



UNIVERSIDADE DO ESTADO DA BAHIA
PROGRAMA PÓS-GRADUAÇÃO *Stricto Sensu* EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS (PPGFARMA)

DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS FENÓLICOS E AVALIAÇÃO
DAS ATIVIDADES ANTIOXIDANTE, ANTILEISHMANIA E HEMOLÍTICA DE
EXTRATOS METANÓLICOS DE *Tradescantia zebrina*

VAGNER CARDOSO DA SILVA

Salvador

2022

VAGNER CARDOSO DA SILVA

**DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS FENÓLICOS E AVALIAÇÃO
DAS ATIVIDADES ANTIOXIDANTE, ANTILEISHMANIA E HEMOLÍTICA DE
EXTRATOS METANÓLICOS DE *Tradescantia zebrina***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação Stricto Sensu em Ciências Farmacêuticas (PPGFARMA), da Universidade do Estado da Bahia (UNEB) como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. Aníbal de Freitas Santos Júnior

Linha de Pesquisa: Linha I – Prospecção de Fármacos e Recursos Naturais

Salvador

2022

FICHA CATALOGRÁFICA
Sistema de Bibliotecas da UNEB

S586d

Silva, Vagner Cardoso da

DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS FENÓLICOS E
AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANTIOXIDANTE, ANTILEISHMANIA E
HEMOLÍTICA DE EXTRATOS METANÓLICOS DE Tradescantia zebrina /
Vagner Cardoso da Silva. - Salvador, 2022.

111 fls : il.

Orientador(a): Aníbal de Freitas Santos Júnior.

Inclui Referências

Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade do Estado da
Bahia. Departamento de Ciências da Vida. Programa de Pós-Graduação
em Ciências Farmacêuticas - PPGFARMA, Campus I. 2022.

1.Ciências Farmacêuticas. 2.Química dos produtos naturais.
3.Farmacognosia. 4.Antioxidantes. 5.Atividade biológica.

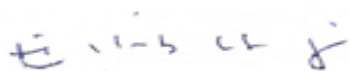
CDD: 615

FOLHA DE APROVAÇÃO

"DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS FENÓLICOS E AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES (ANTIOXIDANTE, ANTILEISHMANIA E HEMOLÍTICA) DE EXTRATOS METANÓLICOS DE *Tradescantia zebrina*"

VAGNER CARDOSO DA SILVA

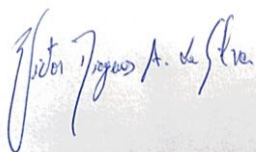
Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto sensu* em Ciências Farmacêuticas – PPGFARMA, em 24 de fevereiro de 2022, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas pela Universidade do Estado da Bahia, conforme avaliação da Banca Examinadora:



Professor Dr. ANIBAL DE FREITAS SANTOS JUNIOR (Orientador)
Universidade do Estado da Bahia (UNEB)
Doutorado em Química
Universidade Federal da Bahia (UFBA)



Professor Dr. MILLENO DANTAS MOTA (Membro Interno)
Universidade do Estado da Bahia (UNEB)
Doutorado em Biotecnologia
Universidade Federal da Bahia (UFBA)



Professor Dr. VICTOR DIOGENES AMARAL DA SILVA (Membro Externo)
Universidade Federal da Bahia (UFBA)
Doutorado em Ciência Animal nos Trópicos
Universidade Federal da Bahia

Dedicatória

Aos meus Mestres, Mentores, Ídolos e a Deus,
em todas as suas faces e formas.

AGRADECIMENTOS

Agradeço e honro a esses verdadeiros catedráticos na arte de ensinar o que é a vida, em especial ao meu orientador Profº Aníbal de Freitas Santos Júnior, Profª Alessandra da Silva Guedes e Profº Milleno Dantas Mota, meus 'pai'-drinhos nessa luta, sempre presentes em toda minha trajetória 'unebiana' e continuarão por toda existência, não somente por terem me ensinado, mas por terem feito com que eu aprendesse, sendo realmente a diferença em toda minha história. A palavra Mestre, nunca fará justiça aos professores dedicados aos quais terão minha eterna gratidão.

Agradeço ao Programa de Pós-graduação *Stricto sensu* em Ciências Farmacêuticas (PPGFARMA), em especial a Léia Omena, que além de secretária se tornou um anjo em minha vida desde o dia da inscrição, sem dúvidas você faz toda a diferença.

Agradeço a Universidade do Estado da Bahia (UNEB), instituição que apesar das dificuldades, consegue formar profissionais extremamente competentes, desde que sejam dedicados, pois por muitas vezes nos seus corredores há mais aprendizados intrínsecos, que dentro da própria sala de aula.

Agradeço a todos os profissionais desde a portaria, limpeza, técnicos e servidores, por toda colaboração com o desenvolvimento desse e de outros trabalhos que enriquecem a Ciência.

Agradeço e honro minha família e todos os meus antepassados, pois se tivessem feito uma escolha diferente em qualquer momento, provavelmente este momento não estaria concretizado.

Agradeço aos meus pais, Lucia e Agripino, minha '*gêmea*', Luciana, que nasceu 13 anos depois, e, especialmente, minha 'moreca' Lucia Fabrini (3ª Lú em minha vida), meus amores maiores, que, sem os quais eu não teria conseguido, sempre no apoio e suporte necessários para a finalização de mais esse processo.

Enfim, gratidão a todo Universo e a toda energia circulante por mais um dever cumprido, na certeza de que estou seguindo meu destino.

*“De tudo, ficaram três coisas: a certeza de que ele estava sempre
começando, a certeza de que era preciso continuar e a certeza de que seria
interrompido antes de terminar. Fazer da interrupção um caminho novo.
Fazer da queda um passo de dança, do medo uma escada, do sono uma
ponte, da procura um encontro”.*
(Fernando Pessoa, In: O Encontro Marcado)

*“Nascer, morrer, renascer
São ciclos de uma mesma vida...
Um eterno recomeço,
A jornada da alma.”*
(Jamie Sams & David Carson)

“Tudo acontece conforme a natureza “
(Hipócrates)

RESUMO

SILVA, V. C. **Determinação de compostos bioativos fenólicos e avaliação das atividades (antioxidante, antileishmania e hemolítica) de extratos metanólicos de *Tradescantia zebrina*** (Dissertação). Salvador: Departamento de Ciências da Vida (DCV), Universidade do Estado da Bahia, 2022.

Tradescantia é um gênero de plantas herbáceas com muitas espécies utilizadas na Etnobotânica, principalmente na América do Sul. No entanto os relatos de sua bioatividade são distantes entre si, pois não há dados suficientes, na literatura científica, quanto à sua composição química, atividades biológicas, efetividade e segurança terapêuticas. O objetivo principal deste estudo foi de determinar a presença de compostos bioativos fenólicos e as atividades antioxidante, antileishmania e hemolítica dos extratos metanólicos de amostras seca e fresca (*in natura*) de folhas, caules e raízes de *Tradescantia zebrina*. Confirmou-se macroscopicamente, as características botânicas e morfológicas da planta, ao se comparar as amostras coletados com imagens e descrições botânicas. Foram obtidos extratos metanólicos, a partir de amostras submetidas a secagem à sombra e amostras *in natura*. Os teores de fenólicos totais na amostra fresca (*in natura*) e na amostra seca foram 67,68 e 233,94mg EAG/g, respectivamente. Os teores de flavonoides totais foram expressos na amostra fresca 29,70mg EQ/g de extrato concentrado, enquanto a amostra seca teve 10,99 mg EQ/g de extrato concentrado. A identificação e quantificação de parte desses compostos foi realizada por meio de Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a detector de diodo, sendo possível confirmar a presença de ácido elágico, ácido cafeico, ácido ferúlico, ácido p-cumárico, ácido clorogênico, ácido protocatecuico, crisina, rutina e vanilina. Os testes para a avaliação da atividade antioxidante confirmaram a inibição dos radicais DPPH[•] (44,08%) e ABTS^{•+} (46,99% e 28,86% para as amostras fresca e seca, respectivamente). Os extratos metanólicos de *Tradescantia zebrina* testados não foram efetivos frente às espécies de *Leishmania amazonensis* e *Leishmania brasiliensis*, quando comprados com a Anfotericina B. Por outro lado, os extratos: fresco (*in natura*) e seco, não apresentaram toxicidades frente à testagem de atividade hemolítica, o que apoia a utilização popular desta espécie, com maior segurança. Neste contexto, a partir da observação dos aspectos botânicos e morfológicos, da prospecção química e biológica, através dos resultados obtidos para os ensaios da avaliação das atividades antioxidante, antileishmania e hemolítica testadas, foi possível sugerir que a *Tradescantia zebrina* é uma espécie de interesse, como fonte potencial de substâncias bioativas.

Palavras-chave: *Tradescantia zebrina*; Antioxidantes; Compostos fenólicos; CLAE-DAD; Atividade biológica.

ABSTRACT

SILVA, V. C. **Determination of phenolic bioactive compounds and evaluation of the activities (antioxidant, antileishmania and hemolytic) of methanolic extracts of *Tradescantia zebrina*** (Dissertation). Salvador: Department of Life Sciences (DCV), State University of Bahia, 2022.

Tradescantia is a genus of herbaceous plants with many species used in ethnobotany, in South America. However, reports of its bioactivity are distant from each other, as there is not enough data in the scientific literature regarding its chemical composition, biological activities, therapeutic effectiveness and safety. The main objective of this study was to determine the presence of phenolic bioactive compounds and the antioxidant, antileishmania and hemolytic activities of methanolic extracts from dry and fresh (*in natura*) samples leaves, stems and roots of *Tradescantia zebrina*. Macroscopically, the botanical and morphological characteristics of the plant were confirmed by comparing the collected specimens with botanical images and descriptions. Methanolic extracts were obtained from samples submitted to shade drying and samples *in natura*. The total phenolic contents in the fresh sample (*in natura*) and in the dry sample were 67.68 and 233.94mg EAG/g, respectively. The total flavonoid contents were expressed in the fresh sample 29.70mg EQ/g of concentrated extract, while the dry sample had 10.99 mg EQ/g of concentrated extract. The identification and quantification of part of these compounds was performed by means of high-performance liquid chromatography coupled to a diode detector, being possible to confirm the presence of ellagic acid, caffeic acid, ferulic acid, p-coumaric acid, chlorogenic acid, protocatechuic acid, chrysin, rutin and vanillin. Tests for the evaluation of antioxidant activity confirmed the inhibition of DPPH[•] (44.08%) and ABTS^{•+} (46.99% and 28.86% for fresh and dry samples, respectively). The methanolic extracts of *Tradescantia zebrina* tested were not as effective against the species of *Leishmania amazonensis* and *Leishmania brasiliensis*, when compared with Amphotericin B. Still, the fresh (*in natura*) and dry extracts did not show toxicities when evaluated for hemolytic activity, which supports the popular use of this species, with greater safety. In this context, from the observation of the botanical and morphological aspects, from the chemical and biological prospection, through the results obtained for the tests of the evaluation of the activities antioxidant, anti-leishmania and hemolytic tested, it was possible to suggest that *Tradescantia zebrina* is a species of interest as a potential source of bioactive substances.

Keywords: *Tradescantia zebrina*; Antioxidants; Phenolic compounds, HPLC-DAD; Biological activity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Estrutura base de um fenol..	27
Figura 2. Características macroscópicas da <i>Tradescantia zebrina</i> .	33
Figura 3. Corte transdérmico foliar da <i>Tradescantia zebrina</i>	33
Figura 4. Corte transdérmicos da <i>Tradescantia zebrina</i>	34
Figura 5. Corte paradérmico foliar da <i>Tradescantia zebrina</i>	35
Figura 6. Características macroscópicas das amostras de <i>Tradescantia zebrina</i> analisados neste trabalho.....	45
Figura 7. Disseminação de <i>Tradescantia zebrina</i> .	46
Figura 8. Curva padrão de ácido gálico.....	47
Figura 9. Curva padrão de quercetina.....	49
Figura 10. Curva padrão de DPPH.....	51
Figura 11. Percentual de inibição do radical DPPH* a partir das variações de concentração do extrato 2b – não concentrado <i>Tradescantia zebrina</i> .	52
Figura 12. Atividade antioxidante (método DPPH) de extrato 2b – não concentrado de <i>Tradescantia zebrina</i>	53
Figura 13. Curva padrão de Trolox.....	55
Figura 14. Atividade antioxidante (método ABTS) do extrato 2 – não concentrado de <i>Tradescantia zebrina</i>	55
Figura 15. Atividade antioxidante (método ABTS) do extrato 2 de <i>Tradescantia zebrina</i> .	56
Figura 16. Atividade antioxidante (método ABTS) do extrato 1 de <i>Tradescantia zebrina</i>	57
Figura 17. Comparação cromatográfica dos extratos de <i>Tradescantia zebrina</i> a 280nm..	64
Figura 18. Cromatogramas obtidos a partir de extrato metanólico da amostra seca de <i>Tradescantia zebrina</i> por CLAE-DAD.....	65
Figura 19. Cromatogramas obtidos a partir do extrato metanólico puro e extrato enriquecido com padrões analíticos, da planta <i>Tradescantia zebrina</i> (seca) por CLAE-DAD.....	65

Figura 20 Cromatogramas obtidos a partir do extrato 2 de <i>Tradescantia zebrina</i> por CLAE-DAD.	68
Figura 21. Cromatogramas obtidos a partir do extrato metanólico puro e extrato enriquecido com padrões analíticos de <i>Tradescantia zebrina</i> fresca (<i>in natura</i>) por CLAE-DAD	69
Figura 22 Avaliação da presença de halos de hemólise em placa com controles (positivo e negativo), após 48h em extratos metanólicos de <i>Tradescantia zebrina</i> . A: extrato de amostra seca; B: Extrato de Amostra Fresca e C: controles negativos e positivo (com formação de halo).	72
Figura 23 Presença de halos de hemólise em placa com controles (positivo e negativo), após 72h em extratos metanólicos de <i>Tradescantia zebrina</i> . A: extrato de amostra seca (Extrato 1); B: Extrato de Amostra Fresca (Extrato 2) e C: controles negativos e positivo (com formação de halo).	73

LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1. Cálculo do Limite de Detecção (LOD).....	43
Equação 2. Cálculo do Limite de Quantificação (LOQ).....	43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Triagem Fitoquímica de extratos metanólicos de <i>Tradescantia zebrina</i>	35
Tabela 2. Concentração de fenólicos totais expressos em mg EAG/g de extratos 1 e 2 de <i>Tradescantia zebrina</i>	47
Tabela 3. Concentração de flavonoides totais expressos em mg EQ/g de extrato concentrado para as amostras (seca e fresca) de <i>Tradescantia zebrina</i>	49
Tabela 4. % de inibição e % remanescente de DPPH no extrato 2b – não concentrado de <i>Tradescantia zebrina</i>	51
Tabela 5. Comparação entre Concentração Inibitória (IC ₅₀) e Concentração Eficiente (EC ₅₀) do extrato 2b – não concentrado de <i>Tradescantia zebrina</i>	53
Tabela 6. Atividade Antioxidante Equivalente ao Trolox (TEAC) do extrato 2b – não concentrado de <i>Tradescantia zebrina</i> e em percentual.....	56
Tabela 7. Atividade antioxidante (AA) do extrato 2 de <i>Tradescantia zebrina</i> , Capacidade Antioxidante Equivalente ao Trolox (TEAC) e percentual	57
Tabela 8. Concentração Eficiente (EC ₅₀), em mg L-1, dos extratos 1 e 2 de <i>Tradescantia zebrina</i>	58
Tabela 9. Atividade antioxidante (AA) do extrato 1 de <i>Tradescantia zebrina</i> , Capacidade Antioxidante Equivalente ao Trolox (TEAC) e em percentual	58
Tabela 10. Comparação entre os resultados percentuais da captura do Radical ABTS ^{•+} , a partir de extratos metanólicos de <i>Tradescantia zebrina</i>	59
Tabela 11. Resultados percentuais da captura do Radical ABTS ^{•+} , a partir do extrato 2b – não concentrado de <i>Tradescantia zebrina</i>	59
Tabela 12. Valores médios comparativos, encontrados neste estudo e na literatura científica para fenólicos e flavonoides totais e atividade antioxidante para extratos de amostras de <i>Tradescantia zebrina</i>	63
Tabela 13. Parâmetros analíticos de validação para o método proposto por CLAE-DAD.....	66
Tabela 14. Compostos fenólicos quantificados da amostra seca (Extrato 1) de <i>Tradescantia zebrina</i> por CLAE-DAD.....	67
Tabela 15. Compostos fenólicos quantificados do extrato metanólico da amostra fresca (Extrato 2) de <i>Tradescantia zebrina</i> por CLAE-DAD.	69

Tabela 16. Atividade do extrato 1 de <i>Tradescantia zebrina</i> frente às formas promastigotas de <i>Leishmania amazonensis</i> e <i>Leishmania braziliensis</i>	71
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA – Atividade antioxidante

A_{am} – Absorvância da amostra

ABTS – Radical 2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)

ACF - Ácido cafeico

ACI – Ácido clorogênico

A_{cont} – Absorvância do controle

AE – Ácido elágico

AF – Ácido ferúlico

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

APC – Ácido protocatecuico

ApC – Ácido p-cumárico

BHA – 2,3-terc-butil-4-hidroxianisol

BHT – Di-terc-butil metil fenol

CLAE-DAD – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com detector de arranjo de diodos

CR – Crisina

DPPH – Radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazila

DPR – Desvio padrão relativo

EAG – Equivalente de ácido gálico

EC – Equivalente de catequina

EC₅₀ – concentração efetiva

EQ – Equivalente de quercetina

ER – Equivalente de rutina

FRAP – Poder antioxidante capaz de reduzir o ferro III, do inglês: Ferric Reducing Antioxidant Power

FRAP – Potencial antioxidante pela redução do ferro

HPLC – Cromatografia líquida de alta eficiência, do Inglês: High Performance Liquid Chromatography

IC₅₀ – concentração inibitória

IN – Amostra *in natura*

LF – Amostra liofilizada

LOD – Limite de detecção

LOQ – Limite de quantificação

OPAS – Organização Pan-Americana da Saúde

OMS – Organização Mundial de Saúde

PNPIC – Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares

PNPMF – Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos

PTFE – Politetrafluoretileno

R² – Coeficiente de determinação

RU – Rutina

SC – Amostra seca

SUS – Sistema Único de Saúde

Trolox – 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametacromano-Ácido 2- carboxílico

TZ – *Tradescantia zebrina*

TZ1 – Extrato metanólico de *Tradescantia zebrina*

TZ2 – Extrato hidroetanólico de *Tradescantia zebrina*

TZ3 – Extrato aquoso de *Tradescantia zebrina*

UV-VIS – Espectroscopia de absorção no ultravioleta e visível

VA – Vanilina

SUMÁRIO

RESUMO.....	8
ABSTRACT.....	9
1. Introdução.....	20
2. Objetivos	24
2.1 Objetivo Geral	24
2.2 Objetivos Específicos	24
3. Fundamentação Teórica	25
3.1 Plantas medicinais e uso tradicional.....	25
3.2 Compostos bioativos fenólicos e atividade antioxidante	26
3.3 Leishmanioses	30
3.4 Toxicidade hemolítica.....	31
3.5 Tradescantia zebrina: análises prévias	32
4. Materiais e Métodos	37
4.1 Identificação/Análise macroscópica, coleta e preparação de material botânico.....	37
4.2 Preparação dos extratos	37
4.3 Avaliação do teor de fenólicos totais.....	38
4.4 Determinação do teor de flavonoides totais	38
4.5 Determinação do potencial antioxidante a partir da captura do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH').....	39
4.6 Determinação da atividade antioxidante a partir da captura do radical livre ABTS ^{•+} [2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)	40
4.7 Determinação e quantificação de compostos fenólicos por CLAE-DAD.....	41
4.8 Avaliação da atividade antileishmania	43
4.9 Teste de atividade hemolítica em ágar sangue.....	43
5. Resultados e Discussão	45
5.1 Identificação botânica e análise macroscópica das amostras	45
5.2 Teor de fenólicos totais	47
5.3 Teor de flavonoides totais	48
5.4 Atividade antioxidante.....	51
5.4.1 Determinação do potencial antioxidante a partir da captura do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH').....	51

5.4.2 Determinação do potencial antioxidante a partir da captura do radical livre ABTS ^{•+} (2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid).....	54
5.5 Identificação e quantificação de compostos fenólicos utilizando CLAE-DAD	64
5.6 Avaliação da Atividade Antileishmania.....	70
5.7 Teste de atividade hemolítica em ágar sangue	71
6. Considerações Finais	74
Referências	76
Anexos	86
Anexo A. Comprovante de Submissão de Artigo Científico	86
Anexo B. Artigo Científico Submetido.....	87

1. Introdução

Devido à dificuldade de acesso aos serviços de saúde ou, ainda, por falta de um diagnóstico preciso e precoce, a utilização de plantas medicinais para prevenção, tratamento e cura de diversas doenças, é tão antiga e universal quanto à própria Medicina. Este uso ocorre desde o surgimento humano, comprovado a partir de pinturas rupestres, pergaminhos e tumbas faraônicas. Estudos demonstraram que espécies vegetais foram encontradas, em escavações fósseis datados de mais de 30 mil anos atrás, comprovando que pessoas do período pré-histórico colhiam plantas com finalidades medicinais (ABOELSOUND, 2010; SIMÕES *et al*, 2004, 2017).

Esses conhecimentos foram adquiridos, gradativamente, em diversas tentativas e, as doenças eram sempre impostas a fenômenos sobrenaturais; por isso, a utilização ritualística perpassa por eras. No século XXI, ainda é possível perceber que essa é a única fonte de tratamento em alguns grupos e/ou etnias. E, até hoje, as plantas medicinais são comercializadas em feiras livres, ou plantadas em quintais, sem as devidas recomendações de plantios e coletas adequados, bem como sobre a sua conservação (SILVA *et al.*, 2003).

Com a falta de acesso aos serviços de assistência primária à saúde, ainda presentes no mundo, muitas pessoas ainda têm o uso de ervas como fundamental alternativa de tratamento para diversas enfermidades (CASTRO *et al.*, 2009). Ademais, a Organização Mundial de Saúde (OMS), informou que cerca de 3,4 bilhões da população mundial, por volta de 88%, já fez ou faz uso de medicamentos a base plantas na atenção primária. Só na Medicina Tradicional Chinesa (MTC), 7.295 espécies são utilizadas como agentes medicinais (SARKER; NAHAR, 2009).

No Brasil, em 2006, quando foi publicada a Portaria nº 971 e o Decreto nº 5.813, determinando a criação da Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) no Sistema Único de Saúde (SUS), aprovada pelo Governo Federal, entre outras ações, houve um aumento no incentivo de pesquisa de plantas medicinais e, com espécies contidas na Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (RENISUS) (BRASIL, 2006). Em análises prévias, percebeu-se uma ausência de investigações sobre uma planta de uso litúrgico e medicinal, a

Tradescantia zebrina, conhecida popularmente no Brasil como egenda, trapoeraba, viuvinha, lambari ou onda-do-mar. A planta é usada tradicionalmente no México, como bebida capaz de tratar diversas doenças, inclusive o câncer, direcionando os estudos para essa comprovação, como descrito por Alonso-Castro e colaboradores (2011).

A existência de testes biológicos, de simples execução, é de grande utilidade na seleção de plantas que possuam substâncias citotóxicas e, que possam ser utilizadas em procedimentos clínicos na descoberta e desenvolvimento de novos fármacos antineoplásicos. Com esses estudos, foi possível comprovar que a *Tradescantia zebrina* realmente apresenta potencial farmacológico interessante, bem como, ratificar a ocorrência de substâncias químicas. Baghalpour e colaboradores (2021) destacaram que espécies do gênero *Tradescantia* apresentaram composições ricas em compostos fenólicos, em especial os flavonoides. Tais compostos são secretadas por vegetais superiores e têm importantes ações farmacológicas, como atividades antioxidantes e possíveis efeitos anti-inflamatórios e antineoplásicos (TAPAS *et al.*, 2008). Portanto, prospectar estudos com esta espécie, do ponto de vista químico e biológico, é uma possibilidade de contribuir com a ciência e a saúde da população.

Alguns ensaios avaliam a presença e atividade de substâncias químicas, em especial, os compostos fenólicos como agentes antioxidantes, através da inibição da formação de radicais livres e pelo "sequestro" de espécies reativas de oxigênio, como exemplo os radicais peróxidos. Substâncias com grupos fenólicos tais como os flavonoides, são exemplos de compostos naturais que têm apresentado atividades antioxidantes (TONIN, 2020). Outro aspecto, é que a descoberta de novas substâncias, de origem vegetal, com atividade antioxidante pode vir a ter grande interesse científico e farmacêutico. Atualmente, sabe-se que existe uma correlação entre esta atividade e a propriedade que alguns antioxidantes apresentam de inibir o aparecimento de células cancerígenas, além de retardar o envelhecimento das células em geral (DEGÁSPARI, 2004; ESTRADA-MUÑIZ.; GUERRERO-PALOMO; VEGA, 2012).

Silva (2020), após triagem fitoquímica preliminar em *Tradescantia zebrina*, indicou que as substâncias identificadas seguiram o padrão encontrado para plantas dessa família, notadamente para o gênero *Tradescantia*, onde a ocorrência de

compostos fenólicos é elevada (TAN *et al.*, 2014). Complementarmente, esses vegetais são abundantes no Brasil, mais especificamente na Bahia e, são de fácil acesso. Contudo, para garantir o perfil fitoquímico de uma espécie, ou de seus extratos, é essencial determinar o perfil cromatográfico (*fingerprint*) para assegurar a qualidade e reprodutibilidade da composição química, concentração da substância e, posteriormente, da eficácia terapêutica. Logo, essa é uma ferramenta analítica alternativa para identificação e controle de qualidade de plantas medicinais (HARIPRASAD; RAMAKRISHNAN, 2012).

Ainda com relação à identificação de substâncias, é necessário utilizar técnicas de separação, identificação e quantificação sensíveis e reprodutíveis, tais como a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Ao usar uma curva de calibração com compostos previamente padronizados e, a partir da comparação dos picos cromatográficos, serão presumíveis quais substâncias/classes químicas estão presentes na amostra em estudo. Sabe-se, ainda, que a natureza e a quantidade de compostos identificados em plantas podem variar de acordo com diversos fatores, dentre eles: a estação da coleta, temperatura, umidade, solo, ciclo circadiano, duração da extração e tipo de solvente. Com isso, há dificuldade de obtenção de extratos padronizados e validação de fitoterápicos, cujos marcadores sejam conhecidos, ou seja, com a mesma concentração de ativos (quando estes compostos já são conhecidos e identificados) (GOBBO-NETO; LOPES, 2007).

Associado a esses ensaios foi possível avaliar outras atividades biológicas adaptando os experimentos, uma vez que, diferentemente do câncer que está sempre em evidência nos estudos, existem enfermidades esquecidas, como a leishmaniose, que é uma doença tropical negligenciada, sendo ocasionada por protozoários do gênero *Leishmania*. A Leishmaniose é associada a questões socioeconômicas, e, também, está relacionada a mudanças ambientais, como desmatamento, construção de barragens, esquemas de irrigação e urbanização. Assim, estima-se que 700.000 a 1 milhão de novos casos ocorram anualmente. (OMS, 2022). Acredita-se que cerca de 1 bilhão de indivíduos, que residem em regiões endêmicas, possuem o risco de contrair a doença e, entre essas localidades está o Brasil, inclusive o Estado da Bahia, que apresenta uma elevada quantidade de casos da doença (OPAS, 2020).

Apesar de muito importante, a utilização de plantas medicinais pode se tornar

arriscada quando realizada sem orientação ou exageros, uma vez que muitas plantas podem ter uma difícil identificação, uma composição química variável e relativa toxicidade (FÉLIX-SILVA *et al.*, 2012). A possibilidade de hemólise um dos problemas mais relevantes da utilização de plantas, pois as saponinas ou os alcaloides presentes podem provocar riscos ao consumo. A hemólise se refere ruptura das membranas das hemácias consentindo a liberação da hemoglobina para o plasma, e tendo como implicação a hemoglobinemia, que pode acarretar problemas mais sérios como hemoglobinúria. O teste de hemólise *in vitro* vem sendo empregado com certa frequência em estudos que abordem a toxicidade de plantas medicinais (KALEGARI *et al.*, 2011; PAULA *et al.*, 2014).

Este trabalho inédito tem o propósito de ampliar o conhecimento sobre a espécie em *Tradescantia zebrina*, contribuindo com a prospecção (química e biológica) de substâncias com potenciais antioxidante e biológico. Portanto, torna-se importante conhecer mais sobre as características químicas dos compostos bioativos da *Tradescantia zebrina*, com a finalidade de gerar um maior interesse farmacológico para pesquisas, bem como sugerir a utilização da espécie pela população tradicional.

2. Objetivos

2.1 Objetivo Geral

- Determinar a presença de compostos Bioativos fenólicos e as atividades antioxidante, antileishmania e hemolítica dos extratos metanólicos de amostras (seca e fresca – *in natura*) das folhas, caules e raízes de *Tradescantia zebrina*.

2.2 Objetivos Específicos

- Realizar análise macroscópica visando identificação da espécie através do comparativo com o já descrito na literatura.

- Determinar compostos fenólicos e flavonoides totais em extratos metanólicos de amostras (seca e fresca – *in natura*) das folhas, caules e raízes de *Tradescantia zebrina*.

- Determinar a capacidade antioxidante de extratos metanólicos de *Tradescantia zebrina*, comparando a técnicas de preparo de amostras (seca e *in natura*).

- Identificar bioativos fenólicos presentes em extratos metanólicos de amostras (seca e fresca – *in natura*) de *Tradescantia zebrina*, a partir do *fingerprint* com a cromatografia líquida de alta eficiência com detector de arranjo de diodos (CLAE-DAD).

- Quantificar o teor de compostos fenólicos identificados em extratos metanólicos de amostras (seca e fresca – *in natura*) das folhas, caules e raízes de *Tradescantia zebrina*, a partir do enriquecimento com padrões analíticos, por CLAE-DAD.

- Comparar os resultados das atividades antioxidantes com os compostos fenólicos quantificados em amostras (seca e fresca – *in natura*) das folhas, caules e raízes de *Tradescantia zebrina*.

- Avaliar o efeito do extrato metanólico de amostra seca das folhas, caules e raízes de *Tradescantia zebrina* frente às promastigotas de *Leishmania amazonensis* e *Leishmania braziliensis*.

- Verificar o perfil tóxico dos extratos metanólicos preparados a partir de amostras (seca e fresca – *in natura*) das folhas, caules e raízes de *Tradescantia zebrina*, por meio da atividade hemolítica.

3. Fundamentação Teórica

3.1 *Plantas medicinais e uso tradicional*

O Brasil apresenta uma biodiversidade com ampla riqueza genética e associada a aspectos culturais, especialmente no uso popular e tradicional de plantas, especialmente as com ações medicinais. Essa heterogeneidade de recursos vem sendo aproveitada para fins terapêuticos, desde antes da colonização. Apesar de ter expandida a atenção em saúde pública, com a criação do Sistema Único de Saúde (SUS), vários indivíduos ainda não têm acesso aos seus serviços, contribuindo para a firmeza do modelo biomédico, tão centrado na patologia e sua cura, numa atenção muito mais fragmentada, trazendo à saúde uma visão tecnicista, reduzindo-a um funcionamento mecânico, ao invés de um olhar mais ampliado aos elementos que influenciam no adoecimento (CAPRA, 1988; BEZERRA, 2016).

Por conta disso, é preciso reverter esse quadro trazendo à saúde mais caracteres de escolas de saúde a parte desse modelo, observando o ser humano como um todo, necessitando para isso de profissionais mais humanos, críticos, reflexivos e dispostos a buscar novos conhecimentos, como por exemplo, na Medicina Tradicional Chinesa, em que as plantas e suas ‘energias’ são responsáveis pela cura através do reequilíbrio da integralidade do paciente (FLAWS; WOLFE, 2008).

Assim, a população, por muitas vezes, possui apenas à sua disposição como única solução terapêutica, as plantas medicinais, em busca de uma resposta que vise a sua integralidade. E, nem sempre, são prescritas por alguém com entendimento clínico, mas por amigos, vizinhos e benzedadeiras que, por mais que “saibam” dos efeitos farmacológicos e rituais, acabam desconhecendo a toxicologia e efeitos adversos das plantas. No entanto, não são exclusivamente as pessoas com menos poder aquisitivo que se utilizam esse tipo de tratamento; as classes socioeconômicas mais favorecidas, também, estão procurando o uso das terapias complementares que conglomeram a fitoterapia, homeopatia, acupuntura, termalismo, entre outras práticas, por terem foco na integralidade do ser humano, diferente do modelo biomédico (BRASIL, 2006). Nesse contexto, o Ministério da Saúde criou a PNPIC no SUS e, também, a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (PNPMF), voltada a garantia, segurança e uso racional de fitoterápicos e plantas medicinais, implicando

numa obrigação dos profissionais de saúde, principalmente prescritores, a se aperfeiçoarem nesse tema, para que possam estar orientando pacientes de forma correta e segura (BRASIL, 2006).

Segundo Rivas Neto (2007), nas religiões afro-indígena-brasileiras, inúmeras plantas são utilizadas, em diversos rituais e processos litúrgicos. Sua utilização está ligada à magia 'vegetomagnética' porque as plantas, além dos aspectos já comentados, são consideradas sagradas e relacionadas às Deidades. É inquestionável a importância que as plantas têm em todas as culturas e em todas as épocas, quer seja para a alimentação, para a cura de doenças ou para rituais religiosos. Segundo Botelho (2010), a cultura africana no Brasil enriqueceu o conhecimento sobre ervas na sociedade, o seu contato com outras culturas, como os povos indígenas e europeus, criou um complexo e diversificado saber sobre as folhas.

Biavatti e Leite (2005) destacaram que a Farmacognosia tem por um de seus objetivos o desenvolvimento de faculdades para avaliar princípios ativos vegetais, e a análise microscópica permite verificar a diferenciação morfológica das espécies vegetais, devido a arranjo tecidual ser bastante simples e característico, facilitando conhecimentos mais profundos acerca de seu metabolismo secundário. Assim, uma linha de estudos dentro da Farmacognosia que tem sido empregada com o intuito de melhorar o método de identificação de compostos de interesse farmacológico é a Etnofarmacologia, um ramo da Etnobiologia/Etnobotânica que integra dados oriundos de comunidades que utilizam da flora medicinal, com estudos químico-farmacológicos concretizados em laboratórios específicos. O principal interesse não é identificar e isolar todos os metabólitos secundários, mas o de maior potencialidade terapêutica, ou os responsáveis pelo efeito farmacológico (ELISABETSHY, 2001). Dessa forma, se tem o interesse em avaliar os principais princípios ativos das espécies com possível função clínica.

3.2 Compostos bioativos fenólicos e atividade antioxidante

Um extraordinário atributo das plantas é a sua capacidade em produzir uma enorme quantidade de compostos químicos, a maioria com baixo peso molecular, chamados metabólitos secundários. Esses metabólitos são substâncias que, muitas vezes, não fazem parte do metabolismo basal da planta e possuem características

químicas muito variadas (SIMÕES, 2004).

Compostos fenólicos estão entre as principais classes de substâncias produzidas nesse metabolismo secundário, onde pelo menos 8000 substâncias já foram identificadas em plantas e, se subclassificam em flavonoides (polifenóis: flavonas, flavanonas, flavanóis, isoflavonas, antocianinas etc.) e não flavonoides (ácidos fenólicos, taninos, cumarinas e lignanas) (SILVA *et al.*, 2010). Os compostos fenólicos têm sido as substâncias de maior interesse à ciência, devido às suas características benéficas para a saúde (TAIZ; ZEIGER, 2013; ROSSA, 2013). Estas substâncias pertencem à classe de compostos que inclui uma variedade de estruturas simples e complexas com, pelo menos, um anel aromático no qual, ao menos um hidrogênio (-H) é substituído por um radical hidroxila (-OH) (Figura 1).

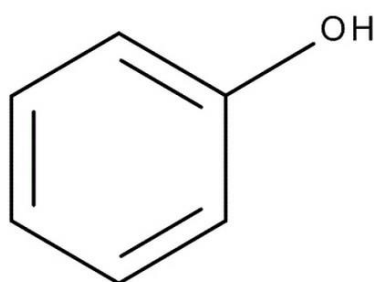


Figura 1 Estrutura base de um fenol. Fonte: MERCK, 2022.

Além do grupamento funcional -OH podem estar presentes outros grupamentos funcionais, como ésteres e glicosídeos, pois é a partir dessas variações que se fazem as suas classificações. São sintetizados caracteristicamente durante o seu crescimento, conforme vão sofrendo influências específicas como: no excesso de luz solar, infecções, ferimentos, atração de polinizadores, ou mesmo fortalecimento mecânico de suas paredes celulares (ligninas). Essas substâncias, também, corroboram com o aroma, adstringência, cor e estabilidade oxidativa das mesmas (SIMÕES, 2017; SIQUEIRA *et al.*, 2020).

Os flavonoides integram esses compostos sendo polifenóis de baixo peso molecular e se separam em várias classes: as chalconas, flavonas, flavanonas, flavanóis, di-hidroflavanóis (flavononóis), isoflavonas, antocianinas, antocianidinas, auronas, entre outras (SARKER; NAHAR, 2009). Esses, absorvem radiação

eletromagnética na faixa do ultravioleta (UV) e do visível e, desse modo, um dos atributos que proporcionam é o da defesa das plantas quanto à radiação UV da luz solar. Esses compostos, também, refletem uma importante atividade antioxidante (SIMÕES, 2017; SILVA *et al.*, 2015).

Na classe dos “não flavonoides” estão os derivados dos ácidos hidroxicinâmicos e hidroxibenzóicos, e se derivam da mesma via metabólica dos flavonoides (SILVA *et al.*, 2010; DEGÁSPARI; WASZCZYNSKYJ, 2004). Os ácidos hidroxicinâmicos são mais comuns na alimentação de seres humanos, uma vez que representam um dos compostos mais abundantes especialmente em frutas, grãos e cereais. Os ácidos hidroxibenzóicos compõem estruturas complexas como taninos presentes em algumas frutas como manga (galotaninos) e frutas vermelhas (elagitaninos), porém não fazem parte em grandes quantidades em frutas e vegetais comestíveis, apresentando, dentre outros efeitos, importante atividade antioxidante (MANACH, 2004).

Sendo a oxidação um fenômeno natural e necessário, que acontece com a própria respiração aeróbia, os seres vivos produzem espécies reativas de oxigênio e nitrogênio. Estas são mantidas sob um equilíbrio constantes (desde que se esteja fisiologicamente sadio) devido a produção natural de antioxidantes; contudo, em situações de patologias, stress, ou mesmo alimentação desequilibrada, se pode aumentar a quantidade dos chamados “radicais livres”, cuja definição designa qualquer átomo ou molécula com um ou mais elétrons desemparelhados, lhes dando maior reatividade. Esses radicais apresentam funções importantes no metabolismo como: ativação do sistema imune (macrófagos), sinalização celular, além de síntese e regulação de algumas proteínas (WARD; PETERS, 1995; COMACHIO; PREVEDELLO, 2021). Todavia, sem o devido controle dentro do organismo, os agravos ocasionados pela presença de dessas espécies, em geral, estão relacionados com o surgimento de diversas doenças, como insuficiência cardíaca e respiratória, aterosclerose, doenças degenerativas, câncer, envelhecimento precoce, mutagênese e carcinogênese, bem como com o agravamento de processos inflamatórios (NIKI, 2010).

Antioxidantes são substâncias que podem adiar ou bloquear a oxidação de lipídios ou outras moléculas, evitando o começo ou o desenvolvimento das reações

de oxidação em cadeia. Estudos têm evidenciado que a ingestão de substâncias antioxidantes na dieta deve render uma ação protetora contra os prejuízos causados pelos processos oxidativos nas células. A atividade antioxidante dos compostos fenólicos é decorrência das suas propriedades de oxirredução, as quais podem cumprir um papel importante na neutralização desses radicais livres (DEGÁSPARI; WASZCZYNSKYJ, 2004; COMACHIO; PREVEDELLO, 2021).

Compostos fenólicos atuam como antioxidantes, pois funcionam como sequestradores de radicais livres, inibidores da enzima lipoxigenase e, em certos momentos, como quelantes de metais, agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo. Os produtos intermediários, formados pela ação destes antioxidantes, são relativamente estáveis devido à ressonância do anel aromático apresentada por estas substâncias (PEREIRA; NASCIMENTO, 2016).

Tendo em vista os indícios de problemas que podem ser provocados pelo consumo de antioxidantes sintéticos, como 2,6-bis(1,1-dimetiletil)-4-metilfenol (BHT) e a mistura 2-terc-butil-4-hidroxianisol e 3-terc-butil-4-hidroxianisol (BHA), as pesquisas estão se encaminhando a buscar, em produtos naturais, substâncias com atividade antioxidante, visando substituir esses sintetizados na indústria alimentar, bem como incrementar possibilidades na alimentação (IARC, 2019).

Com os muitos testes de avaliação de atividade antioxidante, os mais utilizados são os de métodos simples, reprodutíveis e de baixo custo, desde que apresentem resultados qualitativos e comparáveis. Desta forma os métodos de redução do DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) e do ABTS (2,2'-azinobis[3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico]) são algumas das técnicas mais utilizadas para essa avaliação (SILVEIRA, 2018).

O DPPH é um radical livre e estável com o qual compostos vegetais, que apresentam potencial atividade antioxidante, interagem permutando os elétrons ou átomos de hidrogênio, reduzindo-o. É um método de fácil execução, rápido e muito utilizado para avaliar a capacidade antioxidante de amostras vegetais. Este tem como base avaliar a capacidade antioxidante pelo sequestro do radical livre DPPH. É um dos métodos indiretos mais utilizado para qualificar o potencial antioxidante de compostos, sem que haja necessidade de temperaturas e oxigenação em condições

drásticas (FREITAS, 2013).

O radical DPPH possui coloração arroxeadada e absorve em um comprimento de onda de 515 nm. Na prática, o DPPH é reduzido de sua estrutura original à difenil-picril-hidrazina (coloração amarelada, após o radical hidrogênio doado uma molécula antioxidante, entrar em ressonância com a molécula de DPPH), por meio da atuação de um antioxidante, resultando no declínio da absorção. A interpretação desta metodologia se faz através do acompanhamento do consumo de DPPH pelas amostras, por meio da medida do decréscimo das medidas de absorvância (RUFINO, 2007).

Um dos métodos mais utilizados para medir a atividade antioxidante é através da captura do radical ABTS, que pode ser gerado através de uma reação química, eletroquímica ou enzimática e que se pode medir a atividade de compostos de natureza hidrofílica e lipofílica (KUSKOSKI *et al.*, 2005). O radical ABTS é estável e quando o analito entra em contato, há perda de cor do cromóforo. Sendo a concentração de compostos antioxidantes capazes de realizar mudanças na coloração da solução com o radical, esse resultado é determinado como estabilização dos radicais ABTS empregando um antioxidante padrão como comparação à amostra analisada (ALAM *et al.*, 2013). Desta forma, quanto menor é a absorvância após a reação (mais clara a coloração da reação, mudando para o verde claro) maior é o potencial antioxidante da amostra analisada. Essa diminuição na absorvância é detectada na faixa de 734 nm (RUFINO, 2007).

A OMS tem incentivado a investigação farmacológica de plantas medicinais para o tratamento diversas doenças (OLIVEIRA *et al.*, 2011). Vários estudos apontam que as plantas medicinais e seus compostos antioxidantes possuem um grande potencial biológico, trazendo uma variedade de substâncias que podem oferecer respostas positivas no tratamento a diversas patologias. Os flavonoides quercitrina, quercetina, luteolina são relatados com alto potencial de inibição de enzimas da *Leishmania* sp (SILVA *et al.*, 2012; de SOUSA *et al.*, 2017; MUZITANO *et al.*, 2006), reafirmando a importância e a necessidade da continuidade de estudos com produtos naturais, mais especificamente com compostos antioxidantes.

3.3 Leishmanioses

Leishmanioses são um conjunto de patologias causadas por protozoários do gênero *Leishmania*, possuindo um enorme espectro clínico e diversidade epidemiológica, representando uma das causas mais expressivas de morbidade e mortalidade em 22 países do Novo Mundo e 66 países do Velho Mundo (ASSCHE *et al.*, 2011). Segundo a OMS, as leishmanioses são consideradas doenças negligenciadas tropical e endêmicas, em muitas regiões do mundo (OMS, 2021).

Pelas manifestações clínicas, podem ser qualificadas em dois grandes grupos: tegumentar e visceral. A leishmaniose tegumentar representa a forma mais comum, que ainda é subdividida em leishmaniose cutânea, mucocutânea e difusa, com formas clínicas que variam desde pequenos nódulos a uma extensa destruição dos tecidos na pele. Contudo, a forma mais grave é leishmaniose visceral, onde os parasitos trafegam para diversos órgãos vitais causando febre prolongada, esplenomegalia, linfadenopatia periférica, hipergamaglobulinemia e pancitopenia. Em poucos meses, os pacientes tornam-se gradualmente doentes, emagrecidos e debilitados gradualmente e vão a óbito se não forem tratados a tempo (CAMARGO, BARCINSKI, 2003; TIUMAN *et al.*, 2011).

Existem fármacos de primeira escolha, os antimoniais pentavalentes, e de segunda escolha, a anfotericina B e a pentamidina, que estão disponíveis para a terapia das leishmanioses, porém, essas substâncias disponíveis podem induzir diversas toxicidades e são propensos à resistência pelos parasitos, resultando em falha do tratamento, em até 60% dos pacientes. Outro ponto importante é pelo tratamento ser administrado pela via parenteral, que exige cooperação do doente, que muitas vezes deixa o seguimento do tratamento. Esses medicamentos, também, possuem resposta variável entre as espécies de *Leishmania*, além de apresentarem alto custo e inúmeras reações adversas, podendo causar insuficiência renal e hipotensão (OLIVEIRA *et al.*, 2008; MATRANGOLO, 2013.)

Por conta da falta de melhores tratamentos, a busca e identificação de novos compostos é imperativa e, os produtos naturais são uma importante fonte de moléculas bioativas que podem contribuir com o tratamento das leishmanioses (ROCHA *et al.*, 2013)

3.4 Toxicidade hemolítica

A atividade hemolítica de extratos vegetais acontece por mecanismos não específicos, como os compostos surfactantes que fazem seu efeito hemolítico pela dissolução da membrana plasmática da hemácia, ou a lise osmótica, que gera alterações na permeabilidade da membrana plasmática da hemácia (CARVALHO *et al.* 2007). Dessa forma, as saponinas, especialmente em maiores quantidades, exercem um efeito hemolítico pela capacidade de interagir com os elementos que formam a membrana celular das hemácias, em especial o colesterol, ocasionando uma modificação na bicamada lipídica e, por conseguinte, o extravasamento do conteúdo intracelular (APARÍCIO, 2005).

A hemoglobina liberada no plasma sanguíneo pela hemólise pode provocar situações de riscos potenciais ao organismo, em especial, pode gerar danos aos rins (nefrotoxicidade) ou ao coração (efeito vaso motor). Em situações mais graves pode levar à parada cardíaca e ao óbito, pelo distúrbio causado pelos íons potássio liberados pelo processo hemolítico associados a acelerada liberação de K⁺ no meio extracelular (CARVALHO *et al.*, 2007).

3.5 *Tradescantia zebrina*: análises prévias

Graças ao estímulo do governo e a crescente busca da população por esse tipo de terapia, muitas pesquisas sobre plantas medicinais, especialmente as de cunho litúrgico, estão sendo desempenhadas por várias instituições do país e do mundo e, dentre elas, algumas estão direcionadas para as infecções (PEREIRA, 2004; RIBEIRO, 2014). A *Tradescantia zebrina* pertencente à família *Commelinaceae* e a classe *Liliopsida* é uma herbácea monocotiledônea, perene, ereta, liana, reptante rastejante, de consistência suculenta de origem mexicana, mas muito bem adaptada ao Brasil, haja vista sua facilidade de cultivo e potencial invasão, sendo chamada no México de “*hojas de cucaracha*” (folhas de barata), conforme citado por nativos devido a dificuldade em acabar com a planta que se espalha como baratas. A *Tradescantia zebrina* tem como sinônimas: *Tradescantia Pendula*, *Tradescantia Tricolor*, *Commelina Zebrina*, *Zebrina Purpusi*, *Cyanotis Zebrina*, *Cyanottis Vittata* e *Zebrina Pendula* (UFSC, 2022).

Segundo Silva (2016), a análise macroscópica confirma se tratar de uma espécie liana rastejante, percebem-se folhas lanceolado-lineares ou ovaladas

alternas, paralelinérveas, com bainha fechada e suas inflorescências são terminais. Possuem três sépalos e três pétalas (trimera) livres entre si e, estão protegidas por brácteas, são hermafroditas e zigomorfas, conforme observado na Figura 2.



Figura 2. Características macroscópicas da *Tradescantia zebrina*. Fonte: Silva, 2016.

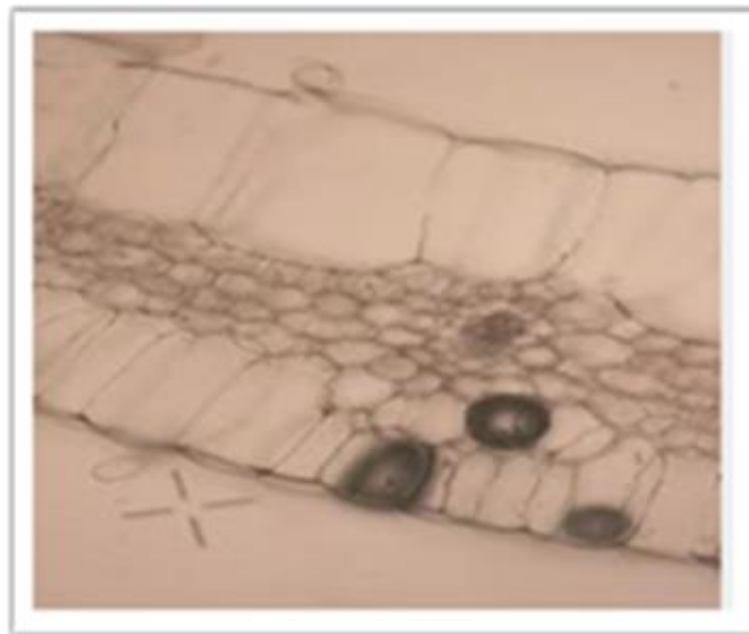


Figura 3. Corte transdérmico foliar da *Tradescantia zebrina*. Fonte: SILVA, 2016

Foi observada a partir do microscópio ótico, por Silva (2016), em cortes transversais da lâmina foliar, uma epiderme unisseriada formada por células altas não espessas e isodiamétricas; a hipoderme com apenas uma camada de células altas

que tomam boa espessura da lâmina foliar, o que garante grande suculência para as folhas (Figura 3). Também, foi observado que a presença de estômatos acontece somente na porção abaxial (Figura 4A), além de uma continuidade dos tecidos do caule e da folha (Figura 4B) e, que seu mesófilo é homogêneo (isomorfo) e ocupa área bem reduzida, com alguns idioblastos contendo ráfides, além da presença de tricomas tectores (Figura 4C) e glandulares (Figura 4D).

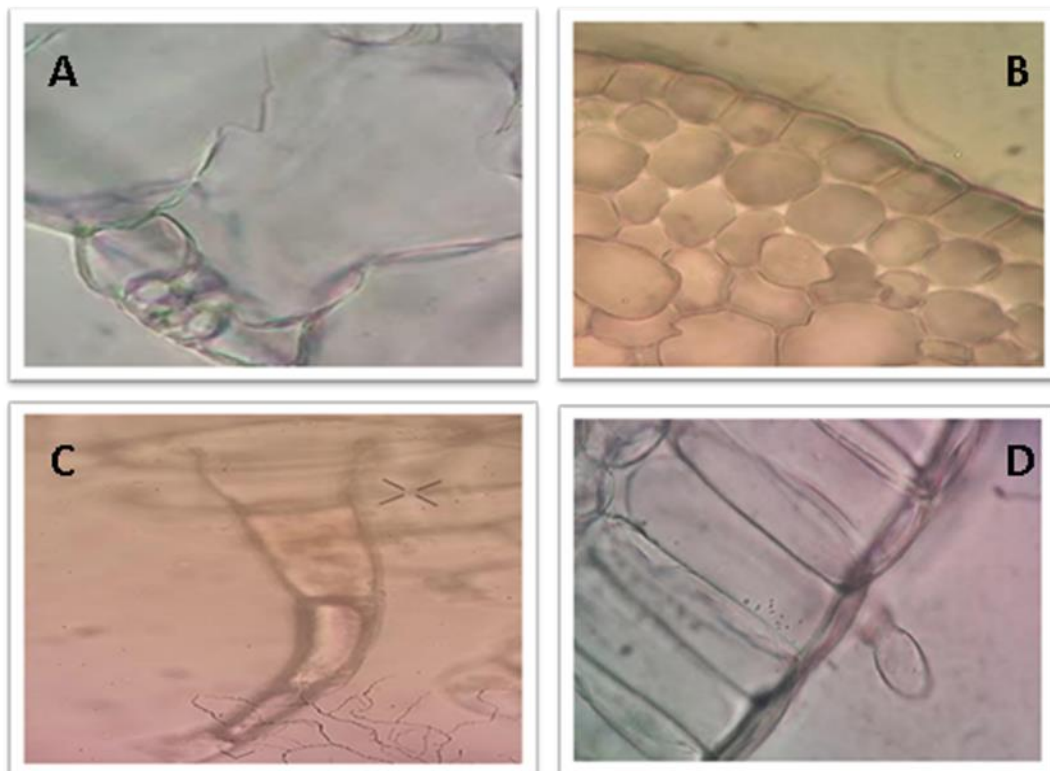


Figura 4. Corte transdérmicos da *Tradescantia zebrina*. Fonte: SILVA, 2016.

No corte paradérmico foliar (Figuras 5A e 5B) se confirmou que a epiderme é isodiamétrica e que as células estomáticas se encontram somente na porção abaxial. Os estômatos se classificam como tetracítico, composto por quatro células subsidiárias, sendo duas paralelas às células guardas e as outras perpendiculares (SILVA, 2016).

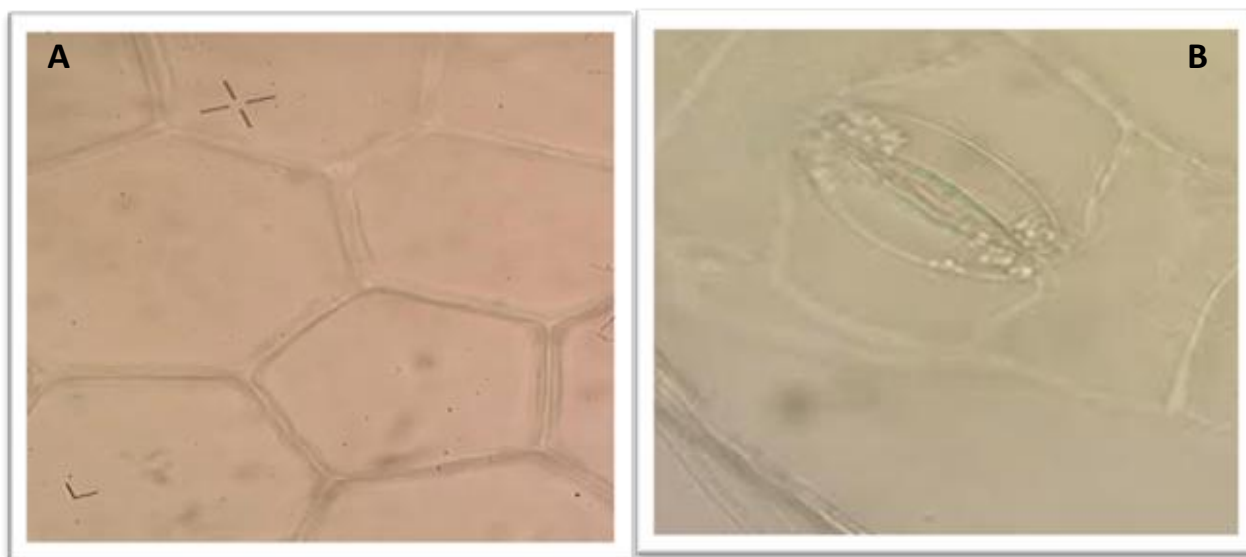


Figura 5. Corte paradérmico foliar da *Tradescantia zebrina*. Fonte: SILVA, 2016.

Segundo Tan *et al.* (2014), em uma pesquisa Malaya, a *Tradescantia zebrina*, dentre as cinco espécies testadas, apresentou a maior dosagem de taninos totais, fenóis e flavonoides totais; além de uma maior capacidade antioxidante, apresentando, também, uma melhor concentração inibitória mínima em bactérias gram positivas e gram negativas. Silva (2016) percebeu esses dados em triagem fitoquímica preliminar a essa pesquisa, realizada de forma inovadora, comparando extratos metanólicos a partir de material vegetal liofilizado, seco em estufa de circulação de ar e *in natura* (fresca), onde observou a presença das principais classes de metabólitos secundários conforme Tabela 1.

Tabela 1. Triagem Fitoquímica de extratos metanólicos de *Tradescantia zebrina*.

Reações	LF	IN	SC
Flavonoides (Shinoda)	+	+	+
Antocianinas	+	+	+
Taninos (Acetato de Chumbo 10%)	+	+	+
Taninos (Gelatina)	+	+	+
Terpenos / Esteroides (Liebermann-Burchard)	+	+	+
Alcaloides (Dragendorff)	+	+	+
Saponinas (Espuma)	+	+	+

Material Vegetal: LF: Liofilizado / IN: *in natura* / SC: Seco. Fonte: SILVA, 2016.

Grace *et al.* (2020) não identificaram, em sua pesquisa qualitativa a presença de flavonoides e saponinas, contrariando a maioria dos estudos; porém, foi positiva a presença de esteroides, não confirmada pela maioria dos ensaios (SILVA, 2016; BAGHALPOUR, 2021). Segundo Amaral (2006), a *Tradescantia zebrina* é tradicionalmente usada para tratar distúrbios gastrintestinais, o que se relaciona a atividade giardicida. Outros estudos, também, informaram que *Tradescantia zebrina* exibe atividades inseticidas (GONZALEZ-COLOMA, 2012) e inibitórias para a enzima 15-lipoxigenase, uma das responsáveis pela exacerbação na asma (ALABA, 2014). Frei *et al.* (1998) *apud* Alonso-Castro *et al.* (2010) informaram que a *Tradescantia zebrina* apresenta atividade antineoplásica para neoplasias colorretal e de nasofaringe.

Nesse contexto, fica fortalecida a proposta de que a espécie *Tradescantia zebrina* é uma fonte promissora/potencial de compostos bioativos, devido à variedade de metabólitos secundários presentes nesta planta. Alguns poucos relatos, na literatura, informaram que a presença destes compostos fenólicos pode indicar uma atividade antioxidante considerável para usos na saúde.

4. Materiais e Métodos

4.1 Identificação/Análise macroscópica, coleta e preparação de material botânico

A espécie foi identificada a partir de conhecimentos nativos e comparação de fotos com literatura existente (ELBL, 2008; UFSC, 2022). Foi utilizado um ramo da espécie para identificação dos aspectos macromorfológicos, observando-se divisão, formato da lâmina foliar, base do limbo, tipo de nervação, presença de pecíolo, bainha e estípula. Foram observadas também as características morfológicas da flor.

As amostras de folhas, caules e raízes de *Tradescantia zebrina* foram coletados em Aporá/BA, dentro de um mesmo terreno (coordenadas: 11.6605° S, 38.0803° W) no outono (maio de 2021), em lua cheia. As amostras foram coletadas, limpas de sujidades e restos de terra, secas a sombra até se tornarem friáveis, assim sendo trituradas em moinho/triturador de facas de marca Oster®, modelo OMDR100, com potência de 150 W. O processo foi realizado em 3 ciclos de cominuição até pó e, em seguida foram armazenadas em embalagem *zip lock* e mantido sob refrigeração (-14 a -25°C) em freezer até preparo do extrato. A amostra utilizada *in natura* foi coletada, limpa, rasurada manualmente e pesada para o preparo dos extratos, no verão de janeiro de 2022, em lua nova.

4.2 Preparação dos extratos

Os extratos obtidos, a partir de amostras secas, foram realizados por maceração em metanol e uma remaceração com troca de solvente em 24h (identificado por extrato 1). O extrato, feito a partir das amostras frescas (*in natura*) de *Tradescantia zebrina*, foi obtido seguindo método de polpação em metanol, utilizando liquidificador doméstico por 4h (identificado extrato 2). Foi separada uma amostra de 20 mL de extrato bruto não concentrado, feito a partir da amostra fresca (*in natura*), para seguir com metodologia de determinação da atividade antioxidante (identificado como: extrato 2b – não concentrado). Os demais extratos brutos foram concentrados em rotaevaporador (da marca Quimis®) em vácuo (40 mbar) e temperatura do banho controlada inferior a 35°. Após completa evaporação, o material aderido foi reconstituído com aproximadamente 3,0 mL de metanol para lavagem do balão

coletor. Em seguida, os extratos obtidos (seco e *in natura*) permaneceram em placas de Petri até secagem completa.

Os extratos 1 e 2 foram acondicionados em *ependorf* limpos e identificados, sendo armazenados no freezer até preparo dos extratos padronizados na proporção 1:10 de extrato concentrado. Enquanto, o extrato não concentrado ficou padronizado em concentração de 75 mg de planta fresca por 100 mL de metanol (75.000 mg L^{-1}) sendo preparado e utilizado no máximo por 3 dias.

4.3 Avaliação do teor de fenólicos totais

Para quantificar os compostos fenólicos totais, foi utilizada a metodologia proposta por Bonoli *et al.* (2004), onde foi construída uma curva padrão de ácido gálico em concentrações de 0, 10, 30, 50, 100, 200 mg mL^{-1} .

Para o doseamento, alíquotas de 0,1 mL de cada extrato bruto concentrado (padronizados com a concentração de 10 mg mL^{-1} de *Tradescantia zebrina*), foram diluídas em 0,5 mL de Folin-Ciocalteu (Sigma Aldrich®) 2 mol L^{-1} e, em seguida, foram acrescentados 6 mL de água destilada, sendo agitados em vortex por 1 minuto. Após essa etapa, foram adicionados 2 mL de uma solução de carbonato de sódio a 15% (m v^{-1}), sendo novamente agitadas por 30 segundos. A seguir, foram mantidas em repouso e ao abrigo da luz por 2 horas em temperatura ambiente. Realizou-se a leitura em espectrofotômetro de absorção molecular UV-Vis (Marca: Femto® Modelo: 700 plus) a 765nm, usando como “branco” todos os reagentes, exceto o extrato. Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

A partir da curva analítica do ácido gálico, foi obtida a equação da reta e calculados os teores de compostos fenólicos totais, expressos em mg equivalente de ácido gálico (EAG)/g de extrato.

4.4 Determinação do teor de flavonoides totais

A determinação dos teores de flavonoides totais foi realizada, em triplicata, conforme método descrito por Woisky & Salatino (1998), em que alíquotas de 0,5 mL para cada extrato metanólico bruto concentrado (padronizados e depois com a concentração de 10 mg mL^{-1} de *Tradescantia zebrina*), foram adicionadas um volume igual de solução metanólica de Cloreto de alumínio 5% (m v^{-1}). Após repouso por 15

minutos, realizou-se a leitura em espectrofotômetro de absorção molecular UV-Vis (Marca: Femto® Modelo: 700 plus) a 420nm. O conteúdo de flavonoides totais foi determinado usando uma curva padrão de quercetina nas concentrações de 0, 50, 100, 150, 200, 250 e 300 mg mL⁻¹.

A partir da curva analítica da quercetina, foi obtida a equação da reta e calculados os teores de flavonoides totais, sendo os resultados são expressos em mg equivalente de quercetina (EQ) /g de extrato.

4.5 Determinação do potencial antioxidante a partir da captura do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH*)

A atividade antioxidante pelo método de captura do radical DPPH* foi realizada utilizando a metodologia adaptada de Rufino *et al* (2007):

- *Para o preparo da solução de DPPH 0,025 mM (25 µM)*: dissolveu-se 1 mg de DPPH em metanol e completou-se o volume para 100 mL em um balão volumétrico com metanol, homogeneizado e transferido para um frasco de vidro âmbar, devidamente etiquetado.

- *Curva do DPPH*: partindo da solução inicial de DPPH 0,025mM (25 µM), preparou-se, em balões volumétricos de 10 mL, soluções variando a concentração de 2,5 µM a 20 µM. Para construção da curva foi transferida uma alíquota de, aproximadamente, 4 mL de cada solução de DPPH (2,5; 5; 10; 15 e 20 µM) para a cubeta de vidro e realizada a leitura a 515 nm, em espectrofotômetro de absorção molecular UV-Vis (Marca: Femto® Modelo: 700 plus). O metanol foi utilizado como branco, para calibrar o espectrofotômetro. Em seguida, plotaram-se as concentrações de DPPH (µM) no eixo X e as respectivas absorvâncias no eixo Y, sendo calculada a equação da reta por meio de programa Excel®.

Foram preparadas diluições do extrato 2 – não concentrado, nas concentrações 200, 600 e 800 mg L⁻¹ (amostra/solvente), em ambiente escuro. Em seguida, foi transferida uma alíquota de 0,1 mL de cada diluição do extrato para tubos do tipo Falcon® com 3,9 mL do radical DPPH*, homogeneizando em agitador de tubos. Para o controle negativo foram utilizados 0,1 mL metanol + 3,9 mL do radical DPPH*. As leituras foram realizadas em 515 nm, em espectrofotômetro de absorção molecular

UV-Vis (Marca: Femto® Modelo: 700 plus) durante 30 minutos, sendo observada a redução da absorvância e sua estabilização.

O resultado calculado da concentração efetiva (EC_{50}) e a concentração inibitória para reduzir em 50% (IC_{50}) o DPPH foram expressos em g de amostra fresca/g DPPH e, em % de inibição de DPPH. As amostras foram preparadas em triplicatas. Os resultados foram expressos como a média dos valores obtidos e seus respectivos desvios padrões.

O percentual de atividade antioxidante também foi calculado, através da fórmula:

$AA (\%) = [(A_{cont} - A_{am})/A_{cont}] \times 100$, em que A_{cont} representa a absorvância do controle e A_{am} representa a absorvância da amostra.

4.6 Determinação da atividade antioxidante a partir da captura do radical livre $ABTS^{*+}$ [2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)]

A atividade antioxidante pelo método $ABTS^{*+}$ foi realizada utilizando a metodologia adaptada de Rufino *et al* (2007):

- *Preparo da solução estoque de ABTS (7 mM)*: foram dissolvidos 38,4 mg de ABTS em água destilada e completado o volume para 10mL em um balão volumétrico, homogeneizado e transferido para um frasco de vidro âmbar, devidamente etiquetado.

- *Preparo da solução de Persulfato de potássio (140 nM)*: foram dissolvidos 189,2mg de persulfato de potássio em água destilada e completado o volume para 5 mL em um balão volumétrico, homogeneizado e transferido para um frasco de vidro âmbar.

- *Preparo do radical $ABTS^{*+}$* : o radical $ABTS^{*+}$ foi preparado a partir da reação de 5 mL da solução estoque de ABTS com 88 μ L da solução de persulfato de potássio, mantendo a mistura no escuro à temperatura ambiente, por 16 horas. Em seguida, diluiu-se 1 mL desta mistura em álcool etílico ($\pm$ 120 mL) até obter uma absorvância de 0,70 nm $\pm$ 0,05 nm a 734 nm.

- *Preparo da solução padrão de Trolox (2 mM)*: dissolveram-se 12,5 mg de Trolox em álcool etílico e completado o volume para 25 mL em um balão volumétrico com álcool

etílico, homogeneizado e transferido para um frasco de vidro âmbar, devidamente etiquetado.

- *Preparo das soluções e determinação da curva padrão:* a partir da solução padrão de Trolox (2.000 μM), foram preparadas soluções variando a concentração de 100 a 1.500 μM e, alíquotas de 30 μL de cada solução de Trolox (100; 500; 1.000; 1.500; 2.000 μM) foram transferidas para tubos de ensaio, misturados com 3,0 mL da solução do radical ABTS^{•+} e homogeneizados em agitador de tubos. As leituras foram realizadas em 734 nm, em espectrofotômetro de absorção molecular UV-Vis (Marca: Femto® Modelo: 700 plus), após 6 minutos da mistura descrita acima, utilizando álcool etílico como branco analítico, para calibrar o espectrofotômetro.

A partir dos extratos 1, 2 e 2 – não concentrado, foram preparadas quatro diluições diferentes em triplicata. Em ambiente escuro transferiu-se uma alíquota de 50 μL de cada diluição do extrato para tubos de ensaio com 5,0 mL do radical ABTS^{•+}. A leitura foi efetuada após 6 minutos da reação a 734 nm, usando o etanol como branco analítico. Como padrão de referência, utilizou-se o Trolox, um antioxidante sintético análogo à vitamina E, nas concentrações de 100-2000 μM . Os resultados da atividade antioxidante foram expressos em μM Trolox/g amostra (atividade antioxidante equivalente ao Trolox). Os resultados foram expressos como a média dos valores obtidos e seus respectivos desvios padrões.

O percentual de atividade antioxidante também foi calculado, através da fórmula:

$$\text{AA (\%)} = [(A_{\text{cont}} - A_{\text{am}})/A_{\text{cont}}] \times 100$$
, em que A_{cont} representa a absorvância do controle e A_{am} representa a absorvância da amostra.

4.7 Determinação e quantificação de compostos fenólicos por CLAE-DAD

Para isolamento dos compostos fenólicos, cerca de 10 mg do extrato bruto concentrado de *Tradescantia zebrina* foi solubilizado em 1 mL de metanol (grau HPLC). As análises foram realizadas em CLAE com um sistema de cromatografia líquida do modelo Prominence-i LC-2030C 3D Plus (Shimadzu Scientific Instruments, Kyoto, Japão), equipado com detector de arranjo de diodos (DAD) (modelo SPD-20A), bomba quaternária de alta pressão (modelo LC-20AD), forno de aquecimento (modelo

CTO-20A), amostrador automático (modelo SIL-20A) e módulo de comunicação (CBM-40Life), todo tratamento e aquisição de amostras foi controlado pelo software LCsolutions (Shimadzu®, Japão).

A separação cromatográfica foi realizada utilizando uma coluna Lichrospher® C18 (5 μm , 4,0 x 250 mm) da Sigma-Aldrich (EUA), a 40 °C e vazão de 1,0 mL min⁻¹ de com solventes analíticos constituindo grade para mistura de eluição binária consistindo de (A) água ultrapura acidificada com ácido acético glacial 1% (v v⁻¹) e (B) de metanol grau HPLC de acordo com o programa de gradiente: 0-10 min, 100% A; 10-20 min, 30% A e 70% B; 20-21, 25% A e 75% B; 21-25, 100% A. Antes da injeção (20 μL) no sistema CLAE-DAD, as soluções de extrato foram filtradas através de um filtro de seringa de PTFE (0,45 μm) (GOMES, 2021).

Uma amostra de cada extrato (seco e fresco) foi fortificada com uma solução de concentração final a 0,005 mg mL⁻¹ contendo um “mix” de 17 padrões fenólicos, para que pudessem ser identificados e quantificados, a partir de seu espectro (cromatograma), garantindo assim que os picos fossem analiticamente percebíveis. A identificação e as análises qualitativas foram realizadas por comparação com espectros padrão em cada tempo de retenção (SAGDIC, 2011). Os padrões de compostos fenólicos que foram testados apresentam absorvâncias nos seguintes comprimentos de onda: Ácido cafeico (330 nm), Ácido clorogênico (330 nm), Ácido elágico (260 nm), Ácido ferúlico (330 nm), Ácido gálico (272 nm), Ácido p-cumárico (310 nm), Ácido protocatecuico (260 nm), Ácido sinápico (330 nm), Ácido siríngico (272 nm), Ácido trans-cinâmico (280 nm), Catequina (280 nm), Crisina (272 nm), Kaempferol (360 nm), Naringenina (280 nm), Quercetina (360 nm), Rutina (360 nm) e Vanilina (280 nm). Os analitos identificados foram quantificados usando as curvas de calibração externa (0,1 - 2,5 mg L⁻¹). Os resultados foram expressos em mg g⁻¹ de extrato seco.

O método proposto foi validado e os principais parâmetros analíticos normalmente encontrados para validação de métodos são: linearidade, precisão limites de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ). Para os procedimentos validação analítica deste estudo, seguiu-se a resolução RDC N° 166, de 24 de julho de 2017, publicada pela ANVISA, que dispõe sobre a validação de métodos analíticos (BRASIL, 2017).

A linearidade foi avaliada de acordo com o coeficiente de determinação (R^2) das curvas analíticas. A precisão foi demonstrada pela dispersão dos resultados, calculando-se o desvio padrão relativo (DPR) da série de medições. Os limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) foram calculados com base nos parâmetros das curvas analíticas, relacionando o desvio padrão da interseção (s) e o coeficiente angular da curva (S), conforme as equações 1 e 2:

$$\text{LOD} = 3,3 \times (s/S) \quad \text{(Equação 1)}$$

$$\text{LOQ} = 10 \times (s/S) \quad \text{(Equação 2)}$$

4.8 Avaliação da atividade antileishmania

Para o ensaio de atividade leishmanicida, foram utilizadas as formas promastigotas de *L. amazonensis* e *L. braziliensis* (1×10^6 por poço), que foram cultivadas em placa de 96 poços em meio Schneider (Sigma-Aldrich®) suplementado com 10% de soro bovino fetal (FBS, Gibco®) e $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ de gentamicina (Life, Carlsbad, CA). Em seguida, foram submetidas ao tratamento com diferentes concentrações ($100 \mu\text{g mL}^{-1}$; 8 diluições 1:2) do extrato 1. Os parasitos foram incubados por 72h a 26°C . Em seguida, $20 \mu\text{L}$ /poço de AlamarBlue (Invitrogen®, Carlsbad, CA) foram adicionados durante 2 horas. A leitura foi realizada no leitor de microplaca de absorção molecular UV-Vis (Marca: Molecular Devices Modelo/Série: SpectraMax® 190), usando os comprimentos de onda de 570 e 600 nm. O cálculo de inibição da cultura axênica foi determinado baseado no controle não tratado (GUEDES *et al.*, 2018).

4.9 Teste de atividade hemolítica em ágar sangue

O ensaio de atividade hemolítica foi realizado segundo a adaptação da metodologia da *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS, 2003) de difusão em ágar sangue pela técnica de antibiograma em discos. Discos de papéis de filtro foram impregnados com as amostras (na concentração de 1 mg mL^{-1} de extrato concentrado de *Tradescantia zebrina*). Após impregnação, os discos foram distribuídos nas placas e incubados a 35° por 24, 48 e 72 horas. Como controle positivo foi utilizada uma solução de detergente comum e, para controle negativo foram utilizados: i) o solvente de diluição das amostras (metanol) e ii) solução salina a 20%. Transcorrido o primeiro período de incubação, as placas foram inspecionadas

quanto à presença de halos de hemólise. Em seguida, foram novamente incubadas para análise em 48 e 72 horas.

5. Resultados e Discussão

5.1 Identificação botânica e análise macroscópica das amostras

Segundo Elbl (2008), nas monocotiledôneas são vistas lâminas foliares de várias formas; contudo, é específico para o grupo a venação paralela. As folhas das monocotiledôneas são denominadas incompletas e invaginantes, pois apresentam, em sua grande parte, apenas bainha e limbo, diferente das eudicotiledôneas que apresentam, em geral, pecíolo e limbo e, raramente bainha. Dessa forma, as características macroscópicas das amostras analisadas neste trabalho estão em conformidade com o que descrevem Maia (2006) e Elbl (2008) para as Comelináceas. A análise da arquitetura das folhas, também, mostrou que estas se enquadraram na morfologia descrita por Elbl (2008) e horto da UFSC, pois se confirmou o padrão paralelinérveo, que é característico de todo grupamento, como também, a presença de inflorescências hermafroditas e protegidas por brácteas registradas para a espécie. Foi possível identificar que o caule é estolonífero de crescimento reptante, com presença de nós de onde surgem raízes e formação de novos ramos, conforme Figura 6. (ELBL, 2008).



Figura 6. Características macroscópicas das amostras de *Tradescantia zebrinas* analisadas neste trabalho. Fonte: Autor, 2022.

Sua fácil disseminação permite seu crescimento e dispersão em diversos terrenos (Figura 7) sem muitos cuidados específicos, caracterizando esta espécie como invasora, conforme descrito por Mantoani *et al.* (2013), que abordaram as implicações da invasão de *Tradescantia zebrina* sobre as regenerantes de plântulas

arbóreas no estado do Paraná. Também, foi registrada a invasão desta espécie no Cerrado e na Mata Atlântica (ZENNI; ZILLER, 2011), com destaque á sua utilização como forragem e decoração de espaços.



Figura 7. Disseminação de *Tradescantia zebrina*. Fonte: Autor, 2022

Observou-se que luminosidade para a produção da espécie deve ser indireta, mas intensa. Se a planta for plantada em locais de muita sombra, suas folhas vão se tornando mais pálidas. Ainda, os caules ficam com um aspecto mais fino e alongado, devido ao processo de estiolamento, em que a planta cresce muito rapidamente em busca de luz, sem desenvolvimento adequado de folhas. Por isso, no paisagismo é muito aproveitada em lugares onde a grama não se cresce, por carência de iluminação direta, como embaixo de árvores (LORENZI; SOUZA, 2008).

É sabido que o local e a época de plantio são essenciais para a obtenção de um elevado rendimento das espécies e de substâncias do metabolismo secundário. Contudo, segundo Carvalho (2005), a *Tradescantia zebrina* é uma espécie que oferece fácil adaptação em qualquer espaço, além de se desenvolver durante todo o ano, tanto ao ar livre, quanto em estufas. As influências ambientais que mais interferem no crescimento e no desenvolvimento das plantas são o fotoperíodo, a radiação e a temperatura (MARCHESE E FIGUEIRA, 2005).

5.2 Teor de fenólicos totais

A determinação do teor de fenólicos totais tem importância significativa, uma vez que diversos estudos evidenciaram a atividade antioxidante destes compostos (SOUZA, 2018; SANTOS, 2018; JACOBI, 2021; BARROS, 2021). Foi obtida a equação da reta ($y = 0,0049x + 0,0297$) a partir da curva padrão de ácido gálico (Figura 8) e um $R^2 = 0,9998$, confirmando a linearidade na faixa de trabalho estudada (0 – 200 mg mL⁻¹). A Tabela 2 apresenta os valores referentes à concentração de fenólicos totais expressos em mg EAG/g de extrato concentrado para as amostras (seca e fresca).

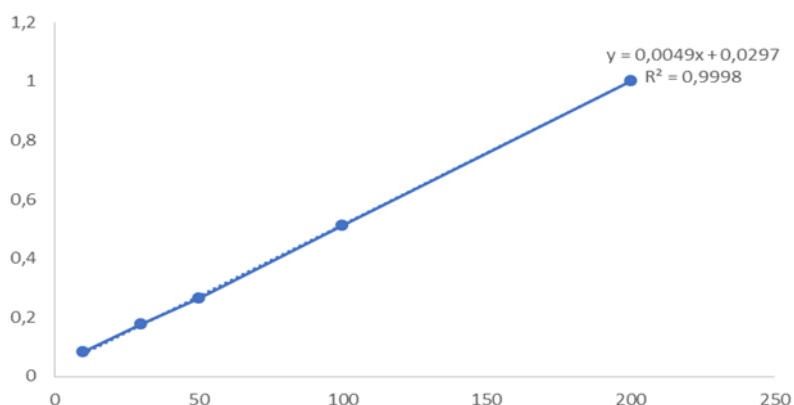


Figura 8. Curva padrão de ácido gálico.

Tabela 2. Concentração de fenólicos totais expressos em mg EAG/g de extratos 1 e 2 de *Tradescantia zebrina*

Amostras	Concentração (mg EAG/g)
Seca	67,68 ± 0,12
Fresca	233,94 ± 0,71

Cheah *et al.* (2017) identificaram, nessa espécie, uma concentração de fenólicos totais de 33.5 ± 2.58 mg EAG/g de extrato, apresentando um teor bem abaixo dos encontrados no presente estudo, fato que pode se justificar mais uma vez pela sazonalidade, local de coleta e método de preparo de amostras. É sabido que a secagem é um importante processo de armazenamento e conservação de plantas

medicinais, evitando degradação microbiológica. No entanto este processo pode levar uma alteração do perfil metabólico e das propriedades antioxidantes de compostos químicos produzidos pelo vegetal. To (2020) encontrou compostos fenólicos totais para o caule ($694,86 \pm 54,46$ mg GAE/g) e folhas ($510,70 \pm 31,45$ mg GAE/g) para extratos etanólicos, destas partes de *Tradescantia zebrina*.

Katsube *et al.* (2009) afirmaram que a temperatura de secagem de plantas pode diminuir sua atividade antioxidante e, ainda, conferem essa redução principalmente ao teor de polifenóis dos extratos vegetais, que também é diminuído com a aumento da temperatura. Desta forma, se observou uma importante redução na concentração de fenólicos totais na amostra seca, que provavelmente ocorreu pelo processo de secagem da planta, associado ao processo de rotaevaporação do extrato bruto, assim como pela degradação natural, uma vez que esse extrato não foi preparado no mesmo dia de leitura, e estava armazenado em freezer por 3 meses. Outro fator que também se deve considerar é a época de coleta, uma vez que a incidência de radiação solar ou a pluviosidade podem interferir nessa quantificação (GOMES *et al.*, 2021).

Contrariamente ao processo de preparo e análise da amostra seca, a determinação de fenólicos totais no extrato fresco (*in natura*) foi feita imediatamente após preparo da mesma, comprovando que as preparações na forma fresca continham cerca de 345,6% a mais de compostos fenólicos.

5.3 Teor de flavonoides totais

Dentre os compostos fenólicos, os flavonoides são considerados, por muitos autores, como a classe fitoquímica com maior atividade antioxidante, pois, além de agirem em várias funções nas plantas (defesa contra insetos, fungos, vírus e bactérias e proteção contra radiação ultravioleta), as atividades antioxidante, anti-inflamatória e antineoplásica foram relatadas em testes *in vitro* e *in vivo*, bem como na prevenção de doenças neurodegenerativas (SHAHIDI, 2014; NEGRI, 2015; AHMED, 2014).

Foi obtida a equação da reta ($y = 0,0549x - 0,0056$) a partir da curva padrão de quercetina (Figura 9) e um $R^2 = 0,9999$, confirmando a linearidade na faixa de trabalho estudada ($0 - 300$ mg mL⁻¹). Desta forma, foi viável realizar a determinação do teor de flavonoides totais em extratos metanólicos preparados com amostras

(secas e *in natura*). A Tabela 3 apresenta os valores referentes à concentração de flavonoides totais expressos em mg EQ/g de extrato concentrado para as amostras (seca e fresca).

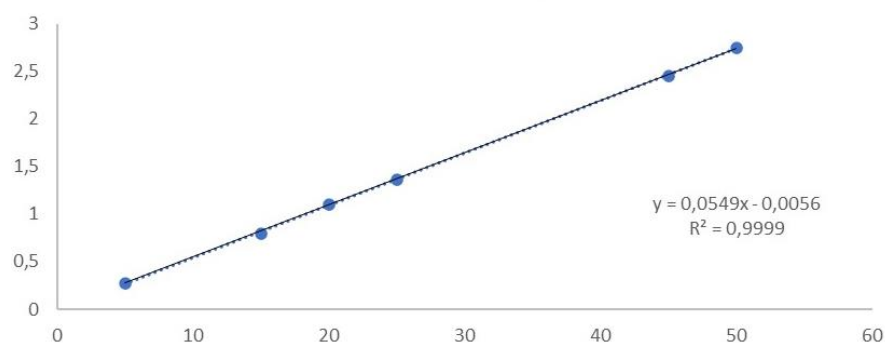


Figura 9. Curva padrão de quercetina

Tabela 3. Concentração de flavonoides totais expressos em mg EQ/g de extrato concentrado para as amostras (seca e fresca) de *Tradescantia zebrina*.

Amostras	Concentração (mg EQ/g)
Seca	10,99 ± 0,08
Fresca	29,70 ± 0,04

Cheah e colaboradores (2017) foram capazes de quantificar o teor de flavonoides totais em plantas secas encontrando valores de 9.4 ± 1.06 mg equivalente de catequina por g de extrato, que apesar de equivalência distinta demonstra um valor equivalente ao encontrado nesse estudo para amostra seca, enquanto Olivo-Vidal (2020) encontra valores de 16,8 mg EqCAT/g, para amostras possivelmente frescas compradas em feira mexicana, demonstrando um teor maior que o estudo anterior, mas se comparado ao presente ainda se quantifica um teor abaixo do encontrado, podendo indicar que a colheita não seja recente, assim como podem ter passado por processos de aquecimento (pelo Sol) e desidratação, assim como por diversos outros fatores abióticos que possam interferir na produção e/ou manutenção dos flavonoides. To (2020) encontrou compostos fenólicos totais para o caule ($496,22 \pm 16,56$ mg ECAT/g) e folhas ($410,27 \pm 8,34$ mg ECAT/g) para extratos etanólicos, destas partes

de *Tradescantia zebrina*.

Neste trabalho, foi possível perceber a variação na concentração de flavonoides totais entre a amostra seca e fresca, reafirmando o que foi observado nas plantas que estavam sobre Sol pleno, que apresentavam folhagens menos desenvolvidas e com coloração mais avermelhada, o que se pressupõe a presença dos flavonoides, em especial as antocianinas, compostos geralmente da cor vermelha ou azulada, presentes nas plantas (SILVA, 2021). Segundo Simões (2017), esse nome é proveniente do grego *antho-*, flor, e *kyanus-*, azul, sendo pigmentos achados na seiva, podendo variar a cor do órgão, de acordo com o pH da seiva. Com isso, o azul de determinadas flores ou o vermelho de outras podem ser oriundos do mesmo composto, mas em valores de pH diferentes (GOTO, 1991; IDAKA, 1987).

Dessa forma, os metabólitos secundários representam uma correlação química entre as espécies e o ambiente onde são plantadas. Esses estímulos ambientais de onde as plantas se encontram podem desviar a rota metabólica, ocasionando a biossíntese de diferentes compostos, assim como um rendimento maior de determinados metabólitos. Dentre possíveis interferentes, é possível destacar influências mútuas da planta com: microrganismos, insetos e/ou outras plantas, além de pluviosidade, incidência de luz solar, nutrição, época e horário de coleta, bem como metodologias de colheita e preparo das amostras, podendo influenciar na sua fitoquímica (MORAIS, 2009). Ademais, Marchese e Figueira (2005), afirmaram que os metabólitos secundários sofrem interferência de diversos fatores, como sazonalidade, ciclo circadiano, solo e/ou temperatura.

Em extratos aquosos de *Tradescantia zebrina* foi possível identificar a presença de antocianinas pela simples variação de pH. Um dos primeiros trabalhos com a espécie foi realizado por Idaka e colaboradores (1987), que isolaram cinco antocianinas aciladas utilizando a CLAE, com leitura na região de absorção na região do ultravioleta, entre 270 e 280 nm. Para conseguir separar esses compostos foi necessário a remoção da clorofila por extração com éter de petróleo. Os autores identificaram a estrutura molecular de um flavonoide antociânico, a zebrinina, uma antocianina roxo-avermelhada isolada de *Tradescantia zebrina*, que contém L-arabinose e quatro moléculas de ácido cafeico, provável responsável do pigmento arroxeado da planta (IDAKA *et al*, 1987).

5.4 Atividade antioxidante

5.4.1 Determinação do potencial antioxidante a partir da captura do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH[•])

Para a quantificação da atividade antioxidante em extratos metanólicos preparados com a amostra fresca (*in natura*) pelo método de captura do radical DPPH[•], foi gerado um gráfico de dispersão, através da plotagem de dados referentes à concentração do DPPH e suas respectivas absorvâncias. Foi obtida a equação da reta ($y = 0,1045x - 0,0274$) a partir da curva padrão de DPPH (Figura 10) e um $R^2 = 0,9996$, confirmando a linearidade na faixa de trabalho estudada (0 – 20 μM).

Nesse método, ficou perceptível que apesar da baixa concentração do extrato (variando de 1,5 g a 6 g de planta fresca para cada 100 mL de solvente), a espécie apresentou uma boa atividade inibitória ao DPPH, conforme é verificado na Tabela 4.

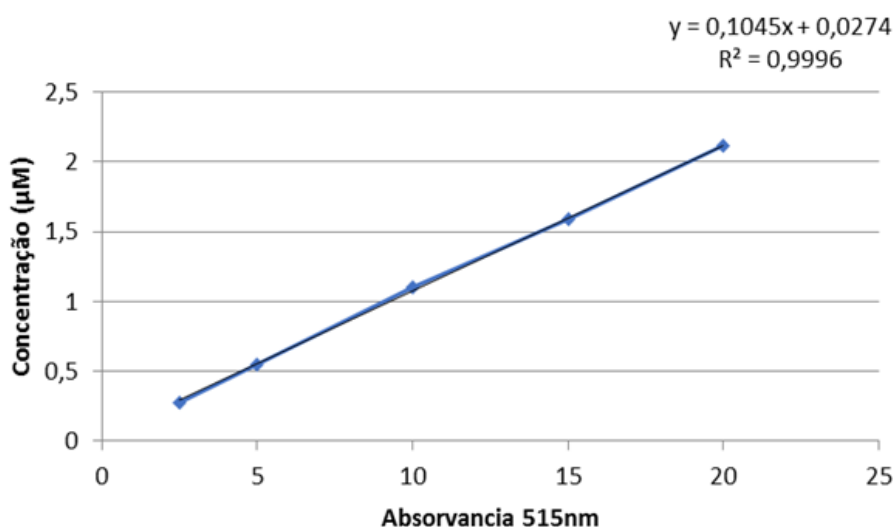


Figura 10. Curva padrão de DPPH

Tabela 4. % de inibição e % remanescente de DPPH no extrato 2b – não concentrado de *Tradescantia zebrina*.

Concentração das amostras (mg L^{-1})	% Inibição DPPH	% DPPH Remanescente
--	-----------------	---------------------

15.000	10,31	89,69
45.000	44,08	55,92
60.000	56,00	44,00

Foi notável a inibição do radical DPPH^{*}, uma vez que, apesar da baixa concentração do extrato, cerca de 44% do radical DPPH^{*} foi inibido, em 45g de planta (*in natura*) extraída em 1L de metanol. Isso seria muito menos que, para um preparo da bebida *Água de Matalí*, popular entre os mexicanos seguindo tradição cultural própria de Tabasco, em que se usa um punhado de planta (por volta de 100-150g) infundida em água a ferver ($\pm$ 1litro) e, após esfriar, se acrescenta suco de 1 limão e adoça com mel, se bebe gelado ou quente (SARTORI *et al.*, 2020). Dessa forma, o consumo do refresco, nessa proporção, acarreta um percentual de compostos antioxidantes considerável à dieta.

A partir dos dados referentes ao percentual de inibição do radical DPPH^{*} foi possível quantificar a concentração de antioxidante necessária para que haja 50% de DPPH remanescente no sistema (Concentração Inibitória – IC₅₀), a partir da plotagem dos dados em um gráfico de dispersão (Figura 11), onde se obteve a equação $y = 0,001x - 4,4467$, apresentando um coeficiente de determinação $R^2 = 0,9937$.

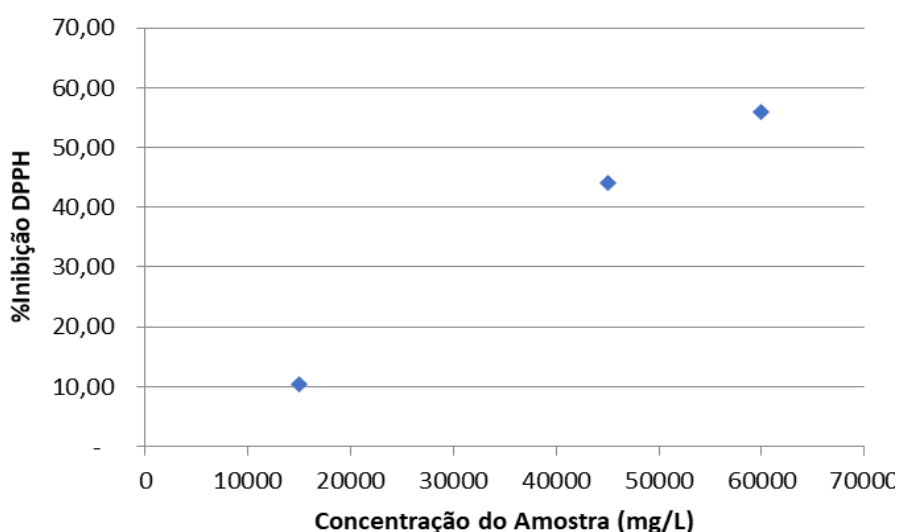


Figura 11. Percentual de inibição do radical DPPH^{*} a partir das variações de concentração do extrato 2b – não concentrado *Tradescantia zebrina*.

Com as absorvâncias obtidas para os extratos 2 e 2b – não concentrado de amostras frescas (*in natura*) de *Tradescantia zebrina*, em cada concentração plotadas no gráfico de dispersão (Figura 12), obteve-se a equação $y = -0,00003x + 2,6039$, com coeficiente de correlação $R^2 = 0,9937$, foi possível determinar a Concentração Eficiente (EC_{50}) em $mg\ L^{-1}$. A partir desses cálculos foi elaborada a Tabela 5. Percebeu-se que os valores de EC_{50} e IC_{50} foram equivalentes, ao se analisar a linha de tendência dos gráficos.

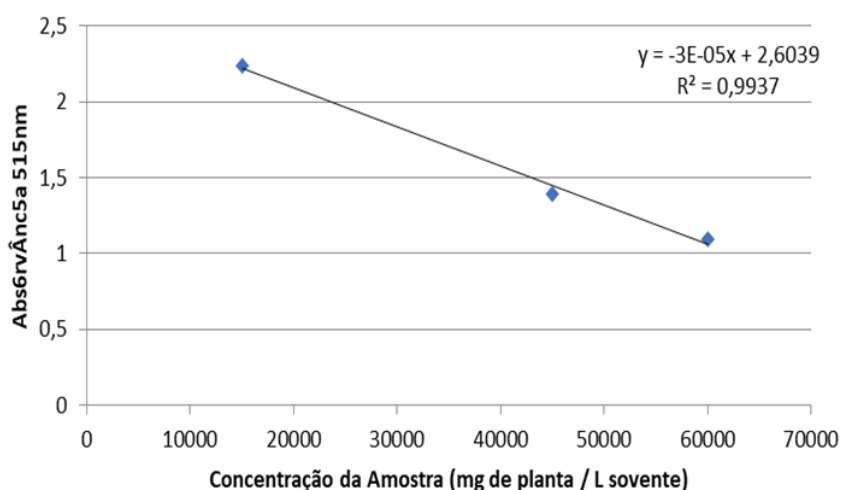


Figura 12. Atividade antioxidante (método DPPH) de extrato 2b – não concentrado de *Tradescantia zebrina*

A partir do valor correspondente a 50% da absorvância inicial do controle pelo eixo y da equação da curva do DPPH (Figura 10), calculou-se o consumo, em μM , de DPPH e, em seguida, se transformou para g de DPPH, partida de onde foi possível converter a concentração em $mg\ L^{-1}$ em g planta fresca/g DPPH. Em seguida, se obteve a equivalência entre a quantidade de planta fresca para consumo e a quantidade do oxidante DPPH.

Tabela 5. Comparação entre Concentração Inibitória (IC_{50}) e Concentração Eficiente (EC_{50}) do extrato 2b – não concentrado de *Tradescantia zebrina*

IC_{50}	EC_{50}
45,56 $mg\ mL^{-1}$	45,25 $mg\ mL^{-1}$
9.903,07g planta/g DPPH	9.836,41g planta/g DPPH

Com a interpretação desses dados, se observa que são necessários pouco mais de 45 mg de planta fresca (*in natura*) em 1 mL de solvente extrator para que seja possível sequestrar 50% do radical oxidante, sendo mais uma forma de apresentar que o potencial antioxidante da espécie é de relevância científica. Logo, foram consumidos, praticamente, 10 g da planta para inibir 1 mg de DPPH, sendo uma fonte importante de antioxidantes.

A literatura, no que se refere a testagem de atividade antioxidante, preconiza que as testagens sejam feitas com a utilização de mais de uma metodologia, pois estas se baseiam em princípios/fundamentos distintos e podem sofrer interferências em amplos aspectos. Por isso, nenhum método vai indicar com segurança a capacidade antioxidante total de uma amostra; pois, também, não existe nenhuma similitude com sistemas biológicos. Porém, não perdem sua importância, pois auxiliam nos estudos de prospecção química e biológica, no esclarecimento de fatores fisiológicos (HUANG, 2005; MUNTEANU, 2021; YARLEY, 2021)

5.4.2 Determinação do potencial antioxidante a partir da captura do radical livre ABTS^{•+} (2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid))

Para a quantificação da atividade antioxidante em extratos metanólicos preparados com amostras (seca e *in natura*) pelo método de captura do radical ABTS^{•+}, foi gerado um gráfico de dispersão, através da plotagem de dados referentes à concentração do Trolox e suas respectivas absorvâncias. Foi obtida a equação da reta ($y = -0,0003x + 0,6325$) a partir da curva padrão de Trolox (Figura 13) e um $R^2 = 0,9998$, confirmando a linearidade na faixa de trabalho estudada (0 – 2000 μM).

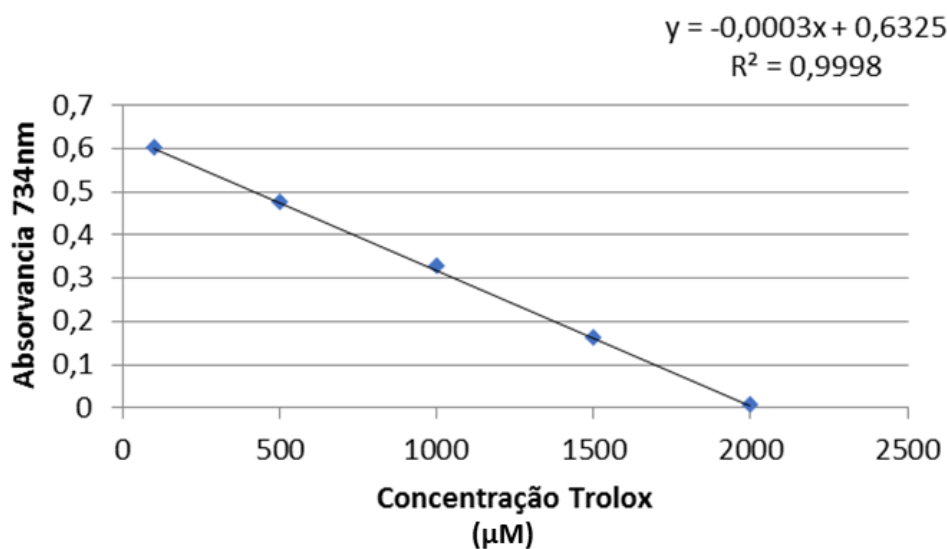


Figura 13. Curva padrão de Trolox

Nesse método, notou-se que a resposta da amostra fresca (base úmida – sem secagem de extrato), apesar de baixa concentração, apresentou uma considerável atividade antioxidante quando comparado ao trolox, conforme é verificado na Figura 14 e Tabela 6.

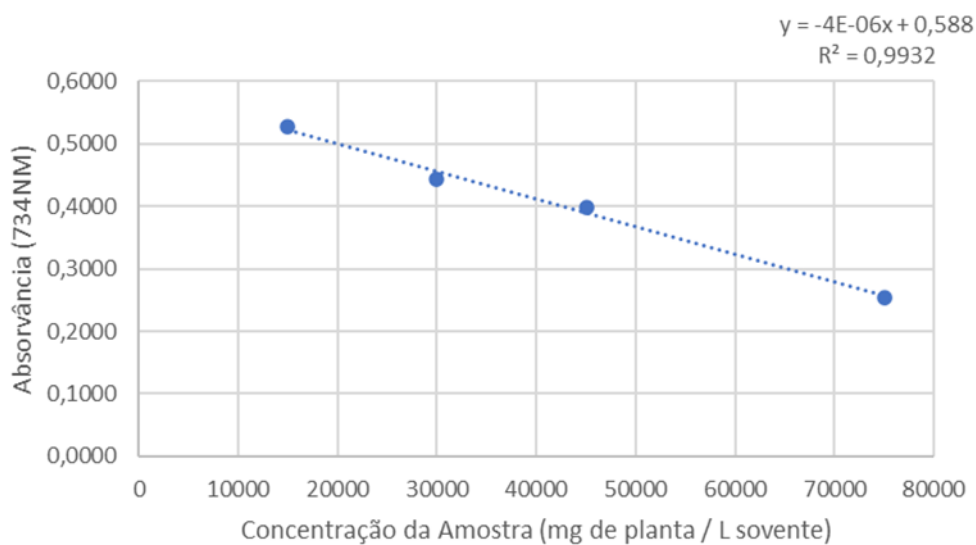


Figura 14. Atividade antioxidante (método ABTS) do extrato 2 – não concentrado de *Tradescantia zebrina*.

Tabela 6. Atividade Antioxidante Equivalente ao Trolox (TEAC) do extrato 2b – não concentrado de *Tradescantia zebrina* e em percentual

Concentração das amostras (mg L ⁻¹)	Concentração total de antioxidantes (mg L ⁻¹)	Capacidade Antioxidante Equivalente ao Trolox (TEAC)	AA (%)
15.000	353,89	4,72	25,66
30.000	631,67	8,42	37,43
45.000	780,56	10,41	46,99
75.000	1.258,33	16,78	63,98
Atividade Antioxidante Total			
63.875 mg L ⁻¹ Eq 1000µM Trolox			
15,66 µM Trolox / g de planta fresca			

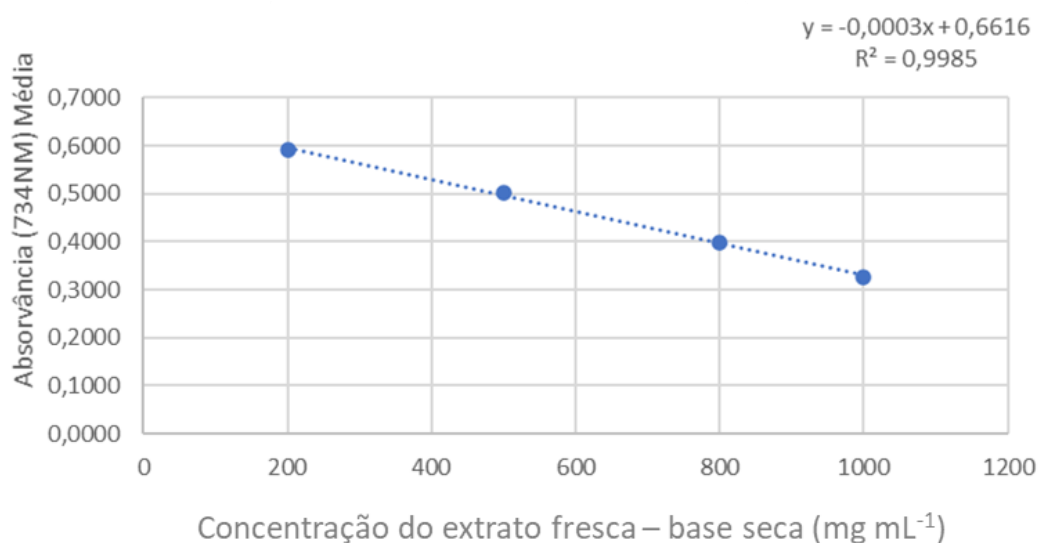


Figura 15. Atividade antioxidante (método ABTS) do extrato 2 de *Tradescantia zebrina*.

Os resultados mostraram que o processo sem secagem de amostra e sem concentração de extrato, além de sua utilização imediata garantiram a preservação dos compostos antioxidantes, uma vez que quando comparado ao mesmo extrato (após secagem em rotaevaporador), mesmo que em temperaturas baixas, houve uma perda considerável desses compostos, conforme verificado na Figura 15 e Tabela 7.

Tabela 7. Atividade antioxidante (AA) do extrato 2 de *Tradescantia zebrina*, Capacidade Antioxidante Equivalente ao Trolox (TEAC) e percentual

Concentração das amostras (mg L ⁻¹)	TEAC	AA (%)
200	234,22	16,48
500	533,11	29,14
800	879,78	43,83
1.000	1.115,33	53,81
1.097 mg L ⁻¹ Eq 1000µM Trolox		
Atividade Antioxidante Total	911,58 µM Trolox / g de extrato de planta fresca	

Também foi observada redução do potencial antioxidante na amostra preparada a partir de planta seca, reafirmando que tanto o tempo quanto a temperatura implicam diretamente nessa determinação (Figura 16). A concentração eficiente para reduzir o radical ABTS^{•+} em 50% (EC₅₀) e a atividade antioxidante (AA, %) (Tabelas 8 e 9) foram calculadas e percebeu-se o quanto a planta (sem processo de tratamento de secagem, associado ao tempo de preparo do extrato), também, foi relevante na determinação da atividade antioxidante.

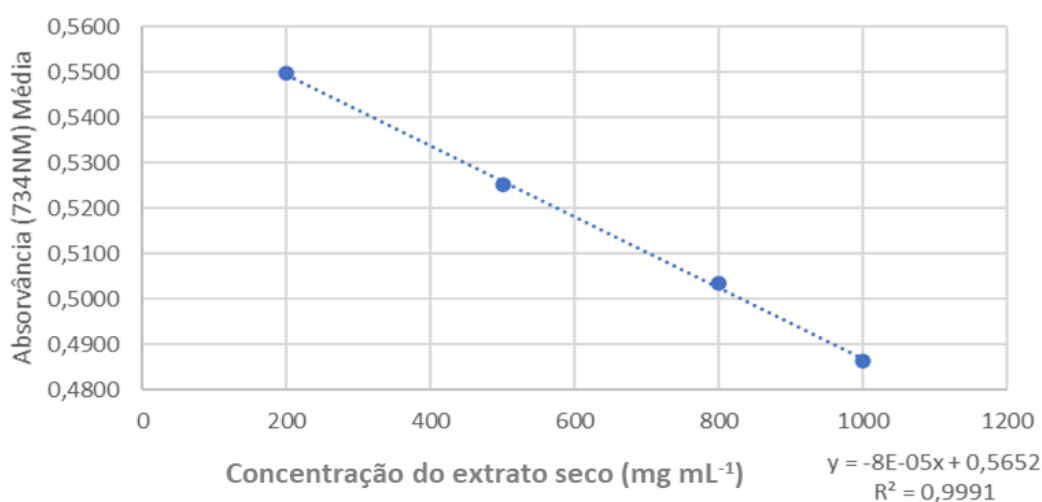


Figura 16. Atividade antioxidante (método ABTS) do extrato 1 de *Tradescantia zebrina*

Tabela 8. Concentração Eficiente (EC₅₀), em mg L⁻¹, dos extratos 1 e 2 de *Tradescantia zebrina*.

Extrato 2 (<i>in natura</i>)	Extrato 1 (seca)
1.102,67 mg L ⁻¹	3.532,5 mg L ⁻¹

Tabela 9. Atividade antioxidante (AA) do extrato 1 de *Tradescantia zebrina*, Capacidade Antioxidante Equivalente ao Trolox (TEAC) e em percentual

Concentração das amostras (mg L⁻¹)	TEAC	AA (%)
200	276,11	22,36
500	357,22	25,80
800	429,44	28,86
1.000	487,22	31,31
2.908,75 mg L ⁻¹ Eq 1000µM Trolox		
Atividade Antioxidante Total	343,79 µM Trolox / g de extrato de planta seca	

Nessa comparação vale ressaltar que a concentração eficiente para capturar 50% do radical livre no extrato feito com planta sem tratamento de secagem é 3,2 vezes mais potente, pois ao se converter a concentração tem-se que 1,10 mg mL⁻¹ já é suficiente para ter 50% de efetividade. Ao passo que, no extrato preparado com planta seca e armazenado em freezer por pelo menos 3 meses, seriam necessários uma concentração próxima de 3,53 mg mL⁻¹ para uma resposta semelhante a amostra fresca. Desta forma, a planta fresca (*in natura*) apresentou resultados superiores. Seguindo na mesma lógica e realizando a mesma sequência de cálculos para a utilização da planta fresca para consumo em sua forma tradicional, seriam necessários por volta de 68 mg de planta para se ter uma resposta similar ao extrato metanólico com relação ao sequestro do radical ABTS.

Quando se compara a efetividade da resposta percentual entre as amostras frescas concentradas e não concentradas (Tabela 10 e 11), se percebe uma variação considerável, com a possibilidade de perda de potencial antioxidante com o aquecimento, mesmo que em temperatura baixa e controlada. Foi percebido, também, na comparação entre os extratos concentrados das amostras frescas e secas e entre esses e o extrato de amostra fresca sem processo de rotaevaporação, que os dados referentes às amostras *in natura*, ainda apresentaram valores superiores que os de amostra seca.

Tabela 10. Comparação entre os resultados percentuais da captura do Radical ABTS^{•+}, a partir de extratos metanólicos de *Tradescantia zebrina*

Extratos	Amostra Fresca (Extrato 2)	Amostra Seca (Extrato 1)
Concentração das amostras (mg L ⁻¹)	AA (%)	AA (%)
200	16,48	22,36
500	29,14	25,80
800	43,83	28,86
1.000	53,81	31,31

Tabela 11. Resultados percentuais da captura do Radical ABTS^{•+}, a partir do extrato 2b – não concentrado de *Tradescantia zebrina*

Extratos	Amostra Fresca (Extrato 2b – não concentrado)
Concentração das amostras (mg L ⁻¹)	AA (%)
15.000	25,66
30.000	37,43
45.000	46,99
75.000	63,98

Em um estudo mexicano realizado por Olivo-Vidal *et al.* (2020), foram comparados os teores de compostos fenólicos e flavonoides totais, bem como a determinação de atividade antioxidante pelos métodos de DPPH, ABTS e da análise do “Poder antioxidante capaz de reduzir o Ferro III - FRAP) com extratos preparados com folhas frescas de *Tradescantia zebrina*. As técnicas extrativas foram distintas (maceração dinâmica em etanol 80%; maceração aquosa a 22°; e infusão aquosa, na proporção de 1g de folha para 10mL de solvente), gerando concentração de 1×10^5 mg L⁻¹. Os autores indicaram que o extrato aquoso, obtido por maceração, apresentou uma maior capacidade de captura do radical ABTS^{•+} e, também, uma maior dosagem de flavonoides totais (27,8 mgEQ catequina/g). Contudo, os compostos fenólicos totais apresentaram concentrações inferiores (51 mgEAG/g) quando comparado ao extrato etanólico (70,2 mgEAG/g); e, esse, por sua vez, apresentou menores teores de flavonoides (16,8 mgEQ catequina/g) e uma maior atividade de sequestro de DPPH (84%). O extrato obtido por infusão apresentou melhores resultados pelo método FRAP, sendo equivalentes ao extrato obtido maceração aquosa, em teores de fenólicos totais.

Os resultados desse estudo, quando comparados aos de Olivo-Vidal *et al.* (2020), no México, e Cheah *et al.* (2017), na Malásia, mostraram concentrações de compostos fenólicos e flavonoides totais superiores, para o extrato metanólico de *Tradescantia zebrina*. Isso pode ocorrer devido às interferências sazonais, assim como pelo próprio processo de plantio e coleta, uma vez que os autores informaram que só foram utilizadas as folhas para obtenção dos extratos, a planta mexicana foi adquirida em feira local e não foram informadas as condições do tempo em que foi feita a coleta e estado da amostra, até análises.

No presente trabalho, foi identificado um potencial antioxidante pelo sequestro do radical DPPH de 56% para a amostra fresca (*in natura*), na concentração de 60 mg mL⁻¹, enquanto no estudo mexicano de Olivo-Vidal *et al.* (2020) foram encontrados 84% para uma concentração de 100 mg mL⁻¹, proporcionalmente inferior ao encontrado nesse estudo comparando as atividades antioxidantes. Tais diferenças podem estar atribuídas aos procedimentos metodológicos usados, assim como pela composição fitoquímica diferentes da espécie, provocada por fatores abióticos e não abióticos. Ademais, nesse trabalho mexicano, a concentração do extrato (g de planta/volume de solvente) está em concentração mais elevada. Na literatura, alguns

estudos indicaram a presença de compostos fenólicos em *Tradescantia zebrina*, assim como seu potencial antioxidante (ALABA; CHICHIOCO-HERNANDEZ, 2014; ALONSO-CASTRO *et al.*, 2010; AMARAL *et al.*, 2006; ARNOUS *et al.*, 2005; TAN *et al.*, 2014).

A avaliação fitoquímica investigada por Tan *et al.* (2014) indicaram que a espécie *Tradescantia zebrina* é a mais rica em compostos fenólicos, quando comparadas a outras da família *Tradescantia*. Ademais, outros autores sinalizaram que essas substâncias já são conhecidas por oferecerem principalmente a capacidade antioxidante, mas também atributos anti-inflamatórios e antimicrobianos (ESQUENAZI *et al.*, 2002; GUTAM, JACHAK, 2009). Esses compostos se classificam em flavonoides e não flavonoides; os não flavonoides (ácidos fenólicos) são derivados do ácido hidroxicinâmico (ácido cafeico, p-cumárico, ferúlico, clorogênico, dentre outros) e do ácido hidroxibenzóico (ácido gálico, salicílico, elágico, entre outros) (DEGÁSPARI; WASZCZYNSKYJ, 2004) podem ser responsáveis, total ou parcialmente, pela bioatividade dos compostos fenólicos presentes na *Tradescantia zebrina*, como já descrito para a espécie na literatura e comprovado pelo presente estudo.

Tan *et al.* (2014) avaliaram o perfil antioxidante entre as espécies *Tradescantia spathacea* var. *variegata*, *Tradescantia spathacea* “Hawaiian Dwarf”, *Tradescantia pallida* e *Tradescantia zebrina*, através de teores de fenólicos e flavonoides totais, taninos totais, além de testes de eliminação de radicais livres. Dentre essas espécies a *Tradescantia zebrina* apresentou a maior atividade antioxidante, chegando a ser nove vezes maior que o sequestrador mais fraco. Esse efeito antioxidante, bastante elevado de *Tradescantia zebrina* também foi confirmada por Cheah *et al.* (2017).

De acordo com Baghalpour *et al.* (2021), após testes quantitativos, o conteúdo fenólico total resultou em 76,88mg equivalentes de ácido gálico/mg do extrato de *Tradescantia zebrina*, comprovando ainda seus efeitos antioxidantes por meio do método de cromatografia de camada delgada de alta eficiência. Esse mesmo estudo tratou das atividades do extrato etanólico (80%) para propriedades antinociceptiva e anti-inflamatória, baseando-se nos testes de formalina e carragenina em ratos Wistar, não apresentando toxicidade nesta fase. As frações de acetato de etila e clorofórmio

apresentaram melhores efeitos antinociceptivos e anti-inflamatórios.

A Tabela 12 apresenta os valores médios comparativos, encontrados neste estudo e na literatura científica para compostos fenólicos e flavonoides totais e, ainda, atividade antioxidante para extratos de amostras de *Tradescantia zebrina*.

Tabela 12. Valores médios comparativos, encontrados neste estudo e na literatura científica para fenólicos e flavonoides totais e atividade antioxidante para extratos de amostras de *Tradescantia zebrina*.

Estudos	Fenólicos Totais (mg EAG/g)	Flavonoides Totais
Presente estudo (Bahia, Brasil)	233,94 ± 0,71*	29,70 ± 0,04* mg EQ/g
Cheah <i>et al.</i> (2017) (Kuala Lumpur, Malásia)	33,50 ± 2,58*	9,4 ± 1,06* mg ECAT/g
Olivo-Vidal <i>et al.</i> (2020) (Tabasco, México)	70,20 ± 1,20**	16,8 ± 0,50 mg ECAT/g**
Baghalpour <i>et al.</i> (2021) (Alborz, Irã)	0,08 ± 0.14**	-
To (2020) (Kuala Lumpur, Malásia)	694,86 ± 54,46 (caule)**	496,22 ± 16,56 mg ECAT/g (caule)**
	510,70 ± 31,45 (folhas)**	410,27 ± 8,34 mg ECAT/g (folhas)**
Tan <i>et al.</i> (2014) (Kuala Lumpur, Malásia)	6,21 ± 0,4*	17,1 ± 2,80 mg ER/100 g
Estudos	Atividade Antioxidante (%) (DPPH)	Atividade Antioxidante (%) (ABTS)
Presente estudo (Bahia, Brasil)	44,08 (conc. extrato: 45 mg mL ⁻¹)*	43,83 (conc. extrato da amostra fresca: 0,8 mg mL ⁻¹)*
		28,86 (conc. extrato da amostra seca: 0,8 mg mL ⁻¹)*
Cheah <i>et al.</i> (2017) (Kuala Lumpur, Malaysia)	18,10 (conc. extrato: 0,1 mg mL ⁻¹)*	-
Olivo-Vidal <i>et al.</i> (2020) (Tabasco, México)	84,00 (conc. extrato: 100 mg mL ⁻¹)**	16,00 (conc. extrato: 100 mg mL ⁻¹)**
To (2020) (Kuala Lumpur, Malásia)	26,19 (caule) (conc. extrato: não informada)**	-
	18,78 (folha) (conc. extrato: não informada)**	

EAG: equivalentes de ácido gálico; ECAT: equivalentes de Catequina; EQ: equivalentes de Quercetina; EQ: equivalentes de Rutina; *: extrato metanólico; **: extrato etanólico; -: não disponível

5.5 Identificação e quantificação de compostos fenólicos utilizando CLAE-DAD

Em um estudo preliminar, foi obtido e comparado *fingerprints* de extratos: metanólico (TZ1), hidroetanólico (TZ2) e aquoso (TZ3) de *Tradescantia zebrina*, através de CLAE-DAD, no comprimento de onda 280 nm (Figura 17), especialmente para a comparação entre a variabilidade dos extratos, comprovando que variações nos métodos extrativos pode alterar a identificação de compostos para mesma espécie. Os cromatogramas obtidos confirmaram a presença de compostos fenólicos como os ácidos elágico, siríngico e p-cumárico e o flavonoide catequina, quando comparados a padrões analíticos usados na metodologia. A partir desses dados, seguiu-se este estudo somente com o extrato metanólico, uma vez que em meio metanólico se reduz a possibilidade de perda por contaminação microbiológica devido à ausência de água no extrato e, por esse apresentar uma maior concentração dos compostos de interesse.

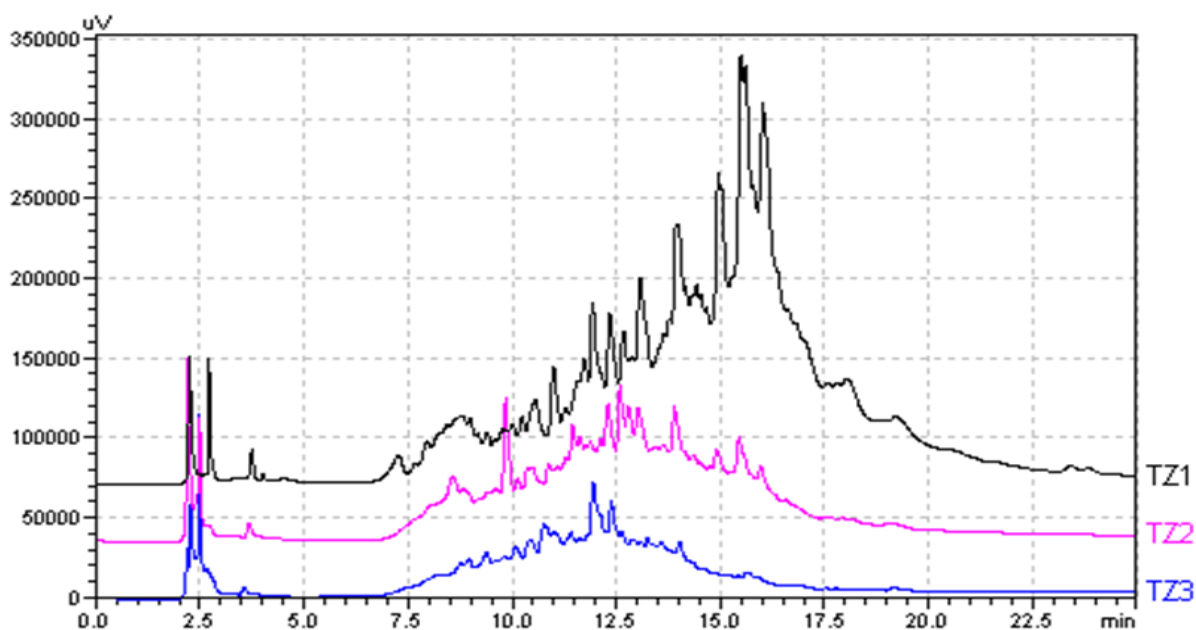


Figura 17. Comparação cromatográfica dos extratos de *Tradescantia zebrina* a 280nm. Fonte: Dados da pesquisa, 2022.

Em seguida, foram obtidos e comparados os *fingerprints* do extrato 1 de *Tradescantia zebrina* por CLAE-DAD. Os cromatogramas mostrados na Figura 18 foram obtidos nos comprimentos de onda de 260-360 e comparados entre si.

A identificação dos compostos fenólicos foi baseada na comparação com os picos obtidos a partir dos respectivos padrões analíticos, quanto aos tempos de retenção e espectros UV. Desta forma, para a confirmação dos picos dos analitos, uma das amostras foi fortificada com a solução de mistura dos padrões ($5,00 \mu\text{g mL}^{-1}$), conforme visto na Figura 19, que apresenta os cromatogramas, no modo *max plot* (260-360 nm), do extrato puro e do extrato enriquecido com padrões analíticos, da planta seca).

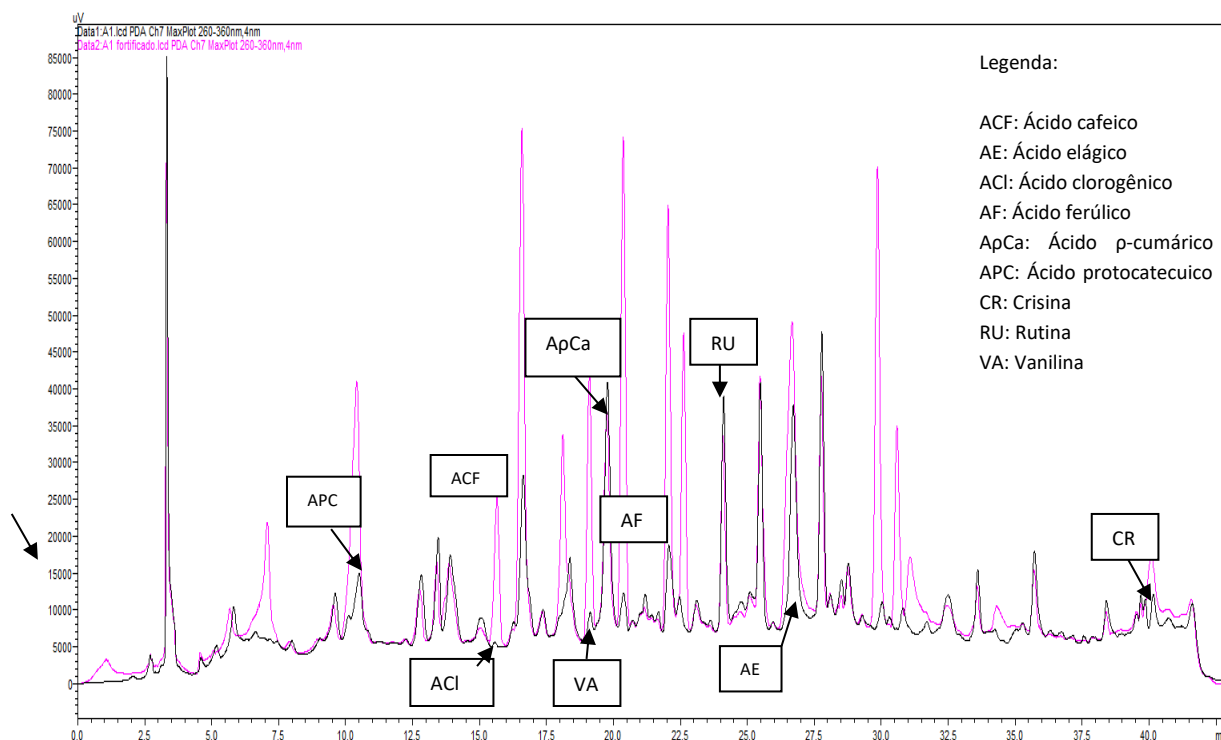


Figura 19. Cromatogramas obtidos a partir do extrato metanólico puro e extrato enriquecido com padrões analíticos, da planta *Tradescantia zebrina* (seca) por CLAE-DAD. Fonte: Dados da pesquisa, 2022.

Após validação, com a obtenção dos parâmetros analíticos (Tabela 13), o método foi aplicado para do extrato 1 de *Tradescantia zebrina*. Foi possível identificar nove compostos fenólicos (ácido cafeico (ACF), ácido elágico (AE), ácido clorogênico (ACI), ácido ferúlico (AF), ácido p-cumárico (A pC), ácido protocatecuico (APC), crisina (CR), rutina (RU) e vanilina (VA)), sendo seis ácidos fenólicos, dois flavonoides (flavona e flavonol) e um aldeído fenólico.

Tabela 13. Parâmetros analíticos de validação para o método proposto por CLAE-DAD.

Analito	Equação de regressão	R ²	LOD (mg L ⁻¹)	LOQ (mg L ⁻¹)
Ácido cafeico	$y = 149675x - 15785$	0,9999	0,04	0,13
Ácido clorogênico	$y = 65056x + 5481,7$	0,9973	0,14	0,41
Ácido elágico	$y = 180471x - 6206,8$	0,9992	0,13	0,39
Ácido ferúlico	$y = 106019x - 10833$	0,9998	0,06	0,17
Ácido gálico	$y = 69058x - 987,92$	0,9988	0,16	0,48
Ácido p-cumárico	$y = 173234x - 16450$	1	0,03	0,09
Ácido protocatecuico	$y = 132697x - 8605$	0,9997	0,08	0,24
Ácido sinápico	$y = 107178x - 10354$	0,9998	0,06	0,18
Ácido siríngico	$y = 73260x - 8065,3$	0,9999	0,04	0,11
Ácido trans-cinâmico	$y = 156741x - 16963$	1	0,03	0,08
Catequina	$y = 11344x + 3841,1$	0,9979	0,21	0,63
Crisina	$y = 23736x - 10191$	0,9903	0,44	1,34
Kaempferol	$y = 23417x - 4108,7$	0,9925	0,4	1,2
Naringenina	$y = 63685x - 6429,1$	0,9995	0,1	0,29
Quercetina	$y = 45981x - 10078$	0,9985	0,18	0,54
Rutina	$y = 31435x - 3903$	1	0,01	0,04
Vanilina	$y = 92846x - 620,8$	1	0,02	0,07

Dos compostos fenólicos identificados do extrato 1 de *Tradescantia zebrina*, oito analitos foram quantificados (Tabela 14). Sabendo-se que a soluções obtidas, a

partir extrato metanólico da amostra seca de *Tradescantia zebrina*, foram preparadas pela solubilização de 10 mg de extrato em 1 mL de metanol, pode-se calcular as concentrações dos compostos fenólicos em $\mu\text{g g}^{-1}$ de extrato. Conclui-se que o extrato analisado apresenta compostos fenólicos, sendo o ácido elágico, ácido cafeico e a rutina, os que apresentaram maiores concentrações. O ácido clorogênico, identificado no extrato a partir do seu padrão analítico, apresentou quantidades abaixo do limite de detecção (LOD). Tal fato pode estar relacionado à coeluição deste com outro composto ou, ainda, que algum outro composto tenha absorvido radiação no mesmo comprimento.

Tabela 14. Compostos fenólicos quantificados da amostra seca (Extrato 1) de *Tradescantia zebrina* por CLAE-DAD.

Analito	Comprimento	Tempo de Retenção	Área Integrada	Conc. (mg L^{-1})	Conc. ($\mu\text{g g}^{-1}$)
Ácido cafeico	330	16,636	257002	1,823	182,25
Ácido clorogênico	330	15,566	5636	nd	nd
Ácido elágico	260	26,717	521488	2,924	292,40
Ácido ferúlico	330	22,136	134203	1,368	136,8
Ácido p-cumárico	310	20,394	95896	0,649	64,85
Ácido protocatecuico	260	10,512	103298	0,843	84,33
Crisina	272	40,168	17318	1,159	115,9
Rutina	360	25,495	107323	3,538	353,83
Vanilina	280	19,139	38708	0,424	42,36

nd: não determinado

Em seguida, aplicando análises por CLAE-DAD, foram obtidos cromatogramas (Figura 20), nos comprimentos de onda 260-360 nm, para os extratos preparados com *Tradescantia zebrina* fresca (*in natura*). Pode-se perceber uma mudança no perfil dos cromatogramas e, para explicar tal fato, listam-se algumas justificativas: influência da metodologia de tratamento da amostra; período de coleta; e, ainda, a degradação pelo tempo de preparo do extrato seco.

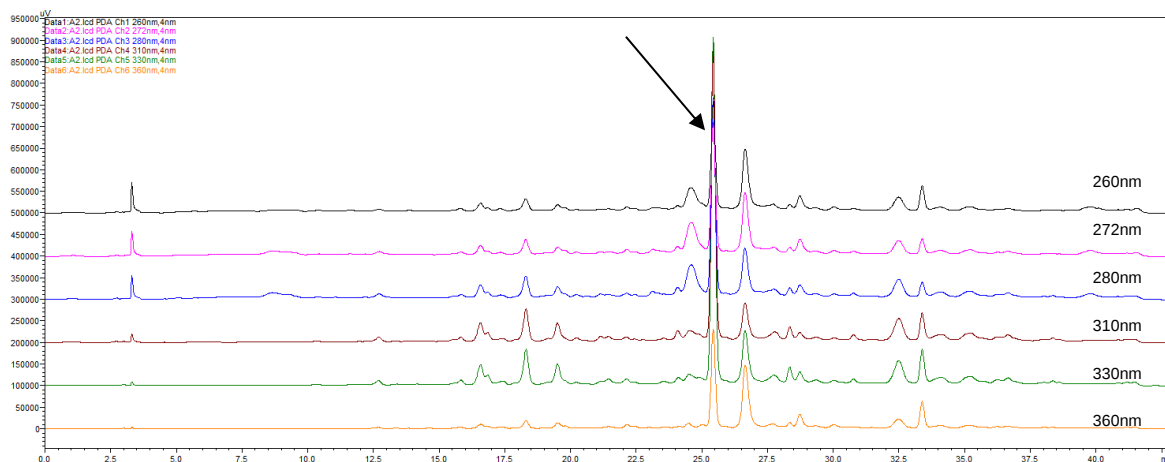


Figura 20 Cromatogramas obtidos a partir do extrato 2 de *Tradescantia zebrina* por CLAE-DAD. Fonte: Dados da pesquisa, 2022.

É sabido que a biossíntese de compostos fenólicos pelas plantas pode levar tempo, dependendo da classe do composto, como por exemplo, os flavonoides. A quantificação de um determinado composto, em certo período do ano, pode ser uma resposta da planta ao estresse e às condições ambientais. No Brasil, o mês de maio está compreendido na estação do outono, mas o mês de janeiro é verão, época em que os dias são mais prolongados, ocasionando uma maior incidência de luz UV solar e chuvas torrenciais. Dessa forma, tanto a exposição a elevados níveis de radiação, quanto um possível estresse hídrico, podem levar ao aumento dos mecanismos de defesa da planta, alterando a rota dos processos bioquímicos, sobretudo dos compostos fenólicos que estão conectados à proteção e adaptabilidade da planta (RIBEIRO, 2020; FARHA *et al.*, 2022).

Outro ponto de relevância, nesses cromatogramas, é a presença de um pico de elevada intensidade em, aproximadamente, 26 minutos de corrida no equipamento (seta apontando pico). Este pico não foi identificado no extrato metanólico da amostra seca de *Tradescantia zebrina*, provavelmente por se tratar de algum composto já degradado no processo de secagem e armazenamento. Em comparação com os cromatogramas obtidos para o extrato de amostra seca, com o mesmo extrato fortificado, com o “mix” de padrões analíticos, no modo max plot (260-360 nm), ficou

evidente que a concentração dos compostos nos extratos é diferente, conforme Figura 21 e Tabela 15.

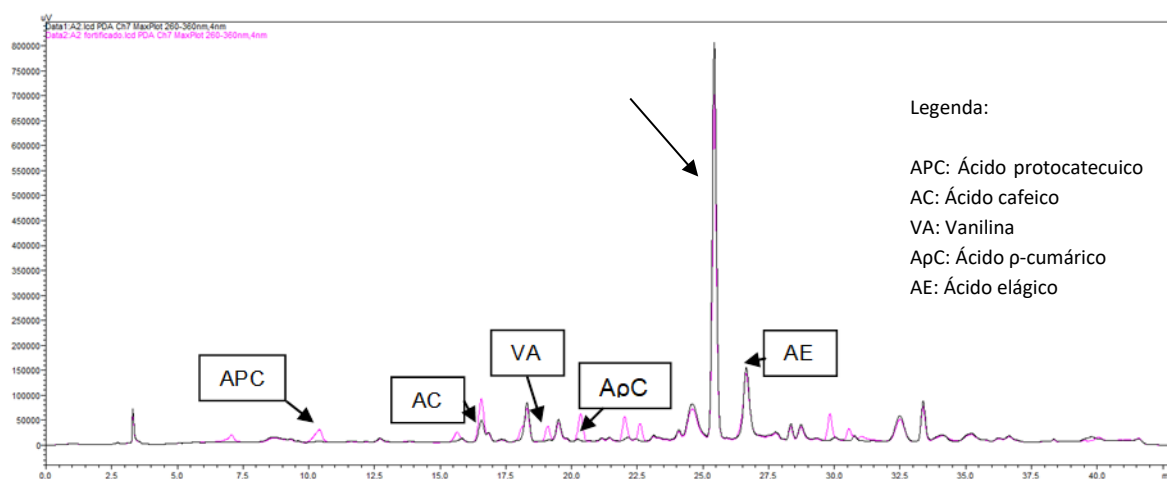


Figura 21. Cromatogramas obtidos a partir do extrato metanólico puro e extrato enriquecido com padrões analíticos de *Tradescantia zebrina* fresca (*in natura*) por CLAE-DAD. Fonte: Dados da pesquisa, 2022.

Tabela 15. Compostos fenólicos quantificados do extrato metanólico da amostra fresca (*Extrato 2*) de *Tradescantia zebrina* por CLAE-DAD.

Analito	Comprimento	Tempo de Retenção	Área Integrada	Conc. (mg L ⁻¹)	Conc. (µg g ⁻¹)
Ácido cafeico	330	16,58	427860	2,96	296,41
Ácido elágico	260	26,649	2253336	12,52	1.252,03
Ácido p-cumárico	310	20,232	87347	0,60	59,92
Ácido protocatecuico	260	10,433	38817	0,36	35,74
Rutina*	360	25,434	2534792	-*	-*
Vanilina	280	19,147	15829	0,18	17,72

*: incerteza de identificação/quantificação

A partir dos dados obtidos, foram confirmadas as presenças de 5 compostos fenólicos, também identificados no extrato metanólico da amostra seca de *Tradescantia zebrina*. Porém, após análise mais detalhada e interpretação dos resultados, observou-se que a rutina apresentou uma concentração muito elevada, com pico de elevada intensidade (conforme seta nas Figuras 20 e 21), com maior área integrada. Isto indica uma real incerteza de identificação e quantificação deste composto, pois este pico muito elevado, numa concentração superior à amostra enriquecida com o padrão analítico, pode proporcionar um resultado falso positivo. Em adição, ao se analisar, especificamente, a pureza desta substância (a partir da área integrada do pico), obteve-se um valor de 70%. Portanto, optou-se por não se predizer o teor real desse flavonoide, pois outros compostos devem estar eluindo em conjunto com a rutina, não se sabendo ao certo, quais compostos estariam absorvendo radiação neste comprimento de onda (360 nm).

Para confirmar a identificação e o teor real desta substância, se deveria ter realizado nova corrida, num tempo maior de alimentação da amostra e, também, com gradientes diversos entre os componentes da fase móvel; contudo, isso não foi possível devido às dificuldades, de acesso ao laboratório e equipamento, geradas pelo prazo de conclusão do curso e pela pandemia do novo Coronavírus 2 da Síndrome Respiratória Aguda Grave (SARS-COV-2) e a elevada incidência da Doença do Coronavírus (COVID-19, do inglês *Coronavirus Disease* 2019). Todavia, essa impossibilidade não prejudicou a interpretação dos dados, uma vez que a proposto deste estudo foi determinar a presença de compostos fenólicos totais, em extratos metanólicos de *Tradescantia zebrina*, já relatados na literatura.

Não foram encontrados dados, na literatura científica, sobre a identificação e quantificação de compostos fenólicos nesta espécie, por CLAE- DAD. Isto demonstra o ineditismo deste estudo e sua relevância para as Ciências Farmacêuticas e outras áreas afins.

5.6 Avaliação da Atividade Antileishmania

Para avaliar a atividade do extrato 1 de *Tradescantia zebrina* frente às formas promastigotas de *L. amazonensis* e *L. braziliensis*, o valor da concentração inibitória de 50% (CI₅₀) foi calculado a partir do ensaio de viabilidade celular em cultura axênica.

Como esperado, a anfotericina B, fármaco de referência utilizado no ensaio, apresentou baixos valores de CI_{50} para ambas as espécies. O extrato metanólico de *Tradescantia zebrina* apresentou valores de CI_{50} superiores a $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ para as mesmas, conforme mostra a Tabela 16.

Tabela 16. Atividade do extrato 1 de *Tradescantia zebrina* frente às formas promastigotas de *Leishmania amazonensis* e *Leishmania braziliensis*

Substância teste	<i>L. amazonensis</i>	<i>L. braziliensis</i>
	Concentração inibitória de 50% - IC_{50} ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	
Extrato metanólico de amostra seca de <i>Tradescantia zebrina</i>	> 100	> 100
Anfotericina B	$0,08 \pm 0,02$	$1,20 \pm 0,10$

González-Coloma *et al.* (2012) relataram que apenas os extratos hexânicos (quando comparados com os extratos clorofórmio e hidroalcolico (etanol 70%) de partes aéreas de *Tradescantia zebrina* exibiram atividade contra *Leishmania infantum* PB75 e cepa Y de *Trypanosoma cruzi*, com inibição superior a 90% a 400 e $100 \mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente.

5.7 Teste de atividade hemolítica em ágar sangue

Nos testes de atividades biológicas e, sobretudo, toxicológicas de extratos vegetais, existe uma possibilidade da testagem de atividade hemolítica para garantia de segurança biológica, uma vez que o ferro liberado do grupo heme, derivado da hemoglobina livre no plasma, com a ruptura de hemácias, é danoso devido aos prejuízos que podem causar em órgãos essenciais, como fígado e rins (BEDNARCZUK *et al.*, 2010). Analisando os resultados do teste de atividade hemolítica através da difusão do extrato em ágar sangue dos extratos 1 e 2 de *T. zebrina*, nenhuma amostra apresentou formação de halo hemolítico, após 48 horas (Figura 22A: extrato de amostra seca; e Figura 22B: extrato de amostra fresca (*in natura*). Isto indica que, apesar das saponinas presentes na espécie *Tradescantia zebrina*, a mesma aparenta não indicar riscos toxicológicos hematológicos para

utilização em organismos vivos. Como controle positivo foi utilizada uma solução de detergente comum, mostrando a formação do halo de hemólise e, para controle negativo foram utilizados o solvente de diluição das amostras (metanol) e solução

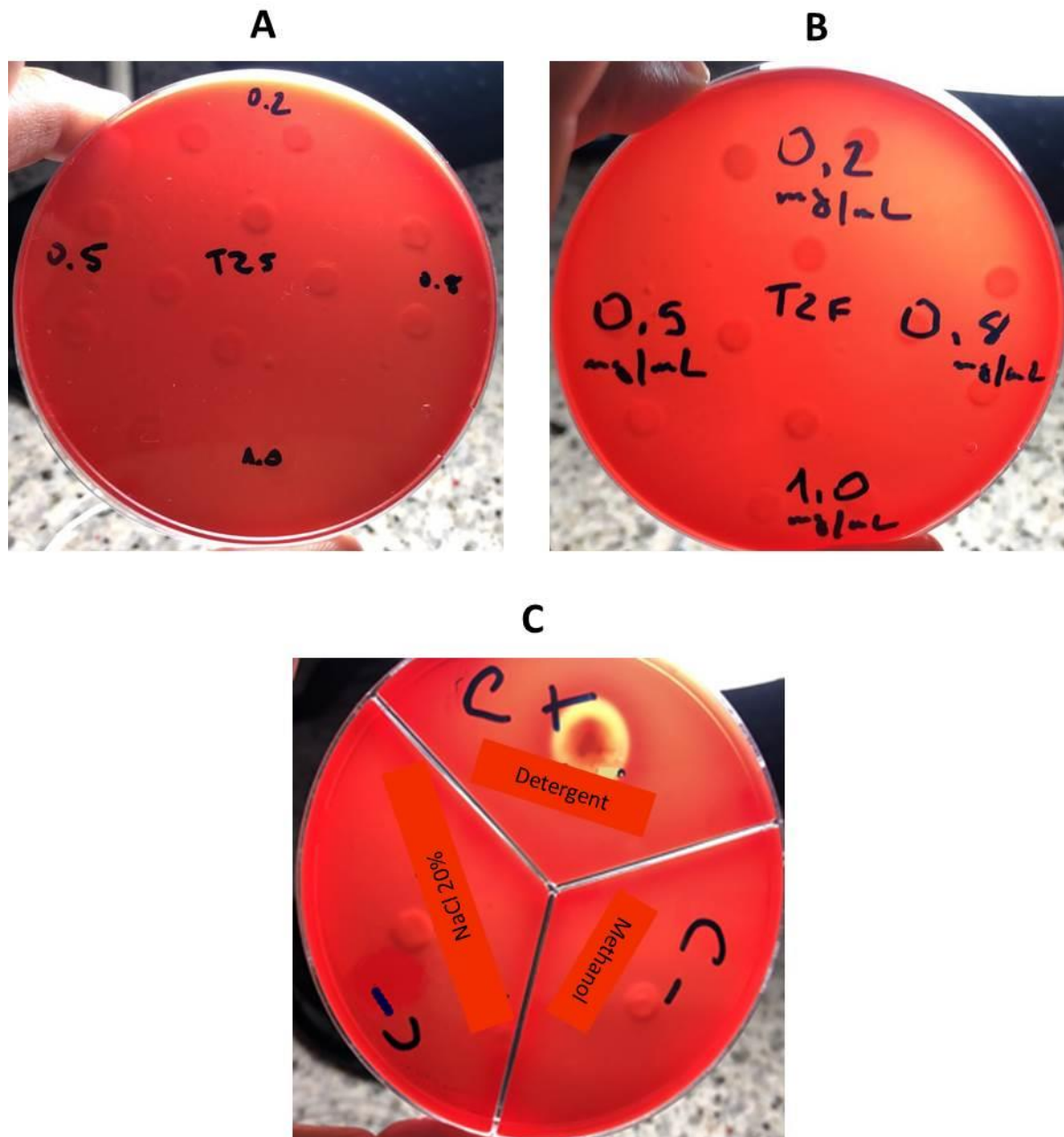


Figura 22 Avaliação da presença de halos de hemólise em placa com controles (positivo e negativo), após 48h em extratos metanólicos de *Tradescantia zebrina*. A: extrato de amostra seca; B: Extrato de Amostra Fresca e C: controles negativos e positivo (com formação de halo). Fonte: Autor, 2022.

salina a 20% (Figura 22C e Figura 23, após 48 e 72 horas, respectivamente).

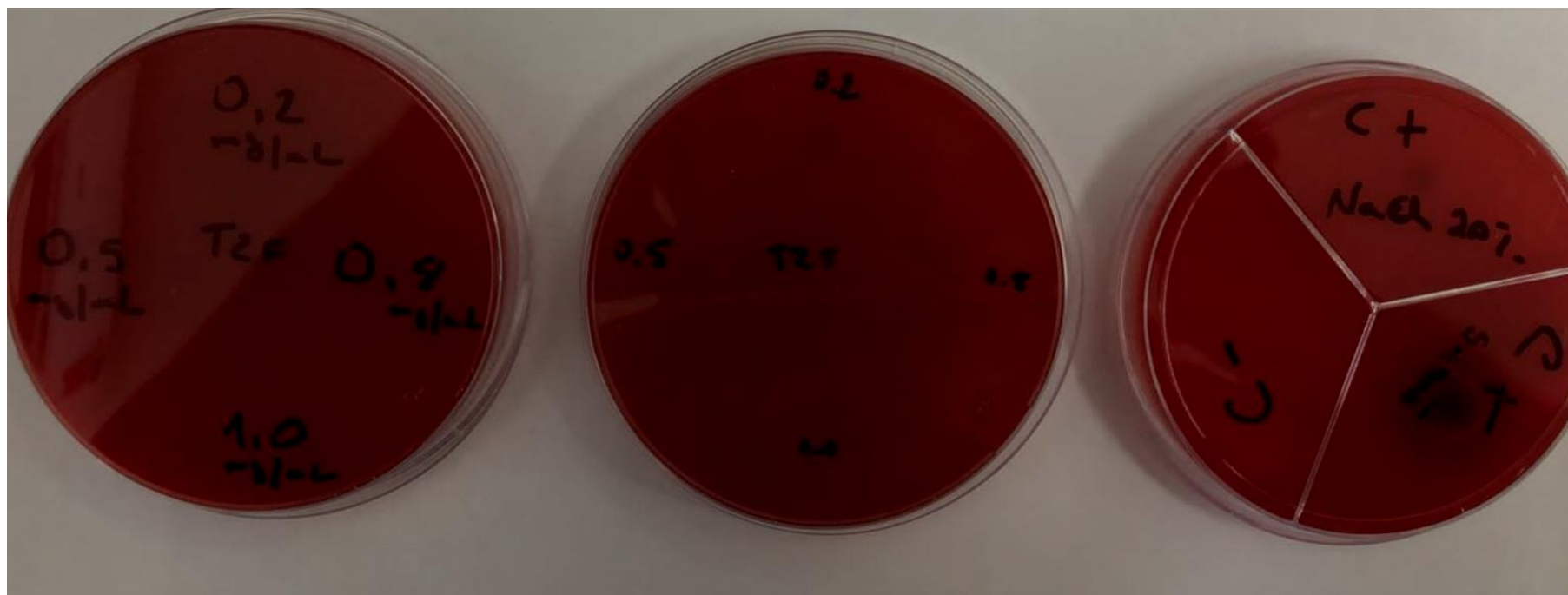


Figura 23 Presença de halos de hemólise em placa com controles (positivo e negativo), após 72h em extratos metanólicos de *Tradescantia zebrina*. A: extrato de amostra seca (Extrato 1); B: Extrato de Amostra Fresca (Extrato 2) e C: controles negativos e positivo (com formação de halo). Fonte: Autor, 2022

6. Considerações Finais

Com a observação dos dados obtidos, a partir deste estudo, conclui-se que os objetivos propostos foram alcançados, e que a *Tradescantia zebrina* exibiu propriedades que a torna uma espécie potencial e promissora, em especial no que se refere as suas atividades antioxidantes e suas possibilidades farmacológicas, aliadas à sua composição fitoquímica, rica em compostos fenólicos. Foi observado que apesar do potencial invasor, já retratado para a espécie, apresenta um rápido desenvolvimento, requerendo manejo simples, o que pode facilitar a sua produção específica para testes e consumo.

A partir da triagem fitoquímica preliminar e da determinação do teor de compostos fenólicos totais e de flavonoides totais, em extratos metanólicos de amostras submetidas a tratamento de secagem e comparadas a amostras frescas (*in natura*), observaram-se diferenças de teores destas substâncias. Tais variações podem estar relacionadas a questões sazonais e outros fatores abióticos, assim como pode se relacionar a fatores bióticos. Ao se comparar estes resultados a outros estudos descritos na literatura, com amostras submetidos ao mesmo tratamento de amostra, perceberam-se variações nos teores destes compostos.

As testagens mais específicas para comprovação de atividades antioxidantes foram feitas com duas metodologias diferentes. O teste de DPPH comprovou que 10g da planta fresca é suficiente para inibir 0,5g de DPPH totalmente. Enquanto, no método com ABTS obteve-se que 1g de extrato concentrado preparado a partir de amostra fresca é equivalente a 911,58 μM de Trolox, um valor que sugere uma capacidade antioxidante da espécie.

Analisou-se, também, que desde o *fingerprint* preliminar, com o qual foi o marcador para continuidade dos estudos, já se confirmou a presença de compostos fenólicos como: ácido elágico, ácido siríngico, catequina e ácido p-cumárico, comparando-se com padrões analíticos. A partir do uso de CLAE-DAD, foi possível identificar e quantificar 5 compostos fenólicos (ácido protocatecuico, ácido cafeico, vanilina, ácido p-cumárico e ácido elágico), com precisão e exatidão, nos extratos metanólicos de *Tradescantia zebrina*, demonstrando o ineditismo deste estudo e sua relevância para as Ciências Farmacêuticas e outras áreas afins.

Os extratos metanólicos de *Tradescantia zebrina* testados não foram tão efetivos frente às espécies de *Leishmania amazonenses* e *Leishmania brasiliensis*, quando comparados com a Anfotericina B que apresentou IC₅₀ de $0,08 \pm 0,02 \mu\text{g mL}^{-1}$ e $1,20 \pm 0,10 \mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente para cada espécie. Por outro lado, os extratos 1 e 2, *in natura* e seco, não apresentaram toxicidades frente à testagem de atividade hemolítica, o que apoia a utilização popular desta espécie, com maior segurança.

Neste contexto, a partir da observação dos aspectos botânicos e morfológicos, da prospecção química e biológica, através dos resultados obtidos para os ensaios da avaliação das atividades (antioxidante, antileishmania e hemolítica) testadas neste estudo, foi possível admitir que a *Tradescantia zebrina* é uma espécie de interesse, como fonte potencial de substâncias bioativas. Lacunas ainda estão presentes nesse conhecimento e servirão, de ponto de partida, para a continuidade destes estudos.

Referências

- ABOELSOUUD, N. H. Herbal medicine in ancient Egypt. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 4, n. 2, p. 082-086, 2010.
- AHMED, E.; ARSHAD, M.; KHAN, M. Z.; AMJAD, M. S.; SADAF, H. M.; RIAZ, I.; SABIR, S.; AHMAD, N.; SABAOON. Secondary metabolites and their multidimensional prospective in plant life. **Journal Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 6, p. 205-214, 2017.
- ALABA, C. S. M.; CHICHIOCO-HERNANDEZ, C. L. 15-Lipoxygenase inhibition of *Commelina benghalensis*, *Tradescantia fluminensis*, *Tradescantia zebrina*. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 4, n. 3, p. 184-188, 2014.
- ALAM, M. N.; BRISTI, N. J.; RAFIQUZZAMAN, M. Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 21, n. 2, p. 143-152, 2013.
- ALONSO-CASTRO, A. J.; VILLARREAL, M. L.; SALAZAR-OLIVO, L. A.; GOMEZ-SANCHEZ, M.; DOMINGUEZ, F.; GARCIA-CARRANCA, A. Mexican medicinal plants used for cancer treatment: Pharmacological, phytochemical and ethnobotanical studies. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 133, n. 3, p. 945-972, 2011.
- ALVES, L. F. Produção de fitoterápicos no Brasil: história, problemas e perspectivas. **Revista Virtual de Química**, v. 5, n. 3, p. 450-513, 2013.
- AMARAL, F. M. M.; RIBEIRO, M. N. S.; BARBOSA-FILHO, J. M.; REIS, A. S.; NASCIMENTO, F. R. F.; MACEDO, R. O. Plantas e constituintes químicos com atividade giardicida. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, p. 696-720, 2006.
- APARICIO R. M.; GARCÍA-CELMA M. J.; VINARDELL M. P.; MITJANS M. In vitro studies of the hemolytic activity of microemulsions in human erythrocytes. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**. 39: 1063-1067, 2005
- ASSCHE, T.; DESCHACHT, M.; LUZ R.; MAES, L.; COS, P. Leishmania–macrophage interactions: Insights into the redox biology. **Free Radical Biology & Medicine**. v.51, p. 337-351, 2011.
- BAGHALPOUR, N.; AYATOLLAHI, S. A.; NADERI, N.; HOSSEINABADI, T.; TAHERI, Y.; MAHROO-BAKHTIYARI, J.; SHINWARI, Z. K.; KHALIL, A. T.; SHARIFI-RAD, J. Antinociceptive and anti-inflammatory studies on *Tradescantia zebrina*. **Pakistan Journal of Botany**, v. 53, n. 1, p. 357-365, 2021.
- BARROS, N. V. D. A.; ABREU, B. B.; ROCHA, M. D. M.; ARAÚJO, M. A. D. M.; MOREIRA-ARAÚJO, R. S. D. R. In vitro bioaccessibility of phenolic compounds and antioxidant activity in biofortified cowpea cultivars. **Revista Ciência Agronômica**, v. 52, n. 1, p. 1-9, 2021.
- BEDNARCZUK, V. O.; VERDAM, M. C. S.; MIGUEL, M. D.; MIGUEL, O. G. Testes in vitro e in vivo utilizados na triagem toxicológica de produtos naturais. **Visão Acadêmica**, v. 11, n. 2, p. 43-50, 2010.

BEZERRA, I. M. P.; SORPRESO, I. C. E. Conceitos de saúde e movimentos de promoção da saúde em busca da reorientação de práticas. **Revista Brasileira de Crescimento e Desenvolvimento Humano**, v. 26, n. 1, p. 11-16, 2016.

BLAVATTI, M. W.; LEITE, S. N. **Práticas de Farmacognosia**, Itajaú: Univali, 2005.

BONOLI, M.; VERARDO, V.; MARCONI, E.; CABONI, M. F. Antioxidant phenols in barley (*Hordeum vulgare* L.) flour: comparative spectrophotometric study among extraction methods of free and bound phenolic compounds. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 52, n. 16, p. 5195-5200, 2004.

BOTELHO, F. P. **O Segredo das Folhas e os Rituais de Cura na Tradição Afro-Brasileira**. Facom- UFBA: Salvador, 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria n. 971, de 3 de maio de 2006. **Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) no Sistema Único de Saúde (SUS)**. Brasília: Ministério da Saúde; 2006. Disponível em: <https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/pnpic.pdf>. Acesso em 08 jan. 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Decreto nº 5.813, de 22 de junho de 2006. **Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos**. Brasília: Ministério da Saúde; 2006. Disponível em: http://dtr2004.saude.gov.br/dab/docs/legislacao/decreto5813_22_06_06.pdf. Acesso em 08 jan. 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC Nº 166, de 24 de julho de 2017. **Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências**. Brasília. 2017. 21 p.

CAMARGO, L. M. A.; BARCINSKI, M. A. Leishmanioses, feridas bravas e kalazar. **Ciência e Cultura**, v.1, p. 34-7, 2003.

CAPRA, F. **O Ponto de Mutação**. 1. ed. Cultrix: São Paulo, 1988.

CARVALHO, H. A. A Tradescantia como bioindicador vegetal na monitoração dos efeitos clastogênicos das radiações ionizantes. **Radiologia Brasileira**, São Paulo, v. 38, n. 6, p. 459-462, Dez. 2005.

CARVALHO, J. M. F. C. *et al.* Propagação in vitro do algodão via embriogênese somática. In: **Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: WORKSHOP INTERAÇÃO MOLECULAR PLANTA-PRAGAS, 2., 2007, Brasília, DF. II Workshop Interação Molecular Planta-Praga. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2007., 2007.

CASTRO, A. P.; FRAXE, T. J. P.; SANTIAGO, J. L.; MATOS, R. B.; PINTO, I. C. Os sistemas agroflorestais como alternativa de sustentabilidade em ecossistemas de várzea no Amazonas. **Acta Amazonica**, v. 39, n.2, p. 279- 288, 2009.

CHEAH, S. Y.; MAGDALENE, C. Y.; LIM, E. C. Z.; WONG, M. H.; AMIR, S.; DANIEL, S.; CHIM, J. H. In-Vitro Antioxidant and Acetylcholinesterase Inhibitory Activities of *Tradescantia zebrina*. **Research Journal of Pharmaceutical Biological and Chemical Sciences**, v. 8, n. 1, p. 82-87, 2017.

COMACHIO, G.; PREVEDELLO, M. T. Antioxidantes e sua relação com os radicais livres, e Doenças Crônicas Não Transmissíveis: uma revisão de literatura. **Brazilian Journal of Development**, 7(6), 55244-55285. 2021

CRUZ, A. S. **Teste de Citotoxicidade In Vitro como Alternativa ao Teste In Vivo de Draize na Avaliação de Produtos Cosméticos**. 119 p. (Tese de doutorado em Fármacos e Medicamentos) USP, São Paulo. 2003

DEGÁSPARI, C. H.; WASZCZYNSKYJ, N. Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos. **Visão acadêmica**, v. 5, n. 1, p. 33-40, 2004.

ELBL, P. M. **Estudos em Commelinaceae (Monocotiledôneas): o papel da endoderme e do periciclo na formação do corpo primário**. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. Departamento de Botânica. 2008.

ELISABETSHY, E. **Etnofarmacologia como ferramenta na busca de substâncias ativas**. In: SIMÕES, C.M.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P. R. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 3 ed. Ed. UFRGS/Ed. UFSC: Porto Alegre, 2001.

ESQUENAZI D.; WIGG, M. D.; MIRANDA, M. M.; RODRIGUES, H. M.; TOSTES, J. B.; ROZENTAL, S.; DA SILVA, A. J.; ALVIANO, C. S. Antimicrobial and antiviral activities of polyphenolics from *Cocos nucifera* Linn. (*Palmae*) husk fiber extract. **Research in Microbiology**, v. 153, n. 10, p. 647-52, 2002

ESTRADA-MUÑOZ, E.; GUERRERO-PALOMO, G.; VEGA, L. Natural products: New anti-cancer agents derived from plants. **Current Topics in Toxicology**, v. 8, p. 19-32, 2012.

FARHA, A. K.; GAN, R.; LI, H.; WU, D.; ATANASOV, A. G.; GUL, K.; ZHANG, J.; YANG, Q.; CORKE, H. The anticancer potential of the dietary polyphenol rutin: Current status, challenges, and perspectives. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 62, n. 3, p. 832–859, 2022.

FELIX-SILVA, J., TOMAZ, I. M., SILVA, M. G., SANTOS, K. S. C. R., SILVA-JÚNIOR, A. A., CARVALHO, M. C. R. D., SOARES, L. A. L.; Fernandes-Pedrosa, M.F.; Identificação botânica e química de espécies vegetais de uso popular no Rio Grande do Norte. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 14, n. 3, p. 548–555, 2012.

FREITAS, E. R., BORGES, A. S., TREVISAN, M. T. S., CUNHA, A. L., BRAZ, N. M., WATANABE, P. H., NASCIMENTO, G. A. J. **Extratos etanólicos de manga como antioxidantes na alimentação de poedeiras**. Pesquisa Agropecuária Brasileira; 48: 714, 2013.

FLAWS, B.; WOLFE, H. L. **A Clínica de Fitoterapia Chinesa Bem-Sucedida:** como prescrever corretamente, conseguir colaboração dos pacientes e administrar uma farmácia lucrativa. 1. ed. Roca: São Paulo. 2008.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Medicinal plants: Factors of influence on the content of secondary metabolites. **Química Nova**, v. 30, p. 374–381, 2007.

GOMES, M.; MAGALHÃES, B.; SANTOS, W.; ALMEIDA, J. R. Influence of Seasonality on Phytochemical Composition, Phenolic Content and Antioxidant Activity of *Neoglaziovia variegata* (Bromeliaceae). **Biointerface Research in Applied Chemistry**, v. 12, n. 3, p. 2889-2904, 2021.

GONZÁLEZ-COLOMA, A.; REINA, M.; SÁENZ, C.; LACRET, R.; RUIZ-MESIA, L.; ARÁN, V. J.; SANZ, J.; MARTINEZ-DIAZ, R. A. Antileishmanial, antitrypanosomal, and cytotoxic screening of ethnopharmacologically selected Peruvian plants. **Parasitology Research**, v. 110, n. 4, p. 1381-1392, 2012.

GORDALIZA, M. Natural products as leads to anticancer drugs. **Clinical and Translational Oncology**, v. 9, n. 12, p. 767-776, 2007.

GOTO, T.; KONDO, T. Structure and molecular stacking of anthocyanins—flower color variation. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 30, n. 1, p. 17-33, 1991.

GRACE, G.; ALOYS, O.; CHAKA, B. Characterization of Bio-active Compounds Essential for Blood Coagulation in the Crude Extracts of *Tradescantia zebrina*, *Tagetes minuta* and *Codiaeum variegatum* Leaves. **Asian Journal of Applied Chemistry Research**, v. 6, n. 3, p. 41-52, 2020.

GUEDES, B.; PADMANABHAN P. K.; DUMAS C.; PAPADOPOULOU B. Valosin-containing protein VCP/p97 is essential for the intracellular development of *Leishmania* and its survival under heat stress. **Cellular Microbiology**, v. 20, n. 10, p. e12867, 2018.

GUTAM R.; JACHAK, S. M. Recent developments in anti-inflammatory natural products. **Medicinal Research Reviews**. v. 29 n. 5 p. 767-820, 2009.

HARIPRASAD, P.; RAMKRISHNAN, N. Chromatographic fingerprint analysis of *Rumex vesicarius* L. by HPTLC technique. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 2, n. 1, p. S57-S63, 2012.

HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R. L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 53, n. 6, p. 1841-1856, 2005.

IDAKA, E.; OGAWA, T.; KONDO, T. GOTO, T. Isolation of highly acylated anthocyanins from *Commelinaceae* plants, *Zebrina pendula*, *Rhoeo spathacea* and *Setcreasea purpurea*. **Agricultural and Biological Chemistry**, v. 51, n. 8, p. 2215 - 2220, 1987.

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER (IARC). **Agents Classified by the IARC Monographs**. Volumes 1–123, IARC, 2019 Disponível em: <https://monographs.iarc.fr/wpcontent/uploads/2018/09/ClassificationsAlphaOrder.pdf>. Acesso em: 15 jan. 2022

JACOBI, B. F.; SANTOS, J. F.; LIMA, C. P. Determinação de compostos fenólicos e avaliação da atividade antioxidante em amostras de erva mate. **Anais do EVINCI-UniBrasil**, v. 7, n. 1, p. 402-402, 2021.

JAGANATHAN, S. K.; MANDAL, S. M.; JANA, S. K.; DAS, S.; MANDAL, M. Studies on the phenolic profiling, anti-oxidant and cytotoxic activity of Indian honey: In vitro evaluation. **Natural Product Research**, v. 24, p. 1295–1306, 2010.

KALEGARI M.; MIGUEL M. D.; DIAS J. D. F. G.; LORDELLO A. L. L.; LIMA C. P. D.; MIYAZAKI C. M. S.; ZANIN S. M.; VERDAM M. C.; MIGUEL O. G.; Phytochemical constituents and preliminary toxicity evaluation of leaves from *Rourea induta* Planch. (Connaraceae). **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.47, n.3, p.635-642, 2011.

KATSUBE, T.; TSURUNAGA, Y.; SUGIYAMA, M.; FURUNO, T.; YAMASAKI, Y. Effect of air-drying temperature on antioxidant capacity and stability of polyphenolic compounds in mulberry (*Morus alba* L.) leaves. **Food Chemistry**, 113(4), 964–969, 2009.

KLAUNIG, J.; KAMENDULIS, L.; HOCEVAR, B. Oxidative stress and oxidative damage in carcinogenesis. **Toxicologic pathology**, v. 38, n. 1, p. 96-109, 2010.

KUSKOSKI, E. M.; ASUERO, A. G.; TRONCOSO, A. M.; MANCINI-FILHO, J.; FETT, R. Aplicação de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.25, n.4, p.726-732, 2005.

LORENZI, H.; SOUZA, H. M. **Plantas ornamentais no Brasil: arbustivas, herbáceas e trepadeiras**. 4 ed. Nova Odessa: São Paulo, 2008.

MAIA, D. C. **Estudo taxonômico dos gêneros *commelina* L. e *dichorisandra* J.C. Mikan (*commelinaceae*), no estado do Paraná, Brasil**. 118p. Mestrado em Botânica. UFPR, Curitiba, 2006.

MANACH, C.; MAZUR, A.; SCALBERT, A. Polyphenols and prevention of cardiovascular diseases. **Current Opinion Lipid**, v. 16, n. 1, p. 77-84, 2005.

MANTOANI, M. C.; DIAS, J.; ORSI, M. L.; TOREZAN, M. D. T. Efeitos da invasão por *Tradescantia zebrina* Heynh. sobre regenerantes de plantas arbóreas em um fragmento de floresta estacional semidecidual secundária em Londrina (PR) **Biotemas**, v. 26, n. 3, p. 63-70, 2013.

MARCHESE, J.A., FIGUEIRA, G.M. O uso de tecnologias pré e pós-colheita e boas práticas agrícolas na produção de plantas medicinais e aromáticas. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v.7, n.3, p.86-96, 2005.

MATOS, F. J. **Introdução à fitoquímica experimental**. 2.ed. Edições UFC: Fortaleza, 1997.

MATRANGOLO, F. D. S. V. **Análise proteômica comparativa de linhagens de *Leishmania V. braziliensis* e de *Leishmania L. infantum* sensíveis e resistentes aos antimoniais**. 98f. Tese (Doutorado em Ciências na área de concentração Biologia Celular e Molecular). Fundação Oswaldo Cruz, Belo Horizonte, Agosto/2013.

MORAIS, L. A. S. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. **Horticultura Brasileira**, v.27, p.4050-4063, 2009.

MUELAS-SERRANO, S.; NOGAL-RUIZ, J. J.; GÓMEZ-BARRIO, A. Setting of a colorimetric method to determine the viability of *Trypanosoma cruzi* epimastigotes. **Parasitology research**, v. 86, n. 12, p. 999-1002, 2000.

MUNTEANU, I. G.; APETREI, C. Analytical methods used in determining antioxidant activity: A review. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 7, p. 3380, 2021.

MUZITANO, M. F.; CRUZ, E. A.; DE ALMEIDA, A. P.; DA SILVA, S. A.; KAISER, C. R.; GUETTE, C.; ROSSI-BERGMANN, B.; COSTA, S. S. Quercitrin: an antileishmanial flavonoid glycoside from *Kalanchoe pinnata*. **Planta medica**, v. 72, n. 1, p. 81-83, 2006.

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS (NCCLS). **Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard—Eighth Edition**. NCCLS document M2-A8 (ISBN 1-56238-485-6). NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2003

NEGRI, M.; SALCI, T. P.; SHINOBU-MESQUITA, C. S.; CAPOCI, I. R. G.; SVIDZINSKI, T. I. E.; KIOSHIMA, E. S. Early state research on antifungal natural products. **Molecules**, v. 19, n. 3, p. 2925-2956, 2014.

NIKI, E. Assessment of Antioxidant Capacity in vitro and in vivo. **Free Radical Biology & Medicine**. v. 49, p. 503–515, 2010.

OLIVEIRA, D.; GOUVEIA, J.J.; DINIZ, N.; PACHECO, A.C. Pathogenomics Analysis of Leishmania spp.: Flagellar Gene Families of Putative Virulence Factors. **Journal of Integrative Biology**, v.9, p.173-193, 2008.

OLIVEIRA, L. F.; SCHUBACH, A. O.; MARTINS, M. M.; PASSOS, S. L.; OLIVEIRA, R. V.; MARZOCHI, M. C.; ANDRANDE, C. A. Systematic review of the adverse effects of cutaneous leishmaniasis treatment in the new world. **Acta Tropica**, v. 118, n. 2, p. 87-96, 2011.

OLIVO-VIDAL, Z.; RUIZ RUIZ, J.; MAYDAY, V. S.; IRECTA-NÁJERA, C.; OCHOA, D. L., H.; SÁNCHEZ, X. Pharmacological potential of *Tradescantia zebrina* leaf extracts. **Journal of Bioengineering and Biomedicine Research**, v. 4, n. 2, p. 31-37, 2020.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE (OMS). **Traditional medicine: definitions**. Geneva; 2000. Disponível em: <<http://www.who.int/medicines/areas/traditional/definitions/en/>>. Acesso em: 10 nov 2021

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE (OMS). **The world medicines situation 2011: traditional medicines: global situation, issues and challenges**. Geneva: OMS, 2011.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE (OMS). **Leishmaniasis**. Genebra: OMS, 8 Jan 2022

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE (OPAS). **Atlas interactivo de leishmaniasis en las Américas: aspectos clínicos y diagnósticos diferenciales**. Washington, D.C.: Organización Panamericana de la Salud; 2020. <https://doi.org/10.37774/9789275321904>

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE (OPAS). **Leishmanioses: Informe epidemiológico nas Américas**. 2020. Washington, D.C.: OPAS; 2020.

PAULA, C. S. **Estudo fitoquímico e propriedades biológicas das folhas de *Bauhinia unguolata* L., Fabaceae**. 229f. Tese (doutorado em Ciências Farmacêuticas - Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2014.

PEREIRA, R. S.; SUMITA, T. C.; FURLAN, M. R.; JORGE, A. O.; UENO, M. Atividade antibacteriana de óleos essenciais em cepas isoladas de infecção urinária. **Revista de Saúde Pública**, v. 38, p. 326-328, 2004.

PEREIRA, R. J., NASCIMENTO, G. N. L. Compostos bioativos vegetais. Org: Pereira, R. J., Nascimento, G. N. L. Palmas/TO: **EDUFT**, 97 p, 2016.

RIBEIRO, P. M. R. C. **Práticas de cura popular: uso de plantas medicinais e fitoterapia no Ponto de Cultura “Os Tesouros da Terra” e na Rede Fitovida na região serranaLumiar/Rio de Janeiro (1970-2010)**. 133 f. (Dissertação) FIOCRUZ-Rio de Janeiro: [s.n.], 2014.

RIBEIRO, D. A.; CAMILO, C. J.; NONATO, C. F. A.; RODRIGUES, F. F. G.; MENEZES, I. R. A.; RIBEIRO-FILHO, J.; XIAO, J.; SOUZA, M. M. A.; COSTA, J. G. M. Influence of seasonal variation on phenolic content and in vitro antioxidant activity of *Secondatia floribunda* A. DC. (*Apocynaceae*). **Food Chemistry**, v. 315, p. 126277, 2020.

RIVAS NETO, F. Umbanda, a proto-síntese cósmica: epistemologia, ética e método da Escola de Síntese. São Paulo: **Pensamento**, 2007.

ROCHA, M. N. **Desenvolvimento de uma metodologia semiautomatizada para busca de novas drogas utilizando *Leishmania amazonensis* fluorescente**. 104f (Tese de doutorado em Ciências pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde) Fundação Oswaldo Cruz. Belo Horizonte, 2013

ROSSA, U. B. **Produtividade e compostos foliares de erva-mate sob efeitos de luminosidade e fertilização**. 208f. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; PÉREZ-JIMÉNEZ J.; SAURA-CALIXTO F. D. **Metodologia Científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH**. p.4 (Comunicado Técnico, 127). Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2007.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; PÉREZ-JIMÉNEZ J.; SAURA-CALIXTO F. D. **Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre ABTS**. p.4 (Comunicado Técnico, 128). Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2007.

SAGDIC, O.; OZTURK, I.; OZKAN, G.; YETIM, H.; EKICI, L.; YILMAZ, M. T. RP-HPLC–DAD analysis of phenolic compounds in pomace extracts from five grape cultivars: Evaluation of their antioxidant, antiradical and antifungal activities in orange and apple juices. **Food Chemistry**, v. 126, n. 4, p. 1749-1758, 2011.

SANTOS, A. F.; PAVÃO, J. M. S.; ROCHA, T. J. M.; SOUZA, M. A.; ALVES, H. H. F.; OLIVEIRA, H. C. A. Análise da produção científica sobre plantas com potencial antioxidante, antimicrobiano e alelopático disponíveis na base Scielo. **Diversitas Journal**, v. 3, n. 2, p. 375-394, 2018.

SARKER, S. D.; NAHAR, L. **Química Para Estudantes De Farmácia: Química Geral, Orgânica e de Produtos Naturais**. 1. ed. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 2009.

SARTORI, V. C.; THEODORO, H.; MINELLO, L. V.; PANSERA, M. R.; BASSO, A.; SCUR. L. **Plantas Alimentícias Não Convencionais – PANC : resgatando a soberania alimentar e nutricional**. Caxias do Sul, RS: Educs, 2020.

SHAHIDI, F.; AMBIGAIPALAN, P. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects—A review. **Journal of functional foods**, v. 18, p. 820-897, 2015.

SILVA, I. O.; MACHADO, N. H. S.; CORTES, G. M. D. A.; PATRYC, L.; DOS SANTOS, L. C.; DO COUTO JÚNIOR, L.; MAGALHÃES, M. F. B. **História da farmácia sob a ótica anatômica**. Ciências Farmacêuticas, Brasília, DF, v. 1, n. 1, 2003. Disponível em:

<<http://www.saudeemmovimento.com.br/revista/artigos/cienciasfarmaceuticas/v1n1a8.pdf>>. Acesso em: 01 dez 2021

SILVA, N. L. A.; MIRANDA, F. A. A.; CONCEIÇÃO, G. M. Triagem fitoquímica de plantas do Cerrado, da área de proteção ambiental municipal do Inhamum, Caxias, Maranhão. **Scientia Plena**, v.6, n.2, p.1-17, 2010.

SILVA, M. F. L.; ZAMPIERI, R. A.; MUXEL, S. M.; BEVERLEY, S. M.; FLOETERWINTER, L. M. Leishmania amazonensis arginase compartmentalization in the glycosome is important for parasite infectivity. **PLoS ONE**, v. 7, p. 1-12, 2012.

SILVA, F. C.; ROMÃO, N. F.; VIANA, R. N.; FERRAZ, A. B. F. Análise fitoquímica e potencial antioxidante do extrato das flores de *Spilanthes acmella*. **South American Journal of Basic Education**, Technical and Technological, v. 2, n. 2, p.23-32, Rio Branco, 2015.

SILVA, V. **Estudo de amostras seca, liofilizada e in natura da Tradescantia zebrina: Caracterização botânica, triagem fitoquímica e testes microbiológicos**. 48fls. (Trabalho de Conclusão de Curso – Farmácia), Universidade do Estado da Bahia, Salvador. 2016.

SILVA, V. C.; GUEDES, A. S.; SANTOS JUNIOR, A. F. Aspectos botânicos, fitoquímicos e atividade biológica preliminar de extratos de *Tradescantia zebrina*. In: **Ciências biológicas: realidades e virtualidades**, v. 2. Edson da Silva (org). – Ponta Grossa - PR: Atena, 2021

SILVEIRA, A. C, KASSUIA, Y. S., DOMAHOVSKI, R. C., LAZZAROTTO, M. **Método de DPPH adaptado: uma ferramenta para analisar atividade antioxidante de polpa de frutos da erva-mate de forma rápida e reprodutível**. Colombo: Embrapa Florestas. 2018; 421:11.

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

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

SIQUEIRA, J. S.; FERREIRA, L. R. D.; LIMA, V. S.; SANTOS, R. C.; OLIVEIRA, A. M.; SOARES, L. A. L.; SILVA, G. C. Prospecção fitoquímica e avaliação dos potenciais citotóxico e antioxidante do extrato das folhas de *Microgramma vaccinnifolia*. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 4, p. 20318-20331, 2020.

SOUSA, C. B.; GANGADHAR, K. N.; MORAIS, T. R.; CONSERVA, G. A. A.; VIZETTODUARTE, C.; PEREIRA, H.; LAURENTI, M. D.; CAMPINO, L.; LEVY, D.; UEMI, M.; BARREIRA, L.; CUSTÓDIO, L.; PASSERO, L. F. D.; LAGO, F. H.; VARELA, J. Antileishmanial activity of meroditerpenoids from the macroalgae *Cystoseira baccata*. **Experimental Parasitology**, v. 174, p. 1–9, 2017.

SOUZA, A. D. Z.; HECK, R. M.; CEOLIN, T.; BORGES, A. M.; CEOLIN, S.; LOPES, A. C. P. The care of medicinal plants related to the urinary tract infection—a challenge for nursing. **Revista de Pesquisa Cuidado é Fundamental Online**, v. 4, n. 2, p. 2367-2376, 2012.

SOUZA, A. V.; VIEIRA, M. R. S.; PUTTI, F. F. Correlações entre compostos fenólicos e atividade antioxidante em casca e polpa de variedades de uva de mesa. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 21, p. e2017103, 2018.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5.ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 954p.

TAN, J. B. L.; YAP, W. J.; TAN, S. W.; LIM, Y. Y.; LEE, S. M. Antioxidant content, antioxidant activity, and antibacterial activity of five plants from the commelinaceae family. **Antioxidants**, v. 3, n. 4, p. 758-769, 2014.

TAPAS, A.R.; SAKARKAR, D.M.; KAKDE, R.B. Flavonoids as Nutraceuticals: A Review. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v. 7, n. 3, p. 1089 – 1099, 2008

TASDEMIR, D.; KAISER, M.; BRUN, R.; YARDLEY, V.; SCHMIDT, T. J.; TOSUN, F.; RÜEDI, P. Antitrypanosomal and antileishmanial activities of flavonoids and their analogues: in vitro, in vivo, structure-activity relationship, and quantitative structure-activity relationship studies. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 50, n. 4, p. 1352-1364, 2006.

TEIXEIRA, L. A.; TEIXEIRA, L. A.; FONSECA, C. O. De doença desconhecida a problema de saúde pública: o INCA e o controle do câncer no Brasil. In: **De doença desconhecida a problema de saúde pública: o INCA e o controle do câncer no Brasil**.- Rio de Janeiro: Ministério da Saúde, p. 169-169. 2007.

TEIXEIRA, L. N.; STRINGHETA, P. C.; OLIVEIRA, F. A. Comparação de métodos para quantificação de antocianinas. **Revista Ceres**, v. 55, n. 4, p. 297-304, 2008.

TIUMAN, T. S.; SANTOS, A. O.; UEDA-NAKAMURA, T.; FILHO, B. P. D.; NAKAMURA, C. V. Recent advances in leishmaniasis treatment. **International Journal of Infectious Diseases**, v.15, p. e525–e532, 2011.

TO, S. K. **Stability of plant pigments in *Tradescantia zebrina* and *Ixora Coccinea* linn as Potential Food Colorant with Antioxidant Activity**. (Trabalho de Conclusão de Curso – Bacharelado em Farmacia). Tunku Abdul Rahman University College. 2020

TONIN, L; TEIXEIRA, B; SUZUKI, R. Capacidade antioxidante e compostos bioativos dos frutos de *Pouteria glomerata* (LARANJINHA-DE-PACU). **Revista Tecnológica**, v. 29, n. 2, p. 291-308, 2020.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA (UFSC). Horto Didático de Plantas medicinais do HU/CCS. **Onda-do-mar**. Disponível em: <https://hortodidatico.ufsc.br/onda-do-mar/>. Acesso em 02 Fev. 2022.

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

WARD, R.J.; PETERS, T.J. **Free Radicals**. In: MARSHALL, W.J.; BANGERT, S.K. Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects. New York: hurchill Livingstone, p. 765-777,1995.

WOISKY, R.G.; SALATINO, A. Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. **Journal of Apicultural Research**, v. 37, n. 2, p. 99-105, 1998.

YARLEY, O. P.; KOJO, A. B.; ZHOU, C.; YU, X.; GIDEON, A.; KWADWO, H. H.; RICHARD, O. Reviews on mechanisms of in vitro antioxidant, antibacterial and anticancer activities of water-soluble plant polysaccharides. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 183, p. 2262-2271, 2021.

ZENNI, R. D.; ZILLER, S. R. An overview of invasive plants in Brazil. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 34, n. 3, p. 431-446, 2011.

Submission received for Natural Product Research (Submission ID: 220579903)

De: rpsupport@tandf.co.uk
Para: anibaljrr@uol.com.br
Cópia:
Cópia oculta:
Assunto: Submission received for Natural Product Research (Submission ID: 220579903)
Enviada em: 17/02/2022 | 17:40
Recebida em: 17/02/2022 | 17:40



Dear Aníbal de Freitas Santos Júnior,

Thank you for your submission.

Submission ID	220579903
Manuscript Title	Determination of phenolic bioactive compounds and evaluation of the antioxidant and hemolytic activities of methanolic extracts of Tradescantia zebrina
Journal	Natural Product Research

You can check the progress of your submission, and make any requested revisions, on the [Author Portal](#).

Thank you for submitting your work to our journal.
If you have any queries, please get in touch with GNPL-peerreview@journals.tandf.co.uk.

Kind Regards,
Natural Product Research Editorial Office

Determination of phenolic bioactive compounds and evaluation of the antioxidant and hemolytic activities of methanolic extracts of *Tradescantia zebrina*

Vagner Cardoso da Silva^a, Bárbara Elizabeth Alves de Magalhães^b, Tatiana Barbosa dos Santos Magalhães^a, Elisalva Teixeira Guimarães^a, Alessandra da Silva Guedes^a, Milleno Dantas Mota^a, Walter Nei Lopes dos Santos^b, Bruno Antonio Veloso Cerqueira^a and Aníbal de Freitas Santos Júnior^{a*}

^a*Department of Life Sciences, State University of Bahia (UNEB), Salvador, Bahia, Brazil*

^b*Department of Exact and Earth Sciences, State University of Bahia (UNEB), Salvador, Bahia, Brazil*

*corresponding author (E-mail: anibaljrr@uol.com.br / afjunior@uneb.br)

Author Contributions: Conceptualization (A.F.S.J., W.N.L.S, B.A.V.C. and V.C.S); validation (A.F.S.J., W.N.L.S, B.A.V.C., E.T.G., M.D.M. and V.C.S); data curation (A.F.S.J., W.N.L.S, B.A.V.C. and V.C.S.); formal analysis (V.C.S., B.E.A.M., T.B.S.M. and A.S.G.); investigation (A.F.S.J., W.N.L.S, B.A.V.C., E.T.G., M.D.M. and V.C.S); visualization and supervision (A.F.S.J., W.N.L.S, B.A.V.C., E.T.G., A.S.G., M.D.M. and V.C.S); writing-original draft preparation (A.F.S.J., W.N.L.S, B.A.V.C., E.T.G., M.D.M. and V.C.S); writing -review and editing (A.F.S.J. and V.C.S); All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Determination of phenolic bioactive compounds and evaluation of the antioxidant and hemolytic activities of methanolic extracts of *Tradescantia zebrina*

Abstract: *Tradescantia zebrina* is a species used mainly in South America, with few reports about its chemical composition and bioactivity. This study aim to determine phenolic bioactive compounds, for the first time in the literature, and the antioxidant and hemolytic activities of extracts (dried and *in natura*) of this species. The total phenolic and flavonoid contents in the extracts (*in natura* and dried) were 67.68 and 233.94mg EAG/g and 29.70 and 10.99 mg EQ/g of concentrated extract, respectively. Phenolic acids (caffeic, ellagic, ferulic, *p*-coumaric and protocatechuic), flavonoids (chrysin and rutin) and a phenolic aldehyde (vanillin) were determined by HPLC-DAD. The antioxidant activities were confirmed by inhibition of DPPH[•] (44.08%) and ABTS^{•+} (46.99%) radicals for *in natura* samples, respectively. The tested methanolic extracts of *Tradescantia zebrina* did not present toxicities when tested for hemolytic activity after 72 hours. Therefore, *Tradescantia zebrina* is a potential source of bioactive substances.

Keywords: *Tradescantia zebrina*; antioxidants; phenolic compounds; HPLC; biological activity.

1. Introduction

The use of medicinal plants for the prevention, treatment and cure of various diseases is as old and universal as the history of humanity. *Tradescantia* is a genus of herbaceous plants found mainly in South America, being abundant and easily accessible in Brazil, more specifically in the state of Bahia. Reports of the bioactivity of the species *Tradescantia zebrina*, popularly known as “egenda”, “trapoeraba”, “viuvinha”, “lambari” or sea wave, are distant from each other, as there is not enough data in the scientific literature regarding its chemical composition, biological activities, effectiveness and therapeutic safety. The plant is traditionally used in Mexico as a drink

capable of treating various diseases, including cancer (Tan et al. 2014; Alonso-Castro et al. 2011).

Phenolic compounds are secondary metabolites of plants and are subclassified into flavonoids (polyphenols: flavones, flavanones, flavanols, isoflavones, anthocyanins, etc.) and non-flavonoids (phenolic acids, tannins, coumarins and lignans) (Alara et al. 2021). Currently, phenolic compounds have been the substances of greatest interest to science, due to their beneficial characteristics for health, such as antioxidant, antimicrobial and antineoplastic activities (Da Silva et al. 2021; Stagos 2020; Niki 2010; Tapas et al. 2008; Manach et al. 2004).

Few studies have evaluated the levels of total phenolics and flavonoids in *Tradescantia zebrina* (Baghalpour et al. 2021; Olivo-Vidal et al. 2020; Cheah et al. 2017; Tan et al. 2014). To guarantee the phytochemical profile of a species or its extracts, a chromatographic *fingerprint* is essential to ensure the quality and reproducibility of the chemical composition, concentration of chemical substances and, subsequently, the therapeutic efficacy. Therefore, high performance liquid chromatography (HPLC) is an alternative analytical tool for the separation, identification, quantification and quality control of medicinal plants (Moura et al. 2021; Yun et al. 2020; Sá et al. 2019; Sá et al. 2017; Nybom et al. 2014).

Although very important, the use of medicinal plants can present risks, since many plants can have a variable chemical composition and relative toxicity (Felix-Silva et al. 2012). The possibility of hemolysis is one of the most relevant problems in the use of plants, since the saponins or alkaloids present can cause risks to consumption. The *in vitro* hemolysis test has been used with some frequency in studies that evaluate the toxicity of medicinal plant (Paula et al. 2014; Kalegari et al. 2011).

This study aims to expand the knowledge about the species *Tradescantia zebrina*, contributing to the chemical and biological prospection of substances with antioxidant and non-hemolytic potential. For the first time, bioactive phenolic compounds were identified and quantified in methanolic extracts from samples (dried and *in natura*) in this species, promoting a greater pharmacological interest and its traditional use.

2. Results and discussion

2.1. Macroscopic analysis, total phenolic and flavonoids contents and antioxidant activities

The macroscopic characteristics of the specimens analyzed were in agreement with the family Comelinaceae (Elbl 2010). The analysis of the architecture of the leaves showed a parallel pattern, presence of hermaphroditic inflorescences and protection by bracts recorded for the species. It was possible to identify a stoloniferous stem with creeping growth, with the presence of nodes from which adventitious roots emerged and the formation of new branches.

Tradescantia zebrina is a species that offers easy adaptation in any space, in addition to developing throughout the year, both outdoors and in greenhouses. (Carvalho 2005). The environmental influences that most interfere with its growth and development are photoperiod, radiation and temperature (Marchese and Figueira 2005). Therefore, the place and time of planting are essential to obtain a high yield of the species and substances of secondary metabolism. Phenolic acids and flavonoids have several functions for plant growth and metabolism (defense against insects, fungi, viruses and bacteria and protection against ultraviolet radiation). In addition, these compounds show antioxidant, antimicrobial, anti-inflammatory and antineoplastic activities, as well as in the prevention of neurodegenerative diseases (Ahmed et al.

2017; Negri et al. 2014; Sagdic et al. 2011; Gutam and Jachak 2009; Esquenazi et al. 2002). In the literature, some studies have indicated the presence of phenolic compounds in *Tradescantia zebrina*, as well as its antioxidant potential (Alaba and Chichioco-Hernandez 2014; Tan et al. 2014; Alonso-Castro et al. 2011). Table 1 presents the comparative average values (found in this study and in the scientific literature) for phenolic compounds and total flavonoids and, also for the antioxidant activity of extracts of *Tradescantia zebrina*.

Table 1. Comparative mean values (found in this study and in the scientific literature) for total phenolics and flavonoids and, antioxidant activity for extracts of *Tradescantia zebrina*.

Studies	Total Phenolics (mg EAG/g) (Sample type)	Total Flavonoids
Present study (Bahia, Brazil)	67.68 ± 0.12* (dried)	10.99 ± 0.08* (dried)
	233.94 ± 0.71* (<i>in natura</i>)	29.70 ± 0.04* mg EQ/g (<i>in natura</i>)
(Cheah et al. 2017) (Kuala Lumpur, Malaysia)	33.50 ± 2.58* (dried)	9.40 ± 1.06* mg ECAT/g (dried)
(Olivo-Vidal et al. 2020) (Tabasco, Mexico)	70.20 ± 1.20** (<i>in natura</i>)	16.80 ± 0.50 mg ECAT/g** (<i>in natura</i>)
(Baghalpour et al. 2021) (Alborz, Irã)	0.08 ± 0.14**	-
(To 2020) (Kuala Lumpur, Malaysia)	694.86 ± 54.46 (stem)** (<i>in natura</i>)	496.22 ± 16.56 mg ECAT/g (stem)** (<i>in natura</i>)
	510.70 ± 31.45 (leaf)** (<i>in natura</i>)	410.27 ± 8.34 mg ECAT/g (leaf)** (<i>in natura</i>)
(Tan et al. 2014) (Kuala Lumpur, Malaysia)	6.21 ± 0.40* (<i>in natura</i>)	17.10 ± 2.80 mg ER/100 g (<i>in natura</i>)
Studies	Antioxidant activity (%) (DPPH)	Antioxidant activity (%) (ABTS)
Present study (Bahia, Brazil)	44.08 (ExC: 45.00 mg mL ⁻¹)*	46.99 (ExC: 0.80 mg mL ⁻¹)*
(Cheah et al. 2017) (Kuala Lumpur, Malaysia)	18.10 (ExC: 0.10 mg mL ⁻¹)*	-
(Olivo-Vidal et al. 2020) (Tabasco, Mexico)	84.00 (ExC: 100 mg mL ⁻¹)**	16.00 (ExC: 100 mg mL ⁻¹)**
(To 2020) (Kuala Lumpur, Malaysia)	26.19 (stem) (ExC: not informed)**	-
	18,78 (leaf) (ExC: not informed)**	

EAG: gallic acid equivalents; ECAT: catechin equivalents; EQ: quercetin equivalents; EQ: rutin equivalents; *: methanolic extract; **: ethanol extract; ExC: extract concentration; -: not available

The results indicated variations in the contents of phenolic compounds and total flavonoids, in the dried and *in natura* extracts of the *Tradescantia zebrina* specimens studied, when compared with few data of the literature. A reduction in the concentration of phenolics and total flavonoids was observed in the dried sample, probably due to the drying process of the plant, associated with the process of rotaevaporation of the crude extract. The drying temperature can decrease the polyphenol content of plant extracts, as well as their antioxidant activity (Katsube et al. 2009). The results indicated concentrations of total phenolic compounds and flavonoids higher than those found by (Cheah et al. 2017) for dried methanolic extracts of *Tradescantia zebrina*, in Malaysia.

The results obtained for the *in natura* samples were also superior to those found by (Tan et al. 2014) in methanolic extracts of this species, in Malaysia and, by (Olivo-Vidal et al. 2020) and (Baghalpour et al. 2021), who determined phenolic compounds in ethanolic extracts of this species in Mexico and Iran, respectively. However, were inferior (about 10 times) to those found by (To 2020), in ethanol extracts (stem and leaf) of *Tradescantia zebrina*, in Malaysia.

Thus, secondary metabolites represent a chemical correlation between the species and the environment where they are planted. Environmental stimuli can alter the biosynthesis of different compounds, such as seasonality, collection location, incidence of solar radiation, rainfall, plant interactions with microorganisms, insects and/or other plants, circadian cycle, nutrition, time and time of collection and, sample preparation method (Gomes et al. 2021; Kabtni et al. 2020).

The DPPH[•] radical was inhibited (44.08%) in 45g of plant (*in natura*) extracted in 1 liter of methanol. To prepare the drink “Água de Matalí”, popular among Mexicans according to the cultural tradition typical of Tabasco, about 100-150g of plant is used infused in 1 liter of boiling water ($\pm$ 1 liter) and, after cooling, it is adds lemon juice and

honey, serving ice cold or hot (Guadarrama-Olivera 2010). Thus, the consumption of soft drinks, in this proportion, promotes the intake of antioxidant compounds in the diet.

(Olivo-Vidal et al. 2020) compared the contents of phenolic compounds and total flavonoids, as well as the determination of antioxidant activity by the methods of DPPH, ABTS and by the antioxidant power capable of reducing Iron III (FRAP) with extracts (dynamic maceration in 80% ethanol; aqueous maceration at 22°C; and aqueous infusion, in the proportion of 1g of leaf for 10mL of solvent) prepared with fresh leaves of *Tradescantia zebrina*. The authors indicated that the aqueous extract, obtained by maceration, showed a greater ability to capture the radical ABTS^{•+} and also a greater dosage of total flavonoids (27.8 mgECAT/g). However, the total phenolic compounds showed lower concentrations (51 mgEAG/g) when compared to the ethanolic extract (70.2 mgEAG/g); and this, in turn, had lower flavonoid levels (16.8 mgECAT/g) and higher DPPH sequestration activity (84%). The extract obtained by infusion showed better results by the FRAP method, being equivalent to the extract obtained by aqueous maceration, in total phenolic contents.

The results of the present study, when compared to those of (Cheah et al. 2017), in Malaysia, showed higher concentrations of phenolic compounds and total flavonoids for the methanolic extract of *Tradescantia zebrine*. Also, were comparable with those of (Olivo-Vidal et al. 2020), in Mexico. This may be due to seasonal interference, the planting process and the collection and preparation of samples, as the authors reported that only the leaves were used to obtain the extracts. Also, it is noteworthy that the Mexican plant was acquired at a local fair and the conditions of time and storage of the specimens after collection until analysis were not informed.

The phytochemical assessment investigated by (Tan et al. 2014) highlighted the presence of phenolic compounds and the antioxidant activity of the *Tradescantia*

zebrina species when compared to others of the *Tradescantia* family, *Tradescantia spathacea* var. *variegata*, *Tradescantia spathacea* “Hawaiian Dwarf” and *Tradescantia pallida*. Among these species, *Tradescantia zebrina* showed the highest antioxidant activity (about nine times greater) than the other species studied. This observation was also confirmed by (Cheah et al. 2017) and (Baghalpour et al. 2021).

3.5. Chromatographic analysis

To validate the proposed method, a solution containing 17 phenolic compounds (0.005 mg mL⁻¹) was prepared and, from the chromatograms, the analytical parameters were obtained (Table 2). Then, the method was applied to analyze the methanolic extracts of the samples (dried and *in natura*) of *Tradescantia zebrina*.

Table 2. Analytical validation parameters for the proposed method by HPLC-DAD.

Analyte	Regression equation	R ²	LOD (mg L ⁻¹)	LOQ (mg L ⁻¹)
Caffeic acid	y = 149675x – 15785	0.9999	0.04	0.13
Chlorogenic acid	y = 65056x + 5481.7	0.9973	0.14	0.41
Ellagic acid	y = 180471x – 6206.8	0.9992	0.13	0.39
Ferulic acid	y = 106019x – 10833	0.9998	0.06	0.17
Gallic acid	y = 69058x – 987.92	0.9988	0.16	0.48
<i>p</i> -coumaric acid	y = 173234x – 16450	1	0.03	0.09
Protocatechuic acid	y = 132697x – 8605	0.9997	0.08	0.24
Sinapic acid	y = 107178x – 10354	0.9998	0.06	0.18
Syringic acid	y = 73260x – 8065.3	0.9999	0.04	0.11
<i>trans</i> -cinnamic acid	y = 156741x – 16963	1	0.03	0.08
Catechin	y = 11344x + 3841.1	0.9979	0.21	0.63
Chrysine	y = 23736x – 10191	0.9903	0.44	1.34
Kaempferol	y = 23417x – 4108.7	0.9925	0.40	1.20
Naringenin	y = 63685x – 6429.1	0.9995	0.10	0.29
Quercetin	y = 45981x – 10078	0.9985	0.18	0.54
Rutin	y = 31435x – 3903	1	0.01	0.04
Vanillin	y = 92846x – 620.8	1	0.02	0.07

The identification of phenolic compounds by HPLC-DAD was based on the comparison between the peaks obtained from the respective analytical standards and the

extracts, regarding retention times and UV spectra. To confirm the presence of phenolic compounds, the samples (dried and *in natura*) were fortified with the standard mixing solution ($5.00 \mu\text{g mL}^{-1}$) and the chromatograms obtained were compared (Figure 1).

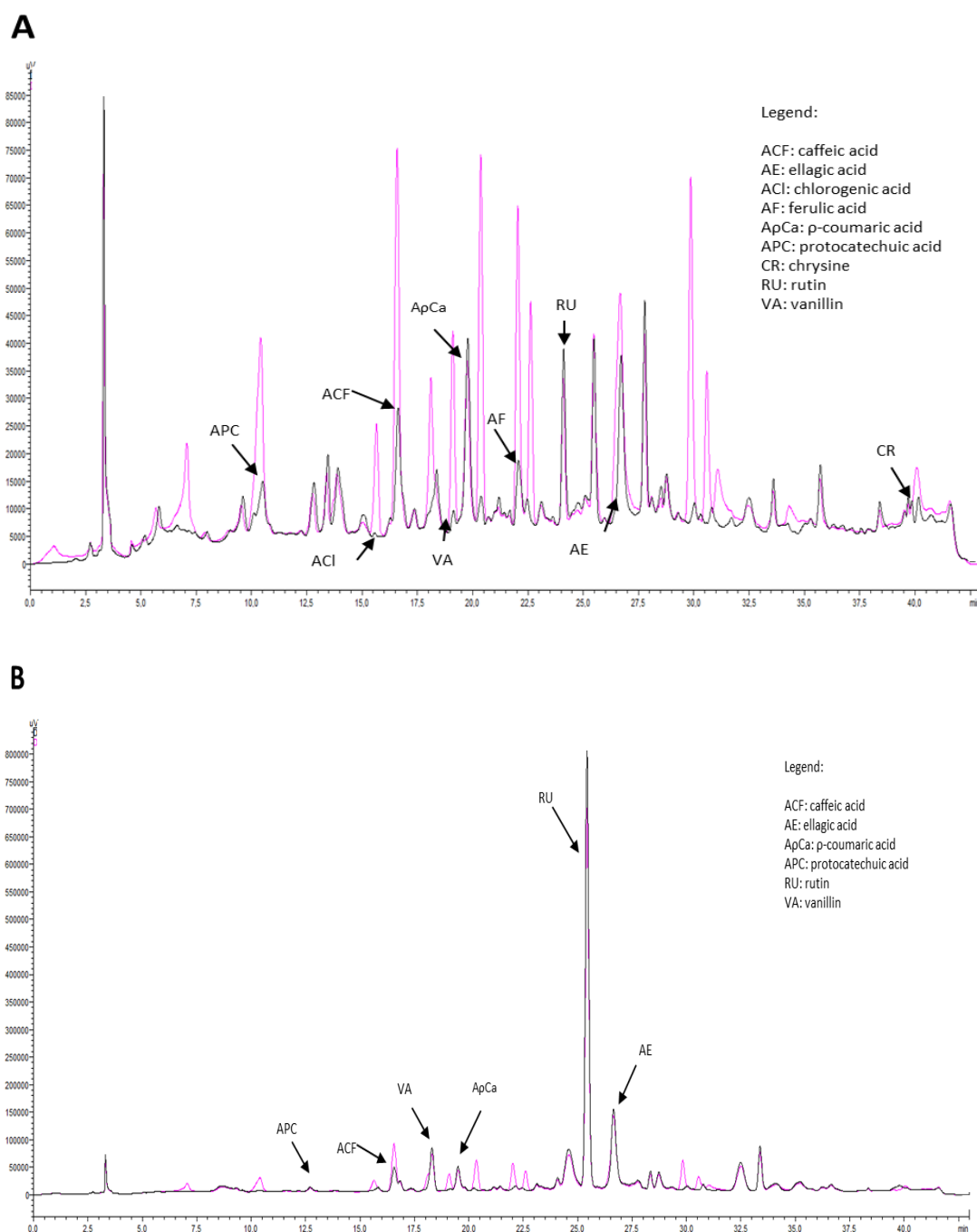


Figure 1. Chromatograms obtained from pure methanolic extract (black line) and enriched with analytical standards ($5 \mu\text{g mL}^{-1}$) of phenolic compounds (pink line) from samples of *Tradescantia zebrina* (A – dried and B – *in natura*) by HPLC-DAD.

It was possible to identify nine phenolic compounds for the dried extract: six phenolic acids (caffeic, ellagic, chlorogenic, ferulic, *p*-coumaric and protocatechuic), two flavonoids (chrysin and rutin) and one a phenolic aldehyde (vanillin) and, of these, eight analytes were quantified (Table 3). Ellagic acid, caffeic acid and rutin showed higher concentrations. Chlorogenic acid, identified in the extract from its analytical standard, presented amounts below the detection limit (LOD). For extracts *in natura* a change in the chromatogram profile was observed (Figure 1B). It was possible to identify six phenolic compounds for the dried extract: four phenolic acids (caffeic, ellagic, *p*-coumaric and protocatechuic), one flavonoid (rutin) and one phenolic aldehyde (vanillin) and, of these, five analytes were quantified (Table 4).

Table 3. Phenolic compounds quantified from the dried methanolic extract of *Tradescantia zebrina* by HPLC-DAD.

Analyte	Wavelength	Retention time	Integrated area	Conc. (mg L ⁻¹)	Conc. (µg g ⁻¹)
Caffeic acid	330	16.636	257002	1.82	182.25
Chlorogenic acid	330	15.566	5636	nd	nd
Ellagic acid	260	26.717	521488	2.92	292.40
Ferulic acid	330	22.136	134203	1.37	136.80
<i>p</i> -coumaric acid	310	20.394	95896	0.65	64.85
Protocatechuic acid	260	10.512	103298	0.84	84.33
Chrysin	272	40.168	17318	1.16	115.90
Rutin	360	25.495	107323	3.54	353.83
Vanillin	280	19.139	38708	0.42	42.36

nd: not determined; Conc: concentration

Table 4. Phenolic compounds quantified from the *in natura* methanolic extract of *Tradescantia zebrina* by HPLC-DAD.

Analyte	Wavelength	Retention time	Integrated area	Conc. (mg L ⁻¹)	Conc. (µg g ⁻¹)
Caffeic acid	330	16.580	427860	2.96	296.41
Ellagic acid	260	26.649	2253336	12.52	1,252.03
<i>p</i> -coumaric acid	310	20.232	87347	0.60	59.92
Protocatechuic acid	260	10.433	38817	0.36	35.74
Rutin	360	25.434	2534792	nd	nd
Vanillin	280	19.147	15829	0.18	17.72

nd: not determined; Conc: concentration

A high intensity peak was obtained, with a larger integrated area, for the flavonoid rutin, with a concentration much higher than the sample enriched with the analytical standard. After calculating the purity of this substance (from the integrated area of the peak), a value of 70% was obtained. Therefore, it was decided not to predict the actual content of this flavonoid, since other compounds (present in *in natura* sample, not contained in the standard solution used in this study) may be eluting together with rutin, by absorbing radiation at 360 nm.

The nature and amount of chemical compounds identified in plants can vary according to several factors (Gobbo-Neto and Lopes 2007). No data were found in the scientific literature on the identification and quantification of phenolic compounds in *Tradescantia zebrina* by HPLC-DAD. Therefore, this study fills a gap because, for the first time, it demonstrated the relevance of this species to science, confirming the chemical, biological and therapeutic potential of *Tradescantia zebrina*.

3.6. Hemolytic activity

In tests of biological and, especially, toxicological activities of plant extracts, there is a need to evaluate hemolytic activity. With the rupture of red blood cells, the

iron released from the heme group is harmful and can cause damage to essential organs, such as the liver and kidneys, resulting in hemoglobinemia (Afsar et al. 2016; Coates 2014). When this value exceeds 100 mg%, hemoglobin begins to be filtered by the kidneys and, when excessively high (above 3,000 mg%), it can promote kidney damage with hemoglobinuria (Carvalho et al. 2007; Kalegari et al. 2011).

From the results obtained in the hemolytic activity test through the diffusion of the extract in blood agar, no sample showed formation of a hemolytic halo after 72 hours (Figure 2). This confirms no toxicity to the erythrocyte membrane, from the methanolic extracts of samples (dried and *in natura*) of the species. Only, there was the formation of a halo of 2 cm of hemolysis with the use of the positive control, a solution of the detergent Triton X-100 1 % (v v⁻¹). Therefore, it is suggested that, preliminarily, *Tradescantia zebrina* does not indicate toxicological risks for use in living organisms, despite the saponins present in the plant.

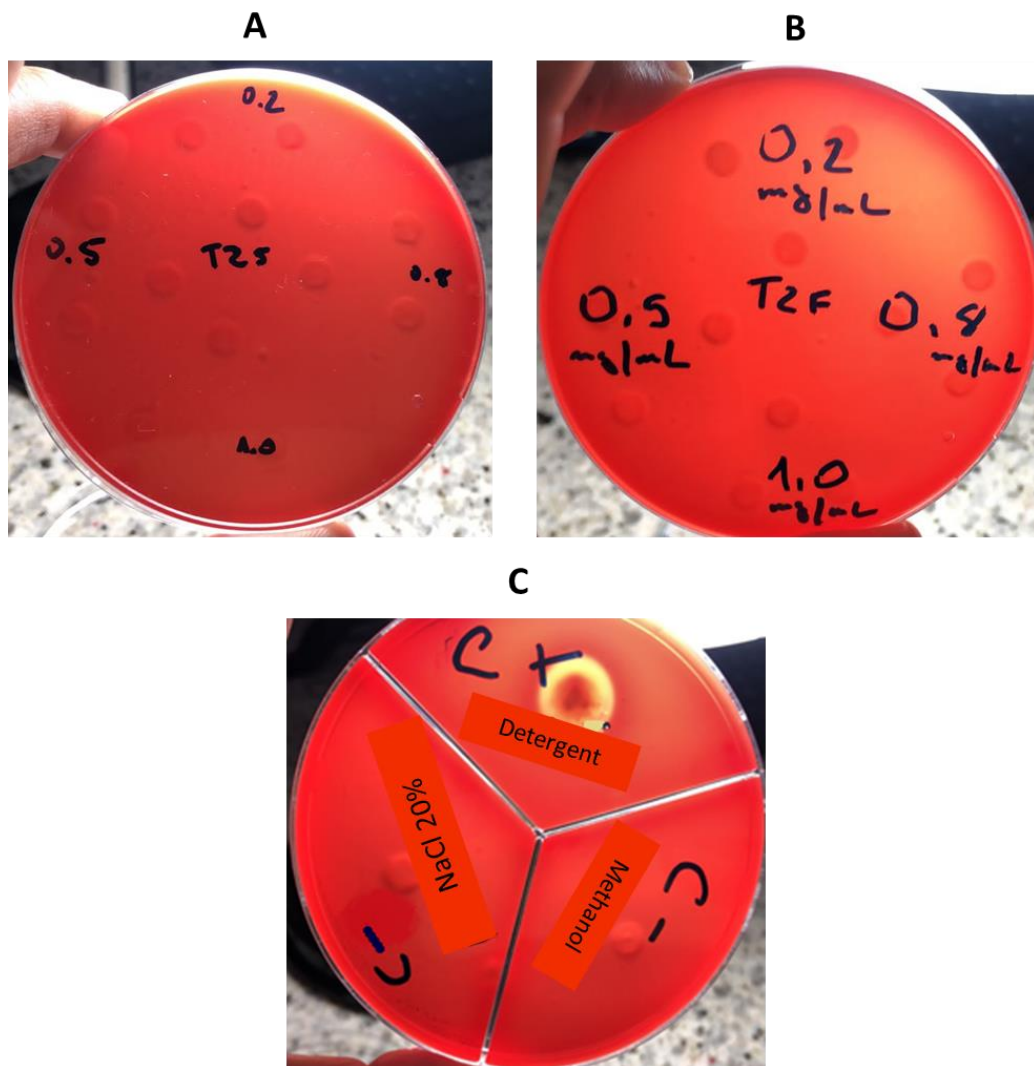


Figure 2. Evaluation of the presence of hemolysis halos, in plates, with controls (positive and negative), after 72 hours in methanolic extracts of *Tradescantia zebrina*.

A: dried extract; B: *in natura* extract and C: negative and positive controls.

3. Experimental

3.1. Plant material

Tradescantia zebrina specimens were collected in Aporá/Bahia/Brazil within the same terrain (11.6605° S, 38.0803° W) at autumn (May 2021), in full moon. The dried

samples (whole plant) were collected, cleaned of dirt and earth remains, dried in the shade until they became friable. Then, the material was ground in a knife mill (OMDR100, Oster®, São Paulo, Brazil) with a power of 150 W. The process was carried out in 3 cycles of comminution to powder and then they were stored until the extracts were prepared. The *in natura* plant was collected, cleaned, scraped and weighed for the preparation of extracts.

The botanical identification of the species was carried out by comparison with the characterization described in taxonomic reviews and scientific botanical literature (botanical atlases and photos of the species) and, from traditional native knowledge. A branch of the species was used to identify the macromorphological aspects and preparation of the exsiccate, observing division, leaf blade shape, blade base, type of nervation, presence of petiole, sheath and stipule, and also the morphological characteristics of the flowers.

3.2. Extraction of samples

The extracts obtained from dried samples were performed by maceration in methanol and a re-maceration with solvent exchange in 24 hours and, the extract from fresh samples (*in natura*) of *Tradescantia zebrina*, was obtained by dynamic maceration in methanol, using a blender for 4 hours. The crude extracts were concentrated in a rotary evaporator (Quimis®, São Paulo, Brazil) under vacuum (40 mbar) at a temperature below 35 °C. After complete evaporation, the adhered material was reconstituted with approximately 3.0 mL of methanol to wash the collection flask, until complete drying. The concentrated extracts (dried and *in natura*) were placed in clean and identified eppendorfs and stored in the freezer until the standardized extracts were prepared at a concentration of 1 mg mL⁻¹. The unconcentrated extract was standardized

at a concentration of 75,000 mg L⁻¹, being used in a maximum of 3 days. Extracts were filtered and stored at 4 °C when not in use. All analyses were conducted in triplicates.

3.3. Determination of Total Phenolic and Flavonoids Contents

To quantify the total phenolic compounds, the methodology proposed by Bonoli et al. (2004) and the contents of total phenolic compounds were expressed in mg gallic acid equivalent (GAE)/g of extract. All analyses were conducted in triplicates.

The determination of total flavonoid levels was performed in triplicate, according to the method described by Woisky and Salatino (1998) and the total flavonoid levels were expressed in mg quercetin equivalent (EQ)/g of extract.

3.4. In vitro assays for evaluating the antioxidant activity

3.4.1. DPPH radical scavenging activity

It was performed according to (Brand-Williams et al. 1995) with some modifications.

3.4.2. ABTS radical scavenging activity

It was performed according to (Nenadis et al. 2004) with some modifications.

3.5. Chromatographic analysis

To extract the phenolic compounds, about 10 mg of the crude extract of *Tradescantia zebrina* was solubilized in 1 mL of methanol (HPLC grade). Analyzes were performed in HPLC with a Prominence-i LC-2030C 3D Plus liquid

chromatography system (Shimadzu[®], Kyoto, Japan), equipped with a diode array detector (DAD) (model SPD-20A), high pressure quaternary (model LC-20AD), heating oven (model CTO-20A), automatic sampler (model SIL-20A) and communication module (CBM-40Life), all treatment and acquisition of samples was controlled by the LCSolutions software (Shimadzu[®], Kyoto, Japan).

Chromatographic separation was performed using a Lichrospher[®] C18 column (5 μ m, 4.0 x 250 mm) from Sigma-Aldrich[®] (USA), at 40 °C and flow rate of 1.0 mL min⁻¹ with analytical solvents for binary elution mixture consisting of (A) ultrapure water acidified with 1% glacial acetic acid (v v⁻¹) and (B) HPLC grade methanol according to gradient program: 0-10 min, 100% A; 10-20 min, 30% A and 70% B; 20-21, 25% A and 75% B; 21-25, 100% A. Prior to injection (20 μ L) into the HPLC-DAD system, extract solutions were filtered through a PTFE syringe filter (0.45 μ m) (Moura et al. 2021; Magalhães et al. 2020).

A sample of each extract (dried and *in natura*) was fortified with a 0.005 mg mL⁻¹ solution containing a mix of 17 phenolic standards for identification and quantification from its spectrum (chromatogram). Identification and qualitative analyzes were performed by comparison with standard spectra at each retention time (Sagdic et al. 2011). The standards of phenolic compounds that were tested show absorbances at the following wavelengths: Caffeic acid (330 nm), Chlorogenic acid (330 nm), Ellagic acid (260 nm), Ferulic acid (330 nm), Gallic acid (272 nm), *p*-coumaric acid (310 nm), Protocatechuic acid (260 nm), Sinapic acid (330 nm), Syringic acid (272 nm), Trans-cinnamic acid (280 nm), Catechin (280 nm), Chrysin (272 nm), Kaempferol (360 nm), Naringenin (280 nm), Quercetin (360 nm), Rutin (360 nm) and Vanillin (280 nm). The identified analytes were quantified using external calibration curves (0.1 - 2.5 mg L⁻¹) and the results were expressed in mg g⁻¹ of extract.

The proposed method was validated according to (Brasil 2017) and the main analytical parameters normally found for method validation are: linearity, precision, limits of detection (LOD) and of quantification (LOQ). Linearity was evaluated according to the coefficient of determination (R^2) of the analytical curves. Precision was demonstrated by dispersion of the results, calculating the relative standard deviation (RPR) of the measurements. The limits of detection (LOD) and quantification (LOQ) were calculated based on the parameters of the analytical curves, relating the standard deviation of the intersection (s) and the slope of the curve (S).

3.6. Hemolytic activity test

The hemolytic activity assay was performed according to (CLSI 2015) with modifications, by diffusion in blood agar using the disc antibiogram technique. Filter paper discs were impregnated with samples (1 mg mL^{-1} of dried extract) of *Tradescantia zebrina*. After impregnation, the discs were distributed on the plates and incubated at 35° for 24, 48 and 72 hours. As a positive control, a solution of the detergent Triton X-100 1 % ($v v^{-1}$) was used. Methanol (0.1%) and saline solution (20%) were used. After incubation, the plates were inspected for the presence of halos of hemolysis between 24 and 72 hours.

3.7. Statistical analysis

Data are given as mean $\pm$ SD of three measurements for each experiment, using GraphPad InStat (Graph software Inc., V 3.05, Ralph Stahlman, Purdue University, Lafayette, IN). IC_{50} were calculated by nonlinear regression analysis with Graph Pad Prism version 5 for Windows (Graph Pad Inc., USA).

4. Conclusions

The methanolic extracts of samples (dried and *in natura*) of *Tradescantia zebrina* showed considerable levels of phenolic compounds and antioxidant activities. From a preliminary fingerprint obtained by HPLC-DAD, the presence of phenolic compounds in this species was confirmed, for the first time described in the literature. It was possible to identify eight phenolic compounds in the samples, being five phenolic acids (caffeic, ellagic, ferulic, *p*-coumaric and protocatechuic), two flavonoids (chrysin and rutin) and one a phenolic aldehyde (vanillin). The proposed and validated chromatographic method was linear, with good precision and accuracy and presented low detection and quantification limits, confirming its sensitivity and applicability. The absence of toxicity observed in the hemolytic activity assays suggests the performance of additional studies to determine the therapeutic properties of this species.

Therefore, from the observation of the botanical and morphological aspects, from the chemical and biological prospection, it is possible to conclude that *Tradescantia zebrina* is a species of interest, as a potential source of bioactive substances. Gaps are still present in this knowledge and will serve as a starting point for the continuity of these studies.

Disclosure statement

The authors declare that they have no competing interests.

Acknowledgments

The authors are grateful for State University of Bahia (UNEB) and “Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES)”.

References

- Afsar T, Razak S, Khan MR, Mawash S, Almajwal A, Shabir M, Haq IU. 2016. Evaluation of antioxidant, anti-hemolytic and anticancer activity of various solvent extracts of *Acacia hydasypica* R. Parker aerial parts. BMC Complement Altern Med. 16:258.
- Ahmed E, Arshad M, Khan MZ, Amjad MS, Sadaf HM, Riaz I, Sabir S, Ahmad N, Sabaoon. 2017. Secondary metabolites and their multidimensional prospective in plant life. J Pharmacogn Phytochem. 6(2):205–214.
- Alaba CSM, Chichioco-Hernandez CL. 2014. 15-Lipoxygenase inhibition of *Commelina benghalensis*, *Tradescantia fluminensis*, *Tradescantia zebrina*. Asian Pac J Trop Biomed. 4(3):184–188.
- Alara OR, Abdurahman NH, Ukaegbu CI. 2021. Extraction of phenolic compounds: a review. Curr Res Food Sci. 4:200–214.
- Alonso-Castro AJ, Villarreal ML, Salazar-Olivo LA, Gomez-Sanchez M, Dominguez F, Garcia-Carranca A. 2011. Mexican medicinal plants used for cancer treatment: pharmacological, phytochemical and ethnobotanical studies. J Ethnopharmacol. 133(3):945–972.
- Baghalpour N, Ayatollahi SA, Naderi N, Hosseinabadi T, Taheri Y, Mahroo-Bakhtiyari J, Shinwari ZK, Khalil AT, Sharifi-Rad J. 2021. Antinociceptive and anti-inflammatory studies on *Tradescantia zebrina*. Pak J Bot, 53(1):357–365.

Bonoli M, Verardo V, Marconi E, Caboni MF. 2004. Antioxidant phenols in barley (*Hordeum vulgare* L.) flour: comparative spectrophotometric study among extraction methods of free and bound phenolic compounds. J Agric Food Chem. 52(16):5195–5200.

Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT - Food Sci Technol. 28(1):25–30.

Brasil. 2017. Resolution of the Collegiate Board of Directors - RDC, No. 166 of July 24, 2017. Providing for the validation of analytical methods and other provisions. [accessed 2022 Jan 10]. https://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/19194581/do1-2017-07-25-resolucao-rdc-n-166-de-24-de-julho-de-2017-19194412.

Carvalho EB, Borges EL, Carlos LMB, Silva MAM, Magalhães SMM, Gomes FVBAF, Carvalho MJC, Quixadá ATS. 2007. Effect of the infusion pumps of solutions on the degree of hemolysis. Rev Bras Hematol Hemoter. 29(2):149–152.

Carvalho HA. 2005. Use of Tradescantia to monitor the clastogenic effects of ionizing radiation. Rev Radiol Bras. 38(6):459–462.

Cheah SY, Magdalene CY, Eldwin Lim CZ, Wong MH, Amir S, Daniel S, Liow YC, Ketnipha S, Karenjit K, Gabriel GA, Chin JH. 2017. In-vitro antioxidant and acetylcholinesterase inhibitory activities of *Tradescantia zebrina*. Res J Pharm Biol Chem Sci. 8(1):82–87.

Coates TD. 2014. Physiology and pathophysiology of iron in hemoglobin-associated diseases. Free Radic Biol Med. 72:23-40.

Da Silva SVS, Barboza OM, Souza JT, Soares ÉN, dos Santos CC, Pacheco LV, Santos IP, Magalhães TBdS, Soares MBP, Guimarães ET, Meira CS, Costa SL, da Silva VDA, de Santana LLB, de Freitas Santos Júnior A. 2021. Structural Design,

Synthesis and Antioxidant, Antileishmania, Anti-Inflammatory and Anticancer Activities of a Novel Quercetin Acetylated Derivative. *Molecules*. 26(22):6923.

Elbl PM, Melo-de-Pinna GF, Menezes NL. 2010. Morphology and anatomy of leaf miners in two species of Commelinaceae (*Commelina diffusa* Burm. f. and *Floscopa glabrata* (Kunth) Hassk). *Acta Bot Bras*. 24(1):283–328.

Esquenazi D, Wigg MD, Miranda MM, Rodrigues HM, Tostes JB, Rozental S, Da Silva AJ, Alviano CS. 2002. Antimicrobial and antiviral activities of polyphenolics from *Cocos nucifera* Linn. (Palmae) husk fiber extract. *Res Microbiol*. 153(10):647–652.

Felix-Silva J, Tomaz IM, Silva MG, Santos KSCR, Silva-Júnior AA, Carvalho MCRD, Soares LAL, Fernandes-Pedrosa MF. 2012. Botanical and chemical identification of plant species of popular use in Rio Grande do Norte, Brazil. *Rev Bras Pl Med*. 14(3):548–555.

Gobbo-Neto L, Lopes NP. 2007. Medicinal plants: factors of influence on the content of secondary metabolites. *Quim Nova*. 30(2):374–381.

Gomes M, Magalhães B, Santos W, Almeida JR. 2021. Influence of seasonality on phytochemical composition, phenolic content and antioxidant activity of *Neoglaziovia variegata* (Bromeliaceae). *Biointerface Research in Applied Chemistry*, v. 12, n. 3, p. 2889-2904, 2021.

Guadarrama-Olivera MA. 2010. De los “Matalis”, “señoritas embarcadas” y otras Commelinas en Tabasco. *Kulxulkab*. 17:79–86.

Gutam R, Jachak SM. 2009. Recent developments in anti-inflammatory natural products. *Med Res Rev*. 29(5):767–820.

Kalegari M, Miguel MD, Dias JDFG, Lordello ALL, Lima CPD, Miyazaki CMS, Zanin SM, Verdam, MC, Miguel OG. 2011. Phytochemical constituents and

preliminary toxicity evaluation of leaves from *Rourea induta* Planch. (Connaraceae). Braz J Pharm Sci. 47(3):635–642.

Kabtani S, Sdouga D, Bettaib Rebey I, Save M, Trifi-Farah N, Fauconnier ML, Marghali S. 2020. Influence of climate variation on phenolic composition and antioxidant capacity of *Medicago minima* populations. Sci Rep. 10(1):8293.

Katsube T, Tsurunaga Y, Sugiyama M, Furuno T, Yamasaki Y. 2009. Effect of air-drying temperature on antioxidant capacity and stability of polyphenolic compounds in mulberry (*Morus alba* L.) leaves. Food Chem. 113(4):964–969.

Magalhães BEA, Santana DA, Silva IMJ, Minho LAC, Gomes MA, Almeida JRGS, dos Santos WNL. 2020. Determination of phenolic composition of oilseed whole flours by HPLC-DAD with evaluation using chemometric analyses. Microchem J. 155: 104683.

Manach C, Mazur A, Scalbert A. 2005. Polyphenols and prevention of cardiovascular diseases. Curr Opin Lipidol. 16(1):77–84.

Marchese JA, Figueira GM. 2005. The use of pre and post-harvest technologies and good agricultural practices in the production of medicinal and aromatic plants. Rev Bras Pl Med. 7(3):86–96.

Moura HFS, Dias FS, Souza e Souza LB, Magalhães BEA, Tannus CA, Carvalho WC, Brandão GC, dos Santos WNL, Korn MGA, Santos DCMB, Lopes MV, Santana DA, Santos Júnior AF. 2021. Evaluation of multielement/proximate composition and bioactive phenolics contents of unconventional edible plants from Brazil using multivariate analysis techniques. Food Chem. 363:129995.

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). 2015. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard—Eighth

Edition. NCCLS document M2-A8. [accessed 2022 Jan 10].
https://clsi.org/media/1631/m02a12_sample.pdf.

Negri M, Salci TP, Shinobu-Mesquita CS, Capoci IRG, Svidzinski TIE, Kioshima ES. 2014. Early state research on antifungal natural products. *Molecules*. 19(3):2925–2956.

Nenadis N, Wang LF, Tsimidou M, Zhang HY. 2004. Estimation of scavenging activity of phenolic compounds using the ABTS(*+) assay. *J Agric Food Chem*. 52(15):4669–4674.

Niki E. Assessment of Antioxidant Capacity in vitro and in vivo. 2010. *Free Radic Biol Med*. 49(4):503–515.

Nybom H, Weising K, Rotter B. 2014. DNA fingerprinting in botany: past, present, future. *Investig Genet*. 5: 1.

Olivo-Vidal Z, Ruiz-Ruiz J, Mayday VS, Irecta-Nájera C, Ochoa DLH, Sánchez-Chino XM. 2020. Pharmacological potential of *Tradescantia zebrina* leaf extracts. *J Biomed Eng Res*. 4(2):31–37.

Paula CS, Canteli VCD, Verdam MCS, Kalegari M, Campos R, Hirota BCK, Miguel OGM, Miguel MD. 2014. Antioxidant activity and preliminary toxicity of the extracts and fractions obtained from the leaves and stem bark of *Dasyphyllum tomentosum* (Spreng.) Cabrera. *Rev Bras Pl Med*. 16(2):189–195.

Sá RR, Matos RA, Silva VC, Caldas JC, Sauthier MCS, dos Santos WNL, Magalhães HIF, Santos Júnior AF. 2017. Determination of bioactive phenolics in herbal medicines containing *Cynara scolymus*, *Maytenus ilicifolia* Mart ex Reiss and *Ptychopetalum uncinatum* by HPLC-DAD. *Microchem J*. 135: 10–15.

Sá RR, Caldas JC, Santana DA, Lopes MV, dos Santos WNL, Korn MGA, Santos Júnior AF. 2019. Multielementar/centesimal composition and determination of

bioactive phenolics in dried fruits and capsules containing Goji berries (*Lycium barbarum* L.). Food Chem. 273:15–23.

Sagdic O, Ozturk I, Ozkan G, Yetim H, Ekici L, Yilmaz MT. 2011. RP-HPLC–DAD analysis of phenolic compounds in pomace extracts from five grape cultivars: Evaluation of their antioxidant, antiradical and antifungal activities in orange and apple juices. Food Chem. 126(4):1749–1758.

Stagos D. 2020. Antioxidant Activity of Polyphenolic Plant Extracts. Antioxidants (Basel). 9(1):19.

Tan JBL, Yap WJ, Tan SW, Lim YY, Lee SM. 2014. Antioxidant content, antioxidant activity, and antibacterial activity of five plants from the commelinaceae family. Antioxidants. 3(4):758–769.

Tapas AR, Sakarkar DM, Kakde RB. 2008. Flavonoids as nutraceuticals: a review. Trop J Pharm Res. 7(3):1089–1099.

To SK. 2020. Stability of plant pigments in *Tradescantia zebrina* and *Ixora coccinea* Linn as potential food colorant with antioxidant activity. [accessed 2022 Jan 10].[https://eprints.tarc.edu.my/14408/#:~:text=For%20Tradescantia%20Zebrina%20showed%20the,0.91%20%25\)%20at%20pH%207.&text=Tradescantia%20Zebrina%20and%20Ixora%20Coccinea%20Linn%20extracts%20have%20lower%20viability,used%20as%20a%20food%20colorant.](https://eprints.tarc.edu.my/14408/#:~:text=For%20Tradescantia%20Zebrina%20showed%20the,0.91%20%25)%20at%20pH%207.&text=Tradescantia%20Zebrina%20and%20Ixora%20Coccinea%20Linn%20extracts%20have%20lower%20viability,used%20as%20a%20food%20colorant.)

Woisky RG, Salatino A. 1998. Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. J Apic Res. 37(2):99–105.

Yun L, Yao S, Chang-Liang Y, De-An G. 2020. Quality assessment of herbal medicines based on chemical fingerprints combined with chemometrics approach: a review. J Pharm Biomed Anal. 185:113215.