



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS E NATURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

MÁRIO LUCIVALDO BARRETO DE JESUS

**OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA RAIZ PULVERIZADA DA ESPÉCIE
ENTADA POLYPHYLLA BENTH VISANDO APLICAÇÃO TECNOLÓGICA EM
PRODUTO SAPÔNICO BIOECOLÓGICO**

**BELÉM-PA
2024**

MÁRIO LUCIVALDO BARRETO DE JESUS

**OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA RAIZ PULVERIZADA DA ESPÉCIE
ENTADA POLYPHYLLA BENTH VISANDO APLICAÇÃO TECNOLÓGICA EM
PRODUTO SAPÔNICO BIOECOLÓGICO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química, do Instituto de Ciências Exatas e Naturais, da Universidade Federal do Pará, como requisito para a obtenção do título de Doutor em Química.

Área de Concentração: Química Orgânica

Orientador: Prof. Dr. Cláudio Nahum Alves

BELÉM-PA
2024

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Pará
Gerada automaticamente pelo módulo Ficat, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)**

L937a Lucivaldo Barreto de Jesus, Mário.

Obtenção e caracterização da raiz pulverizada da espécie
entada polyphylla benth visando aplicação tecnológica em
produto saponico bioecológico / Mário Lucivaldo
Barreto de Jesus, Cláudio Nahum. — 2024.

70 f. : il. color.

Orientador(a): Prof. Dr. Cláudio Nahum Alves

Coorientador(a): Prof. Dr. Davi do Socorro Barros Brasil

Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Pará, Instituto de
Ciências Exatas e Naturais, Programa de Pós-Graduação em Química, Belém, 2024.

1. recursos naturais. 2. sustentabilidade. 3. saponinas. 4. sapão vegetal. 5.
Entada Polyphylla. I. Título.

CDD 540

MÁRIO LUCIVALDO BARRETO DE JESUS

**OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA RAIZ PULVERIZADA DA ESPÉCIE *ENTADA*
POLYPHYLLA BENTH VISANDO APLICAÇÃO TECNOLÓGICA EM
PRODUTO SAPÔNICO BIOECOLÓGICO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química, do Instituto de Ciências Exatas e Naturais, da Universidade Federal do Pará, como requisito para a obtenção do título de Doutor em Química. Área de Concentração: Química Orgânica

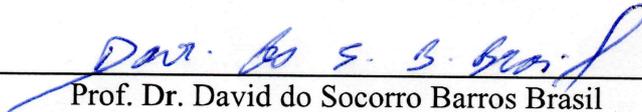
Data de Aprovação: 09 / 12 / 2024

Conceito: Aprovado

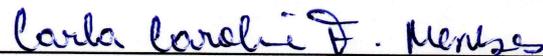
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Cláudio Nahum Neves
Presidente / ICEN / UFPA



Prof. Dr. David do Socorro Barros Brasil
Membro Interno / ITEC - UFPA



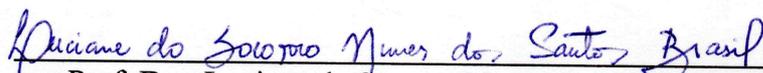
Dra. Carla Carolina Ferreira Meneses
Membro Interno / ICEN - UFPA



Profa. Dra. Shirley Cristina Cabral Nascimento
Membro Interno / ITEC - UFPA



Prof. Dr. Paulo Robson Monteiro de Souza
Membro Interno / ICEN - UFPA



Prof. Dra. Luciane do Socorro Nunes dos Santos Brasil
Membro Externo / DTA - UEPA

Dedico aos meus pais Abdon Barreto de Jesus e Duquecias Corrêa de Brito, minha filha Eleonora Lima Barreto e minha sobrinha Erika Lima Barreto, *in memoriam*. Dedico também aos meus filhos, filhas, netos e a todos os meus ex-colegas garimpeiros de Serra Pelada dos anos de 1980 até 1990, por milhares de nordestinos que perderam a vida por um sonho não alcançado.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, nosso senhor Jesus Cristo Supremo Criador, pelo dom da vida, pelo privilégio de poder concluir este Doutorado em Química, de ter me concedido muitas bênçãos.

Aos meus pais Abdon Barreto de Jesus e Duquecias Corrêa de Brito, minha filha Eleonora Lima Barreto, sobrinha Erika Lima Barreto *in memoriam*.

Aos meus filhos Flávio Henrique Ventura Barreto, Liliam Ventura Barreto, Fabio Ventura Barreto, Darke Camila Ventura Barreto, Wellington da Costa Barreto, Raphael Serrão Barreto, Raphaella Serrão Barreto, Ana Laura Serrão Barreto, Rodolfo Lima Barreto, Arthur Lima Barreto, Mário Winicius Lima Barreto e a todos os meus netos.

Ao meu orientador professor Dr. Claudio Nahum Alves, pela confiança, amizade e pelo ótimo relacionamento profissional, apoio, ajuda e ensinamentos durante a minha vida acadêmica e que servirão para a minha vida profissional.

Ao Professor Dr. Davi do Socorro Barros Brasil pelo apoio dado à pesquisa.

Aos técnicos de Laboratório Rafaela Pinheiro e Samara Menezes, Fabiana Nascimento, Alessandra da Silva Capela, Ana Clara da Silva Portela, Davi Barreto, Mário Carneiro e Elizete Coelho.

A todos os amigos, colegas de trabalho, pela proveitosa convivência, que de alguma maneira contribuíram para que fosse possível a conclusão desta tese.

Ao Instituto de Ciências Exatas e Naturais da Universidade Federal do Pará, que proporcionou mais uma etapa na minha formação profissional, meus sinceros agradecimentos.

RESUMO

O presente trabalho aborda a caracterização físico-química das raízes pulverizadas de *Entada polyphylla* Benth, conhecida popularmente como gipioca, visando sua aplicação no desenvolvimento de um produto saponífero bioecológico, o “sapão vegetal”. A espécie, nativa da Amazônia, apresenta alta concentração de saponinas, compostos com propriedades bioativas, incluindo ações antioxidante, surfactante e emulsificante, além de potencial citotóxico. As amostras foram coletadas em três localidades no município de Acará, Pará, identificadas no herbário da Embrapa (NID 51/2023), e submetidas a análises físico-químicas e biológicas. Os resultados indicaram 75,92% de compostos antioxidantes, 17,26% de saponinas totais, 20,32% de umidade e 12,28% de taninos, evidenciando o potencial da planta como fonte de compostos anfifílicos e bioativos. A extração das saponinas foi realizada por maceração com água, método sustentável que evita o uso de solventes químicos prejudiciais. Testes laboratoriais demonstraram que o material pulverizado, ao entrar em contato com água, gera espuma significativa, confirmando suas propriedades surfactantes e viabilidade para limpeza. O produto desenvolvido foi patenteado (BR 102024016942 5) e apresentado em eventos científicos, como a SBPC, sendo reconhecido por sua inovação e alinhamento aos princípios da economia circular. O estudo também verificou a atividade biológica das saponinas através de ensaios de citotoxicidade em linhagens tumorais (AGP01, A-549, SK-MEL 19) e uma não neoplásica (MRC5). Os resultados mostraram seletividade citotóxica em células tumorais, destacando o potencial terapêutico do extrato. Além de promover soluções tecnológicas sustentáveis, o estudo contribui para a valorização da biodiversidade regional e oferece benefícios socioeconômicos às comunidades ribeirinhas, como geração de emprego e renda por meio do manejo sustentável dos recursos naturais. A pesquisa amplia o conhecimento sobre a química de leguminosas amazônicas, especialmente as propriedades bioativas das saponinas, e reforça seu potencial como substitutas de surfactantes sintéticos em indústrias como a de cosméticos, produtos terapêuticos e de limpeza. Conclui-se que a *Entada polyphylla* é uma fonte promissora de bioativos naturais, com aplicações tecnológicas que integram inovação, desenvolvimento socioeconômico e preservação ambiental.

Palavras-chave: Recursos naturais; sustentabilidade; saponinas; sapão vegetal; *Entada polyphylla*.

ABSTRACT

This study focuses on the physicochemical characterization of the pulverized roots of *Entada polyphylla Benth*, commonly known as gipioca, aiming at its application in the development of a bioecological soap product, the “vegetable soap.” This Amazonian species is rich in saponins, compounds with bioactive properties including antioxidant, surfactant, and emulsifying actions, as well as cytotoxic potential. Samples were collected from three locations in the municipality of Acará, Pará, identified at the Embrapa herbarium (NID 51/2023), and subjected to physicochemical and biological analyses. Results revealed 75.92% antioxidant compounds, 17.26% total saponins, 20.32% moisture, and 12.28% tannins, highlighting the plant's potential as a source of amphiphilic and bioactive compounds. Saponin extraction was performed via sustainable water maceration, avoiding the use of harmful chemical solvents. Laboratory tests demonstrated that the pulverized material generates significant foam upon contact with water, confirming its surfactant properties and suitability for cleaning applications. The developed product was patented (BR 102024016942 5) and presented at scientific events, such as the SBPC, where it was recognized for its innovation and alignment with circular economy principles. The study also assessed the biological activity of saponins through cytotoxicity assays on tumor cell lines (AGP01, A-549, SK-MEL 19) and a non-neoplastic cell line (MRC5). Results indicated selective cytotoxicity against tumor cells, emphasizing the therapeutic potential of the extract. In addition to promoting sustainable technological solutions, the study contributes to the valorization of regional biodiversity and offers socioeconomic benefits to riverside communities, including job creation and income generation through sustainable resource management. This research expands the understanding of Amazonian legumes' chemistry, particularly the bioactive properties of saponins, and underscores their potential as substitutes for synthetic surfactants in industries such as cosmetics, therapeutic products, and cleaning agents. It is concluded that *Entada polyphylla* is a promising source of natural bioactives, with technological applications that integrate innovation, socioeconomic development, and environmental preservation.

Keywords: Natural resources; sustainability; saponins; vegetable soap; *Entada polyphylla*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Espécie <i>Entada polyphylla</i> , conhecida popularmente como gipioca	21
Figura 2 - Classificação das saponinas	23
Figura 3- Estufa usada na análise para determinação de umidade	35
Figura 4 - Equipamento conhecido como digestor de proteína a base de Ác. Sulfúrico	36
Figura 5 - Equipamento usado na análise de lipídios	36
Figura 6 - Equipamento conhecido como Refratômetro	38
Figura 7 - Viabilidade celular em diferentes linhagens neoplásicas: AGP01 (a), A-549 (b), SK-MEL 19 (c) e uma linhagem não neoplásica MRC5 (d), após um tratamento de 72 horas com a saponina	51

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Composição centesimal dos nutrientes contidos em uma amostra de mil gramas de planta	22
Quadro 2 – Análise Físico-química com os teores e valor médio	44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Resultados estatísticos da análise físico-química	42
--	----

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Média e Desvio Padrão para a análise físico-química	45
Gráfico 2 - Análise dos valores das variáveis em correlação com a atividade antioxidante. Umidade vs atividade antioxidante; Cinzas vs atividade antioxidante; Proteínas vs atividade antioxidante; Saponinas vs atividade antioxidante; pH vs atividade antioxidante; Lipídios vs atividades antioxidante	47
Gráfico 3 - Correlação linear entre as variáveis e atividade antioxidante	48

LISTA DE ABREVIATURAS

EMBRAPA	Empresa Brasileira de pesquisa Agropecuária
NID	Número de identificação Botânica
SIGEN	Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado
SBPC	Sociedade Brasileira Para o Progresso da Ciência
SPMAC	Simpósio de Pesquisas em Meio Ambiente e Conservação
INPI	Instituto Nacional da Propriedade Industrial
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
UFPA	Universidade Federal do Pará
ICEN	Instituto de Ciências Exatas e Naturais
PPGQ	Programa de Pós-Graduação Em Química

LISTA DE SÍMBOLOS

N	Nitrogênio
Ca	Cálcio
P	Fósforo
C	Carbono
K	Potássio
H	Hidrogênio
Mg	Magnésio
O	Oxigênio
KOH	Hidróxido de Potássio
NaOH	Hidróxido de Sódio
H ₂ SO ₄	Ácido Sulfúrico

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	17
2. OBJETIVOS	19
2.1 OBJETIVO GERAL	19
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
3. REFERENCIAL TEÓRICO	20
3.1 AS ESPÉCIES LEGUMINOSAS E SUAS CARACTERÍSTICAS	20
3.2 ESPÉCIE <i>ENTADA POLYPHILA BENTH</i>	20
3.3 CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS E FARMACOLÓGICAS	22
3.4 SAPONINAS	23
3.5 SAPONINAS: TRITERPENOS E ESTEROIDES	25
3.6 IDENTIFICAÇÃO DE SAPONINAS, TRITERPENOS E ESTEROIDES	26
3.7 TÉCNICAS DE EXTRAÇÃO DE SAPONINAS	26
3.8 PROPRIEDADES BIOLÓGICAS DAS SAPONINAS	26
3.9 ATIVIDADES FARMACOLÓGICAS DAS SAPONINAS	28
3.10 INTERAÇÃO DAS SAPONINAS COM ESTERÓIS	29
3.11 TIPOS DE SAPONINAS	30
3.11.1 Saponina Protodioscina	30
3.11.2 Saponina Furostanol	31
3.11.3 Saponina Espirostanol	31
3.12 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DAS SAPONINAS	31
3.13 PRODUÇÃO DE SABÃO	32
3.13.1 Produção de Detergentes	32
3.13.2 Classificação dos Surfactantes sintéticos	32
3.13.3 Surfactantes Sintéticos e Surfactantes Naturais	32
4. METODOLOGIA	34
4.1 MATERIAL	34

4.2 MÉTODOS	34
4.2.1 Determinação de Cinzas.....	35
4.2.2 Determinação de Umidade.....	35
4.2.3 Determinação do pH	35
4.2.4 Determinação da Densidade Relativa	36
4.2.5 Determinação de proteínas.....	36
4.2.6 Determinação de lipídios.....	36
4.2.7 Otimização do agente ativo (saponina) em forma de espumante bioecológico, anfifílico, surfactante e emulsificante para limpeza humana e animal	37
4.2.8 Preparação dos extratos.....	38
4.2.9 Determinação de Polifenóis Totais (Fenólicos)	39
4.2.10 Determinação da Atividade Antioxidante Total – Método DPPH.....	39
4.2.11 Determinação de sólidos solúveis totais (Brix).....	39
4.2.12 Determinação gravimétrica de saponinas totais	40
4.2.13 Determinação da Atividade Biológica – Citotoxicidade <i>in vitro</i>	40
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
5.1 AMOSTRA COLETADA.....	42
5.2 ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA	42
5.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA	44
5.4 CONCLUSÃO ESTATÍSTICA DESCRITIVA VS CORRELAÇÃO	49
5.5 ATIVIDADE BIOLÓGICA.....	50
6. CONCLUSÃO	52
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	54

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, a busca por soluções sustentáveis tem se consolidado como um dos principais desafios globais frente à crise ambiental e à necessidade de preservar os recursos naturais. A Amazônia, por sua imensa biodiversidade, emerge como uma fonte inexplorada de composições químicas e aplicações tecnológicas. Entre os recursos desta região, destaca-se a espécie *Entada polyphylla Benth*, popularmente conhecida como gipioca, que possui propriedades que podem ser exploradas em diversas indústrias, como a farmacêutica, alimentícia e de limpeza.

O estudo das propriedades bioativas de plantas tem se mostrado uma área de crescente relevância científica e tecnológica. Espécies como a *Entada polyphylla* possuem saponinas, compostos naturais com alto potencial de aplicação devido às suas propriedades surfactantes, antioxidantes e antibacterianas. Este trabalho é motivado pela necessidade de aproveitar os recursos vegetais regionais, contribuindo para o desenvolvimento econômico sustentável da Amazônia e para a redução do impacto ambiental gerado pelo uso de materiais sintéticos.

Segundo Souza *et al* (2012), esta espécie é nativa da região Amazônica e de fácil cultivo e manejo, pois a mesma possui teores altíssimo de saponina. Nas declarações de Sarkar; Mahato, (1984); Huo *et al.*, (2004); Chen *et al.*, (2015) mais de 50 espécies de vegetais já foram cultivadas para a extração comercial deste isoprenoide saponina. Há uma clara importância comercial neste tipo de substância no mercado mundial (Souza 2012; Cheok; Salmana; Sulaiman, 2014).

A relevância deste estudo está vinculada à urgência de substituir materiais derivados do petróleo por alternativas mais seguras e renováveis. As saponinas, presentes em concentrações significativas nas raízes da *Entada polyphylla*, apresentam propriedades anfifílicas que as tornam ideais para a formulação de produtos de limpeza e cosméticos, alinhando-se aos objetivos da economia verde.

Além da viabilidade tecnológica, há uma motivação social neste estudo, uma vez que o aproveitamento de espécies vegetais locais pode beneficiar comunidades ribeirinhas, promovendo emprego e renda por meio da coleta e processamento sustentável. Esta abordagem também incentiva a conservação ambiental, ao valorizar a biodiversidade e reduzir a exploração predatória de recursos naturais.

Os objetivos gerais deste trabalho são estudar a composição química das raízes da *Entada polyphylla* e avaliar suas propriedades físico-químicas, especialmente o teor de

saponinas. A partir disso, busca-se desenvolver um produto sapônico bioecológico com aplicações terapêuticas e de limpeza.

Entre os objetivos específicos, destacam-se a coleta e identificação botânica da espécie em diferentes regiões do Pará, a caracterização de propriedades antioxidantes e citotóxicas do extrato vegetal e a otimização de métodos sustentáveis para a extração de seus compostos bioativos.

Este estudo também contribui para o avanço do conhecimento científico sobre as potencialidades das leguminosas amazônicas, que, além de sua importância ecológica, possuem um grande potencial de uso tecnológico. Os resultados poderão subsidiar novas pesquisas e abrir caminhos para a utilização comercial desta espécie.

A metodologia empregada baseia-se em técnicas sustentáveis de coleta e processamento, como a maceração com água, garantindo que o processo seja ambientalmente amigável. Além disso, as análises estatísticas asseguram a confiabilidade dos dados obtidos, promovendo rigor científico.

Por fim, este trabalho reforça a importância de integrar a ciência à sustentabilidade, explorando soluções inovadoras para os desafios ambientais contemporâneos. Espera-se que as conclusões possam impactar positivamente não apenas o setor científico, mas também a indústria e as comunidades locais.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Realizar o estudo físico-químico e biológico das raízes da espécie *Entada Polyphylla Benth* visando quantificar principalmente o teor de saponinas totais, visando o desenvolvimento de um produto sapônico bioecológico com ação terapêutica.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar a coleta das raízes da espécie *Entada Polyphylla Benth* no município de Acará/PA em três localidades diferentes
- Realizar a identificação Botânica
- Realizar a caracterização físico-química do pó da raiz desidratada
- Quantificar as saponinas totais
- Avaliar a atividade antioxidante do extrato aquoso do pó da raiz desidratada
- Tratamento dos dados estatísticos das variáveis analisadas
- Avaliar a atividade citotóxica do extrato aquoso do pó da raiz desidratada

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 AS ESPÉCIES LEGUMINOSAS E SUAS CARACTERÍSTICAS

A Amazônia é uma região onde é possível encontrar uma grande diversidade de vegetais, entre eles destacam-se a família das leguminosas, um dos grupos que apresentam amplo destaque na composição da flora da região e está distribuída em todos os ecossistemas amazônicos (Silva, 1989), identificados nos inventários florísticos que têm sido realizados. Sendo as leguminosas classificadas em três subfamílias: *Mimosaceae*, *Caesalpiniaceae* e *Fabaceae*, distribuídas em 670 gêneros e 18.000 espécies.

Tradicionalmente, as leguminosas estão divididas em três subfamílias: *Caesalpinioideae*, *Mimosoideae* e *Papilionoideae*. *Mimosoideae* apresenta 78 gêneros e aproximadamente 3.270 espécies, distribuídos nas regiões tropicais, subtropicais e cálidotemperadas (Barroso *et al.*, 1991; Lewis, 2005).

As leguminosas constituem um grupo de plantas bem caracterizada apresentando uma série de caracteres que as diferenciam de outros grupos de plantas, como o fruto predominantemente do tipo legume, os nódulos das raízes onde vivem simbioticamente as bactérias fixadoras de nitrogênio; ovário sempre súpero e flores pentacíclicas (Barroso *et al.*, 1991).

A recuperação de áreas degradadas pode ser realizada com sucesso a partir da utilização de espécies de leguminosas arbóreas capazes de formar simbiose com bactérias fixadoras de nitrogênio atmosférico e com fungos micorrízicos, e também com leguminosas herbáceas. Esta técnica pode ser considerada de baixo custo e com bons resultados (Nogueira *et al.*; 2012).

3.2 ESPÉCIE *ENTADA POLYPHILA BENTH*

A espécie *Entada Polyphila* trata-se de uma planta trepadeira alta, folhas longo-pecioladas, pecíolos de 16-20cm, bipinadas, terminando com cirro, compostas de pinas com 2-6 jugos e folíolos com 6-8 jugos, oblongos, obtusos ou emarginados, com até 4 cm de comprimento, glabros nas duas páginas; flores brancas ou esverdeadas, monossépalas e polipétalas, pequenas, numerosíssimas, reunidas em espigas curtas, dispostas em racemos afilos, densos e paniculados, de 30-65 cm; fruto, é uma vagem achatada, articulada coriácea (Corrêa, 1952).

Esta planta apresenta distribuição pantropical e compreende 28 espécies, com maior riqueza documentada na África tropical (Luckow, 2005). Na região Neotropical, quatro táxons de *Entada* ocorrem desde o México, América Central e Caribe até a América do Sul tropical (Forero 2009; Romero, 2009).

Barnby (2011) afirma que esta espécie ocorre desde o oeste do México, América Central, Porto Rico e Caribe, até a América do Sul, do norte da Colômbia, Venezuela, Guiana, Suriname, Guiana Francesa ao norte da Bolívia e Brasil (Acre, Amapá, Amazonas, Maranhão, Mato Grosso, Pará, Rondônia, Roraima) ocorrendo principalmente em borda de mata ciliar. *Entada polystachya* ocorre praticamente com *E. simplicata* na região da Cachoeira do Roxinho, no município de Iracema, onde ambas habitam bordas de florestas (Barnby, 2011).

Conforme os estudos de Souza (2012) a morfologia da semente de *Entada polyphylla* e sua significância taxonômica em *E. sect. Entadopsis*. *Entada sect. Entadopsis* abrange três espécies neotropicais, *E. polyphylla*, *E. polystachya* e *E. simplicata*. Esta nota descreve e ilustra a morfologia da semente da planta, averiguando e avaliando sua relevância taxonômica em *E. sect. Entadopsis*. Os resultados mostram que as sementes são variáveis na seção, fornecendo caracteres taxonômicos úteis em nível específico (Souza *et al*, 2012). A Figura 1 mostra uma fotografia da planta no local de coleta.

Figura 1 – Espécie *Entada polyphylla*, conhecida popularmente como gipioca



Fonte: Autor (2024).

Na foto destaca-se a “raiz”, local onde se encontra maior concentração de saponina. A planta quando adulta suas raízes chegam medir mais de dois metros (Souza, 2012).

Segundo Barneby (2011), a gipoóca (*Entada Polyphylla*) é uma planta nativa que cresce em matas secundárias de terras firmes, em várzea e tem adaptação a vários tipos de solos arenosos e úmidos. Seus frutos são dispersos pelos animais e pela água. É um cipó trepador, lenhoso, sem espinhos, mas com gavinhas, de crescimento indeterminado, em altura de 4-6 m.

As pesquisas de Souza *et al.* (2012) destacam a espécie de *Fabaceae* identificadas neste trabalho são de múltiplo uso, entre elas a gipióca (*Entada polyphylla*) que possui como princípio ativo a saponina que é caracterizada por ser bastante espumosa, fazendo com que raízes sejam usadas como espumante, mas que é também uma planta com potencial para recuperação de solos e adubação verde. Outras informações importantes podem ser vistas no Quadro 1, que mostra a identificação dos teores de elementos químicos essenciais para a recuperação de solos degradados, Nitrogênio (N), Potássio (K), Cálcio (Ca), Magnésio (Mg), Fósforo (P), Ferro (Fe), Zinco (Zn) e Manganês (Mn).

Quadro 1 – Composição centesimal dos nutrientes contidos em uma amostra de mil gramas de planta.

Nitrogênio (N)	Potássio (K)	Cálcio (Ca)	Magnésio (Mg)	Fósforo (P)	Ferro (Fe)	Zinco (Zn)	Manganês (Mn)
42,1 g	7,2 g	17,7 g	3,5 g	40 mg	131 mg	52 mg	61 mg

Fonte: Souza (2012)

3.3 CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS E FARMACOLÓGICAS

A grande maioria das moléculas biologicamente ativas provenientes das plantas são metabólitos secundários. Estas substâncias de origem natural exibem considerável diversidade estrutural e tendem a aceitar uma conformação preferida e complexidade estérica necessária para exercer atividades variadas em sistemas biológicos. Quando comparado com compostos orgânicos sintéticos, em geral, as moléculas de produtos naturais têm mais centros quirais, (Francis *et al.*, 2002; Cragg e Newman, 2013).

Neste sentido, algumas atividades biológicas de saponinas têm sido relatadas, entre elas ação hemolítica, moluscida, anti-inflamatória, antifúngica, antibacteriana, antiparasitária, antiviral e antiproliferativa contra diversas linhagens de célula tumorais (Francis *et al.*, 2002; Sparg *et al.*, 2004; Gulu-Ustundag e Mazza, 2007; Bacran *et al.*, 2008).

Segundo as pesquisas realizadas cita os dados oficiais de instituição como: a Organização Mundial da Saúde estima que 80% da população mundial utilizam plantas medicinais como principal recurso no atendimento básico de saúde. O interesse em terapias naturais, em produtos de origem vegetal, tem-se avolumado cada vez mais em países subdesenvolvidos. O crescente comércio internacional de plantas medicinais e o interesse do mundo (Farnsworth *et al.* 1985; Efferth 2010; Cragg e Newman, 2013).

É importante salientar que as propriedades farmacológicas de extratos brutos de plantas podem ser perdidas quando se isolam componentes específicos. Isto indica que parte dessas

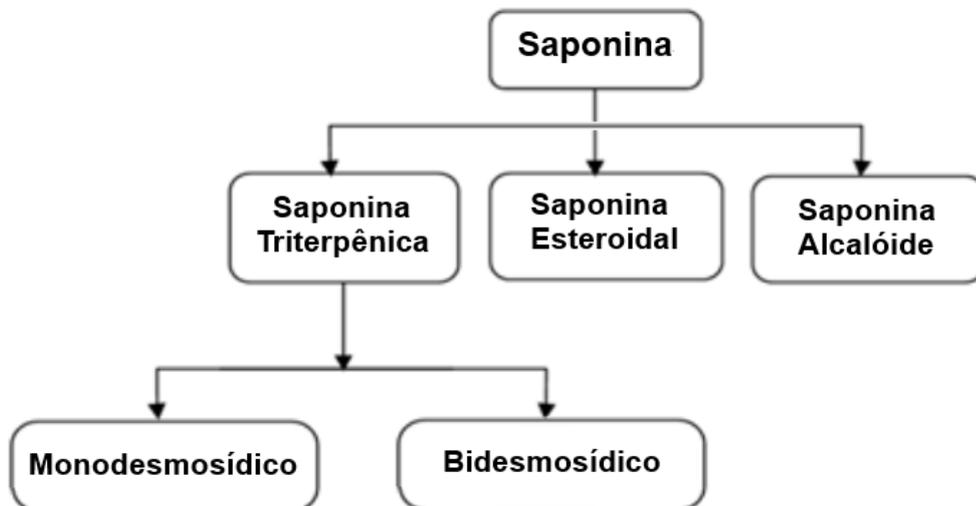
propriedades pode estar relacionada com o efeito sinérgico de diversos compostos. Assim, extratos brutos, como (chás), podem oferecer vantagens a compostos isolados, uma vez que oferecem um menor custo (Calixto, 2005; Butler, 2008; Diamond e Bailey, 2013; Bauer e Bronstrup, 2014).

Estima-se que, aproximadamente 44% dos medicamentos vendidos nas farmácias são fabricados a partir de moléculas extraídas de produtos naturais ou de estruturas químicas derivadas (25% de plantas, 14% de microrganismos e 5% de animais) e mais de 80% das drogas descobertas são de origem natural ou sintetizadas a partir de compostos naturais, (Barreiros e Bolzani, 2009).

3.4 SAPONINAS

As saponinas são glicosídeos que consistem em um ou vários monossacarídeos unidos por uma ligação glicosídica a uma aglicona também denominada sapogenina. A aglicona pode ser de natureza esteroidal ou triterpeno policíclico, conforme mostra a Figura 2. São molécula com grande estrutura molecular e de dupla polaridade, sendo uma extremidade apolar denominada de aglicona (lipofílica) e outra extremidade polar (hidrofílica), que são cadeias de açúcares, ligadas as aglicona por ligações glicosídicas (Schenkel *et al.*, 2001; Peres, 2004).

Figura 2 – Classificação das saponinas



Fonte: Autores (2024)

Segundo Souza (2012) afirma em suas pesquisas, cita que várias espécies de vegetais superiores sintetizam metabolitos secundários como as saponinas, este são exclusivamente para sua defesa, contra ataques de agentes parasitário, não tendo nada relacionado com o crescimento

ou a reprodução deste vegetal, que este metabólico combate fungos e bactérias entre outros parasitas.

A denominação “saponina” está relacionada à capacidade dessas substâncias formarem espumas estáveis em soluções aquosas, por possuir propriedade anfifílica, da mesma forma que as moléculas dos sabões comuns e os detergentes sintéticos que são derivados de bases inorgânicas e gorduras ou derivados de petróleo (Vincken *et al.*, 2007; Wang *et al.*, 2011)

Segundo Vincken *et al.* (2007); Wang *et al.* (2011), essa propriedade é devida ao caráter anfifílico de suas moléculas, que possuem uma parte lipofílica (aglicona) e uma parte hidrofílica (cadeia de açúcares) unidas através de ligações glicosídicas. Tal característica faz com que as saponinas sejam classificadas como surfactantes naturais, pois são sintetizadas pelo próprio vegetal (Vincken *et al.*, 2007; Wang *et al.*, 2011).

Quanto as pesquisas realizadas e divulgadas por Man *et al.*, (2010) a respeito do assunto, diz que saponinas são grupo de glicosídeos presentes em plantas, cuja característica mais citada é a capacidade de formar espuma em soluções aquosas. A presença de saponinas foi comprovada em mais de 100 famílias de plantas, das quais pelo menos 150 tipos de saponinas naturais já são conhecidos, dessas, várias foram analisadas e caracterizadas por possuir significantes propriedades anticâncer, entre outras finalidades biológicas (Man *et al.*, 2010).

No qual diz que o núcleo triterpênico tem a mesma origem que o esqueleto esteroide, porém diverge durante o processo de formação do óxido de esqualeno. Nesse caso, o óxido de esqualeno sofre uma reação enzimática em uma conformação cadeira-cadeira-cadeira-barco, podendo dar origem aos triterpenos tetracíclicos ou aos triterpenos pentacíclicos (Scheken; Gosmann; Athayde, 2010).

Conforme estudos as saponinas esteroidais estão presentes quase exclusivamente nas angiospermas monocotiledôneas, já as saponinas triterpênicas que são mais abundantes, ocorrem principalmente nas famílias das angiospermas dicotiledôneas. (Sparg; Light; Staden, 2004).

Segundo as pesquisas realizadas pelos cientistas Sparg, Light e Staden (2004), dentre as atividades mais citadas para as saponinas encontrada na literatura científica, destacam-se as atividades hemolítica, moluscicida, anti-inflamatória, antifúngica, antilevedura, antibacteriana, antimicrobiana, antiparasítica, citotóxica, antitumoral e por fim, a atividade antiviral (Sparg; Light; Staden, 2004).

Pesquisas desenvolvidas por Man *et al.*, (2010) afirmam que nesse caso, o que separa um composto meramente citotóxico de um antitumoral é a seletividade, ou seja, a propriedade

desse composto de atacar com mais intensidade as células tumorais preservando as células saudáveis, ou causando menos danos possíveis as células saudáveis.

Conforme as informações citadas nas pesquisas científicas de Sparg; Light; Staden, (2004) uma saponina esteroide descoberta recentemente, a furcreastatina, isolada de extrato etanólico de folhas de *Furcraea foetida* (L.) Haw. (Agavaceae), foi testada para citotoxicidade seletiva contra fibroblastos de rato que possuíam expressão do gene mutante p53. Esse composto diminuiu a viabilidade das 13 células com o gene mutante p53 expresso, com uma concentração de ED50 de 4µg/ml (Sparg; Light; Staden, 2004).

Quanto os trabalhos e as pesquisas realizados por Schenkel; Gosmann; Athayde, (2010) em relação ao emprego das saponinas na indústria farmacêutica, destaca-se o uso desses compostos como adjuvantes para aumentar a absorção de outros medicamentos através do aumento da solubilidade e interferência nos mecanismos de absorção pelo organismo, e também o seu emprego como adjuvante para aumentar a resposta biológica destes medicamentos (Schenkel; Gosmann; Athayde, 2010).

Resultados obtidos nos estudos científicos de Adams *et al.*, (2010) pela imensa versatilidade e abundância no reino vegetal, é possível dizer que as moléculas de saponinas é uma das moléculas que constituem uma nova promessa da ciência, tanto para as indústrias farmacêutica na obtenção de novos produtos com atividade antitumoral, provocando assim, o desenvolvimento de terapias inovadoras na árdua luta contra o câncer e outros tipos de doenças gravíssimas. Graças ao comportamento biológico desta molécula. (Adams *et al.*, 2010).

3.5 SAPONINAS: TRITERPENOS E ESTEROIDES

Segundo os trabalhos científicos de Valdés *et al.*, (2015) no qual afirma que na análise química aplicada, foi possível perceber a presença de saponinas triterpênicas e esteróides, o teste foi baseado na mudança de coloração dos extratos em solução anidrido acético e ácido sulfúrico.

As saponinas são substâncias glicosídicas hidrossolúveis, com propriedades surfactantes e hemolíticas, ambas atribuídas às suas características estruturais de natureza anfifílica. Estes metabolitos também podem exercer ampla atividade biológica e farmacológica, (Valdés: *et al.*, 2015).

As saponinas são classificadas de acordo com o tipo de esqueleto da aglicona: esteroidal ou triterpênico. Tanto os triterpenos como os esteroides são isoprenóides, que possuem como precursor o óxido de esqualeno, sendo este, composto de trinta átomos de carbonos que sofre

ciclizações ou reação enzimáticas, na biossíntese que dá origem às agliconas, (Augustin *et al.*, 2011).

Augustin *et al.* (2011) cita em seus estudos que as saponinas esteroidais, a aglicona é formada por um esqueleto de 27 carbonos, enquanto as agliconas triterpênicas mantêm os 30 carbonos do seu precursor. Além disso, falando sobre estrutura da aglicona, as saponinas esteroidais estão organizadas num sistema tetracíclico, onde o anel D é formado por 5 átomos de carbono. Já a estrutura das saponinas triterpênicas estão organizadas num sistema pentacíclico, em que o anel C está formado por 6 átomos de carbono (Augustin *et al.*, 2011).

3.6 IDENTIFICAÇÃO DE SAPONINAS, TRITERPENOS E ESTEROIDES

Teste para determinação de saponina em um extrato vegetal, o teste é feito da seguinte maneira: a presença de saponinas é determinada pela formação de espumas persistente após agitação do extrato aquoso por 2 min, se a espuma formada dura 1 min caracteriza a presença de saponinas. A caracterização de triterpenos e esteroides são baseados na mudança de coloração do extrato após adição de reagentes, a presença de saponina triterpênicas ocorre quando desenvolvem coloração vermelha, rosa púrpura ou violeta estável e no caso das saponinas esteroidais desenvolvem coloração azul ou verde mutável.

3.7 TÉCNICAS DE EXTRAÇÃO DE SAPONINAS

As técnicas de extração empregadas na obtenção de saponinas podem ser classificadas em duas categorias convencionais e tecnologias emergentes. As convencionais mais comumente usadas são maceração com água como solvente, Soxhlet e refluxo e dentre as tecnologias emergentes destacam-se ultrassom, micro-ondas e extrações aceleradas por solvente. A distribuição dos seus usos pode ser observada. Atual distribuição das tecnologias empregadas na extração de saponinas de matéria vegetal (Cheok *et al.*, (2014).

3.8 PROPRIEDADES BIOLÓGICAS DAS SAPONINAS

Conforme as pesquisas e os trabalhos científicos mostram que as moléculas de saponinas são constituídas de açúcares, como glicose, galactose, xilose, metilpentose, ligados a um esqueleto de aglicona por ligação glicosídica. Esta estrutura apresenta caráter anfifílico, parte da molécula com característica lipofílica, apolar (aglicona) e outra parte hidrofílica, polar (açúcares) (Francis *et al.*, 2002; Vincken *et al.*, 2007; Satheeshkumar *et al.*, 2012).

Segundo os trabalhos científicos desenvolvidos por Feng *et al.* (2015) que modificaram saponinas de chá através de esterificação, obtendo saponinas modificadas com maior poder surfactante, neste processo ver-se a mudança no comportamento dessa molécula, no que se refere ao aumento do poder surfactante nas moléculas de saponinas (Liu *et al.* 2013 Feng *et al.* 2015).

Conforme os trabalhos de pesquisas divulgados por Castejon, (2011) que afirma, quando se faz referência em termo de distribuição de origem vegetal, as saponinas esteroidais e triterpênicas, apresentam distribuição diferenciada no reino vegetal. As saponinas esteroidais neutras são encontradas exclusivamente em monocotiledôneas, principalmente nas famílias *Liliaceae*, *Dioscoreácea* e *Agavaceae* e os gêneros *Smilax*, *Dioscorea*, *Agave*, *Yucca*, estas espécies são especialmente ricas dessas saponinas (Castejon, 2011).

Quanto as pesquisas científicas de Elekofehinti, (2015) na qual afirma que saponinas triterpênicas tem sido detectada em muitas leguminosas, como a soja, feijões, ervilhas; e também na acelga, chás, açúcar, alcaçuz, quinoa, girassol e ginseng. Sendo que o grupo de triterpenoides mais estudados é obtido a partir da Quillaja saponaria, uma árvore nativa da região dos Andes, no Chile (Elekofehinti, 2015).

Segundo os estudo científicos desenvolvido e publicados por Augustin *et al.*, (2011) cita que; saponinas é o nome genérico dado a glicosídeos oriundos do metabolismo secundário dos vegetais, que consistem em um esqueleto derivado de isoprenóides (óxido esqualeno), triterpênico ou esteroidal, denominado aglicona ou sapogenina, ligado a cadeias de açúcares através de uma ou mais ligações glicosídicas. (Augustin *et al* 2011)

Wie *et.al* (2007) cita que em seus estudos no qual desenvolveu uma estratégia verde para serem obtidas saponinas modificadas através de reações enzimáticas. Utilizaram β glicosidase e *arhamnosidase* obtidas de *Aspergillus niger* para modificar enzimaticamente saponinas de *Platycodon grandiflorum*, obtendo saponinas com cadeia lateral de açúcares reduzida. (Wie *et al* 2007)

Citado por Wie *et.al* (2007). Enzimas do tipo carboidrolases são biocatalisadores capazes de quebrar as ligações entre duas moléculas de açúcares, produzindo saponinas parcialmente hidrolisadas, o que pode ter algum efeito sobre suas propriedades, como o poder surfactante, a atividade antimicrobiana e demais atividades biológicas (WIE *et al* 2007).

3.9 ATIVIDADES FARMACOLÓGICAS DAS SAPONINAS

As propriedades farmacêuticas das saponinas, especialmente seu caráter anticancerígeno, têm incentivado a busca por novos métodos de extração visando o máximo rendimento para suprir a crescente demanda desta molécula no mercado mundial. A literatura demonstra claramente que pesquisadores estão mais inclinados às técnicas de extração convencionais destas moléculas (Cheok *et al* 2014)

Conforme Sulaiman (2014), a seleção do método está geralmente relacionada ao foco do estudo conduzido. Enquanto para o isolamento de novas saponinas e estudos farmacológicos, técnicas convencionais são mais empregadas. As saponinas e os polifenóis são considerados por alguns autores como os responsáveis pela maioria dos efeitos biológicos positivo observados na medicina tradicional chinesa, que a séculos vem sendo utilizada. (Cheok; Salman; Sulaiman, 2014).

Nas pesquisas científicas e laboratoriais, os resultados afirmam que muitas dessas moléculas têm propriedades farmacológicas, sendo usadas como medicamentos, algumas atividades biológicas de saponinas têm sido estudadas como as presentes na lista: antiparasitária, antiviral e antiproliferativa contra diversas linhagens de célula tumorais. Relatadas, entre elas ação hemolítica, moluscida, anti-inflamatória, antifúngica, antibacteriana (Francis *et al.*, 2002; Sparg *et al.*, 2004; Guclu-Ustundag e Mazza, 2007; BachranA *et al.*, 2008).

Conforme os resultados das Pesquisas realizadas por Sarkar; Mahato., (1984); Hou et al.,(2004); Chen *et al.*, (2015) afirmam que a diogenina está entre as dez fontes mais importantes de esteroides e é também o medicamento de origem vegetal mais frequentemente prescrito para tratamento de doenças. Outra ação deste composto é a indução de apoptose em células cancerígenas, por regulação positiva da cicloxigenase. (Sarkar; Mahato, 1984; Huo *et al.*, 2004; Chen *et al.*, 2015).

Esse tipo de saponina (diogenina) pode ser obtido inteiramente de fontes naturais (inhame, vegetal nativo do Brasil), embora a síntese total de alguns fármacos esteroides tenham sido alcançada, até recentemente nenhum deles poderia competir com o método economicamente viável de isolamento da diogenina a partir de compostos naturais (Rebello, 2011).

As pesquisas realizadas por Shanmugam *et al* (2017) cita que alguns tipos de saponinas possuem propriedades antioxidantes e atividade anticolesterolêmica, além de estar envolvida na produção da Desidroepiandrosterona (DHEA), que é responsável pela formação de 50

hormônios no organismo, ajudando, assim, a prevenir o envelhecimento precoce das células e aumentar o nível do colesterol HDL do sangue (Shanmugam *et al.*, 2017).

Nos trabalhos científicos de Sarkar ; Mahato; (1984);Huo *et al* (2004); Chen *et al* (2015) conclui que mais de 50 espécies de vegetais já foram cultivadas até agora, para a extração e produção comercial do composto denominado saponina, há um grande interesse das indústrias, no que se diz respeito à produção de saponina (Sarkar; Mahato, 1984; Huo *et al.*, 2004; Chen *et al.*, 2015).

3.10 INTERAÇÃO DAS SAPONINAS COM ESTERÓIS

As saponinas são substâncias derivadas do metabolismo secundário das plantas, relacionados principalmente, com o sistema de defesa. São encontradas nos tecidos que são mais vulneráveis ao ataque fúngico, bacteriano ou predatório dos insetos, considerando-se parte do sistema da defesa das plantas e indicadas como fitoprotetora (Wina *et al* 2005).

Essa atividade seria devido a interação com os esteróis da membrana. O comportamento anfifílico das saponinas e a capacidade de formar complexos com esteróides, proteínas e fosfolipídios de membranas possibilitam ações biológicas variadas destas saponinas (Pizarro, 1999; Francis *et al.*, 2002).

Nos trabalhos e as pesquisas realizadas por Akiyama *et al.*, (1980) nos quais afirma que a capacidade de interação das saponinas com esteróis é uma característica devidamente estudada dessa classe de compostos químico sintetizados pelos vegetais. A digitonina, por exemplo, é um tipo de saponina esteroideal, que foi estudada e pesquisada neste sentido para discussão e obtenção destes resultados. Segundo este, pode-se afirmar que as saponinas, formam complexos com o colesterol em solução aquosa, isto é, na presença de água (Akiyama *et al.*, 1980).

A interação com esteróis foi uma característica elucidada a partir de estudos que indicaram que saponinas seriam responsáveis pela formação de poros em membranas de células virais, o que, por sua vez, estaria diretamente relacionado com os esteróis presentes na membrana celular, do referente elemento cujo esteja interagindo (BANGHAM & HOME, 1962; GLAUERTI *et al.*, 1962).

A capacidade de ligação das saponinas com esteróis (colesterol como principal objeto dos estudos) têm sido investigados principalmente na medicina humana, atividade hipocolesterolêmica são relatadas. O mecanismo da ação poderia ser explicado pelo aumento da excreção do colesterol por formação de complexo com as saponinas administradas por via

oral, ou pelo aumento da eliminação fecal de ácidos biliares com maior utilização do colesterol para síntese dessas substâncias (ZHANG *et al.*, 2008).

Afirma Zhang *et al* (2008) que o processo de interação das saponinas, ou seja, a capacidade de interagir com os esteróis das membranas celulares, geram certo tipo de atividades biológica, como: hemolítica, antifúngica, antiprotozoário, hipocolesterolêmica e outras possíveis funções farmacológicas a ser pesquisadas (Giner *et al.*, 2000; Zhang *et al.*, 2008).

3.10.1 A utilização comercial das Saponinas

Na área comercial a grande importância das saponinas, entre vários fatores, dentre os quais; estão as suas propriedades surfactantes, que são usadas na indústria na preparação de emulsões para filmes fotográficos e na indústria de cosméticos em batons e xampus e a indústria farmacêutica (Johnson *et al* 1986).

Conforme os estudos de Johnson *et al*, (1986) e Cheeke (1999) as saponinas, em sua maioria usadas na indústria alimentícia, os extratos vegetais mais utilizados comercialmente são extraídos da *Yucca schidigera* ou da *Quillaja saponaria*. As saponinas da *Quillaja saponaria* são amplamente utilizadas como adjuvantes em vacinas orais e injetáveis e melhoram a eficácia de vacinas orais facilitando a absorção intestinal de grandes moléculas. Provavelmente, pela interação com o colesterol das membranas (JOHNSON *et al.*, 1986 CHEEKE, 1999).

3.11 TIPOS DE SAPONINAS

3.11.1 Saponina Protodioscina

Nos trabalhos científicos desenvolvidos por Salgado *et al.*, (2016) esta atividade também pode estar associada à capacidade desta saponina em causar um aumento na imunorreatividade do receptor de androgênio, o que significa que aumenta a concentração de receptores androgênicos nas células, tornando o organismo mais sensível a andrógenos como a testosterona e a DHT (Salgado *et al.*, 2016).

Quanto as pesquisas científicas elaboradas por Wang *et al.*, (2010); Zhang *et al.*, (2016). Diz que a protodioscina foi sintetizada pela primeira vez a partir de diosgenina, o que garantiu o material para futuras pesquisas e aplicações em medicina, principalmente devido à eficácia deste composto na manutenção da pressão sanguínea melhorando, assim, o fluxo de sangue oxigenado aos órgãos sexuais, demonstrar também atividade antihiperlipidêmica, anticâncer e ação reparadora e protetora sobre lesão renal (Wang *et al.*, 2010; Zhang *et al.*, 2016).

3.11.2 Saponina Furostanol

Segundo os estudos e pesquisas realizados por esta equipe de cientista Sauvaire *et al.*, (1991), Hashim *et al.*, (2014); Motaal *et al.*, (2015) com este tipo de saponina (furostanol) demonstraram efeitos anabólicos combinados com o controle dos níveis de colesterol por reduzir a concentração de colesterol plasmático, particularmente útil para atletas e pessoas submetidas a treinamento de força (SAUVAIRE *et al* 1991; HASHIM *et al* 2014; MOTAAL *et al* 2015).

O furostanol, que um tipo de saponina que possui propriedades imunoestimulante, luteinizante e é capaz de aumentar os níveis de testosterona e espermatogênese, sem apresentar toxicidade hepática, renal e hematológica (MAJEED; PRAKASH, 2007; ZHOU *et al.*, 2017).

3.11.3 Saponina Espirostanol

Segundo as pesquisas desenvolvidas e publicadas por Schenkel *et al.*, (2007); Zhu *et al.*, (2015) os tipos de saponina “espirostanos”, devido a sua capacidade de complexação com esteroides, proteínas e fosfolipídios e possivelmente com outros componentes químicos. Dentre as atividades biológicas apresentadas por estes metabólitos secundários destacam-se as atividades hemolítica, molusquicida, anti-helmíntica, espermicida, hipocolesterolemiantes e anti-inflamatória. (SCHENKEL *et al.*, 2007; ZHU *et al.*, 2015).

A riqueza presente nas saponinas esteroidais espirostanóides têm demonstrado que a saponina espirostanol contém associação com análogos da vitamina D e que também apresenta efeito citotóxico sobre culturas de células cancerígenas, principalmente devido à sinalização no processo de apoptose (QUAN *et al.*, 2005; NETO *et al* 2006; WANG *et al.*, 2013; HASHIM *et al.*, 2014).

3.12 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DAS SAPONINAS

Segundo os estudos científicos realizados por Dong *et al.*, (2012) diz que, tanto em contraste ao seu efeito citotóxico, o extrato etanólico do caule de *E. phaseoloides* e a fração de acetato de etila do caule de *E. phaseoloides* apresentaram acentuado efeito antioxidante quando avaliado pelo ensaio com 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH). Em contraste, as frações butanólica e aquosa apresentaram fraca atividade antioxidante. Esse efeito foi atribuído aos compostos fenólicos e saponinas (NZOWA *et al.*, 2010, DONG *et al.*, 2012).

3.13 PRODUÇÃO DE SABÃO

Sabões são sais de ácidos carboxílicos que possuem cadeia longa, com extremidade polar e apolar. Essa característica possibilita a interação do sabão com meio polares e apolares, agindo por meio de micelas que possibilitam a limpeza. Os sabões são capazes de diminuir a tensão superficial dos líquidos que entram em contato, diminuindo, dessa maneira, a quantidade de interações entre as moléculas que o constituem e aumentando o contato entre a superfície do líquido e os agentes de limpeza (Fernandes, 2009).

Nos estudos de Barata (2003), este autor cita que a glicerina pode ser removida ou mantida na composição final, podendo agir como umectante, absorvendo umidade do ar e, como emoliente, tornando a pele mais macia. As bases usadas determinam a consistência do sabão obtido; o KOH e NaOH possibilitam a fabricação de um sabão mole e de um sabão duro, respectivamente. Os radicais R representam cadeias carboxílicas longas (Barata, 2003).

3.13.1 Produção de Detergentes

Conforme as pesquisas científicas de Prantes (2006) e Borsato; Moreira; Galão, (2004), os mais comuns são sais de sódio de sulfatos de alquilas, de cadeias longas, ou de ácidos sulfônicos, também de cadeias longas. Esses tipos de detergentes iônicos devido à carga negativa associada à parte orgânica do composto. Quando a carga da parte orgânica da molécula é positiva o detergente é denominado catiônico. A tecnologia de formulação mais empregada, atualmente, combina tensoativo aniônicos agindo como detergentes (PRATES, 2006).

3.13.2 Classificação dos Surfactantes sintéticos

As características ou propriedade dos surfactantes sintéticos são resultantes das moléculas que apresentam, em sua estrutura, uma parte apolar (hidrofóbica) e uma parte polar (hidrofílica). Essa característica anfifílica confere a estas moléculas algumas propriedades: tais como detergência, poder emulsificante e formação de espuma. De uma forma geral, os surfactantes atuam reduzindo a tensão interfacial entre duas fases imiscíveis (TARDROS *et al.*, 2005).

3.13.3 Surfactantes Sintéticos e Surfactantes Naturais

O desenvolvimento de estudos científicos de Nitschke e Pastore (2002) em termos sustentáveis, os surfactantes naturais trazem inúmeras vantagens diante dos surfactantes

sintéticos, são elaborados de forma natural por plantas. Enquanto os surfactantes sintéticos são derivados de fontes de petróleo. Já os surfactantes naturais são extraídos de fontes renováveis, como os vegetais ou produzidos por micro-organismos, sendo muito menos agressivos (NITSCHKE & PASTORE, 2002).

Segundo os trabalhos de pesquisas desenvolvidos por Nitschke e Pastore (2002), com o avanço dos trabalhos dessas pesquisas, a busca por produtos naturais é eminente, podemos citar uma lista de bio-surfactantes incluindo glicolipídeos, lipopeptídeos, lipoproteínas fosfolipídios e ácidos graxos, surfactantes poliméricos e surfactantes particulados produzidos por micro-organismos e são classificados de acordo com sua composição química ou origem microbiana.

Apesar de todo esse avanço os surfactantes naturais, ainda possuem um mercado muito insignificante em relação aos surfactantes sintéticos: Surfactantes extraídos de fontes vegetais, como é o caso das saponinas, além de fosfolipídios. Um exemplo bem conhecido de surfactante natural, que por sinal já estar em uso há algum tempo é a lecitina de soja, mistura de fosfolipídios amplamente utilizados na indústria alimentícia, cosméticos e outros seguimentos (GRAND VIEW RESERARCH, INC, 2016).

4. METODOLOGIA

4.1 MATERIAL

O material botânico utilizado neste trabalho foram as raízes sadias e maduras de uma planta regional nativa da região amazônica, conhecida popularmente como gipióca ou gipoóca.

O local de coleta localiza-se a uma distância de aproximadamente 25 km da cidade de Belém-PA, rodovia da alça-viária km 25, ramal Baltazar, sitio de dona Jacira, a 6 km da estrada principal, cuja coordenada geográficas, confere S 01 33' 26,9" W 048 20' 59,7" Município de Acará – PA, onde existem alguns locais de mata nativa preservadas, de solo arenoso (terra preta), local em que a espécie escolhida, adapta-se melhor, embora esteja a disputar espaço entre as demais plantas.

A coleta ocorreu em um único dia, em clima ensolarado, com auxílio de enxada e facão. Inicialmente removeu-se a terra, expondo a raiz da gipioca, cortou-se os emaranhados de outras raízes diferentes, para livrar a raiz da referida espécie. O armazenamento foi realizado em sacos plásticos ventilados em temperatura ambiente e imediatamente conduzido ao laboratório para pesagem e medição das dimensões, no qual permaneceu em temperatura ambiente.

Ainda no momento da coleta, foi realizada uma exsicata para fins de estudos botânicos, de acordo com Walter (1993).

Para o ensaio citotóxico, o cultivo celular incluiu as seguintes linhagens celulares tumorais: AGP01 (Ascite gástrica metastática) A-549 (carcinoma pulmonar) SK-MEL 19 (Melanoma metastático) e a linhagem não neoplásica, MRC5 (fibroblasto pulmonar humano). Estas foram cultivadas em meio DMEM, suplementados com 10% de soro fetal bovino e 1% de antibióticos (penicilina/estreptomicina), mantidas em estufa a 37°C e atmosfera contendo 5% de CO₂.

4.2 MÉTODOS

Para as análises comparativas foram feitas coletas em três lugares diferentes. Coletou-se no sítio da Senhora Jacira, denominado sítio Baltazar 6 km da via alça viária, município do Acará, denominado (P1), no sitio do senhor conhecido por “Banana” a 8 km da primeira coleta denominado de (P2) e também no sitio do senhor Joca a 2 km do segundo ponto de coleta denominado de (P3), todos no município do Acará.

A raiz foi lavada com água corrente para a retirada de sedimentos presente nas amostras, depois seca a temperatura ambiente e triturada em moinho de faca, deixando em menor

granulometria, para facilitar a extração dos seus componentes químicos. Sendo assim, tomou-se os procedimentos para iniciar as análises físico-químicas a seguir.

4.2.1 Determinação de Cinzas

A presente metodologia é baseada no livro de métodos físico-químicos para análise de alimentos do Instituto Adolfo Lutz (INSTITUTO ADOLFO LUTZ; 2008). Em balança analítica, pesou-se separadamente 3 g das amostras em cápsula de porcelana previamente tarada. Submeteu-se as amostras em forno mufla a 550 °C por 4 horas; na sequência, foram resfriadas em dessecador até temperatura ambiente e repesadas.

4.2.2 Determinação de Umidade

A obtenção do resíduo seco dos extratos e da solução oral foi determinada pelo método de dessecação em estufa (LUCADEMA, modelo 80/150) a temperatura de 105°C, segundo metodologia descrita pelas Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008). O equipamento utilizado está descrito na Figura 3.

Figura 3 - Estufa usada na análise para determinação de umidade.



Fonte: Autor (2024)

4.2.3 Determinação do pH

Foi realizada conforme metodologia descrita no Manual de Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008), que prevê a aferição do aparelho com as leituras de soluções tampão (pH = 4,0 e pH = 7,0). A determinação do pH foi realizada empregando aparelho de marca LUCADEMA (modelo LUCA - 210), com amostras de 10 mL.

4.2.4 Determinação da Densidade Relativa

Determinação da densidade relativa foi realizada conforme descrito Manual de Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008), obteve-se o valor da densidade relativa pesando-se o picnômetro de 10 ml de volume, previamente calibrado, com água destilada e posteriormente com o extrato / solução oral a ser testado, a 20 °C. O valor da densidade relativa foi calculado pelo quociente entre a massa do extrato e a massa de água contida no picnômetro.

4.2.5 Determinação de proteínas

Estas análises foram realizadas conforme descrito Manual de Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008), por ser prático, confiável e pelo uso dos solventes que estão sob controle. A Figura 4 mostra o equipamento utilizado na determinação de proteínas.

Figura 4 - Equipamento conhecido como digestor de proteína a base de Ác. Sulfúrico



Fonte: autor (2024)

4.2.6 Determinação de lipídios

A determinação de lipídios foi realizada conforme descrito Manual de Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008), por ser prático e confiável. A Figura 5 mostra o equipamento utilizado.

Figura 5 - Equipamento usado na análise de lipídios



Fonte: autor (2024)

4.2.7 Otimização do agente ativo (saponina) em forma de espumante bioecológico, anfílico, surfactante e emulsificante para limpeza humana e animal

Para a realizar esta tarefa, inicia-se com as “raízes” da espécie, que foram coletadas de acordo com Souza *et al* (2012) com adaptações, pois segundo este pesquisador afirma que é nas raízes onde estão concentradas a maior porção de saponina. Desta maneira, seguimos o procedimento conforme o depósito de pedido de patente de número BR102024 016942-5. As raízes foram lavadas em água corrente, logo após foram secas ao ar livre em temperatura ambiente, operação contínua, trituradas em moinho de faca, para menor dimensão, obtendo-se uma redução de tamanho desta (raiz), para logo ser submetida ao processo moagem em um liquidificador industrial de lâminas específicas, trazendo para a diminuta granulometria. Seguindo o processo de redução, o material triturado e peneirado, separando-se as partes fibrosa da parte não fibrosa, que se encontrava em menor granulometria em forma de pó (pulverizado). A parte fibrosa foi reprocessada e juntou-se a porção pulverizada, restando do material bruto apenas uma pequena parte da matéria fibrosa, possivelmente celulose amadeirada.

Observa-se que na parte pulverizada estaria a maior concentração de saponina. Teste de maceração foram realizados com as duas partes, tanto com a fibrosa quanto com a parte pulverizada, as duas nas mesmas proporções e condições com água e agitada em tempos iguais. Finalmente chega-se ao resultado, que na parte pulverizada a quantidade de espuma é bem maior que na parte fibrosa, indicando maior concentração de saponina. Confirmando que a raiz desta espécie, pode ser utilizada como um tipo de “Produto espumante vegetal”, já que seu componente principal a saponina, presente neste, apresenta teor suficientemente elevado, de acordo com testes preliminares.

O material pulverizado a 65mesh foi obtido por método de extração sustentável, sem o uso de quaisquer compostos químicos ou de aditivo sintético que possa poluir o meio ambiente. Desta forma o produto pode ser usado de forma direta macerado com água ou embalado em tecido vegetal em formato de “invólucro” para ser utilizado como material de limpeza, com propriedade anfifílica, espumante, surfactante emulsificante, “intitulado por (sapão vegetal)” por ser absolutamente composto por saponina. O mesmo foi apresentado no evento do SBPC 2024 ocorrido no campus universitário da UFPA em julho deste ano, sendo uma das novidades do evento, e também apresentado no evento IV SPMAC 25 UFPA, premiado entre os 10 melhores trabalhos. O produto apresenta ser um ótimo aliado para a preservação e controle ambiental, sendo produzido de forma sustentável, desde seu cultivo até seu beneficiamento, com geração de emprego e renda a diversas comunidades ribeirinha, com melhorias de vida.

4.2.8 Preparação dos extratos

O material botânico coletado fora previamente limpo e seco à sombra e em temperatura ambiente. Em seguida as raízes foram limpas, cortadas em pedaços menores, trituradas em moinho de facas e submetidas à extração. A extração dos componentes foi baseada no processo de maceração assistida por ultrassom e realizada da seguinte maneira: aproximadamente 10,000 mg de amostras (raízes trituradas) foram colocadas em um erlenmeyer contendo 100,00 ml de solvente. A seguir, as amostras foram submetidas às ondas ultrassônicas, sendo utilizada uma frequência de ultrassom de 40 khz. Depois de finalizado o processo de extração, os extratos foram filtrados, concentrados em um evaporador rotativo e liofilizados. Determinou-se a quantidade de substâncias extraíveis (extrato seco). As amostras foram, então, submetidas às análises para a determinação de saponinas totais usando método gravimétrico. Em todos os experimentos usou-se solvente de grau analítico (Tedia Brazil) e água deionizada (Milli-Q sistema Millipore).

4.2.8.1 Teste preliminar de indicação da presença de saponina

Para o teste foi preparado uma solução a 5% em clorofórmio, com o material vegetal (5g do material/100ml de clorofórmio) e transferida uma alíquota de 2,0 ml para um tubo de ensaio e a essa solução foi adicionado 1,5 ml de anidrido acético e 0,5ml de ácido sulfúrico.

4.2.9 Determinação de Polifenóis Totais (Fenólicos)

A determinação da concentração de polifenóis totais em cada extrato e na solução oral foi realizada por meio da reação de oxirredução com reagente de Folin Ciocalteu o qual reage com as hidroxilas presentes nos polifenóis. As leituras em triplicata da absorbância foram realizadas em espectrofotômetro (UV-VISIVEL, marca SHIMADZU, modelo UV-1800) em comprimento de onda de 760 nm, conforme o método de SINGLETON; Rossi, (1965). Utilizou-se como padrão o ácido gálico, nas concentrações de 0; 10; 20; 30; 40 e 50 mg.L⁻¹ para construir a curva de calibração e os resultados obtidos foram expressos em equivalentes de ácido gálico (mg.L⁻¹ EAG). Para a determinação do teor de fenóis totais nos extratos e na solução oral obtida, foi feita uma diluição com água destilada na proporção de 1:10 (Rossi, 1965).

4.2.10 Determinação da Atividade Antioxidante Total – Método DPPH

Para avaliar o potencial antioxidante em cada extrato e na solução oral foi utilizado o método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila), segundo Brand-Williams *et al* (1995).

O método DPPH baseia-se na desativação do radical DPPH (2,2-difenil- picrilhidrazil) por antioxidantes, produzindo um decréscimo da absorbância a 517 nm que pode ser detectado por espectrofotometria (BRAND-WILLIAMS *et al.*, 1995).

A atividade antioxidante foi determinada em termos de porcentagem de reação segundo a Equação 1.

$$\% \text{ DPPH sequestrado} = A_{\text{branco}} - A_{\text{amostra}} / A_{\text{branco}} \times 100 \quad (1)$$

A_{branco} = Absorvidade do controle

A_{amostra} = Absorbância da amostra.

4.2.11 Determinação de sólidos solúveis totais (Brix)

Cavalcante et al. (2006) cita que realizada análise com extrato aquoso da planta vegetal entada polyphylla de concentração conhecida em um aparelho para a determinação dos sólidos solúveis na amostra. A refratometria em escala Brix é um método físico para medir a quantidade de sólidos solúveis presentes na amostra analisada. Indicam em porcentagem de Brix, as concentrações percentuais de todos os sólidos dissolvidos na solução, sendo eles, açúcares, sais,

proteínas e ácidos. A leitura do valor é a soma desses elementos (Cavalcante *et al.*, 2006). O equipamento utilizado é mostrado na Figura 6.

Figura 6 - Equipamento conhecido como Refratômetro.



Fonte: autor (2024)

4.2.12 Determinação gravimétrica de saponinas totais

A determinação de saponinas totais foi realizada usando o método gravimétrico. As amostras provenientes dos extratos etanólicos foram pesadas (aproximadamente 0,2000 g) e em seguida, realizou-se a extração usando uma solução de butanol saturado com água. Recolheu-se a fração butanólica e o solvente foi evaporado. O extrato resultante foi pesado, obtendo-se assim o teor de saponinas total.

4.2.13 Determinação da Atividade Biológica – Citotoxicidade *in vitro*

A utilização do ensaio do MTT para avaliação da viabilidade celular, bem como da citotoxicidade de novas moléculas bioativas já vem sendo uma constante em programas de triagem de moléculas ao redor do mundo (Iqbal e Keshavarz, 2017). Isso se deve principalmente à facilidade e rapidez de execução do ensaio, bem como à reprodutibilidade dos resultados e correlação clínica observada entre testes *in vitro* e *in vivo* (Gutiérrez et al, 2017). O fundamento do teste baseia-se em na redução do sal 3-(4,5-dimetil-2-tiazol)-2,5-difenil-2-H-brometo de tetrazólio (MTT), um corante tetrazólio de cor amarela, em cristais de formazan de cor púrpura, a partir de substratos de enzimas desidrogenases mitocondriais, presentes somente nas células metabolicamente ativas. Então o produto formazan gerado é analisado por espectrofotometria e os espectros de células tratadas e não tratadas com os compostos em teste dão uma estimativa da extensão da citotoxicidade (Mirzayans et al., 2018).

Para tanto, as células foram semeadas em placas de 96 cavidades na concentração de 3×10^3 células/poço. A saponina foi dissolvida em dimetilsulfóxido (DMSO) para obtenção de concentrações iniciais na faixa de 10 a 20 mg/mL e então adicionados à placa. Foi realizado um ensaio de dose-resposta com uma curva de concentrações variando de 500 – 7,81 $\mu\text{g/mL}$. Após o período de tratamento de 72 horas em estufa a 5% de CO_2 , as placas foram retiradas e o sobrenadante foi aspirado, seguido da adição de 100 μL de solução de MTT à 0,5 mg/mL diluída

em meio DMEM. Posteriormente as placas passaram por incubação em estufa a 5% de CO₂ por 3 horas. Em seguida, o sobrenadante foi aspirado e o precipitado foi ressuscitado em 100 µL de DMSO e agitado por 10 minutos, até completa dissolução dos cristais de formazan. As placas foram analisadas em espectrofotômetro de placa a um comprimento de onda de 570 nm.

A concentração média da saponina, capaz de provocar 50% do efeito máximo (CI50) e seu respectivo intervalo de confiança (CI95%) para cada linhagem foi obtida a partir de regressão não linear no programa GraphPad Prism versão 8.0. A atividade da saponina sobre a viabilidade celular foi obtida a partir das porcentagens relativas ao controle negativo, utilizando a Equação (2), onde *Absexp* e *Absctr* contabilizam a absorbância em 570 nm para as amostras experimentais e controle, respectivamente. Para verificar diferenças entre os grupos experimentais foi realizado o teste ANOVA (two way), seguido do pós-teste de Bonferroni, com níveis de significância $p > 0,005$ (**) e $p > 0,0001$ (***) .

$$Viabilidade\ Celular\ (\%) = \left(\frac{Abs_{exp}}{Abs_{ctr}} \right) * 100 \quad (2)$$

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 AMOSTRA COLETADA

Foi coletada e medida uma única raiz, o tamanho foi de aproximadamente 2,82m de comprimento, o diâmetro de aproximadamente 10cm e peso de 8kg. A raiz apresentou textura consistente, casca com espessura fina marrom escura e levemente rugosa; provavelmente essa casca funciona como isolante hídrico, mantendo todo conteúdo dos agentes sintetizados pelo vegetal no seu interior.

A parte interna da raiz (sem casca) lembra levemente a “mandioca descascada” de cor “branca- amarronzada”, com possível presença de amido e bastante úmida. Sua parte aérea apresenta-se com aspecto arbustivo, entorno de 3,0 a 5,0 metros de altura, lembrando um pouco a forma de cipó, bastante ramificado e frondosa, apresentando um notado volume de folhas, que facilitou sua localização e a execução da coleta.

A mesma foi cadastrada no SIGEN sob o número AF7AF45 com os seguintes dados: espécie da Família *leguminosae Caesalpinioideae*, nome Científico *Entada Polystachya (L) DC. Variedade polyphylla* conhecida popularmente como Gipoóca ou Gipióca, nativa da região Amazônica, ocorrendo com grande frequência nas margens de rios, igarapés, áreas de várzeas, em alguns casos até em terra firme. Os dados encontram-se no herbário da Embrapa-PA sob o número do NID 51/2023, para consulta.

5.2 ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA

O Quadro 2 mostra a análise físico-química e os valores da média das variáveis das amostras de *Entada Polyphylla benth* e fornecem informações importantes para a comparação entre os três locais de coleta: Sítio Baltazar (P1), Sítio "Banana" (P2) e Sítio do senhor Joca (P3).

Quadro 2 – Análise Físico-química com os teores e valor médio

Determinação de cinzas		
Teor% P1	Teor% P2	Teor% P3
1,82 %	0,5166%	0,8067%
1,98%	0,5862%	0,6322%
1,92%	0,8412%	0,4823%
M= 1,91%	M= 0,648%	M= 0,6404%
Determinação de umidade		
Teor% P1	Teor% P2	Teor% P3

18,05%	34,6742%	10,99%
18,17%	29,2239%	11,06%
18,10%	31,3187%	11,28%
M= 18,11%	M= 31,74%	M= 11,11%
Determinação de Proteínas		
Teor% P1	Teor% P2	Teor% P3
3,98 %	3,98 %	3,40 %
4,33%	4,33 %	3,30 %
4,15%	4,15 %	3,22 %
M=4,15%	M= 4,15	M= 3,31
Determinação de Lipídios		
Teor % P1	Teor% P2	Teor% P3
0,0575	0,1408	0,7316
0,0997	0,1137	0,8160
0,1974	0,1231	0,6902
M= 0,1182%	M= 0,1259 %	M= 0,7459 %
Determinação do pH		
Teor % P1	Teor% P2	Teor% P 3
5,89 %	5,08 %	5,42%
5,99 %	5,02 %	5,16 %
5,92 %	4,79 %	5,28%
M=5,92%	M= 4,96%	M= 5,28%
Determinação de densidade relativa		
Teor % P1	Teor % P2	Teor % P3
9,88%	9,93%	9,84%
9,92 %	10,0%	9,81%
9,90 %	9,98%	9,80%
M=9,90%	M= 9,97%	M=9,81%
Polifenóis totais		
Teor% P1	Teor% P2	Teor% P3
1,39 %	1,32%	3,06%
1,56 %	1,12 %	2,87 %
1,40 %	1,50 %	3,20%
M=1,45	M=1,31	M=3,04
Determinação da atividade Antioxidante		
Teor% P1	Teor% P2	Teor% P3
78,78%	79,88%	73,63%
68,70 %	78,30 %	71,60 %
80,10 %	76,90%	75,40%

M=75,86%	M=78,36%	M=73,54%
Determinação de Taninos		
Teor% P1	Teor% P2	Teor% P3
6,17%	11,95%	18,12 %
7,88 %	10,40 %	17,59 %
7,50 %	9,80 %	16,70%
M=8,66%	M=10,71%	M=17,47 %
Determinação gravimétrica de saponinas totais		
Teor% P1	Teor% P2	Teor% P3
17,4%	17,3%	17,6%
16,9 %	17,0 %	17,5 %
17,9 %	17,1 %	17,0 %
M=17,40%	M=17,13%	M= 17,36%
Determinação de sólidos solúveis totais (brix)		
Teor% P1	Teor% P2	Teor% P3
1,90 %	1,80 %	1,34 %
1,88%	1,82 %	1,37%
1,86 %	1,85 %	1,39 %
M= 1,88%	M= 1,82%	M=1,36 %

Fonte: Dados da Pesquisa (2024).

5.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A Tabela 1 mostra os resultados estatísticos da análise físico-química, a análise dos valores de p e F proporciona uma visão ampla sobre a significância das variáveis em relação às amostras analisadas. Os valores de p indicam a probabilidade de que as diferenças observadas nas médias sejam devidas ao acaso, com valores inferiores a 0,05 geralmente indicando uma diferença estatisticamente significativa.

Tabela 1 - Resultados estatísticos da análise físico-química

Teor	F-valor	p-valor
Cinzas	2,0032	0,1884
Umidade	3,476	0,0651
Proteínas	3,2974	0,0754
Lipídios	7,7633	0,0055
pH	9,5747	0,0019
Densidade Relativa	0,0935	0,9111
Atividade Antioxidante Total	0,2130	0,8096

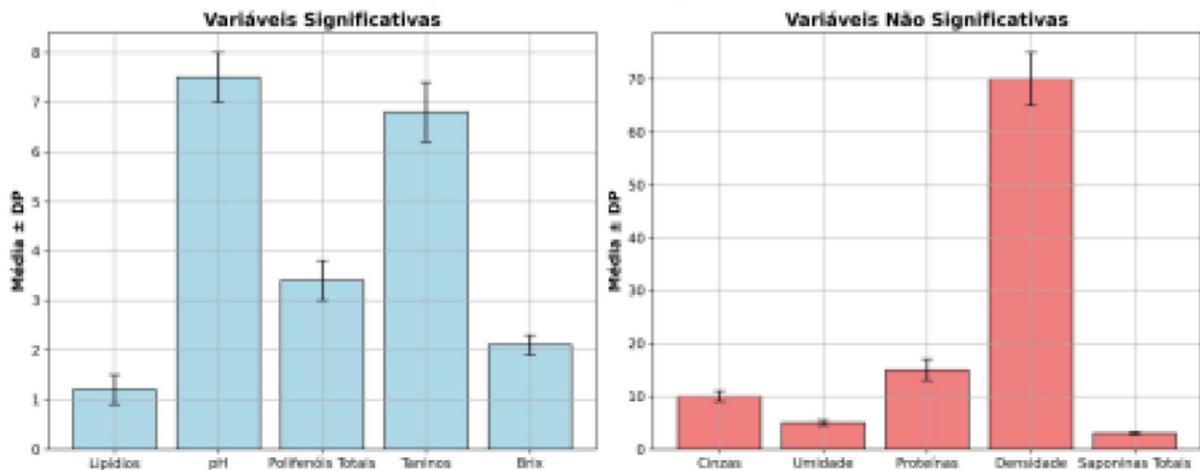
Taninos	9,4335	0,0015
Saponinas Totais	0,0345	0,9669
Sólidos Solúveis Totais (Brix)	12,4296	0,0008

Fonte: Dados da Pesquisa (2024)

A análise da estatística descritiva forneceu uma visão geral da variabilidade das amostras coletadas de três regiões distintas, revelando informações importantes sobre a composição e consistência das variáveis analisadas, como lipídios, pH, taninos e Brix.

O Gráfico 1 mostra os resultados estatísticos da análise físico-química, variáveis significativas e não significativas.

Gráfico 1 - Média e Desvio Padrão para a análise físico-química



Fonte: Dados da Pesquisa (2024)

A média representa a concentração central de cada composto em cada amostra, o que permite identificar as tendências gerais de composição dos solos e a composição das raízes. Por exemplo, a média dos lipídios (1,2%) sugere que, em média, há uma quantidade moderada desse composto nas raízes, refletindo uma composição relativamente estável entre as amostras coletadas, independentemente do local. Essa informação é útil para verificar se as raízes dos diferentes solos apresentam concentrações semelhantes ou se há diferenças significativas.

O desvio padrão, por sua vez, mede a dispersão dos valores em torno da média, revelando o grau de variabilidade entre as amostras de cada ponto de coleta. Um desvio padrão baixo, como o observado para os lipídios (0,3%), indica que as concentrações desse componente são consistentes nas amostras dos três solos. Isso sugere que as raízes coletadas nos três pontos possuem uma composição relativamente homogênea nesse aspecto. Já para outras variáveis, como "Proteínas" e "Saponinas Totais", com desvios padrões mais elevados, observa-se uma

maior variabilidade, indicando que as amostras de diferentes locais (P1, P2, P3) apresentam diferenças marcantes em relação a esses compostos.

Dessa forma, a média e o desvio padrão se mostram ferramentas cruciais para comparar as amostras coletadas nos três solos. Eles fornecem uma visão clara sobre a homogeneidade ou heterogeneidade das variáveis nas raízes do vegetal e ajudam a entender como as características dos solos podem influenciar a composição química das raízes.

Embora algumas dessas variáveis, como lipídios e pH, apresentem diferenças significativas entre os grupos, com p-valores abaixo de 0,05, é importante destacar que um p-valor abaixo de 0,05 indica que as amostras dos três pontos de coleta não são iguais. Em outras palavras, há diferenças substanciais nas concentrações dessas variáveis entre as amostras coletadas nos três locais (Sítio Baltazar, Sítio Banana e Sítio do Joca). A umidade, que apresentou um p valor ligeiramente abaixo de 0,05, e outras variáveis como cinzas e saponinas totais, não demonstraram variações expressivas entre as amostras. O F valor, que indica a razão de variabilidade entre e dentro dos grupos, reforçou essa ideia, destacando que, apesar da variabilidade nas amostras, não há uma evidência forte para classificar certas variáveis, como a umidade, como determinantes diretos para a atividade antioxidante.

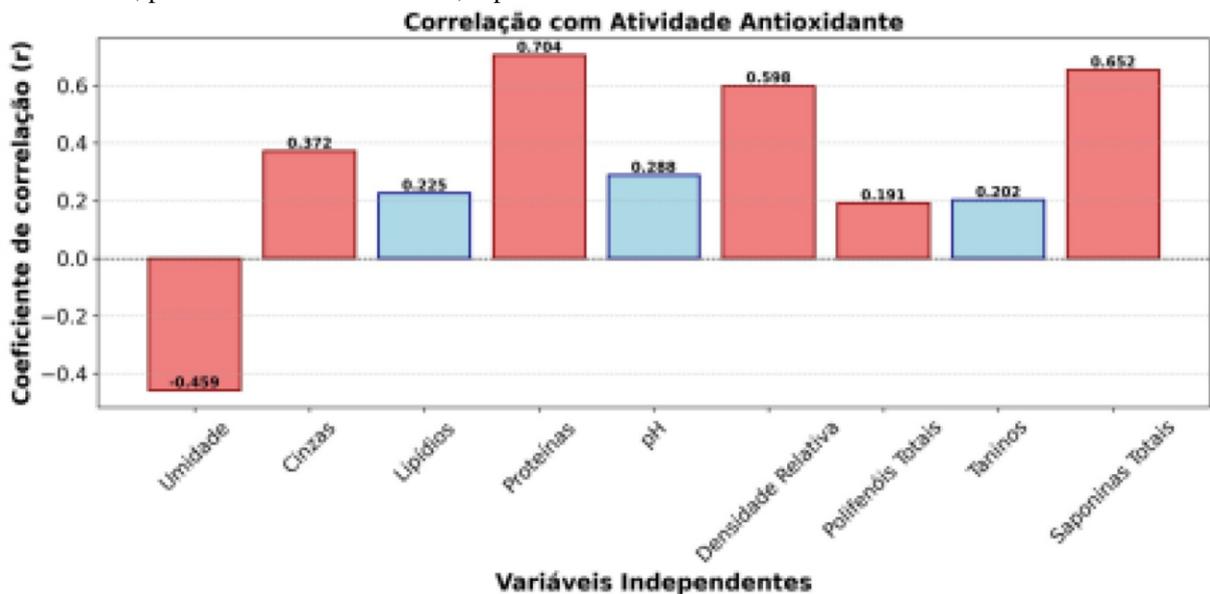
Dessa forma, a estatística descritiva não é suficiente para identificar quais variáveis têm um impacto direto e significativo na atividade antioxidante.

A análise de correlação se mostra mais eficaz, embora variáveis como lipídios e proteínas apresentem diferenças mais pronunciadas entre as amostras, a estatística descritiva não permite quantificar a interação entre essas variáveis e a atividade antioxidante de forma clara. A correlação, por outro lado, será capaz de revelar as relações diretas entre as características das amostras, sejam, as variáveis das amostras e a atividade antioxidante, possibilitando a seleção das variáveis com maior potencial para a formulação de produtos bioecológicos eficazes.

Assim, ao concluir a análise descritiva, pode-se afirmar que a variabilidade nas amostras é um indicativo direto sobre as características dos pontos de coleta. As amostras mais homogêneas, com características mais consistentes, como lipídios e taninos, indicam que é possível encontrar essa composição nos três solos, e que esses pontos possuem um pH em comum. A análise de correlação permitirá não apenas identificar quais variáveis impactam diretamente na atividade antioxidante, mas também guiar as etapas subsequentes de otimização e formulação, alinhando-se às necessidades de sustentabilidade e exigências do mercado.

A análise dos valores de correlação com a atividade antioxidante mostrada no Gráfico 1, é particularmente fundamental no contexto da caracterização das saponinas presentes na espécie. Os resultados indicam que a umidade, com uma correlação negativa de -0,4588 pode impactar negativamente a eficácia das saponinas como agentes antioxidantes, em formulações de produtos bioecológicos para limpeza humana e animal. A umidade excessiva pode diluir as propriedades ativas das saponinas, tornando-as menos eficazes. Portanto, é essencial considerar as condições de processamento e armazenamento que minimizam a umidade, garantindo a estabilidade das saponinas e, conseqüentemente, a eficácia dos produtos finais.

Gráfico 2 - Análise dos valores das variáveis em correlação com a atividade antioxidante. Umidade vs atividade antioxidante; Cinzas vs atividade antioxidante; Proteínas vs atividade antioxidante; Saponinas vs atividade antioxidante; pH vs atividade antioxidante; Lipídios vs atividades antioxidante



Fonte: Dados da Pesquisa (2024)

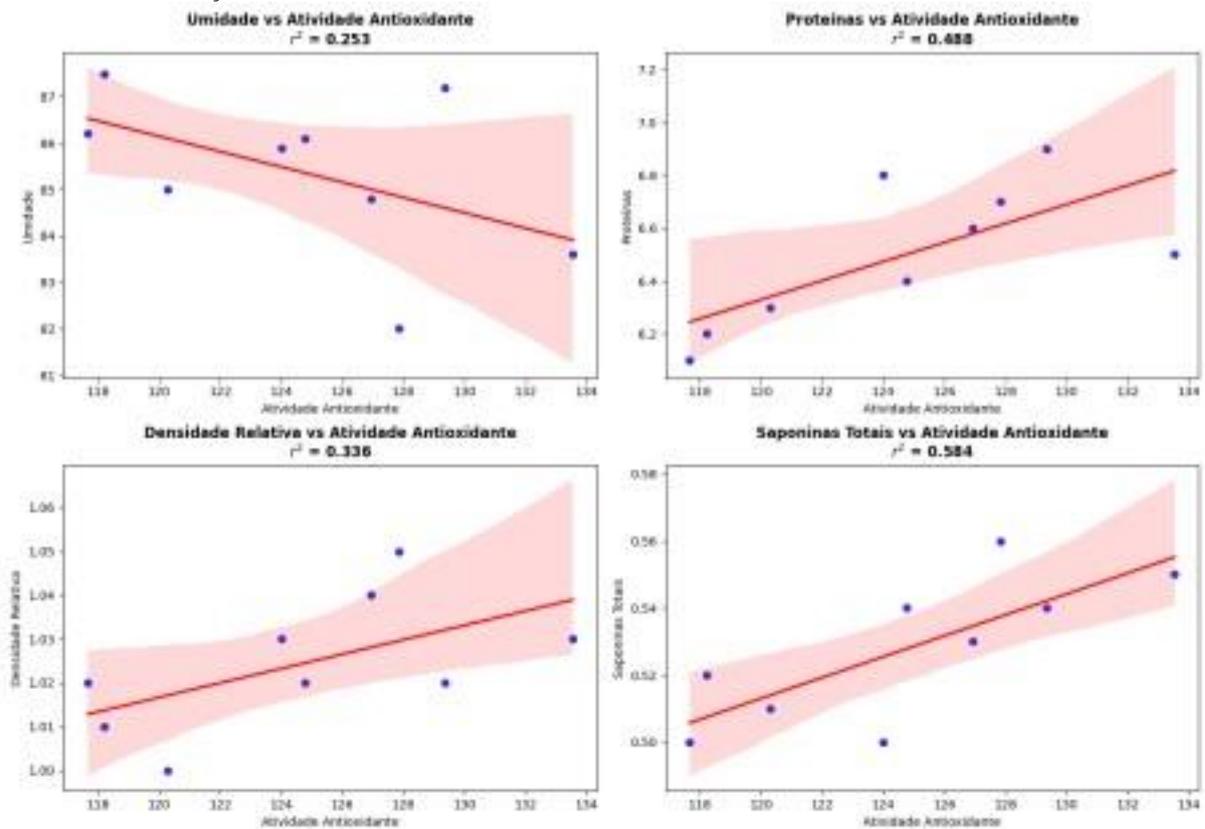
Além disso, a forte correlação positiva observada entre as saponinas totais (0,652%) e a atividade antioxidante destaca a importância dessas moléculas na formulação de produtos bioecológicos.

As saponinas são conhecidas por suas propriedades surfactantes e antioxidantes, o que as torna atrativas para uso em produtos de limpeza, tanto humanos quanto animais. Essa relação sugere que a otimização da extração e purificação das saponinas pode aumentar a atividade antioxidante dos produtos, ampliando seus benefícios funcionais. Ao focar na maximização da concentração e qualidade das saponinas, é possível desenvolver produtos que não apenas limpam, mas também protegem contra os radicais livres.

Por outro lado, as proteínas (0,7043%) também demonstram uma forte correlação com a variáveis como lipídios, taninos e pH, por exemplo, podem ter influências distintas na

atividade antioxidante e a correlação nos permiti quantificar essas relações, fornecendo informações mais precisas sobre como cada propriedade contribui para as atividades antioxidantes das amostras. A partir dessas análises, podemos identificar quais variáveis são realmente responsáveis pela eficácia antioxidante, permitindo otimizar a formulação de produtos bioecológico com propriedades mais robustas e eficazes, o gráfico 2 explora a relação linear entre essas características em destaque do gráfico 1.

Gráfico 3 - Correlação linear entre as variáveis e atividade antioxidante



Fonte: Dados da pesquisa (2024)

A correlação entre umidade e atividade antioxidante apresentou um coeficiente de determinação (R^2) de 0,253, o que indica uma relação fraca, sugerindo que a umidade sozinha tem um impacto limitado na atividade antioxidante da saponina. Isso pode ser explicado pela possibilidade de que a umidade, embora possa afetar na extração e na estabilidade do composto bioativo, não seja o fator mais determinante para a capacidade antioxidante. Ao contrário da proteína que apresentou uma correlação mais forte com a atividade antioxidante, com R^2 de 0,488, sugerindo que, embora não seja o fator mais influente, as proteínas podem ter um papel considerável no potencial antioxidante da saponina, pela função de estabilizar ou modular a atividade da saponina, ou agir como biocatalisador. A densidade também demonstrou uma

correlação moderada ($R^2 = 0,336$), indicando que, apesar de sua influência não ser tão robusta quanto à das proteínas e saponinas, ela pode estar relacionada à estrutura e organização das saponinas ou à forma como elas interagem com o meio ambiente, afetando indiretamente a atividade antioxidante. A umidade c/ valor negativo pode prejudicar na qualidade da saponina. Já as outras variáveis c/ valores positivos beneficiam a qualidade da saponina, alterando pra melhor a atividade antioxidante.

A variável mais impactante foi, sem dúvida, saponinas totais, com uma correlação de $R^2 = 0,584$, reforçando a ideia de que a quantidade de saponinas presentes no extrato é o fator principal que impulsiona a atividade antioxidante. Isso é consistente com o papel biológico das saponinas, que são amplamente reconhecidas por suas propriedades antioxidantes, sugerindo que a otimização da quantidade de saponina na formulação pode ser uma estratégia eficaz para maximizar os benefícios antioxidantes no produto.

5.4 CONCLUSÃO ESTATÍSTICA DESCRITIVA VS CORRELAÇÃO

A estatística descritiva através da média e do desvio padrão foi fundamental para o entendimento da composição química do solo, que influi na composição química das raízes nos três locais de coletas. Essa análise revelou a composição das amostras, evidenciando a variabilidade das variáveis, como lipídios, pH, taninos e Brix, entre os três sítios. As diferenças observadas nos p-valores para essas variáveis, com destaque para as que apresentaram valores abaixo de 0,05, indicam que elas têm distribuição distinta entre as regiões de coleta. A umidade, por exemplo, com p-valor de 0,0651, embora não tenha alcançado o limiar de significância, sugere uma leve tendência de afetar a composição das amostras. No entanto, a estatística descritiva, ao focar na distribuição e variabilidade das variáveis, é mais útil para descrever a composição das amostras coletadas e suas diferenças, não fornecendo informações diretas sobre a relação com a atividade antioxidante.

Por outro lado, a análise de correlação vai além da caracterização das amostras, permitindo entender diretamente quais propriedades estão relacionadas à atividade antioxidante das amostras da espécie. Embora a estatística descritiva nos ofereça uma visão geral sobre a variabilidade entre as amostras dos diferentes sítios, a correlação foi essencial para identificar as variáveis com maior impacto sobre a atividade antioxidante. Variáveis como lipídios, taninos e pH, por exemplo, podem ter influências distintas na atividade antioxidante. A correlação nos permitiu quantificar essas relações, fornecendo informações mais precisas sobre como cada propriedade contribui para as atividades antioxidantes das amostras.

A partir dessas análises, podemos identificar quais variáveis são realmente responsáveis pela eficácia da atividade antioxidante, permitindo otimizar a formulação de produtos bioecológicos com propriedades mais robustas e eficazes. Portanto, enquanto a estatística descritiva nos ajuda a entender as diferenças regionais nas amostras e a composição das variáveis coletadas, a análise de correlação é a ferramenta que permitiu aprofundar a compreensão da relação entre as características químicas das amostras e a atividade antioxidante.

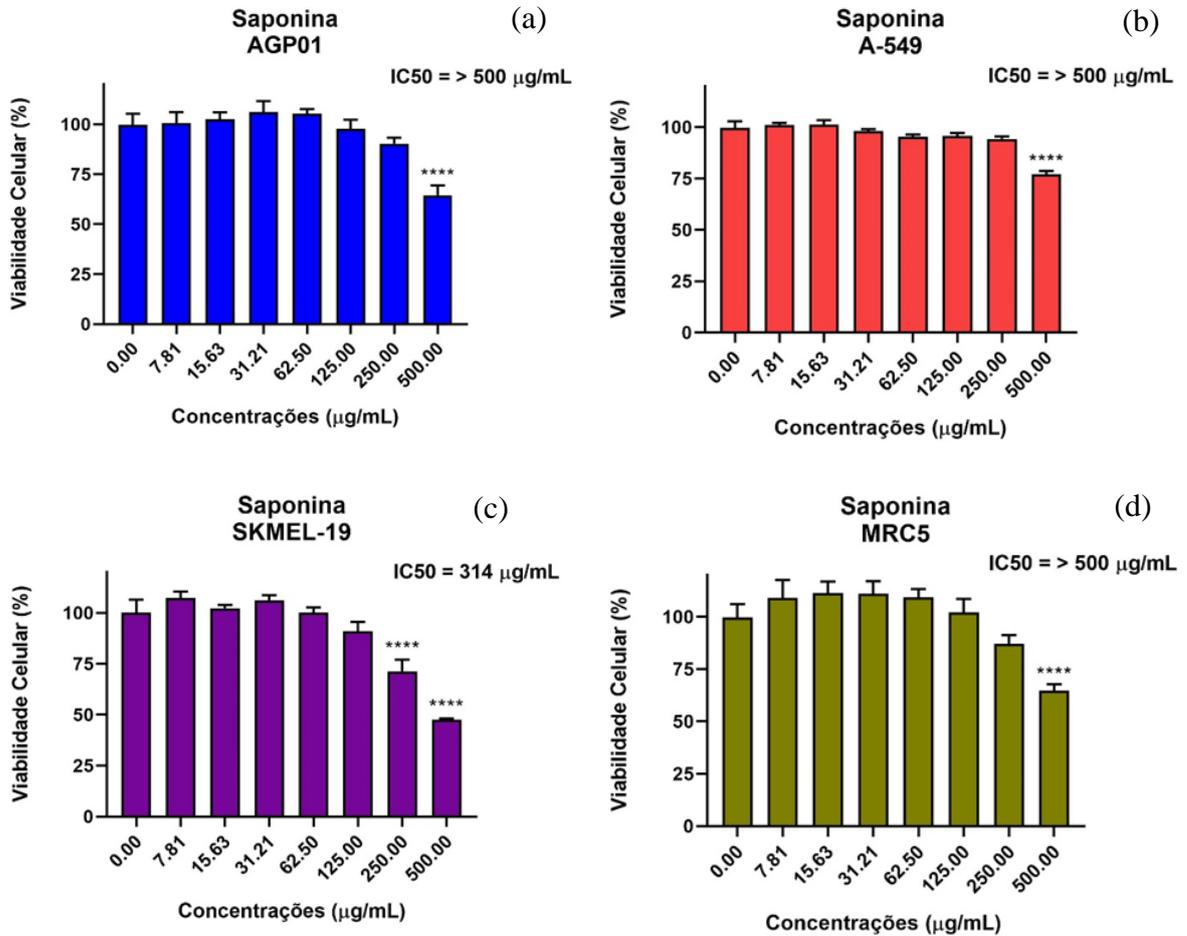
A combinação dessas duas abordagens fornece uma base sólida para selecionar as variáveis mais relevantes e direcionar as etapas subsequentes de otimização e formulação, assegurando a máxima eficácia dos produtos bioecológicos no combate aos radicais livres e alinhando-os à sustentabilidade e as exigências do mercado.

5.5 ATIVIDADE BIOLÓGICA

A saponina foi avaliada quanto à citotoxicidade para quatro linhagens (AGP01, A-549, SK-MEL 19 e MRC5). Os resultados podem ser observados na Figura 7, que mostra os resultados expressos em porcentagens em relação ao controle não tratado. Cada ponto equivale à média \pm desvio padrão de três repetições.

A saponina foi avaliada quanto à citotoxicidade para cinco linhagens (AGP01, A-549, SK-MEL 19 e MRC5). Os resultados mostraram uma atividade citotóxica, com diminuição na viabilidade celular, principalmente na linhagem SK-MEL 19 (melanoma), a partir da concentração de 250 $\mu\text{g/mL}$. Nas demais linhagens AGP01 (ascite gástrica), A-549 (carcinoma pulmonar) e MRC5 (fibroblasto pulmonar) houve uma diminuição na viabilidade celular, com diferença significativa apenas na maior concentração testada (500 $\mu\text{g/mL}$). Com base nesses resultados, conclui-se que a saponina demonstrou maior atividade citotóxica na linhagem de melanoma (SK-MEL 19), enquanto exerceu menor efeito sobre as células não tumorais (MRC5) dentro das mesmas faixas de concentração.

Figura 7 - Viabilidade celular em diferentes linhagens neoplásicas: AGP01 (a), A-549 (b), SK-MEL 19 (c) e uma linhagem não neoplásica MRC5 (d), após um tratamento de 72 horas com a saponina.



Fonte: Dados da pesquisa (2024)

Foi possível ainda, por meio do ensaio de MTT, determinar a concentração inibitória média (CI50) da saponina sobre as linhagens celulares, onde observou-se um valor de CI50 de 314 µg/mL no modelo de melanoma, o que indica uma molécula ativa quanto a citotoxicidade em células neoplásicas da pele. Nas demais linhagens os valores de CI50 ficaram acima da maior concentração testada (500 µg/mL), demonstrando uma diferença de atividade acentuada entre os modelos testados. Além disso, quando comparados os resultados entre todas as linhagens testadas, SKMEL-19 (melanoma) se mostrou mais sensível à ação da saponina e quando comparada especificamente com a célula não tumoral (MRC5) se mostrou ligeiramente mais seletiva.

6. CONCLUSÃO

A realização deste estudo permitiu explorar as potencialidades tecnológicas e bioecológicas da *Entada polyphylla*, destacando-a como um recurso promissor para o desenvolvimento de produtos sustentáveis. Os resultados obtidos, como os elevados teores de saponinas e antioxidantes, confirmam a viabilidade de utilizar suas raízes para aplicações industriais, contribuindo para a substituição de materiais sintéticos por alternativas naturais.

Esses resultados não apenas justificam a importância das saponinas na atividade antioxidante, mas também indicam que outras variáveis, como proteínas e densidade, podem desempenhar papéis significativos, embora de menor magnitude, na modulação dessa atividade.

A abordagem sustentável adotada durante as etapas de coleta e processamento reforça a importância de métodos ecologicamente responsáveis na pesquisa científica. Além disso, o aproveitamento de recursos locais é uma forma eficaz de valorizar a biodiversidade da Amazônia e promover o desenvolvimento regional.

Os dados obtidos também evidenciam o potencial do uso da *Entada polyphylla* na geração de renda para comunidades locais, por meio do cultivo e processamento de suas raízes. Este impacto social positivo pode ser ampliado com parcerias entre instituições de pesquisa, governo e indústria.

Entretanto, há a necessidade de estudos adicionais para explorar completamente as aplicações da espécie e garantir a segurança de seus derivados. Além disso, o monitoramento constante é essencial para assegurar a conservação ambiental e evitar a exploração excessiva dos recursos naturais.

A partir do teste inicial realizado com a saponina, foi possível observar que eles apresentaram atividade citotóxica sobre a maioria dos modelos de células neoplásicas testados, com melhor ação sobre o modelo de melanoma (SKMEL-19), com diminuição significativa da viabilidade celular.

Dessa forma a avaliação da citotoxicidade da saponina sobre modelos de células neoplásicas revelou resultados promissores, indicando um potencial significativo dessa substância. Os resultados demonstraram uma capacidade variada da saponina em inibir a viabilidade celular, evidenciando sua possível aplicação nesse eixo. Contudo, são necessárias investigações mais aprofundadas para elucidar completamente os mecanismos de ação envolvidos e garantir a segurança e eficácia do composto. Em última análise, os resultados

obtidos neste estudo estimulam a continuidade da pesquisa sobre a saponina como uma abordagem promissora na busca por novas moléculas com atividade anticâncer.

Assim, este trabalho não apenas contribui para o conhecimento científico, mas também aponta caminhos para a construção de um futuro mais sustentável, no qual a ciência e a tecnologia estejam alinhadas à preservação do meio ambiente e ao bem-estar da sociedade.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAÚJO, T.; KHAYAT, A.; QUINTANA, L.; CALCAGNO, D.; MOURÃO, R.; MODESTO, A.; PAIVA, J.; LIMA, A.; MOREIRA, F.; OLIVEIRA, E.; SOUZA, M.; OTHMAN, M.; LIEHR, T.; ABDELHAY, E.; GOMES, R.; SANTOS, S.; ASSUMPÇÃO, P. Piwi like RNA-Mediated Gene Silencing 1 Gene as a Possible Major Player in Gastric Cancer. **World J. Gastroenterol.** v. 24, n. 47, p. 5338–5350, 2018. <https://doi.org/10.3748/wjg.v24.i47.5338>.

ADAMS, Michelle M. *et al.* Design and Synthesis of Potent Quillaja Saponin Vaccine Adjuvants. **Journal of American Chemical Society**, v. 132, n.6, p. 1939-1945, 2010.

ALVARES, A. A. A. Influência da adição de extrato de *Yucca schidigera* nos parâmetros bioquímicos e hematológicos de cães adultos consumindo duas rações comerciais. 2006. 47f. **Dissertação (Mestre em Ciências Veterinárias)** – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba

AUGUSTIN, J. M.; KUZINA, V.; ANDERSEN, S. B.; BAK, S. Molecular activities, biosynthesis and evolution of triterpenoid saponins. **Phytochemistry**, 72, p. 435-457, 2011.

AKIYAMA, T; TAKAGI, S; SANKAWA, U; INARI, S; SAITÔ, H. Saponin-cholesterol interaction in the multibilayers of egg yolk lecithin as studied by deuterium nuclear magnetic resonance: digitonin and its analogues. **Biochemistry**. 1980 Apr 29;19(9):1904-11. doi: 10.1021/bi00550a027. PMID: 7189669.

BUTLER, M. S. Natural products to drugs: natural product-derived compounds in clinical trials. **Nat Prod Rep**, v. 25, n. 3, p. 475-516, 2008.

BARREIRO, E. J.; BOLZANI, V. S. Biodiversidade: fonte potencial para a descoberta de fármacos. **Química Nova**, v. 32, p. 679-688, 2009

BAUER, A.; BRONSTRUP, M. Industrial natural product chemistry for drug discovery and development. **Nat Prod Rep**, v. 31, n. 1, p. 35-60, 2014.

BRENAN, J.P.M. Notes on Mimosoideae: XI: The Genus *Entada*, its subdivisions and a key to the African species. *Kew Bulletin*, 1966;

BRUNETON, J.; *Elementos de Fitoquímica y de Farmacognosia*. AS/Espanha: Ed. Acribia, 1991;

BARNEBY, R.C. 1991. *Sensitivae Censitae: a description of the genus Mimosa Linnaeus (Mimosaceae) in the New World*. **Memoires of New York Botanical Garden**, 65: 1-835.

BARNEBY, R. C. 1998. *Silk Tree, Guanacaste, Monkey's Earring: A generic system for the Synandrous Mimosaceae of the Americas. Part III. Calliandra*. **Memoirs of the New York Botanical Garden**, 74(3): 1-223

BORSATO, Dionisio; GALÃO, Olívio Fernandes; MORERA, Ivanira. *Detergentes Naturais e Sintéticos*. 2. Ed. Ver. Londrina. **Eduel**. 2004.

BARROSO, G. M.; PEIXOTO, A. L.; ICHASO, C. L. F.; COSTA, C. G.; GUIMARÃES, E. F.; LIMA, H. C. de. **Sistemática de angiospermas do Brasil**. 2. ed. Viçosa: UFV, 1991. 329 p.

BANGHAM AD, HORNE RW, GLAUERT AM, DINGLE JT, LUCY JA. Action of saponin on biological cell membranes. *Nature*. 1962 Dec 8;196:952-5. doi: 10.1038/196952a0. PMID: 13966357.

BACHRAN, C.; BACHRAN, S.; SUTHERLAND, M.; BACHRAN, D.; FUCHS, H. Saponins in tumor therapy. **Mini Rev Med Chem**, v. 8, n. 6, p. 575-84, 2008.

CASTEJON, F. V. Taninos e saponinas. 2011. Disponível em: .
https://portais.ufg.br/up/67/o/semi2011_Fernanda_Castejon_1c.pdf

CRAGG, G.M; NEWMAN, D.J. Natural products: a continuing source of novel drug leads. **Biochim Biophys Acta**. 2013 Jun; 1830(6): 3670-95. doi: 10.1016/j.bbagen.2013.02.008. Epub 2013 Feb 18. PMID: 23428572; PMCID: PMC3672862.

CRAGG, G.M; NEWMAN, D.J. Natural products: a continuing source of novel drug leads. **Biochim Biophys Acta**. 2013 Jun; 1830(6): 3670-95. doi: 10.1016/j.bbagen.2013.02.008. Epub 2013 Feb 18. PMID: 23428572; PMCID: PMC3672862.

CHEEKE, P. R. Actual and potential applications of *Yucca schidigera* and *Quillaja saponaria* saponins in human and animal nutrition. In: American **Society of Animal Science**, Proceedings...Indianapolis: ASAS, p.1-10, 1999.

CARVALHO, E.B.de. Estudos da interacção entre proteínas e taninos: Influência da presença de Polissacarídeos [online. 193 f. **Tese (Doutorado em Química)** - Departamento de Química, Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, Porto,2007.

CALIXTO, J. B. Twenty-five years of research on medicinal plants in Latin America: a personal view. **J Ethnopharmacol**, v. 100, n. 1-2, p. 131-4, 2005.

CHEEKE, P.R. Actual and potential applications of *Yucca schidigera* and *Quillaja saponaria*: saponins in human and animal nutrition. In: Simpósio sobre ingredientes na alimentação animal, 2002, Uberlândia. **Anais...Campinas: CBNA**, 2002. p.217-237.

CHEOK, Choon Yoong; ABDELKARIM, Hanaa; SULAIMAN, Rabiha. (2014). Extraction and quantification of saponins: A review. **Food Research International**. 59. 16–40. 10.1016/j.foodres. 2014.01.057.

CORRÊA, M. Pio. – Dicionário das plantas úteis do Brasil. Rio de Janeiro: **Ministério da Agricultura**, 1984. Seis volumes completos. Encadernações originais da editora.

CARBONEZI, C. A.; HAMERSKI, L.; GUNATILAKA, A. A.L., CAVALHEIRO, A.; CASTRO-GAMBOA, I.; SILVA, D.H.S. Bioactive flavone dimers from *Oureatea multiflora* (Ochnaceae). *Rev. bras. farmacogn.* [online], 2007;

CLIFFORD, M. N.; SCALBERT, A. Ellagitannins – nature, occurrence and dietary burden. *Journal of the Science of Food and Agriculture* [online],2000

DALTIN, D. Tensoativos: química, propriedades e aplicações. São Paulo: Blucher, 2011.

DIAMOND, B. J.; BAILEY, M. R. Ginkgo biloba: indications, mechanisms, and safety. **Psychiatr Clin North Am**, v. 36, n. 1, p. 73-83, 2013.

DIAS, Diogo Lopes. Detergentes - **Manual da Química**. [S. l.], 2022. Disponível em: <https://www.manualdaquimica.com/quimica-ambiental/detergentes.htm>.

EFFERTH, Thomas; KUETE, Victor. Cameroonian medicinal plants: pharmacology and derived natural products. **Frontiers in Pharmacology**, October 2010, Volume 1, 123.

ELEKOFEHINTI, O.O. Saponins: Anti-diabetic principles from medicinal plants - A review. **Pathophysiology**. 2015 Jun;22(2):95-103. doi: 10.1016/j.pathophys.2015.02.001. Epub 2015 Feb 16. PMID: 25753168.

ESCALANTE, A. M.; SANTECCHIA, C. B.; LÓPEZ, S. N.; GATTUSO, M. A.; RAVELO, A. G.; MONACHE, F. D.; SIERRA, M. G.; ZACCHINO, S. A. Isolation of antifungal saponins from *Phytolacca tetramera*, an Argentinean species in critic risk. *J Ethnopharmacol*, 2002.

FARNSWORT, NR; AKERELE, O; BINGEL, A.S; SOEJARTO, D.D. Guo Z. Medicinal plants in therapy. *Bull World Health Organ*. 1985; 63(6): 965-81. PMID: 3879679.

FENG, J.; CHEN, Y.; LIU, X.; LIU, S. Efficient improvement of surface activity of tea saponin through Gemini-like modification by straightforward esterification. **Food Chemistry**, 171, 272–279, 2015.

FRANCIS, G, KEREM, Z; MAKKAR, H.P, BECKER, K. The biological action of saponins in animal systems: a review. **Br J Nutr**. 2002 Dec;88(6):587-605. doi: 10.1079/BJN2002725. PMID: 12493081.

FERREIRA, F.; VÁSQUEZ, A.; GÜNTNER, C.; MOYNA, P. Inhibition of the passive diffusion of cholic acid by *Ilex paraguariensis* St. Hil. Saponins. **Phytotherapy Research** [online] 1997;

FENG, J.; CHEN, Y.; LIU, X.; LIU, S. Efficient improvement of surface activity of tea saponin through Gemini-like modification by straightforward esterification. **Food Chemistry**, 2015.

FRANCIS, G. KEREM, Z.; MAKKAR, H.P.S.; BECKER, K. The biological action of saponins in animal systems: a review. **British Journal of Nutrition**, online, 2002.

GARCÍA-VALDÉS, E; MULET, M; LALUCAT, J; PENA, A; GOMILA, M. Filogenômica e sistemática em *Pseudomonas*. *Frente. Microbiol.*, 17 de março de 2015. Sec. **Microbiologia Evolutiva e Genômica**, Volume 6, 2015. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00214>.

GUÇLU-USTUNDA, O; MAZZA, G. Saponins: properties, applications and processing. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2007;47(3):231-58. doi: 10.1080/10408390600698197. PMID: 17453922.

GUTIÉRREZ, L.; STEPIEN, G.; PÉREZ-HERNÁNDEZ, M.; PARDO, J.; GRAZÚ, V.;

FUENTE, J. M. Nanotechnology in Drug Discovery and Development. **Compr. Med. Chem.** **III**, p. 264–295, 2017.

<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409547-2.12292-9>.

HUO, Ming;VERNER, June; ZHU, Liming ;ALI Babar, Muhammad. (2004). Software Quality and Agile Methods. Computer Software and Applications Conference, Annual International. 1. 520-525. 10.1109/CMPSAC.2004.1342889.

HIGUCHI, R.; KUBOTA, S.; KOMORI, T.; KAWASAKI, T.; PANDEY, V. B.; SINGH, J. P.; SHAH, A. H.; Triterpenoid saponins from the bark of *Zizyphus joazeiro*. *Phytochemistry*, 1984.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Métodos físico-químicos para análise de alimentos São Paulo: **Instituto Adolfo Lutz**, 2008.

IQBAL, H. M. N.; KESHAVARZ, T. The Challenge of Biocompatibility Evaluation of Biocomposites. **Biomed. Compos.**, 303–334. 2017.

<https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100752-5.00014-7>.

JOHNSON, I.T; GEE, J.M.; PRICE, K.; CURL, C.;FENWICK, G.R. Influence of saponins on gut permeability and active nutrient transport in vitro. **Journal of Nutrition** [online], v. 116, n. 11, p. 2270–2277, 1986. Disponível em:

<http://jn.nutrition.org/content/116/11/2270.full.pdf+html?sid=1281f990-6380-458d-967a-a8375540aee3>.

JUMPERTZ, T.; TSCHAPEK, B.; INFED, N.; SMITS, S. H.; ERNST, R.; SCHMITT, L. High-throughput evaluation of the critical micelle concentration of detergents. *Analytical Biochemistry*, 2010.

KLINKERT, C; BACHRAN, R, HEIDTMANN, B; GRABERT, M, Holl RW; DPV-Initiative. Age-specific characteristics of the basal insulin-rate for pediatric patients on CSII. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2008 Feb;116(2):118-22. doi: 10.1055/s-2007-990296. Epub 2007 Oct 31. PMID: 17973210.

LIU, H.; VADDELLA, V.; ZHOU, D. Effects of chestnut tannins and coconut oil on growth performance, methane emission, ruminal fermentation, and microbial populations in sheep. **Journal Dairy Science, Champaign**, v. 94, n. 21, p. 6069-6077, 2011.

LEWIS, G.; SCHRIRE, B.; MACKINDER, B.;LOCK, M. (eds.). 2005. Legumes of the world. **Royal Botanical Gardens**, Kew, 727p.

LU, M. F.; XIAO, Z. T.; ZHANG, H. Y. Where do health benefits of flavonoids come from? Insights from flavonoid targets and their evolutionary history. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 434, n. 4, p. 701-4, 2013.

LUCKOW, M. 2005. Mimoseae. In: G. Lewis; B. Schrire; B. Mackinder & M. Lock (eds.). *Legumes of the world*. Kew, Royal Botanical Gardens. Pp. 163-185.

LEMOS, T. L. G.; MENDES, A. L.; SOUSA, M. P. New saponin from *Sapindus saponaria*. *Fitoterapia*, 1992.

- MAN, Shuli *et al.* Chemical study and medical application of saponins as anti-cancer agents. **Fitoterapia**, v. 81, n. 7, p. 703–714, 2010.
- MOTAL, Jan. (2015). Dehumanization of Refugees in Media as a Case of Moral Disengagement. **Ethics & Bioethics** (in Central Europe). 5. 183-196.
- NITSCHKE, M.; PASTORE G.M.; Biossurfactantes: Propriedades e aplicações. **Química Nova**, Sep; 25(5): 772–6, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422002000500013>
- NOGUEIRA, N.O.; De OLIVEIRA, O.M.; MARTINS, Da S.C.A.; BERNARDES, C. de O. Utilização de leguminosas para recuperação de áreas degradadas. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.8, N.14; p.2121, 2012. Disponível em: <https://www.conhecer.org.br/enciclop/2012a/ambientais/utilizacao%20de%20leguminosas>
- OSBORNE, Kate; DOLMAN, Andrew; BURGUESS, Scott; JOHNS, K.. (2011). Disturbance and the Dynamics of Coral Cover on the Great Barrier Reef (1995-2009). Vol. 6, e17516, 2011.
- PERES, L. E. P. Metabolismo Secundário. Piracicaba: **ESALQ/USP**, 2004. p. 1-10.
- PODOLAK, I.; GALANTY, A.; SOBOLEWSKA, D. Saponins as cytotoxic agents: a review. **Phytochem Rev**, 2010.
- PAULI, G.F; JAKI, B.U; LANKIN, D.C. Quantitative ¹H NMR: development and potential of a method for natural products analysis. **J.Nat.Prod.** v.68, p.133-149, 2005.
- QUAN H, SUNDARARAJAN, V; HALFON, P, FONG, A, BURNAND, B, LUTHI, JC, SAUNDERS, LD; BECK, C.A, FEASBY, T.E, GHALI, WA. Coding algorithms for defining comorbidities in ICD-9-CM and ICD-10 administrative data. **Med Care.** 2005 Nov; 43(11): 1130-9. doi: 10.1097/01.mlr.0000182534.19832.83. PMID: 16224307.
- RODRIGUES, R.S.; FEITOZA, G.V; FLORES, A.S. Taxonomic relevance of seed and seedling morphology in two Amazonian species of Entada (Leguminosae), 2014;
- RODRIGUES, R.S; FLORES, A.S. A new combination in Entada (Leguminosae) from Roraima, Brazil. *Phytotaxa* 2012;
- SOUZA, M. C., VIANNA, L. F., KAWAKITA, K. & MIOTTO, S.T.S. 2012. Gênero *Aeschynomene* L. (Leguminosae, Faboideae, Dalbergieae) na planície de inundação do alto rio Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, 10(2): 198-210.
- SOUZA, H. H. Ambiente e Sociedade: a cadeia produtiva da malva (*Urena lobata* L.) no médio Solimões: uma alternativa sustentável? 2012. 108 f. **Dissertação (Mestrado em Ciências do Ambiente e Sustentabilidade na Amazônia)**-Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2012.
- SILVA, M.F. Revisão Taxonômica do gênero *Dimorphandra* Schott (Leguminosae – Caesalpinioideae). Manaus, 200p. **Tese (Doutorado) - Convênio INPA/FUA**, Universidade Federal do Amazonas, 1980.

SILVERSTEIN, R.M; WEBSTER, F.X; KIEMLE, D.J. Identificação espectrométrica de compostos orgânicos. Tradução Ricardo Bicca de Alencastro, 7 ed. Rio de Janeiro: **LTC**, 2005,v.1.

SATHEESHKUMAR, N.; NISHA, N.; SONALI, N.; NIRMAL, J.; JAIN, G. K.; SPANDANA, V. Analytical profiling of bioactive constituents from herbal products, using metabolomics--a review. **Nat Prod Commun**, v. 7, n. 8, p. 1111-5, 2012.

SULAINMAN, F. (2014). Aprendizagem online no ensino superior na Malásia: um estudo de caso das expectativas futuras dos alunos. **International Journal of Humanities and Social Science**, 4, 124-128.

SILVEIRA, A. C; KASSUIA, Y.S; DOMAHOVSKI, R.C; LAZZAROTO, M, Método de DPPH adaptado: uma ferramenta para analisar atividades antioxidante de polpa de frutos da erva-mate de forma Método de rápida e reprodu. Técnico 421 – Embrapa, 2018;

SARKER, S.D; NAHAR, L.; Química para estudantes de Farmácia: Química Geral, Orgânica e de Produtos Naturais. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009;

SCHMIDT-SILVEIRA, F. Estudos taxonômicos em Mimosa L. seção Mimosa (Fabaceae, Mimosoideae) no Rio Grande do Sul. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Botânica, UFRGS, 2015.

SHANMUGAM, G.s.Thirugnanam. (2017). The response of stromatolites to seismic shocks: tomboliths from the Palaeoproterozoic Chaibasa Formation, E India: Discussion and liquefaction basics. *Journal of Palaeogeography*: 6(2). in **press**. **Journal of Palaeogeography**. 6. 10.1016/j.jop.2016.12.001.

SPARG, S.G.; LIGHT, M.E.; STADEN, J. van. Biological activities and distribution of plant saponins. **Journal of Ethnopharmacology**, n. 94, n. 2-3, p. 219–243, 2004. doi: 10.1016/j.jep.2004.05.016.

SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; ATHAYDE, M. L. Saponinas. 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. Porto Alegre: Ed. UFRGS/Ed. UFSC, 2001. p. 597-619.

SCHENKEL, Eloir Paulo; GOSMANN, Grace; ATHAYDE, Margareth Linde. Saponinas. In: SIMÕES, Cláudia Maria Oliveira et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre: Editorada UFRGS; Florianópolis: **Editora da UFSC**, 6.ed., p. 711-740, 2010.

TADROS, N A. Sorption of some radioactive nuclei by solid particles of dinonylnaphthalene sulphonic acid. **Egypt: N. p.**, 2005. Web.

VINCKEN, J.P; HENG, L, de Groot A; GRUPPEN, H. Saponins, classification and occurrence in the plant kingdom. **Phytochemistry**. 2007 Feb;68(3):275-97. doi: 10.1016/j.phytochem.2006.10.008. Epub 2006 Dec 4. PMID: 17141815.

WANG, Yibing *et al.* Exploration of the correlation between the structure, hemolytic activity, and cytotoxicity of steroid saponins. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 15, n. 7, p. 2528–2532, 2007.

WINA, Elizabeth; MUETZEL, Stefan; BECKER, Klaus. (2005). The Impact of Saponins or Saponin-Containing Plant Materials on Ruminant Production A Review. **Journal of agricultural and food chemistry**. 53. 8093-105. 10.1021/jf048053d.

YOSHIKI, Y; KUDOU, S; OKUBO, K. (1998). Relação entre Estruturas Químicas e Atividades Biológicas de Saponinas Triterpenoides da Soja. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, 62 (12), 2291–2299. Disponível em: <https://doi.org/10.1271/bbb.62.2291>

WIE, H.J.; ZHAO, H.L.; CHANG, J.H.; KIM, Y.S.; HWANG, I.K.; JI, G.E.; Enzymatic Modification of Saponins from *Platycodon grandiflorum* with *Aspergillus niger*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 55, 8908- 8913, 2007.

ZHOU, J. *et al.* (2017) Enhanced performance of the methylerythritol phosphate pathway by manipulation of redox reactions relevant to IspC, IspG, and IspH. **J Biotechnol**, 248:1-8

ANEXO A- Solicitação de Pedido de Patente.



19/08/2024 870240070635
16:00
29409162322756942

Pedido nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT

Número do Processo: BR 10 2024 016942 5

Dados do Depositante (71)

Depositante 1 de 1

Nome ou Razão Social: UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ

Tipo de Pessoa: Pessoa Jurídica

CPF/CNPJ: 34621748000123

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Jurídica: Instituição de Ensino e Pesquisa

Endereço: Av. Augusto Correa n. 1 Cidade Universitaria José da Silveira Netto,
Guamá

Cidade: Belém

Estado: PA

CEP: 66075-110

País: Brasil

Telefone: (91) 3201-8314

Fax: (91) 3201-8022

Email: spi@ufpa.br

**PETICIONAMENTO
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Petição Eletrônica em
19/08/2024 às 16:00, Petição 870240070635

ANEXO B- Comprovante de cadastro no SISGEN



Ministério do Meio Ambiente
CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO

SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO

Comprovante de Cadastro de Acesso

Cadastro nº AF7AF45

A atividade de acesso ao Patrimônio Genético, nos termos abaixo resumida, foi cadastrada no SisGen, em atendimento ao previsto na Lei nº 13.123/2015 e seus regulamentos.

Número do cadastro: **AF7AF45**
 Usuário: **UFPA**
 CPF/CNPJ: **34.621.748/0001-23**
 Objeto do Acesso: **Patrimônio Genético**
 Finalidade do Acesso: **Pesquisa e Desenvolvimento Tecnológico**

Espécie

Entada polystachya

Título da Atividade: **Caracterização de saponina na espécie Entada polystachya var. Polyphylla Benth: Aproveitando dos agentes em produto espumante biológico para higiene e limpeza**

Equipe

Cláudio Nahum Alves	UFPA
Mário Lucivaldo Barreto de Jesus	ufpa

Data do Cadastro: **02/04/2024 13:39:22**

Situação do Cadastro: **Concluído**

Conselho de Gestão do Patrimônio Genético
 Situação cadastral conforme consulta ao SisGen em 17:00 de 14/05/2024.



SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO
 DO PATRIMÔNIO GENÉTICO
 E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL
 ASSOCIADO - **SISGEN**

ANEXO C- Relatório de avaliação da atividade citotóxica com uso da amostra de saponina da pesquisa.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
NÚCLEO DE PESQUISAS EM ONCOLOGIA**

**RELATÓRIO
AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA**

Responsáveis:

Prof. Dr. André Salim Khayat

Dra. Ingrid Nayara de Farias Ramos

Ma. Aline Costa Bastos

**BELÉM-PA
NOVEMBRO, 2024**

MATERIAL E MÉTODOS

Cultivo Celular: As linhagens celulares tumorais utilizadas no estudo foram: AGP01 (Ascite gástrica metastática) A-549 (carcinoma pulmonar) SK-MEL 19 (Melanoma metastático) e a linhagem não neoplásica, MRC5 (fibroblasto pulmonar humano). Estas foram cultivadas em meio DMEM, suplementados com 10% de soro fetal bovino e 1% de antibióticos (penicilina/estreptomicina), mantidas em estufa a 37°C e atmosfera contendo 5% de CO₂.

Ensaio do MTT: Citotoxicidade *in vitro*

A utilização do ensaio do MTT para avaliação da viabilidade celular, bem como da citotoxicidade de novas moléculas bioativas já vem sendo uma constante em programas de triagem de moléculas ao redor do mundo². Isso se deve principalmente à facilidade e rapidez de execução do ensaio, bem como à reprodutibilidade dos resultados e correlação clínica observada entre testes *in vitro* e *in vivo*³. O fundamento do teste baseia-se em na redução do sal 3-(4,5-dimetil-2-tiazol) -2,5-difenil-2-H-brometo de tetrazólio (MTT), um corante tetrazólio de cor amarela, em cristais de formazan de cor púrpura, a partir de substratos de enzimas desidrogenases mitocondriais, presentes somente nas células metabolicamente ativas. Então o produto formazan gerado é analisado por espectrofotometria e os espectros de células tratadas e não tratadas com os compostos em teste dão uma estimativa da extensão da citotoxicidade⁴.

Para tanto, as células foram semeadas em placas de 96 cavidades na concentração de 3×10^3 células/poço. A saponina foi dissolvida em dimetilsulfóxido (DMSO) para obtenção de concentrações iniciais na faixa de 10 a 20 mg/mL, e então adicionados à placa. Foi realizado um ensaio de dose-resposta com uma curva de concentrações variando de 500 – 7,81 µg/mL. Após o período de tratamento de 72 horas em estufa a 5% de CO₂, as placas foram retiradas e o sobrenadante foi aspirado, seguido da adição de 100 µL de solução de MTT à 0,5 mg/mL, diluída em meio DMEM. Posteriormente as placas passaram por incubação em estufa a 5% de CO₂ por 3 horas. Em seguida, o sobrenadante foi aspirado e o precipitado foi ressuscitado em 100 µL de DMSO e agitado por 10 minutos, até completa dissolução dos cristais de formazan. As placas foram analisadas em espectrofotômetro de placa a um comprimento de onda de 570 nm.

Análise dos Resultados:

A concentração média da saponina, capaz de provocar 50% do efeito máximo (CI50) e seu respectivo intervalo de confiança (CI95%) para cada linhagem foi obtida a partir de regressão não linear no programa GraphPad Prism versão 8.0. A atividade da saponina sobre a viabilidade celular foi obtida a partir das porcentagens relativas ao controle negativo, utilizando a Equação (1), onde Absexp e Absctr contabilizam a absorbância em 570 nm para as amostras experimentais e controle, respectivamente. Para verificar diferenças entre os grupos experimentais foi realizado o teste ANOVA (two way), seguido do pós-teste de Bonferroni, com níveis de significância $p > 0,005$ (**) e $p > 0,0001$ (***).

$$\text{Equação 1. Viabilidade Celular (\%)} = \left(\frac{\text{Absexp}}{\text{Absctr}} \right) \cdot 100$$

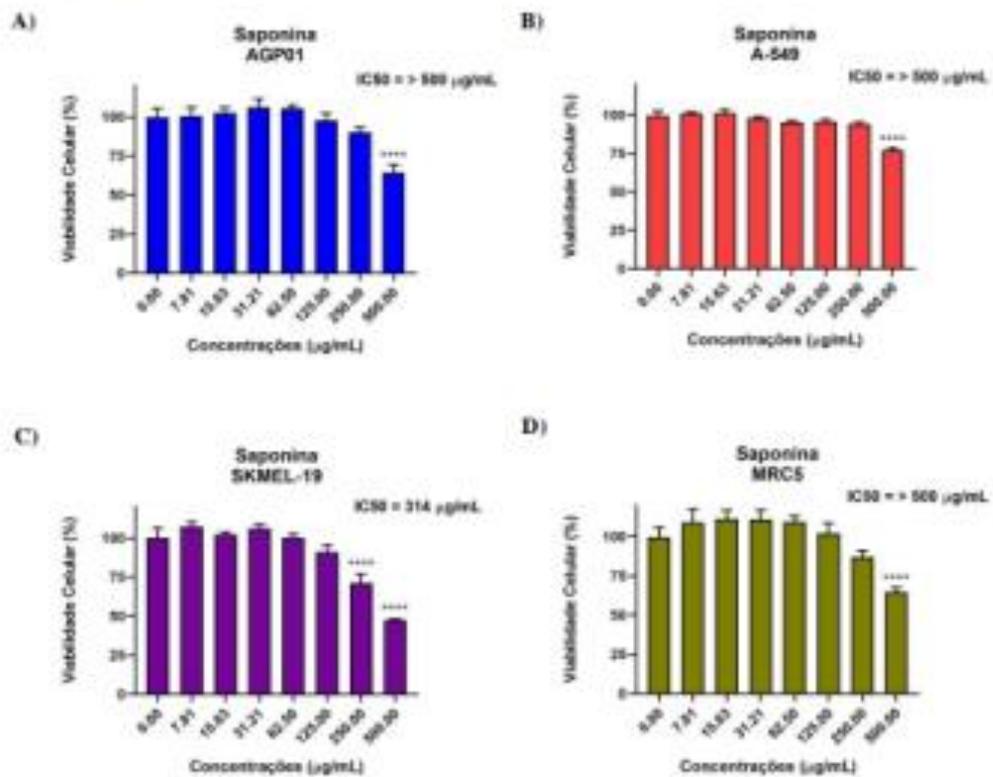
RESULTADOS

A saponina foi avaliada quanto à citotoxicidade para cinco linhagens (AGP01, A-549, SK-MEL 19 e MRC5). Os resultados mostraram uma atividade citotóxica, com diminuição na viabilidade celular, principalmente na linhagem SK-MEL 19 (melanoma), a partir da concentração de 250 µg/mL. Nas demais linhagens AGP01 (ascite gástrica), A-549 (carcinoma pulmonar) e MRC5 (fibroblasto pulmonar) houve uma diminuição na viabilidade celular, com diferença significativa apenas na maior concentração testada (500 µg/mL). Com base nesses resultados, conclui-se que a saponina demonstrou maior atividade citotóxica na linhagem de melanoma (SK-MEL 19), enquanto exerceu menor efeito sobre as células não tumorais (MRC5) dentro das mesmas faixas de concentração.

Foi possível ainda, por meio do ensaio de MTT, determinar a concentração inibitória média (CI50) da saponina sobre as linhagens celulares, onde observou-se um valor de CI50 de 314 µg/mL no modelo de melanoma, o que indica uma molécula ativa quanto a citotoxicidade em células neoplásicas da pele. Nas demais linhagens os valores de CI50 ficaram acima da maior concentração testada (500 µg/mL), demonstrando uma diferença de atividade acentuada entre os modelos testados. Além disso, quando comparados os resultados entre todas as linhagens testadas, SKMEL-19 (melanoma) se mostrou mais sensível à ação da saponina e quando comparada especificamente com a célula não tumoral (MRC5) se mostrou ligeiramente mais seletiva.

Os resultados podem ser observados nas **Figuras 1**, a seguir.

Figura 1. Viabilidade celular em diferentes linhagens neoplásicas: (A) AGP01, (B) A-549, (C) SK-MEL-19 e uma linhagem não neoplásica (D) MRC5, após um tratamento de 72 horas com a saponina. Os resultados são expressos em porcentagens em relação ao controle não tratado. Cada ponto equivale à média \pm desvio padrão de três repetições. A análise estatística foi realizada com ANOVA seguida pelo pós-teste de Bonferroni. Diferenças significativas: **** $p < 0,0001$.



CONCLUSÃO

A partir do teste inicial realizado com a saponina, foi possível observar que eles apresentaram atividade citotóxica sobre a maioria dos modelos de células neoplásicas testados, com melhor ação sobre o modelo de melanoma (SKMEL-19), com diminuição significativa da viabilidade celular.

Dessa forma a avaliação da citotoxicidade da saponina sobre modelos de células neoplásicas revelou resultados promissores, indicando um potencial significativo dessa substância. Os resultados demonstraram uma capacidade variada da saponina em inibir a viabilidade celular, evidenciando sua possível aplicação nesse eixo. Contudo, são necessárias investigações mais aprofundadas para elucidar completamente os mecanismos de ação envolvidos e garantir a segurança e eficácia do composto. Em última análise, os resultados obtidos neste estudo estimulam a continuidade da pesquisa sobre a saponina como uma abordagem promissora na busca por novas moléculas com atividade anticâncer.

PRINCIPAIS REFERÊNCIAS

- (1) Araújo, T.; Khayat, A.; Quintana, L.; Calcagno, D.; Mourão, R.; Modesto, A.; Paiva, J.; Lima, A.; Moreira, F.; Oliveira, E.; Sousa, M.; Othman, M.; Liehr, T.; Abdelhay, E.; Gomes, R.; Santos, S.; Assumpção, P. Pw1 like RNA-Mediated Gene Silencing 1 Gene as a Possible Major Player in Gastric Cancer. *World J. Gastroenterol.* **2018**, *24* (47), 5338-5350. <https://doi.org/10.3748/wjg.v24.i47.5338>.
- (2) Iqbal, H. M. N.; Keshavarz, T. The Challenge of Biocompatibility Evaluation of Biocomposites. *Biomaf. Compos.* **2017**, 303-334. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100752-5.00014-7>.
- (3) Gutiérrez, L.; Stepien, G.; Gutiérrez, L.; Pérez-Hernández, M.; Pardo, J.; Pardo, J.; Graní, V.; de la Fuente, J. M. Nanotechnology in Drug Discovery and Development. *Compr.*