



Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Biociências
Departamento De Histologia
Programa de Pós-Graduação em Morfotecnologia

pósMorfotec
Programa de Pós-Graduação
em Morfotecnologia

Marília Grasielly de Farias Silva

**ESTUDO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E CITOTÓXICA DO
EXTRATO ETANÓLICO, FRAÇÕES E TINTURAS COMERCIAIS DE
Solidago chilensis Meyen E *Schinus terebinthifolius* Raddi
OBTIDOS NA REGIÃO METROPOLITANA DO RECIFE-PE**

Recife

2018

Marília Grasielly de Farias Silva

**ESTUDO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E CITOTÓXICA DO
EXTRATO ETANÓLICO, FRAÇÕES E TINTURAS COMERCIAIS DE
Solidago chilensis Meyen E *Schinus terebinthifolius* Raddi
OBTIDOS NA REGIÃO METROPOLITANA DO RECIFE-PE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Morfotecnologia, Área de Concentração Morfologia e Inovações Tecnológicas, da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Morfotecnologia.

Orientador: Prof. Dr.^a Cláudia Sampaio de Andrade Lima

Co-orientador: Simey de Souza Leão
Pereira Magnata

Recife

2018

Catálogo na fonte
Elaine Barroso
CRB 1728

Silva, Marília Grasielly de Farias

Estudo da atividade antioxidante e citotóxica do extrato etanólico, frações e tinturas comerciais de *Solidago chilensis* Meyen e *Schinus terebinthifolius* Raddi obtidos na Região Metropolitana do Recife-PE/ Marília Grasielly de Farias Silva- 2018.

61 folhas: il., fig., tab.

Orientadora: Cláudia Sampaio de Andrade Lima

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco.

Centro de Biociências. Programa de Pós-Graduação em

Morfotecnologia. Recife, 2018.

Inclui referências

1. Plantas medicinais 2. Testes de citotoxicidade 3. Recife, Região Metropolitana do (PE) I. Lima, Cláudia Sampaio de Andrade (orient.) II. Título

615.321

CDD (22.ed.)

UFPE/CB-2018-100

Marília Grasielly de Farias Silva

**ESTUDO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E CITOTÓXICA DO
EXTRATO ETANÓLICO, FRAÇÕES E TINTURAS COMERCIAIS DE
Solidago chilensis Meyen E *Schinus terebinthifolius* Raddi
OBTIDOS NA REGIÃO METROPOLITANA DO RECIFE-PE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Morfotecnologia, Área de Concentração Morfologia e Inovações Tecnológicas, da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Morfotecnologia.

Orientador: Prof. Dr.^a Cláudia Sampaio de Andrade Lima

Co-orientador: Simey de Souza Leão
Pereira Magnata

Aprovada em 28/07/2017

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof.^a. Dr.^a. Cláudia Sampaio de Andrade Lima
Universidade Federal de Pernambuco- CB

Prof.^a. Dr.^a. Sônia Pereira Leite
Universidade Federal de Pernambuco- CB

Prof.^a. Dr.^a. Silene Carneiro de Nascimento
Universidade Federal de Pernambuco- CB

AGRADECIMENTOS

À Deus, pelas bênçãos concedidas, por me mostrar que está sempre a me guiar, me proporcionando forças para enfrentar todos os obstáculos.

À minha família, principalmente meus pais Solange e Adilson, por me apoiarem em todas as minhas decisões, sempre incentivando acreditando em mim.

À todos os meus amigos, que pacientemente me ouviram e me deram força para continuar a caminha, Jéssika Fernanda, Liliane Vanessa, Rafael Quadros, Amanda Mendes e a Gisele Santiago (me contagiando com sua positividade e fé), muito obrigada! E em especial a Odair José pelo carinho, paciência, apoio e ajuda em todos os momentos vividos durante o mestrado e elaboração desta dissertação.

À minha orientadora Prof^a Cláudia Sampaio, pelo acolhimento, carinho e paciência durante toda a caminhada. Aos meus co-orientadores, Prof^o Ricardo Yara e Prof^a Simey Magnata, pelos ensinamentos.

À toda família LBQ, por momentos de descontrações e alegria entre um experimento e outro, principalmente ao grupo de Química, João Paulo, Rafael Padilha, Brunna Patriota, Maria Cristina, Maria Giuliane, Beatriz Rocha, Bruno Edberg. E um agradecimento especial à Leylianne de Cássia e Edson Renan, que participaram ativamente no desenvolvimento deste trabalho.

Aos colegas, que participaram na construção deste trabalho, Natália Onofre, Niedja Lima, Ricardo Sérgio e Yago Emídio (me ensinando a usar o Origin).

Um saudoso agradecimento, a Prof^a Lêda Cristina da Silva e a Prof^a Maria Socorro Souto Braz, se tornando mais que uma professora, uma amiga que sempre torceu pelo meu crescimento.

Aos colegas de turma da Morfotec, Jéssica, Gibbelly, Eliane, Regina, Emerson, Erivaldo, Eduarda, Sérgio, Escarião, Luciano, por todos os momentos e experiências compartilhadas.

A todos, meu carinho e gratidão!

RESUMO

A implementação de programas de fitoterapia na atenção primária à saúde é realizada com a finalidade de suprir a carência de medicamentos destinados à população mais carente. O uso de plantas medicinais propicia o tratamento de diversas doenças apresentando menos efeitos colaterais que muitos medicamentos sintéticos. Para o presente trabalho foram selecionadas tinturas à base de *Schinus terebinthifolius* Radd. (aroeira-da-praia) e *Solidago chilensis* Meyen (erva-lanceta) utilizadas no tratamento de artrite, artrose, reumatismo e doenças inflamatórias. Objetivou-se analisar qualitativa e quantitativamente compostos fenólicos e flavonóides por métodos espectrofotométricos, por Cromatografia em Camada Delgada de Alta Eficiência (CCDAE) e através de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). A atividade antioxidante dos extratos brutos, frações e tinturas, sua citotoxicidade e a atividade antimicrobiana foram avaliadas. Todas as amostras contém compostos fenólicos e flavonóides. *S. terebinthifolius* apresentou atividade antioxidante elevada. O extrato bruto de *S. terebinthifolius* apresentou citotoxicidade de acima de 75%. *S. chilenses* e *S. terebinthifolius* apresentaram inibição da viabilidade celular nas frações de acetato de etila das tinturas, indicando acima de 97,2% e 98,5% de inibição, respectivamente. O controle de qualidade dos produtos oriundos de plantas medicinais contribui para a busca de melhores condições nos tratamentos ofertados aos usuários, inclusive para o Sistema Único de Saúde (SUS) contribuindo assim com o desenvolvimento social, segurança e melhorando a qualidade da saúde da população.

Palavras-chave: Atividade antioxidante. Citotoxicidade. Fitoterápicos. *Schinus terebinthifolius* Radd. *Solidago chilensis* Meyen.

ABSTRACT

The phytotherapeutic program in primary health care is performed to supplying the lack of medicines, mainly to the poor communities. The use of medicinal plants provides the treatment of several diseases presenting fewer side effects than many synthetic drugs. This work, analyze tinctures based on *Schinus terebinthifolius* Radd. (aroeira-da-praia) and *Solidago chilensis* Meyen (erva-lanceta), popularly used in the treatment of arthritis, arthrosis, rheumatism and inflammatory diseases. This work analyzes phenolic compounds and flavonoids, with qualitative and quantitative and spectrophotometric methods as High Efficiency Thin Layer Chromatography (HPTLC) and High Performance Liquid Chromatography (HPLC). The antioxidant activity of crude extracts, fractions and tinctures, their cytotoxicity and antimicrobial activity were also evaluated. The samples showed phenolic compounds and flavonoids. *S. terebinthifolius* showed high antioxidant activity. The crude extract of *S. terebinthifolius* showed cytotoxicity of indicating above 75%. *S. chilenses* and *S. terebinthifolius* showed inhibition of cell viability in the ethyl acetate fractions of crude extracts and tinctures, indicating above 97,2% and 98,5% of inhibition, respectively. The quality control of products derived from medicinal plants contributes for better conditions in the treatments offered to users, including the Unified Health System (SUS) in Brazil, contributing to social development, safety and improving the quality of health of the population.

Keywords:Antioxidant activity. Cytotoxicity. Herbal medicines.
Schinus terebinthifolius Radd. *Solidago chilensis* Meyen.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1-	<i>S. terebinthifolius</i> Raddi.....	21
Figura 2-	<i>Solidago chilensis</i> Meyen.....	23
Figura 3-	Estrutura química dos principais antioxidantes sintéticos..	27
Figura 4-	Estrutura química da Rutina (A) e Quercetina (B).....	28
Figura 5-	Mecanismo de reação do DPPH.....	30
Figura 6-	Mecanismo de redução do Tetrazolium.....	31
Figura 7-	Cromatografia em Camada Delgada de Alta Eficiência para identificação de Triterpenos e Esteróides.....	40
Figura 8-	Cromatografia em Camada Delgada de Alta Eficiência para identificação de Monoterpenos, Diterpenos e Sesquiterpenos.....	41
Figura 9-	Cromatograma da Rutina identificada na Fração Metanólica do extrato bruto da <i>S. chilensis</i>	42
Figura 10-	Cromatograma da Rutina identificada na Fração Metanólica da tintura de <i>S. chilensis</i>	43
Gráfico 1-	Resultado do teste antioxidante da <i>S. terebinthifolius</i> comparando com o padrão BHT.....	47
Gráfico 2-	Resultado do teste antioxidante da <i>S. terebinthifolius</i> comparando com o padrão Ácido Ascórbico.....	48
Gráfico 3-	Resultado do teste antioxidante das amostras de <i>S. chilensis</i> comparadas ao padrão BHT.....	49
Gráfico 4-	Resultado do teste antioxidante das amostras de <i>S. chilensis</i> em comparação ao padrão Ácido Ascórbico.....	50
Gráfico 5-	Avaliação da citotoxicidade de <i>S. chilensis</i> e <i>S. terebinthifolius</i> frente a células HeLa.....	53

LISTA DE TABELAS

Tabela 1-	Teor de Fenóis Totais expressos em $\mu\text{g AG/g Ext.}$	44
Tabela 2-	Teor de Flavonóides expressos em $\mu\text{g QUE/g Ext.}$	46
Tabela 3-	Resultado da determinação do Poder Redutor expresso em $\mu\text{g TROLOX/g Ext.}$	51

LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BHA	Butilhidroxianisol
BHT	Butilhidroxitolueno
BPPF	Boas Práticas de Preparação de Fitoterápicos
CESAM	Centro de Saúde Alternativa de Muribeca
CCDAE	Cromatografia em Camada Delgada de Alta Eficiência
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
DPPH	1,1-difenil-2-picril-hidrazil
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
HPTLC	High Performance Thin Layer Chromatography
MS	Ministério da Saúde
MTT	Brometode (3-(4,5-Dimetiltiazol- 2-il)-2,5-difenil-tetrazol-tetrazóleo
OMS	Organização Mundial da Saúde
PG	Propilgalato
PNPIC-SUS	Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS
RENISUS	Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse do SUS
SUS	Sistema Único de Saúde
TBHQ	Tecbutilhidroquinona
Trolox	(6-Hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman)-2-ácido carboxílico
UBS	Unidades Básicas de Saúde
UV-Vis	Ultravioleta - visível
PR	Poder redutor
EAG	Equivalente ao Ácido Gálico

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1	PLANTAS MEDICINAIS E FITOTERÁPICOS.....	15
2.2	FITOTERAPIA NA ATENÇÃO PRIMÁRIA À SAÚDE	16
2.3	FARMÁCIA VIVA	17
2.4	CONTROLE DE QUALIDADE DE PLANTAS E FITOTERÁPICOS	19
2.5	<i>SCHINUS TEREBINTHIFOLIUS</i> RADDI (AROEIRA-DA-PRAIA).....	20
2.6	<i>SOLIDAGO CHILENSIS</i> MEYEN (ERVA LANCETA).....	22
2.7	TÉCNICAS ANALÍTICAS PARA IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS.....	24
2.7.1	Cromatografia em Camada Delgada de Alta Eficiência (CCDAE)	24
2.7.2	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)	24
2.8	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	26
2.8.1	Antioxidantes no Combate aos Radicais Livres	26
2.8.2	Método da Captura do Radical Livre DPPH.....	29
2.8.3	Determinação do Poder Redutor – PR.....	30
2.9	CITOTOXICIDADE	31
2.9.1	Ensaio MTT	31
3	OBJETIVOS	33
3.1	GERAL.....	33
3.2	ESPECÍFICOS	33
4	MATERIAIS E MÉTODOS	34
4.1	MATERIAIS.....	34
4.1.1	Coleta das espécies.....	34
4.1.2	Tinturas	34
4.2	MÉTODOS.....	34
4.2.1	Obtenção do extrato bruto.....	34
4.2.2	Investigação das Concentrações das Tinturas	35
4.2.3	Perfis Cromatográficos.....	35
4.2.3.1	Cromatografia em Camada Delgada de Alta Eficiência (CCDAE)	35
4.2.3.2	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)	36

4.2.4 Testes Quantitativos	36
4.2.4.1 Doseamento de Fenóis Totais	36
4.2.4.2 Doseamento de Flavonóides.....	37
4.2.5 Avaliação da Atividade Antioxidante	37
4.2.5.1 Determinação da atividade antioxidante total pela captura do Radical Livre DPPH..	37
4.2.5.2 Determinação da atividade antioxidante – Poder redutor.....	38
4.2.6 Citotoxicidade- Método MTT	38
4.2.7 Análise Estatística	39
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
5.1 PERFÍS CROMATOGRÁFICOS	40
5.1.1 Cromatografia em Camada Delgada de Alta Eficiência	40
5.1.2 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência	42
5.2 TESTES QUANTITATIVOS	44
5.2.1 Doseamento de Fenóis Totais - Método Folin– Ciocalteu	44
5.2.2 Doseamento de Flavonóides	46
5.3 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	47
5.3.1 Determinação da atividade antioxidante total pela captura do Radical Livre DPPH	47
5.3.2 Determinação da atividade antioxidante – Poder redutor	51
5.4 CITOTOXICIDADE - MÉTODO MTT	53
6 CONCLUSÕES	55
REFERÊNCIAS	56

1 INTRODUÇÃO

Produtos de origem natural são cada vez mais utilizados pela população brasileira, onde inclusive, nas áreas rurais, as comunidades cultivam suas próprias plantas, sendo usadas e perpetuadas através do conhecimento tradicional ao longo de gerações (LORENZI e MATOS, 2008).

A credibilidade e o uso das plantas medicinais e fitoterápicos para o tratamento de diversas afecções, além da pressão dos cientistas da área, impulsionou a criação de uma política pública com diretrizes que instituíram as boas práticas de cultivo, manejo, coleta e processamento das plantas medicinais. As normas estabelecidas por Comissões vinculadas ao Ministério da Saúde indicam que os processamentos de espécies medicinais, devem ser realizados por profissionais capacitados, para manipulação dos fitoterápicos, a serem distribuídos, inclusive na Atenção Primária à Saúde (RODRIGUES; SANTOS; AMARAL, 2006).

Em algumas regiões do Brasil, a implementação de fitoterápicos e drogas vegetais na rede pública, proporcionou o desenvolvimento de cadeias produtivas e aumentou as opções terapêuticas à população, potencializando assim, as ações vinculadas ao Sistema Único de Saúde (SUS) (RODRIGUES; SANTOS; AMARAL, 2006).

S. terebinthifolius e *S. chilensis* são espécies medicinais bastante utilizadas pela população, possuem uma ampla variedade de substâncias e dentre elas, derivados de compostos fenólicos, como os taninos e flavonóides que podem ser encontrados em todas as partes da planta (SOARES et al, 1998; SILVA et al, 2010).

Os compostos encontrados nos vegetais e outros produtos naturais podem ser identificados e quantificados através de métodos espectrofotométricos, além de técnicas analíticas como a Cromatografia em Camada Delgada de Alta Eficiência (CCDAE) e Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).

Tinturas dessas duas espécies são comercializadas na Região Metropolitana do Recife, para o tratamento de diversas doenças. A casca e entrecasca da *S. terebinthifolius* são utilizadas para a produção de tinturas e alcoolaturas, empregadas como antiinflamatório e cicatrizante. *S. chilensis* é utilizada em forma de alcoolaturas, tinturas, pomadas, além de infusões caseiras, para o tratamento de

doenças inflamatórias, como diuréticas, entre outras, por apresentarem propriedades anti-inflamatórias, cicatrizantes, analgésicas e antissépticas (MORS, 2000). Essas propriedades estão relacionadas à presença de taninos e polifenóis, que são substâncias antioxidantes, responsáveis pela redução dos radicais livres (SIMÕES et al., 2010).

Os radicais livres são moléculas liberadas nos processos de metabolismo das células, que quando em grande produção ocasiona o estresse oxidativo, relacionado com a origem de várias doenças, como cardiopatias, aterosclerose, artrites, catarata, diabetes, problemas respiratórios e de infecção, além de processos cancerígenos (SIES, STAHL e SELAVANIAN, 2005; SILVA, 2014).

Os antioxidantes são classificados como sintéticos comumente usados na indústria alimentícia, atuando como conservantes e naturais; e antioxidantes naturais podendo ser encontrados em vegetais e consumidos pela ingestão de frutos, sucos e chás. A atividade antioxidante dos vegetais e seus derivados pode ser avaliada através de testes colorimétricos simples, podendo ter seu potencial comprovado (RAMALHO e JORGE, 2006; RODRIGUES et al, 2015).

O controle de qualidade de plantas medicinais e fitoterápicos podem ser realizados através da identificação botânica, e análise química e microbiológica, sendo utilizados em laboratórios de regulamentação e laboratórios de controle de qualidade de produtos a base de material vegetal (DRASARA & MORAVCOVA, 2004).

Em Pernambuco, laboratórios comunitários têm fornecido a população produtos por eles produzidos, para o tratamento de diversas doenças, por isso é necessário uma melhor investigação dessas plantas medicinais e fitoterápicos comercializados para determinar o Controle da Qualidade assegurando a população um produtos eficaz e de qualidade (RODRIGUES; SANTOS; AMARAL, 2006).

Nesse contexto, o presente trabalho pretende respaldar o uso de plantas medicinais e fitoterápicos, através de testes para análise e comprovação das atividades biológicas, vindo a contribuir para uma investigação mais aprofundada

nessa área de extrema importância para o desenvolvimento de indústrias de fitomedicamentos nacionais, garantindo segurança à dos consumidores.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 PLANTAS MEDICINAIS E FITOTERÁPICOS

Referências históricas relatam que a prática do uso de plantas medicinais está presente desde as civilizações mais antigas, sendo o primeiro método utilizado pelo homem para o alívio e tratamento de enfermidades. Tal prática permanece até os dias atuais, intermediada pela cultura popular, que transmite o conhecimento através das gerações. A notoriedade dos produtos naturais deve-se ao fácil acesso ou cultivo, baixo custo e eficácia (LORENZI e MATOS, 2008).

O uso de plantas medicinais e de fitoterápicos passou a ser uma prática indispensável, atraindo cada vez mais o interesse de novos usuários à busca de saúde e bem estar, além de profissionais e pesquisadores da área. Em 2008 foi criado, e aprovado no ano seguinte, pelo Ministério da Saúde (MS), a “Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares” no SUS (PNPIC), seguido da “Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos” e do “Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos”. Posteriormente, foi publicada a “Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse do SUS” (RENISUS), apresentando 71 espécies de plantas aprovadas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e MS, tendo como objetivo de inserir fitoterápicos à base dessas plantas, com qualidade, eficácia e segurança, nos programas vinculados ao SUS (BRASIL, 2009).

Com a criação e execução das políticas públicas, programas e diretrizes, visando à valorização das plantas medicinais e fitoterápicos na rede pública, assim como o desenvolvimento da cadeia produtiva, surge a oportunidades que o Brasil carece para o desenvolvimento do setor, aumentando a oferta dos produtos e serviços à população brasileira, e assim potencializar assistência no SUS (RODRIGUES; SANTOS; AMARAL, 2006).

O Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápico define planta medicinal como “espécie vegetal cultivada ou não com propósito terapêutico” e Fitoterápico como “um produto obtido, de planta medicinal, ou de derivados, exceto de substâncias isoladas, com finalidade profilática, curativa ou paliativa” (BRASIL, 2014).

A produção segura dos fitoterápicos está atribuída ao conhecimento prévio da eficiência das propriedades ou riscos pelo uso inadequado das plantas medicinais, além do modo de produção, pelo profissional de saúde ou indivíduo capacitado (ARNOUS et al, 2005). Adicionalmente, o profissional deve ter conhecimento sobre os outros aspectos do material utilizado na produção dos fitoterápicos que interferem em seu princípio ativo, como sazonalidade, condições do solo e do clima (FRANÇA, 2008).

2.2 FITOTERAPIA NA ATENÇÃO PRIMÁRIA À SAÚDE

A intensa procura por plantas medicinais e fitoterápicos para o tratamento de doenças impulsionou a criação de políticas públicas e diretrizes que regularizassem a produção e distribuição de tais recursos naturais, promovendo qualidade da saúde a partir da entrada da Atenção à Saúde Primária, via Sistema Único de Saúde (SUS) (MARANHÃO, 2011).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) ressalta a valorização do uso de plantas medicinais como importante via de assistência à saúde, enfatizando que países em desenvolvimento econômico dependem delas com relação à Atenção Primária à Saúde. Em alguns países industrializados, como a Alemanha, Canadá, França, entre outros, o uso de produtos medicinais vem sendo utilizados como um complemento alternativo e não convencional (ROBINSON; ZHANG, 2011).

De modo similar, em algumas cidades do Brasil, produtos à base de plantas medicinais são inseridos nos cuidados com a saúde pela população, tornando uma prática que incentiva o desenvolvimento social, a solidariedade e a participação das comunidades produtoras, ou pelos programas relacionados aos fitoterápicos, como prática de caráter científico, de acordo com as políticas e diretrizes do SUS (RODRIGUES; DE SIMONI, 2010).

Em algumas localidades do Brasil já existem programas que possuem laboratórios de produção especializados e que ofertam o serviço de fitoterapia no SUS, disponibilizando produtos, preferencialmente, na Atenção Básica, com profissionais especializados promovendo à população o conhecimento da importância do uso racional desses produtos. (RODRIGUES; SANTOS; DE SIMONI, 2011).

Esses avanços se devem às políticas e diretrizes criadas que se tornaram indispensáveis para a melhoria da atenção à saúde da população como, acesso a medicamentos de qualidade; ampliação de opções de tratamento terapêutico aos usuários do SUS; uso sustentável da biodiversidade; fortalecimento da agricultura familiar; desenvolvimento industrial e tecnológico, gerando assim, emprego e inclusão social (BRASIL, 2013).

Nessa perspectiva, as políticas nacionais são imprescindíveis e visam instaurar e consolidar estratégias para o desenvolvimento de cadeias produtivas de plantas medicinais e fitoterápicos, para que a população tenha acesso a serviços e produtos com qualidade, eficácia e segurança.

O Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, do Ministério da Saúde, criou em 2005 a Relação Nacional de Plantas Medicinais de interesse ao SUS (RENISUS), 237 espécies de plantas com perspectivas de serem utilizados no SUS, porém apenas em 2008 o MS através da ANVISA reuniu pesquisadores da área e definiram uma nova lista. A relação oficial foi publicada em 2009 apresentando 71 espécies aprovadas com potencial terapêutico e para geração de produtos de interesse ao SUS, objetivando estimular estudos e pesquisas que visassem contribuir para a elaboração de fitoterápicos que pudessem ser oferecidos a população (RENISUS, 2009).

Dentre as 71 espécies de plantas aprovadas estão a Aroeira-da-praia (*Schinus terebinthifolius*) e uma espécie do gênero *Solidago* (*Solidago microglossa*). Os diversos tipos de fitoterápicos elaborados a partir dessas espécies, já são distribuídos em alguns municípios do Brasil, através de programas relacionados a fitoterapia.

2.3 FARMÁCIA VIVA

A implementação de programas de fitoterapia na atenção primária à saúde, tem a finalidade de suprir a carência de medicamentos para distribuição à população. Dessa forma, o programa “Farmácias Vivas”, de assistência

farmacêutica, surgiu com o objetivo de produzir medicamentos fitoterápicos acessíveis a população.

Como exemplo dessa estratégia o Distrito Federal vem produzindo e distribuindo, a mais de 20 anos, fitoterápicos para tratamento terapêutico na rede pública de saúde e fornece capacitação à profissionais da área, bem como no estado do Rio de Janeiro com o Programa Estadual de Plantas Medicinais.

No nordeste do Brasil, o estado do Ceará criou o programa “Farmácias Vivas”, sendo o primeiro estado a decretar uma lei complementar que dispõe sobre a Política de Implantação da Fitoterapia em Saúde Pública, que em 2009 foi regulamentada pelo Decreto nº 30.016. Outros estados implantaram as Farmácias vivas, como Espírito Santo e Pernambuco, dispondo de fitoterápicos nas unidades básicas de saúde (UBS).

Diante disso, foram instituídas as boas práticas para o cultivo, manejo, coleta, processamento, armazenamento e dispensação de plantas medicinais, capacitando e orientando profissionais para a elaboração dos fitoterápicos e distribuição nas UBS (RODRIGUES; DE SIMONI, 2010).

A Política de Implantação da Fitoterapia em Saúde Pública estabeleceu três modelos de Farmácias Vivas, de acordo com os tipos de atividades realizadas: Farmácia Viva I: Desenvolvimento de atividades de cultivo, instalação de hortas de plantas medicinais em unidades de farmácias vivas comunitárias e/ou unidades do SUS, com distribuição de plantas medicinais para a produção de remédios caseiros; Farmácia Viva II: Além das atividades do modelo anterior, são realizadas atividades de produção de plantas medicinais secas, sendo acessíveis à população; Farmácia Viva III: Produção de “fitoterápicos padronizados”, de acordo com as Boas Práticas de Preparação de Fitoterápicos (BPPF), fornecidos às unidades do SUS, com sede estruturada e especializada, podendo realizar as atividades estabelecidas para os modelos I e II (BRASÍLIA, 2012).

O MS instituiu as Farmácias Vivas sob gestão municipal, estadual ou federal, possibilitando à todos os modelos estabelecidos o acesso de plantas medicinais e fitoterápicos, aprovados pela ANVISA ao SUS.

2.4 CONTROLE DE QUALIDADE DE PLANTAS E FITOTERÁPICOS

A produção de fitoterápicos ainda necessita de estudos científicos mais detalhados que comprovem sua eficácia, tornando-se indispensável o controle de qualidade através da padronização química dos produtos, testes biológicos *in vitro* e *in vivo*, além de avaliação clínica.

A comprovação de segurança e efetividade de fitoterápicos tradicionais é permitida no Brasil desde a publicação da RDC nº 17 no ano 2000, seguido das normas RDC nº 48/2004 e RDC nº 14/2010, referentes ao registro de medicamentos fitoterápicos, sendo todas revogadas, até a publicação RDC nº 26/2014, que separa os fitoterápicos em duas classes, Medicamentos Fitoterápicos (MF), tendo sua eficácia e segurança comprovadas por meio de estudos clínicos; e o registro de Produtos Tradicionais Fitoterápicos (PTF), comprovados pela demonstração do tempo de uso na literatura técnico-científica (BARATA, 2005).

Alguns profissionais da área da saúde ainda apresentam resistências quanto a prescrição de produtos fitoterápicos, pela falta de padronização das técnicas de preparo dos extratos; Riscos de fraude em sua composição, com a finalidade de aumentar o rendimento do produto a ser comercializado; falta de cuidados na coleta e no tratamento do material coletado; em alguns casos, extração descontrolada das plantas medicinais levando a problemas de risco de extinção da espécie e comprometendo sustentabilidade; e principalmente, problemas de contaminação por microorganismos e incertezas na quantidade de compostos bioativos ou tóxicos; além de problemas com a sazonalidade, interferindo na reprodutibilidade dos fitoterápicos. Dessa forma, torna-se necessário a comprovação desses dados e o reconhecimento farmacológico e toxicológico, que dê suporte ao uso dos fitoterápicos (BARATA, 2005; SPRINGFIELD et al., 2005).

Diante da resistência à prescrição de fitoterápicos, é fundamental a realização do controle de qualidade dos fitoterápicos, desde o cuidado com o solo e o cultivo das plantas medicinais até estudos fitoquímicos, farmacológicos e toxicológicos do produto final, para garantir o conhecimento dos constituintes bioativos dos fitoterápicos, viabilizando o uso para o tratamento de enfermidades (MELO et al., 2007).

O controle de qualidade de plantas medicinais e fitoterápicos podem ser realizados por técnicas simples e rápidas, através da identificação botânica, e análise química e microbiológica, sendo utilizados em laboratórios de regulamentação e laboratórios de controle de qualidade de produtos a base de material vegetal (DRASARA & MORAVCOVA, 2004).

A composição química das plantas medicinais e dos produtos fitoterápicos podem analisados através do emprego de técnicas analíticas e cromatográficas que permitem também a separação e isolamento de substancias bioativas ou grupos de substancias, consideradas como marcador de determinada espécie, além da realização do controle qualitativo e quantitativo de seus constituintes, proporcionando a padronização do produto, além de determinar a melhor época do ano para coleta e avaliar a variação da concentração da composição química entre os lotes (DRASARA & MORAVCOVA, 2004; FAMEI et al., 2006; LIU et al., 2007).

O controle de qualidade microbiológico, por exemplo, pode detectar contaminações por micro-organismos patógenos que provocam além da degradação do material diminuindo sua eficácia, a presença de micro-organismos prejudiciais à saúde humana. Um controle de qualidade mais cuidadoso garante a qualidade do solo, presença de fitopatógenos, cuidados higiênicos com o cultivo, desde o plantio, coleta, armazenamento até a manipulação do produto fitoterápico (ROCHA et al., 2004; KNEIFEI et al., 2002).

O controle de qualidade deve ser estabelecido em toda a sua cadeia produtiva, desde o seu plantio até o produto acabado pronto para distribuição. Assegurando a eficiência, credibilidade e reprodutibilidade dos produtos através dos métodos estabelecidos, tendo identificado os compostos ativos e possíveis efeitos adversos (SOUZA-MOREIRA, SALGADO, PIETRO, 2010).

2.5 *SCHINUS TEREBINTHIFOLIUS* RADDI (AROEIRA-DA-PRAIA)

A Aroeira-da-praia, também conhecida como Aroeira vermelha, pertence à família Anacardiaceae, a qual possui outras 29 espécies nativas da América do Sul. Essa espécie é originária do Peru, porém com ampla distribuição nos

continentes e principalmente no litoral do Brasil, desde as regiões do Estado de Pernambuco ao Rio Grande do Sul. Embora trabalhos registrem sua presença mais frequente no litoral brasileiro, também pode ser encontrada em regiões do nordeste do país (SANTOS, 2012; FALCÃO, 2015).

Figura 1- *S. terebinthifolius* Radii



Fonte: O Autor (2016).

A aroeira é uma árvore de porte variado, podendo atingir de 5 a 10 metros de altura, possui copa larga, com folhas compostas apresentando 3 a 10 pares de folíolos imparipenados, flores pequenas, masculinas e femininas, de coloração branca ou amarela esverdeada. Frutos aromáticos, do tipo drupa e de coloração vermelha, medindo 4 a 5 mm de diâmetro (Fig.1). O tronco pode alcançar 30 a 60 cm de diâmetro com casca escamosa grossa ou fina, variando sua espessura de

acordo com a localidade e quantidade de nutrientes disponíveis (LORENZI e MATOS, 2008; NETO, 1998).

S. terebinthifolius tem em sua composição, uma ampla variedade de substâncias e dentre elas derivados de compostos fenólicos, como os taninos e flavonóides que podem ser encontrados em todas as partes da planta (SOARES et al, 1998). Ricas em óleos essenciais apresentam como principais constituintes monoterpenos, limoneno, sesquiterpenos (COLE et al, 2014),

Na medicina popular, tinturas e alcoolaturas da *S. terebinthifolius* são usadas como antiinflamatório, analgésico, antipirético e como agente depurativo, sendo ainda conhecida por possuir efeitos contra doenças de pele, úlceras, reumatismo, artrite, feridas, problemas respiratórios, infecções digestivas e geniturinárias (BACCHI, 1986; DINIZ et al., 1997; CAVALHER-MACHADO et al., 2008).

De acordo com Simões e colaboradores (2010), a presença de taninos e polifenóis na casca da *S. terebinthifolius* tem relação com várias atividades biológicas como anti-inflamatória, antibacteriana, antifúngica, anticarcinogênica e antimutagênica.

A casca e entrecasca da *S. terebinthifolius* são utilizadas para a produção de tinturas e alcoolaturas, empregadas como antiinflamatório e cicatrizante (uso tópico) (DE ABREU MATOS & DA ROCHA, 1997). Com as folhas é preparada uma infusão, administrada de forma oral para o tratamento de doenças do trato respiratório como a bronquite.

2.6 *SOLIDAGO CHILENSIS* MEYEN (ERVA LANCETA)

O gênero *Solidago* compreende cerca de 120 espécies distribuídas por todo mundo. Pertencente à família Asteraceae, que possui em torno de 25.000 espécies reunidas em 1.500 gêneros, tendo afinidade com regiões de climas tropicais, subtropicais e temperadas, sendo mais abundantes em regiões áridas que nas regiões mais úmidas. No Brasil, a espécie nativa mais encontrada e utilizada na medicina popular é a *Solidago chilensis* (SOUZA; LORENZI, 2012), (ASSINI, 2013).

S. chilensis é uma planta perene, ereta, sublenhosa, rizomatosa, não apresenta ramificações, podendo atingir aproximadamente um metro de altura, com inflorescência de cor amarelas, reunidas em capítulos e esses formam uma panícula vistosa, atualmente utilizada como ornamentais. (GONÇALVES; LORENZI, 2011).

Figura 2 – *Solidago chilensis* Meyen



Fonte: O Autor (2016).

S. chilensis é conhecida popularmente no Brasil por Erva lanceta, arnica, arnica brasileira, arnica-do-campo, sendo amplamente utilizada em forma de alcoolaturas, tinturas, pomadas, além de infusões caseiras, para o tratamento de doenças inflamatórias, diuréticas e contra o reumatismo entre outras, por apresentarem propriedades analgésicas, anti-inflamatórias, cicatrizantes e antissépticas (LORENZI; MATOS, 2002), (MORS, 2000).

Dentre os principais constituintes químicos encontrados em *S. chilensis*, estão a classe dos flavonóides, como a rutina e quercetina como componentes majoritários, além de terpenos, saponinas, ácidos fenólicos (LORENZI; MATOS, 2002), diterpenos, acetofenona, óleos essenciais (SILVA et al, 2010).

2.7 TÉCNICAS ANALÍTICAS PARA IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS

2.7.1 Cromatografia em Camada Delgada de Alta Eficiência (CCDAE)

A técnica de Cromatografia baseia-se no processo de distribuição de moléculas de uma amostra, entre um suporte adequado (fase estacionária), e um solvente ou misturas de solventes (fase móvel ou eluente). Esta técnica dispõe de diversas aplicabilidades, como análises de suplementos dietéticos, alimentos e bebidas, amostras clínicas, poluentes ambientais, além de análises de medicamentos sintéticos e à base de plantas (SHERMA, 2008).

A Cromatografia em Camada Delgada de Alta Eficiência (CCDAE) é uma técnica recentemente desenvolvida. Possui instrumental avançado, é uma técnica automatizada e de alto desempenho, podendo ser utilizada para análises qualitativas (separação de compostos) e quantitativas (funcionando de modo otimizado), necessitando de metodologias padronizadas para desenvolvimento, otimização, documentação e uso de métodos (HUSAIN, 2004).

Essa técnica é bastante promissora, pela diversidade de vantagens, como sensibilidade do método e análise da separação de compostos, por ser um processo de separação fácil, podendo combinar, e conseqüentemente usar, diferentes modos de avaliação, permitindo a identificação de compostos através da diferença de coloração e características de absorção de luz diferenciadas, através de agentes cromogênicos e da luz UV. Após separação dos compostos, as placas podem ser armazenadas por um longo período de tempo para posteriores análises. As amostras podem ser, adicionalmente, analisadas na mesma placa, tornando-se uma análise rápida e de baixo custo (KALASZ et al., 2001).

2.7.2 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

A Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) também é uma técnica de separação de compostos, principalmente, substâncias de fontes complexas, como produtos naturais e fluidos biológicos, sendo um dos métodos analíticos mais utilizados para análises qualitativas e quantitativas. A adaptabilidade e a

sensibilidade desta técnica possibilitam separar substâncias não voláteis e termicamente instáveis. A CLAE permite análises mais rápidas e com desempenho cromatográfico para ensaios de rotina em laboratórios, principalmente nas áreas ambientais, farmacêuticas, e em vários outros campos da ciência (TONHI et al., 2002).

Sua capacidade de separação dos componentes deve-se à eficiência do equipamento e do poder de resolução das colunas utilizadas. As amostras são previamente preparadas e aplicadas na coluna cromatográfica (fase estacionária), onde o eluente (fase móvel) percorre sob altas pressões, separando os compostos, utilizando as fases móvel e estacionária de acordo com o tipo de composto a ser separado. (BRAGA, et al., 2006).

O eluente movimenta-se através da coluna separando as substâncias, direcionando os compostos para um detector, que analisa cada componente da amostra, transmitindo um sinal ao software do computador, e um cromatograma é gerado, mostrando a variação do sinal do detector em função do tempo de análise (LANÇAS, 2009).

2.8 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

2.8.1 Antioxidantes no Combate aos Radicais Livres

Os radicais livres são moléculas ou átomos extremamente reativos, contendo um ou mais elétrons não pareados nas extremidades de sua órbita, provocando sua instabilidade e sendo capazes de reagir com qualquer composto, passando a ter função oxidante ou redutora, podendo interferir e alterar reações normais do organismo (HALLIWEL e GUTTERIDGE, 1999).

O aumento de radicais livres pode ocorrer quando a sua produção é maior que sua degradação pela deficiência de substâncias antioxidantes, ocasionando um estresse oxidativo, resultado do desequilíbrio entre espécies reativas do oxigênio e sua redução através do sistema. Outros fatores podem levar ao estresse oxidativo, como dietas pobres em antioxidantes, utilização de fármacos, além de fatores externos, como a poluição, ou até mesmo durante processos inflamatórios, gerando a produção de radicais livres, acarretando em algumas enfermidades (SIES, STAHL e SELAVANIAN, 2005).

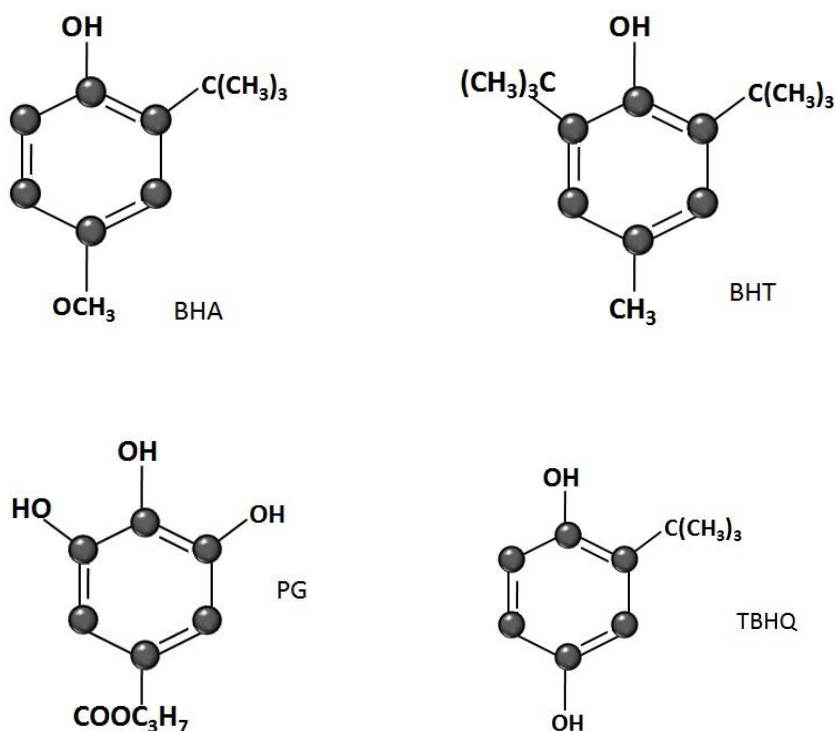
O estresse oxidativo tem sido relacionado com a origem de várias doenças, tais como cardiopatias, aterosclerose, artrite reumatóide, catarata, diabetes, problemas pulmonares, infecções, além de processos carcinogênicos, quando causam danos ao DNA. (BAGGI e PURI, 1998; KIM et al, 2008; SILVA, 2014).

O aumento de radicais livres durante processos metabólicos leva ao desenvolvimento de muitas estratégias de defesa por intermédio dos antioxidantes, substâncias responsáveis pela inibição e redução das lesões causadas pelos radicais livres nas células, sendo encontrados em diversos alimentos naturais da dieta humana (SILVA, 2014).

Os antioxidantes são classificados como sintéticos e naturais. Os antioxidantes sintéticos são comumente usados na indústria alimentícia, atuando como conservantes, sendo os principais o butilhidroxitolueno (BHT) e butilhidroxianisol (BHA) utilizados por indústrias alimentícias para prevenir a oxidação de óleos vegetais e gorduras animais; propilgalato (PG) utilizados para estabilizar alimentos industriais; tecbutilhidroquinona (TBHQ) é considerado o

melhor antioxidante para óleos de fritura, sendo resistente ao calor e bom estabilizante para os produtos acabados (RAMALHO e JORGE, 2006).

Figura 3 - Estrutura química dos principais antioxidantes sintéticos.



Fonte: O Autor (2017).

Estudos demonstram, cada vez mais, evidências de que os antioxidantes presentes em alimentos e vegetais combatem os radicais livres, podendo prevenir ou diminuir o desenvolvimento de doenças e combater o envelhecimento precoce das células, impedir também sua proliferação e, conseqüentemente, o surgimento de câncer e tumores (CHLUDIL,2008). Alguns estudos relacionam antioxidantes sintéticos com desenvolvimento de câncer, em ratos, como o de próstata, mama e estômago. Isso tem levado as indústrias a reduzirem seu uso ou substituí-los por antioxidantes naturais, porém não foram encontrados trabalhos conclusivos. (MORAES et al, 2008; SILVA, 2014; FREITAS, 2017)

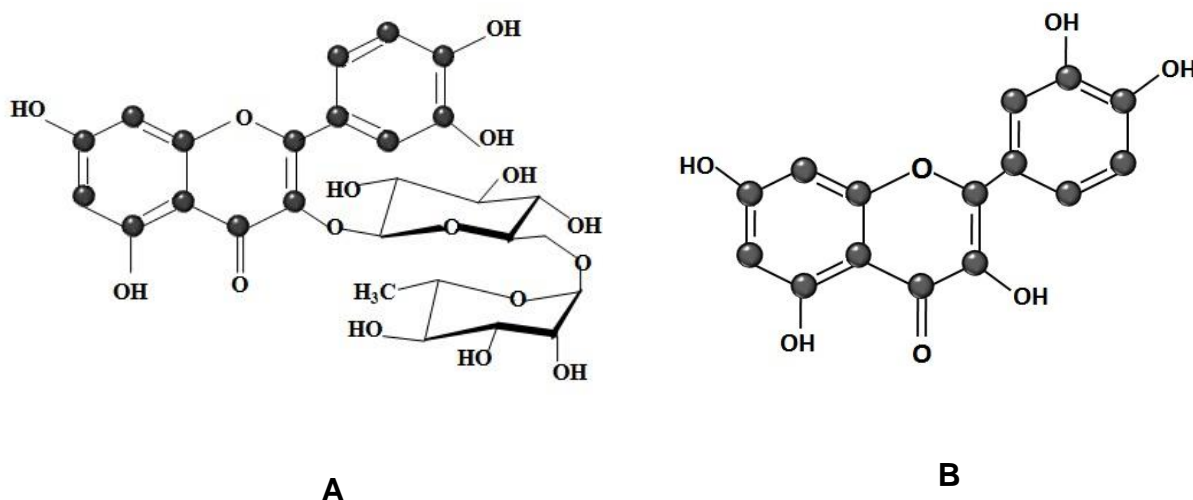
Em relação ao mecanismo de combate aos radicais livres, os antioxidantes têm o importante papel de impedir a formação de radicais livres e interceptar e

bloquear o ataque, atuando como agentes redutores e reparando as lesões causadas às células. (DONNELLI e ROBINSON, 1995).

Em função dos possíveis problemas provocados pelo consumo de antioxidantes sintéticos, as pesquisas têm-se voltado na perspectiva de encontrar produtos naturais com atividade antioxidante, os quais permitirão substituir os sintéticos ou fazer associação entre eles (SOUSA et al, 2007).

Os antioxidantes classificados como naturais são abundantemente encontrados em vegetais, podendo ser consumidos pela ingestão de frutos, sucos e chás. As substâncias responsáveis pelo potencial antioxidante são os compostos fenólicos, que se apresentam amplamente distribuídos por todas as partes das plantas, porém sua maior concentração e variedade estão presentes nos frutos, hortaliças e ervas, possuindo importante função de proteger as plantas de agentes oxidantes (RODRIGUES et al, 2015). Os compostos fenólicos são classificados em flavonóides (flavanóis, flavonas, flavonóis, flavanonas, antocianidinas e isoflavonóides), como a rutina e quercetina; e não flavonóides (ácidos fenólicos) (LIMA, 2008).

Figura 4 - Estrutura química da Rutina (A) e Quercetina (B).



Fonte: O Autor (2017).

Vários estudos comprovam a eficácia e a variedade de substâncias antioxidantes isoladas de plantas com fins medicinais (MERLIN, 2017). Progressivamente, os fitoterápicos estão ganhando notoriedade e pesquisadores cada vez mais buscam pesquisas relacionadas ao poder terapêutico dos fitoterápicos (SILVA, 2017), bem como outros produtos a base de plantas medicinais (FONTES, 2015).

Isso se deve ao fato da crescente busca pela investigação do potencial de antioxidantes naturais de bioativos de plantas medicinais, os quais, ao contrário dos antioxidantes sintéticos, apresentam baixa toxicidade, sendo menos nocivos à saúde (LI et al., 2014).

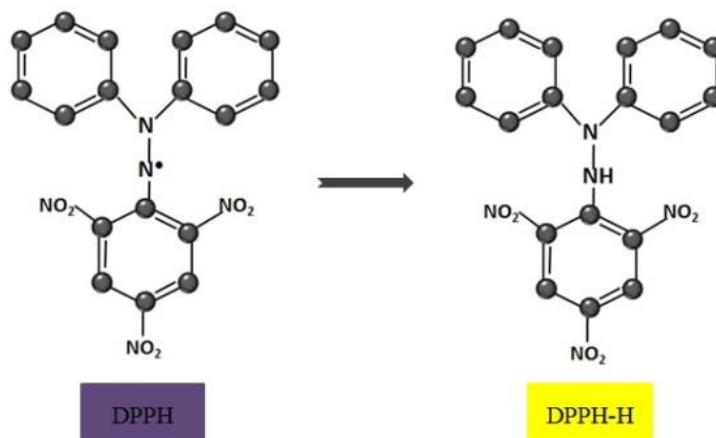
2.8.2 Método da Captura do Radical Livre DPPH

Consiste num método colorimétrico que determina a capacidade de capturar o radical livre DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazil) por substâncias antioxidantes. O DPPH é um radical estável frequentemente utilizado para avaliar a capacidade antioxidante de produtos naturais e alimentos.

O método é simples, rápido, preciso e utilizado para investigar a determinação das propriedades antioxidantes de amins, fenóis ou compostos naturais (vitaminas, extratos vegetais, medicamentos) (VEDANA, 2008).

O radical DPPH é um composto orgânico estável e bastante reativo, apresentando absorção em λ_{max} 517 nm. Durante a captura do radical DPPH ocorre uma reação de oxi-redução, onde o DPPH que apresenta em solução, coloração púrpura, é reduzido, no qual o elétron desemparelhado se emparelha com um elétron cedido por um antioxidante, mudando a coloração da solução para amarelo, ocorrendo a forma DPPH-H. Tal reação é monitorada por espectrofotômetro e medida pelo decréscimo na absorbância e plotada contra a concentração (BRAND-WILLIAMS et al., 1995).

Figura 5 - Mecanismo de reação do DPPH.



Fonte: O Autor (2017).

2.8.3 Determinação do Poder Redutor – PR

Substâncias antioxidantes atuam como captadores de radicais livres, podendo agir como um potente redutor. A determinação do poder redutor é avaliado pela capacidade de reduzir íons férrico, reduzindo o Fe(III) em Fe(II), ou íons cúpricos, pela redução de Cu(II) em Cu(I) (NIKI, 2010).

O teste de poder redutor avalia a capacidade antioxidante de reduzir o íon ferricianeto ($[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$) em ferricianato ($[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$), em meio neutro ($\text{pH} = 6,6$), que na presença do íon férrico apresenta a coloração azul da Prússia. Quanto maior a absorbância, maior a capacidade antioxidante devido a maior formação de ferricianato, cuja absorbância é avaliada em 700 nm (OYAIZU, 1986; SANTOS et al, 2007).

A equação baseada na redução do ferricianeto é a seguinte:



A reação a pH neutro diminui o potencial de ionização intensificando a transferência de elétrons e aumentando o potencial redox, provocando uma

mudança no mecanismo de reação, tanto em soluções hidrofílicas quanto lipofílicas (PIOR et al., 2005).

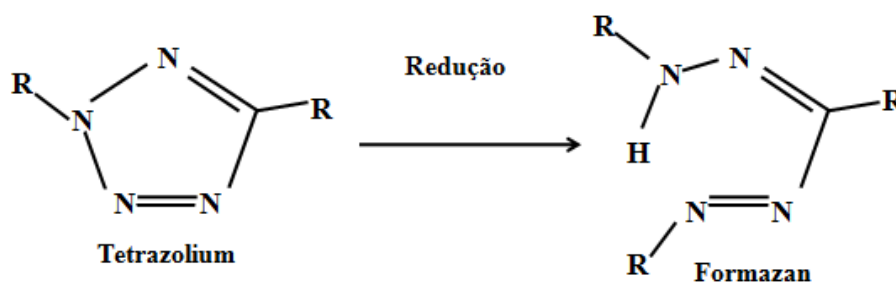
2.9 CITOTOXICIDADE

O ensaio de citotoxicidade *in vitro*, avalia se um produto tem a capacidade de afetar as funções normais das células, gerando danos à membrana, a estrutura ou a seus processos metabólicos, bem como, prejudicar sua capacidade reprodutiva, ou até mesmo, provocar sua morte. A citotoxicidade pode ser avaliada através de ensaios qualitativos, investigando os possíveis danos a morfologia celular; ou quantitativos, no qual após a exposição das células ao produto de estudo, é computado o número das células viáveis. Além disso, os métodos de avaliação da citotoxicidade, podem detectar a ocorrência de inibição, proliferação ou ativação celular (MOSMANN, 1983; DAGUANO et al., 2007).

2.9.1 Ensaio MTT

Dentre os ensaios para avaliar a atividade citotóxica de compostos ou substâncias o ensaio colorimétrico tetrazolium (3-(4,5-Dimetiltiazol- 2-yl)-2,5-difeniltetrazol brometo) (MTT), é baseado na capacidade de células vivas e metabolicamente ativas, reduzirem o MTT, que apresentam coloração amarelada, em formazan 1-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-3,5-difenilformazan, um formado por cristais, de azul-escuro, insolúveis em água. A quantidade de sal formazan produzida é proporcional ao número de células viáveis (MOSMANN, 1983; LIU et al., 1997).

Figura 6 - Mecanismo de redução do Tetrazolium.



Fonte: O Autor (2017).

O ensaio do MTT é muito utilizado para avaliar o crescimento e sobrevivência de uma grande variedade de células, pois é de fácil reprodução, sensível, rápido, seguro e de baixo custo. A sensibilidade deste teste depende do tipo de célula, do seu estado metabólico médio e da técnica usada para solubilizar os cristais de formazan (LIU et al., 1997; CHAPDELAINE, 2010; VAN et al., 2011).

Este método vem sendo constantemente usado a fim de avaliar os efeitos citotóxicos de plantas medicinais e fitoterápicos, diante disso, torna-se interessante investigar a atividade antioxidante desses produtos considerando seu provável potencial citotóxico (GONÇALVES, 2014; OLIVEIRA et al, 2014; DEEPA, 2016; JESUS, 2016).

3 OBJETIVOS

3.1 GERAL

Pretende-se com o presente trabalho realizar o estudo da avaliação da ação antioxidante e citotóxica dos extratos etanólicos e suas frações (acetato de etila e metanol) e de tinturas de *Schinus terebinthifolius* Radd (Aroeira-da-praia) e *Solidago chilensis* Meyen (Erva-lanceta) comercializadas em comunidades produtoras de fitoterápicos da Região Metropolitana do Recife-Pe.

3.2 ESPECÍFICOS

- a) Avaliar os perfis cromatográficos dos extratos, frações e tinturas (CLAE e CCDAE);
- b) Quantificar os principais compostos;
- c) Avaliar a atividade antioxidante;
- d) Avaliar a citotoxicidade frente às células HeLa.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 MATERIAIS

4.1.1 Coleta das espécies

As coletas das espécies botânicas foram realizadas na região metropolitana do Recife e semiárido do Estado de Pernambuco, no período de 07/01/2015 à 15/05/2016. As plantas foram armazenadas no IPA (Instituto Agrônomo de Pernambuco) localizado em Recife e receberam um número de tombamento. As espécies registradas são: *S. terebinthifolius* (90432) e *S. chilensis* (90441).

4.1.2 Tinturas

As tinturas de *Schinus terebinthifolius* Raddi e *Solidago chilensis* Meyen foram adquiridas no Centro de Saúde Alternativa de Muribeca (CESAM), localizado no bairro da Muribeca, do município de Jaboatão dos Guararapes, região metropolitana do Recife-PE (08°/ 06'/ 46" S e 35°/ 00'/ 54" W).

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Obtenção do extrato bruto

As espécies foram herborizadas e acondicionadas em estufa de secagem, expostas a uma temperatura de 45°C com circulação forçada de ar. Depois de secas, as folhas da *S. chilensis* e as cascas da *S. terebinthifolius* foram trituradas e em seguida, adicionou-se etanol a 70% para a extração por maceração de seus metabolitos. Os extratos foram destilados à vácuo em evaporador rotativo com temperatura máxima de 45°C para a obtenção do extrato bruto, que posteriormente, foram dispostos em dessecadores, para obtenção do material seco e seus rendimentos calculados.

As amostras foram nomeadas da seguinte maneira: Extrato Bruto da Aroeira (EBA), Fração Acetato de Etila Aroeira (FAA), Metanólica Aroeira (FMA), Extrato

Bruto Erva Lanceta (EBEL), Fração Acetato de Etila Erva Lanceta (FAEL), Fração Metanólica Erva Lanceta (FMEL).

4.2.2 Investigação das Concentrações das Tinturas

Uma curva de calibração foi construída com dados obtidos em espectrofotômetro (Shimadzu UV-vis 1800), a partir dos extratos brutos das espécies em concentrações determinadas, em seguidas as tinturas foram comparadas com a curva, estimando-se a concentração dos fitoterápicos.

As tinturas foram nomeadas: Tintura Aroeira (TAR 1, 2 e 3), Tintura Acetato de Etila Aroeira (TAA), Tintura Metanólica Aroeira (TMA), Tintura Erva Lanceta (TEL 1, 2 e 3), Tintura Acetato de Etila Erva Lanceta (TAEL) e Tintura Metanólica Erva Lanceta (TMEL).

A tintura da *S. chilensis* é indicada para dores das articulações (artrite, artrose e reumatismo), torções e pancadas. Fitoterápico de uso oral, sugerindo 40 gotas em ½ copo de água, 2 a 3 vezes ao dia. A indicação para o uso da tintura de *S. terebinthifolius* é para casos de inflamações e corrimento vaginal (leucorreia), sendo também de uso oral (sem sugestões de quantidade de uso na embalagem).

4.2.3 Perfis Cromatográficos

4.2.3.1 Cromatografia em Camada Delgada de Alta Eficiência (CCDAE)

Módulos de CCDAE CAMAG (Muttenez, Suíça) consistindo em um aplicador de amostras automático (Automatic TLC Sampler 4), uma câmara de desenvolvimento (Automatic Development Chamber ADC2) e um foto documentador (TLC Visualizer) controlados pelo software WINCATS (versão 1.4.4.6337). A fase estacionária utilizada foi uma placa de Sílica Gel 60_{F254} (10 cm × 10 cm) composta por sílica gel pré-revestida com suporte de vidro compradas da E. Merck (Darmstadt, Alemanha). As amostras dos extratos foram aplicadas utilizando-se agulha do tipo spray com fluxo constante de 150 nL/s sob fluxo de gás nitrogênio. As bandas apresentaram 9.5 mm de comprimento com distância de 8 mm da base da placa e

20 mm da lateral, com espaços de 12 mm entre os pontos de aplicação. As fases móveis utilizadas para cada análise seguiram os protocolos descritos por Bladt e Wagner (1983).

4.2.3.2 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

A análise por CLAE foi realizada em um cromatógrafo Agilent (Santa Clara, CA, EUA) modelo 1200 Infinity Series, equipado com injetor automático 1260 ALS (Auto sampler) e detector ultravioleta 1260 DAD (Diode Array Detector), controlados pelo software Open LAB CDS versão A.02.02-SR1. A separação ocorreu em uma coluna analítica Agilent Zorbax® Eclipse Plus C18 (4.6mm x 100mm x 5-micron) precedida por uma pré-coluna Agilent Zorbax® Eclipse Plus C18 (4.6mm x 100mm x 5-micron). A fase móvel para eluição isocrática foi constituída por água deionizada em sistema de purificação de água Milli-Q® (Merck, Kenilworth, NJ, USA) e Metanol grau HPLC (pureza 99,95%) distribuído pela J.T. Baker (Phillipsburg, NJ, EUA), ambos solventes com 0,1% de ácido trifluoroacético (TFA) cada e na proporção de 60:40 v/v. A coluna e pré-coluna foram termostaticamente controladas a uma temperatura de 25° C, o fluxo da análise foi de 1 ml/min e o cromatograma monitorado a 270 nm, sendo registrado também o espectro na faixa de 200-400 nm

4.2.4 Testes Quantitativos

4.2.4.1 Doseamento de Fenóis Totais

A concentração de compostos fenólicos totais em extratos de plantas foi determinada utilizando-se o método espectrofotométrico (Singleton et al., 1999). A solução metanólica do extrato na concentração de 1 mg/mL foi utilizada na análise. A mistura de reação foi preparada misturando-se 0,5 ml de solução metanólica de extrato com 2,5 mL de reagente de Folin-Ciocalteu (10%) e 2,5 ml de NaHCO₃ a 7,5%. O branco foi preparado concomitantemente, à partir de 0,5 ml de metanol, 2,5 ml de reagente de 10% de Folin-Ciocalteu e 2,5 ml de 7,5% de NaHCO₃. As amostras foram em seguida incubadas num banho termostaticado a 45°C durante 45 min. A absorbância foi determinada usando o espectrofotômetro de UV-Vis com a leitura do comprimento de onda a 765 nm (λ). As amostras foram preparadas em

triplicata (1000, 500, 250, 125, 100 e 50µg/mL) para cada análise e o valor médio de absorbância foi obtido. O mesmo procedimento foi repetido para a solução padrão de ácido gálico e a linha de calibração foi interpretada. Com base nas absorbâncias medidas, a concentração de compostos fenólicos foi calculada (mg/ml) a partir da linha de calibração. Em seguida, o conteúdo de compostos fenólicos presentes em extratos foi expresso em termos de equivalentes de ácido gálico (mg de GA/g de extrato) (STANKOVIC, 2011).

4.2.4.2 Doseamento de Flavonóides

A determinação de flavonóides seguiu a metodologia proposta por Woisky e Salatino (1998) adaptada. O experimento consiste em pipetar 1mL do extrato em tubo de ensaios (1 mg/ml) e, após essa adição, adicionou-se aos tubos 1 mL de cloreto de alumínio ($AlCl_3$, 5%) (hexahidratado) em metanol e 2 mL de metanol. Para o experimento, foi preparado o branco utilizando-se 3 mL de metanol e 1mL de cloreto de alumínio. Aguarda-se 30 minutos no escuro e procede-se a leitura em espectrofotômetro a 425nm. Foi utilizada como padrão a quercetina, nas concentrações de 1000, 500, 250, 125, 100 e 50µg/mL para a construção da curva de calibração. A partir da equação da reta obtida, realiza-se o cálculo do teor de flavonóides, expresso em equivalente quercetina de amostra (mg de QUE/g de extrato).

4.2.5 Avaliação da Atividade Antioxidante

4.2.5.1 Determinação da atividade antioxidante total pela captura do Radical Livre DPPH

A partir do extrato etanólico foram preparadas soluções das amostras nas seguintes concentrações: 1000, 500, 250, 125, 100 e 50µg/mL. Um controle negativo foi feito pela adição de etanol e DPPH e o controle positivo foi feito pela adição de solução de um padrão (rutina) e DPPH. Adicionou-se a cada concentração de extrato etanólico uma solução de DPPH 300µM, exceto nos brancos, onde foi adicionado o solvente (NASCIMENTO et al., 2011). Após a adição do DPPH,

esperou-se 40 minutos e procedeu-se a leitura no espectrofotômetro a 515nm (NASCIMENTO et al., 2011). A partir dos resultados obtidos determinou-se a porcentagem de atividade antioxidante sequestradora de radicais livres (NASCIMENTO et al., 2011). A capacidade de eliminar o radical DPPH (% de atividade antioxidante) foi calculada utilizando-se a seguinte equação:

Em que: $A_{\text{controle (-)}}$ = absorbância da solução de DPPH sem a amostra;

A_{amostra} = absorbância da amostra com o DPPH.

Preparou-se uma solução etanólica de DPPH a 300 μMol (120 $\mu\text{g/mL}$). Em seguida, foram preparadas diluições dessa solução para obtenção de diferentes concentrações 100, 80, 60, 40, 20, 10, 5 e 1 $\mu\text{g/mL}$. Foram realizadas as leituras das absorbâncias das soluções, em triplicata, utilizando-se etanol como branco. Foi construída a curva padrão de DPPH plotando-se o valor médio das absorbâncias obtidas versus a concentração da solução (NASCIMENTO et al., 2011).

4.2.5.2 Determinação da atividade antioxidante – Poder redutor

O ensaio foi avaliado de acordo com o Método Berker et al. (2007) com modificações. As amostras foram preparadas nas concentrações de 1000, 500, 250, 125, 100 e 50 $\mu\text{g/mL}$. 1,25 mL de tampão de fosfato 0,2 M (pH 6,6) e 1,25 mL de Ferricianeto de Potássio a 1% foram adicionados e a solução incubados em banho termostatizado à 50 ° C durante 30 min. Um volume de 1,25 mL de ácido tricloroacético (TCA) a 10% foi adicionado à mistura seguido de centrifugação a 3000 rpm por 10 min. Uma alíquota de 1,25 mL do centrifugado foi adicionado em 1,25 mL de água destilada e 0,25 mL de Cloreto férrico a 0,1%. Após 90 s, a absorvência da mistura foi registrada em 712nm.

4.2.6 Citotoxicidade- Método MTT

O teste de citotoxicidade foi realizado através do método MTT utilizando células HeLa. As células foram mantidas em estufa a 37 °C contendo 5% de CO_2 , em DMEN (Gibco), com 10% de soro fetal bovino (Gibco), 10 mM de HEPES Ácido (4-(2-hidroxietil)-1-piperazina etanosulfônico) (Gibco) e 1% de Penicilina/Estreptomicina

(Gibco). Para o repique utilizou-se de tripsina/EDTA (0,25%). As células foram plaqueadas numa densidade de 1×10^5 (linhagem aderida), por poço em placas de 96 poços. Células foram tratadas com os compostos na concentração final de 50 $\mu\text{g/mL}$ e, em seguida incubadas por 72 horas. Após este período 25 μL de MTT foi adicionado e as células foram reincubadas por 3h. A absorbância foi lida após dissolução do precipitado com 200 μL de DMSO em espectrofotômetro de placa a 595nm. Os experimentos foram realizados em quadruplicatas e a percentagem de inibição foi calculada no programa *Graph Pad Prism* 5.0. Foi utilizada uma escala de intensidade para avaliar o potencial citotóxico dos compostos e as amostras foram consideradas com alta atividade tóxica quando inibido de 95% a 100% o crescimento celular, atividade moderada entre 70% a 90% e sem efeitos quando menor que 50%. (RODRIGUES et. al., 2014).

4.2.7 Análise Estatística

Os dados foram relatados pela média \pm desvio padrão e avaliado por análise de variância *Two-Way* ANOVA, seguida do teste de Bonferroni para os testes antioxidantes realizados em triplicata ($n=3$), sendo considerado significativo $*P<0,05$ e $**P<0,001$ através do *software Graph Pad Prism* 5.0.

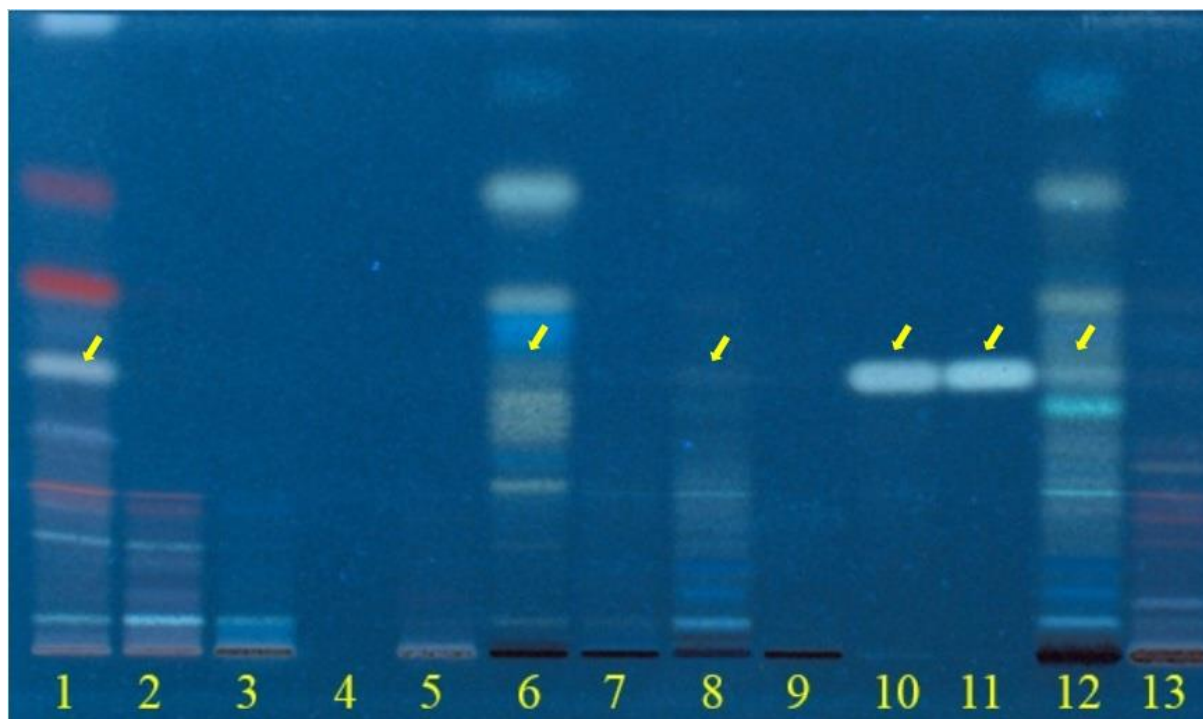
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 PERFÍS CROMATOGRÁFICOS

5.1.1 Cromatografia em Camada Delgada de Alta Eficiência

Os extratos brutos e tinturas de *S. chilensis* e *S. terebinthifolius* indicaram a presença de triterpenos e esteróides, comparados a dois padrões (Sitosterol e Stigmasterol), sendo possível observar pela posição e coloração clara das bandas (Figura 7) com diferentes intensidades, relacionada à quantidade desses compostos presentes nas amostras. A presença de monoterpenos, diterpenos e sesquiterpenos podem ser verificadas pelas bandas de coloração em tons roxos (fig. 8). Os compostos terpênicos por serem compostos apolares não aparecem nas demais amostras.

Figura 7 - Cromatografia em Camada Delgada de Alta Eficiência para identificação de Triterpenos e Esteróides.

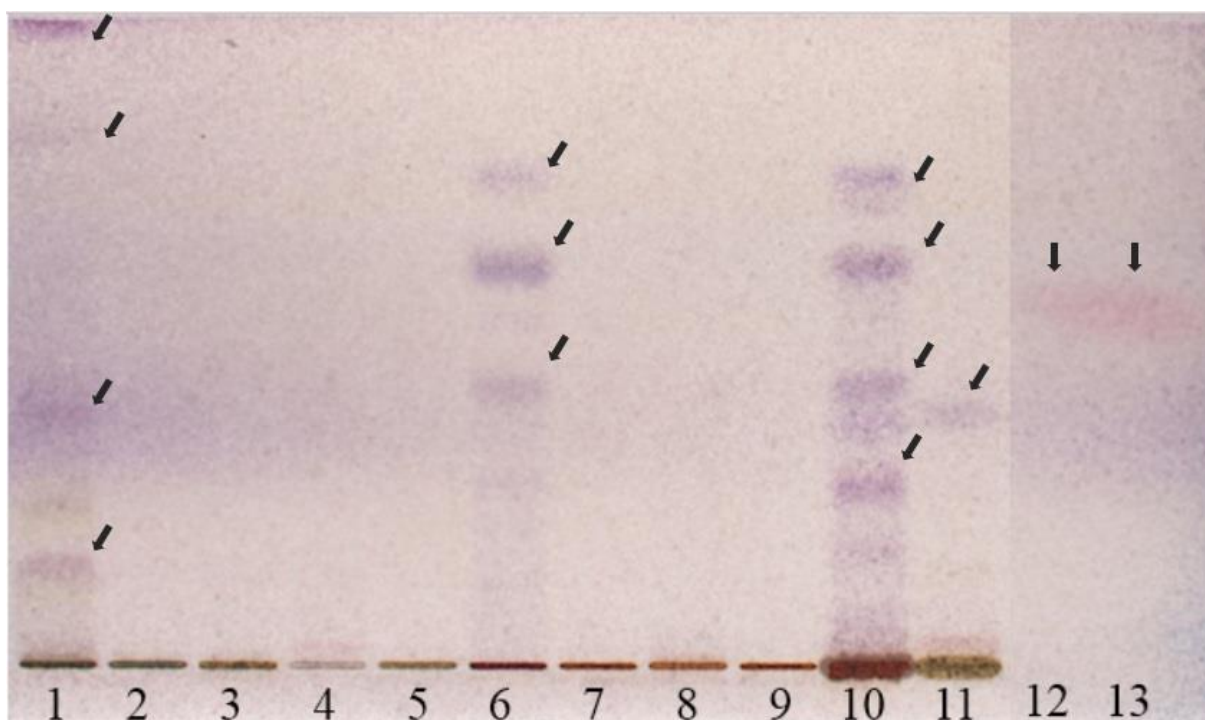


1-Extrato bruto Erva lanceta (EBEL); 2-Fração acetato Erva Lanceta (FAEL); 3- Fração Metanólica Erva Lanceta (FMEL); 4- Tintura Acetato de Etila Erva Lanceta (TAEL); 5- Tintura Metanólica Erva Lanceta (TMEL); 6-Extrato Bruto da Aroeira (EBA); 7-Fração Metanólica Aroeira (FMA); 8- Tintura Acetato de Etila Aroeira (TAA); 9-Tintura Metanólica Aroeira (TMA); 10- Sitosterol; 11-Stigmasterol; 12-Tintura Aroeira (TAR); 13-Tintura Erva Lanceta (TEL). Fase Móvel: Tolueno:AcOEt (9:1). Revelador: Liebermann/Burchard + UV.

O principal constituinte encontrado na espécie *S. chilensis* é o diterpeno labdânico solidagenona, entre outros compostos terpênicos (sesquiterpenos e diterpenos) e flavonóides. A solidagenona é descrita por suas propriedades antiinflamatórias, gastroprotetoras e imunomoduladoras (SCHMEDA-HIRSCHMANN, 1987; VALVERDE et al., 2009).

LIMA e colaboradores (2006) realizam estudos fitoquímicos em cascas e folhas de *S. terebinthifolius*, detectando a presença de polifenóis no extrato bruto e triterpenos e esteróides livres na fração hexânica.

Figura 8 - Cromatografia em Camada Delgada de Alta Eficiência para identificação de Monoterpenos, Diterpenos e Sesquiterpenos.



1-Extrato bruto Erva lanceta (EBEL); 2-Fração acetato Erva Lanceta (FAEL); 3- Fração Metanólica Erva Lanceta (FMEL); 4- Tintura Acetato de Etila Erva Lanceta (TAEL); 5- Tintura Metanólica Erva Lanceta (TMEL); 6-Extrato Bruto da Aroeira (EBA); 7-Fração Metanólica Aroeira (FMA); 8- Tintura Acetato de Etila Aroeira (TAA); 9-Tintura Metanólica Aroeira (TMA); 10- Tintura Aroeira (TAR); 11-Tintura Erva Lanceta (TEL); 12-Timol; 13-Carvacrol. Fase Móvel: Tolueno:AcOEt (93:7). Revelador: Vanilina sulfúrica + UV.

Produtos naturais a base óleos essenciais das folhas e frutos de *S. terebinthifolius* são indicados para tratamento de doenças de pele, feridas e

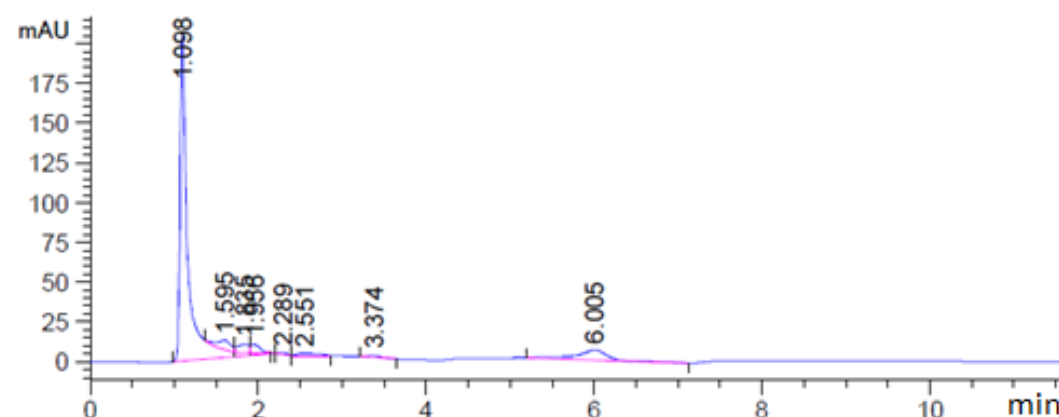
queimaduras. A alta concentração de monoterpenos é relacionada às propriedades anticancerígenas, antiviral e antibactericida (DEGÁSPARI et al., 2005).

5.1.2 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

As frações metanólicas dos extratos brutos e tinturas de *S. chilensis* e *S. terebinthifolius* foram submetidas a técnica CLAE para determinação do flavonóide Rutina, que foi detectada apenas nas amostras de *S. chilensis*.

Abaixo estão representados os cronogramas obtidos para identificação e quantificação da Rutina.

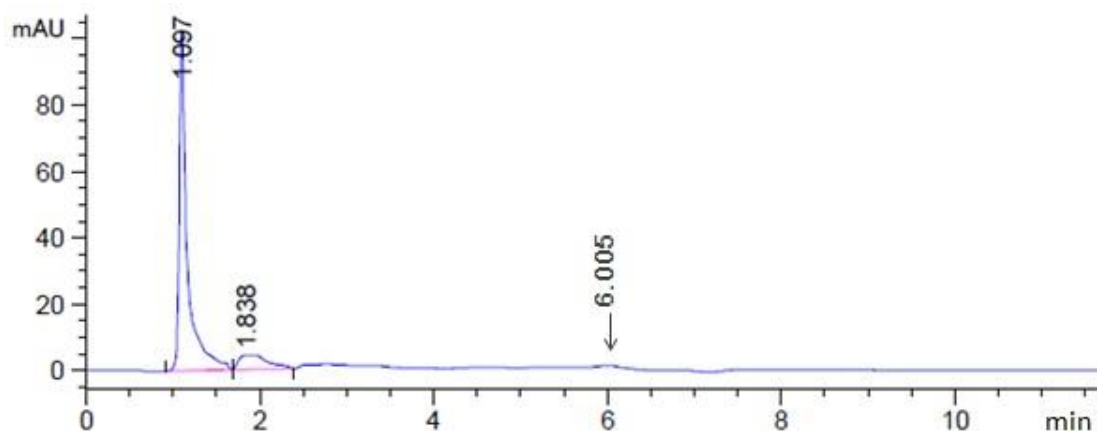
Figura 9 - Cromatograma da Rutina identificada na Fração Metanólica do extrato bruto da *S. chilensis*.



Para a fração metanólica da *S. chilensis* foi observado oito picos de substâncias, sendo uma delas a Rutina, com TR em 6,005 minutos, conforme demonstra a Figura 7.

O teor de Rutina encontrado na fração metanólica do extrato bruto foi de 0,012µg/mL.

Figura 10 - Cromatograma da Rutina identificada na Fração Metanólica da tintura de *S. chilensis*.



Para a porção da Tintura da *S. chilensis* que foi evaporada e ressuspensa em metanol, foram observados três picos, e foi possível identificar a Rutina pelo TR da substância na amostra (6,005 min.). Os picos se apresentaram discretos devido a baixa concentração das amostras preparadas para o método.

Não foi possível identificar os demais picos, pois são necessários outros métodos e padrões.

A Rutina é um flavonol, pertencente à subclasse dos flavonóides. A rutina possui atividade antioxidante, conhecida por atuar na redução do colesterol e por combater os radicais livres, impedindo a peroxidação lipídica causada pelo estresse oxidativo (SUN et al. 2011).

5.2 TESTES QUANTITATIVOS

5.2.1 Doseamento de Fenóis Totais - Método Folin– Ciocalteu

Os resultados obtidos na determinação de teor de fenóis totais pelo método Folin– Ciocalteu, expressos em equivalente de ácido gálico (EAG) por grama de extrato bruto estão dispostos na tabela 1.

Tabela 1 - Teor de Fenóis Totais expressos em μg EAG/g Ext.

Doseamento de Fenóis Totais				
Concentração	<i>S. terebinthifolius</i>	TAR	<i>S. chilensis</i>	TEL
1000	310,6 \pm 2,7	301,5 \pm 0,9	43,4 \pm 0,2	40,0 \pm 0,8
500	172,3 \pm 2,7	166,8 \pm 2,4	25,0 \pm 1,9	20,8 \pm 0,1
250	103,2 \pm 4,2	10,8 \pm 0,9	11,8 \pm 0,6	10,7 \pm 0,2
125	56,6 \pm 1,2	5,7 \pm 0,1	6,7 \pm 0,1	5,5 \pm 0,4
100	48,5 \pm 0,4	4,5 \pm 0,2	5,7 \pm 0,3	4,2 \pm 0,03
50	25,5 \pm 0,7	2,1 \pm 0,04	3,5 \pm 0,4	2,7 \pm 0,03

Os valores estão expressos com a média \pm desvio padrão (EAG). TAR: Tintura da Aroeira (*S. terebinthifolius*). TEL: Tintura da Erva Lanceta (*S. chilensis*).

Fonte: O Autor (2017).

Dentre as espécies avaliadas, as amostras de *S. terebinthifolius* apresentaram maior teor de compostos fenólicos indicando 310,6 e 301,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ para o extrato bruto e tintura, respectivamente. A presença de níveis consideráveis de fenóis totais também é relatada na literatura (QUEIRES et al., 1998; FARAG, 2008; EL-MASSRY et al., 2009). Os dados mostram proximidade entre o teor de fenóis totais nas concentrações de 1000 e 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ do extrato bruto e tintura da *S. terebinthifolius*, porém nas demais concentrações o extrato bruto apresentou maior teor de compostos fenólicos. Possivelmente a diferença entre os resultados da *S. terebinthifolius* está relacionada com o fator de influência de fatores ambientais, como por exemplo, a sazonalidade, exposição a luminosidade, fertilidade do solo e fatores biológicos (MATSUKI, 1996).

S. chilensis, apresentou 43,4µg/ml para o extrato bruto e 40,0µg/ml para a tintura, na maior concentração, sendo possível observar baixa variação entre as demais concentrações de teor de fenóis totais entre os dois tipos de amostras.

Vários trabalhos relatam a presença de compostos fenólicos das plantas do gênero *Solidago*, relacionando-os às propriedades antioxidantes e antimicrobianas (DENG, 2015; SABIR, 2012). Deng e colaboradores (2015) realizaram diferentes métodos de extração de compostos fenólicos em diferentes fases de maturação de uma espécie do gênero *Solidago*, significativa concentração de compostos fenólicos no período de floração completa e no período de maturidade após a floração.

Evidências indicam que plantas medicinais que contêm compostos fenólicos podem ser de grande importância na fonte contínua de novas moléculas antioxidantes no combate aos radicais livres e prevenção diversas enfermidades (ALAM et al., 2013).

5.2.2 Doseamento de Flavonóides

Os resultados obtidos na determinação de teor de flavonóides, expressos em equivalentes de quercetina por grama de extrato (QUE/g Ext) estão dispostos na tabela 2.

Tabela 2 - Teor de Flavonóides expressos em μg QUE/g Ext.

Doseamento de Flavonóides Totais				
Concentração	<i>S. terebinthifolius</i>	TAR	<i>S. chilensis</i>	TEL
1000	10,9 \pm 0,1	6,8 \pm 0,2	110,2 \pm 0,9	134,2 \pm 0,5
500	5,2 \pm 0,02	2,9 \pm 0,2	60,7 \pm 2,4	101,2 \pm 0,2
250	2,9 \pm 0,06	0,9 \pm 0,09	30,0 \pm 1,1	55,2 \pm 1,6
125	1,2 \pm 0,04	0	14,6 \pm 0,3	28,7 \pm 0,2
100	0	0	6,1 \pm 0,6	23,1 \pm 1,8
50	0	0	5,5 \pm 0,5	12,0 \pm 0,4

Os valores são expressos com a média \pm desvio padrão (EAG). TAR: Tintura da Aroeira (*S. terebinthifolius*). TEL: Tintura da Erva Lanceta (*S. chilensis*).

Fonte: O Autor (2017).

O extrato bruto e tintura de *S. terebinthifolius* apresentaram valores próximos de teores de flavonóides. O gênero *Schinus* é reconhecido pelo seu alto potencial antioxidante, que estão relacionados ao seu conteúdo flavonoídico (ULIANA et al., 2015). Abdou e colaboradores (2015) em mostraram efeitos benéficos do extrato etanólico de *S. terebinthifolius* na redução de dano hepático, relacionando o efeito hepatoprotetor com a presença de flavonóides. Ennigrou e colaboradores (2017) acompanharam a produção de flavonóides durante o desenvolvimento dos frutos de *S. terebinthifolius*, no qual apresentou maior teor de fenóis totais na fase intermediária de maturação.

S. chilensis apresentou em sua composição, 110,2 e 134,2 $\mu\text{g/mL}$ equivalentes a quercetina, corroborando com trabalhos recentes que descrevem flavonóides nesta espécie (VECHIA, 2016).

Sabir e colaboradores (2012) mostraram em seu trabalho que uma espécie do gênero *Solidago* apresentou significativo teor de flavonóides, relacionando a atividade hepatoprotetora, demonstrada através da indução de danos no fígado de ratos, mostrando-se eficiente no tratamento. Deng e colaboradores (2015)

apresentaram a concentração de flavonóides desde a germinação até o período pós floração, apresentando maior teor no estágio de crescimento da planta e após a fase de floração.

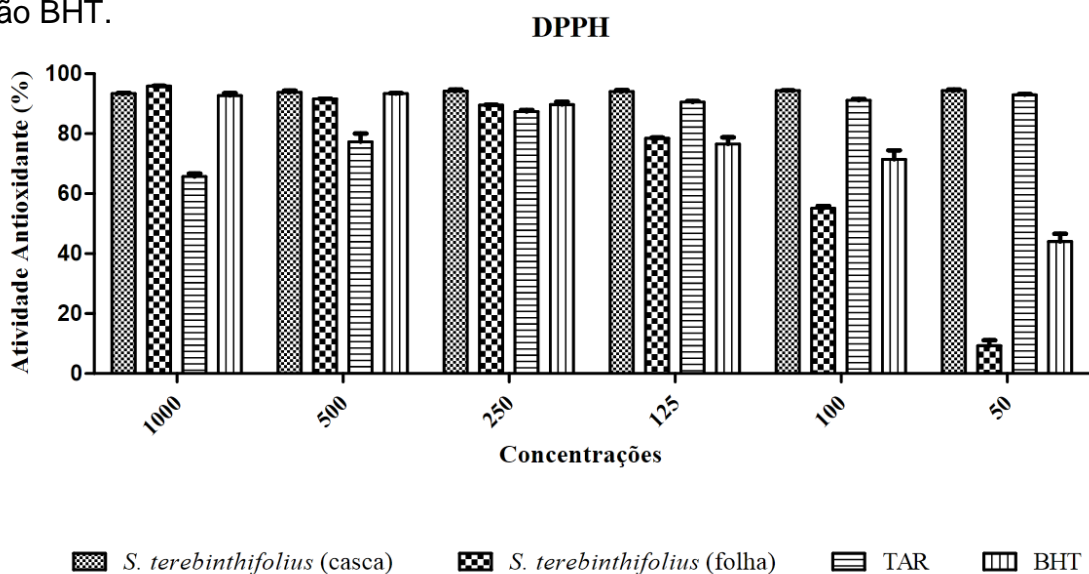
5.3 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

5.3.1 Determinação da atividade antioxidante total pela captura do Radical Livre DPPH

Através da atividade antioxidante realizada pelo teste de DPPH (gráf. 1 e 2), nota-se que o as amostras de *S. terebinthifolius* apresentaram atividade de eliminação de radical livre DPPH em todas as concentrações testadas (1000, 500, 250, 125, 100 e 50 µg / ml).

As cascas de *S. terebinthifolius* obtiveram uma média percentual antioxidante de 93,3% que se manteve em todas as concentrações, similar à tintura comercializada, que apresentou 92,9% de atividade antioxidante, superando o padrão BHT que apresentou concentração máxima 92,7% e na mínima de 41,4%. As folhas da *S. terebinthifolius* também foram avaliadas, apresentando 95,8% (1000 µg/mL) e 11% (50 µg/mL).

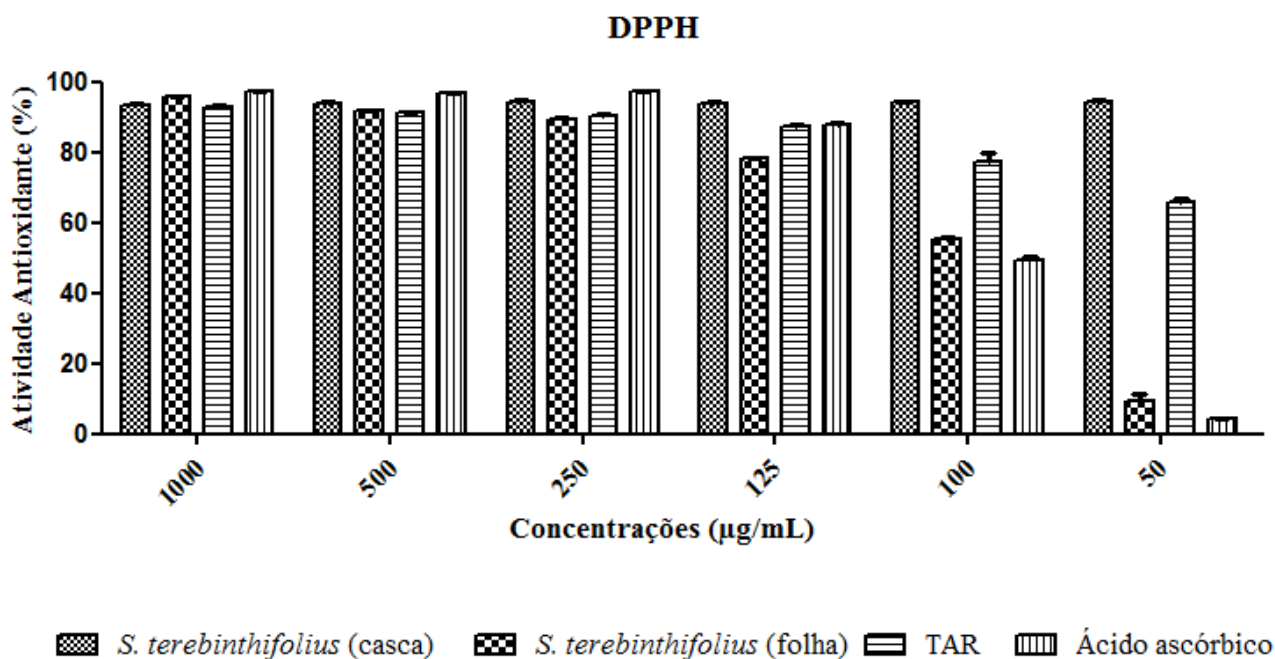
Gráfico 1 - Resultado do teste antioxidante da *S. terebinthifolius* comparando com o padrão BHT.



Os valores estão expressos como média \pm desvio padrão, $n=3$. Os resultados foram analisados usando a análise de variância ANOVA seguida pelo teste Bonferroni para comparação com o padrão (BHT), com significância de $*P<0,05$. TAR: Tintura da Aroeira (*S. terebinthifolius*).

Comparando com o padrão Ácido ascórbico, o extrato das cascas de *S. terebinthifolius* apresentaram destacada ação antioxidante em todas as concentrações. No entanto, a atividade antioxidante do extrato das folhas apresentou-se alta ação antioxidante e mesmo a partir da concentração 125 µg/mL demonstrou 78,4% de potencial antioxidante. A tintura apresentou maior atividade antioxidante entre 80% e 90% na concentração de 1000 µg/mL à 125 µg/mL, reduzindo discretamente a sua ação nas concentrações de 100 µg/mL (77,2%) e 50 µg/mL (65,6%).

Gráfico 2 - Resultado do teste antioxidante da *S. terebinthifolius* comparando com o padrão Ácido Ascórbico.

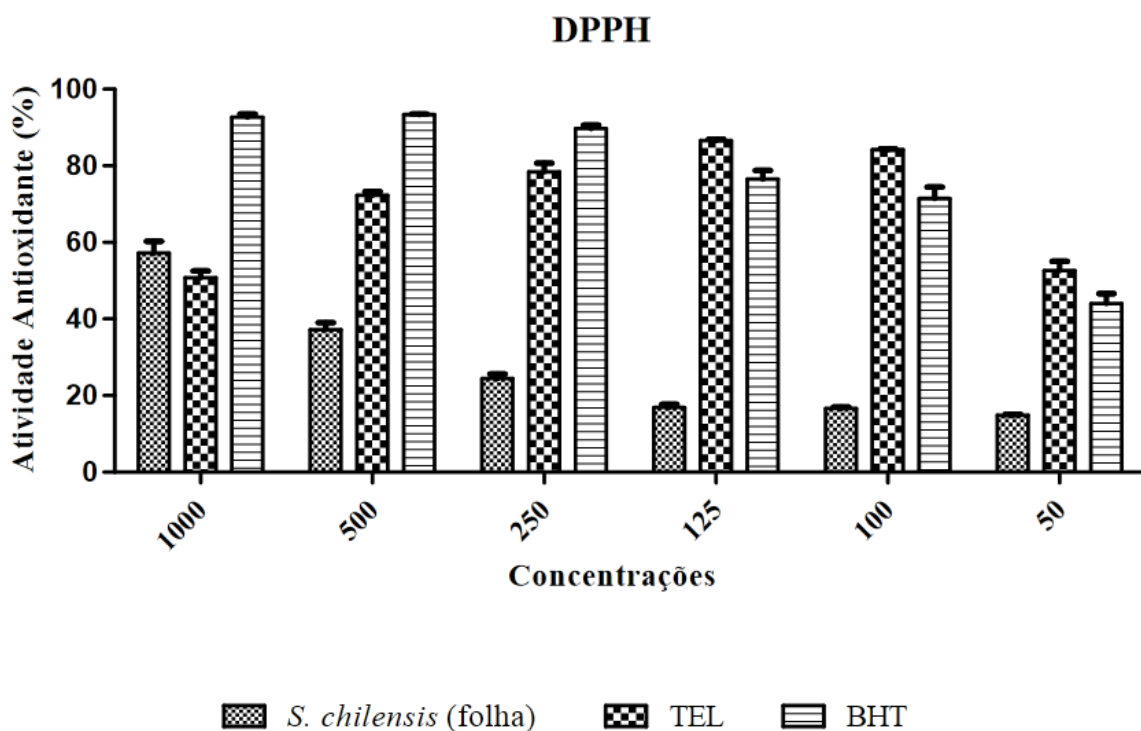


Os valores estão expressos como média \pm desvio padrão, $n=3$. Os resultados foram analisados usando a análise de variância ANOVA seguida pelo teste Bonferroni para comparação com o padrão (Ácido ascórbico), com significância de $*P<0,05$. TAR: Tintura da Aroeira (*S. terebinthifolius*).

Esses dados corroboram com o trabalho de Silva e colaboradores (2017) que avaliaram a atividade antioxidante de quatro flavonóides isolados do extrato metanólico das folhas da *S. terebinthifolius* comparando com o padrão Ácido ascórbico, apresentando considerável atividade antioxidante.

Segundo Uliana e colaboradores (2016) em seus estudos comparando o extrato etanólico e óleo essencial de *S. terebinthifolius*, com os padrões BHT e Ácido ascórbico, mostraram moderada a elevada capacidade antioxidantes, relacionando seu potencial com a presença de compostos fenólicos na espécie. Outros autores, também relacionam a capacidade antioxidante com o teor de compostos fenólicos em vários métodos de extração de metabolitos secundários (EL-MASSRY et al. , 2009; KOSANIC et al., 2013; LEMOS et al., 2015).

Gráfico 3 - Resultado do teste antioxidante das amostras de *S. chilensis* comparadas ao padrão BHT.

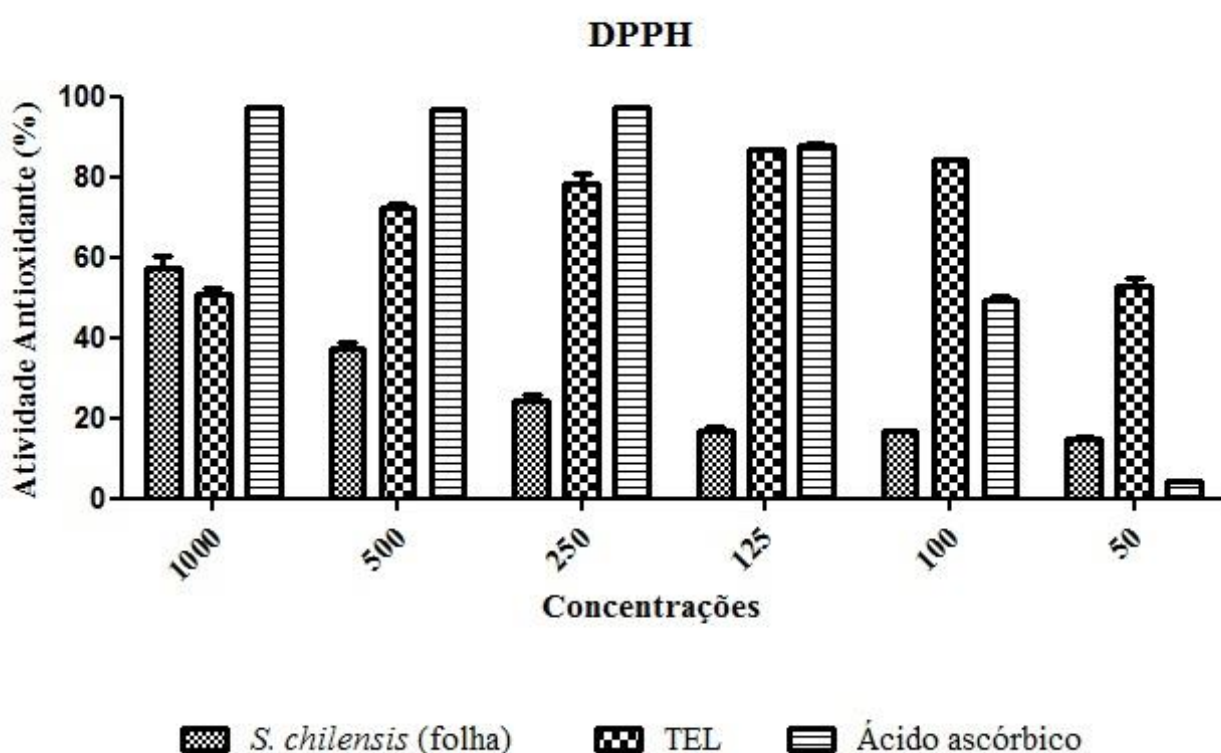


Os valores estão expressos como média \pm desvio padrão, $n=3$. Os resultados foram analisados usando a análise de variância ANOVA seguida pelo teste Bonferroni para comparação com o padrão (BHT), com significância de $*P<0,05$. TEL: Tintura da Erva Lanceta (*S. chilensis*).

O extrato etanólico de *S. chilensis*, comparado ao padrão BTH, apresentou atividade antioxidante moderada de 60%, aproximadamente, na maior concentração, exibindo capacidade mínima de 17%, na concentração de 125 μ g/mL, mantendo-se constante nas menores concentrações. A tintura de *S. chilensis* apresentou máxima

atividade antioxidante nas concentrações intermediárias de 250 e 125µg/mL, mostrando potencial antioxidante de 86,6% e 84%, respectivamente. Acredita-se que esse comportamento está relacionado a oscilações na produção de metabólitos secundários pelo fator da sazonalidade, sendo necessário acompanhamento ao longo de um ano.

Gráfico 4 - Resultado do teste antioxidante das amostras de *S. chilensis* em comparação ao padrão Ácido Ascórbico.



Os valores estão expressos como média \pm desvio padrão, $n=3$. Os resultados foram analisados usando a análise de variância ANOVA seguida pelo teste Bonferroni para comparação com o padrão (Ácido ascórbico), com significância de $*P<0,05$. TEL: Tintura da Erva Lanceta (*S. chilensis*).

As espécies analisadas, principalmente as do gênero *Solidago*, são conhecidas por apresentarem uma pronunciada ação antioxidante. De acordo com Almeida (2013) os compostos flavonoídicos e seus derivados, encontrados nas plantas são responsáveis pela atividade antioxidante destas, confirmado também por Velázquez e colaboradores (2003).

Barros e colaboradores (2016) relacionaram em seu trabalho, a capacidade antioxidante com a atividade gastroprotetora da *S. chilensis*, afirmando o potencial de substâncias antioxidante como mediadoras na ação direta contra os radicais livres, apoiando o uso tradicional da espécie na prevenção e tratamento de lesões gástricas. Outros trabalhos mostram o potencial antioxidante de *S. chilensis*.

As propriedades hipoglicemiantes e hipolipemiantes de *S. chilensis* são relacionadas com o potencial antioxidante da espécie, sendo comprovados com testes em animais de laboratório. Relatam que o extrato hidroalcoólico de *S. chilensis* pode ser eficaz na manutenção da homeostase, reduzindo níveis de colesterol e atuando contra a aterosclerose (KAPPEL et al., 2013; PRABHAKAR et al., 2013; SHNEIDER et al. 2015).

5.3.2 Determinação da atividade antioxidante – Poder redutor

O poder redutor foi avaliado segundo Oyaizu (1986). A atividade antioxidante foi determinada com base na curva de calibração utilizando o TROLOX como padrão, sendo os resultados expressos em μg equivalente de TROLOX por grama de extrato bruto. A tabela abaixo mostra os resultados obtidos.

Tabela 3 - Resultado da determinação do Poder Redutor expresso em μg TROLOX/g Ext.

Amostras		% de Poder Redutor ($\mu\text{g/mL}$)					
		1000	500	250	125	100	50
Extrato bruto	<i>S. terebinthifolius</i>	313,3 \pm 0,2	298,9 \pm 0,004	275,1 \pm 3,03	227,9 \pm 2,9	143,6 \pm 3,6	99,7 \pm 0,06
	<i>S. chilensis</i>	34,4 \pm 3,2	233,6 \pm 4,1	142,2 \pm 1,2	71,4 \pm 0,2	49,0 \pm 1,6	41,4 \pm 0,3
Tintura	<i>S. terebinthifolius</i>	299,8 \pm 1,7	289,7 \pm 0,5	248,4 \pm 4,0	155,2 \pm 5,8	120,7 \pm 2,1	83,1275 \pm 4,3
	<i>S. chilensis</i>	492,4 \pm 0,7	473,4 \pm 0,3	477,2 \pm 0,7	336,1 \pm 0,9	280,6 \pm 0,6	141,4 \pm 1,6

Os valores são expressos com a média \pm desvio padrão. TAR: Tintura da Aroeira (*S. terebinthifolius*). TEL: Tintura da Erva Lanceta (*S. chilensis*).

Fonte: O Autor (2017).

O extrato bruto e a Tintura de *S. terebinthifolius* apresentaram elevada capacidade antioxidante de reduzir íons férricos. O extrato bruto obteve valor de 313 µg de equivalente Trolox por grama de extrato, na maior concentração e de 99,7 µg na menor concentração. Os valores da Tintura se aproximaram ao extrato bruto, apresentando cerca de 300 µg de Trolox/g.

Quanto a avaliação do poder redutor da espécie *S. chilensis*, os dados obtidos mostraram-se distintos. O extrato bruto apresentou maior atividade entre as concentrações de 500 à 125 µg/mL, com valores de 233,6 e 71,4 µg de Trolox/g, respectivamente. A Tintura da *S. chilensis* alcançou o melhor resultado, acima de 490 µg de Trolox/g.

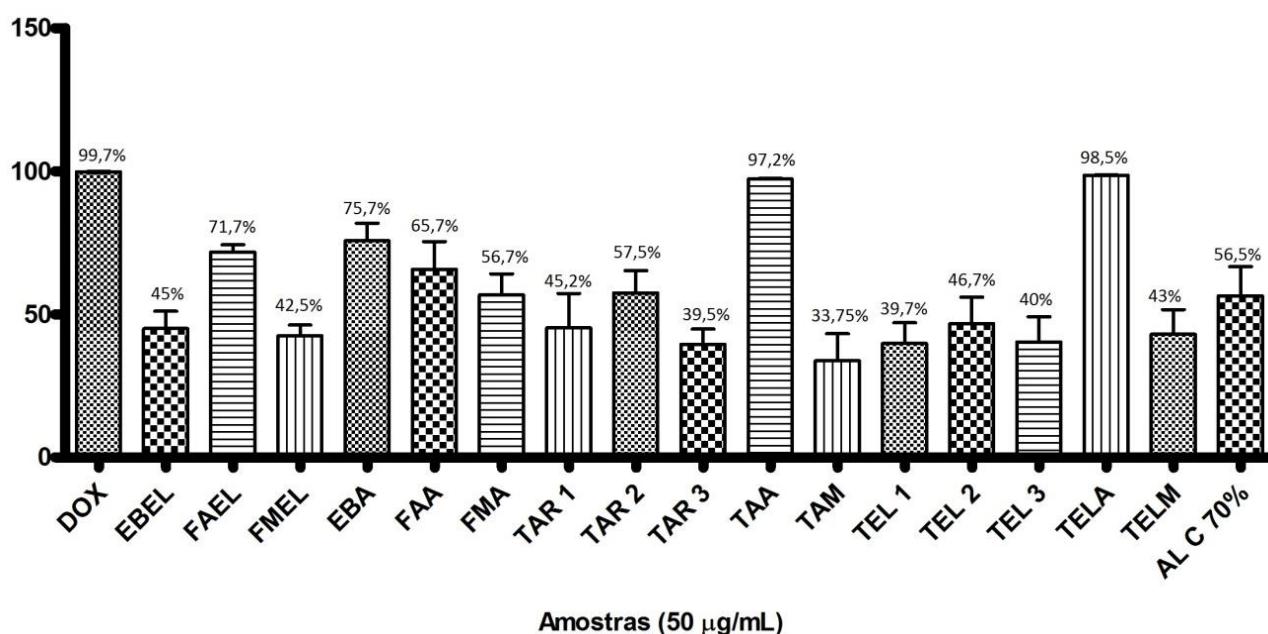
Os compostos fenólicos presentes nas espécies avaliadas são substâncias antioxidantes e possuem propriedades redox que desempenham um papel importante na absorção e neutralização dos radicais livres (PRAKASH et al., 2012).

Estudos sobre propriedades antioxidantes em alimentos *in natura* verificaram o potencial anti-proliferativo e constataram a capacidade de inibir o crescimento de células cancerígenas (DAI e MUMPER, 2010).

5.4 CITOTOXICIDADE - MÉTODO MTT

A viabilidade das células HeLa foi avaliada pelo método de redução do MTT após a exposição às amostras de *S. terebinthifolius* e *S. chilensis* (extrato bruto, tinturas e frações) e comparadas com o padrão Doxorrubicina, apresentando os dados a seguir.

Gráfico 5 - Avaliação da citotoxicidade de *S. chilensis* e *S. terebinthifolius* frente a células HeLa.



Doxirrubicina (DOX); , Extrato Bruto Erva Lanceta (EBEL); Fração Acetato de Etila Erva Lanceta (FAEL); Fração Metanólica Erva Lanceta (FMEL); Extrato Bruto da Aroeira (EBA); Fração Acetato de Etila Aroeira (FAA); Fração Metanólica Aroeira (FMA); Tintura Aroeira (TAR 1, 2 e 3); Tintura Acetato de Etila Aroeira (TAA); Tintura Aroeira Metanol (TAM); Tintura Erva Lanceta (TEL 1, 2 e 3); Tintura Erva Lanceta Acetato de Etila (TELA); Tintura Erva Lanceta Metanol (TELM); Alcool de cereais 70% (AL C 70%).

As frações de acetato de etila das tinturas de *S. terebinthifolius* e *S. chilensis* obtiveram maior percentual de atividade citotóxica apresentando 97,2% e 98,5% ($P > 0,05$), respectivamente. O álcool de cereais (70%), utilizado na preparação das tinturas também foi avaliado e indicou 56,6% ($P < 0,05$) de atividade citotóxica. Sugere-se que o álcool de cereais intensificou o potencial citotóxico das espécies. Em contrapartida as frações de acetato de etila dos extratos brutos também

apresentaram atividade citotóxica significativo entre 60 e 70% ($P>0,05$) aproximadamente.

O extrato bruto, a fração metanólica e as tinturas da *S. chilensis* apresentaram atividade citotóxica de baixa, entre 40% à 50% ($P<0,05$), aproximadamente. Outros estudo apontam a baixa citotoxicidade da *S. chilensis* (FREIRES et al., 2010; O extrato bruto da *S. terebinthifolius* obteve 75,7%, superando a *S. chilensis*. As tinturas de *S. chilensis* e *S. terebinthifolius* são usadas via oral, porém em baixíssimas concentrações, sem riscos de toxicidade.

Poucos estudos sobre avaliação da citotoxicidade de fitoterápicos foram encontrados. Alguns estudos mostram a ocorrência da baixa ou elevada citotoxicidade de um determinado fitoterápico. A descoberta de um fitoterápico com atividade citotóxica propicia estudos para a utilização da fitoterápica como tratamento natural para neoplasias (YAN et al., 2009; OLIVEIRA et al., 2009; GUERRERO et al, 2011). Por outro lado, é fundamental a comprovação da baixa citotoxicidade dos produtos naturais comercializados. Dessa forma, há a necessidade de maiores pesquisas sobre métodos que possam servir para o controle de qualidade dos produtos naturais.

6 CONCLUSÕES

- Os extratos brutos e tinturas de *S. chilensis* e *S. terebinthifolius* indicaram a presença de triterpenos e esteróides, monoterpenos, diterpenos e sesquiterpenos. O principal constituinte encontrado na espécie *S. chilensis* são compostos terpênicos e flavonóides.
- A técnica de CLAE indicou a presença do flavonóide Rutina nas frações metanólicas de *S. chilensis*.
- Dentre as espécies avaliadas, as amostras de *S. terebinthifolius* apresentaram maior teor de compostos fenólicos para o extrato bruto e tintura em comparação com *S. chilensis*. O extrato bruto e tintura da *S. terebinthifolius* apresentaram valores próximos de teores de flavonóides.
- As amostras de *S. terebinthifolius* apresentaram atividade de eliminação de radical livre DPPH e de redução de íons férricos em todas as concentrações testadas, obtendo uma média percentual antioxidante de 93,3% que se manteve em todas as concentrações, similar à tintura comercializada superando o padrão BHT.
- As frações de acetato de etila das tinturas de *S. terebinthifolius* e *S. chilensis* obtiveram maior percentual de atividade citotóxica apresentando 97,2% e 98,5% ($P>0,05$), respectivamente. O extrato bruto da *S. terebinthifolius* obteve 75,7%, superando a *S. chilensis*. As tinturas de *S. chilensis* e *S. terebinthifolius* são usadas via oral, porém em baixíssimas concentrações, sem riscos de toxicidade.
- A realização do Controle de Qualidade de plantas naturais e fitoterápicos se torna essencial para identificação e quantificação de seus constituintes, bem como analisar suas propriedades, possibilitando a padronização dos produtos a serem disponibilizados, garantindo a segurança dos consumidores.

REFERÊNCIAS

- ARNOUS, Amir Hussein; SANTOS, Antonio Sousa; BEINNER, Rosana Passos Cambraia. Plantas medicinais de uso caseiro-conhecimento popular e interesse por cultivo comunitário. **Revista espaço para a Saúde**, v. 6, n. 2, p. 1-6, 2005.
- ASSINI, F. L., E. J. FABRICIO, AND K. L. LANG. "Efeitos farmacológicos do extrato aquoso de *Solidago chilensis* Meyen em camundongos." **Rev.Bras Plantas Mediciniais**, n.15, 130-134, 2013.
- BACCHI, Elfriede Marianne. Ação anti-úlceras e cicatrizante de algumas plantas brasileiras. **Rev. Bras. farmacognosia**, v. 1, n. 1, p. 93-100, 1986.
- BARATA, L.E.S. Empirismo e ciência: fonte de novos fitomedicamentos. **Ciência e Cultura**, v. 57, n. 4, p. 4-5, 2005.
- BARBOSA-PEREIRA, L., BILBAO, A., VILCHES, P., ÂNGULO, I., LUIS, J., FITÉ, B., PASEIRO-LOSADA, P., CRUZ, J. M. Brewery waste as a potential source of phenolic compounds: Optimisation of the extraction process and evaluation of antioxidant and antimicrobial activities. **Food Chemistry**, n.145, 191–197, 2014.
- BLADT, S.; WAGNER, H.; ZGAINSKI, E. M. Plant drug analysis. **Plant drug analysis: A Thin Layer Chromatography Atlas**. 2nd ed. Berlin, Germany: Springer Dordrecht Heidelberg, 2009.
- BRAGA, G. L.; BONATO, P. S.; COLLINS, C. H.; **Fundamentos de Cromatografia**. p. 205 e 273; Campinas: Editora da Unicamp, 2006
- BRASIL. **Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos**. Ministério da Saúde, 2009.
- BRASILIA. **Práticas Integrativas e Complementares: Plantas Medicinais e Fitoterapia na Atenção Básica**. Ministério da Saúde, 2012.
- CAVALHER-MACHADO, S. C.; ROSAS, E. C.; BRITO, F. A.; HERINGE, A. P.; OLIVEIRA, R. R.; KAPLAN, M. A.; FIGUEIREDO, M. R.; HENRIQUES, M. G. The anti-allergic activity of the acetate fraction of *Schinus terebinthifolius* leaves in IgE induced mice paw edema and pleurisy. **International Immunopharmacology**, v. 8, p. 1552-60, 2008.
- CEARÁ. **Políticas e Diretrizes para Plantas Medicinais e Fitoterapia no SUS**. 2009.
- COLE, E. R; SANTOS, R. B.; JÚNIOR, V. L.; MARTINS, J. D. L.; GRECO, S. J.; CUNHA NETO, A. Chemical composition of essential oil from ripe fruit of *Schinus terebinthifolius* Raddi and evaluation of its activity against wild strains of hospital origin. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 45, n. 3, p. 821-828, 2014.
- DE BARROS, M., DA SILVA, L. M., BOEING, T., SOMENSI, L. B., CURY, B. J., DE MOURA BURCI, L., CECHINEL-FILHO, V. Pharmacological reports about gastroprotective effects of methanolic extract from leaves of *Solidago chilensis*

(Brazilian arnica) and its components quercitrin and afzelin in rodents. **Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology**, 389(4), 403-417, 2016.

DEEPA, N. In vitro anti-cancer activity of *Solidago canadensis* L. **International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences**, v. 3, n. 1, p. 158-162, 2016.

DENG, Y., ZHAO, Y., PADILLA-ZAKOUR, O., YANG, G. Polyphenols, antioxidant and antimicrobial activities of leaf and bark extracts of *Solidago canadensis* L. **Industrial Crops and Products**. 74, 803-809, 2015.

DINIZ, M. F. F. M.; OLIVEIRA, R. A. G.; MEDEIROS, A. C. D.; MALTA JÚNIOR, A. **Momento fitoterápico: As plantas como alternativa terapêutica/aspectos populares e científicos**. João Pessoa: Editora Universitária, 1997.

DRAŠAR, P.; MORAVCOVA, J. Recent advances in analysis of Chinese medical plants and traditional medicines. **Journal of Chromatography B**, v. 812, n. 1, p. 3-21, 2004.

FALCÃO, M. P. M. M., OLIVEIRA, T. K. B., SARMENTO, D. A., & GADELHA, N. C. *Schinus terebinthifolius* Raddi (Aroeira) e suas propriedades na Medicina Popular. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, 10(5), 23-27, 2015.

FAMEI L, ZHILI X, XIUMEI L, FENG Q, XIAOQIN L. Strategy and chromatographic technology of quality control for traditional chinese medicines. **Chin J Chromatogr** 24:537-544. 2006.

FONTES, Gleide Gatti. **Efeito de formulação fitoterápica contendo *Calendula officinalis* no metabolismo lipídico em ratos Wistar alimentados com dieta de cafeteria**. 2015.

FRANÇA, I. S. X. D.; ALVES DE SOUZA, J.; SANTOS BAPTISTA, R.; SOUSA BRITTO, V. R. D. Medicina popular: benefícios e malefícios das plantas medicinais. **Revista brasileira de enfermagem**, v.61, n.2, 2008.

FREIRES, I. D. A., ALVES, L. A., JOVITO, V. D. C., ALMEIDA, L. D. F. D. D., CASTRO, R. D. D., & PADILHA, W. W. N. Atividades antibacteriana e antiaderente in vitro de tinturas de *Schinus terebinthifolius* (Aroeira) e *Solidago microglossa* (Arnica) frente a bactérias formadoras do biofilme dentário. **Odontologia Clínica-Científica (Online)**, 9(2), 139-143. 2010.

GONÇALVES, C. **Bacteriostasia, citotoxicidade, atividade antioxidante e sinergismo com antibacterianos comerciais de plantas bioativas com indicativo medicinal**. Universidade Federal de Pelotas. 2014.

GONÇALVES, E. G.; LORENZI, H. **Morfologia Vegetal: Organografia e Dicionário Ilustrado de Morfologia das Plantas Vasculares**. Ed. Plantarum, 2. ed. 140 p. 2011.

GUERRERO, J. L. G.; BUENO, R.R.; GARCIA, I.R.; SANCHEZ, C.L. Cytotoxicity Screening of Several Tomato Extracts. **Journal Medicinal Food**. n.14, 40–5, 2011.

HUSAIN, S. W.; GHOLIPOUR, V.; SEPAHRIAN, H. Chromatographic behaviour of antibiotics on thin layers of an inorganic ion-exchanger. **Acta Chromatographica**, p. 102-109, 2004.

JESUS, D. **Atividade antimicrobiana, anti-inflamatória, citotoxicidade e genotoxicidade do extrato glicólico de *Betula pendula* Roth (Bétula)**. Dissertação de Mestrado – Instituto de Ciências e Tecnologia - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, p. 82, 2016.

KALÁSZ, Huba; BÁTHORI, Maria. Pharmaceutical applications of TLC. **Lcgc europe**, v. 14, n. 5, p. 311-321, 2001.

KAPPEL, V. D., FREDERICO, M. J., POSTAL, B. G., MENDES, C. P., CAZAROLLI, L. H., & SILVA, F. R. The role of calcium in intracellular pathways of rutin in rat pancreatic islets: potential insulin secretagogue effect. **European journal of pharmacology**, 702(1), 264-268, 2013.

KNEIFEL, W.; CZECH, E.; KOPP, B. Microbial contamination of medicinal plants-a review. **Planta Medica**, v. 68, n. 01, p. 5-15, 2002.

KOSANIĆ, M., MANOJLOVIĆ, N., JANKOVIĆ, S., STANOJKOVIĆ, T., & RANKOVIĆ, B. Evernia prunastri and Pseudoevernia furfuraceae lichens and their major metabolites as antioxidant, antimicrobial and anticancer agents. **Food and chemical toxicology**, 53, 112-118. 2013.

LANÇAS, Fernando Mauro et al. A Cromatografia Líquida Moderna e a Espectrometria de Massas: finalmente “compatíveis”. **Scientia chromatographica**, v. 1, n. 2, p. 35-61, 2009.

LEMO, M. F., LEMO, M. F., PACHECO, H. P., ENDRINGER, D. C., & SCHERER, R. Seasonality modifies rosemary's composition and biological activity. **Industrial Crops and Products**, 70, 41-47, 2015.

LI, SEN; CHEN, GUOWEI; ZHANG, CHAO; WU, MAN; WU, SHUYAN; LIU, QING. Research progress of natural antioxidants in foods for the treatment of diseases. **Food Science and Human Wellness**, v. 3, n. 3-4, p. 110–116, 2014.

LIMA, A. Caracterização química, avaliação da atividade antioxidante *in vitro* e *in vivo* identificação dos compostos fenólicos presentes no pequi (*Caryocar brasiliensis*, CAMB.) faculdade de ciências farmacêuticas, USP, tese p.219 . 2008.

LORENZI, H. E MATOS, F.J.A. **Plantas Medicinais no Brasil**. 2ª edição. Instituto Plantarum, Nova Odessa. 2008.

DE ABREU MATOS, F. J.; DA ROCHA, F. D. **O Formulário fitoterápico do professor Dias da Rocha: informações sobre o emprego na medicina caseira, de plantas do Nordeste, especialmente do Ceará**. Ufc Edicoes, 1997.

MERLIN, N., KARLING, M., MORALES, R. G. F., OLDONI, T. L. C. Potencial antioxidante e perfil de compostos fenólicos em plantas com indicativo medicinal. **Synergismus scyentifica UTFPR**, 12(1), 94-101, 2017.

NASCIMENTO, J.C.; LAGE, L.F.O.; CAMARGOS, C.R.D.; AMARAL, J.C.; COSTA, L.M.; SOUSA, A.N.; OLIVEIRA, F.Q. Determinação da atividade antioxidante pelo método DPPH e doseamento de flavonoides totais em extratos de folhas da *Bauhinia variegata* L. **Revista Brasileira de Farmácia**. 92(4): 327-332, 2011.

NETO, L., DE AMORIM, J., MACHADO, J. L., MELO JUNIOR, E. J. M. D., RAPOSO, M. J. (1998). Avaliação do efeito cicatrizante da Aroeira (*Schinus terebinthifolius*) e do masturço (*Chenopodium ambrosioides*) em feridas de extração dental em ratos: estudo histológico. **Rev. ABO nac**, 173-6, 1998.

NIKI, ETSUO. Assessment of antioxidant capacity in vitro and in vivo. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 49, n. 4, p. 503-515, 2010.

OLIVEIRA, L.P., PINHEIRO, R.C.; VIEIRA, M.S.; PAULA, J.R.; BARA, M.T.F.; VALADARES, M.C. Atividade citotóxica e antiangiogênica de *Punica granatum* L., Punicaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. n.20,2:201, 2010.

OLIVEIRA, R. J., CARRIJO, M. G., NOGUEIRA, T. D., PESARINI, J. R., DE DAVID, N., DE OLIVEIRA MAURO, M., ANTONIOLLI, A. C. M. B. Avaliação da citotoxicidade, mutagenicidade e antimutagenicidade do extrato etanólico de *Gochnatia polymorpha*. **SaBios-Revista de Saúde e Biologia**,9(3), 101-106, 2014.

PRABHAKAR, P. K., PRASAD, R., ALI, S., DOBLE, M. Synergistic interaction of ferulic acid with commercial hypoglycemic drugs in streptozotocin induced diabetic rats. **Phytomedicine**, n.20,v.6, 488-494, 2013.

PRAKASH, D.; UPADHYAY, G.; PUSHPANGADAN, P.; GUPTA, C. Antioxidant and free radical scavenging activities of some fruits. **J. Complement Integr. Med.** 2011.

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**, n.53, v.10, 4290-4302, 2005.

QUEIRES, L. C. S.; RODRIGUES, L. E. A. Quantificação das substâncias fenólicas totais em órgãos da aroeira *Schinus terebinthifolius* (RADDI). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 41, n. 2, p. 0-0, 1998.

RENISUS. **Relação de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde**. Ministério da Saúde, 2009.

ROBINSON, M. M.; ZHANG, Xiaorui. The world medicines situation 2011, traditional medicines: Global situation, issues and challenges. **World Health Organization, Geneva**, 2011.

ROCHA, L. O.; SOARES, M. M. S.R; CORRÊA, C. L. Análise da contaminação fúngica em amostras de *Cassia acutifolia* Delile (sene) e *Peumus boldus* (Molina) Lyons (boldo-do-Chile) comercializadas na cidade de Campinas, Brasil. **Revista brasileira de ciências farmacêuticas**, v. 40, n. 4, p. 521-527, 2004.

RODRIGUES, A. G.; DE SIMONI, C. Plantas medicinais no contexto de políticas públicas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 31, n. 255, p. 7-12, mar./abr. 2010.

RODRIGUES, A. G.; SANTOS, M. G. DOS; AMARAL, A. C. F. Políticas públicas em plantas medicinais e fitoterápicos. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **A Fitoterapia no SUS e o Programa de Pesquisas de Plantas Medicinais da Central de Medicamentos**. Brasília: Ministério da Saúde, p. 9-28, 2006.

RODRIGUES, A. G.; SANTOS, M. G.; DE SIMONI, C. Fitoterapia na Saúde da Família. In: Sociedade Brasileira de Medicina de Família e Comunidade (Org.). **Programa de Atualização em Medicina de Família e Comunidade (PROMEF)**. Porto Alegre: Artmed/Panamericana, p. 31-65, 2011.

RODRIGUES, S. L., MARTINS, L. D. V., BANTIM F. C., I., MEIRELES, D. M. D. S., FERREIRA, P. M. P., PERON, A. P. Flavonóides: constituição química, ações medicinais e potencial tóxico. **Acta toxicológica argentina**, n.23 v.1, 36-43, 2015.

SANTOS, L. P. **Desenvolvimento de sistemas nanoestruturados contendo extrato padronizado de *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil. visando à obtenção de produto fitoterápico tópico com atividade antioxidante**. Dissertação (mestrado em Farmácia) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Farmácia, Florianópolis, p. 109, 2016.

SANTOS, O. J. D., BARROS-FILHO, A. K. D., MALAFAIA, O., RIBAS-FILHO, J. M., SANTOS, R. H. P., & SANTOS, R. A. P. *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) in the healing process of gastrotomy in rats. **ABCD. Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva** (São Paulo),25(3), 140-146, 2012.

SCHERER, R., GODOY, H. T. Effects of extraction methods of phenolic compounds from *Xanthium strumarium* L. and their antioxidant activity. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**. n.16, v.1, 41-46, 2014.

SCHNEIDER, M., SACHETT, A., SCHÖNELL, A. P., IBAGY, E., FANTIN, E., BEVILAQUA, F., WILDNER, S. M. Hypoglycemic and hypolipidemic effects of *Solidago chilensis* in rats. **Revista Brasileira de Farmacognosia**,v.25, n.3, 258-263, 2015.

SHERMA, Joseph. Planar chromatography. **Analytical chemistry**, v. 80, n. 12, p. 4253-4267, 2008.

SILVA, M. M., IRIGUCHI, E. K., KASSUYA, C. A. L., DO CARMO VIEIRA, M., FOGGIO, M. A., DE CARVALHO, J. E., FORMAGIO, A. S. *Schinus terebinthifolius*: phenolic constituents and in vitro antioxidant, antiproliferative and in vivo anti-inflammatory activities. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 2017.

SILVA, N. L., ARAÚJO, Í. P. C., BATISTA, M. R. F., SANTOS, T. B. A., FERNANDO, W. L., & AMARAL, F. R. Determinação da atividade antioxidante e teor de flavonoides totais equivalentes em quercetina em folhas de *Cymbopogon citratus* (dc) stapf e *Melissa officinalis* lam. **Conexão Ciência (Online)**,v.12, n.1, 46-53, 2017.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6.ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS: Florianópolis: Editora da UFSC, p.1104, 2010.

SINGLETON, V.L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, R.M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. In: Lester P, editor. **Methods in Enzymology: Academic Press**; p.152-78,1999.

SOARES, D. G.; ANDREAZZA, A. C.; SALVADOR, M. Sequestering Ability of Butylated Hydroxytoluene, Propyl Gallate, Resveratrol, and Vitamins C and E against ABTS, DPPH, and Hydroxyl Free Radicals in Chemical and Biological Systems. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 1077-1080, 2003.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática - guia ilustrado para identificação das famílias de fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG III**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2012.

SOUZA-MOREIRA, T. M.; SALGADO, H. R. N.; PIETRO, R. C.L.R. O Brasil no contexto de controle de qualidade de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, p. 435-440, 2010.

SPRINGFIELD, E. P.; EAGLES, P. K. F.; SCOTT, G. Quality assessment of South African herbal medicines by means of HPLC fingerprinting. **Journal of ethnopharmacology**, v. 101, n. 1, p. 75-83, 2005.

STANKOVIC, M. S. Total phenolic content, flavonoid concentration and antioxidant activity of *Marrubium peregrinum* L. extracts. **Kragujevac J Sci**, v. 33, n. 2011, p. 63-72, 2011.

SUN, T.; JIANG, B.; PAN, B. Microwave accelerated transglycosylation of rutin by cyclodextrin glucanotransferase from *Bacillus* sp. SK13. 002. **International journal of molecular sciences**, v. 12, n. 6, p. 3786-3796, 2011.

TONHI, E., COLLINS, K. E., JARDIM, I. C., & COLLINS, C. H. Fases estacionárias para cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa (CLAE-FR) baseadas em superfícies de óxidos inorgânicos funcionalizados. **Química Nova**. 2002.

ULIANA, M. P., FRONZA, M., DA SILVA, A. G., VARGAS, T. S., DE ANDRADE, T. U., & SCHERER, R. Composition and biological activity of Brazilian rose pepper (*Schinus terebinthifolius* Raddi) leaves. **Industrial Crops and Products**, 83, 235-240, 2016.

WOISKY, R. G; SALATINO, A. Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. **Journal Apicultural Research**, Vol. 37 ,Iss. 2,1998.