



UEPB

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS I
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

WALDIR MIRANDA DOS SANTOS

**PROSPECÇÃO QUÍMICA E FARMACOLÓGICA DO EXTRATO OBTIDO DAS
FOLHAS DE *Pseudobombax simplicifolium* A. ROBYNS (MALVACEAE)**

**CAMPINA GRANDE
2020**

WALDIR MIRANDA DOS SANTOS

**PROSPECÇÃO QUÍMICA E FARMACOLÓGICA DO EXTRATO OBTIDO DAS
FOLHAS DE *Pseudobombax simplicifolium* A. ROBYNS (MALVACEAE)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Química.

Área de concentração: Química Orgânica.

Orientador: Profa. Dra. Maria da Conceição de Menezes Torres.

**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.

S237p Santos, Waldir Miranda dos.
Prospecção química e farmacológica do extrato obtido das
folhas de *Pseudobombax simplicifolium* A. Robyns
(Malvaceae) [manuscrito] / Waldir Miranda dos Santos. - 2020.
65 p.
Digitado.
Dissertação (Mestrado em Química - Mestrado) -
Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências e
Tecnologia, 2020.
"Orientação : Profa. Dra. Maria da Conceição de Menezes
Torres, Departamento de Química - CCT."
1. Atividade antioxidante. 2. Atividade biológica. 3.
Química orgânica. 4. Imbiruçu. I. Título
21. ed. CDD 615.321

WALDIR MIRANDA DOS SANTOS

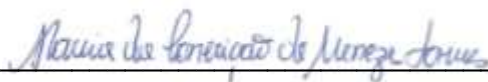
**PROSPECÇÃO QUÍMICA E FARMACOLÓGICA DO EXTRATO OBTIDO DAS
FOLHAS DE *Pseudobombax simplicifolium* A. ROBYNS (MALVACEAE)**

Trabalho de Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Química
da Universidade Estadual da Paraíba,
como requisito parcial à obtenção do título
de mestre em Química.

Área de concentração: Química Orgânica.

Aprovada em: 28 /08/2020.

BANCA EXAMINADORA



Profa. Dra. Maria da Conceição de Menezes Torres (Orientador)
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Profa.Dra.Yanna Carolina Ferreira Teles
Universidade Federal da Paraíba (UFPB)



Profa. Dra. Jacqueline do Carmo Barreto
Universidade Federal de Campina Grande - PB (UFCG)

Aos meus pais, Maria José e Antônio Miranda ((*in memoriam*)). A minha esposa Jassiara Lima. A minha filha Sarah Emanuely.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, que é minha fortaleza, minha proteção, minha energia e o detentor de minha vida;

Ao meu pai Antônio Miranda dos Santos (*in memoriam*).

A mulher mais aguerrida de minhas lutas (mãe Lica) Maria José Alexandre dos Santos, que trabalha incansavelmente para poder apoiar e lutar nas situações mais adversas comigo. Ela é a responsável pelo meu sucesso no palco da vida;

A minha amiga, companheira das noites de estudo, das horas de desânimo, quando penso em desistir, a minha querida esposa Jassiara de Lima Silva;

De modo particular a minha orientadora, a pessoa que acredita no potencial de seus alunos, a Profa. Dra. Maria da Conceição de Menezes Torres.

A todos os Professores do Mestrado em Química da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), aos quais acompanharam e colaboraram com minha formação acadêmica e a todas as pessoas que de forma direta e indireta contribuíram e participaram desta etapa de minha vida.

Ao laboratório de Fitoquímica (LAFIT), Laboratório Multiusuário de Caracterização e Análise – LMCA da UFPB.

A professora Márcia Vanusa da Silva, do Departamento de Bioquímica no Centro de Biociências da Universidade Federal do Pernambuco, pela coleta do material e realização das atividades biológicas.

Ao Laboratório de Certificação em Biomateriais (Certbio), da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), em especial ao Filipe Rodrigues (Mestrando), pela realização das análises de infravermelho.

Ao Instituto Nacional do Semiárido (INSA), pela realização das análises no rotaevaporador do tipo rocket.

Ao professor Harley da Silva Alves, do Departamento de Farmácia-CCBS da Universidade Estadual da Paraíba, pela colaboração e orientação nas análises fitoquímicas.

À professora Ana Claudia Dantas de Medeiros, do Departamento de Farmácia-CCBS da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), pela colaboração no teste da granulometria.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) e ao Programa de pós-graduação em Química – PPGQ – UEPB.

“Cada pessoa deve trabalhar para o seu aperfeiçoamento e, ao mesmo tempo, participar da responsabilidade coletiva por toda a humanidade.” — Marie Curie

RESUMO

As plantas do gênero *Pseudobombax*, pertencentes à família Malvaceae, tem ampla aplicação na medicina popular e são conhecidas pelas suas atividades anti-inflamatórias, antinociceptivas, antioxidantes, antimicrobianas e anticâncer. O presente estudo teve como objetivo investigar as características físico-químicas, a composição química e a atividade biológica de *Pseudobombax simplicifolium* A. Robyns, uma espécie com indicação de uso medicinal popular. Inicialmente a droga vegetal (folhas) de *P. simplicifolium* (DVF-PS) foi submetida a teste de caracterização físico-química utilizando métodos oficiais (granulometria, umidade, cinzas, pH e densidade). O extrato hidroalcólico das folhas de *P. simplicifolium* (EHF-PS) foi submetido à análise fitoquímica qualitativa e quantitativa, e também a avaliação das atividades antioxidante e antimicrobiana. DVF-PS apresentou granulometria, umidade, cinzas, pH e densidade que estão de acordo com os dados preconizados na Farmacopeia Brasileira. O *screening* fitoquímico e a análise quantitativa mostrou a presença de alcalóides, esteróides e triterpenos e resultado positivo fraco para presença de flavonóides no extrato de *P. simplicifolium*; A investigação química do extrato hidroalcólico das folhas foi realizada utilizando técnicas clássicas de cromatografias como: cromatografia em coluna (CC) e cromatografia em camada delgada analítica (CCDA), e resultou no isolamento de duas substâncias codificadas de PSF-01 e PSF-02. As estruturas das substâncias foram elucidadas com base nos dados de Ressonância Magnética nuclear - RMN de ^1H e de ^{13}C . A análise dos dados de RMN de ^1H e de ^{13}C em comparação com dados da literatura permitiram identificar as substâncias PSF-01 e PSF-02 como sendo os triterpenos lupeol e betulina, respectivamente. Na avaliação do potencial antioxidante o EHF-PS se mostrou ativo para os métodos testados (DPPH, ABTS) e mostrou-se inativo frente o método CAT. Entre os métodos avaliados, a melhor atividade antioxidante do extrato se deu para DPPH e ABTS frente ao padrão trolox. O EHF-PS não exibiu atividade antimicrobiana frente à cepa de *Stafhylococcus aureus* indicando a possibilidade de testes com outras cepas.

Palavras-Chave: Imbiruçu, *P. simplicifolium*, Estudo Fitoquímico, Atividade antioxidante

ABSTRACT

Plants of the genus *Pseudobombax*, belonging to the Malvaceae family, have wide application in folk medicine and are known for their anti-inflammatory, antinociceptive, antioxidant, antimicrobial and anticancer activities. The present study aimed to investigate the physical-chemical characteristics, the chemical composition and the biological activity of *Pseudobombax simplicifolium* A. Robyns, a species with indication for popular medicinal use. Initially, the plant drug from the leaves of *P. simplicifolium* (DVF-PS) was subjected to a physical-chemical characterization test using official methods (particle size, moisture, ash, pH and density). The hydroalcoholic extract of the leaves of *P. simplicifolium* (EHF-PS) was submitted to qualitative and quantitative phytochemical analysis, as well as the evaluation of antioxidant and antimicrobial activities. The vegetable drug from the leaves showed granulometry, moisture, ash, pH and density, which are in accordance with the data recommended in the Brazilian Pharmacopeia. Such characteristics confirmed the preliminary analyzes of sizing, ash content and moisture. Phytochemical screening showed positive results for alkaloids, steroids and triterpenes. Quantitative analysis for steroids, triterpenes showed a high percentage and a low percentage for flavonoids attested the presence of these classes of metabolites in the extract of *P. simplicifolium*; The chemical investigation of the hydroalcoholic extract of the leaves was carried out using classical chromatography techniques such as: column chromatography (CC) and analytical thin layer chromatography (CCDA), and resulted in the isolation of two substances coded for PSF-01 and PSF-02. The structures of the substances were elucidated based on the data of nuclear Magnetic Resonance - ^1H and ^{13}C NMR. The analysis of ^1H and ^{13}C NMR data compared to data in the literature allowed the identification of the substances PSF-01 and PSF-02 as the triterpenes lupeol and betulin, respectively. The EHF-PS extract proved to be active for the tested methods (DPPH, ABTS) and was inactive compared to the CAT method. Among the evaluated methods, the best antioxidant activity of the extracts was for DPPH and ABTS compared to the trolox standard, however, did not exhibit antimicrobial activity against the *Staphylococcus aureus* strain, indicating the possibility of testing with other strains.

Keywords: Imbiruçu, *P. simplicifolium*, Phytochemical analysis, Antioxidant activity

LISTA DE FIGURAS

Figura 1– Alguns compostos das principais classes de metabólitos secundários e compostos triterpênicos comumente isolados de plantas.....	22
Figura 2 – <i>Pseudobombax simplicifolium</i> em seu habitat	23
Figura 3 - Imagem do Parque Nacional do Catimbau em Pernambuco.....	26
Figura 4 – Extrato hidroalcoólico das folhas de <i>P. simplicifolium</i>	27
Figura 5 – CCDA da substância isolada (PSF-01)	31
Figura 6 – CCDA da substância isolada (PSF-02)	32
Figura 7 – Espectros na região do infravermelho com transformada de Fourier do EHF-PS, na forma de absorbância.....	38
Figura 8 – Espectro de RMN de ^{13}C -BB (125 MHz; CDCl_3) de PSF-01.....	41
Figura 9 – Espectro de RMN de ^{13}C –DEPT 135° (125 MHz; CDCl_3) de PSF-01.....	42
Figura 10 – Espectro de RMN de ^1H (500 MHz; CDCl_3) de PSF-01.....	43
Figura 11 – Mapa de correlação homonuclear- COSY $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (CDCl_3 , 500 x 500 MHz) de PSF-01.	44
Figura 12 – Mapa de correlação heteronuclear - HSQC (CDCl_3 , 125 x 500 MHz) de PSF-01.....	445
Figura 13 – Mapa de correlação heteronuclear- HMBC (CDCl_3 , 125 x 500 MHz) de PSF-01.....	46
Figura 14 – Estrutura I (PSF01) isolada e identificada.	47
Figura 15 – Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 125 x 500 MHz) de PSF-02.	510
Figura 16 – Espectro de RMN de ^{13}C – BB - (CDCl_3 , 125 x 500 MHz) de PSF-02.	521
Figura 17 – Espectro de RMN de ^{13}C – DEPT 135° (CDCl_3 , 125 x 500 MHz) de PSF-02.....	532
Figura 18 – Mapa de correlação homonuclear – COSY $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (CDCl_3 , 125 x 500 MHz) de PSF-02.	543
Figura 19– Mapa de correlação heteronuclear- HMBC (CDCl_3 , 125 x 500 MHz) de PSF-02.....	554
Figura 20– Mapa de correlação heteronuclear- HSQC (CDCl_3 , 125 x 500 MHz) de PSF-02.....	565
Figura 21 – Mapa de correlação heteronuclear- HSQC (Py, 125 x 500 MHz) de PSF-02...56	

LISTA DE QUADRO, GRÁFICOS E TABELAS

Quadro 1 - Uso medicinal, atividades biológicas e estudos fitoquímicos da Família Malvaceae	17
---	----

Tabela 1 – Pesquisa dos principais metabólitos secundários do extrato da <i>P. simplicifolium</i>	28
Tabela 2 – Massas das frações separadas na C1.....	30
Tabela 3 – Massas das frações obtidas na C2.....	30
Tabela 4 – Resultados das análises do teor de cinzas e da umidade da DV.....	36
Tabela 5 – Porcentagem retida nos tamises da DVF	37
Tabela 6 – Classes de metabólitos secundários analisados nos extratos de <i>P. simplicifolium</i>	39
Tabela 7 – Dados de RMN de ^1H e de RMN de ^{13}C de PSF-01 comparados com dados da literatura do lupeol (ARATANECHMUGE et al., 2004; JEFFREYS & NUNEZ, vol.46,2016)	48
Tabela 8 – Dados de RMN de ^1H e de RMN de ^{13}C de PSF-02 comparados com dados da literatura do Betulinn (TIJJANI et al, 2012 e ZELAK et al, 2005).....	57
Tabela 9 – Atividade antimicrobiana dos EHF frente às cepas de <i>S. aureus</i>	58
Tabela 10 – Atividade antioxidante do extrato de <i>P. simplicifolium</i> frente aos métodos DPPH, ABTS e CAT.....	59

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AcOET	Acetato de etila
ABTS	A avaliação da atividade sequestradora do cátion radical 2',2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfonato)
CAT	Capacidade antioxidante total por fosfomolibdênio
COSY	<i>Correlated Spcctroscopy</i>
CDCl ₃	Clorofórmio deuterado
CC	Cromatografia em coluna
CCDA	Cromatografia em camada delgada analítica
DPPH	2,2-difenil-1-picril-hidrazila
DVF –PS	Droga vegetal das folhas de <i>Pseudobombax simplicifolium</i>
d	duplete
dd	duplo duplete
dt	duplete triplo
EHF-OS	Extrato hidroalcolico das folhas de <i>Pseudobombax simplicifolium</i>
Hex	Hexano
HMBC	Heteronuclear Multiple-Bond Correlation
HSQC	Heteronuclear Single-Quantum Correlation
IC ₅₀	Concentração inibitória média
<i>J</i>	Constante de acoplamento
MeOH	Metanol
<i>m</i>	Multiplete
<i>Py</i>	Piridina
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
δ	deslocamento químico

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 OBJETIVOS	14
2.1 Objetivo Geral	14
2.2 Objetivos Específicos	14
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	15
3.1 Família Malvaceae	15
3.2 Metabólitos secundários	21
3.3 <i>Pseudobombax simplicifolium</i>	22
4 METODOLOGIA	23
4.1 DESCRIÇÃO DO DESENHO EXPERIMENTAL	23
4.1.1 DESENHO EXPERIMENTAL	24
4.2 Levantamento bibliográfico	25
4.3 Material vegetal	25
4.4 Preparação da droga vegetal	26
4.5 Estudo de qualidade preliminar da droga vegetal (DVF-PS)	26
4.6 Preparação dos extratos	27
4.7 Análise no infravermelho	28
4.8 Análises fitoquímicas	28
4.8.1 Análise qualitativa	28
4.8.2 Análise quantitativa	28
4.9 Fracionamento cromatográfico e isolamento dos constituintes químicos	29
4.9.1 Cromatografia em coluna (CC) e isolamento de PSF-01	29
4.9.2 Cromatografia em Coluna (CC) e isolamento de PSF-02	31
4.9.3 Determinações estrutural – RMN	32
4.9.4 PONTO DE FUSÃO	34
4.10 ATIVIDADE BIOLÓGICA	34
4.10.1 Avaliação da capacidade antimicrobiana do extrato	34
4.10.2 Avaliação da capacidade antioxidante do extrato	34
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
5.1 Estudo de qualidade preliminar da droga vegetal de <i>P. simplicifolium</i> (PVF-PS)	36
5.1.1 Prospecção Fitoquímica	38
5.1.2 Análise quantitativa de Flavonóides	39
5.2 Determinação estrutural das substâncias isoladas (PSF-01 e PSF-02)	39
5.2.1 Determinação estrutural de PSF01	39
5.2.2 Determinação estrutural de PSF - 02	49
6 ATIVIDADE BIOLÓGICA	58
6.1 Atividade Antimicrobiana	58
6.2 Atividade Antioxidante	58
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS	61
REFERÊNCIAS	62

1 INTRODUÇÃO

O uso de plantas medicinais é importante em todo o mundo, especialmente na medicina tradicional ou alternativa. A busca por compostos ativos derivados de plantas é uma abordagem moderna para descoberta de novas drogas (ARAÚJO *et al.*, 2014). O uso de plantas medicinais nos últimos anos, em especial em países em desenvolvimento, tem voltado a crescer o interesse, mesmo que de forma gradual havendo um aumento da procura por fitoterápicos de qualidade, os quais são descritos como seguros e com pouco e/ou sem efeitos adversos, quando comparados às drogas sintéticas (CECHINEL FILHO, 2015).

Atualmente, os produtos naturais têm grande importância na área da saúde, desde que cerca de 60% de todos os princípios ativos encontrados nas formulações dos medicamentos são originários de forma direta ou indireta de um produto natural (NEWMAN; CRAGG, 2016). E, portanto, é notável a contribuição dos produtos naturais, como fonte de compostos bioativos a partir de metabolitos secundários, como fonte de novos fármacos e medicamentos.

O campo de exploração dos metabólitos secundários de organismos vivos é afirmativamente um tema de grande relevância e indubitável valor para a ciência, quer seja por suas aplicações biotecnológicas diretas, como protótipos para novos fármacos ou como instrumento científico em diversas áreas (Yunes Filho, 2009).

No entanto, para se chegar a um medicamento desenvolvido a partir de uma planta, este deve passar por várias etapas e por uma pesquisa multidisciplinar desde o campo da botânica, Química, microbiologia, biologia molecular, farmacologia, toxicologia, experimentos clínicos e técnicas analíticas diversas (CECHINEL FILHO, 2015). Além disso, a pesquisa deve seguir algumas etapas essenciais, desde a pesquisa da planta, coleta, obtenção e caracterização da droga vegetal, extração, isolamento de componentes ativos, até culminar com o desenvolvimento de uma forma farmacêutica adequada para o uso *in vivo*.

O gênero *Pseudobombax* faz parte da família da Malvaceae e subfamília das Bombacoideae. Estudos envolvendo a química de plantas do gênero *Pseudobombax*, são bastante incipientes e os poucos estudos fitoquímicos encontrados relatam a presença de compostos pertencentes às classes de flavonóides, esteróides e taninos (CHAVES *et al.*, 2013; PAIVA *et al.*, 2013; PAULA;

BARBOSA; DEMUNER, 1997), ressaltando a necessidade de estudos fitoquímicos visando o isolamento e a elucidação estrutural desses metabólitos. Adicionalmente, a literatura não apresenta registro de estudos químicos e de atividade biológica para espécie *Pseudobombax simplicifolium*, uma espécie da Caatinga cujas cascas são utilizadas no tratamento de doenças do sistema urinário (VALERIANO et al, 2016). Neste contexto, buscou-se investigar a composição química e o potencial antioxidante e antibacteriano da referida espécie para alicerçar seu uso na medicina tradicional e contribuir para o conhecimento quimiotaxonômico do gênero *Pseudobombax*.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

O presente trabalho teve como objetivo investigar a composição química e as características físico-químicas das folhas da espécie *Pseudobombax simplicifolium*, bem como avaliar seu potencial antioxidante e antimicrobiana.

2.2 Objetivos Específicos

- a) Realizar estudos de qualidade físico-químico da droga vegetal obtida das folhas de *P. simplicifolium*;
- b) Produzir o extrato hidroalcoólico partir do material vegetal em pó das folhas de *P. simplicifolium*;
- c) Conhecer os metabolitos secundários produzidos pela espécie;
- d) Isolar e identificar e compostos;
- e) Avaliar a atividade antioxidante do extrato utilizando diferentes métodos;
- f) Avaliar a atividade antimicrobiana do extrato frente à *Staphylococcus aureus*.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Família Malvaceae

As plantas da família Malvaceae são de grande importância na medicina tradicional ou alternativa, sendo encontradas na forma de árvores, arbustos e, também, ervas. A família Malvaceae é bastante abundante, apresentando em torno de 250 gêneros e mais de 4.200 espécies e que estão distribuídas em todo o mundo, sendo predominante em regiões tropicais com uma grande variedade em sua flora (RAO *et al.*, 2018).

No Brasil, A família Malvaceae é representada por cerca de 70 gêneros e 780 espécies, das quais aproximadamente 290 estão distribuídas na Região Nordeste e 161 na Caatinga, com mais de 50% das espécies que ocorrem no país, características que as identificam como endêmicas (LIMA *et al.*, 2019). As plantas da família Malvaceae destacam-se por suas propriedades anti-inflamatórias, antinociceptivas, antioxidantes, antimicrobianas e anticâncer apresentadas no Quadro 1 (PAIVA *et al.*, 2013; CHAVES *et al.*, 2013; SHAIKH *et al.*, 2016; BABU *et al.*, 2016; MAH *et al.*, 2017).

Neste contexto, foi realizado um levantamento bibliográfico do uso medicinal, atividades biológicas e estudos fitoquímicos de espécies da família Malvaceae.

Com base neste levantamento, foram encontrados trabalhos com estudos significativos relacionados às plantas da família Malvaceae, destacando-se os estudos com plantas pertencentes ao gênero *Pseudobombax* como apresentados no Quadro 1, porém nenhum estudo sobre prospecção química ou atividade biológica para espécie *Pseudobombax simplicifolium*.

No Quadro1 é apresentado o levantamento das publicações relacionadas aos estudos dos gêneros da família Malvaceae no período de 2012 a 2020:

De acordo com os resultados encontrados no levantamento bibliográfico (Quadro 1), as plantas da família Malvaceae são usadas na medicina tradicional, principalmente, no tratamento de infecções orais, úlcera, gastrite, dor no estômago, dor na coluna vertebral, insônia e tratamento do sistema geniturinário feminino (PAIVA *et al.*, 2013; ALMEIDA *et al.*, 2015). Entre as atividades biológicas comprovadas, experimentalmente, para as plantas da referida família, destacam-se:

antioxidante, analgésica, anti-inflamatória, antinociceptiva e antimicrobiana, antibacteriana, hepatoprotetora, citotóxica, anticolinesterásica, antifúngica, renoprotetora, antileishmanial e antitripanosomal (PAIVA *et al.*, 2013; ALMEIDA *et al.*, 2015). Neste âmbito, foi possível identificar que as principais classes de metabólitos secundários desta família são compostos fenólicos, alcalóides, flavonóides, triterpenos, esteróides e saponinas (PAIVA; COSTA *et al.*, 2013; MENEZES *et al.*, 2015).

Quadro 1 - Uso medicinal, atividades biológicas e estudos fitoquímicos da Família Malvaceae

Gênero	Espécie	Parte Estudada	Uso medicinal	Extrato	Atividade	Classe de compostos Identificados	Referência
<i>Abelmoschu</i>	<i>Fos Abelmoschu smanihot</i>	Flores	Doença renal crônica	Alcoólico	Efeitos renoprotetores	Flavonoides	Chen, et al, 2016
	<i>Abelmoschu smoschatus</i>	Raízes	Doenças degenerativas	Extrato metanólico	Antioxidante	Compostos fenólicos	Lalmuanthanga, et al, 2019
<i>Annona</i>	<i>Annona sylvatic</i>	Folhas	Tuberculose	Alcoólicos	Anti-micobacteriana Antituberculose	Flavonoides	Araújo, et al. 2014
<i>Guazuma</i>	<i>Guazuma ulmifolia</i> Lam	Cascas folhas	Problemas gastrointestinais e de pele, entre outras doenças	Etanólico	Antioxidante, Anticolinesterásica Antifúngica	Flavonoides Ácidos fenólicos	Morais, et al, 2016
<i>Hibiscus</i>	<i>Hibiscus rosa-sinensis</i> L. <i>Hibiscus syriacus</i> L.	Flores	Danos oxidativos	Base seca Base úmida	Antioxidante	Polifenóis totais, Antocianinas Ácido ascórbico	Silva, et al, 2016
<i>Lavatera</i>	<i>Lavatera thuringiaca</i> L.	Folhas	-	Etanólico Aquoso	Antioxidante, Citotóxica e Antibacteriana	Compostos fenólicos totais Flavonoides Taninos condensados Galotaninos Antocianinas	Maskovic, et al, 2017
<i>Luehea</i>	<i>Luehea paniculata</i> Mart. & Zucc.	Folhas cascas	Infecções fúngicas	Etanólico	Antioxidante Antifúngico Antibiótica	Fenóis totais Flavonoides Ácido rosmarínico	Júnior, et al, 2015

Quadro 1 – Uso medicinal, atividades biológicas e estudos fitoquímicos da Família Malvaceae

(Continuação)

Gênero	Espécie	Parte Estudada	Uso medicinal	Extrato	Atividade	Classe de compostos Identificados	Referência
<i>Malvaviscus</i>	<i>Malvaviscus arboreus</i> Cav..	Folhas caules em pó	Lesão hepática	Etanólico	Antioxidante Atividades hepatoprotetoras	Compostos fenólicos	Abdelhafez, et al, 2018
<i>Pseudobombax</i>	<i>Pseudobombax marginatum</i>	Cascas	Tratamento do sistema geniturinário Feminino Infecções orais	Hidroalcoólicos	Antimicrobiana	Taninos	Costa et al, 2013
	<i>Pseudobombax marginatum</i>	Casca interna	Úlcera Gastrite	Hidroalcoólicos	Anti-inflamatórios Antinociceptivos.	Taninos Flavonóides Esteróides livres	Paiva et al, 2013
	<i>Pseudobombax ellipticum</i>	Folhas cascas raízes córtex	Dor no estômago	Aquoso; Etanólico.	Antioxidante Anti-inflamatório Analgésica	-	Díaz et al, 2015
	<i>Pseudobombax marginatum</i>	Galhos cacas Raiz Flores	Úlcera Gastrite	Etanol-água	Anti-inflamatórios; Contraceptivos.	Flavonóides Antocianinas	Menezes et al, 2015
	<i>Pseudobombax marginatum</i>	Entrecasca Folhas	Insônia Úlcera Gastrite Inflamações Dores na coluna vertebral	Hidroalcoólicos	-	Fenóis Taninos Alcalóides Flavonoides Xantonas Saponinas Esteróis livres	Almeida et al, 2015

Quadro 1 – Uso medicinal, atividades biológicas e estudos fitoquímicos da Família Malvaceae

(Continuação)

Gênero	Espécie	Parte Estudada	Uso medicinal	Extrato	Atividade	Classe de compostos Identificados	Referência
<i>Sida</i>	<i>Sida rhombifolia</i>	Raízes	Infecções bacterianas	Bruto	Antibacteriana	Ácido n-hexacos-11-enóico, estigmasterol β -sitosterol	Woldeyes, et al, 2012
	<i>Sida pilosa</i> Retz.	Partes aéreas	Dismenorrea, dores abdominais inferiores e esquistossomose	Aquoso	Antioxidante	Alcaloides indoloquinolínicos Terpenoides Fenóis Taninos	Jatsa, et al, 2015
<i>Sidastrum</i>	<i>Sidastrum paniculatum</i> (L.) Fryxell	-	Picadas de aranhas e picadas de abelhas, asma e bronquite	Etanólico bruto	Antileishmanial	Triterpenos Ácido cebiferico Esteróis Derivados de Clorofila	Teles, et al, 2015
<i>Thespesia</i>	<i>Thespesiapopulnea</i>	Folhas	Dor e inflamação associada a feridas	Aquoso Etanólico	Analgésica Anti-inflamatória	Alcalóides Esteróis, Flavonóides Saponinas	Ilavarasan, et al, 2012
	<i>Thespesia populnea</i> Linn	Frutos folhas Latido flores sementes partes aérea.	Doença de pele Malária Antídoto para envenenamento	-	Antibacteriano Anti-inflamatório, Antioxidante Purgativo Atividades hepatoprotetoras	Flavonóides, Sesquiterpenóides Taninos Saponinas Alcanos Óleos essenciais açúcares, ácidos graxos	Rao, et al, 2018

Quadro 1 – Uso medicinal, atividades biológicas e estudos fitoquímicos da Família Malvaceae

(Conclusão)

<i>Urena</i>	<i>Urena lobata</i> L.	Folhas	Infecções de origem microbiana.	Extrato metanólico	Antimicrobiana	Alcaloides Glicosídeo Cardíaco Taninos Terpenoides Saponinas	Fagbohun, et al, 2012
<i>Waltheria</i>	<i>Waltheria indica</i> L.	Raízes partes aéreas	Doença de Chagas	Diclorometano	Antitrypanosomal	Alcalóides	Cretton, et al, 2015

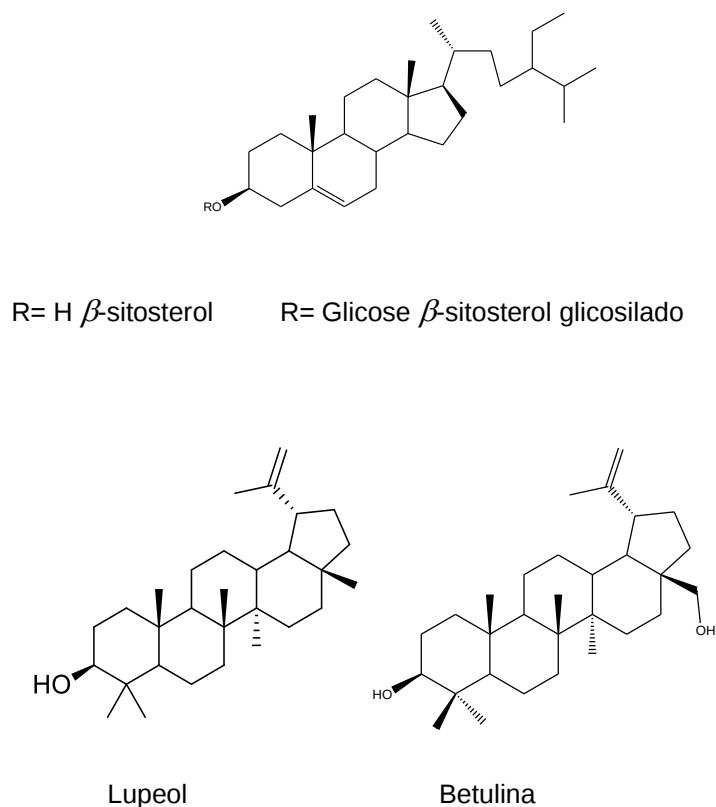
3.2 Metabólitos secundários

As plantas e os micro-organismos produzem uma quantidade imensurável de compostos com estruturas químicas de altíssima complexidade, chamados metabólitos secundários. Estes compostos possuem um papel muito importante na interação do organismo que o produziu com o ambiente no qual ele vive. Estas substâncias podem apresentar efeitos biológicos, não apenas na planta que a produziu; mas, também, nos indivíduos que a cercam. Elas podem apresentar os mais diversos efeitos, podem ser tóxicas para os indivíduos ao seu redor; podem, também, ser úteis para atrair animais polinizadores e também na competição com outras plantas que estejam no mesmo ambiente (GARCÍA; CARRIL, 2011).

Segundo Simões *et al.* (2010) as principais classes de metabólitos secundários de plantas são: terpenos, esteróides, saponinas, alcalóides e compostos fenólicos. Assim, com base na sua ocorrência e diversidade, oferecem muito potencial em uma variedade de aplicações medicinais. A Figura 1 apresenta exemplos de compostos das classes de esteróides e terpenos isolados de plantas. Destacando-se o β -sisterol livre e glicosilado e os triterpenóides pentacíclicos: lupeol e betulina.

O lupeol comumente, isolado de plantas e que apresenta atividades biológicas, tais como: Anti-inflamatória, anticâncer, antimicrobiana, entre outras (LEE; ASHA, 2016; SIVEEN 2014 apud JEFFREYS *et al.*, 2016). A betulina possui uma diversidade de atividades farmacológicas, onde as evidências mais recentes indicam que suas propriedades são úteis para o tratamento de distúrbios metabólicos, doenças infecciosas, distúrbios cardiovasculares e doenças neurológicas, além de estudos com efeitos antivirais, antibacteriano e anticâncer para a betulina e para o ácido betulínico (AMIRIA, 2020).

Figura 1– Alguns compostos das principais classes de metabólitos secundários esteróides e triterpenos isolados de plantas:



Fonte: Elaborada pelo autor, 2020

3.3 *Pseudobombax simplicifolium*

A figura 2 apresenta a espécie *Pseudobombax simplicifolium* em seu habitat. Suas plantas são conhecidas popularmente como embiratanha, imbiruçu, paineira-imiruçu ou sumaúma e são, particularmente, relatadas como possuidoras de ação anti-inflamatória na medicina tradicional por moradores da região da Caatinga do Nordeste brasileiro (VALERIANO et al, 2016). Podem ser facilmente reconhecidas pela presença de ramos abreviados (braquiblastos), com os inferiores descendentes, alcançando quase o chão, e os superiores ascendentes e pelas folhas unifolioladas agrupadas no ápice de braquiblastos, distinguindo-a das demais espécies do gênero, mesmo quando as folhas, flores e/ou frutos estão ausentes (BOCAGE; SALES, 2002 apud CARVALHO SOBRINHO, 2006).

A espécie imbiruçu (*Pseudobombax simplicifolium*) é endêmica do bioma caatinga e, por sua vez, apresenta distribuição restrita à região Nordeste do Brasil, ocorrendo nos Estados da Bahia, Pernambuco e Piauí, apresenta no segundo

estado da lista a sua distribuição que parece ser restrita ao extremo oeste pernambucano, na zona de caatinga, em solos arenosos, onde aparecem grandes populações (CARVALHO SOBRINHO *et al.*, 2016). Não se tem relato na literatura de estudos referentes aos constituintes químicos biologicamente ativos com relação a esta espécie.

Assim, a espécie apresenta-se como uma fonte promissora de estudos referentes aos compostos quimicamente ativos e propriedades biológicas, ampliando o contexto dos trabalhos desenvolvidos com plantas medicinais na região da Caatinga do nordeste brasileiro que tem base no conhecimento popular e, que pode e deve ser considerada como parte inicial do estudo para possíveis comprovações do uso medicinal de seus compostos isolados e biologicamente ativos para fins terapêuticos.

Figura 2– *Pseudobombax simplicifolium* em seu habitat



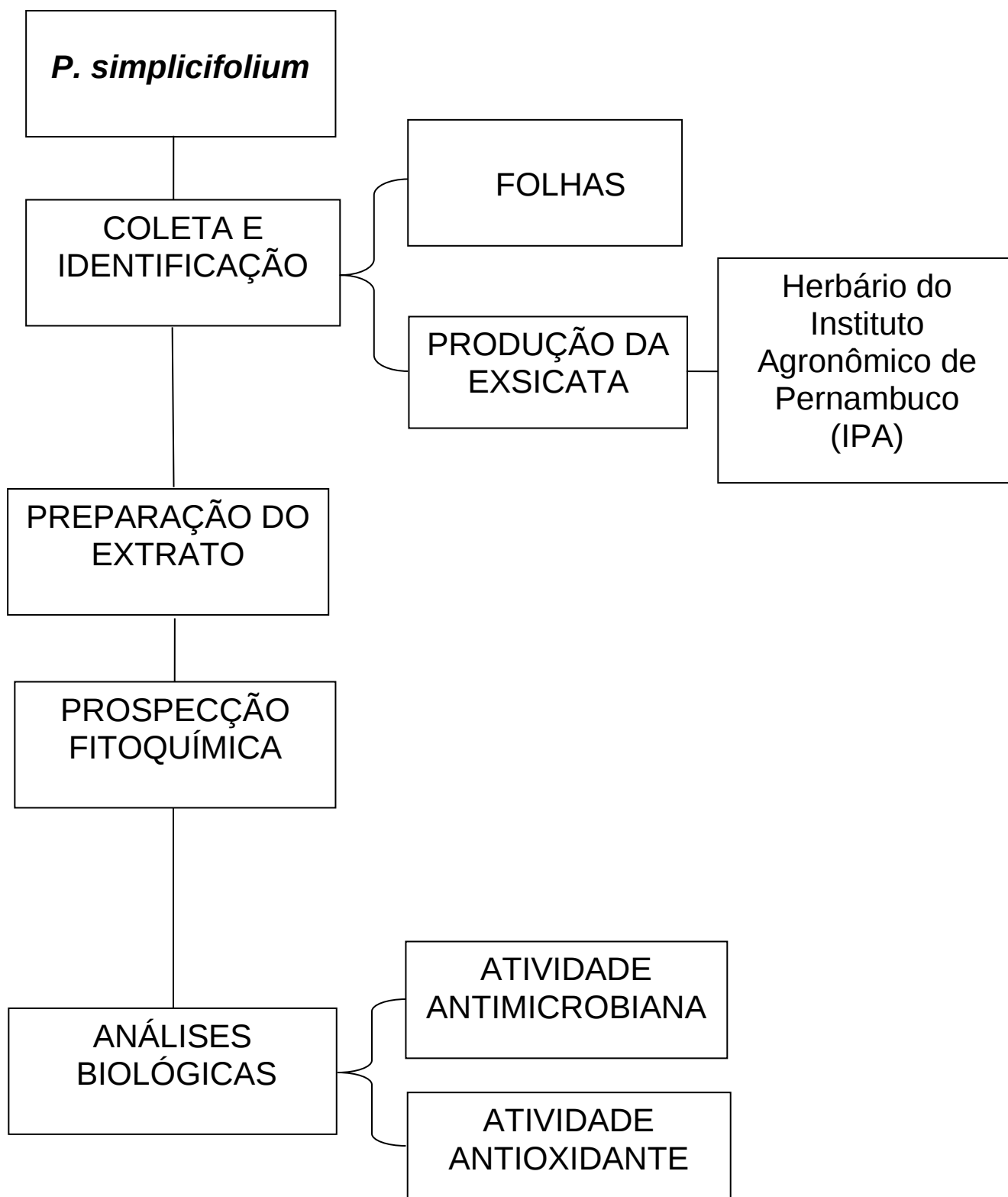
Fonte: Universidade Estadual de Feira de Santana.

4 METODOLOGIA

4.1 DESCRIÇÃO DO DESENHO EXPERIMENTAL

Foi elaborado o desenho experimental com todo o desenvolvimento da pesquisa e apresentado no tópico 4.1.1 com a seguinte organização geral: Planta, Coleta e identificação, preparação do extrato, Prospeção fitoquímica e análises biológicas.

4.1.1 DESENHO EXPERIMENTAL DO TRABALHO



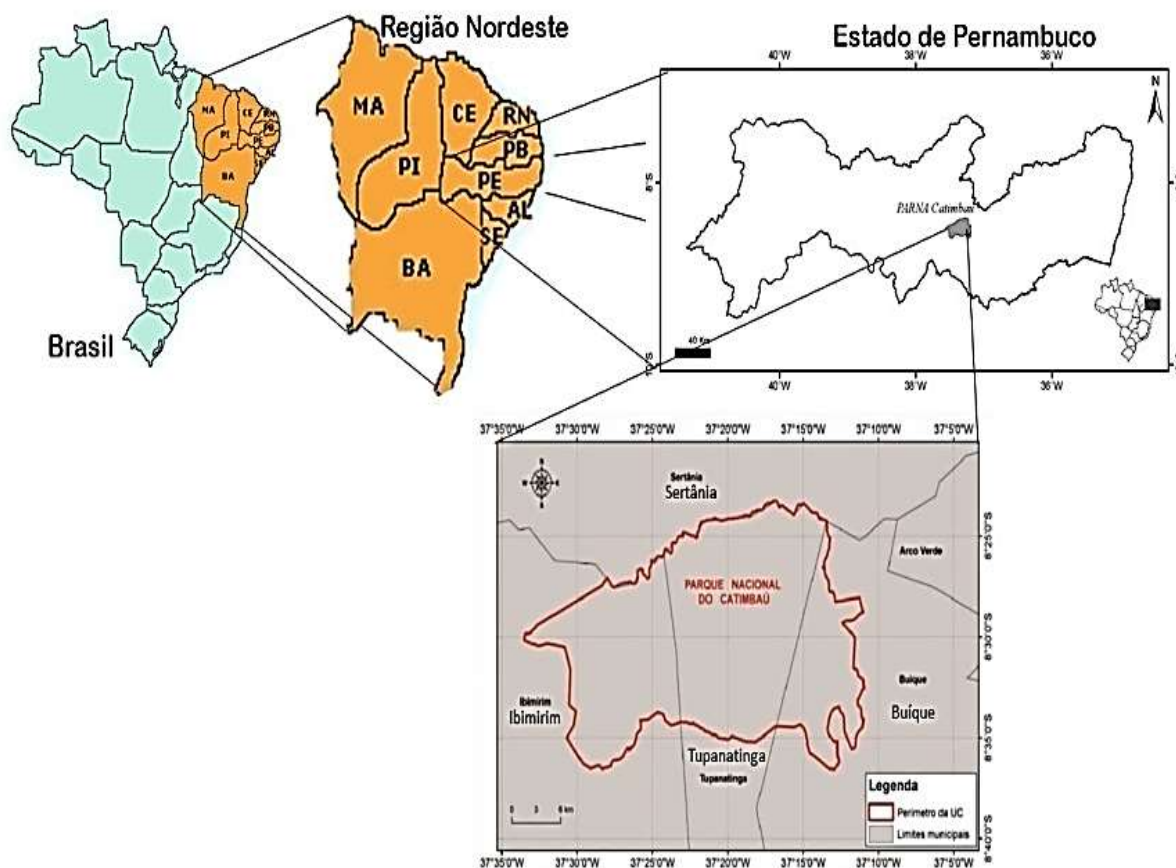
4.2 Levantamento bibliográfico

Foi realizado um levantamento bibliográfico sobre as publicações relacionadas aos estudos de plantas da família Malvaceae, onde foram utilizadas as plataformas *Scifinder*, *Science Direct*, *Scopus*, *Publmed* e *Periódicos Capes*, para catalogar as informações descritas para a pesquisa com as seguintes palavras-chave: Malvaceae, atividade biológica e constituintes químicos. Na referida revisão, foram registrados artigos nos períodos das publicações entre 2012 e 2020 que envolvem os estudos referentes às composições químicas, atividade biológica e uso medicinal. A pesquisa foi realizada entre os meses de maio e junho de 2020.

4.3 Material vegetal

As folhas de plantas de *P. simplicifolium*, foram coletados no parque nacional do Catimbau (Pernambuco), região Nordeste do Brasil, apresentando as seguintes coordenadas geográficas (8° 24' 00" e 8° 36' 35" de Latitude Sul e 37° 09' 30" e 37° 14' 40" de Longitude Oeste (Figura 3) e uma exsicata já encontra-se depositada no Herbário do Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA), na cidade de Recife (PE), com o número **94.671**.

Figura 3 - Imagem do Parque Nacional do Catimbau em Pernambuco.



Fonte: www.ibge.com.br (imagem). Criação Própria, 2020. Mapa do Brasil; em destaque a Região Nordeste; Estado de Pernambuco, e o Parque Nacional do Catimbau - PE.

4.4 Preparação da droga vegetal

As folhas de *P. simplicifolium* foram secas em estufa por 7 dias em uma temperatura de aproximadamente 40 °C. O material seco foi triturado em moinho de facas, dando origem a 158,28 g da droga vegetal das folhas de *P. simplicifolium* (DVF-PS).

4.5 Estudo de qualidade preliminar da droga vegetal (DVF-PS)

As análises das características físico-químicas da DVF-PS seguiram as metodologias propostas por Lutz (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008) e farmacopéia brasileira (BRASIL, 2019), com algumas adaptações.

Na granulometria, a amostra contendo 20 g da droga vegetal foi colocada em um vibrador de tamises por 20 minutos e após este processo, o material retido foi pesado.

Na perda por dessecação (umidade) foi realizado o método da estufa, no qual cada amostra foi aquecida em estufa a 105 °C, durante 2 horas, seguido de resfriamento em dessecador e pesagem.

Para determinação do teor de cinzas, aproximadamente 2g da droga vegetal foram transferidas para um cadinho previamente tarado e aquecidas a temperatura que variou de 550 a 570 °C em uma mufla por 4 horas. Assim, o material resultante foi pesado.

Para determinação do pH, 1 g da amostra foi colocado em um becker e foi adicionado 100 mL de água destilada. Na sequência, verificou-se o pH através de um medidor de pH (pHmetro).

Para determinação da densidade foi pesado 3 g da amostra e transferido para uma proveta onde foi possível a verificação do seu volume e, assim, calcular a densidade em g/cm³. Todas as análises foram feitas em triplicata.

4.6 Preparação dos extratos

Uma alíquota de 152,58 g da droga vegetal (DVF-PS) foi submetida à extração por maceração sob agitação ocasional, usando uma solução de etanol/água (7:3) mantidos em agitação por 24 horas. O processo foi repetido por três vezes. Posteriormente, o extrato foi separado do resíduo através de filtração simples e o solvente foi evaporado em rotaevaporador a pressão reduzida, resultando no extrato hidroalcolico das folhas de *P. simplicifolium* (EHF-PS) com uma massa de 25,97 g (Figura 4).

Figura 4– Extrato hidroalcolico das folhas de *P. simplicifolium*.



Fonte: Elaborada pelo autor (2020).

4.7 Análise no infravermelho

Uma alíquota do extrato EHF-PS (1 mg) foi submetida à análise por espectroscopia no infravermelho médio no intervalo de 500 a 4000 cm^{-1} , utilizando pastilhas de Brometo de Potássio (KBr). Os dados foram registrados em um espectrômetro BOMEN FT-IR (Modelo MB – 100) pertencente ao Laboratório de Certificação em Biomateriais (Certbio), da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG) e foram analisados Software Origin (8.0).

4.8 Análises fitoquímicas

4.8.1 Análise qualitativa

O *screening* qualitativo apresenta os testes para as principais classes de metabólitos secundários e seguiu a metodologia descrita por Matos (2009) e adaptada por Costa (2010), Tabela 1:

Tabela 1 – Pesquisa dos principais metabólitos secundários do extrato da *P. simplicifolium*.

GRUPO DE METABÓLITOS	TESTE APLICADO	RESULTADO ESPERADO
Saponinas	Teste da espuma	Permanência por 30 min
Polissacarídeos	Lugol	Coloração azul
Fenóis e Taninos	FeCl_3 1%	Entre azul e vermelho ou Azul escuro
Flavonóides	Shinoda; Oxalo-bórico	Coloração rósea
Esteróides e Triterpenóides	Liebermann-Buchard	Azul evanescente ao verde persistente
Alcalóides	Dragendorff; Bouchard e Mayer	Formação de precipitado ou turvação

Fonte: Elaborada pelo autor, 2020.

4.8.2 Análise quantitativa

A análise quantitativa do extrato EHF-PS para o grupo químico foi realizada em placas de 96 poços e foi efetuada a leitura das absorbâncias em Leitor de ELISA série Expert Plus. O teor total de flavonóides foi quantificado por um método

colorimétrico. Cada amostra (200 µL) a 2 mg/mL foi misturada com 100 µL de solução de AlCl_3 a 2% em metanol para permitir à reação a temperatura ambiente por 10 minutos. A absorbância foi medida a 410 nm e uma curva de calibração foi realizada simultaneamente nas mesmas condições operacionais usando quercetina (Qct) como controle positivo. Os resultados foram expressos como equivalente de quercetina por grama de extrato seco.

4.9 Fracionamento cromatográfico e isolamento dos constituintes químicos

O extrato das folhas de *P. simplicifolium* (EHF-PS) foi submetido a fracionamentos cromatográficos, conforme mostrado no Fluxograma 1 (pág. 34) visando o isolamento e purificação de compostos através de filtração em gel de sílica e as frações obtidas foram submetidas a processos cromatográficos tais como: cromatografia camada delgada analítica e cromatografia em coluna.

As preparações cromatográficas foram realizadas com o uso de gel de sílica (ART 7734 da Merck, de partículas com dimensão 60-0, 063 A 0, 200 mm e 70- 230 Mesh), como adsorvente. No caso da cromatografia em coluna, foi utilizado gel de sílica; para a cromatografia em camada delgada analítica (CCDA) foi utilizado gel de sílica (SILICYCLE) aderido em cromatofolhas de alumínio com espessura de 0,20 mm. A revelação das substâncias em CCDA foi realizada mediante o uso de vapores de iodo sublimado ou ainda por aspersão com solução de vanilina ($\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_3$) em ácido sulfúrico, seguida de aquecimento a 100 °C.

4.9.1 Cromatografia em coluna (CC) e isolamento de PSF-01

O extrato das folhas de *P. simplicifolium* (EHF-PS) foi submetido a fracionamentos cromatográficos visando o isolamento e purificação dos possíveis compostos bioativos.

Na coluna cromatográfica (C1) foi utilizado uma alíquota de EHF-PS (24,00g) escoando em 93,65 g de sílica-gel para fase estacionária, 40 g de sílica-gel para a “farofa” e como fase móvel utilizou-se oito sistemas de eluentes diferentes, sendo adicionados volumes de 200 mL para os valores percentuais de cada um dos sistemas de misturas binárias (Hex/AcOET 25%, 50% e 75%; AcOET 100%; AcOET/MeOH 25%, 50% e 75%; MeOH 100%). Esses gradientes foram adicionados

em ordem crescente de polaridade, fornecendo nove frações, as quais estão apresentadas, com suas respectivas massas, na Tabela 2.

Tabela 2 – Massas das frações separadas na C1.

Eluente	Frações	Massa (g)
Hex/AcOET 25%	1 e 2	0,0085
Hex/AcOET50%	3	0,3050
Hex/AcOET75%	4	0,4470
AcOET 100%	5	0,1540
AcOET/MeOH 25%	6	0,1120
AcOET/MeOH 50%	7	1,4290
AcOET/MeOH 75%	8	6,2980
MeOH 100%	9	15,6470

Fonte: dados da pesquisa, 2019.

Todas as frações resultantes da C1 foram analisadas por CCDA para verificação de seus perfis cromatográficos. As frações 1 e 2, as quais visualmente não apresentavam uma significativa quantidade de materiais, foram reunidas, fornecendo apenas 0,0085 g. A fração 3 (0,3050 g) apresentou um perfil cristalino branco e foi submetida a nova coluna cromatográfica (C2). Utilizando uma massa de 18,97 g de sílica-gel para fase estacionária, 1,3g de sílica-gel para a “farofa” e como eluentes os solventes Hex100% e misturas binárias (Hex/AcOET 5%, 10%, 15%, 20% e 50%, AcOET100% e MeOH 100%). Foram obtidas (53 frações com aproximadamente 5 mL) e com suas respectivas massas estão sumarizadas na Tabela 3.

Tabela 3 – Massas das frações obtidas na C2.

Eluente	Frações	Frações reunidas	Massa (mg)
Hex 100%	1-4	1-9	10,50
		10	1,30
Hex/AcOET5%	5 – 12	11	12,50
		12	4,40
		13	0,40
Hex/AcOET10%	13-20	14 - 15	11,80
		16-20	10,59
Hex/AcOET15%	21-28	21-22	16,00
Hex/AcOET20%		23-27	19,50
	29-38	28 - 32	15,50
		33 - 39	17,20

Hex/AcOET50%	39 – 48	40	4,20
		41 -43	13,80
		44	4,70
		45 - 49	15,90
AcOET100%	49 – 53	50	4,00
		51-53	17,60
MEOH 100%	-	-	-

Fonte: dados da pesquisa, 2019.

Através do monitoramento com cromatografia em camada delgada analítica (CCDA) foi identificada na F16-20 uma substância isolada, com aspecto de um sólido cristalino branco, a qual foi pesada indicando 10,59 mg e identificada pelo código **PSF- 01**.

Figura 5– CCDA da substância isolada (PSF-01)



Fonte: Elaborada pelo autor, 2019.

Essa substância **PSF-01** foi submetida à análise por ressonância magnética nuclear de hidrogênio e carbono 13 (RMN de ^1H e ^{13}C) para a determinação estrutural.

4.9.2 Cromatografia em Coluna (CC) e isolamento de PSF-02

As frações F4 – 6 da C1, com um perfil sólido branco, foram reunidas e pesadas resultando em uma massa de 0,714 mg. Esse material foi submetido a nova coluna cromatográfica, utilizando 40 g sílica-gel para fase estacionária, 2,6 g de sílica-gel para a “farofa” como fase móvel os solventes Hex 100% e misturas binárias (Hex /AcOET 5%, 10%, 15%, 20%, 30% e 50 %, AcOET 100% e MeOH100%). Através do monitoramento com cromatografia em (CCDA), uma substância foi isolada, com o mesmo aspecto do perfil cristalino branco da **PSF-01** entre as frações 30- 36 com (10,30 mg). O monitoramento com cromatografia em

camada delgada analítica (CCDA) em suas frações 48 – 52 permitiu a observação que resultou de 50 mg de um material sólido branco e mais polar que **PSF-01** e que após sucessivas colunas cromatográficas resultou em 23,1 mg de uma substância, que foi identificada pelo código **PSF- 02**.

Figura 6—CCDA da substância isolada **PSF-02**



Fonte: Elaborada pelo autor, 2020.

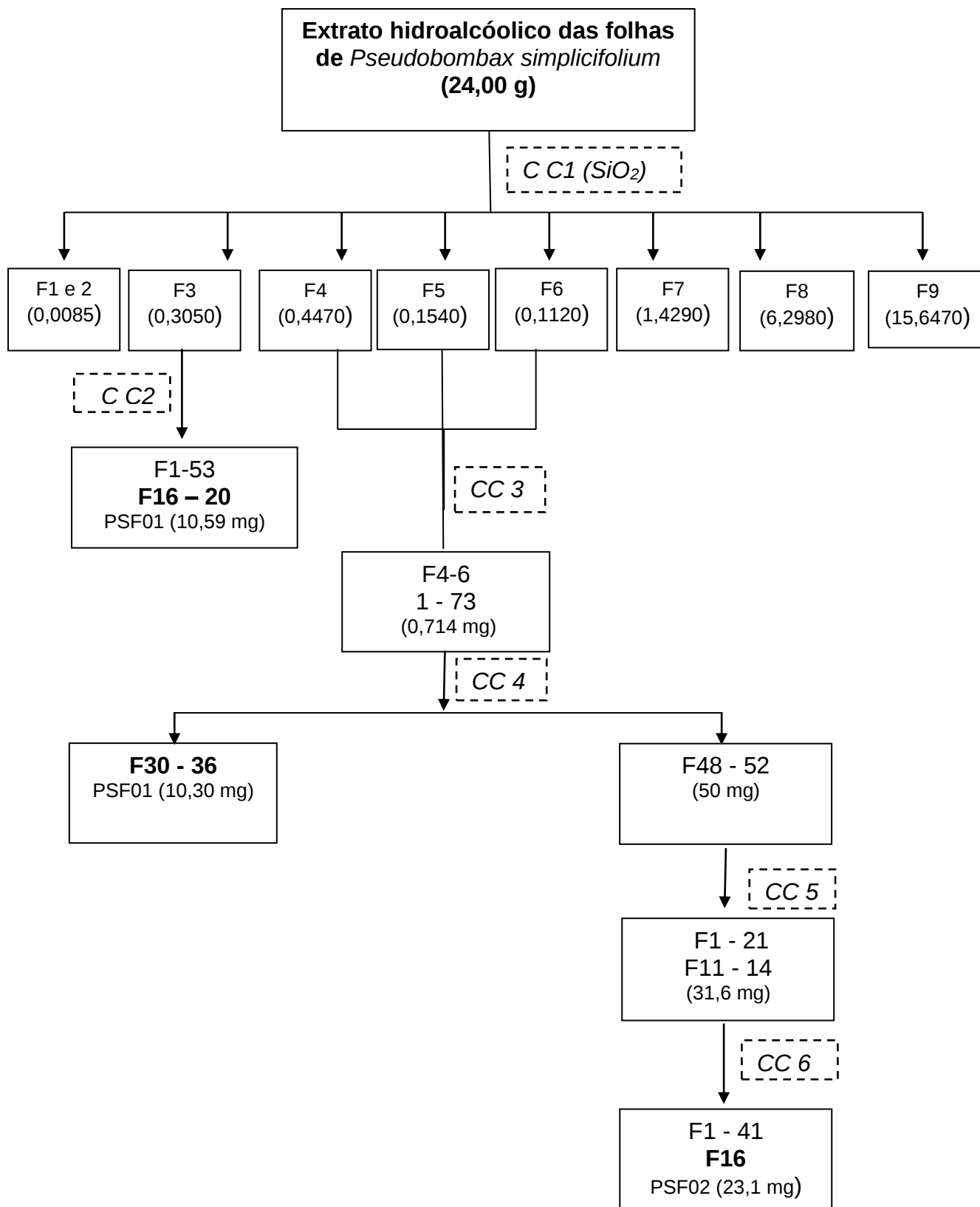
A substância **PSF-02** foi submetida à análise por ressonância magnética nuclear de hidrogênio e carbono 13 (RMN de ^1H e ^{13}C) para a determinação estrutural.

4.9.3 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN)

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de Prótio (RMN ^1H) e Carbono 13 (RMN ^{13}C) uni- e bidimensionais, foram obtidos em espectrômetro Bruker, modelo DRX-500, operando na frequência de 500 MHz para hidrogênio e 125 MHz para carbono-13, ambos pertencente ao Centro Nordeste de Aplicação e Uso da Ressonância Magnética Nuclear da Universidade Federal do Ceará (CERAUREMN-UFC). Os solventes deuterados utilizados na dissolução das amostras e obtenção dos espectros foram: clorofórmio (CDCl_3) ou piridina ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$).

Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em parte por milhão (ppm) e referenciados nos espectros de RMN ^1H pelo pico de hidrogênio pertencente à fração não deuterada dos solventes: clorofórmio (δ_{H} , 7,27), e piridina (δ_{H} , 8,74; 7,58; 7,22) e para os espectros de RMN ^{13}C pelos picos de carbono-13 dos solventes: clorofórmio δ (77,23) e piridina δ (123,87; 135,91 e 150,35).

Fluxograma1 - Fracionamentos cromatográficos, isolamento e purificação dos possíveis compostos bioativos.



4.9.4 PONTO DE FUSÃO

Os pontos de fusão das substâncias isoladas foram obtidos em um medidor de ponto de fusão – PFM-II, com placa aquecedora acoplado a um microscópio óptico monocular, pertencente ao Laboratório de Síntese e Produtos Naturais da Universidade Estadual da Paraíba- UEPB. Cada amostra das substâncias isoladas foi adicionada a um capilar de vidro e colocada no equipamento sendo aquecida e monitorada até observar o momento de fusão através da lupa lendo a temperatura no termômetro.

4.10 ATIVIDADE BIOLÓGICA

4.10.1 Avaliação da capacidade antimicrobiana do extrato

O extrato de *Pseudobombax simplicifolium*, foi submetido à avaliação da atividade antimicrobiana e antioxidante, os quais foram realizados no Laboratório de Produtos Naturais do Departamento de Bioquímica no Centro de Biociências da Universidade Federal do Pernambuco, sob a coordenação da Profa. Dra. Márcia Vanusa da Silva.

Para atividade antimicrobiana *in vitro* foi utilizada uma cepa de *Staphylococcus aureus* (ATCC) 28923 cedida pelo Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Os testes foram realizados pelo método de microdiluição em caldo de acordo com *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2018). As placas contendo as amostras testadas foram incubadas por 24 h a 37 °C. A menor concentração dos extratos capaz de inibir o crescimento bacteriano em 50% foi determinada como a Concentração Mínima Inibitória (CMI).

4.10.2 Avaliação da capacidade antioxidante do extrato

A atividade antioxidante foi realizada através de 3 métodos:

(i) A avaliação da atividade sequestradora do cátion radical 2',2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfonato) (ABTS-+), onde baseou-se na geração do radical catiônico cromóforo obtido a partir da oxidação de ABTS por persulfato de potássio (Re et al., 1999).

(ii) A avaliação da atividade sequestradora do radical 2,2-difenil-1-picrilidrazilo (DPPH), onde foi medida por meio de doação de hidrogênio usando o radical estável DPPH (BLOIS, 1958).

(iii) E por fim, a capacidade antioxidante total por fosfomolibdênio (CAT), a qual foi avaliada pelo método do fosfomolibdênio, que consistiu na capacidade da composição em reduzir o molibdênio e formar o complexo fosfato-molibdato (PIETRO *et al.*, 1999).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Estudo de qualidade preliminar da droga vegetal de *P. simplicifolium* (PVF-PS)

A droga vegetal das folhas de *P. simplicifolium* (DVF-PS) foi submetida a testes preliminares de controle de qualidade onde foram analisadas algumas características físico-químicas como acidez, densidade, umidade e teor de cinzas.

Através dos dados obtidos nas análises, observou-se um caráter ácido na droga vegetal das folhas, apresentando um pH por volta de 5,00. Esse fato sugere a presença de substâncias ácidas no material estudado e pode servir como um fator de conservação, prevenindo a contaminação microbiana.

Quanto à análise de umidade e do teor de cinzas, foram feitas em triplicata e obtido a média das mesmas como mostrado na Tabela 4.

Tabela 4 – Resultados das análises do teor de cinzas e da umidade da droga vegetal.

	DVF
Teor de cinzas (%)	6,73
Umidade (%)	11,28

Fonte: dados da pesquisa, 2020

Esses dados mostram que tanto o valor do teor de cinzas quanto o de umidade da DVF-PS estão de acordo com os valores preconizados na Farmacopéia, que é de 10% para o teor de cinzas e 8-14% para umidade (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2019) sendo possível concluir que a droga vegetal se apresenta de acordo com as referidas especificações no compêndio. As análises descritas colocam a disposição valores de impurezas inorgânicas que são relacionados ao teor de cinzas e as características de umidade que decorrem em uma faixa estabelecida para os parâmetros de acordo com o preconizado na Farmacopéia brasileira, que confirma a eficiência do processo de secagem e sua importância contra crescimento de micro-organismos e deterioração do material seguido de hidrólise.

Na avaliação da densidade observou-se uma densidade de 0,26 g/cm³ para DVF-PS. O material vegetal apresentou partículas com tamanhos variáveis, fator que impossibilitou sua classificação granulométrica de acordo com o preconizado pela Farmacopéia brasileira, como pode ser evidenciado na Tabela 5.

Tabela 5 – Porcentagem retida nos tamises da DVF

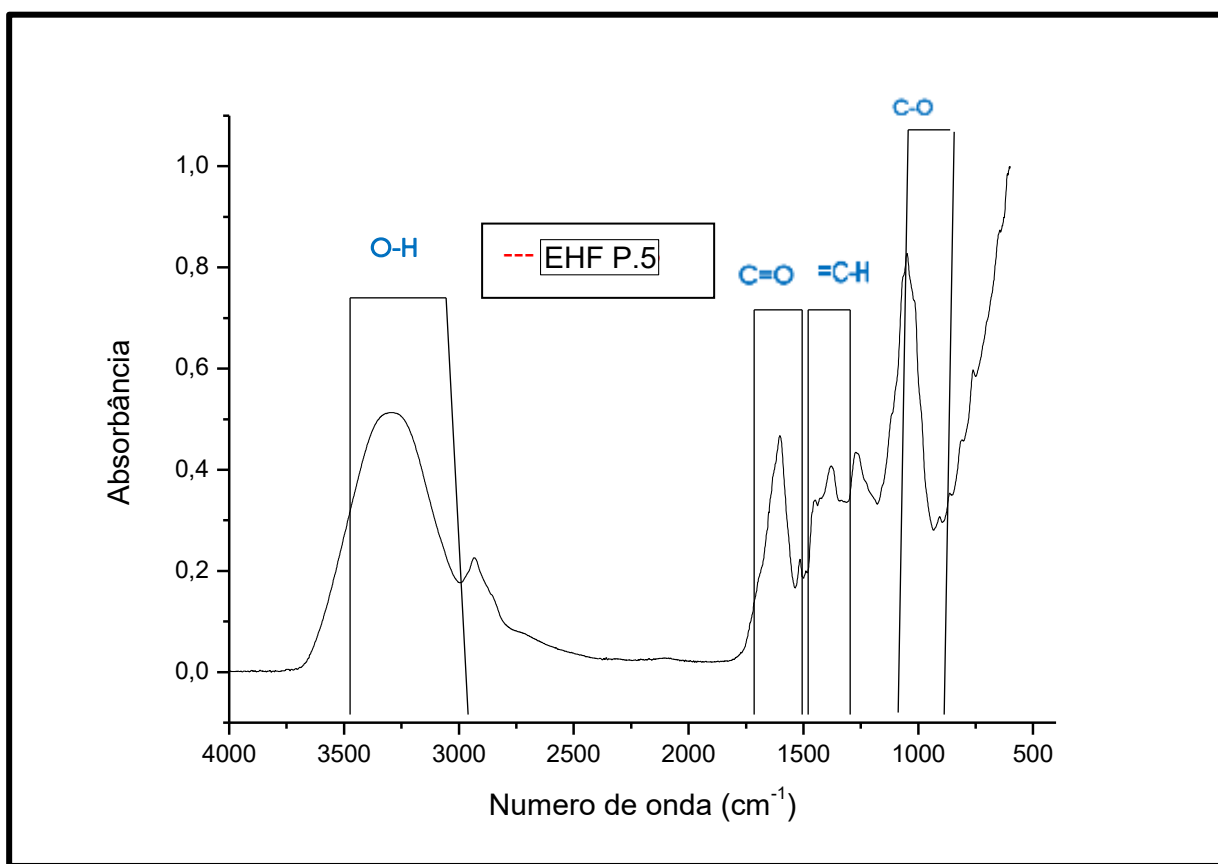
ABERTURA DO TAMIS (μm)	% RETIDA PELO TAMIS DA DVF
710	21,9
355	19,7
180	21,5
150	3,9
75	23,6
38	4,5
Coletor	0,03

Fonte: dados da pesquisa, 2020.

Assim, o rendimento de extração obtido foi de 16,38 %, sendo um rendimento considerável, quando comparado com os valores obtidos nos estudos de (Almeida *et al.* 2015) que foram, respectivamente 10,9 % e 12,1 % para as entre cascas e folhas da espécie *P. marginatum*, podemos classificar o resultado como bom, pois o valor percentual do rendimento de extração foi maior para espécie *P. simplicifolium*.

O extrato hidroalcólico das folhas (EHF-PS) de *P. simplicifolium* foi submetido à análise por espectroscopia no infravermelho (IV) visando identificar os principais grupos funcionais presentes nele. A partir da análise do espectro de IV do extrato EHF-PSF (Figura 7), foi possível observar bandas de estiramentos na região de 3400 cm^{-1} sugestivos de grupamento hidroxila. Foi possível verificar, também, uma banda em aproximadamente 1700 cm^{-1} com características da função carbonila. As absorções próximas de 1000 cm^{-1} são compatíveis com ligações C-O, mostrando a presença de grupos funcionais oxigenados (PAVIA, 2010). O espectro de EHF-PS apresentou bandas na região de 1500 cm^{-1} compatível com estiramento da ligação $=\text{C-H}$ de anel aromático (PAVIA, 2010).

Figura 7– Espectros na região do infravermelho com transformada de Fourier do EHF-PS, na forma de absorbância.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2020.

5.1.1 Prospecção Fitoquímica

O extrato hidroalcolólico das folhas (EHF-PS) de *P. simplicifolium* foi submetido à prospecção fitoquímica e as principais classes de metabólitos secundários encontrados estão apresentadas na Tabela 6.

Estes resultados parcialmente positivos, para a presença das classes de flavonóides e positivos para esteróides, triterpenos e alcalóide no extrato, estão de acordo com os encontrados na literatura para espécie *P. marginatum* (PAIVA *et al.*, 2013).

Tabela 6 – Classes de metabólitos secundários analisados nos extratos de *P. simplicifolium*.

Classes de metabólitos secundários	EHF-PS
Saponinas	-
Polissacarídeos	-
Fenóis e Taninos	-
Flavonóides	+/-
Esteróides e Triterpenos	+
Alcalóides	+

(+) Presença; (-) Ausência; (+/-) Fraca presença.

Fonte: dados da pesquisa, 2020.

5.1.2 Análise quantitativa de Flavonóides

A análise quantitativa evidenciou teores de flavonóides $73,161 \pm 0,08$ mg/g para o EHF-PS. Essa classe de substâncias já foi detectada em outras espécies de *Pseudobombax*, no entanto, ainda não havia estudos semelhantes realizados para *Pseudobombax simplicifolium*. Essa análise quantitativa também confirma a análise qualitativa mostrada na Tabela 6, justificando as concentrações ainda que baixas de flavonóides presentes nos extratos.

5.2 Determinação estrutural das substâncias isoladas (PSF-01 e PSF-02)

5.2.1 Determinação estrutural de PSF01

PSF-01 apresentou-se como um sólido cristalino branco com formato de agulhas com ponto fusão 211°C e sua estrutura foi determinada com base na análise de seus dados espectrais, particularmente, de ressonância magnética nuclear de hidrogênio e carbono 13 (RMN de ^1H e ^{13}C), utilizando técnicas uni e bidimensionais. O espectro de RMN de ^{13}C de **PSF-01** (Figura 08) apresentou 30 linhas espectrais características de um triterpeno. A análise comparativa desse espectro com o espectro RMN de ^{13}C - técnica DEPT 135° (Figura 09) permitiu verificar a presença de 7 carbonos metílicos (CH_3), 11 metilênicos (CH_2) e 6 metínicos (CH), e devido a diferença, restaram-se 6 carbonos não hidrogenados. Um sinal em δ_{C} 79,4 sugeriu a ocorrência de carbono carbinólico, e os dois sinais em δ_{C} 109,5 (CH_2) e 151,2(C), foram atribuídos a sinais de carbonos referentes a uma ligação dupla dissustituída e terminal. O espectro de RMN de ^1H (Figura 10) exibiu um grande número de sinais na região entre δ_{H} 0,81-1,73, sendo que nessa faixa

foram observados seis simpletos, que foram atribuídos a hidrogênios de grupo metila ligados a átomos de carbono saturados e não hidrogenados, e um simpleto correspondente à metila em δ_H 1,73 ligada a carbono insaturado. Também foi observado um sinal em δ_H 3,23 (1H, dd, $J=4,8$ e $11,4$ Hz) compatível com hidrogênio ligado ao carbono oxigenado em C3. O espectro de RMN 1H mostrou, também, dois sinais em δ_H 4,61 (1H, sl) e 4,74 (1H, sl), característicos de hidrogênio ligado a Csp^2 , corroborando a presença de uma ligação dupla terminal, característica de triterpeno com esqueleto lupano. Essas informações indicam que o **PSF-01** trata-se do triterpeno lupeol (JEFFREYS *et al.*, 2016) e foram confirmadas através dos dados de RMN bidimensionais (Figuras 11 a12).

Através da análise do espectro bidimensional de correlação homonuclear COSY $^1H \times ^1H$ (Figura 11) notou-se correlação entre o hidrogênio em δ_H 3,23 (H-3) e o hidrogênio em δ_H 1,59 (H-2), entre o hidrogênio δ_H 0,72 (H-5) com o hidrogênio δ_H 1,41 (H-6) e entre os hidrogênios δ_H 4,74 e 4,61 (H-29) e δ_H 1,73 (H-30) (Figura 11).

O mapa de correlação heteronuclear HSQC ($^1H \times ^{13}C$), Figura 11, mostrou correlações dos sinais em δ_H 4,74 e 4,61 (H-29) com o sinal de carbono em δ_C 109,5 (C-29), do sinal em δ_H 3,23 (H-3) com carbono em δ_C 79,4 (C-3) e do sinal em δ_H 2,41 (H-19) com o carbono em δ_C 48,8 (C-19), confirmando as informações obtidas nos espectros de RMN de 1H e ^{13}C da presença de uma ligação dupla dissustituída e um carbono ligado a hidroxila na estrutura de **PSF-01**.

As posições desses grupos foram confirmadas através das correlações a longa distância (a duas ou a três ligações), observadas no espectro de correlação heteronuclear HMBC (Figura 12), o qual exibiu as correlações dos hidrogênios em δ_H 4,74 (H-29) e 1,73 (3H-30) com o δ_C 48,8 (C-19), do hidrogênio em δ_H 2,41 (H-19) com os sinais em δ_C 109,5 (C-29) e δ_C 19,5 (C-30). Dos hidrogênios em δ_H 2,41 (H-19) e δ_H 1,73 (3H-30) com o carbono em δ_C 151,2 (C-20), corroborando a posição da ligação dupla. Observou-se, também, correlações dos hidrogênios em δ_H 0,99 s (3H-23) e 0,81 (3H-24) com os carbonos em δ_C 79,4 (C-3) e δ_C 55,5 (C-5), que confirmaram a posição do carbono carbinólico do lupeol.

Figura 8—Espectro de RMN de ^{13}C -BB (125 MHz; CDCl_3) de PSF-01.

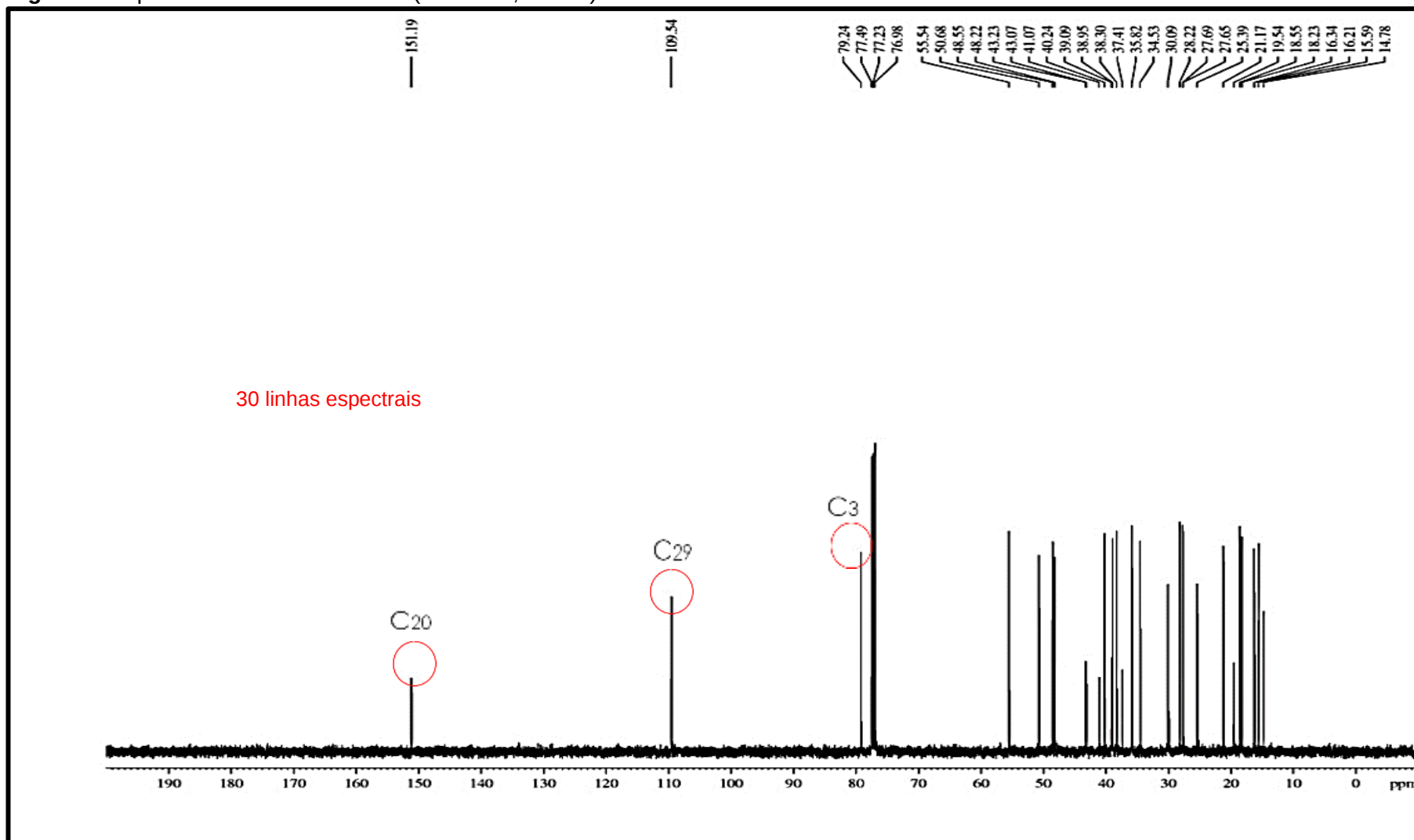


Figura 9– Espectro de RMN de ^{13}C –DEPT 135° (125 MHz; CDCl_3) de PSF-01.

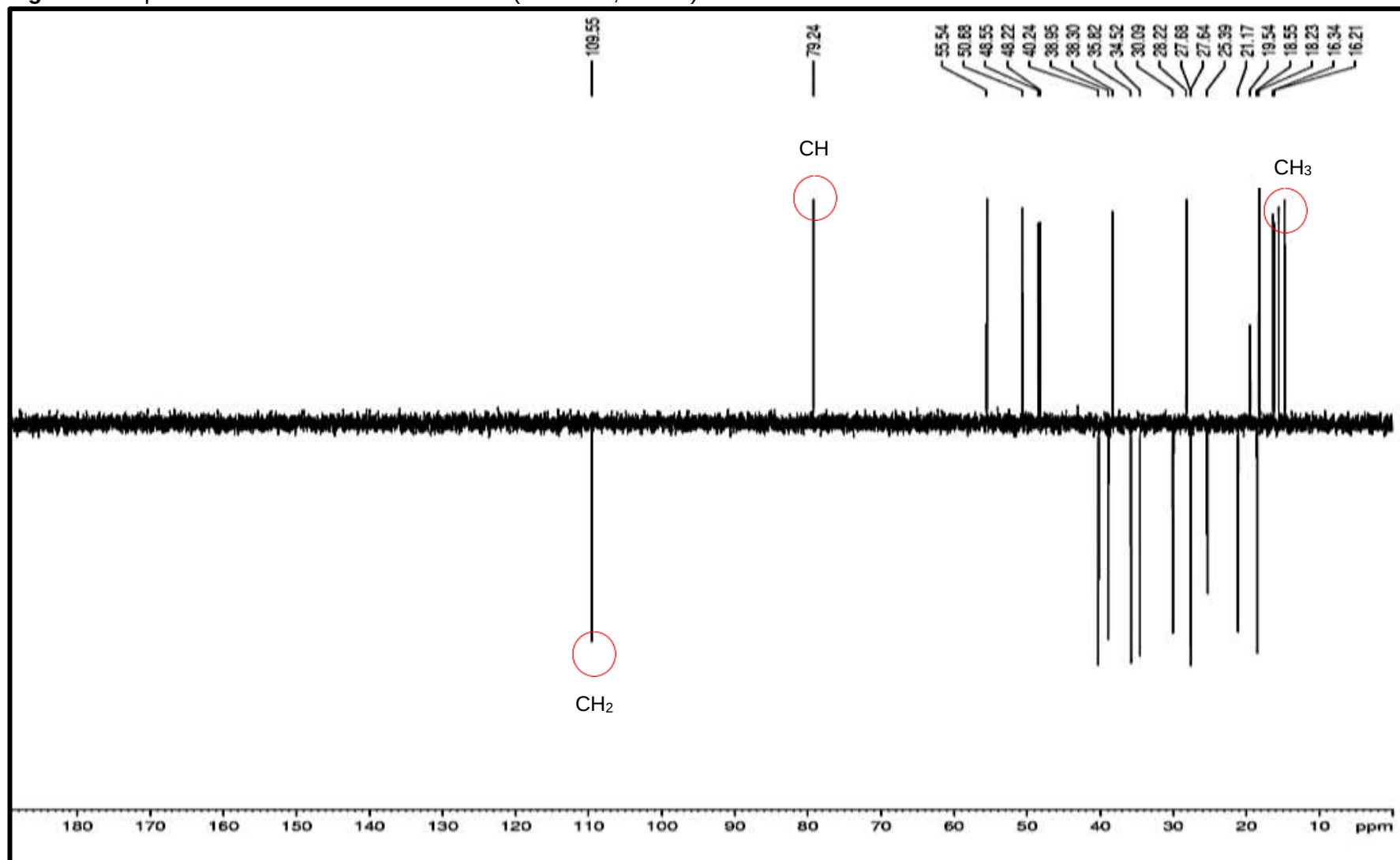


Figura 10– Espectro de RMN de ^1H (500 MHz; CDCl_3) de PSF-01.

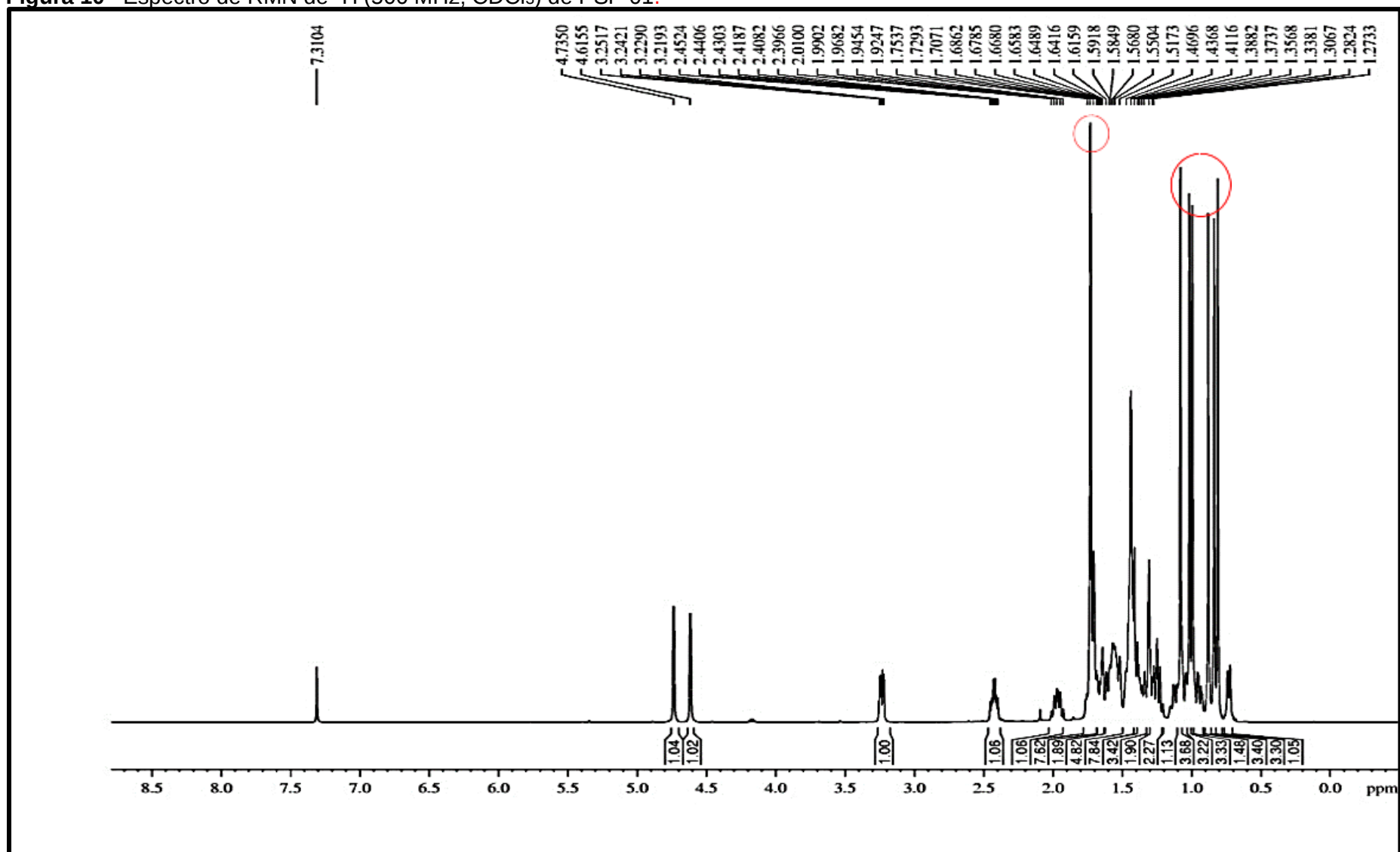


Figura 11 – Mapa de correlação homonuclear- COSY ^1H x ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) de PSF-01.

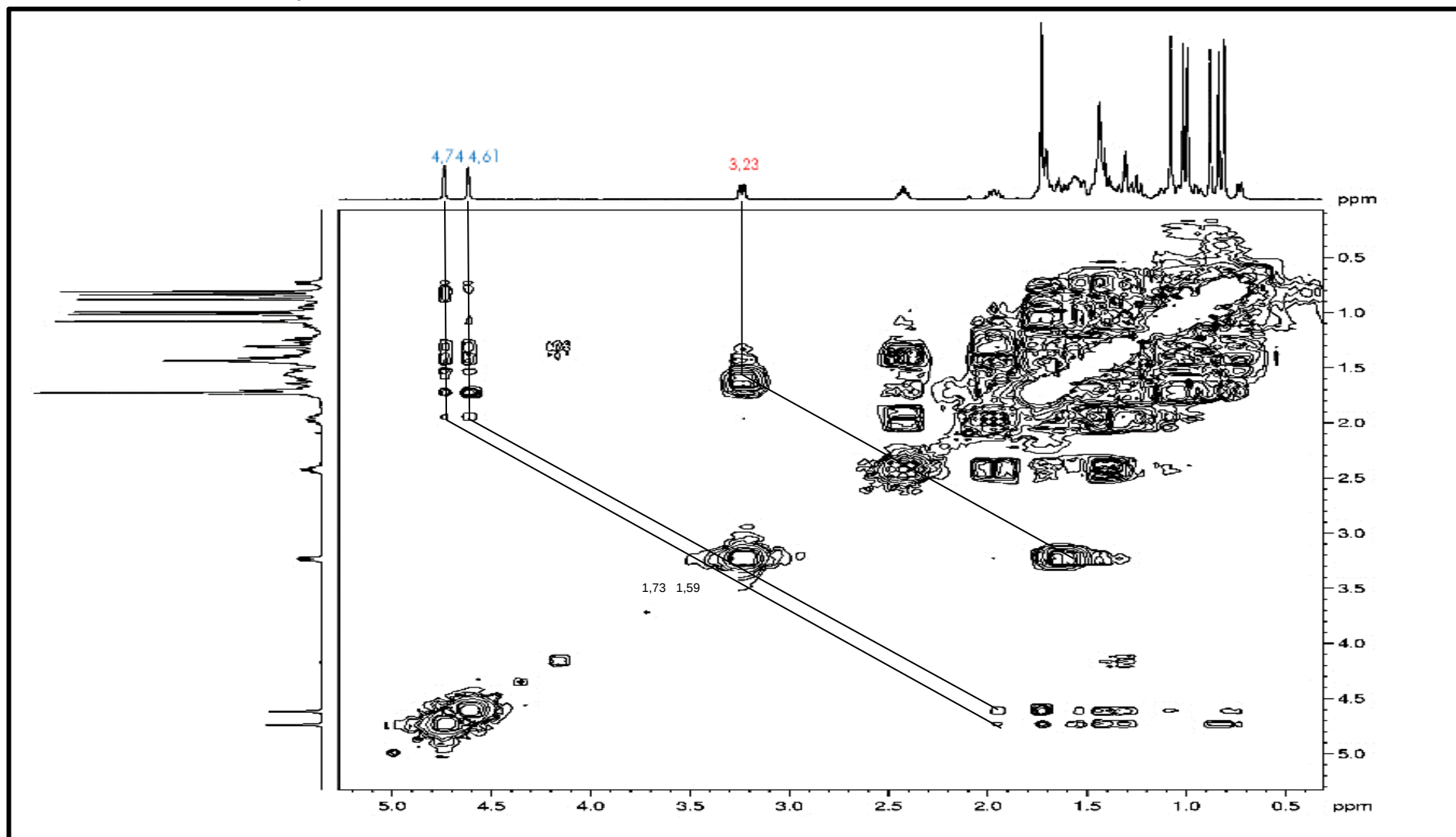


Figura 12– Mapa de correlação heteronuclear – HSQC(CDCl₃, 125X 500 MHz) de PSF-01.

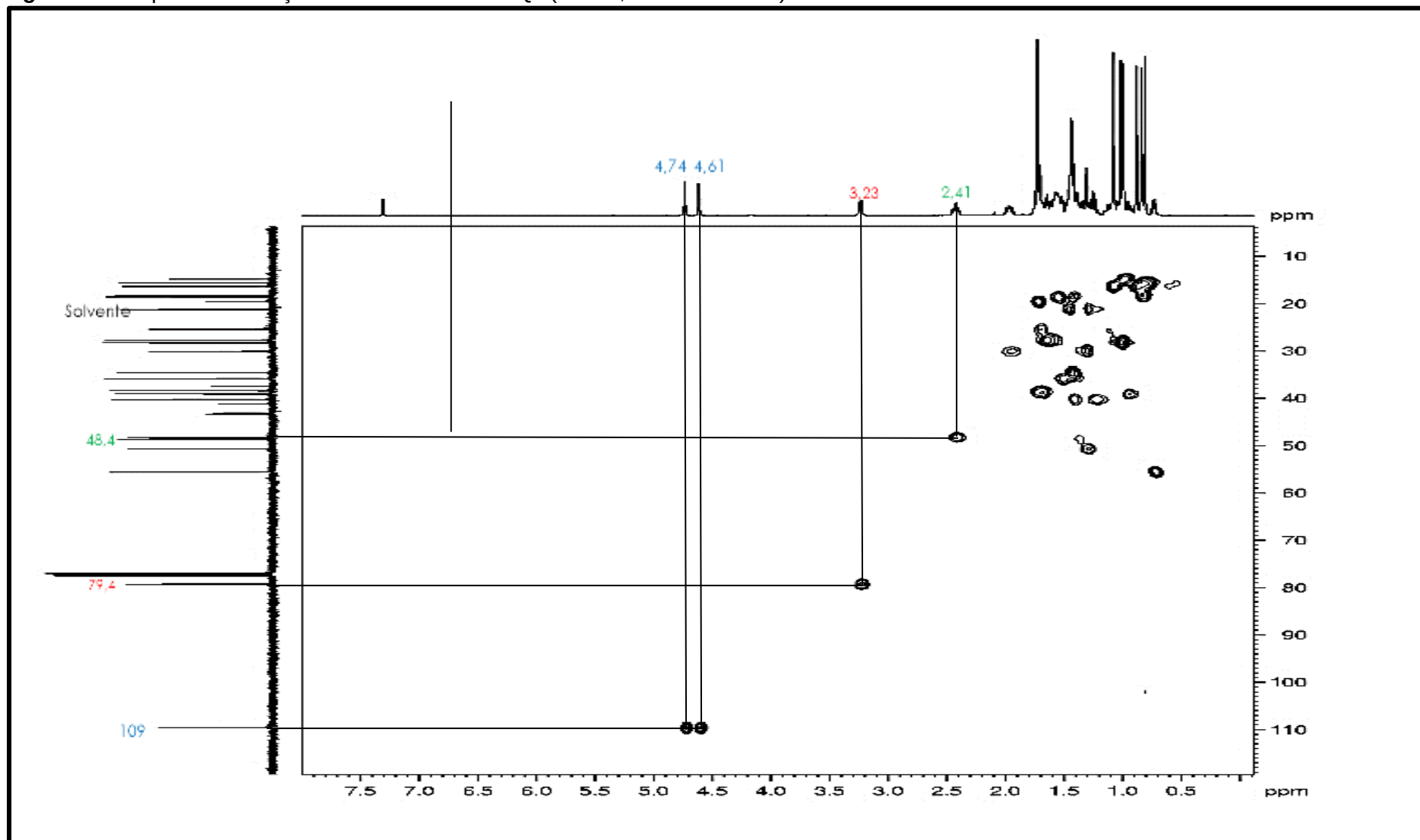
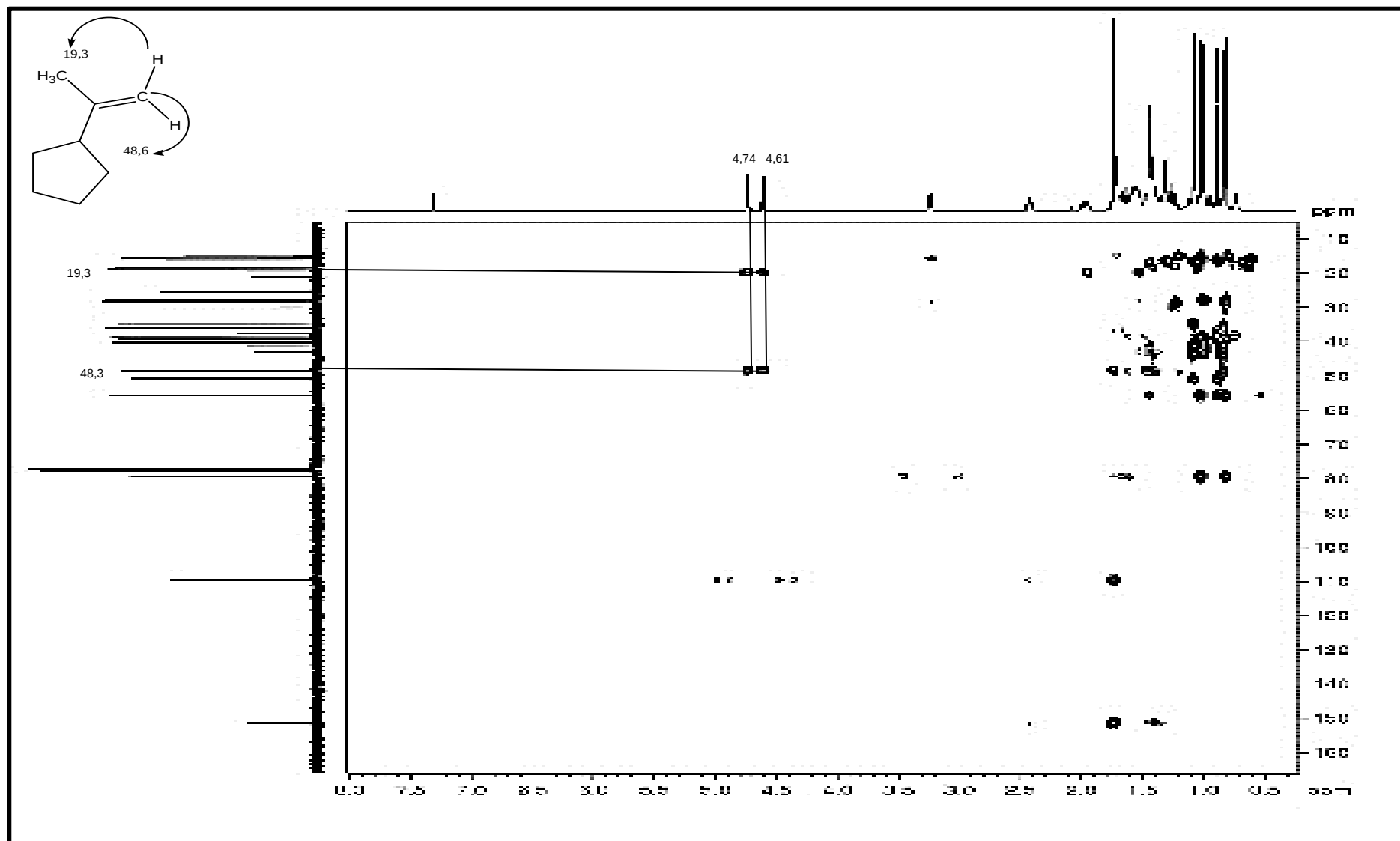


Figura 12– Mapa de correlação heteronuclear- HMBC (CDCl_3 , 125 x 500 MHz) de PSF-01.



A partir da análise destes dados em comparação com os da literatura (Tabela 7) (ARATANECHMUGE *et al.*, 2004; JEFFREYS; NUNEZ, 2016) foi possível determinar a estrutura de **PSF-01** como sendo o Lup-20(29)-en- 3 β -ol ou lupeol (Figura 14), um triterpeno comumente isolado de plantas e que está sendo isolado pela primeira vez na espécie. O lupeol é conhecido na literatura por apresentar um amplo espectro de atividade biológica, tais como: Anti-inflamatória, anticâncer, antimicrobiana, entre outras (JEFFREYS *et al.*, 2016).

Figura 13– Estrutura da substancia **PSF01** isolada e identificada como lupeol

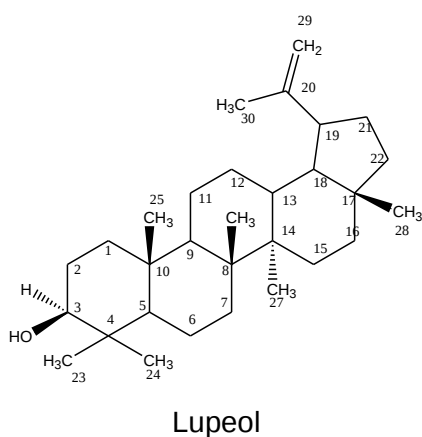


Tabela 7 – Dados de RMN de ^1H e de RMN de ^{13}C de PSF-01 comparados com dados da literatura do lupeol (CDCl_3 , 300 MHz) (ARATANECEMUGE et al., 2004; JEFFREYS & NUNEZ, vol.46,2016)

C	δ_c (PSF-01)	δ_H (PSF-01)	δ_c (lit.)	δ_H (lit.)
1	39,1	1,65(1H, m); 0,95(1H, m)	38,7	1,65 (1H, m); 0,90(1H, m)
2	27,7	1,59 (1H, m); 1,68 (1H, m)	27,4	1,59 (1H, m); 1,67 (1H, m)
3	79,4	3,23 (1H, dd, J=4,8 e 11,4 Hz)	79,0	3,20 (1H, dd, J=5,03 e 11,5Hz)
4	39,0	-	38,7	-
5	55,5	0,72 (1H, m)	55,3	0,68 (1H, m)
6	18,5	1,41 (1H, m); 1,52 (1H, m)	18,3	1,40 (1H, m); 1,50 (1H, m)
7	34,5	1,32 (1H, m); 1,44 (1H, m)	34,3	1,32 (1H, m); 1,42 (1H, m)
8	41,1	-	40,9	-
9	50,7	1,29 (1H, m)	50,5	1,29 (1H, m)
10	37,4	-	37,2	-
11	21,2	1,21 (1H, m); 1,41 (1H, m)	20,9	1,20 (1H, m); 1,40 (1H, m)
12	25,4	1,08 (1H, m); 1,69 (1H, m)	25,5	1,07 (1H, m); 1,68 (1H, m)
13	38,3	1,70 (1H, m)	38,1	1,68 (1H, m)
14	43,2	-	42,8	-
15	27,6	1,04 (1H, m); 1,69 (1H, m)	27,4	1,00 (1H, m); 1,68 (1H, m)
16	35,8	1,37 (1H, m); 1,48 (1H, m)	35,6	1,37 (1H, m); 1,48 (1H, m)
17	43,0	-	42,8	-
18	48,6	1,37 (1H, m)	48,3	1,37 (1H, m)
19	48,2	2,41 (1H, dt, J=5,8;11,0;11,0 Hz)	48,0	2,38 (1H, dt, J=5,6; 11,0; 11,0 Hz)
20	151,2	-	151,0	-
21	30,1	1,37 (1H, m); 1,93 (1H, m)	29,9	1,37 (1H, m); 1,92 (1H, m)
22	40,2	1,37 (1H, m); 1,21 (1H, m)	40,0	1,37 (1H, m); 1,19 (1H, m)
23	28,2	0,99(3H, s)	28,0	0,97 (3H, s)
24	15,6	0,81(3H, s)	15,3	0,76 (3H, s)
25	16,3	0,88(3H, s)	16,3	0,83 (3H, s)
26	16,2	1,08(3H, s)	16,0	1,03 (3H, s)
27	14,8	1,02(3H, s)	14,6	0,94 (3H, s)
28	18,3	0,84(3H, s)	18,0	0,79 (3H, s)
29	109,5	4,61(1H, sl); 4,74(1H, sl)	109,3	4,54 (1H, sl); 4,67 (1H, sl)
30	19,5	1,73(3H, s)	19,3	1,68 (3H, s)

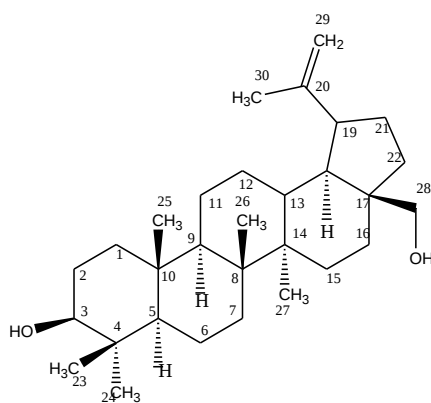
Fonte: Dados da pesquisa, 2020.

5.2.2 Determinação estrutural de PSF - 02

A substância **PSF-02** apresentou-se como um sólido branco, com formato amorfo e com ponto de fusão de 256 °C. Sua estrutura (Figura 15) foi determinada com base na análise de seus dados espectrais, particularmente, de ressonância magnética nuclear de hidrogênio e carbono 13 (RMN de ^1H e de ^{13}C). No espectro de RMN de ^1H (Figura 16) foi observado modelo de sinais na faixa de δ_{H} 0,85 a 1,78 estão associados ao esqueleto padrão encontrados em estruturas triterpênicas. Observou-se em δ_{H} 4,68 e δ_{H} 4,58 dois singletos largos, típico de um grupo exometileno de triterpeno com esqueleto lupano, semelhante ao espectro de RMN de ^1H de **PSF-01**. A análise comparativa dos espectros de RMN de ^1H mostrou que a principal diferença foi a presença de um par de dupletos centrados em δ_{H} 3,70 e δ_{H} 4,13 com integração para um hidrogênio cada sugerindo um grupo CH_2OH na estrutura de **PSF-02**. O espectro de RMN ^{13}C (Figura 17) apresentou 30 sinais que indicaram que a estrutura se refere a um triterpeno e muito semelhante ao espectro de RMN ^{13}C de **PSF-01**. A correlação entre RMN de ^1H e RMN de ^{13}C apresentados na tabela 8 com valores obtidos dos espectros e os valores da literatura que apontam para o composto betulina. No espectro do RMN de ^{13}C , os sinais em δ_{C} 151,6 e 110,3 correspondem aos carbonos da dupla ligação C20 e C29, respectivamente, sinais característicos de triterpeno com esqueleto do lupano. Em δ_{C} 78,5 e δ_{C} 60,8 percebe-se os carbonos hidroxilados que são correspondentes a C3 e C28, respectivamente. A presença das seis metilas em C4 (23 e 24), em C8 (26), C10 (25), C14 (27) e C20 (30) comprovam a estrutura da betulina.

Estas informações associadas a análises dos espectros bidimensionais (Figuras 19 – 21) e em comparação com os dados de RMN de ^1H e de ^{13}C da literatura (TIJJNJAI *et al.*, 2012 e ZELAK *et al.*, 2005) apresentados na Tabela 8, permitiram determinar a estrutura de **PSF-02** como sendo o Lup-20(29)-en-3 β -28-diol ou betulina (Figura 15), um triterpeno já descrito na literatura, mas que está sendo isolado pela primeira vez para o gênero *Pseudobombax*. A betulina é conhecida na literatura por apresentar um amplo espectro de atividade biológica, tais como: Anti-HIV, anti-inflamatória, anticâncer, antituberculose, antialérgico entre outras (TIJJNJAI *et al.*, 2012).

Figura 15 Estrutura da substancia **PSF02** isolada e identificada como betulina



Betulina

Figura 16 – Espectro de RMN de ^1H (Py, 500 MHz) de PSF-02.

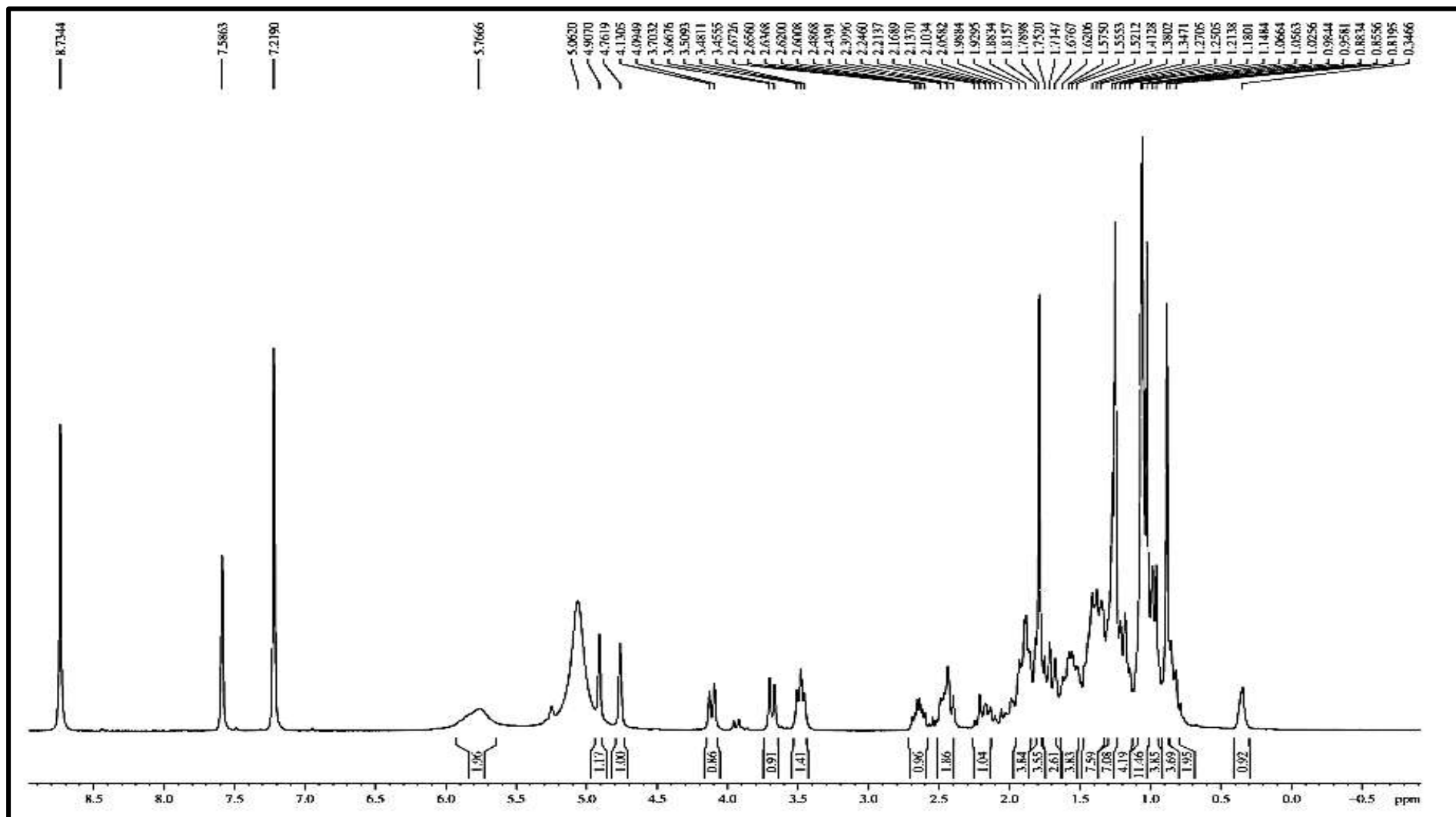


Figura 17 – Espectro de RMN de ^{13}C – BB - (Py, 125 MHz) de PSF-02.

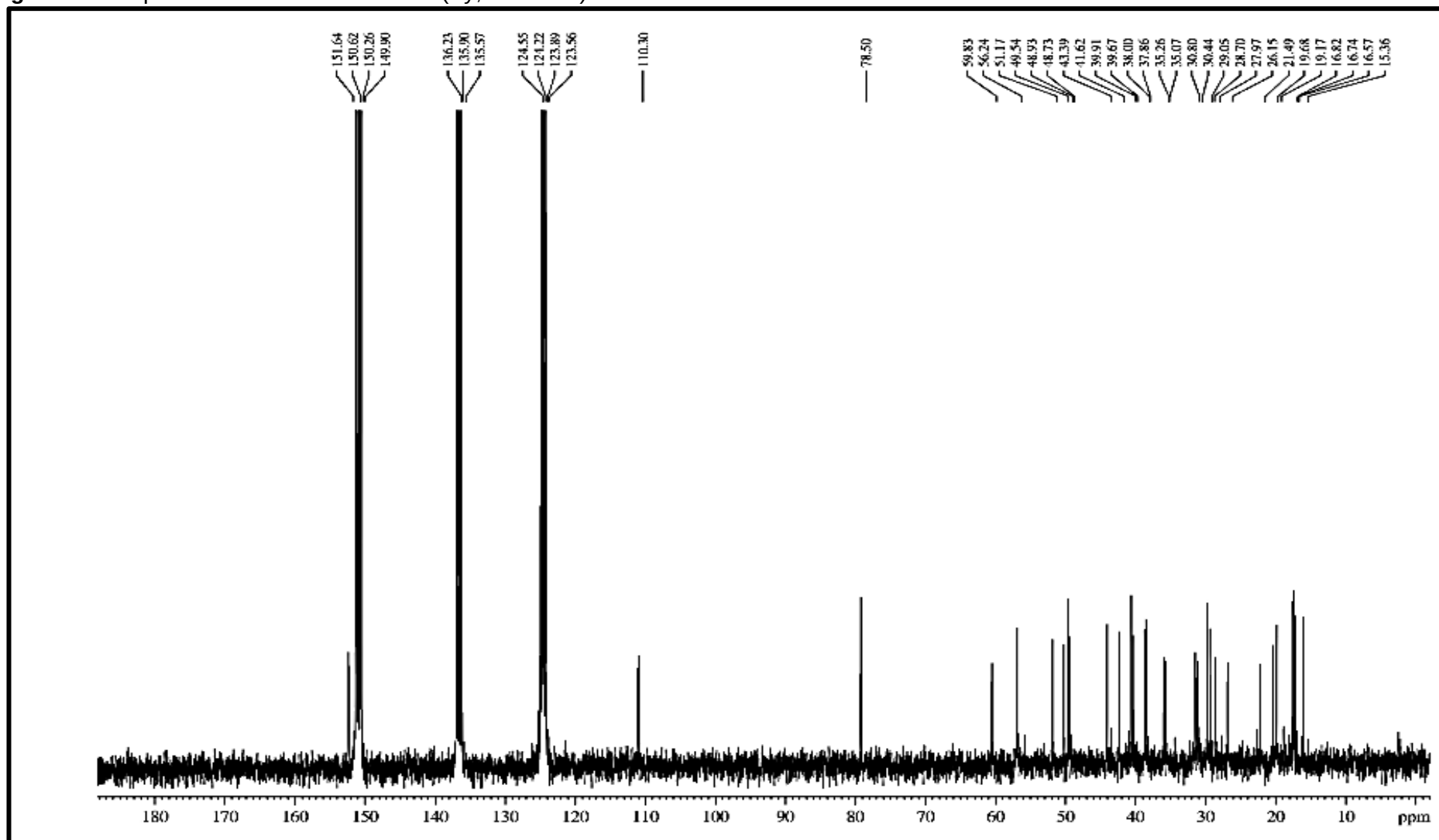


Figura 18 – Espectro de RMN de ^{13}C – DEPT 135° (Py, 125 MHz) de PSF-02.

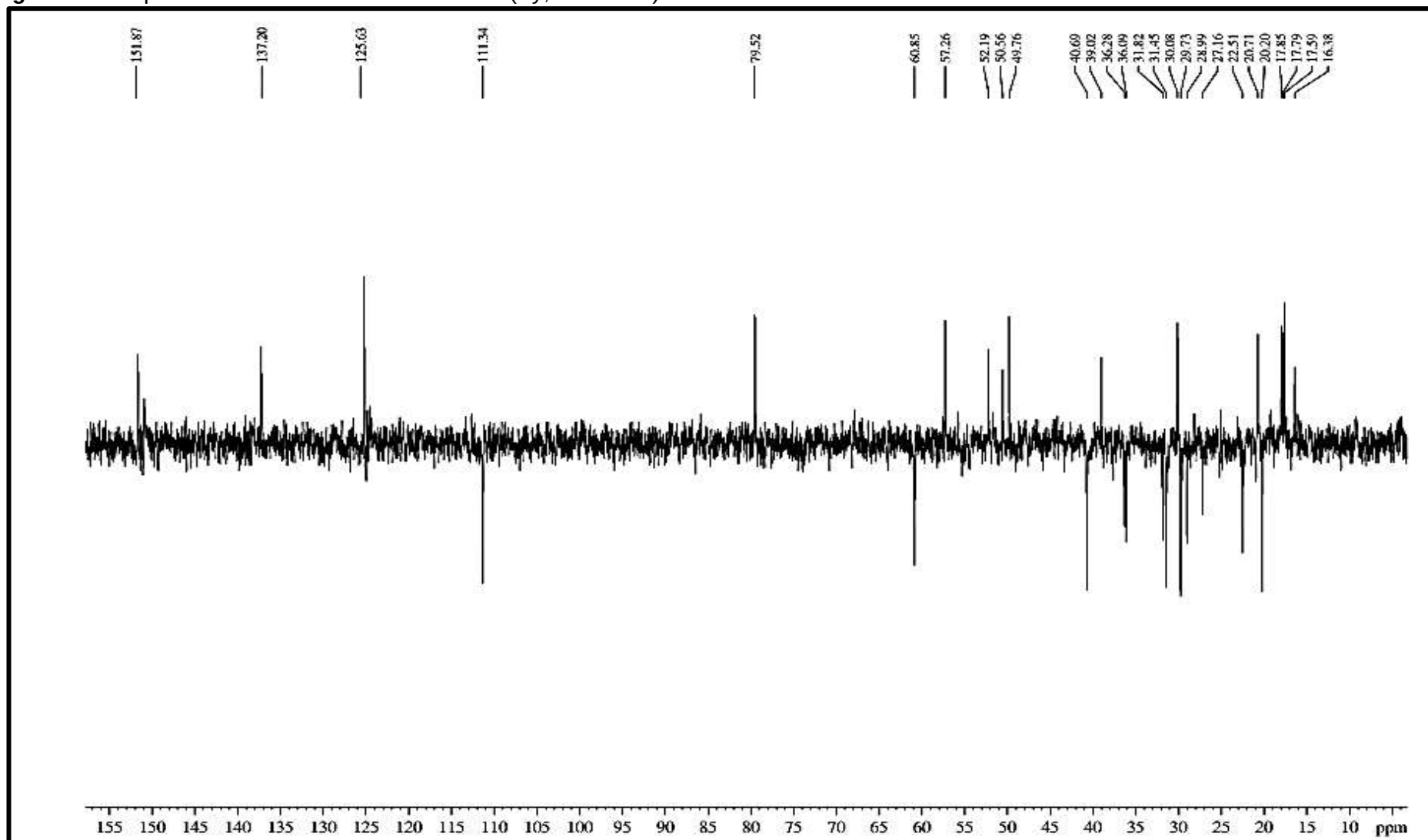


Figura 19 – Mapa de correlação homonuclear – COSY $^1\text{H}\times^1\text{H}$ (Py, 125 x 500 MHz) de PSF-02.

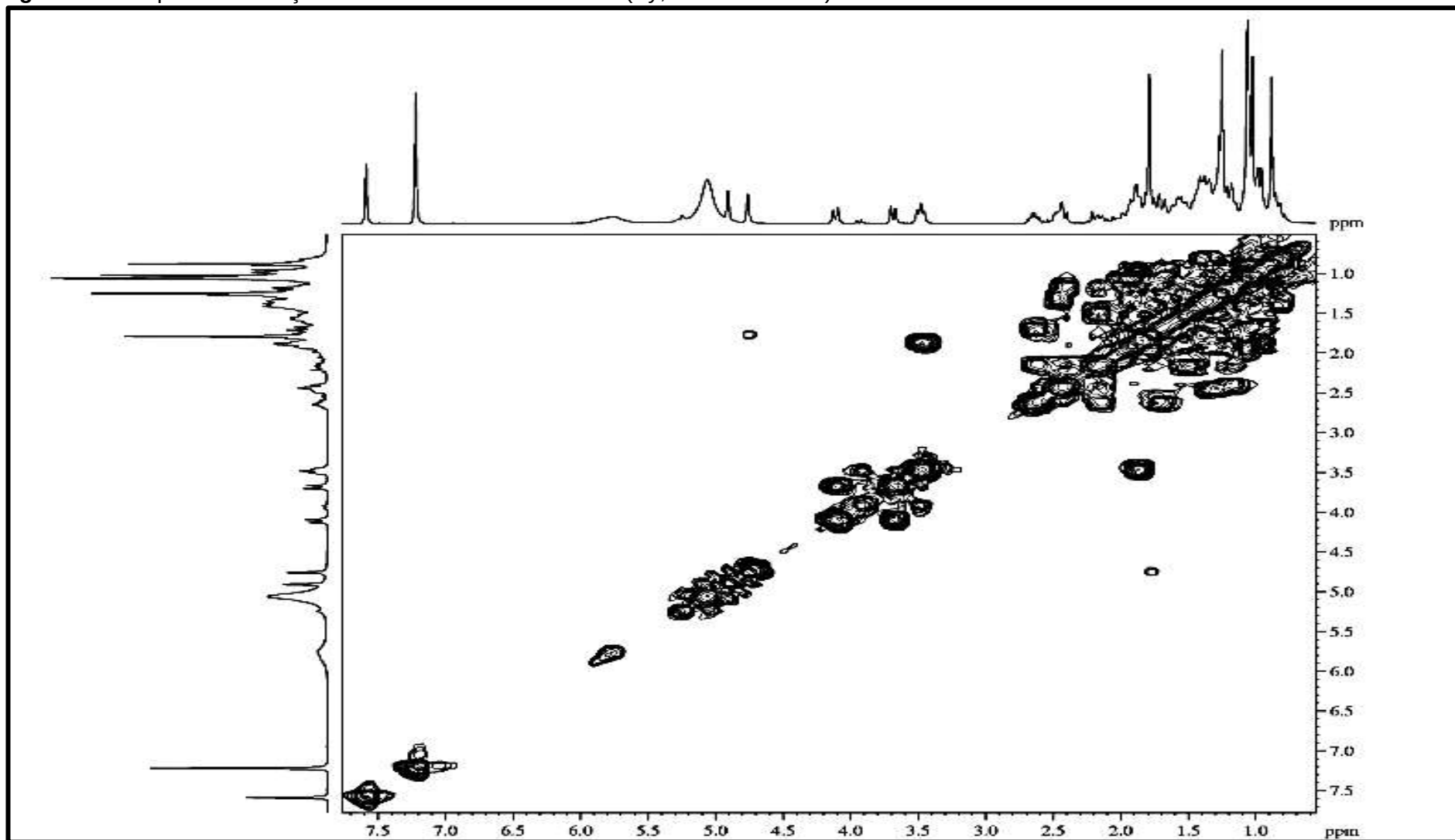


Figura 20 – Mapa de correlação heteronuclear- HMBC (Py, 125 x 500 MHz) de PSF-02.

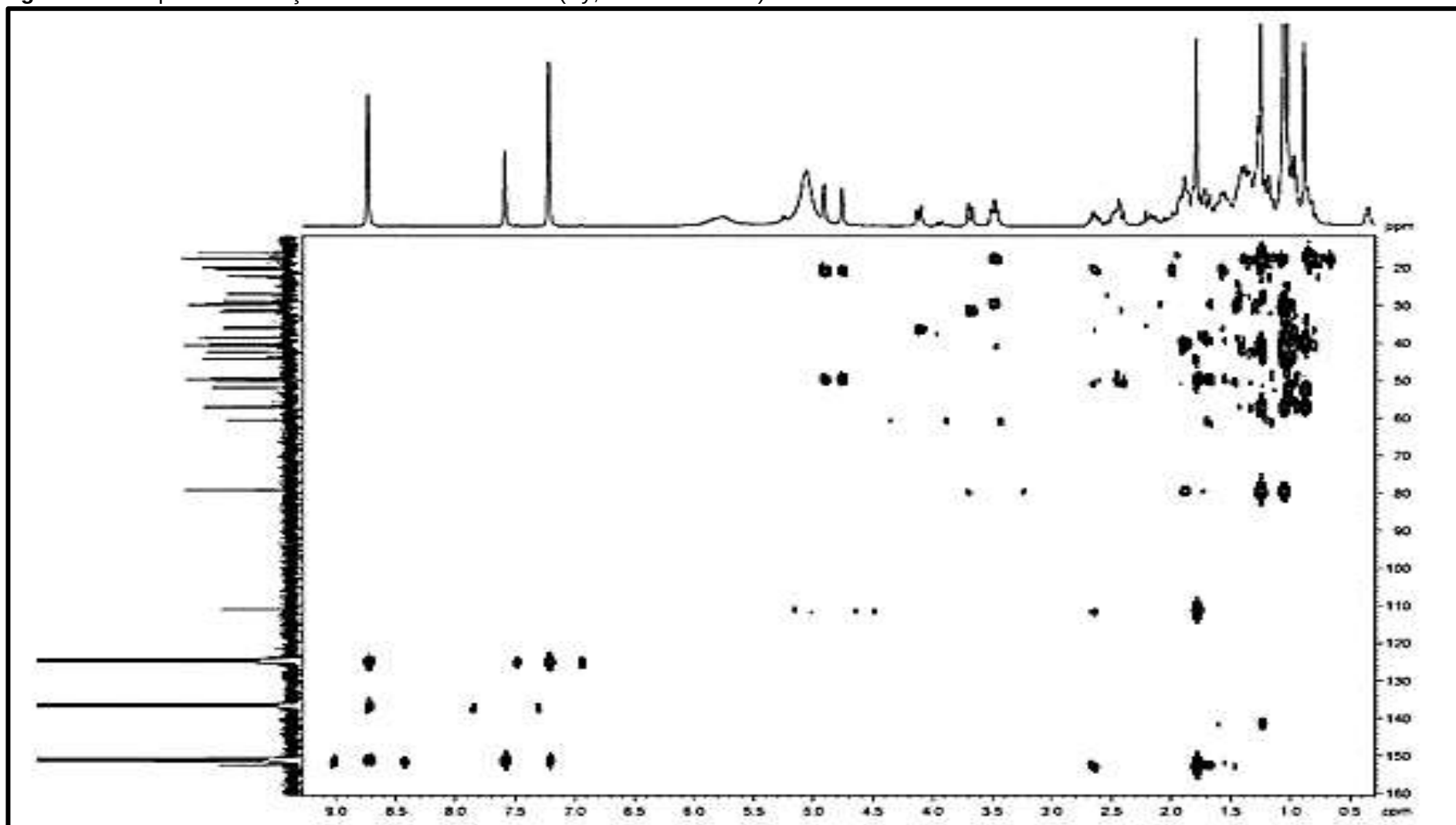


Figura 21 – Mapa de correlação heteronuclear- HSQC (Py, 125 x 500 MHz) de PSF-02.

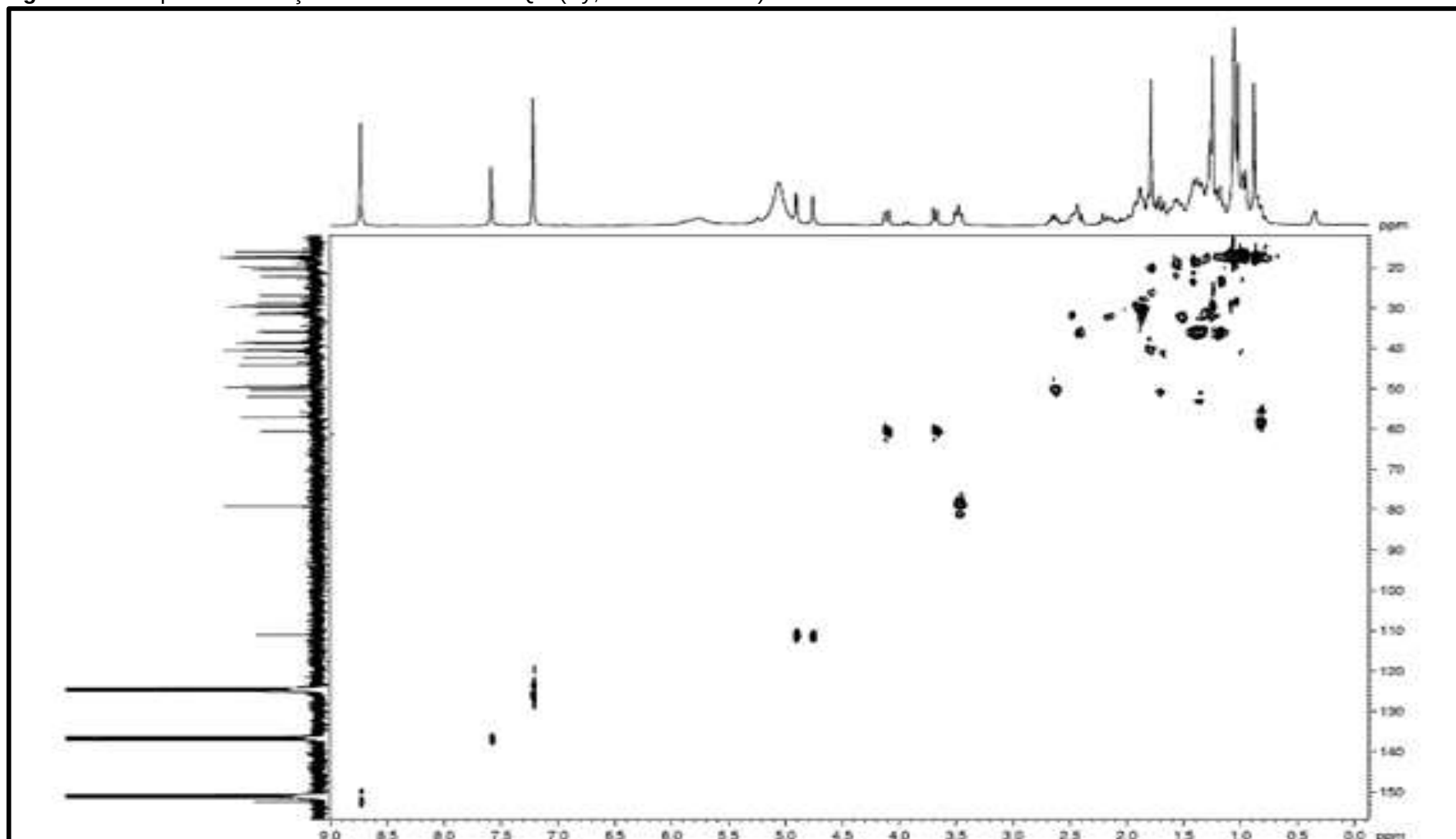


Tabela 8 – Dados de RMN de ^1H e de RMN de ^1H e ^{13}C (CDCl_3 , 125 x 500 MHz) de **PSF-02** comparados com dados da literatura da Betulina (TIJJANI et al, 2012 e ZELAK et al, 2005).

C	δ_c (PSF-02)	δ_H (PS-02)	δ_c (lit.)	δ_H (lit.)
1	39,9	1,57 (1H, m) 1,38 (1H, m)	38,9	-
2	27,9	2,2 (1H, m) 1,92 (1 H, m)	27,5	-
3	78,5	3,45 (1H, t)	79,2	3,18 (1H, dd, J=5,3)
4	39,6	-	38,8	-
5	56,2	1,34 (1H, t)	55,4	-
6	19,2	1,55 (1H, m) 1,38 (1H, m)	18,4	-
7	35,2	1,57 (1H, m) 1,38 (1H, m)	34,3	-
8	41,6	-	41,0	-
9	51,1	1,34 (1H, t)	50,5	-
10	38,0	-	37,4	-
11	30,4	1,55 (1H, m) 1,38 (1H, m)	29,9	-
12	21,5	1,55 (1H, m) 1,38 (1H, m)	25,3	-
13	37,8	141 (1H, m)	37,2	-
14	43,4	-	42,8	-
15	26,1	1,57 (1H, m) 1,38 (1H, m)	27,1	-
16	29,0	1,57 (1H, m) 1,38 (1H, m)	29,2	-
17	48,9	-	47,9	-
18	48,7	1,41 (1H, t)	47,7	-
19	49,5	2,63 (1H,m)	48,8	-
20	151,6	-	150,6	-
21	30,8	1,62 (1H, m) 1,38 (1H, t)	29,8	-
22	35,2	1,52 (1H, m) 1,34 (1H, t)	34,1	-
23	28,7	0,88(3H, s)	28,1	0,96 (3H, s)
24	16,5	0,85(3H, s)	15,4	0,84 (3H, s)
25	16,8	0,92 (3H s)	16,2	0,98 (3H s)
26	16,7	1,02 (3H, s)	16,1	1,02 (3H, s)
27	15,3	1,25(3H, s)	14,8	1,25(3H, s)
28	59,8	4,13 (1H, d) e 3,70 (1H d)	60,8	4,13 (1H, d) e 3,66 (1H d)
29	110,3	4,58(1H, sl); 4,68(1H, sl)	109,8	4,76 (1H, sl); 4,90 (1H, sl)
30	19,2	1,78 (3H, s)	19,2	1,68 (3H, s)

Fonte: Dados da pesquisa (2020)

6 ATIVIDADE BIOLÓGICA

6.1 Atividade Antimicrobiana

Para atividade antimicrobiana foram realizados testes com o extrato bruto das folhas frente às cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC) 28923 de acordo com as concentrações indicadas, conforme mostrado na Tabela 9.

Tabela 9 – Atividade antimicrobiana dos EHF frente às cepas de *S. aureus*.

Amostras	Concentrações em $\mu\text{g mL}^{-1}$					
	13	6,5	3,3	1,6	0,8	0,4
EHF-PS	ND	ND	ND	ND	ND	ND

Nd: não houve atividade antimicrobiana; os **valores** foram expressos em porcentagem de inibição do crescimento microbiano.

Os resultados exibidos para o extrato não apresentaram atividade frente às cepas de *S. aureus* em uma faixa de concentrações que se encontra entre os valores de 0,4 a $13 \mu\text{g mL}^{-1}$. Esses dados implicam na necessidade da realização de novos testes microbiológicos frente a outras cepas bacterianas trazendo mais informações e dados para corroborar com a identificação da possível atividade antimicrobiana do extrato da espécie em estudo.

6.2 Atividade Antioxidante

A avaliação da atividade antioxidante do extrato (EHF-PS) foi realizada por três diferentes métodos DPPH, ABTS e CAT, pois vários autores indicam a necessidade de mais de um método para esse tipo de avaliação em trabalhos com plantas, devido aos diferentes mecanismos de ação de antioxidantes. Assim, podemos levar em consideração os valores das amostras padrão de referência em comparação aos resultados obtidos para o extrato de *P. simplicifolium* em cada método testado, como mostrado na Tabela 10.

Tabela 10 – Atividade antioxidante do extrato de *P. simplicifolium* frente aos métodos DPPH, ABTS e CAT.

Amostras	DPPH•+ IC ₅₀ (µg mL ⁻¹)	ABTS•+ IC ₅₀ (µg mL ⁻¹)	CAT IC ₅₀ (µg mL ⁻¹)
Trolox	51,16	112,34	ND
Ácido ascórbico	ND	ND	500,00
BHT	266,53	482,38	-
EHF-PS	81,39	174,14	4343,0

* Concentrações do extrato em relação aos padrões que obtiveram atividade antioxidante. ND - Não determinada.

Fonte: dados da pesquisa, 2020.

Os resultados da atividade antioxidante dos extratos brutos obtido das folhas de *P. simplicifolium* estão apresentados na Tabela 10. Conforme descrito na literatura, a atividade antioxidante para o extrato com valores de IC₅₀ inferior a 50 µg mL⁻¹ indica elevado efeito inibitório; IC₅₀ inferior a 100 µg mL⁻¹ apresenta eficiente efeito inibidor; IC₅₀ inferior a 500 µg mL⁻¹ indica moderado efeito inibidor e IC₅₀ acima de 1000 µg mL⁻¹ não possui efeito inibidor (NGUTA et al., 2012). Levando-se em consideração essa classificação, e como pode ser observado na Tabela 10, o extrato EHF-PS se mostrou ativo para os métodos testados (DPPH, ABTS) e mostrou-se inativo frente o método CAT. Entre os métodos avaliados, a melhor atividade antioxidante dos extratos se deu para DPPH e ABTS destacando-se para teste de DPPH (IC₅₀ de 81,32 µg mL⁻¹) é semelhante ao relatado para a atividade antioxidante do extrato de Própolis verde (IC₅₀ de 80,64 µg mL⁻¹) que é considerado um bom antioxidante (GARCIA et al., 2011), indicando a boa capacidade antioxidante do extrato bruto de *P. simplicifolium*.

Nos resultados obtidos no ensaio de captura do ABTS⁺ o extrato apresenta-se ativo, dispondo de valor indicativo de uma boa atividade antioxidante, com IC₅₀ = 174,14 µg mL⁻¹, valor próximo ao o IC₅₀ do padrão trolox (IC₅₀ = 112,34 µg mL⁻¹) usado como controle positivo.

O teste de capacidade antioxidante total (CAT) tem como finalidade avaliar a capacidade que a amostra possui em doar elétrons neutralizando compostos com radicais livres. Os extratos apresentaram atividade antioxidante para o (CAT) mesmo com resultados muito acima de 500 µg mL⁻¹, podendo-se considerar o extrato inativo

para atividade antioxidante. Pois, comparando com a literatura sobre o tema, são tidos como inativos resultados acima de $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$. Pôde-se observar que a diferença para o extrato, foi muito distante em comparação com o padrão ácido ascórbico com $\text{IC}_{50} = 500 \mu\text{g mL}^{-1}$.

O extrato se destaca apresentando melhores atividades diante dos métodos DPPH e ABTS.

Estes resultados podem ser justificados pela presença dos compostos fenólicos que são responsáveis pela transferência de hidrogênio que neutraliza a ação desses radicais (BREWER, 2011). Assim, os resultados observados para o extrato EHF-PS podem estar associados à presença dos compostos fenólicos, além de esteróides e terpenos que foram identificados na análise fitoquímica preliminar desse extrato.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A pesquisa de compostos bioativos oriundos de espécies da família Malvaceae é algo relevante, tanto do ponto de vista econômico, quanto no aspecto do desenvolvimento local e preservação destas espécies. Dessa forma, o estudo desenvolvido com *P. simplicifolium*, uma espécie do semiárido nordestino brasileiro, foi importante, pois permitiu a identificação das características físico-químicas, como o pH, que se obteve a partir de uma droga vegetal de caráter relativamente ácido; considerando, também, o teor de cinzas, umidade, a densidade e a granulometria que foram obtidos através de resultados que estão de acordo com os valores preconizados na Farmacopéia Brasileira. O *screening* fitoquímico apresentou resultados positivos para alcalóides, esteróides e triterpenos. A análise qualitativa para esteróides, triterpenos mostrou um alto teor e um percentual baixo para flavonóides, indicando a presença dessas classes de metabólitos no extrato de *P. simplicifolium*.

A prospecção fitoquímica do extrato das folhas de *P. simplicifolium*, através de técnicas cromatográficas, permitiu o isolamento de dois constituintes químicos (**PSF-01 e PSF-02**), os quais tiveram sua estrutura elucidada, após a análise dos dados de RMN de ^1H e de ^{13}C e utilizando técnicas uni e bidimensionais, como sendo o lupeol e a betulina, respectivamente, são triterpenos já isolados de plantas, mas que estão sendo relatados pela primeira vez para a espécie. As substâncias identificadas possuem atividades farmacológicas com destaque para antiinflamatória. Considerando – se a presença de flavonóides e as atividades antioxidantes determinadas para o extrato, ressalta-se o potencial antiinflamatório e antioxidante da espécie.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, H. M.; OLIVEIRA, F. F. M.; FALCÃO, D. A. Análise fitoquímica dos extratos hidroalcoólico da entrecasca e da folha de *Pseudobombax marginatum* (St. Hill) Rob. **Blucher Chemistry Proceedings**, v. 3, n. 1, p. 301-308, 2015.
- AMIRIA, S. Betulin and its derivatives as novel compounds with different pharmacological effects. **Biotechnology Advances**, 2020.
- ARATANE CHEMUGE, Y.; HIBASAMI, H.; SANPI, K.; KATSUZAKI, H.; IMAI, K.; KOMIYA, T. Induction of apoptosis by lupeol isolated from mokuem (Gossypium malabarica L. Merr) in human promyelotic leukemia HL-60 cells. **Oncology Reports**, v. 11, n. 7, p. 289-292, 2004.
- ARAÚJO, R. C. P.; NEVES, F. A. R.; FORMAGIO, A. S. N.; KASSUYA, C. A. L.; STEFANELLO, M. E. A.; SOUZA, V. V.; PAVAN, F. R.; CRODA, J. Evaluation of the anti-mycobacterium tuberculosis activity and in vivo acute toxicity of *Annona sylvatica*. **BMC complementary and alternative medicine**, v. 14, n. 1, p. 209, 2014.
- BABU, SAYYAD SIPAI; MADHURI, DASARI BINDU; ALI, SHAIK LIAKHAT . A pharmacological review of Urena lobata plant. **Asian J. Pharm. Clin. Res.** v. 9, p. 20-22, 2016.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Farmacopeia Brasileira**, v. 1. 6. ed. Brasília, 2019.
- BREWER, M.S. Natural antioxidants: Sources, compounds, mechanisms of action, and potential applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, v.10, p.221-247, 2011. DOI:10.1111/j.15414337.2011.00156.x.
- BLOIS, M. Antioxidant Determinations by the use of a Stable Free Radical. **Nature**. v. 181, p. 1199-1200, 1958.
- JÚNIOR, J.T.; MORAIS, S. M.; MARTINS, C.G; VIEIRA, L. G.; BRAGA, M. F. B. M.; CARNEIRO, J. N. P.; MACHADO, A. J. P.; MENEZES, I. R. A.; TINTINO, S. R.; COUTINHO, H. D. M. Phytochemical Analysis and Modulation of Antibiotic Activity by *Luehea paniculata* Mart. and *Zucc.* (Malvaceae) in Multiresistant Clinical Isolates of *Candida* Spp. **BioMed research international**, v, 2015.
- CARVALHO SOBRINHO, J. **O gênero *Pseudobombax* Dugand (Malvaceae s. l., Bombacoidade) no estado da Bahia, Brasil**. 2006. 166f. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Programa de Pós-Graduação em Botânica, Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana (BA), 2006.
- CECHINEL FILHO, V. **Medicamentos de origem vegetal**: atualidades, desafios e perspectivas. Itajaí: Ed. UNIVALI, 2015.

- CHAVES, T. P.; SANTANA, C. P.; VÉRAS, G.; BRANDÃO, D. O.; FELISMINO, D. C.; MEDEIROS, A. C. D.; TROVÃO, D. M. B. M. Seasonal variation in the production of secondary metabolites and antimicrobial activity of two plant species used in Brazilian traditional medicine. *Afr. J. Biotechnol.* v. 12, p. 847-853, 2013.
- CHEN, Y.; CAI, G.; SUN, X.; CHEN, X. Treatment of chronic kidney disease using a traditional Chinese medicine, *Flos Abelmoschus manihot* (Linnaeus) Medicus (Malvaceae). *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, v. 43, n. 2, p. 145-148, 2016.
- COSTA, E. M. M. B.; BARBOSA, A. S.; FLORENTINO, V. G. B.; SILVA, J. D. F. da; TROVÃO, D. M. de B. M.; MEDEIROS, A. C. D. de. In vitro antimicrobial activity of an arid region of Paraíba, PB, Brazil. *Revista Odonto Ciência*, v. 28, n. 4, p. 101-104, 2013.
- CRETTON, S.; BRÉANT, L.; POURREZ, L.; AMBUEHL, C.; PEROZZO, R.; MARCOURT, L.; KAISER, M.; CUENDET, M.; CHRISTEN, P. Chemical constituents from *Waltheria indica* exert in vitro activity against *Trypanosoma brucei* and *T. cruzi*. *Fitoterapia*, v. 105, p. 55-60, 2015.
- DÍAZ, R. C. T. G.; ESPINOSA, R. C. A.; ILIZALITURRI, H. D.; GONZÁLEZ, M. V. G.; CILIA, L. Antioxidant Activity Assessment of Plants Used in Huastec Traditional Medicine, Mexico. *Journal of Pharmaceutical, Chemical and Biological Sciences*. 488-489, dez. 2015.
- FAGBOHUN, O. Chemical composition and antimicrobial activities of *Urena lobata* L. (Malvaceae), *Journal of Medicinal Plants Research*, 2012.
- GARCÍA, A. Á.; CARRIL, E. P.-U. Metabolismo secundário de plantas. *Reducao (biologia)*, v. 2, n. 3, 2011.
- ILAVARASAN, R.; MOHIDEEN, S.; VENKATARAMAN, S. Analgesic and anti-inflammatory properties of *Thespesia populneae* leaf extracts. *Natural product research*, v. 26, n. 17, p. 1616-1620, 2012.
- JATSA, H. B.; PEREIRA, C. A. J.; PEREIRA, A. B. D.; CORRÊA, D. A. N.; BRAGA, F. C.; MACIEL, G. M.; CASTILHO, R. O.; KAMTCHOUING, P.; TEIXEIRA, M. M. In vitro evaluation of *Sida pilosa* Retz (Malvaceae) aqueous extract and derived fraction on *Schistosoma mansoni*. *Pharmacology & Pharmacy*, v. 6, n. 08, p. 380, 2015.
- JEFFREYS, M. F.; NÚÑEZ, C. V. Triterpenos das folhas de *Piranhea trifoliata* (Picrodendraceae). *Acta Amazônica*, v. 45, p. 189-194, 2016.
- KAUR, K.; JAIN, M.; KAUR, T.; JAIN, T. Review of antimalarials from nature. *Bioprogram & medicinal chemistry*, n. 9, 2009.
- LALMUANTHANGA, C.; ROY, D. C.; ALI, M. A.; ROY, R. K.; YADAV, S.; BORAH, P.; TAMULI, S.; SHANTABI, L. In vitro antioxidant activity of *Abelmoschus moschatus*. *International Journal of Chemical Studies*, 2019.
- LIMA, J. B.; BOVINE, M. G.; CONCEIÇÃO, S. A. Bombacoideae, Byttnerioideae, Grewioideae and Helicterioideae (Malvaceae s.l.) in the Raso da Catarina Ecotone, Bahia, Brazil. *Biota Neotrop*, v. 19, n. 3, 2019.

MAH, SIAU HUI; TEH, SOEK SIN; EE, GWENDOLINE CHENG LIAN. Anti-inflammatory, anti-cholinergic and cytotoxic effects of *Sidarrhombifolia*. **Pharm. Biology**, v. 55, p. 920-928, 2017.

MASKOVIC, P. Z.; CKOVIC, V. V.; DUROVIC, S. S.; SEKOVIC, Z.; RADOJKOVIC, M.; CVETANOVIC, A.; GAJI, J. S.; MITIC, M.; VUJIC, J. Biological activity and chemical profile of *Lavatera thuringiaca* L. Extracts obtained by different extraction approaches. **Phytomedicine**, v. 38, p. 118-124, 2018.

MENEZES, M. A. G.; OLOIVEIRA NETO, F. B. de; BERTINO, L. M.; SILVA, F. F. M. da; ALVES, L. A. Quantificação de antocianinas dos extratos de Embiratanha (*Pseudobombax marginatum*). **HOLOS**, v. 1, p. 30-35, 2015.

MORAIS, S. M.; JÚNIOR, J. T. C.; RIBEIRO, L. M.; SOUSA, H. A.; SILVA, A. A. S.; FIGUEIREDO, F. G.; MATIAS, E. F. F.; BOLIGON, A. A.; ATHAYDE, M. L.; BRAGA, M. F. B. M.; COUTINHO, H. D. M. Phenolic composition and antioxidant, anticholinesterase and antibiotic modulating antifungal activities of *Guazuma ulmifolia* Lam. (Malvaceae) ethanolextract. **South African Journal of Botany**, v. 110, p. 251-257, 2017.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural Products as Sources of New Drugs from 1981 to 2014. **J. Nat. Prod.** v. 79, 2016.

ODODO, M. M.; CHOUDHURY, M. K.; DEKEBO, A. H. Structure elucidation of β -sitosterol with antibacterial activity from the root bark of *Malva parviflora*. **Springer Plus**, v. 5, n. 1, p. 1210, 2016.

PAULA, V. F.; BARBOSA, L. C. A.; DEMUNER, A. J. A química da família Bombacaceae. **Química Nova**, v. 20, p. 627-630, 1997.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. L.; KRIZ, S. G.; VYVYAN, J. R. **Introdução à espectroscopia**. 2. ed. São Paulo: Cengage Learning. 2015.

PAIVA, D. C. C.; SANTOS, C. A. dos; DINIZ, J. C.; VIANA, F. A.; THOMAZZI, S. M.; FALCÃO, D. A. Anti-inflammatory and antinociceptive effects of hydroalcoholic extract from *Pseudobombax marginatum* inner bark from caatinga potiguar. **Journal of ethnopharmacology**, v. 149, n. 2, p. 416-421, 2013.

RAO, B. G.; JEEVITHA, K.; RAMADEVI, D.; BATTU, H. Review of literature: phytopharmacological studies on *Thespesia populnea*. **Journal of Global Trends in Pharmaceutical Sciences**, 2018.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radic Biol Med**. v. 26, p. 1231-1237, 1999.

SHAIKH, SABA; JOSHI, Y. M.; KADAM, VILASRAO. Comparative study of anti-inflammatory activity of aqueous and methanolic extracts of *Hibiscus cannabinus* leaf (Malvaceae). **Intern. J. Pharm. Pharmaceut. Sci.** v. 8, p. 64-68, 2016.

SILVA, A. B.; WIEST, J. M.; CHAVES, H.H. Compostos químicos e atividade antioxidante analisados em *Hibiscus rosa-sinensis* L. (mimo-de-vênus) e *Hibiscus syriacus* L. (hibisco-da-síria). **RevInst Adolfo Lutz**, v. 73, n. 3, p. 264-71, 2016.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. (org.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6.ed. Porto Alegre; Florianópolis: Editora da UFRGS; Editora da UFSC, 2010.

TELES, Y. C. F.; CHAVES, O. S.; AGRA, M. F.; BATISTA, L. M.; QUEIROZ, A. C.; ARAÚJO, M. V.; MOREIRA, M. S. A.; FILHO, R. B.; SOUZA, M. F. V. Chemical constituents from *Sidastrum paniculatum* and evaluation of their leishmanicidal activity. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 25, n. 4, p. 363-368, 2015.

TIJJANI, A.; NDUKWE, I. G.; AYO, R. G. Isolation and Characterization of Lup-20(29)-ene-3, 28-diol (Betulin) from the Stem-Bark of *Adenium obesum* (Apocynaceae) Tropical **Journal of Pharmaceutical Research**, v. 11, n. 2, p. 259-262, 2012.

VALERIANO, Jessica Coelho; Micropropagação do embiruçu (*Pseudobombax simplicifolium* A. ROBYNS) e da Baraúna (*Schinopsis brasiliensis* Engl.) e uso dos fluorocromos CMA3/DAPI na caracterização citogenética do Ibiruçu. Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais. Universidade Estadual de Feira de Santana, 2016.

WOLDEYES, S; TARIKU, Y; MULETA, D; BEGASHAW, T. Evaluation of Antibacterial Activities of Compounds Isolated From *Sida rhombifolia* Linn. (Malvaceae). **Natural Products Chemistry & Research**, 2012.

YUNES, FILHO (org), **Química de produtos naturais, novos fármacos e a moderna farmacognosia** – 2-ed. Ed. – Itajaí: Universidade do vale do Itajaí, p.12, 2009

ZELAK, D. L. B. **Biotransformação por fungos do ácido betulínico e derivados**. 2005. 117f. Tese (Doutorado em Química) – Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.