado com 400 mL de uma solução ácida de HCl a 3% (v/v) e, posteriormente, filtrado a vácuo em papel filtro sobre celite. O resíduo foi descartado e o filtrado foi submetido a várias extrações com clorofórmio. A solução da fase clorofórmica não alcaloídica foi rotoevaporada para estudos futuros. A fase aquosa ácida foi alcalinizada com NH₄OH (P.A), até pH 9 e, extraída com 2 L de clorofórmio. Posteriormente, a fase clorofórmica foi evaporada à pressão reduzida em evaporador rotativo a 50 °C obtendo-se 300 mg da fração alcaloídica total – FAT.

Esquema 1: Marcha sistemática para obtenção da Fração Alcaloídica Total (FAT)



Fonte: Dados da pesquisa, 2020.

3.4. Prospecção fitoquímica qualitativa do EEB

O EEB de *Ipomoea hederifolia* foi submetido a testes fitoquímicos preliminares, para os seguintes metabólitos secundários: alcaloides, esteroides, taninos, flavonoides, polissacarídeos e saponinas, onde para cada qual foi realizado um teste específico.

3.4.1. Alcaloides

Dissolveu 25 mg do extrato, em 5 mL de uma solução de HCl 5%, e posteriormente filtrado. Em seguida separou 1 mL da solução em 3 tubos de ensaio e foi adicionado gotas dos seguintes reagentes, Bouchardat, Deagendorff e Mayer, ambos os reagentes após adicionados se apresentarem precipitados indica a positividade do método aplicado.

3.4.2. Esteroides

Dissolveu 75 mg do extrato em 15 mL de clorofórmio, posteriormente filtrada a solução sobre papel de filtro. Sendo filtrados 10 ml da referida solução sobre carvão ativado,

transferindo o filtrado para um tubo de ensaio. Adicionou 1 mL de anidrido acético sendo agitado suavemente, em seguida adicionou-se 3 gotas de H₂SO₄ concentrado, agitando suavemente novamente. Havendo rápido desenvolvimento de cores, que vão do azul evanescente ao verde persistente, indica resultado positivo.

3.4.3. Flavonoides

Dissolveu 120 mg do extrato em 24 mL de metanol, em seguida filtrada a solução. Utilizou-se 10 ml da solução em um tubo de ensaio, onde foi adicionado 5 gotas de HCl concentrado e raspas de magnésio. O surgimento de uma coloração rósea-alaranjada indica reação positiva.

3.4.4. Taninos

Dissolveram-se 140 mg do EEB em 28 ml de água destilada, em seguida filtrada a solução. Transferiu para um tubo de ensaio 5 ml da solução e adicionado 2 gotas da solução alcóolica de FeCl₃ a 1%. Qualquer mudança na coloração ou formação de precipitado é indicativa de reação positiva, quando comparado com o teste em branco (água + solução de FeCl₃). Coloração inicial entre o azul e o vermelho é indicativo da presença de fenóis, quando o teste em branco for negativo. Precipitado escuro de tonalidade azul ou verde indica a presença de taninos.

3.4.5. Saponinas

Dissolveram-se 140 mg do EEB em 28 ml de água destilada, em seguida filtrada a solução. Transferiu 5 ml da solução para um tubo de ensaio e diluiu em 15 ml de água destilada, agitou-se vigorosamente por 2 minutos. Considera-se positivo o resultado a presença estável de espuma por mais de 30 minutos.

3.4.6. Polissacarídeos

Foram dissolvidos 100 mg do EEB em 20 mL de água, posteriormente filtrada a solução. Transferiu 5 mL da solução para um tubo de ensaio e adicionado 5 gotas de lugol. O aparecimento de coloração azul indica positividade do resultado.

3.5. Prospecção fitoquímica quantitativa do EEB

3.5.1. Determinação do teor de flavanoides

A concentração do teor de flavanoides presentes no EEB foi determinado utilizando a metodologia de Meda *et al* (2005). Para 5 mL da solução do referido extrato foi adicionado o mesmo volume de solução de AlCl₃ a 2% (p/v) em metanol. Esta mistura permaneceu em

repouso durante 10 minutos antes da leitura em espectrofotômetro Shimadzu, modelo UV-mini 1240, a 415 nm, os testes foram realizados em triplicata. Foi construída uma curva de calibração utilizando quercetina (Aigma-Aldrich) como padrão para concentrações entre 2 e 28 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$.

Os testes foram realizados em triplicata, e para determinar o cálculo do doseamento foi utilizada a curva padrão de quercetina. Em seguida essa solução foi submetida a diluições em triplicata no qual obteve soluções de quercetina nas concentrações de 2, 4, 6, 8, 10, 13, 16, 19, 22, 26 e 28 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Os teores de flavanoides foram expressos em miligramas equivalentes de quercetina.

3.5.2. Determinação do teor de polifenóis totais

Para a determinação de polifenóis totais, utilizou-se a metodologia descrita por Chandra e Mejía pelo método de Folin-Ciocalteu (2004), com modificações. Uma alíquota de 0,5 mL do extrato foi adicionado a 0,5 mL do reagente de Folin-Ciocalteu. Esta mistura permaneceu em repouso por 2 minutos antes da adição de 1 mL da solução de Na_2CO_3 a 20% (p/v), permanecendo em repouso por 10 minutos. Depois disso, a leitura foi realizada no espectrofotômetro Shimadzu modelo UV – mini-1240, a 757nm.

O teor de polifenóis totais foi determinado pela interpretação da absorbância das amostras contra uma curva de calibração construída com padrão de ácido gálico. A curva de calibração foi obtida com uma solução de ácido gálico em concentrações entre 6 e 36 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$.

3.5.3. Determinação do teor de taninos

O teor de taninos condensados foi determinado pelo método de reação obtida através do ácido clorídrico o qual mudou-se a coloração da solução para azul. Neste método emprega-se a adição de vanilina e extrato diluído em metanol, que após a diluição foram então analisadas no espectrofotômetro. A solução branco para a calibração das amostras foi preparada com diferentes concentrações de catequina junto com metanol.

3.6. Análises Térmica

3.6.1. Análise Térmica Diferencial (DTA)

As curvas de DTA foram obtidas num analisador térmico simultâneo, modelo SDT Q600 (TA Instruments), utilizando cadinhos de alumina com cerca de $2 \pm 0,1$ mg de amostra, sob uma atmosfera de nitrogênio (N_2), com fluxo de 100 mL min^{-1} . Os experimentos foram realizados entre as temperaturas de 25 a 900 $^\circ\text{C}$, com razão de aquecimento de 10 $^\circ\text{C min}^{-1}$.

3.6.2. Termogravimetria

As curvas termogravimétricas não isotérmicas foram obtidas em um analisador térmico simultâneo, modelo SDT Q600 (TA Instruments) utilizando cadinhos de alumina, com cerca de $8 \pm 0,1$ mg de amostra, em atmosfera de nitrogênio (100 mL min^{-1}). Os experimentos foram realizados entre as temperaturas de 25 e 900 °C, com razão de aquecimento de 10 min^{-1} .

3.7. Teste de hemólise

A toxidez do extrato de *I. hederifolia* foi analisada pelo método de hemólise. Preparou-se uma suspensão de hemácias 4% em solução salina 0,9%. Em seguida, 1 mL desta suspensão foi distribuída em tubos de ensaio e homogeneizadas com 1 mL do extrato diluído nas concentrações 0,5 mg/mL e 1,25 mg/mL. Após 1 hora, as amostras foram centrifugadas a 2500 rpm, durante 10 minutos e foi realizada leitura visual, levando em consideração a quantidade de hemácias que sofreram lise. A visualização de hemólise foi classificada como: - (0% hemólise), + (25% hemólise), ++ (50% hemólise), +++ (75% hemólise) e ++++ (100% hemólise), conforme estabelecido por Luize *et al.*, (2005). Essa leitura foi realizada em espectrofotômetro com comprimento de onda de 540 nm, (Shimadzu UV mini – 1240), utilizando como controle negativo a solução salina 1% e para controle positivo solução hemolizante Líquido de Turk.

3.8. Atividade Antimicrobiana

3.8.1 Cepas microbianas

Os microrganismos utilizados foram: *E.coli*,(25922) *Pseudomonas aeruginosas* (27853), *Staphylococcus Aureus* (25923). As cepas ATCC foram cedidas pelo Laboratório de Materiais de Referência do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (Fundação Oswaldo Cruz – FIOCRUZ, Rio de Janeiro – RJ, Brasil).

3.8.2 Determinação da concentração inibitória mínima

Foi empregada a técnica de micro diluição em caldo utilizando microplacas de 96 poços, nas quais foram depositados 100 μL do Caldo Mueller-Hinton, 100 μL das substâncias testes na concentração de 4 mg.mL^{-1} , e em seguida, foram realizadas diluições sucessivas, de modo que 100 μL do conteúdo do primeiro poço foram homogeneizados e transferidos para o seguinte, obtendo-se concentrações decrescentes do extrato. Posteriormente, foram adicionados 20 μL das suspensões bacterianas, sendo elas de crescimento recente (24 horas). As placas foram incubadas a 37 °C/24 horas. A concentração inibitória mínima foi definida

como a menor concentração do extrato capaz de impedir o aparecimento de microorganismos. Foram utilizados como controle, Norfloxacino para *Escherichia coli*, Ciprofloxacino para *Pseudomonas* e Vancomicina para *Staphylococcus Aureus*. A determinação da concentração inibitória mínima (CIM) foi realizada com leitura visual observando-se a mudança de coloração da resazurina, a mudança da coloração de azul para rosa, caracterizada pela redução do corante, indicou a presença de células microbianas viáveis. Dessa forma, foi possível determinar a CIM sendo a menor concentração do extrato capaz de inibir o crescimento microbiano. Os ensaios foram realizados em triplicata no Laboratório de Desenvolvimento e Ensaios em Medicamentos da Universidade Estadual da Paraíba.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Prospecção fitoquímica qualitativa do EEB de *I. hederifolia*

A positividade apresentada pelo EEB para alcaloides foi essencial para o direcionamento quanto ao modo extrativo, onde os mesmos se apresentam nas plantas geralmente na forma de sais e na sua basicidade, sendo necessária uma metodologia diferente de outros metabólitos para sua extração, sendo esta à marcha para alcaloides.

Tabela 2. Triagem fitoquímica qualitativa do EEB

Triagem Fitoquímica		
Flavonoides	+	
Saponinas	+	
Taninos	-	
Polissacarídeos	-	
Esteroides	-	
Alcaloides	Dragendorff	++
	Bouchardat	+
	Mayer	+

Fonte: Dados da pesquisa, 2020.

As plantas apresentam alguns metabólitos secundários que são responsáveis pelas atividades terapêuticas conferidas ao uso medicinal das mesmas. Triagens fitoquímicas realizadas em extratos mostraram a presença de diversos metabólitos secundários, dentre eles destacam-se: taninos, esteróis, terpenos, flavonoides, alcaloides, saponinas e quinonas (OMER; ELNIMA, 2003; MAIKAI *et al.*, 2010).

4.2. Prospecção fitoquímica quantitativa do EEB de *I. hederifolia*

O *screening* fitoquímica quantitativa do extrato etanólico bruto (EEB) de *I. hederifolia*, revelou alto teor de polifenóis totais, flavonoides, o mesmo não apresentou quantidade significativa de taninos.

Tabela 3. Determinação quantitativa de metabólitos secundários

	Polifenóis totais (equivalente de ácido gálico/%)	Flavonoides (equivalentes de quercetina/%)	Taninos Condensados (equivalentes de catequina/%)
Extrato de <i>I. hederifolia</i>	59,97%	1,03%	0,002%

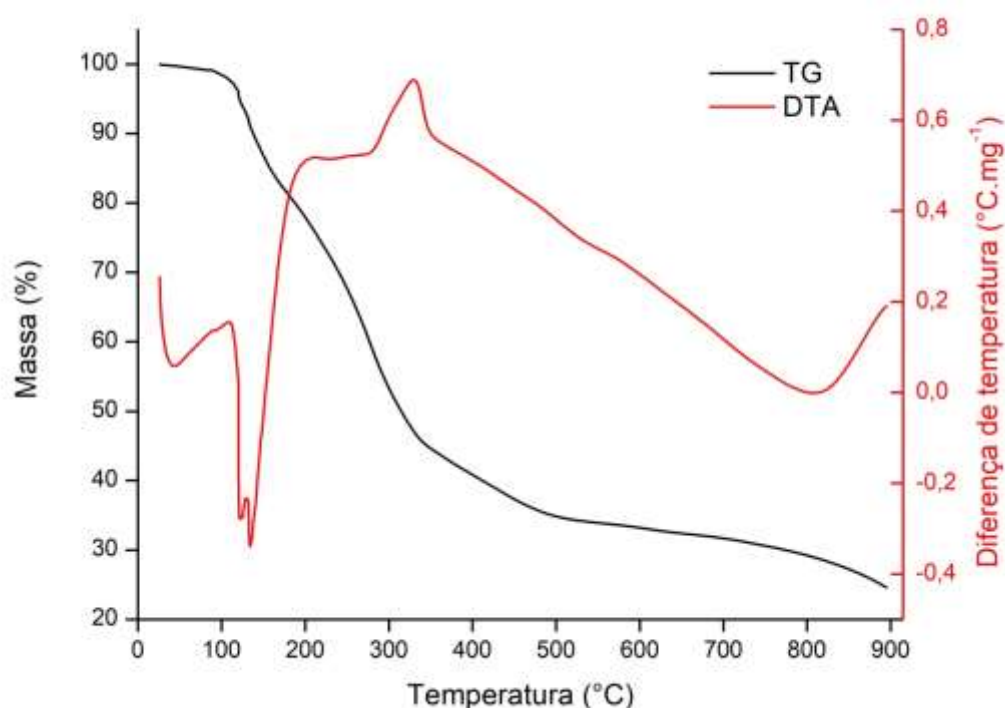
Fonte: Dados da pesquisa, 2020.

O extrato apresentou quantidade considerável de flavonoides, onde segundo Harbone (1992), as ações biológicas dos flavonóides ocorrem, provavelmente, pela semelhança entre a estrutura química destes compostos e muitas moléculas inerentes à bioquímica normal de células animais como as bases de ácidos nucleicos, coenzimas e hormônios esteroides. Sartori (2003) relatou que tais compostos fitoquímicos são importantes para atividade antibacteriana. Tal achado corrobora com estudos descritos na literatura onde *I. hederifolia* apresenta atividade antimicrobiana. A ausência de Taninos condensados é justificada de acordo época de obtenção do material vegetal, horário, solo vegetal e qualidade do solo vegetal, dentre outros fatores que possam interferir na quantidade de metabólitos secundários encontrados nas plantas.

A caracterização fitoquímica das espécies vegetais com determinação de metabólitos secundários é considerada desafiadora, entretanto se faz necessária visto que as plantas apresentam um enorme número de substâncias que prediz valores terapêuticos, principalmente atividade antimicrobiana. Ademais existem os fitocompostos que também são responsáveis por apresentar importantes atividades terapêuticas, são eles: flavonoides, saponinas e taninos.

4.3. Caracterização térmica

Diversas são as aplicações da análises termo anallíticas, na indústria farmacêutica para a averiguação das características físico-química dos produtos (Alves, *et al.*, 2011). Com isto o EEB de *I. hederifolia* foi submetido ao processo de caracterização por análise térmica, tendo como intuito observar o seu comportamento térmico.

Figura 2. Curva de DTA/TG do extrato de *I. hederifolia* L.

Fonte: Dados da pesquisa, 2020.

Tabela 4. Dados da curva de DTA

Amostra	Evento	Início – Final (°C)	Pico (°C)	ΔH (J g ⁻¹)
<i>Ipomoea hederifolia</i>	Primeiro	54,30 – 127,08	121,54	0,07071
	Segundo	127,08 – 180,96	136,05	0,01139
	Terceiro	180,96 – 403,11	329,00	0,5344
	Quarto	283,92 – 349,37	328,92	-

Fonte: Dados da pesquisa, 2020.

Os dados de DTA do extrato de *I. hederifolia* (Figura 1) demonstraram a presença de um pico endotérmico à temperatura de 121,54°C ($\Delta H = 0,07071$ J g⁻¹), certamente relativo à perda de umidade, água e/ou solvente volátil, tendo em vista que o extrato foi obtido a partir de uma solução etanólica. Este evento na curva de TG, está relacionado com a perda de massa de 6,09% da amostra.

Em seguida, observou-se um segundo pico endotérmico aproximadamente em 136,05 ($\Delta H = 0,01139 \text{ J g}^{-1}$) no qual ocasionou uma perda de massa de 12,44% na curva de TG, esse processo ocorreu entre as temperaturas de 127,08-180,96 °C, proveniente da etapa de perda de umidade, e em 329,00 ($\Delta H = 0,5344 \text{ J g}^{-1}$) observou-se a presença de um pico endotérmico, esse evento na curva de TG correspondeu a uma perda de massa equivalente a 40,44%. Foi possível observa-se um evento exotérmico com pico de 328,92°C na curva de DTA, esse processo iniciou entre as temperaturas 283,92°C – 349,37°C, podendo ser correspondente ao processo de oxidação do EEB. O processo de decomposição inicia-se em 180,96°C e permanece até o fim do intervalo analisado. O resíduo formado no final do aquecimento correspondeu a 24,60% da massa total analisada. O ensaio foi realizado no Laboratório de Certificação e Desenvolvimento de Biomateriais, da Universidade Estadual da Paraíba.

4.4. Toxidez

O EEB de *I. hederifolia* foi submetido ao teste de toxidez pelo método de hemólise.

Tabela 5. Atividade hemolítica de *I. hederifolia*

Concentrações (mg/mL)	Absorbância	Intensidade de Hemólise
0,5 mg/mL	1,2810	+
1,25 mg/mL	1,6645	++
Líquido de Turk	3,9999	++++

Fonte: Dados da pesquisa, 2020.

A toxicidade apresentada na concentração 1,25 mg/mL pode se justificar devido a presença de metabólitos secundários como saponinas e alcaloides, onde apresentou uma concentração citotóxica efetiva de 50% (EC50). Segundo Dewick (2002), alcaloides são substâncias naturalmente tóxicas, que mesmo em pequenas concentrações podem ocasionar toxicidade. As saponinas conseguem interagir com a membranas de algumas células a exemplo dos eritrócitos e moléculas de colesterol, essa interação induz uma alteração na membrana celular, fazendo possivelmente que ocorra um extravasamento intracelular, ocorrendo a lise. Justificando assim a toxicidade de saponinas triterpênicas, com a produção de hemólise. (Dewick, 2002; Glauert *et al*, 1967; Karabaliev *et al.*, 2003).

4.4. Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

Os dados obtidos referentes aos testes de determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) do EEB de *Ipomoea hederifolia*, estão apresentados na tabela seguinte:

Tabela 6. Atividade antimicrobiana de *I. hederifolia*

<i>Microrganismo</i>	<i>CIM ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	S/I
<i>Pseudomonas</i>	1000,00
<i>Escherichia coli</i>	1000,00

Fonte: Dados da pesquisa, 2020.

Constata-se resultados positivos na ação antimicrobiana nas concentrações de 1,0 mg.mL⁻¹ frente à cepa bacteriana *Pseudomonas*, e 1,0 mg.mL⁻¹ frente à cepa *Escherichia coli*, esses valores corroboram com estudos anteriores sobre o potencial antimicrobiano da mesma para bactérias gram-negativas (PANDURANGAN, A; RANA, K, 2015). Para as cepas de *Staphylococcus aureus* o EEB não apresentou atividade. Os antibióticos utilizados para controle positivo apresentaram sensibilidade aos micro-organismos em teste, onde teve ação antibiótica em todas as concentrações diluídas na placa, comprovando a efetividade da análise.

5. CONCLUSÃO

Os estudos de plantas medicinais são fundamentais no processo de isolamento de novos compostos. Os resultados obtidos mostraram a capacidade de toxicidade de *I. hederifolia* em diferentes concentrações. Ademais, o EEB apresentou uma quantidade satisfatória de metabólitos secundários, onde o estudo fitoquímico corroborou com a confirmação da presença alcaloides no extrato, além de ser possível a caracterização do extrato pelas técnicas termoanalíticas utilizadas. O EEB apresentou atividade antimicrobiana para bactérias gram negativas. Dessa maneira, este estudo aponta a importância da continuidade do mesmo para um conhecimento mais aprofundado sobre a espécie, bem como a intenção de isolamento de compostos.

6. REFERÊNCIAS

- BREITBACH, U. B.; NIEHUES, M.; LOPES, N. P.; FARIA, J. E. Q.; BRANDÃO, M. G. L. **Amazonian Brazilian medicinal plants described by CFP von Martius in the 19th century**. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 147, n. 1, p. 180-189, 2013.
- COELHO, A. A. O. P. GIULIETTI, A. M; CONCEIÇÃO, A. A.; QUEIROZ, L. P. **Diversidade e caracterização de Farnerógamas do Semiárido Brasileiro.**; eds; Instituto do Milênio do Semiárido, Editora APN, 2006, v. 1, p.88.
- COSTA, R. NEGRÃO, C; CAMELO, S; RIBEIRO, R.C; BARBOSA, W; SILVA JUNIOR, J. **Investigation of thermal behavior of Heliotropium indicum L. lyophilized extract by TG and DSC**. *Journal of Thermal Analysis & Calorimetry*. v. 111. p. 1959-1964, 2013.
- DEWICK, P.M. **Medicinal Natural Products: A biosynthetic aproroach**. John Wiley & Sons LTD, 2^o ed., p.291-300. 2002.
- FEIST, M. **Thermal analysis: basics, applications, and benefit**. *ChemTexts* 1, 8 (2015).
- FERREIRA, T. S.; MOREIRA, C. Z.; CÁRIA, N. Z.; VICTORIANO, G.; SILVA J. W. F.; MAGALHÃES, J. C. **Phytotherapy: an introduction to its history, use and application**. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v. 16, n. 2, p. 290-298, 2014.
- FERREIRA, V. F.; PINTO, Angelo C. **A fitoterapia no mundo atual**. *Quim. Nova*, Rio de Janeiro, v. 33, n. 9, p.1829-1829, 2010.
- FRANSWORTH, R. N. e MORRIS, W. R. **Higher Plants the Sleeping Giant of Drug Development**. *Amer. J. Pharmacy* . p. 46, 1976.
- GLAUERT, A.M.; DINGLE, J.T.; LUCY, J.A. **Action os saponin on biological cell membranes**. *Nature*, v.196, p.952—955, 1962.
- HARBORNE, J. B.; WILLIAMS, C. A. **Advances in flavonoid research since 1992**. *Phytochemistry*, v . 55, n. 6, p. 481-504, 2000
- JENNET-SIEMS, K; KALOGA, M; EICH, E. **Ipangulines, the first pyrrolizidine alkaloids from the convolvulaceae**. *Phytochemistry*. v.34, n.2, p.437-440, 1993.
- JENNET-SIEMS, K; SCHIMMING,T; KALOGA, M; EICH, E.; SIEMS,K; GUPTA, M.P; WITTE, L; HARTMANN, T. **Pyrrolizidine alkaloids of ipomoea hederifolia and Related species**. *Phytochemistry*. v.47, n.8, p.1551-1560, 1998.
- JOEL, U. K; UWABUNKEONYE, O.C; OGECHUKWU, M.R; AZUBUIKE, A.C. **Comparative phytochemical study of the parts of Ipomoea species**. *Journal of Medicinal Plants Studies* 2020; 8(4): 257-261.
- KARABALIEV, M.; KOCHEV, V. **Interaction os solid supported thinn lipid films with saponin**. *Sensors ans actuators B*, v.88, p.. 101-105, 2003.

MAIKAY, V. A.; MAIKAI, B. V. O; KOBO P. I. **Antioxidant properties of *Ximenia americana***. African Journal of Biotechnology. v. 9, n.45, p. 7744-7746, 2010.

MATOS, F. J. A. **O Formulário fitoterápico do professor Dias da Rocha**. Mossoró: ESAM, p.222, 1987, (Coleção ESAM, ano XX, v. 18).

MATOS, J. F. A. **Introdução a Fitoquímica Experimental**. Fortaleza, Ed. EUFC, 2ª ed. 1997.

MEDA, A; LAMIEN, C.E; ROMITO, M; MILLOGO, J; NACOULOMA, O.G. **Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity**. Food Chem 91(3): 571-577, 2005.

MEIRA, M.; SILVA, E.P.; DAVID, J.M.; DAVID, J.P. **Review of the genus *Ipomoea*: traditional uses, chemistry and biological activities**. Rev. bras. farmacogn; Curitiba, v.22, n.3, p. 700, 2012.

MOGHADAMTOUSI, S.Z; FADAEINASAB, M; NIKZAD, S; MOHAN, G; ALI, H.M; KADIR, H.A. ***Annona muricata* (Annonaceae): A review of its traditional uses, isolated acetogenins and biological activities**. Int J Mol Sci. 2015;16(7):15625–58.

NASCIMENTO, G.G.F; LOCATELLI, J; FREITAS, P.C; SILVA, G.L. **Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria**. Brazilian J Microbiol [Internet]. Novembro de 2020;31(4). Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S151783822000000400003&lng=en&nrm=iso&tlng=en

OMER, M. E. F. A.; ELNIMA, E.I. **Antimicrobial activity of *Ximenia americana***. Fitoterapia. v. 74, p.122-126, 2003.

PANDURANGAN, A; RANA, K. **A mini review on chemistry and biology of *Ipomoea hederifolia* linn. (convolvulaceae)**, Global Journal of Pharmaceutical Education and Research, v.4, n. 1-2, p.23-25, 2015.

PRISTA, L. N. et al. **Técnica farmacêutica e farmácia galênica**. 3 ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, vol. 1, 1990.

SARTORI, M.R.K; PRETTO, J.B.; CRUZ, A.B.; BRESCIANI, L.F.V.; YUNES, R.A.; SORTINO, M.; ZACCHINO, S.A.; CECHINEL FILHO, V., **Antifungal Activity of fractions and two pure compounds of flowers from *Wedelia paludosa* (*Acmela brasiliensis*) (ASTERACEAE)**, Pharmazie, v. 58, n. 8, p. 567-9, 2003.

SILVA, A. D; KOWALSKI, L; PAGNO, A.R; PIANA, M. **Atividade antimicrobiana de flavonoides: uma revisão de literatura**. Revista Interdisciplinar em Ciências da Saúde e Biológicas, 2020; 4(1)51-65

SILVA, I.A.B.; KUVA, M.A.; ALVES, P.L.C.A.; SALGADO, T.P. **Interference of a Weed Community with Predominance of *Ipomoea hederifolia* on Sugar Cane Ratton**. Planta Daninha, Viçosa-MG, v. 27, n. 2, p. 265-272, 2009.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: Do Produto Natural ao Medicamento**. 1. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

SOEJARTO, D.D. **Biodiversity prospecting and benefit sharing: perspectives from the field**. *Journal Ethnopharmacology*, v. 51, p. 1-15.

SOUZA, R.K.D. **Etnofarmacologia de Plantas Mediciniais do Carrasco no Nordeste do Brasil**, Dissertação (Mestrado em Bioprospecção Molecular -Biodiversidade), Universidade Regional do Cariri, Crato-CE. p.79, 2012.

YUAN, H; MA, Q; YE, L; PIAO, G. **The Traditional Medicine and Modern Medicine from Natural Products**. *Molecules* [Internet]. 29 de abril de 2016;21(5):559. Disponível em: <http://www.mdpi.com/1420-3049/21/5/559>