

PRISCILLA DE MOURA OLIVEIRA BORGES



**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE TÓXICA E DO PERFIL
FITOQUÍMICO DE COSTUS SPICATUS E JATROPHA
MULTIFIDA**

ANÁPOLIS, FEVEREIRO

2016

PRISCILLA DE MOURA OLIVEIRA BORGES

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE TÓXICA E DO PERFIL
FITOQUÍMICO DE COSTUS SPICATUS E JATROPHA
MULTIFIDA**

Trabalho de conclusão do Curso de Licenciatura em Química,
apresentado à Coordenação de Química do Instituto Federal
de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás.

Orientadora: Prof^a Ms. Gracielle Oliveira Sabbag Cunha.

ANÁPOLIS, FEVEREIRO

2016

PRISCILLA DE MOURA OLIVEIRA BORGES

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE TÓXICA E DO PERFIL
FITOQUÍMICO DE COSTUS SPICATUS E JATROPHA
MULTIFIDA**

Trabalho de conclusão do Curso de Licenciatura em Química,
apresentado à Coordenação de Química do Instituto Federal
de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás.

Orientadora: Prof^a Ms. Gracielle Oliveira Sabbag Cunha.

Aprovado em ____ / ____ / ____

Prof^a. Ms. Lílian Tatiane Ferreira de Melo Camargo (IFG)

Prof. Ms. Lucas Hoffmann Greggi Kalinke (IFG)

Prof^a. Ms. Gracielle Oliveira Sabbag Cunha (IFG)

ANÁPOLIS, FEVEREIRO

2016

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar e o mais importante de todos, Deus! Agradeço a Ele por me capacitar e me dar inteligência para saber que jamais alguém conseguirá chegar a algum lugar sozinho.

Agradeço de todo o coração a minha professora e orientadora deste, Gracielle Oliveira Sabbag Cunha, que inúmeras vezes demonstrou-me firmeza em sua sabedoria.

Ao meu lindo esposo Mário Borges Neto, que não apenas me incentivou nos estudos mas esteve comigo na Faculdade cuidando do nosso filho recém nascido, do lado de fora da sala enquanto eu estudava!

À minha família querida, mãe, pai e irmãos que torceram e torcem por mim, ainda que seja por algo pequeno, a vitória sempre será elevada quando comemorada à dois ou mais!

Aos meus filhos queridos, é por eles que vale a pena caminhar cada minuto da vida.

Aos amigos que conquistei na faculdade! Com certeza várias contribuições somaram ao meu aprendizado dentre os quais gostaria de ressaltar a minha amiga Auriane da Silva Costa que, mais que uma amiga de sala se tornou uma amiga pra vida toda.

À minha amiga de juventude, Alice Rezende Bastos que tanto me incentivou não só com palavras mas com seu exemplo de vida.

E não menos agradecida, louvo a Deus por todos os professores e técnicos do IFG que contribuíram com essa etapa da minha vida: a conclusão do Curso de Licenciatura em Química.

Há duas formas para viver sua vida: uma é acreditar que não existem milagres.

A outra é acreditar que todas as coisas são milagres".

Albert Einstein

RESUMO

As plantas medicinais desde primórdios dos tempos apresentam grande importância para a qualidade de vida do homem. No que tange a busca por curas de patologias ainda não desvendadas, o estudo de novas espécies de plantas vem crescendo a cada dia. Com esse intuito, no sentido de contribuir com a análise fitoquímica e da toxicidade de plantas popularmente utilizadas como recursos naturais, este trabalho buscou analisar as espécies de *Costus spicatus* e *Jatropha multifida*. Uma vez que se pode contar com testes pré-eliminatórios de toxicidade de baixo custo e fácil acesso, tornou-se imprescindível a realização do teste com *Artemia salina*. Diante disto, o presente trabalho foi realizado com extrato e frações das espécies acima citadas que confirmaram a ausência de atividade citotóxica para esse microcústáceo e através de testes fitoquímicos a presença de alguns metabólitos secundários tais como: saponina espumígena, alcaloide, flavonas/flavonóis/xantonas, depsídeos/depsidonas e taninos catéquicos para a espécie de *Costus spicatus*, enquanto que para a espécie de *Jatropha multifida* foram identificados apenas a presença de saponina espumígena, alcaloide e depsídeos/depsidonas.

Palavras Chave: *Costus spicatus*, *Jatropha multifida*, *Artemia salina*.

ABSTRACT

Medicinal plants since beginning of time have great importance for man's quality of life. Regarding the search for cures for diseases not yet unveiled, the study of new species of plants is growing every day. Facing it, in order to contribute to the phytochemical analysis and plant toxicity popularly used as natural resources, this study aimed to analyze the species *Costus spicatus* and *Jatropha multifida*. Once you can count on you eliminate pre-test toxicity low cost and easy access, it has become essential to the test with *Artemia salina*. Given this, the present work was to extract and fractions of the above species confirmed the absence of cytotoxic activity for this microcustáceo and through phytochemical tests the presence of some secondary metabolites such as saponin espumídica, alkaloid, flavones / flavonols / xanthonas , depsides / depsidonas, catechin and tannin for the species *Costus spicatus*, while for *Jatropha multifida* species were identified only the presence of espumídica saponin and alkaloid depsides / depsidonas.

Keywords: *Costus spicatus*, *Jatropha multifida*, *Artemia salina*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1.1.	Estrutura da molécula de emetina.....	16
Figura 2.1.2.	Salicilatos que marcaram o desenvolvimento de fármacos no período de 1800 a 1900.....	16
Figura 2.1.3.	Estrutura das moléculas de forskolina, taxol e artemisinina	17
Figura 2.1.4.	Estrutura das moléculas de cafeína e morfina	18
Figura 2.1.5.	Estrutura da molécula de galantamina	19
Figura 2.1.6.	Síntese do Ácido Acetilsalicílico	19
Figura 2.1.7.	Estrutura das moléculas de vinflunina, cabazitaxel e o derivado halicondrina-B eribulina	21
Figura 2.3.1.	Espécies de <i>Costus</i>	24
Figura 2.4.1.	<i>Costus spicatus</i>	24
Figura 2.4.2.	Estrutura dos compostos flavônicos tamarixetina-3-O-neohesperidosídeo (1) e canferídeo-3-O-neohesperidosídeo (2)	25
Figura 2.5.1.	Estrutura dos principais diterpenos encontrados na família Euphorbiaceae (jatrofona, rodojaponina e cis-desidrocrotonina	27
Figura 2.6.1.	Espécies de <i>Jatropha</i>	27
Figura 2.6.1.	<i>Jatropha multifida</i>	28
Figura 2.7.1.	Diversidade e complexidade estrutural dos metabólitos secundários ...	30
Figura 2.9.1.	Náuplio de <i>Artemia salina</i>	31
Figura 3.2.	Obtenção dos extratos brutos	32
Figura 3.3.1.	Fracionamento dos extratos brutos	33
Figura 3.4.1.	Esquema de preparação e eclosão dos ovos de <i>Artemia</i>	34
Figura 4.4.1.	Teste de identificação de alcaloide	41
Figura 4.4.2.	Teste de identificação da classe de flavonas, flavonóis e xantonas	42

LISTA DE TABELAS

Tabela 4.1.1.	Massa de material vegetal e quantidade de extrato obtido das folhas de <i>Costus spicatus</i> e <i>Jatropha multifida</i>	38
Tabela 4.2.1.	Massa das frações obtidas da partição líquido-líquido dos extratos brutos de <i>Costus spicatus</i> e <i>Jatropha multifida</i>	38
Tabela 4.3.1.	Contagem de <i>A. salina</i> mortas após 24h de exposição ao extrato aquoso de <i>Costus spicatus</i> e <i>Jatropha multifida</i>	39
Tabela 4.4.1.	Classe de metabólitos presentes nas espécies de <i>Costus spicatus</i> e <i>Jatropha multifida</i>	40

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DMSO – Dimetilsulfóxido (substância química)

NCE – Nova Entidade Química

FDA – (sigla em inglês) Administração de Alimentos e Remédios dos Estados Unidos

DL₅₀ – Dose letal – Dose capaz de matar 50% dos animais testados

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	14
2.1. Produtos Naturais.....	14
2.2. Família Costaceae.....	23
2.3. Gênero <i>Costus</i>	23
2.4. Espécie <i>Costus spicatus</i>	24
2.5. Família Euphorbiaceae.....	26
2.6. Gênero <i>Jatropha</i>	27
2.7. Espécie <i>Jatropha multifida</i>	28
2.8. Metabolismo Vegetal.....	29
2.9. Ensaio de letalidade de <i>Artemia salina</i> Leach.....	31
3. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	32
3.1. Coleta do material botânico.....	32
3.2. Obtenção dos extratos brutos.....	32
3.3. Fracionamento dos Extratos e Obtenção das Frações.....	33
3.4. Preparação das amostras e ensaio de Letalidade de <i>Artemia salina</i> Leach.....	33
3.5. Prospecção Fitoquímica.....	34
3.5.1. Preparação dos reativos.....	35
3.5.2. Testes.....	36
4. RESULTADOS.....	38
4.1. Resultados da extração.....	38
4.2. Resultados do fracionamento dos extratos brutos através da partição líquido-líquido.....	38
4.3. Avaliação da atividade tóxica de extratos e frações de <i>Costus spicatus</i> e <i>Jatropha multifida</i>	39
4.4. Identificação da presença de metabólitos secundários.....	40

5. CONCLUSÃO.....	43
6. REFERÊNCIA BIBLIOGRAFICA.....	44

1. INTRODUÇÃO

O Brasil dispõe de uma rica biodiversidade, cuja variedade de espécies representa cerca de 20% do total de espécies do planeta (CALIXTO, 2003). Sabe-se que alguns cuidados devem ser tomados a fim de que não destruamos esse bem que origina a vida na Terra.

A utilização de recursos naturais vem crescendo, uma vez que as plantas são fontes importantes de produtos biologicamente ativos e, nesse sentido, a busca por opções terapêuticas para diferentes patologias faz da pesquisa de produtos naturais um campo fértil em descobertas por novas moléculas com diferentes atividades biológicas (MMA, 2014). Assim, estudos fitoquímicos possibilitam não só o aumento de informações acerca da espécie analisada como também a contribuição para a utilização terapêutica de plantas (RAHMAN et al, 2005).

Além do mais, a biodiversidade ocupa lugar importantíssimo na economia nacional. Segundo o Ministério do Meio Ambiente, o setor de agroindústria responde por cerca de 40% do PIB brasileiro enquanto que o setor florestal responde por 4% e o setor pesqueiro, por 1%. E mais, as exportações brasileiras são mantidas com participação de 31% destes produtos. A biomassa vegetal do Brasil corresponde a 30% da matriz energética nacional isso, incluindo o etanol da cana-de-açúcar. Segundo dados do Ministério do Meio Ambiente, o valor econômico da biodiversidade brasileira gira em torno de 33 trilhões de dólares anuais (MMA, 2014).

Contudo, conhecendo a importância da biodiversidade, existem problemas como por exemplo degradação e destruição que precisam ser conscientizados e reparados mesmo com a proteção mínima e apoio de organizações dentre elas, organizações como Hotspots, empresas especializadas em não somente proteger mas, recuperar áreas de grande valor biológico e manutenção da biodiversidade (SOARES, 2012).

A Mata Atlântica apresenta uma variedade bastante diversificada da sua fauna e flora que acompanham as características climáticas da região onde ocorre. Essa Floresta, tão rica em biodiversidade, está posicionada em segundo lugar com risco de extinção do mundo, isso porque a devastação de algumas regiões já levaram várias espécies vegetais e animais à sumirem do mapa. Em relação a atividades econômicas que não implicam na destruição do meio ambiente e ainda geram rendas para comunidades locais e tradicionais, está o uso de recursos naturais. O uso de plantas para confecção de remédios e o corte seletivo de árvores,

por exemplo, são medidas sustentáveis que não só favorecem todo o ambiente como também as necessidades humanas (LAGOS & MULLER, 2007).

O cerrado, depois da Mata Atlântica, é o bioma brasileiro que mais sofreu alterações com a ocupação humana. O crescente desenvolvimento da agricultura está causando degradação à região, e como se não bastasse, a exploração de material lenhoso, para produção de carvão é devastadora. Há uma crescente demanda para abertura de novas áreas visando à produção e com isso os recursos naturais da região vêm aos poucos se esgotando (MMA, 2014).

Assim, no contexto de contribuir com dados relativos à flora brasileira, investigando espécies de interesse químico-medicinal, o presente trabalho teve como objetivo realizar o estudo fitoquímico e a avaliação da atividade tóxica das espécies *Costus spicatus* e *Jatropha multifida*.

Costus spicatus é conhecida popularmente como cana-de-macaco, cana-mansa, pobre-velho ou cana-do-brejo (BORRÁS, 2003; LORENZI & MATOS, 2008). Nativa em quase todo Brasil, esta espécie é encontrada principalmente na Mata Atlântica e região Amazônica (LORENZI & MATOS, 2008).

Suas folhas são utilizadas popularmente como medicina alternativa para tratar várias doenças e segundo Paes (2013), poucos trabalhos científicos evidenciam características medicinais dessa espécie.

Jatropha multifida é conhecida popularmente como flor de coral, planta-coral e bálsamo, é uma pequena árvore cujas flores vermelhas com anteras amareladas, parecem pequenas peças de coral, apresenta látex no caule e se reproduz pela semente ou por mudas. O fruto é uma pequena cápsula que quando maduro fica amarelo. *Jatropha multifida* no latim que dizer multifidus, fendido em muitas partes, uma alusão às fendas observadas em suas folhas (GALLINDO, 1985).

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Produtos Naturais

A biodiversidade muito contribui para o desenvolvimento de medicamentos que direta ou indiretamente são obtidos através de produtos naturais. Hoje em dia, indústrias

farmacêuticas de grande porte possuem programas de pesquisa na área de produtos naturais, pois graças a estes, incluindo ainda, as toxinas extraídas de animais, bactérias, fungos e algumas plantas, os cientistas puderam aprofundar seus estudos no que diz respeito à biologia celular e molecular de algumas plantas (CALIXTO, 2003).

Ao longo de tempo as plantas medicinais veem sendo utilizadas para sanar várias enfermidades. Grande parte da população brasileira faz uso de plantas medicinais para tratar seus problemas de saúde e essa aplicação é tão grande que abrange desde o combate a doenças mais críticas, tais como o câncer quanto ao tratamento de combate a micro-organismos patogênicos (SILVA e CARVALHO, 2004).

O conhecimento que é adquirido popularmente das plantas medicinais em geral são mantidos por tradições orais e embora não haja qualquer comprovação científica que justifique a sua eficácia para o tratamento de doenças, as famosas receitas medicamentosas são utilizadas desde os primórdios da civilização por diversos povos de diversas maneiras (FIRMO, 2011).

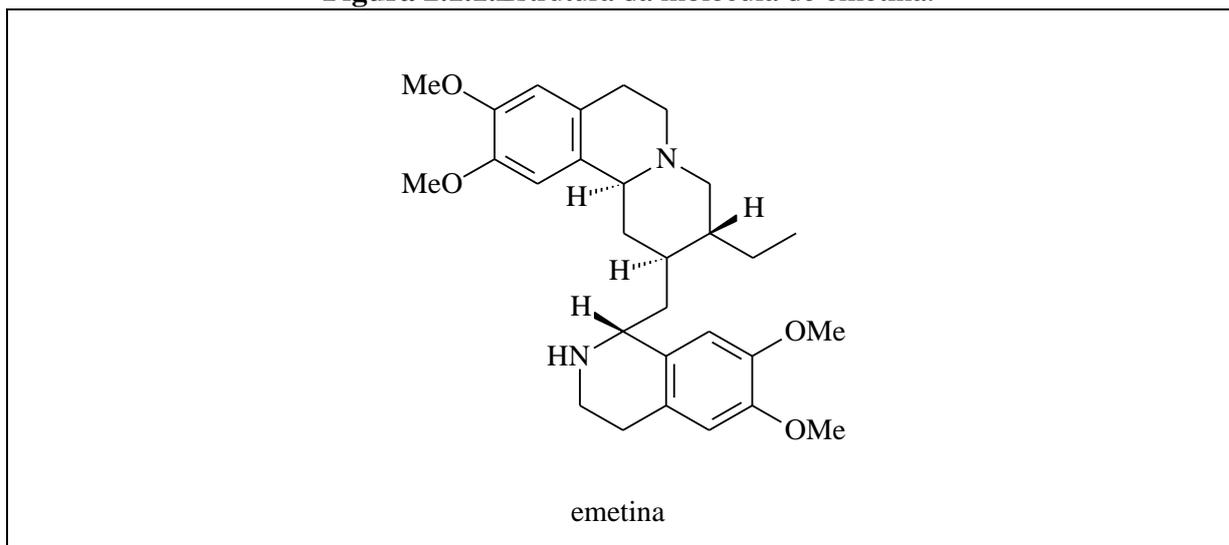
O homem primitivo buscou na natureza as soluções para os diversos males que o assolava, fossem esses de ordem espiritual ou física. Aos feiticeiros, considerados intermediários entre os homens e os deuses cabia a tarefa de curar os doentes, unindo-se, desse modo, magia e religião ao saber empírico das práticas de saúde, a exemplo do emprego de plantas medicinais. A era Antiga inaugurou outro enfoque, quando, a partir do pensamento hipocrático, que estabelecia relação entre ambiente e estilo de vida das pessoas, os processos de cura deixaram de ser vistos apenas com enfoque espiritual e místico. (ALVIM et al., 2006).

A qualidade de vida mais elevada é um dos principais motivos pelo qual muitos consumidores buscam recursos naturais para sanar suas patologias, além do fato de que, os medicamentos industrializados geram maior custo para serem adquiridos, logo, a utilização de produtos naturais vem tornando mais cômodo e acessível (BRUNING, et al. 2012).

Este forte indício de que os produtos naturais são uma alternativa comum para a frequente aquisição de um público alvo, o uso de plantas medicinais, com fundamentação popular, está relacionado à situação de pobreza e dificuldade no acesso a certos tipos de medicamentos (MS, 2006).

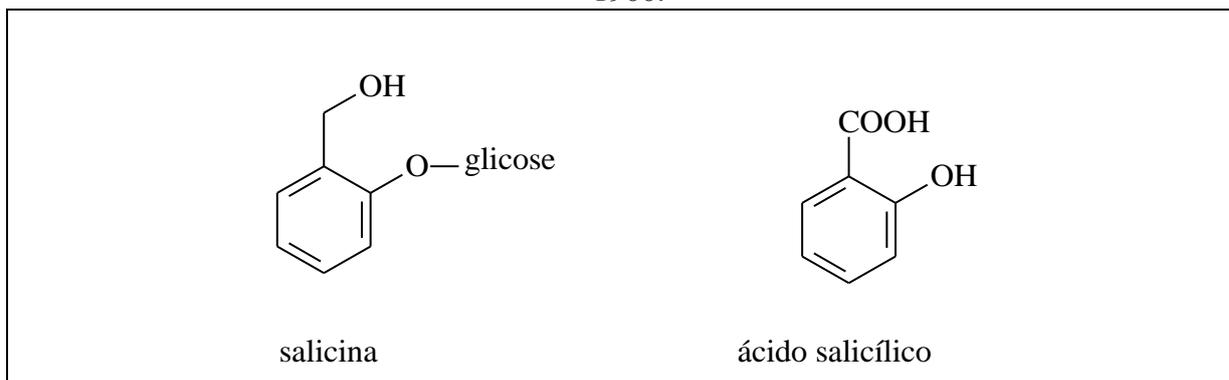
Além das finalidades terapêuticas, as plantas que são usualmente conhecidas pelos populares contribuem para a obtenção de uma gama diversificada de fármacos. Um exemplo é a emetina (Figura 2.1.1), que é extraído das raízes de *Cephaelis ipecacuanha* cuja utilização é efetiva contra a disenteria amebiana (COSTA et al., 2000).

Figura 2.1.1. Estrutura da molécula de emetina.



Talvez o marco mais importante para a pesquisa e o desenvolvimento de novos produtos naturais com fins medicinais tenha sido o descobrimento dos salicilatos, obtidos de *Salix alba*. Com propriedades analgésicas e antipiréticas, teve uma pequena quantidade de salicina (Figura 2.1.2) isolado em 1828. Após esse ano, vários cientistas buscaram melhorar a quantidade e a qualidade extraída e em 1860 sintetizaram o ácido salicílico (Figura 2.1.2) (YUNES e CECHINEL, 2001).

Figura 2.1.2. Salicilatos que marcaram o desenvolvimento de fármacos no período de 1800 a 1900.

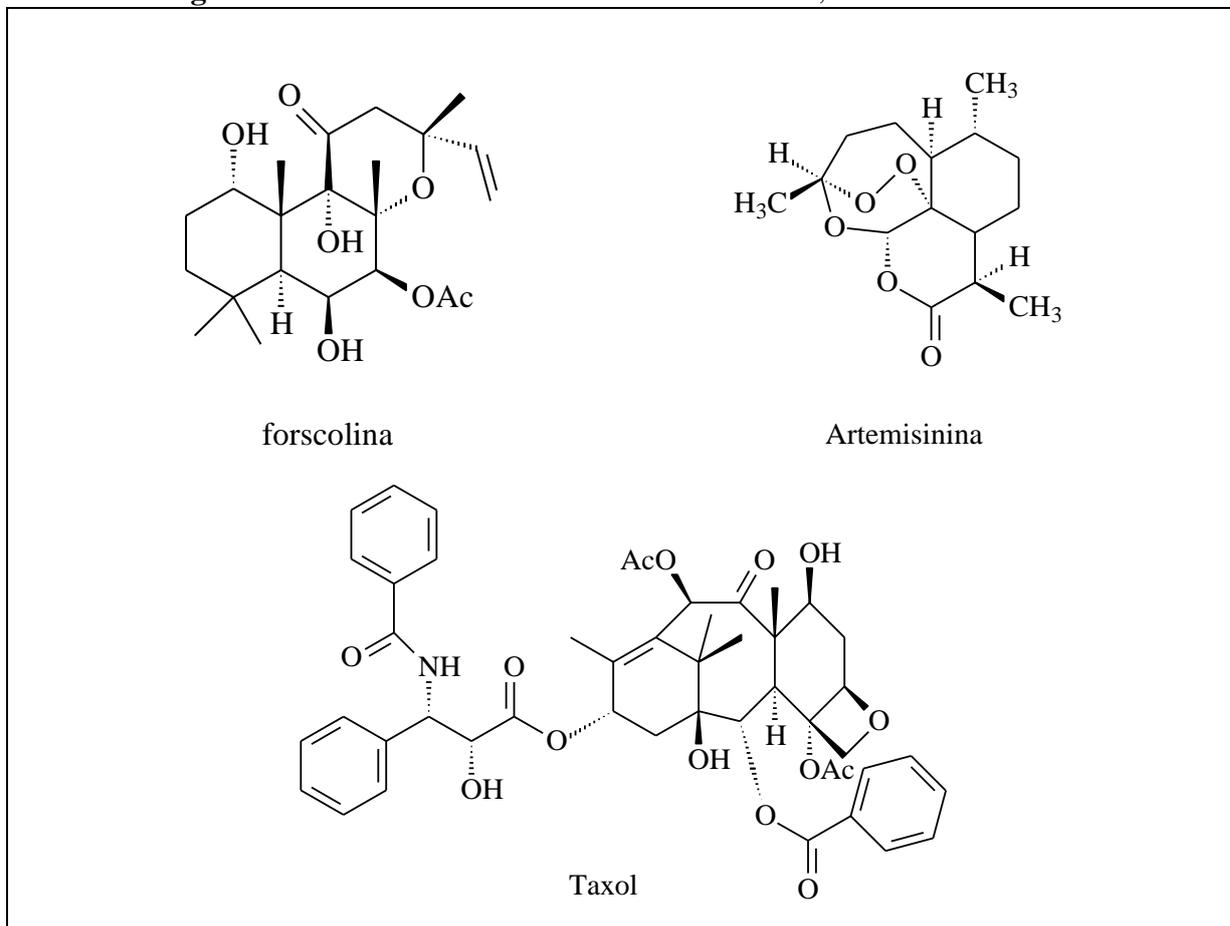


Desde tempos a literatura vem sendo atualizada com certa frequência relacionando novas moléculas, moléculas estas com ações relevantes para desenvolvimento de novos fármacos, tais como: forskolina, paclitaxel (Taxol®) e artemisinina (Figura 2.1.3) (CECHINEL FILHO, 1998). Segundo Filho & Yunes 1998, o composto forskolina dentre diversos exemplos de substâncias oriundas de plantas, apresenta promissores efeitos contra hipertensão, glaucoma, asma e certos tumores.

O paclitaxel, molécula extraída da espécie *Taxus brevifolia*, necessitava de uma quantidade exorbitante de cerca de 3000 árvores para a obtenção de 1Kg da molécula pura. Assim, novas metodologias sintéticas para a sua obtenção em maior escala sem grandes danos ambientais emergiram a partir de 1994 quando Holton e Nicolaou anunciaram a síntese total do taxol para fins medicamentoso anti-cancerígenos (CORREIA e OLIVEIRA, 2011).

Outra substância natural que apresenta uma complexa estrutura para o tratamento antimalárico é a artemisinina, isolado da *Artemisia annua*, planta muito conhecida e utilizada na medicina chinesa (CALA, 2010).

Figura 2.1.3. Estrutura das moléculas de forskolina, taxol e artemisinina.

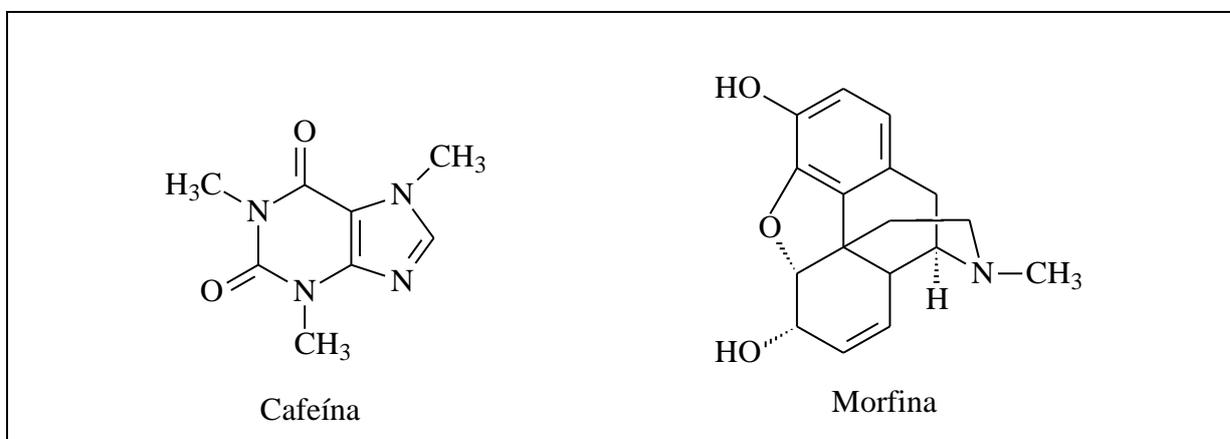


E, nesse contexto, vale ressaltar que a utilidade medicinal de uma planta era antigamente testada de forma visível pelos populares. Por exemplo: observavam o comportamento dos animais após a ingestão de partes das plantas. Há uma crença que relata a história de um pastor de cabras que observou o comportamento “eufórico” em seu rebanho após comerem os frutos de um cafeeiro. Hoje em dia é comum a preparação de muitos fármacos contendo o princípio ativo da cafeína (Figura 2.1.4) um alcaloide com propriedade estimulante cardíaco e cerebral (BARROS, 2013).

As plantas catalogadas e utilizáveis têm sido uma grande fonte de produtos naturais biologicamente ativos, muitos das quais, utilizados para síntese de diversos medicamentos. Essa diversidade quanto à estrutura e propriedade físico-químicas e biológicas possui valor inestimável e segundo Gerra e Nodari (2003) estima-se que das milhares de espécies de plantas no mundo, apenas 15% delas tenham sido submetidas a algum tipo de estudo científico para avaliar seu potencial químico.

No século XVII as propriedades medicinais das plantas foram reconhecidas como “princípios ativos” contidas no interior dos vegetais. Esse termo é, nos dias atuais, um conjunto de substâncias responsáveis pela ação medicinal da planta. Assim, cada vez que se isola uma substância presente no princípio ativo, tem-se um fármaco. Em 1816 foi isolada a primeira substância: a morfina (Figura 2.1.4), contudo sua estrutura somente foi conhecida em 1925 (PINTO et al., 2002). A morfina é um alcaloide muito importante medicinalmente, pois sua ação analgésica é intensa e apenas em certos casos são permitidos o seu uso.

Figura 2.1.4. Estrutura das moléculas de cafeína e morfina.



Os produtos naturais desempenham um papel significativo na descoberta de novas drogas bem como no processo de desenvolvimento das mesmas e segundo um levantamento feito por Newman e Cragg (2013), atualmente há um programa de dados denominado Nova Entidade Química (NCE), que tem contribuído com informações para a descoberta química e aprovação do uso de drogas em qualquer parte do mundo. Embora esse programa possua inúmeras moléculas cadastradas a fim de amenizar o tempo para confecção de novos fármacos, o aumento esperado na produtividade não se concretizou. Uma análise atualizada de produtos naturais no que diz respeito a descoberta de drogas bem como no processo de desenvolvimento registram dados que vão desde 01/1981 à 12/2010.

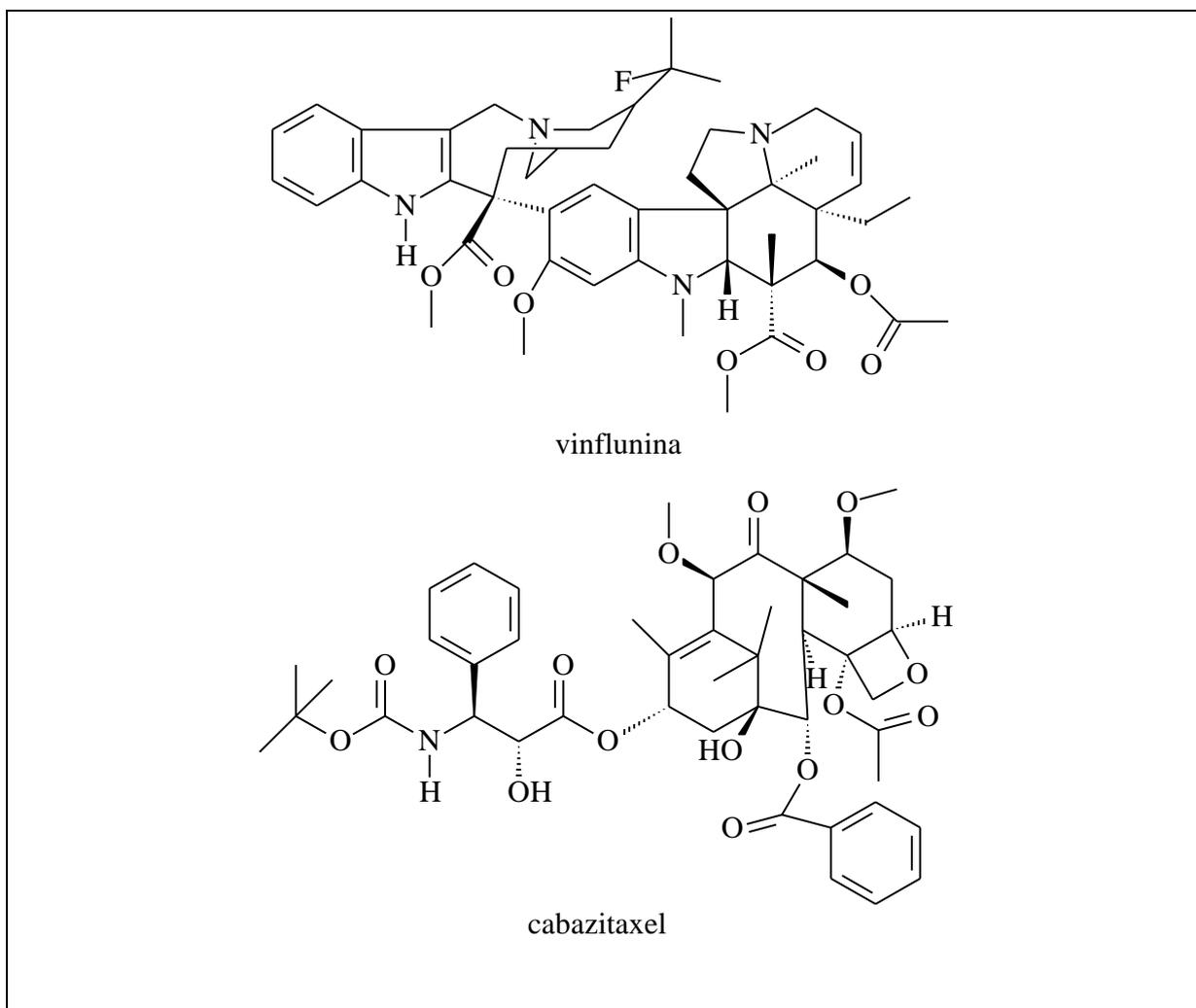
Os conjuntos de dados apontam para a utilização de produtos naturais bem como seus derivados dando origem a uma área de modificações de produtos naturais por métodos combinatório a fim de produzirem compostos inteiramente diferentes que outrora podem ter pouca ou nenhuma semelhança com o original, além do que, essas fontes têm favorecido o desenvolvimento de um verdadeiro arsenal terapêutico (NEWHOUSE et.al. apud NEWMAN e CRAGG, 2013).

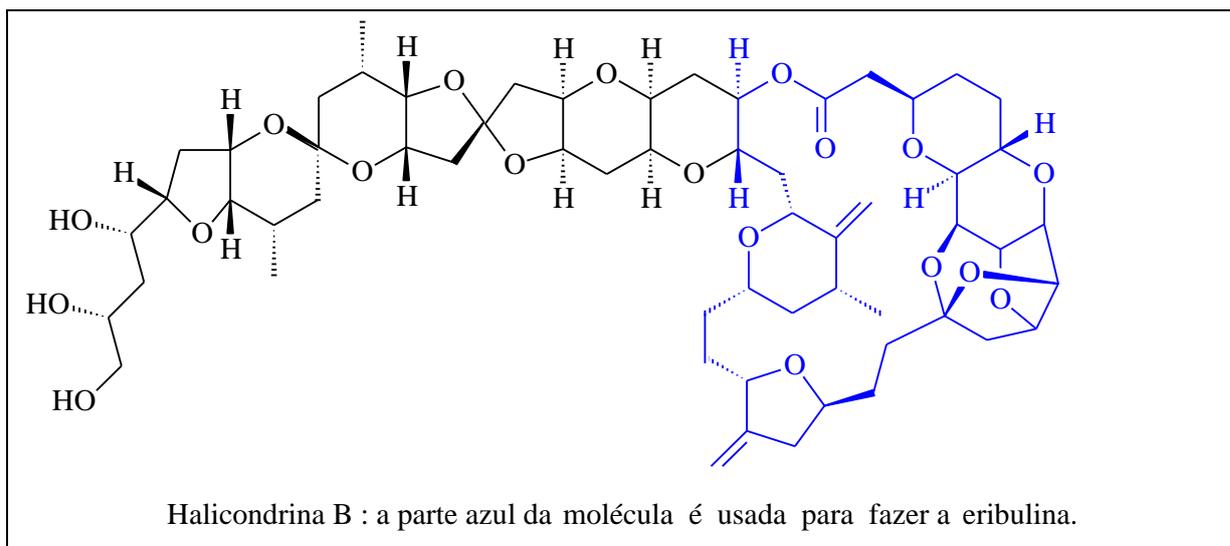
Um dos pontos de interesse definitivo pelo campo de produtos naturais, em especial nos anos de 2006 à 2010 foi quando as fontes de drogas antitumorais tiveram suas aprovações deferidas. O primeiro agente antitumoral é um “botânico”, Polyphenon E, foi aprovado pela Administração de Alimentos e Remédios dos Estados Unidos (FDA, na sigla em inglês) para o tratamento de verrugas genitais ligado ao vírus do papiloma humano (HPV) (SCHEINFELD apud NEWMAN e CRAGG, 2013).

Ueda apud Newman e Cragg (2013) afirma que dos sete agentes antitumorais aprovados em 2010, quatro são derivados de produtos naturais com três, vinflunina, cabazitaxel e o derivado halicondrina-B eribulina (Figura 2.1.7) totalmente sintético. Em resumo, o programa de direcionamento as pesquisar de moléculas naturais desbrava o desafio de transcender os continentes para o combate de inúmeras doenças neurodegenerativas. Uma gama diversificada de acúmulos na divulgação sistemática deixa claro que existe um potencial considerável de compostos obtidos das paisagens naturais sendo assim, químicos e biólogos e até mesmo os médicos estarão desfrutando das moléculas registradas e disponibilizadas pelo programa. Ainda segundo alguns dos estudiosos, Wilson apud Newman e Cragg (2013):

Estamos confiantes de que o programa vai levar, minimamente, a compostos que são merecedores de séria pré-clínica (follow-up). No mais amplo nível, nota-se que este programa irá confirmar mais uma vez (se mais uma confirmação é, de fato, necessárias) as vantagens extraordinárias de pequenos produtos naturais da molécula como fontes de agentes que se interpor, de uma forma útil em vários processos fisiológicos.

Figura 2.1.7. Estrutura das moléculas de vinflunina, cabazitaxel e o derivado halicondrina-B eribulina.





As substâncias ativas presentes nas plantas medicinais são produtos do seu metabolismo e podem ser divididos em dois grupos: metabólitos primários e metabólitos secundário. Os metabólitos primários são compostos biologicamente necessários para o crescimento, desenvolvimento e reprodução dos organismos vivos. Eles incluem os carboidratos, proteínas, lipídeos e ácidos nucleicos (FÁVERO, 1997).

Os compostos do metabolismo secundário vegetal apresentam comportamentos de interações entre a planta e seu ecossistema exercendo, por exemplo, o papel de fagoinibidores e /ou agentes antimicrobianos (MELLO, 2001).

A grande maioria dos compostos extraídos do metabolismo secundário são biologicamente ativos e sua utilização para confecção de novos fármacos tem se desenvolvido continuamente, propiciando importantes avanços no tratamento de várias enfermidades (SOUSA et al., 2008). Além disso, o conhecimento dessa classe de metabólitos, presente em uma espécie vegetal, é de grande importância, pois atuam na proteção e comunicação das plantas, respondendo a diversos fatores ambientais, podendo auxiliar na competição com outros organismos e na ocupação do meio ambiente (SANTOS, 2004).

2.2. Família Costaceae

A família Costaceae pertence à ordem Zingiberales, que consiste de oito famílias de monocotiledôneas: Zingiberaceae, Costaceae, Marantaceae, Cannaceae, Lowiaceae, Musaceae, Heliconiaceae e Strelitziaceae. A família Costaceae é constituída pelos gêneros *Costus*, *Monocostus*, *Dimerocostus* e *Tapeinocheilas*, os quais são encontrados em áreas tropicais e subtropicais. Eles podem ser vistos em florestas pluviais e noutros ambientes úmidos. *Costus* é o maior dos gêneros, abrangendo de 125 a 175 espécies distribuídas pantropicalmente, sendo que a maioria delas ocorre na região neotropical (ARAÚJO E OLIVEIRA, 2007).

Não são muitos os estudos publicados a respeito da biologia reprodutiva de Costaceae e segundo Araújo e Oliveira (2007), no Brasil existem dados sobre a fenologia e biologia floral de estudos comunitários na Mata Atlântica. Poucos trabalhos científicos evidenciam características peculiares de Costaceae (SPECHT E STEVENSON, 2006).

2.3. Gênero *Costus*

As plantas do gênero *Costus* geralmente têm ramos espirais com inflorescências terminais que produzem uma flor por dia, raramente duas, além de terem um período de floração estendido durante o ano (ARAÚJO E OLIVEIRA, 2007).

Possuem caules de contorno em espiral e folhas alternas invaginantes (MOLINA, 1975). Em geral as plantas são herbáceas (caule macio ou maleável além de não possuir crescimento secundário), perenes (sobrevivem a várias temporadas), rizomatosas (emitem raízes no solo com gemas que possibilitam brotações), de crescimento simpodial (crescimento lateral por brotação). As folhas são decorativas, simples, alternas espiraladas, nas cores verde ou avermelhada conforme a espécie. As flores geralmente são protegidas por brácteas densas, formando uma estrutura espiciforme, raramente isoladas; flores vistosas, bissexuadas, zigomorfas, diclamídeas e heteroclamídeas (STEVEVERSON E STEVEVERSON, 2004).

FIGURA 2.3.1. Espécies de *Costus*.



Fonte: http://www.ceapdesign.com.br/familias_botanicas/costaceae.html.

2.4. Espécie *Costus spicatus*

A espécie *Costus spicatus* (Figura 2.4.1) é encontrada em quase todo o Brasil, principalmente na Mata Atlântica e região Amazônica. Além de ser cultivada com fins de jardinagem, sua utilização também é apreciada para fins medicinais desde muito tempo. Apesar de não comprovada cientificamente suas propriedades biológicas e sua serventia, a utilização de chás e outros meios de consumo vem tomando força e continuidade por meio de tradição popular (LORENZI E MATOS, 2008).

FIGURA 2.4.1. *Costus spicatus*.



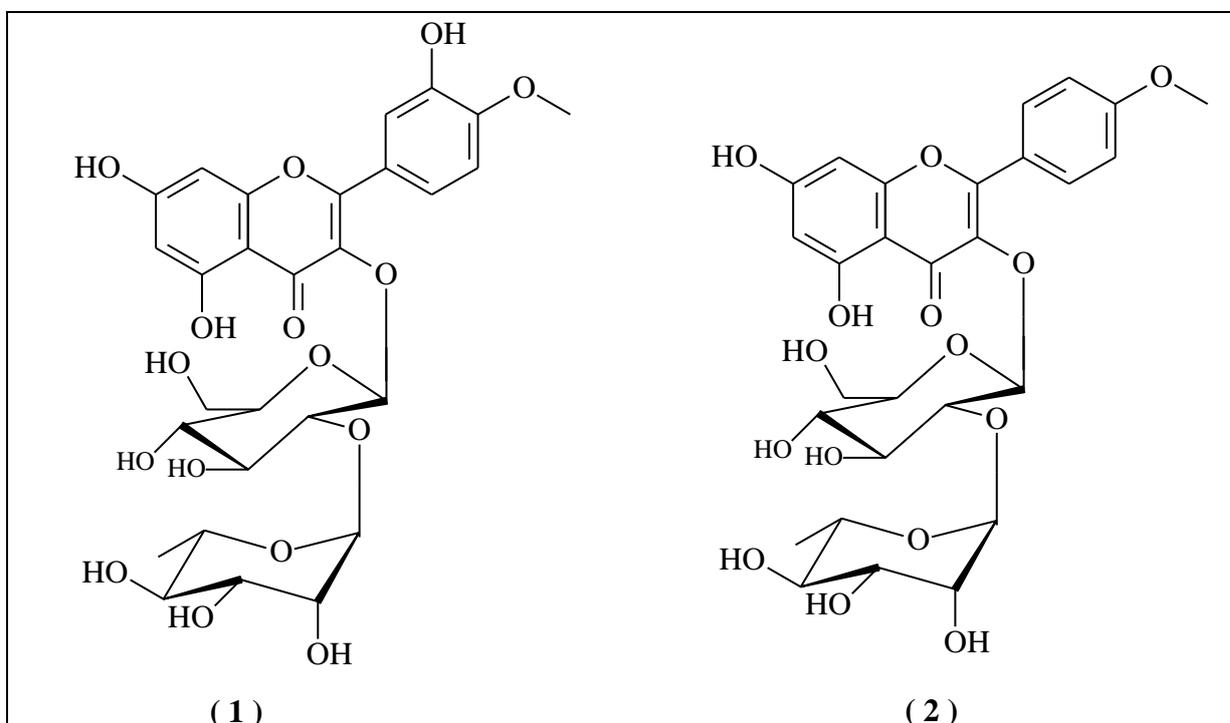
Fonte: própria do autor

Os principais nomes atribuídos popularmente a essa espécie são: cana-de-macaco, cana-do-brejo, cana-mansa, periná, canarana, pacová, cana-branca, jacuacanga, ubacaiá, e sua utilização serve para tratarem situações de depuração, diurética e adstringente (BOORHEM, 1999). O elemento "cana", por exemplo, é uma referência a sua haste longa e rígida. "Cana-roxa" é uma alusão às suas brácteas roxas (KAWA, 2014).

Uma vez que quase todas as partes desta planta podem ser utilizadas, ou seja, folhagem, caule e raiz, seu uso diurético é destaque, combatendo desde cólicas renais, disenteria e nefrites bem como problemas da bexiga e diabetes. (VAN DEN BERG, 1993).

Segundo Silva et al. (2000), compostos flavônicos foram isolados do extrato metanólico das folhas de *Costus spicatus*, são eles os flavonóis diglicosídicos: tamarixetina-3-O-neohesperidosídeo e canferídeo-3-O-neohesperidosídeo (Figura 2.4.2) (SILVA et al., 2000).

Figura 2.4.2 Estrutura dos compostos flavônicos tamarixetina-3-O-neohesperidosídeo (1) e canferídeo-3-O-neohesperidosídeo (2).



Martins et al. (2010) afirma que a presença de saponinas é confirmada para folhas e rizomas da família Zingiberaceae. Assim, segundo Viegas Junior (2003) a presença de

saponinas nas partes vegetativas de *Costus spicatus* provavelmente é uma característica comum a essa família bem como as atividades antimicrobianas e inseticidas.

Também foram detectados em análise com extratos aquoso das partes vegetativas dessa espécie, heterosídeos cianogênicos confirmando a presença da liberação de ácido cianogênico (GLEASON, 2011). Para Kaufman et al. (1998) são compostos utilizados como defesa química da espécie.

Além do mais, Williana e Harborne (1977) descrevem ainda a presença de leucoantocianidinas e flavonas em todas as partes vegetativas de *Costus spicatus*.

Segundo dados apresentados por Paes (2013), os extratos, ora aquoso, ora etanólicos, ora em ambos, indicam a presença de polifenóis ou compostos fenólicos, saponinas e heterosídeos cianogênicos nas folhas de *Costus spicatus*.

2.5. Família Euphorbiaceae

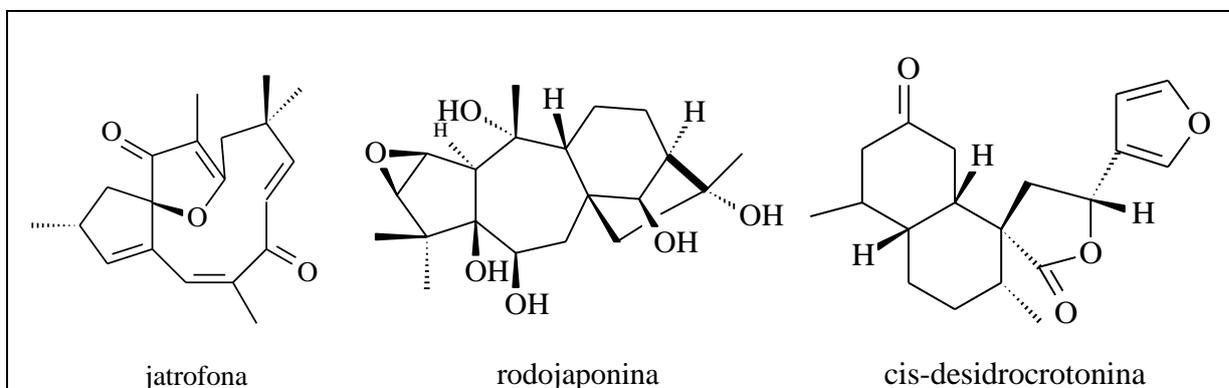
Euphorbiaceae é uma família de regiões tropicais e temperadas, representada por cerca de 317 gêneros e aproximadamente 8000 espécies. Podem se apresentar como arbóreas, arbustivas, subarbustos e ervas (SÁTIRO, 2007).

Os maiores centros de dispersão estão localizados nas Américas e na África. Presentes também na flora brasileira são plantas de hábito bastante variado. Um exemplo clássico pertencente a essa família é a mandioca, também conhecida como aipim ou macaxeira (JOLY, 1985).

Essa família tem se destacado pela importância econômica, pois dentre as espécies mais conhecidas também estão as seringueiras e as mamonas. Algumas espécies são utilizadas na alimentação humana, principalmente na região Nordeste do Brasil, como por exemplo, a *Manihot esculenta* Crantz, da qual se extrai a farinha de mandioca (VALLE, 1991).

Segundo Joly (1985), a família Euforbiaceae possui estudos quanto a sua constituição química, sendo que os diterpenos (Figura 2.5.1) são os principais quimiomarcadores dessa família.

Figura 2.5.1. Estrutura dos principais diterpenos encontrados na família Euphorbiaceae (jatrofona, rodojaponina e cis-desidrocrotonina).



2.6. Gênero *Jatropha*

O Gênero *Jatropha* apresenta uma grande diversidade de espécies e potencial socioeconômico. As espécies podem ser monóicas (planta que produz flores masculinos e femininos ou seja hemafrodita) ou dióicas (plantas que produzem flores masculinos ou femininos em sua estrutura) incluindo árvores, arbustos e ervas. Sua importância econômica inclui uma gama diversificada de utilidades tais como, seu uso medicinal (cicatrizante, purgante, moluscicida, analgésico, antitussígeno, antimicrobiano e anticoagulante), ornamental e produção de cercas-vivas (LEAL e AGRA, 2005).

FIGURA 2.6.1. Espécies de *Jatropha*.



Fonte: http://www.ceapdesign.com.br/familias_botanicas/euphorbiaceae.html

Segundo Webster (1994), no Brasil as espécies de *Jatropha* são comumente encontradas na região do Nordeste, onde o clima é seco. Muito dessas espécies são empregadas na medicina popular como purgativa, contra gonorreia, diurética e cicatrizante.

Uma vez que, muitas espécies deste gênero, apresentam grande potencial químico e biológico, estudos anteriores já indicaram a presença de metabólitos secundários tais como: taninos, alcaloides e saponina. Constatou-se ainda a presença de ricina, uma toxalbumina que causa vômitos, diarreia, desidratação entre outros, responsável por casos de intoxicação relatados (LEVIN, et al., 2000).

2.7. Espécie *Jatropha multifida*

A espécie *Jatropha multifida* (Figura 2.6.1) é conhecida popularmente como flor-de-coral, bálsamo, flor-de-sangue, planta coral e flor coral. É uma planta classificada como suculenta (raiz, talo e folhas foram engrossados para permitir o armazenamento de água em quantidades acima do normal) e arbustiva com folhagem e floração ornamentais. Medem cerca de 1,30 m de altura, podendo chegar a 7 metros (SMITH, 1988).

FIGURA 2.6.1. *Jatropha multifida*.



Fonte: própria do autor

As flores são muito pequenas de cor vermelho intenso e estão agrupadas em cachos. As folhas medem de 10 a 20 cm de largura e são divididas em segmentos ou lóbulos estreitos, afilados, longos e podem ter as extremidades lisas ou dentadas, os frutos são amarelos e normalmente contém três sementes (LEVIN, et al., 2000).

Segundo Samlipto (1989), essa espécie apresenta seiva abundante e leitosa proveniente da folha.

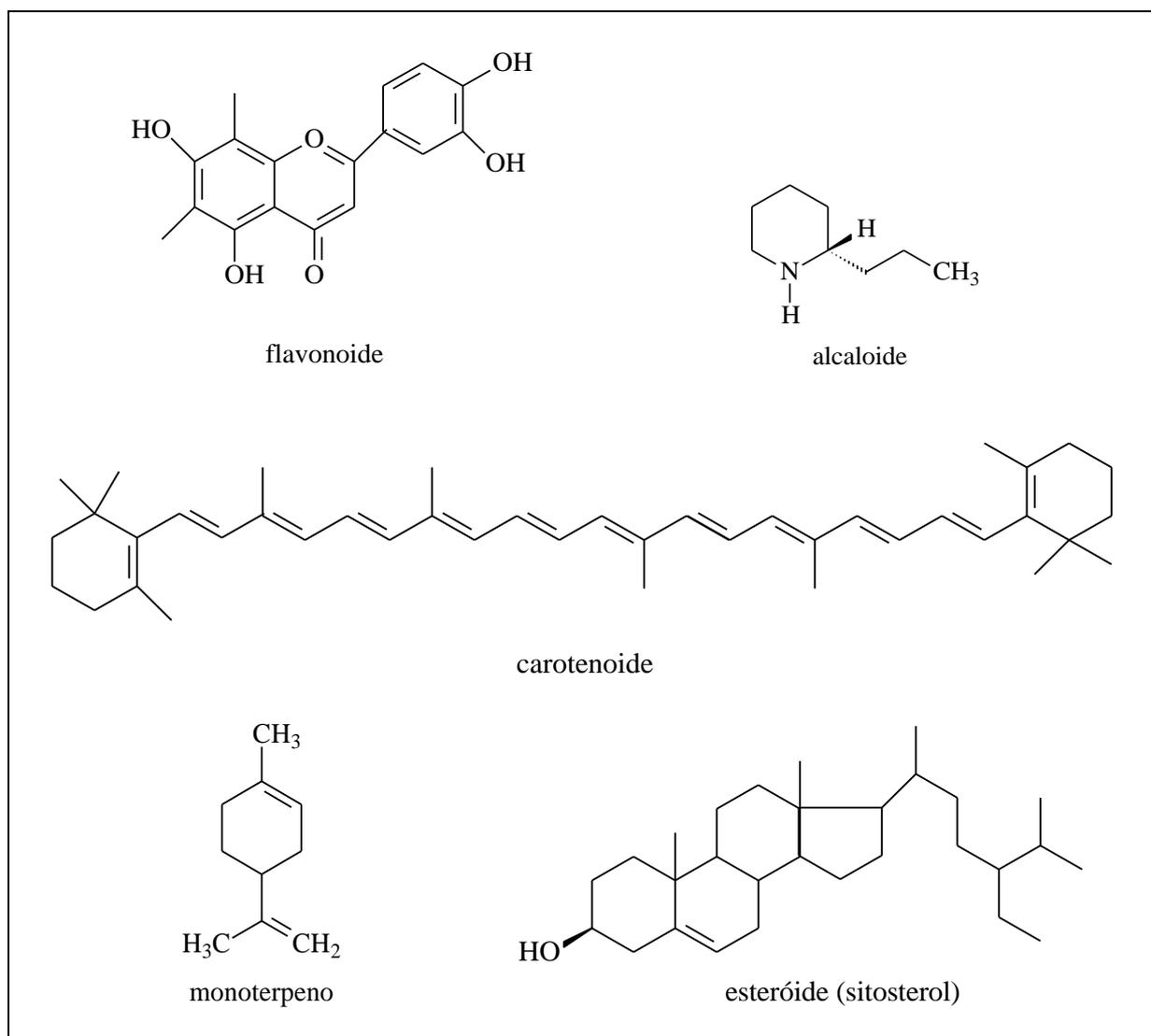
Moradores da região noroeste do estado do Paraná, afirmam que a seiva é utilizada com a finalidade de cicatrizar feridas; *Jatropha multifida* é conhecida pela região citada acima como bálsamo ou methiolate e a sua utilização se dá pela aplicação sobre a lesão e em alguns casos é ingerida para tratamento de úlceras gástricas (BUCH, ARANTES e CAMPELO, 2008).

2.8. Metabolismo Vegetal

A definição de metabolismo vegetal segundo Nelson e Cox (2002), é um conjunto de reações químicas que continuamente ocorrem em cada célula vegetal. Esses processos denominados essenciais à vida são comuns nos vegetais sendo classificados como metabolismo primário, ou seja, caracteriza por grande produção, distribuição universal e com funções essenciais.

O metabolismo vegetal primário dá origem a elementos indispensáveis a vida celular, como por exemplo, carboidratos, lipídeos, aminoácidos, ácidos nucleicos e proteínas. Há uma segunda classe denominada de metabólitos secundários, tem-se em foco a biossíntese de micromoléculas com uma série de diversidade estrutural (Figura 2.7.1) além de produção em pequena escala, distribuição restrita e específica, papel adaptativo ao meio, defesa contra herbívoros e microrganismos, proteção contra raios UV, atração de polinizadores bem como de animais dispersores de sementes (FÁVERO e PAVAN, 1997).

Figura 2.7.1. Diversidade e complexidade estrutural dos metabólitos secundários.



2.8.1 Metabólitos Secundários

Os metabólitos secundários também denominados metabólitos especiais estão presentes em uma variedade de grupos vegetais atuando na proteção e comunicação das plantas além de responder a uma gama de fatores ambientais auxiliando na competição com outros organismos bem como sua ocupação no meio (STANTON, 2008). Essa classe de metabólitos gera grande importância para áreas como a farmacêutica, alimentícia, agrônômica e na indústria de perfumes, por exemplo (SOUZA FILHO e ALVES, 2002).

Os metabólitos secundários desenvolvem uma gama de funções nas plantas e Kaufman et al. (1999) afirma que é provável haver uma relação com o efeito medicinal

sentido pelos seres humanos ou seja, produtos secundários que estejam envolvidos na defesa das plantas através de citotoxicidade para patógenos microbianos podem ser úteis como medicamentos antimicrobianos em humanos. Assim sendo, produtos secundários que apresentam atividade neurotóxica para defesa contra herbívoros podem ser benéficos em humanos para medicamentos com princípios que hajam no sistema nervoso central, tais como: antidepressivos, sedativos, anestésicos e relaxantes muscular (KAUFMAN et al., 1999).

2.9. Ensaio de letalidade de *Artemia salina* Leach

Os ensaios de letalidade de *Artemia salina* (Figura 2.9.1) são de grande importância para a realização de bioensaios. Este teste é simples e de fácil manuseio, a rapidez nos ensaios e seu baixo custo aquisitivo favorecem a sua utilização corriqueira para muitos estudos, além de ser um teste pre-eliminar de toxicidade em geral. Segundo Nascimento (2008), o microcústáceo pode ser encontrado de tamanhos e cores variadas.

Figura 2.9.1. Náuplio de *Artemia salina*.



Fonte: <http://www.webspace.qmul.ac.uk>

Segundo Harada (2009), um composto que é bioativo revela-se tóxico frente a *A. salina*; assim, afim de realizar um isolamento em produtos naturais, torna-se ágil e simples esse teste. Alguns trabalhos trazem uma boa relação entre ensaios de toxicidade e outras atividades biológicas ou seja, torna-se possível a detecção de atividades antifúngicas, antiviral, antimicrobiana, antitumoral, entre outras (LHULLIER, HORTA e FALKENBERG, 2006).

3. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

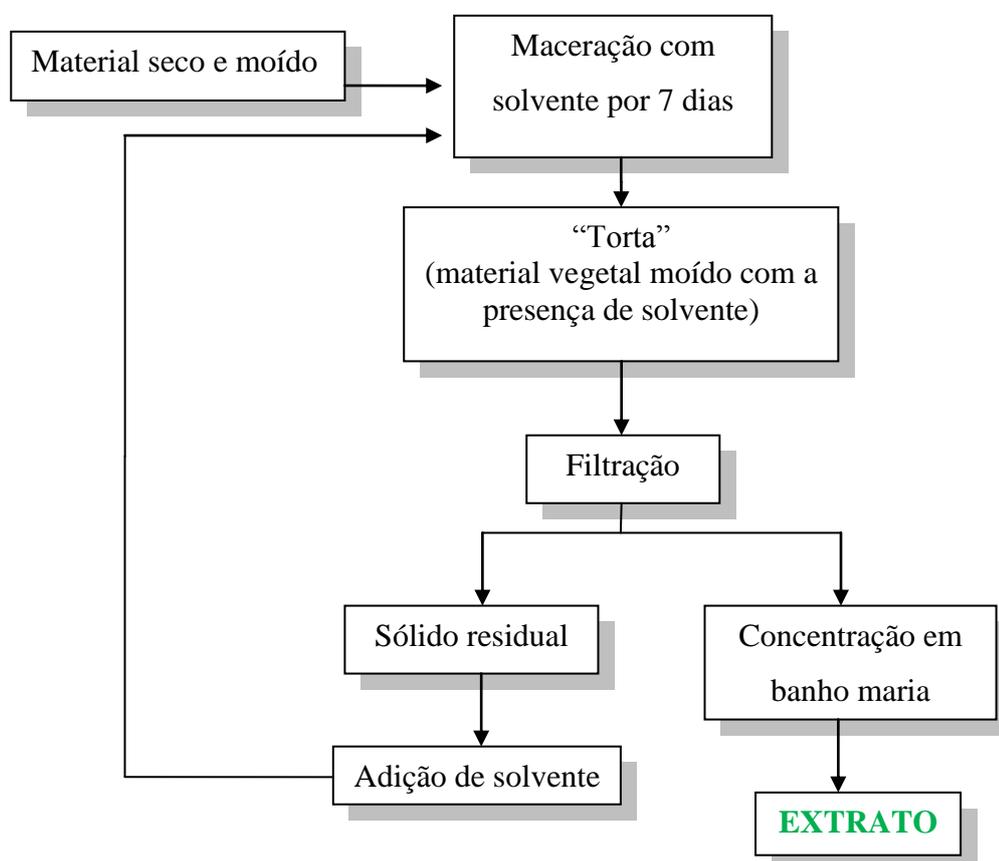
3.1. Coleta do material botânico

As folhas de *Costus spicatus* e *Jatropha multifida* foram coletadas em residências da cidade de Anápolis (segundo as coordenadas [S 16.36301° x O 48.91306°] e [S 16.32174° x O 48.93812°] respectivamente), com o auxílio de facas para extrair o material vegetal e sacos plásticos para o transporte dos mesmos. A identificação do material botânico foi feita a partir de comparação com dados existentes na literatura.

3.2. Obtenção dos extratos brutos

Após a coleta do material vegetal, as folhas foram secas em temperatura ambiente e posteriormente trituradas em moinho de facas tipo Willey. Depois de pulverizadas, as amostras foram pesadas e colocadas em erlenmeyers com álcool etílico 96% por sete dias. Repetidas vezes, obedecendo ao intervalo de sete dias, foi realizada a filtração do concentrado e adição de mais álcool etílico. Após este período foi realizada evaporação do solvente em banho Maria a temperatura de aproximadamente 40°C.

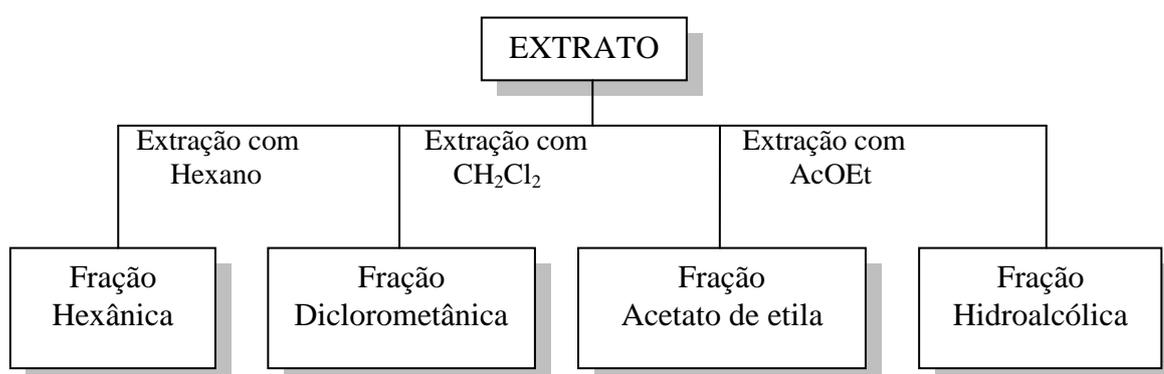
Figura 3.2. Obtenção dos extratos brutos.



3.3. Fracionamento dos Extratos e Obtenção das Frações

Os extratos etanólicos foram fracionados através de partição líquido-líquido, utilizando-se solventes em ordem crescente de polaridade: hexano, diclorometano e acetato de etila. Após o fracionamento, os solventes foram evaporados em temperatura ambiente, originando as frações hexânica, diclorometânica, em acetato de etila e hidroalcolólica (Figura 3.3.1).

Figura 3.3.1. Fracionamento do extrato bruto.



3.4. Preparação das amostras e ensaio de Letalidade de *Artemia salina* Leach

Os ensaios de letalidade de *Artemia salina* foram realizados no Laboratório de Microbiologia do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás - Câmpus Anápolis (IFG), de acordo com a técnica descrita por Meyer et al. 1982, com algumas adaptações.

Na realização dos ensaios foram utilizados água destilada e sal marinho para a preparação de uma solução salina de concentração igual a 40g/L. Também foram adicionados cerca de 0.0006 g de extrato de levedura. Foram preparados dois litros de solução salina, sendo que um litro foi utilizado para a eclosão das larvas de *A. salina* e um litro para a renovação da água após a eclosão.

A solução salina foi levada em autoclave. Após o esfriamento da solução, 100 mg de ovos de *Artemia salina* foram colocados para eclodir em um kitassato com bomba de oxigênio por um período de 36 horas em uma capela com temperatura ambiente, sob luz de 100 W.

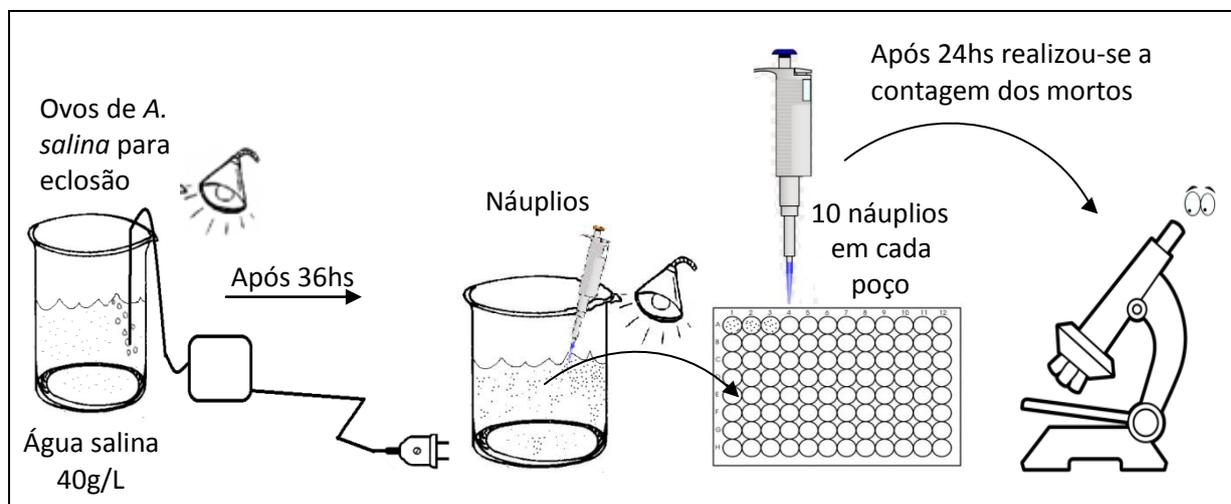
Após este período, os náuplios foram coletados do kitassato para um bécker com o

auxílio de uma pipeta. Uma nova solução salina foi adicionada para a renovação dos nutrientes. Para a realização dos ensaios, 10 náuplios de *A. salina* foram transferidos com uma micropipeta para a placa de Elisa (96 poços). Ao final da transferência, cada poço possuía 10 náuplios em 100 μL de solução salina.

Os extratos (0,01g) foram solubilizados em 0,3 mL de DMSO e em seguida foram acrescentados 9,7 mL de solução salina. Os extratos foram preparados em cinco concentrações diferentes: 1000 $\mu\text{g. mL}^{-1}$, 500 $\mu\text{g. mL}^{-1}$, 250 $\mu\text{g. mL}^{-1}$, 125 $\mu\text{g. mL}^{-1}$ e 62,5 $\mu\text{g. mL}^{-1}$. Os testes foram realizados em triplicatas e também verificou-se o comportamento dos náuplios frente ao branco (DMSO e solução salina) e ao dicromato de potássio ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) utilizado como controle.

Foram pipetados 100 μL dos extratos diluídos para cada poço que continha os 10 náuplios de *A. salina*. Em seguida, a placa foi tampada e deixada em temperatura ambiente por 24 horas. Após esse período, a placa foi analisada utilizando um microscópio para registrar a quantidade de náuplios mortos e vivos em cada poço (Figura 3.4.1)

Figura 3.4.1. Esquema de preparação e eclosão dos ovos de *Artemia*.



Fonte: própria do autor

3.5. Prospecção Fitoquímica

Foram realizados testes de prospecção fitoquímica de acordo com a metodologia descrita por Barbosa (2001) a fim de identificar os seguintes compostos: saponinas (saponina espumídica e saponina hemolítica), açúcares redutores, polissacarídios, catequinas, esteroides

e triterpenóides, carotenoides, depsídios e depsidonas, derivados da cumarina, antraquinonas, fenóis e taninos, flavonoides, flavonóis, flavonas, flavanonóis, xantonas e purinas.

3.5.1. Preparação dos reativos

Reativo de BOUCHARDAT: dissolveu-se 2 g de iodeto de potássio e 1 g de iodo ressublimado em 50 mL de água destilada.

Reativo de DRAGENDORFF:

Solução A: dissolveu-se 8 g de subnitrato de bismuto ($\text{BiONO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$) em 20 mL de ácido acético.

Solução B: dissolveu-se 27,2 g de iodeto de potássio (KI) em 50 mL de água destilada. Adicionou-se aos poucos a solução A sobre a solução B.

Reativo de MAYER:

Solução A: dissolveu-se 1,36 g de cloreto mercúrico (HgCl_2) em 60 mL de água destilada.

Solução B: dissolveu-se 5 g de iodeto de potássio (KI) em 20 mL de água destilada. As soluções A e B foram misturadas e diluídas para 100mL de solução.

Reativo de PASCOVÁ:

Solução A: dissolveu-se em 100 mL de etanol 0,075 g de verde de bromocresol e 0,25 g de azul de bromofenol.

Solução B: dissolveu-se em 100 mL de água destilada, 0,25 g permanganato de potássio (KMnO_4) e 0,25 g de carbonato de sódio ($\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$). Misturou-se 9 partes de A para 1 parte de B, no momento de usar.

Reativo de FEHLING:

Solução A: dissolveu-se 6,93 g de sulfato de cobre (CuSO_4) em água destilada e completar o volume para 100 mL.

Solução B: dissolveu-se 34,6 g de tartarato de sódio e potássio ($\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) e 25g de hidróxido de potássio (KOH) em água destilada e diluiu para 100 mL. Utilizou-se na proporção de 2 mL de A, para 2 mL de B.

LUGOL:

Dissolveu-se 10 g de iodeto de potássio (KI) e 5 g de iodo em 50 mL de água destilada e completou-se o volume para 100 mL.

3.5.2. Testes

Saponinas espumídica: dissolveu-se 10 mg do extrato alcoólico seco em 5 mL de água destilada. Em seguida, diluiu-se para 15 mL e agitou-se vigorosamente durante 2 min em tubo fechado.

Resultado: se a camada de espuma permanecer estável por mais de meia hora, o resultado é considerado positivo para saponina espumídica.

Ácidos orgânicos

Dissolveu-se 10 miligramas do extrato seco em 5 mL de água destilada. Filtrou-se e em seguida, transferiu-se 2 mL para um tubo de ensaio e adicionar gotas do reativo de Pascová.

Resultado: descoloração do reativo, a reação é positiva.

Açúcares redutores

Técnica: dissolve-se 10 miligramas do extrato seco em 5 mL de água destilada. Filtrou-se. Adicionou-se 2 mL do reativo de Fehling A e 2 mL do reativo de Fehling B. Aqueceu-se em banho-maria em ebulição durante 5 min.

Resultado: o aparecimento de um precipitado vermelho tijolo, indica presença de açúcares redutores.

Polissacarídios

Dissolveu-se 10 miligramas do extrato seco em 5 mL de água destilada. Filtrou-se e adicionou-se duas gotas de lugol.

Resultado: o aparecimento de coloração azul, indica resultado positivo.

Fenois e taninos

Dissolveu-se 10 miligramas de extrato seco em 5 mL de água destilada, filtrou-se e adicionar 2 gotas de solução alcoólica de FeCl_3 a 1%.

Resultado: qualquer mudança na coloração ou formação de precipitado é indicativo de reação positiva, quando comparado com o teste em branco (água + solução de FeCl_3). 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, indica presença de taninos pirogálicos (taninos hidrolisáveis) e verde, presença de taninos catéquicos.

Flavonoides

Geral: dissolveu-se 10 miligramas do extrato seco, em 10mL de metanol. Adicionou-se 5 gotas de HCl concentrado e raspas de magnésio.

Resultado: o surgimento de uma coloração rósea na solução indica reação positiva.

Alcaloides

Dissolveu-se 10 miligramas do extrato seco em 5 mL de solução de HCl a 5%. Em seguida, separou-se quatro porções de 1 mL em tubos de ensaio e adicionou-se gotas dos reativos abaixo:

Reativo de Bouchardat, resultado: precipitado laranja avermelhado

Reativo de Dragendorff, resultado: precipitado vermelho tijolo

Reativo de Mayer, resultado: precipitado branco

Catequinas

Técnica: Dissolveu-se 10 miligramas do extrato seco em 3 mL de metanol. Acrescentou-se 1 mL de solução aquosa de vanilina a 1% e 1 mL de HCl concentrado.

Resultado: o surgimento de uma coloração vermelha intensa indica reação positiva.

Antraquinonas

Técnica: dissolveu-se 10 miligramas do extrato seco em 5 mL de tolueno. Adicionou-se 2 mL de solução de NH_4OH a 10%, agitou-se suavemente.

Resultado: o aparecimento de coloração rósea, vermelha ou violeta na fase aquosa, indica reação positiva.

Depsídios e depsidonas

Dissolveu-se 10 miligramas do extrato seco em 5 mL de éter etílico. Evaporou-se todo o éter em banho-maria juntou-se ao resíduo 3mL de metanol. Agitou-se e adicionou-se 3 gotas de solução de FeCl_3 a 1%.

Resultado: o aparecimento de coloração verde, azul ou cinza, indica reação positiva.

Flavonas, Flavonóis e Xantonas

Dissolveu-se alguns miligramas do extrato seco em 20 mL de água destilada. Transferiu-se para três tubos de ensaio, 3 mL da solução (para cada tubo). Acidulou-se um a pH 3, alcalinizou-se os dois restantes a pH 8,5 e pH 11.

Resultado: o aparecimento de coloração amarela indica reação positiva.

4. RESULTADOS

4.1. Resultados da extração

Os extratos brutos etanólicos das folhas de *Costus spicatus* e *Jatropha multifida* foram obtidos de acordo com o procedimento 3.2. A Tabela 4.1.1 apresenta as quantidades obtidas dos extratos brutos.

Tabela 4.1.1. Massa de material vegetal e quantidade de extrato obtido das folhas de *Costus spicatus* e *Jatropha multifida*.

Material Vegetal Seco	Código	Massa do material seco e moído (g)	Massa de extrato obtida (g)
<i>Costus spicatus</i>	CSFE	182,92	29,74
<i>Jatropha multifida</i>	JMFE	127,16	12,61

C = Costus; S = spicatus; J = Jatropha; M=Multifida; F = Folha; E = Etanol;

4.2. Resultados do fracionamento dos extratos brutos através da partição líquido-líquido

A Tabela 4.2.1 apresenta o rendimento das frações hexânicas, diclorometânicas, em acetato de etila e hidroalcoólicas das folhas de *Costus spicatus* e *Jatropha multifida* obtidas através da partição líquido-líquido.

Tabela 4.2.1. Massa das frações obtidas da partição líquido-líquido dos extratos brutos de *Costus Spicatus* e *Jatropha multifida*.

Extrato (g)	Solvente	Código	Massa das frações obtidas (g)
<i>Costus spicatus</i> (29,74)	Hexano	CSFE-H	6,56
	Diclorometano	CSFE-D	5,85
	Acetato de etila	CSFE-AE	1,13
<i>Jatropha multifida</i> (12,61)	Hexano	JMFE-H	2,6
	Diclorometano	JMFE-D	1,49
	Acetato de etila	JMFE-AE	1,12

C=Costus; S=spicatus; J=Jatropha; M=multifida; F=Folha; E=Etanol; H=Hexano; D=Diclorometano; AE=Acetato de etila; W=Água.

4.3. Avaliação da atividade tóxica de extratos e frações de *Costus spicatus* e *Jatropha multifida*

Os ensaios de toxicidade frente à *Artemia salina* foram realizados com os extratos brutos (CSFE e JMFE) e com as frações em acetato de etila das duas plantas (CSFE-AE e JMFE-AE). Uma vez que os testes foram realizados em meio polar, as frações diclorometânica e hexânica não contribuía para uma diluição favorável à realização dos testes. A Tabela 4.3.1 apresenta a contagem de *A. salina* morta após exposição aos extratos das plantas, nota-se que todas as amostras tendem a apresentarem uma $DL_{50} > 1000 \mu\text{g. mL}^{-1}$.

Tabela 4.3.1. Contagem de *A. salina* mortas após 24h de exposição ao extrato aquoso de *Costus spicatus* e *Jatropha multifida*.

	Concentração do extrato	Quantidade de <i>A. salina</i> expostos		Quantidade de <i>A. salina</i> mortas	
		Extrato Bruto	Acetato de Etila	Extrato Bruto	Acetato de Etila
<i>Costus spicatus</i>	1000 $\mu\text{g/ mL}$	30	30	4	4
	500 $\mu\text{g/ mL}$	30	30	2	3
	250 $\mu\text{g/mL}$	30	30	2	0
	125 $\mu\text{g/mL}$	30	30	2	1
	62,5 $\mu\text{g/mL}$	30	30	3	1
	Controle	30	30	30	30
	Branco	30	30	0	0
<i>Jatropha multifida</i>	1000 $\mu\text{g/mL}$	30	30	1	1
	500 $\mu\text{g/mL}$	30	30	5	1
	250 $\mu\text{g/mL}$	30	30	3	1
	125 $\mu\text{g/mL}$	30	30	1	2
	62,5 $\mu\text{g/mL}$	30	30	1	1
	Controle	30	30	30	30
	Branco	30	30	0	0

Como a quantidade de náuplios mortos foram valores muito baixos, não foi possível a realização do cálculo da DL_{50} pelo PROBIT. No entanto, de acordo com Westerlon (2006) quando isso ocorre, considera-se os valores da $DL_{50} > 1000 \mu\text{g. mL}^{-1}$.

De acordo com Meyer *et al.* (1982) são consideradas atóxicas as amostras que apresentam $DL_{50} > 1000 \mu\text{g. mL}^{-1}$ e tóxicas as que apresentam $DL_{50} < 1000 \mu\text{g. mL}^{-1}$. Como

todas as amostras testadas apresentaram um $DL_{50} > 1000 \mu\text{g. mL}^{-1}$, elas podem ser consideradas atóxicas frente às larvas de *Artemia salina* Leach.

Segundo Mclaughlin (1998), quanto menor o valor de DL_{50} , mais tóxico é a amostra analisada frente a este microcrustáceo, o que sugere maior potencial antitumoral.

Não houve morte de nenhuma *A. salina* no teste BRANCO o que comprova que o solvente utilizado é inofensivo ao microcrustáceo e as mortes provavelmente resultaram da ação dos extratos aquosos de *Costus spicatus* e *Jatropha multifida* (CSFE, CSFE-AE, JMFE e JMFE-AE).

Conforme Ramos et al. (2007) o teste com *A. salina* é utilizado para indicar o potencial citotóxico de extratos e substâncias quando os resultados apresentam alta letalidade.

Assim, as amostras testadas resultaram em atóxicas, o motivo que corrobora a observação dessa baixa toxicidade pode ser o fato de estas plantas serem comumente utilizadas como produtos medicinais alternativos pelos populares. Essa atoxicidade também está confirmada em trabalhos acadêmicos, como o de Hirota (2011), que após analisar a espécie de *Jatropha multifida* afirmou sua atoxicidade nas folhas.

4.4. Identificação da presença de metabólitos secundários

Os testes de identificação da presença de metabólitos secundários foram realizados com os dois extratos brutos (CSFE e JMFE) e com algumas frações segundo apresentação da Tabela 4.4.1.

Tabela 4.4.1. Classe de metabólitos presentes nas espécies de *Costus spicatus* e *Jatropha multifida*.

Grupo Químico	<i>Costus spicatus</i>				<i>Jatropha multifida</i>			
	Extrato Bruto	Hexâno	Dicloro-metano	Acetato de Etila	Extrato Bruto	Hexâno	Dicloro-metano	Acetato de Etila
Saponina espumídica	+	-	-	+	+	-	+	-
Ácidos orgânicos	-	-	-	-	-	-	-	-
Açúcares redutores	-	NR	NR	NR	-	NR	NR	NR
Polissacarídios	-	NR	NR	-	-	NR	NR	-
Catequinas	-	NR	NR	-	-	NR	NR	-
Taninos catéquicos	+	NR	NR	+	-	NR	NR	-

Flavonoides	-	-	-	-	-	-	-	NR
Alcaloides	+	NR	NR	+	+	NR	+	NR
Flavonas, Flavonóis e Xantonas	+	NR	NR	+	-	NR	NR	-
Catequinas	-	NR	NR	-	-	NR	NR	-
Depsídios e depsidonas	+	+	+	+	+	+	+	+
Antraquinonas	-	-	-	-	-	-	-	NR

(-) Indica AMOSTRA NEGATIVA; (+) Indica AMOSTRA POSITIVA; NR=Teste não realizado.

Os extratos e frações das folhas de *Costus spicatus* e *Jatropha multifida* indicaram a presença de diferentes grupos químicos. Os resultados apresentados na Tabela 4.4.1 para *Costus spicatus*, corroboram em partes com o trabalho desenvolvido por Paes (2013), onde a presença de saponina espumídica, alcaloides (Figura 4.4.1) e taninos foram confirmados.

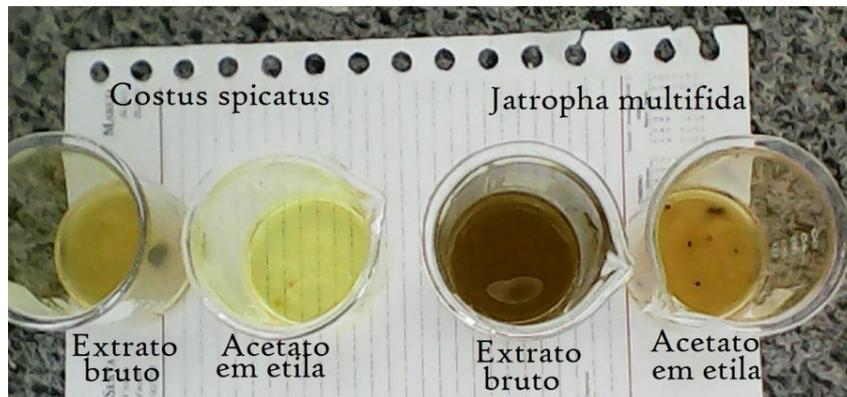
Figura 4.4.1 Teste de identificação de alcaloide.



Fonte: própria do autor

Embora o resultado para presença de flavonóis (Figura 4.4.2) esteja diferente do descrito por Paes (2013), a presença desta classe de metabólitos corrobora o trabalho de Silva (2000), que relata a identificação de flavonóis a partir das folhas de *Costus spicatus*. Conforme a Tabela 4.4.1, a espécie de *Jatropha multifida* revelou-se negativa para o teste da classe de flavonas, flavonóis e xantonas uma vez que em meio alcalino (pH 11) não se obteve a coloração amarela.

Figura 4.4.2. Teste de identificação da classe de flavonas, flavonóis e xantonas.



Fonte: própria do autor

O teste de identificação de depsídeos e depsidonas foi o único teste realizado com todas as frações de *Costus spicatus* e *Jatropha multifida* uma vez que o solvente empregado para a identificação do mesmo era solúvel.

5. CONCLUSÃO

Os extratos brutos e as frações em acetato de etila de *Costus spicatus* e *Jatropha multifida* foram considerados atóxicos frente às larvas de *Artemia salina* Leach, apresentando $DL_{50} > 1000 \mu\text{g. mL}^{-1}$.

Dentre os testes fitoquímicos realizados para averiguação de metabólitos secundários, alguns grupos químicos detectados corroboraram com trabalhos científicos anteriormente elaborados.

Foram identificados no extrato bruto de *Costus spicatus* e *Jatropha multifida* a presença de saponinas espumídicas, alcaloides e depsídeos e depsídonas. As classes de flavonas, flavonóis e xantonas e taninos catéquicos foram identificadas apenas na espécie de *Costus spicatus*.

A fração acetato em etila de *Costus spicatus* confirmou a presença dos metabólitos acima encontrados ora no extrato bruto do mesmo, bem como a fração de acetato em etila de *Jatropha multifida* também teve confirmação recíproca.

Sendo assim, *Costus spicatus* e *Jatropha multifida* são plantas conhecidas popularmente e utilizadas como medicina alternativa por muitos populares. Com inúmeros relatos entre tantos artigos e trabalhos científicos, essas espécies não apresentam maiores complicações ao ser humano devido suas propriedades químicas e atoxicidades.

6. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- ALVIM, N.A.T. et al. **O uso de plantas medicinais como recurso terapêutico: das influências da formação profissional às implicações éticas e legais de sua aplicabilidade como extensão da prática de cuidar realizada pela enfermeira.** *Revista Latino-Americana de Enfermagem*, v. 14, n. 3, 2006.
- ARAÚJO, F.P.; OLIVEIRA, P.E. **Biologia floral de *Costus spiralis* (Jacq.) Roscoe (Costaceae) e mecanismos para evitar a autopolinização.** ARTIGO: *Revista Brasileira de Botânica*. vol.30, n.1, São Paulo Jan./Mar. 2007.
- BARBOSA, W. L. R. et al. **Manual para Análise Fitoquímica e Cromatográfica de Extratos Vegetais.** Edição revisada, Belém, 2001.
- BARROS, T. **Caféina e seus efeitos: melhora da tolerância ao exercício prolongado.** Disponível em: www.globoesporte.globo.com, acesso em 13/08/2015. *Revista Globo Esporte: Eu Atleta*. São Paulo, Maio 2013.
- BORRÁS, M.R.L. **Plantas da Amazônia: medicinais ou mágicas - Plantas comercializadas no mercado Adolpho Lisboa.** Manaus: Valer, 322p, 2003.
- BOORHEM, R.L. et al. **Reader's Digest – Segredos e Virtudes das Plantas Medicinais.** Reader's Digest Brasil Ltda., Rio de Janeiro, p.416, 1999.
- BRUNING, M. C. R.; MOSEGUI, G. B. G. VIANNA, C. M. de M. **A utilização da fitoterapia e de plantas medicinais em unidades básicas de saúde nos municípios de Cascavel e Foz do Iguaçu – Paraná: a visão dos profissionais de saúde.** *Revista Ciência e Saúde Coletiva – OPINIÃO*, p. 2675 – 2685. 2012.
- BUCH, D.R.; ARANTES, A.B.; CAMPELO, P.M.S. **Verificação da atividade cicatrizante do exudato de folhas de *Jatropha multifida* L.** *Pesquisa-Dermatologia. Ver.Bras.Farm.*, 89(2): p.142-145, 2008.

- CALA.A.C.**Avaliação da atividade de *Artemisia annu L.*, *Melia azedarach L.* e *Trichilia clausenii* sobre nematódeos gastrintestinais de ovinos.** Dissertação Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, São Paulo, 2010.
- CALIXTO, J.B. **Biodiversidade como fonte de medicamentos.** *Ciência a Cultura*. Vol. 55 n.3 São Paulo Jul/Set. 2003.
- CALIXTO, J. B. **Twenty-five years of research on medicinal plants in Latin America: a personal view.** *Journal of Ethnopharmacology*, v. 100, p. 131-134, 2005.
- CECHINEL FILHO, V. **Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade.** *Química Nova*; Ed.21. 1998.
- COSTA, M. P.; FRANÇA, S.C. et.al. **Crescimento e teor de emetina em plantas de Ipeca.** *Artigo Ciênc.Agrotec.*, Lavras, v.24, n.1, p.46-53, Jan./Mar.,2000.
- COSTA, M.S.; KIRALJ,R.; FERREIRA, M.M.C. **Estudo teórico da interação existente entre a artemisinina e o heme.** Instituto de Química: Universidade de Campinas – SP. *Química Nova*, vol.30, n.1, São Paulo Jan./Fev. 2007.
- CORREIA, C.R.D; OLIVEIRA, C.C. **A evolução da química orgânica sintética: Quo Vadis?.** *Ciênc. Cult.* [online], Vol.63, n.1, pp.33-36, 2011).
- FÁVERO, O. A.; PAVAN, S. **Botânica Econômica.** São Paulo: Catalise Editora, 1997.
- FIRMO, W.C.A. et al. **Contexto histórico, uso popular e concepção científica sobre plantas medicinais.** *Cad. Pesq.*, São Luís, v. 18, n. especial, dez. 2011.

- FILHO, V.C.; YUNES, R.A.. **Estratégias para obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade.** Química Nova, 1998.

-GALLINDO, J. **Jatropha Mollísima.** Disponível em: www.scielo.br/pdf/rbb/v28n2/a15v28n2.pdf . Acesso em: 10 de Outubro de 2015.

- GUERRA, M. P.; NODARI, R. O. **Biodiversidade: aspectos biológicos, geográficos, legais e éticos** In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMAN, G.; MELLO, J. C. P.; GLEASON, F.K. **Plant Biochemistry.** University of Minnesota. Jone & Bartlet press, p.248, 2011.

- HARADA, T.N. **Correlação entre os ensaios de citotoxicidade em *Artemia salina* Leach e atividade antineoplásica sobre linhagens de células tumorais para algumas classes de produtos naturais.** 2009. 92 f. Dissertação (Mestrado em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste) – Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2009.

- HIROTA, B.C.K. **Estudo fitoquímico e das propriedades biológicas de *Jatropha multifida* L. (Euphorbiaceae).** Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas) Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná. Cuitiba, 2011.

- HOSTETTMANN, K.; QUEIROZ, E. F.; VIEIRA, P. C. **Princípios ativos de plantas.** São Carlos: EDUFSCAR, 2003.

- JOLY, A.B. Botânica: **Introdução à taxonomia vegetal.** 7. ed. São Paulo: Ed. Nacional, 1985.

- KAWA, L. **Química, Meio Ambiente e Edificações.** <http://professoralucianekawa.blogspot.com.br/2014/06/costus-spp-cana-do-brejo.html>. Disponível em: 10 de Junho de 2014. Acesso em: 24 de Novembro de 2014.

- KAUFMAN P.B.; CSEKE, L.J.; DUKE, J.A. BRIELMANN, H.L. **Natural products from plants**. London New York: CRC Press, p. 632, 1998.
- KAUFMAN, P. B.; CSEKE, L. J.; WARBER, S.; DUKE, J. A.; BRIELMANN, H. L. **Natural products from plants**. Boca Raton: CRC Press, FL, 1999.
- LAGOS, A.R.; MULLER, B.L.A. **Hotspot brasileiro: Mata Atlântica**. Saúde e Ambiente em Revista, Duque de Caxias, v.2, n.2, p.35-45, jul-dez 2007.
- LEAL, C.K.A.; AGRA, M.F. **Estudo farmacobotânico das folhas de *Jatropha molíssima* (Pohl) Baill e *Jatropha ribifolia* (Pohl) Baill**. Ata Farmacêutica Bonaerense, v.24, n.1, p. 5-13, 2005.
- LEVIN, Y., et al. **Rare *Jatropha multifida* intoxication in two children**. Selected Topics: Toxicology, n.19, p. 173-175, 2000.
- LHULLIER, C.; HORTA, P.A.; FALKENBERG, M. **Avaliação de extratos de macroalgas bênticas do litoral catarinense utilizando o teste de letalidade para *Artemia salina***. Revista Brasileira de Farmacognosia, v.16, n.2, p.158-63, 2006.
- LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas Medicinais no Brasil Nativas e Exóticas**. Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda. 2.ed. Nova Odessa, São Paulo. 2008.
- MARTINS, M.B.G. et al. **Caracterização anatômica e fitoquímica de folhas e rizomas de *Hedychium coronarium* J. Koining (Zingiberaceae)**.Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, v.12, n.2, p.179-187, 2010.
- MCLAUGHLIN JL, ROGERS LL, ANDERSON JE. **The Use of Biological Assays to Evaluate Botanicals**, Drug Information Journal 32: 513-524. 1998

- MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos**. Brasília-DF, 2006.

- MEYER, J.Y. **Observations on the reproductive biology of *Miconia calvescens* DC (Melastomataceae), an alien invasive tree on the Island of Tahiti (South Pacific Ocean)**. *Biotropica*, 30: 609-624, 1998.

- MELLO, J. P. C.; Santos, S. C. **Em Farmacognosia: da planta ao medicamento**; Simões, C. M. O.; Schenckel, E. P., orgs.; Ed. UFSC: Porto Alegre; 3ª ed., 2001.

- MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5.ed. Porto Alegre: UFRGS, 2003.

- MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. **Biodiversidade**. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br>>, Acesso em: 23 jun. 2014.

- Molina Rosito, A. **Enumeración de las plantas de Honduras**. *Ceiba* 19(1): 1–118, 1975.

- NASCIMENTO, J. E.; MELO A. F. M.; LIMA, T. C.; VERAS FILHO, J.; SANTOS, E. M.; ALBUQUERQUE, U. P.; AMORIM, E. L .C. **Estudo fitoquímico e bioensaio toxicológico frente a larvas de *Artemia salina* Leach. de três espécies medicinais do gênero *Phyllanthus* (Phyllanthaceae)**. *Rev. Ciênc. Farm. Básica*, v. 29 (2): 145-150, 2008

- NEWMAN, D.J; CRAGG, G.M. **Natural Products as Sources of New Drugs over the 30 Years from 1981 to 2010**. National Cancer Institute-Frederick, P. O. Box B, Frederick, MD. NIH Public Access. July 24, 2013.

- NELSON, D.L.; COX, M.M. **Lehninger Princípios de Bioquímica**. São Paulo: Servier, 2002.

- PAES, L.S.; Mendonça, M. S.; Casas, L.L. **Aspectos Estruturais e Fitoquímicos de partes vegetativas de *Costus spicatus***. *Revista Brasileira de Plantas Medicinai*s. Vol. 15, N.3, Botucatu, 2013.

- PILON, A. C., CARNEVALE NETO, F., QUEIROZ, M. M. F., LOPES, M. N., SILVA, D. H. S., BOLZANI, V. S., CASTRO-GAMBOA, I. **Desreplicação das espécies *Jatropha multifida* e *Jatropha gossypifolia* (Euphorbiaceae)** In: 33a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Águas de Lindóia, 2010.

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

- RAMOS, Diovany Doffinger; CARDOSO, Claudia Andréa Lima; YAMAMOTO, Natanael Takeo. **Avaliação do potencial citotóxico e atividade antioxidante em *Campomanesia adamantium* (Cambess.) O.Berg (Myrtaceae).** Revista Brasileira de Biociências, Porto Alegre, v. 5, supl. 2, p. 774-776, jul. 2007.

- RAHMAN, A.; CHOUDHARY, M.I.; THOMSON, W. J. **Bioassay techniques for drug development.** Harwood academic publishers, 2001.

- SAMLIPTO, K.; et al. **Multifidol and multifiol glucoside from the látex of *Jatropha multifida*.** Phytochemistry, v.28, n.9, p.2439-2441, 1989.

- SANTOS, R.I. **Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários.** In: SIMÕES, C.M.O. et al. (Org). *Farmacognosia: da planta ao medicamento.* 5.ed., rev. ampl. Florianópolis:Ed. da UFSC; Porto Alegre: Ed. da UFRGS, p. 403-434, 2004.

- SÁTIRO, L.N.; ROQUE, N. **A família Euphorbiaceae nas caatingas arenosas do médio rio São Francisco, BA.** Artigo Scielo. Maio 2007.

- SMITH, L.B.; DOWNS, R. S.; KLEIN, R.M. **Flora Ilustrada Catarinense.** Itajaí, p.265-266, 1988.

- SILVA, B. P.; BERNARDO, R. R.; PARENTE, J. P. **Flavonol glycosides from *Costus spicatus*.** Phytochemistry, v.53, p.87 – 92, 2000.

- SILVA, M. C.; CARVALHO, J. C. T. Plantas Medicinais: In: J. C. T. Carvalho, Fitoterápicos. **Antiinflamatórios. Aspectos químicos, farmacológicos e aplicações terapêuticas.** Tecmedd, Ribeirão Preto, SP, p.480, 2004.

- SOARES, L.C. **Biologia e Biodiversidade.** CESUMAR: Centro Universitário de Maringá. Gestão Ambiental. Maringá-PR, 2012.

- SOUSA, F. C.; MELO, C. T. V.; CITÓ, M. C. O.; CAVALCANTE, F. H.; VASCONCELOS, S. M. M.; FONTELES, M. M. F.; VIANA, G. S. S. **Plantas medicinais e seus constituintes bioativos: Uma revisão da bioatividade e potenciais benefícios nos distúrbios da ansiedade em modelos animais.** Brazilian Journal of Pharmacognosy, v.18, p. 642-654, 2008.

- SOUZA FILHO, A. P. S.; ALVES, S. M. **Alelopatia: princípios básicos e aspectos gerais.** Belém: Embrapa Amazônia Oriental, p. 260, 2002.

- STANTON, M.A. **Respostas a herbivoria em *Asclepias curassavica* (Apocynaceae: Asclepiadoideae): defender, crescer ou reproduzir.** Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo, 2008.

- STEVENSON, D.W.M. & STEVENSON, J.W. **Costaceae (*Costus* Family).** In Flowering Plants of The Neotropics. Princeton University Press, Princeton, p.429-431, 2004.

- SPECHT, C.D; STEVENSON, W. **A new phylogeny-based generic classification of Costaceae (Zingiberales).** Taxon, v.55, n.1, p.153-163, 2006.

- WILLIAMS, C.A.; HARBORNE, J.B. **The leaf flavonoids of the Zingiberales.** Biochemical Systematics and Ecology, v.5, p.221-9, 1977.

- WEBSTER, G. L. Synopsis of the genera and suprageneric taxa of Euphorbiaceae. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 81, p. 33-144, 1994.

- WESTERLON, R. **Análise fitoquímica, avaliações de bioatividade in vitro e in vivo de *Raulinoa echinata***. Dissertação (Centro de Ciências da Saúde. Universidade do Vale do Itajaí, Itajaí - SC, Jun/2006.

- VALLE, L. T. **Utilização de espécies selvagens no melhoramento de mandioca: passado, presente e futuro**. In: HERSHEY, C. H., Ed. Mejoramiento genético de La yuca en América Latina. Cali: Colombia, p. 163-176, 1991.

- VAN DEN BERG, M.E. **Plantas Medicinais na Amazônia – Contribuição ao seu conhecimento sistemático**. Museo P. Emílio Goeldi, Belém. 1993.

- VIEGAS JUNIOR, Cláudio. **Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos**. Quím. Nova. v. 26, n.3, p. 390-400. 2003.

- YUNES, R. A.; CECHINEL FILHO, V. **Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna**; 1a ed.; Ed. Argos: Chapecó, 2001, Química Nova, 24, p.147, 2001.