



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE BIOCÊNCIAS  
DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOQUÍMICA E FISIOLOGIA

MATHEUS BARBOSA DE MIRANDA

**PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA E ATIVIDADES BIOLÓGICAS DE PLANTAS DO  
PARQUE NACIONAL DO CATIMBAU - PERNAMBUCO, BRASIL**

Recife  
2019

MATHEUS BARBOSA DE MIRANDA

**PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA E ATIVIDADES BIOLÓGICAS DE PLANTAS DO  
PARQUE NACIONAL DO CATIMBAU - PERNAMBUCO, BRASIL**

Dissertação de Mestrado apresentado como um dos requisitos para o cumprimento parcial das exigências para obtenção do título de Mestre em Bioquímica e Fisiologia pela Universidade Federal de Pernambuco.

**Área de concentração:** Ciências biológicas

**Orientador:** Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Maria Tereza dos Santos Correia

**Coorientador:** Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Marcia Vanusa da Silva

Recife  
2019

Catálogo na fonte:  
Bibliotecário Bruno Márcio Gouveia - CRB-4/1788

Miranda, Matheus Barbosa de  
Prospecção fitoquímica e atividades biológicas de plantas do Parque Nacional do  
Catimbau – Pernambuco, Brasil / Matheus Barbosa de Miranda. – 2019.

67 f. : il.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Maria Tereza dos Santos Correia.

Coorientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dra<sup>ª</sup>. Márcia Vanusa da Silva.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro  
de Biociências. Programa de Pós-graduação em Bioquímica e Fisiologia,  
Recife, 2019.

Inclui referências.

1. Plantas medicinais. 2. Plantas da Caatinga. 3. Catimbau (Buíque). I. Silva, Márcia Vanusa da (Orientadora). II. Silva, Márcia Vanusa da (Coorientadora) III. Título.

581.634

CDD (22.ed.)

UFPE/CB – 2019 - 326

MATHEUS BARBOSA DE MIRANDA

**PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA E ATIVIDADES BIOLÓGICAS DE PLANTAS DO  
PARQUE NACIONAL DO CATIMBAU - PERNAMBUCO, BRASIL**

Dissertação de Mestrado apresentado como um dos requisitos para o cumprimento parcial das exigências para obtenção do título de Mestre em Bioquímica e Fisiologia pela Universidade Federal de Pernambuco.

Aprovada em: 27/06/2019.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Maria Tereza dos Santos Correia (Orientador)  
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Patrícia Maria Guedes Paiva (Examinador Interno)  
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Elba Verônica Matoso Maciel de Carvalho (Examinador Interno)  
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

---

Dr. Tulio Diego da Silva (Examinador Externo)  
Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste (CETENE)

## RESUMO

No Parque Nacional do Catimbau encontram-se as famílias Fabaceae, Myrtaceae, Bignoniaceae e Boraginaceae, das quais as comunidades locais fazem uso dos seus representantes para fins medicinais. O objetivo deste trabalho foi investigar o perfil fitoquímico dos extratos aquosos de espécies dessas famílias e avaliar as suas atividades antioxidante, antibacteriana e citotóxica. Os extratos foram obtidos das folhas de *Auxemma oncocalyx*, *Caesalpinia ferrea* e *Tabebuia impetiginosa*, e das cascas de *Bauhinia forficata*, *Hymenaea courbaril* e *Myrciaria tenella*. O perfil fitoquímico foi determinado através da dosagem de fenóis e flavonoides, e por CCD e CLAE-DAD. Para a análise da atividade antioxidante, foram realizados os ensaios *in vitro* de sequestro dos radicais DPPH, ABTS e do ânion superóxido, e o teste de capacidade antioxidante total. O potencial antibacteriano foi investigado pelos testes CIM e CBM contra as espécies *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* e *Escherichia coli*. A citotoxicidade dos extratos foi avaliada pelo método MTT em linhagens celulares saudáveis (HaCaT) e tumorais (MCF-7 e HL-60). Além disso, a atividade hemolítica *in vitro* foi avaliada. Foi verificada a presença de fenóis em todos os extratos, sendo as maiores concentrações destes, encontradas nos de *B. forficata*, *M. tenella* e *H. courbaril*. Alguns extratos apresentaram também em sua composição terpenos e saponinas. Os compostos majoritários identificados foram a rutina, nos extratos de *A. oncocalyx* e *T. impetiginosa*, e o ácido elágico nos extratos de *C. ferrea* e *M. tenella*, ambos bem descritos na literatura por suas atividades antioxidantes. Todos os extratos estudados apresentaram atividade antioxidante, com destaque para os de *B. forficata*, *M. tenella* e *H. courbaril*, estando relacionado às suas concentrações de fenóis. O extrato de *B. forficata* apresentou atividade antibacteriana superior à tetraciclina, e os de *C. ferrea* e *H. courbaril* também mostraram resultados expressivos, podendo estar relacionados aos fenóis e saponinas em sua composição. Observou-se toxicidade moderada contra as células tumorais promovida pelos extratos, e foi verificado também um baixo grau de hemólise. Dessa forma, é possível concluir que alguns dos compostos encontrados nos extratos estudados são eficientes substâncias antioxidantes e antibacterianas, e apresentam segurança de uso a nível celular.

Palavras-chave: Extratos aquosos. Atividade antioxidante. Atividade antibacteriana. Atividade citotóxica.

## ABSTRACT

Fabaceae, Myrtaceae, Bignoniaceae and Boraginaceae families are found in the Catimbau National Park, and local communities make use of their representatives for medicinal purposes. The objective of this work was to investigate the phytochemical profile of aqueous extracts of these families' species and to evaluate its antioxidant, antibacterial and cytotoxic activity. The extracts were obtained from *Auxemma oncocalyx*, *Caesalpinia ferrea* and *Tabebuia impetiginosa* leaves, and from *Bauhinia forficata*, *Hymenaea courbaril* and *Myrciaria tenella* barks. The phytochemical profile was determined by phenols and flavonoids dosage, and by TLC and HPLC-DAD. For the analysis of antioxidant activity, DPPH, ABTS and superoxide anion scavenging, as well as the total antioxidant capacity, assays were performed. The anti-bacterial potential was investigated by minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) tests against *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli*. The extracts' cytotoxicity was evaluated by the MTT method in the cell lines (HaCaT, MCF-7 and HL-60). In addition, haemolytic activity was evaluated. It was verified the presence of phenols in all extracts, the highest concentrations were found in *B. forficata*, *M. tenella* and *H. courbaril* extracts. Terpenes and saponins were also found in some extracts composition. Rutin was identified as the major compound of *A. oncocalyx* and *T. impetiginosa* extracts, and ellagic acid of *C. ferrea* and *M. tenella*'s, both known for their antioxidant activities. All extracts showed antioxidant activity, with *B. forficata*, *M. tenella* and *H. courbaril* showing the most expressive data which is related to their phenol's concentration. The *B. forficata* extract showed an anti-bacterial activity higher than tetracycline's, also *C. ferrea* and *H. courbaril* extracts showed expressive results, which may be related to phenols and saponins in their composition. All extracts showed no toxicity to HaCaT cells, however, medium toxicity was observed against the MCF-7 and HL-60 cells. In addition, all extracts showed a low rate of hemolysis. Thus, it is possible to conclude that some of the compounds found in the extracts studied are efficient antioxidant and antibacterial substances, and they are safe to use at a cellular level.

Keywords: Aqueous extracts. Antioxidant activity. Anti-bacterial activity. Cytotoxic activity.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	7
<b>2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b> .....	9
2.1 CAATINGA .....	9
<b>2.1.1 Parque Nacional do Catimbau</b> .....	10
2.2 CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE A FAMÍLIA FABACEAE .....	11
<b>2.2.1 Bahuinia forficata Link</b> .....	12
<b>2.2.2 Caesalpinia ferrea Mart. ex Tul</b> .....	13
<b>2.2.3 Hymenaea courbaril L.</b> .....	13
2.3 CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE A FAMÍLIA MYRTACEAE .....	14
<b>2.3.1 Myrciaria tenella O. Berg</b> .....	15
2.4 CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE A FAMÍLIA BIGNONIACEAE .....	15
<b>2.4.1 Tabebuia impetiginosa Mart.</b> .....	16
2.5 CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE A FAMÍLIA BORAGINACEAE.....	17
<b>2.5.1 Auxemma oncocalyx Taub.</b> .....	17
2.6 METABÓLITOS SECUNDÁRIOS .....	18
<b>2.6.1 Compostos fenólicos</b> .....	19
<b>2.6.2 Flavonoides</b> .....	21
2.7 ESTRESSE OXIDATIVO E ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO .....	22
<b>2.7.1 Defesas Antioxidantes</b> .....	23
<b>2.7.2 Métodos de determinação da atividade antioxidante</b> .....	24
2.8 ANTIMICROBIANOS E RESISTÊNCIA BACTERIANA.....	26
2.9 CITOTOXICIDADE .....	27
<b>3 ARTIGO</b> .....	29
<b>4 CONCLUSÕES</b> .....	49
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	50

## 1 INTRODUÇÃO

A utilização de plantas como alternativa medicinal é uma prática rotineira e a ciência tem estudado esses componentes vegetais para corroborar os conhecimentos populares com os científicos (TRIBESS et al., 2015). As plantas representam uma interessante fonte para a prospecção de novas drogas por possuírem uma elevada diversidade molecular, e por isso, tem grande potencial para serem utilizadas com fins medicinais (NOVAIS, 2003; RODRIGUES et al., 2006). O conhecimento tradicional sobre plantas medicinais e seu uso não se aplica apenas ao cuidado com a saúde e o desenvolvimento de medicamentos, mas também é útil para a conservação da tradição cultural e da biodiversidade (RAHMAN, 2014).

A Organização Mundial de Saúde (OMS) reconhece a importância da fitoterapia na promoção da saúde e publicou diretrizes, normas e estratégias para manipulação e elaboração de medicamentos de origem vegetal (AHMED E RAHMAN, 2016). Produtos oriundos de fontes naturais representam oportunidade de crescimento para a indústria farmacêutica, uma vez que a evidênciação de novos compostos com propriedades terapêuticas possibilita o desenvolvimento de novas patentes (VILLAS BÔAS E GADELHA, 2007).

Estudos realizados com produtos naturais têm se evidenciado na esfera mundial, com destaque para o Brasil, que possui flora diversificada e grande riqueza de compostos bioativos (VIEIRA et al., 2010). O Brasil pode ser considerado privilegiado nesse âmbito por possuir a maior diversidade genética vegetal do mundo, e automaticamente, dispor de matéria-prima bastante diversificada, com mais de 55.000 espécies vegetais catalogadas. Entretanto, a maior parte dessa riqueza biotecnológica permanece subutilizada e com potencial desconhecido (SIMÕES et al., 2002; AHMED E RAHMAN, 2016).

O Parque Nacional (PARNA) do Catimbau é uma grande área de conservação ambiental do Nordeste brasileiro, que está inserido em uma área prioritária para a pesquisa científica e possui notável importância biológica devido à sua elevada biodiversidade onde observam-se inúmeras espécies endêmicas e raras (BRASIL, 2002; MMA, 2002). Localizado no semiárido Pernambucano, o PARNA do Catimbau está inserido no domínio morfoclimático da Caatinga, que é exclusivamente brasileiro e compreende cerca de 60% da região Nordeste do Brasil (GIL, 2002). Esse domínio se caracteriza por uma flora nativa com características especializadas para a sobrevivência dos vegetais em condições de clima e solo secos (DRUMOND et al., 2000), e é a região natural brasileira menos protegida, com unidades de conservação em menos de 2% do seu território, e a menos estudada (LEAL et al., 2005).

O estresse oxidativo, caracterizado pelo excesso de radicais livres, causa danos celulares consideráveis que estão diretamente relacionados à etiologia de várias doenças como o câncer e o diabetes (BARBOSA et al., 2010), além disso, alguns estudos indicam a associação entre os marcadores de estresse oxidativo e a obesidade (FENSTER et al., 2002; ZANELLA et al., 2017). Os antioxidantes de origem sintética podem ser prejudiciais à saúde por causa das suas propriedades carcinogênicas já relatadas (ALVES et al., 2007), e isso reforça a importância da busca por compostos antioxidantes de fontes naturais.

As plantas medicinais também representam um alvo de estudos farmacêuticos para o desenvolvimento de antimicrobianos, tendo em vista a crescente resistência a antibióticos desenvolvida pelos microrganismos, e por esses produtos representarem alternativas com menos efeitos colaterais e serem mais econômicos (JÚNIOR et al., 2016; GUR et al., 2006). Entretanto, a utilização de plantas para fins medicinais de maneira indiscriminada também pode trazer efeitos maléficos, uma vez que alguns constituintes vegetais podem apresentar efeitos tóxicos e/ou carcinogênicos, o que evidencia a necessidade de estudos de segurança do seu uso (VERRI et al., 2017; GUIDOTI et al., 2014).

Dessa forma, levando-se em consideração os recursos biotecnológicos encontrados no PARNA do Catimbau, é de suma importância a realização de estudos tanto dos metabólitos secundários das plantas encontradas nesse parque, como das suas atividades biológicas. A investigação dessas atividades é uma importante etapa para a possível utilização desses compostos pelas indústrias farmacêuticas, o que pode trazer um impacto positivo do ponto de vista social, científico e econômico.

Mesmo com alguns estudos já realizados, ainda existem aspectos a serem estudados acerca dos extratos aquosos das cascas de *Bahuinia forficata*, *Hymenaea courbaril* e *Myrciaria tenella*, e das folhas de *Auxemma oncocalyx*, *Caesalpinia ferrea* e *Tabebuia impetiginosa*, espécies encontradas no PARNA do Catimbau, no semiárido pernambucano. Este trabalho, portanto, propôs investigar o perfil fitoquímico destes extratos, bem como avaliar as suas atividades antioxidante, antimicrobiana e citotóxica *in vitro*, para, dessa forma, contribuir com as pesquisas acerca de plantas do Nordeste brasileiro na prospecção de novos compostos bioativos.

## 2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 2.1 CAATINGA

A Caatinga é um domínio fitogeográfico e morfoclimático exclusivamente brasileiro e abrange os estados do Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Sergipe, Bahia, e o norte de Minas Gerais, ocupando uma área de aproximadamente 735.000 km<sup>2</sup>. Esta região possui uma baixa umidade, com uma temperatura média anual de 27,5°C, e uma precipitação média anual de 250 a 500 mm (FERNANDES, 2018; TRENTIN et al., 2011; BASSO et al., 2005) (Figura 1).

**Figura 1:** Mapa do domínio da Caatinga, indicando a localização dos estados brasileiros e demais domínios presentes (Cerrado, Mata Atlântica e Amazônia).



Fonte: Hauff, S. N. (2010)

Caatinga significa “floresta branca” na língua Tupi, possivelmente por caracterizar o aspecto da vegetação na estação seca, e é um domínio fitogeográfico e morfoclimático com uma grande riqueza de espécies vegetais embora grandes áreas permaneçam inexploradas e pouco conhecidas (MORO et al., 2014). Na Caatinga existem em média 3.150 espécies de plantas, distribuídas em 950 gêneros e 152 famílias de angiospermas, sendo Fabaceae ou Leguminosae e Euphorbiaceae as mais

heterogêneas. Aproximadamente 23% do total destas espécies são endêmicas, inclusive algumas de distribuição restrita (QUEIROZ et al., 2017).

A vegetação do domínio da Caatinga é constituída principalmente por espécies arbóreas baixas e arbustos ramificados e tem a deciduidade de suas plantas como principal característica. É uma vegetação sazonal sendo caracterizada, na estação seca, pela presença de plantas sem a sua folhagem e com aspecto seco, enquanto na estação chuvosa verificam-se arbustos e árvores com flores em profusão e folhas novas (FERNANDES, 2018). A estação seca dura cerca de sete meses e é caracterizada por temperaturas mais elevadas, diferente da estação chuvosa, onde as temperaturas são mais amenas (TRENTIN et al., 2011).

As plantas desse domínio são peculiares em função da necessidade de adaptações para sobrevivência em condições ecológicas adversas, como as secas recorrentes e a precipitação irregular observadas, e apresentam, em sua maioria, espinhos ou acúleos e folhas pequenas. Além disso, observa-se uma sincronia na estação chuvosa com o desenvolvimento de folhas e flores nessa vegetação, uma vez que a disponibilidade hídrica é essencial para o seu ciclo de vida. Mesmo com mínimas precipitações, em um curto espaço de tempo já é possível observar o aparecimento de folhas e a completude dos ciclos reprodutivos (FERNANDES, 2018).

### **2.1.1 Parque Nacional do Catimbau**

O Parque Nacional (PARNA) do Catimbau é uma grande área de conservação do Nordeste brasileiro, e possui notável importância biológica devido à sua elevada biodiversidade onde observa-se inúmeras espécies endêmicas e raras (MMA, 2002). O parque está localizado dentro do domínio da Caatinga entre as coordenadas geográficas: 8°24'00" e 8°36'35" S e 37°09'30" e 37°14'40" W, e totaliza uma área de 62.300km<sup>2</sup> abrangendo parte dos municípios de Buíque (12.438 ha.); Tupanatinga (23.540 ha) na Microrregião do Vale do Ipanema, e Ibimirim (24.809 ha) na Microrregião do Moxotó, semiárido Pernambucano (Figura 2) (RODRIGUES, 2006). Uma característica marcante desse parque é a maneira como se apresenta a sua vegetação, em forma de mosaico com diferentes tipos (ATHIÊ-SOUZA et al., 2019).



domínios e possui um número estimado de 200 gêneros e 1.500 espécies (DA LUZ et al., 2012; OLIVEIRA, 2017).

As espécies desta família apresentam propriedades medicinais importantes, como a *Trigonella foenum-graecum*, que é capaz de reduzir os níveis sanguíneos de glicose (VATS et al., 2002) e a *Glycyrrhiza uralensis* que tem efeitos inibitórios na replicação do HIV *in vitro* (OKAMOTO, 2000), e por isso ambas são largamente utilizadas como componentes na síntese de produtos farmacêuticos. Entretanto, compostos de 290 espécies pertencentes a 100 gêneros da família Fabaceae foram descritos como tóxicos (GAO, 2010).

### 2.2.1 *Bahuinia forficata* Link

*Bahuinia forficata* Link, uma das aproximadamente 300 espécies do gênero *Bahuinia*, pertencente à família Fabaceae, é uma espécie nativa da América do Sul, distribuída em países como Argentina, Bolívia e Brasil, e ameaçada de extinção no domínio da Caatinga. (OLIVEIRA, 2017; RODRIGUES et al., 2015). Popularmente conhecida como pata-de-vaca, unha-de-vaca ou mororó, a *B. forficata* L. é uma árvore de médio porte que possui flores de coloração branca, frutos do tipo vagem e folhas uncinadas (Figura 2) (PIZZOLATTI et al., 2003). É uma planta semidecídua e heliófila, que ocorre com alta frequência na mata semidecídua, entretanto, tem dispersão irregular e descontínua (VIANA et al., 2008).

**Figura 3:** Espécie *Bahuinia forficata* Link.



Fonte: (A) Campestrini (2011); (B) Grasel (2012); (C) Bagatini (2012)

Esta espécie de *Bahuinia* é bastante utilizada na medicina popular, como por exemplo para o tratamento do *diabetes melittus*, e tem a sua propriedade hipoglicemiante atribuída ao flavonoide kaempferitrina. Além disso, é empregada como agente antisséptico, tônico e diurético (MICELI et al., 2015; RODRIGUES et al., 2015).

### 2.2.2 *Caesalpinia ferrea* Mart. ex Tul

Popularmente conhecida como pau-ferro ou jucá, a *Caesalpinia ferrea* Mart. ex Tul. é uma planta leguminosa pertencente à família Fabaceae (Figura 4), e está distribuída no Norte e Nordeste do Brasil (PEREIRA et al., 2016). Esta espécie é perenifólia, uma vez que mantém suas folhas durante todo o ano, e heliófila, pois necessita de uma exposição prolongada à luz solar para o seu desenvolvimento (SILVA et al., 2016).

**Figura 4:** Espécie *Caesalpinia ferrea* Mart. ex Tul.



Fonte: CNIP (2016)

A *C. ferrea* Mart. ex Tul. é bastante utilizada no setor madeireiro por possuir uma madeira pesada e resistente, o que tem levado à sua devastação no nordeste brasileiro (SILVA et al., 2016). Além disso, o seu uso na medicina popular é corriqueiro e algumas propriedades como anti-inflamatória e analgésica (CARVALHO et al., 1996), antitumoral (NAKAMURA et al., 2002) e cicatrizante (OLIVEIRA et al., 2010), já foram descritas na literatura.

### 2.2.3 *Hymenaea courbaril* L.

A *Hymenaea courbaril* L., popularmente conhecida como jatobá, que vem do tupi e significa “fruto de casca dura”, é uma das cerca de 15 espécies do gênero *Hymenaea* L. que pertence à família Fabaceae. É uma árvore caducifólia de grande porte, que atinge de 30 a 40 metros de altura, está distribuída desde o sul do México até a América do Sul, incluindo todo o território brasileiro e ocorre em solos de média a alta fertilidade (Figura 3) (COSTA, 2011; PEREIRA et al., 2017).

**Figura 5:** Espécie *Hymenaea courbaril* L.



Fonte: Cláudio (2005)

Esta planta possui importância econômica, pois é largamente utilizada tanto na indústria madeireira quanto na medicina popular (SILVA, 2018), onde são citados os usos de todas as partes da planta, e tem-se as atividades imunomodulatória, antisséptica e laxante, descritas (PETRONI, 2017; VENCATO et al., 2018).

### 2.3 CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE A FAMÍLIA MYRTACEAE

A família Myrtaceae está distribuída em diversos domínios brasileiros e está entre as dez maiores famílias de plantas com flores que incluem árvores e arbustos (AMORIM E ALVES, 2011). A maior diversidade desta família está na América do Sul, Austrália e Ásia tropical, possuindo aproximadamente 133 gêneros e 5.671 espécies. No Brasil, está distribuída em 23 gêneros e 1.034 espécies estando presente em todas as regiões e formações vegetais do país (CASCAES et al., 2015). A partir de uma nova classificação, a família está dividida em duas subfamílias, a Psiloxylloidea (com duas tribos) e a Myrtoideae (com quinze tribos). As plantas desta família são fontes de alimento para inúmeros animais por serem aromáticas e frutíferas (STEFANELLO, PASCOAL E SALVADOR, 2011).

Inúmeras espécies desta família têm sido bastante utilizadas na medicina popular para o tratamento de vários processos patológicos. Dentre as propriedades farmacológicas descritas, destacam-se as propriedades antimicrobiana (HALCÓN E MILKUS, 2004), citotóxica (YOO et al., 2005), analgésica (PAULA et al., 2010), inseticida (BAKAR et al., 2012) e antioxidante (CARVALHO JUNIOR et al., 2014). Além do seu uso medicinal, a família Myrtaceae também possui relevância no mercado alimentício, pois apresenta um grande número de espécies que podem ser utilizadas como alimento, sejam *in natura* ou após processamento industrial. (FLORES et al., 2015).

### 2.3.1 *Myrciaria tenella* O. Berg

A *Myrciaria tenella* O. Berg, popularmente conhecida como Cambuí, apresenta-se como uma árvore de pequeno porte, com cerca de 3 a 5 metros de altura, e produz frutos comestíveis, de cor vermelha ou arroxeada, que servem de alimento para os pássaros (Figura 5). Está distribuída desde a América Central até a Argentina, passando pelo Brasil onde é comum em diversos domínios, inclusive o da Caatinga (AMORIM e ALVES, 2011; MONTEIRO et al., 2016).

**Figura 6:** Espécie *Myrciaria tenella* O. Berg



Fonte: (A, B) Giacon (2016); (C) Harri (2006)

Algumas espécies de *Myrciaria*, produtoras de frutos comestíveis, são cultivadas por causa do seu valor comercial, seja na indústria alimentícia, onde há a produção de bebidas e geleias, ou para o seu consumo *in natura* (MONTEIRO et al., 2016). Além disso, espécies como a *M. tenella* O. Berg, são utilizadas na medicina popular, já que há evidências de que o óleo essencial, das folhas e dos ramos finos, desta planta, apresenta potente atividade anti-inflamatória que pode ser atribuída à grande quantidade de sesquiterpenos presentes, como o  $\beta$ -cariofileno que é seu o composto majoritário (APEL et al., 2010).

## 2.4 CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE A FAMÍLIA BIGNONIACEAE

Bignoniaceae é uma família botânica diversa e está distribuída principalmente em regiões tropicais, como no Brasil. É representada por aproximadamente 82 gêneros e 840 espécies, estando quase metade destas (407 spp.) presentes em território brasileiro. Os representantes desta família encontram-se distribuídos em áreas abertas, como a Caatinga e o Cerrado, e em florestas úmidas e secas (LOHMANN & ULLOA, 2016; LOHMANN, 2018).

É representada por árvores e arbustos, bem como por plantas herbáceas, e as suas espécies são caracterizadas por possuírem folhas compostas e opostas, flores vistosas e frutos do tipo cápsula (FISCHER et al., 2004). Os representantes da família Bignoniaceae são polinizados principalmente por abelhas, vespas e borboletas, e várias destas espécies apresentam nectários extraflorais que tem a função de protege-las contra o ataque herbívoro (ALCANTARA & LOHMANN, 2014; NOGUEIRA et al., 2016).

Várias espécies de Bignoniaceae possuem uma madeira resistente e durável e, por isso, são utilizadas em construções, enquanto outras são usadas como ornamentais em todo o mundo. Além disso, diversas espécies desta família são utilizadas na medicina popular por apresentarem propriedades terapêuticas (LOHMANN, 2018).

#### **2.4.1 *Tabebuia impetiginosa* Mart.**

A *Tabebuia impetiginosa* Mart. (Bignoniaceae), conhecida popularmente como ipê-roxo ou pau-d'arco, é uma espécie arbórea que está distribuída em áreas de vegetação nativa do Nordeste e Sudeste do Brasil. É largamente utilizada na indústria madeireira e possui floração abundante e de beleza singular em toda a copa das árvores (Figura 6), por estes fatos, esta espécie foi bastante explorada nas suas áreas de ocorrência natural (GEMAQUE, 2015).

**Figura 7:** Espécie *Tabebuia impetiginosa* Mart.



Fonte: Costa (2011)

Esta espécie é bastante conhecida por possuir atividades biológicas, uma vez que contém compostos ativos como flavonoides, taninos e quinonas, em sua composição. Há evidências das suas atividades anti-inflamatórias e antinociceptivas, e foi descrito o seu efeito hipocolesterolêmico em camundongos hiperlipidêmicos. Além disso, a propriedade cicatrizante ginecológica foi verificada através do uso das cascas do ipê-roxo (DVORKIN-CAMIEL, 2008; VASCONCELOS et al., 2014).

## 2.5 CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE A FAMÍLIA BORAGINACEAE

A família Boraginaceae compreende cerca de 2000 espécies e 130 gêneros, distribuídas em todo o mundo nas regiões tropicais, subtropicais e temperadas, e possui bastante relevância na farmacologia e na cosmetologia (DRESLER, 2017). Esta família está representada no Brasil pelos gêneros: *Auxemma*, *Borago*, *Cynoglossum*, *Cordia*, *Echium*, *Lepidocordia*, *Moritzia*, *Patagonula*, *Rotula*, *Symphytum*, *Tounerfortia* e *Thaumatocaryum* (BARROSO, 1986).

As propriedades terapêuticas associadas à esta família se dão pela presença de inúmeros compostos bioativos, como terpenóides, flavonoides e outros fenóis. Estes, por sua vez, apresentam atividades antimicrobiana, antitumoral, antiviral, anti-inflamatória, cardiotônica e contraceptiva (SHARMA et al., 2009; PAPP et al., 2011; TARAVATI et al., 2014). Além destes compostos, algumas espécies como *Borago officinalis* L. e *Echium vulgare* L., são consideradas boas fontes dos ácidos graxos  $\gamma$ -linoleico e estearidônico (MHAMDI, 2009).

### 2.5.1 *Auxemma oncocalyx* Taub.

*Auxemma oncocalyx* Taub., vulgarmente conhecida como pau-branco, é uma espécie arbórea que atinge cerca de 12 metros de altura (Figura 7) e ocorre de forma natural no Brasil nos estados da Bahia, Ceará, Minas Gerais, Pará, Pernambuco e Rio Grande do Norte. O pau-branco é uma espécie bastante suscetível ao frio e ocorre naturalmente em vários tipos de solo, sendo característica da Caatinga onde o gênero *Auxemma* é endêmico (CARVALHO, 2008).

**Figura 8:** Espécie *Auxemma oncocalyx* Taub.



Fonte: Carvalho (2008)

Esta espécie tem utilização medicinal e já foram observadas propriedades analgésicas e anti-inflamatórias no extrato hidroalcolico de partes do tronco da mesma (FERREIRA et al., 2008; VIANA et al., 2015). Além destas propriedades, as atividades antileishmania (TEIXEIRA et al., 2001), antitumoral (ITOIGAWA et al., 2003), antifúngica (GAFNER et al., 1996) e antimalárica

(FIGUEIREDO et al., 1998) também já foram verificadas. Estas propriedades farmacológicas podem ser atribuídas à presença da alantoína, do glicosídeo  $\beta$ -sitosterol e de algumas quinonas que foram isoladas da *A. oncocalyx* Taub (PESSOA E DE LEMOS, 1997).

## 2.6 METABÓLITOS SECUNDÁRIOS

O metabolismo é representado por um conjunto de reações químicas que ocorre constantemente nas células. Os metabólitos, por sua vez, são os compostos químicos gerados, transformados ou degradados nestas reações (SIMÕES et al., 2010). Estes podem ser classificados em primários ou secundários. Os metabólitos primários são moléculas importantes tanto para o crescimento quanto para o desenvolvimento dos organismos, como as proteínas, os carboidratos, os lipídeos e os aminoácidos. Em contrapartida, os metabólitos secundários têm sua função relacionada principalmente à defesa contra patógenos, ou em resposta ao estresse (AZMIR et al., 2013).

Embora nem sempre estejam presentes em todos os vegetais ou associados às suas funções vitais, os metabólitos secundários conferem vantagens importantes para a sobrevivência e perpetuação das espécies vegetais. No âmbito da defesa, a presença destes metabólitos protege os vegetais de fatores externos, tais como umidade, temperatura e raios ultravioleta. Além da sua importância neste quesito, estes compostos promovem a atração de indivíduos polinizadores e microrganismos simbiotes, além de animais dispersores de sementes, representando relevância na reprodução das plantas (ALVES, 2001; PERES, 2004; SIMÕES et al., 2010).

Os metabólitos secundários têm a sua síntese em diferentes tipos celulares e estágios de desenvolvimento, o que torna o seu processo de isolamento e purificação mais laborioso. Diversos fatores influenciam na síntese desses compostos. Variáveis como sazonalidade, temperatura, disponibilidade hídrica e de nutrientes, radiação ultravioleta, altitude e poluição atmosférica modificam a quantidade de metabólitos produzidos, e até mesmo a sua natureza (GOBBO NETO; LOPES, 2007). Dessa forma, é fundamental que se leve em consideração o tempo e o modo como é feita a coleta de um vegetal para estudo, uma vez que variações podem modificar a produção dos seus constituintes (FALKENBERG; SANTOS; SIMÕES, 2010).

Os metabólitos secundários dividem-se em três grandes grupos: compostos fenólicos, terpenos e alcaloides (TAIZ; ZEIGER, 2009). A síntese dessas moléculas se dá por quatro vias diferentes: a via do ácido mevalônico e a via do não-mevalonato que promovem a produção dos terpenos; a via do ácido chiquímico, onde observa-se a síntese dos compostos fenólicos e alcaloides; e a via do ácido malônico, responsável pela síntese dos compostos fenólicos (AZMIR et al., 2013).

Aproximadamente cinquenta e cinco mil terpenóides, cerca de doze mil tipos de alcaloides e em média oito mil compostos fenólicos já foram isolados (CROTEAU, KUTCHAN E LEWIS, 2000). Alguns representantes dos terpenos são os carotenoides, as saponinas, os óleos essenciais e a maioria dos fitoreguladores. Já a cafeína, a vincristina e a nicotina são alguns exemplos de alcaloides. Em relação aos compostos fenólicos, alguns dos seus representantes são os flavonoides, os taninos e as ligninas (ALVES, 2001; PERES, 2004). Muitos desses compostos apresentam valor comercial tanto na área farmacêutica quanto nas áreas alimentícia, agrônômica, cosmética, entre outras (SIMÕES et al., 2010).

Diversos estudos relacionam atividades biológicas com a presença de determinados metabólitos secundários em plantas, como por exemplo, a alta atividade antioxidante de *Pistacia vera* L. (pistache) com o seu teor de compostos fenólicos (FABANI et al., 2013), e a atividade antimicrobiana de alguns frutos com polifenóis na sua composição (SILVA et al., 2013). O esclarecimento da atuação dos metabólitos secundários pode contribuir com estudos que visam solucionar problemas relevantes como prejuízos desencadeados pelo uso irracional de pesticidas, ou a resistência microbiana às drogas sintéticas (BEZERRA, 2008).

### **2.6.1 Compostos fenólicos**

Os compostos fenólicos são metabólitos secundários, produzidos por plantas, que possuem uma composição estrutural bastante diversa, e apresentam complexidade e reatividade variáveis (SHAHIDI & NACZK, 1995). São derivados do benzeno e apresentam pelo menos um anel aromático na sua estrutura, onde ao menos um hidrogênio é substituído por um grupamento hidroxila (SIMÕES, 2010; STOCLET et al., 2004). Estes compostos abrangem as ligninas e os taninos, polímeros com funções importantes nos vegetais, e encontram-se largamente distribuídos no reino vegetal e em grande parte dos micro-organismos, uma vez que estes possuem a capacidade de síntese do anel benzênico, fundamental na estrutura dos compostos fenólicos (SIMÕES, 2010).

Estes metabólitos contribuem para a coloração, odor e sabor dos vegetais e estas propriedades são influenciadas por fatores ambientais, como temperatura, luz e pH. Isso agrega importância econômica a esses compostos em função do seu uso na indústria alimentícia (MOREIRA & MANCINI-FILHO, 2004). A maior parte das alterações sensoriais que acontecem nos alimentos durante o seu processamento e armazenamento, estão associadas à considerável reatividade dos compostos fenólicos. Sendo assim, há um grande interesse no estudo das suas propriedades e seus

mecanismos de reação, visando a prevenção de alterações indesejáveis nestes produtos (ES-SAFI et al., 2003).

Os compostos fenólicos são metabólitos fundamentais para o desenvolvimento das espécies vegetais, e exercem papel importante na resistência das plantas em situações de estresse, agindo como agentes protetores das reações oxidativas (atividade antioxidante) e também da ação de patógenos, uma vez que apresentam atividade antimicrobiana (SHAHIDI & NACZK, 1995; DILLARD & GERMAN, 2000). Dessa maneira, a sua alta produção nas plantas está relacionada às situações de estresse (SHI et al., 2002). Por possuir estruturas aromáticas, esses metabólitos apresentam considerável absorção na região do ultravioleta (UV). Além disso, são facilmente oxidáveis e servem de substrato em reações enzimáticas de escurecimento (SIMÕES, 2010).

Os compostos fenólicos são encontrados em sua maioria na forma de heterosídeos ou de ésteres, apresentando assim solubilidade em água e em solventes orgânicos polares (SIMÕES, 2010). Dessa forma, vários solventes podem ser empregados no processo extrativo desses metabólitos, como: água, etanol, acetona, metanol, acetato de etila, propanol e suas combinações (ANGELO & JORGE, 2007). Apesar de ser bastante eficiente, o metanol não é muito indicado por apresentar uma toxicidade considerável (TERCI, 2004). Em contrapartida, a água é comumente utilizada, uma vez que possui fácil obtenção e manipulação, além de ser um solvente abundante e de extração eficaz, tendo em vista a sua polaridade (ANDREO & JORGE, 2006).

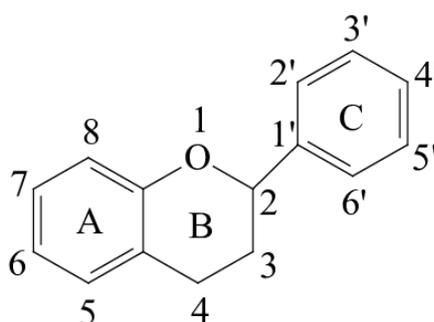
A natureza dos compostos presentes na amostra, o método e o solvente utilizados no processo extrativo, o tempo e as condições de estocagem, o tamanho da amostra, bem como o padrão utilizado, influencia diretamente na identificação de compostos fenólicos. (ANGELO & JORGE, 2007). Para a quantificação destes em materiais vegetais, geralmente utiliza-se os métodos de Folin-Denis e Folin-Ciocalteu. Ambos têm como princípio reações de oxi-redução entre o reagente e as hidroxilas presentes nos fenóis, que geram complexos coloridos, quantificáveis por espectrofotometria (SIMÕES, 2010). O que difere esses dois métodos é a utilização de sulfato de lítio e ácido hidrocloreídrico na análise de Folin-Ciocalteu (ANGELO & JORGE, 2007).

O método de Folin-Denis baseia-se na redução do ácido fosfomolibdicofosfotúngstico pelas hidroxilas fenólicas, e produz um complexo de cor azul que é absorvido entre 620 e 740nm. Nesse ensaio, normalmente a catequina é o padrão para a elaboração de curvas e a base mais indicada para ser usada neste método é a solução saturada de carbonato de sódio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ). O reagente de Folin-Denis pode ser substituído pelo de Folin-Ciocalteu, e nesse caso, o ácido gálico é usado como padrão e os resultados são expressos em equivalentes de ácido gálico (EAG) (GOMES, 2006).

## 2.6.2 Flavonoides

Os flavonóides consistem em uma grande classe de compostos fenólicos de origem vegetal, e sua síntese não é observada na espécie humana (LOPES et al., 2010). A estrutura química básica destes metabólitos, também conhecida como *flavilium*, é composta de dois anéis aromáticos (anéis A e C), os benzenos, ligados a uma estrutura heterocíclica central, o pirano (anel B), onde o primeiro benzeno é condensado com o sexto carbono do pirano, que na posição 2 carrega um grupo fenila (Figura 9) (DORNAS et al. 2010).

**Figura 9:** Estrutura química básica dos flavonoides.



Fonte: Pietta (2000)

Os flavonoides estão distribuídos nas partes aéreas de plantas dos mais diversos ecossistemas, e podem ser considerados metabólitos estáveis uma vez que são capazes de resistir a altas temperaturas, variações de pH e oxidação. Podem se apresentar como agliconas, glicosídeos ou fazerem parte de outros compostos químicos, como as flavolignanas (KUMAR & PANDEY, 2014). A biossíntese destes compostos polifenólicos se dá pela via do ácido chiquímico, molécula presente na biossíntese de substâncias aromáticas em vegetais (DEWIK, 2010).

Entre os compostos fenólicos encontram-se as antocianinas, antocianidinas, flavonas, flavonóis, taninos condensados ou proantocianidinas e, com menor frequência, as auronas, calçonas e isoflavonas. Há uma ampla diversidade estrutural nestes compostos e isso se dá por causa das modificações químicas que ocorrem na sua estrutura química básica, modificações essas que acontecem por reações de hidroxilação, metilação, acilação, glicosilação, hidrogenação, malonilações e sulfatações, formando, dessa forma, as mais diversas classes de flavonóides (CERQUEIRA et al., 2007; MACHADO et al., 2008).

Além de desempenhar funções nas plantas, como a pigmentação de frutos e flores e a proteção contra agentes oxidativos, os flavonoides apresentam uma grande variedade de atividades biológicas. Observam-se novos arranjos estruturais nestes compostos a cada dia, e tem-se estudado para a

verificação de suas atividades biológicas, uma vez que o mecanismo de ação dos flavonoides depende da sua estrutura química (DA SILVA et al., 2015). Dentre os flavonoides com atividades biológicas estão a quercetina e o caempferol que demonstraram grande potencial anti-inflamatório (QUEIROZ et al. 2014; TODOROVA E TRENDALOVA 2014) e anti-hipertensivo (PIRIE et al., 2014; SCHREUDER et al., 2014). Além dos isoflavonoides com atividades antioxidante e antitumoral (YANG et al., 2013; YAN et al., 2014).

Para a quantificação de flavonoides em amostras vegetais, comumente se utiliza a metodologia de complexação com o cloreto de alumínio ( $ClAl_3$ ). Na reação, o íon alumínio ( $Al^{3+}$ ) se complexa com as moléculas de flavonoides presentes na amostra, e estabelece um complexo estável flavonóide- $Al^{3+}$  de coloração amarela com intensidade proporcional à concentração de flavonoides (MABRY et al., 1970).

## 2.7 ESTRESSE OXIDATIVO E ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO

As Espécies Reativas de Oxigênio (ERO's) são radicais livres resultantes da oxidação ou redução do oxigênio molecular ( $O_2$ ), produzidas durante a cadeia respiratória nas mitocôndrias. Estima-se que aproximadamente 1% da quantidade de  $O_2$  consumida é desviada para a produção das ERO's, e estas podem ser provenientes de fontes endógenas ou exógenas, sendo as mais conhecidas: o radical superóxido ( $O_2\bullet$ ), o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), a peroxila ( $ROO\bullet$ ) e o radical hidroxila ( $HO\bullet$ ). Esses radicais têm funções importantes nas reações biológicas dos organismos (SEN et al., 2013; DE SOUZA et al., 2017).

A geração de ERO's é um mecanismo comum aos organismos aeróbicos em decorrência do seu metabolismo celular. Estes radicais juntamente com as Espécies Reativas de Nitrogênio (ERN's) são produzidos normalmente durante os processos metabólicos e são regulados por diferentes mecanismos antioxidantes (MARTINS, 2012; SEN et al., 2013). Em função da necessidade de oxigênio para a produção de energia pelas mitocôndrias, acredita-se que estas organelas estejam envolvidas na promoção do estresse oxidativo, uma vez que quando a cadeia transportadora de elétrons é muito estimulada há uma elevada produção de ERO's (ISLAM, 2016).

Uma superprodução destes radicais leva ao estresse oxidativo uma vez que os mesmos são capazes de oxidar biomoléculas importantes como as proteínas, promover a peroxidação lipídica e causar danos à molécula de DNA, o que contribui para o surgimento de alterações mutagênicas, morte celular e danos teciduais (SEN et al., 2013). No estresse oxidativo observa-se a produção pelas células de marcadores biológicos com capacidade de evidenciar os danos causados pelas ERO's no

organismo. Essas moléculas são provenientes da oxidação de lipídios, proteínas ou do DNA (MORI et al., 2015).

Os mecanismos de oxidação e redução são fundamentais para a sobrevivência celular, principalmente nos mecanismos de produção de energia e síntese de biomoléculas. Entretanto, dependendo da concentração, os radicais produzidos podem gerar benefícios ou danos aos sistemas biológicos. Quando em excesso, podem causar agressões às biomoléculas e ser responsáveis pela ocorrência ou agravamento de danos teciduais, e assim contribuir com o desenvolvimento do câncer e doenças cardiovasculares, bem como envelhecimento precoce e doenças neurodegenerativas (TABARAKI et al., 2013; MANOHARAN, et al., 2016). Em contrapartida, nas concentrações mais baixas podem atuar na sinalização intracelular das células vegetais como segundos mensageiros (SHARMA et al., 2012).

Os ecossistemas estão sendo reduzidos drasticamente, principalmente os que estão próximos às populações humanas onde são submetidos à diferentes tipos de estresse de forma contínua. Essa perturbação constante pode ser responsável por um aumento na geração de ERO's, o que provoca um desequilíbrio e leva as células das plantas a entrarem em um estado de estresse oxidativo (BRANDÃO et al., 2017). As plantas podem retornar ao equilíbrio através do controle e eliminação das ERO's por agentes antioxidantes. O grau de tolerância a esse estresse oxidativo depende da espécie submetida e da eficiência de cada indivíduo na eliminação desses agentes agressores (SHARMA et al., 2012).

### **2.7.1 Defesas Antioxidantes**

Os radicais livres são moléculas bastante instáveis e reativas que possuem um elétron desemparelhado na sua órbita externa. Para se estabilizar, essas moléculas realizam o sequestro de elétrons de componentes celulares, que por sua vez são estruturas frágeis e capazes de doar seus elétrons de maneira fácil. Os radicais livres podem ser produzidos tanto no citoplasma quanto nas mitocôndrias, ou ainda na membrana, e podem estar envolvidos no desenvolvimento de doenças degenerativas, no processo de envelhecimento e na morte celular (VASCONCELOS et al., 2014).

Essas moléculas são produzidas continuamente durante os processos metabólicos e assim muitos mecanismos de defesa antioxidante foram desenvolvidos, com o intuito de atenuar os seus níveis intracelulares e evitar danos. Os antioxidantes são agentes que tem a capacidade de proteger o sistema biológico contra os efeitos deletérios das reações oxidativas (VASCONCELOS et al., 2014). Estes podem ser sintéticos ou naturais, entre os antioxidantes sintéticos destacam-se o butilhidroxitolueno (BHT), o butilhidroxianisol (BHA), o propilgalato (PG) e oterciobutilhidroxinona (TBHQ). Apesar de serem utilizados pelas indústrias alimentícias para evitar a deterioração dos

produtos, esses compostos podem ser prejudiciais, uma vez que propriedades carcinogênicas já foram relatadas para os mesmos (ALVES et al., 2007), o que reforça a importância de buscar agentes antioxidantes de fontes naturais.

Os antioxidantes naturais são usualmente classificados em dois sistemas: o enzimático, fazendo parte deste grupo as enzimas que são produzidas no organismo, e o não enzimático, composto por vitaminas, flavonoides, licopeno e bilirrubina. Além disso, esses agentes podem ser agrupados quanto ao seu modo de ação, podendo ser primários ou secundários (COTINGUIBA et al., 2013). Os antioxidantes enzimáticos são capazes de evitar ou dificultar o processo de iniciação da oxidação, em contrapartida, os não-enzimáticos interagem com os radicais livres e, por sua vez, são consumidos durante a reação. Em relação aos antioxidantes primários, estes atuam doando elétrons aos radicais livres os estabilizando, enquanto os secundários agem retardando as etapas de iniciação da auto-oxidação. De uma maneira geral, os compostos antioxidantes atuam na inibição ou eliminação dos radicais livres (AZEVEDO et al., 2013).

A atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD), glutathiona peroxidase/reductase (GSH-Px/GSH-Rd) e catalase (Cat) compreende as defesas antioxidantes enzimáticas. Essas enzimas são responsáveis pela remoção do ânion superóxido ( $O_2\bullet$ ), dos hidroperóxidos orgânicos e do peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), respectivamente. Os antioxidantes não enzimáticos podem ser obtidos na dieta, como o ácido ascórbico (vitamina C), o  $\alpha$ -tocoferol (vitamina E), o  $\beta$ -caroteno (provitamina A), e em compostos fenólicos, como os flavonoides (FRANÇA et al., 2013). Estes antioxidantes são naturalmente produzidos pelo organismo, entretanto a sua produção é atenuada com o processo de envelhecimento, e se faz necessário o consumo de fontes exógenas. Além disso, minerais como Ferro e Zinco também podem ter ação antioxidante, uma vez que são capazes de neutralizar a ação dos radicais livres (ADORJAN E BUCHBAUER, 2010).

### **2.7.2 Métodos de determinação da atividade antioxidante**

Os compostos antioxidantes têm como função estabilizar radicais livres a fim de evitar possíveis danos às moléculas biológicas, e agem através da doação de elétrons ou hidrogênio, ou ainda através da transferência de prótons (NIKI, 2010). Já foram descritas diversas metodologias *in vitro* para a avaliação da atividade antioxidante de diferentes amostras. A maior parte destes ensaios têm como princípio a capacidade de sequestro de radicais livres pelos compostos antioxidantes (LÓPEZ-ALARCÓN; EDENICOLA, 2013).

O método do DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila) é um ensaio largamente utilizado para determinação do potencial antioxidante em extratos vegetais e substâncias isoladas como compostos fenólicos (RIBEIRO, 2011). O DPPH é um radical livre estável que apresenta uma coloração púrpura e absorve a um comprimento máximo de onda de 516nm. O ensaio baseia-se na capacidade de sequestro deste radical, por um agente antioxidante, reduzindo-a a hidrazina. Após essa redução, observa-se uma mudança na coloração do meio reacional para amarelo pálido, uma vez que a diminuição da absorbância é proporcional à atividade antioxidante da amostra testada. Este método é considerado o mais rápido, fácil e reprodutível, uma vez que não demanda condições drásticas de temperatura e oxigenação (BORGES et al., 2011; BARBOSA, 2017).

Uma outra metodologia largamente utilizada para análise da atividade antioxidante é a do ABTS [2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)], que se trata de um radical livre estável com solubilidade em água e em álcool, e pode ser obtido através de reações de ordem química, eletroquímica ou enzimática (BORGES et al., 2011). Este composto apresenta coloração verde e é lido em espectrofotômetro no comprimento de onda de 734 nm. O método do ABTS pode ser utilizado para avaliar compostos de natureza hidrofílica e lipofílica, e baseia-se na transferência de elétrons, onde um composto antioxidante promove a redução de um substrato oxidante (KUSKOSKI et al, 2005; PAZINATTO, 2008).

O método de Capacidade Antioxidante Total (CAT), também conhecido como método do fosfomolibdênio, tem como princípio a oxidação num complexo azul de fosfomolibdênio pela adição de nitrito (ADORJAN E BUCHBAUER, 2010). Esse ensaio mensura a capacidade de sequestro de radicais livres presentes em uma amostra, por agentes antioxidantes. Usualmente o ácido ascórbico (AA) é utilizado como composto de referência, e a CAT é expressa em relação ao mesmo, onde a sua absorbância corresponde a 100% de atividade antioxidante. Entretanto, o Trolox, composto sintético hidrossolúvel análogo da vitamina E, também pode ser usado como referência (CAROCHO E FERREIRA, 2013).

O ensaio de avaliação da capacidade sequestradora do ânion superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ) pode ser realizado utilizando o sistema metionina-EDTA-NBT-riboflavina. Na reação este radical é produzido, e o mesmo reduz o NBT a formazan em temperatura ambiente e pH 7,4, modificando a coloração de amarelo-pálida para púrpura. Essa mudança pode ser observada por espectrofotometria a 560nm. Na presença de agentes antioxidantes, estes reagem com o  $O_2^{\cdot-}$  impedindo a formação de formazan (ALVES et al., 2010).

## 2.8 ANTIMICROBIANOS E RESISTÊNCIA BACTERIANA

As bactérias são microrganismos unicelulares e procariontes que estão distribuídas nos mais diversos ambientes tais como: na água, no ar, no solo, ou até no interior de outros organismos como parte da microbiota. Particularidades genéticas, bioquímicas e nutricionais são observadas em cada espécie bacteriana (BOSSOLAN, 2002). Vários processos patológicos podem ser ocasionados por microrganismos, especialmente por bactérias, como os causados por espécies de *Staphylococcus*, *Shigella*, *Listeria* e *Salmonella*, dentre outras (ALVARENGA et al., 2007; TAUXE, 2002). As infecções bacterianas, por exemplo, são responsáveis por aproximadamente 23.000 óbitos nos Estados Unidos anualmente (SHARMA et al., 2015).

A terapia para combater estas infecções teve início com o surgimento das sulfonamidas, e pouco tempo depois também foi observado o potencial terapêutico das penicilinas (JAWETZ et al., 1998). Os antibióticos representam o tratamento primário das bacterioses e podem agir de duas maneiras distintas, induzindo a inibição do crescimento/reprodução dos microrganismos ou promovendo a sua morte, esses efeitos são chamados bacteriostático e bactericida, respectivamente (FERREIRA, 2007). A toxicidade seletiva é uma propriedade desejável para os agentes antimicrobianos pois isso permite que em determinadas doses haja lesão celular apenas nos microrganismos causadores da infecção, tornando a sua utilização segura (BLACK, 2002; JAWETZ et al., 1998). Os representantes dessa classe de medicamentos podem agir por diversos mecanismos como por exemplo através da inibição da síntese da parede celular ou da síntese de proteínas (GADÉA, 2008).

A resistência bacteriana representa um problema de saúde pública global e atrai a atenção da indústria farmacêutica e de vários órgãos governamentais como a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e a Organização Mundial de Saúde (OMS) (BECKER, 2006). Segundo a OMS, esse fenômeno aumentou consideravelmente chegando a níveis preocupantes em todo o planeta, além disso, destaca-se o risco de um período em que infecções mais simples possam ser fatais pela falta de uma antibioticoterapia efetiva (WANG et al., 2016). A resistência dos microrganismos aos antibióticos é um fenômeno que está intimamente relacionado ao seu uso indiscriminado (LAHMAR et al., 2016).

Essa resistência é uma consequência das mutações sofridas pelos microrganismos expostos de maneira contínua a esses agentes, e ocorre por diversos mecanismos, como a diminuição de receptores de membrana para antibióticos ou pela existência das bombas de efluxo, que exportam as moléculas nocivas ao metabolismo bacteriano (LAXMINARAYAN et al., 2013; KON E RAI, 2012). Entretanto,

algumas cepas bacterianas são capazes de adquirir resistência sem necessariamente serem expostas ao antibiótico, isso ocorre por mutações gênicas espontâneas, induzidas ou recombinações que podem promover a expressão e multiplicação de um gene resistente. Pode se observar também a transferência desses genes de resistência por mecanismos de transdução e conjugação (BERGER, 2006; COHEN, 1997).

A dificuldade em identificar compostos com atividade antimicrobiana e ausência de efeitos colaterais graves tem tornado lento o processo de prospecção de novos fármacos, unido a isso notou-se uma elevação expressiva no número de cepas multirresistentes, o que evidencia a importância do investimento em estratégias para contornar essa situação (ASAMIZU, 2017; KON E RAI, 2012). De fato, isso incentivou os estudos acerca de produtos naturais, como os óleos e extratos vegetais, como alternativa para o desenvolvimento de novos agentes antimicrobianos a serem usados de maneira isolada ou possivelmente associados a drogas já utilizadas (ALEKSIC E KNEZEVIC, 2014).

## 2.9 CITOTOXICIDADE

É de grande importância que seja atestada a segurança do uso de plantas medicinais e seus extratos/óleos, identificando suas manifestações tóxicas, quando existentes, para não promover riscos à saúde (MACIEL et al., 2002). Ensaio de citotoxicidade tem como objetivo investigar biocompatibilidade de um produto, como os extratos vegetais, e garantir assim a sua segurança. Existem diversas metodologias que podem ser utilizadas para essa finalidade (OLIVEIRA, 2011). Esses testes normalmente apresentam resultados rápidos, estando relacionados a danos metabólicos nas células ou a alterações na permeabilidade da sua membrana, assim, é possível verificar a quantidade de células que conseguem permanecer viáveis após a exposição aos compostos testados. Por outro lado, respostas obtidas a longo prazo normalmente estão relacionadas ao processo de renovação e sobrevivência celular (FRESHNEY, 1990).

Um ensaio bastante utilizado e apropriado para a análise da citotoxicidade de compostos vegetais é o do MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2yl)-2,5-difenil brometo de tetrazolina) por tratar-se de um método confiável e reproduzível. Esse teste consiste em uma avaliação colorimétrica que tem como base a conversão do MTT em cristais de formazan. Essa reação é mediada por enzimas mitocondriais, viáveis apenas em células metabolicamente ativas, que degradam o anel tetrazólio do MTT (MOSSMAN, 1983). Uma outra maneira de avaliar a citotoxicidade de compostos biológicos é através da ativação celular e quantificação de citocinas, pequenas moléculas secretadas por macrófagos e outras células após um estímulo. Vários estudos usam

essa metodologia para investigar, além do efeito citotóxico, o potencial anti-inflamatório de extratos vegetais e óleos essenciais (OLIVEIRA, 2011; KIM et al., 2011).

Além das metodologias já citadas, a análise da citotoxicidade hemolítica também é bastante empregada. Este é um ensaio colorimétrico que consiste na incubação de uma suspensão padronizada de eritrócitos com a substância que se deseja avaliar. Esse teste permite verificar danos às membranas dos eritrócitos, seja por alteração da permeabilidade da membrana ou lise celular, através da liberação da hemoglobina para o meio (DESOTI et al., 2011).

### 3 ARTIGO

#### **Perfil fitoquímico e atividades antioxidante, antibacteriana e citotóxica de extratos aquosos de plantas do Parque Nacional do Catimbau, Pernambuco - Brasil**

Artigo a ser submetido para publicação na revista: *Journal of Pharmacy and Pharmacology*.

Normas de submissão da revista: <https://onlinelibrary.wiley.com/page/journal/20427158/homepage/forauthors.html>



Fator de impacto: 2.405

Classificação B1 no Qualis das áreas: Ciências Biológicas I, II e III

**Perfil fitoquímico e atividades antioxidante, antibacteriana e citotóxica de extratos aquosos de plantas do Parque Nacional do Catimbau, Pernambuco - Brasil**

Matheus Barbosa de Miranda<sup>1</sup> – matheus.bmiranda@hotmail.com

Amanda Virgínia Barbosa<sup>1</sup> - amandavirginia88@gmail.com

Bruno Oliveira de Veras<sup>1</sup> - brunooveras@hotmail.com

Daniel Rodrigo Cavalcante de Araújo<sup>2</sup> - daniel.araujo@insa.gov.br

Yago Queiroz dos Santos<sup>3</sup> - yagoqsr@hotmail.com

Magda Rhayanny Assunção Ferreira<sup>4</sup> – magda.ferreira00@gmail.com

Luiz Alberto Lira Soares<sup>4</sup> - laos.ufpe@gmail.com

Márcia Vanusa da Silva<sup>1</sup> - marciavanusa@yahoo.com.br

Maria Tereza dos Santos Correia<sup>1\*</sup> - mtscorreia@gmail.com

*<sup>1</sup>Departamento de Bioquímica, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, Pernambuco - Brasil*

*<sup>2</sup>Instituto Nacional do Semiárido (INSA), Campina Grande, Paraíba - Brasil*

*<sup>3</sup>Departamento de Bioquímica, Laboratório de Proteínas e Peptídeos Bioativos, Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), Natal, Rio Grande do Norte - Brasil*

*<sup>4</sup>Departamento de Farmácia, Laboratório de Farmacognosia, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, Pernambuco - Brasil*

*\*Autor correspondente: Maria Tereza dos Santos Correia*

*Departamento de Bioquímica, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)*

*Av. Moraes Rego s/n, CEP: 50670-420, Recife,*

*Pernambuco, Brasil*

## RESUMO

**Objetivos:** O estudo objetivou analisar o perfil fitoquímico e as atividades antioxidante, antimicrobiana e citotóxica dos extratos aquosos das folhas de *Auxemma oncocalyx*, *Caesalpinia ferrea* e *Tabebuia impetiginosa*, e das cascas de *Bauhinia forficata*, *Hymenaea courbaril* e *Myrciaria tenella*.

**Métodos:** O perfil fitoquímico foi determinado pela dosagem de fenóis e flavonoides, CCD e CLAE-DAD. Para a análise da atividade antioxidante, utilizaram-se os métodos de sequestro dos radicais DPPH, ABTS e  $O^{2-}$ , e o teste CAT. A atividade antibacteriana foi avaliada por CIM e CBM. A citotoxicidade foi verificada pelo teste do MTT, em linhagens celulares saudáveis e tumorais. A atividade hemolítica também foi avaliada.

**Resultados:** Verificou-se a presença de fenóis, terpenos, saponinas e açúcares redutores nos extratos. A rutina foi identificada como composto majoritário dos extratos de *A. oncocalyx* e *T. impetiginosa*, e o ácido elágico dos extratos de *C. ferrea* e *M. tenella*. Todos os extratos apresentaram atividade antioxidante, obtendo os melhores resultados os de *M. tenella* e *H. courbaril*, que também apresentaram interessante atividade antibacteriana. Verificou-se moderada toxicidade em células tumorais, e ausência de toxicidade em células saudáveis, além de um baixo grau de hemólise.

**Conclusões:** Todos os extratos estudados são ricos em fenóis, principalmente os de *B. forficata*, *H. courbaril* e *M. tenella*, o que justifica as suas consideráveis atividades antioxidantes e antibacterianas.

## INTRODUÇÃO

Os radicais livres são moléculas instáveis e reativas que sequestram elétrons de componentes celulares para se estabilizar<sup>[1]</sup>. Uma superprodução destes radicais leva ao estresse oxidativo que está envolvido na morte celular e no desenvolvimento de doenças degenerativas e cardiovasculares, bem como no processo de envelhecimento e surgimento do câncer<sup>[2,3]</sup>. Os agentes antioxidantes protegem o sistema biológico contra os efeitos deletérios das reações oxidativas, e dessa forma, o consumo de produtos com estas propriedades promove uma melhoria na qualidade de vida<sup>[1]</sup>. Observa-se, inclusive, uma correlação entre os efeitos terapêuticos de vários medicamentos naturais com a sua atividade antioxidante<sup>[4]</sup>. Vários compostos antioxidantes de origem sintética utilizados na indústria com o butilhidroxitolueno (BHT) e o butilhidroxianisol (BHA), podem oferecer riscos à saúde, e isso reforça a importância da busca por compostos oriundos de fontes naturais<sup>[5,6]</sup>.

O uso de plantas como alternativa medicinal é uma prática rotineira e o seu estudo promove a comprovação dos conhecimentos populares com os científicos, auxiliando no desenvolvimento de novas drogas<sup>[7]</sup>. Muitos estudos realizam a análise da atividade antimicrobiana de produtos naturais como ponto inicial para o desenvolvimento de novos fármacos, e isso justifica-se pelo aumento observado na resistência bacteriana aos antimicrobianos comumente prescritos na clínica<sup>[8]</sup>. Além disso, as plantas também são fonte de moléculas com potencial para o uso no tratamento do câncer, uma vez que grande parte dos fármacos antineoplásicos utilizados na clínica são originários de produtos naturais<sup>[9,10]</sup>.

Espécies da família Fabaceae, como *Bauhinia forficata*, *Caesalpinia ferrea* e *Hymenaea courbaril* são largamente utilizadas na medicina popular e tem algumas das suas atividades biológicas, como anti-inflamatórias e hipoglicemiantes, descritas<sup>[11-13]</sup>. Além destas, *Myrciaria tenella* (Myrtaceae), *Tabebuia impetiginosa* (Bignoniaceae) e *Auxemma oncocalyx* (Boraginaceae) também representam alternativas medicinais e possuem estudos acerca de algumas das suas propriedades terapêuticas<sup>[13-15]</sup>.

Todas essas espécies são encontradas no Parque Nacional do Catimbau, Pernambuco - Brasil e são utilizadas pelas comunidades locais para fins medicinais. Visando promover a exploração de novos fitoterápicos, o objetivo do estudo foi identificar o perfil fitoquímico dos extratos aquosos das folhas de *A. oncocalyx*, *C. ferrea* e *T. impetiginosa*, e das cascas de *B. forficata*, *H. courbaril* e *M. tenella*, e avaliar as suas atividades antioxidante, antimicrobiana e citotóxica.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Reagentes

2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH), [2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)] (ABTS), ácido gálico, reagente de Folin-ciocalteu, trolox, quercetina e ácido ascórbico, foram adquiridos da Sigma-Aldrich (EUA). Fosfato de sódio e molibdato de amônio foram adquiridos da Vetec (Brasil), ácido sulfúrico da Cinética (Brasil) e persulfato de potássio da Labsynth (Brasil). Placas cromatográficas de sílica gel 60 - F254 (Macherey-Nagel®, Germany). Meios de cultura Mueller-Hinton (Himedia Laboratories, Índia) e RPMI 1640 (Gibco BRL).

### Material botânico

As plantas utilizadas neste estudo foram selecionadas com base em dados etnobotânicos de comunidades tradicionais do Parque Nacional do Catimbau, município de Buíque, Pernambuco, entre as coordenadas geográficas: 8°24'00" e 8°36'35" S e 37°09'30" e 37°14'40" W. As folhas de *A. onocalyx*, *C. ferrea* e *T. impetiginosa*, e as cascas de *B. forficata*, *H. courbaril* e *M. tenella*, foram coletadas entre os meses de fevereiro/março de 2018, no Parque Nacional do Catimbau. As amostras foram identificadas conforme as técnicas taxonômicas habituais e depositadas no herbário do Instituto Agrônômico de Pernambuco (IPA).

### Obtenção dos extratos aquosos

O material botânico foi seco em estufa com circulação de ar forçado à 40°C por 72 horas, triturado e armazenado à temperatura ambiente em recipientes fechados até o uso. Os extratos aquosos foram obtidos a partir da mistura do material seco com água destilada [1:9; (m:v)], e submetidos ao banho ultrassônico durante 30 minutos, sendo posteriormente filtrados. Foram realizados ciclos de banho ultrassônico e filtração até que o filtrado se tornasse claro. Posteriormente, os extratos foram liofilizados.

### Perfil fitoquímico

O perfil fitoquímico dos extratos aquosos foi determinado por meio da dosagem de compostos fenólicos e flavonoides totais, além da técnica de cromatografia em camada delgada (CCD) e cromatografia líquida de alta eficiência acoplada ao detector de arranjos de diodos (CLAE-DAD).

### ***Dosagem de compostos fenólicos totais***

O teor de compostos fenólicos totais foi determinado pelo método de Folin-Ciocalteu, segundo Hua-Bin Li et al<sup>[16]</sup>, com pequenas modificações. 20µL dos extratos na concentração de 1mg/mL foram misturados com 100µL do reagente de Folin. Após incubação de 3 minutos, foram adicionados 80µL de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, e a reação aconteceu durante 120 minutos, à temperatura ambiente e protegida da luz. Após esse período, as absorvâncias das amostras foram medidas à 765 nm contra um branco (reagente adicionado à água ao invés das amostras). Foi preparada uma curva padrão de ácido gálico (25-500µg/mL), e os resultados foram expressos em termos de equivalente de ácido gálico (mg EAG / g de extrato).

### ***Dosagem de flavonoides totais***

O teor de flavonoides totais foi determinado pelo método colorimétrico do cloreto de alumínio<sup>[17]</sup>, com algumas modificações. 100µL dos extratos na concentração de 1mg/mL foram misturados em microplaca com 100µL de solução metanólica de cloreto de alumínio 5% (AlCl<sub>3</sub>). Após incubação de 60 minutos, protegida da luz e à temperatura ambiente, a leitura foi realizada em espectrofotômetro a 420 nm. Foi preparada uma curva padrão de quercetina (0-100µg/mL), e os resultados foram expressos em termos de equivalente de quercetina (mg EQ / g de extrato).

### ***Análise CCD***

Cerca de 1 mg das amostras foi diluído em 1 mL de metanol, e todos os padrões foram utilizados na concentração de 1 mg/mL. As amostras e os padrões foram aplicados de forma manual nas placas cromatográficas, e as mesmas foram desenvolvidas em cubas após saturação com a fase móvel. A cuba foi saturada durante 15 minutos, aproximadamente, à temperatura ambiente. As bandas foram aplicadas com largura de 0,5 cm e com uma distância entre elas e das bordas das placas de 0,5 cm. O tamanho da largura e do comprimento das placas cromatográficas foi de 5 cm. As amostras foram aplicadas a 0,5 cm da origem e com término 0,5 cm do final da placa. Após a eluição das placas as mesmas foram secas à temperatura ambiente, e observadas sob luz ultravioleta de 254 e 365 nm e luz visível em seguida foram digitalizadas. Na sequência foram reveladas com reagentes específicos para cada metabólito (Tabela 1). As bandas obtidas foram comparadas às bandas dos padrões correspondentes.

**Tabela 1:** Sistemas, reveladores e padrões utilizados na cromatografia em camada delgada, para identificação dos metabólitos secundários dos extratos estudados.

Classe de metabólitos secundários	Sistema de eluição	Reveladores	Padrões
Taninos hidrolisáveis	90:5:5	FeCl <sub>3</sub>	Ácido gálico
Taninos condensados	90:5:5	VC	Catequina
Flavonoides	90:5:5	AlCl <sub>3</sub>	Rutina e Quercetina
Derivados cinâmicos	90:5:5	AlCl <sub>3</sub>	Ác. Clorogênico e Ác. Cafeico
Terpenos e Esteroides	70:30	LB + Δ	β-sitosterol
Cumarinas	50:50:50	KOH + Δ	Cumarina
Saponinas	100:11:11:26	LB + Δ	Escina
Quinonas	50:6, 75:5	HNO <sub>3</sub> + KOH 10%	Senosídeo A
Alcaloides	50:6, 75:5	Dragendorff	Atropina
Açúcares redutores	50:20:10:10	Timol + H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 10% + Δ	D-maltose

**Legenda:** Sistemas: 90:5:5 – Acetato de etila: ácido fórmico: água; 70:30 – Tolueno: acetato; 50:50:50 – Éter etílico: acetato de etila: ácido acético 10% (saturação); 100:11:11:26 - Acetato de etila: ácido acético: ácido fórmico: água; 50:20:10:10 – Acetato de etila: ácido acético: ácido fórmico: água; 50:6, 75:5 – Acetato de etila: metanol: água

### **Análise CLAE-DAD**

As análises foram realizadas utilizando o equipamento Agilent 1260 Infinity com bomba quaternária e degaseificador (G1311D), injetor automático (G1329B), forno de coluna (G1316A), e detector DAD (G4212B). Coluna: Zorbax® (Agilent), SB-C18 5µm; 4,6 x 250mm com pré-coluna Zorbax® (Agilent) SB-C18 5µm e 4,6 x 12,5mm. As amostras foram filtradas com membrana de 0,22 micrometros e analisadas seguindo um gradiente linear de 96% (A) a 30% (A) de 0 a 30 minutos a 40 C° com fluxo de 1 mL/min utilizando como fase móvel água ultrapura acidificada a 0,3% com ácido acético (A) e metanol grau HPLC (Sigma-Aldrich®) (B) com detecção completa entre 190-400nm.

### **Atividades antioxidantes**

#### **Sequestro de radicais livres pelo DPPH**

Neste ensaio, a atividade sequestradora de radicais livres dos extratos foi medida em termos de doação de hidrogênio usando o radical estável 2,2-difenil1-picrilhidrazil (DPPH)<sup>[18]</sup>. Foi misturado 250 µL da solução de DPPH (1 mM) em 40 µL de diferentes concentrações dos extratos (31,25; 62,5; 125; 250; 500 e 1000 µg/mL). Após 25 minutos foi medida a absorbância à 517 nm. A eliminação de radicais de DPPH pelos extratos foi calculada pela fórmula: SRL [DPPH] (%) = [(Aa–Ac)/Ac] x 100.

Onde: SRL = sequestro de radicais livres, Aa = Absorbância da amostra e Ac = Absorbância do controle.

### ***Inibição do radical ABTS***

O método do ABTS (2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate) foi realizado com base em Re et al<sup>[19]</sup>, com algumas modificações. Uma solução com o radical ABTS foi preparada (7 nM de ABTS; 2,45 mM de persulfato de potássio), e deixada em repouso por 16 horas, antes da sua utilização. 10 µL de diferentes concentrações dos extratos (31,25; 62,5; 125; 250; 500 e 1000 µg/mL) foram adicionados a 1 mL da solução de trabalho, e a leitura foi realizada em espectrofotômetro a 734 nm, exatamente após 6 minutos de reação. A porcentagem de inibição foi calculada através da equação: Inibição do ABTS (%) =  $[(Ac - Aa) / Ac] \times 100$ . Onde: Ac = Absorbância do controle e Aa = Absorbância da amostra.

### ***Teste de sequestro de íons superóxido (O<sub>2</sub><sup>-</sup>)***

Esse teste foi realizado baseado em Dasgupta<sup>[20]</sup> com algumas modificações. Uma alíquota de 200 µL de amostra foi misturada a 200 µL de tampão fosfato (50 mM, pH 7,4), 200 µL de metionina (65 mM), 200 µL de uma solução de EDTA (0,5 mM), 200 µL de Nitrotetrazolium Blue chloride (NBT) (0,375 mM) e 200 µL de riboflavina (0,5 mM). As amostras controle foram preparadas substituindo 200 µL da amostra teste por 200 µL de tampão fosfato (50 mM, pH 7,4). Após incubação sob luz fluorescente por 15 minutos, a absorbância foi lida a 560 nm contra um branco. A atividade sequestradora de radicais (%) foi calculada através da seguinte equação: %I =  $[(A_{controle} - A_{amostra}) / A_{controle}] \times 100$ .

### ***Capacidade antioxidante total (CAT)***

100 µL de cada amostra foram adicionados a 1 mL da solução de fosfomolibdênio (600 mM de ácido sulfúrico, 28 mM de fosfato de sódio e 4 mM de molibdato de amônio), e posteriormente incubados em banho-maria a 95 °C por 90 minutos. Após voltarem a temperatura ambiente, as absorbâncias das amostras foram medidas a 695 nm<sup>[21]</sup>. A capacidade antioxidante total foi expressa em relação ao ácido ascórbico e calculada pela fórmula: CAT (%) =  $[(Aa - Ac) / (Aaa - Ac)] \times 100$ , onde: Ac = Absorbância do controle, Aa = Absorbância da amostra e Aaa = Absorbância do ácido ascórbico.

### ***Atividade antibacteriana***

Foi avaliada a atividade antimicrobiana dos extratos contra as bactérias gram-positivas: *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, e a gram-negativa *Escherichia coli* ATCC 25922.

### ***Preparação do inóculo***

As cepas bacterianas foram cultivadas em ágar Mueller Hinton. Após o período de incubação, colônias de cada estirpe foram transferidas assepticamente para solução salina estéril (0,8% NaCl). A turbidez das soluções foi padronizada utilizando a escala de Mac Farland ( $10^6$  CFU / mL).

### ***Concentração Inibitória Mínima (CIM)***

Foi realizado o método de microdiluição para determinar a concentração inibitória mínima utilizando microplacas de 96 poços. Foram adicionados 100  $\mu$ L de meio de cultura Mueller Hinton (MHB), 10  $\mu$ L de inóculo contendo  $10^6$  UFC / mL de cada cepa e os extratos em diferentes concentrações. As placas foram incubadas num agitador rotativo a 150 rpm a 37°C durante 48 h. Posteriormente, 10 mL de resazurina 0,001% foi adicionado, e as placas foram incubadas por 6 horas. O crescimento foi indicado por mudanças de cor de roxo para rosa (ou incolor) e a menor concentração em que a mudança de cor ocorreu foi tomada como a CIM. Como controle positivo, foi utilizado o antibiótico tetraciclina. O ensaio foi realizado em triplicata de acordo com os padrões do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI 2018).

### ***Concentração Bactericida Mínima (CBM)***

Para determinação da concentração bactericida mínima, alíquotas das microplacas do ensaio CIM foram transferidas para placas de Petri contendo ágar Mueller Hinton (MHA) e incubadas a 37° C por 48 horas. A CBM foi considerada a concentração mais baixa a partir da qual não se observou crescimento microbiano após a cultura. Como controle positivo, foi utilizado o antibiótico tetraciclina. O ensaio foi realizado em triplicata de acordo com os padrões do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2018).

### ***Avaliação de citotoxicidade***

#### ***Cultura celular***

As linhagens celulares utilizadas neste estudo foram MCF-7 (adenocarcinoma da mama), HL-60 (leucemia promielocítica) e HaCaT (queratinócitos humanos não tumorais). Todas foram cultivadas em meio RPMI 1640 (Gibco BRL) contendo 10% de soro bovino fetal (FBS), penicilina a 1% (100 UI / mL) e estreptomicina (100  $\mu$ g / mL) a 37° C em incubadora umidificada com 5% de CO<sub>2</sub>.

#### ***Análise de proliferação celular***

A proliferação celular foi testada pelo método de redução do tetrazólio (MTT). As células em fase de crescimento exponencial ( $5 \times 10^5$  células / mL, 100  $\mu$ L / poço) foram semeadas em placas de 96 poços

e incubadas *overnight*. Após adesão das células nas placas, alíquotas dos extratos em diferentes concentrações a partir de 2mg/mL foram adicionadas e incubadas por 48h. Então, o sobrenadante foi removido e as células foram lavadas três vezes com PBS. A droga doxorubicina foi usada como padrão. 200 mL de meio fresco contendo 0,5 mg / mL de MTT foram adicionados a cada poço, seguido de incubação por 4h a 37 °C. Após esse período, o sobrenadante foi descartado e 150 µL de DMSO foram adicionados para dissolver os cristais de formazan. A absorbância foi medida a um comprimento de onda de 560 nm<sup>[22]</sup>. Os experimentos foram realizados em quadruplicata e a Concentração de Inibição 50 (IC<sub>50</sub>) foi calculada usando o GraphPad Prism 7.0, empregando-se a curva de regressão não linear.

### **Atividade hemolítica**

A atividade hemolítica foi realizada seguindo a metodologia de Almaaytah et al<sup>[23]</sup>. Eritrócitos humanos foram isolados por centrifugação a 1500 rpm por 10 min. O plasma foi removido e os eritrócitos foram lavados três vezes com tampão fosfato-salina (PBS 0,9%; pH 7,4). Uma alíquota de 1100 µL de suspensão de eritrócitos foi misturada a 400µL dos extratos em diferentes concentrações (100, 500, 250 e 125 mg/mL). Os controles negativo e positivo receberam 400 µL de salina e Triton X-100, respectivamente. Após 60 minutos de incubação à 37° C, as amostras foram centrifugadas a 1500 rpm por 10 min e foi lida a absorbância do sobrenadante a 540 nm. A atividade hemolítica foi expressa em relação à ação do Triton X-100 e calculada pela seguinte fórmula: Atividade hemolítica (%) = [ (As – Ab) / (Ac – Ab) ] x 100, onde: As = absorbância na presença de extrato, Ab = absorbância do controle negativo, e Ac = absorbância do controle positivo.

### **Análises estatísticas**

Todos os testes antioxidantes foram executados em triplicada, e calculados a média e o desvio padrão. A porcentagem de inibição x log da concentração (IC<sub>50</sub>) foram calculados a partir da regressão não linear no programa *GraphPad Prism 5.0*, onde também foram produzidos os gráficos e as análises de significância (p < 0,05).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **Perfil fitoquímico**

Os compostos fenólicos estão amplamente distribuídos em plantas e são considerados importantes antioxidantes naturais pela sua habilidade em eliminar radicais livres, trazendo benefícios a saúde. Além disso, desempenham outras funções como defesa contra microrganismos, raios ultravioleta e ataque de predadores, bem como conferem pigmentação

aos vegetais<sup>[24,25]</sup>. Os fenóis e flavonoides totais foram dosados em todos os extratos e expressos em equivalente de ácido gálico (EAG) e equivalente de quercetina (EQ), respectivamente (Tabela 2).

**Tabela 2:** Resultados das dosagens fitoquímicas dos extratos das folhas de *A. oncocalyx*, *C. ferrea* e *T. impetiginosa*, e das cascas de *B. forficata*, *H. courbaril* e *M. tenella*.

Extratos	Compostos fenólicos (mg EAG/g de extrato)	Flavonoides totais (mg EQ/g de extrato)
<i>A. oncocalyx</i>	216,75 ± 3,22	1,82 ± 0,38
<i>B. forficata</i>	416,69 ± 6,55	5,75 ± 1,21
<i>C. ferrea</i>	286,42 ± 3,70	2,19 ± 0,59
<i>H. courbaril</i>	520,09 ± 4,12	1,55 ± 0,19
<i>M. tenella</i>	435,95 ± 2,73	-
<i>T. impetiginosa</i>	32,78 ± 2,81	0,98 ± 0,21

**Legenda:** EAG: Equivalente de ácido gálico; EQ: Equivalente de quercetina.

O extrato que apresentou maior teor de fenóis totais foi o das cascas de *H. courbaril*, entretanto, Rocha et al<sup>[26]</sup> verificaram um teor menor destes metabólitos no extrato aquoso do fruto dessa espécie, o que sugere uma distribuição diferente destes compostos entre as partes da planta. O extrato das cascas de *M. tenella* também apresentou alto teor de compostos fenólicos como já foi observado em outras espécies do gênero<sup>[27]</sup>.

Os flavonoides são a subclasse de compostos fenólicos mais estudada, e normalmente esses metabólitos são encontrados nas plantas na forma conjugada com açúcares<sup>[28]</sup>. A maior concentração de flavonoides foi observada no extrato de *B. forficata*, sendo o acúmulo destes metabólitos uma característica das plantas do gênero *Bauhinia*<sup>[29]</sup>. Também já foram observados açúcares redutores e outros fenóis no extrato etanoico das cascas dessa espécie<sup>[30]</sup>. Além disso, alguns compostos fenólicos também já foram verificados em frações solúveis de *A. oncocalyx*<sup>[31]</sup>, no extrato de frutos de *C. ferrea*<sup>[32]</sup> e no extrato etanólico de *T. impetiginosa*<sup>[33]</sup>.

Através da cromatografia em camada delgada foi possível identificar quais principais classes de metabólitos secundários estão presentes nos extratos estudados (Tabela 3).

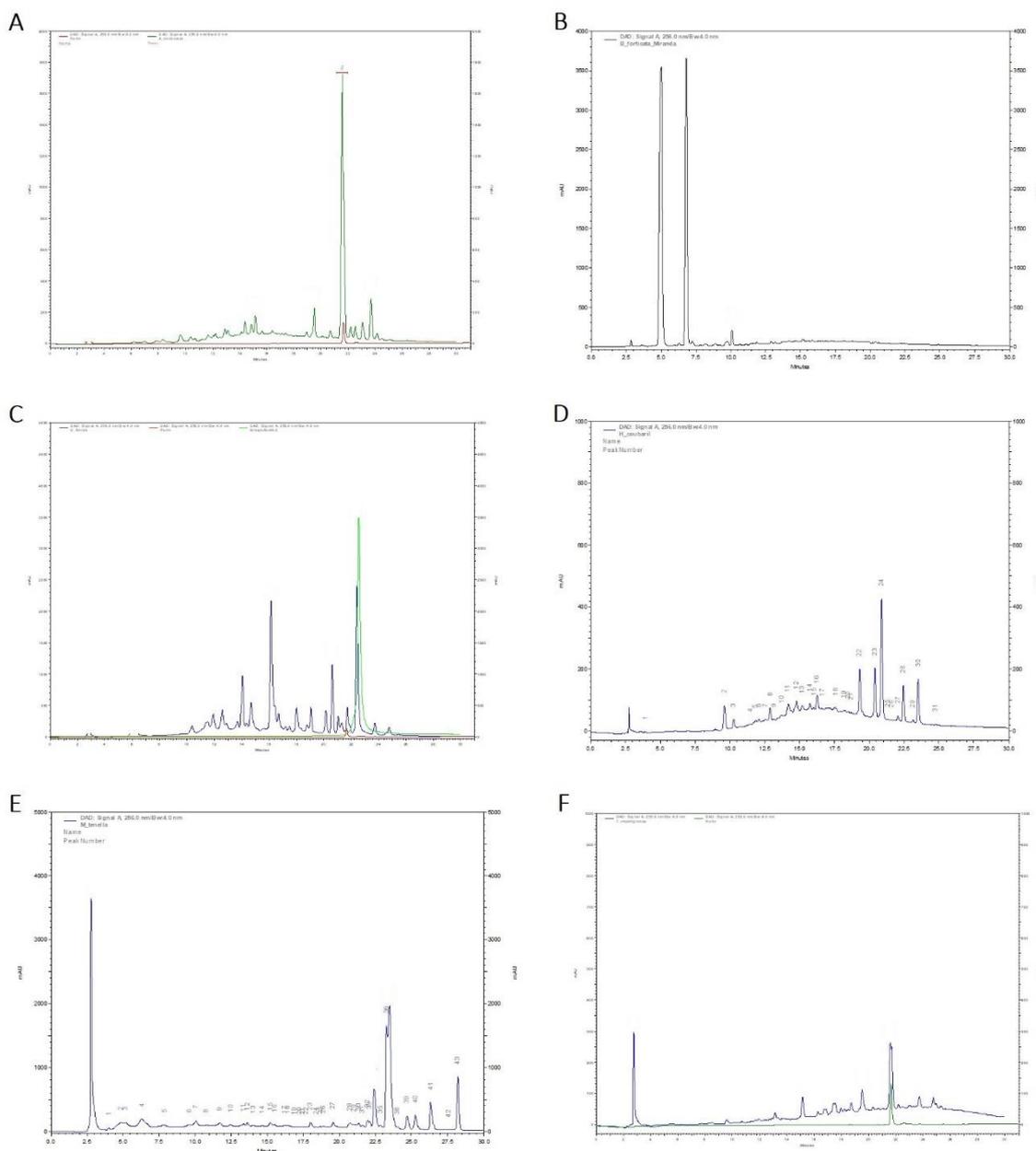
**Tabela 3:** Resultado do perfil fitoquímico dos extratos das folhas de *A. oncocalyx*, *C. ferrea* e *T. impetiginosa*, e das cascas de *B. forficata*, *H. courbaril* e *M. tenella* realizado por cromatografia em camada delgada (CCD).

Classe de metabólitos secundários	<i>A. oncocalyx</i>	<i>B. forficata</i>	<i>C. ferrea</i>	<i>H. courbaril</i>	<i>M. tenella</i>	<i>T. impetiginosa</i>
Taninos hidrolisáveis	+	-	+	+	-	-
Taninos condensados	+	-	+	+	-	-
Flavonoides	+	+	+	+	-	+
Derivados cinâmicos	-	-	-	-	+	-
Terpenos e Esteroides	-	-	-	-	+	+
Cumarinas	-	-	-	-	-	-
Saponinas	-	-	+	-	-	+
Antraquinonas	-	-	-	-	-	-
Açúcares redutores	+	+	+	+	+	+
Alcaloides	-	-	-	-	-	-

**Legenda:** (+) presença; (-) ausência.

Além da presença de compostos fenólicos, observou-se terpenos como constituintes do extrato de *M. tenella* e saponinas no extrato de *C. ferrea*, ambos metabólitos também foram encontrados no extrato de *T. impetiginosa*. Os terpenos são metabólitos voláteis encontrados nos óleos essenciais e possuem várias atividades já descritas, como antioxidante<sup>[34]</sup>, inseticida<sup>[35]</sup> e antimicrobiana<sup>[36]</sup>. Essa última propriedade pode estar relacionada a uma possível ruptura de compostos lipofílicos da membrana dos microrganismos pelos terpenos<sup>[37]</sup>. As saponinas, por sua vez, são substâncias com propriedades detergentes e emulsificantes que apresentam inúmeras atividades biológicas, tais como antibacteriana e antifúngica devido a interações com a membrana celular<sup>[38]</sup>, e analgésica e anti-inflamatória por interferirem no metabolismo de mediadores inflamatórios<sup>[39]</sup>.

Todos os extratos foram submetidos a cromatografia líquida de alta eficiência para identificação através do tempo de retenção e da UV de compostos padrões. Para isso, os padrões utilizados foram: ácido gálico, ácido caféico, ácido p-cumárico, ácido elágico, rutina e quercetina. São observados nos cromatogramas a seguir os picos que representam os compostos majoritários desses extratos (Figura 1).



**Figura 1:** Cromatogramas gerados a partir da corrida cromatográfica dos extratos das folhas de *A. oncoalyx* (A), *C. ferrea* (C) e *T. impetiginosa* (F) e das cascas de *B. forficata* (B), *H. courbaril* (D) e *M. tenella* (E).

O composto majoritário identificado nos extratos de *A. oncoalyx* e *T. impetiginosa* foi a rutina (Figuras 1a e 1f), um flavonoide da subclasse dos flavonóis largamente distribuída nos vegetais, que possui grande importância terapêutica por apresentar atividades antioxidante, anti-inflamatória, dentre outras<sup>[40,41]</sup>. Nos extratos de *C. ferrea* e *M. tenella*, o ácido elágico foi identificado como composto majoritário (Figuras 1c e 1e). Este trata-se de um polifenol, também encontrado em diversas plantas, com um potencial antioxidante considerável e que pode ser atribuído tanto à sua capacidade de sequestro do radical hidroxila ( $\text{OH}\cdot$ ) quanto a de

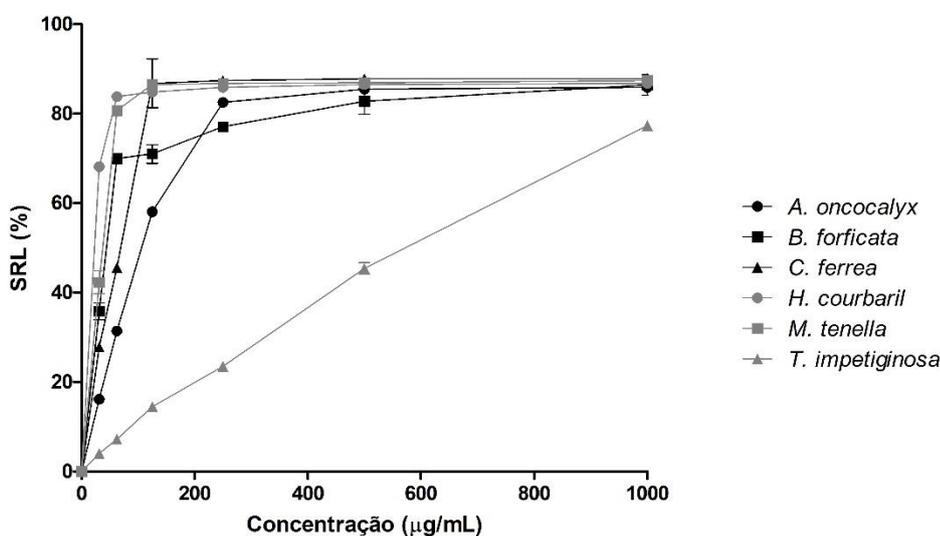
ligação a íons metálicos<sup>[42,43]</sup>. O pico majoritário do extrato de *B. forficata* (Figura 1b), apesar de não identificado, possui espectro de UV característico da família da Astilbina (flavonol)<sup>[44]</sup>.

### Atividades antioxidantes

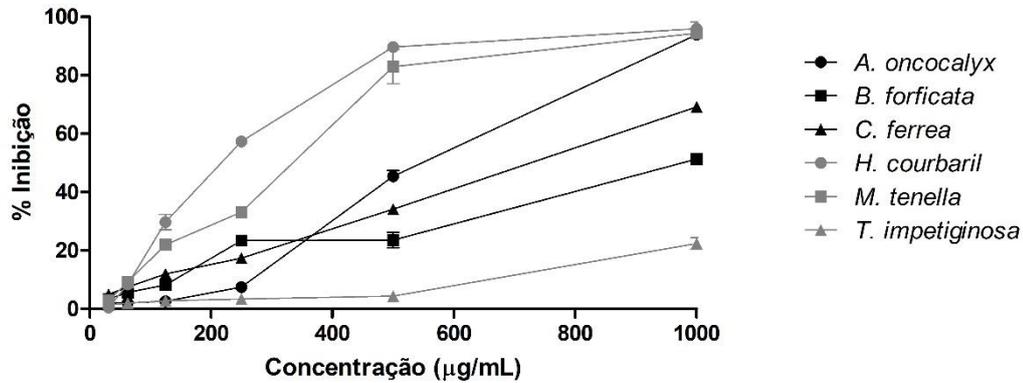
Para análise do potencial antioxidante *in vitro*, os extratos foram testados por diferentes métodos. Os ensaios de sequestro dos radicais DPPH•, ABTS•<sup>+</sup> e do ânion superóxido (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>), que consistem em metodologias colorimétricas simples, foram executados. Esses testes têm como princípio a capacidade de um agente antioxidante de reduzir os radicais livres presentes no meio<sup>[45]</sup>.

Observa-se a redução do DPPH•, na sua reação com um doador de hidrogênio, através da modificação da cor violeta desse composto. A diminuição da absorbância é diretamente proporcional à concentração do composto antioxidante<sup>[46]</sup>. No ensaio de inibição do radical ABTS•<sup>+</sup>, observa-se a sua redução pelos antioxidantes através da modificação da cor do meio de azul para amarelo em um máximo de absorbância de 734 nm<sup>[19]</sup>. Já o ensaio da capacidade sequestradora do ânion superóxido (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>) pode ser realizado utilizando o sistema metionina-EDTA-NBT-riboflavina. Na reação este radical é produzido, e o mesmo reduz o NBT a formazan em temperatura ambiente e pH 7,4, modificando a coloração de amarelo-pálida para púrpura. Essa mudança pode ser observada por espectrofotometria a 560nm. Na presença de agentes antioxidantes, estes reagem com o O<sub>2</sub><sup>•-</sup> impedindo a formação de formazan<sup>[47]</sup>.

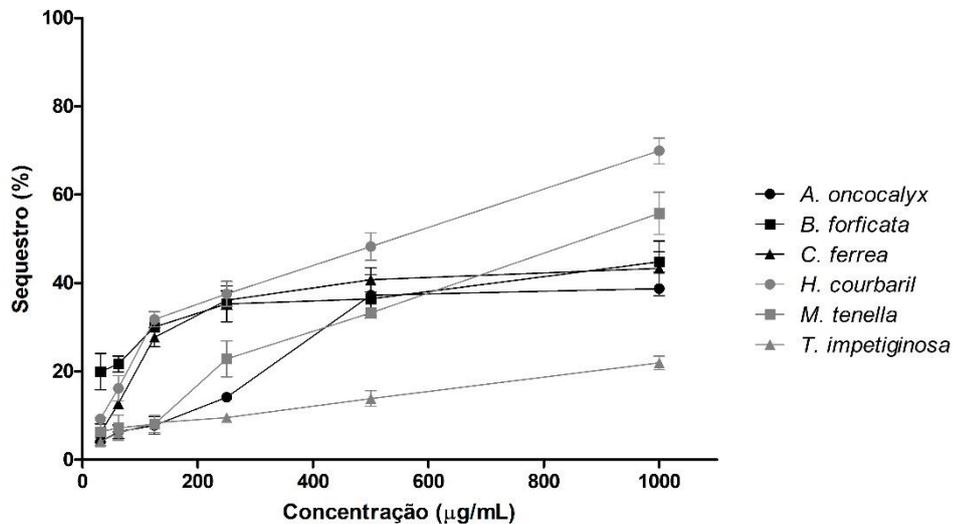
As figuras 2, 3 e 4, mostram os resultados em percentual de sequestro do DPPH, do ABTS e do ânion superóxido (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>), respectivamente.



**Figura 2:** Percentual de sequestro de radicais livres pelo método do DPPH em função do aumento da concentração dos extratos das folhas de *A. oncocalyx*, *C. ferrea* e *T. impetiginosa* e das cascas de *B. forficata*, *H. courbaril* e *M. tenella*. SRL: Sequestro de radicais livres.



**Figura 3:** Percentual de inibição do radical ABTS em função do aumento da concentração dos extratos das folhas de *A. oncocalyx*, *C. ferrea* e *T. impetiginosa* e das cascas de *B. forficata*, *H. courbaril* e *M. tenella*.

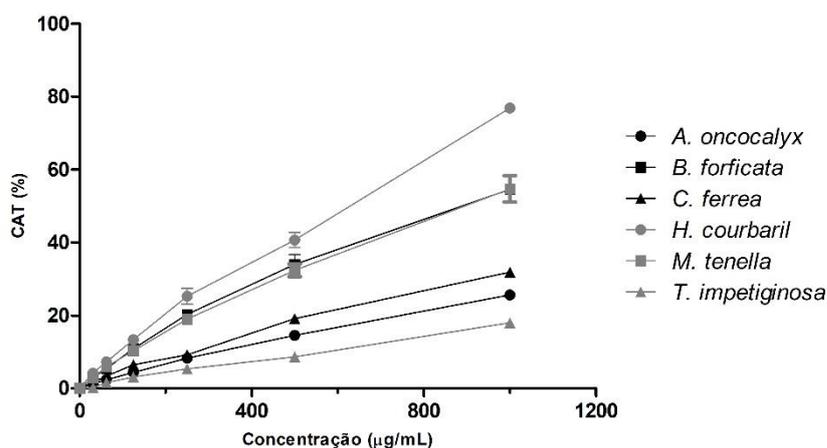


**Figura 4:** Percentual de sequestro do ânion superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ), em função do aumento da concentração dos extratos das folhas de *A. oncocalyx*, *C. ferrea* e *T. impetiginosa* e das cascas de *B. forficata*, *H. courbaril* e *M. tenella*.

Todos os extratos testados apresentaram altos níveis de sequestro do radical DPPH. Os extratos de *H. courbaril* e *M. tenella* apresentaram atividade superior aos demais, estando relacionada à sua alta concentração de fenóis. Além disso, nos métodos do ABTS e do ânion superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ), os resultados mais consideráveis também foram verificados por estes dois extratos. A estrutura química dos flavonoides e demais compostos fenólicos é determinante para sua atividade antioxidante, que pode ser realizada por vários mecanismos, como a

neutralização de radicais livres através da doação de átomos de hidrogênio, com sinergismo de outros antioxidantes como as vitaminas E e C. Além disso, alguns flavonoides podem interferir na formação de radicais livres através da sua atividade quelante de ferro e pela estimulação de enzimas com atividade antioxidante como a catalase e a superóxido-dismutase<sup>[48,49]</sup>.

A capacidade antioxidante total (CAT) é um método baseado na redução de íons metálicos que determina quantitativamente o potencial antioxidante de uma amostra através da formação de um complexo de fosfomolibdênio. Neste processo observa-se a redução de Mo (VI) a Mo (V) com a modificação da coloração do meio de amarelo para verde em função do pH<sup>[50]</sup>. Neste ensaio, o extrato aquoso de *H. courbaril* apresentou a melhor atividade em relação aos demais extratos (Figura 5). A alta capacidade antioxidante dos compostos fenólicos está associada à prevenção de doenças neurodegenerativas e cardiovasculares, do câncer, entre outras<sup>[51]</sup>.



**Figura 5:** Percentual da capacidade antioxidante total (CAT) em função do aumento da concentração dos extratos das folhas de *A. oncocalyx*, *C. ferrea* e *T. impetiginosa* e das cascas de *B. forficata*, *H. courbaril* e *M. tenella*.

Quanto menor o valor de IC<sub>50</sub> de um teste maior é a capacidade antioxidante do composto. Observou-se que alguns extratos se mostraram mais eficazes, em alguns métodos, que o padrão Trolox (Tabela 4).

**Tabela 4:** Resultados das atividades antioxidantes dos extratos das folhas de *A. onocalyx*, *C. ferrea* e *T. impetiginosa*, das cascas de *B. forficata*, *H. courbaril* e *M. tenella*, e do padrão Trolox, expressos em IC<sub>50</sub>.

Amostras	DPPH IC <sub>50</sub> (µg/mL)	ABTS IC <sub>50</sub> (µg/mL)	CAT IC <sub>50</sub> (µg/mL)	O <sub>2</sub> <sup>-</sup> IC <sub>50</sub> (µg/mL)
<i>A. onocalyx</i>	102,8 (91,33 a 115,5)	519,4 (505,3 a 533,9)	>1000	>1000
<i>B. forficata</i>	39,83 (27,69 a 57,28)	>1000	763,8 (698,4 a 835,4)	>1000
<i>C. ferrea</i>	59,73 (49,86 a 71,54)	663,8 (597,0 a 738,2)	>1000	>1000
<i>H. courbaril</i>	1,62 (0,32 a 8,11)	201,7 (192,1 a 211,7)	466,2 (400,5 a 542,7)	431,9 (376,6 a 495,4)
<i>M. tenella</i>	30,53 (21,30 a 43,76)	286,1 (254,2 a 322,0)	775,2 (684,0 a 878,5)	855,3 (746,1 a 980,5)
<i>T. impetiginosa</i>	511,0 (473,1 a 551,9)	>1000	>1000	>1000
Trolox	690,1 (634,4 a 750,8)	773,4 (665,4 a 899,0)	-	404,0 (359,6 a 453,9)

### Atividade antibacteriana

As principais classes de antibióticos encontram nos estudos acerca dos produtos naturais um ponto de partida para o seu desenvolvimento, como é o caso da daptomicina, um antibiótico obtido a partir da fermentação do *Streptomyces pristinaspiralis*<sup>[51]</sup>. Isso mostra a importância da busca de novos antimicrobianos por fontes naturais.

Existem inúmeros ensaios para a determinação da atividade antibacteriana de extratos vegetais, a Concentração Inibitória Mínima (CIM) é um desses e verifica a menor concentração de um composto necessária para inibir o crescimento de um determinado organismo após um período de incubação, em média 24 horas<sup>[53,54]</sup>.

Nesse sentido, todos os extratos foram testados contra quatro espécies bacterianas: *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Listeria monocytogenes*. O extrato de *B. forficata* apresentou a maior atividade antibacteriana, com resultados superiores ao antibiótico tetraciclina. Além disso, os extratos de *C. ferrea* e *H. courbaril* também mostraram resultados consideráveis (Tabela 5).

**Tabela 5:** Resultados da concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM) dos extratos das folhas de *A. oncocalyx*, *C. ferrea* e *T. impetiginosa*, e das cascas de *B. forficata*, *H. courbaril* e *M. tenella* contra diferentes cepas bacterianas.

Amostras	<i>S. epidermidis</i>		<i>S. aureus</i>		<i>E. coli</i>		<i>L. monocytogenes</i>	
	ATCC 14990		ATCC 25923		ATCC 25922		ATCC 7644	
	CIM (µg/mL)	CBM (µg/mL)	CIM (µg/mL)	CBM (µg/mL)	CIM (µg/mL)	CBM (µg/mL)	CIM (µg/mL)	CBM (µg/mL)
<i>A. oncocalyx</i>	128	256	512	104	32	64	16	32
<i>B. forficata</i>	1	2	1	2	0,5	1	4	8
<i>C. ferrea</i>	64	128	128	256	1	2	8	16
<i>H. courbaril</i>	16	32	8	16	4	8	2	4
<i>M. tenella</i>	64	128	8	16	-	-	-	-
<i>T. impetiginosa</i>	-	-	-	-	128	256	32	64
Tetraciclina	2	4	2	4	0.5	1	1	2

Sabe-se que há uma grande quantidade de flavonoides e outros fenóis no extrato das cascas de *B. forficata* e que estes metabólitos apresentam toxicidade para os microrganismos. Isso se deve à inibição enzimática, ao rompimento da parede celular, ou a possíveis interações com proteínas envolvidas no metabolismo bacteriano<sup>[55,56]</sup>. Rocha et al<sup>[26]</sup> observaram uma atividade antimicrobiana no extrato das folhas dessa espécie em uma concentração superior, sugerindo que as cascas apresentam melhor potencial antimicrobiano. A distribuição de metabólitos se dá de maneira diversa entre as partes da planta, e fatores como temperatura, disponibilidade hídrica e radiação ultravioleta coordenam a taxa de produção dessas moléculas<sup>[57]</sup>.

A espécie *H. courbaril*, que tem suas atividades antifúngicas e vermífugas já descritas<sup>[58]</sup> também já apresentou atividade antimicrobiana contra isolados de *Proteus mirabilis*<sup>[59]</sup>, o que corrobora com os dados observados nesse estudo. Esse resultado possivelmente está relacionado ao alto teor de compostos fenólicos encontrado nos extratos das cascas de *H. courbaril*, uma vez que estes metabólitos possuem propriedades antimicrobianas<sup>[60]</sup>.

Thomaz<sup>[61]</sup> observou uma atividade antibacteriana dos extratos dos frutos de *C. ferrea* contra *S. Aureus*, *Klebsiella sp.*, *Bacillus sp.*, *Streptococcus sp.* e *Corynebacterium sp.*, e Magalhães et al<sup>[62]</sup> também verificaram essa atividade nos extratos glicólicos das folhas dessa espécie contra *S. aureus*. Essa atividade pode estar relacionada à presença de saponinas no extrato estudado, uma vez que esses metabólitos apresentam propriedades detergentes e

emulsificantes que permitem a alteração de permeabilidade de membranas celulares ou até a sua destruição<sup>[63]</sup>.

### Atividade citotóxica

Ensaio de citotoxicidade consistem basicamente na análise dos efeitos tóxicos ou antiproliferativos de uma substância sobre células em cultura, que podem ser evidenciados por métodos colorimétricos. Esses testes são bastante relevantes para o desenvolvimento de produtos farmacêuticos, alimentícios e biológicos<sup>[64]</sup>. Nesse sentido, todos os extratos estudados foram submetidos ao teste de citotoxicidade pelo método MTT (Tabela 6), que consiste em verificar a mudança de coloração amarela do reagente MTT para púrpura indicando a redução desse composto a cristais de formazan, por redutases, quando há metabolismo celular ativo. Dessa maneira, a concentração de cristais formados é diretamente proporcional à concentração de células viáveis<sup>[65]</sup>.

**Tabela 6:** Efeito citotóxico dos extratos das folhas de *A. oncocalyx*, *C. ferrea* e *T. impetiginosa*, e das cascas de *B. forficata*, *H. courbaril* e *M. tenella*, e da doxorubicina contra células saudáveis e tumorais.

Linhagem celular	IC <sub>50</sub> (µg/mL)						Doxorrubicina
	<i>A. oncocalyx</i>	<i>B. forficata</i>	<i>C. ferrea</i>	<i>H. courbaril</i>	<i>M. tenella</i>	<i>T. impetiginosa</i>	
HaCaT	-	-	-	-	-	-	1,83
MCF-7	15,78	87,32	27,49	12,39	18,37	-	2,78
HL-60	42,89	123,13	32,16	6,01	8,38	-	3,67

**Legenda:** HaCaT (queratinócitos humanos não-tumorais); MCF-7 (adenocarcinoma de mama); HL-60 (leucemia Promielocítica).

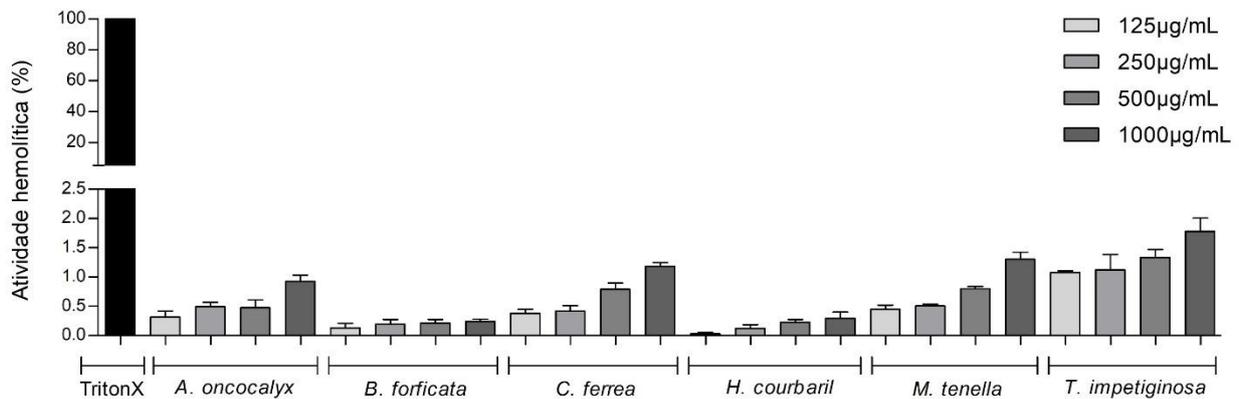
Nenhum dos extratos apresentou toxicidade para a linhagem de queratinócitos humanos não-tumorais (HaCaT) nas concentrações testadas. Em contrapartida, para as linhagens tumorais observou-se uma toxicidade moderada, principalmente promovida pelos extratos de *H. courbaril* e *M. tenella*, quando comparados ao fármaco doxorubicina.

Semelhantemente ao presente estudo, Figueiredo<sup>[66]</sup> observou uma atividade citotóxica do extrato de *H. courbaril* sobre células de melanoma murino. Esses achados podem estar relacionados à presença de fenóis como os taninos no extrato desta espécie, uma vez que essa classe de metabólitos pode ser tóxica devido à sua capacidade de complexação a íons metálicos como o Ferro e de ligação a proteínas<sup>[67]</sup>.

Este é o primeiro estudo acerca da propriedade citotóxica do extrato de *M. tenella*, entretanto, Leipelt<sup>[68]</sup> já constatou a citotoxicidade de um outro extrato do gênero *Myrciaria* sobre células de adenocarcinoma de próstata. Esses resultados possivelmente estão relacionados a presença de terpenos nessa espécie, uma vez que esses metabólitos podem apresentar atividade antimitótica e, por esse motivo, representam uma classe de moléculas de grande interesse científico<sup>[69]</sup>. Estudos que esclareçam a possível seletividade dos compostos à linhagem celular precisam ser realizados.

### Atividade hemolítica

O ensaio de atividade hemolítica consiste na avaliação da ruptura da membrana eritrocitária e morte celular através da liberação de hemoglobina para o meio. Dessa forma, é possível verificar possíveis danos que uma determinada substância pode promover a este tipo celular<sup>[70]</sup>. Alguns medicamentos e extratos de plantas são capazes de promover a ruptura da membrana eritrocitária<sup>[71]</sup>, entretanto, todos os extratos aquosos estudados demonstraram baixo grau de hemólise (Figura 6). Além disso, observou-se uma relação inversamente proporcional entre as atividades hemolítica e antioxidante, uma vez que o estresse oxidativo pode danificar a membrana eritrocitária<sup>[72]</sup>.



**Figura 6:** Atividade hemolítica em função do aumento da concentração dos extratos das folhas de *A. onocalyx*, *C. ferrea* e *T. impetiginosa* e das cascas de *B. forficata*, *H. courbaril* e *M. tenella*.

#### 4 CONCLUSÕES

- Foi verificada a presença de compostos fenólicos em todos os extratos estudados, com predominância de flavonoides e taninos. Além disso, alguns extratos apresentaram terpenos e saponinas na sua composição;
- Através da CLAE-DAD, a rutina foi identificada como composto majoritário dos extratos de *A. oncocalyx* e *T. impetiginosa*, e o ácido elágico dos extratos de *C. ferrea* e *M. tenella*;
- Todos os extratos apresentaram atividade antioxidante, com destaque para os de *B. forficata*, *M. tenella* e *H. courbaril*, possivelmente estando relacionado ao seu alto teor de compostos fenólicos;
- O extrato de *B. forficata* apresentou acentuada atividade antimicrobiana, seguido dos extratos de *C. ferrea* e *H. courbaril*, esses achados possivelmente estão associados à presença de metabólitos como os flavonoides e as saponinas;
- Os extratos não apresentaram toxicidade na linhagem de células saudáveis (HaCaT), nas concentrações testadas, e revelaram um baixo grau de hemólise, sugerindo segurança na sua utilização;
- Moderada toxicidade foi observada na linhagem de células tumorais (MCF-7 e HL-60), principalmente promovida pelos extratos de *M. tenella* e *H. courbaril*;
- O presente estudo forneceu dados que contribuem para o conhecimento acerca de espécies de plantas medicinais presentes no Parque Nacional do Catimbau, Pernambuco - Brasil.

## REFERÊNCIAS

- ADORJAN, B.; BUCHBAUER, G. Biological properties of essential oils: an updated review. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 25, n.6, p. 407- 426, 2010.
- AHMED, F.; RAHMAN, M. S. Preliminary assessment of free radical scavenging, thrombolytic and membrane stabilizing capabilities of organic fractions of *Callistemon citrinus* (Curtis.) skeels leaves. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 16, n. 1, p. 247, 2016.
- ALCANTARA, S., REE, R., MARTINS, F. & LOHMANN, L.G. The Effect of Phylogeny, Environment and Morphology on Communities of a Lianescent Clade (Bignoniaceae-Bignoniaceae) in Neotropical Biomes. **PLoS One**, v. 9(3): E90177, 2014.
- ALEKSIC, V.; KNEZEVIC, P. Antimicrobial and antioxidative activity of extracts and essential oils of *Myrtus communis* L. **Microbiological Research**, v. 169, n. 4, p. 240-254, 2014.
- ALMAAYTAH, A.; TARAZI, S.; ALSHEYAB, F.; AL-BALAS, Q.; MUKATTASH, T. Antimicrobial and Antibiofilm Activity of Mauriporin, a Multifunctional Scorpion Venom Peptide. **Int J Pept Res Ther**, v. 20, n. 4, p. 397-408, 2014.
- ALMEIDA, C. F. C. B. R.; LIMA E SILVA, T. C.; DE AMORIM, E. L. C.; MAIA, M. B. S.; ALBUQUERQUE, U. P. Life strategy and chemical composition as predictors of the selection of medicinal plants from the caatinga (Northeast Brazil). **J Arid Environ**, v. 62, p. 127-142, 2005.
- ALVARENGA, A. L.; SCHWAN, R.F.; DIAS, D.R.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.4; BRAVO-MARTINS, C.E.C. Atividade antimicrobiana de extratos vegetais sobre bactérias patogênicas humanas. **Rev. Bras. Pl. Med**, v.9, n.4, p.86-91, 2007.
- ALVES, E. G.; VINHOLIS, A. H. C.; CASEMIRO, L. A.; FURTADO, N. A. J. C.; SILVA, M. L. A.; CUNHA, W. R.; MARTINS, C. H. G. Estudo comparativo de técnicas de *screening* para avaliação da atividade antibacteriana de extratos brutos de espécies vegetais e de substâncias puras. **Quím Nova**, v. 31, n. 5, p. 1224-9, 2008.
- ALVES, C. Q.; BRANDÃO, H. N.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P.; LIMA, L. S. Avaliação da atividade antioxidante de flavonoides. **Diálogos e Ciência**. v. 12, n. 3, p. 1-8, 2007.
- ALVES, C. Q.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P.; BAHIA, M. V.; AGUIAR, R. M. Métodos para determinação de atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos. **Quim. Nova**, v. 33, n. 10, p. 2202-2210, 2010.
- ALVES, H. M. A diversidade química das plantas como fonte de fitofármacos. **Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola**, v. 3, p. 10-15. 2001.
- AMORIM, B. S, ALVES M. Flora da Usina São José, Igarassu, Pernambuco: Myrtaceae. **Rodriguésia**, v. 62(3), p. 499-514, 2011.
- ANDREO, D; JORGE, N. Antioxidantes Naturais: Técnicas de Extração. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, vol. 24, n. 2, p. 319-336, 2006.

ANGELO, P.M, JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, vol.66, n.1, p. 232-240, 2007.

APEL, M. A., LIMA, M. E. L., SOBRAL, M., YOUNG, M. C. M., CORDEIRO, I., SCHAPOVAL, E. E. S., HENRIQUES, A. T., MORENO, P. R. H. Anti-inflammatory activity of essential oil from leaves of *Myrciaria tenella* and *Calycorectes sellowianus*. **Pharmaceutical Biology**, v. 48(4), p. 433–438, 2010.

ASAMIZU, S. Biosynthesis of nitrogen-containing natural products, C7N aminocyclitols and bis-indoles, from actinomycetes. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, p. 1-11, 2017.

ATHIÊ-SOUZA, S. M., MELO, J. I. M., SILVA, L. P., SANTOS, L. L., SANTOS, J. S., OLIVEIRA, L. S. D. SALES, M. F. Phanerogamic flora of the Catimbau National Park, Pernambuco, Brazil. **Biota Neotropica**. n. 19, v.1, 2019.

AZEVEDO, R. R. S.; ALMEIDA, V. G. A.; SILVA, E. M. F.; SILVA, A. L.; GOMES, N. R. S.; MATIAS, T. M. S.; SOUZA, L. I. O.; SANTOS, A. F. Potencial antioxidante e antibacteriano do extrato etanólico de plantas usadas como chás. **Revista Semente**, v. 6, n. 6, 2013.

AZMIR, J.; ZAIDUL, I.S.M.; RAHMAN, M.M.; SHARIF, K.M.; MOHAMED, A.; SAHENA, F.; JAHURUL, M.H.A.; GHAFUOR, K.; NORULAINI, N.A.N.; OMAR, A.K.M. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. **Journal of Food Engineering**, v. 117, n. 4, p. 426-436, 2013.

BAKAR, A. A.; SULAIMAN, S.; OMAR, B.; ALI, R. M. Evaluation of *Melaleuca cajuputi* (Family: Myrtaceae) Essential Oil in Aerosol Spray Cans against Dengue Vectors in Low Cost Housing Flats. **J Arthropod-Borne Dis**, v. 6, n. 1, p. 28, 2012.

BARBOSA, A. V. Caracterização química e atividade antimicrobiana e antioxidante de óleos essenciais de plantas da mata atlântica. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Pernambuco. **Centro de Biociências**, Recife, Pernambuco, 2017.

BARBOSA, K. B. F.; COSTA, N. M. B.; ALFENAS, R. C. G.; DE PAULA, S. O.; MINIM, V. P. R.; BRESSAN, J. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Rev Nutr**. v. 23, n. 4, p. 629-643, 2010.

BARROSO, G. M. Sistemática de angiospermas do Brasil. São Paulo, EDUSP, 56-58, 1986.

BASSO, L. A.; DA SILVA, L. H.; FETT-NETO, A. G.; DE AZEVEDO JR, W. F.; MOREIRA, I.; PALMA, M. S.; CALIXTO, J. B.; ASTOLFI FILHO, S.; DOS SANTOS, R. R.; SOARES, M. B.; SANTOS, D. S. The use of biodiversity as source of new chemical entities against defined molecular targets for treatment of malaria, tuberculosis, and T-cell mediated diseases. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. v. 100, p. 475–506, 2005.

BECHO, J. R. M.; MACHADO, H.; GUERRA, M. O. Rutina – estrutura, metabolismo e potencial farmacológico. **Revista Interdisciplinar de Estudos Experimentais**, v. 1, n. 1, p. 21-25, 2009.

BECKER, K.; HU, Y.; BILLER-ANDORNO, N. Infectious diseases: a global challenge. **Int J Med Microbiol**, v. 296, n. 4/5, p. 179-85, 2006.

- BERGER, B. B., MCCALLUM, N. State of the knowledge of bacterial resistance. **Injury**, v. 37, n. 2, p. 20-25, 2006.
- BEZERRA, D. A. C. **Estudo fitoquímico, bromatológico e microbiológico de Mimosa tenuiflora (Wild) Poiret e Piptadenia stipulacea (Benth) Ducke**. Dissertação (Mestrado em Zootecnia Sistemas Agrossilvipastoris no Semi-Árido). Patos, PB: Universidade Federal de Campina Grande, p. 62, 2008.
- BLACK, J. G. **Microbiologia: fundamentos e perspectivas**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 829 p.
- BLIOS, M. S. Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical. **Nature**, v. 181, p. 1199-1200, 1958.
- BORGES, L. L.; LÚCIO, T. C.; GIL, E. S.; BARBOSA, E. F. Uma abordagem sobre métodos analíticos para determinação da atividade antioxidante em produtos naturais. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.7, n. 12, p. 1-20, 2011.
- BOSSOLAN, N. R. S. Introdução à Microbiologia. Apostila. **Universidade de São Paulo - Instituto de Física de São Carlos**. São Paulo, v. 3, p. 28-38, 2002.
- BRAGA, K. M. S. Atividade citotóxica do extrato etanólico da casca de pequi (*Caryocar brasiliense*) em células de osteossarcoma canino *in vitro*. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal de Goiás (UFG), **Goiânia**, 2016.
- BRANDÃO, M. G. L.; PAULA-SOUZA, J.; GRAEL, C. F. F.; SCALON, V.; SANTOS, A. C. P.; SALIMENHA, M. F.; MONTE-MOR, R. L. M. Biodiversidade, uso tradicional de plantas medicinais e produção de fitoterápicos em Minas Gerais. Belo Horizonte. **Anais do XIV Seminário de Economia Mineira**, p. 1-10, 2010.
- BRANDÃO, S. E.; BULBOVAS, P.; LIMA, M. E. L.; DOMINGOS, M. Biochemical leaf traits as indicators of tolerance potential in tree species from the Brazilian Atlantic Forest against oxidative environmental stressors. **Science Of The Total Environment**, v. 575, p. 406-417, 2017.
- BRASIL. MMA – Ministério do Meio Ambiente. **Avaliação e ações prioritárias para a conservação da biodiversidade da caatinga**. Brasília: Universidade Federal de Pernambuco, Conservation International, Fundação Biodiversitas. 2002.
- CAROCHO, M.; FERREIRA, I. C. F. R. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. **Food and Chemical Toxicology**, v. 51, p. 15-25, 2013.
- CARVALHO JUNIOR, A. R.; GOMES, G. A.; FERREIRA, R. O.; Carvalho, M. G. Constituintes químicos e atividade antioxidante de folhas e galhos de *Eugenia copacabanensis* Kiaersk (Myrtaceae). **Quim. Nova**, Vol. 37, No. 3, p. 477-482, 2014.
- CARVALHO, J.C.T., TEIXEIRA, J.R.M., SOUZA, P.J.C., BASTOS, J.K., SANTOS-FILHO, D., SARTI, S.J. Preliminary studies of analgesic and anti-inflammatory properties of *Caesalpinia ferrea* crude extract. **J. Ethnopharmacol**, v. 53, p. 175-178, 1996.

CARVALHO, P. E. R. Espécies arbóreas brasileiras. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Colombo: Embrapa Florestas, v. 2, 2008.

CASCAES, M. M.; GUILHON, G. M. S. P.; ANDRADE, E. H. A.; ZOGHBI, M. G. B.; SANTOS, L. S. Constituents and Pharmacological Activities of *Myrcia* (Myrtaceae): A Review of an Aromatic and Medicinal Group of Plants. **International journal of molecular sciences**, v. 16, n. 10, p. 23881-23904, 2015.

CERQUEIRA, F.M; MEDEIROS, M.H.G; AUGUSTO, O. Antioxidantes dietéticos: controvérsias e perspectivas. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 441-449, 2007.

CHARKRABORTY, A.; BRANTNER, A.; MUKAINAKA, T.; NOBUKUNI, Y.; KUCHIDE, M.; KONOSHIMA, T.; TOKUDA, H.; NISHINO, H. Cancer chemopreventive activity of *Achyranthes aspera* leaves on Epstein–Barr virus activation and two-stage mouse skin carcinogenesis. **Cancer Letters**, v. 177, p. 1-5, 2002.

ÇIMEN, M. Y. B. Free radical metabolism in human erythrocytes. **Clinica Chimica Acta**, v. 390, n. 1-2, p. 1–11, 2008.

COHEN, F.L.; Tartasky, D. Microbial resistance to drug therapy: a review. **Am J Infect Control**, v. 25, n. 1, p. 51-64, 1997.

COSTA, W. S., SOUZA, A. L., SOUZA, P. B. Ecologia, Manejo, Silvicultura e Tecnologia de Espécies Nativas da Mata Atlântica. **Espécies Nativas da Mata Atlântica**, n.2, 2011.

COSTA-LOTUFO, L. V.; MONTENEGRO, R. C.; ALVES, A. P. N. N., MADEIRA, S. V. F.; PESSOA, C.; MORAES, M. E. A.; MORAES, M. O. A Contribuição dos Produtos Naturais como Fonte de Novos Fármacos Anticâncer: Estudos no Laboratório Nacional de Oncologia Experimental da Universidade Federal do Ceará. **Rev. Virtual Quim**, v. 2, n. 1, p. 47-58, 2010.

COTINGUIBA, G. G.; SILVA, J. R. N.; AZEVEDO, R. R. S.; ROCHA, T. J. M.; SANTOS, A. F. Método de avaliação da defesa antioxidante: uma revisão de literatura. **UNOPAR Cient Ciênc Biol Saúde**, v. 15, n. 3, p. 231-7, 2013.

COWAN, M. Plant Products as Antimicrobial agents. **Clinical Microbiology Reviews**, v, 12, n. 4, p. 564-582, 1999.

DA LUZ, C. F. P., MAKI, E. S., HORÁK-TERRA, I., VIDAL-TORRADO, P., FILHO, C. V. M. Pollen grain morphology of Fabaceae in the Special Protection Area (SPA) Pau-de-Fruta, Diamantina, Minas Gerais, Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 85(4), p. 1329-1344, 2012.

DA SILVA, L. R.; MARTINS, L. V.; BANTIM, I. F. C.; DE DEUS, M.; DO SOCORRO, M.; FERREIRA, P. M. P.; PERON, A.P. Flavonóides: constituição química, ações medicinais e potencial tóxico. **Acta Toxicol. Argent.** v. 23, n. 1, p. 36-43, 2015.

DALVI, L. T. Estudo da capacidade antioxidante do polifenol ácido elágico *in vitro* e em *Saccharomyces cerevisiae* selvagem e deficiente em superóxido dismutase 1. Tese (Doutorado). Programa de Pós-Graduação em Nutrição Humana. Universidade de Brasília (UnB), **Brasília**, 2014.

DALVI, L. T. Mecanismos de ação de antioxidantes de origem vegetal: estudo do polifenol ácido elágico e do extrato de caqui (*Diospyros kaki*). Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Nutrição Humana. Universidade de Brasília (UnB), **Brasília**, 2008.

DASGUPTA, B. N. Antioxidant activity of *Piper betle* L. leaf extract *in vitro*. **Food Chemistry**, v. 88, p. 219–224, 2004.

DE MARTINO, L.; NAZZARO, F.; MANCINI, E.; DE FEO, V. Essential oils from Mediterranean Aromatic Plants. *The Mediterranean Diet: An Evidence-Based Approach*. **Londres: Elsevier**, chap. 58, p. 649-661, 2014.

DE SOUZA, P. H.; ALBANO, M. E. A.; CORTEZ, L. E. R.; CORTEZ, D. A. G. Relação entre a formação de radicais livres e a doença de Alzheimer: revisão sistemática. **Rev. Ciênc. Méd. Biol.**, Salvador, v. 16, n. 2, p. 197-203, 2017.

DEL RE, P. V.; JORGE, N. Especiarias como antioxidantes naturais: Aplicações em alimentos e implicação na saúde. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, n. 2, p. 389-399, 2012.

DESOTI, V. C; MALDANER, C. L; CARLETTO, M. S; HEINZ, A. A; COELHO, M. S; PIATTI, D. Triagem fitoquímica e avaliação das atividades antimicrobiana e citotóxica de plantas medicinais nativas da região oeste do estado do Paraná. **Arq Ciênc Saúde**. v. 15, n. 1, p. 3-13, 2011.

DILLARD, C.J.; GERMAN, B. Review - Phytochemicals: nutraceuticals and human health. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.80, n.12, p.1744-1756, 2000.

DORNAS, W. C.; OLIVEIRA, T. T. D.; RODRIGUES, R. G. D.; SANTOS, A. F. D.; NAGEM, T. J. Flavonóides: potencial terapêutico no estresse oxidativo. **Rev Ciênc Farm Básica Apl**. v. 28, n. 3, p. 241-9, 2010.

DRESLER, S., SZYMCZAK, G., WÓJCIK, M. Comparison of some secondary metabolite content in the seventeen species of the Boraginaceae family, **Pharmaceutical Biology**, v. 55, n. 1, p. 691-695, 2017.

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

DVORKIN-CAMIEL, L., WHELAN, J. S. Tropical American Plants in the Treatment of Infectious Diseases. **J. Dietary Suppl.**, v. 5(4), p. 349-372, 2008.

ES-SAFI, N-E; CHEYNIER, V; MOUTOUNET, M. Implication of phenolic reactions in food organoleptic properties. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 16, n. 5, p. 535-553, 2003.

EZHILARASAN D.; SOKAL, E.; KARTHIKEYAN, S.; NAJIMI, M. Plant derived antioxidants and antifibrotic drugs: past, present and future. **J. Coastal Life Med**, v. 2, n. 9, p. 738-745, 2014.

FABANI, M. P.; LUNA, L.; BARONI, M. V.; MONFERRAN, M. V.; IGHANI, M.; TAPIA, A.; WUNDERLIN, D. A.; FERESIN, G. E. Pistachio (*Pistacia vera* var. Kerman) from Argentinean cultivars. A natural product with potential to improve human health. **Journal of Functional Foods**, v. 5, n. 3, p. 1347-1356, 2013.

FABRI, R. L.; COSTA, J. A. B. M. Perfil farmacognóstico e avaliação das atividades citotóxica e antibacteriana de *Bromelia antiacantha* Bertol. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 9, n. 2, p. 37-48, 2013.

FAINTANIN, R. D. Avaliação do perfil fitoquímico e atividades biológicas de *Myrciaria strigipes* O. Berg (Myrtaceae). Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Universidade Federal do Espírito Santo, **Vitória**, 2016.

FALKENBERG, M. B.; SANTOS, R. I.; SIMÕES, C. M. O. **Introdução à Análise Fitoquímica**. In: SIMÕES, C. M. O. SCHENKEL, E. P.; GOSMAN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da Planta ao Medicamento**. 2. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Universidade/Universidade Federal do Rio Grande do Sul/Ed. Universidade Federal de Santa Catarina, 2000, p. 163-179.

FANZONE, M.; PEÑA-NEIRA, A.; JOFRÉ, V.; ASSOF, M.; ZAMORA, F. Phenolic Characterization of Malbec Wines from Mendoza Province (Argentina). **J. Agric. Food Chem.**, v. 58, p. 2388–2397, 2010.

FENSTER, C. P.; WEINSIER, R. L.; DARLEY-USMAR, V. M.; PATEL, R. P. Obesity, Aerobic Exercise, and Vascular Disease: The Role of Oxidant Stress. **Ob Res Clin Pract.** v. 10, n. 9, p. 433-440, 2002.

FERNANDES, A. W. C.; AQUINO, S. A. M. C.; GOUVEIA, G. V.; ALMEIDA, J. R. G. S.; COSTA, M. M. Atividade antimicrobiana in vitro de extratos de plantas do bioma caatinga em isolados de *Escherichia coli* de suínos. **Rev. Bras. Pl. Med.**, v. 17, n. 4, p. 1097-1102, 2015.

FERNANDES, J.; FONSECA, C. O.; TEIXEIRA, A.; GATTASS, C. R. Perillyl alcohol induces apoptosis in human glioblastoma multiforme cells. **Oncol.Rep.**, v. 13, p. 943-7, 2005.

FERNANDES, M. F.; DE QUEIROZ, L. P. Vegetação e flora da Caatinga. **Ciência e Cultura.** v.70, n. 4, p. 51-56, 2018.

FERREIRA, M. D. L. Terpenos: potenciais agentes quimioterapêuticos obtidos de fontes naturais usados contra o câncer de pulmão. Graduação. Universidade Federal da Paraíba, **João Pessoa**, 2014.

FERREIRA, B. L. A. Identificação da atividade antibiótica e relação estrutura-atividade de moléculas de origem sintética e animal. Dissertação (Mestrado em Neuroimunologia) - **Universidade Federal Fluminense**, Niterói. 2007.

FERREIRA, M. A.; DO NASCIMENTO, N. R.; DE SOUSA, C. M.; PESSOA, O. D.; DE LEMOS, T. L.; VENTURA, J. S.; SCHATNER, M.; CHUDZINSKI-TAVASSI, A. M. Oncocalyxone A inhibits human platelet aggregation by increasing cGMP and by binding to GP Iba glycoprotein. **Br J Pharmacol.** v. 154, n. 6, p. 1216-1224, 2008.

FERRER, M.; MÉNDEZ-GARCÍA, C.; ROJO, D.; BARBAS, C.; MOYA, A. Antibiotic use and microbiome function. **Biochemical Pharmacology**, 2016.

FIGUEIREDO, P. A. Avaliação do potencial antioxidante, citotóxico e fotoprotetor de extratos de *Hymenaea courbaril* L. e *Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex Hayne. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Biociências, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Assis, 2014.

FIGUEIREDO, J. N.; RAZ, B.; SEQUIN, U. Novel quinones methides from *Salacia kraussi* with *in vitro* antimalarial activity. **J Nat Prod.** v. 61, n. 6, p. 718-723, 1998.

FISCHER, E., THEISEN, I. & LOHMANN, L.G. Bignoniaceae. In The families and genera of vascular plants, (J.W. Kadereit, ed.), **SpringerVerlag Heidelberg**, Germany. v. 3, p. 9-38, 2004.

FLORES, G.; WU, S-B.; NEGRIN, A., KENNELLY, E. J. Chemical composition and antioxidant activity of seven cultivars of guava (*Psidium guajava*) fruits. **Food Chemistry** v. 170, p. 327-335, 2015.

FRANCA, B. K.; ALVES, M. R. M.; SOUTO, F. M. S.; TIZIANE, L.; BOAVENTURA, R. F.; GUIMARÃES, A.; ALVES JR, A. Peroxidação lipídica e obesidade: Métodos para aferição do estresse oxidativo em obesos. **GE J Port Gastreterol**, v. 20, n. 5, p. 199-206, 2013.

FRESHNEY, R. I. Measurement of cytotoxicity and viability. 2nd ed. In: Culture of animal cells: a manual of basic technique. **New Yourk: Willy-Liss**; p. 7-13, 1990.

GADÉA, S. F. M. avaliação da atividade antimicrobiana do extrato bruto e suas frações de *Glischrothamnus ulei* (Molluginaceae) do semi-árido baiano. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, **Universidade Estadual de Feira de Santana**. 2008.

GAFNER, S.; WOLFENDER, J. L.; NIANGA, M.; STOECKLI-EVANS, H.; HOSTETTMANN, K. Antifungal and antibacterial naphthoquinones from *Newboudia laevis* roots. **Phytochemistry**. v. 42, n. 5, p. 1315-1320, 1996.

GALDINO, A. G. S.; OLIVEIRA, E. M.; FILIPPIN-MONTEIRO, F. B.; ZAVAGLIA, C. A. C. Análise de ensaios *in vitro* do compósito de 50% HA-50% TiO<sub>2</sub> fabricados pelo método da esponja polimérica. **Cerâmica**, v. 60, p. 586-593, 2014.

GAO, T., YAO, H., SONGA, J., LIUA, C., ZHUA, Y., MAA, X., PANGA, X., XUC, H., CHENA, S. Identification of medicinal plants in the family Fabaceae using a potential DNA barcode ITS2. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 130, p. 116-121, 2010.

GEMAQUE, R. C. R., DAVIDE, A. C., FARIA, J. M. R. Indicadores de Maturidade Fisiológica de Sementes de ipê-roxo (*Tabebuia impetiginosa* (Mart.) Standl.). **CERNE**, v. 8, n. 2, p. 084-091, 2015.

GIL, P.R. Wilderness – **Earth's cast wild places**. CEMEX, México, 2002.

GOBBO, N. L.; LOPES, N. P. Medicinal plants: factors of influence on the content of secondary metabolites. **Química Nova**, v. 30, n. 2, 2007.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas Medicinais: Fatores de Influência no Conteúdo de Metabólitos Secundários. **Quím Nova**, v. 30, n. 2, p. 374-81, 2007.

GOMES, E.P.N. *Compostos Fenólicos e Atividade Antioxidante de Vinhos Tintos do Vale do São Francisco*. 2006. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Departamento de Ciência de Alimentos, UFMG, Belo Horizonte.

GONÇALVES, A. L.; ALVES FILHO, A.; MENEZES, H. Estudo comparativo da atividade antimicrobiana de extratos de algumas árvores nativas. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 72, n. 3, p. 353-358, 2005.

GUIDOTI, D. G. M.; GUIDOTI, D. T.; BERTI, A.P.; DÜSMAN, E.; VICEN-TINI, V. E. P. Potencial mutagênico do extrato aquoso de *Allium cepa* L. em células hematopoiéticas de ratos *Wistar*. **Ver Bras Bioci**. v. 12, n. 1, p. 42-5, 2014.

GUR S, TURGUT-BALIK D, GUR N. Antimicrobial activities and some fatty acids of turmeric, ginger root and linseed used in the treatment of infectious diseases. **World Journal of Agricultural Sciences**. v. 2, n. 4, p. 439-42, 2006.

HALCÓN, L.; MILKUS, K. *Staphylococcus aureus* and wounds: A review of tea tree oil as a promising antimicrobial. **American Journal of Infection Control**, v. 32, n. 7, p. 402-408, 2004.

HARVEY, A. L.; EDRADA-EBEL, R.; QUINN, R. J. The re-emergence of natural products for drug discovery in the genomics era. *Nature Reviews Drug Discovery* 2015; 14(2): 111–129.

HUA-BIN, L.; WONG, C. C.; CHENG, K. W.; CHEN, F. Antioxidant properties in vitro and total phenolic contents in metanol extracts from medicinal plants. **LWT**, v. 41, p. 385-390, 2008.

ISLAM, M. D. T. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction-linked neurodegenerative disorders. **Neurological Research**, v. 39, n. 1, p. 73-82, 2016.

ITOIGAWA, M.; KASHIWADA, Y.; ITO, C.; FURUKAWA, H.; TACHIBANA, Y.; BASTOW, K. F.; LEE, K. H. Antitumor agentes, 203, carbazole alkaloid murrayquinone A and related synthetic carbazolequinones as cytotoxic agents. **J Nat Prod**. v. 63, n. 7, p. 893-897, 2003.

JAWETZ, E.; MELNICK, J. L.; ADELBERG, E. A. (Ed.). **Microbiologia médica**. 20. ed Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998. 524p.

JÚNIOR, M. S. B.; ESMERINO, L. A.; DA SILVA, R. Z.; VOLPATO, A. M. Efeitos da atividade antimicrobiana do extrato bruto etanólico da *Piper solmsianum* e *Equisetum arvense*. **Electronic Journal of Pharmacy**, v. 13, n. 2, p. 100-106, 2016.

KARPIŃSKA-TYMOSZCZYK, M. The effect of antioxidants, packaging type and frozen storage time on the quality of cooked turkey meatballs. **Food Chem**, v. 148, p. 276-83, 2014.

KIILL, L.H.P. **Caatinga: patrimônio brasileiro ameaçado**. Agronline.com.br. Disponível em: <<http://www.agronline.com.br/artigos/artigo.php?id=81>>. Acesso em: 04 maio 2018.

- KIM, J. Y.; OH, T. H.; KIM, B. Y.; KIM, S. S.; LEE, N. H.; HYUN, C. Chemical composition and anti-inflammatory effects of essential oil from *Farfugium japonicum* flower. **J Oleo Sci.** v. 57, n. 11, p. 623-8, 2008.
- KON, K. V.; RAI, M. K. Plant essential oils and their constituents in coping with multidrug-resistant bacteria. **Expert Rev. Anti Infect. Ther.**, v. 10, n. 7, p. 775-790, 2012.
- KUMAR, S.; PANDEY, A. K. Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. **Sci World J.** 2013;2013:162750. 2014.
- KUSKOSKI, E.M.; ASUERO, A.G.; TRONCOSO, A.M.; MANCINI\_FILHO, J.; FETT, R. Aplicação de diversos métodos químicos para determinar atividade antioxidante em pulpa de frutos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.25, n.4, p.726-732, 2005.
- KUTCHAN, T. M.; LEWIS, N. **Natural Products (Secondary Metabolites)**. In: BUCHANAN, B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. **Biochemistry Molecular Biology of Plants**. New York: American Society of Plant Physiologists, 2000, p. 1250-1318.
- LACAILLE-DUBOIS, M. A.; WAGNER, H. A review of the biological and pharmacological activities of saponins. **Phytotherapy**, v. 2, p. 63-386, 1996.
- LAHMAR, A.; BEDOUI, A.; MOKDAD-BZEOUICH, I.; DHAOUIFI, Z.; KALBOUSSI, Z.; CHERAIF, I.; GHEDIRA, K.; CHEKIR-GHEDIRA, L. Reversal of resistance in bacteria underlies synergistic effect of essential oils with conventional antibiotics. **Microbial Pathogenesis**, 2016.
- LAXMINARAYAN, R.; DUSE, A.; WATTAL, C.; ZAIDI, A. K. M.; WERTHEIM, H. F. L.; SUMPRADIT, N.; VLIEGHE, E.; HARA, G. L.; GOULD, I. M.; GOOSSENS, H.; GREKO, C.; SO, A. D.; BIGDELI, M.; TOMSON, G.; WOODHOUSE, W.; OMBAKA, E.; PERALTA, A. Q.; QAMAR, F. N.; MIR, F.; KARIUKI, S.; BHUTTA, Z. A.; COATES, A.; BERGSTROM, R.; WRIGHT, G. D.; BROWN, E. D.; CARS, O. Antibiotic resistance - the need for global solutions. **The Lancet Infectious Diseases Commission**, v. 13, 2013.
- LEAL, I. R.; SILVA, J. M. C.; TABARELLI, M.; LACHER, J. R.T.E. Mudando o curso da conservação da biodiversidade na Caatinga do Nordeste do Brasil. **Megadiversidade**, v. 1, n.1, 2005.
- LEAL, I. R.; TABARELLI, M.; DA SILVA, J. M. C. **Ecologia e conservação da Caatinga**. Recife: Ed. Universitária da UFPE, 2003.
- LEIPELT, J. Avaliação *in vitro* do potencial biológico de *Myrciaria plinioides* (D. Legrand) em células tumorais. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Centro Universitário UNIVATES, **Lajeado**, 2016.
- LOHMANN, L. G. *Check-list* das Bignoniaceae do estado de Mato Grosso do Sul. **Iheringia, Série Botânica**, Porto Alegre, v. 73, p. 157-162, 2018.
- LOHMANN, L.G. & ULLOA, C.U. Bignoniaceae. In "Checklist of the World," MOBOT/ NYBG/ Kew Gardens. iPlants prototype Checklist. Disponível em: <http://www.iplants.org/>. Acessado em 29.08.2018. 2016.

- LOPES, R. M.; OLIVEIRA, T. D.; NAGEM, T. J.; PINTO, A. D. S. Flavonóides. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**. v.3, n. 14, 2010.
- LÓPEZ-ALARCÓN, C.; DENICOLA, A. Evaluating the antioxidant capacity of natural products: a review on chemical and cellular-based assays. **Analytica chimica acta**, v. 763, p. 1–10, 2013.
- MABRY, T. J.; MARKHAM, K. R.; THOMAS, M. B. The systematic identification of flavonoids. **Springer-Verlag**; New York, p. 354, 1970.
- MACHADO, H.; NAGEM, T. J.; PETERS, V. M.; FONSECA, C. S.; OLIVEIRA, T. T. D. Flavonóides e seu potencial terapêutico. **Boletim do Centro de Biologia da Reprodução**. v. 27, n. 1, p. 33-39, 2008.
- MACIEL, M. A. M; PINTO, A. C; VEIGA, J. R. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Quim Nova**. v. 25, n. 3, p. 429-38, 2002.
- MAGALHÃES, L. S.; PUSSENTE, C. G.; AZEVEDO, L. R.; CRESPO, J. M. R. S. Avaliação da atividade antibacteriana do extrato de *Caesalpinia ferrea* Martius e desenvolvimento de uma formulação fitocosmética. **Revista Científica da Faminas**, v. 11, n. 1, p. 1807-6912, 2015.
- MANOHARAN, S.; GUILLEMIN, G. J.; ABIRAMASUNDARI, R. S.; ESSA, M. M.; AKBAR, M.; AKBAR, M. D. The Role of Reactive Oxygen Species in the Pathogenesis of Alzheimer's Disease, Parkinson's Disease, and Huntington's Disease: A Mini Review. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, 2016.
- MARTINS, P. F. Aspectos da regulação metabólica bacteriana em resposta a herbicidas: um enfoque ao sistema antioxidante. Tese (Doutorado). Universidade de São Paulo. **Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz**, Piracicaba, São Paulo, 2012.
- MHAMDI, B., WANNES, W. A., BOURGOU, S., MARZOUK, B. Biochemical characterization of Borage (*Borago officinalis* L.) seed. **J Food Biochem**, v. 33, p. 331–341, 2009.
- MICELI, N., BUONGIORNOA, L. P., CELIA, M. G., CACCIOLA, F., DUGOAC, P., DONATO, P., MONDELLOACD, L., BONACCORSIE, I., TAVIANOA, M. F. Role of the flavonoid-rich fraction in the antioxidant and cytotoxic activities of *Bauhinia forficata* Link. (Fabaceae) leaves extract. **Natural Product Research**, 2015.
- MIYAZAKI, C. M. S.; HIROTA, B. C. K.; LIMA, C. P.; VERDAM, M. C. S.; PAULA, C. S.; CHAVES, S. C.; PAVAN, P. M. N.; MIGUEL, M. D.; MIGUEL, O G. Coumarin isolation and comparative study of biological activities of *Pterocaulon alopecuroides* DC and *Pterocaulon lorentzii* Malme. **International Journal of Phytomedicine**, v. 5, p. 298-301, 2013.
- MMA - MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE, DOS RECURSOS HÍDRICOS E DA AMAZÔNIA LEGAL. Avaliação e ações prioritárias para a conservação da biodiversidade da Caatinga. Brasília, Universidade Federal de Pernambuco, Conservation Internacional do Brasil e Fundação O Boticário. 2002.

- MMA-IBAMA. MONITORAMENTO DO BIOMA CAATINGA 2002 a 2008. Monitoramento do Desmatamento nos Biomas Brasileiros por Satélite. Acordo de Cooperação Técnica MMA/IBAMA. Centro de Sensoriamento Remoto do Ibama - CSR, Agência Brasileira de Cooperação - ABC e Programa das Nações Unidas para o Desenvolvimento - PNUD, **Relatório Técnico**, p.1-58, 2010.
- MOHAMED, H. M. H.; MANSOUR, H. A.; FARAG, M. D. The use of natural herbal extracts for improving the lipid stability and sensory characteristics of irradiated ground beef. **Meat Sci**, v. 87, n. 1, p. 33-39, 2011.
- MONTEIRO, J. M.; ALBUQUERQUE, U. P.; ARAUJO, E. L.; AMORIM, E. L. C. Taninos: uma abordagem da química à ecologia. **Quim. Nova**, v. 28, n. 5, p. 892-896; 2005.
- MONTEIRO, S. S., SIANI, A. C., NAKAMURA, M. J., SOUZA, M.C., RAMOS, M. F. S. Leaf Essential Oil from *Eugenia luschnathiana* and *Myrciaria tenella* (Myrtaceae) from Two Different Accesses in Southeastern Brazil. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v. 19 (7), p. 1675-1683, 2016.
- MOREIRA, A.V.B; MANCINI-FILHO, J. Influência dos compostos fenólicos de especiarias sobre a lipoperoxidação e o perfil lipídico de tecidos de ratos. **Revista de Nutrição**, v. 17, n. 4, p. 411-424, 2004.
- MORI, N. C.; HORN, R. C.; OLIVEIRA, C.; LEAL, P. A. P.; GOLLE, D. P.; KOEFENDER, J.; BORTOLOTO, J.; DIAS, H. M. Alterações bioquímicas e toxicológicas de agricultores familiares da região do Alto Jacuí, Rio Grande do Sul. **Sci Med.**, v. 25, n. 3, 2015.
- MORO, M. F.; NIC-LUGHADHA, E.; FILER, D. L.; DE ARAÚJO, F. S.; MARTINS, F. R. A catalogue of the vascular plants of the Caatinga Phytogeographical domain: a synthesis of floristic and phytosociological surveys. **Phytotaxa**. v. 160, p.1-118, 2014.
- MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **J Immunol Method**. v. 65, p. 55–63, 1983.
- NACZK, M.; SHAHIDI, F. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: occurrence, extraction and analysis. **J. Pharm. Biomed. Anal**, v. 41, n. 5, p. 1523-1542, 2006.
- NAKAMURA, E.S., KUROSAKI, F., ARISAWA, M., MUKAINAKA, T., OKUDA, M.; TOKUDA, H., NAYAK, B.S., SANDIFORD, S., MAXWELL, A. Evaluation of the wound healing activity of ethanolic extract of *Morinda citrifolia* L. leaf. **J. Evidence-Based Complementary Altern. Med**, v. 6, p. 351-356, 2009.
- NIKI, E. Assessment of Antioxidant Capacity in vitro and in vivo. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 49, n. 4, p. 503–515, 2010.
- NOGUEIRA, A., REY, P.J., ALCÁNTARA, J.M. & LOHMANN, L.G. Evidence of between-population differences in natural selection on extrafloral nectaries. **Botany**, v. 94, p. 1-13, 2016.
- NOZELA, E. F. Valor nutricional de espécies arbóreo-arbustivas nativas da Caatinga e utilização de tratamentos físico-químicos para redução do teor de taninos. Tese (Doutorado) - Centro de Energia Nuclear e Agricultura, Universidade de São Paulo, **Piracicaba**, 2006.

OKAMOTO, T. The protective effect of glycyrrhizin on anti-Fas antibody-induced hepatitis in mice. **European Journal of Pharmacology**, v. 387, p. 229-232, 2000.

OLIVEIRA, A.F., BATISTA, J.S., PAIVA, E.S., SILVA, A.E., FARIAS, Y.J.M.D., DAMASCENO, C.A.R., BRITO, P.D., QUEIROZ, S.A.C., RODRIGUES, C.M.F., FREITAS, C.I.A. Avaliação da atividade cicatrizante do jucá (*Caesalpinia ferrea* Mart. ex Tul. var. *ferrea*) em lesões cutâneas de caprinos. **Rev. Bras. Plant. Med**, v. 12, p. 302-310, 2010.

OLIVEIRA, J. R. Ensaio de citotoxicidade de extratos naturais após determinação da concentração microbicida mínima para *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus mutans* e *Candida spp.* Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Biopatologia Bucal, **Universidade Estadual Paulista (UNESP)**, São José dos Campos, 2011.

OLIVEIRA, R. M., LIMA, R. A. Prospecção Fitoquímica do Extrato Etanólico de *Bauhinia Forficata* L. e seu Potencial Candidacida. **Journal of Basic Education, Technical and Technological**, v. 4, n. 1, p. 54-65, 2017.

PALMA, C. E.; CRUZ, P.S.; CRUZ, D. T. C.; BUGAYONG, A. M. S.; CASTILLO, A. L. Chemical composition and cytotoxicity of *Philippine calamansi* essential oil. **Industrial Crops and Products**, v. 128, p. 108-114, 2019.

PAPP, N., BENCSIK, T., NÉMETH, K., GYERGYÁK, K., SULC, A., FARKAS, Á. Histological study of some *Echium vulgare*, *Pulmonaria officinallis* and *Symphytum officinale* populations. **Nat Prod Commun**, v. 10, p. 1475–1478, 2011.

PATEL, D. K.; KUMAR, R.; LALOO, D.; HEMALATHA, S. Evaluation o phytochemical and antioxidante activities of the diferente franctions of *Hybanthus enneaspermus* (Linn.) F. Muell. (Violaceae). **Asian Pacific J of Tropical Medicine**, p. 391-396, 2011.

PAULA, C. S.; CANTELI, V.C.D.; VERDAM, M.C.S.; KALEGARI, M.; CAMPOS, R.; HIROTA, B.C.K.; MIGUEL, O.G.M.; MIGUEL, M.D. Atividade antioxidante e toxicidade preliminar do extrato e frações obtidas das folhas e cascas do caule de *Dasyphyllum tomentosum* (Spreng.) Cabrera. **Rev. Bras. Pl. Med**, v. 16, n. 2, p. 189-195, 2014.

PAULA, J. A. M.; REIS, J. B.; FERREIRA, L. H. M.; MENEZES, A. C. S.; PAULA, J. R. Gênero Pimenta: aspectos botânicos, composição química e potencial farmacológico. **Rev. Bras. Plantas med.**, Botucatu, v.12, n.3, 2010.

PAZINATTO, C. Avaliação in vitro da capacidade antioxidante de grãos de amaranto (*Amaranthus cruentus*). 2008. 80 p. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) – **Faculdade de Engenharia de Alimentos**, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2008.

PEDRIALI, C. A. Síntese química de derivados hidrossolúveis da rutina: determinação de suas propriedades físico-químicas e avaliação de suas atividades antioxidantes. Dissertação (Mestrado). Departamento de Tecnologia Bioquímica-Farmacêutica, Universidade de São Paulo, **São Paulo**, 2005.

PEREIRA, D. P., MOREIRA, E. F. A., MACHADO, E. R., MARIANO, T. S., CUNHA, F. R. Respostas de ácido indolbutírico sobre enraizamento e sobrevivência de estacas de

*Hymenaea courbaril* L. **Brazilian Journal of Applied Technology for Agricultural Science**, Guarapuava-PR, v.10, n.2, p.111-117, 2017.

PEREIRA, L. P., MOTA, M. R. L., BRIZENO, L. A. C., NOGUEIRA, F. C., FERREIRA, E. G. M., PEREIRA, M. G., ASSREUY, A. M. S. Modulator effect of a polysaccharide-rich extract from *Caesalpinia ferrea* stem barks in rat cutaneous wound healing: role of TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , NO, TGF- $\beta$ . **Journal of Ethnopharmacology**, 2016.

PERES, L. *Metabolismo Secundário*. Piracicaba – São Paulo: **Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz**, p. 1-10, 2004.

PESSOA, O. D. L.; DE LEMOS, T. L. G. Allantoin and fatty acid composition in *Auxemma onocalyx*. **Rev Bras Farm.** v. 78, p. 9-10, 1997.

PETRONI, L. M., HUFFMAN, M. A., RODRIGUES, E. Medicinal plants in the diet of woolly spider monkeys (*Brachyteles arachnoides*, E. Geoffroy, 1806) – a bio-rational for the search of new medicines for human use? **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 27, p. 135–142, 2017.

PIETRO, P.; PINEDA, M.; AGUILAR, M. Spectrophotometric quantification of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. **Analytical Biochemistry**, v. 269, n. 2, p. 337-341, 1999.

PIRIE, A. D.; DAVIES, N. W.; AHUJA, K. D.; ADAMS, M. J.; SHING, C. M.; NARKOWICZ, C.; JACOBSON, G. A.; GERAGHTY, D. P. Hypolipidaemic effect of crude extract from *Carpobrotus rossii* (pigface) in healthy rats. **Food Chem Toxicol**, v. 66, p. 134-9, 2014.

PISOSCHI, A. M.; NEGULESCU, G. P. Methods for total antioxidant activity determination: a review. **Biochemistry and Analytical Biochemistry**, 2011.

PIZZOLATTI, M. G., CUNHA JR., A., SZPOGANICZ, B., SOUSA, E. Flavonóides Glicosilados das Folhas e Flores de *Bauhinia forficata* (Leguminosae). **Quim. Nova**, v. 26, n. 4, p. 466-469, 2003.

QUEIROZ, A. C.; ALVES, H. D. S.; CAVALCANTE-SILVA, L. H. A.; DIAS, T. D. L. M. F.; SANTOS, M. D. S.; MELO, G. M. D. A.; ALEXANDRE-MOREIRA, M. S. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of flavonoids PMT1 and PMT2 isolated from *Piper montealegreanum* Yuncker (Piperaceae) in mice. **Nat Prod Res.** v. 28, n. 6, p. 403-406, 2014.

QUEIROZ, L. P.; CARDOSO, D.; FERNANDES, M.; MORO, M. Diversity and evolution of flowering plants of the Caatinga domain. In: da Silva, J. C.; Leal, I.; Tabarelli, M, (eds.), *Caatinga: the largest tropical dry forest region in South America*. **Cham: Springer**. p. 23-63, 2017.

RAHMAN, A. H. M., ARA PARVIN, M. I. Study of Medicinal Uses on Fabaceae Family at Rajshahi, Bangladesh. **Research in Plant Sciences**, v. 2, p. 1, 6-8, 2014.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, n. 9, p. 1231-1237, 1999.

RIBEIRO, E. M. G. Atividade antioxidante e polifenóis totais do fruto de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC) com e sem casca. 2011. 77 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – **Faculdade de Farmácia**, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2011.

ROCHA, E. A. L. S. S.; CARVALHO, A. V. O. R.; ANDRADE, S. R. A.; MEDEIROS, A. C. D.; TROVÃO, D. M. B. M.; COSTA, E. M. M. B. Potencial antimicrobiano de seis plantas do semiárido paraibano contra bactérias relacionadas à infecção endodôntica. **Rev Ciênc Farm Básica Apl**, v. 34, n. 3, p. 351-355, 2013.

RODRIGUES, A. C., ALVARENGA, A. A., RIBEIRO, D. E., GUIMARÃES, R. M., ALVES, E., JUNIOR, J. M. S. Reindução da Tolerância à Dessecação em Sementes de *Bauhinia forficata* Link (Fabaceae). **CERNE**, v. 21, n. 4, p. 579-586, 2015.

RODRIGUES, E.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; CRUZ, M. E. S.; FIORI-TUTIDA, A. C. G. Avaliação da atividade antifúngica de extratos de gengibre e eucalipto in vitro e em fibras de bananeira infectadas com *Helminthosporium* sp. **Acta Scientiarum**, v. 28, n. 1, p.123-127, 2006.

RODRIGUES, N. M. **Potencialidades e impactos ambientais no Parque Nacional do Catimbau e sua Zona de amortecimento**. Dissertação (Mestrado em Gestão e Políticas Ambientais) - Universidade Federal de Pernambuco. Recife, 2006.

SARMIENTO-CAMPOS, M.; ARROYO-ACEVEDO, J.; GUTIÉRREZ, A. G.; CONDORHUAMÁN-FIGUEROA, M. Efecto antiinflamatorio del extracto etanólico de la corteza de *Tabebuia impetiginosa* (Mart. ex DC.) Standley, guayacán, en ratas. **Rev Peru Med Integrativa**, v. 3, n. 2, p. 98-103, 2018.

SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. In: Simões CM et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre: Ed. UFRGS/Ed. UFSC, 2001: 597-619

SCHREUDER, T. H.; EIJSVOGELS, T. M.; GREYLING, A.; DRAIJER, R.; HOPMAN, M. T.; THIJSEN, D. H. Effect of black tea consumption on brachial artery flow-mediated dilation and ischaemia reperfusion in humans. **Appl Physiol Nutr Metab**, v. 39, n. 2, p. 145-51, 2014.

SEN, S.; DE, B.; DEVANNA, N.; CHAKRABORTY, R. Total phenolic, total flavonoid content, and antioxidant capacity of the leaves of *Meyna pinosa* Roxb an Indian medicinal plant. **Chinese Journal of Natural Medicines**, v. 11, n. 2, p. 149–157, 2013.

SHABBIR, M.; KHAN, M.R.; SAEED, N. Assesment of phytochemicals, antioxidante, anti-lipid peroxidation and anti-hemolytic activity of extracts and various fractions of *Maytenus royleanus* leaves. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 13, p. 143-154, 2013.

SHAHIDI, F; NACZK, M. Food phenolics: sources, chemistry, effects, application. **Lancaster: Technomic**. p. 331, 1995.

SHALABY, E. A.; SHANAB, S. M. M. Comparison of DPPH and ABTS assays for determining antioxidant potential of water and methanol extracts of *Spirulina platensis*. **Indian Journal of Geo-Marine Sciences**, v. 42, n. 5, p. 556-564, 2013.

SHARMA, P.; JHA, A. B.; DUBEY, R. S.; PESSARAKLI, M. Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants under Stressful Conditions. **Journal of Botany**, v. 2012, 2012.

SHARMA, V. K.; JOHNSON, N.; CIZMAS, L.; MCDONALD, T. J.; KIM, H. A review of the influence of treatment strategies on antibiotic resistant bacteria and antibiotic resistance genes. **Chemosphere**, v. 150, p. 702-714, 2015.

SHARMA, R. A., SINGH, B., SINGH, D., CHANDRAWAT, P. Ethnomedicinal, pharmacological properties and chemistry of some medicinal plants of Boraginaceae in India. **J Med Plants Res**, v. 13, p. 1153–1175, 2009.

SHI, J; MAZZA, G.; LEMAGUER, M. Functional foods: biochemical & processing aspects. **Boca Raton: CRC Press**, 1998-2002.

SILVA, A. C. O.; ALBUQUERQUE, U. P. Woody medicinal plants of the caatinga in the state of Pernambuco (Northeast Brazil). **Acta Botanica Brasilica**, v. 19, p. 17-26, 2005.

SILVA, J. H. O., OLIVEIRA, R. S., GOMES, M. F. C., VALENTE, S. E. E., LIMA, P. S. C. Avaliação Preliminar de Primers ISSR para Caracterização Molecular de Acessos de Pau-ferro da EMBRAPA meio-norte. **Base de Dados da Pesquisa Agropecuária**, 2016.

SILVA, M. D., NASCIMENTO, V. T. Conhecimento tradicional e estrutura populacional de *Hymenaea courbaril* L., em uma comunidade rural no Nordeste do Brasil. **Gaia Scientia**, v. 12(1), p. 191-209, 2018.

SILVA, N. C. C.; FERNANDES JÚNIOR, A. Biological properties of medicinal plants: a review of their antimicrobial activity. **J. Venom. Anim. Toxinsincl. Trop. Dis.**, v.16, n.3, p.402-413, 2010.

SILVA, T. B.; MENEZES, L. R. A.; SAMPAIO, M. F. C.; MEIRA, C. S.; GUIMARÃES, E. T.; SOARES, M. B. P. Chemical composition and anti-trypanossoma cruzi activity of essential oils obtained from leaves of *Xylopia frutescens* and *X. laevigata* (Annonaceae). **Nat Prod Commun**, V. 8, p. 403- 6, 2013.

SIMÕES, R. C, ALMEIDA, S. S. M. S. Estudo fitoquímico de *Bauhinia forficata* (Fabaceae). **Biota Amazônia**, v. 5, n. 1, p. 27-31, 2015.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: Da planta ao medicamento**. 6. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Universidade/ Universidade Federal do Rio Grande do Sul/ Da Universidade Federal de Santa Catarina, 2010, 1102 p.

STEFANELLO, M, E. A.; PASCOAL, A. C. R. F.; SALVADOR, M. J. Essential Oils from Neotropical Myrtaceae: Chemical Diversity and Biological Properties. **Chemistry & Biodiversity**, v. 8, 2011.

STOCLET, J.C; CHATAIGNEAU, T; NDIAYE, M; OAK, M.H; BEDOUI, J.E; CHATAIGNEAU, M; KERTH, V.B.S. Vascular protection by dietary polyphenols. **European Journal of Pharmacology**, v.500, n. 1-3, p.299-313, 2004.

TABARAKI, R.; NATEGHI, A.; AHMADY-ASBCHIN, S. In Vitro Assessment of Antioxidant and Antibacterial Activities of Six Edible Plants from Iran. **J Acupunct Meridian Stud.**, v. 6, n.3, p. 159-162, 2013.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4.ed. Porto Alegre: Artmed. 2009.

TARAVATI, G., MASOUDIAN, N., GHOLAMIAN, A. Evaluation of medical metabolites in Boraginaceae family. **J Chem Health Risks**, v. 4, p. 53–61, 2014.

TAUXE, R.V. Emerging foodborne pathogens. **International Journal of Food Microbiology**, v.78, p.31-41, 2002.

TEIXEIRA, M. L.; CARDOSO, M. G.; FIGUEIREDO, A. C. S.; MORAES, J. C.; ASSIS, F. A.; ANDRADE, J.; NELSON, D. L.; GOMES, M. S.; SOUZA, J. A.; ALBUQUERQUE, L. R. M. Citrumelo Swingle: Caracterização química, atividade antioxidante e antifúngica dos óleos essenciais das cascas frescas e secas. **Magistra**, v. 24, n. 3, p. 194-203, 2012.

TEIXEIRA, M. J.; DE ALMEIDA, Y. M.; VIANA, J. R.; HOLANDA FILHA, J. G.; RODRIGUES, T. P.; PRATA, J. R.; COÊLHO, I. C.; RAO, V. S.; POMPEU, M. M. *In vivo* and *in vitro* leishmanicidal activity of 2-hydroxy-3-(3-methyl-2-butenyl)-1,4-naphthoquinone (lapachol). **Phytother Res**. v. 15, n. 1, p. 44-48, 2001.

TERCI, D.B.L. *Aplicações analíticas e didáticas de antocianinas extraídas de frutas*. 2004. Tese (Doutorado em Química Analítica) - Instituto de Química da UNICAMP, Campinas.

THOMAZ, K. L. R. Atividade antimicrobiana do extrato alcoólico do fruto da *Caealpinia ferrea* Mart. frente as bactérias causadoras de mastite bovina. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal Rural do Semi-árido (UFERSA), Mossoró, 2010.

TODOROVA, M., TRENDAFILOVA, A. *Sideritis scardica* Griseb., an endemic species of Balkan peninsula: Traditional uses, cultivation, chemical composition, biological activity. **J Ethnopharmacol**. v. 152, n. 2, p. 256-265, 2014.

TRENTIN, D.S.; GIORDANI, R.B.; ZIMMER, K.R.; SILVA, A. G.; SILVA, M. V.; CORREIA, M.T.S. Potential of medicinal plants from the Brazilian semi-arid region (Caatinga) against *Staphylococcus epidermidis* planktonic and biofilm lifestyles. **J Ethnopharmacol**. v. 137, n. 2, p. 327-335, 2011.

TRIBESS, B.; PINTARELLI, G. M.; BINI, L. A.; CAMARGO, A.; FUNEZ, L. A.; GASPER, A. L.; ZENI, A. L. B. Ethnobotanical study of plants used for therapeutic purposes in the Atlantic Forest region, Southern Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, 2015.

VASCONCELOS, C. M.; VASCONCELOS, T. L. C.; PÓVOAS, F. T. X.; SANTOS, R. E. F.; MAYNART, W. H. C.; ALMEIDA, T. G.; OLIVEIRA, J. F. S. Antimicrobial, antioxidant and cytotoxic activity of extracts of *Tabebuia impetiginosa* (Mart. ex DC.) Standl. **Journal Of Chemical And Pharmaceutical Research**. v. 7, n. 6, p. 2673-2681, 2014.

VATS, V., GROVER, J. K., RATHI, S. S. Evaluation of anti-hyperglycemic and hypoglycemic effect of *Trigonella foenum-graecum* Linn, *Ocimum sanctum* Linn and *Pterocarpus marsupium* Linn in normal and alloxanized diabetic rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 79, p. 95-100, 2002.

VENCATO, S. B., LEMES, M. L. B., CAMPELO, D. S., CORRÊA, D. S., FERRAZ, A. B. F. Avaliação do perfil fitoquímico e potencial antioxidante do extrato aquoso de *Hymenaea courbaril*. **Revista de Iniciação Científica da Ulbra**, n. 14, 2018.

VERRI, A. M.; MOURA, A. A.; MOURA, V. M. Testes citogenéticos na avaliação da genotoxicidade de produtos naturais provindos de plantas medicinais. **Revista UNINGÁ Review**. v. 30, n. 1, p. 55-61, 2017.

VIANA, J. S., GONÇALVES, E. P., ANDRADE, L. A., OLIVEIRA, L. S. B., SILVA, E. O. Crescimento de Mudanças de *Bauhinia forficata* Link. em Diferentes Tamanhos de Recipientes. **FLORESTA**, v. 38, n. 4, p. 663-671, out./dez. 2008.

VIANA, S. M.; FERREIRA, M. A. D.; GUERRA, P. V.; VIANA, G. S. B.; TEIXEIRA, M. J. *In vitro* e *in vivo* evaluation of quinones from *Auxemma oncocalyx* Taub. on *Leishmania braziliensis*. **Journal of Medicinal Plants Research**. v. 9, n. 5, p. 132-139, 2015.

VIEGAS JÚNIOR, C. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. **Química Nova**, v. 26, n. 3, p. 390-400, 2003.

VIEIRA, P. M.; PAULA, J. R.; CHEN-CHEN, L. Solanum paniculatum L. Leaf and fruits extracts: assessment of modulation of cytotoxicity and genotoxicity by micronucleus test in mice. **Journal of Medicinal Food**, v.13, n. 6, p. 1-7, 2010.

VILLAS BÔAS, G. K.; GADELHA, C. A. G. Oportunidades na indústria de medicamentos e a lógica do desenvolvimento local baseado nos biomas brasileiros: bases para a discussão de uma política nacional. **Cadernos de Saúde Pública, Rio de Janeiro**, v. 23, n. 6, p.1463-1471, 2007.

WALSH, C. T.; FISCHBACH, M. A. Natural products version 2.0: connecting genes to molecules. **Journal of the American Chemical Society**, v. 132, n. 8, p. 2469-2493, 2010.

WANG, Z-H.; HUANG, J.; MA, X. C.; LI, G. Y.; MA, Y. P.; LI, N.; WANG, J. H. Phenolic glycosides from *Curculigo orchoides* Gaertn. **Fitoterapia**, v. 86, p. 64-69, 2013.

WANG, Q.; WANG, H.; XIE, M. Antibacterial mechanism of soybean isoflavone on *Staphylococcus aureus*. **Archives of microbiology**, v. 192, n. 11, p. 893-898, 2016.

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

WOOTTON-BEARD, P. C.; MORAN, A.; RYAN, L. Stability of the total antioxidant capacity and total polyphenol content of 23 commercially available vegetable juices before and after *in vitro* digestion measured by FRAP, DPPH, ABTS and Folin–Ciocalteu methods. **Food Res. Int**, v. 44, n. 1, p. 217-224, 2011.

YAN, X. T.; LI, W.; SUN, Y. N.; YANG, S. Y.; LEE, S. H.; CHEN, J. B.; JANG, H. D.; KIM, Y. H. Identification and biological evaluation of flavonoids from the fruits of *Prunus mume*. **Bioorg Med Chem Lett**, v. 24, n. 5, p. 1397-402, 2014.

YANG, G. M.; YAN, R.; WANG, Z. X.; ZHANG, F. F.; PAN, Y.; CAI, B. C. Antitumor effects of two extracts from *Oxytropis falcata* on hepatocellular carcinoma *in vitro* and *in vivo*. **Chin J Nat Med**. v. 11, n. 5, p. 519-24, 2013.

YOO, C.; HAN, K.; CHO, K.; HA, J.; PARK, H.; NAM, J.; KIL, U.; LEE, K. Eugenol isolated from the essential oil of *Eugenia caryophyllata* induces a reactive oxygen species-mediated apoptosis in HL-60 human promyelocytic leukemia cells. **Cancer letters**, v. 225, n. 1, p. 41-52, 2005.

YUAN, H.; ZHANG, J.; NAGESWARAN, D.; LI, L. Carotenoid metabolism and regulation in horticultural crops. **Nature Review: Horticulture Research**, v. 2, p. 11, 2015.

ZANELLA, A. M.; SOUZA, D. R. S.; GODOY, M. F. Influência do exercício físico no perfil lipídico e estresse oxidativo. **Arq Ciência Saúde**. v. 14, n. 2, p. 125-131, 2017.