



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA**

PIETRA ALEXIA LIMA DOS SANTOS

**PERFIL QUÍMICO E ATIVIDADE BIOLÓGICA DE *Abarema
cochliacarpus* (Gomes) Barneby & J. W. Grimes**

**SÃO CRISTÓVÃO
2020**

PIETRA ALEXIA LIMA DOS SANTOS

PERFIL QUÍMICO E ATIVIDADE BIOLÓGICA DE
Abarema cochliacarpus (Gomes) Barneby & J. W. Grimes

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal de Sergipe como requisito à obtenção do grau de Mestre em Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Charles dos Santos Estevam

SÃO CRISTÓVÃO
2020

PIETRA ALEXIA LIMA DOS SANTOS

PERFIL QUÍMICO E ATIVIDADE BIOLÓGICA DE
Abarema cochliacarpus (Gomes) Barneby & J. W. Grimes

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal de Sergipe como requisito à obtenção do grau de Mestre em Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Charles dos Santos Estevam

1º Examinador: Prof. Dr. Alexandre Luna Cândido

2º Examinador: Prof. Dr. Samuel Bruno dos Santos

Deus, minha mãe, avó e irmãos. Gratidão por todo amor e apoio!
Dedico.

AGRADECIMENTOS

A *Deus* por ter me concedido sabedoria, paciência nos momentos mais difíceis, calma para lidar com situações que fugiam do controle e luz durante meu caminho de forma incondicional. Sou grata pelo amor, pelo cuidado e pela vida.

À minha mãe e grande amiga, *Sônia*, por nunca ter deixado de me apoiar e incentivar, mesmo quando as situações se mostravam contrárias. Sempre me impulsionando a buscar o novo e aquilo que eu gosto. Não tenho palavras para expressar tamanho apoio e cuidado. Te amo!

Aos meus irmãos, *Pablo* e *Uriel*, minha rede de apoio durante todos os momentos, nossos abraços, nossas conversas e cuidado um para com o outro, me elevam; e *Pedrinho*, irmão mais novo, que veio ao mundo recentemente trazendo boas risadas e alegrias.

À minha vó linda, *Aparecida*, que nunca deixou de me apoiar mesmo não entendendo muitas coisas. Obrigada pelo seu carinho, pelo seu amor, por compartilhar a vida comigo e meus irmãos e pelo seu humor maravilhoso. Amo você.

Ao meu orientador, *Prof. Dr. Charles dos Santos Estevam*, pela paciência, pelo conhecimento transmitido, pela amizade e confiança depositada em mim durante todos os anos de iniciação científica e mestrado. Aprendi muito, conservo amizades de vida e sou grata pela forma ímpar que me acolheu no seu grupo de pesquisa, me presenteando com a família LQPNB.

Ao *Prof. Dr. Samuel Bruno*, pela paciência, amizade, incentivo nos dias difíceis, pela transmissão de conhecimento e pelo cuidado durante todos os anos de pesquisas. Obrigada.

À *Profª. Drª. Brancilene Santos de Araújo* pela gentileza e disposição ao tirar minhas dúvidas, pelas sugestões e dicas fundamentais a esta pesquisa, e principalmente pelo apoio do seu laboratório durante as análises biológicas e em todos os outros momentos do trabalho; seu espaço de trabalho foi a minha segunda casa, além do LQPNB. Sou grata.

À *Profª. Drª. Andrea Yu Kwan Villar Shan*, por todo apoio, carinho, sugestões, correções e incentivo para que esta pesquisa ocorresse.

Ao *Prof. Dr. Américo Souza*, por colaborar com críticas e sugestões ao desenvolvimento da pesquisa. Ao *Prof. Dr. Waldecy de Luca Junior* pela gentileza, doação de tempo e espaço durante os testes de citotoxicidade. Muito obrigada.

Aos membros do LQPNB, obrigada pelo apoio, convívio, ajuda e descontração nos momentos apertados. Sou grata pelos anos de compartilhamento e pelas amizades que trago comigo.

Ao IC *Vinicius*, agradeço pela ajuda singular, compreensão, comprometimento, paciência e momentos filosóficos durante as análises; você é um profissional excelente e um ser de muita luz.

Anamaria, sua ajuda e companhia fora e dentro da pesquisa foram muito importante pra mim, você merece o mundo. Sua dedicação te leva a lugares maravilhosos, você é grande! Sem você o trabalho não seria o mesmo. Obrigada.

Às minhas colegas de mestrado, agradeço os momentos de aprendizado e partilha de momentos importantes. À *Karina Mota*, pelo seu apoio durante as análises desta pesquisa, muito obrigada!

Às amigas que a graduação me trouxe, que foram colegas de IC/Mestrado e que agora são amigas de vida: *Ludmila*, *Andressa*, *Melina*, *Rafaela*. Sou grata pela amizade e companheirismo de vocês, é bom saber e sentir que há pessoas especiais em minha vida. Foram tantos encontros, companhias

em experimentos, almoços, cafés, risadas, choros e sonhos que nem consigo mensurar o tamanho da gratidão. Amo!

À *Clívia Rolemberg (in memorian)*, meu ser de luz, amiga que o laboratório me presenteou e levei pra vida, isso inclui *Clisiane Carla, André Luiz e Antônio Dias*, vocês foram e são extremamente importantes, aprendo diariamente com a nossa partilha de afeto, exemplo e carinho.

Aos meus amigos, que me ouvem, que compartilham experiências, risadas, projetos de vida, sonhos e conselhos, que fazem meus dias leves; muito obrigada... *Wesley, Suyan, Sara, Yamaara, Willy, Guilherme*.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro.

Ao corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, pelos ensinamentos ao longo do curso.

À Universidade Federal de Sergipe, pelo suporte e estrutura ao desenvolvimento deste projeto e aos longos anos, quase nunca fáceis, de aprendizados durante a graduação e pós-graduação.

Por fim, a todos aqueles que contribuíram de forma direta e indireta para a realização deste trabalho. Muito obrigada!

Pietra Alexia Lima dos Santos, Charles dos Santos Estevam, PERFIL QUÍMICO E ATIVIDADE BIOLÓGICA DE *Abarema cochliacarpus* (Gomes) Barneby & J. W. Grimes, Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia (PROBIO), 2020

Resumo:

Abarema cochliacarpus é uma espécie endêmica do Brasil, pertence à família Fabaceae e é conhecida popularmente como barbatimão, estando presente na caatinga e cerrado brasileiro. Em Sergipe, seu uso é em forma de chás para atividades anti-inflamatória e cicatrizante. Como objetos deste estudo foram utilizadas as folhas do vegetal a fim de conhecer qualitativamente os constituintes químicos das frações obtidas a partir do extrato bruto: fração clorofórmica (FCL), fração hexânica (FHX), fração acetato de etila (FAE) e fração hidrometanólica (FHM) através da prospecção fitoquímica por ensaios colorimétricos, sendo detectada a presença de metabólitos secundários como fenóis, taninos, flavonóis, catequinas, esteroides, triterpenóides e saponinas. A determinação quantitativa do teor de fenóis, flavonoides e flavonóis das frações foi realizada em triplicata e três repetições sendo os dados expressos como média \pm desvio padrão e as diferenças determinadas por ANOVA seguida de pós teste de Tukey. O maior teor de fenóis foi de $369,40 \pm 20,29$ mg de EAG.g⁻¹ na FAE, seguido da FCL com $271,16 \pm 9,38$ mg de EAG.g⁻¹. Na análise de flavonoides, a FCL apresentou o maior teor com $64,60 \pm 0,41$ mg de EQ.g⁻¹, seguido da FHM com $56,37 \pm 3,06$ mg de EQ.g⁻¹; enquanto na determinação de flavonóis a FHX apresentou um teor de $138,63 \pm 7,16$ mg de ER.g⁻¹ e a FAE $94,71 \pm 4,01$ mg de ER.g⁻¹. Para a determinação da atividade antioxidante, foi usado o método do radical livre DPPH, no qual a FAE, FHM e FCL reduziram o radical e apresentaram valores de CE₅₀ de $3,95 \pm 0,281$ µg.mL⁻¹; $6,22 \pm 0,383$ µg.mL⁻¹ e $21,12 \pm 0,542$ µg.mL⁻¹, respectivamente. Na análise antimicrobiana apenas duas frações apresentaram halos de inibição. A FAE para as cepas de *Staphylococcus aureus* (19,3 mm), *Enterococcus durans* hiraе (10 mm), *Escherichia coli* derivada (9,6 mm) e *Pseudomonas aeruginosa* derivada (15 mm), e a FCL para a cepa *E. durans* hiraе (9 mm). Na concentração inibitória mínima (MIC) a FAE sobressaiu-se com $12,5$ µg.mL⁻¹ para a *S. aureus* e *E. durans*, enquanto a FCL obteve 25 µg.mL⁻¹ para *E. durans*. Quanto à análise citotóxica, a FAE nas concentrações testadas não favoreceu a viabilidade celular em 75%, apresentando capacidade antiproliferativa, exceto a FLC a 20 µg.mL⁻¹. A FAE e FCL apresentaram propriedades antioxidantes e obtiveram efeito antimicrobiano, além de possuírem metabólitos que corroboram com essas funções.

Palavras-chaves: *Abarema cochliacarpus*, folhas, atividade antioxidante, atividade biológica, análise citotóxica, compostos fenólicos.

Pietra Alexia Lima dos Santos, Charles dos Santos Estevam, CHEMICAL PROFILE AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF *Abarema cochliacarpus* (Gomes) Barneby & J. W. Grimes, Master's Dissertation, Biotecnology Postgraduate Program (PROBIO), 2020

ABSTRACT:

Abarema cochliacarpus is an endemic species in Brazil, belongs to the Fabaceae family and is popularly known as barbatimão, presenting at the Brazilian savannah and savanna. In Sergipe, it is used as teas for anti-inflammatory and healing activities. As an object of this study, the leaves of the vegetable were used with the purpose to know qualitatively the chemical constituents of the chloroform fraction (FCL), hexane fraction (FHX), ethyl acetate fraction (FAE) and hydromethanolic fraction (FHM) through phytochemical prospecting by colorimetric tests, it was detected the presence of secondary metabolites such as phenols, tannins, flavonols, catechins, steroids, triterpenoids and saponins. The quantitative determination of the content of phenols, flavonoids and flavonols of the fractions was carried out in triplicate and three replicates, the data expressed as rate \pm standard deviation and the differences determined by ANOVA, followed by the Tukey test. The highest phenol content was 369.40 ± 20.29 mg of EAG.g⁻¹ in FAE, followed by FCL with 271.16 ± 9.38 mg of EAG.g⁻¹. In the analysis of flavonoids, FCL had the highest content with 64.60 ± 0.41 mg of EQ.g⁻¹, followed then FHM with 56.37 ± 3.06 mg of EQ.g⁻¹; while in the determination of flavonols, FHX had a content of 138.63 ± 7.16 mg of ER.g⁻¹ and FAE 94.71 ± 4.01 mg of ER.g⁻¹. The DPPH free radical method was used to determinate the antioxidant activity, in that FAE, FHM and FCL reduced the radical and presented EC₅₀ values of 3.95 ± 0.281 $\mu\text{g.mL}^{-1}$; 6.22 ± 0.383 $\mu\text{g.mL}^{-1}$; 21.12 ± 0.542 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, respectively. Only two fractions showed inhibition halos in the antimicrobial analysis, the FAE for the strains of *Staphylococcus aureus* (19.3 mm), *Enterococcus durans* hiraе (10 mm), derived *Escherichia coli* (9.6 mm) and derived *Pseudomonas aeruginosa* (15 mm), and the FCL for the *E. durans* hiraе strain (9 mm). The FAE, in the minimum inhibitory concentration (MIC), FAE stood out with 12.5 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ for *S. aureus* and *E. durans*, while FCL obtained 25 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ for *E. durans*. In the cytotoxic analysis, the FAE did not favor cell viability in 75% in the tested concentrations, presenting antiproliferative capacity, except for FLC at 20 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. FAE and FCL had antioxidant properties, and an antimicrobial effect, in addition to have metabolites that corroborate these functions.

Keywords: *Abarema cochliacarpus*, leaves, antioxidant activity, cytotoxic analysis, biological activity, phenolic compounds.

Sumário

Resumo.....	i
Abstract	ii
Lista de Figuras	v
Lista de Tabelas.....	vi
Abreviaturas	vii
1. Introdução.....	1
2. Objetivos.....	3
2.1. Objetivo geral	3
2.2. Objetivos específicos.....	3
3. Revisão de literatura	4
3.1. Família Fabaceae (Leguminosae).....	4
3.1.1. Gênero Abarema.....	4
3.1.2. <i>Abarema cochliacarpus</i> (Gomes) Barneby & J.W. Grimes.....	5
3.2. Estresse Oxidativo – Radical Livre – Atividade Antioxidante	7
3.3. Agentes Antimicrobianos	9
3.4. Toxicidade e Análise de Citotoxicidade (<i>in vitro</i>)	11
4. Material e Métodos.....	14
4.1. Coleta e Identificação do material vegetal	14
4.2. Obtenção das Frações das Folhas de <i>Abarema cochliacarpus</i>	14
4.3. Prospecção Fitoquímica das Folhas de <i>Abarema cochliacarpus</i>	14
4.3.1. Prospecção Fitoquímica	14
4.3.2. Teste para Fenóis e Taninos	15
4.3.3. Teste para Antocianinas, Antocianidinas e Flavonoides.....	15
4.3.4. Teste para Leucoantocianidinas, Catequinas e Flavononas	15
4.3.5. Teste para Esteroides e Triterpenoides (Liebermann-Buchard).....	16
4.3.6. Teste para Saponinas	16
4.3.7. Teste para Alcalóides	17
4.4. Determinação de Fenóis Totais	17
4.5. Determinação de Flavonóides Totais	18
4.6. Determinação de Flavonóis Totais	18
4.7. Atividade Antioxidante (<i>In vitro</i>).....	19
4.7.1. Determinação pelo Método do Radical Livre 2,2 difenil-1-picril hidrazila (DPPH).....	19
4.8. Avaliação da Atividade Antimicrobiana	20
4.8.1. Teste de Difusão em Ágar	20

4.8.2. Concentração Inibitória Mínima (MIC)	21
4.9. Análise de Citotoxicidade (<i>in vitro</i>)	21
4.10. Análise Estatística	22
5. Resultados e Discussão	23
5.1. Prospecção Fitoquímica (Teste qualitativo)	23
5.2. Determinação do Teor de Fenóis, Flavonoides e Flavonois Totais	24
5.3. Determinação da Atividade Antioxidante frente ao radical livre DPPH.....	26
5.4. Avaliação da Atividade Antimicrobiana	28
5.5. Análise de Citotoxicidade (<i>in vitro</i>)	30
6. Conclusão	33
7. Perspectivas	34
Referências	35

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1. *Abarema cochliacarpus* (Gomes) Barnabey & J.W. Grimes: (A). Árvore; (B). Inflorescência E Folhas; (C). Fruto.....6
- FIGURA 2. Estrutura Química de Flavonoide.....9
- FIGURA 3. Efeito da FAE e FCL das folhas de *Abarema cochliacarpus* frente à viabilidade celular dos macrófagos J774 a partir do ensaio do brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2-5difeniltetrazólio, MTT.....31

LISTA DE TABELAS

TABELA 1.	Detecção colorimétrica de antocianinas, antocianidinas, flavonoides e chalconas.....	15
TABELA 2.	Detecção colorimétrica de leucoantocianidinas, catequinas e flavononas.....	16
TABELA 3.	Prospecção fitoquímica das frações das folhas de <i>Abarema cochliacarpus</i>	24
TABELA 4.	Determinação quantitativa do teor de fenóis, flavonoides e flavonóis totais nas frações das folhas de <i>Abarema cochliacarpus</i>	25
TABELA 5.	Potencial antioxidante frente ao radical livre DPPH das frações das folhas de <i>Abarema cochliacarpus</i> e controle positivo ácido gálico.....	27
TABELA 6.	Teste antimicrobiano qualitativo da FAE (100 mg.mL ⁻¹) e FCL (100 mg.mL ⁻¹) das folhas de <i>Abarema cochliacarpus</i>	28
TABELA 7.	Teste antimicrobiano quantitativo (Concentração Inibitória Mínima – MIC) da FAE e FCL das folhas de <i>Abarema cochliacarpus</i>	29

ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA: Análise de variância

ASE: Herbario da Universidade Federal de Sergipe

ATCC: American Type Culture Collection

CE₅₀: Concentração Efetiva em 50%

DMSO: Dimetilsulfóxido

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

DPPHREM: 2,2 difenil-1-picril hidrazila remanescente

ELISA: Enzyme Linked Immunosorbent Assay, Ensaio imunoenzimático

EQ: Equivalente de quercetina

ER: Equivalente de rutina

ERO: Espécie reativa de oxigênio

EAG: Equivalente de ácido gálico

EHE: Extrato hidroetanólico

FAE: Fração acetato de etila

FCL: Fração clorofórmica

FHM: Fração hidrometanólica

FHX: Fração hexânica

IAA: Índice de Atividade Antioxidante

MTT: Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2-5-difeniltetrazólio

1. INTRODUÇÃO

A utilização de plantas com a finalidade de obtenção da cura e tratamento de diversas doenças estende-se desde os tempos mais remotos até os dias atuais, sendo uma prática comum em todo o mundo (NOLDIN et al., 2006; VEIGA-JÚNIOR, 2008). Em algumas comunidades, esta prática, na maioria das vezes, é o principal recurso terapêutico. Atualmente, sabe-se que as plantas, ditas medicinais, são uma inesgotável fonte de substâncias bioativas e, por isso, vem sendo estudadas extensivamente por diversas instituições de pesquisa. Particularmente no Brasil, em que há uma ampla biodiversidade de flora, contando com aproximadamente 20% da diversidade florística global, essa busca vem se difundindo (SILVA, DUARTE, VIEIRA, 2014) muito embora, a passos lentos.

As plantas produzem substâncias denominadas de metabólitos secundários, produzidas a partir de adaptações edafoclimáticas e/ou condições de estresse, colocando-os como essenciais para sua defesa e perpetuação (SIMÕES et al., 2007). Esta função produz consideráveis efeitos biológicos, tornando-as fontes interessantes para pesquisas farmacológicas. Muitas espécies vegetais são utilizadas na medicina popular, entretanto, conhecer seus constituintes químicos e verificar experimentalmente suas aplicações é imprescindível para a qualidade e a segurança do tratamento de quem faz uso (FIRMO et al., 2011). Além disso, estes estudos colaboram para a obtenção de novas substâncias que possam atuar como agentes terapêuticos ou para servir como matéria-prima na produção de fitofármacos (BARREIRO, FRAGA, ARAÚJO JÚNIOR, 2007).

Neste sentido, há um grande interesse em buscar compostos químicos vegetais que apresentam atividades biológicas, como por exemplo, espécies que possuam efeito antioxidante e antimicrobiano. Muschiete, Martino (2009) relatam que, entre os metabólitos secundários, os compostos fenólicos, de maneira geral, atuam na captura e neutralização de radicais livres ou ainda ligam-se a íons metálicos, impedindo-os de atuarem como catalizadores dos processos oxidativos. Outros autores, como Kumar, Pandey (2013), tratam os flavonoides como poderosos antioxidantes, e pesquisas relatam a presença do metabólito tanino nas plantas como um dos indicadores de atividade antimicrobiana (MAIA, 2009).

Diante disso, destaca-se, neste trabalho, a espécie vegetal *Abarema cochliacarpus* (Gomes) Barneby & J. W. Grimes, conhecida popularmente como “Barbatimão”, que é rica em compostos de natureza fenólica (SKOTTI et al., 2014). É uma planta pertencente à família Fabaceae, endêmica do Brasil, presente no estado de Sergipe (LANDIM et al., 2015) e está distribuída nos biomas Mata Atlântica, Caatinga e Cerrado (DA SILVA et al., 2010). Sua entrecasca é utilizada na forma de chá e/ou garrafadas, principalmente na região Nordeste do Brasil, para o tratamento e cura de vários problemas de saúde, tais como: úlceras, feridas de difícil cicatrização, gastrite, inflamação, leucorreias e corrimento vaginal (SILVA et al., 2010).

Sua constituição química apresenta saponinas, catequinas, taninos, fenois, antraquinonas (SILVA et al., 2009), flavonoides, proantocianidinas, entre outros (DA SILVA et al., 2010; DIAS et al., 2012). As entrecasas de *A. cochliacarpus*, coletadas no estado de Sergipe apresentaram em sua composição química catequinas, saponinas, taninos, compostos fenólicos e proantocianidinas (DIAS, 2015). Vale ressaltar, que esses metabólitos, além da atividade antioxidante, podem apresentar diversos benefícios terapêuticos, como ação anti-inflamatória e cicatrizante, antitumoral e antimicrobiana (SIMÕES et al., 2007). As folhas da espécie também apresentaram potencial antioxidante e antimicrobiano (DIAS, 2015) fato que gera uma perspectiva positiva para a descoberta de novos antibióticos que possam atuar sozinhos ou como coadjuvantes em patologias de origem microbiológicas.

Na medicina popular é escasso o conhecimento relacionado às folhas de *A. cochliacarpus*, uma vez que, a sua entrecasca é a parte da planta mais utilizada, podendo comprometer a manutenção do vegetal com o manejo incorreto da população durante a coleta (DIAS, 2015). Além de que a maioria dos trabalhos com material vegetal se baseiam em estudos etnofarmacológicos, logo, é comum que utilizem partes vegetais de uso recorrente na população (MACIEL et al., 2002); levando às folhas de *A. cochliacarpus* pouca visibilidade.

Diante disso, tendo em vista que a *A. cochliacarpus* é rica em metabólitos secundários que levam à ação antioxidante e antimicrobiana, além da importância da continuidade de estudos etnofarmacológicos de plantas medicinais e a oportunidade de atribuir um novo olhar às folhas do vegetal, este trabalho teve como objetivo identificar e quantificar os principais constituintes químicos de frações derivadas do extrato hidroetanólico das folhas responsivos à atividade antioxidante e antimicrobiana exibida pelo vegetal; gerando, a partir da matéria-prima, insumos bioativos que permitam agregar valor à espécie e conhecimentos à população.

2. OBJETIVOS

2.1. Geral

Verificar o potencial antimicrobiano e antioxidante das frações das folhas de *A. cochliacarpus*, bem como conhecê-las quimicamente.

2.2. Específicos

- Detectar as principais classes de constituintes químicos presentes nas frações obtidas.
- Quantificar o teor de fenóis, flavonóis e flavonoides das frações obtidas das folhas de *A. cochliacarpus*.
- Verificar o potencial antioxidante e antimicrobiano das frações obtidas.
- Analisar a citotoxicidade das frações que apresentaram atividade biológica.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1. Família Fabaceae (Leguminosae)

Fabaceae ou Leguminosae é uma das famílias mais importantes quando se trata do processo evolutivo de plantas com flores. É a terceira maior família de Angiospermas (IGANCI, 2008) com uma distribuição global abrangendo todos os principais biomas, destacando-se como a mais abundante na Amazônia e Caatinga seguida então, da Mata Atlântica, Cerrado e Pantanal (BFG, 2015).

A família se dispõe desde grandes árvores nas florestas tropicais até arbustos, ervas e herbáceas enaltecendo sua variedade morfológica. Além disso, ela é tida como uma das mais importantes do ponto de vista social e econômico devido a sua utilização pela comunidade através da cultura alimentar, como soja (*Glycine max* (L.) Merr.), amendoim (*Arachis Hypogaea* L.) e feijão culinário (*Phaseolus vulgaris*) (LPWG, 2013); e do uso na medicina popular, como *Abarema cochliacarpus* (SATURNINO-OLIVEIRA et al., 2014).

Essa família possui cerca de 751 gêneros e aproximadamente 19.500 espécies (LEWIS et al., 2005; LPWG, 2013). Sendo que no Brasil há cerca de 176 gêneros e 3.200 espécies (IGANCI, MORIM, 2009; GIULIETTI et al., 2005). Estudos filogenéticos tem apresentado o monofiletismo da família, dividindo-a em três subfamílias usuais: Caesalpinioideae, Mimosoideae e Papilionoideae (IGANCI, MORIM, 2009), com a nova classificação para a família Fabaceae/Leguminosae proposta pelo Legume Phylogeny Working Group (LPWG). A subfamília Mimosoideae é uma linhagem distinta, inclusa na subfamília Caesalpinioideae, denominada de Clado Mimosoide, contendo mais de 3.300 espécies (ESCOBAR, SILVA, TOZZI, 2017).

O Clado Mimosoide abrange previamente todos os gêneros da subfamília Mimosoideae distribuídos em zonas tropicais e temperadas. No Brasil ele contém 35 gêneros e 818 espécies, incluindo o gênero *Abarema* (ESCOBAR, SILVA, TOZZI, 2017; PIRES, 2011).

3.1.1. Gênero *Abarema*

O gênero *Abarema* foi estabelecido por Pittier no ano de 1927, baseado na seção *Pithecellobium Abaremotemon*. Atualmente o gênero é composto por 50 espécies restritas à região Neotropical (IGANCI, MORIM, 2012). O gênero *Abarema* é reconhecido como monofilético da tribo Ingeae (GRIMES, 1995), a qual é reconhecida na subfamília Mimosoideae que pertence à família Fabaceae (LEWIS et al., 2005). A maioria das espécies de *Abarema* dispostas na região extra-amazônica do Brasil carrega consigo uma diversidade nos caracteres morfológicos, percebidos principalmente em suas folhas (IGANCI, MORIM, 2009).

Quanto as suas características morfológicas, o gênero é constituído por espécies arbustivas e arbóreas, com folhas bipinadas, sendo uma característica da subfamília Mimosoideae. Seus frutos contêm endocarpo ocre ou vermelho, sementes bicolores e pleurogramáticas (ARCE, COOKE, 1997), características estas que auxiliam no reconhecimento fácil em campo quando em frutificação (BARNEBY, GRIMES, 1996).

Com base nas pesquisas frente aos bancos de dados disponíveis, percebe-se o pouco volume de estudos voltados à área química, biológica e farmacológica das espécies do gênero *Abarema*. Algumas de suas espécies são utilizadas na indústria madeireira e combustível como a *Abarema auriculata* (Benth.) Barneby & J.W.Grimes (MARÍN-CORBA et al., 2005), e na medicina popular, como *Abarema filamentosa* e *Abarema cochliacarpus* (IGANCI, 2008), esta última é o objetivo de estudo do presente trabalho.

3.1.2. *Abarema cochliacarpus* (Gomes) Barneby & J. W. Grimes

Abarema cochliacarpus é uma espécie vegetal conhecida na medicina popular como Barbatimão, Barbatenã, Bordão-de-velho e Ingá-negro (ALBUQUERQUE et al., 2007; IGANCI, MORIM, 2012), endêmica do Brasil distribui-se entre as regiões Nordeste e Sudeste do país, nos estados de Sergipe, Alagoas, Bahia, Ceará, Pernambuco, Paraíba, Minas Gerais, Espírito Santo e São Paulo; sendo encontrada nos biomas de Cerrado, Caatinga e Mata Atlântica (BFG, 2018; ALBUQUERQUE et al., 2007).

A. cochliacarpus não se encontra mais na categoria em extinção, tendo em vista à grande extensão de ocorrência e a área de ocupação da espécie vegetal. Entretanto, há uma ameaça de declínio da espécie no bioma da Caatinga devido às práticas de expansão agrícola (WATKINSON, 2012). A planta em estudo é uma das únicas espécies do gênero que pode ser encontrada no Cerrado no norte do Brasil. Ela frutifica e floresce durante todo o ano, além de possuir alta plasticidade fenotípica quanto às formas e tamanhos das folhas e folíolos, muitas vezes relacionados à umidade e profundidade do solo; nas florestas ombrófilas densas e florestas semidecíduas, a espécie pode apresentar até 30m de comprimentos (IGANCI, MORIM, 2012).

Botanicamente, *A. cochliacarpus* (figura 1) pode se apresentar em forma de árvores e arbustos com altura de 3 a 30m e possui ramos pubescentes, pulverulentos e ferruginosos. Estípulas decíduas, raques pubescentes e canaliculados, folhas com 2, 3 ou 4 pares de pinas, alternadas com nectários sésseis, orbiculares e pateliformes entre os pares de pinas, pecíolo de 1 – 4cm, folhetos de 3,5 – 7,0 x 1,8 – 4,0cm, membranáceos com a maioria lanceolados, ápice acuminado às superfícies agudas, adaxiais e abaxiais glabras; coflorescências homomórficas, sinflorescências axilares, racemos caídos, pedúnculos de 3,5 – 10, 5cm. Bráctea floral lanceolada, flores pentâmeras, subsésseis às pediceladas nas flores da base da inflorescência e subsésseis às flores do ápice.

Corola verde, gamopétala, glabra ou indumentada, androceu com muitos estames, ovário súpero, subséssil, glabro ou piloso, estigma puntiforme. Fruto falcado, espiralado, com endocarpo de coloração rubra; sementes bicolors com pleurograma mediano-basal aberto, embrião com plúmula diferenciada em pinas e folhetos (IGANCI, MORIM, 2009; 2012).



Figura 1. *Abarema cochliacarpus* (Gomes) Barnabey & J.W. Grimes: (A). árvore; (B). inflorescência e folhas; (C). fruto. Localização: Povoado Caípe, São-Cristóvão, Sergipe/Brasil. Foto: Ludmila Cruz.

O uso do vegetal na medicina popular é a partir do decocto do material, principalmente sua entrecasca, com o objetivo de tratamento e cura de feridas, úlceras, gastrite, inflamação, leucorréia, corrimento vaginal e dermatites (SILVA et al., 2010; DIAS, 2015). Estudos tem comprovado o uso desta espécie como cicatrizante, com um bom potencial anti-inflamatório, com ação antimicrobiana, antioxidante e antiulcerogênica (DA SILVA et al., 2010; DIAS et al., 2012; DIAS, 2015). A casca da espécie *A. cochliacarpus* é a sua parte mais estudada, sendo composta quimicamente por metabólitos secundários como, saponinas, catequinas, taninos, fenóis, flavonoides, antraquinonas e proantocianidinas (SILVA et al., 2009; DA SILVA et al., 2010; DIAS et al., 2012).

Na busca por estudos de isolamento e caracterização química de *A. cochliacarpus*, observou-se que pesquisas relacionadas à família (Fabaceae) e subfamília (Mimosaceae) da mesma são frequentes, enquanto que trabalhos sobre a espécie deste estudo são escassos. Santos et al.,

2002, por exemplo, identificou catequinas, como epicatequina, epigalocatequina e galato de epigalocatequina em cascas de espécies da subfamília Mimosaceae; em análise por cromatografia de camada delgada (CCD), observou que o extrato da casca de *Dimorphandra mollis*, espécie da família Fabaceae, contém principalmente monômeros de catequinas e oligômeros de taninos condensados, enquanto o extrato das folhas da mesma espécie apresentaram glicosídeos de flavonol.

Da Silva et al., (2010) a partir de uma triagem fitoquímica da fração butanólica de *A. cochliacarpus* utilizando espectrometria de massas com ionização electrospray (ESI/MS) observou um alto conteúdo de polifenóis, além de taninos condensados, proantocianidinas e, como principal constituinte foi detectado catequinas com seus dímeros e trímeros. Pires (2011) isolou e identificou alguns metabólitos secundários da espécie *A. cochliacarpus*, entre eles o flavonol tetrahidroxilado encontrado na fração acetato de etila do extrato etanólico proveniente da casca, flavonoide miricetina-3-O- α -L-ramnopiranosídeo e o éster etílico do ácido gálico proveniente da fração acetato de etila do extrato etanólico das folhas. Dias, 2011 isolou e identificou o metabólito catequina da fração acetato de etila do extrato etanólico oriundo da casca de *A. cochliacarpus*.

3.2. Estresse Oxidativo - Radical Livre - Atividade Antioxidante

O estresse oxidativo é causado pelo desequilíbrio redox entre as espécies reativas de oxigênio (ERO) e espécies reativas de nitrogênio (ERN), e a capacidade das células de neutralizar esse desequilíbrio pela defesa antioxidante (PERSSON, POPESCU, CEDAZO-MINGUEZ, 2014). O dano oxidativo, na maioria das vezes, está atrelado ao aumento da produção dessas espécies reativas ou da diminuição da função protetora antioxidante (NETO, 2015). A produção das espécies reativas está ligada à formação de radicais livres que são tidos como moléculas que apresentam um ou mais elétrons desemparelhados em sua última camada eletrônica, tornando-os mais reativos com outras moléculas (HALLIWELL, 1992).

A formação desses radicais livres em ERO, por exemplo, está associada principalmente à superprodução do ânion superóxido ($O_2^{\bullet-}$), muito ligado ao estresse oxidativo, sendo responsável por possíveis disfunções celulares e alterações biológicas, tais como: aterosclerose, diabetes mellitus, resistência à insulina, inflamação, câncer e o envelhecimento (AVELAR et al., 2015). Apesar dos seus efeitos deletérios, há importância para a proteção do organismo contra infecções causadas por patógenos, além do envolvimento nos processos metabólicos celulares de produção de energia, regulação de crescimento e sinalização celular, bem como a síntese de novas moléculas e fagocitose (LUSHCHAK, 2015).

Para ERN, o óxido nítrico (NO^{\bullet}) é sintetizado no organismo pela enzima óxido nítrico sintase (NOS), a qual converte o aminoácido L-arginina à L-citrulina com formação de NO^{\bullet} ; esse

radical é abundante e atua em processos biológicos importantes, como sinalização celular, mecanismos de defesa, regulação do sistema imunológico e relaxamento muscular (BILD et al., 2013). Durante uma reação oxidativa desencadeada por processos inflamatórios as células do sistema imunológico produzem uma quantidade elevada de ($O_2\bullet^-$) e ($NO\bullet$). Nessas condições, superóxido e óxido podem reagir entre si, gerando o radical peroxinitrito ($ONOO^-$) que se comporta como um potente agente oxidante e nitrosilante, podendo causar fragmentação do DNA e oxidação lipídica (RADI, 2013; NETO, 2015).

Diante do processo oxidativo supracitado, podem existir compostos, que quando presentes em concentrações menores comparadas ao meio oxidável são capazes de prevenir ou retardar a oxidação do substrato (NETO, 2015). Para esses compostos é dado o nome de substâncias antioxidantes, as quais capturam os radicais livres neutralizando ou eliminando ERO e ERN causando diminuição do estresse oxidativo, prevenindo mutações de DNA e transformações malignas, bem como outros efeitos deletérios no meio celular (CERQUEIRA, MEDEIROS, AUGUSTO, 2007; GODIC et al., 2014). A ocorrência de um desequilíbrio redox pode acometer o organismo de um processo inflamatório sistêmico, o que causa ativação de mediadores inflamatórios induzidos pelo estresse oxidativo. Em contrapartida o organismo dispõe de defesas antioxidantes endógenas, que inclui as enzimas catalase, glutathione peroxidase e superóxido dismutase; além de sequestradores não enzimáticos de ERO: ácido úrico e ácido lipóico (ESPINOSA-DIEZ et al., 2015; TAN et al., 2018).

Estudos relatam que substâncias antioxidantes exógenas provenientes de vegetais e frutas auxiliam o sistema de defesa antioxidante endógeno. Essas substâncias como a vitamina C, vitamina E, carotenoides e compostos polifenólicos do tipo ácidos fenólicos e flavonoides são uma das principais fontes antioxidantes (PSOSCHI, POP, 2015). Os polifenólicos são um dos destaques para antioxidantes exógenos, sendo que nos vegetais exercem função de pigmentação, proteção contra raios ultravioleta, ação antioxidante, defesa contra-ataques microbiológicos, dentre outras (NACZK, SHAHIDI, 2006).

Os flavonoides, por exemplo, são compostos oriundos do metabolismo secundário de plantas, os quais apresentam uma estrutura química caracterizada por dois anéis aromáticos ligados por um anel heterocíclico oxigenado (Figura 2), tornando-os ideais para o sequestro de radicais livres.

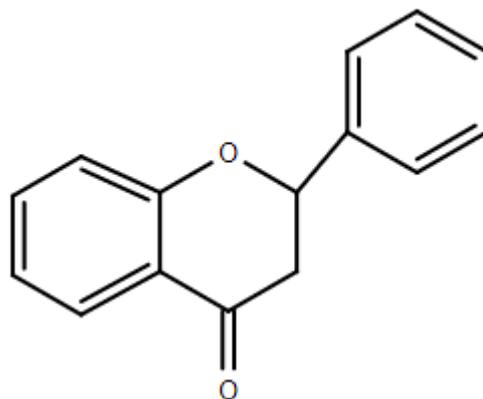


Figura 2. Estrutura química de Flavonoide.
Fórmula molecular: C₁₅H₁₂O₂. Fonte: Autora.

Aproximadamente 4000 compostos de flavonoides foram descritos. As maiores classes estudadas são os flavonóis, flavonas ou catequinas, isoflavonas e antocianidinas, trazendo uma grande variação em suas estruturas químicas, o que promove as atividades biológicas desses compostos, além de fatores como: reatividade como agente doador de hidrogênio e elétrons, estabilidade do radical flavonoil formado, bem como a capacidade de quelar metais de transição (CERQUEIRA, MEDEIROS, AUGUSTO, 2007). Estudos comprovam as atividades biológicas de compostos fenólicos, como sua ação cicatrizante, antimicrobiana e anti-inflamatória (OLIVEIRA et al., 2009; DIAS, 2015), especialmente por seu potencial antioxidante.

3.3. Agentes Antimicrobianos

Agentes antimicrobianos são compostos naturais ou sintéticos capazes de inibir o crescimento e a reprodução do patógeno, causando efeito bacteriostático, e/ou induzir a morte, causando um efeito bactericida (FERREIRA, 2007). O mecanismo de ação da maioria dos antimicrobianos pode ser dividido em: inibição da síntese da parede celular, inibição da função da membrana celular, inibição da síntese de proteínas, inibição da síntese de ácidos nucleicos e ação antimetabólito (GADÉA, 2008).

As infecções causadas por bactérias têm sido uma das principais causas de morte em humanos (RASCH, 2019). Entre os anos 1940-1960, vários antibióticos foram descobertos a partir de produtos naturais microbianos. Nos anos 1960-1980 foram inseridos no mercado farmacêutico, antibióticos semi-sintéticos eficazes para o tratamento de patógenos Gram positivos e Gram negativos, enquanto nos anos 1980-2000 prevaleceu a genômica e as triagens de seleção de compostos naturais na busca por novos antibióticos (GUIMARÃES, MOMESSO, PUPO, 2010).

O uso indiscriminado desses compostos muitas vezes associado ao longo prazo de práticas inadequadas de prescrição, levou ao desenvolvimento de resistência bacteriana aos antibióticos enquadrando-se em uma das atividades que mais ameaça à saúde pública (CHATZOPOULOU, REYNOLDS, 2019). O microrganismo é considerado resistente a um determinado antibiótico, na prática clínica, quando suas cepas são capazes de crescer na presença de concentrações de antimicrobianos mais altas em relação às doses terapêuticas administradas em humanos, enquanto nos testes *in vitro*, as bactérias são ditas resistentes aos fármacos quando conseguem crescer na concentração inibitória mínima dos antimicrobianos (TRABULSI et al., 2004; TAVARES, BERTOLDI, BAISCH-MUCCILLO, 2008).

A resistência pode ser natural, quando os genes estão presentes no código genético da bactéria, e codificam enzimas que inativam o mecanismo de ação do fármaco; ou adquirida, quando os genes são inseridos por mutação tornando o microrganismo resistente ao fármaco de escolha (TRABULSI et al., 2004).

O agente antimicrobiano favorável deve possuir toxicidade seletiva, ou seja, o fármaco deve ser prejudicial ao patógeno e não ao hospedeiro. Porém, com o crescente aumento da resistência microbiana à essa classe de fármacos, há diminuição da perspectiva quanto ao uso de antibióticos e surge a progressiva busca de alternativas terapêuticas viáveis (GADÉA, 2008). Logo, o controle do uso indiscriminado de antibióticos e a ampliação de estudos sobre o aporte genético de resistência bacteriana são algumas das medidas que vem sendo sugeridas, trazendo a procura por pesquisas visando à descoberta e o desenvolvimento de novas drogas.

Assim, destaca-se a ampliação de pesquisas voltadas a avaliação de produtos naturais com possíveis fins terapêuticos e atividades biológicas como, por exemplo, a atividade antimicrobiana; tendo em vista que essas pesquisas tem ganhado espaço devido à rica diversidade, fácil acessibilidade e baixo custo de produtos oriundos de vegetais (COUTINHO et al., 2004; SANTOS et al., 2007). A Organização Mundial de Saúde (OMS) reconhece a importância do desenvolvimento de novos fármacos e aposta na qualidade do conhecimento tradicional dos produtos naturais quanto à necessidade de combater doenças que assolam populações dos países em desenvolvimento (FUNARI, FERRO, 2005; BRASIL, 2009).

Sabe-se que a utilização de espécies vegetais com finalidade medicinal é uma das mais antigas formas de aplicação na medicina popular, a OMS calcula que aproximadamente 65% da população em países desenvolvidos façam o uso dessa terapêutica, levando o Brasil a fazer parte do cenário mundial por conta da sua grande biodiversidade (CALIXTO, 2005; BRASIL, 2009). Essa situação favorável impulsiona as pesquisas quanto à busca de possíveis ações terapêuticas de produtos vegetais utilizado na medicina popular, sendo destaque estudos com extratos vegetais ricos em taninos e compostos fenólicos, bem como óleos essenciais de plantas (REIS, 2006).

Neste contexto, há uma variedade de pesquisas que visam determinar a atividade antimicrobiana, como por exemplo, o trabalho de Dias (2015), que relata a atividade antimicrobiana do extrato bruto da entrecasca da espécie vegetal utilizada no Nordeste brasileiro – *A. cochliacarpus* -, rica em compostos fenólicos, frente as bactérias Gram-positivas (*Staphylococcus coagulase negativo*) e Gram-negativas (*Pseudomonas aeruginosa*), onde obteve uma concentração inibitória mínima de $0,97 \mu\text{g.mL}^{-1}$ e $25 \mu\text{g.mL}^{-1}$, respectivamente. No trabalho de Virtuoso et al., (2005) o extrato bruto da casca de *Erythrina velutina*, uma planta oriunda da caatinga e utilizada na medicina popular apresentou atividade antimicrobiana para as bactérias *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus pyogenes*.

Segundo Maia (2009), a presença do metabólito tanino nas plantas é um dos indicadores de atividade antimicrobiana, o pesquisador obteve bons resultados ao testar o extrato aquoso e frações acetônicas de vegetais da família Cyperaceae em bactérias Gram positivas, destacando que essa família é conhecida pela sua riqueza em taninos. Através de cromatografia, o metabólito foi eliminado e as frações resultantes não apresentaram resultados frente às bactérias testadas, comprovando o papel essencial dos taninos a esta atividade biológica.

Além de taninos, terpenóides e óleos essenciais, outros compostos apresentam propriedades antimicrobianas, como compostos fenólicos (quinonas, flavonas, flavonóis, flavonoides e cumarinas), lectinas e polipeptídios. Esses agentes antimicrobianos provenientes de plantas podem agir como reguladores do metabolismo microbiano, ativando ou bloqueando reações enzimáticas, alterando estruturas de membranas e afetando diretamente a síntese enzimática (SCALBERT, 1991; ROSTAGNO, PRADO, 2013). Dessa forma, o conhecimento sobre o potencial terapêutico dos espécimes vegetais tem despertado o interesse científico, visto que, a maioria dos produtos naturais não tiveram suas potencialidades terapêuticas e biológicas efetivamente comprovadas (SOUZA et al., 2017).

A espécie vegetal deste trabalho (*Abarema cochliacarpus*) possui poucos estudos disponíveis na literatura no que se refere às possíveis atividades biológicas de suas folhas; Da Silva et al., (2010) relata que preparados do vegetal são utilizados pela população como cicatrizante, analgésico e anti-inflamatório, além de possuir metabólitos que corroboram para atividades biológicas.

3.4. Toxicidade e Análise de Citotoxicidade (*in vitro*)

As plantas produzem substâncias químicas que podem desencadear reações adversas devido aos próprios compostos ou através de contaminantes. Esses contaminantes podem ser resultados de preparações caseiras questionáveis, por exemplo. Fatores como estocagem do material vegetal, a dose utilizada, forma de uso, interações entre as plantas medicinais e contaminação por metais

pesados, pesticidas e toxinas fúngicas contribuem para o surgimento de uma reação tóxica (CAMPOS, 2016).

Espécies vegetais consideradas tóxicas contêm compostos que podem causar algum tipo de patologia em homens e animais, seja por inalação, ingestão ou contato tóxico e, em alguns casos, pode levar a graves distúrbios no organismo, inclusive a morte (JESUS, 2010; JESUS, SUCHARA, 2013). O reconhecimento e a identificação da espécie vegetal que provocou o quadro de intoxicação podem ser dificultados quando o indivíduo não relata o contato com determinada planta, além das rasas informações sobre o potencial tóxico da espécie (MONSENY et al., 2015), o que leva ao pouco conhecimento dos perfis toxicológico e farmacodinâmico da maioria das plantas medicinais e medicamentos fitoterápicos (VEIGA-JUNIOR, 2008).

A segurança de um fármaco é um dos pontos mais importantes para possível administração, sendo um fator primordial no sucesso da descoberta e busca por novas substâncias que reduzam patologias (SANTOS et al., 2015). Para tal, são utilizados testes *in vivo* de toxicidade com animais em laboratórios dispendendo de um controle cada vez mais rigoroso na padronização de protocolos, logo, o desenvolvimento e a padronização de testes *in vitro* que possam detectar a toxicidade de substâncias bioativas para uso em humanos se faz necessário (ROGERO et al., 2003).

Em um episódio de toxicidade celular ocorre uma resposta biológica no organismo que sinaliza a presença de uma substância nociva às células dos mamíferos (SANTOS et al., 2015), portanto, a avaliação da toxicidade consiste em submeter essas células a um ambiente composto da substância a ser testada, resultando em respostas que indiquem se houve morte ou proliferação celular (ROGERO et al., 2003; AVELAR FREITAS et al., 2014; RASCÓN-VALENZUELA et al., 2015).

Diante disso, metodologias *in vitro* para avaliar a toxicidade e viabilidade celular tem sido padronizadas, dentre elas, os ensaios colorimétricos como o da exclusão do azul de tripan (AVELAR-FREITAS et al., 2014), além do método com o sal brometo de [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio] (MTT) (MOSMAN, 1983). O método MTT tem sido utilizado para avaliar a viabilidade celular e atividade antiproliferativa de células, a avaliação por este ensaio baseia-se na absorção do sal MTT pelas células, o qual sofrerá redução a um produto denominado formazan por meio de enzimas oxidoreduzases (KIM et al., 2007).

A redução do MTT, um sal amarelo e solúvel em água, à formazan, um sal azul escuro e insolúvel em água, se dá a partir de desidrogenases mitocondriais presentes em células com metabolismo ativo. Além disso, o estudo citotóxico por esse método expressa um resultado de intensidade, quanto maior a intensidade do sal azul escuro, maior a capacidade das enzimas em reduzi-lo, e conseqüentemente, será maior o número de células viáveis (PERES et al., 2008; BURIOL et al., 2009).

O uso de culturas de células em ensaios *in vitro* para detectar a viabilidade celular através do MTT tem apresentado resultados significativos quanto a fácil manipulação, custos reduzidos e rapidez no tratamento de dados (BURIOL et al., 2009). Os resultados do MTT trazem o percentual de células viáveis submetidas a tratamentos com produtos biológicos em relação às células do controle positivo (AVELAR-FREITAS et al., 2014). Logo, a concentração de substâncias que reduzam 50% da atividade enzimática (CI50) é responsável em quantificar a inibição enzimática (OLIVEIRA, 2016).

As análises *in vitro* de citotoxicidade com amostras de plantas têm como intuito avaliar o potencial toxicológico das substâncias diante de células normais (DIAS, 2015), bem como, mensurar o grau de toxicidade diante de células transformadas geneticamente, visto que, a capacidade antirproliferativa dos compostos naturais contribui para a descoberta de substâncias quimioterápicas (RIBEIRO et al., 2012; ARAÚJO et al., 2014).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Coleta e identificação do material vegetal

As folhas de *A. cochliacarpus* (Gomes) Barneby & J. W. Grimes (Fabaceae) foram coletadas no povoado Caípe, sob as coordenadas 11° 0' 49" Sul 37° 13' 21" Oeste, Município de São Cristóvão – Sergipe. A identificação botânica foi feita pelo Herbário da Universidade Federal de Sergipe (ASE), sob número de registro ASE 40474. A Professora Doutora Ana Paula do Nascimento Prata do Departamento de Biologia da UFS foi responsável pela identificação botânica do espécime. As amostras coletadas foram mantidas em estufa com circulação de ar a 37°C, até completa desidratação.

4.2. Obtenção das frações das folhas de *Abarema cochliacarpus*

As folhas secas de *A. cochliacarpus* reduzidas a pó, com auxílio de um liquidificador, foram submetidas à extração em etanol a 90% durante 5 dias por maceração exaustiva. Foi utilizado 1,242 kg das folhas trituradas. Após o período de extração, o extrato hidroetanólico obtido foi filtrado e concentrado em evaporador rotativo sob pressão reduzida a 50°C.

Parte do extrato hidroetanólico produzido (56,20 g) foi dissolvido em uma solução metanol/água (2:3) e submetido à partição líquido-líquido para obtenção da fração hexânica (FHX), fração clorofórmica (FCL), fração acetato de etila (FAE) e fração hidrometanólica (FHM); com os respectivos solventes (ESTEVAM et al., 2009). Cada uma das frações foi concentrada em evaporador rotativo a 50°C sob pressão reduzida resultando em quatro frações, com rendimento de 680 mg (FHX), 600 mg (FCL), 9,47 g (FAE) e 34,47 g (FHM).

4.3. Prospecção Fitoquímica das Folhas de *Abarema cochliacarpus*

4.3.1. Prospecção Fitoquímica

Foram realizados testes qualitativos clássicos através de reações químicas que levam à formação de precipitados ou alteração de cor característica, com a finalidade de determinar a presença de classes de metabólitos secundários nas frações obtidas anteriormente. Para isso, foram utilizadas reações propostas por Matos (2009) e Shan et al., (2016) descritas a seguir, as quais, por meio de reagentes específicos, buscaram identificar a presença de derivados antracênicos,

alcalóides, heterosídeos cardiotônicos, cumarinas, esteróis, fenóis totais, flavonóides, flavanonóis, flavanonas, antocianinas, antocianidinas, taninos e xantonas.

4.3.2. *Teste para Fenóis e Taninos*

Esse teste baseia-se na capacidade do grupo dos taninos de se complexar com íons metálicos formando precipitados, e do cloreto de ferro em oxidar os fenóis. Foram adicionadas 3 gotas da solução alcóolica de cloreto férrico (FeCl_3) 1 mol.L^{-1} nos tubos correspondentes a fração hexânica (FHX), fração clorofórmica (FCL), fração acetato de etila (FAE) e fração hidrometanólica (FHM), depois de agitá-los foi observado qualquer variação de cor e/ou formação de precipitado escuro abundante. Como controle da reação foi utilizada uma amostra contendo somente água destilada e FeCl_3 . O surgimento de cor variando entre azul e vermelha é indicativo da presença de fenóis, enquanto a formação de precipitado azul escuro indica a presença de taninos pirogálicos (taninos hidrolisáveis) e de cor verde, a presença de taninos flabobênicos (taninos condensados ou catéquicos).

4.3.3. *Teste para Antocianinas, Antocianidinas e Flavonoides*

O teste baseia-se na capacidade dos esqueletos flavônicos de mudarem de cor, por ressonância eletrônica, em equilíbrio ácido-base. Para o ensaio foram necessários três tubos de ensaio para cada fração. Um dos tubos foi acidificado a pH 3 com ácido clorídrico (HCl) 1 mol.L^{-1} e os outros dois tubos foram alcalinizados a pH 8,5 e 11 com hidróxido de sódio (NaOH) 2 mol.L^{-1} . A observação de qualquer mudança da coloração da solução foi analisada conforme exposto abaixo (Tabela 1).

Tabela 1. Detecção colorimétrica de antocianinas, antocianidinas, flavonoides e chalconas.

Constituintes	Cor		
	pH = 3	pH = 8.5	pH = 11
Antocianidinas e antocianinas	Vermelha	Lilás	Azul-púrpura
Flavonas, flavonois e xantonas	-	-	Amarela
Chalconas e auronas	Vermelha	-	Vermelho-púrpuro
Flavononóis	-	-	Vermelho-laranja

Fonte: Matos, 2009.

4.3.4. *Teste para Leucoantocianidinas, Catequinas e Flavononas*

O teste baseia-se na possibilidade de levar a hidrólise dos *O*-heterosídeos flavônicos por temperatura. As hidrólises alcalinas e ácidas facilitam a identificação dos núcleos flavônicos. Para este ensaio, acidificou-se os tubos com as amostras por adição de HCl 1 mol.L⁻¹ até pH 1-3 e alcalinizou-se outros tubos com as amostras contendo NaOH 2 mol. L⁻¹ até pH 11. Os tubos foram aquecidos cuidadosamente com auxílio de uma lamparina. A observação de qualquer mudança na coloração foi comparada com os tubos correspondentes utilizados no teste anterior, sendo a interpretação dos resultados feita com base na tabela 2.

Tabela 2. Detecção colorimétrica de leucoantocianidinas, catequinas e flavononas.

Constituintes	Cor		
	pH = 3	pH = 8.5	pH = 11
Leucoantocianidinas	Vermelha	-	-
Catequinas (taninos catéquicos)	Parda amarela	-	-
Flavononas	-	-	Vermelho- laranja

Fonte: Matos, 2009.

4.3.5. Teste para Esteroides e Triterpenoides (Liebermann-Buchard)

Este teste é utilizado para averiguar a presença de núcleo esteroidal ou triterpenoidal. Para este ensaio foi preparado 10 mL de solução para cada fração utilizada, o resíduo seco das frações foi extraído com porções de 1-2 mL de clorofórmio (CHCl₃). A solução clorofórmica foi filtrada em um pequeno funil fechado com algodão coberto com alguns miligramas de sulfato de sódio (Na₂SO₄) anidro para um tubo de ensaio seco. Adicionou-se 1 mL de anidrido acético e agitou-se suavemente. Foi acrescentado três gotas de ácido sulfúrico (H₂SO₄) concentrado, agitou-se e foi observado se ocorria o desenvolvimento de cores. A coloração azul seguida de verde permanente é um indicativo à presença de esteroides livres, enquanto a cor parda à vermelha indica triterpenoides pentacíclicos livres.

4.3.6. Teste para Saponinas

Este teste baseia-se no fato de que os heterosídeos saponosídeos (saponinas) tem propriedades detergentes e surfactantes e, quando tratados com HCl e aumento de temperatura, sofrem hidrólise, precipitam as agliconas e perdem suas propriedades detergentes. Foi usado neste ensaio os resíduos insolúveis em clorofórmio, separados no teste anterior, o material foi solubilizado em água destilada e filtrado em um tubo de ensaio. Agitou-se fortemente o tubo com a solução por 2-3 minutos e foi observado a formação de espuma. O aparecimento de espuma

persistente e abundante indica a presença de saponinas. Para confirmação da presença do metabólito, adicionou-se 2 mL de HCl concentrado ao conteúdo do tudo de ensaio que foi colocado imerso em banho-maria por 1 hora. Posteriormente, neutralizou-se, resfriando e agitando. A presença de precipitado e a não formação de espuma confirma a presença de saponina.

4.3.7. *Teste para Alcaloides*

Este teste baseia-se na precipitação de alcaloides ao interagir com o reagente Dragendorff. Este reagente consiste numa solução de iodeto de bismuto de potássio, em ácido diluído. Quando em contato com a amostra que contém alcaloides e compostos nitrogenados, formam precipitados. A solução apresenta mudança de coloração que varia de amarela à vermelha alaranjada. O precipitado é obtido através da formação de um complexo entre o átomo de bismuto e os grupamentos aminas presentes nos compostos a serem analisados. As frações testadas foram transferidas para tubos e foram adicionadas 3 gotas de Dragendorff observando o resultado.

4.4. **Determinação de Fenóis Totais**

Para a determinação de fenóis totais presentes na FHX, FCL, FAE e FHM das folhas de *A. cochliacarpus* foi utilizado os princípios que norteiam a espectrofotometria UV-visível por meio de protocolo descrito por Souza et al., (2007) com pequenas modificações. Foram preparadas soluções-mãe de 1 mg.mL^{-1} para cada fração em teste. Partindo da solução- mãe, foram retiradas alíquotas diferentes de cada fração, visto que, cada uma delas ao realizar o teste de alíquotas, apresentaram comportamentos diferentes na leitura UV-visível. Na FAE e FHM foi retirada uma alíquota de 50 μL cada, enquanto na FCL e FHX retirou-se uma alíquota de 100 μL e 200 μL , respectivamente.

As alíquotas foram transferidas para seus respectivos tubos de ensaio contendo previamente 2,450 mL de água destilada nos tubos da FHM e FAE; 2,4 mL no tubo da FCL e 2,3 mL no tudo da FHX. Posteriormente foi adicionado o volume fixo de 500 μL do reagente de Folin-Ciocalteau (mistura dos ácidos fosfomolibídico e fosfotungústico) sendo os tubos homogeneizados em seguida com auxílio de um agitador vortex. Vale ressaltar que a adição do reagente Folin-Ciocalteau e as demais etapas do experimento foram feitas no escuro, para evitar quaisquer problemas durante a reação possivelmente fotossensível.

Após esses passos, foram adicionados aos tubos 2 mL de carbonato de cálcio 7,5%, homogeneizando-os em seguida, o ensaio foi deixado em repouso por 2 horas. Transcorrido o tempo de reação à leitura foi feita no comprimento de onda 750 nm contra o branco, o qual é

composto por todos os reagentes utilizados, exceto as amostras vegetais em teste. As análises foram realizadas em triplicata e em três repetições, o teor de fenóis totais foi determinado por interpolação da média das absorbâncias contra curva de calibração construída com padrão de ácido gálico expresso em mg de equivalentes de ácido gálico por g de fração, com volume reacional de 5 mL. A equação da reta curva de calibração ácido gálico é $y = 0,024x - 0,0093$; $R^2 = 0,9907$; onde x é a absorbância das amostras e y o equivalente ácido gálico.

4.5. Determinação de Flavonoides Totais

Para a determinação de flavonoides totais presentes na FHX, FCL, FAE e FHM das folhas de *A. cochliacarpus* foi utilizado os princípios que norteiam a espectrofotometria UV-visível, além do método que leva à formação do complexo flavonoide-alumínio (MBAEBIE; EDEOGA; AFOLAYAN, 2012). Foram preparadas soluções-mãe de 1 mg.mL^{-1} para as frações em teste e partindo da mesma, foram retiradas alíquotas diferentes de cada fração. Para a FHM, FHX e FCL, foi retirada uma alíquota de 800 μL cada, enquanto da FAE uma alíquota de 400 μL foi usada. Posteriormente foi adicionado aos tubos de análise 1mL da solução de cloreto de alumínio 2% (AlCl_3), agitando a mistura logo após a adição do valor corresponde de metanol ao volume reacional de 4 mL. O ensaio foi deixado em temperatura ambiente por 30 minutos, e seguido para leitura em espectrofotômetro no comprimento de onda de 420 nm contra o branco. Toda a análise foi feita em triplicata e em três repetições.

O teor de flavonoides totais foi determinado por interpolação da média das absorbâncias de cada amostra por meio da curva de calibração construída com o padrão quercetina, sendo expresso em mg de equivalente quercetina por g de fração. A equação da reta curva padrão quercetina foi $y = 0,0114x - 0,0017$; $R^2 = 0,9992$, onde x é a absorbância e y é o equivalente quercetina.

4.6. Determinação de Flavonóis Totais

Para a determinação de flavonóis totais presentes na FHX, FCL, FAE e FHM das folhas de *A. cochliacarpus* foi utilizado os princípios que norteiam a espectrofotometria UV-visível, sendo que o ensaio seguiu conforme o método de Kumaran, Karunakaran (2007). Foram preparadas soluções-mãe de 1 mg.mL^{-1} (FHX e FHM) e soluções-mãe de $0,5 \text{ mg.mL}^{-1}$ (FAE e FCL). Partindo da solução- mãe, foram retiradas alíquotas diferentes de cada fração, para a FHX, FCL e FAE uma alíquota de 800 μL foi retirada, enquanto da FHM foi usada uma alíquota de 1 mL.

Aos tubos de análises foram adicionados o volume fixo de 1mL de cloreto de alumínio 0,2% (AlCl₃) e o valor correspondente de acetato de sódio 0,5% para o volume reacional de 4 mL, homogeneizando-os em seguida. O ensaio foi realizado em triplicata e em três repetições, logo após foi deixado em repouso na temperatura ambiente por 1 hora, e seguido para a leitura em espectrofotômetro a 440 nm contra o branco. O teor de flavonóis totais foi expresso em mg de equivalente rutina por g de fração, usando a curva de calibração padrão rutina $y = 0,0074x - 0,0066$; $R^2 = 0,9982$, onde x refere-se a absorbância e y é o equivalente rutina.

4.7. Atividade Antioxidante (*in vitro*)

4.7.1. Determinação pelo Método do Radical Livre 2,2-difenil-1-picril hidrazila (DPPH)

A determinação do índice de atividade antioxidante (IAA) e a concentração eficiente necessária para decrescer a concentração inicial da solução contendo o radical DPPH (2,2-difenil-1-picril hidrazila) na concentração de 0,208mM em 50% (CE₅₀) foram monitorados através do leitor de microplacas ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay), de acordo com o protocolo descrito por Cheng, Moore, Yu (2006), em um comprimento de onda de 515 nm durante 1 hora, com intervalo entre as leituras de 5 minutos. As amostras vegetais testadas (FCL, FAE e FHM) foram preparadas em diferentes concentrações a partir da solução- mãe de 1mg.mL⁻¹, foram obtidas para a FCL e FHM as seguintes concentrações finais: 10 µg.mL⁻¹, 20 µg.mL⁻¹, 30 µg.mL⁻¹, 40 µg.mL⁻¹, 50 µg.mL⁻¹ e 60 µg.mL⁻¹. A FAE foi testada nas concentrações de 2.5 µg.mL⁻¹, 5 µg.mL⁻¹, 7,5 µg.mL⁻¹, 10 µg.mL⁻¹, 12,5 µg.mL⁻¹ e 15 µg.mL⁻¹; chegou-se nestas concentrações finais por testes realizados com as amostras afim de obter um melhor comportamento das mesmas. Como controle positivo foi utilizado o ácido gálico nas concentrações de 1 µg.mL⁻¹ a 8 µg.mL⁻¹, já o controle negativo foi feito com o solvente usado na solubilização das amostras e o próprio radical livre DPPH.

O ensaio foi realizado em 3 réplicas, tendo a curva padrão ácido gálico $y = - 0,0822 + 0,618x$; $R^2 = 0,995$. Na microplaca foram dispostos poços com controle positivo (100µL de ácido gálico e 100 µL de solução de DPPH), com controle negativo (100 µL de metanol e 100 µL de solução de DDPH), poços com amostras (100 µL de amostra e 100 µL de solução de DPPH) e poços com o objetivo de eliminar a interferência da possível coloração das amostras testadas (100 µL da amostra e 100 µL de metanol – solvente utilizado para solubilização das frações, DPPH e ácido gálico). A CE₅₀ foi calculada a partir das absorbâncias obtidas das diferentes concentrações das amostras testadas plotando-se a porcentagem do DPPH remanescente (%DPPHREM) no tempo de 60 minutos em oposição às concentrações das amostras, enquanto o IAA (índice de atividade antioxidante) foi calculado conforme a equação: $IAA = \%DPPHREM (final)/CE_{50}$; de acordo com

Scherer, Godoy (2009), sendo a atividade antioxidante insatisfatória quando o valor do IAA obtido for $<0,5$, moderada quando o IAA for $>0,5 <1,0$, forte quando o IAA for $>1 <2$ e muito forte quando o valor de IAA for >2 .

4.8. Avaliação da Atividade Antimicrobiana

As frações em estudo (FHX, FCL, FAE e FHM) foram submetidas aos testes de susceptibilidade microbiana pelo método de difusão em ágar Mueller-Hinton, conforme Bauer et al., (1996). As amostras que apresentaram resultado positivo no teste qualitativo foram encaminhadas para a determinação da Concentração Inibitória Mínima (MIC). Ambos os testes foram realizados em triplicata para cada microrganismo. Foram utilizadas cepas padrão de bactérias gram-positivas: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Enterococcus durans* hiraie (SS1225/IAL03/10) e *Streptococcus mutans* (INCQS 00446); e bactérias gram-negativas: *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603).

4.8.1. Teste de Difusão em Ágar

A avaliação da atividade antimicrobiana foi realizada utilizando o teste de difusão em ágar, proposto por Bauer et al., (1996) cuja análise é qualitativa. Foram realizadas culturas overnight de microrganismos mantidas em meio Brian Heart Infusion (BHI) suplementado com ágar (8 g.L^{-1}) em estufa bacteriológica na temperatura de $37^{\circ}\text{C} \pm 1$. As culturas foram semeadas com auxílio de swab estéril em placas de Petri contendo 4mm de ágar Muller-Hinton (pH 7.2-7.4), previamente solidificado e semeado usando alça de Drigalsky. Posteriormente, discos de papel filtro embebidos com $20\mu\text{L}$ de cada amostra vegetal, na concentração de 100 mg/mL^{-1} , foram depositados na superfície do meio de cultura inoculado com os microrganismos. Como controle negativo foram utilizados todos os reagentes em uso para diluição das amostras, enquanto para o controle positivo foi utilizado o fármaco antimicrobiano Gentamicina (20 mg.mL^{-1}) devido a sua atividade conhecida para cepas padrão ATCC.

Após incubação, decorridas 24h, foram realizadas as medidas dos halos de inibição. Para interpretação dos resultados recomendações do CLSI (2003) e Santos et al., (2011) foram seguidas, onde os valores dos halos de inibição formados foram comparados com os de referência para o teste; sendo os microrganismos classificados como resistente quando o diâmetro do halo de inibição for inferior a 8 mm, intermediário (9 a 14 mm) e sensível (≥ 14 mm) à determinado agente.

4.8.2. Concentração Inibitória Mínima (MIC)

Como teste quantitativo a concentração inibitória mínima (MIC) foi realizada em triplicata e determinada para cada microrganismo no qual as amostras vegetais apresentaram atividade antimicrobiana, para tal, foi utilizado o método de microdiluição em caldo proposto pelo National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS), permitindo assim a visualização da menor concentração da amostra vegetal capaz de inibir o crescimento de microrganismo. Foi usada placa de ELISA com 96 poços, aos quais foram adicionados 100 μL de caldo Mueller-Hinton, juntamente com 50 μL das amostras nas concentrações de 6,25 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, 12,5 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, 25 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, 50 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, 75 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ e 100 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, além de 50 μL do inóculo. Poços contendo apenas meio de cultura para verificar se não haveria contaminação do meio, foram utilizados como controle negativo, poços com o inóculo e meio de cultura para análise da viabilidade das cepas testadas, como controle positivo; além de poços com meio de cultura, dimetilsufóxido (DMSO) usado para auxiliar a solubilização das amostras e suspensão bacteriana a fim de verificar se o DMSO não inibe o crescimento das bactérias testadas.

Posteriormente, a microplaca foi incubada durante 24 horas a $35 \pm 2^\circ\text{C}$, após o período de incubação foram adicionados em cada poço 20 μL de solução aquosa de resazurina 0,01%, em seguida a microplaca foi encubada novamente durante 1 hora para posterior leitura de maneira visual, onde a coloração azul nos poços indicava a ausência de crescimento bacteriano e a cor rosa/avermelhada mostrava a presença de metabolismo dos microrganismos no meio (PALOMINO et al., 2002).

4.9. Análise de Citotoxicidade (*in vitro*)

Para a análise de citotoxicidade *in vitro* foram utilizadas as frações (FAE e FCL). A viabilidade celular de macrófagos pertencentes à linhagem tumoral J774 (2×10^4 células) foi avaliada em triplicata após 24 horas de exposição contínua as amostras e medida através do ensaio colorimétrico de redução do MTT a formazan de acordo com Mosmann (1983). O ensaio relaciona a quantidade de formazan produzido com o número proporcional de células viáveis.

Foi utilizada placa com 96 poços para impregnação em meio de cultura das células viáveis, após a aderência celular em placa, o meio de cultura foi substituído por 200 μL de meio contendo as amostras em DMSO 0,5%, nas concentrações 50, 100 e 200 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ (FAE); 20, 100 e 250 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ (FCL). Posteriormente as placas foram incubadas por 24 horas, após o período de incubação o meio de cultura foi substituído por 200 μL de solução 0,5 mg.mL^{-1} previamente filtrada em membrana milipore de 0,22 μm contendo o corante MTT.

Após este preparo, as placas foram incubadas por 3 horas, tempo necessário para que ocorresse a redução do MTT à formazan. Seguido então, para aspiração do sobrenadante e adição de 200 µL de DMSO em cada poço para solubilização do produto formazan.

O conteúdo solubilizado foi transferido para uma nova placa, e esta foi encaminhada para leitor de ELISA no comprimento de onda de 570 nm. Para análise, os resultados foram tratados de acordo com a equação: %VC = [DO (células tratadas) – DO (branco)/ DO (controle) – DO (branco)] x 100. Sendo VC correspondente à viabilidade celular e DO correspondente à densidade óptica.

4.10. **Análise Estatística**

Para as análises de fenóis, flavonoides, flavonóis foi utilizada a análise de variância (ANOVA) de uma via, seguida de pós-teste de Tukey ($p < 0,05$) para avaliar a significância das diferenças entre as médias \pm desvio padrão obtidas de três repetições. Os dados da atividade antioxidante DPPH foram tratados por regressão linear simples e utilizou-se a análise de variância ANOVA para determinar as diferenças significativas entre as amostras. Para expressar os dados referentes ao halo de inibição da atividade qualitativa antimicrobiana foi utilizado média e desvio padrão pelo programa Excel.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Prospecção Fitoquímica

A prospecção fitoquímica de uma amostra é um ensaio preliminar qualitativo que tem como objetivo identificar as substâncias presentes em extratos e frações. A partir disso pode-se avaliar as classes de metabólitos secundários existentes. Essas informações são importantes para o desenvolvimento de pesquisas podendo contribuir para a identificação e isolamento de princípios ativos viáveis no desenvolvimento de novos fármacos (SILVA et al., 2010). Além disso, se houver interesse em substâncias específicas que sejam responsáveis por uma determinada atividade biológica, a pesquisa poderá ser direcionada para tal, levando ao isolamento e elucidação dessas substâncias (SANTOS et al., 2011).

A triagem fitoquímica das frações (FHX, FCL, FAE e FHM) obtidas por partição líquido-líquido do extrato hidroetanólico das folhas de *A. cochliacarpus* (Tabela 3) detectou diferentes tipos de compostos químicos: fenóis, taninos, flavonóis, flavononóis, leucoantocianidinas, catequinas, flavononas, esteroides, triterpenóides e saponinas.

Estes metabólitos secundários são de grande importância em pesquisas que mensuram determinadas atividades biológicas, entre elas a ação de atividade anti-inflamatória (SATURNINO-OLIVEIRA et al., 2014), antioxidante, cicatrizante e antimicrobiana (SANTOS et al., 2007; PIRES, 2011; DIAS et al., 2012; DIAS, 2015), essas atividades foram comprovadas na entrecasca do vegetal.

Jesus (2010) ao realizar uma prospecção fitoquímica na casca de *A. cochliacarpus* constatou a presença de proantocianidinas, leucoantocianidinas, saponinas e flavonoides, enquanto Silva et al, (2009), detectou metabólitos como saponinas, catequinas, taninos, fenóis e antraquinonas; semelhante ao trabalho de Sarmiento (1999), o qual relatou compostos fenólicos, saponinas e taninos no extrato hidroetanólico da entrecasca de *A. cochliacarpus*.

Todas as frações analisadas (Tabela 3) apresentaram compostos importantes, dentre eles os taninos, os quais apresentam como característica a capacidade de complexação com moléculas e macromoléculas, além de agir no sequestro de radicais livres permitindo uma série de aplicações farmacológicas, tais como, o controle de bactérias, insetos e fungos (JESUS, CUNHA, 2012). É possível observar na tabela que há presença de compostos fenólicos, muitas vezes associados à atividade antibacteriana, anti-inflamatória e antioxidante (ANDRADE et al., 2007; PIRES, 2011; DIAS, 2015), vale ressaltar que a função de determinadas atividades biológicas pode estar atrelada com o sinergismo de compostos presentes na amostra vegetal.

Tabela 3. Prospecção fitoquímica das frações das folhas de *Abarema cochliacarpus*.

Constituintes Químicos	Fração Clorofórmica	Fração Hexânica	Fração Acetato Etila	Fração Hidrometanólica
Fenóis	-	-	+	+
Taninos	+	-	+	+
Taninos Flabobênicos	+	-	-	-
Taninos Hidrolisáveis	-	-	+	+
Antocianinas/ Antocianidinas	-	-	-	-
Flavonas/Flavonóis/ Xantonas	+	-	+	+
Chalconas/ Auronas	-	-	-	-
Flavononóis	+	-	+	+
Leucoantocianidinas	+	-	+	+
Catequinas	+	-	+	-
Flavononas	+	-	+	+
Esteróides	+	+	-	-
Triterpenóides	-	-	-	+
Saponinas	-	-	+	+

Onde o (+) demonstra presença do metabólito e o (-) demonstra ausência do metabólito

Na medicina popular o conhecimento relacionado às folhas de *A. cochliacarpus* é quase desconhecido, uma vez que, a sua entrecasca é a parte da planta mais utilizada, podendo comprometer a manutenção do vegetal com o manejo incorreto da população durante a coleta (DIAS, 2015). De acordo com a busca de dados nas bases analisadas (Scielo, CAPES/MEC, Science Direct, entre outras) pesquisas voltadas às folhas de *A. cochliacarpus* são escassas, sendo que a maioria dos trabalhos com material vegetal se baseiam em estudos etnofarmacológicos, logo, é comum que utilizem partes vegetais de uso recorrente na população (MACIEL et al., 2002).

Diante disso, as folhas de *A. cochliacarpus* são deixadas em segundo plano. Este estudo, contudo, atribui um novo olhar às folhas do vegetal, contribuindo para o conhecimento popular e científico.

5.2. Determinação do teor de Fenóis, Flavonóis e Flavonóides

A determinação quantitativa de grupos fenólicos é regularmente vista em estudos com produtos naturais. Os compostos fenólicos derivam do metabolismo secundário de plantas, os

flavonoides, por exemplo, tem sua estrutura química correlacionada a atividade antioxidante (SOBRATTE et al., 2005), além de participarem de forma positiva nos processos inflamatórios, visto que modulam a atividade enzimática da via do ácido araquidônico e a enzima formadora do ácido araquidônico e a enzima formadora do ácido nítrico (SANTANGELO et al., 2007).

Na quantificação de fenóis totais (Tabela 4) altos teores do metabólito foram observados nas frações das folhas de *A. cochliacarpus*, sendo que todas as amostras testadas apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$). A FAE apresentou o maior teor de fenóis totais, seguido da FCL e FHM esses valores quando comparados com estudos de espécies da mesma família (Fabaceae) são semelhantes, como por exemplo, no estudo de Andrade et al., (2007) onde relatou o teor de $338,5 \text{ mg EAG.g}^{-1}$ de amostra para a fração acetato de etila (FAE) e $206,4 \text{ mg EAG.g}^{-1}$ de amostra para o extrato bruto (EEB) das flores de *Acacia podalyriifolia*.

Dias (2011) utilizou extrato e frações da entrecasca de *A. cochliacarpus* para quantificação de fenóis totais, e obteve valores parecidos com o presente estudo, exceto a sua FAE ($848,62 \pm 78,1 \text{ mg EAG.g}^{-1}$ de amostra), que mostrou um valor bem acima do encontrado. A determinação de fenóis totais do extrato hidroetanólico (EHE) das folhas de *A. cochliacarpus*, realizada por Dias (2015) mostrou um valor de $0,260 \pm 0,005 \text{ (mg EAG.g}^{-1} \text{ de amostra)}$ bem abaixo quando comparado com os valores obtidos das frações neste estudo (Tabela 4); isso pode ser explicado devido os diferentes solventes utilizados para a extração e obtenção das frações, onde substâncias mais polares extraem melhor compostos mais polares (DIAS, SOUZA, ROGEZ, 2010), além de fatores relevantes que podem influenciar a composição de conteúdos polifenólicos, tais como: região geográfica do plantio, variação de exposição solar, método de cultivo e parte do vegetal utilizada (HAIDA et al., 2012).

Tabela 4. Determinação quantitativa do teor de fenóis, flavonoides e flavonóis totais nas frações das folhas de *Abarema cochliacarpus*.

Amostras	Fenóis (mg EAG.g ⁻¹ de amostra)	Flavonoides (mg EQ.g ⁻¹ de amostra)	Flavonóis (mg ER.g ⁻¹ de amostra)
FCL	$271,16 \pm 9,38^b$	$64,60 \pm 0,41^a$	$76,58 \pm 1,28^c$
FHX	$141,8 \pm 1,73^d$	$24,52 \pm 0,80^d$	$138,63 \pm 7,16^a$
FAE	$369,40 \pm 20,29^a$	$41,01 \pm 1,53^c$	$94,71 \pm 4,01^b$
FHM	$207,22 \pm 2,21^c$	$56,37 \pm 3,06^b$	$25,65 \pm 0,65^d$

EAG: Equivalente de Ácido Gálico. EQ: Equivalente Quercetina. ER: Equivalente Rutina. FLC (fração clorofórmica), FHX (fração hexânica), FAE (fração acetato de etila), FHM (fração hidrometanólica). Valores com letras diferentes indicam médias com diferença significativa ($p < 0,05$). As diferenças estatísticas foram determinadas pela ANOVA de uma via seguida pelo pós-teste de Tukey.

Estudos encontrados na literatura evidenciam substâncias com núcleo fenólico, como tocoferol, flavonoides e ácidos fenólicos à atividade antioxidante, por atuarem como espécies reativas de oxigênio (EROs), além de reduzirem e quelarem íons férricos que catalisam a

peroxidação lipídica (ANDRADE et al., 2007). Rêgo et al., (2011) observou que extratos brutos de plantas da caatinga, como a *Caesalpinia pyramidalis* Tull., com maior teor de fenóis totais apresentaram atividade antioxidante com bons percentuais de inibição em um sistema modelo β -caroteno-ácido linoleico.

O maior teor de flavonoides e flavonóis totais (Tabela 4) foi observado na FCL e FHX. Percebe-se que a FHM apresentou o segundo maior teor de flavonoides com $56,37 \pm 3,06^b$ (mg EQ.g⁻¹) e a FAE com $94,71 \pm 4,01^b$ (mg ER.g⁻¹) de teor de flavonóis, além de todas as frações apresentarem diferenças estatísticas entre si ($p < 0,05$).

Há relatos na literatura que retratam o predomínio desses metabólitos nas folhas, visto que elas recebem e absorvem diretamente a radiação solar, sendo os flavonoides um dos responsáveis pela proteção contra a radiação. No estudo de Dias (2015), o extrato hidroetanólico das folhas de *A. cochliacarpus* apresentou um teor de flavonoides de $95 \pm 6,3$ μg de EQ.mg⁻¹ de amostra e um teor de flavonóis totais de $180,2 \pm 0,05$ μg de ER.mg⁻¹ de amostra, valores relativamente abaixo do teor de flavonoides e flavonóis encontrado no presente estudo; além disso, o pesquisador relatou que o EHE, FAE e FHM da entrecasca de *A. cochliacarpus* apresentaram os seguintes valores para flavonoides: 12,45 μg , 7,7 μg e 9 μg , respectivamente. Enquanto que na determinação de flavonóis totais, ele obteve para o EHE (172 μg), FAE (148,14 μg) e FHM (57,03 μg); esses valores são baixos quando comparados aos resultados obtidos das frações das folhas no estudo em questão (Tabela 4), podendo ser explicado pelo fato do caule do vegetal não receber diretamente a radiação solar diminuindo a incidência desses compostos, logo, é mais provável que os teores desses metabólitos sejam maiores nas folhas do vegetal (MAGINA et al., 2010).

5.3. Determinação da Atividade Antioxidante Frente ao Radical Livre DPPH

A determinação do índice de atividade antioxidante (IAA) e a concentração eficiente necessária para decrescer a concentração inicial da solução contendo o radical DPPH em 50% (CE₅₀) das frações das folhas de *A. cochliacarpus* e do controle positivo ácido gálico é apresentada na Tabela 5. Para determinação do potencial antioxidante foram utilizadas as frações que obtiveram o melhor resultado na quantificação de fenóis totais (Tabela 4), ou seja, a fração clorofórmica (FCL), fração acetato de etila (FAE) e fração hidrometanólica (FHM).

Tabela 5. Potencial antioxidante frente ao radical livre DPPH das frações das folhas de *Abarema cochliacarpus* e controle positivo ácido gálico.

Amostras	CE ₅₀ ($\mu\text{g.mL} \pm$ Desvio Padrão)	IAA
FCL	21,12 \pm 0,542 ^a	1,89
FAE	3,95 \pm 0,281 ^c	10,14
FHM	6,22 \pm 0,383 ^b	6,44
Ácido gálico	2 \pm 0,009 ^d	19,97

FCL (fração clorofórmica), FAE (fração acetato de etila), FHM (fração hidrometanólica). Os dados foram expressos em média \pm desvio padrão, nos quais as diferenças significativas foram determinadas por análise de variância de uma via (ANOVA) seguida de pós-teste de Tukey ($p < 0,05$). A CE₅₀ foi calculada no tempo de 60 minutos. O índice de atividade antioxidante (IAA) foi calculado dividindo o valor da concentração inicial do DPPH pela concentração final da amostra pelo CE₅₀ no tempo de 60 minutos e classificado como fraco quando IAA $< 0,5$, moderado quando IAA $> 0,5 < 1,0$, forte quando IAA $> 1 < 2$, muito forte quando IAA > 2 .

O ensaio de captura do radical livre DPPH é muito empregado para análise da atividade antioxidante de produtos naturais. Ao avaliar a relação entre a atividade antioxidante pelo sequestro de radicais livres e a presença de compostos fenólicos, paralelamente pode-se sugerir a bioatividade das amostras vegetais. Estudos mostram que a atividade antioxidante, por vezes, está atrelada ao teor de fenóis e flavonoides e/ou sinergismo entre os compostos (ANDRADE et al., 2007), uma vez que, compostos fenólicos podem agir como agentes redutores já que entram em ressonância após atuarem contra o radical livre, essa estabilidade permite reter o elétron desemparelhado sem causar danos às estruturas celulares (SÁ et al., 2012).

Ao analisar a Tabela 5 a FAE obteve a menor CE₅₀, ou seja, a menor concentração capaz de decrescer a concentração inicial do radical DPPH em 50% entre as amostras; ao comparar esse dado com a Tabela 4 é possível observar que a FAE apresentou o maior teor de fenóis totais; apesar da FAE ser estatisticamente diferente ($p < 0,05$) do controle positivo ácido gálico, ela apresentou uma resposta semelhante ao mesmo. A FHM obteve a segunda menor CE₅₀, seguida da FCL.

Os valores de CE₅₀ citados na Tabela 5 são semelhantes aos índices encontrados por Dias (2011) ao analisar o EHE (CE₅₀ 3,96 $\mu\text{g.mL}^{-1}$), FAE (CE₅₀ 3,62 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) e FHM (CE₅₀ 4,06 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) da entrecasca de *A. cochliacarpus*. Dias (2015) também encontrou valores de CE₅₀ bem maiores em relação aos obtidos no presente trabalho, tais como: extrato hidroetanólico das folhas (12,45 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) e extrato aquoso das folhas (5,92 $\mu\text{g.mL}^{-1}$).

O índice de atividade antioxidante (IAA) pode representar com maior exatidão o potencial antioxidante de uma amostra vegetal ou produto sintético, frente ao radical livre (SCHERER, GODOY, 2009), esses pesquisadores classificaram a atividade antioxidante fraca quando o valor do IAA obtido for $< 0,5$, moderada quando o IAA for $> 0,5 < 1,0$, forte quando o IAA for $> 1 < 2$ e muito forte quando o valor de IAA for > 2 . Com a FAE (Tabela 5) foi obtido o IAA de 10,14; logo, é

considerado um potencial antioxidante muito forte, semelhante ao controle positivo ácido gálico com IAA de 19,97 e a FHM com IAA de 6,44. Já a FCL obteve um IAA forte acima de 1. Esse elevado potencial antioxidante pode ser explicado pela quantidade de compostos polifenólicos quantificados neste trabalho (Tabela 4), além de estudos que comprovam a ligação direta de conteúdos fenólicos com atividade antioxidante.

5.4. Avaliação da Atividade Antimicrobiana

É perceptível o aumento da resistência de microrganismos nas últimas décadas, apesar dos esforços da indústria farmacêutica na produção de novos agentes antimicrobianos e na modificação das drogas existentes. Os produtos naturais tem sido uma alternativa viável para manutenção da saúde da população, com isso, pesquisas com plantas medicinais vem ganhando espaço entre a comunidade científica, além de serem uma fonte em potencial para a obtenção de novas drogas (SANTOS et al., 2007).

A avaliação da atividade antimicrobiana qualitativa foi feita por difusão em discos (Tabela 6), onde as amostras das folhas de *A. cochliacarpus* em análise (FHX, FCL, FAE, FHM) foram depositadas em discos de papel em contato com o meio de cultura sólido inoculado com o microrganismo; decorrido o tempo de incubação, o diâmetro do halo de inibição foi medido e a sensibilidade do microrganismo à amostra estabelecida (SANTOS et al., 2011). Foi adotado como critério de susceptibilidade o padrão sugerido por Santos et al., 2011, onde o diâmetro do halo de inibição do crescimento ≤ 8 mm (resistente); 9 - 14 mm (intermediário) e ≥ 14 mm (sensível).

Tabela 6. Teste antimicrobiano qualitativo da FAE (100 mg.mL⁻¹) e FCL (100 mg.mL⁻¹) das folhas de *Abarema cochliacarpus*.

Bactérias	Diâmetro do halo de inibição da FAE (mm ± DP)	Diâmetro do halo de inibição da FCL (mm ± DP)	Diâmetro do halo de inibição do C ⁺ (mm ± DP)
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)	19,3 ± 0,94	-	25 ± 0,00
<i>Enterococcus durans hirae</i> (SS1225/IAL03/10)	10 ± 0	9 ± 0,81	25 ± 0,81
<i>Streptococcus mutans</i> (INCQS 00446)	-	-	ND
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (ATCC 700603)	-	-	ND
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)	9,6 ± 0,47	-	25 ± 0,00
<i>Pseudomonas aeruginosas</i> (ATCC 27853)	15 ± 0	-	23 ± 1,00

FAE (fração acetato de etila), FCL (fração clorofórmica). Os resultados foram expressos em média e desvio padrão (DP), onde (-) representa a não formação de halo de inibição na concentração testada de cada amostra; ND: não determinado. Controle positivo (C⁺) foi utilizado o fármaco Gentamicina (20 mg.mL⁻¹).

Conforme Tabela 6, apenas a FAE e a FCL apresentaram halos de inibição frente a alguns dos microrganismos testados, escolhidos pela importância na saúde pública. Não houve formação de halos de inibição na concentração testada de 100 mg com a FHX e FHM. A FAE e FCL apresentaram atividade frente à bactéria gram-positiva *E. durans* hirae com halos intermediários de inibição de 10 e 9 mm, respectivamente. Percebe-se que a FAE foi a que obteve o melhor comportamento à susceptibilidade dos microrganismos. Das 6 cepas analisadas houve formação de halos de inibição intermediários e sensíveis em 4 delas: *S. aureus* e *E. durans* - bactérias gram-positivas -; *E. coli* derivada e *P. aeruginosas* derivada - bactérias gram-negativas -.

Santos et al., (2007) mostraram que o extrato hidroalcoólico da casca de *A. cochliacarpus* inibiu o crescimento de cepas gram-positivas, com halos de inibição variando entre 8 e 9 mm, 11 a 13 mm e 14-15 mm para *S. aureus*; e de 13-14 mm, 17-18 mm e 21-22 mm para *Micrococcus luteus*; enquanto Dias (2011), observou atividade para as cepas gram-positivas (*S. aureus* e *M. luteus*) e gram-negativas (*E. coli* e *P. aeruginosa*) com a entrecasca da mesma espécie vegetal, obtendo resultados semelhantes ao do presente estudo.

Coelho et al., (2003) sugerem que a atividade antimicrobiana das plantas pode ser atribuída à presença de metabólitos secundários do grupo dos flavonoides, por conta da capacidade de se complexar com proteínas solúveis e extracelulares e também com a parede celular das bactérias. Na quantificação de compostos fenólicos (Tabela 4), ambas as frações que apresentaram atividade antimicrobiana (FAE e FCL) obtiveram alto teor de metabólitos dessa classe, o que pode ter influenciado no resultado positivo.

Tabela 7. Teste antimicrobiano quantitativo (Concentração Inibitória Mínima – MIC) da FAE e FCL das folhas de *Abarema cochliacarpus*.

Bactérias	Concentração inibitória mínima da FAE ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Concentração inibitória mínima da FCL ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)	12,5	50
<i>Enterococcus durans hirae</i> (SS1225/IAL03/10)	12,5	25
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)	50	-
<i>Pseudomonas aeruginosas</i> (ATCC 27853)	50	-

A menor concentração capaz de inibir o crescimento de microrganismos foi expressa em $\mu\text{g.mL}^{-1}$, as frações foram testadas nas concentrações de $6,25 \mu\text{g.mL}^{-1}$, $12,5 \mu\text{g.mL}^{-1}$, $25 \mu\text{g.mL}^{-1}$ e $50 \mu\text{g.mL}^{-1}$.

A avaliação quantitativa (Tabela 7) foi mensurada pela concentração inibitória mínima (MIC) que é a menor concentração da amostra capaz de inibir o crescimento de microrganismos. Foi levado em consideração o resultado qualitativo para escolha das cepas, ou seja, aquelas que a FAE e FCL formaram halos de inibição microbiana. Foram testadas concentrações de $6,25 \mu\text{g.mL}^{-1}$

a $50 \mu\text{g.mL}^{-1}$, a FAE apresentou os melhores resultados para concentração inibitória mínima, para cepas *S. aureus* e *E. durans hiraе*; enquanto da FCL foi obtido um MIC de $50 \mu\text{g.mL}^{-1}$ para *S. aureus* e $25 \mu\text{g.mL}^{-1}$ para *E. durans hiraе*, valores acima foram relatados por Santos et al., (2007) referente ao extrato hidroalcoólico da casca de *A. cochliacarpus*, com MIC de $0,1562 \text{ mg.mL}^{-1}$ para cepa de *M. luteus* e $0,3125 \text{ mg.mL}^{-1}$ para *S. aureus*; esse comportamento pode acontecer, pois, mesmo sendo plantas da mesma espécie ocorre de produzir metabólitos diferentes, além de partes do vegetal utilizadas para os ensaios serem distintas e das condições ambientais às quais foram submetidas (ALVES, 2001).

Não foi encontrado na literatura pesquisas de atividade antimicrobiana com as folhas de *A. cochliacarpus*, o que pode ser explicado pela preferência de análises antimicrobiana com extratos e/ou frações das cascas e entrecascas de plantas, pois, possuem um maior teor de taninos, sendo esse metabólito associado à atividade antimicrobiana (SOARES et al., 2008), além do uso recorrente das partes do vegetal na medicina popular. Diante disso percebe-se a importância da pesquisa com as folhas da espécie.

Colacite (2015) também relata que taninos e flavonoides são considerados os principais responsáveis pelo potencial antimicrobiano. Os taninos podem agir nas membranas dos microrganismos modificando seu metabolismo, inibindo as enzimas bacterianas ou se complexando com o substrato delas, além de se complexarem com íons metálicos diminuindo o aporte dos mesmos ao metabolismo microbiano (SANTOS, MELLO, 2007). Estudos relatam que esteroides e triterpenos apresentam atividades biológicas importantes, incluindo a atividade antimicrobiana; bem como metabólitos como, saponinas e catequinas (VIRTUOSO et al., 2005; SILVA et al., 2010).

Baseado no que foi exposto, percebe-se que a ação antimicrobiana da FAE e FCL pode ser proveniente de um conjunto de substâncias, a análise fitoquímica (Tabela 3) realizada com ambas as frações de *A. cochliacarpus* revelou a presença de taninos, fenóis, saponinas, esteroides, entre outros; tornando-a uma espécie promissora na busca de novos agentes antimicrobianos.

5.5. Análise de Citotoxicidade (*in vitro*)

Na análise de citotoxicidade *in vitro* das folhas de *A. cochliacarpus* foram utilizadas as frações que apresentaram resultado significativo na atividade antimicrobiana, ou seja, a FAE e FCL nas concentrações de $50, 100$ e $200 \mu\text{g.mL}^{-1}$; $20, 100$ e $250 \mu\text{g.mL}^{-1}$, respectivamente. Conforme figura 3 a FAE não favoreceu significativamente ($p < 0,05$) a viabilidade dos macrófagos J774 em nenhuma das concentrações testadas quando comparada com as células não tratadas (controle).

A maior viabilidade celular observada foi da FCL na concentração de $20 \mu\text{g.mL}^{-1}$ (Figura 3), a qual favoreceu a proliferação celular cerca de $83,5\% \pm 1,97$, apresentando comportamento não

citotóxico, visto que não diminuiu a viabilidade celular em 75%, o qual é considerado citotóxico para extratos de plantas (RIBEIRO et al., 2012).

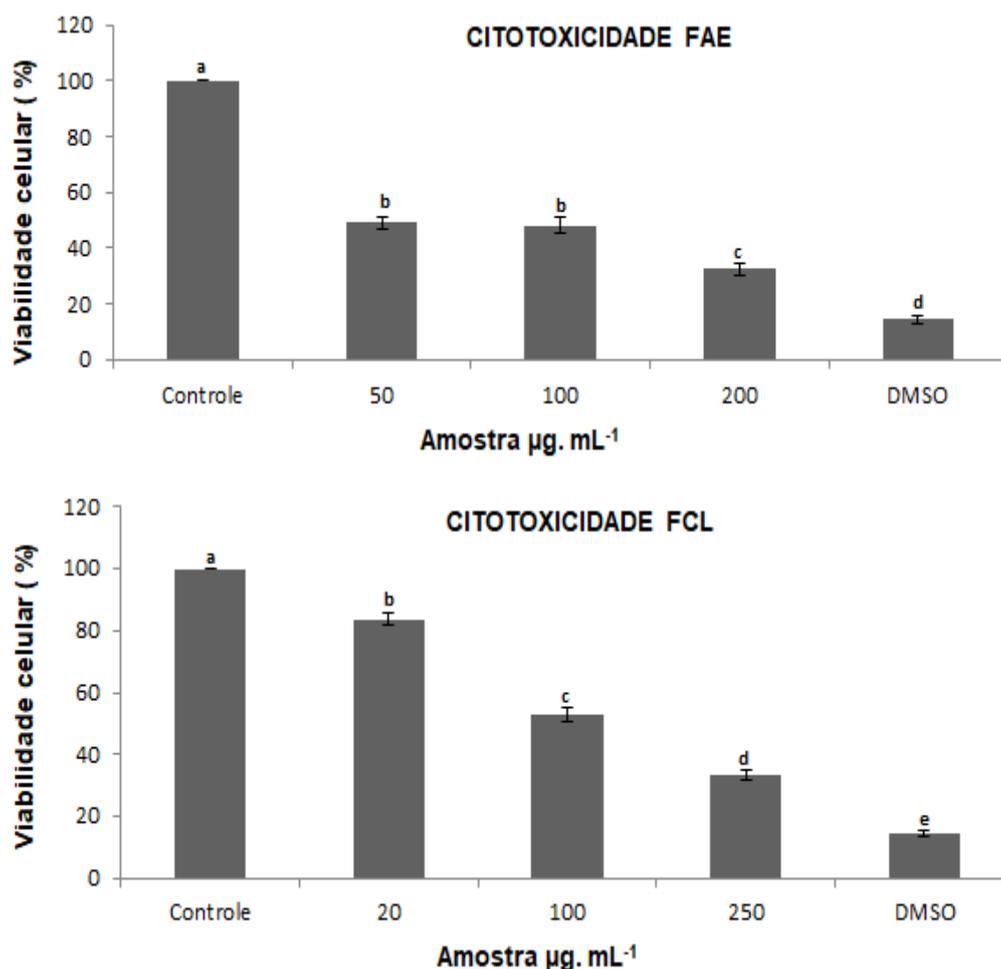


Figura 3. Efeito da FAE e FCL das folhas de *Abarema cochliacarpus* frente à viabilidade celular dos macrófagos J774 a partir do ensaio do brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2-5 difeniltetrazólio, MTT. As células foram tratadas com as frações FAE e FCL (50, 100, 200 µg.mL⁻¹ e 20, 100, 250 µg.mL⁻¹, respectivamente, por 24 h. Os dados foram expressos como percentual de células viáveis comparadas com o grupo veículo e representados como média ± desvio padrão. FAE: fração acetato de etila; FCL: fração clorofórmica.

A FAE na menor concentração (50 µg.mL⁻¹) apresentou uma viabilidade celular de 49,02% ± 2,33, ou seja, seu comportamento foi antiproliferativo/citotóxico de acordo com o relatado por Neri-Numa et al., (2014), onde um extrato que inibe mais de 50% do crescimento celular exibe comportamento antiproliferativo. Essa situação pode ser observada na concentração de 100 e 200 µg.mL⁻¹ do presente estudo da FAE e na concentração de 250 µg.mL⁻¹ da FCL, a qual apresentou uma viabilidade celular de apenas 33,13% ± 1,54.

Dias (2015) relatou que a FAE e FHM da entrecasca de *A. cochliacarpus* apresentaram toxicidade na concentração de 100 µg.mL⁻¹, as quais obtiveram uma viabilidade celular de apenas 33% e 37%, respectivamente, porém o extrato bruto e extrato aquoso das folhas de *A. cochliacarpus*

não apresentaram toxicidade. Enquanto Oliveira et al., (2013) demonstraram que extratos da casca de *A. cochliacarpus* causaram hepatotoxicidade em camundongos nas concentrações de 125 a 1000 mg.mL⁻¹, valores superiores ao deste estudo.

Jesus (2010) observou que o extrato etanólico da casca de *A. cochliacarpus* administrado por via intraperitoneal em camundongos ocasionou distúrbios consideráveis como, taquicardia, movimentos estereotipados, alterações gastrointestinais e edema de focinho nas concentrações de 100 a 176 mg.kg⁻¹, acima dessas concentrações a taxa de mortalidade chegou à 85%. A análise comportamental da *Artemia salina* Leach frente ao extrato etanólico de *A. cochliacarpus* nas concentrações de 40 a 600 µg.mL⁻¹ mostrou alteração sobre a movimentação da *Artemia* e após 24 horas de exposição observou um número moderado de mortalidade (JESUS, 2010).

Estudos apontam que os constituintes químicos presentes no vegetal podem ser responsáveis pelos distúrbios supracitados como, por exemplo, a presença de saponinas, as quais são capazes de formar complexos com esteroides e fosfolípídeos na mucosa intestinal causando irritação, levando a possíveis contorções abdominais (MELO et al., 2007; JESUS, 2010). Quanto ao teste de citotoxicidade com *A. salina*, pesquisas correlacionam resultados de toxicidade a este organismo com várias atividades biológicas, entre elas, a atividade antitumoral e antibacteriana, sugerindo que o extrato de *A. cochliacarpus* possua tais propriedades biológicas (JESUS, 2010).

Diante disso, como ambas as frações (FAE e FCL) apresentaram citotoxicidade na maioria das concentrações testadas frente aos macrófagos J774, o indicativo que essas amostras possam ter substâncias com potencial de inibição às células tumorais deve ser considerado.

6. CONCLUSÃO

As frações (FHX, FCL, FAE e FHM) das folhas de *Abarema cochliacarpus*, apresentaram constituintes químicos na análise qualitativa do tipo fenóis, taninos, saponinas, esteroides, triterpenoides, entre outros. O teor de fenóis totais da FCL, FHX, FAE e FHM; de flavonoides e flavonóis foi quantificado, levando a um promissor potencial antioxidante frente ao radical livre DPPH para a FAE, FHM e FCL.

Foram testadas as quatro frações, porém, apenas a FAE e FCL apresentaram atividade antimicrobiana. A FAE obteve os melhores resultados para as cepas de *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus durans*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosas*, enquanto a FCL obteve atividade para cepas gram-positivas *S. aureus* e *E. durans*.

A FAE apresentou citotoxicidade frente aos macrófagos de linhagem J774 nas concentrações testadas, mostrando um comportamento antiproliferativo. Enquanto a FLC não apresentou toxicidade às células J774 na concentração de 20 $\mu\text{g.mL}^{-1}$.

7. PERSPECTIVAS

Diante dos resultados apresentados, são necessários estudos mais aprofundados quanto à identificação e elucidação de compostos das frações promissoras do trabalho em questão, bem como a realização de ensaios com as substâncias isoladas às atividades biológicas a fim de contribuir na busca por novas drogas e agentes antimicrobianos, além do retorno na medicina popular e comunidade científica.

REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, U.P., MEDEIROS, P.M., ALMEIDA, A.L.S., MONTEIRO, J.M., LINS NETO, E.M.F., MELO, J.G., SANTOS, J.M. Medicinal plants of the caatinga (semi-arid) vegetation of NE Brazil: A quantitative approach. **Journal of Ethnopharmacology**, 114 325–354, 2007.

ALVES, H. M. A diversidade química das plantas como fonte de fitofármacos. **Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola**. Nº 3, maio 2001.

ANDRADE, C. A.; COSTA, C. K.; BORA, K.; MIGUEL, M. D.; MIGUEL, O. G.; KERBER, V. A. Determinação do conteúdo fenólico e avaliação da atividade antioxidante de *Acacia podalyiifolia* A. Cunn. Ex G. Don, Leguminosae-mimosoideae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 17 (2): 231-235, abr/jun, 2007.

ARAÚJO, S. S.; SANTOS, M. I. S.; DIAS, A. S.; FERRO, J. N. S.; LIMA, R. N.; BARRETO, E. O.; CORRÊA, C. B.; ARAÚJO, B. S.; LAUTON-SANTOS, S.; SHAN, A. Y. K.; ALVES, P. B.; SANTANA, A. E. G.; THOMAZZI, S. M.; ANTONIOLLI, A. R.; ESTEVAM, C. S. Chemical composition and cytotoxicity analysis of the essential oil from leaves of *Croton argyrophyllus* Kunth. **Journal Essential Oil Research**., v. 26, p. 446-451, 2014.

ARCE, M.L.R., COOKE, D. 326. ABAREMA IDIOPODA. Leguminosae-Mimosoideae. **Bentham-Moxon Trust**, 1997.

AVELAR-FREITAS, B. A.; ALMEIDA, V. G.; PINTO, M. C. X.; MOURÃO, F. A. G.; MASSENSINI, A. R.; MARTINS-FILHO, O. A.; ROCHA-VIEIRA, E.; BRITO-MELO, G. E. A. Trypan blue exclusion assay by flow cytometry. **Brazil Journal of Medical and Biological Research**.,v. 47, n. 4, p. 307-315, 2014.

AVELAR, T.M.T., STORCH, A.S., CASTRO, L.A., AZEVEDO, G.V.M.M., FERRAZ, L., LOPES, P.F. Oxidative stress in the pathophysiology of metabolic syndrome: which mechanisms are involved? **Journal Brazilian Pathology Medicine**. Lab. v, 51. n, 4, p. 231-239, August 2015.

BARREIRO, E.J., FRAGA, C.A.M., ARAÚJO JÚNIOR, J.X. O uso de produtos naturais vegetais como matérias-primas vegetais para a síntese e planejamento de fármacos. In: SIMÕES C. M.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; DE MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R.

Farmacognosia: da planta ao medicamento, 6^a ed., Porto Alegre: Editora da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, 2007.

BARNEBY, R.C., GRIMES, J.W. Silk tree, guanacaste, monkey's earring. A generic system for the synandrous Mimosaceae of the Americas. *Abarema albizia* and Allies. **Memories of the New York Botanical Garden**, v. 74, part I, 292 p. 1996.

BAUER A.W. Antibiotic susceptibility testing by a standartized single disk method. **American Journal of Clinical Pathology**, v.45, p.493-6, 1966.

BFG - **The Brazil Flora Group**. Growing knowledge: an overview of seed plant diversity in Brazil. *Rodriguésia* 66: 1085-1113. 2015.

BFG – **The Brazil Flora Group**. Material Angiosperms Database (BFG 2018_Angiosperms database), 2018. Disponível em http://dados.gov.br/dataset/thebrazilfloragroup_feb2018 Acesso em: 2019.

BILD, W. et al. The interdependence of the reactive species of oxygen, nitrogen, and carbon. **Journal of Physiology and Biochemistry**., v. 69, p. 147-154, 2013.

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

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. **Programa Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos** / Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. – Brasília: Ministério da Saúde, 2009.

BURIOL, L.; FINGER, D.; SCHIMIDT, E. M.; SANTOS, J. M. T.; ROSA, M. R.; QUINÁIA, S. P.; TORRES, Y. R. Composição química e atividade biológica de extrato oleoso própolis: uma alternativa ao extrato etanólico. **Química Nova**., v. 32, p. 296-302, 2009.

CALIXTO, J.B. Twenty-five years of research on medicinal plants in Latin America. A personal view. **Journal of the Ethnopharmacology**, v.100, p.131-4, 2005.

CAMPOS, S.C.; SILVA, C.G.; CAMPANA, P.R.V.; ALMEIDA, V.L. Toxicidade de espécies vegetais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.18, n 1. supl. I, p.373-382, 2016.

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

CHATZOPOULOU, M., REYNOLDS, L. Role of antimicrobial restrictions in bacterial resistance control: a systematic literature review. **Journal of Hospital Infection**. Accepted online 13 September 2019.

CHENG, Z.; MOORE, J.; YU, L. L. High-Throughput Relative DPPH Radical Scavenging Capacity Assay. **Journal Agricultural and Food Chemistry**., v. 54, n. 20, 2006.

CLSI - **Clinical Laboratory Standards Institute**. Metodologia dos testes de sensibilidade a agentes antimicrobianos por diluição para bactéria de crescimento aeróbico. 6ª ed. M7-A6, v. 23, n. 2, 49p. 2003.

COELHO, A. M. S. P.; SILVA, G. A.; VIEIRA, O. M. C.; CHAVASCO, J. K. Atividade antimicrobiana de *Bixaorellana* L. (Urucum). **Revista Lecta**, v. 1, n. 2, p. 47-54, 2003.

COLACITE, J. Triagem fitoquímica, análise antimicrobiana e citotóxica e dos extratos das plantas: *Schinus terebinthifolia*, *Maytenus ilicifolia* REISSEK, *Tabebuia avellanadae*, *Anadenanthera colubrina* (Vell.) BRENAN. **Revista Saúde e Pesquisa**, v. 8, n. 3, p. 509-516. 2015.

COUTINHO, H.D.M., BEZERRA, D. A. C., LÔBO, K., BARBOSA, I. J. F. Atividade antimicrobiana de produtos naturais. **Conceitos**, jul 2003/jun 2004.

DA SILVA, M.S., ALMEIDA, A.C.A., FARIA, F.M., LUIZ-FERREIRA, A., SILVA, M.A., VILEGAS, W., PELLIZON, C.H., BRITO, A.R.M.S. *Abarema cochliacarpos*: Gastroprotective and ulcer-healing activities. **Journal Ethnopharmacology**., v. 132, p. 134-142, 2010.

DIAS, A.L.S., SOUZA, J.N., ROGEZ, H. Enriquecimento de compostos fenólicos de folhas de *Inga edulis* por extração em fase sólida: Quantificação de seus compostos majoritários e avaliação da capacidade antioxidante. **Química Nova**, vol. 33, n. 1, 38-42, 2010.

DIAS, A. S. Perfil químico, atividade antioxidante e antibacteriana do extrato hidroetanólico e frações da entrecasca de *Abarema cochliacarpus* (Gomes) Barneby & Grimes. 87 f. 2011. **Dissertação (Mestrado em Biotecnologia de Recursos Naturais)** – Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia de Recursos Naturais, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2011.

DIAS, A.S., LIMA, A.C.B., SANTOS, A.L.M.L., RABELO, T.K., SERAFINI, M.R., ANDRADE, C.R., FERNANDES, X.A., MOREIRA, J.C.F., GELAIN, D.P., ESTEVAM, C. S., ARAUJO, B.S.; Redox properties of *Abarema cochliacarpus* (Gomes) Barneby & Grimes (Fabaceae) stem bark ethanol extract and fractions, **Natural Product Research**, 2012.

DIAS, A.S. *Abarema cochliacarpus* (Gomes) Barneby & J. W.Grimes. Caracterização química e potencial biológico. 57 f. 2015. **Tese (Doutorado em Biotecnologia de Recursos Naturais)** – Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia de Recursos Naturais, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2015.

ESCOBAR, N.A. G., SILVA, E.D., TOZZI, A.M.G.A. Leguminosae clado mimosoide em um fragmento de floresta estacional semidecidual do sudeste do Brasil. **Revista do Jardim Botânico do Rio de Janeiro**, v 68(4): 1447-1445. 2017.

ESPINOSA-DIEZ, C., MIGUEL, V., MENNERICH, D., KIETZMANN, T., SÁNCHEZ-PÉREZ, P., CADENAS, S. Antioxidant responses and cellular adjustments to oxidative stress. **Redox Biology**. 6, 183–197. doi: 10.1016/j.redox.2015.07.008. 2015

ESTEVAM, C.S., CAVALCANTE, A.D.M., CAMBUI, E.V.F., ARAÚJO NETO, V., LEOPOLDO, P.D.T.G., FERNANDES, R.P.M., DE ARAUJO, B.S., PORFÍRIO, Z., SANT’ANA, A.E.G. Perfil fitoquímico e ensaio microbiológico dos extratos da entrecasca de *Maytenus rígida* Mart. (Celastraceae). **Revista brasileira de Farmacognosia**, 19(1B): 299-303. 2009.

FERREIRA, B. L. A. Identificação da atividade antibiótica e relação estrutura-atividade de moléculas de origem sintética e animal. 2007. 110f. **Dissertação (Mestrado em Neuroimunologia)** – Universidade Federal Fluminense, Niterói. 2007.

FIRMO, W.C.A., MENEZES, V.J.M., PASSOS, C.E.C., DIAS, C.N., ALVES, L.P.L., DIAS, I.C.L., NETO, M.S., OLEA, R.S.G. Contexto histórico, uso popular e concepção científica sobre plantas medicinais. **Revista Cadernos de Pesquisa**, v. 18, n. especial, dez, 2011.

FUNARI, C. S.; FERRO, V. O. Uso ético da biodiversidade brasileira: necessidade e oportunidade. **Revista Brasileira Farmacognosia**, v. 15, p. 178-182, 2005.

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, da Universidade Estadual de Feira de Santana. 2008.

GIULIETTI, A.M., HARLEY, R.M., QUEIROZ, L.P., WANDERLEY, M.G.L., BERG, C. Biodiversity and conservation of plants in Brazil. **Conservation Biology** 19: 632-639. 2005.

GODIC, A., POLJSAK, B., ADAMIC, M., DAHMANE, R. The role of antioxidants in skin cancer prevention and treatment. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**. v. 2014, 6 p. 2014.

GRIMES, J.W. Generic relationships of Mimosoideae Tribe Ingeae, with emphasis on the New World *Pithecellobium*-Complex. In: Crisp, M. & Doyle, J. J. (eds.). Advances in Legume Systematics 7: Phylogeny. **Royal Botanic Gardens**, Kew. Pp.101-121. 1995.

GUIMARÃES, D.O., MOMESSO, L.S., PUPO, M.T. Antibióticos: importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. **Química Nova**, vol. 33, No. 3, 667-679., 2010.

HAIDA, K.S., HASS, J., LIMA, D.S., HAIDA, K.Y., SILVA, F.J., LIMANA, S., RODRIGUES, R.T. Atividade antioxidante e compostos fenólicos de *Maytenus ilicifolia* e *Maytenus aquifolium*. **Revista saúde e pesquisa**, 5, 360-368. 2012.

HALLIWELL, B. Reactive oxygen species and the central nervous system. In: Free radicals in the brain. **Springer Berlin Heidelberg**, p. 21-40. 1992.

IGANCI, J.R.V. *Abarema* Pittier (Leguminosae – Mimosoideae) no Brasil extra-amazônico. 2008. 149 f. **Dissertação – Escola Nacional de Botânica Tropical – Instituto de Pesquisas Jardim Botânico**, Rio de Janeiro, 2008.

IGANCI, J.R.V., MORIM, M.P. *Abarema* (Leguminosae, Mimosoideae) no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Rodriguésia**, v. 60, p. 581-594, 2009.

IGANCI, J.R.V., MORIM, M. *Abarema* (Fabaceae, Mimosoideae) in the Atlantic Domain, Brazil. **Botanical Journal of the Linnean Society**, 168, 473–486, 2012.

JESUS, N.A.; SUCHARA, E.A. Cultivo de plantas tóxicas e a ocorrência de intoxicações em domicílios no município de Barra do Graças. **Revista Eletrônica da UNIVAR**, v.2; n.10, p.89-95, 2013.

JESUS, R.P.F.S. Bioensaios de *Abarema cochliocarpa* (Gomes) Barneby & Grimes (Leguminosae). 2010. 239 f. **Tese (Doutorado)** – Universidade Federal de Pernambuco. CCS. Ciências Farmacêuticas, 2010.

JESUS, W. M. M.; CUNHA, T. N. Estudos das propriedades farmacológicas da espinheira-santa (*Mytenus ilicifolia* Mart. Ex Reissek) e de suas espécies adulterantes. **Ver Saúde Desenvolvimento**, v. 1, p. 20-24, 2012.

KIM, E.; JEON, I.S.; KIM, J.W.; KIM, J.; JUNG, H.S.; LEE, S. J. An MTT-based method for quantification of periodontal ligament cell viability. **Oral diseases**, v. 13, n. 5, p. 495-499, 2007.

KUMARAN, A., KARUNAKARAN, R.J. In vitro antioxidant activities of methanol extracts of five *Phyllanthus* species from India, **LWT**, v.40, p. 344-352, 2007.

KUMAR, S., PANDEY, A.K. Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. **The Scientific World Journal.**, v 2013, ID 162750, 16 p. 2013.

LANDIM, M. F., PROENÇA, C. E. B., SALES, A. B., MATOS, I.S. Floristic characterization of an Atlantic Rainforest remnant in Southern Sergipe: Crasto forest. **Biota Neotropica.**, v. 15, n. 1, p. 1-16, 2015.

LPWG (2013) Legume phylogeny and classification in the 21st century: Progress, prospects and lessons for other species-rich clades. *Taxon*. **LPWG**. 62: 217-248. 2013.

LEWIS GP, Schrire B, Mackinder B & Lock M (eds.). Legumes of the world. **Royal Botanic Gardens**, Kew. 577p. 2005.

LUSHCHAK, V. I. Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stresses and their classifications classification. **Ukrainian Biochemical Journal.**, v. 87, n 6. 2015.

MAIA, M. S., BICUDO, S. D. Radicais livres antioxidantes e função espermiática em mamíferos; uma revisão. **Revista Brasileira de Reprodução Animal.**, v.33, n.34, 183 – 193, Out/Dez, 2009.

MACIEL, M. A. M.; PINTO, A.; VEIJA JÚNIOR, V. F.; GRYNBERG, N. F.; ECHEVARRIA, A. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova.**, v. 25, p. 429-438, 2002.

MAGINA, M. A.; GILIOLI, A.; MORESCO, H. H.; COLLA, G.; PIZZOLATTI, M. G.; BRIGHENTE, I. M. C. Atividade antioxidante de três espécies de *Eugenia* (Myrtaceae). **Lat American Journal of Pharmaceutical Education.**, v. 29, p. 376-382, 2010.

MARÍN-CORBA, C., CÁRDENAS-LÓPEZ, D., SUÁREZ-SUÁREZ, S. Utilidad del valor de uso en etnobotánica. Estudio en el Departamento de Putumayo (Colombia). **Caldasia**, 27(1):89-101, 2005.

MATOS, F. J. **Introdução à fitoquímica experimental**, 3ª ed., Fortaleza: Edições UFC, 2009.

MBAEBIE, B.O., EDEOGA, H.O., AFOLAYAN, A.J., Phytochemical analysis and antioxidants activities of aqueous stem bark extract of *Schotia latifolia* Jacq. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicina**, p-118-124, 2012.

MELO, D.S.; CORRÊA, A.D.; MARCOS, F.C.A.; SOUSA, R.V.; ABREU, C.M.P.; SANTOS, C.D. Efeitos da farinha de folhas de mandioca sobre a peroxidação lipídica, o perfil lipídico sanguíneo e o peso do fígado de ratos. **Ciência Agrotecnica.**, Lavras, v. 31, n. 2, p. 420-428, 2007.

MONSENY, A.M. et al. Poisonous plants: an ongoing problem. **Anales de Pediatría**, v.85, n.2, p.347-353, 2015.

MOSMANN T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal Immunological Methods.**, v.65. p. 55-63, 1983.

MUSCHIETTI, L.V., MARTINO, V.S. Atividades biológicas dos flavonóides naturais. In: YUNES, R.A.; CECHINEL FILHO, V. Química de produtos naturais, novos fármacos e a moderna farmacognosia. 2 ed. Itajaí: **Universidade do Vale do Itajaí**, 189-218p., 2009.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: occurrence, extraction and analysis. **Journal Pharmaceutical and Biomedical Analysis.**, v. 41, n. 5, p. 1523-42, 28 ago. 2006.

NERI-NUMA, I. A.; CARVALHO-SILVA, L. B.; FERREIRA, J. E. M.; MACHADO, A. R. T.; MALTA, L. G.; RUIZ, A. L. T. G.; CARVALHO, J. E.; PASTORE, G. M. Preliminary evaluation of antioxidant, antiproliferative and antimutagenic activities of pitomba (*Talisia esculenta*). **LWT – Food Science and Technology**, v. 59, p. 1233-1238, 2014.

NETO, J.R.L. Potencial antioxidante de plantas da flora pernambucana. **Dissertação de mestrado**. Universidade Federal de Pernambuco. Programa de pós-graduação em bioquímica e fisiologia. 2015.

NOLDIN, V. F., ISAIAS, D. B., FILHO, V. C. Gênero *Calophyllum*: importância química e farmacológica. **Revista Química Nova**, vl. 29, n. 3, p. 549-554, 2006.

OLIVEIRA, T.S. Potencial do uso do ácido cadeico em formulações cosméticas: atividade antioxidante, atividade despigmentante e citotoxicidade. **TCC**. Graduação em Farmácia-Bioquímica. Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, da Universidade Estadual Paulista. Araraquara/SP 2016.

OLIVEIRA, I. V. P. M.; DIAS, R. V. C. Cicatrização de feridas: fases e fatores de DIA Sinfluência. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 6, p. 267-271, 2012.

OLIVEIRA, R. F.; ANTUNES, C. G. C.; SANTOS, G. K. M.; OLIVEIRA, C. S.; SILVA, P. R. C.; ROCHA, E. M.; FERNANDEZ, L. G.; TRINDADE, R. C. Use of *Abarema cochliacarpus* (Gomes) Barneby & J. W. Grimes on the skin burn treatment of wistar *Rattus norvegicus*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 94, p. 302-306, 2013.

OLIVEIRA, T.F., FERREIRA, J.S., SORTE, P.M.F., REIS, V.M., BALDANI, J.I., SCHWAB, S. Concentração Mínima Inibitória (CMI) de antibióticos para oito estirpes de bactérias diazotróficas da Coleção de Culturas da Embrapa Agrobiologia: Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento. **Embrapa Agrobiologia**, 1 ed, 20 p., 2009.

PALOMINO, J.C., MARTIN, A., CAMACHO, M., GUERRA, H., SWINGS, J., F. Portaels, Resazurin microtiter assay plate: simple and inexpensive method for detection of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*, **Antimicrob. Agents Chemother**. 46 2720-2722. 2002.

PERES, L. A. B.; DELFINO, V. D. A.; MOCELIN, A. J.; TUTIDA, L. A.; FAVERO, M. E.; MATSUO, T. Padronização do teste MTT em modelo de preservação a frio como instrumento de avaliação da viabilidade celular renal. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, v. 30, p. 48-53, 2008.

PERSSON, T.; POPESCU, B. O.; CEDAZO-MINGUEZ, A. Oxidative stress in Alzheimer's disease: why did antioxidante therapy fail. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**., v. 2014, 11 p., 2014.

PIRES, A. M. L. Estudo fitoquímico de *Abarema cochliacarpus* (Gomes) Barneby & J. W. Grimes e *Calliandra depauperata* Benth. 2011. 211 f. **Tese – Universidade Federal do Ceará, Programa de Pós-Graduação em Química**, Fortaleza, 2011.

PISOSCHI, A. M.; POP, A. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. **European Journal of Medicinal Chemistry**., v. 97, p. 55–74, abr., 2015.

RADI, R. Peroxynitrite, a Stealthy Biological Oxidant. **Journal of Biological Chemistry**. V. 288, n. 37, p. 26464-26472, set. 2013.

RASCH, R.F.R., 2019. Ancient history and new Frontiers: infectious diseases. **Nursing Clinical Research**. v. 54, n. 2, 15–16. 2019.

RASCÓN-VALENZUELA, L.; JIMÉNEZ-ESTRADA, M.; VELÁZQUEZ-CONTRERAS, C.; GARYBAY-ESCOBAR, A.; VILEGAS, W.; CAMPANER, L.; COQUEIRO, A.; ROBLES-ZEPEDA, R. E. Chemical composition and antiproliferative activity of *Acalypha californica*. **Industrial Crops and Products**., v. 69, p. 48-54, 2015.

RÊGO-JUNIOR, N.O., FERNANDEZ, L.G., CASTRO, R.D., SILVA, L.C., PEREIRA, M.L.A., SILVA, M.V. Compostos bioativos e atividade antioxidante de extratos brutos de espécies vegetais da caatinga. **Brazilian Journal of Food Technology**., Campinas, v. 14, n. 1, p. 50-57, jan./mar. 2011.

REIS, M. O. R. Avaliação da atividade antimicrobiana *in vitro* do extrato hidroalcoólico das folhas de *Persea gratissima* Gaertn – Abacateiro – (Lauraceae) **Dissertação. 2006. 76 p. (Mestrado em Promoção de Saúde)** – Universidade de Franca, São Paulo, 2006.

RIBEIRO, A. F. C. Avaliação das atividades anti-inflamatória, antiangiogênica e antitumoral de extratos da *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlot. 2012. 92 f., **Tese (Doutorado em Ciência Animal)** – Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais, 2012.

ROGERO, S. O.; LUGÃO, A. B.; IKEDA, T. I.; CRUZ, A. S. Teste *in vitro* de citotoxicidade: estudo comparativo entre duas metodologias. **Materials Research**, v. 6, p. 317-320, 2003.

ROSTAGNO, M. A.; PRADO, J. M. Natural product extraction: principles and applications. Londres: **Royal Society of Chemistry**. 500p. 2013.

SÁ, P.G.S., GUIMARÃES, A.L., OLIVEIRA, A.P., SIQUEIRA-FILHO, J.A., FONTANA, A.P., DAMASCENO, P.K.F., BRANCO, C.R.C., BRANCO, A., ALMEIDA, J.R.G. Fenóis totais, flavonoides totais e atividade antioxidante de *Selaginella convoluta* (Arn). Spring (Selaginellaceae). **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**. 33(4):561-566. 2012.

SANTANGELO, C., VARI, R., SCAZZOCCHIO, B., DI BENEDETTO, R., FILESI, C., MASELLA, R. Polyphenols, intracellular signalling and inflammation. **Annaliistituto superior di sanita**, v. 43, n. 4, p. 394, 2007.

SARMENTO, D.M.A. Isolamento e identificação de substâncias bioativas de *Pithecellobium cochliocarpum* mart, 86p. **Dissertação de mestrado**. Centro de Ciências Exatas da Natureza. Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa. 1999.

SANTOS, S.C., COSTA, W.F., RIBEIRO, J.P., GUIMARÃES, D.O., FERREIRA, H.D., SERAPHIN, J.C., 2002. Tannin composition of *barbatimao* species. **Revista de Fitoterapia** 73, 292–299. 2002.

SANTOS, S. C.; MELLO, J. C. P. Taninos. 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**, 5. Ed. Porto Alegre: Editora UFRGS, 2007.

SANTOS, S. C.; FERREIRA, F. S.; ROSSI-ALVA, J. C.; FERNANDEZ, L. G. Atividade antimicrobiana *in vitro* do extrato de *Abarema cochliocarpos* (Gomes) Barneby & Grimes. **Revista Brasileira de Farmacognosia**., v. 17, n. 2, p. 215-219, 2007.

SANTOS, V.L.; SOUZA, M.F.V.; BATISTA, L.M; SILVA, B.A.; LIMA, M.S.; SOUZA, A.M.F.; BARBOSA, F.C.; CATÃO, R.M.R. Avaliação da atividade antimicrobiana de *Maytenus rigida* Mart. (Celastraceae) **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. Botucatu, v.13, n.1, p.68-72, 2011.

SANTOS, R.; SILVA, I.; VERÍSSIMO, R.; LÚCIO, I.; CAMPESATTO, E.; CONSERVA, L.; BASTOS, M. Study of antimicrobial and cytotoxic potential of *Pouteria venosa* species (Sapotaceae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 3, p. 367-373, 2015.

SATURNINO-OLIVEIRA, J.; SANTOS, D. C.; GUIMARÃES, A. G., DIAS, A. S.; TOMAZ, M. A.; MONTEIRO-MACHADO, M.; ESTEVAM, C. S.; DE LUCCA JUNIOR, W.; MARIA, D. A.; MELO, P. A.; ARAÚJO, A. A. S.; SANTOS, M. R. V.; ALMEIDA, J. R. G. S.; OLIVEIRA, R. C. M.; OLIVEIRA, A. P.; QUINTANS-JÚNIOR, L. J. *Abarema cochliacarpus* extract decreases the inflammatory process and skeletal muscle injury induced by *Bothrops leucurus* Venom. **BioMed Research International**., s/v, p. 1-9, 2014.

SCALBERT, A. Antimicrobial properties of tannins. **Phytochemistry**, v. 30, p. 3875-3883. 1991.

SCHERER, R., GODOY, H.T. Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. **Food Chemistry**., 112: 654-658, 2009.

SHAN, A.Y.K., ALMEIDA, E.C.V., SANTOS, A.L.L.M., LIMA, A.C.B., SANTOS, C.C.S., SOUZA, M.T.S., DAMASCENA, N.P., ARAUJO, S.S., SANTOS, J.L.S., PAIXAO, M.S., MARÇAL, A.C., QUINTANS-JUNIOR, L.I.J., ARAUJO, B.S., ESTEVAM, C.S. Antioxidant and antinociceptive effect of the hydroethanolic extract and fractions of the bark of *Bowdichia virgilioides* in orofacial pain. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**. Vol. 10(15), pp. 320-329, 22 april, 2016.

SILVA, E.G., BEHR, G.A., ZANOTTO-FILHO, A., LORENZI, R., PASQUALI, M.A.B., RAVAZOLO, L.G., BORDIGNON JR.C.L., SILVA, F.A., ABOY, A.L., BASSANI, V.L., HENRIQUES, A.T., REGINATTO, F.H., DALPIZZOL, F., MOREIRA, J.C.F. Antioxidants activities and free radical scavenging potential of *Bauhinia microstachya* (Raddi) MACBR (caesalpinaceae) extracts linked to their polyphenol content. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v.30, p.1488-1496, 2007.

SILVA, N.C.B., ESQUIBEL, M.A., ALVES, I.M., VELOZO, E.S., ALMEIDA, M.Z., SANTOS, J.E.S., CAMPOS-BUZZ, F., MEIRA, A.V., CECHINEL-FILHO, V. Antinociceptive effects of *Abarema cochliacarpus* (B. A. Gomes) Barneby & J. W. Grimes (Mimosaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia.**, v. 19, n. 1, p. 46-50, 2009.

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

SILVA, M. L. C.; COSTA, R. S.; SANTANA, A. S.; KOBLITZ, M. G. B. Compostos fenólicos, carotenoides e atividade antioxidante em produtos vegetais. *Semina: Ciências Agrárias.*, v. 31, p. 669-682, 2010.

SILVA, F.C., DUARTE, L.P., VIEIRA FILHO, S.A. Celastráceas: Fontes de triterpenos pentacíclicos com potencial atividade biológica. **Revista Virtual de Química**, v. 6, n. 5, p. 1205-1220, 2014.

SIMÕES, C.M.O., SCHENKEL, E.P., GOSMANN, G., DE MELLO, J.C.P., MENTZ, L.A., PETROVICK, P.R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**, 2ª ed., Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS/UFSC, 821 p. 2007.

SKOTTI, E., ANASTASAKI, E., KANELLOU, G., POLISSIOU, M., TARANTILIS, P.A. Total phenolic content, antioxidant activity of aqueous extract from selected Greek medicinal and aromatic plants. **Industrial Crops and Products.**, v. 53, p. 46-54, 2014.

SOARES, S. P.; VINHOLIS, A. H. C.; CASEMIRO, L. A.; SILVA, M. L. A.; CUNHA, W. R.; MARTINS, C. H. G. Atividade antibacteriana do extrato hidroalcoólico bruto de *Stryphnodendron adstringens* sobre microrganismos da cárie dental. **Revista Odonto Ciência.**, 23 (2): 141-144, 2008.

SOBRATTEE, M.A., NEERGHEEN, V.S., LUXIMON-RAMMA, A., ARUOMA, O.I., BAHUORUN, T. Phenolics as potential antioxidant therapeutic agents: mechanism and actions. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 579, n.1, p. 200-213, 2005.

SOUZA, C.N., ALMEIDA, A.C., XAVIER, M.T.R., COSTA, J.P.R., NSILVA, L.M.V., MARTINS, E.R. Atividade antimicrobiana de plantas medicinais do cerrado mineiro frente a bactérias isoladas de ovinos com mastite. **Revista Unimontes Científica**. Montes Claros, v.19, n.2- jul./dez. 2017.

TAN, B.L., NORHAIZAN, M.E., LIEW, W.P.P., RAHMAN, H.S. Antioxidant and oxidative stress: A mutual interplay in age-related diseases. **Frontiers in pharmacology**. Doi: 10.3389/fphar.2018.01162. 16 october, 2018.

TAVARES, N.U.L., BERTOLDI, A.D., BAISCH-MUCCILLO A.L. Prescrição de antimicrobianos em unidades de saúde da família no Sul do Brasil. **Cadernos de. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, 24(8) 1791-1800,ago, 2008.

TRABULSI, L. R., TOLEDO, M. R. F. de (Ed.). **Microbiologia**. 4. ed. São Paulo: Atheneu. 386 p. 2004.

VEIGA-JÚNIOR, V.F. Estudo do consumo de plantas medicinais na região centro-oeste do estado do Rio de Janeiro e modo de uso pela população. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 2, p. 308-313, abr./jun, 2008.

VIRTUOSO, S., DAVET, A., DIAS, J.F.G., CUNICO, M.M., MIGUEL, M.D., OLIVEIRA, A.B., MIGUEL, O.G. Estudo preliminar da atividade antibacteriana das cascas de *Erythrina velutina* Willd., Fabaceae (Leguminosae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 15(2): 137-142, Abr./Jun. 2005.

WATKINSON, G. *Abarema cochliacarpus*. **The IUCN Red List of Threatened Species** 2012:e.T36560a20013204.<http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2012.RLTS.T36560A20013204.en>. 2012.