



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**ALINE DE PAULA CAETANO PEREIRA**

**Avaliação das Atividades Antioxidante e Antiinflamatória de  
*Commiphora leptophloeos*, *Myracrodruon urundeuva* e *Anadenanthera  
colubrina***

**Recife-PE**

**2017**

ALINE DE PAULA CAETANO PEREIRA

**Avaliação das Atividades Antioxidante e Antiinflamatória de  
*Commiphora leptophloeos*, *Myracrodruon urundeuva* e *Anadenanthera  
colubrina***

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, como pré-requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas, área de concentração em Biotecnologia.

RECIFE-PE

2017

Catálogo na fonte  
Elaine Barroso  
CRB 1728

**Pereira, Aline de Paula Caetano**

**Avaliação das atividades antioxidante e antiinflamatória de *Commiphora leptophlebos*, *Myracrodruon urundeuva* e *Anadenanthera colubrina* / Recife: O Autor, 2013.**

**61 folhas : il., fig., tab.**

**Orientadora: Maria Tereza dos Santos Correia**

**Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Biotecnologia, 2013.**

**Inclui referências**

- 1. Plantas medicinais 2. Antioxidantes 3. Ácidos orgânicos I. Correia, Maria Tereza dos Santos (orient.) II. Título**

**615.321**

**CDD (22.ed.)**

**UFPE/CCB-2017- 477**

**ALINE DE PAULA CAETANO PEREIRA**

**Avaliação das Atividades Antioxidante e Antiinflamatória de  
*Commiphora leptophloeos*, *Myracrodruon urundeuva* e *Anadenanthera  
colubrina***

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, como pré-requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas, área de concentração em Biotecnologia.

Data de Aprovação Defesa: 22 de Agosto de 2012

Resultado: APROVADA

**Banca Examinadora**

**TITULARES**

---

Profa. Dra. MARIA TEREZA DOS SANTOS CORREIA  
Departamento de Bioquímica – UFPE

---

Profa. Dra. MÁRCIA VANUSA DA SILVA  
Departamento de Bioquímica – UFPE

---

Profa. Dra. JANETE MAGALI DE ARAÚJO  
Departamento de Antibióticos – UFPE

---

Profa. Dra. MAÍRA GALDINO DA ROCHA PITTA  
Departamento de Bioquímica – UFPE

## **DEDICO**

Aos meus pais, cujo amor incondicional e esforço me impulsionaram a crescer como pessoa e como profissional. A Socorro Oliveira por tudo que representa na minha vida. A vocês, que são meu “espelho” de virtudes.

***Os filhos não precisam de pais gigantes, mas de seres humanos que falem a sua linguagem e sejam capazes de penetrar-lhes o coração. (Augusto Cury)***

## AGRADECIMENTOS

A Deus pelo Dom da vida, por me abençoar com pessoas maravilhosas e capacitar para realização deste trabalho. Por ser sempre fiel em minha vida, Obrigada Senhor por todas as coisas!

Aos meus Pais (Edson e Gildete) por abdicar de seus sonhos para realizar os meus, pelo apoio e amor incondicional. Pela paciência, carinho, dedicação e esforço para que eu chegasse até aqui. Pelos incentivos e constantes orações. Sem vocês não seria possível ter dado o primeiro passo. Palavras jamais serão suficientes para expressar minha gratidão.

As minhas irmãs Raquel e Hellen, por todo amor, amizade e companheirismo. Aos meus cunhados Tiago e Júnior e meu sobrinho Caio, obrigada por tudo! Á toda minha família em especial a Priscila e Myckaella por serem mais que primas, verdadeiras irmãs que alegam meus dias.

A família CPM, onde dei os primeiros passos e vivi os 13 melhores anos da minha vida, os quais foram fundamentais para que eu ingressasse no mundo acadêmico. Em especial aos meus amigos Elioenai, Fabiene, Danyelle, Lindalva e Evamere o tempo só faz consolidar a confiança e cumplicidade que temos. A Socorrinho, Sônia, Rosângela e Josemar pelos conselhos, carinho e incentivo constante, por transpor os muros escolares e serem muito além de educadores, verdadeiros amigos. Obrigada por me permitir compartilhar cada momento da vida com vocês! A todos os professores, monitores e funcionário desta instituição muito do que sou reflete cada um de vocês, obrigada pela formação estudantil e pessoal!

A Dra Luzia e Margarida por estarem sempre presentes me ouvindo, apoiando e incentivando.

Aos Amigos da Turma de Licenciatura 2009.2, nossas conversas, viagens, brincadeiras, tardes de estudos fizeram toda diferença durante os 4 anos de graduação. Gostaria de Agradecer em especial a Edilene, Rodrigo, Gleibiston, Aldiana, Daniella Tavares e Ricardo, Obrigadão pelo agradável convívio!

A Jéssica, Marcela, Sérgio, Leonardo, Shirlei, Marily, Carine, Amanda e Elisangela por estarem sempre dispostos a me ouvir, pelos conselhos e principalmente pela amizade e agradável presença. Pelos sorrisos, apoio e brincadeiras. Por remar junto e jamais permitir que deixasse o barco naufragar.

A Prof<sup>a</sup> Dra Marilene Cavalcanti, pela oportunidade iniciar na pesquisa acadêmica.

“Tudo o que um sonho precisa para ser realizado é de alguém que acredite que ele possa ser realizado”. Roberto Shinyashiki

As Prof<sup>a</sup> Dra Tereza Correia e Prof<sup>a</sup> Dra Márcia Vanusa por terem aceito a orientação e confiança depositada neste trabalho, por me deixar a vontade para seguir com meus próprios

passos, me auxiliando sempre que necessário. Por permitirem a realização de um sonho, por acreditar!

A André Aires, André Ricardo, Carlos e Renata amigos incondicionais que sempre me impulsionaram em todos os momentos; Vocês são a extensão da minha família. Saber que posso contar com vocês me faz caminhar com confiança. Obrigada por tudo!

A Evellyne não tenho palavras para agradecer todo carinho, ajuda e amizade. Você foi fundamental para o desenvolvimento e conclusão deste trabalho. Obrigada!

Aos amigos da Pós-Graduação, em especial Ana Lygia, Louise, Amanda, Priscilla, Alberto, Clarissa, Silvanny e Annielle pelo companheirismo e apoio nessa caminhada, proporcionando momentos alegres.

Aos Funcionários do Departamento de Bioquímica, em especial ao Sr. João pela ajuda na preparação dos extratos.

A Secretária da Pós Graduação Adenilda por “resolver nossas broncas” e sempre torcer por nosso crescimento pessoal e acadêmico.

A Prof<sup>a</sup> Dra Maíra Galdino e todos os colegas do Laboratório de Imunomodulação e Novas Abordagens Terapêuticas – LINAT pela agradável acolhida, em especial a Juliana Cruz, Natália Colasso e Flaviana pela fundamental ajuda no decorrer das atividades.

Aos Colegas do Grupo da Caatinga, vocês são exemplo de determinação, esforço e trabalho coletivo, Obrigada! Em especial a Jan pelo incentivo e divertidas saídas, a Clovis, Luis, Mychelly e Raiana pelas agradáveis conversas e apoio.

Aos novos colegas da São Miguel por torcerem por mim e pelas orações. As professoras Roseane Lins e Vanessa Farias pelo carinho, conversas, orientações e apoio. Por me mostrarem que estou no caminho certo e pelo exemplo de profissionais. Obrigada, vocês fizeram a diferença nesta fase final de realização deste trabalho!

A Fundação de Amparo a Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE) pela concessão da bolsa de estudo e a Rede NANOBIOTEC pelo suporte financeiro.

Gostaria de sinceramente agradecer a todos que direta ou indiretamente puderam contribuir não só com o desenvolvimento deste trabalho, mas, principalmente, com o meu amadurecimento pessoal e profissional.

**MUITO OBRIGADA!**





## RESUMO

O estresse oxidativo produzido no organismo relaciona-se com o aparecimento ou desenvolvimento de uma série de patologias. Os compostos fenólicos, presentes nos vegetais, são capazes de neutralizar as estruturas radicalares diminuindo o risco do surgimento de doenças associadas a eles. O presente trabalho objetivou-se avaliar as Atividades Antioxidantes e Antiinflamatória de plantas do Semiárido Pernambucano. Foram obtidos extratos com diferentes polaridades (Aquoso, Metanólico e Acetato de Etila) das cascas de *Commiphora leptophloeos*, *Myracrodruon urundeuva* e *Anadenanthera colubrina*. Todos os extratos foram avaliados quanto à atividade antioxidante *in vitro* pelos ensaios Fوسفomolibdênio, DPPH-2,2-difenil-1-picril-hidrazila, Peróxido de Hidrogênio, Sequestro do Oxido Nítrico e Superóxido e apresentaram expressiva atividade antioxidante. Das três espécies o extrato Metanólico destacou-se apresentando melhores atividades antioxidantes. Também foi avaliado o teor de fenóis totais dos extratos. Os extratos metanólicos apresentaram melhores resultados e os aquosos pequenas quantidades de fenóis. Houve a avaliação qualitativa desses compostos nas espécies de *Commiphora leptophloeos* e *Myracrodruon urundeuva* através do HPLC encontrando-se Ácido Gálico, Ácido Protocatecuico e Ácido Clorogênico para *C. leptophloeos* e Ácido Gálico, Ácido Catecuico, Ácido Protocatecuico Ácido Fumárico e Ácido Clorogênico *M. urundeuva*; Na quantificação proteica dos extratos aquosos, *Myracrodruon urundeuva* apresentou uma maior quantidade de proteínas, seguida de *Commiphora leptophloeos* e *Anadenanthera colubrina*. Na avaliação da atividade hemolítica dos extratos, apenas o extrato acetato de etila de *C. leptophloeos* apresentou toxicidade. Para a atividade anti-inflamatória *in vitro* foi realizada a dosagem do Interferon-gama (IFN- $\gamma$ ) nas concentrações de 1, 10 e 100  $\mu\text{g/ml}$  dos extratos de *C. leptophloeos* onde os extratos metanólicos, acetato de etila e aquoso inibiram a produção IFN- $\gamma$  em seguida houve a avaliação da viabilidade celular através pelo método brometo de [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio] (MTT) nas concentrações de 100 e 200  $\mu\text{g/ml}$ , neste ensaio, apenas o extrato metanólico mostrou-se viável. Os resultados demonstram que todos os extratos possuem atividade antioxidante *in vitro*. Quanto a atividade anti-inflamatória, os resultados preliminares demonstram que *Commiphora leptophloeos* possui potencial ação anti-inflamatória.

**Palavras-chaves:** Antioxidante, Caatinga, Produtos naturais, compostos fenólicos

## Abstract

The oxidative stress produced by the organism is related to the appearance and development of a series of pathologies. The phenolic compounds, present in plants, are capable of neutralizing the radical structures lessening the risk of a disease associated to them appear. The present essay had the objective to evaluate the antioxidant activity and anti-inflammatory of plants from the semiarid Pernambuco. Were obtained extracts with different polarities (Aqueous, Methanolic and Ethyl Acetate) from the shells of *Commiphora leptophloeos*, *Myracrodruon urundeuva* e *Anadenanthera colubrine*. All the extracts were evaluated as antioxidant activity *in vitro* with essays of radical scavenger of phosphomolybdenum, DPPH (2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl), Hydrogen Peroxide, Nitric Oxide and Superoxide. They presented expressive antioxidant activity, among them the Methanolic Extract stood out in the analyzed species. Was also evaluated the total phenols of them. The Methanolic Extracts showed better results and the Aqueous had a low amount of phenols. Through liquid chromatography with high efficiency (HPLC), the phenols were evaluated qualitatively, observing the presence of Gallic Acid, Protocatechuic Acid, Fumaric Acid and Chlorogenic Acid in the *M. urundeuva*; In the protein quantification of aqueous extracts, *Myracrodruon urundeuva* showed a larger amount of proteins, followed by *Commiphora leptophloeos* and *Anadenanthera colubrine*. In the evaluation of hemolytic activity, only the ethyl acetate extract obtained from *C. leptophloeos* showed toxicity. For the anti-inflammatory activity *in vitro* was performed the dosage of Interferon-gama (IFN-  $\gamma$ ) in concentrations of 1, 10 and 100  $\mu\text{g/ml}$  from the extracts of *C. leptophloeos* where the methanolic, ethyl acetate and aqueous extracts inhibited the production of IFN- $\gamma$ . Soon after was evaluated the cell viability through the method of bromide [3-(4,5- dimethylthiazol -2-il)-2,5- diphenyltetrazolium] (MTT) in concentrations of 100 and 200  $\mu\text{g/ml}$ . In this essay, only the methanolic extract promoted the cell viability. The results shows that all the extracts have antioxidant activity *in vitro*. As for the anti-inflammatory activity, the preliminary results demonstrate that the *Commiphora leptophloeos* has anti-inflammatory potential.

**Keywords:** antioxidant, Caatinga biome, natural products, phenolic content.

## LISTA DE FIGURAS

|                                                                                                                                                                                                  |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>FIGURA 1:</b> Região do semi-árido nos períodos seco(a) e chuvoso(b)                                                                                                                          | 13 |
| <b>FIGURA 1:</b> Espectro de doenças humanas que podem ser desencadeadas pelo excesso de espécies reativas de oxigênio. (Adaptada de HALLIWEL, 1987 e HALLIWELL & GUTTERIDGE, 2000).             | 16 |
| <b>FIGURA 3 A,B:</b> Árvore de <i>Anadenanthera colubrina</i>                                                                                                                                    | 23 |
| <b>FIGURA 4,A,B,C:</b> <i>Commiphora leptophloeos</i> (Mart.) J. B. Gillett.                                                                                                                     | 25 |
| <b>Capítulo 1 - Antimicrobial, antioxidant effects of <i>Myracrodruon urundeuva</i> bark and its capacity to enhance the erythromycin activity against <i>Staphylococcus aureus</i> activity</b> |    |
| <b>FIGURE 1:</b> UFLC Analysis of <i>Myracrodruon urundeuva</i> bark                                                                                                                             | 52 |
| <b>ANEXOS</b>                                                                                                                                                                                    |    |
| <b>FIGURA 4:</b> Viabilidade dos extratos de <i>Commiphora leptophloeos</i>                                                                                                                      | 60 |

## LISTA DE TABELAS

### **Capítulo 1**Antimicrobial, antioxidant effects of *Myracrodruon urundeuva* bark and its capacity to enhance the erythromycin activity against *Staphylococcus aureus* activity

|                                                                                                 |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>TABELA 1:</b> Antimicrobial activity of MuBME against selected pathogens.                    | 50 |
| <b>TABELA2:</b> Effects of MuBME and Erythromycin combination against <i>S. aureus</i> strains  | 51 |
| <b>TABELA 3:</b> : Phenolic and Flavonoid contents, antioxidant and hemolytic activity of MuBME | 51 |

### **ANEXOS: RESULTADOS COMPLEMENTARES**

|                                                                                                                                                                                 |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>TABELA 1:</b> Fenóis Totais de <i>Anadenanthera colubrina</i> e <i>Myracrodoun urundeuva</i>                                                                                 | 56 |
| <b>TABELA 2:</b> Atividades antioxidante de <i>Anadenanthera colubrina</i> e <i>Myracrodoun urundeuva</i>                                                                       | 58 |
| <b>TABELA 3:</b> Concentração Proteica e Atividade hemaglutinante de extratos de <i>Anadenanthera colubrina</i> , <i>Commiphora leptophloeos</i> e <i>Myracrodoun urundeuva</i> | 59 |

## SUMÁRIO

|                                                                                                                                                                                                       |           |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1.INTRODUÇÃO.....</b>                                                                                                                                                                              | <b>14</b> |
| <b>2.REVISÃO DE LITERATURA</b>                                                                                                                                                                        |           |
| 2.1 Plantas Medicinais da Caatinga .....                                                                                                                                                              | 16        |
| 2.2 Radicais Livres e Atividade Antioxidante .....                                                                                                                                                    | 18        |
| 2.3 Compostos Fenólicos como antioxidantes.....                                                                                                                                                       | 23        |
| 2.4 Potencial Anti inflamatório de plantas medicinais .....                                                                                                                                           | 24        |
| 2.5 <i>Anadenanthera colubrina</i> (Leguminosae- Mimosoidae).....                                                                                                                                     | 25        |
| 2.6 <i>Commiphora leptophloeos</i> (Burseraceae).....                                                                                                                                                 | 27        |
| 2.7 <i>Myracrodoun urundeuva</i> (Anacardiaceae) .....                                                                                                                                                | 28        |
| <b>3. OBJETIVOS.....</b>                                                                                                                                                                              | <b>30</b> |
| <b>4. REFERÊNCIAS .....</b>                                                                                                                                                                           | <b>31</b> |
| <b>Capítulo 1- Antimicrobial, antioxidant effects of <i>Myracrodruon urundeuva</i> bark and its capacity to enhance the erythromycin activity against <i>Staphylococcus aureus</i> activity .....</b> | <b>43</b> |
| <b>ANEXOS</b>                                                                                                                                                                                         |           |
| <b>RESULTADOS COMPLEMENTARES .....</b>                                                                                                                                                                | <b>56</b> |
| 1. Dosagem Fenólica .....                                                                                                                                                                             | 56        |
| <b>2. Atividade Antioxidante</b>                                                                                                                                                                      |           |
| 2.1 Método Fosfomolibdênio.....                                                                                                                                                                       | 56        |
| 2.2 Peróxido de hidrogênio .....                                                                                                                                                                      | 57        |
| 2.3 Ensaio da redução do radical livre DPPH .....                                                                                                                                                     | 57        |
| 2.4 Sequestro de Óxido Nítrico .....                                                                                                                                                                  | 57        |
| 2.5 Sequestro do Radical Superóxido .....                                                                                                                                                             | 58        |
| 3 Atividade Hemolítica .....                                                                                                                                                                          | 58        |
| 4. Atividade Hemaglutinante, Dosagem Protéica e Atividade Hemaglutinante específica .....                                                                                                             | 59        |

## **5. Atividade Anti-inflamatória**

|                                      |    |
|--------------------------------------|----|
| 5.1 Dosagem de Interferon- gama..... | 59 |
| 5.5 Viabilidade Celular MTT.....     | 60 |
| 7. REFERÊNCIAS.....                  | 61 |

## 1. INTRODUÇÃO

A magnitude da biodiversidade do Brasil não é conhecida com precisão tal a sua complexidade, estimando-se a existência de mais de dois milhões de espécies distintas de plantas, sendo o país com maior riqueza vegetal. Dentre os principais tipos de vegetação do semi-árido, nenhum é mais característico do que a caatinga. Ocupando uma área de aproximadamente 955.000 km<sup>2</sup>.

Apesar de a Caatinga ser o único Bioma exclusivamente brasileiro, é certamente um dos mais alterados pelas atividades humanas através dos séculos. Segundo o Ministério do Meio Ambiente é um ecossistema extremamente heterogêneo e inclui pelo menos uma centena de diferentes tipos de paisagens únicas.

Naturalmente, as plantas não têm características uniformes e os fatores ambientais são determinantes para definir essas características, e dentre esses fatores, o clima é considerado preponderante. Historicamente a região Nordeste sempre foi afetada por grandes secas ou grandes cheias. Uma das estratégias de sobrevivência dos vegetais em ambientes adversos é o aumento na síntese de produtos do metabolismo secundário os quais atuam nos mecanismos de defesa dos vegetais além de estarem envolvidos nos efeitos benéficos das plantas medicinais.

Apesar de pouco conhecida botanicamente a flora da Caatinga é bastante utilizada pelas populações locais para os mais variados fins e existe um vasto conhecimento dessa flora que tem contribuído para os cuidados básicos com a saúde dessas populações, visto que grande parte das cidades do semi-árido nordestino não tem acesso aos avanços tecnológicos da medicina.

A variedade e complexidade dos metabólitos vegetais e sua composição química, culminam em moléculas de estruturas complexas e com grande diversidade de esqueletos e grupos químicos funcionais. Dentre esses metabólitos destacam-se os compostos fenólicos, bastante presentes no nosso dia a dia, embora nem sempre nos demos conta disso. Muito do sabor, odor e coloração de diversos vegetais que apreciamos são gerados por compostos fenólicos.

Os compostos fenólicos não são apenas atrativos para nós, mas também para outros animais, os quais são atraídos para polinização ou dispersão de sementes. Além disso, esse grupo de compostos é importante para proteger as plantas contra os raios UV, insetos e micro-organismos como fungos e bactérias. Há inclusive certas espécies vegetais que desenvolveram compostos fenólicos para inibir o crescimento de outras plantas competidoras (ação alelopática).

Além de sua importância na proteção das plantas contra fatores ambientais e bióticos adversos, esses compostos agem como aceptores de radicais livres, interrompendo a reação em cadeia

provocada por estes, além de atuarem também nos processos oxidativos catalizados por metais, tanto *in vitro*, como *in vivo*

Dessa forma, as plantas da caatinga possuem características singulares, sendo excelentes alvos para a busca de novas substâncias ativas. Diante da velocidade do fenômeno de devastação deste bioma, há o risco de que muitas das propriedades medicinais dessas plantas não sejam reconhecidas, o que torna mais urgente intensificar os investimentos nessa área.

Nesse contexto, esse trabalho objetivou-se avaliar a atividade antioxidante e antiinflamatória de extratos brutos de *Commiphora leptophloeos* (Burseraceae), *Myracrodruon urundeuva* (Anacardiaceae) e *Anadenanthera colubrina* (Mimosaceae), espécies do semiárido Pernambucano. Bem como a dosagem de compostos fenólicos totais e Quantificação de proteínas dos extratos aquosos.



## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Plantas Medicinais da Caatinga

Quando se trata de regiões semiáridas, frequentemente encontramos na literatura a ideia de um contexto centrado numa visão imaginária do que na realidade que ela apresenta. Ao longo dos anos foi construída uma cultura de que é necessário o desprendimento de muito sacrifício dos que pretendem viver no semiárido. Assim, fala-se em sobrevivência em vez de viver condignamente nesta região (Andrade et al., 2010). Essa visão, superficial, é devido aos longos períodos de seca, bem como as características intrínsecas que sua flora apresenta, a qual, no período de estiagem, possui uma aparência sem vida, e que, somado aos altos índices térmicos, retrata um ambiente adverso (Figura 1a e b).

**Figura 1:** Região do semi-árido nos períodos seco(a) e chuvoso(b)



Foto: Edilberto R. Silveira

Entretanto, estudos realizados sobre a caatinga revelam que, esse bioma apresenta uma imensa importância biológica, com um considerável potencial econômico e espécies de excelente uso como forragens, frutíferas e medicinais (Albuquerque, 2001). Distribuída em uma área de aproximadamente, 900.000 km<sup>2</sup>, abrange parte dos estados do Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte,

Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Sergipe, Bahia e Minas Gerais, chegando a ocupar 54% da região Nordeste e 11% das terras brasileiras (Andrade et al., 2005) (Figura 2).

Nessa região as plantas são amplamente utilizadas na medicina popular pelas comunidades locais.

A diversidade de espécies medicinais encontradas nos biomas brasileiros constitui uma das mais importantes fontes de princípio ativo do planeta (Bieski, 2005). Recentemente, plantas medicinais têm sido foco de intenso estudo em termos de conservação e quanto ao fato dos seus usos tradicionais estarem associados aos seus reais efeitos farmacológicos, ou meramente às crenças populares (Locher et al., 1995). No Brasil, a utilização de plantas para o tratamento de doenças apresenta, basicamente, influências da cultura indígena, africana e européia (Martins et al., 2000).

É cada vez mais crescente o número de pessoas que se evadem dos tratamentos convencionais e buscam nas plantas uma forma alternativa de cura de suas patologias. Em comunidades rurais do semiárido, existe o predomínio do uso de plantas medicinais, haja vista ao hábito tradicional das pessoas buscarem a cura de suas enfermidades aproveitando os recursos existentes em seu ambiente. Isso se dá em virtude da pouca disponibilidade de recursos financeiros para deslocamento até a cidade mais próxima, pagamento de consultas médicas e a compra de medicamentos em farmácias convencionais (Guerra et al., 2010), bem como, devido a ineficácia do sistema de saúde pública.

Mais de 80% da população nos países em desenvolvimento dependem das plantas para suas necessidades médicas (Farnsworth, 1988 e Balick et al., 1994). Tradições de coleta, tratamento e aplicação de medicamentos à base de plantas têm sido transmitidas de geração a geração. Em todo o mundo, as plantas são utilizadas tradicionalmente para o tratamento de muitas doenças, principalmente doenças infecciosas, como diarreia, febre e resfriados (Mitscher et al., 1987). Devido a esta forte dependência das plantas como medicamentos, é importante estudar sua segurança e eficácia (Farnsworth, 1994).

Especificamente a respeito da Caatinga, o crescente interesse no uso das suas espécies vegetais medicinais evidencia sua potencialidade como ecossistema fornecedor de propriedades fármaco-ativas. Muitos vegetais lá estabelecidos podem desenvolver caracteres morfológicos em resposta às pressões exercidas pelos diferentes fatores, como o aumento do acúmulo de compostos fenólicos em seus tecidos (Bussotti *et al.*, 1997) e em células especializadas, como os tricomas (Alaimo, 2005).

Acerca do potencial biológico desses vegetais, a atividade antioxidante ganhou um interesse maior nestes últimos anos por causa do papel que desempenham na prevenção de doenças crônicas – como doenças cardíacas, câncer, diabetes, hipertensão, acidente vascular cerebral e doença de

Alzheimer – através do combate o estresse oxidativo (Liu, 2003; Riboli & Norat, 2003; Cole et al., 2005). A substância ativa presente em uma planta medicinal exerce um melhor efeito sobre o organismo humano, quando comparada com a mesma substância obtida através de síntese química (Barraca, 1999).

Desse modo, algumas vantagens justificam a utilização dos fitoterápicos: o efeito sinérgico, ou seja, as plantas apresentam vários compostos com efeitos similares; a associação de mecanismos por compostos agindo em alvos moleculares diferentes; menores riscos de efeitos colaterais, uma vez que os compostos ativos se apresentam em concentrações reduzidas nas plantas; e, menores custos de pesquisa (Yunis et al., 2001).

No entanto, uso não planejado dos recursos oferecidos pelo Bioma Caatinga tem proporcionado à fragmentação da sua cobertura vegetal (Oliveira et al., 2009). Ocasionalmente um acentuado processo de degradação, provocada principalmente pelo desmatamento, ocupação de áreas com atividades agrícolas e de pecuária e uso inadequado dos recursos naturais (Drumond et al., 2000).

Apesar do mercado promissor, elevado potencial fitoterápico das espécies da caatinga e das plantas serem utilizadas pela comunidade como medicamento eficaz e inofensivo, a determinação da real potencialidade fitoterápica e eventual toxicidade dessas espécies deve ser efetuada por meio de investigações fitoquímicas e farmacológicas específicas. Frank-De-Carvalho e Graciano-Ribeiro, 2005, demonstrando a necessidade de mais investigações e pesquisas nessa linha.

## **2.2 Radicais Livres e Atividade antioxidante**

Radical livres são moléculas orgânicas e inorgânicas que contêm um ou mais elétrons desemparelhados (Halliwell, 1994), também conhecidas por Espécies Reativas de Oxigênio (EROs). A configuração química destas moléculas as torna altamente instáveis, com meia-vida curta e quimicamente muito reativas.

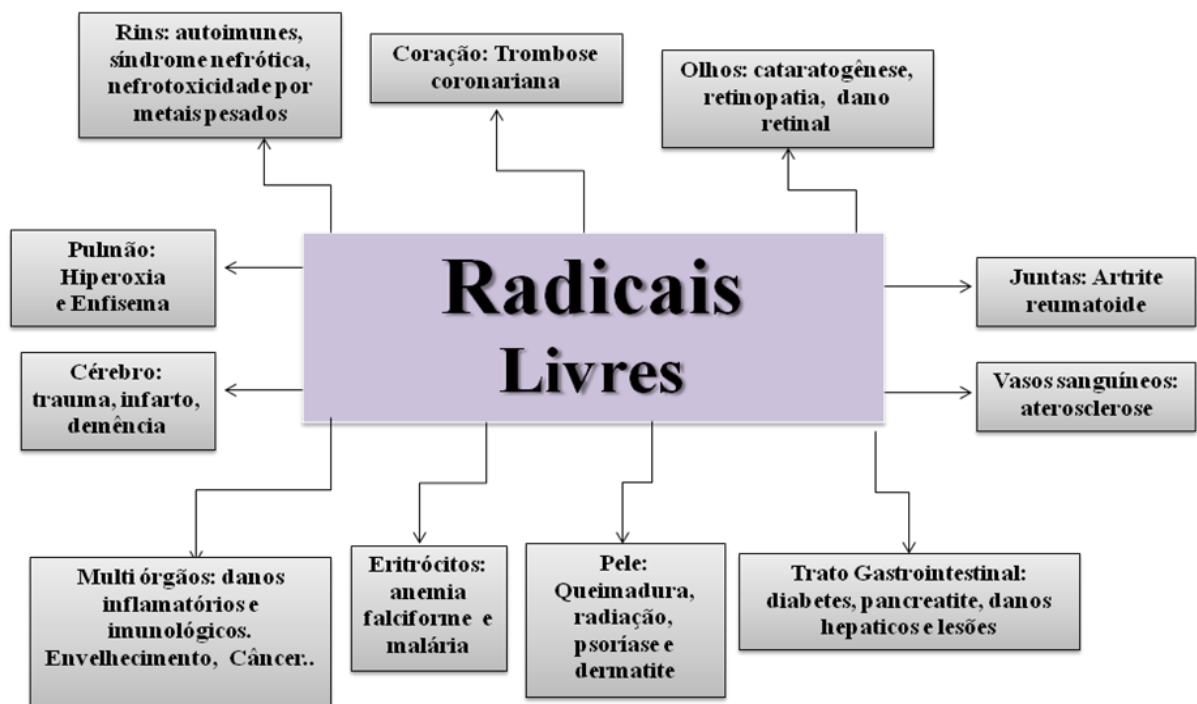
A geração desses radicais constitui uma ação contínua e fisiológica, cumprindo funções biológicas essenciais. São formados em reações de óxido-redução, provocando ou resultando essas reações. Podem ceder o elétron solitário e serem oxidados; ou podem receber outro elétron e serem reduzidos (Pompella, 1997).

As EROs podem ser geradas por fontes endógenas (redução de flavinas e tiois; resultado da atividade de oxidases, ciclooxigenases, lipoxigenases, desidrogenases e peroxidases; presença de metais de transição no interior da célula e de sistemas de transporte de elétrons) ou exógenas (tabaco, poluição do ar, solventes orgânicos, anestésicos, pesticidas e radiações) (Soares, 2002).

Elas são produzidas para ajudar na manutenção da homeostase celular ou regulação de reações de redução e oxidação (redox) em tecidos saudáveis (Devasagayam et al., 2004). Estes radicais, em baixas concentrações, podem atuar de maneira benéfica em defesa contra agentes infecciosos, formação de ATP através de ADP na mitocôndria, regulação do crescimento celular e produção de oxigenases (lipooxigenase e ciclooxigenase) para formação de prostaglandinas e leucotrienos.

No entanto, produção descontrolada de radicais e EROs ou a deficiência de mecanismos de defesa devido à desnutrição podem ser prejudiciais e, consequentemente, induzir a oxidação de lipídios de membrana, proteínas, enzimas, carboidratos e DNA, prejudicando o equilíbrio e gerando o estresse oxidativo ou danos oxidativos (Valko et al., 2007; Pietta, 2000; Langseth, 2000; Halliwell, 1994). O dano causado a esses componentes celulares se acumula, com o passar dos anos, e contribui para a degeneração de células somáticas e indução de doenças crônico-degenerativas como câncer, aterosclerose, doenças inflamatórias, Parkinson, Alzheimer e catarata (Scalbert et al., 2005; Langseth, 2000) (Figura 2) . Por isso, em sistemas biológicos existe um equilíbrio entre os fatores que promovem a oxidação e os mecanismos antioxidantes de defesa.

**Figura 2:** Espectro de doenças humanas que podem ser desencadeadas pelo excesso de espécies reativas de oxigênio. (Adaptada de HALLIWEL, 1987 e HALLIWELL & GUTTERIDGE, 2000).



Os Antioxidantes são moléculas capazes de estabilizar ou desativar radicais livres antes do “ataque” celular. Podendo ser classificados em: antioxidantes primários, aqueles que interrompem a cadeia de reações envolvidas na oxidação lipídica através da doação de elétrons ou hidrogênio aos radicais livres convertendo-os em produtos mais estáveis termodinamicamente, e antioxidantes secundários, aqueles compostos que reduzem ou retardam a taxa de iniciação da oxidação por decompor hidroperóxidos (Shahidi e Naczk, 2004). A presença destas moléculas não está relacionada diretamente com o dano, mas a sua formação indica que a oxidação já ocorreu e que sua decomposição por metais pode dar origem a espécies reativas.

Os seres humanos desenvolveram mecanismos antioxidante de defesa contra os radicais livres, como as enzimas glutathione peroxidase (GPx), catalase (CAT) e a superóxido dismutase (SOD), que metabolizam superóxidos, peróxido de hidrogênio e seróxido de lipídios, prevenindo, a formação de  $\cdot\text{OH}$ . Entretanto, sob a exposição ao álcool, medicamentos, traumas, infecções, toxinas, radiação, dietas pobres em antioxidantes (como o ácido ascórbico, vitamina E, e carotenoides) ou atividade física árdua, a defesa antioxidante endógena não é suficiente para neutralizar o estresse oxidativo, necessitando da proteção de antioxidantes provenientes da dieta-exógenos (Kaliora, Dedoussis e Schmidt, 2006), como os inibidores de enzimas oxidativas (ciclooxigenase), alguns cofatores enzimáticos, sequestrantes de ERO/ERN e os quelantes de metais de transição (Huang et al., 2005; Pietta, 2000; Langseth, 2000).

Sendo assim, a terapia antioxidante é uma importante ferramenta no tratamento de desordens mediadas por radicais livres (Briante et al., 2002). Entretanto, antioxidantes sintéticos têm apresentados elevados efeitos adversos, limitando seu uso em muitos países. Tendo em vista os indícios de problemas que podem ser provocados pelo consumo de antioxidantes sintéticos, pesquisas têm sido desenvolvidas no sentido de encontrar antioxidantes provenientes de fontes naturais, que possam atuar sozinhos ou sinergicamente com outros aditivos, como alternativa para prevenir a deterioração oxidativa de alimentos e limitar o uso dos antioxidantes sintéticos (Duran e Padilla, 1993).

Nesse contexto, os vegetais constituem uma importante fonte de produtos naturais ativos que diferem em estruturas e propriedades biológicas. A determinação da atividade antioxidante de produtos naturais teve início com Chipault *et al.* (1952) em especiarias, como o alecrim e a salvia ingredientes utilizados em alimentos desde os primórdios da história.

Nós últimos anos, a ingestão de vegetais, frutas ou chás como fonte de antioxidantes naturais tem resultado na prevenção de câncer e doenças cardiovasculares (Johnson, 2001; Virgili et al., 2008) e no baixo risco de mortalidade por essas doenças (LIM et al., 2002) como também o

diabetes (McCunne e Johns, 2002), hipertensão (Ajith e Janardhanan, 2002) e aterosclerose (Braca et al., 2002).

Diversos autores (Deepa et al, 2009; constataram que espécies vegetais são ricas em compostos antioxidantes, incluindo espécies de *Commiphora*, *Myracrodoum* e *Anathnantera*.

Todavia, a quantidade destas substâncias em vegetais é amplamente influenciada por diversos fatores: genéticos, condições ambientais, grau de maturação e variedade da planta, entre outros. O substrato utilizado no ensaio, o solvente e técnica de extração utilizada, também, são fatores que influenciam a capacidade antioxidante (Moure et al, 2001; Naczk e Shahidi, 2004).

No que se referem aos solventes, frequentemente são usadas soluções aquosas de etanol, metanol e acetona, entre outras, em diferentes concentrações, cuja eficácia depende da polaridade dos polifenóis presentes na amostra, bem como, do grau de polimerização e da sua interação com os outros constituintes (Naczk e Shahidi, 2004). Além disso, recomenda-se a combinação de pelo menos dois ciclos de extração, de modo a garantir a eficácia do processo, permitindo extrair compostos com diferentes estruturas químicas (Perez-Jimenez et al., 2008).

A diversidade química existente entre os compostos antioxidantes, em especial entre os compostos fenólicos, impõe a necessidade de avaliar a capacidade antioxidante por diversos ensaios, com mecanismo de ação diferente. Neste sentido, vários ensaios têm sido desenvolvidos, os quais diferem tanto em relação ao mecanismo de reação, como no que se referem às espécies-alvo, as condições em que ocorre a reação e na forma de expressar os resultados.

Dentre os métodos que determina a habilidade dos antioxidantes em sequestrar radicais, destacam-se: Determinação de fenólicos totais, Método de Complexação do Fosfomolibdênio, DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila), Peróxido de Hidrogênio, Óxido nítrico, radical Superóxido entre outros.

A quantificação de compostos fenólicos é realizada por meio de uma variedade de técnicas, todavia, a que utiliza o reagente de Folin-Ciocalteu está entre as mais extensivamente utilizadas (Valko et al., 2005; Naczk, 2004, Bonoli et al., 2004; Hou et al, 2003, Roginsky, Lissi, 2005). O reagente consiste de mistura dos ácidos fosfomolibídico e fosfotungstístico, no qual o molibdênio e o tungstênio encontram-se no estado de oxidação  $6^+$ , em presença de redutores, como os compostos fenólicos, formam-se os chamados molibdênio azul e tungstênio azul, nos quais a média do estado de oxidação dos metais está entre 5 e 6 e cuja coloração permite a determinação da concentração das substâncias redutoras, que não necessariamente precisam ter natureza fenólica (Naczk, 2004, Atoui et al, 2006). Atualmente, este é um dos métodos preconizados para avaliar a capacidade antioxidante através do poder redutor de extratos de amostras vegetais (Prior et al., 2005). Como ele não é específico para compostos fenólicos, existe a possibilidade de ser reduzido por outros

compostos, como o ácido ascórbico levando, portanto, a uma superestimação dos resultados (Huang et al., 2005; Genovese et al., 2003).

O método de complexação do fosfomolibdênio, descrito por Prieto (1999), fundamenta-se na redução do molibdênio (VI) a molibdênio (V) ocorrida em presença de determinadas substâncias com capacidade antioxidante, com formação de um complexo verde entre fosfato/molibdênio (V), em pH ácido, o qual é determinado espectrofotometricamente a 695 nm.

Um dos métodos mais utilizados para determinar a atividade antioxidante em extratos é a avaliação da atividade sequestradora do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazila – DPPH. Este método baseia-se na transferência de elétrons de um composto antioxidante para um oxidante (Duarte-Almeida et al., 2006).

O DPPH é reduzido formando difenil-picril-hidrazina, de coloração amarela com consequente desaparecimento da absorção. Ele é um radical livre estável que, na presença de um antioxidante doador de hidrogênio, pode ser reduzido em meio alcoólico, formando difenil picrilhidrazina (Koleva et al., 2002). Esta redução pode ser verificada mediante espectrofotometria a 516 nm, pela diminuição da absorbância, com simultânea mudança de coloração violeta escura original, para amarela clara (Koleva et al., 2002). Ou seja, quanto mais DPPH for reduzido, menor a coloração violácea, consequentemente maior a atividade antioxidante da solução testada. O tempo de reação varia entre 10 a 30 minutos.

Diversas técnicas têm sido aplicadas para diferentes tipos de amostras e embora o peróxido de hidrogênio não seja considerado um radical livre, está envolvido de forma direta ou indireta em diversas patologias. A avaliação da capacidade de uma substância sequestrar o peróxido de hidrogênio, em termos químicos, é importante, pois o  $H_2O_2$  mesmo sendo fracamente reativo, exerce papel importante no estresse oxidativo por ser capaz de transpor as membranas celulares facilmente e gerar o radical hidroxil ( $\bullet OH$ ) (Aruoma et al, 1989)

Outro método de avaliação da atividade antioxidante é o sequestro de radical superóxido. Sabe-se que a produção do ânion superóxido ( $O_2^{\bullet -}$ ), é essencial para a defesa de organismos vivos e atua na transferência de sinais entre células vivas. No método utilizado para avaliar a capacidade sequestradora, o radical  $O_2^{\bullet -}$  produzido reduz nitroblue tetrazolium (NBT) a formazan em pH 7,4 e temperatura ambiente, e a geração do formazan é acompanhada por espectrofotometria pela mudança da coloração amarelo pálido do NBT para uma coloração púrpura do formazan em 560 nm. As moléculas que atuam como antioxidantes reagem com  $O_2^{\bullet -}$  inibindo a produção do formazan (Da Silva et al, 1991).

Quanto ao óxido nítrico é um importante mediador químico, permeável a membranas e capaz de reagir rapidamente com vários compostos, principalmente espécies contendo elétrons

desemparelhados, como os metais e o oxigênio molecular (Mayer; Hemmens, 1997; Nussler; Billiar, 1993; Bruckdorfer, 2005). Quando em excesso, os radicais formados pela reação do óxido nítrico com o oxigênio, podem causar danos oxidativos, sendo associado a várias doenças (Förstermann, 2010). Nessa atividade, o óxido nítrico é gerada a partir de nitroprussiato de sódio e medido pela reação Greiss. O Nitroprussiato de sódio em solução aquosa em pH fisiológico espontaneamente gera óxido nítrico (Maccocci *et al.*, 1994), que interage com o oxigênio para produzir íons nítrico, que pode ser estimada por meio reagente Greiss. Scavengers de óxido nítrico competir com o oxigênio que conduz a uma redução na produção de óxido nítrico.

As metodologias para a determinação da capacidade antioxidante são numerosas e podem estar sujeitas a interferências, por isso, preconiza-se a utilização de duas ou mais técnicas, já que nenhum ensaio usado isoladamente para determinar a capacidade antioxidante irá refletir exatamente à “capacidade antioxidante total” de uma amostra (Huang *et al.*, 2005; Prior *et al.*, 2005).

É necessário enfatizar que os ensaios realizados *in vitro* são limitados, porém importantes para verificar se há ou não correlação entre antioxidantes potentes e os níveis de estresse oxidativos (Huang *et al.*, 2005).

### **2.3 Compostos Fenólicos como antioxidantes**

Os compostos fenólicos são substâncias amplamente distribuídas na Natureza, mais de 8000 compostos fenólicos já foram detectados em plantas. Esse grande e complexo grupo faz parte dos constituintes de uma variedade de vegetais, frutas e produtos industrializados. Podem ser pigmentos, que dão a aparência colorida aos alimentos, ou produtos do metabolismo secundário, normalmente derivado de reações de defesa das plantas contra agressões do ambiente. Esses compostos agem como antioxidantes, não somente pela sua habilidade em doar hidrogênio ou elétrons, mas também em virtude de seus radicais intermediários estáveis, que impedem a oxidação de vários ingredientes do alimento, particularmente de lipídios (brand-williams; cuvelier; berset, 1995). ELES SÃO DERIVADOS DAS VIAS DO ÁCIDO CHIQUÍMICO E a via do ácido mevalônico, a qual é menos significativa. Podem ser definidos como substâncias que possuem um anel aromático com um ou mais grupos hidroxilas constituem um amplo e complexo grupo de fitoquímicos (Lee *et al.*, 2005; Martinez-Valverde, Periago e Ros, 2000). Os três maiores grupos de fenólicos da dieta são os flavonóides, os ácidos fenólicos e os polifenóis (taninos) (Shahidi e Nacz, 2004).

As evidências científicas permitem afirmar que a propriedade antioxidante dos vegetais se deve, principalmente, a seus compostos fenólicos. A estrutura molecular dos polifenóis e, mais



especificamente, a posição e o grau de hidroxilação do anel aromático tem influência direta sobre a atividade antioxidante destes compostos, bem como sobre o seu mecanismo de ação (Shahidi; Janitha; Wanasundara, 1992; Ou et al. 2002). A hidroxila existente na posição orto com o grupo metoxila, doador de elétrons, aumenta a estabilidade do radical fenoxil e a eficiência antioxidante do composto (Cuvelier; Richard; Berset, 1992).

Os ácidos fenólicos estão divididos em dois grupos. No primeiro encontram-se os derivados dos ácidos hidroxibenzoicos, estes compostos apresentam grupo carboxílico ligado ao anel aromático. Destacam-se os ácidos protocatecuico, vanílico, siringico, gentisico, salicílico e gálico como os mais comuns. No segundo grupo encontram-se os derivados dos ácidos hidroxicinâmico, Os ácidos p-cumárico, cafeico, felúrico e sináptico são os derivados dos ácidos hidroxicinâmico mais comumente encontrados no reino vegetal. A ciclização da cadeia lateral do ácido p-cumárico dá origem a um terceiro grupo de fenólicos denominados cumarinas (Soares, 2002).

Estudos realizados com os compostos fenólicos demonstram suas capacidades antioxidantes, assim como seu possível efeito na prevenção de diversas enfermidades cardiovasculares, cancerígenas e neurológicas (Harborne; Williams, 2000; Sánchez-Moreno, 2002). De maneira geral, a ação benéfica dos compostos fenólicos na saúde humana vem sendo relacionada com a sua atividade antiinflamatória e com a atividade que impede, não só a aglomeração das plaquetas sanguíneas, mas também a ação de radicais livres no organismo. Uma vez que protegem moléculas como o DNA, podem vir a abortar alguns processos carcinogênicos.

## **2.4 Potencial anti-inflamatório de plantas medicinais**

As plantas medicinais são frequentemente utilizadas com o intuito de substituir ou auxiliar as terapias convencionais no tratamento de várias doenças. Entre outros fatores, a preferência na utilização das plantas medicinais decorre da facilidade de obtenção e do baixo custo de produção. Porém, sabe-se que as plantas medicinais apresentam ampla diversidade de metabólitos secundários com diferentes atividades biológicas (Simões, 2003). Existem numerosos agentes, obtidos de fontes naturais, de grande diversidade química, que envolvem diferentes tipos de princípios ativos. Entre eles se encontram triterpenos, esteroides, lactonas, sesquiterpênicos, flavonoides, cumarinas e alcaloides que tem demonstrado atividade anti-inflamatória em vários modelos de inflamação, atuando sobre distintos mediadores deste processo (Wagner, 1989; Recio et al., 1995; Lyss et al., 1997; Pelzer et al., 1998). Isto constituiria uma fonte de descobrimento de novos agentes que poderiam exercer sua atividade anti-inflamatória por mecanismos distintos a dos fármacos AINES já existentes na terapêutica

Com relação à resposta inflamatória, esta está associada a uma série de doenças, como sepse, aterosclerose, alergias, autoimunidade, câncer (Abou-Raya, 2006), dentre outras. A inflamação é a resposta “potencialmente” protetora dos tecidos vascularizados, contra um irritante que atua no sentido de bloquear, diluir ou destruir o agente agressor, o que se traduz por migração celular intensificada através das vênulas e extravasamento de moléculas séricas, anticorpos, complemento e proteínas pelos capilares. Estes eventos são controlados pelo aumento do suprimento sanguíneo, pela vasodilatação e pelo aumento da permeabilidade capilar (Carvalho, 2002).

Ainda não se conhece uma terapia efetiva para o controle do processo inflamatório, devido à peculiaridade dos mediadores do Sistema Imune e subtipos celulares envolvidos em cada doença inflamatória (Henson, 2005). Portanto, há uma clara e evidente necessidade de se buscar novos compostos com propriedades medicinais, principalmente aqueles derivados de plantas, visando ao alcance de novos alvos terapêuticos. Estes novos compostos devem apresentar relevante atividade antiinflamatória e menos efeitos colaterais quando comparados com os corticoides, amplamente utilizados no controle das doenças inflamatórias. Como fonte destes compostos, as plantas medicinais têm sido amplamente utilizadas para obtenção de compostos para serem exploradas terapeuticamente. Extratos e óleos de várias espécies mostraram-se eficientes no controle de fungos relacionados a infecções da pele, com ação sobre bactérias patogênicas bucais e sobre uma variedade de bactérias Gram-negativas e Gram-positivas (Duarte, 2005).

Diante deste cenário, torna-se de grande importância o investimento em coleta, identificação e caracterização de novas moléculas derivadas de plantas como potenciais fármacos a serem empregados na terapia de inúmeras doenças inflamatórias e/ou infecciosas.

## **2.5 *Anadenanthera colubrina* (Leguminosae - Mimosoideae)**

A família Leguminosae é a terceira maior família das Angiospermas com aproximadamente 650 gêneros e cerca de 18.000 espécies. Possui uma grande diversidade morfológica e taxonômica e ampla distribuição entre os ecossistemas mundiais (Morim, 2002).

Segundo a APG II (2003), essa família possui três subfamílias (Mimosaceae, Fabaceae e Caesalpiniaceae). A subfamília Mimosaceae possui cerca de 78 gêneros e 3.270 táxons específicos (Lewis et al. 2005). Sendo uma subfamília abundante no Nordeste brasileiro (Tucker, 2003).

Têm sido descrito em espécies de Mimosaceae diversos metabolitos secundários como: flavonoides ( flavonóis, flavonóis glicosados, flavonas, isoflavonas, chalconas ) (Harbone,

1971), antraquinonas, diterpenos, sesquiterpenos, triterpenos, glicosídeos cianogênicos (Wink, 2003).

O gênero *Anadenanthera* apresenta duas espécies: *Anadenanthera peregrina* e *Anadenanthera colubrina* com distribuição desde as Antilhas, Norte da América do Sul, Peru, Bolívia, Argentina, Brasil e Paraguai (Lewis et al. 2005).

*Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan (Leguminosae – Mimosideae), conhecida popularmente por angico-branco ou angico-liso, apresenta o hábito arbóreo com 15 a 23 m de altura, sendo uma espécie decídua, heliófita e pioneira (Figura 3-4)

**Figura 3A, B:** Árvore de *Anadenanthera colubrina*



Segundo Morim (2002) possui ampla distribuição ocorrendo frequentemente em Restinga, Floresta Estacional, Campo Rupestre, Cerrado e Caatinga nos estados: Mato Grosso, Maranhão, Piauí, Ceará, Pernambuco, Bahia, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo e Paraná; além do Brasil é citada a ocorrência também na Guiana, Peru, Bolívia, Paraguai e Argentina.

Quanto à utilização de *A. colubrina* no cotidiano humano, destaca-se o uso da casca para o tingimento de redes de pesca (Oliveira, 2001), utilização como remédio no combate a diarreias, dismenorrias e úlceras, além de ser utilizada como anti-inflamatório (Lima, 1989). A extração de compostos tânicos são usados na produção de fármacos (Monteiro, 2005). Suas folhas são ditas como tóxicas para o gado, mas se fenadas ou secas, constituem uma boa forragem (Lima, 1989). Sua madeira densa, compacta, de grande durabilidade sob condições naturais, é próprio para a construção civil e naval, para a produção de vigas e assoalhos, na confecção de dormentes, móveis (Lima, 1989), na marcenaria, carpintaria, para lenha e carvão como também para pavimentação

(Lewis et al. 2005). Do tronco pode ser extraída uma resina avermelhada que é indicada no tratamento de várias afecções do sistema respiratório, como tosse e bronquite.

Da Silva et al. (2011) estudando extrato hidroalcoólico de frutos desta espécie constatou alta dosagem de compostos fenólicos bem como, grande potencial antioxidante.

## 2.6. *Commiphora leptophloeos* (Burseraceae)

A família *Burseraceae* é composta por árvores e arbustos com distribuição geográfica em regiões tropicais e sub-tropicais (Watson E Dallwitz, 1992). A casca das árvores desta família é conhecida principalmente pela produção de resinas perfumadas de valor econômico, medicinal e cultural (Langenheim, 2003), como também pela produção de óleos essenciais.

Essa família consiste em cerca de 700 espécies de 18 gêneros, dos quais *Commiphora* é um deles. Tradicionalmente espécies desse gênero são utilizadas como agente anti-séptico, anti-inflamatória, antimicrobiano, tratamento da dor de garganta, aftas e gengivite, estimulante e agente hipolipidêmico (Urizar et al, 2002; Ulbright et al, 2005), tratamento de feridas e úlceras, especialmente infecções da boca e garganta, gomas (Vanwyk e Wink, 2004).

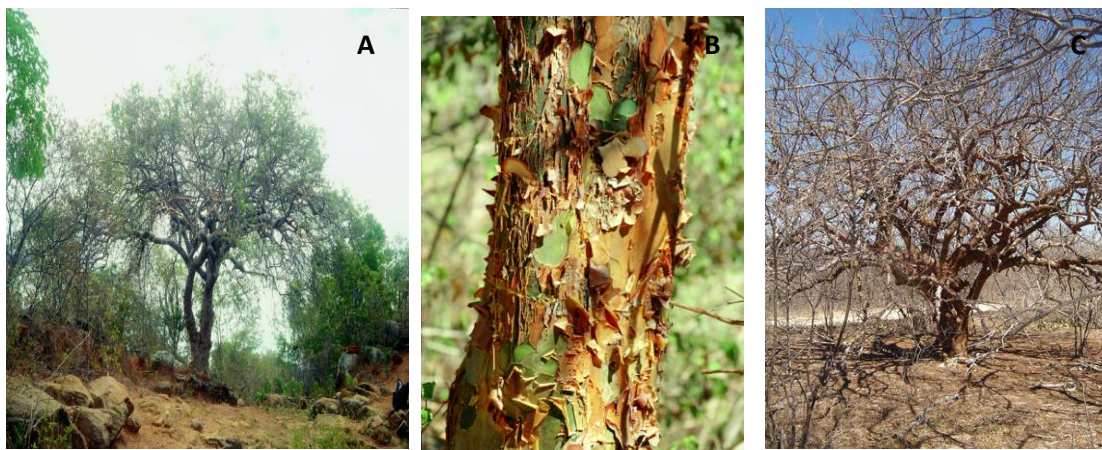
Estudo de diversos autores sobre a fitoquímica de espécies de *Commiphora* identificou a presença de triterpenos (Dekebo et al, 2002a;. Dekebo et al, 2002b;. MANGURO et al, 2003), furanosesquiterpenos (Manguro et al., 1996), ligninas (Provan E Waterman, 1985;. Dekebo et al, 2002c), flavanonas (FATOPE et al, 2003), sesquiterpenos (Andersonn et al., 1997) e esteróides (Bajaj E Dev, 1982). Ressaltando assim, o grande potencial biotecnológico deste gênero como fonte de novos compostos bioativos.

De acordo com o sistema de classificação baseado no The Angiosperm Phylogeny Group (APG) II (2003), *Commiphora leptophloeos* pertence à Divisão das Angiospermas, Clado Eurosídeas II, Ordem Sapindales com primeira publicação em *Kew Bull.* 34 (3): 582 (1980) e classificação atual *Commiphora leptophloeos* (Mart.) J. B. Gillett. Gillett (1980) mostrou a necessidade de se reavaliar as diferenças entre *Bursera* e *Commiphora*; assinalando a presença do último gênero na América do Sul e transferiu *Bursera leptophloeos* Mart., uma espécie brasileira distribuída principalmente no nordeste, para *Commiphora*.

Conhecida popularmente como imburana, imburana-de-cambão e umburana (Braga, 1996), *Commiphora leptophloeos* é uma árvore de pequeno porte, de comportamento decíduo. Sua casca mede até 0,63 cm de espessura, a casca externa ou ritidoma é lisa, lustrosa, desprendendo-se em lâminas delgadas, revolutas, muito irregulares e características( Figuras 4 a,b,c).

**Figura 4,A,B,C:** *Commiphora leptophloeos* (Mart.) J. B. Gillett.

Fonte: <http://www.cnip.org.br/bdpn/ficha.php?cookieBD=cnip7&taxon=1182>



Conforme a idade da casca, a cor varia do verde, quando jovem, a laranja-avermelhada quando envelhecida, e plúmbea nos momentos de maior rigor das secas ou em árvores tendentes a morrer.

Suas folhas são forrageiras, tanto verdes como secas. O pólen e néctar são aproveitados pelas abelhas e, nos troncos ocos, abriga abelhas nativas selvagens, os frutos são comestíveis quando bem maduros, com uma polpa agridoce; a casca e a semente dessa espécie são usadas na forma de garrafadas e de xaropes no tratamento de doenças do estômago, enjoo e tosse (Agra, et al 2007). O infuso, o decocto e o xarope da casca do caule são usados como tônico e cicatrizante no tratamento de feridas, gastrite e úlcera, bronquites e inflamações do trato urinário. Das sementes se extrai um óleo medicinal. Em Alagoas e em Sergipe, os índios das tribos *kariri-shokó* e *shokó* usam a casca e a madeira como incenso para combater diabete, diarreia ou hipertermia (Carvalho, 2008).

## 2.7 *Myracrodoum urundeuva* (Anacardiaceae)

*Myracrodruon urundeuva* Fr. All (aroeira-do-sertão) é uma espécie pertencente à família Anacardiaceae, que apresenta larga distribuição geográfica, podendo ser encontrada no México, Argentina, Bolívia e Paraguai.

No Brasil, essa espécie ocorre principalmente na Região Nordeste, podendo atingir entre 5 e 20 m de altura na Caatinga, no Cerrado e em zonas de transição Cerrado, Floresta Estacional e até 35 m nas Florestas Pluviais (Aweb, 2004). A madeira apresenta grande resistência mecânica sendo praticamente imputrescível, e largamente utilizada na construção civil como vigas, ripas, caibros e tacos para assoalho (Lorenzi, 1998).

Além disso, são atribuídas atividades medicinais a essa espécie, no tratamento de hemorragias, infecções respiratórias, urinárias e distúrbios no sistema digestório (Matos, 1999). Alguns estudos (Rodrigues, 1999; Albuquerque et al., 2004) têm comprovado efeitos

antiinflamatórios, antiulcerogênico, anti-histamínico, antibradicinina e analgésico. Assim, a planta pode ser utilizada no tratamento de várias afecções, principalmente ginecológicas e ferimentos cutâneos.

Quanto aos taninos, Lorenzi & Matos (2002) indicam a presença dos tipos catéquico e pirogálicos, encontrados na periderme do caule de *Myracrodruon urundeuva* Allemão, substâncias ativas que justificam o emprego desse vegetal como recurso medicinal. Além dos taninos encontrados na periderme do caule de *Myracrodruon urundeuva*, indicam a presença de chalconas diméricas e outros flavonóides, todos biologicamente ativos. A análise fitoquímica do caule e da folha de indivíduos jovens e adultos de *Myracrodruon urundeuva* permitiu constatar-se que as partes analisadas possuem compostos semelhantes quanto à presença de flavonóides, mono e sesquiterpenos, triterpenos e esteróides, proantocianidinas condensadas e leucoantocianidinas, além de açúcares. Derivados cinâmicos estiveram presentes apenas no caule. (Silva et al, 2008)

A parte utilizada na preparação dos remédios foi a casca, o que vem sendo confirmado pela literatura (Almeida & Albuquerque 2002; Albuquerque et al. 2007; Oliveira et al. 2007). Como essa espécie está no domínio da caatinga, a qual sofre variações climáticas e um efeito muito forte da sazonalidade, é natural que as pessoas utilizem a casca, pois ela encontra-se disponível o ano todo, enquanto as folhas só aparecem na época de chuvas.

Entretanto o uso medicinal, mesmo não sendo madeireiro, tem trazido consequências e ameaças à população de *M.urundeuva* no Nordeste, levando à extinção local em algumas regiões, devido a uma grande quantidade de cascas retiradas para atender a demanda do mercado de fitoterápicos, tantos nos mercados informais e feiras livres, como em mercados industrializados e farmácias de manipulação (Albuquerque et al. 2007). Algumas pesquisas têm registrado grandes quantidades de casca dessa espécie nos mercados públicos, mas especificamente, na parte destinada ao comércio de plantas e animais medicinais (Almeida & Albuquerque 2002; Albuquerque et al. 2007).

### 3.OBJETIVOS

#### 3.1 Geral:

- Investigar os componentes químicos do extrato das folhas de *Alternanthera brasiliana* e seu potencial bioativo: Atividade antioxidante e antimicrobiana *in vitro*.

#### 3.2 Específicos:

- Preparar os extratos das folhas da *Alternanthera brasiliana*;
- Caracterizar as substâncias químicas encontradas nos extratos das folhas de *A. brasiliana*;
- Avaliar a atividade antioxidante do extrato aquoso das folhas de *A. brasiliana*;
- Avaliar a atividade antimicrobiana do extrato aquoso das folhas de *A. brasiliana*;
- Avaliar a toxicidade letal do extrato aquoso das folhas de *Alternanthera brasiliana*.

#### 4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABOU-RAYA, A. A. R. S. Inflammation: a pivotal link between autoimmune diseases and atherosclerosis. **Autoimmun Rev** ;v.5 (5), p. 331-7, 2006.
- AGRA MF, FREITAS PF, BARBOSA-FILHO JM 2007a. Sinopse das plantas conhecidas como medicinais e venenosas no Nordeste do Brasil. *Rev Bras Farmacogn* 17 : 114-140.
- AJITH, T. A.; JANARDHANAN, K. K. Antioxidant and antihepatotoxic activities of *Phellinus rimosus* (Berk) Pilat. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 81, p. 387-391, 2002.
- ALAIMO, M.G.; VIZZI, D.; MELATI, M.R. Histochemical properties and trace element concentrations in *Parietaria* L. from urban sites (Palermo, Italy). **Aerobiologia**, v. 21, n. 1, p. 21–31, 2005.
- ALBUQUERQUE, U. P. Uso, manejo e conservação de florestas tropicais numa perspectiva etnobotânica: o caso da caatinga no estado de Pernambuco. 2001. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Pernambuco, Recife
- ALBUQUERQUE, R. J. M.; RODRIGUES, L. V.; VIANA, G. S. B. Análise clínica e morfológica da conjuntivite alérgica induzida por ovalbumina e tratada com chalcona em cobaias. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 19, n. 1, p. 43-68, 2004.
- ALBUQUERQUE, U.P.; MEDEIROS, P.M.; ALMEIDA, A.L.S.; MONTEIRO, J.M.; LINS NETO, E.M.F.; MELO, J.G. & SANTOS, J.P.** 2007. Medicinal plants of the caatinga (semi-arid) vegetation of NE Brazil: a quantitative approach. *Journal of Ethnopharmacology* 114: 325–354
- ALMEIDA, C. F. C. B. R. & ALBUQUERQUE, U. P. Uso e conservação de plantas e animais medicinais no Estado de Pernambuco (Nordeste do Brasil): Um estudo de caso. **Interciência**, v.27, n. 6, p. 276 – 285, 2002.



ANDERSONN, M., BERGENDORFF, O., SHAN, R.D., ZYGMUNT, P. AND STERNER, O. 1997. Minor components with smooth muscle relaxing properties from scented myrrh (*Commiphora guidotti*). *Planta Medica* **63**: 251-254.

ANDRADE, A. P. de.; COSTA, R. G. da.; SANTOS, E. M.; SILVA, D. S. da. Produção animal no semiárido: o desafio de disponibilizar forragem, em quantidade e com qualidade, na estação seca. *Tecnol. e Ciên. Agropec.*, João Pessoa, v. 4, n.4, p. 01-14, dez. 2010

ANDRADE, L. A. de; PEREIRA, I. M.; LEITE, U. T.; BARBOSA, M. R. V. Análise da cobertura de duas fitofisionomias de caatinga, com diferentes históricos de uso, no município de São João do Cariri, Estado da Paraíba. *Cerne*, v. 11, n. 3, p. 253-262, 2005.

ARUOMA, O. I.; HALLIWELL, B.; HOEY, B. M.; BUTLER, J.; *Free Radical Biol. Med.* **1989**, 6, 593.

ATOUI, A. K.; MANSOURI, A.; BOSKOU, G.; KEFALAS, P.; *Food Chem.* 2005, 89, 27; Barreiros, A. L. B. S.; David, J. M.; David, J. P.; *Quim. Nova* 2006, 29, 113.

AWEB. *Myracrodruon* *urundeuva* Fr. All. Disponível em: [http://www.alicesoftware.com/webs/trees/aweb/td001/td\\_00045.htm](http://www.alicesoftware.com/webs/trees/aweb/td001/td_00045.htm).

BAJAJ, A.G. AND DEV, S. 1982. The chemistry of Ayurvedic crude drugs V. Guggulu (resin from *Commiphora mukul*) 5. Some new steroidal components and tereochemistry of guggulsterol-I at C-20 and C-22. *Tetrahedron* **38**(19): 2949-2954.

BALICK, M.J.; ARVIGO, R.; ROMERO, L. The development of an ethnobiomedical forest reserve in Belixe: its role in the preservation of biological and cultural diversity. **Conservation Biology**, v. 8, p. 316–317, 1994.

BIESKI I. G. C. Plantas Medicinais e Aromáticas no Sistema Único de Saúde da Região Sul de Cuiabá-MT. Secretaria Municipal de Saúde de Cuiabá, MT. Lavras Minas Gerais, Brasil. 2005

BONOLI, M.; VERARDO, V.; MARCONI, E.; CABONI, M. F.; *J. Agric. Food Chem.* 2004, 52, 5195

BRACA, A.; SORTINO, C.; POLITI, M.; MORELLI, I.; Antioxidant activity of flavonoids from *Licania licaniaeflora*. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 79, p. 379-381, 2002.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Science and Technology Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.

BRIANTE, R.; CARA, F. L.; FEBBRAIO, F.; PATUMI, M.; NUCCI, R. Bioactive derivatives from oleuropein by a biotransformation on *Olea europaea* leaf extracts. *Journal of Biochemistry*, v. 93, p. 109-119, 2002.

BUSSOTTI F, GROSSONI P, BOTTACCI A. Sclerophylly in beech (*Fagus sylvatica* L.) trees: its relationship with crown transparency, nutritional status and summer drought. **Forestry**, v. 70, p. 267–271, 1997.

CARVALHO, P. T. C. **Análise da cicatrização de lesões cutâneas através de espectrofotometria: estudo experimental em ratos diabéticos**. Dissertação (Mestrado em Bioengenharia) – Escola de Engenharia de São Carlos/ Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/ Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos. 2002.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies arbóreas brasileiras**. Brasília, DF: **Embrapa Informação Tecnológica**; Colombo: Embrapa Florestas, 2008. v. 3.

COLE, G.M.; LIM, G.P; YANG, F.; TETER, B.; BEGUM, A.; MA, Q.; HARRIS-WHITE, M.E.; FRAUTSCHY, A. Prevention of Alzheimer's disease: Omega-3 fatty acid phenolic anti-oxidant interventions. **Neurobiol. Aging**, v. 26, p. 133–136, 2005.

CUVELIER, M.E.; RICHARD, H.; BERSET, C. Comparison of antioxidative activity of some acid-phenols; structure-activity relationship. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*. Tokyo, v. 56, n. 2, p. 324-235, 1992.

DA SILVA LCN, SILVA-JÚNIOR CA, SOUZA RM, MACEDO AJ, SILVA MV, CORREIA MTS (2011). Comparative analysis of the antioxidant and DNA protection capacities of

*Anadenanthera colubrina*, *Libidibia ferrea* and *Pityrocarpa moniliformis* fruits. Food Chem. Toxicol. 49:2222-2228.

**DEEPA, V. S, P. ; KUMAR, S.; LATHA S., SELVAMANI, P. ; SRINIVASAN, S. Antioxidant studies on the ethanolic extract of *Commiphora* spp.** African Journal of Biotechnology Vol. 8 (8), pp. 1630-1636, 20 April, 2009

DEKEBO, A., DAGNE, E., CURRY, P., GAUTUN, O.R. AND AASEN, A.J. 2002a. Dammarene triterpenes from the resins of *Commiphora confusa*. *Bulletin Chemistry Society of Ethiopia* **16**: 81-86.

DEKEBO, A., DAGNE, E., HANSEN, L.K., GAUTUN, O.R., AND AASEN, A.J. 2002b. Two octanordammarene triterpenes from *Commiphora kua*. *Phytochemistry* **59**: 399-403.

DEKEBO, A., LANG, M., POLBORN, K., DAGNE, E. AND STEGLICH, W. 2002c. Four lignans from *Commiphora erlangeriana*. *Journal of Natural Products* **65**: 1252-1257.

DEVASAGAYAM, T.P.A; TILAK, J.C.; BOLOOR, K.K.; SANE, K.S.; GHASKADBI, S.S.; LELE, R.D. Free radical and antioxidant in human health: current status and future prospects. **Journal of the Association of Physicians of India**, v. 52, 2004.

DRUMOND, M. A.; KIILL, L. H. P.; LIMA, P. C. F.; OLIVEIRA, M. C.; OLIVEIRA, V. R.; ALBUQUERQUE, S. G.; NASCIMENTO, C. E. S.; CAVALCANTE, J. Estratégias para o uso sustentável da biodiversidade da caatinga. In: Seminário para avaliação e identificação de ações prioritárias para a conservação, utilização sustentável e repartição de benefícios da biodiversidade do bioma Caatinga. Anais... EMBRAPA/CPATSA, UFPE e Conservation International do Brasil, Petrolina. 2000

DUARTE-ALMEIDA, J. M.; SANTOS, R. J.; GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M.; *Ciênc. Tecnol. Aliment.* **2006**, 26, 446.

DUARTE, M.C.T.;FIGUEIRA, G.M.; PEREIRA, B. ; MAGALHÃES, P.M. DELARMELINA, C.Atividade antimicrobiana de extratos hidroalcoólicos de espécies da coleção de

plantasmedicinais.CPQBA/UNICAMP.**Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 14, (1), p. 06-08,2005

DURÁN, R.M., PADILLA, B. Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos. *Grasas y Aceites*, Sevilla, v.44, n.2, p.101-106, 1993.

FANK-DE-CARVALHO, S. M.; GRACIANO-RIBEIRO, D. Arquitetura, anatomia e histoquímica das folhas de *Gomphrena arborescens* L.f. (Amaranthaceae). *Acta Bot. Bras.* v.19, n.2, p. 377-390. 2005

FARNSWORTH N.R. The ethnobotanical approach to drug discovery: strengths and limitations. *In: Prance G.T. (Ed), Ethnobotany and the search for new drugs. In: Ciba Foundation Symposium. Chichester*, v. 185, p. 42–59, 1994.

FARNSWORTH, N.R. Screening plants for new medicines. *In: WILSON, E.O. (Ed.), Biodiversity*. Washington, D.C.: National Academic Press, 1988

FATOPE, M.O., AL-BURTOMANI, S.K.S., OCHEI, J.O., ABDULNOUR, A.O., AL-KINDY, S.M.Z. ANDTAKEDA, Y. 2003. Muscanone: a 3-O-(1", 8", 14"-rimethylhexadecanyl)naringenin from *Commiphora wightii*. *Phytochemistry* **62**(8): 1251-1255.

GENOVESE, M.I.; SANTOS, R.J.; HASSIMOTTO, N.M.A.; LAJOLO, F.M. Determinação do conteúdo de fenólicos totais em frutas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.39, n.3, p. 67-69, 2003.

GUERRA, A. M. N. M ; PESSOA, M. F; SOUZA, C.S.M ; MARACAJÁ, P.B. Use of medicinal plants in the rural community Moacir Lucena, APODI-RN. **Biosci. J.**, Uberlândia, v. 26, n. 3, p. 442-450, May/June 2010

HALLIWELL, B. Free radical and antioxidants: a personal view. **Nutrition Reviews**, v.52, n.8, p.253-265, 1994.

HARBORNE, J.B.; WILLIAMS,C.A. Advances in flavonoid research since 1992. **Phytochemistry**, Oxford, v. 52, p. 481-504,2000

HARBONE J. B. Chemotaxonomy of the Leguminosae, 1971.

HOU, W.-C.; LIN, R.-D.; CHENG, K.-T.; HUNG, Y.-T.; CHO, C.-H.; CHEN, C.-H.; HWANG, S.-Y.; LEE, M. H.; *Phytomedicine* 2003, 10, 170.

HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R.L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 1841-1856, 2005.

LANGENHEIM, J.H. 2003. *Plants Resins: Chemistry, Evolution, Ecology, and ethnobotany*. Timber Press, Portland, Oregon, USA.

LEE, SC, JH KIM, JEONG SM, DR KIM, JU HA, KC NAM E AHN DU, Atividades antioxidantes fenólicos e nível de vinhos franceses de diferentes variedades e safras. *J. Agric. Food Chem*, 49: 3341-3343. 2003.

LEWIS, G.; SCHRIRE, B.; MACKINDER, B. & LOCK, M. 2005. **Legumes Of The World**. Kew, Richmond, Royal Botanic Gardens. 592p.

LIMA, H. C. 2000. **Leguminosas arbóreas da Mata Atlântica: Uma análise da Riqueza, padrões de distribuição geográfica e similaridades florísticas em remanescentes florestais do Estado do Rio do Janeiro**. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

LIU, R.H. Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals. **American Journal Clinical Nutrition**, v. 78, p. 517S-520S. 2003.

LOCHER, C.P. et al. Antimicrobial activity and anti-complement activity of extracts obtained from selected Hawaiian medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, Limerick, v.49, n.1, p.23-32, 1995

JOHNSON, L.A.; HARDY, C.L.; BAUMEL, C.P.; YU, T.H.; SELL, J.L. Identifying valuable corn quality traits for livestock feed. **Cereal Foods World**, Minneapolis, v.46, n. 10, p. 472-481, 2001.

KALIORA, AC; DEDOUSSIS, GVZ.; SCHMIDT, H. Os antioxidantes na dieta na prevenção da aterosclerose, v.187, n.1, p.1-17, de 2006

KOLEVA II, BEEK VAN T, LINSSEN JPH, GROOT A, EVSTATIEVA LN 2002. Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. *Phytochem Analysis* 13: 8-17

LANGSETH, L. Antioxidants and their effect on health. In: SCHMIDL, M.K.; LABUZA, T.P. **Essential of functional foods**. Maryland: Aspen Publication, 2000. p.303-317.

LIMA, JG et al. Dislipidemia pós-prandial como achado precoce em indivíduos com baixo risco cardiovascular. *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2002, 46(3).

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. 2.ed. Nova Odessa: Plantarum, 1998. v. 1. 352p

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil**: nativas e exóticas. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora LTDA, 2002.

Lyss, G., Schmidt, T.J., Merfort, I. & Pahl, H.L., Helenalin, an anti-inflammatory sesquiterpene lactone from Arnica, selectively inhibits transcription factor NF- B. *Biol. Chem.*, 378, p.951-961, 1997.

MANGURO, L.O.A., MUKONYI, K.M. AND GITHIOMI, J.K. 1996. Bisabolenes and furanosesquiterpenoids of Kenyan *Commiphora kua* resin. *Planta Medica* **62**: 84-85.

Manguro, L.O., Ugi, I. and Lemmen, P. 2003. Dammarane triterpenes of *Commiphora confuseresin*. *Chemistry and Pharmaceutical Bulletin* **51**: 483-486.

MARCOCCI, L.; MAGUIRE, J.J.; DROY-LEFAIX, M.T.; PACCKER, L. **The Nitric Oxide-Scavenging Properties of Ginkgo Biloba extract EGb761**. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, v.201, p.748-755, 1994.

MARTINS, E. R.; CASTRO D. M. de; CASTELLANI, D. C.; DIAS, J. E. *Plantas medicinais*. Viçosa: UFV, 220p. 2000.

MARTINEZ-VALVERDE, I.; PERIAGO, M.J.; ROS, G. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de La dieta. *Arch. Latinoam. Nutr.*, Caracas, v.50, n.1, p.5-18, 2000.

MATOS, F. J. A. **Plantas de medicina popular do Nordeste**: propriedades atribuídas e confirmadas. Fortaleza: Edições UFC, 1999. 80p

MCCUNE LM, JOHNS T (2002) Antioxidant activity in medicinal plants associated with the symptoms of diabetes mellitus used by Indigenous People of the North American boreal forest. *Journal of Ethnopharmacology* 82: 197-205.

MITSCHER, L.A.; DRAKE, S.; GOLIAPUDI, S.R.; OKWUTE, S.K. A modern look at folkloric use of anti-infective agents. **Journal of Natural Products**, v. 50, p. 1025–1040, 1987.

MONTEIRO, J. M.; LINS NETO, E. M. F.; AMORIM, E.L.C.; STRATTMANN, R.R.; ARAÚJO, E.L. & ALBUQUERQUE, U. P, 2005. Teor de Taminos em Três Espécies Medicinais Arbóreas Simpátricas da Caatinga. **Revista Árvore**, Viçosa-MG, 29(6): 999-1005.

MORIM, M. P. 2002. **Leguminosae arbustivas e arbóreas do Parque Nacional do Itatiaia: abordagem florístico-taxonomica**. Tese de Doutorado, UFRJ. 215p - 2006. Leguminosae arbustivas e arbóreas da Floresta Atlântica do Parque Nacional do Itatiaia, Sudeste do Brasil: Padrões de distribuição. **Rodriguésia** 57(1): 27-45

MOURE, A.; CRUZ, J.; FRANCO, D.; DOMINGUEZ, J.; SINEIRO, J.; DOMINGUEZ, H.; NÚÑEZ, M.; PARAJO, J.; *Food Chem.* **2001**, 72, 145.

NACZK, M.; SHAHIDI, F.; *J. Chromatogr.* **2004**, 1054, 95.

NIEMAN DC, DUMKE CL, HENSON DA, ET AL. Muscle damage is linked to cytokine changes following a 160-km race. *Brain Behav Immun.* 2005;19:398-403

OLIVEIRA, R. R. 2001. Ação antrópica e resultantes sobre a estrutura e composição da mata atlântica na Ilha Grande, RJ. **Rodriguésia** 53 (82): 33-58.

**OLIVEIRA, R.L.C.; LINS NETO, E.M.F.; ARAÚJO, E.L. &ALBUQUERQUE, U.P.** 2007. Conservation priorities and population structure of woody medicinal plants in area of Caatinga vegetation (Pernambuco State, NE Brazil). *Environmental Monitoring and Assessment* 132: 189–206.

OLIVEIRA, P. T. B. de.; TROVAO, D. M. de B. M.; CARVALHO, E. C. D. de.; SOUZA, B. C. de.; FERREIRA, L. M. R. Florística e fitossociologia de quatro remanescentes vegetacionais em áreas de serra no cariri paraibano. *Revista Caatinga*, Mossoro, v. 22, n. 4, p.169-178, out.-dez. 2009

OU, B.; HUANG, D.; HAMPSCH-WOODILL, M.; FLANAGAN, J. A.; DEEMER, E. K. Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays:a comparative study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, London, v. 50, p.2914-2919, 2002.

PELZER, E.I., GUARDIA, T., JUÁREZ, A.O. & GUERRERO, E., Äcute and chronic antiinflammatory effects of plantflavonoids. *Il Farmaco*, 53, p.421-424, 1998.

PÉREZ-JIMENZ,J.; ARRANZ,S.; TABERNERO, M.;DÍAZ-RUBIO, M.E.; SERRANO; GOÑI,I.; SAURA-CALIXTO, F.; Updated methodology to determine antioxidant capacity in plant foods, oils and beverages: Extraction, measurement and expression of results. *Food Research International*,Esseoes,v, 41, n.3, , p. 274-285,2008

PIETTA, P.G. Flavonoids as antioxidants. ***Journal of Natural Products***, v. 63, p. 1035- 1042, 2000.

PRIETO P, PINEDA M, AGUILAR M 1999. Spectrophotometric quantification of antioxidant capacity through the formation of a fhosphomolybdenum complex: specific aplication to the determination of vitamin E. *Anal Biochem* 269: 337-341

PRIOR, R.L.; WU, X.; SCHAICH, K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. ***Journal of Agricultural and Food Chemistry***, 53: 4290-4302, 2005.

PROVAN, G.J. AND WATERMAN, P.G. 1985. Picropolygamain: a new ligand from *Commiphora incisa* resin. *Planta Medica* **51**: 271-272.



RECIO, M.C., GINER, R.M., MÁÑEZ, S. & Ríos, J.L., Structural requirements for the anti-inflammatory activity of natural terpenoids; *Planta Med.*, 61, p. 182-185, 1995.

RIBOLI, E. AND NORAT, T. Epidemiologic evidence of the protective effect of fruit and vegetables on cancer risk. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 78, p. 559–569, 2003.

RODRIGUES, L. V. **Análise morfológica e morfométrica da colite induzida por ácido acético, em ratos, e tratada com extratos vegetais (*Myracrodruon urundeuva* Fr. All.)**. 1999. 50f. Tese (Doutorado em Técnica Operatória e Cirurgia Experimental) – Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, 1999.

ROGINSKY, V.; LISSI, E. A.; *Food Chem.* 2005, 92, 235

SÁNCHEZ-MORENO, C. Compuestos polifenólicos: efectos fisiológicos. Actividad antioxidante. **Alimentaria**, Lisboa, ene-feb, p.29-40, 2002

SCALBERT, A.; MANACH, C.; MORAND, C.; RÉMÉSY, C. Dietary polyphenols and the prevention of diseases. **Critical Review in Food Science and Nutrition**, v.45, p.287-306, 2005.

SHAHIDI, F.; WANASUNDARA, P.K.J.P.D.; Phenolic antioxidants. *CRC-Critical Review in Food Science and Nutrition*, v.32, n.1, p.67-103, 1992

SHAHIDI, F.; NACZK, M. **Phenolics in Food and Nutraceuticals**. CRC Press, p. 403- 427, 2004.

SILVA, M. D. Estudo Farmacobotânico de três espécies medicinais da caatinga em Pernambuco. 2008 Dissertação (Mestrado em Botânica) – Universidade Federal Rural de Pernambuco. Departamento de Biologia. 68.: il

SIMÕES, C.M.O). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**, 3a. ed. Porto Alegre- RS, Editora da UFSC e UFRGS, 2003.

THE ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v. 141, p. 399-436, 2003

ULBRIGHT, C., BASCH, E., SZAPARY, P., HAMMERNESS, P., AXENTSEV, S., BOON, H., KROLL, D., GARRAWAY, L., VORA, M. AND WOODS, J. 2005. Guggul for hyperlipidemia: A review by the Natural Standard Research Collaboration. *Complementary Therapies in Medicine* **13**:279-290.

URIZAR, N.L., LIVERMAN, A.B., DODDS, D.T., SILVA, F.V., ORDENTLICH, P., YAN, Y., GONZALEZ, F.J., HEYMAN, R.A., MANGELSDORF, D.J. AND MOORE, D.D. 2002. A natural product that lowers cholesterol as an antagonist ligand for FXR. *Science* **296**(5573): 1703-1706.

VALKON, M.; LEIBFRITZ, D.; MONCOL, J.; CRONIN, M.T.D.; MAZUR, M.; TELSER, J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **The International Journal of Biochemistry and Cell Biology**, v. 39, p. 44- 84, 2007.

VALKO, M.; IZAKOVIC, M.; MAZUR, M.; RHODES, C. J.; TELSER, J.; MOL. CELL.BIOCHEM. 2004, 266, 37; EL-AGAMEY, A.; LOWE, G. M.; MCGARVEY, D. J.; MORTENSEN, A.; PHILLIP, D. M.; TRUSCOTT, T. M.; YOUNG, A. J.; ARCH. BIOCHEM.BIOPHYS. 2004, 430, 37; OMONI, A. O.; ALUKO, R. E.; Trends Food Sci.Technol. 2005, 16, 344.

VAN WYK, B.-E., VAN HEERDEN, F. AND VAN OUDTSHOORN, B. 2002. Poisonous Plants of South Africa. Briza Publications, South Africa

VIRGILIO, M.; DE MARCHIS, F.; BELLUCI, M.; MAINIERI, D.; ROSSI, M.; BENVENUTO, E.; ARCIONI, S.; VITALE, A. The human immunodeficiency virus antigen Nef forms protein bodies in leaves of transgenic tobacco when fused to zeolin. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 59, n. 10, p. 2815–2829, 2008.

WAGNER, H., Search for new plant constituents with potential antiphlogistic and antiallergic activity. *Planta Med.*, 55, p. 235-241 1989.

WATSON, L. and DALLWITZ, M. J. The Families of Flowering Plants: Descriptions, Illustrations, Identification, and Information Retrieval. 1992. Versão: 25 de Julho de 1996.

WINK M. Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenetic perspective. *Phytochemistry*, v. 64, p. 3-19, 2003.

YUNES RA, PEDROSA RC, CECHINEL FILHO V 2001. Fármacos e fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. *Quim Nova* 24: 147-152.

## Capítulo 1

**Antimicrobial, antioxidant effects of *Myracrodruon urundeuva* bark and its capacity to enhance the erythromycin activity against *Staphylococcus aureus* activity**

**Artigo submetido a Pharmaceutical Biology em 08 Junho de 2012 (NPHB-2012-0870)**

**Antimicrobial, antioxidant effects of *Myracrodruon urundeuva* bark and its capacity to enhance the erythromycin activity against *Staphylococcus aureus* activity**

Jannyson José Braz Jandú

Laboratório de Produtos Naturais, Departamento de Bioquímica, Universidade Federal de Pernambuco, Brazil.

Luís Cláudio Nascimento da Silva

Laboratório de Glicoproteínas, Departamento de Bioquímica, Universidade Federal de Pernambuco, Pernambuco, Brazil.

Aline de Paula Caetano Pereira

Laboratório de Glicoproteínas, Departamento de Bioquímica, Universidade Federal de Pernambuco, Pernambuco, Brazil.

Renata Maria de Souza

Laboratório de Glicoproteínas, Departamento de Bioquímica, Universidade Federal de Pernambuco,  
Pernambuco, Brazil.

Carlos Alberto da Silva Júnior

Laboratório de Glicoproteínas, Departamento de Bioquímica, Universidade Federal de Pernambuco,  
Pernambuco, Brazil.

Regina Célia Bressan Queiroz de Figueiredo

Laboratório de Biologia Celular, Departamento de Microbiologia, Centro de Pesquisas Aggeu  
Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz- Pernambuco.

Janete Magali de Araújo

Laboratório de Genética de Microrganismos, Departamento de Antibióticos, Universidade Federal  
de Pernambuco, Pernambuco, Brazil.

Maria Tereza dos Santos Correia

Laboratório de Glicoproteínas, Departamento de Bioquímica, Universidade Federal de  
Pernambuco, Pernambuco, Brazil.

Márcia Vanusa da Silva (Corresponding Author)

Laboratório de Produtos Naturais, Departamento de Bioquímica, Universidade Federal de  
Pernambuco, Brazil. Avenida Professor Moraes Rêgo, s/n. Cidade Universitária, Recife –PE .

50670-420. Fone: 558121268540 Fax: 558121268576

Email: marciavanusa@yahoo.com.br; marcia.vanusa@ufpe.br

**Keywords:** Caatinga, *Myracrodruon urundeuva*, synergism, natural products.

**Antimicrobial, antioxidant effects of *Myracrodruon urundeuva* bark and its capacity to enhance the erythromycin activity against *Staphylococcus aureus* activity**

**Abstract**

*Context:* *Myracrodruon urundeuva*, a typical Caatinga plant, is widely used in traditional medicine as anti-inflammatory and antimicrobial agent.

*Objective:* This work evaluated some biological activities of *Myracrodruon urundeuva* (Allemão) Engl. bark methanolic extract (MuBME) and identify its major phenolic compounds.

*Material:* The antimicrobial effects were performed by disc diffusion, microdilution and checkerboard methods. The phosphomolybdenum assay and inhibition of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical were used as antioxidant test. The cytotoxicity was checked using human erythrocytes and Vero Cells. The phenolic and flavonoid content were also determined. Furthermore the major phenolic compounds were determined by Ultra Fast Liquid Chromatographic analysis.

*Results:* The extract showed antimicrobial effect (MIC: 0.39 mg/mL to 3.13 mg/mL) and enhanced the erythromycin activity against *S. aureus* (Fractional Inhibitory Concentration index < 0.5). A high antioxidant activity was found (81.34 ± 0.2% of ascorbic acid activity in phosphomolybdenum assay, inhibition of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (IC<sub>50</sub> of 37.68) and DPPH (3.30 µg/mL). The phenolic and flavonoid content were 37 ± 0.47 mg/g Gallic Acid Equivalents (GAE) and 43.88 ± 6.55 Quercetin Equivalents (QE)/mg, respectively. The extract showed a low with IC<sub>50</sub> of 1.94 (human erythrocytes) and 1.57 (Vero cells) mg/mL, much higher than the concentrations required for the biological responses tested. Gallic acid, protocatechuic acid, chlorogenic acid, catechuic acid and fumaric acid were detected and they are possible active compounds.

*Discussion and conclusions:* Our results showed that *M. urundeuva* bark is a source of antimicrobial and antioxidant with application in pharmaceutical, food and cosmetics industries.

## 1 Introduction

Caatinga plants have been demonstrated as rich sources of bioactive compounds for treatment of diseases caused by bacteria, fungi and/or induced by oxidative stress (Da Silva et al., 2011, Trentin et al., 2011; Almeida et al., 2012).

*Myracrodruon urundeuva* is a typical Caatinga plant characterized as bee- and wind-pollinated, dioecious species, which has a small flower size (Gaino et al., 2010). Monteiro et al. (2006) listed this plant as a valuable agent in combating various ailments including skin and subcutaneous lesions, coughing, neoplasia, inflammations in diverse systems (urogenital, respiratory, digestive, circulatory), etc., and they verified that the bark is the most commonly used part of the plant by studied communities, which correlated with the greatest amount of phenolic compounds found in the plant's tissues. In this paper we present the antimicrobial and antioxidant activities of extract of *M. urundeuva* bark collected from Vale do Catimbau, Pernambuco, Brazil, a preservation area of the Caatinga biome. In addition, we also checked the effectiveness of this extract alone and combined with erythromycin against recently isolated *S. aureus* strains, its cytotoxicity and major phenolic compounds.

## 2 Material and Methods

### 2.1 Plant material and extraction

*M. urundeuva* bark was collected in Parque Nacional do Catimbau (Pernambuco, Brazil) and submitted in the Herbarium of Instituto de Pesquisa Agronômica de Pernambuco (voucher specimen: 84.059). The dried bark (20 g) was submitted to methanolic extraction (200 mL) by agitation 180 rotations per minute (rpm). After 24 hours, the extract was filtered (Whatman N°1) and concentrated at 45° C under vacuum in a rotary evaporator. The powder was kept at -20°C for future use.

### 2.2 Microorganism storage

The microorganisms used in this work were provided by Collection of The Departamento de Antibióticos, Universidade Federal de Pernambuco (UFPEDA) and they are listed in Table 1.

### 2.3 Determination of antimicrobial activities

#### 2.3.1 Disc diffusion method

This assay was performed by Bauer method (Bauer et al., 1966) using sterile paper discs containing 2000 µg of extracts. Antibiotics and DMSO were used as the negative control.

### 2.3.2 Minimum inhibitory concentration (MIC)

MIC determination was done following CLSI microdilution method (CLSI, 2011). The growth was detected using a resazurin solution (0.01%): any color changes from purple to pink were recorded as microorganism growth. The lowest concentration at which no color change occurred was taken as the MIC.

### 2.3.3 Evaluation of combinatory effects of extract and Erythromycin:

The checkerboard method was used to test the combinatory effect of MuBME and erythromycin against *S. aureus* strains. Here, extract of *M. urundeuva* (100 mg/mL) and erythromycin (1 mg/mL) mixed at 1:1 ratio (final volume: 20 µL) were used. This combination was serially diluted as in MIC determination. The interaction was assessed algebraically by determining Fractional Inhibitory Concentration indices ( $\Sigma$ FIC) according to the following equation:

$$\text{FIC index } (\Sigma\text{FIC}) = \frac{\text{MIC E/D}}{\text{MIC E}} + \frac{\text{MIC D/E}}{\text{MIC D}}$$

Where:

MIC E and MIC D: is the MIC of extract and erythromycin respectively

MIC E/D: is the MIC of extract in combination with erythromycin;

MIC D/E: is the MIC of erythromycin in combination with extract;

Data interpretation: (Vuuren & Viljoen, 2011)

$\Sigma\text{FIC} \leq 0.5$ , effect is synergistic (syn);

$0.5 < \Sigma\text{FIC} \leq 1$  effect is additive (add);

$1 < \Sigma\text{FIC} < 4$  effect is noninteractive (non);

$\Sigma\text{FIC} \geq 4$  effect is antagonist (ant).

## 2.4 Antioxidant assays

### 2.4.1 Phosphomolybdenum assay

The phosphomolybdenum assay was performed and calculated as described in Da Silva et al. (2011).

### 2.4.2 DPPH radical scavenging activity



This assay was executed using the stable radical DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl; Sigma-Aldrich) (Blios, 1958). The DPPH radical scavenging was calculated using the following formula:

$$\% \text{ scavenged [DPPH]} = (A_c - A_s) / A_c \times 100$$

$A_c$ : control absorbance;  $A_s$ : sample absorbance.

### 2.4.3 Hydrogen peroxide radical scavenging assay

The Hydrogen peroxide radical scavenging assay was performed and calculated as described in Da Silva et al. (2011).

## 2.5 Evaluation of Cytotoxic effects

### 2.5.1 *In Vitro* Hemolytic Assay

Blood (5–10 ml) was obtained from healthy volunteers by venipuncture, after written informed consent was obtained. Human erythrocytes were isolated by centrifugation (1500 rpm, 10 min at 4°C). The erythrocytes were washed three times with phosphate-buffered saline (PBS; pH 7.4). Each tube received 1.1 mL of erythrocyte suspension (1%) and 0.4 mL of various extract concentrations (0.05 – 0.5 mg/mL). The controls were only solvent (negative) and Quillaja saponin (0.0025%, positive). After 60-min incubation cells were centrifuged and the absorbance of supernatant was recorded at 540 nm. The hemolytic activity was expressed by the following formula: Hemolytic activity (%) =  $(A_s - A_b) \times 100 / (A_c - A_b)$

$A_b$ : solvent absorbance,  $A_s$ : sample absorbance;  $A_c$  saponin absorbance.

### 2.5.2 Cell viability by MTT assay

In this assay was used cell of a monkey kidney fibroblast line (Vero). Cell viability was then estimated via an 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) assay. The cells ( $1.0 \times 10^5$  cells/mL) treated with the extract at difference concentrations (4.0- 0.25 mg/mL) and incubated for 24 h at 37° C. MTT stock solution (10 µL; 5 mg/mL) was then applied and after 4 h the supernatants were aspirated, the formazan crystals in were dissolved in 100 µL of dimethylsulfoxide (DMSO), and the absorbance was measured at 540 nm. The optical density of the formazan generated in the control cells was considered to represent 100% viability.

## 2.6 Phytochemical analysis

### 2.6.1 Determination of total phenol content

The total phenolic content was determined by the Folin-Ciocalteu method described in Da Silva et al. (2011). The amount of total phenol was expressed as mg/g Gallic Acid Equivalents (GAE) using the calibration curve of gallic acid ( $y = 1.6221x + 0.0084$ ,  $r^2 = 0.9934$ ).

### 2.6.2 Determination of total flavonoid content

The total content of flavonoids was measured using a method proposed by Kumaran and Karunkaran (2007). The amount of flavonoids in the extract was expressed as quercetin equivalents (QE)/mg plant extract, and calculated by the following formula:

$$\text{Total flavonoid content} = (A_s \times m_c) / (A_c \times m_s)$$

$A_s$ : sample absorbance;  $A_c$ : quercetin absorbance;  $m_s$ : mass of plant extract;  $m_c$ : mass of quercetin solution.

### 2.6.3 Qualitative determination of Phenolic composition by UFLC

The qualitative analysis of phenolic content were performed by using a Prominence Ultra Fast Liquid Chromatographic system (UFLC Shimadzu inc. Japan) which comprised of a binary pump (model LC-20AD), diode array detector (model SPD 20A), auto-sampler (model SIL-20A HT), oven (model CTO-20A), controller (model CBM-20A), degasser (model DGU-29A3). The LC Solution Software version 1.2 was used to control the auto-sampler, detector, data acquisition and run settings. An octadecyl silane ( $C_{18}$ ) reverse-phase column (Shimadzu inc., Japan, XR, ODS 50 x 3.0, 2.2  $\mu$ m particle size) was employed for all chromatographic analysis.

Aliquots of powdered extracts (0.5 g) were diluted in methanol/water solution (20%, v/v) and sonicated (ultra-sonic bath) for 30 minutes. Afterwards, extracts were filtered and liquid fraction were directed loaded onto solid phase extraction (SPE) cartridges (Strata C18-E cartridge Phenomenex<sup>TM</sup> Torrance – California, USA ) in order to separate and concentrate target groups as phenolic acids and flavonoids. Cartridges were eluted with 2 mL of 1% trichloroacetic (HCl) followed by 2 mL of acetone, and 10 mL of methanol. Eluted fractions were concentrated under vacuum at 40 °C until dryness, and re-suspended in methanol.

Chromatographic runs were performed according to the settings: isocratic elution mode; flow rate of 0.6 mL min<sup>-1</sup>; oven temperature of 40 °C; dihydrogen-potassium phosphate ( $KH_2PO_4$ ) 5 mmol, as solution A, and acetonitrile/water (12% v/v) as solution B. Prior to injection, samples (200  $\mu$ L) were filtered with PTFE syringe 0.22  $\mu$ m filters (Phenomenex, UK).

Phenolics compounds were identified by comparison of their retention times and their UV spectra obtained with the diode array detector - DAD (SPD-M20A), ranging from 210 to 310 nm. Gallic, vanillic, protocatechuic, chlorogenic, coumaric and ferulic acids, quercetin and rutin were used as

standard compounds (all purchased from Sigma-Aldrich), and the calibration graphs were constructed by plotting each chromatographic peak area from each standard, against their corresponding concentration. Concentrations ranged from 0.01 to 2 mg mL<sup>-1</sup>. The resulting linear regressions equation for each standard curve was used to quantify the compounds.

## 2.7 Statistical analysis

Each experiment was performed in triplicate and results are expressed as the mean  $\pm$  SD (standard deviation). Statistical analysis was performed using the Student's t-test. Differences were considered significant at  $p < 0.05$ . IC<sub>50</sub> (the concentration needed for 50% inhibition) and HC<sub>50</sub> (the concentration needed for 50% of hemolysis) were estimated graphically by linear or nonlinear regression analysis.

## 3 Results

### 3.1 Antimicrobial activity

MuBME showed inhibitory effects on the growth of all microorganisms tested. The inhibition diameter zone (IDZ) ranged between 12 and 26 mm, and MIC ranged between 0.39 and 3.13 mg/mL (Table 1).

| UFPEDA | Microorganism                | MuBME           |             |
|--------|------------------------------|-----------------|-------------|
|        |                              | Inhibition (mm) | MIC (mg/mL) |
| 02     | <i>Staphylococcus aureus</i> | 21 $\pm$ 0.58   | 0.39        |
| 86     | <i>Bacillus subtilis</i>     | 15 $\pm$ 0.58   | 0.78        |
| 100    | <i>Micrococcus luteus</i>    | 26 $\pm$ 0.58   | 0.39        |
| 138    | <i>Enterococcus faecalis</i> | 14 $\pm$ 1.32   | 0.78        |
| 224    | <i>Escherichia coli</i>      | 13 $\pm$ 1.15   | 1.56        |
| 396    | <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 12 $\pm$ 1.15   | 3.13        |
| 1007   | <i>Candida albicans</i>      | 13 $\pm$ 1.32   | 1.56        |
| 2003   | <i>Aspergillus niger</i>     | 12 $\pm$ 0.50   | 0.78        |

**Table 1:** Antimicrobial activity of MuBME against selected pathogens.

In order to study the combinatory effect of MuBME and erythromycin, we performed a Checkerboard assay against ten clinical isolates of *S. aureus*. We observed that the extract showed a synergistic effect against 60% of tested strains and an additive effect against the others (Table 2).

| Strain | Source                  | MIC Extract | MIC Drug | Drug/Extract |       |       |
|--------|-------------------------|-------------|----------|--------------|-------|-------|
|        |                         |             |          | MIC E        | MIC D | FIC T |
| 687    | Ocular secretion        | 3125        | 100      | 1250         | 1.25  | 0.41  |
| 733    | Bone fragment ORSA      | 1562.5      | 100      | 312.5        | 0.31  | 0.20  |
| 676    | Prosthesis secretion    | 781.25      | 1.563    | 312.5        | 0.31  | 0.60  |
| 730    | ORSA                    | 1562.5      | 100      | 1250         | 1.25  | 0.81  |
| 709    | Purulent exudate (ORSA) | 1562.5      | 0.391    | 19.53        | 0.02  | 0.06  |
| 697    | Chest drain secretion   | 390.625     | 0.391    | 19.53        | 0.02  | 0.10  |
| 672    | Blood (ORSA)            | 1562.5      | 1.563    | 156.25       | 0.13  | 0.18  |
| 677    | Wound secretion         | 1562.5      | 1.563    | 625          | 0.63  | 0.80  |
| 712    | Wound transplant        | 1562.5      | 0.391    | 19.53        | 0.02  | 0.06  |
| 679    | Wound                   | 781.25      | 100      | 625          | 0.63  | 0.81  |

Legend: MIC E= MIC of Extract in combination with Erythromycin; MIC D =MIC of Erythromycin in combination with Extract.

**Table 2:** Effects of MuBME and Erythromycin combination against *S. aureus* strains

### 3.2 Antioxidant assays

The MuBME showed a total antioxidant capacity of  $81.34 \pm 0.2\%$  in relation to ascorbic acid activity. MuBME showed a strong hydrogen peroxide scavenging ability with an  $IC_{50}$  of 37.68  $\mu\text{g/mL}$  (Gallic acid: 8.08  $\mu\text{g/mL}$ ).

Additionally, this extract showed a high capacity to convert DPPH radicals to their more stable molecular counterparts 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazines. The  $IC_{50}$  was 3.30  $\mu\text{g/mL}$ .

### 3.3 Evaluation of Cytotoxic effects

The extract showed a  $HC_{50}$  of 1944.58  $\mu\text{g/mL}$  (Table 3). In MTT assay, the extract showed an  $IC_{50}$  (the concentration needed for 50% of cell death) of 1570  $\mu\text{g/mL}$ .

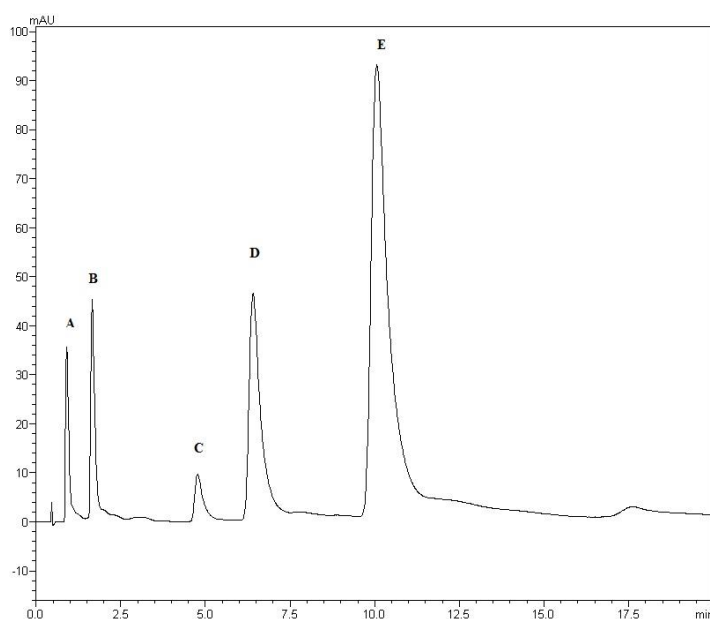
| Activity                | Result                    |
|-------------------------|---------------------------|
| Total phenol content    | $37 \pm 0.47$ mg GAE      |
| Total Flavonoid content | $43.88 \pm 6.55$ mg QE/mg |
| % TAC                   | $81.34 \pm 0.2$ %         |
| $H_2O_2$ $IC_{50}$      | 37.68 $\mu\text{g/mL}$    |
| DPPH $IC_{50}$          | 3.30 $\mu\text{g/mL}$     |
| $HC_{50}$               | 1944.58 $\mu\text{g/mL}$  |

**Table 3:** Phenolic and Flavonoid contents, antioxidant and hemolytic activity of MuBME

### 3.4 Phytochemical analysis

MuBME showed a high phenolic content equivalent to  $37 \pm 0.47$  mg/g GAE and a flavonoid content of  $43.88 \pm 6.55$  mg QE/mg per g of dry bark. The UFLC analysis detected the presence of

bioactive compounds: gallic acid, protocatechuic acid, chlorogenic acid, catechuic acid, fumaric acid (Figure 1).



**Figure 1:** UFLC Analysis of *Myracrodruon urundeuva* bark. A- Gallic acid; B- Catechuic acid; C- Protocatechuic acid; D- Fumaric acid ; E- Chlorogenic acid,

#### 4 Discussion

Our paper highlighted the *in vitro* antimicrobial and antioxidant activity of *M. urundeuva* barks. This plant has a broad-spectrum activity which may be explained by the presence of a wide spectrum of bactericidal substances, or by the action of toxins produced by the plant (Kostova and Dinchev, 2005). Given the high anti-*S. aureus* activity of MuBME, its effectiveness was also checked in combination of erythromycin. *S. aureus*, an ubiquitous Gram-positive bacteria, is one of the main causes of diseases in humans in a wide spectrum way, acting in both hospital- and community-acquired infections (Novick and Geisinger, 2008). Since the worldwide emergence and spread of resistant *S. aureus* strains, research on new sources of anti-*S. aureus* compounds has become very important. MuBME demonstrated a high ability to enhance the erythromycin activity (synergistic and additive effects). Interactions of plant extract with antibiotics is an important parameter in the investigation of plant extract action mechanism due the potential of enhance therapy efficacy (Ríos and Recio, 2005; Vuuren & Vijoën, 2011). Erythromycin is a bacteriostatic protein synthesis inhibitor most effective *in vitro* against aerobic Gram-positive cocci and bacilli bacteria (Adikwu et al., 2010).

Additionally, MuBME showed a high antioxidant activity in phosphomolybdenum, hydrogen peroxide and DPPH radical scavenging assays. Free radicals, when in excess, can cause oxidative

damage of macromolecules of (deoxyribonucleic acid - DNA, proteins, lipids), which is implicated in various diseases, such as cancer, atherosclerosis, diabetes, gastric ulcers, ageing, cardiovascular diseases, and other conditions (Valko et al., 2007). For this reason, interest has increased considerably in finding natural antioxidants for use in foods or medicinal materials to replace synthetic antioxidants, which are being restricted due to their side effects such as carcinogenicity (Botterweck et al., 2000).

Some benefits of medicinal plants have been attributed to the presence of phenolic compounds, which may exert their effects as a result of their antioxidant properties (Kaur et al., 2008). In our work we detected by UFLC analysis gallic acid, protocatechuic acid, chlorogenic acid, catechuic acid, fumaric acid in MuBME. Earlier authors have been demonstrated a lot of pharmacologic application for these phenolic acids as antioxidant and antimicrobial (Yilmaz and Toledo, 2004; Lin et al., 2009; He et al., 2011, Lou et al., 2011).

## **5 Conclusions**

Our work showed that *M. urundeuva* barks is a great source of antimicrobial and antioxidant agents. We also demonstrated a high capacity to enhance erythromycin-induced death against *S. aureus*. In addition, this extract did not show cytotoxicity. A bioassay-guided fractionation procedure for the identification and structural elucidation of biologically active molecules present in this extract is target of additional research of our group.

## **Acknowledgements**

The authors wish to thank the Brazilian agencies (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior and Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco) for the financial support. Scott V. Heald, North American teacher at CIEC, bilingual school, is acknowledged for English review.

## **Declaration of interest**

The authors report no declarations of interest.

## **References**

1. Adikwu M, Jackson C, Esimone C. (2010). Evaluation of *in vitro* antimicrobial effect of combinations of erythromycin and *Euphorbia hirta* leaf extract against *Staphylococcus aureus*. *Res Pharma Biotech*. 2, 22-24.
2. Almeida CFCBR, Cabral DLV, Almeida CCBR, Amorim ELC, Araújo JM, Albuquerque UP. (2012). Comparative study of the antimicrobial activity of native and exotic plants from the Caatinga and Atlantic Forest selected through an ethnobotanical survey. *Pharm Biol*, 50, 201-220.
3. Bauer AW, Kirby WM, Sherris JC, Turck M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am J of Clin Pathol*, 45,493-496.
4. Blios MS. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 26, 1199–1200.
5. Botterweck AAM, Verhagen H, Goldbohm RA, Kleinjans J, Van den Brandt PA. (2000). Intake of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene and stomach cancer risk: results from analyses in the Netherlands Cohort Study. *Food Chem Toxicol*, 38, 599-605.
6. Clinical and Laboratory Standards Institute. (2011). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Twenty-first informational supplement; M100-S21. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
7. Da Silva LCN, Silva-Júnior CA, Souza RM, Macedo AJ, Silva MV, Correia MTS. (2011). Comparative analysis of the antioxidant and DNA protection capacities of *Anadenanthera colubrina*, *Libidibia ferrea* and *Pityrocarpa moniliformis* fruits. *Food Chem Toxicol*, 49, 2222-2228.
8. Gaino APSC, Silva AM, Moraes MA, Alves PF, Moraes MLT, Freitas MLM, Sebbenn AM. (2010). Understanding the effects of isolation on seed and pollen flow, spatial genetic structure and effective population size of the dioecious tropical tree species *Myracrodruon urundeuva*. *Conserv Genet*, 11, 1631–164.
9. He C, Fu B, Shen H, Jiang X, Wei X. (2011). Fumaric acid, an antibacterial component of *Aloe vera* L. *Afr J Biotechnol*, 10, 2973-2977.
10. Kaur R, Arora S, Singh B. (2008). Antioxidant activity of the phenol rich fractions of leaves of *Chukrasia tabularis* A. Juss. *Bior Technol*, 99, 7692–7698.
11. Kostova I, Dinchev D. (2005). Saponins in *Tribulus terrestris* - chemistry and bioactivity. *Phytochem Rev*, 4,111-37.
12. Kumaran A, Karunakaran RJ. (2007). In vitro antioxidant activities of methanol extracts of five *Phyllanthus* species from India. *Food Sci Technol*, 40, 344–352.
13. Lin L, Huang CS, Huang C, Yin M. (2009). Anticoagulatory, Antiinflammatory, and Antioxidative Effects of Protocatechuic Acid in Diabetic Mice. *J Agric Food Chem*, 57, 6661–6667.

14. Lou Z, Wang H, Zhu S, Ma C, Wang Z. (2011). Antibacterial Activity and Mechanism of Action of Chlorogenic Acid. *J Food Sci*, 76, 398–403.
15. Monteiro JM, Albuquerque UP, Neto EMFL, Araújo EL, Albuquerque MM, Amorim ELC. (2006). The effects of seasonal climate changes in the caatinga on tannin levels in *Myracrodruon urundeuva* (Engl.) Fr. All. and *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan. *Rev Bras Farmacogn*, 16, 338-344.
16. Novick RP, Geisinger E. (2008). Quorum sensing in staphylococci. *Annu Rev Genet.* 42, 541–564.
17. Ríos JL, Recio MC, (2005). Medicinal plants and antimicrobial activity. *J. Ethnopharmacol.* 100, 80-84.
18. Ruch RJ, Cheng SJ, Klaunig JE. (1989). Prevention of cytotoxicity and inhibition of intracellular communication by antioxidant catechins isolated from Chinese green tea. *Carcinogenesis*. 10, 1003–1008.
19. Trentin DS, Giordani RB, Zimmer KR, Silva AG, Silva MS, Correia MTS, Baumvol IJR, Macedo AJ. (2011). Potential of medicinal plants from the Brazilian semi-arid region (Caatinga) against *Staphylococcus epidermidis* planktonic and biofilm lifestyles. *J Ethnopharmacol.* 137, 327–35.
20. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, Telser J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The Intern J Biochem. and Cell Biol.* 39, 44-84.
21. Vuuren SV, Viljoen A. (2011). Plant-Based Antimicrobial Studies – Methods and Approaches to Study the Interaction between Natural Products. *Planta Med.* 77, 1168–1182.
22. Yilmaz Y, Toledo RT. (2004). Major Flavonoids in Grape Seeds and Skins: Antioxidant Capacity of Catechin, Epicatechin, and Gallic Acid. *J Agric Food Chem.* 52, 255–260.



## ANEXOS

### RESULTADOS COMPLEMENTARES

#### 1. Dosagem Fenólica

Os resultados obtidos na determinação dos fenóis totais pelo método Folin– Ciocalteu, expressos como equivalentes de ácido gálico (EAG) por g de extrato bruto e por g de material vegetal seco, são apresentados na Tabela 1. Todos os extratos avaliados apresentaram baixos teores de compostos fenólicos, quando comparados a dados de outras espécies descritos na literatura.

| Extrato                        | Conteúdo Fenólico<br>µg /g GAE |
|--------------------------------|--------------------------------|
| <i>Anadenanthera colubrina</i> |                                |
| Aquoso                         | 0,62 ± 0,16                    |
| Metanólico                     | 12,93 ± 0,92                   |
| Acetato de Etila               | 5,15 ± 3,85                    |
| <i>Myracrodruon urundeuva</i>  |                                |
| Aquoso                         | 0,054 ± 0,02                   |
| Acetato de Etila               | 5,08 ± 0,27                    |

**Tabela 1:** Fenóis Totais de *Anadenanthera colubrina* e *Myracrodoun urundeuva*

#### 2. Atividade Antioxidante

##### 2.1 Método Fosfomolibdênio

Este método mede a capacidade antioxidante total, os resultados foram expressos na forma de atividade antioxidante relativa AAR% (ác. ascórbico). O Extrato Metanólico de *Anadenanthera colubrina* (EMAC) apresentou 68,2% ± 2,06 , seguido dos extratos Acetato de etila (EAEAC) da mesma espécie , acetato de etila de *Myracrodoun urundeuva* (EAEMU), e Aquoso de *Anadenanthera colubrina* (EAAC) e *Myracrodoun urundeuva*. (EAMU). Todos os resultados apresentaram atividade inferior ao Ácido Ascórbico (Tabela 2).

##### 2.2 Peróxido de Hidrogênio

O H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> não é um radical livre, mas é um potente formador destes. Podendo ser formado pela redução bivalente do oxigênio ou pela reação de duas moléculas, ocorrendo espontaneamente ou sendo catalisada pela SOD. O OH• é altamente reativo e pode reagir com moléculas capazes de doar um elétron a compostos como enzimas, açúcares, aminoácidos, ácidos nucleicos ou

fosfolipídios de membrana (JAY; BERTHON, 1998). Como não há enzimas que o metabolizem, provoca extenso perecimento tissular (PÓVOA; PÓVOAFILHO, 1995), possuindo potencial destrutivo e mutagênico (JAY; BERTHON, 1998). Nesse ensaio os EAMU, EMAC e EAAC apresentaram atividades inferior ao controle  $3,9 \pm 1,83 \mu\text{g/mL}$ ,  $5,75 \pm 1,25 \mu\text{g/mL}$ ,  $6,0 \pm 1,83 \mu\text{g/mL}$ , respectivamente. Seguidos pelos ECEAC  $31,79 \pm 1,79 \mu\text{g/mL}$  e EAEMU  $48,74 \pm 1,13 \mu\text{g/mL}$ . Expressos na Tabela 2

### 2.3 Ensaio da redução do radical livre DPPH

O radical livre DPPH• é um cromóforo extremamente estável que apresenta um pico de absorção no comprimento de onda de 515 nm em meio etanólico e sua solução possui uma coloração violeta intensa (BLOIS, 1958; ARNAO, 2000). Nesse ensaio, à medida que o DPPH• sofre redução pelos componentes presentes na solução teste, observa-se a mudança de coloração violeta intensa original da solução para amarela, cuja intensidade é proporcional à concentração da substância com potencial antioxidante presente (BLOIS, 1958). Pode-se verificar que, com exceção do EAEAC ( $7,95 \pm 0,6 \mu\text{g/mL}$ ), os demais extratos possuem capacidade antioxidante inferior ao padrão testado. Tabela 2

### 2.4 Sequestro de Óxido Nítrico

O NO• é um radical livre que apresenta ação vasodilatadora e desempenha importante função nos tecidos nervosos. Possuem funções de relaxamento vascular, atividade neuronal e diminuição da agregação plaquetária, assim como diversos efeitos deletérios como choque endotóxico, carcinogênese e está presente nos processos inflamatórios. Suas fontes são o endotélio vascular, os neurônios, as plaquetas, os macrófagos, os neutrófilos, as células de Kupffer e os hepatócitos (PÓVOA e PÓVOA-FILHO, 1995).

O oxigênio reage com o óxido nítrico para gerar o excesso de nitrito e ânions peroxinitrito, que agem como radicais livres. Assim, verificamos o efeito dos extratos brutos inibição sobre a produção de óxido nítrico. A IC<sub>50</sub> do EMAC apresentou uma inibição inferior ao controle  $87,99 \pm 1,4 \mu\text{g/mL}$ . Enquanto os demais extratos apresentaram inibição de EAMU  $184,1 \pm 0,93 \mu\text{g/mL}$ , EAEMU  $207,88 \pm 1,47 \mu\text{g/mL}$ , EAEAC  $226,35 \pm 1,33$  e EAAC  $307,34 \pm 2,02 \mu\text{g/mL}$ . Estudos utilizando inibidores de óxido nítrico têm mostrado diminuições no crescimento do tumor e sugeriram que estes inibidores pode desempenhar papel importante na terapia do câncer (JAYAKUMAR e KANTHIMATHI, 2011). Tabela 2

## 2.5 Sequestro do Radical Superóxido

No ensaio do sequestro do radical superóxido, o efeitos inibitórios de extratos testados foram na seguinte ordem: EAEMU  $23,7 \pm 1,4$   $\mu\text{g/mL}$ , EMAC  $36,22 \pm 0,87$   $\mu\text{g/mL}$ , EAMU  $36,22 \pm 0,87$   $\mu\text{g/mL}$ , EAEAC  $52,8 \pm 1,27$   $\mu\text{g/mL}$  e EAAC  $68,55 \pm 0,92$   $\mu\text{g/mL}$ , revelando que os extratos possuem baixa atividade sequestradora desses radicais quando comparado ao ácido gálico ( $3.52 \pm 0.65$   $\mu\text{g/mL}$ ) (Tabela 2).

O radical superóxido é um oxidante relativamente fraco, mas que desempenha um papel importante na a formação de radicais hidroxilas e espécies reativas de oxigênio (HALLIWELL E GUTTERIDGE, 2000). Neste estudo, radicais superóxido foram gerados por auto-oxidação de hidroxilamina na presença de NBT (azul Nitro tetrazólio). A redução de NBT, foi medida em presença de antioxidantes. Uma diminuição de absorbância a 560 nm com antioxidantes indica, portanto, o consumo de ânion superóxido na mistura de reação (SHUKLA *et al.*, 2009).

| Extrato                        | % TAC            | H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> IC <sub>50</sub><br>$\mu\text{g/mL}$ | DHPP IC <sub>50</sub><br>$\mu\text{g/mL}$ | NO IC <sub>50</sub><br>$\mu\text{g/mL}$ | O <sub>2</sub> <sup>-</sup> IC <sub>50</sub><br>$\mu\text{g/mL}$ |
|--------------------------------|------------------|--------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------|-----------------------------------------|------------------------------------------------------------------|
| <i>Anadenanthera colubrina</i> |                  |                                                                    |                                           |                                         |                                                                  |
| Aquoso                         | $9,3 \pm 0,3$    | $6,0 \pm 1,83$                                                     | $22,68 \pm 4,60$                          | $307,34 \pm 2,02$                       | $68,55 \pm 0,92$                                                 |
| Metanólico                     | $68,2 \pm 2,06$  | $3,9 \pm 1,83$                                                     | $76,55 \pm 3,48$                          | $87,99 \pm 1,4$                         | $36,22 \pm 0,87$                                                 |
| Acetato de Etila               | $14,43 \pm 1,2$  | $31,79 \pm 1,79$                                                   | $7,95 \pm 0,6$                            | $226,35 \pm 1,33$                       | $52,8 \pm 1,27$                                                  |
| <i>Myracrodruon urundeuva</i>  |                  |                                                                    |                                           | $184,1 \pm 0,93$                        | $38,43 \pm 0,91$                                                 |
| Aquoso                         | $0,054 \pm 0,04$ | $5,75 \pm 1,25$                                                    | $89,99 \pm 0,06$                          | $62,56 \pm 0,8$                         | $12,13 \pm 2,22$                                                 |
| Acetato de Etila               | $12,34 \pm 0,85$ | $48,74 \pm 1,13$                                                   | $90,02 \pm 0,02$                          | $207,88 \pm 1,47$                       | $23,7 \pm 1,4$                                                   |
| Standard                       | -----            | $23,29 \pm 1,22$                                                   | $10,83 \pm 3,12$                          | $166,4 \pm 10,2$                        | $3,52 \pm 0,65$                                                  |

**Tabela 2:** Atividades antioxidante de *Anadenanthera colubrina* e *Myracrodoun urundeuva*

## 3. Atividade Hemolítica

Toxicidade celular dos foi avaliada utilizando eritrócitos humanos como um sistema de teste. Estes extratos demonstraram HC50 de EAMU  $2080 \pm 0,126$   $\mu\text{g/mL}$ , EAEAC  $277,9 \pm 0,63$   $\mu\text{g/mL}$ , EAAC  $377,66 \pm 2,30$   $\mu\text{g/mL}$ , EMAC  $639,5 \pm 0,7$   $\mu\text{g/mL}$  e EAEMU  $832,98 \pm 0,04$   $\mu\text{g/mL}$  (Gráfico 1). Ressaltando que essas concentrações são muito inferiores aos valores usados nas atividades antioxidantes, nas quais, usamos uma concetração máxima de 200  $\mu\text{g/mL}$ . Portanto, todos os extratos foram atóxico.

#### 4. Atividade Hemaglutinante (AH), Dosagem Proteica e Atividade Hemaglutinante Especifica (AHE)

Foram realizada as AH e Dosagem de proteínas dos extratos aquosos de *Anadenanthera colubrina* (EAAC), *Commiphora leptophloeos* (EACL) e *Myracrodoun urundeuva* (EAMU). As maiores atividades especificam foram detectadas no EAMU (AHE: 442,82), seguido de EACL (AHE: 168,68) e EAAC (AHE: 1,16). Os quais apresentaram AH de 65536, 16384 e 8, respectivamente e quantitativo proteico de EAMU 148,6889 µg/mL,, EACL 97,13333 µg/mL do e EAAC 6,89 µg/mL. Tabela 3

| Extratos    | AH    | Dosagem Proteica<br>µg/mL | AHE    |
|-------------|-------|---------------------------|--------|
| <b>EACL</b> | 16384 | 97,13333                  | 168,68 |
| <b>EAA</b>  | 8     | 6,89                      | 1,16   |
| <b>EAMU</b> | 65536 | 148,6889                  | 442,82 |

**Tabela 3:** Concentração Proteica e Atividade hemaglutinante de extratos de *Anadenanthera colubrina*, *Commiphora leptophloeos* e *Myracrodoun urundeuva*

#### 5. Atividade Anti-inflamatória

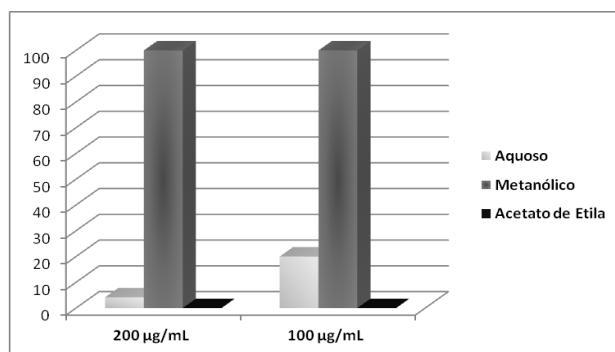
A atividade anti-inflamatória foi realizada apenas com os extratos de *Commiphora leptophloeos*, devido ao alto teor de polifenóis e melhor atividade antioxidante para os métodos testados.

##### 6.1 Dosagem de Interferon gama (IFN - $\gamma$ )

A dosagem do IFN - $\gamma$  foi realizada com os extratos Aquoso (EACL), Hidro alcoólico (EHCL), Metanólico (EMCL), Acetato de Etila (EAECL) e Ciclo Hexano (ECHCL) de *Commiphora leptophloeos*. Apenas os extratos (EAECL), (EACL) e (EMCL), inibiram a produção do interferon (Gráfico 3). O interferon gama (IFN - $\gamma$ ) é uma citocina produzida por Linfócitos T (CD4+) e por células Natural Killer (células NK). Um aspecto importante do IFN - $\gamma$  é de atuar como imunomodulador, aumentando a ação de neutrófilos, monócitos/macrófagos e células NK e também aumentando a imunidade humoral e celular.(FORTES, 2007).

## 6.2 Viabilidade Celular – MTT

Para a atividade MMT foi verificado que com apenas o extrato metanólico apresentou-se viável (100%) nas concentrações testadas. O extrato Aquoso apresentou uma viabilidade celular de 20% para a concentração de 100 µg/mL e 4,18% para concentração de 200 µg/mL e o Acetato de Etila 0%, sendo, portanto, inviáveis, ou tóxicos. (Figura 4)



**Figura 4:** Viabilidade dos extratos de *Commiphora leptophloeos*

## 7. REFERÊNCIAS

ARNAO, M. B. Some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chromogen radicals: a practical case. **Trends in Food Science & Technology**, v.11, p. 419-421, 2000.

BLOIS, M. S. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. **Nature**, v.181, p. 1199-1200, 1958.

FORTES WN. **Imunologia: do básico ao aplicado**, livro. Porto Alegre: Editora Artmed, 2007.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M.C. Free radicals in biology and medicine. 3 ed. Clarendon, Oxford, 936 p, 2000.

JAY, V.; BERTHON, J. Y. New active ingredient for aging prevention. **Cosmetics and Toiletries Magazine**, v.113, p. 71-77, 1998.

JAYAKUMAR R, KANTHIMATHI MS. Efeitos inibitórios de extractos de fruto no óxido nítrico a proliferação induzida por em células MCF-7. **Food Chemistry**. , 126: 956-960. 26, 2011

PÓVOA, L.G.; PÓVOA FILHO, H. Radicais livres (generalidades). In: **Radicais Livres em Patologia Humana**. Rio de Janeiro: Imago, 1995. p. 163-181.

SHUKLA , S., SALUJA A K, PANDYA S S . ANTIOXIDANT ACTIVITY AND FREE RADICAL SCAVENGING POTENTIAL OF GMELINA ARBOREA LINN **Pharmacologyonline** 1: 1035-1043, 2009