



**FABILE SCHLICKMANN**

**ESTUDOS QUÍMICOS E AVALIAÇÃO DAS  
ATIVIDADES ANTIMICROBIANA E DIURÉTICA DAS  
FOLHAS DE *Mimosa bimucronata* (MARICÁ) E  
ANTIMICROBIANA DAS CASCAS DO FRUTO DE  
*Mimusops balata* (ABRICÓ-DA-PRAIA)**

Itajaí (SC)  
2018



**UNIVERSIDADE DO VALE DO ITAJAÍ**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS**  
**FARMACÊUTICAS**  
**ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM PRODUTOS NATURAIS E**  
**SUBSTÂNCIAS SINTÉTICAS BIOATIVAS**

**FABILE SCHLICKMANN**

**ESTUDOS QUÍMICOS E AVALIAÇÃO DAS**  
**ATIVIDADES ANTIMICROBIANA E DIURÉTICA DAS**  
**FOLHAS DE *Mimosa bimucronata* (MARICÁ) E**  
**ANTIMICROBIANA DAS CASCAS DO FRUTO DE**  
***Mimusops balata* (ABRICÓ-DA-PRAIA)**

Tese de Doutorado submetida à  
Universidade do Vale do Itajaí como parte  
dos requisitos para a obtenção do grau de  
Doutor em Ciências Farmacêuticas.  
Apoio financeiro concedido pela CAPES.

Orientador: Prof. Dr. Valdir Cechinel  
Filho.

Itajaí (SC)  
Dezembro, 2018

### Ficha Catalográfica

S36e

Schlickmann, Fabile, 1989-

Estudos químicos e avaliação das atividades antimicrobiana e diurética das folhas de *Mimosa bimucronata* (maricá) e antimicrobiana das cascas do fruto de *Mimusops balata* (abricó-da-praia) [Manuscrito] / Fabile Schlickmann. - Itajaí, SC. 2018.

180 f. ; il. ; graf. ; fig. ; tab.

Inclui Referências bibliografias

(Cópia de computador (Printout(s))).

Tese de Doutorado submetida à Universidade do Vale do Itajaí como parte dos requisitos para a obtenção do grau de Doutor em Ciências Farmacêuticas. Apoio financeiro concedido pela CAPES.

“Orientador: Prof. Dr. Valdir Cechinel Filho.”

1. Produtos Naturais. 2. Plantas medicinais. 3. Farmacologia.
4. Análise fitoquímica. 5. Antimicrobiana. 6. Diurético.
- I. Universidade do Vale do Itajaí. II. Título.

CDU: 615.32



UNIVALI

UNIVERSIDADE DO VALE DO ITAJAÍ


**“ESTUDOS QUÍMICOS E AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANTIMICROBIANA E  
DIURÉTICA DAS FOLHAS DE *Mimosa bimucronata* (MARICÁ) E  
ANTIMICROBIANA DAS CASCAS DO FRUTO DE *Mimosa balata*  
(ABRICÓ-DA-PRAIA)”**

**FABILE SCHLICKMANN**

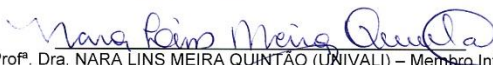
Esta Tese foi julgada adequada para a obtenção do título de Doutor (a) em Ciências Farmacêuticas, Área de Concentração em Produtos Naturais e Substâncias Bioativas e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade do Vale do Itajaí.

  
Professor Clóvis Antônio Rodrigues, Doutor  
Coordenador PPGCF

Apresentada perante a Banca Examinadora composta pelos Professores:

  
Prof. Dr. VALDIR CECHINE FILHO (UNIVALI) – Presidente e Orientador

  
Profª. Dra. ANGELA MALHEIROS (UNIVALI) – Membro Interno

  
Profª. Dra. NARA LINS MEIRA QUINTÃO (UNIVALI) – Membro Interno

  
Prof. Dr. MARCEL PETREANU (AVANTIS) – Membro Externo

  
Prof. Dr. EDUARDO BREVIGLIERI – Membro Externo

Itajaí, 04 de dezembro de 2018.

**Vice-Reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação – UNIVALI**  
**Gerência de Pesquisa e Pós-Graduação**

**Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas (Mestrado e Doutorado)**

Rua Uruguai, 458 – Bloco F6 – Sala 321 – Cx.Postal 360 – CEP: 88302-901 – Itajaí – Santa Catarina

Fone/Fax: (047) 3341-7932

[poscf.ccs@univali.br](mailto:poscf.ccs@univali.br)

[www.univali.br/mestradocf](http://www.univali.br/mestradocf)

[www.univali.br/doutoradocf](http://www.univali.br/doutoradocf)



## **Dedicatória**

Dedico este trabalho à minha mãe Alivir, que em todo tempo se alegrou com minhas conquistas para alcançar este título; ao meu pai Vicente, vivo em minhas memórias mais especiais; e à minha tia Denize, que com doçura esteve presente pelo tempo que Deus permitiu. Dedico ainda, ao meu avô João de Lorenzi Cancelier, que em sua imensa bondade e sabedoria, auxiliou a comunidade de Angelina/SC com fitoterápicos, nas décadas de 50 e 60.





## **AGRADECIMENTOS**

À Deus, por me dar a vida, força, determinação e principalmente serenidade para seguir esta trajetória;

À minha mãe, sempre presente com seu amor, carinho, dedicação, preocupação e orações para que eu cursasse este caminho com êxito;

Aos meus irmãos e irmãs, cunhados e sobrinha pela compreensão e apoio nos momentos difíceis;

À minha prima Geisa, à minha madrinha Lourdes e ao meu padrinho Audi, sempre presentes em minha vida, acolhendo-me carinhosamente em nossos encontros;

Aos amigos que compartilharam importantes momentos: Nicole e Vika, Beth, Bruna Taufenbach, Thiago Mello, Marcel e Fernanda Stenger;

Ao meu amigo e orientador Prof. Dr. Valdir Cechinel Filho, inspiração a ser seguida, pela amizade construída ao longo destes anos, pelos ensinamentos e apoio constante em todos os momentos. Prof. estimado, és o exemplo real da seguinte citação: “A simplicidade é o último degrau da sabedoria” (Khalil Gibran). Minha eterna gratidão por ter cruzado o meu caminho um ser humano de tamanha luz, bondade e sabedoria.

Ao Prof. Theodoro Marcel Wagner, ao Funcionário Pedro Pablo Perez Netto (RMN), Prof. Oscar Iza e ao Herbário Barbosa Rodrigues, pela contribuição;

À Profa. Dra. Ângela Malheiros pela dedicação e amizade, pela ajuda e atenção na elaboração deste trabalho;

À Profa. Dra. Fátima de Campos Buzzi e equipe;

À Profa. Dra. Priscila de Souza e equipe;

À FURB e Dra. Adrielli Tenfen e equipe;

À banca avaliadora, Prof. Dra. Ângela, Prof. Dra. Nara, Dr. Marcel e Dr. Eduardo, pela disposição em avaliar e contribuir com o presente trabalho;

Ao Prof. Dr. Clóvis, pelo apoio e à equipe da coordenação do PPGCF/Univali;

À secretaria do PPGCF: Juliano e Helenize, sempre solícitos e atenciosos;

À secretaria de Educação Navegantes/SC pelo apoio e liberação concedida para cursar este último ano de Doutorado;

À CAPES e CNPq pela oportunidade e apoio financeiro;

À todos que estiveram envolvidos neste período e que contribuíram de alguma forma.

**MUITO OBRIGADA!**



## **EPIÍGRAFE**

“Alguns homens veem as coisas como são, e dizem ‘Por quê’? Eu sonho com as coisas que nunca foram e digo ‘Por que não?’” (George B. Shaw)

“A verdadeira viagem de descobrimento não consiste em procurar novas paisagens, e sim em ter novos olhos”. (Marcel Proust)

“Os olhos são a candeia do corpo. Se os seus olhos forem bons, todo o seu corpo será cheio de luz”. (Mateus 6:22 / Bíblia NVI).

“Todo saber é vão, exceto quando há trabalho. E todo trabalho é vazio, exceto quando há amor. E quando trabalhais com amor, vós vos unis a vós próprios, e uns aos outros, e a Deus”. (Khalil Gibran)



# **ESTUDOS QUÍMICOS E AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANTIMICROBIANA E DIURÉTICA DAS FOLHAS DE *Mimosa bimucronata* (MARICÁ) E ANTIMICROBIANA DAS CASCAS DO FRUTO DE *Mimusops balata* (ABRICÓ-DA-PRAIA)**

**FABILE SCHLICKMANN**

Dezembro, 2018

Orientador: Valdir Cechinel Filho, Doutor.

Área de concentração: Produtos Naturais e Substâncias Sintéticas Bioativas.

Número de páginas: 180.

A utilização de compostos provenientes de plantas no desenvolvimento de fármacos tem sido uma área promissora de investigação química. O objetivo da presente pesquisa foi realizar estudos fitoquímicos e avaliação das atividades antimicrobiana e diurética do extrato metanólico bruto, frações e compostos das folhas de *Mimosa bimucronata* (maricá) e antimicrobiana do extrato metanólico bruto e frações das cascas do fruto de *Mimusops balata* (abricó-da-praia). A análise fitoquímica foi realizada com material fresco das plantas escolhidas, em maceração por metanol por sete dias, seguida da partição líquido-líquido com solventes de polaridades distintas afim de se obterem as frações diclorometano e acetato de etila, respectivamente. Tais frações foram submetidas a cromatografia em coluna convencional (CC) com gradiente de polaridade crescente para o isolamento dos constituintes majoritários de cada espécie. Os compostos isolados foram identificados por meio de técnicas de cromatografia gasosa acoplado a detector massas (CG/EM), além de ressonância magnética nuclear (RMN) de  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$ . Em alguns casos foi usada cromatografia em camada delgada (CCD) para confirmação estrutural usando padrões autênticos. Das folhas de *M. bimucronata* foram identificados o ácido gálico e o galato de metila. Das cascas do fruto de *M. balata*, foram identificados os ácidos ursólico e oleanólico, ácido rotúndico e composto com características dos ácidos pomólico e cinchólico. A análise antimicrobiana avaliou extratos brutos e frações de *M. bimucronata* e *M. balata* contra cepas de bactérias com e sem parede celular, por meio da técnica de microdiluição em caldo; avaliou a atividade antifúngica *in vitro* dos extratos brutos e frações de *M. bimucronata* contra *Bacillus subtilis*; *Staphylococcus aureus*; *Escherichia coli* e *Candida albicans*. Dentre o material avaliado, a fração diclorometano das folhas de *M.*

*bimucronata* (FDCMF) foi a que melhor inibiu as cepas. O extrato metanólico das folhas de *M. bimucronata* (EMBF) exibiu atividade antimollicute moderada. A fração diclorometano das cascas do fruto de *M. balata* (FDCMC) foi a única que apresentou atividade antimicrobiana eficaz contra os mollicutes. A fração acetato de etila das cascas do fruto de *M. balata* (FAEF) demonstrou eficácia contra *Candida albicans*. Foi verificada ainda, a atividade diurética, natriurética e caliurética dos extratos, frações e dos compostos obtidos mais promissores de *M. bimucronata* em ratos. O EMBF e FAEF exibiram efeito diurético e salurético quando administrados por via oral a ratos. Da mesma forma, o componente majoritário galato de metila (GM) revelou propriedades diuréticas, natriuréticas e caliuréticas em ratos. O ácido gálico (AG) induziu efeitos diuréticos e saluréticos ( $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$ ), sem interferir na excreção de  $\text{K}^+$ , quando administrados por via oral a ratos na dose de 3 mg/kg. Embora várias atividades biológicas já tenham sido descritas para o AG, este é o primeiro estudo que demonstra seu potencial como agente diurético.

**Palavras-chave:** *Mimosa bimucronata*. *Mimusops balata*. Análise fitoquímica. Antimicrobiana. Diurético.

# **CHEMICAL STUDIES AND EVALUATION DIURETIC AND ANTIMICROBIAL ACTIVITIES LEAVES OF THE *Mimosa bimucronata* (MARICÁ) AND ANTIMICROBIAL BARKS FRUITS OF *Mimusops balata* (ABRICÓ-DA-PRAIA)**

**FABILE SCHLICKMANN**

December 2018

Advisor: Valdir Cechinel Filho, PhD.

Area of concentration: Natural Products and Bioactive Synthetic Substances.

Number of pages: 180.

The use of plant compounds in drug development has been a promising area for chemical research. The aim of this work was to carry out phytochemical studies and antimicrobial and diuretic evaluation of the crude methanolic extract, fractions and isolated compounds from *Mimosa bimucronata* (maricá) leaves and antimicrobial of the crude methanolic extract and fractions of *Mimusops balata* (abricó-da-praia) fruit's barks. The phytochemical analysis was carried out with fresh plants material, in maceration by methanol for seven days, followed by the liquid-liquid partition with solvents of different polarities to obtain the dichloromethane and ethyl acetate fractions, respectively. These fractions were subjected to conventional chromatography column (CC) with gradient of increasing polarity for the isolation of the major constituents of each species. The isolated compounds were identified using gas chromatography coupled to mass detector (GC-MS), as well as  $^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  nuclear magnetic resonance (NMR). In some cases, thin layer chromatography (CCD) was used for structural confirmation using authentic standards. From the leaves of *M. bimucronata*, gallic acid and methyl gallate were identified. From the bark fruit of the *M. balata*, the ursolic and oleanolic acids, rotundic acid and a compound with the characteristics of the pomolic and cincholic acids were identified. The antimicrobial analysis evaluated crude extracts and fractions of *M. bimucronata* and *M. balata* against bacterial strains with and without cell wall, using the broth microdilution technique; and evaluated the *in vitro* antifungal activity of crude extracts and fractions of *M. bimucronata* against *Bacillus subtilis*; *Staphylococcus aureus*; *Escherichia coli* and *Candida albicans*. Among the evaluated material, dichloromethane fraction leaves of *M. bimucronata* (FDCMF) was the one that best inhibited the strains.

Methanolic extract from leaves of *M. bimucronata* (EBMF) exhibited moderate antimollicute activity. The dichloromethane fraction bark fruit of the *M. balata* (FDCMC) was the only one that presented effective antimicrobial activity against the mollicutes. Ethyl acetate fraction bark fruit of the *M. balata* (FAEF) demonstrated efficacy against *Candida albicans*. It was also verified the diuretic, natriuretic and kaliuretic activity of extracts, fractions and the most promising compounds of *M. bimucronata* in rats. EMBF and FAEF exhibited diuretic and saluretic effects when administered orally to rats. Furthermore, the major component gallate of methyl (GM) revealed diuretic, natriuretic and kaliuretic properties in rats. Gallic acid (AG) induced diuretic and saluric effects ( $\text{Na}^+$  and  $\text{Cl}^-$ ), without interfering with the excretion of  $\text{K}^+$  when administered orally to rats at a dose of 3 mg/kg. Although several biological activities have already been described for AG, this is the first study that demonstrates its potential as a diuretic agent.

**Keywords:** *Mimosa bimucronata*. *Mimusops balata*. Phytochemical analysis. Antimicrobial. Diuretic.



## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Folhas de <i>Mimosa bimucronata</i> .....	16
<b>Figura 2.</b> Frutos de <i>Mimusops balata</i> .....	25
<b>Figura 3.</b> Estrutura química do galato de metila.....	30
<b>Figura 4.</b> Estrutura química do ácido gálico.....	31
<b>Figura 5.</b> Estrutura química do ácido oleanólico.....	34
<b>Figura 6.</b> Estrutura química do ácido ursólico.....	34
<b>Figura 7.</b> Estrutura química do ácido betulínico.....	34
<b>Figura 8.</b> Estrutura química do ácido cinchólico.....	35
<b>Figura 9.</b> Estrutura química do ácido quinovínico.....	36
<b>Figura 10.</b> Estrutura química do ácido pomólico.....	36
<b>Figura 11.</b> Estrutura química do beta-sitosterol.....	37
<b>Figura 12.</b> Estruturas químicas dos ácidos rotungênico ( <b>A</b> ) e rotúndico ( <b>B</b> ).....	37
<b>Figura 13.</b> <i>Mimosa bimucronata</i> : a) folhas frescas; b) maceração em metanol.....	47
<b>Figura 14.</b> Obtenção de extrato metanólico bruto e frações das folhas de <i>M. bimucronata</i> .....	48
<b>Figura 15.</b> Procedimentos cromatográficos da FAEF e FDCMF.....	50
<b>Figura 16.</b> Cromatografias de Camada Delgada das frações da coluna aberta FAEF: a) 1M1 a 8M1; b) 9M1 a 16M1; c) 31M1 a 36M1; d) 37M1 a 44M1, reveladas com Cloreto férrico.....	51
<b>Figura 17.</b> Cromatografias de Camada Delgada das frações da coluna aberta FDCMF: a) 1M2 a 9M2; b) 10M2 a 17M2; c) 18M2 a 25M2 reveladas com Anisaldeído.....	52
<b>Figura 18.</b> Fruto de <i>Mimusops balata</i> e suas partes.....	53
<b>Figura 19.</b> Obtenção de extrato metanólico bruto e frações das cascas do fruto de <i>M. balata</i> .....	54
<b>Figura 20.</b> Procedimentos cromatográficos da FAEC e FDCMC.....	56
<b>Figura 21.</b> Cromatografias de Camada Delgada das frações da coluna aberta FAEC: a) 17A a 21A; b) 22A a 25A reveladas com Anisaldeído.....	57
<b>Figura 22.</b> Cromatografias de Camada Delgada das frações da coluna aberta FAEC: a) 32A a 37A; b) 67A a 75A reveladas com Cloreto férrico.....	57
<b>Figura 23.</b> Cromatografias de Camada Delgada das frações da coluna aberta FDCMC: a) 27B a 31B; b) 32B a 39B; c) 40B a 44B; d) 54B a 56B; e) 66B a 73B reveladas com Anisaldeído.....	58
<b>Figura 24.</b> Formação do Trifenil Formazan.....	62
<b>Figura 25.</b> Cromatograma obtido por CG/EM do composto 8M2 isolado das folhas de <i>M. bimucronata</i> .....	66
<b>Figura 26.</b> Estrutura química da dietiltoluidamida.....	66

<b>Figura 27.</b> Estrutura química do ácido adípico.....	67
<b>Figura 28.</b> Estrutura química do esqualeno.....	67
<b>Figura 29.</b> Estrutura química do hexahidrofarnesil acetona.....	67
<b>Figura 30.</b> Cromatograma obtido por CG/EM do composto 6M6 isolado das folhas de <i>M. bimucronata</i> .....	68
<b>Figura 31.</b> Cromatografia de Camada Delgada do composto 9M1, galato de metila (padrão) e Co-CCD com estes compostos, revelada com Cloreto férrico.....	69
<b>Figura 32.</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H do composto 9M1 (galato de metila) isolado das folhas de <i>M. bimucronata</i> (solvente MeOD).....	70
<b>Figura 33.</b> Espectro de RMN <sup>13</sup> C do composto 9M1 (galato de metila) isolado das folhas de <i>M. bimucronata</i> (solvente MeOD).....	71
<b>Figura 34.</b> Estrutura química do galato de metila.....	72
<b>Figura 35.</b> Cromatografia de Camada Delgada do composto 1M8 a 8M8 e padrão GM (Fase móvel: Clorofórmio:Metanol 90:10) revelada com Cloreto férrico.....	73
<b>Figura 36.</b> Frações e 1M3 a 16M3 e respectivas Cromatografias de Camada Delgada reveladas com Cloreto férrico.....	74
<b>Figura 37.</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H do composto 9M3 (ácido gálico) isolado das folhas de <i>M. bimucronata</i> (solvente MeOD).....	75
<b>Figura 38.</b> Espectro de RMN <sup>13</sup> C do composto 9M3 (ácido gálico) isolado das folhas de <i>M. bimucronata</i> (solvente MeOD).....	76
<b>Figura 39.</b> Estrutura química do ácido gálico.....	77
<b>Figura 40.</b> Análise por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Cromatograma de CLAE do extrato metanólico das folhas de <i>M. bimucronata</i> a 250 nm. Os picos 1 e 2 foram identificados como ácido gálico e galato de metila, respectivamente.....	78
<b>Figura 41.</b> Frações 1C a 11C e respectivas Cromatografias de Camada Delgada reveladas com Anisaldeído (Fase móvel: Hexano:Acetona 80:20).....	79
<b>Figura 42.</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H do composto 4C isolado das cascas do fruto de <i>M. balata</i> (solvente CDCl <sub>3</sub> ).....	81
<b>Figura 43.</b> Espectro RMN <sup>13</sup> C do composto 4C isolado das cascas do fruto de <i>M. balata</i> (solvente CDCl <sub>3</sub> ).....	82
<b>Figura 44.</b> Estrutura química da mistura do ácido oleanólico (AO) e ácido ursólico (AU).....	84
<b>Figura 45.</b> Cromatografias de Camada Delgada das frações 1D a 12D, reveladas com Anisaldeído.....	85
<b>Figura 46.</b> Estrutura química do composto 10D (ácido rotúndico) isolado das cascas do fruto de <i>M. balata</i> .....	86
<b>Figura 47.</b> Estruturas químicas dos compostos isolados 10D, 25E, ácidos rotungênico, rotúndico, cinchólico e pomólico.....	87

<b>Figura 48.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ do composto 10D isolado das cascas do fruto de <i>M. balata</i> (solvente $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ).....	90
<b>Figura 49.</b> Espectro RMN $^{13}\text{C}$ do composto 10D isolado das cascas do fruto de <i>M. balata</i> (solvente $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ).....	91
<b>Figura 50.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}/\text{DEPT}$ do composto 10D isolado das cascas do fruto de <i>M. balata</i> , em em piridina deuterada ( $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ).....	92
<b>Figura 51.</b> Mapa de contorno HSQC do composto 10D isolado das cascas do fruto de <i>M. balata</i> , em em piridina deuterada ( $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ).....	93
<b>Figura 52.</b> Frações 25E a 29E e respectiva Cromatografia de Camada Delgada revelada com Anisalaldeído.....	94
<b>Figura 53.</b> Estrutura química do composto 25E isolado das cascas do fruto de <i>M. balata</i> .....	95
<b>Figura 54.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ do composto 25E isolado das cascas do fruto de <i>M. balata</i> (solvente $\text{CDCl}_3$ ).....	98
<b>Figura 55.</b> Espectro RMN $^{13}\text{C}$ do composto 25E isolado das cascas do fruto de <i>M. balata</i> (solvente $\text{CDCl}_3$ ).....	99
<b>Figura 56.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}/\text{DEPT}$ do composto 25E isolado das cascas do fruto de <i>M. balata</i> , em clorofórmio deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ).....	100
<b>Figura 57.</b> Mapa de contorno HMBC do composto 25E isolado das cascas do fruto de <i>M. balata</i> , em clorofórmio deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ).....	101
<b>Figura 58.</b> Efeito diurético do extrato e frações obtidos de folhas de <i>M. bimucronata</i> em ratos normotensos. Volume de urina cumulativo de ratos normotensos tratados oralmente com (A) extrato metanólico bruto das folhas de <i>M. bimucronata</i> (EMBF), (B) fração diclorometano (FDCMF) e (C) fração acetato de etila (FAEF).....	110
<b>Figura 59.</b> Efeito diurético em ratos induzido pelo galato de metila isolado de <i>M. bimucronata</i> . Volume urinário cumulativo de galato de metila (GM), em ratos normotensos.....	111
<b>Figura 60.</b> Efeito do bloqueio do receptor muscarínico e inibição do óxido nítrico sintase e da ciclo-oxigenase na diurese estimulada pelo galato de metila. Diferentes grupos de ratos normotensos foram tratados com galato de metila (3 mg/kg) ou veículo (controle; 1 ml/kg) com ou sem tratamento prévio com (A) antagonista do receptor muscarínico não seletivo (atropina; 1,5 mg/kg), (B) inibidor da ciclo-oxigenase (indometacina; 5 mg/kg) ou (C) inibidor não-seletivo da enzima óxido nítrico sintase (L-NAME; 60 mg/kg).....	116
<b>Figura 61.</b> Volume cumulativo de urina de ratos tratados com ácido gálico (0,3-3 mg/kg).....	117
<b>Figura 62.</b> Efeito do pré-tratamento com L-NAME, atropina e indometacina na diurese induzida por ácido gálico. (A) L-NAME, (B) atropina e (C) indometacina em combinação com veículo ou ácido gálico (3 mg/kg) em ratos fêmeas.....	120



## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Utilização empírica de espécies do gênero <i>Mimosa</i> e seus constituintes químicos descritos na literatura*.....	12
<b>Tabela 2.</b> Sinonímia entre espécies de <i>Mimusops</i> e <i>Manilkara</i> .....	17
<b>Tabela 3.</b> Rendimentos das frações obtidas do extrato metanólico bruto de <i>M. bimucronata</i> .....	65
<b>Tabela 4.</b> Comparação dos deslocamentos químicos do composto 9M1 e galato de metila*.....	72
<b>Tabela 5.</b> Comparação dos deslocamentos químicos de RMN da estrutura química do composto 9M3 e ácido gálico*.....	77
<b>Tabela 6.</b> Rendimentos das frações obtidas do extrato metanólico bruto de <i>M. balata</i> .....	79
<b>Tabela 7.</b> Comparação dos deslocamentos químicos do composto 4C com o ácido oleanólico* e o ácido ursólico*.....	83
<b>Tabela 8.</b> Comparação dos deslocamentos químicos das substâncias: 10D, ácidos, rotungênico e rotúndico.....	88
<b>Tabela 9.</b> Comparação dos deslocamentos químicos das substâncias: composto 25E, ácidos pomólico e cinchólico.....	96
<b>Tabela 10.</b> Atividade antibacteriana de extrato metanólico bruto das folhas e frações de <i>M. bimucronata</i> .....	103
<b>Tabela 11.</b> Atividade antimicrobiana do extrato metabólico bruto das folhas e frações de <i>M. bimucronata</i> contra as bactérias <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> e o fungo <i>Candida albicans</i> .....	104
<b>Tabela 12.</b> Atividade antifúngica do extrato metabólico bruto das folhas e frações de <i>M. bimucronata</i> contra <i>Candida albicans</i> ATCC10231 em diferentes doses.....	105
<b>Tabela 13.</b> Atividade antibacteriana de extrato metanólico bruto das cascas do fruto e frações de <i>M. balata</i> .....	106
<b>Tabela 14.</b> Parâmetros urinários após 8 horas do tratamento oral com extratos e frações obtidos de folhas de <i>M. bimucronata</i> , em ratos normotensos.....	109
<b>Tabela 15.</b> Efeito do tratamento prévio com L-NAME, indometacina e atropina em parâmetros urinários após 8 horas do tratamento oral com galato de metila isolado de <i>M. bimucronata</i> , em ratos normotensos.....	112
<b>Tabela 16.</b> Parâmetros urinários após 8 horas do tratamento oral com ácido gálico isolado de <i>M. bimucronata</i> , em ratos normotensos.....	119



## LISTA DE ABREVIATURAS

- $\delta$  – Deslocamento químico
- SEM** – Erro padrão da média
- AB** – Ácido betulínico
- AE** – Acetato de etila
- AG** – Ácido gálico
- AIDS** – *Acquired Immunodeficiency Syndrome* (Síndrome da imunodeficiência adquirida)
- ANOVA** – Análise de variância
- AO** – Ácido oleanólico
- ATCC** – *American Type Culture Collection*
- ATRO** – Atropina
- AU** – Ácido ursólico
- Bcl-2** - família de genes dos mamíferos e às proteínas a que estes genes dão origem
- BHI** – *Brain Heart Infusion* (Agar, meio de cultura)
- CAT** – *Card Agglutination Test* (Teste de aglutinação)
- CC** – Cromatografia em coluna
- CCD** – Cromatografia de camada delgada
- CG/EM** – Cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas
- CIM** – Concentração inibitória mínima
- CLAE** – Cromatografia líquida de alta eficiência
- CLSI** – *Clinical and Laboratory Standards Institute*
- COX** – Ciclo-oxigenase
- CT** – Grupo controle negativo
- DCM** – Diclorometano
- DEPT** – *Distortionless Enhancement by Polarization Transfer*
- DMSO** – Dimetilsulfóxido
- DNA** – Ácido desoxirribonucleico
- EDTA** – *Ethylenediamine tetraacetic acid* (ácido etilenodiamino tetra-acético)
- EMBC** – Extrato metanólico bruto das cascas do fruto de *M. balata*
- EMBF** – Extrato metanólico bruto das folhas de *M. bimucronata*
- EROs** – Espécies reativas de oxigênio
- FAEC** – Fração acetato de etila das cascas do fruto de *M. balata*

**FAEF** – Fração acetato de etila das folhas de *M. bimucronata*  
**FDCMC** – Fração diclorometano das cascas do fruto de *M. balata*  
**FDCMF** – Fração diclorometano das folhas de *M. bimucronata*  
**FURB** – Fundação Universidade Regional de Blumenau  
**GM** – Galato de metila  
**HCTZ** – Hidroclorotiazida  
**HeLa** – Linhagem celular de carcinoma cervical humano  
**HEX** – Hexano  
**HSQC** – *Heteronuclear Single Quantum Coherence*  
**IL-1 $\beta$**  – Interleucina 1 beta  
**IL-8** – Interleucina 8  
**INDO** – Indometacina  
**L-NAME** – N(G)-nitro-L-arginina metil éster  
**LD50** – dose letal mediana (para inibir 50% de uma amostra em experimento)  
**MeOH** – Metanol  
**MH** – Müller-Hinton  
**MLA** – Meio líquido de arginina  
**MLC** – *Mycoplasma mycoides* subsp. *Capri*  
**OMS** – Organização Mundial da Saúde  
**P-gp** – P-glicoproteína  
**PBS** – *Phosphate Buffered Saline* (tampão fosfato-salino)  
**pH** – Potencial hidrogeniônico  
**PMS** – *Phenazine methosulfate* (metossulfato de fenazina)  
**PPM** – parte por milhão  
**Rf** – Fator de retenção  
**RMN** – Ressonância magnética nuclear  
**RMN <sup>13</sup>C** – Ressonância magnética nuclear de carbono treze  
**RMN <sup>1</sup>H** – Ressonância magnética nuclear de hidrogênio  
**RPMI-1640** – *Roswell Park Memorial Institute* (meio de cultura para células)  
**SBF** – Soro bovino fetal (meio de cultura)  
**TMS** – Tetrametilsilano  
**TTC** – Cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazólio  
**TYI-S-33** – *Trypticase-Yeast Extract-Iron-Serum* (meio de cultura)  
**UFC** – Unidade formadora de colônia  
**UNIVALI** – Universidade do Vale do Itajaí  
**UV** – Ultravioleta



**UV-A** – Radiação ultravioleta com comprimento de onda entre 320 e 400 nanômetros

**UV-B** – Radiação ultravioleta com comprimento de onda entre 290 e 320 nanômetros

**V** – Volts

**v.o.** – via oral

**XTT** – *Sodium salt analytical standard* (Padrão analítico de sal de sódio)



# SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>7</b>
<b>2 OBJETIVOS.....</b>	<b>9</b>
2.1 OBJETIVO GERAL.....	9
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	9
<b>3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>11</b>
3.1 GÊNERO <i>MIMOSA</i> .....	11
3.1.1 ESPÉCIE <i>MIMOSA BIMUCRONATA</i> .....	15
3.2 GÊNERO <i>MIMUSOPS</i> .....	16
3.2.1 ESPÉCIE <i>MIMUSOPS BALATA</i> .....	24
3.3 METABÓLITOS SECUNDÁRIOS.....	26
3.3.1 COMPOSTOS FENÓLICOS.....	27
3.3.1.1 FLAVONOIDES .....	27
3.3.1.2 ÁCIDOS FENÓLICOS .....	29
3.3.2 TERPENOS.....	32
3.3.2.1 TRITERPENOS.....	33
3.4 ATIVIDADES BIOLÓGICAS.....	38
3.4.1 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA .....	38
3.4.2 ATIVIDADE DIURÉTICA.....	41
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>45</b>
4.1.1 MATERIAIS, REAGENTES E EQUIPAMENTOS.....	45
4.1.2 <i>MIMOSA BIMUCRONATA</i> .....	47
4.1.2.1 OBTENÇÃO DE EXTRATOS E FRAÇÕES DAS FOLHAS DE <i>M. BIMUCRONATA</i> .....	47
4.1.2.2 ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DOS PRINCÍPIOS ATIVOS DAS FOLHAS DE <i>M. BIMUCRONATA</i> .....	49

4.1.3 <i>MIMUSOPS BALATA</i> .....	52
4.1.3.1 OBTENÇÃO DE EXTRATOS E FRAÇÕES DAS CASCAS DO FRUTO DE <i>M. BALATA</i> .....	52
4.1.3.2 ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DOS PRINCÍPIOS ATIVOS DE <i>M. BALATA</i> .....	55
4.2 ANÁLISE BIOLÓGICA .....	59
4.2.1 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA FRENTE AS CEPAS DE <i>MOLICUTES</i> .....	59
4.2.2 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA FRENTE A BACTÉRIAS COM PAREDE CELULAR .....	60
4.2.3 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA .....	62
4.2.4 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DIURÉTICA .....	62
4.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	63
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>65</b>
5.1 ESTUDO FITOQUÍMICO DE <i>MIMOSA BIMUCRONATA</i> .....	65
5.1.1 FRAÇÃO DICLOROMETANO: ANÁLISE DO COMPOSTO 8M2 .....	65
5.1.2 FRAÇÃO DICLOROMETANO: ANÁLISE DO COMPOSTO 6M6 .....	67
5.1.3 FRAÇÃO ACETATO DE ETILA: ANÁLISE DO COMPOSTO 9M1 .....	68
5.1.4 FRAÇÃO ACETATO DE ETILA: ANÁLISE DO COMPOSTO 9M3 .....	73
5.2 ESTUDO FITOQUÍMICO DE <i>MIMUSOPS BALATA</i> .....	78
5.2.1 FRAÇÃO DICLOROMETANO: ANÁLISE DO COMPOSTO 4C .....	79
5.2.2 FRAÇÃO DICLOROMETANO: ANÁLISE DO COMPOSTO 10D .....	85
5.2.3 FRAÇÃO DICLOROMETANO: ANÁLISE DO COMPOSTO 25E .....	94
5.3 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA .....	102
5.3.1 <i>M. BIMUCRONATA</i> .....	103
5.3.2 <i>M. BALATA</i> .....	106
5.4 ATIVIDADE DIURÉTICA .....	108

<i>5.4.1 EFEITO DIURÉTICO, NATRIURÉTICO E CALIURÉTICO DO EXTRATO E FRAÇÕES OBTIDOS DE M. BIMUCRONATA EM RATOS .....</i>	<i>108</i>
<i>5.4.2 EFEITOS DIURÉTICO, NATRIURÉTICO E CALIURÉTICO DO GALATO DE METILA OBTIDO DE M. BIMUCRONATA EM RATOS .....</i>	<i>111</i>
<i>5.4.3 EFEITO DIURÉTICO E NATRIURÉTICO DO ÁCIDO GÁLICO OBTIDO DE M. BIMUCRONATA EM RATOS.....</i>	<i>117</i>
<b>6 CONCLUSÕES .....</b>	<b>123</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>125</b>
<b>APÊNDICES .....</b>	<b>163</b>
APÊNDICE A – AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA .....	165
APÊNDICE B – AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIPARASITÁRIA .....	171
<b>ANEXOS .....</b>	<b>175</b>
ANEXO A – PUBLICAÇÕES EM REVISTAS CIENTÍFICAS .....	177
ANEXO B – RESUMOS APRESENTADOS EM EVENTOS.....	179



# 1 INTRODUÇÃO

Diversos princípios ativos são isolados a partir das plantas. Nos últimos anos, pesquisas científicas nas áreas de química, biologia, farmacologia e medicina confirmam este fato. A utilização de compostos provenientes de plantas no desenvolvimento de fármacos tem sido uma área promissora de investigação química. Os motivos para utilização de plantas na prevenção e profilaxia de doenças são vários: além do baixo custo, eficácia e fácil acesso, há o interesse de utilizar plantas com o intuito de obter compostos com menores efeitos adversos e tão ou mais eficazes do que os fármacos disponíveis no mercado (CECHINEL FILHO, 2017).

Desta forma, a etnobotânica tem a incumbência de resgatar informações a partir do conhecimento de diferentes povos e etnias; a fitoquímica de desempenhar a identificação, purificação, isolamento e caracterização de substâncias ativas; e a farmacologia de estudar os efeitos farmacológicos de extratos e dos constituintes químicos isolados (ALBUQUERQUE; HANAZAKI, 2006; BESSA et al., 2013).

Algumas plantas possuem o benefício de mimetizar os efeitos secundários relacionados ao tratamento de antimicrobianos convencionais. O sucesso do uso de qualquer agente terapêutico está intimamente ligado ao desenvolvimento de resistência do agente ao composto a partir do momento no qual é administrado. Isto se aplica para agentes usados no tratamento de infecções bacterianas, fúngicas, parasitárias, virais e para o tratamento de doenças crônicas como câncer e diabetes. O desenvolvimento de novos fármacos, eficientes e de baixo custo é, portanto, de grande importância (DAVIES; DAVIES, 2010; MONTALVO; BOULOGNE; SUÁREZ, 2013; PENTEADO et al., 2016; WALSH; AMYES, 2004).

As preparações à base de plantas utilizadas na medicina popular tradicional são em grande parte desconhecidas para que haja compreensão nos mecanismos de ação e avanço no desenvolvimento de novos fármacos para a saúde cardiovascular e doenças renais (ALMEIDA et al., 2017; KUMAR et al., 2010; VANAMALA et al., 2012).

Vários estudos não se estendem além da abordagem inicial, testando somente extratos brutos e frações não purificadas. Assim, identificar as substâncias ativas das preparações à base de plantas, que são objeto de

estudos científicos, ganhou relevância significativa nas últimas décadas (CECHINEL FILHO, 2017).

*Mimosa bimucronata* (maricá), da família *Mimosaceae*, é uma árvore endêmica do Brasil, Paraguai, Argentina e Uruguai (BURKART, 1959; TOMAZ; KESTRING; ROSSI, 2007). Ocorre com predominância em planícies úmidas, várzeas e nas margens de rios e lagos (LORENZI, 2000; MENEZES et al., 2010). Na literatura, foram relatados o isolamento e caracterização de diversas substâncias, como saponinas, alcaloides, terpenoides e, principalmente de flavonoides, cujas atividades biológicas para o gênero são conhecidas como antioxidante e anti-inflamatória. Em relação às espécies investigadas, o maior número de trabalhos é atribuído à *Mimosa pudica* e são escassas as análises com a *Mimosa bimucronata* (MENG et al., 2009; SILVA, 2016).

Plantas da família *Mimusops* se destacam na literatura com atividades biológicas, como: *Mimusops elengi* L., antibacteriana (GOPALAN et al., 2014), antioxidante, anti-inflamatória (KAR et al., 2012); *Manilkara* (sinônimo *Mimusops*) *zapota* L., antioxidante, antihiperglicêmico e hipocolesterolêmico (FAYEK et al., 2013; FAYEK et al., 2012) e *Mimusops hexandra* Roxb., com efeito gastroprotetor (MODI et al., 2012; SHAH; GOSWAMI; SANTANI, 2004) e antioxidante (KUMAR; KAUR; ARORA, 2010).

*Mimusops balata* é uma planta pouco analisada, com escassas publicações na literatura. Estudos recentes desenvolvidos pela autora (SCHLICKMANN, 2015), indicaram o potencial gastroprotetor do fruto de *Mimusops balata* (abricó-da-praia).

Diante do exposto, a presente pesquisa tem como objetivo realizar estudos fitoquímicos e avaliação das atividades antimicrobiana e diurética do extrato metanólico bruto, frações e compostos das folhas de *Mimosa bimucronata* (maricá) e antimicrobiana do extrato metanólico bruto e frações das cascas do fruto de *Mimusops balata* (abricó-da-praia).



## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

Realizar estudos fitoquímicos e avaliação das atividades antimicrobiana e diurética do extrato metanólico bruto, frações e compostos das folhas de *Mimosa bimucronata* (maricá) e antimicrobiana do extrato metanólico bruto e frações das cascas do fruto de *Mimusops balata* (abricó-da-praia).

### 2.2 Objetivos Específicos

- Obter e fracionar os extratos brutos metanólicos das folhas de *M. bimucronata* e das cascas do fruto de *M. balata*;
- Selecionar as frações mais ativas para isolamento dos princípios ativos por meio de métodos cromatográficos convencionais;
- Identificar os princípios ativos obtidos por técnicas espectroscópicas usuais;
- Avaliar a atividade antibacteriana dos extratos brutos e frações de *M. bimucronata* e *M. balata* contra cepas de bactérias com e sem parede celular (molicutes), por meio da técnica de microdiluição em caldo;
- Avaliar a atividade antifúngica *in vitro* dos extratos brutos e frações de *M. bimucronata* contra *Candida albicans*;
- Avaliar a atividade diurética, natriurética e caliurética dos extratos, frações e dos compostos obtidos mais promissores de *M. bimucronata* em ratos e propor os mecanismos de ação das possíveis ações diurética, natriurética e caliurética dos compostos obtidos mais promissores.



### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 Gênero *Mimosa*

A taxonomia de *Mimosa bimucronata*, de acordo com o Sistema de Classificação de Cronquist, obedece à hierarquia a seguir (AMARAL, 2015; CARVALHO, 2004; JUDD et al., 2009; KUNTZE, 1891).

- Divisão: Magnoliophyta (Angiospermae)
- Classe: Magnoliopsida (Dicotyledonae)
- Ordem: Fabales
- Família/Subfamília: Fabaceae/Mimosoideae (Mimosaceae; Leguminosae)
- Gênero: *Mimosa*
- Espécie: *Mimosa bimucronata* (De Candolle)

Os sinônimos de *Mimosa bimucronata* são: *Acacia bimucronata* De Candolle; *Mimosa sepiaria* Benth. E os nomes populares brasileiros: alagadiço, amorosa, angiquinho, arranha-gato, espinheira, espinheira-de-cerca, espinheira-de-maricá, espinheiro, espinheiro-de-cerca, espinheiro-de-maricá, espinho, juqui-de-cerca, maricá, maricazeiro, espinho-roxo, espinho-de-maricá, silva, unha-de-gato. Na Argentina é chamada de yuqueri (CARVALHO, 2004).

Dentre as famílias mais abundantes da flora brasileira, está a família Fabaceae, com distribuição cosmopolita, vivendo em vasta diversidade de habitats. Possui cerca de 19.400 espécies, distribuídas em 740 gêneros. Está dividida em três subfamílias: Caesalpinioideae, Faboideae e Mimosoideae. Mimosoideae possui cerca de 40 gêneros e 2.500 espécies (AMARAL, 2015; JUDD et al., 2009; LEWIS et al., 2005).

A literatura descreve que as espécies desta família podem ser fontes de compostos bioativos com potenciais atividades biológicas como antitumoral, antiviral, antitérmica, anti-inflamatória e estimulante (CHOPRA; NAYAR; CHOPRA, 1956; MENDONÇA; ONOFRE, 2009; MULLER; KRAUS; FRANZ, 1989; OLIVEIRA; DAVID; DAVID, 2016; SYDISKIS et al., 1991).

A origem da palavra *Mimosa* é grega – “mimein”, que significa “fazer movimento”, e “meisthal”, significa imitar. Estes termos fazem referência à diversas espécies que tem como características fechar e contrair

as folhas e folíolos ao roçarem entre si ou ao serem tocadas por algum corpo estranho (BURKART, 1979).

Existem diversos usos populares descritos para espécies do gênero, além de trabalhos que avaliaram diferentes atividades biológicas, conforme exhibe a Tabela 1.

**Tabela 1.** Utilização empírica de espécies do gênero *Mimosa* e seus constituintes químicos descritos na literatura\*.

(continua...)				
Espécie	Utilização empírica	Partes utilizadas da planta	Classes/Constituintes químicos	Referências
<i>M. adenocarpa</i>	Úlcera	**	**	COELHO; SILVA, 2003.
<i>M. albida</i>	Doenças estomacais, insônia, dores no corpo	**	Isorientina; orientina; isovitexina; vitexina	DHILLION; CAMARGO-RICALDE, 2005.
<i>M. bimucronata</i>	Anti-inflamatório	Sementes e folhas	Compostos fenólicos	KESTRING et al., 2009.
<i>M. dystachia</i>	Lesões de pele e sangramento bucal	**	**	DHILLION; CAMARGO-RICALDE, 2005.
<i>M. hamata</i>	Antimicrobiano e antiviral	**	Ácido gálico; flavonoides; saponinas.	JAIN; JAIN; VLIETIINC K, 2004.
<i>M. hostilis</i>	Alucinógenos	Raízes	Diterpenos raminosídeos - mimosina B e C; N,N-dimetiltriptamina; taninos condensados.	OHSAKI, 2006.

**Tabela 1.** Utilização empírica de espécies do gênero *Mimosa* e seus constituintes químicos descritos na literatura\*.

(continua...)

<b>Espécie</b>	<b>Utilização empírica</b>	<b>Partes utilizadas da planta</b>	<b>Classes/ Constituintes químicos</b>	<b>Referências</b>
<i>M. invisá</i>	Antitumoral, antimicrobiano, diurético, anti-inflamatório, imunomoduladora	Folhas	4-hidroxi-3-metoxi benzaldeído; 4-hidroxi-3,5-dimetoxi benzaldeído; ácido 4-hidroxi-3-metóxi benzóico; pinosresinol; $\beta$ -sitosterol; lupeol; $\alpha$ -mirina; kaempferol.	AGUIAR; DAVID, 2006; LARGO-JÚNIOR; RIDEOUT; RAGASA, 1997.
<i>M. lacerata</i>	Lesões na boca	**	**	DHILLION; CAMARGO-RICALDE, 2005.
<i>M. ophtalmocentra</i> Benth.	Antioxidantes / Contra bronquite e tosse / alucinógeno	Folhas / Casca do caule / Raízes	$\beta$ -sitosterol; N-metilriptamina; hordenina.	AGRA, 2007; DAVID, 2007.
<i>M. paraibana</i>	Atividade citotóxica e antioxidante	Partes aéreas	$\beta$ -sitosterol e estigmasterol; 15-hidroxi feofitina A; 5,7-dihidroxiflavonona; 3,4,5-triidroxibenzoato de etila; ácido p-cumárico	NUNES, 2008.

**Tabela 1.** Utilização empírica de espécies do gênero *Mimosa* e seus constituintes químicos descritos na literatura\*.

(continua...)

<b>Espécie</b>	<b>Utilização empírica</b>	<b>Partes utilizadas da planta</b>	<b>Classes/Constituintes químicos</b>	<b>Referências</b>
<i>M. pigra</i>	Contraceptivo	Raízes	Kaempferol; quercetina; apigenina; acacetina; triterpeno glicosídeo	SANZ-BISET, et al., 2009.
<i>M. pudica</i>	Purgativa; emética; reumatismo; difteria; tumores; leucorréia; tônico; gonorréia; furúnculo; feridas, asma, diarréia, sedativo	**	5,7,3',4'-tetraidroxi-6-C-[ $\beta$ -Dapiose-(1 $\rightarrow$ 4)]- $\beta$ -Dglicopiranosil flavona; isorientina; orientina; isovitexina; vitexina	AHMAD; ISMAIL, 2003; GIRISH et al., 2004; MORS; RIZZINI; PEREIRA, 2000; ZHANG; YUAN; ZHOU, 2011.
<i>M. scabrella</i>	Atividade antiviral, herpes, rotavírus e citotoxicidade em células HeLa / Alivia pruridos / Estimulante digestivo e para problemas circulatórios	Sementes / Cascas / Folhas	Trigalactosil-pinitol; taninos; triptaminas.	CHRESTA NI et al., 2009; NOLETO et al., 2009; SANZ-BISET et al., 2009

**Tabela 1.** Utilização empírica de espécies do gênero *Mimosa* e seus constituintes químicos descritos na literatura\*.

(conclusão).				
Espécie	Utilização empírica	Partes utilizadas da planta	Classes/ Constituintes químicos	Referências
<i>M. velloziana</i>	Purgativa; reumatismo; difteria; contra tumores e furúnculos; leucorreia; gonorreia.	**	**	MORS; RIZZINI; PEREIRA, 2000.

\*Tabela adaptada de Silva (2016). \*\*Dados não informados pelos autores.

### 3.1.1 Espécie *Mimosa bimucronata*

A *Mimosa bimucronata* (maricá) é uma árvore endêmica do Brasil, Paraguai, Argentina e Uruguai (BURKART, 1959; TOMAZ; KESTRING; ROSSI, 2007). O termo *bimucronata* diz respeito ao par de múcrons estipulares situado na base de cada pina (CARVALHO, 2004; MARCHIORI, 1995).

*M. bimucronata* atinge cerca de dez metros de altura, com ramificação intensa. Ocorre predominantemente em planícies úmidas, várzeas e nas margens de rios e lagos (LORENZI, 2000; MENEZES et al., 2010). A Figura 1 exibe a foto de um ramo de *M. bimucronata*.

O estudo de Buogo (2017) identificou nos extratos hidroalcóolicos das folhas e inflorescências de *M. bimucronata*, compostos fenólicos, flavonoides, taninos, antraquinonas, alcaloides e heterosídeos cardiotônicos. Os compostos fenólicos foram dosados: no extrato das folhas 19,06 mg/g foram detectados, e no extrato das inflorescências 14,75 mg/g. Os flavonoides corresponderam a 8,79 µg/g do extrato das folhas e 6,47 µg/g do extrato das inflorescências.

Compostos fenólicos também foram identificados nas folhas e sementes de *M. bimucronata*, no estudo de Kestring e colaboradores (2009).

Na literatura, são escassas as publicações de *M. bimucronata*, por isto a relevância de atribuir estudos com esta espécie.

**Figura 1.** Folhas de *Mimosa bimucronata*.



**Fonte:** <<https://www.flickr.com/photos/restingas/6803379113>>.

### 3.2 Gênero *Mimusops*

No Brasil, a família *Sapotaceae* compreende 12 gêneros, 232 espécies e 27 subespécies, distribuída em áreas da Amazônia, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica, Pampa e Pantanal (CARNEIRO et al. 2016). É uma das famílias mais relevantes (riqueza e abundância) de florestas ombrófilas da Amazônia, com usos de suas espécies na produção de goma comercial, madeira de qualidade, matéria-prima para especiarias e frutos comestíveis (PENNINGTON, 1990; VALENTE; SOUSA; BASTOS, 2013). A família *Sapotaceae* é pertencente à ordem Ericales (APG III 2009; VALENTE; SOUSA; BASTOS, 2013), anteriormente posicionada em Ebenales. Contudo, o estudo dos gêneros ainda apresenta lacunas, tornando a circunscrição desses bastante complexa (VALENTE; SOUSA; BASTOS, 2013).

*Mimusops/Manilkara* é um gênero de árvores da família *Sapotaceae* que compreende 78 espécies distribuídas ao longo dos trópicos (30 no Sul e América Central, 35 na África e 13 no Sudeste Asiático). Esta propagação com relativamente baixo número de espécies nas principais regiões tropicais torna o gênero *Mimusops* um excelente alvo para comparação de padrões de diversificação regional e testes de hipóteses para a gênese de distribuição pantropical (ARMSTRONG et al., 2014; MCLOUGHLIN, 2001).

Pertencem ao gênero *Mimusops/Manilkara*: *Manilkara bidentata* (A.DC.) A.Chev., *Manilkara cavalcantei* Pires & W.A.Rodrigues ex T.D.Penn., *Manilkara dardanoi* Ducke, *Manilkara decrescens* T.D.Penn.,



*Manilkara elata* (Allemão ex Miq.) Monach., *Manilkara excelsa* (Ducke) Standl., *Manilkara inundata* (Ducke) Ducke, *Manilkara longifolia* (A.DC.) Dubard, *Manilkara maxima* T.D.Penn., *Manilkara multifida* T.D.Penn., *Manilkara paraensis* (Huber) Standl., *Manilkara rufula* (Miq.) H.J.Lam, *Manilkara salzmännii* (A.DC.) H.J.Lam, *Manilkara subsericea* (Mart.) Dubard, *Manilkara triflora* (Allemão) Monach., *Manilkara zapota* (L.) P.Royen (ALMEIDA-JÚNIOR, 2016). A Tabela 2 exibe as convergências entre os Gêneros *Mimusops* e *Manilkara*.

**Tabela 2.** Sinonímia entre espécies de *Mimusops* e *Manilkara*.

<b>Gênero <i>Mimusops</i></b>	<b>Gênero <i>Manilkara</i></b>
<i>Mimusops amazonica</i> Huber	<i>Manilkara bidentata</i> subsp. <i>surinamensis</i> (Miq.) T.D.Penn.
<i>Mimusops balata</i> (Aubl.) C.F.Gaertn	<i>Manilkara bidentata</i> (A.DC.) A.Chev. subsp. <i>bidentata</i>
<i>Mimusops bidentata</i> A.DC	<i>Manilkara bidentata</i> (A.DC.) A.Chev
<i>Mimusops cearensis</i> Huber	<i>Manilkara triflora</i> (Allemão) Monach.
<i>Mimusops darienensis</i> Pittier	<i>Manilkara bidentata</i> (A.DC.) A.Chev. subsp. <i>bidentata</i>
<i>Mimusops elata</i> Allemão ex Miq	<i>Manilkara elata</i> (Allemão ex Miq.) Monach.
<i>Mimusops excelsa</i> Ducke	<i>Manilkara excelsa</i> (Ducke) Standl
<i>Mimusops floribunda</i> Mart	<i>Manilkara subsericea</i> (Mart.) Dubard
<i>Mimusops globosa</i> C.F.Gaertn	<i>Manilkara bidentata</i> (A.DC.) A.Chev. subsp. <i>bidentata</i>
<i>Mimusops rufula</i> Miq	<i>Manilkara rufula</i> (Miq.) H.J.Lam

**Fonte:** Montalvo (2018); Zappi e colaboradores (2015).

Estudos de espécies do gênero *Mimusops* mostraram a presença de triterpenos, saponinas e flavonoides (Quadro 1) que salienta o grande potencial biológico do gênero. Frutas e sementes foram estudadas, enquanto os extratos de cascas foram por vezes usados como medicamentos à base de plantas na medicina tradicional, como o sapotizeiro (MISRA; MITRA, 1969; LAVAUD et al., 1996; MA et al., 2003; HOSSAIN et al., 2012; RHOURRI-FRIH et al., 2013).

Algumas espécies de *Mimusops*/*Manilkara* se destacam com atividades biológicas esclarecidas, como: *Mimusops elengi* L., *Manilkara zapota* L. e *Mimusops hexandra* Roxb.

- *Mimusops elengi* L.: usada pelas comunidades indígenas para o tratamento de diversas enfermidades, tais como, doenças dentárias, queimadura, desordens uterinas, úlceras, doenças cardíacas, febre e também é utilizada como diurético, adstringente e afrodisíaco (KIRTIKAR, BASU, 1988; PURNIMA et al., 2010; YOGANARASHIMAN, 1996). Também utilizada como agente gastroprotetor, anti-hiperlipidêmico, anti-helmíntico, analgésico e antipirética (GHAISAS et al., 2008; MALI; MAHAJAN; MEHTA, 2007; PAYAL et al., 2003; PURNIMA et al., 2010). As sementes de *M. elengi* demonstram atividade antibacteriana (GOPALAN et al., 2014). As folhas exibem efeitos antioxidante, anti-inflamatório (KAR et al., 2012) e eficiente poder de cicatrização de feridas (SINGH et al., 2016). A casca do caule de *M. elengi* possui potencial citotóxico, anti-tumoral (KUMAR et al., 2015) e possui ação antioxidante devido a presença de compostos fenólicos (SHAHWAR; RAZA, 2012).

- *Manilkara zapota* L.: amplamente encontrado por todo território brasileiro, o sapotizeiro dá frutos muito saborosos, sendo a frutífera mais popular da família das sapotáceas. Os extratos alcoólicos e aquosos de frutos verdes (FAYEK et al., 2013) e folhas demonstraram efeitos antioxidante, antihiperglicêmico e hipocolesterolêmico (FAYEK et al., 2012).

- As folhas do sapotizeiro apresentam efeitos anti-inflamatórios e antipiréticos (GANGULY et al., 2013), antioxidante (NAGANI; CHANDA, 2010), antimicrobianos (OSMAN et al., 2011a) e potencial analgésico (SHIVHARE et al., 2011). O extrato etanólico das folhas exibiu atividade antiartrítica (SINGH et al., 2011). Além disso, o extrato acetato de etila da casca do caule de *M. zapota* demonstrou atividade antitumoral significativa contra carcinoma de Ehrlich (OSMAN et al., 2011b); o extrato etanólico da casca do caule exibiu efeito antiproliferativo para as linhagens celulares HL-60, HT-29, A 549, A 431 e MCF-7 (AWASARE; BHUJBAL; NANDA, 2012). Os frutos do sapotizeiro foram eficazes contra carcinoma ascítico de Ehrlich em camundongos *Swiss* (KHALEK et al., 2015).

- *Mimusops hexandra* Roxb.: usada popularmente (folhas, casca e frutos) para tratamento de febre, cólica, lepra, opacidade da córnea, úlceras, helmintíase, hiperdipsia, cefaléia, icterícia, dor de dente, diarreia, como aperitivo, purificador do sangue, tônico e adstringente (KUMAR; KAUR;

ARORA, 2010; MISHRA; PAREEK, 2014; PULLAIAH, 2006; WARRIER et al., 1995). A casca do caule demonstrou efeito gastroprotetor (MODI et al., 2012; SHAH; GOSWAMI; SANTANI, 2004) e o extrato metanólico das folhas de *Mimusops hexandra* exibiu atividade antioxidante (KUMAR; KAUR; ARORA, 2010).

Um estudo fitoquímico com as folhas frescas de *M. subsericea*, identificou os seguintes compostos por meio de RMN e CG/EM: miricetina, quercetina e kaempferol da fração acetato de etila. Também foi identificado nesta fração, um ácido poli-hidroxi-triterpeno (ácido pomólico). Compostos voláteis identificados por CG/EM incluem monoterpenos, sesquiterpenos e hidrocarbonetos de cadeia longa (ALMEIDA et al., 2015). Além disso, foram identificados com predominância no perfil fitoquímico de *M. subsericea* triterpenos pentacíclicos, basicamente relacionadas aos esqueletos olean12-eno e urs-12-eno, incluindo os acetatos de alfa e beta-amirina. São substâncias encontradas em abundância nos extratos dessa espécie e são consideravelmente apolares (AHMED et al., 2001; FAYEK et al., 2013; FERNANDES, 2011; 2014; MA et al., 2003).

**Quadro 1.** Metabólitos secundários relatados para o Gênero *Mimusops*.

(continua...)

<b>Espécie</b>	<b>Parte utilizada da planta</b>	<b>Composição química</b>	<b>Referências</b>
<i>Mimusops balata</i>	Látex	<u><i>Triterpenoides</i></u> : - Acetato de $\beta$ -amirina - Acetato de lupeol	(MISRA; NIGAM; MITRA, 1974).
<i>Mimusops caffra</i>	Sementes	<u><i>Ácido graxo saturado</i></u> : - Ácido esteárico <u><i>Ácidos graxos insaturados</i></u> : - Ácido araquidônico - Ácido eicodecanoico - Ácido erúico - Ácido gadoleico - Ácido ginkgólico - Ácido heptadecanoico - Ácido linoleico - Ácido mirístico - Ácido nervônico - Ácido oleico - Ácido palmítico	(CHIVANDI; MUKONOWEN ZOU; BERLINER, 2016; MISRA; NIGAM; MITRA, 1974).
<i>Mimusops djave</i>	Sementes	<u><i>Ácidos graxos insaturados</i></u> : - Ácido linoleico - Ácido oleico <u><i>Triterpenoides</i></u> : - Saponinas	(MISRA; NIGAM; MITRA, 1974).
<i>Mimusops elengi</i>	Folhas	<u><i>Ciclitol</i></u> : Quercitol <u><i>Hidrocarboneto saturado (resina)</i></u> : - Hentriacontado <u><i>Tetraterpeno (resina)</i></u> : - $\beta$ -caroteno <u><i>Triterpenoide</i></u> : Taraxerol	(MISRA; MITRA, 1968; MISRA; NIGAM; MITRA, 1974).

**Quadro 2.** Metabólitos secundários relatados para o Gênero *Mimusops*.

(continua...)

Espécie	Parte utilizada da planta	Composição química	Referências
<i>Mimusops elengi</i>	Casca do caule	<u>Ciclitol</u> : Quercitol <u>Esteróis</u> : - $\alpha$ -Espinasterol - $\beta$ -D-glucosídeo de $\beta$ -sitosterol <u>Triterpenoides</u> : - Betulinato - Hederagenina - Lupeol - Taraxerol - Ursolato	(MISRA; MITRA, 1968; MISRA; NIGAM; MITRA, 1974).
	Raízes	<u>Esteróis</u> : - $\alpha$ -espinasterol - $\beta$ -D-glucosídeo de $\beta$ -sitosterol <u>Triterpenoides</u> : - Acetato de lupeol - Taraxerol	
	Frutos	<u>Ciclitol</u> : Quercitol <u>Triterpenoide</u> : - Ácido ursólico	
	Sementes	<u>Ciclitol</u> : Quercitol <u>Esterol</u> : - $\beta$ -D-glucosídeo de $\beta$ -sitosterol <u>Triterpenoide</u> : Lupeol	(MISRA; MITRA, 1967; MISRA; NIGAM; MITRA, 1974).
		<u>Ácidos graxos insaturados</u> : - Ácido erúico - Ácido linoleico - Ácido oleico <u>Ciclitol</u> : Quercitol <u>Flavonoide</u> : Quercetina <u>Triterpenoides</u> : - Saponinas	(MISRA; NIGAM; MITRA, 1974; SHARMA; GANGAL; RAUF, 2009).

**Quadro 3.** Metabólitos secundários relatados para o Gênero *Mimusops*.

(continua...)

<b>Espécie</b>	<b>Parte utilizada da planta</b>	<b>Composição química</b>	<b>Referências</b>
<i>Mimusops globosa</i>	Látex	<u>Triterpenoides:</u> - Acetato de $\beta$ -amirina - Lupeol	(MISRA; NIGAM; MITRA, 1974).
<i>Mimusops heckelii</i>	Sementes	<u>Ácidos graxos insaturados:</u> - Ácido oleico <u>Triterpenoides:</u> - Saponinas	
<i>Mimusops hexandra</i>	Folhas	<u>Ciclitol:</u> Quercitol <u>Hidrocarboneto saturado:</u> - Hentriacontado <u>Triterpenoide:</u> Taraxerol	
	Casca do caule	<u>Ciclitol:</u> Quercitol <u>Triterpenoides:</u> - Ácido ursólico - Cinamato de $\alpha$ -amirina - Taraxerol	
	Raízes	<u>Ciclitol:</u> Quercitol <u>Esterol:</u> $\alpha$ -espinasterol <u>Triterpenoides:</u> - Cinamato de $\alpha$ -amirina - Taraxerol	
	Frutos	<u>Esterol:</u> - $\alpha$ -espinasterol <u>Triterpenoides:</u> - Acetato de $\alpha$ -amirina - Ácido ursólico	
	Sementes	<u>Ácidos graxos insaturados:</u> - Ácido linoleico - Ácido oleico <u>Ciclitol:</u> Quercitol <u>Esterol:</u> $\alpha$ -espinasterol <u>Flavonoide:</u> Quercetina <u>Triterpenoides:</u> - Saponinas	

**Quadro 4.** Metabólitos secundários relatados para o Gênero *Mimusops*.  
(conclusão).

Espécie	Parte utilizada da planta	Composição química	Referências
<i>Mimusops longifolia</i>	Sementes	<u>Ácidos graxos insaturados:</u> - Ácido linoleico - Ácido oleico	(MISRA; NIGAM; MITRA, 1974).
<i>Mimusops manilkara</i>	Folhas	<u>Ciclitól:</u> Quercitol <u>Flavonoides:</u> - Miricetina - Quercetina <u>Hidrocarboneto saturado:</u> - Hentriacontado <u>Triterpenoides:</u> - Acetato de $\alpha$ -amirina - Ácido ursólico - Taraxerol	
	Casca do caule	<u>Ciclitól:</u> Quercitol <u>Triterpenoides:</u> - $\alpha$ -amirina - Lupeol - Taraxerol - Taraxerona	
	Látex	<u>Triterpenoides:</u> - $\beta$ -amirina - Lupeol	
	Frutos	<u>Triterpenoides:</u> - Acetato de $\alpha$ -amirina - Caprilato de $\alpha$ -amirina	
	Sementes	<u>Ácidos graxos insaturados:</u> - Ácido linoleico - Ácido oleico <u>Ciclitól:</u> Quercitol <u>Flavonoide:</u> Quercetina <u>Triterpenoides:</u> Saponinas	
<i>Mimusops mottleyana</i>	Sementes	<u>Ácidos graxos insaturados:</u> - Ácido linoleico - Ácido oleico	

**Fonte:** adaptado de Steven (2018).

### 3.2.1 Espécie *Mimusops balata*

*Mimusops balata* é uma das espécies mais conhecidas do gênero *Mimusops* pertencentes a família Sapotaceae e classe Magnoliopsida (PARRESOL, 1995; RHOURRI-FRIH et al., 2013).

Sinônimos: *Manilkara balata*, *Manilkara bidentata*, *Manilkara darienensis*, *Manilkara williamsii*, *Mimusops balata*, *Mimusops globosa*, *Mimusops sieberi*, *Sapota mulleri* (PENNINGTON, 1990).

*M. balata* é uma grande árvore perene e foi, provavelmente no passado, a árvore mais importante de Porto Rico. Pode atingir a idade de 400 anos. A madeira forte e aparência atraente dá grande valor comercial e é usado extensivamente nos trópicos para muitos produtos. A árvore é por vezes explorada devido ao seu látex leitoso, fonte de goma balata. Embora o crescimento seja lento, é plantada para obtenção de sombra e madeira. É nativa de Porto Rico, com uma extensa distribuição através das Índias Ocidentais e do México através do Panamá até o norte da América do Sul, incluindo as Guianas, Venezuela, Peru e Brasil (HEARNE, 1975; MITCHELL, 1957; WEAVER, 2000).

Em Trinidad e Tobago, *M. balata* prospera em uma variedade de solos como de areias de argilas, solos rochosos e de várias formações geológicas diferentes (PEDLEY, 1986; WEAVER, 2000). Encontra-se em declives e em campos abertos e vales (SASTROAMIDJOJO, 1964; WEAVER, 2000).

O látex presente na madeira de *M. balata* causa irritação quando em contato com a pele humana, mas há poucos relatos sobre a composição e as propriedades biológicas desta resina. Na medicina tradicional o látex é utilizado contra a disenteria, como a casca de *M. zapota* (GAYOT; SIST, 2004; HOSSAIN et al., 2012; JENSEN et al., 2009; RHOURRI-FRIH et al., 2013).

A *M. balata* é caracterizada por ramos horizontais com folhagem densa, com camadas alternadas folhas elípticas e cor verde escuro, com muitas veias paralelas. Um látex branco aparece em gotas ao cortar as folhas, tronco e ramos (WEAVER, 2000). As folhas são simples, posicionadas em espiral, coriáceas, ovaladas e verde brilhante com nervura central de cor amarelada, com 7 cm a 13 cm de comprimento por 3 a 5 cm de largura. As flores de *M. balata* são isoladas ou aos pares, axilares e pedunculadas, de cor branca e rosa (CARNEIRO et al., 2011; CRUZ, 1982). Os frutos são de cor



verde-escuro durante o desenvolvimento e, quando maduros, possuem cor amarelo vibrante, que contrasta com a coloração da folhagem; no interior do fruto, as grandes sementes são recobertas pela polpa de sabor adocicado (Figura 2) (CARNEIRO et al., 2011; CORRÊA, 1984).

Popularmente, a casca do tronco de *M. balata* é utilizada no inverno como um tônico cardiovascular, para o estômago, como anti-helmíntico, para distúrbios biliares e doenças das gengivas e dentes. As flores são consideradas adstringentes, usadas sob a forma de chá para cura de doenças do sangue, bÍlis e fÍgado e; a fumaça das flores no incenso é reportada como eficiente para asma. A fruta é adstringente, usada para tratamento do intestino, porém causa gases. As sementes são utilizadas para “problemas” de cabeça. A raiz é utilizada como afrodisÍaco, diurético e adstringente (JARA; NIVELO, 2016; KADAM et al., 2012).

Rhourri-Frih e colaboradores (2013) pesquisaram *M. balata* e identificaram três triterpenos ( $3\beta$ -*O*-acetil- $\alpha$ -amirina,  $3\beta$ -*O*-trans cinamoil  $\alpha$ -amirina e  $3\beta$ -*O*-trans cinamoil lupeol) que foram isolados inicialmente a partir da resina de *M. balata*. Conforme os resultados, esta espécie diminuiu a produção de citocinas inflamatórias IL-1 $\beta$  e IL-8, os quais podem ser úteis na indústria farmacêutica. De modo geral, na literatura, são escassas as publicações de *M. balata*, por isso a importância de continuarem os estudos com esta espécie.

**Figura 2.** Frutos de *Mimusops balata*.



**Fonte:** <<http://ciprest.blogspot.com/2017/03/abricao-de-praia-mimusops-commersonii.html>>.

### 3.3 Metabólitos secundários

As plantas são seres fixos, o que as impossibilita de deslocarem-se quando atacadas por um herbívoro, além disso, elas não possuem um sistema imunológico capaz de combater parasitas que a infestam como: bactérias, fungos ou vírus. Por isso, os vegetais desenvolveram uma série de características mecânicas, tais como resistência epidérmica, tecidos de casca e espinhos como ferramentas de defesa. Desenvolveram também os mais diversos produtos químicos que funcionam como sistema de defesa, denominados metabólitos secundários (WINK, 2008, 2010; WINK; ASHOUR; EL-READI, 2012).

Os metabólitos secundários têm como funções fisiológicas: defesa contra herbívoros e micro-organismos, proteção contra raios ultravioleta, atração de animais polinizadores, ação alelopática e resposta ao estresse devido ao ataque microbiano. Alguns exemplos de metabólitos secundários são os flavonoides, terpenoides, alcaloides, taninos, cumarinas, óleos essenciais, entre outros (LEITE, 2009).

Os produtos naturais são considerados uma excelente fonte de inspiração para o desenvolvimento de novos fármacos. Uma inspeção de aprovação de medicamentos revelou que aproximadamente 75% de todos os fármacos considerados, tiveram um produto natural envolvido em seu desenvolvimento, tanto em relação ao seu uso puro como modelos para a síntese destes fármacos (NEWMAN; CRAGG, 2016).

Devido à importância dos metabólitos secundários como fármacos e aditivos de alimentos naturais, esta têm sido uma área fértil de investigação química por muitos anos, ampliando o desenvolvimento de condução tanto química quanto analítica e de novas metodologias e reações de síntese. Os compostos fenólicos representam oito mil estruturas, os alcaloides cerca de 12 mil estruturas e terpenos representam as classes maiores e mais diversificadas de metabólitos secundários de plantas, com mais de 55 mil membros isolados (MAIMONE; BARAN et al., 2007; SCHWAB; FUCHS; HUANG, 2013; ZWENGER; BASU, 2008).

As classes de metabólitos secundários mais representativas são os compostos fenólicos e terpenos e, a seguir são indicadas informações de maior interesse.

### *3.3.1 Compostos fenólicos*

Os compostos fenólicos são antioxidantes quimicamente estruturados com um anel aromático com um ou mais hidroxilas substituídas. Podem ser divididos em dois grupos principais: flavonoides e ácidos fenólicos. A ação antioxidante característica destes compostos não se deve somente à sua capacidade de doar hidrogênio ou elétrons, mas também à estabilidade de seus radicais que podem impedir a oxidação de componentes, em especial os ácidos graxos e óleos (MOREIRA-ARAÚJO et al., 2017; SOARES et al., 2008).

Na literatura, muitas pesquisas mostram que os compostos fenólicos possuem importante atividade antioxidante. Ainda, estudos clínicos e epidemiológicos mostraram que os fenólicos provenientes de fontes naturais como vegetais, cereais e frutas são capazes de diminuir consideravelmente a incidência de doenças crônicas e degenerativas (ANTOLOVICH et al., 2004; KHOURI et al., 2007; ROCHA et al., 2015; ROESLER et al., 2007; SOUSA et al., 2007).

#### *3.3.1.1 Flavonoides*

Os flavonoides são uma vasta classe de metabólitos secundários amplamente distribuídos nos vegetais. De acordo com o seu padrão de substituição, o grau de insaturação e o arranjo de esqueleto básico, podem ser classificados em diferentes subclasses, incluindo flavonas, flavanonas, flavonóis, flavonoides, isoflavonas e chalconas. Os flavonoides suportam normalmente grupos hidroxila ou metoxila na posição C-5, C-7, C-3 e C-4. Alguns ocorrem nas plantas em sua forma livre, aglicona enquanto outras ocorrem na forma glicosilada, O- ou C-. Para O-glicosídeos, os resíduos de açúcar são geralmente ligados aos C3, C7, ou C4, enquanto que para C-glicosídeos, os resíduos de açúcar estão ligados diretamente a C-6 ou C-8. Os resíduos de açúcares incluem glucose, galactose, ramnose, apiose, entre outros (HARBORNE; WILLIAMS, 2000; QIAO et al., 2011).

A ampla diversidade estrutural encontrada nos flavonoides se dá em função das pequenas modificações químicas ocorridas em sua estrutura básica, que podem ser obtidos por diferentes meios como a hidroxilação, metilação, acilação, glicosilação, hidrogenação, malonilações e sulfatações,

formando as distintas classes de flavonoides (MACHADO et al., 2008; SILVA et al., 2015).

Durante longos anos, os efeitos benéficos dos flavonoides sobre a saúde humana foram atribuídos à sua capacidade antioxidante, resultando em possibilidades químicas de eliminação de radicais livres e/ou metais oxidantes. Evidências crescentes sugerem que uma variedade de mecanismos, associados ou não com efeitos antioxidantes, estão envolvidos nas atividades biológicas dos flavonoides (FRAGA, 2007; FRAGA et al., 2010; FREI; HIGDON, 2003; GALLEANO et al., 2010; GALLEANO et al., 2012; HALLIWELL; RAFTER; JENNER, 2005; HOLST; WILLIAMSON, 2008).

Os flavonoides têm a capacidade de absorver os comprimentos de onda energéticas solares (UV-A e UV-B), inibir a geração de espécies reativas de oxigênio (EROs) e, em seguida, remover EROs, uma vez que são formadas (AGATI et al., 2012; BRUNETTI et al., 2013).

Os principais grupos de flavonoides de interesse nutricional são os flavanóis, ou catequinas (por exemplo, epigallocatequina 3-galato de chá verde), as flavonas (por exemplo, apigenina de aipo), os flavonoides (por exemplo, a quercetina, onipresente em alimentos vegetais particularmente vermelhos, como a cebola e a maçã), as flavanonas (por exemplo, naringenina de citrinos), as antocianidinas (por exemplo, a partir de *berries*, cianidina), e as isoflavonas (por exemplo, a genisteína e daidzeína a partir de sementes de soja) (BIRT; JEFFERY, 2013; CORCORAN; MCKAY; BLUMBERG, 2012).

A pesquisa científica voltada aos flavonoides se dá pela diversidade estrutural que esse grupo de compostos possui, proporcionando amplo espectro de atividades biológicas (OLIVEIRA-JÚNIOR et al., 2014; PEREIRA; CARDOSO, 2012). Pode-se citar flavonoides de diversas espécies vegetais com atividades antioxidante (CORONADO et al., 2015), antibacteriana (JOSÉ; CARVALHO; WIEST, 2015), antifúngica e antimicotoxina (SOUZA et al., 2012), hipolipidêmica (SOUZA et al., 2010b), antinociceptiva e anti-inflamatória (MOTTA et al., 2013), antiulcerogênica (BATISTA et al., 2015), redução do risco de doenças cardiovasculares (TESTAI et al., 2013) e aterosclerose (CARDOSO et al., 2011), redução da pressão arterial (WANG et al., 2012), entre outras.

Flavonoides como a crisina exibem ação hepatoprotetora. Além disso, podem atuar como inibidores da P-glicoproteína (P-gp), e melhorar os

efeitos das drogas anticarcinogênicas, como o paclitaxel e camptotecina (PUSHPAVALLI et al., 2010; QIAO et al., 2011). Os efeitos inibidores poderiam ser comparáveis aos do verapamil inibidores de P-gp e ciclosporina.

Os flavonoides são componentes alimentares bioativos que podem melhorar a saúde e ajudam a prevenir doenças crônicas. A evidência mais forte é para a prevenção de doenças crônicas na área da saúde vascular, como melhorias em dilatação e pressão arterial. Alimentos que contenham as antocianidinas (*berries*) e flavanois (chá verde e cacau) fornecem proteção contra diabetes tipo 2 e doença cardiovascular (BIRT; JEFFERY, 2013; VAN DAM; NAIDOO; LANDBERG, 2013).

### 3.3.1.2 Ácidos fenólicos

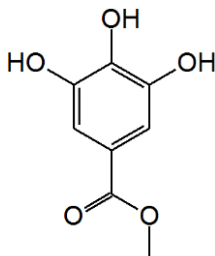
Os ácidos fenólicos são compostos por um anel fenólico e por no mínimo ácido carboxílico e são divididos de acordo com sua estrutura: C6-C3 (por exemplo, p-cumárico, ferúlico e ácido cafeico), C6-C2 (por exemplo, acetofenonas e ácidos fenilacéticos) e estrutura C6-C1 (por exemplo, ácidos siríngico, vanílico e gálico). Comumente, a maioria destas substâncias estão ligadas aos componentes estruturais da planta (celulose, lignina), mas também a outras moléculas orgânicas como a glicose, açúcares ou flavonoides (CIANCIOSI et al., 2018; PADAYACHEE et al., 2012).

Os ácidos fenólicos são bem conhecidos pelas suas propriedades analgésica, antipirética, colagoga, sedativa e antibiótica. Os ácidos fenólicos desempenham um potencial papel profilático contra distintos tipos de enfermidades, o qual ocorre geralmente por meio da ingestão de frutas e hortaliças. Tais propriedades antioxidantes e nutracêuticas dos fenólicos despertaram a atenção global nas últimas décadas. As atividades como antimutagenicidade, antibacteriana, antiviral, anti-inflamatória e ações apoptóticas só podem ser racionalizadas pela detecção e quantificação de tais compostos (MATTILA; HELLSTROM, 2007; SEAL, 2016; WAKSMUNDZKA-HAJNOS et al., 2007).

O galato de metila (GM) é um composto fenólico vegetal que tem sido investigado devido às suas propriedades antioxidantes (ABOU-ZAID; LOMBARDO; NOZZOLILLO, 2009; CHO et al., 2003; WHANG et al., 2005). Ainda, possui efeitos biológicos como: capacidade de reduzir a apoptose de cardiomiócitos de ratos (KHURANA et al., 2014), atividade

antiagregante plaquetária (LIM et al., 2004), efeito anti-inflamatório sobre artrite experimental induzida por zimosan (CORREA et al., 2016) e efeito antibacteriano (NOUNDOU et al., 2016). A estrutura química do GM está apresentada na Figura 3.

**Figura 3.** Estrutura química do galato de metila.

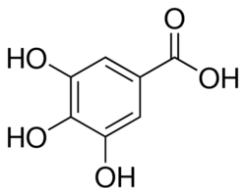


Nomenclatura química: metil 3,4,5-trihidroxibenzoato. Fórmula molecular:  $C_8H_8O_5$ .

Os frutos de *Rhus coriaria* L. possui o GM como composto dominante. O teste de atividade antibacteriana revelou que o GM é o componente mais bioativo contra as bactérias *Streptococcus mutans*. No modelo *in vitro*, o GM inibiu o crescimento de bactérias, suprimiu o desenvolvimento de biofilme em diferentes superfícies sólidas (poliestireno, vidro) e impediu a diminuição do pH no biofilme (KACERGIUS et al., 2017). O estudo de Jeon; Rahman e Kim (2016) demonstrou o GM como promissor agente terapêutico na obesidade. A sinalização  $\beta$ -catenina, mediada pelo GM, desempenhou um papel importante na inibição da diferenciação dos adipócitos 3T3-L1.

Já o ácido gálico (AG) é um ácido tri-hidroxibenzóico, um ácido fenólico encontrado extensivamente em alimentos e plantas. Os ácidos fenólicos exibem efeitos antioxidantes, atuando diretamente os radicais livres (KILIC et al., 2018; SAIBABU et al., 2015). Custodio e colaboradores (2017), compararam o AG a um padrão muito utilizado que é o ácido ascórbico, demonstrando atividade superior a ele. A estrutura química do AG está apresentada na Figura 4.

**Figura 4.** Estrutura química do ácido gálico.



Nomenclatura química: ácido 3,4,5-trihidroxibenzóico. Fórmula molecular:  $C_7H_6O_5$ .

O efeito antioxidante do AG também interfere na saúde cardiovascular. Uma vez que o conceito de lesão de células miocárdicas que ocorrem após uma isquemia/reperfusão (I/R) envolve duas hipóteses principais: aumento do cálcio intracelular e/ou acúmulo de espécies reativas de oxigênio (EROs). Desta forma, o estudo de Badavi e colaboradores (2017) verificou o efeito do AG combinado com a ciclosporina A (como inibidor de mPTP) na função cardíaca e endotelial na disfunção induzida por I/R (função de óxido nítrico). Ratos *Wistar* machos foram pré-tratados com AG (7,5, 15 ou 30 mg/kg de peso corporal, diariamente) por um período de dez dias. Os dados mostraram que o tamanho do infarto foi significativamente diminuído pelo AG sozinho e ainda mais efetivo quando combinado com ciclosporina A.

O AG foi encontrado também como principal antioxidante da casca do fruto do pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.). A substância com propriedades antioxidantes foi identificada por meio da análise em sistema de cromatografia líquida associada à espectrometria de massas e foi quantificada em HPLC. Após análise fitoquímica, identificou-se uma fração com alta atividade antioxidante, contendo AG como o composto principal (ROCHA et al., 2015).

Constantemente novos arranjos estruturais são analisados para a verificação das atividades biológicas dos flavonoides. Desta forma, é fato que o mecanismo de ação dos flavonoides depende da sua estrutura química. Porém, as ações realizadas no vegetal bem como o seu potencial medicinal depende amplamente do sinergismo entre a estrutura química dos flavonoides e as estruturas químicas de outras classes de compostos, como os terpenos (SILVA et al., 2015).

### 3.3.2 Terpenos

Terpenos são hidrocarbonetos que contêm uma ou mais ligações duplas carbono-carbono e compartilham a mesma unidade elementar de isopreno (2-metil-1,4-butadieno) (GANDINI, 2011; WILBON; CHU; TANG, 2013). São classificados pelo número de unidades de isopreno (C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>) e de átomos de carbono, por exemplo, mono, sesqui, di e triterpenos (2:10, 3:15, 4:20 e 5:30, respectivamente). Comumente, mono e sesquiterpenos estão predominantemente em óleos essenciais de plantas, e os terpenos superiores, dentre eles os triterpenos, estão presentes principalmente em bálsamos e resinas (CARGNIN, 2017; MUFFLER et al., 2011; MEWALAL et al., 2017).

Somam-se cerca de 30 mil compostos definidos como terpenos, sendo mais de 400 monoterpenos de diferentes características aromáticas e atividade biológica conhecidas provenientes de plantas. Atualmente, monoterpenos e seus análogos oxidados (terpenoides) desempenham papéis significativos na saúde humana devido às suas propriedades antibacteriana, antiviral, colagoga, antiespasmódica e anticarcinogênica conhecida (BAKKALI et al., 2008; KUPSKA et al., 2014). Os terpenoides são citados com potencial anti-inflamatório, antimicrobiano, antitripanossoma, antiplasmódico e antiúlcera (NTIE-KANG et al., 2014).

A relevância biomédica de terpenos inclui a sua utilização no preparo de perfumes. São usados como repelentes de insetos, sendo o principal constituinte de muitos repelentes a citronela e o limoneno. O óleo de terebintina, camomila e arnica são constituídos de terpenos e usados na preparação de cosméticos. As fragrâncias características de terpenos os tornam utilizáveis em aromaterapia (KANDI et al., 2015). Terpenos, especialmente pineno e limoneno são abundantes e de baixo custo, o que os torna um material ideal para a síntese de novos produtos, como fragrâncias, saborizantes, fármacos, solventes e também intermediários quirais (WILBON; CHU; TANG, 2013).

Dentre os terpenos, destacam-se o mentol (aroma, fármacos sem prescrição), cânfora (aroma, repelente, fármacos sem prescrição), piretrinas (inseticidas), limoneno (aroma, inseticida), carvona (aroma), geraniol (aroma), linalol (aroma, precursor sintéticos de vitamina A),  $\alpha$  e  $\beta$ -pineno (aroma, precursores de aromas químicos),  $\alpha$ -borneol (aroma), farneseno (aroma, repelente, biocombustível proposto),  $\alpha$ -trans-bergamoteno (aroma),



nerolidol (aroma), ácido abscísico (fitohormônio, proteção vegetal), hecogenina (detergente), taxol (fármacos), ácido retinóico (fármacos), digitoxigenina (fármacos) e zeaxantina (aditivo alimentar, alimentação animal) (TROMBETTA et al., 2005; SCHWAB; FUCHS; HUANG, 2013).

Terpenos foram incorporados à sabonetes antibacterianos, cosméticos e produtos domésticos porque os óleos vegetais ricos em terpenos têm mostrado inibição de várias espécies de bactérias (SCHWAB; FUCHS; HUANG, 2013). Além disso, exibem ação antifúngica (VIRIATO, 2014), antimicrobiana (COUTINHO et al., 2015), anti-inflamatória (SOUZA et al., 2014), analgésica (OLIVEIRA et al., 2014) e antioxidante (SINGH et al., 2009). Assim, a utilização de terpenos nas mais diversas formas, tornou-se de grande interesse na indústria farmacêutica.

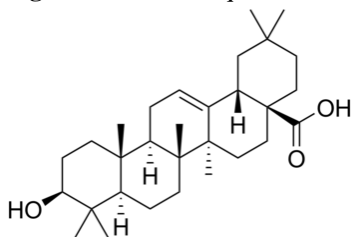
### 3.3.2.1 Triterpenos

Os triterpenos (C30), são constituídos de seis unidades de isopreno, podendo apresentar-se acíclicos ou estrutura do tipo mono, bi, tri, tetra e pentacíclica. Em torno de vinte mil triterpenos já foram isolados e identificados de diversos vegetais, sendo os compostos tetracíclicos e pentacíclicos os mais abundantes e estudados em relação às suas atividades farmacológicas (ROSA, 2016; SHANMUGAM et al., 2012).

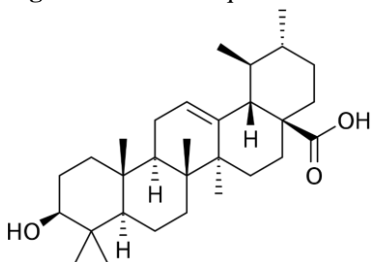
Os triterpenos pentacíclicos são divididos em três principais grupos: oleano, ursano e lupano, tendo como principais representantes os ácidos oleanólico, ursólico e betulínico, respectivamente. Estes compostos podem ser encontrados nas mais distintas espécies vegetais, como por exemplo: as folhas de oliveira são a principal fonte de ácido oleanólico (AO); o bagaço da maçã Gala é fonte principal de ácido ursólico (AU) e as cascas do *Platanus* são a principal fonte de ácido betulínico (AB) (CARGNIN, 2017; JÄGER et al., 2009).

O AO é encontrado amplamente distribuído nos vegetais em forma livre ou glicosilado. Destacam-se as atividades hipoglicêmica, hipolipêmica, hepaprotetora, anti-inflamatória, anti-viral, antioxidante e anticarcinogênica. O AU, possui importante efeito anti-viral. Já o AB apresenta atividade anti-melanômica, anti-neuroblastômica, anti-leucêmica, anti-viral, anti-malárico, entre outros (CANO-FLORES, 2013).

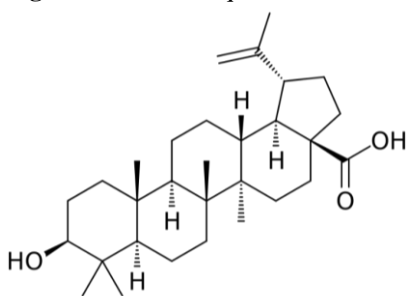
As estruturas químicas dos AO, AU e AB estão apresentadas nas Figuras 5, 6 e 7, respectivamente.

**Figura 5.** Estrutura química do ácido oleanólico.

Nomenclatura química: ácido (3-β)-3-hidroxiolean-12-en-28-óico. Fórmula molecular:  $C_{30}H_{48}O_3$ .

**Figura 6.** Estrutura química do ácido ursólico.

Nomenclatura química: ácido 3β-hidroxi-12-ursen-28-óico. Fórmula molecular:  $C_{30}H_{48}O_3$ .

**Figura 7.** Estrutura química do ácido betulínico.

Nomenclatura química: ácido (3β)-3-hidroxi-lup-20(29)-en-28-óico. Fórmula molecular:  $C_{30}H_{48}O_3$ .

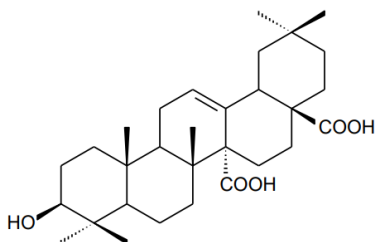
Ao que competem as propriedades farmacológicas do extrato de cascas de maçã e associadas aos constituintes triterpênicos (AU e AB) incluem-se: a prevenção de diferentes tipos de câncer ação antimicrobiana e anti-inflamatória. Além disso, estudos recentes com humanos e animais

sugerem que a ingestão de maçã pode afetar positivamente o metabolismo dos lipídios, o controle do peso e a função vascular. Há evidências que os AU e AB, atuam na doença cardiovascular; modulando a biodisponibilidade de óxido nítrico por meio do estímulo à enzima óxido nítrico sintase (BISHAYEE et al., 2011; DE OLIVEIRA; SICHIERI; SANCHEZ MOURA, 2003; GASPER et al., 2014; LIBY; YORE; SPORN, 2007; LOPES, 2017; HAN; BAKOVIC, 2015; NAGASAKO-AKAZOME et al., 2007; RAVN-HAREN et al., 2013; RÍOS, 2010; SALVADOR et al., 2012; SELIM; LITINAS, 2015; WALDBAUER et al., 2016).

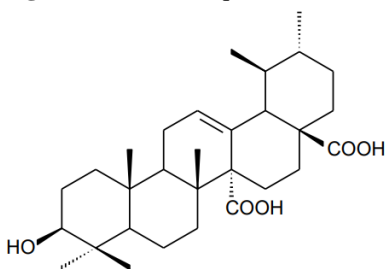
Vasconcelos e colaboradores (2006) verificaram a atividade anti-inflamatória dos AU e AO presentes majoritariamente nas partes aéreas de *Miconia albicans* (Sw.), no modelo de edema da pata induzido por carragenina em ratos. Os resultados demonstraram que a administração oral, de cada um dos AU e AO, nas doses de 40 mg/kg apresentaram atividade anti-edematosa significativa. Ainda, ambos os ácidos reduziram o número de lambidas na segunda fase do teste de formalina.

O estudo de Hamerski e colaboradores (2005) identificou e isolou triterpenos pentacíclicos, como os ácidos cinchólico e quinovínico, do extrato clorofórmico das folhas de *Tocoyena brasiliensis*. Ensaios preliminares, objetivando a detecção de substâncias com atividade antifúngica, indicaram para o extrato clorofórmico das folhas desta espécie atividade contra o fungo filamentoso *Cladosporium cladosporioides*. As estruturas químicas ácidos cinchólico e quinovínico estão apresentadas nas Figuras 8 e 9.

**Figura 8.** Estrutura química do ácido cinchólico.



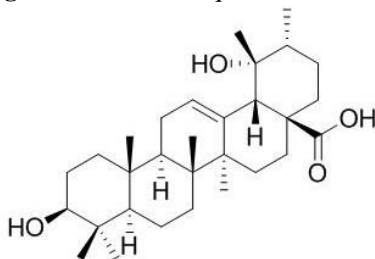
Nomenclatura química: ácido (4aS,6aR,6aR,6bR,8aR,10S,12aR,14bS)-10-hidroxi-2,2,6b,9,9,12a-hexametil-1,3,4,5,6,6a,7,8,8a,10,11,12,13,14b-tetradecahidropiceno-4a,6a-dicarboxílico. Fórmula molecular:  $C_{30}H_{46}O_5$ .

**Figura 9.** Estrutura química do ácido quinovínico.

Nomenclatura química: ácido (1S,2R,4aS,6aR,6aR,6bR,8aR,10S,12aR,14bS)-10-hidroxi-1,2,6b,9,9,12a-hexametil-2,3,4,5,6,6a,7,8,8a,10,11,12,13,14b-tetradecahidro-1H-piceno-4a,6a-dicarboxílico. Fórmula molecular:  $C_{30}H_{46}O_5$ .

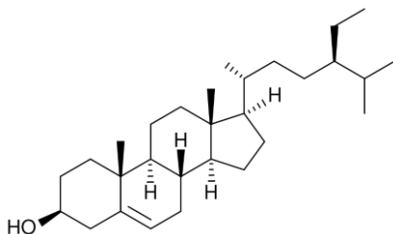
O ácido pomólico e o beta-sitosterol foram isolados dos extratos etanólicos da madeira, raiz e folhas de *C. pachystachya*, e apresentaram resultados promissores em relação à atividade antimalárica contra *Plasmodium falciparum* e *Plasmodium berghei*, reduzindo de 35% a 66% a parasitemia em camundongos, quando comparados aos ratos não tratados com os extratos de *C. pachystachya* (UCHÔA et al., 2010).

No estudo de Schinella e colaboradores (2008), o extrato de diclorometano e o ácido pomólico obtidos das folhas de *C. pachystachya* reduziram o edema de pata induzido por carragenina em camundongos, inibindo a produção de interleucina-1 $\beta$  em 39% e induziu a apoptose em células polimorfonucleares, majoritariamente neutrófilos. A estrutura química ácido pomólico está apresentada na Figura 10 e a estrutura química do beta-sitosterol na Figura 11.

**Figura 10.** Estrutura química do ácido pomólico.

Nomenclatura química: ácido 1R,2R,4aS,6aR,6aS,6bR,8aR,10S,12aR,14bS)-1,10-dihidroxi-1,2,6a,6b,9,9,12a-heptametil-2,3,4,5,6,6a,7,8,8a,10,11,12,13,14b-tetradecahidropiceno-4a-carboxílico. Fórmula molecular:  $C_{30}H_{48}O_4$ .

**Figura 11.** Estrutura química do beta-sitosterol.

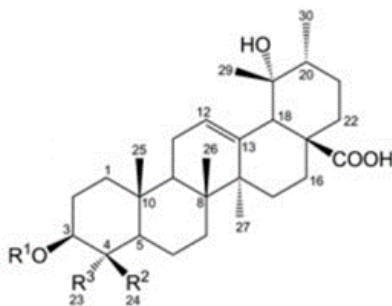


Nomenclatura química: 17-(5-Etil-6-methylheptan-2-yl)-10,13-dimetil-2,3,4,7,8,9,11,12,14,15,16,17-dodecahidro-1H-ciclopenta[a]fenantren-3-ol. Fórmula molecular:  $C_{29}H_{50}O$ .

De acordo com o estudo de Nguyen e colaboradores (2017), os ácidos oleanólico, rotungênico e rotúndico provenientes das partes aéreas de *H. pilulifera* exibiram relevante atividade antimicrobiana. As estruturas químicas dos ácidos rotungênico e rotúndico estão apresentadas na Figura 12.

A citotoxicidade dos derivados do ácido rotundínico foram avaliadas contra as linhagens de células tumorais humanas HeLa, A375, HepG2, SPC-A1 e NCI-H446 pelo ensaio MTT. Entre estes derivados, quatro compostos exibiram inibição do crescimento celular nas linhagens celulares avaliadas com  $CIM_{50} < 10 \mu M$ . Sugere-se que a indução de apoptose ocorre por meio do aumento da expressão proteica de caspase-3 e Bax clivadas, e diminuição da expressão proteica de Bcl-2 (HE et al., 2013).

**Figura 12.** Estruturas químicas dos ácidos rotungênico (A) e rotúndico (B).



A  $R^1 = H$   $R^2 = CH_2OH$   $R^3 = CH_3$   
 B  $R^1 = H$   $R^2 = CH_3$   $R^3 = CH_2OH$

A) Nomenclatura química: ácido (1R,2R,4aS,6aR,6aS,6bR,8aR,9S,10S,12aR,14bS)-1,10-dihidroxi-9-(hidroximetil)-1,2,6a,6b,9,12a-hexametil-

2,3,4,5,6,6a,7,8,8a,10,11,12,13,14b-tetradecahidropiceno-4a-carboxílico. Fórmula molecular:  $C_{30}H_{48}O_5$ .

**B) Nomenclatura química:** ácido (1R,2R,4aS,6aR,6aS,6bR,8aR,9R,10S,12aR,14bS)-1,10-dihidroxi-9-(hidroximetil)-1,2,6a,6b,9,12a-hexametil-

2,3,4,5,6,6a,7,8,8a,10,11,12,13,14b-tetradecahidropiceno-4a-carboxílico. Fórmula molecular:  $C_{30}H_{48}O_5$ .

### 3.4 Atividades biológicas

#### 3.4.1 Atividade antimicrobiana

As bactérias em sua morfologia, podem ser esféricas, cilíndricas e espiraladas, chamadas respectivamente de cocos, bacilos e espirilos. A membrana celular é composta por proteínas (60%) envolvidas em uma bicamada de lipídeos (40%). São classificadas em Gram-negativas e Gram-positivas. As bactérias Gram-positivas possuem parede celular composta de peptidoglicano (70 a 75%). As Gram-negativas possuem parede celular composta de múltiplas camadas que diferem na sua composição química, sendo mais complexa que a parede das Gram-positivas que, apresentam um único tipo de macromolécula. Esta diferença entre as paredes é de mais alta relevância para a pesquisa dos mecanismos de ação dos antibióticos e quimioterápicos, de patogenicidade e de outros tantos assuntos que estarão intimamente ligados à composição química e estrutura da parede bacteriana (ALTERTHUM, 2015).

Distintas bactérias têm sido responsáveis por doenças endêmicas ou epidêmicas com efeitos devastadores sobre a população mundial. Atualmente, as bactérias começam, outrora, a evidenciar sua crescente relevância como causa de morbidade e de mortalidade, ou mesmo de serem identificadas em doenças que eram caracterizadas como crônicas não infecciosas (ex: *Helicobacter pylori*, na úlcera gástrica). As infecções exógenas ocorrem quando agentes atingem o hospedeiro a partir de fonte externa; e as endógenas são infecções causadas por agentes da microbiota própria do hospedeiro. A doença ocorre quando a bactéria expressa seu efeito patogênico e provoca manifestações clínicas, de acordo com a susceptibilidade do hospedeiro. No entanto, é cada vez mais frequente que as bactérias com baixo poder patogênico, como as que compõem a microbiota humana habitual, encontrem condições para expressar sua patogenicidade.

Estas condições estão associadas a condições como o uso de antibióticos e imunossupressores, atos cirúrgicos, doenças como que afetam a imunidade (câncer, diabetes, AIDS) ou ao uso de sondas e cateteres, comum em pacientes hospitalizados (BARRETO; STRINA, 2015).

A classe de bactérias molícutes está distribuída entre plantas, insetos ou animais. Compostas por baixo conteúdo de citosina-guanina (23-40 mol%) e genoma reduzido, sofreram evolução degenerativa das bactérias Gram-positivas. O gênero *Mycoplasma* apresenta o maior número de espécies, acima de 100, e a maioria é encontrada nos animais. Nos seres humanos, até o momento, são dezoito espécies, sendo a maioria parte da microbiota oral. Nos hospedeiros mamíferos, os molícutes elegem a superfície de mucosas, articulações e a glândula mamária (de bovinos e caprinos). Devido à ausência de parede celular, os molícutes sobrevivem em ambiente isotônico e são considerados oportunistas por excelência, especialmente por mimetizar ou modular os mecanismos de resposta imune (TIMENETSKY, 2015).

As funções afetadas pelos molícutes incluem as vias biossintéticas, a reparação do DNA, a esporulação e a biossíntese das paredes celulares (DAVIS et al., 2013; FRASER et al., 1995; RAZIN, 2006; OGAWA et al., 2011).

Três classes de antibióticos mostraram eliminar micoplasmas: macrolídeos, quinolonas e tetraciclina. Tetraciclina e macrolídeos bloqueiam a síntese proteica, enquanto as quinolonas inibem a replicação. A plasmocina combina um macrolídeo e uma quinolona. Já a BM-ciclina combina um macrolídeo e uma tetraciclina (MNIF et al., 2007).

Outra classe de micro-organismos agentes de infecções nos humanos são os fungos. Os fungos obtêm sua energia por absorção de nutrientes e não apresentam, em sua maioria, celulose na parede celular. Os fungos armazenam glicogênio e contêm quitina na parede celular. São seres heterotróficos e eucarióticos, podem ter somente um núcleo (como as leveduras) ou serem multinucleados (fungos filamentosos, bolores e cogumelos). Essas características diferenciadas justificaram, a partir de 1969, a concepção de um Reino separado, o Reino *Fungi* ou *Mycetalia*. A célula fúngica é formada pelos principais elementos encontrados nos organismos eucarióticos (GOMPERTZ et al., 2015).

Os fungos se adaptam a condições distintas e fazem parte da microbiota humana habitual. Nos ecossistemas, têm importante função de

degradar a matéria orgânica (atuam como organismos saprófitos); podem viver em simbiose com diversos seres vivos; e há espécies que se nutrem por meio do parasitismo em humanos e animais, acarretando as infecções fúngicas conhecidas por micoses (FERREIRA, 2016; MORAES; PAES; HOLANDA, 2009).

Além da susceptibilidade do hospedeiro, dentre os fatores de virulência dos fungos pode-se citar: a presença de adesinas na parede celular que facilitam a adesão do micro-organismo às células do hospedeiro; a produção de enzimas proteinases e lipases; a capacidade de formar estruturas filamentosas para dificultar mecanismos de fagocitose; a produção de metabólitos que desencadeiam processos alérgicos, entre outros (FERREIRA, 2016; KARKOWSKA-KULETA; RAPALA-KOZIK; KOZIK, 2009; SILVA et al., 2012).

Em torno de 80% das infecções por fungos, em ambiente hospitalar, são causadas pelo gênero *Candida*. As espécies mais invasivas, responsáveis por episódios graves de candidíases são *C. glabrata*, *C. parapsilosis* e *C. krusei* (SILVA, 2016; XIAO et al., 2015).

Por sua vez, os óleos essenciais das plantas, em sua maioria, possuem ação antimicrobiana devido sua natureza fenólica. Ainda, esta atividade pode ser atribuída à sua capacidade em penetrar através das membranas bacterianas para o interior da célula, inibindo as propriedades funcionais da célula. Os compostos fenólicos alteram a permeabilidade da célula microbiana, danificando as membranas citoplasmáticas, resultando em morte celular (BAJPAI; BAEK; KANG 2012; HEBERLE et al., 2016).

Os compostos presentes nos extratos dos frutos de *M. elengi* foram analisados por Cromatografia Líquida de Alta Pressão (CLAE) e os resultados revelaram a presença de ácido ascórbico, AG, pirogalol e resorcinol (KUMAR et al., 2014).

No estudo de Nguyen e colaboradores (2017), o AO exibiu atividade antibacteriana significativa contra as cepas de *Mycobacterium smegmatis* (CIM = 2,5 µg/mL). O ácido rotungênico mostrou forte atividade contra *S. aureus*, *B. subtilis*, *M. smegmatis* com valores de CIM de 2,5, 2,5 e 1,25 µg/mL, respectivamente. O ácido rotúndico exibiu significativa atividade antibacteriana contra *B. subtilis* (CIM = 5 µg/mL). Já o AU proveniente do extrato da casca de maçã, apresentou atividade inibitória frente a cepas resistentes de *Mycobacterium tuberculosis* H37Ra a partir da concentração de 10,0 µg/mL (JYOTI et al., 2015).



As bactérias gram-positivas são mais susceptíveis à ação antimicrobiana por apresentarem parede celular quimicamente menos complexa, com teor lipídico reduzido e ausência de membrana celular externa quando comparadas às gram-negativas (CARELLI et al., 2011; PENTEADO et al., 2016; SRINIVASAN et al., 2001).

O termo antimicrobiano é utilizado de forma genérica e inclui as substâncias que atuam no crescimento e/ou multiplicação de bactérias, vírus, fungos e parasitas. Geralmente os antibióticos impedem a reprodução de bactérias ou causam letalidade. Quando o micro-organismo é sensível à substância o resultado é eficaz, porém, quando são necessários elevar os níveis de antimicrobianos e sua ação é ineficiente, esse micro-organismo é considerado resistente (CHAMBERS, 2005; SAMPAIO; SANCHO; LAGO, 2018).

A resistência aos antimicrobianos se dá pela resistência intrínseca do micro-organismo, como a inativação enzimática do fármaco, para impedir sua ação antimicrobiana. Além disso, a resistência pode ser: genética; adquirida em decorrência de mutações que podem acontecer durante a replicação celular; ou ser induzida por intermédio de agentes mutagênicos (COSTA; SILVA-JÚNIOR, 2017).

Devido à progressão da resistência bacteriana, os custos com tratamentos de saúde e internações aumentam consideravelmente, assim como a mortalidade advinda de infecções bacterianas hospitalares resistentes (OMS, 2012; SAMPAIO; SANCHO; LAGO, 2018).

### 3.4.2 Atividade diurética

A hipertensão é uma doença comum em todo o mundo e importante fator de risco para doenças cardiovasculares. É definida pelo aumento sustentado dos níveis de pressão arterial  $\geq 140$  mmHg na sistólica e de 90 mmHg na diastólica. Está associada a fatores intrínsecos, como hereditariedade, sexo, idade e raça; e a fatores extrínsecos, como tabagismo, sedentarismo, obesidade, estresse, intolerância à glicose, *diabetes mellitus*, dislipidemia e dieta. Embora existam diversas classes de fármacos anti-hipertensivos, há pacientes hipertensos que são resistentes a esses tratamentos disponíveis na clínica. A hipertensão crônica pode causar hipertrofia ventricular esquerda, fibrose e pode até danificar órgãos alvo como o coração,

os vasos e os rins (DIEZ, 2007; GRADMAN; ALFAYOUMI, 2006; SANTOS; SHAH, 2014; JIN et al., 2017).

Os fármacos da classe dos diuréticos têm sido usados há muito tempo para o tratamento de hipertensão e de outras doenças do sistema cardiovascular. Há evidências científicas por meio de estudos clínicos de desfechos que mostram benefícios do tratamento realizado com o uso de diuréticos, os quais são utilizados tanto como monoterapia ou em associação com outras classes de medicamentos. Os diuréticos tiazídicos são os mais comumente prescritos para hipertensão, mas outras classes de diuréticos podem ser úteis. Os diuréticos efetivamente diminuem a pressão arterial em pacientes hipertensos e reduzem o risco de desfechos cardiovasculares adversos. Devido às variadas diferenças farmacocinética e farmacodinâmica, a clortalidona pode ser a tiazida preferida no tratamento da hipertensão primária. Outros tipos de diuréticos (em particular os de alça e os poupadores de potássio) podem ser úteis para o tratamento da hipertensão relacionada à doença crônica renal e outras condições variadas (BLOWEY, 2016).

O uso adequado de diuréticos é imprescindível em condições edematosas, como em pacientes portadores de insuficiência cardíaca, síndrome nefrótica e cirrose. A insuficiência cardíaca diminui o débito cardíaco, enquanto a cirrose causa vasodilatação arterial sistêmica progressiva, o que pode desencadear ascite. A síndrome nefrótica, por sua vez, causa retenção por causar alterações nas barreiras glomerulares e na permeabilidade capilar, a qual também leva à hipoalbuminemia, causando indiretamente edema (DOUCET; FAVRE; DESCHÊNES, 2007; PERICO; REMUZZI, 1993; QAVI; KAMAL; SCHRIER, 2015; SCHRIER, 2011).

Os diuréticos tiazídicos (hidroclorotiazida, clortalidona), assim chamados por sua ação na porção convoluta do túbulo contornado distal, atuam por meio da inibição do co-transportador de  $\text{Na}^+/\text{Cl}^-$ , diminuindo a reabsorção de sais e água. O principal local de ação do diurético de alça, como por exemplo a furosemida, é o ramo ascendente espesso da alça de Henle, onde atua inibindo o transportador  $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{2Cl}^-$  na membrana luminal, aumentando a produção de urina junto com o aumento da excreção urinária de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  e  $\text{Cl}^-$ . Já os diuréticos poupadores de potássio, dentre eles amilorida e triantereno, bloqueiam os canais de sódio apicais na porção distal do néfron, ou a exemplo da espironolactona, atua por inibição competitiva da aldosterona. Os agentes diuréticos inicialmente relacionam-se com a redução da pressão arterial devido à diminuição do volume extracelular, de modo que

o volume circulante praticamente se normaliza dentro de algumas semanas de tratamento e há redução persistente da resistência vascular periférica (BESSEGHIR; RENNICK; 1981; BRATER, 1998; ELLISON, 1994; KAU, 1978; QAVI; KAMAL; SCHRIER, 2015).

No entanto, apesar da eficácia terapêutica comprovada, os fármacos da classe dos diuréticos estão relacionados com alta incidência de efeitos colaterais, sendo comumente descritos: fraqueza, câimbras, hipovolemia, disfunção erétil, hipo/hiperpotassemia, intolerância à glicose, hiperuricemia, dentre outros. Por esta razão, a descoberta de novas substâncias com atividade diurética e poucos efeitos adversos é ainda um aspecto desejável e de importância para a utilização clínica. Diversos estudos comprovam que as plantas medicinais têm alto valor terapêutico e possuem propriedades reconhecidas de cura. Com isso a exploração de produtos naturais oferece grande oportunidade para avaliar novas classes químicas, bem como estudar novos e potencialmente relevantes mecanismos de ação para o avanço no desenvolvimento de novos fármacos para a saúde cardiovascular e doenças renais (ALMEIDA et al., 2017; KUMAR et al., 2010; VANAMALA et al., 2012).

Ao que compete às propriedades diuréticas e natriuréticas, o potencial terapêutico dos fármacos à base de plantas tem sido explorado em muitos estudos pré-clínicos nos últimos anos (AGUILAR et al., 2015; ALMEIDA et al., 2017; BOEING et al., 2017; DA SILVA et al., 2015; DE SOUZA et al., 2013; DE SOUZA et al., 2017a; DE SOUZA et al., 2017b). Em particular, destaca-se o estudo de Kalabharathi e colaboradores (2015), o qual avaliou a atividade diurética do extrato etanólico da raiz de *Mimosa pudica* em ratos albinos. O extrato exibiu atividade diurética significativa, aumentando o volume de urina, a eliminação de sódio ( $\text{Na}^+$ ), potássio ( $\text{K}^+$ ) e cloreto ( $\text{Cl}^-$ ) em doses de 100 e 200 mg/kg.

Estudos reportados na literatura com o gênero *Mimosa* constataram a presença de flavonoides (SOUZA et al., 2008), como as atividades vasodilatadora, hipolipidêmica (DONG; ZHOU; GUO, 1998; SANTOS et al., 2015), hipoglicemiante (DONG; JI; CHEN, 2002) e hipotensiva (ZHANG et al., 2009).

As EROs desencadeiam morte celular de cardiomiócitos via aumento do estresse oxidativo e têm sido implicadas na patogênese de doenças cardiovasculares. Os polifenóis têm sido associados à redução da incidência de doenças cardiovasculares. Em uma pesquisa foi investigado se

o GM pode proteger cardiomiócitos do estresse induzido por cobalto ou  $H_2O_2$ . O GM demonstrou manter a viabilidade de cardiomiócitos de ratos neonatos expostos ao  $H_2O_2$  pela diminuição de EROs intracelular, mantendo o potencial da membrana mitocondrial, aumento da glutathiona endógena e redução da apoptose, sugerindo valor terapêutico de GM na cardioproteção (KHURANA et al., 2014).

No estudo de Jin e colaboradores (2017), o tratamento com AG (100 mg/kg/dia) diminuiu a pressão arterial elevada induzida pela administração de L-NAME em camundongos.

Além disso, Ajibade e colaboradores (2016) realizaram estudos sobre a ligação entre poluentes ambientais e disfunção cardiovascular, utilizando ratos. Observaram um papel modulatório do AG na anemia induzida por diazinona e disfunção cardiovascular associada em ratos. Ainda, o tratamento com AG reverteu os marcadores de estresse oxidativo estudados, aumentou o sistema de defesa antioxidante e reduziu os efeitos deletérios dos parâmetros hematológicos em ratos.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Análise Fitoquímica

#### 4.1.1 Materiais, reagentes e equipamentos

O perfil cromatográfico por CCD dos extratos, frações e substâncias puras obtidas foi delineado por meio da utilização de placas de sílica gel 60 GF254 de 20 $\mu$ m de espessura preparadas sobre as folhas de alumínio da Merck. Distintos sistemas de eluentes foram usados de acordo com a polaridade das amostras. Posteriormente à eluição, as cromatoplasas foram visualizadas sob luz ultravioleta antes da revelação destrutiva da amostra com os reveladores específicos. Para visualização da fluorescência das substâncias rastreadas por CCD, foi utilizada radiação ultravioleta Minerallight (254 =  $\lambda$  e 366nm) em câmara de UV-DIST. Como reveladores (CCD) foram utilizados o anisaldeído sulfúrico (identificação de terpenos e esteróides), cloreto férrico (compostos fenólicos), reativo de Dragendorff (alcaloides) e hidróxido de potássio (cumarinas) (UGAZ, 1994). As cromatoplasas foram vaporizadas com o revelador selecionado e, no caso do anisaldeído sulfúrico, foram aquecidas à temperatura aproximada de 105°C.

Nos procedimentos de cromatografia em coluna, foi utilizada como fase estacionária, sílica gel 60 (Merck) de granulometria 70-230 mesh ( $\phi$  = 0,063 - 0,20mm). O diâmetro e altura das colunas foram determinados de acordo com a quantidade do material a ser cromatografado. A eluição foi realizada com solventes orgânicos em ordem crescente de polaridade. Os solventes usados foram hexano (HEX), diclorometano (DCM) ou clorofórmio, acetato de etila (AE) e metanol (MeOH) provenientes dos Laboratórios Dinâmica, Quimex ou Vetec. As frações obtidas foram reunidas de acordo com as semelhanças de fator de retenção ( $R_f$ ) verificadas nas CCDs.

Para análise de RMN  $^1\text{H}$  e RMN  $^{13}\text{C}$  foram utilizados solventes deuterados (acetona, clorofórmio, metanol e piridina), provenientes da Cambridge Isotope Laboratories Inc. Além disso, foram utilizados (para extração e partição) outros reagentes como acetona, clorofórmio, éter, metanol, diclorometano e sulfato de sódio (agente secante), advindos comercialmente dos Laboratórios Dinâmica, Quimex e Vetec.

Os espectros de RMN  $^1\text{H}$  e RMN  $^{13}\text{C}$  foram realizados em espectrômetro BRUKER AC-300F (300 MHz); tendo como referência interna o tetrametilsilano (TMS) ou o próprio solvente. Os deslocamentos químicos foram registrados em valores adimensionais  $\delta$  (ppm).

Os extratos foram concentrados em rotaevaporador TECNAL TE-2II com controle de temperatura, e pesados em balança analítica SHIMADZU LIBROR-AEG-220 e SHIMADZU LIBROR-EB-330D.

As análises por cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas (CG/EM) foram realizadas no Laboratório de Análises Cromatográficas da UNIVALI pelo professor Theodoro Marcel Wagner. Uma alíquota de amostra foi solubilizada com 1mL de diclorometano (grau HPLC). Foi utilizado um sistema de injeção automatizado (auto-injetor) da Shimadzu modelo OAC 20i, o qual, coletou 1 $\mu\text{L}$  da solução e, então, foi injetado em um CG/ME marca Shimadzu modelo QP2010S. A separação foi realizada utilizando uma coluna DB-1 (30m x 0,25mm, 0,10 $\mu\text{m}$ ) de fase estacionária 100% de dimetilpolisiloxano. O fluxo de gás Hélio se manteve constante em 0,75mL/min com 290°C de temperatura no injetor no modo splitless com divisão (Split) de 1:20. A temperatura inicial da coluna foi mantida à 100°C por um minuto e, em seguida, a velocidade de aquecimento foi de 25°C/min até 310°C, conservando-se por onze minutos. O detector de massas foi utilizado no modo SCAN com a razão massa/carga de 29 a 500 Da e, no modo de ionização por impacto de elétrons (EI), a 70 eV. As análises dos espectros de massas foram realizadas por comparação aos espectros encontrados na biblioteca NIST 8.0.

Para avaliação por CLAE, o extrato metanólico da impressão digital das folhas de *M. bimucronata* foi submetido à um cromatógrafo líquido de alta performance Shimadzu LC-10AD sistema LC (Shimadzu, Tóquio, Japão), consistindo de uma bomba binária e um detector de arranjo fotodiodo Shimadzu SPD-M10A. A separação foi realizada em um sistema gradiente. As injeções (20  $\mu\text{L}$ ) usando um injetor automático foram realizadas em Luna Phenomenex C18, 250 x 4,60 mm, coluna de 5  $\mu\text{m}$  e a temperatura da coluna foi fixada a 35°C. As fases móveis foram (A) 0,125% de ácido fórmico e (B) acetonitrila. O gradiente de eluição foi o seguinte: de 95:5 (A: B) (0-5min); 88:12 (5-10min); 84:16 (10-25min); 80:20 (25-30min); 73:27 (30-35min); 60:40 (35-37min); 95: 5 (37-43min). A taxa de fluxo foi de 0,7 mL/min, com detecção a 250 nm. Os compostos foram identificados comparando o tempo de retenção das amostras a padrões autênticos, como ácido gálico (1) e galato

de metila (2), isolados desta mesma fonte. O extrato e os padrões foram dissolvidos em metanol e filtrados através de uma membrana Millipore® (0,22  $\mu\text{m}$ ).

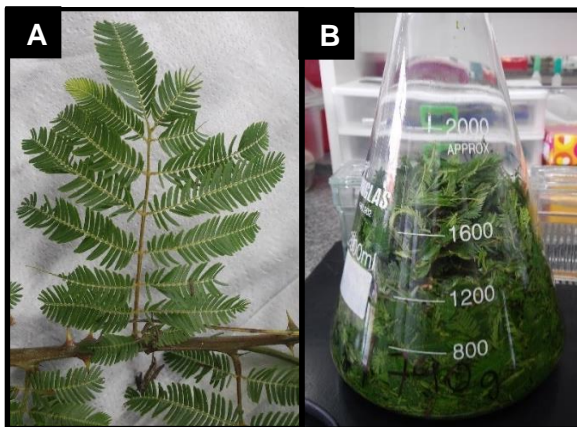
#### 4.1.2 *Mimosa bimucronata*

As folhas de *M. bimucronata* foram colhidas em Itajaí-SC, em abril de 2016. O material vegetal foi identificado pelo Prof. Oscar Iza (Universidade do Vale do Itajaí - UNIVALI) e um voucher do espécime foi depositado no Herbário Barbosa Rodrigues sob o número VCF 146.

##### 4.1.2.1 Obtenção de extratos e frações das folhas de *M. bimucronata*

As folhas frescas de *Mimosa bimucronata* (630g) foram picadas, imersas em metanol por sete dias e filtradas. (Figura 13).

**Figura 13.** *Mimosa bimucronata*: a) folhas frescas; b) maceração em metanol.



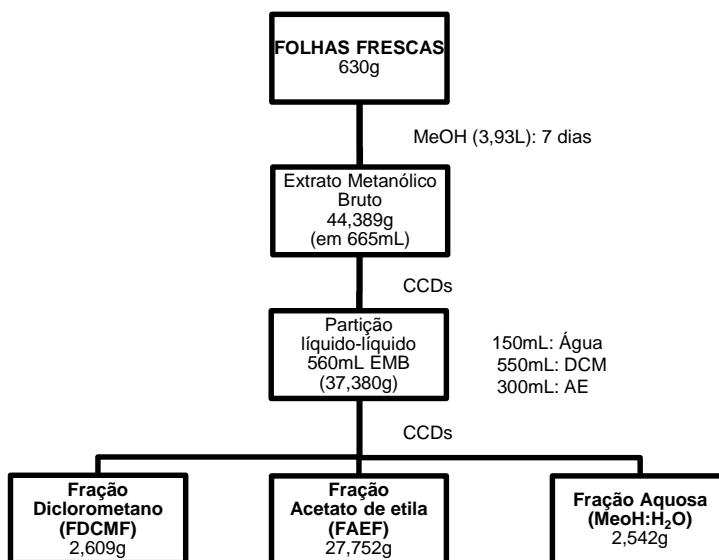
Após este processo, o solvente foi removido por destilação em evaporador rotatório sob pressão reduzida, resultando em 665mL de extrato metanólico bruto. Parte deste material foi levado à secura e reservado para análises posteriores. Utilizou-se então 560mL desta solução extrativa, o qual foi adicionado água destilada e então particionado com os seguintes solventes de polaridade crescente: diclorometano e acetato de etila conforme

metodologia anteriormente descrita (CECHINEL FILHO; YUNES, 1998; 2001; NIERO et al., 2003; MALHEIROS et al., 2010). Para a partição líquido-líquido foram utilizados 150mL de água, 550mL de diclorometano e 300mL de acetato de etila. As frações diclorometano (DCM) e acetato de etila (AE) foram evaporadas até a secura total.

Para o cálculo do rendimento, foram separados, em vidros relógios pesados vazios, 2mL do extrato metanólico bruto, em duplicata, os quais foram pesados após a secura total do extrato. O rendimento foi calculado a partir deste procedimento; verificou-se que em 665mL de extrato havia 44,389g de extrato metanólico bruto (7,04% do material vegetal inicial).

O esquema de obtenção de extrato metanólico bruto e frações de *M. bimucronata* está demonstrado a seguir (Figura 14):

**Figura 14.** Obtenção de extrato metanólico bruto e frações das folhas de *M. bimucronata*.



Foram realizadas Cromatografias de Camada Delgada (CCD), com os eluentes Hexano:Acetona e Clorofórmio:Metanol, variando as concentrações, sendo revelados com solventes distintos, como anisaldeído



sulfúrico e cloreto férrico para observar a afinidade de compostos pelos solventes e reveladores.

Após as análises por CCD, foram realizadas colunas cromatográficas para separação e possível identificação de compostos.

#### *4.1.2.2 Isolamento e identificação dos princípios ativos das folhas de M. bimucronata*

Após avaliação do perfil fitoquímico dos extratos, aqueles que apresentaram resultados promissores, foram submetidos primeiramente a procedimentos cromatográficos por cromatografia em coluna (CC) (CECHINEL FILHO; YUNES, 1998; 2001; NIERO et al., 2003; VILEGAS; CARDOSO, 2007; MALHEIROS et al., 2010), visando o isolamento e a purificação dos possíveis princípios ativos presentes nas espécies vegetais selecionadas.

O EMBF foi também submetido à com o Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). Utilizou-se 10g da FAEF para realização de CC. A fase estacionária foi sílica e a fase móvel com solventes Clorofórmio:Metanol variando as concentrações: CHCl<sub>3</sub>:MeOH - 90:10, CHCl<sub>3</sub>:MeOH - 80:20, CHCl<sub>3</sub>:MeOH - 70:30, CHCl<sub>3</sub>:MeOH - 60:40, CHCl<sub>3</sub>:MeOH - 50:50 e MeOH puro. Esta coluna resultou em 85 frações, as quais foram avaliadas por CCD para análise e junção das frações semelhantes.

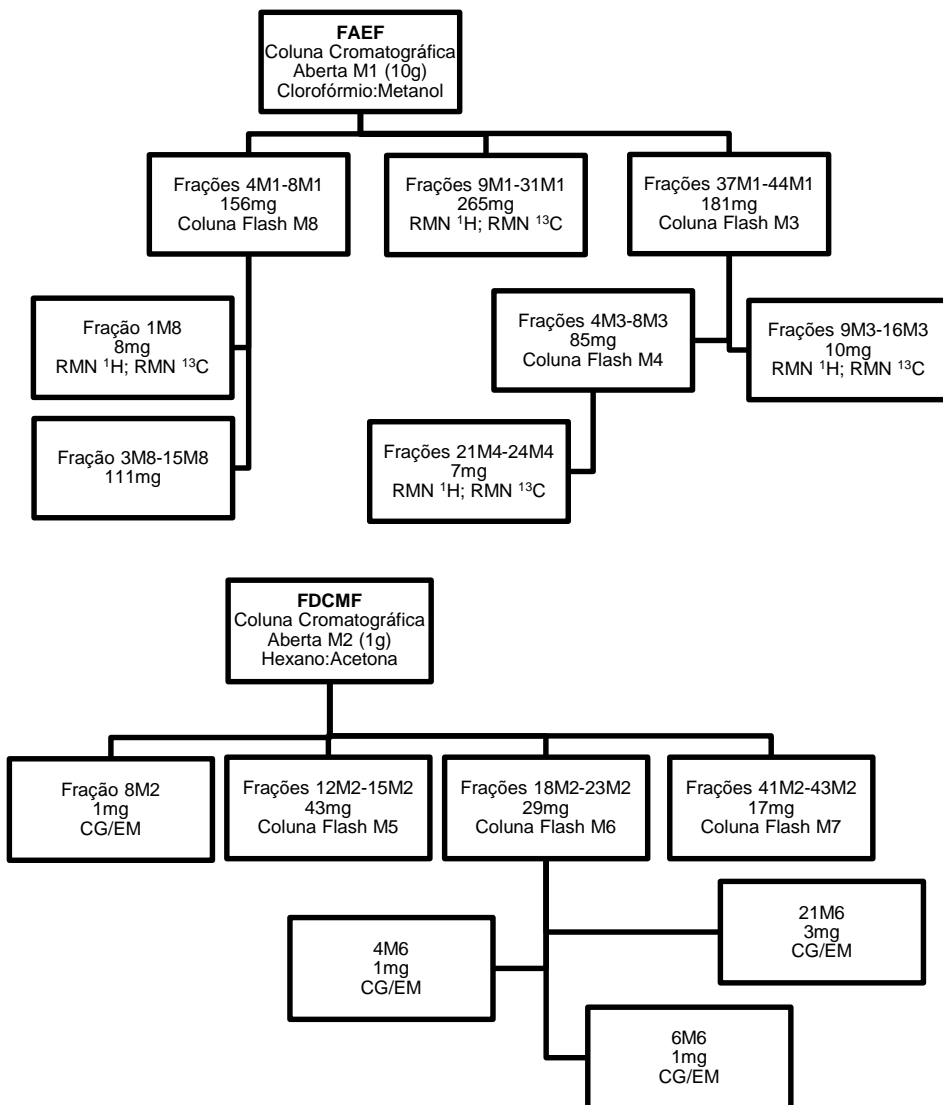
Para a Coluna Cromatográfica aberta da fração DCM foi utilizado 1g da fração. A fase estacionária foi sílica e a fase móvel com solventes Hexano:Acetato de etila variando as concentrações: H:AE – 98:02, H:AE – 95:05, H:AE – 90:10, H:AE – 70:30, H:AE – 50:50 e MeOH puro. Resultaram 45 frações, as quais foram realizadas CCDs para análise e junção das frações semelhantes.

Na Figura 15 estão apresentados os fluxogramas dos procedimentos cromatográficos realizados e nas Figuras 16 e 17, as análises por CCD das frações mais promissoras.

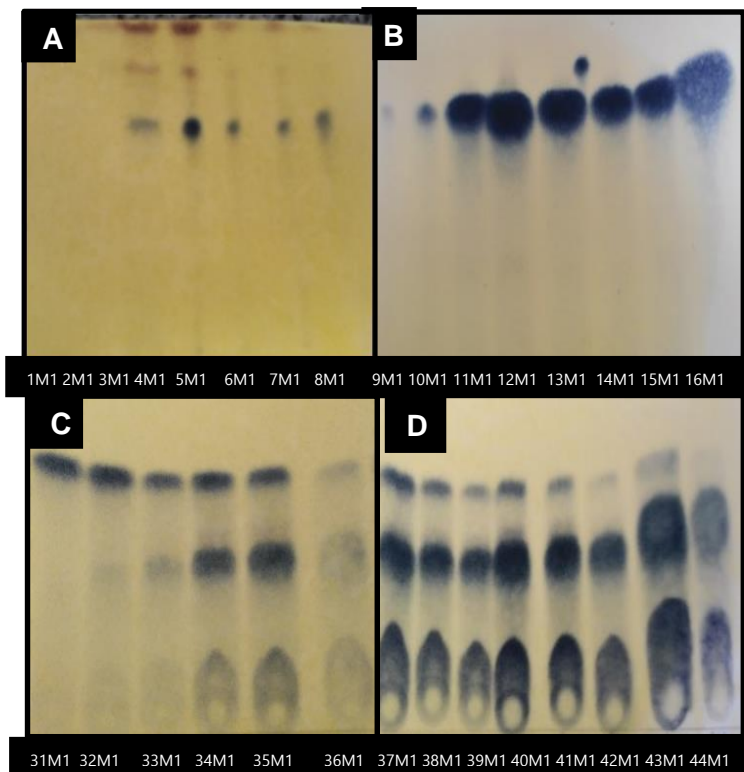
A fim de facilitar a nomenclatura, os compostos foram denominados utilizando apenas a identificação da primeira fração, como por exemplo: 9M1, 9M3, 21M4, 1M8, etc. Para elucidar e caracterizar a estrutura dos compostos purificados, foram realizados dados espectroscópicos usuais como Ressonância Magnética Nuclear de hidrogênio (RMN <sup>1</sup>H) e carbono 13

(RMN  $^{13}\text{C}$ ), DEPT, Cromatografia Gasosa (CG) e Espectrometria de Massa (EM).

**Figura 15.** Procedimentos cromatográficos da FAEF e FDCMF.

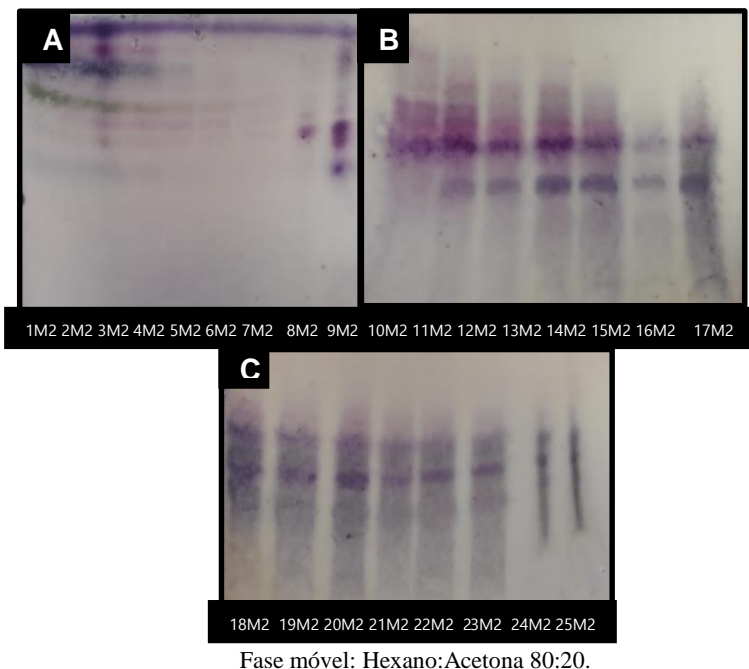


**Figura 16.** Cromatografias de Camada Delgada das frações da coluna aberta FAEF: a) 1M1 a 8M1; b) 9M1 a 16M1; c) 31M1 a 36M1; d) 37M1 a 44M1, reveladas com Cloreto férrico.



Fase móvel: Clorofórmio:Metanol 80:20.

**Figura 17.** Cromatografias de Camada Delgada das frações da coluna aberta FDCMF: a) 1M2 a 9M2; b) 10M2 a 17M2; c) 18M2 a 25M2 reveladas com Anisaldeído.



#### 4.1.3 *Mimusops balata*

O material botânico foi identificado pelo Prof. Oscar Iza (UNIVALI) e o voucher foi depositado no Herbário Barbosa Rodrigues (Itajaí) sob o n. VCFilho 157.

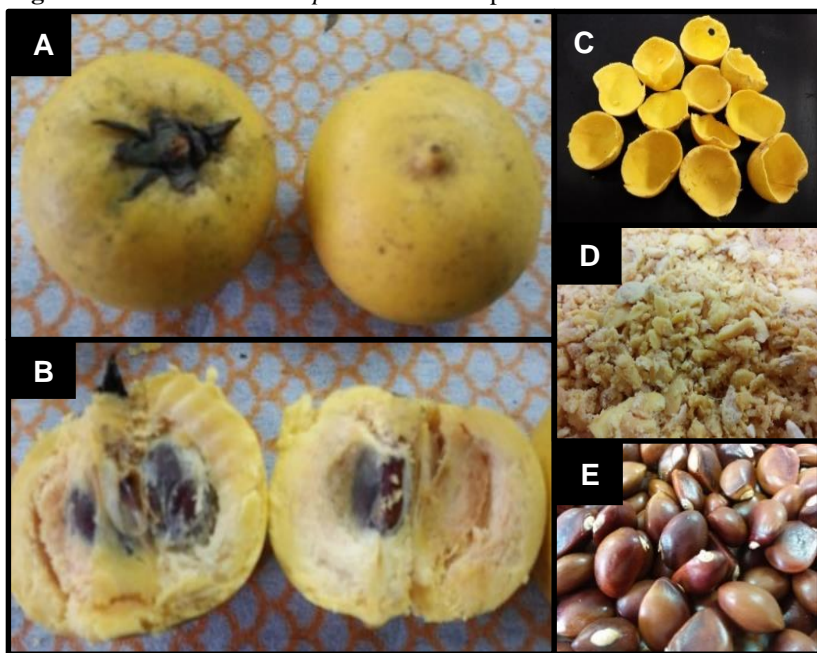
##### 4.1.3.1 Obtenção de extratos e frações das cascas do fruto de *M. balata*

Os frutos frescos (Figura 18A) de *Mimusops balata* foram coletados na Praia Brava em Itajaí-SC. Posteriormente, foram partidos ao meio (Figura 18B) e separados em três partes: cascas do fruto (1745g) (Figura 18C), polpa

do fruto (805g) (Figura 18D) e sementes do fruto (395g) (Figura 18E). Os materiais vegetais foram previamente picados em pequenos pedaços, porém as sementes foram também trituradas.

As cascas do fruto de *Mimusops balata* foram submetidas a um processo de maceração com metanol, a frio, por um período de sete dias e, posteriormente, filtradas. Após este processo, o solvente foi removido por destilação em evaporador rotatório sob pressão reduzida, resultando em 370mL de extrato metanólico bruto. Este volume total de extrato foi então particionado com os seguintes solventes de polaridade crescente: diclorometano e acetato de etila conforme metodologia anteriormente descrita (CECHINEL FILHO; YUNES, 1998; 2001; NIERO et al., 2003; MALHEIROS et al., 2010).

**Figura 18.** Fruto de *Mimusops balata* e suas partes.



A – Frutos frescos de *Mimusops balata*. B – Frutos partidos ao meio. C – Cascas do fruto. D – Polpa do fruto. E – Sementes do fruto.

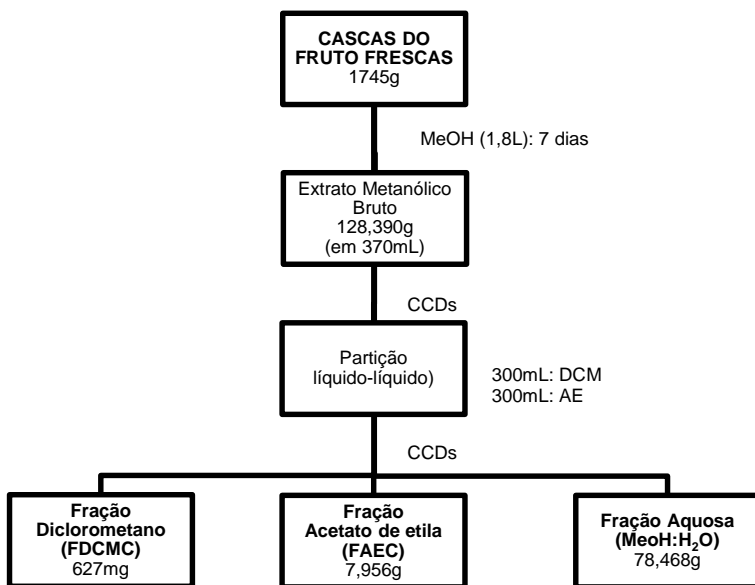
Para a partição líquido-líquido utilizou-se 300mL do solvente diclorometano e 300mL do solvente acetato de etila. Não foi necessário

adicionar água destilada. O extrato foi separado em três frações: fração aquosa (MeOH/H<sub>2</sub>O), fração diclorometano (FDCMC) e fração acetato de etila (FAEC). As FDCMC e FAEC, de interesse fitoquímico, foram evaporadas resultando no rendimento de 627mg da FDCMC e 7,956g da FAEC.

Para o cálculo do rendimento, foram separados, em vidros relógios pesados vazios, 2mL do extrato metanólico bruto, em duplicata, os quais foram pesados após a secura total do extrato. O rendimento foi calculado a partir deste procedimento; verificou-se que em 370mL de extrato havia 128,390g de extrato metanólico bruto (7,36% do material vegetal inicial).

O esquema de obtenção de extrato metanólico bruto e frações de *M. balata* está demonstrado a seguir (Figura 19):

**Figura 19.** Obtenção de extrato metanólico bruto e frações das cascas do fruto de *M. balata*.



Foram realizadas CCDs, com os eluentes Hexano:Acetona e Clorofórmio:Metanol, variando as concentrações, sendo revelados com

solventes distintos, como anisaldeído sulfúrico e cloreto férrico para observar a afinidade de compostos pelos solventes e reveladores.

Após as análises por CCD, foram realizadas CC para separação e possível identificação de compostos.

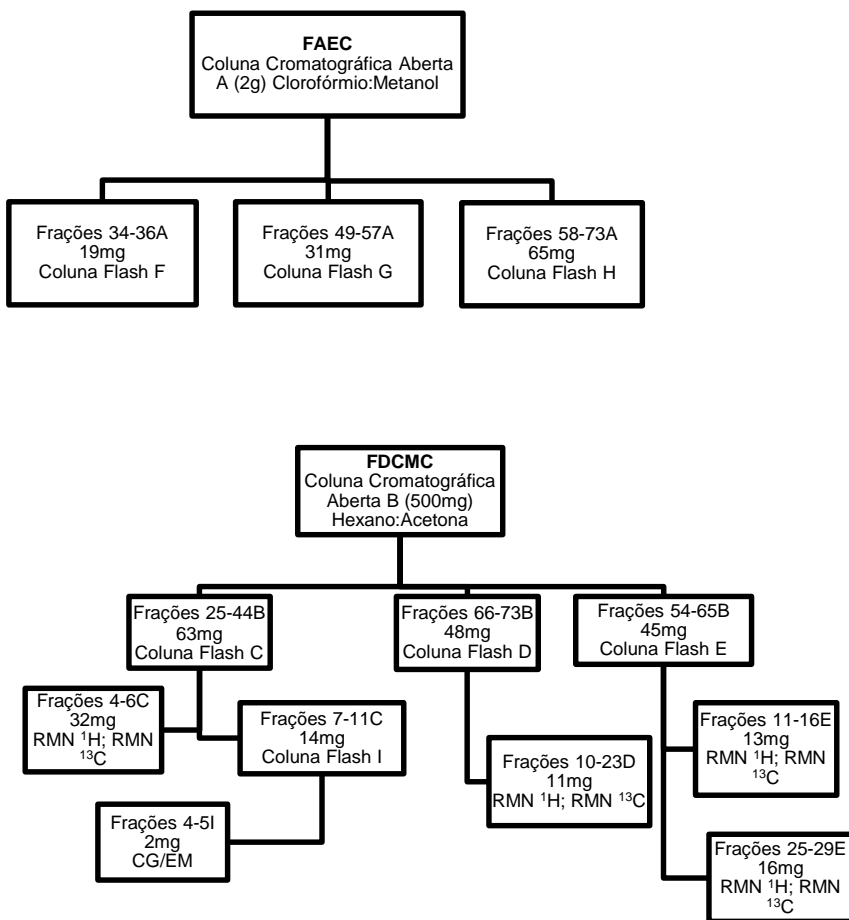
#### *4.1.3.2 Isolamento e identificação dos princípios ativos de M. balata*

Após avaliação do perfil fitoquímico dos extratos, aqueles que apresentaram resultados promissores, foram submetidos primeiramente a procedimentos cromatográficos por cromatografia em coluna (CC) (CECHINEL FILHO; YUNES, 1998; 2001; NIERO et al., 2003; VILEGAS; CARDOSO, 2007; MALHEIROS et al., 2010), visando o isolamento e a purificação dos possíveis princípios ativos presentes nas espécies vegetais selecionadas.

Utilizou-se 2g da FAEC para realização de CC. A fase estacionária foi sílica e a fase móvel com solventes Acetato de etila:Metanol variando as concentrações: AE:MeOH - 95:05, AE:MeOH - 90:10, AE:MeOH - 80:20, AE:MeOH - 70:30, AE:MeOH - 50:50 e MeOH puro. Esta coluna resultou em 94 frações, as quais foram realizadas CCDs para análise e junção das frações semelhantes.

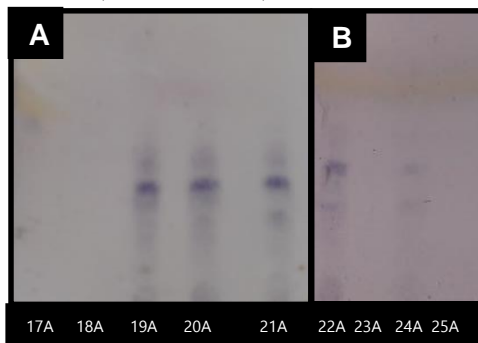
Para a CC da FDCMC foram utilizados 500mg da fração. A fase estacionária foi sílica e a fase móvel com solventes Hexano:Acetona nas variando as concentrações: H:A - 95:05, H:A - 90:10, H:A - 80:20, H:A - 70:30, H:A - 60:40, H:A - 50:50, H:A - 30:70 e MeOH puro. Resultaram 75 frações, as quais foram realizadas CCDs para análise e junção das frações semelhantes.

Na Figura 20 estão apresentados os fluxogramas dos procedimentos cromatográficos realizados e nas Figuras 21, 22 e 23 as análises por CCD das frações mais promissoras.

**Figura 20.** Procedimentos cromatográficos da FAEC e FDCMC.

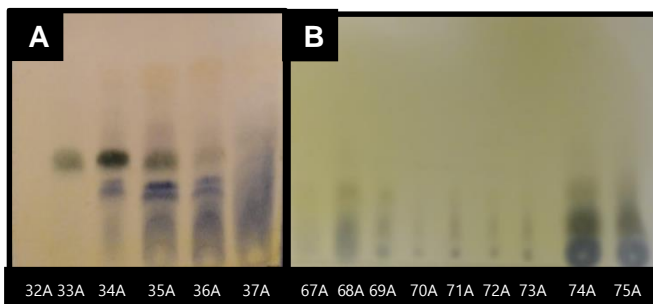


**Figura 21.** Cromatografias de Camada Delgada das frações da coluna aberta FAEC: a) 17A a 21A; b) 22A a 25A reveladas com Anisaldeído.



Fase móvel – Hexano:Acetona 80:20.

**Figura 22.** Cromatografias de Camada Delgada das frações da coluna aberta FAEC: a) 32A a 37A; b) 67A a 75A reveladas com Cloreto férrico.

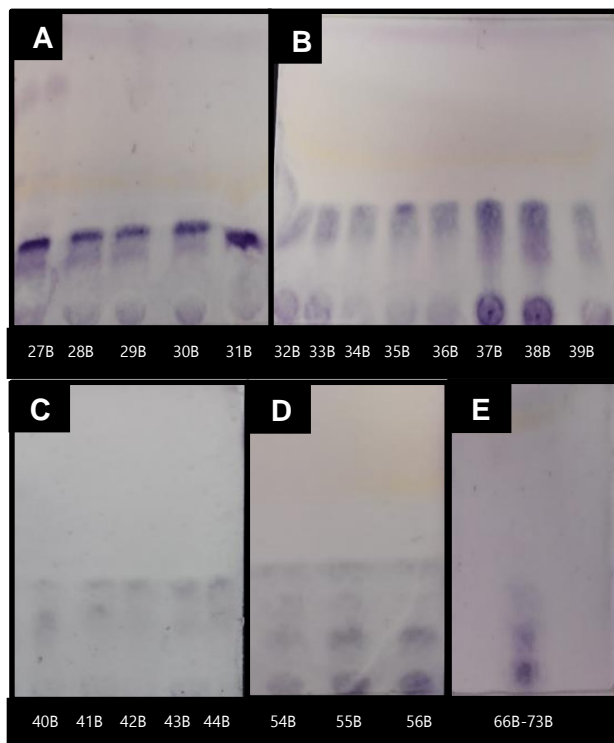


Fase móvel – Clorofórmio:Metanol 80:20.

Novamente, a fim de facilitar a nomenclatura, os compostos foram denominados utilizando apenas a identificação da primeira fração, como por exemplo: 4C, 10D, 11E, 25E, etc.

Ainda, para elucidar e caracterizar a estrutura dos compostos purificados, foram realizados dados espectroscópicos usuais como Ressonância Magnética Nuclear de hidrogênio (RMN  $^1\text{H}$ ) e carbono 13 (RMN  $^{13}\text{C}$ ), DEPT, Cromatografia Gasosa (CG) e Espectrometria de Massa (EM).

**Figura 23.** Cromatografias de Camada Delgada das frações da coluna aberta FDCMC: a) 27B a 31B; b) 32B a 39B; c) 40B a 44B; d) 54B a 56B; e) 66B a 73B reveladas com Anisaldeído.



Fase móvel – Hexano:Acetona 80:20.

## 4.2 Análise biológica

### 4.2.1 Avaliação da atividade antibacteriana frente as cepas de mollicutes

Os experimentos para determinação da atividade antibacteriana dos extratos brutos e frações de *M. bimucronata* e *M. balata*, foram realizados no laboratório de pesquisas em bioanálises da FURB, com auxílio da acadêmica Ariela Maína Boeder, sob a supervisão da Prof. Dr. Caio Maurício Mendes de Córdova. Os micro-organismos utilizados neste ensaio foram cepas de *Micoplasma hominis* (ATCC 23114), *Micoplasma capricolum* subs. *capricolum* (ATCC 27343), *Micoplasma genitalium* (ATCC 33530), *Micoplasma pneumoniae* cepas FH (ATCC 15531) e 129 (ATCC 29342), além de cepa de *Micoplasma mycoides* subsp. *Capri* (MMC) PG3 NCTC 10137. O micro-organismo *U. urealyticum* foi cultivado em meio de cultura U10 (SHEPARD et al., 1974), *M. genitalium* e MMC em meio líquido SP4 e, *M. arginini* em meio líquido de Arginina (MLA) (VELLECA, 1979). Foram realizados repiques das culturas retirando 0,2 mL de inóculo, que foram adicionados a um tubo de ensaio com 2,0 mL de meio de cultura e incubados a 36° +/- 1°C por 48 horas em microaerofilia (2-3 % de CO<sub>2</sub>). Após este período que as cepas foram utilizadas para os testes de concentração inibitória mínima (CIM).

Os testes de Concentração Inibitória Mínima (CIM) foram realizados pelo método padronizado de microdiluição em caldo, em placas de microdiluição de 96 poços (BEBEAR, ROBERTSON, 1996; CLSI, 2012). Os extratos brutos e frações foram diluídas a 40 mg/mL, os compostos isolados foram diluídos a 4 mg/mL, todos em em dimetilsulfóxido (DMSO) 100 %. Foram adicionados 190 µL de meio de cultura MLA, U10 ou SP4, sendo acrescidos de 10 µL de extrato ou das frações a serem testadas nos primeiros micropoços. Em seguida, do meio contendo amostra foi transferido 100 µL para os poços adjacentes, os quais já continham 100 µL de meio de cultura específico (MLA, U10 ou SP4), com o objetivo de se obter diluição seriada de ordem dois. O inóculo de cultura de mollicutes (100 µL) em fase *log* de crescimento, (10<sup>3</sup> micro-organismos/mL) foi adicionado em todos os micropoços. Como controle negativo foi realizada uma diluição seriada do próprio solvente (DMSO 100%), sem a presença de extrato ou fração; como controle do meio de cultura, apenas meio; como controle de crescimento, uma diluição seriada da cultura do micro-organismo, sem a adição de solvente ou

de extrato de planta. Como controle positivo utilizou-se o antibiótico levofloxacino. Por fim, adicionaram-se em todas as cavidades 2 a 3 gotas de vaselina líquida a fim de isolar cada cavidade do meio externo e criar um ambiente de microaerofilia. As placas foram incubadas a 37°C por 48 horas e o crescimento foi observado a partir da mudança de coloração do meio de cultura, devido à presença do indicador vermelho de fenol. Todos os procedimentos foram realizados em triplicata e em capela de fluxo laminar.

A determinação da CIM para os mollicutes foi realizada por meio da mudança de coloração do meio de cultura, devido a presença do indicador de pH, vermelho de fenol. Cada micro-organismo possui um meio de cultura e coloração específica. As cepas de *Micoplasmas* são cultivados em meio SP4, que é um meio enriquecido utilizado para espécies de difícil crescimento. Originalmente, o meio é ligeiramente alcalino (pH 8,0), e o crescimento é evidenciado pela mudança de coloração através da produção de ácidos, alterando a cor de vermelho para o amarelo, devido a presença do indicador vermelho de fenol. Não há turvação do meio de cultura, em razão de seu diminuto tamanho celular.

#### 4.2.2 Avaliação da atividade antibacteriana frente a bactérias com parede celular

Os experimentos para determinação da atividade antibacteriana foram realizados com os extratos brutos e frações de *M. bimucronata* e *M. balata*, no Laboratório de Pesquisa em Microbiologia, da UNIVALI, pela acadêmica Catarina Cé Bella Cruz, sob a supervisão do Prof. Dr. Alexandre Bella Cruz. A atividade antibacteriana foi avaliada contra a bactéria Gram-positiva *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e contra as bactérias Gram-negativas *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853).

Para viabilizar o crescimento das espécies, os micro-organismos foram adicionados ao caldo BHI durante 24 h a 37°C, e posteriormente semeados em ágar sangue (24 h a 37°C), para a reativação das cepas bacterianas.

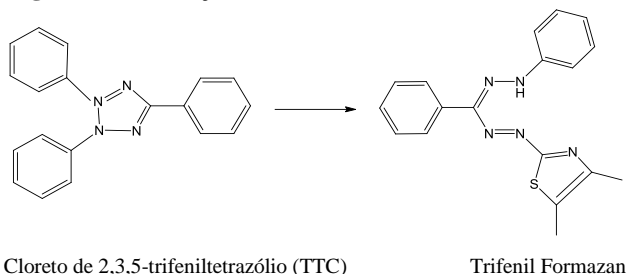
Para a determinação da concentração inibitória mínima (CIM), utilizou-se a técnica de microdiluição em caldo em placas de microdiluição

com 96 poços, conforme recomendado pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2012).

As amostras diluídas a 40 mg/mL em dimetilsulfóxido (DMSO) 10% em PBS foram colocadas nos primeiros micropoços e em seguida diluídas e transferidas para os poços adjacentes, os quais já continham caldo Mueller-Hinton (MH), com o objetivo de se obter diluição seriada de ordem dois, com concentrações de amostra variando entre 1000 µg/mL até 7,81 µg/mL. O inóculo bacteriano, foi preparado e diluído por concentração com a escala 0,5 de McFarland ( $1,5 \times 10^8$  UFC/mL) e adicionado (50 µL) a cada poço para obter um inóculo final na concentração de  $5 \times 10^5$  UFC/mL. Alguns poços de cada microplaca foram reservados para realização dos controles negativos (caldo MH + H<sub>2</sub>O/DMSO 10 % + bactéria em estudo) e para o controle de esterilidade do meio de cultura (caldo MH). Como controle positivo foi utilizado o antibiótico gentamicina, em concentrações variando de 40 a 0,31 µg/mL. Todo o procedimento foi realizado em triplicata e em capela de fluxo laminar.

As placas de microdiluição foram incubadas aerobiamente a 37 °C  $\pm$  1° C, por 24 horas. Após a incubação, o crescimento bacteriano foi verificado adicionando-se 10 µL de uma solução metanólica de cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazólio (5 mg/mL), em cada micropoço. Após duas horas foi observada a formação de “botão” bacteriano avermelhado no fundo de cada poço, indicando a viabilidade da bactéria.

O cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazólio (TTC), indica a atividade das enzimas desidrogenases, envolvidas no processo de respiração celular. Pela redução do TTC, uma substância vermelha, estável e não difusível é produzida nas células vivas (Figura 24), o que torna possível distinguir as amostras vivas, coloridas de vermelho, daquelas mortas que mantêm sua cor. A CIM foi determinada como a última concentração capaz de inibir o crescimento bacteriano.

**Figura 24.** Formação do Trifenil Formazan.

#### 4.2.3 Avaliação da atividade antifúngica

Os ensaios antibacterianos foram realizados no Laboratório de Microbiologia Clínica da UNIVALI pela acadêmica Catarina Cé Bella Cruz, supervisionados pelo prof. Dr. Alexandre Bella Cruz, que forneceu as cepas fúngicas. A determinação da concentração inibitória mínima (MIC) foi realizada por microdiluição de caldo. O método consistiu na preparação de diluições sucessivas dos extratos testados (1000 µg/mL até 2 µg/mL) em caldo Sabouraud dextrosado 2% para levedura. O inóculo fúngico (*Candida albicans*) foi adicionado no meio cultura que já continha as amostras a serem testadas em diferentes concentrações e foram então incubados para posterior verificação da menor concentração capaz de inibir o crescimento fúngico (CIM).

A determinação da CIM para os fungos foi realizada por meio da presença de turvação do meio de cultura. Devido ao tamanho das células fúngicas, conforme ocorre o crescimento fúngico é possível observar a turvação do meio. Quando a amostra analisada é capaz de inibir o crescimento fúngico, a turvação não acontece, e este poço é determinado como sendo a CIM.

#### 4.2.4 Avaliação da atividade diurética

Este experimento seguiu o procedimento descrito anteriormente por Aston (1959) e Kau; Keddie; Andrews (1984). Foi aprovado pelo Comitê de Ética da UNIVALI, protocolo n. 045/16. Resumidamente, os animais (ratos *Wistar*) foram divididos aleatoriamente em grupos e receberam uma

sobrecarga oral de solução salina fisiológica (0,9% de NaCl, 5 mL/100 g) para impor uma uniformidade corporal de sódio e água. Em seguida, os animais foram tratados com: veículo (água + 0,5% tween 80, grupo controle: CT; 10 ml/kg); hidroclorotiazida (HCTZ; grupo controle positivo, 10 mg/kg); extrato metanólico bruto das folhas de *M. bimucronata* (EMBF; 10 - 100mg/kg), fração diclorometano a partir de *M. bimucronata* (FDCMF; 3 - 10 mg/kg) fração acetato de etila a partir de *M. bimucronata* (FAEF; 3 - 10 mg/kg), galato de metila (GM; 0,3; 1 e 3 mg/kg) e ácido gálico (AG; 0,3; 1 e 3 mg/kg). Em outro bloco de experimentos, para avaliar o envolvimento dos receptores muscarínicos da acetilcolina, a geração de prostanoídes endógenos e o papel do óxido nítrico nos efeitos renais apresentados pelos compostos isolados, os animais foram pré-tratados por via oral com: antagonista do receptor muscarínico de acetilcolina (atropina; 1,5 mg/kg), inibidor da ciclo-oxigenase (indometacina; 5 mg/kg), inibidor da sintase do óxido nítrico (L-NAME; 60 mg/kg) ou apenas veículo (1 ml/kg). Uma hora depois, os animais receberam uma dose única de GM (3 mg/kg), AG (3 mg/kg) ou apenas veículo (10 mL/kg). Imediatamente após os tratamentos, os ratos foram alocados individualmente em gaiolas metabólicas e o volume de urina foi verificado na primeira e a cada 2 horas, por um período total de 8 horas. O índice urinário foi calculado em relação ao peso corporal e expresso em mL/100 g. A excreção de eletrólitos ( $\text{Na}^+$  e  $\text{K}^+$ ) e os valores de pH foram avaliados em cada amostra de urina no final do experimento.

As concentrações de eletrólitos urinários ( $\text{Na}^+$  e  $\text{K}^+$ ) foram quantificadas utilizando um fotômetro de chama (modelo BFC-300; Benfer, São Paulo/SP, Brasil), seguindo as instruções do fabricante. O pH foi medido por meio de um medidor de pH (modelo DM-22; Digimed, São Paulo/SP, Brasil).

### 4.3 Análise estatística

Os resultados foram expressos como média  $\pm$  erro padrão da média ( $\pm$  SEM) de cinco a oito animais em cada grupo. A análise de variância de uma ou duas vias (ANOVA) seguida do teste de comparações múltiplas de Dunnett foi realizada usando o GraphPad Prism versão 6.00 para Windows (GraphPad Software, La Jolla, CA, EUA). Valores de  $p < 0,05$  foram considerados estatisticamente significativos.





## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Estudo fitoquímico de *Mimosa bimucronata*

As folhas frescas de *M. bimucronata* foram submetidas ao processo de maceração estática. Nesse processo o solvente permanece em contato com a planta durante um tempo pré-determinado na tentativa de extrair os compostos com maior efetividade. O rendimento total do extrato metanólico bruto das folhas frescas (EMBF) foi de 7,04%.

O EMBF foi submetido a partição com solventes de diferentes polaridades. A Tabela 3 demonstra os rendimentos obtidos. A maior parte dos compostos foi extraída com acetato de etila, isto indica caráter polar para os compostos presentes.

**Tabela 3.** Rendimentos das frações obtidas do extrato metanólico bruto de *M. bimucronata*.

Material Vegetal	Massa (g)	Rendimento (%)
Fração diclorometano das folhas (FDCMF)	2,609	6,98
Fração acetato de etila das folhas (FAEF)	27,752	74,24
Fração aquosa (MeOH:H <sub>2</sub> O)	2,542	6,80

As frações obtidas foram submetidas à CC. Os compostos considerados semi e/ou puros, foram analisados a fim da compreensão de suas estruturas químicas.

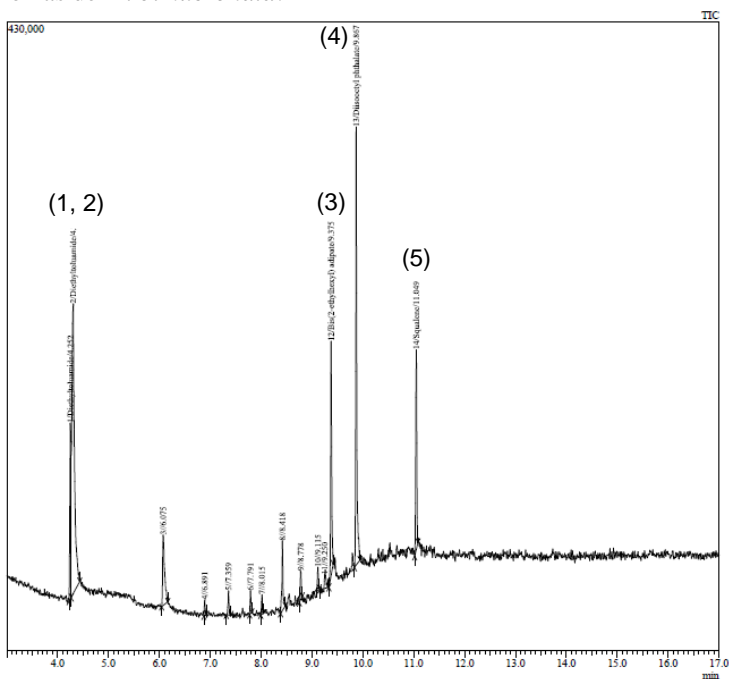
#### 5.1.1 Fração diclorometano: análise do composto 8M2

A fração 8M2 é proveniente da CC realizada com a FDCMF. Na Figura 17A pode ser observada uma mancha escura. A análise por CG/EM, da fração 8M2 está apresentada na Figura 25. Trata-se de uma mistura com destaque para os dois picos com tempos de retenção em 4,25 min com porcentagem de área de 10,98% (1) e em 4,30 min, cuja área foi de 33,81% (2). Os espectros de massas obtidos foram comparados aos encontrados no

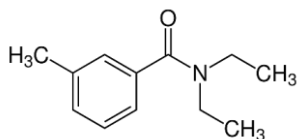
banco de dados da biblioteca Nist-8 e apresentaram similaridade a dietiltolamida (estrutura química apresentada na Figura 26).

No cromatograma se destacam outros três picos com tempos de retenção 9,375 min (10,26%) (3) identificado como ester do ácido bis-(2-etilhexil)-hexanodióico (ácido adípico, apresentado na Figura 27); 9,867 min (19,71%) (4) não identificado e 11,049 min (9,13%) (5), identificado como esqualeno (estrutura química apresentada na Figura 28).

**Figura 25.** Cromatograma obtido por CG/EM do composto 8M2 isolado das folhas de *M. bimucronata*.

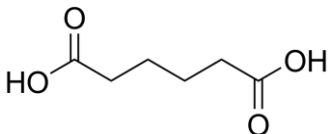


**Figura 26.** Estrutura química da dietiltolamida.



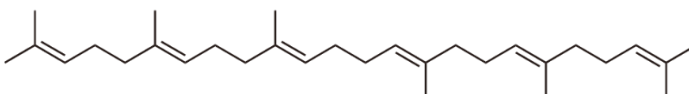
Nomenclatura química: N,N'-Diethyl-3-metilbenzamida. Fórmula molecular: C<sub>12</sub>H<sub>17</sub>NO.

**Figura 27.** Estrutura química do ácido adípico.



Nomenclatura química: ácido bis-(2-etilhexil)-hexanodióico. Fórmula molecular:  $C_6H_{10}O_4$ .

**Figura 28.** Estrutura química do esqualeno.

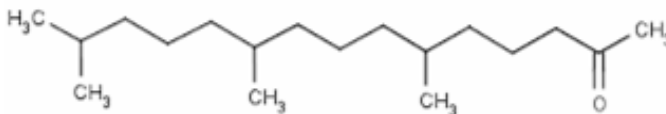


Nomenclatura química: 2,6,10,15,19,23-hexametil-2,6,10,14,18,22-tetracosahexeno. Fórmula molecular:  $C_{30}H_{50}$ .

#### 5.1.2 Fração diclorometano: análise do composto 6M6

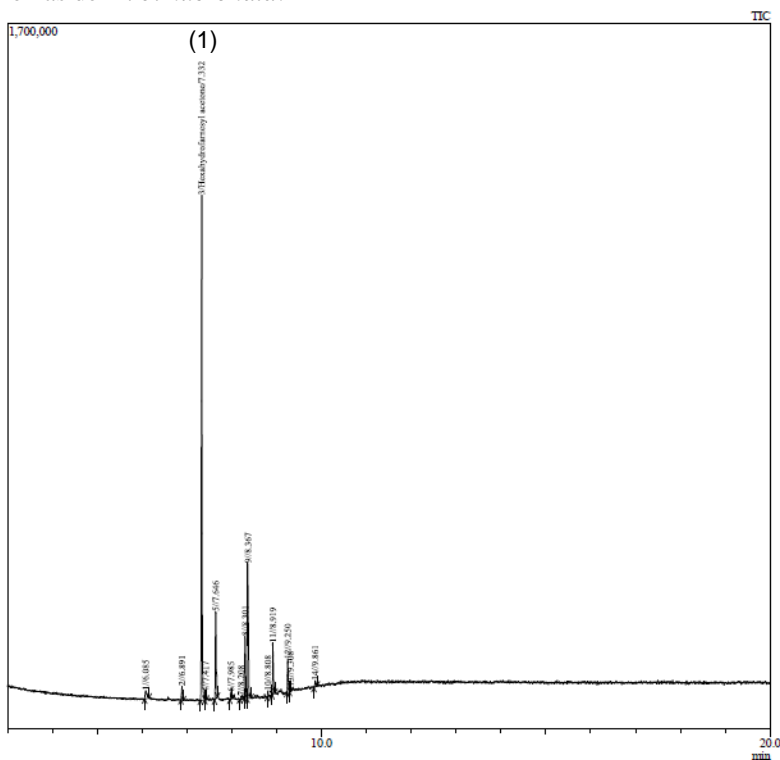
A fração 6M6 é proveniente da CC realizada com a FDCMF. A fração 6M6 foi analisada por CG/EM, na Figura 30 pode-se visualizar o cromatograma. Esta trata-se de uma mistura, que apresentou um composto majoritário, o hexahidrofarnesil acetona, com tempo de retenção em 7,33 minutos, com área correspondente a 50,01% (1), cuja estrutura química está apresentada na Figura 29. Os espectros de massas dos demais picos não apresentaram semelhanças através das análises dos respectivos espectros de massas com a biblioteca NIST-8.

**Figura 29.** Estrutura química do hexahidrofarnesil acetona.



Nomenclatura química: 6,10,14-trimetilpentadecan-2-ona. Fórmula molecular:  $C_{18}H_{36}O$ .

**Figura 30.** Cromatograma obtido por CG/EM do composto 6M6 isolado das folhas de *M. bimucronata*.



### 5.1.3 Fração acetato de etila: análise do composto 9M1

O composto 9M1-31M1 foi isolado (265mg) da FAEF. Este apresentou aspecto pó e de cor bege escuro. Mostrou melhor solubilidade em metanol. As Figuras 16B e 16C demonstram as CCD realizadas com o composto 9M1-31M1.

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Figura 32), apresentou dois simpletos, um em 7,06 ppm, característico de hidrogênio de anel aromático e outro em 3,83 ppm, característico de hidrogênio metoxílico.

O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (Figura 33) apresentou sinal característico de carbono de carbonila [ $\delta_{\text{C}}$  169,1], sinais característicos de carbonos aromáticos oxigenados [ $\delta_{\text{C}}$  146,6; 139,9 e 121,6], um sinal característico de carbono aromático hidrogenado [ $\delta_{\text{C}}$  110,2] e um sinal característico de

carbono metoxílico [ $\delta_c$  52,4]. Os sinais observados, em comparação com a literatura (Tabela 4), permitiram verificar que o composto 9M1 se trata do galato de metila (Figuras 31 e 34) (MOURA; VILEGAS; DOS SANTOS, 2011).

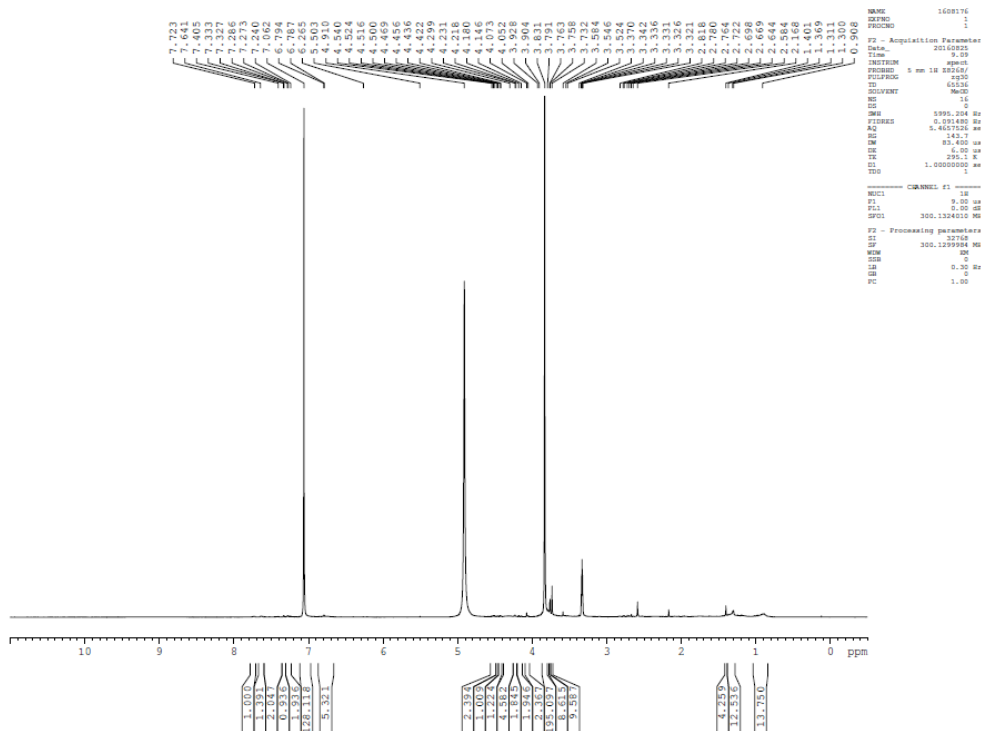
Na espécie, *M. bimucronata*, foram isolados compostos fenólicos presentes nas folhas e sementes, de acordo com a pesquisa de Kestring e colaboradores (2009).

**Figura 31.** Cromatografia de Camada Delgada do composto 9M1, galato de metila (padrão) e Co-CCD com estes compostos, revelada com Cloreto férrico.

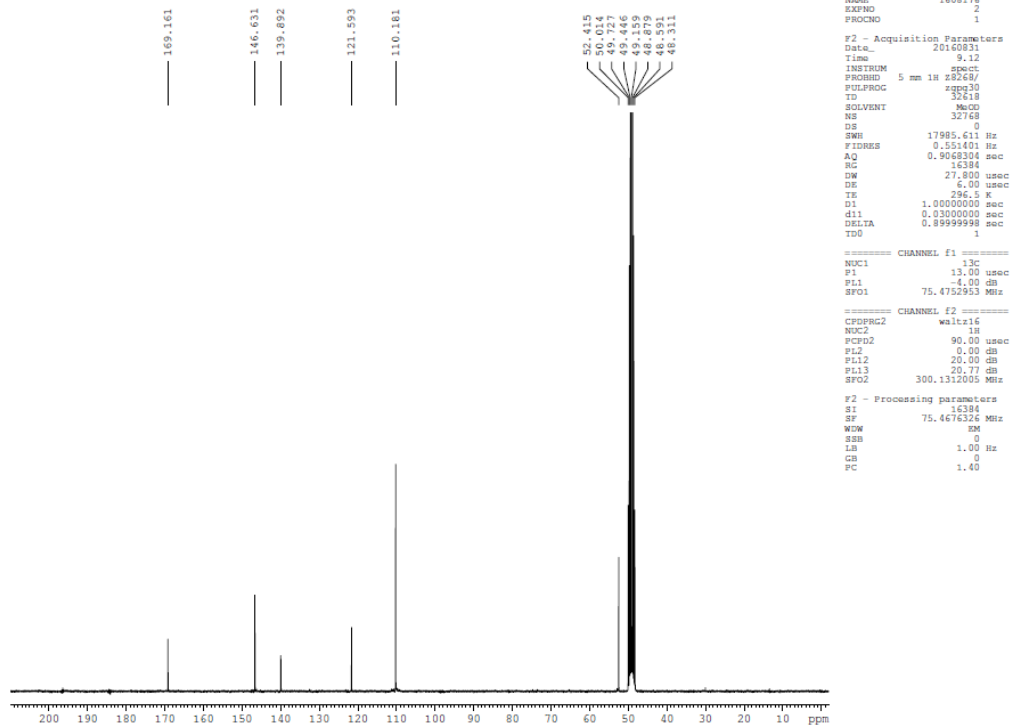


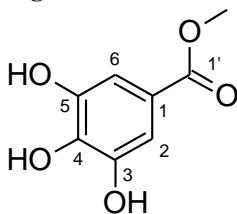
Fase móvel: Clorofórmio:Metanol 90:10.

**Figura 32.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto 9M1 (galato de metila) isolado das folhas de *M. bimucronata* (solvente MeOD).



**Figura 33.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  do composto 9M1 (galato de metila) isolado das folhas de *M. bimucronata* (solvente MeOD).



**Figura 34.** Estrutura química do galato de metila.**Tabela 4.** Comparação dos deslocamentos químicos do composto 9M1 e galato de metila\*.

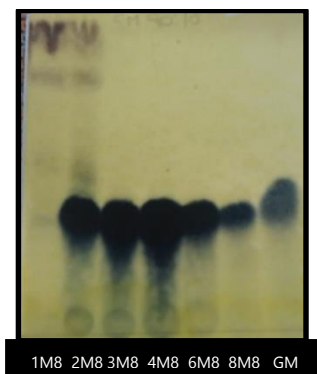
Nº	Composto 9M1 (MeOD)		Galato de metila* (DMSO-d <sub>6</sub> )	
	δH	δC	δH	δC
1		121,6		119,7
2	7,06 s	110,1	6,93 s	108,8
3		146,6		145,5
4		139,9		138,0
5		146,6		145,5
6	7,06 s	110,1	6,93 s	108,6
1'		169,1		165,6
OCH <sub>3</sub>	3,83 s	52,4	3,74 s	52,3

\*MOURA; VILEGAS; DOS SANTOS, 2011.

Posteriormente as frações 3M8 a 15M8 provenientes também da FAEF foram analisadas por CCD e apresentaram perfil similar ao 9M1. A CCD está apresentada na Figura 35.



**Figura 35.** Cromatografia de Camada Delgada do composto 1M8 a 8M8 e padrão GM (Fase móvel: Clorofórmio:Metanol 90:10) revelada com Cloreto férrico.



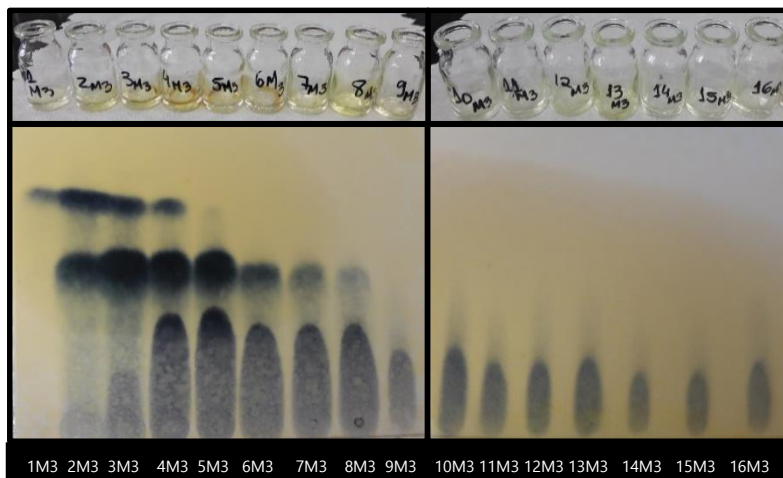
O composto fenólico GM demonstrou importante efeito anti-inflamatório em modelos de inflamação induzido pelo zimosan (modelos de edema de pata, pleurisia e artrite), devido à sua capacidade de modular o recrutamento dos neutrófilos e a ativação de macrófagos. O GM foi capaz de inibir diferentes parâmetros da artrite experimental tais como: a formação de edema articular, a migração de leucócitos para a articulação inflamada e a produção de mediadores inflamatórios tanto proteicos quanto lipídicos em dois períodos do processo inflamatório, 6 e 24 horas, em doses que variaram de 1 a 50 mg/kg (CORREA, 2015).

#### 5.1.4 Fração acetato de etila: análise do composto 9M3

As frações provenientes da CC FAEF, foram analisadas por CCD. O composto 9M3-16M3 foi obtido da FAEF, aspecto sólido oleoso, de cor marrom, com solubilidade em metanol, com rendimento de 10mg. O composto 21M4 apresentou as características semelhantes.

De acordo com a Figura 36, pode-se analisar que nas frações de 2M3 a 4M3 há uma mistura de três substâncias. Entre as frações 5M3 a 8M3, o GM está misturado com outra substância fenólica. A partir de 9M3 a 16M3, observa-se uma única mancha e estas frações foram reunidas e avaliadas por RMN.

**Figura 36.** Frações e 1M3 a 16M3 e respectivas Cromatografias de Camada Delgada reveladas com Cloreto férrico.

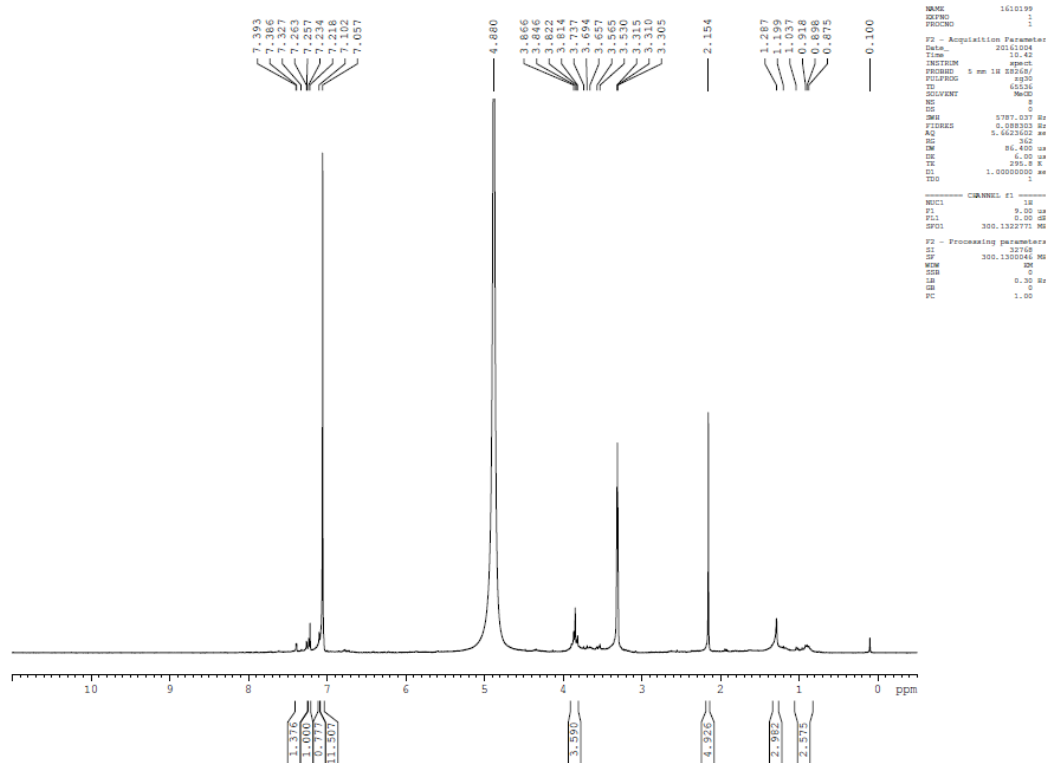


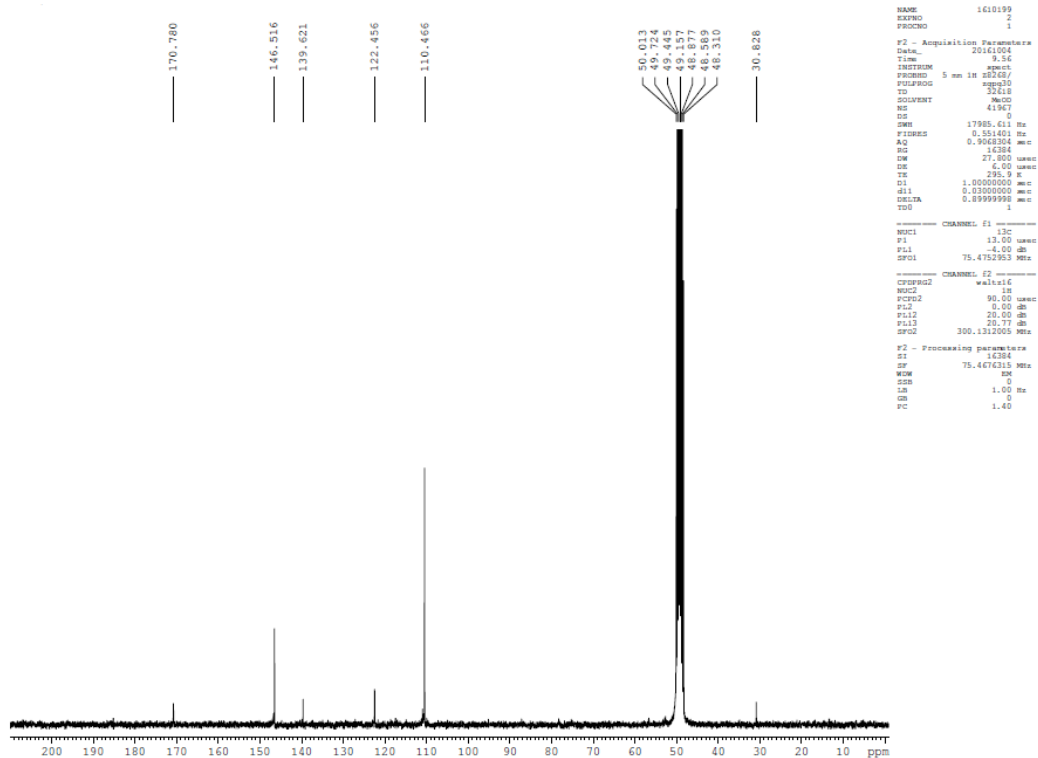
Fase móvel: Clorofórmio:Metanol 80:20.

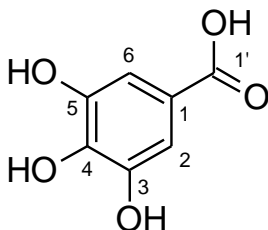
O espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto 9M3 (Figura 37), apresentou somente um simpleto em 7,05 ppm, característico de hidrogênio de anel aromático. Já o espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (Figura 38) apresentou sinal característico de carbono de carbonila [ $\delta_{\text{C}}$  170,7], sinais característicos de carbonos aromáticos oxigenados [ $\delta_{\text{C}}$  146,5; 139,6 e 122,4]. Os sinais observados, em comparação com a literatura (Tabela 5), permitiu verificar que o composto 9M3 como ácido gálico (Figura 39) (MOURA; VILEGAS; DOS SANTOS, 2011). Outros sinais foram observados no espectro de RMN  $^1\text{H}$ , demonstrando que o composto está impuro.

No gênero *Mimosa*, já foram isolados compostos fenólicos das folhas e sementes (KESTRING et al., 2009) e AG, flavonoides e saponinas (JAIN; JAIN; VLIETIINCK, 2004) encontrados nas espécies *M. bimucronata* e *M. hamata*, respectivamente.

**Figura 37.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto 9M3 (ácido gálico) isolado das folhas de *M. bimucronata* (solvente MeOD).



**Figura 38.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  do composto 9M3 (ácido gálico) isolado das folhas de *M. bimucronata* (solvente MeOD).

**Figura 39.** Estrutura química do ácido gálico.**Tabela 5.** Comparação dos deslocamentos químicos de RMN da estrutura química do composto 9M3 e ácido gálico\*.

Nº	9M3 (MeOD)		Ácido gálico* (DMSO-d <sub>6</sub> )	
	δH	δC	δH	δC
1		122,4		120,7
2	7,05 s	110,5	6,93 s	108,8
3		146,5		145,4
4		139,6		138,0
5		146,5		145,4
6	7,05 s	110,5	6,93 s	108,8
1'		170,7		167,6

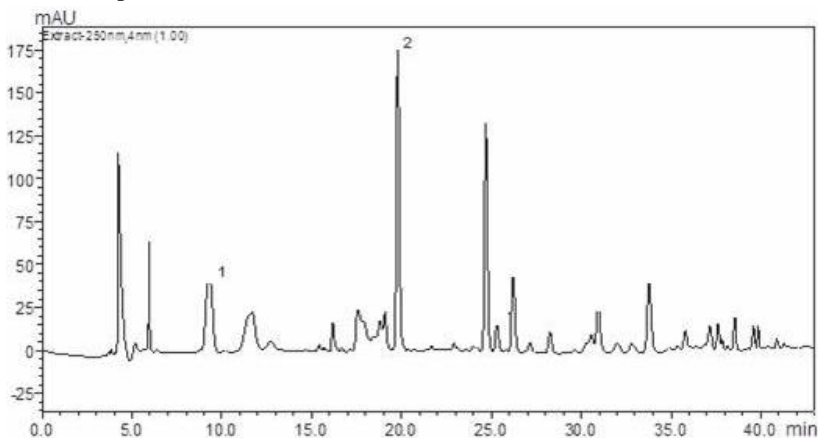
\*MOURA; VILEGAS; DOS SANTOS, 2011.

O AG é um ácido orgânico encontrado na forma livre e também como parte de taninos, sais e ésteres de AG (por exemplo: GM). Estudos biológicos mostram que o AG possui diversas propriedades, dentre elas: antifúngica, antiviral, antioxidante e anticancerígena. É comumente utilizado em tintas, como antioxidante em alimentos, cosméticos e também na indústria farmacêutica. Do ponto de vista terapêutico, os antioxidantes, em geral, são usados para prevenir os danos oxidativos que ocorrem em biomoléculas por eliminação das espécies reativas de oxigênio (EMBUSCADO, 2015; MARTINS, 2017; TEKALE; PANGRIKAR, 2011).

O ácido gálico havido sido isolado anteriormente na espécie *M. hamata* na pesquisa de Jain, Jain e Vlietiinck (2004).

A fim de analisar o EMBF, este foi submetido à análise por CLAE. A Figura 40 exibe o cromatograma proveniente realizada com o EMBF ( $\lambda = 250$  nm). Foi possível identificar os compostos AG com tempo de retenção em 9,3 minutos e GM em 19,5 minutos.

**Figura 40.** Análise por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Cromatograma de CLAE do extrato metanólico das folhas de *M. bimucronata* a 250 nm. Os picos 1 e 2 foram identificados como ácido gálico e galato de metila, respectivamente.



## 5.2 Estudo fitoquímico de *Mimusops balata*

As cascas frescas de *M. balata* foram submetidas ao processo de maceração estática. Nesse processo o solvente permanece em contato com a planta durante um tempo pré-determinado na tentativa de extrair os compostos com maior efetividade.

A Tabela 6 exibe o rendimento das frações provenientes do extrato metanólico bruto das cascas do fruto de *M. balata* (128,390g), as quais apresentaram baixo rendimento, principalmente a FDCMC, objeto alvo deste estudo.

O EMBC foi submetido a partição com solventes de diferentes polaridades. A maior parte dos compostos foi extraída com MeOH:H<sub>2</sub>O, isto indica caráter polar para os compostos presentes.

**Tabela 6.** Rendimentos das frações obtidas do extrato metanólico bruto de *M. balata*.

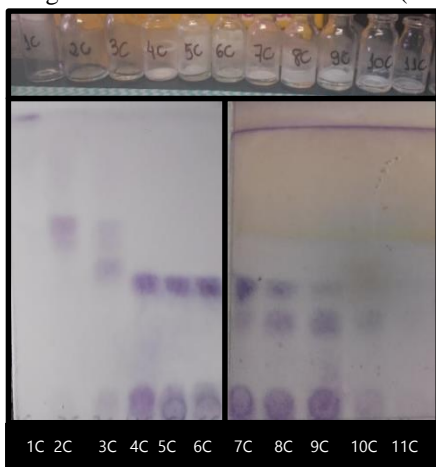
Material Vegetal	Massa (g)	Rendimento (%)
Fração diclorometano das cascas (FDCMC)	0,627	0,49
Fração acetato de etila das cascas (FAEC)	7,956	6,20
Fração aquosa (MeOH:H <sub>2</sub> O)	78,468	61,12

As frações obtidas foram submetidas à CC. Os compostos considerados semi e/ou puros, foram analisados a fim da compreensão de suas estruturas químicas. Provenientes da fração FDCMC, os compostos 4C, 25E e 10D foram isolados e estudados para análise estrutural.

#### 5.2.1 Fração diclorometano: análise do composto 4C

A partir da CC realizada com FDCMC, foram realizadas CCDs para análises (Figura 41). Observou-se uma única mancha arroxeada entre as frações 4C a 6C.

**Figura 41.** Frações 1C a 11C e respectivas Cromatografias de Camada Delgada reveladas com Anisaldeído (Fase móvel: Hexano:Acetona 80:20).



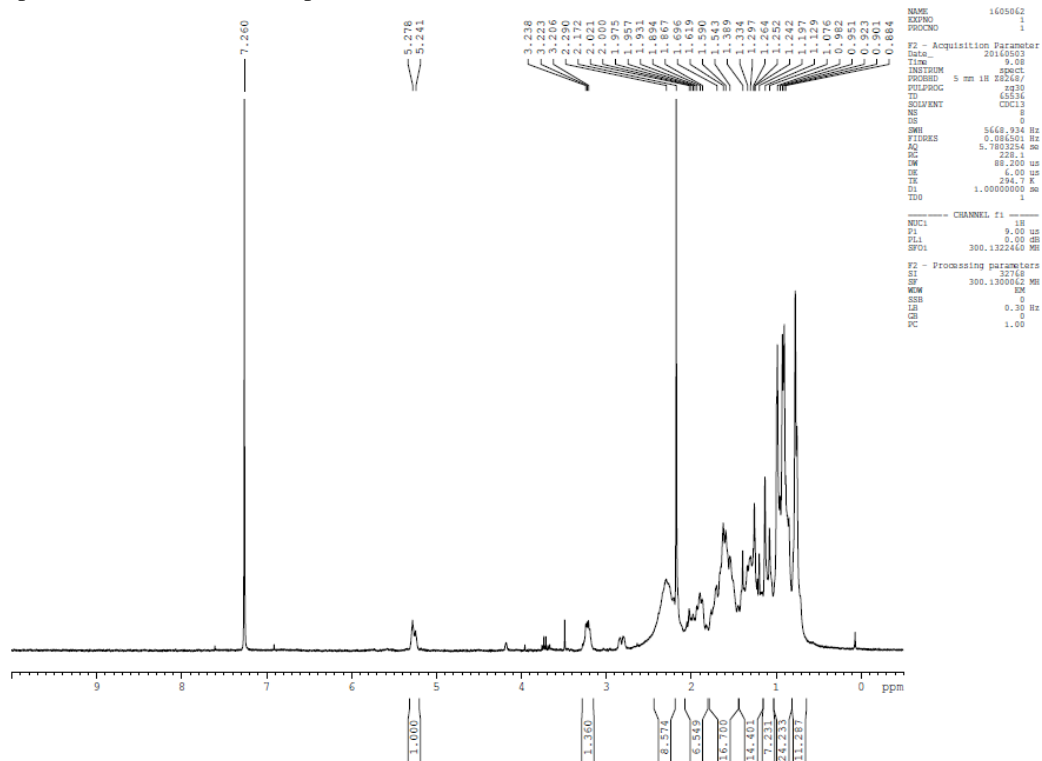
A fração 4C-6C (32mg) apresentou solubilidade em clorofórmio, aspecto pó e cor branca. O espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Figura 42), apresentou sinais de hidrogênios metílicos entre 0,7 a 1,6 ppm, assim como dois sinais característicos de hidrogênio olefínico [ $\delta_{\text{H}}$  5,28 (s) e 5,24 (s)]. Apresentou também, sinais característicos de hidrogênios oxigenados consistente com hidrogênio carbinólico na região de 3 ppm e vários sinais na região característica de hidrogênios metilênicos.

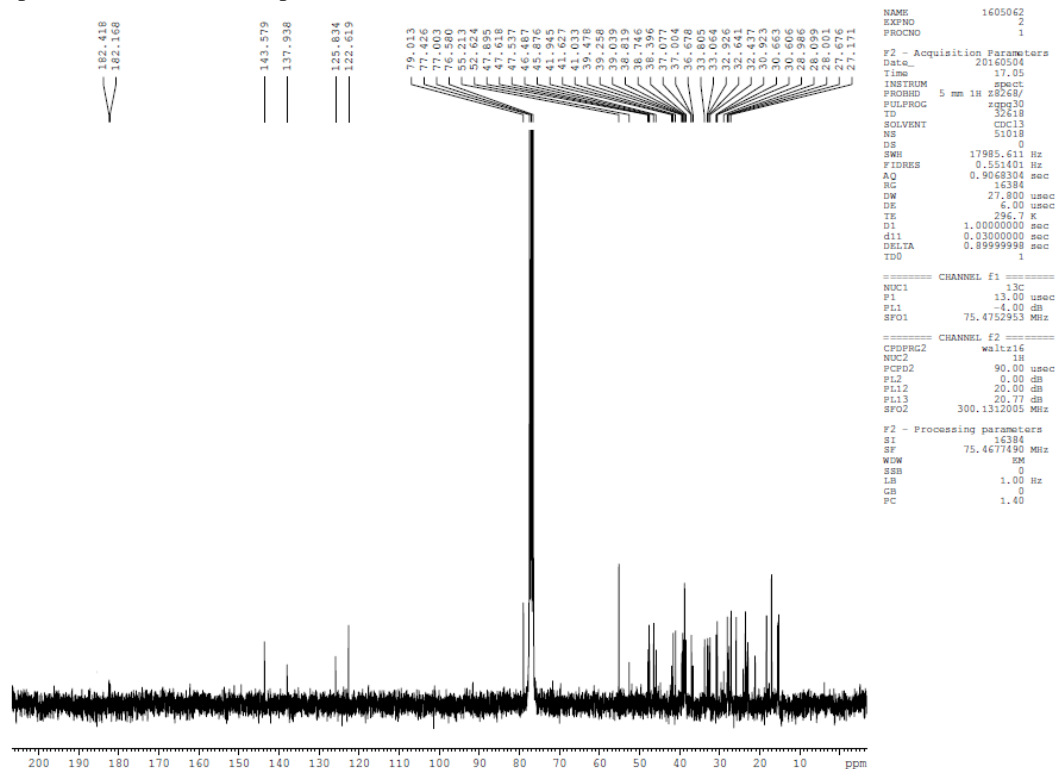
O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (Figura 43) apresentou dois sinais característicos de carbono de carbonila [ $\delta_{\text{C}}$  182,4 e 182,1], sinais característicos de carbonos olefínicos [ $\delta_{\text{C}}$  143,5; 137,9; 122,6 e 125,8] e um sinal característico de carbono oxigenado [ $\delta_{\text{C}}$  79,0]. Porém, a duplicidade de sinais com deslocamentos químicos próximos e de intensidades diferentes o que sugere que seja uma mistura de triterpenos. Os deslocamentos químicos estão de acordo com os dos ácidos oleanólico e o ácido ursólico (Tabela 7; Figura 44).

Conforme o Quadro 1 (apresentado anteriormente), foram isolados triterpenos das espécies de *Mimusops*, dentre eles cita-se o AU (MISRA; NIGAM; MITRA, 1974).



**Figura 42.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto 4C isolado das cascas do fruto de *M. balata* (solvente  $\text{CDCl}_3$ ).



**Figura 43.** Espectro RMN  $^{13}\text{C}$  do composto 4C isolado das cascas do fruto de *M. balata* (solvente  $\text{CDCl}_3$ ).

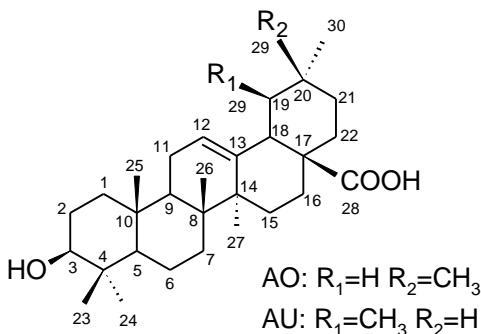
**Tabela 7.** Comparação dos deslocamentos químicos do composto 4C com o ácido oleanólico\* e o ácido ursólico\*.

Nº	4C	Ácido oleanólico	Ácido ursólico
	$\delta C$	$\delta C$	$\delta C$
1	38,4; 38,6	38,5	38,8
2	27,6; 27,2	27,4	27,3
3	77,2; 79,0	78,7	78,8
4	38,7; 39,0	38,7	38,8
5	55,2; 55,2	55,2	55,4
6	18,3; 18,3	18,3	18,4
7	32,6; 32,9	32,6	33,0
8	39,2; 39,4	39,3	39,6
9	47,6; 47,5	47,6	47,5
10	37,1; 37,0	37,0	37,0
11	22,9; 23,3	23,1	23,3
12	122,6; 125,8	122,1	125,5
13	143,5; 137,9	143,4	138,0
14	41,6; 41,9	41,6	42,0
15	27,6; 28,1	27,7	28,2
16	23,4; 24,1	23,4	24,3
17	46,5; 47,9	46,6	48,1
18	41,0; 52,6	41,3	52,8
19	45,9; 38,6	45,8	39,1
20	30,6 ; 38,8	30,6	38,8
21	33,8; 30,6	33,8	30,7
22	32,4; 36,7	32,3	36,7
23	28,1; 28,1	28,1	28,2
24	15,5; 15,4	15,6	15,5

25	15,3; 15,5	15,3	15,7
26	17,1; 17,1	16,8	16,9
27	25,9; 23,6	26,0	23,6
28	182,4; 182,1	181,0	180,0
29	33,1; 16,9	33,1	16,9
30	23,3; 21,2	23,6	21,2

\*FALCÃO; FERNANDES; MENEZES, 2003.

**Figura 44.** Estrutura química da mistura do ácido oleanólico (AO) e ácido ursólico (AU).



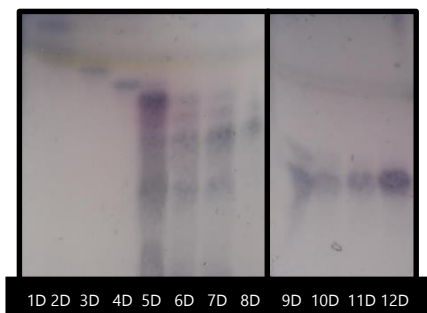
Anteriormente, o AU foi isolado nos frutos de *M. elengi* (MISRA; MITRA, 1968; MISRA; NIGAM; MITRA, 1974), casca do caule e frutos de *M. hexandra* e folhas de *M. manilkara* (MISRA; NIGAM; MITRA, 1974).

O AU possui propriedades quimiopreventivas sendo amplamente encontrado em ervas medicinais, como componente de coberturas protetoras cerosas de diversos tipos de frutos (maçã, pêra, azeitona, ameixa, arandos, figo). Dentre as mais diversas atividades biológicas, incluem-se as funções: hepatoprotetor, imunomodulador, anti-inflamatório, antidiabético, antibacteriano, antiviral, antiulceroso e anticarcinogênico. Ressalta-se que o AU, isômero do AO, partilha a maioria dos seus efeitos biológicos. A atividade anticarcinogênica está ligada à sua capacidade de induzir a apoptose celular, impedindo a tumorigênese e inibindo a proliferação de células cancerígenas (CHEN et al, 2015; CONCEIÇÃO, 2016; LIU, 1995).

### 5.2.2 Fração diclorometano: análise do composto 10D

O composto 10D-23D foi isolado da FDCMC (11mg), com solubilidade em clorofórmio. Apresentou aspecto de pó e cor branca. Foram realizadas CCDs para analisar esta fração (Figura 45).

**Figura 45.** Cromatografias de Camada Delgada das frações 1D a 12D, reveladas com Anisaldeído.



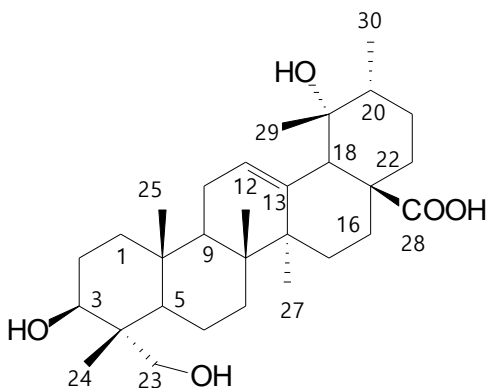
Fase móvel: Hexano:Acetona 60:40.

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Figura 48), apresentou sinais de hidrogênios metílicos entre 0,7 a 1,6 ppm, assim como um sinal característico de hidrogênio olefínico [ $\delta_{\text{H}}$  5,62 (s)]. Apresentou também, sinais característicos de hidrogênios oxigenados consistente com hidrogênio carbinólico em triterpenos [ $\delta_{\text{H}}$  4,20 (t), 4,18 (d) e 3,80 (d)] e vários sinais na região característica de hidrogênios metilênicos, permitindo sugerir uma estrutura triterpênica com esqueleto ursano (LEE et al., 2009).

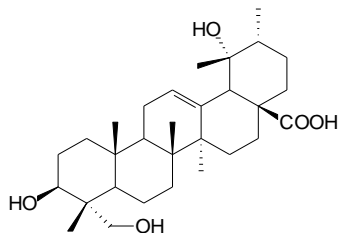
Os espectros de RMN  $^{13}\text{C}$ /DEPT/HSQC (Figuras 49, 50 e 51) apresentaram sinal de carbono de carbonila consistente com triterpenos ácidos [ $\delta_{\text{C}}$  181,05 (C28)], assim como sinais característicos de carbonos olefínicos [ $\delta_{\text{C}}$  128,39 (C12) e 140,32 (C13)]. Além disso, foi possível observar um sinal de carbono hidroximetínico [ $\delta_{\text{C}}$  73,80 (C3)], sinal de carbono hidroximetilênico [ $\delta_{\text{C}}$  25,02 (C27)] e um sinal correspondente a carbono carbinólico terciário [ $\delta_{\text{C}}$  73,02 (C19)], permitindo assim, confirmar o esqueleto triterpênico ursano que sugerem, de acordo com dados comparados com a literatura, ser o ácido rotúndico (CHENG et al., 2004; CHENG et al., 2010).

A Figura 46 ilustra a estrutura química do composto 10D. A Figura 47 exibe as estruturas químicas dos compostos isolados 10D, 25E, ácidos rotungênico, rotúndico, cinchólico, pomólico e as Tabelas 8 e 9, apresentam seus respectivos deslocamentos químicos a fim de comparação.

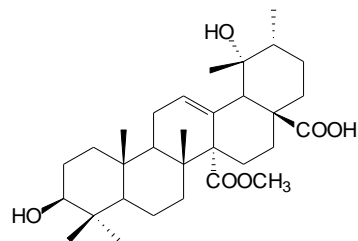
**Figura 46.** Estrutura química do composto 10D (ácido rotúndico) isolado das cascas do fruto de *M. balata*.



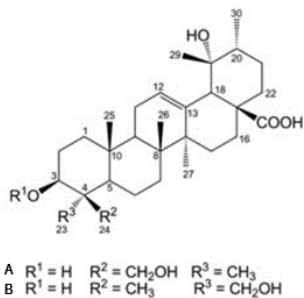
**Figura 47.** Estruturas químicas dos compostos isolados 10D, 25E, ácidos rotungênico, rotúndico, cinchólico e pomólico.



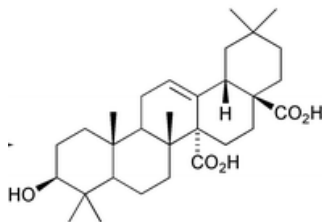
*Composto 10D (Ácido rotúndico)*



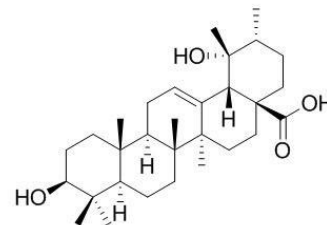
*Composto 25E*



*Ácidos rotungênico (A) e rotúndico (B)*



*Ácido cinchólico*



*Ácido pomólico*

**Tabela 8.** Comparação dos deslocamentos químicos das substâncias: 10D, ácidos, rotungênico e rotúndico. (continua...)

N°	10D (C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N)			Ácido rotungênico (C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N)	Ácido rotúndico (CD <sub>3</sub> OD)	
	δH	δC	δH¥	δC¥	δH¥	δC¥
1	1,60	39,18	0,96; 1,53	39,2	1,66; 1,77	39,1
2	2,09	28,01	1,89; 2,05	28,9	1,28; 1,58	27,41
3	4,20	73,80	3,64 dd (11,5; 3,5)	80,7	3,64 dd (11,5; 4,5)	74,1
4	----	42,47	----	43,6	----	43,3
5	1,52	48,95	1,00	56,9	1,20	48,7
6	1,70	19,06	1,38; 1,71	19,7	1,47	19,3
7	1,60	33,61	1,38; 1,62	34,4	1,32; 1,68	33,7
8	----	42,47	----	40,8	----	41,0
9	1,95 m	48,13	1,84	48,3	1,77	48,5
10	----	37,50	----	37,6	----	37,9
11	2,00; 1,40	24,35	1,96; 2,08	24,7	2,01; 1,21	24,7
12	5,62 s	128,39	5,62 brs	128,4	5,30 m	129,4
13	----	140,32	----	140,4	----	140,1
14	----	42,47	----	42,5	----	42,7
15	1,50	29,67	1,30; 2,33 m	29,8	1,01; 1,84	29,6
16	1,40	26,73	2,07; 3,15 m	26,9	1,58; 2,58 m	26,7
17	----	48,63	----	48,8	----	49,0
18	3,10	54,97	3,07 s	55,1	2,53 s	55,1
19	----	73,02	----	73,2	----	73,6
20	1,45	42,71	1,52	42,9	1,37	43,1
21	1,40	28,01	1,36; 1,55	27,4	1,37; 1,77	27,4
22	1,30	38,85	2,08; 2,19	39,0	1,03; 1,62	39,5

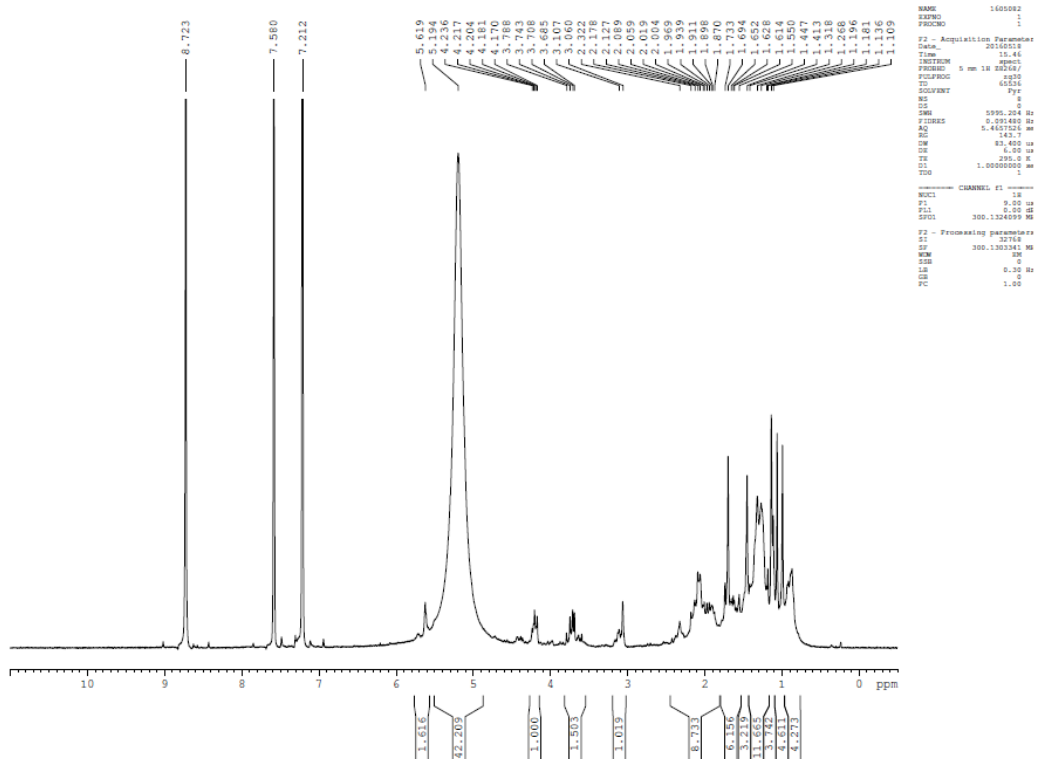


**Tabela 8.** Comparação dos deslocamentos químicos das substâncias: 10D, ácidos, rotungênico e rotúndico. (conclusão).

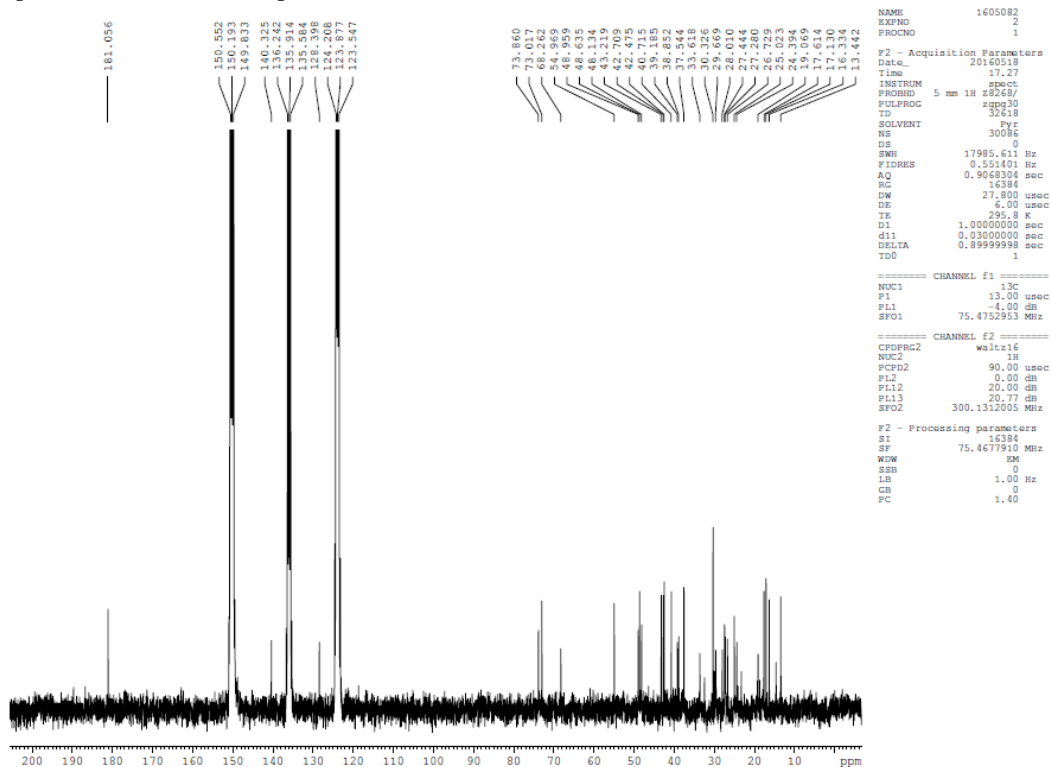
N°	10D (C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N)			Ácido rotungênico (C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N)	Ácido rotúndico (CD <sub>3</sub> OD)	
	δH	δC	δH¥	δC¥	δH¥	δC¥
23	4,18 – 3,80	68,26	1,56 s	24,1	3,57 d (12,0) 3,31	67,5
24	1,26 s	13,44	4,51 d (10,5); 3,68 d (10,5)	65,1	0,73 s	12,7
25	0,99 s	16,33	0,90 s	16,5	1,00 s	16,2
26	1,13 s	17,13	1,09 s	17,5	0,83 s	17,6
27	1,60	25,02	1,74 s	25,1	1,36 s	24,9
28	----	181,05	----	181,2	----	182,9
29	1,30	30,44	1,47 s	27,6	1,21 s	27,3
30	1,05	17,61	1,14 d (6,5)	17,3	0,95 d (6,0)	16,6

¥ NGUYEN et al., 2017; \* LEE et al., 2009; # CHENG et al., 2010; + CHENG et al., 2004.

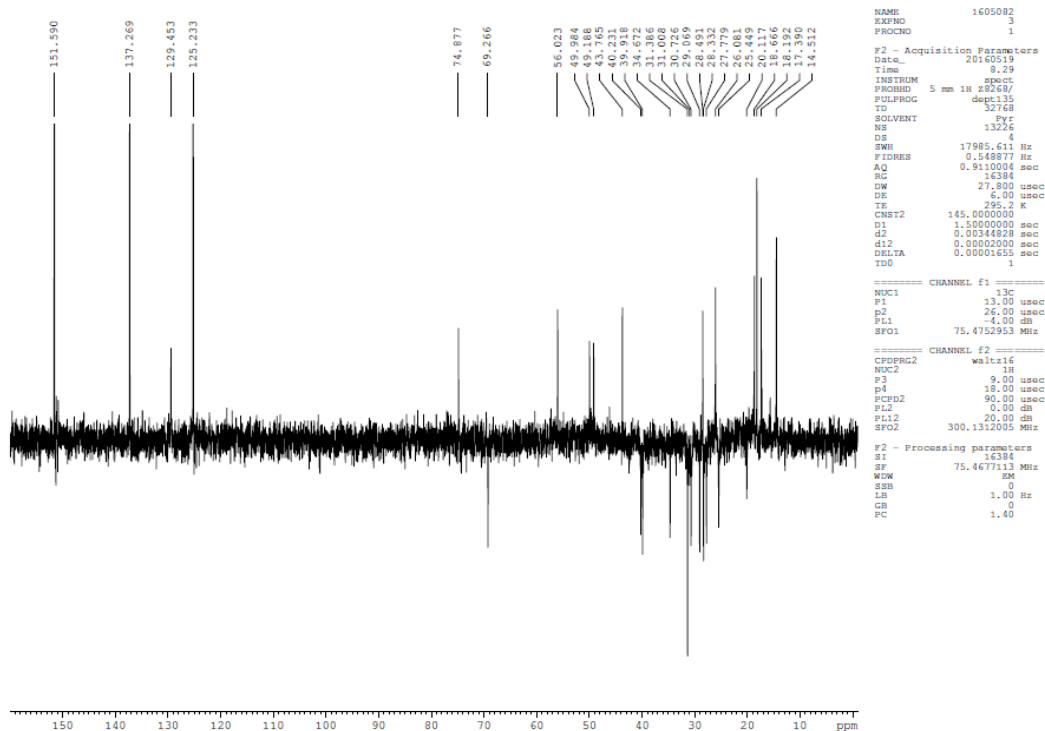
**Figura 48.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto 10D isolado das cascas do fruto de *M. balata* (solvente  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ).



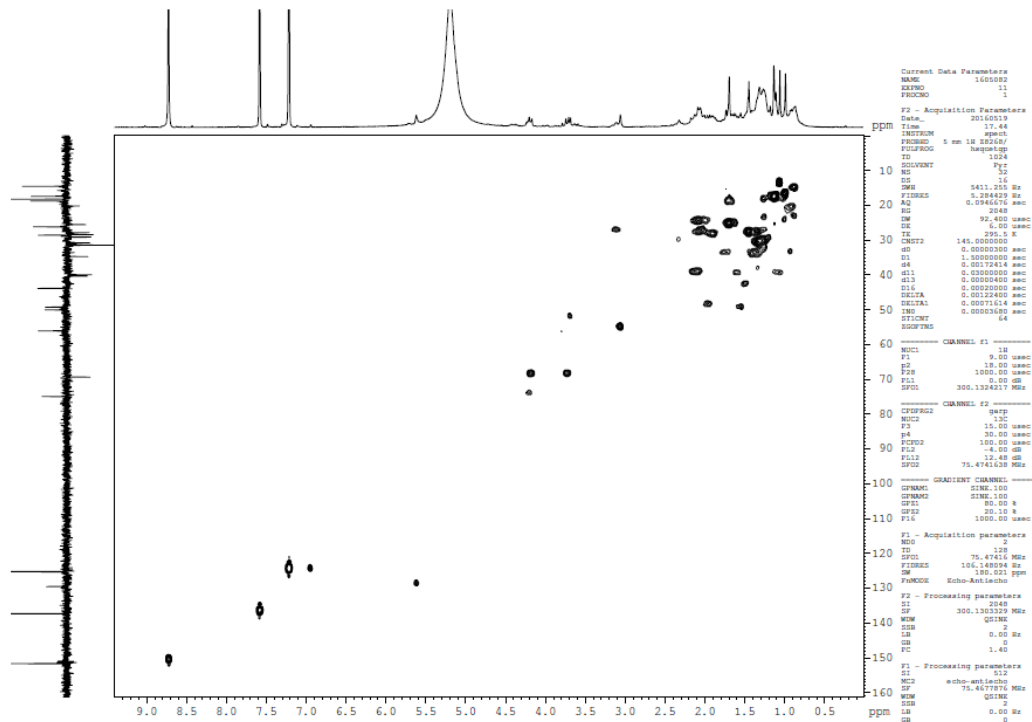
**Figura 49.** Espectro RMN  $^{13}\text{C}$  do composto 10D isolado das cascas do fruto de *M. balata* (solvente  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ).



**Figura 50.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}/\text{DEPT}$  do composto 10D isolado das cascas do fruto de *M. balata*, em em piridina deuterada ( $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ).



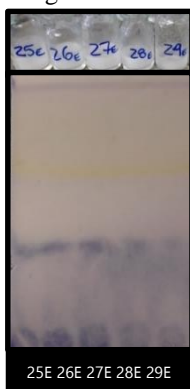
**Figura 51.** Mapa de contorno HSQC do composto 10D isolado das cascas do fruto de *M. balata*, em em piridina deuterada ( $C_5D_5N$ ).



### 5.2.3 Fração diclorometano: análise do composto 25E

O composto 25E-29E foi isolado (16mg) da FDCMC, com solubilidade em clorofórmio. Apresentou aspecto sólido, tornando-se pó com facilidade e de cor branca. Foram realizadas CCDs para análises das frações provenientes da CC-FDCMC (Figura 52).

**Figura 52.** Frações 25E a 29E e respectiva Cromatografia de Camada Delgada revelada com Anisaldeído.



Fase móvel: Hexano:Acetona 70:30.

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Figura 54) apresentou sinais de hidrogênios metílicos entre 0,7 a 1,6 ppm, assim como um sinal característico de hidrogênio olefínico [ $\delta\text{H}$  5,38 (s)]. Apresentou vários sinais na região característica de hidrogênios metilênicos, permitindo sugerir uma estrutura triterpênica com esqueleto ursano (LEE et al., 2009).

Os espectros de RMN  $^{13}\text{C}/\text{DEPT}/\text{HSQC}$  (Figuras 55, 56 e 57) apresentaram dois sinais de carbono de carbonila consistente com triterpenos ácidos [ $\delta\text{C}$  178,76 (C27) e 183,72 (C28)], assim como sinais característicos de carbonos olefínicos [ $\delta\text{C}$  129,32 (C12) e 137,11 (C13)]. Além disso, foi possível observar um sinal de carbono hidroximetínico [ $\delta\text{C}$  73,34 (C3)] e um sinal correspondente a carbono carbinólico terciário [ $\delta\text{C}$  73,13 (C19)], permitindo assim, confirmar a o esqueleto triterpênico ursano (Tabela 9) (CHENG et al., 2004; CHENG et al., 2010).

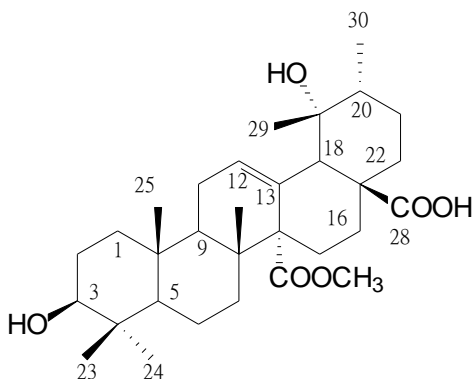
Os sinais observados nos espectros de RMN  $^1\text{H}$  e RMN  $^{13}\text{C}$  demonstraram que o composto 25E se trata de dois triterpenos ácidos de

estruturas complexas, com similaridade de deslocamentos químicos aos ácidos cinchólico e pomólico, que serão elucidados oportunamente.

A Figura 53 exibe a estrutura química do composto 25E. Corroborando com a presente pesquisa, Almeida e colaboradores (2015) identificaram na fração acetato de etila das folhas frescas de *M. subsericea*, os compostos: miricetina, quercetina, kaempferol e ácido pomólico. Além disso, sugeriram que o ácido pomólico foi o principal constituinte da fração acetato de etila das folhas de *M. subsericea*. Este triterpeno é estruturalmente relacionado ao AU e já foi encontrado na família Sapotaceae (LEE et al., 2005) e no gênero *Manilkara/Mimusops* (AHMED; IFZAL; USMANGHANI, 2001; FAYEK et al., 2013; JAHAN; AHMAD; MALIK, 1996; MISRA; NIGAM; MITRA; 1969; RHOURRI-FRIH et al., 2013).

Um estudo realizou a investigação fitoquímica das sementes de *M. balata*. Foi utilizado o método de cromatografia gasosa/espectrometria de massas (CG/EM) dos extratos de hexano, clorofórmio, acetato de etila, etanol e metanol, totalizando 39 componentes: 2,6,10,14,18-pentametil-2,6,10,14,18-eicosapentaeno, ácido 9-octadecenóico, (Z)-2,3-di-hidroxipropil ester, (Z)-oleato de etila, Z, E-2-metil-3,13-octadecadien-1-ol e 5-(hidroximetil)-2-furancarboxialdeído (POWDER-GEORGE; MOHAMMED, 2018).

**Figura 53.** Estrutura química do composto 25E isolado das cascas do fruto de *M. balata*.



**Tabela 9.** Comparação dos deslocamentos químicos das substâncias: composto 25E, ácidos pomólico e cinchólico.

(continua...)					
N°	25E (CDCl <sub>3</sub> )		Ácido pomólico (C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N)		Ácido cinchólico (C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N)
	δH	δC	δH*	δC#	δC+
1	1,87	40,18	----	39,4	39,8
2	2,53 – 1,63	25,43	----	28,1	25,7
3	3,73	73,34	3,60 s	78,2	78,6
4	----	39,48	----	39,4	39,9
5	2,53	52,82	----	55,9	56,4
6	----	19,15	----	18,9	19,5
7	1,45 – 1,31	34,42	----	33,6	38,2
8	----	41,85	----	40,3	40,6
9	1,90	47,43	----	47,8	48,4
10	----	36,52	----	37,3	38,0
11	1,65	24,50	----	24,0	24,2
12	5,37	129,32	5,61 t	128,0	126,7
13	----	137,11	----	140,0	138,8
14	----	51,67	----	42,1	57,3
15	1,66	25,98	----	29,3	26,1
16	1,68 – 1,03	28,03	----	26,4	25,6
17	----	47,43	----	48,4	48,3
18	1,96	45,99	3,06 s	53,5	45,0
19	----	73,13	----	72,7	44,8
20	1,41	41,08	----	39,4	31,5

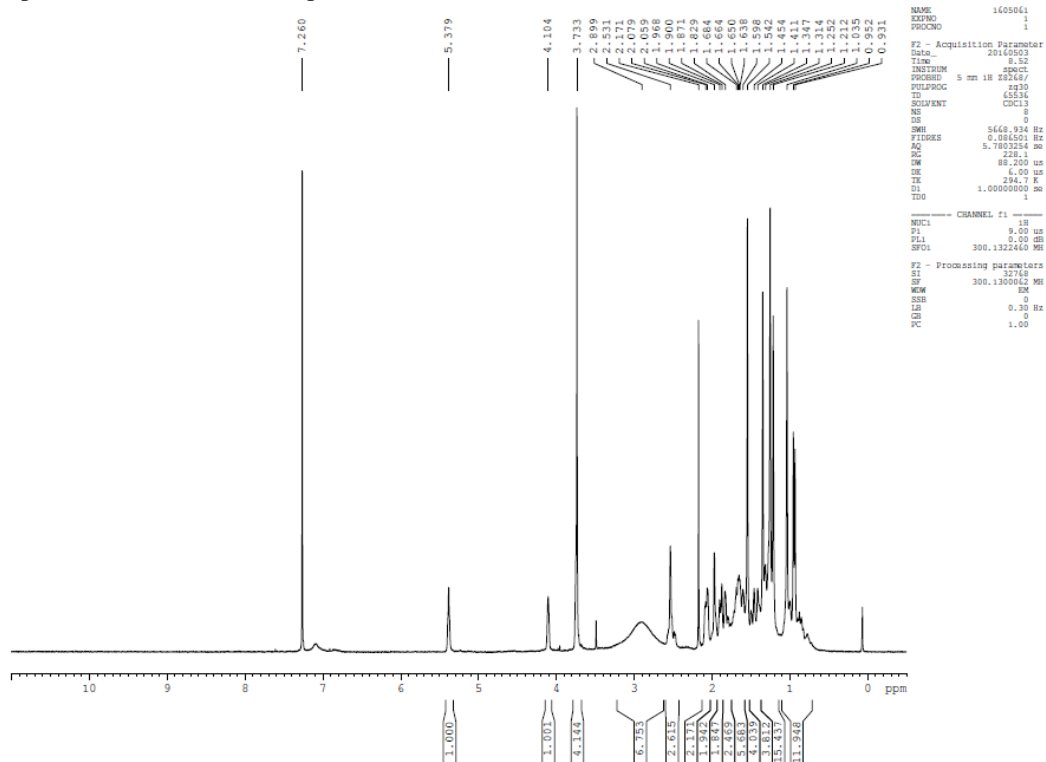


**Tabela 9.** Comparação dos deslocamentos químicos das substâncias: composto 25E, ácidos pomólico e cinchólico.

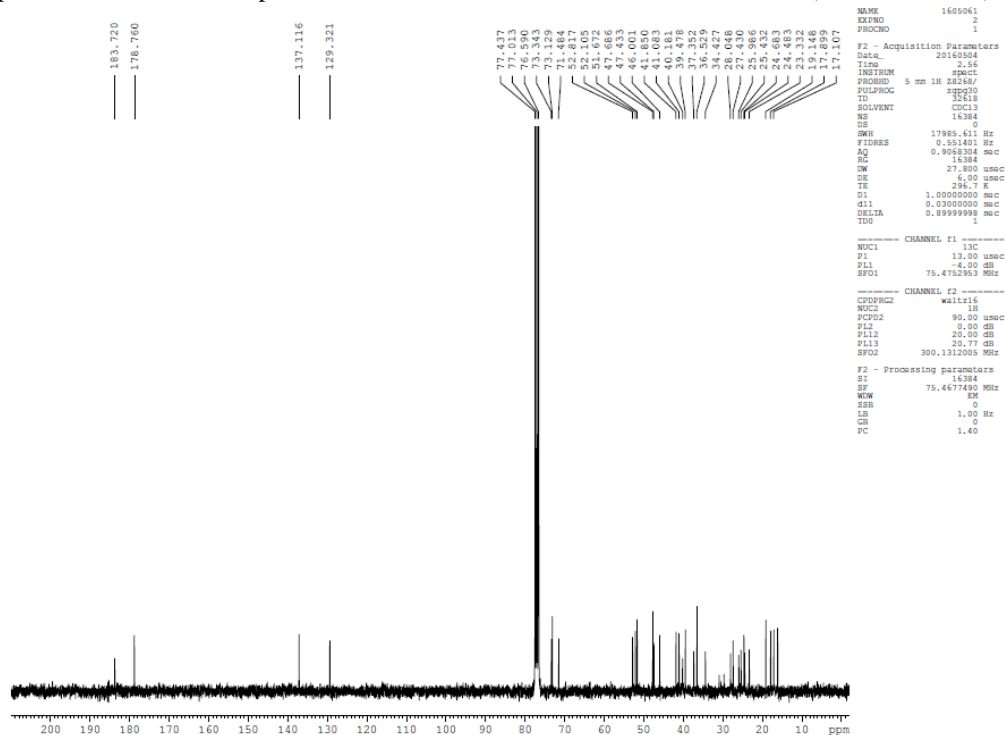
(conclusão).

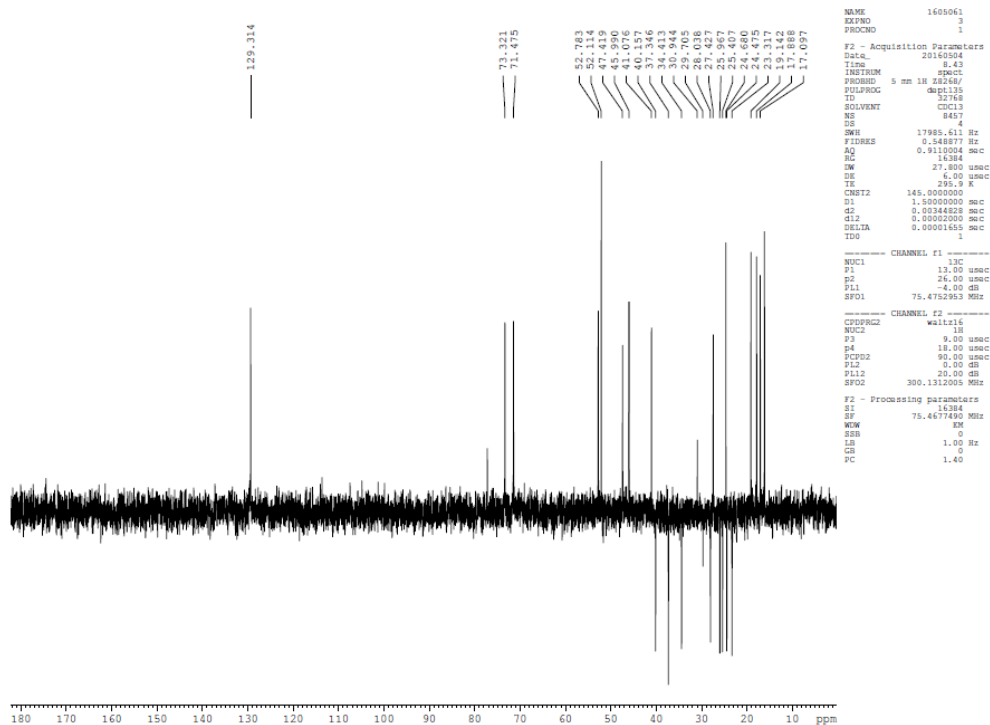
N°	25E (CDCl <sub>3</sub> )		Ácido pomólico (C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N)	Ácido cinchólico (C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N)	
	δH	δC	δH*	δC#	δC+
21	2,53 – 1,63	34,42	----	31,0	34,8
22	1,82 – 1,68	37,35	----	37,4	31,5
23	1,21	27,42	1,12	29,3	28,8
			s		
24	1,34	17,10	----	17,7	17,1
25	1,03	17,90	1,23s	16,9	17,2
26	1,54	19,14	----	17,5	19,5
27	----	178,76	1,45	23,9	179,0
			s		
28	----	183,72	----	180,0	180,8
29	1,25	24,70	1,73	21,4	33,8
			s		
30	0,95 – 0,93	16,10	1,11	17,4	24,0
			d		
COOCH <sub>3</sub>	<b>3,73 s</b>	<b>52,10</b>	----	----	----

¥ NGUYEN et al., 2017; \* LEE et al., 2009; # CHENG et al., 2010; + CHENG et al., 2004.

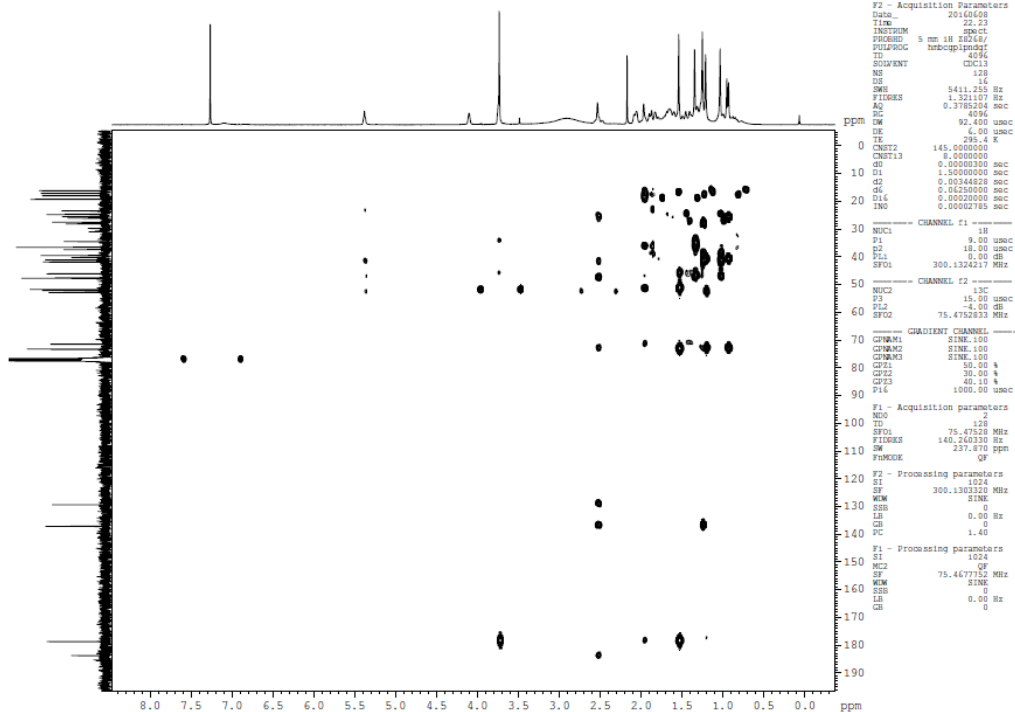
**Figura 54.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto 25E isolado das cascas do fruto de *M. balata* (solvente  $\text{CDCl}_3$ ).

**Figura 55.** Espectro RMN  $^{13}\text{C}$  do composto 25E isolado das cascas do fruto de *M. balata* (solvente  $\text{CDCl}_3$ ).





**Figura 57.** Mapa de contorno HMBC do composto 25E isolado das cascas do fruto de *M. balata*, em clorofórmio deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ).



### 5.3 Atividade antimicrobiana

Para avaliação da atividade antibacteriana, levou-se em consideração os critérios estabelecidos por Holetz e colaboradores (2002): amostras que apresentaram valores de CIM menores que 10 µg/mL foram considerados com atividade antibacteriana excelente; valores entre 10 e 100 µg/mL foram considerados bons; valores entre 100 e 500 µg/mL foram considerados de atividade moderada; valores entre 500 e 1000 µg/mL de atividade fraca, e para valores de CIM acima de 1000 µg/mL as amostras foram considerados inativas. Os compostos isolados foram considerados inativos com valores de CIM acima de 100 µg/mL.

A classe mollicutes representa um grupo de bactérias sem parede celular com genoma reduzido com capacidades metabólicas limitadas. Como consequência da redução do genoma e aquisição de genes por meio da transferência genética horizontal, mollicutes adquiriram um estilo de vida parasítico com capacidade de colonizar vasta diversidade de hospedeiros, por diversos mecanismos de virulência (RENAUDIN; BRETON; CITTI, 2014).

As bactérias são divididas de acordo com a estrutura da parede celular. As Gram-negativas possuem uma dupla camada: sendo uma fina camada de peptidoglicano entre a membrana citoplasmática e o exterior da membrana, com isso possuem parede celular mais complexa enquanto as Gram-positivas não possuem a camada externa, mas também possuem uma espessa camada de peptidoglicano (MONTEIRO, 2017; RIMOLI, 2015).

O *Staphylococcus aureus* é uma bactéria naturalmente presente na microbiota humana e pertence ao grupo dos cocos gram-positivos, anaeróbios facultativos e mesófilos. Pode ocasionar infecções simples ou enfermidades mais graves como pneumonia, meningite, endocardite entre outras. Os processos de contaminação geralmente ocorrem devido à falta de higiene na manipulação e armazenamento, de alimentos, mais comumente em leite e derivados. *S. aureus* possuem a capacidade de produzir enterotoxinas e biofilmes, ocasionando grave problema na indústria alimentícia devido à sua resistência (DOS SANTOS et al., 2007; FAGUNDES; OLIVEIRA, 2004; GUTIÉRREZ et al., 2012; MONTEIRO, 2017).

Bactérias do gênero *Bacillus spp.* se destacam pela capacidade de formar endósporo e apresentar uma multiplicidade de mecanismos antagônicos. Sendo assim, possui grande versatilidade nos mecanismos de ação para driblar as defesas dos fitopatógenos, ocupando diferentes

ambientes (FILHO; FERRO; DE PINHO, 2010; SILVA, 2017). O *Bacillus subtilis* é um bastonete Gram-positivo, aeróbio facultativo, não patogênico, produtor de ácido acético, formador de esporos. Devido esta capacidade de esporular, garante maior sobrevivência durante o trânsito ruminal. Ainda, multiplicam-se em taxa mais ágil do que o peristaltismo frequente dos conteúdos ruminal e intestinal (DJOUVINOV; TODOROV, 1994; GARCIA, 2008; HOA et al., 2000; MAZZA, 1994).

*Escherichia coli* são bacilos Gram-negativos não esporulados, com habilidade de fermentar glicose resultando em produção de ácido e gás. Fazem parte da flora intestinal de animais de sangue quente. A presença dessa bactéria em alimentos indica que ocorreu contaminação de origem fecal ou por contato de superfícies com condições sanitárias inadequadas (FRANCO, 2008; MONTEIRO, 2017; TRABULSI et al., 2002).

5.3.1 *M. bimucronata*

A Tabela 10 contempla os resultados obtidos do extrato metanólico bruto das folhas e frações de *M. bimucronata* foi testado contra as cepas.

**Tabela 10.** Atividade antibacteriana de extrato metanólico bruto das folhas e frações de *M. bimucronata*.

	ESPÉCIES BACTERIANAS - CIM <sup>a</sup> (µg/mL)				
	<i>M. hominis</i>	<i>M. capricolum</i>	<i>M. mycoides</i>	<i>M. pneumoniae</i> FH	<i>M. genitalium</i>
<b>EMBF</b>	1000	500	500	500	500
<b>FDCMF</b>	500	250	125	250	250
<b>FAEF</b>	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000
<b>Azitromicina<sup>b</sup></b>	2	2	2	2	2

<sup>a</sup>CIM: concentração mínima inibitória

<sup>b</sup>Azitromicina: controle positivo

O EBMF apresentou CIM=500 µg/mL para *M. genitalium*, *M. capricolum*, *M. mycoides* e *M. pneumoniae* FH e *M. pneumoniae* 129. A FAEF não exibiu atividade antimolécute para as classes testadas.

A FDCMF foi a que melhor inibiu as cepas, exibindo CIM=500 µg/mL para *M. hominis*, 250 µg/mL para *M. capricolum*, *M. genitalium*, *M. pneumoniae* FH e *M. pneumoniae* 129 e CIM=125 µg/mL para *M. mycoides*. Destaca-se que são os compostos mais apolares presentes no extrato que possuem melhor atividade contra as cepas testadas.

De acordo com a pesquisa de Bonifácio e colaboradores (2016), o AG demonstrou eficaz atividade antimicrobiana contra as cepas de *S. aureus* (CIM = 187,5 µg/mL), *S. epidermides* (CIM = 46,87 µg/mL), *E.coli* (CIM = 750 µg/mL) e *P. aeruginosa* (CIM=750 µg/mL).

A Tabela 11 exibe os resultados do experimento realizado com o extrato metabólico bruto das folhas e frações de *Mimosa bimucronata*. As amostras não exibiram atividade eficiente contra os micro-organismos testados.

**Tabela 2.** Atividade antimicrobiana do extrato metabólico bruto das folhas e frações de *M. bimucronata* contra as bactérias *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e o fungo *Candida albicans*.

Material testado	Concentração Inibitória Mínima (µg/ml)			
	<i>B. subtilis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>C. albicans</i>
<b>EMBF</b>	>1000	>1000	>1000	>1000
<b>FDCMF</b>	>1000	>1000	>1000	>1000
<b>FAEF</b>	>1000	>1000	>1000	>1000

*Candida albicans* é um fungo diplóide e assexual que produz blastoconídeos, pseudohifas e hifas semelhantes ao micélio dos ascomicetos exibindo septos com apenas um poro simples (COSTA, 2015; KLIS et al., 2009; MCCULLOUGH; SAVAGE, 2005).

É uma levedura patógena que causa a candidíase, uma infecção fúngica oportunista mais comum atualmente, é uma das mais frequentes em ambiente hospitalar, incluindo aquelas que ocorrem em sítios cirúrgicos, do trato urinário e do sangue. Isso ocorre principalmente devido à onipresença das espécies de *Candida*, bem como ao aumento do número de indivíduos com fatores de risco para o desenvolvimento da infecção (FERREIRA, 2016; PEIXOTO et al., 2014).



No estudo de De Paula e colaboradores (2011), o AG, acido elágico e quercitrina contribuíram a ação frente à maioria das cepas fúngicas.

Neste sentido, a Tabela 12 demonstra que a FAEF foi eficiente contra *Candida albicans* ATCC10231. Ressalta-se que contra estes fungos, os compostos mais polares foram mais efetivos.

**Tabela 12.** Atividade antifúngica do extrato metabólico bruto das folhas e frações de *M. bimucronata* contra *Candida albicans* ATCC10231 em diferentes doses.

<i>Candida albicans</i> ATCC10231				
<i>Amostr</i> <i>s</i>	CIM <sub>50</sub> (µg/mL )	CIM <sub>90</sub> (µg/mL )	CIM <sub>100</sub> (µg/mL )	CFM(µg/mL )
EMBF	250	500	>500	>500
FDCMF	>500	>500	>500	>500
FAEF	140,6	187,5	500	>500

Os valores foram determinados às 24h, usando o protocolo M27-A3 do Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI). CIM50: menor concentração de fármaco que impediu 50% de crescimento em relação ao controle não tratado; CIM90: menor concentração de fármaco que impediu 90% de crescimento em relação ao controle não tratado; CIM100: menor concentração de fármaco que impediu 100% de crescimento com. em relação ao controle não tratado. CFM: concentração fungicida mínima. Os resultados foram expressos como mediana.

A FAEF apresentou eficácia contra *Candida albicans* ATCC10231 (140,6 µg/mL e 187,5 µg/mL). A CIM é a concentração mínima de um antimicrobiano necessária para inibir o crescimento de um microrganismo alvo. A CIM<sub>50</sub>, que requer testar pelo menos 100 isolados, fornece a CIM, que inibe 50% de seus isolados, enquanto a CIM<sub>90</sub> fornece a CIM que inibe 90% dos isolados da espécie testados. A CIM<sub>50</sub> fornece a chamada “atividade intrínseca” de um antimicrobiano, enquanto a CIM<sub>90</sub> é um reflexo de diferentes mecanismos de resistência das espécies sob investigação. O valor da CIM é valioso para discernir o desenvolvimento de resistência de cepas em uma população.

A avaliação da atividade antimicrobiana em espécies de *Mimosa* é pouco reportada na literatura. A espécie *Mimosa caesalpiniiifolia* foi avaliada por meio de extratos e frações de folhas, cascas, flores e raízes contra espécies de bactérias e fungos e, exibiu resultados eficazes, especialmente para os fungos *C. glabrata* e *C. krusei* da fração acetato de etila (SILVA, 2012; SILVA, 2016).

O extrato etanólico da casca do caule de jurema-preta (*Mimosa tenuiflora* (Wild) Poir. sinônimo *Mimosa hostilis* Benth.) foi avaliado contra linhagens de bactérias patogênicas. A pesquisa apontou a presença de taninos, compostos fenólicos e saponinas. A avaliação do extrato apresentou atividade antimicrobiana contra *E. coli*, *P. vulgaris*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *A. caviae* (BEZERRA et al., 2011). Além disso, foi comprovada a eficácia também contra a bactéria *K. pneumoniae* e a levedura *C. albicans* (CAVALCANTI; CORDEIRO, 2017).

A triagem fitoquímica preliminar dos extratos metanólico e aquoso das folhas de *Mimosa pudica* mostrou a presença de terpenoides, flavonoides, glicosídeos, alcaloides, quininos, fenóis, taninos, saponinas e cumarinas. Os resultados do ensaio antimicrobiano do extrato metanólico de *Mimosa pudica* constataram que a planta exibiu atividade antimicrobiana contra *K. pneumoniae* e *A. fumigatus* (GANDHIRAJA et al., 2009).

### 5.3.2 *M. balata*

A Tabela 13 exibe os resultados da atividade antibacteriana das cascas do fruto de *Mimosa balata* contra as cepas *M. hominis*, *M. capricolum*, *M. mycoides*, *M. pneumoniae* FH e *M. genitalium*.

**Tabela 3.** Atividade antibacteriana de extrato metanólico bruto das cascas do fruto e frações de *M. balata*.

	ESPÉCIES BACTERIANAS - CIM <sup>a</sup> (µg/mL)				
	<i>M. hominis</i>	<i>M. capricolum</i>	<i>M. mycoides</i>	<i>M. pneumoniae</i> FH	<i>M. genitalium</i>
<b>EMBC</b>	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000
<b>FDCMC</b>	250	250	125	250	250
<b>FAEC</b>	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000
<b>Azitromicina<sup>b</sup></b>	2	2	2	2	2

<sup>a</sup>CIM: concentração mínima inibitória

<sup>b</sup>Azitromicina: controle positivo

De acordo com os resultados obtidos, o EBMC e a FAEC não demonstraram atividade antimolécule para as classes testadas. Somente a FDCMC inibiu as cepas analisadas, exibindo CIM=250 µg/mL para *M. hominis*, *M. capricolum*, *M. genitalium*, *M. pneumoniae FH* e *M. pneumoniae* 129 e CIM=125 µg/mL para *M. mycoides* subsp. *Capri* (MMC) PG3 NCTC 10137 (Tabela 13). Ressalta-se que os compostos mais apolares foram responsáveis pelo efeito observado.

Ensaio para atividade antimicrobiana foram realizados com os extratos de acetato de etila da casca do caule e das folhas de *M. zapota*. A casca do caule exibiu atividade antimicrobiana contra todas as bactérias patogênicas testadas (*B. subtilis*, *B. megaterium*, *B. cereus*, *S. lutea*, *E. coli*, *S. sonnei*, *S. shiga*, *S. dysenteriae*, *S. typhi*) e contra os fungos *A. flavus*, *Vasianfactum sp* e *Fusarium sp*. O extrato das folhas apresentou atividade leve contra *B. subtilis*, *B. megaterium*, *S. lutea*, *E. coli* e *S. typhi*. As CIMs dos extratos variaram de 256 a 512 µg/mL (OSMAN et al., 2011a).

No estudo de Fernandes e colaboradores (2013), os extratos de folhas, caules e frutos de *M. subsericea* apresentaram atividade antimicrobiana contra *S. aureus*. Todos os extratos testados inibiram o crescimento bacteriano da cepa *S. aureus* com CIM de 250 µg/mL.

O AU exibiu atividade antimicrobiana frente as cepas de *S. aureus* (CIM = 25 µg/mL), *S. epidermidis* (CIM = 25 µg/mL), *E. coli* (CIM = 50 µg/mL), *P. aeruginosa* (CIM = 25 µg/mL). Ainda foi avaliado o potencial citotóxico *in vitro* (MTT) e queratinócitos humanos metabolicamente incompetentes, não tendo demonstrado citotoxicidade às células em uma concentração máxima de 50 µg/mL (COLOMBO, 2018).

Kumar e colaboradores (2014) verificaram que nano partículas de prata, sintetizadas a partir do extrato dos frutos de *M. elengi* apresentaram atividade antibacteriana contra *S. aureus* e *E. coli*, em concentrações que variaram de 20 µg/mL a 100 µg/mL. A atividade antimicrobiana dos galhos de *M. elengi* também foi constatada em outra pesquisa contra as cepas de *S. mutans* (JEBASHREE et al., 2011).

## 5.4 Atividade diurética

### 5.4.1 Efeito diurético, natriurético e caliurético do extrato e frações obtidos de *M. bimucronata* em ratos

O efeito diurético do extrato metanólico de *M. bimucronata* EMBF foi avaliado no modelo de ensaio de atividade diurética (ASTON, 1959; KAU; KEDDIE; ANDREWS, 1984) e está ilustrado na Figura 58A. Os ratos tratados com EMBF, nas doses de 30 e 100 mg/kg, mostraram um aumento significativo no volume urinário quando comparados com ratos do grupo controle (CT). O efeito diurético foi associado com níveis aumentados de  $\text{Na}^+$  e  $\text{K}^+$ , conforme mostrado na Tabela 14.

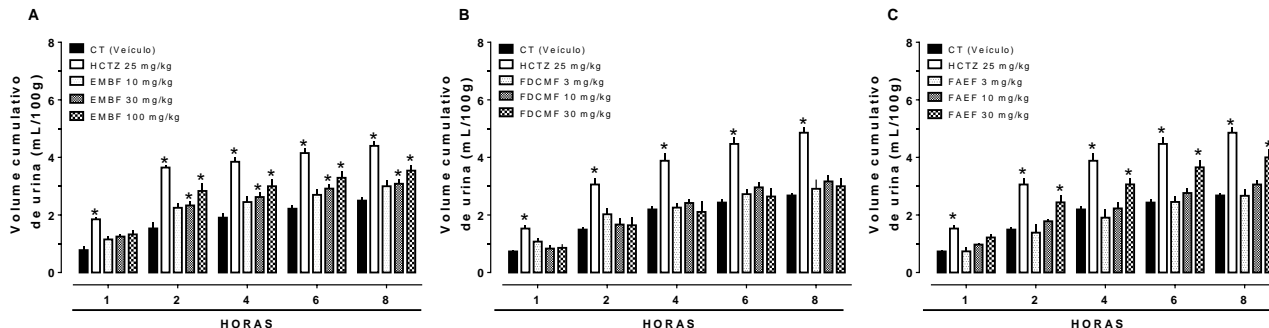
O volume cumulativo de urina também foi mensurado nos ratos tratados com frações de diclorometano (FDCMF) e de acetato de etila (FAEF). Somente a FAEF (na dose de 30 mg/kg), exibiu efeito diurético, natriurético e caliurético, conforme Tabela 14 e Figuras 58B e 58C. Em nenhum dos grupos houve alteração de valores de pH urinário (Tabela 14).

**Tabela 4.** Parâmetros urinários após 8 horas do tratamento oral com extratos e frações obtidos de folhas de *M. bimucronata*, em ratos normotensos.

Grupos	pH	Na <sup>+</sup> (mmol/L)	K <sup>+</sup> (mmol/L)	Índice salurético <sup>a</sup>	
				Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>
CT (veículo)	6,21 ± 0,21	95,16 ± 06,21	21,92 ± 1,45	-	-
HCTZ 10 mg/kg	6,96 ± 0,42	167,60 ± 09,86*	36,30 ± 2,23*	1,76	1,65
EMBF 10 mg/kg	6,74 ± 0,15	145,50 ± 04,59*	28,86 ± 2,07	1,52	1,31
EMBF 30 mg/kg	6,31 ± 0,10	148,30 ± 11,60*	26,30 ± 0,98	1,55	1,19
EMBF 100 mg/kg	7,01 ± 0,19	193,00 ± 10,07*	41,83 ± 4,00*	2,02	1,90
FDCMF 3 mg/kg	6,28 ± 0,05	108,30 ± 11,88	21,00 ± 6,38	1,13	0,95
FDCMF 10 mg/kg	6,47 ± 0,11	113,60 ± 16,03	30,30 ± 6,83	1,19	1,38
FDCMF 30 mg/kg	6,61 ± 0,30	125,00 ± 14,75	25,60 ± 4,61	1,31	1,16
FAEF 3 mg/kg	6,24 ± 0,16	105,60 ± 13,18	17,20 ± 2,64	1,10	0,78
FAEF 10 mg/kg	6,64 ± 0,25	122,50 ± 20,87	27,50 ± 1,83	1,28	1,25
FAEF 30 mg/kg	6,34 ± 0,37	180,00 ± 08,51*	33,13 ± 3,20*	1,89	1,51

O grupo controle (CT) recebeu veículo (1 mL/kg, v.o.). Resultados expressos em média ± SEM, de seis a oito animais em cada grupo. As análises estatísticas foram realizadas por meio de análise de variância (ANOVA) de uma via seguida pelo teste de comparações múltiplas de Dunnett. \*p<0,05 quando comparado com o grupo controle. <sup>a</sup>Índice salurético = mmol/L grupo de teste / mmol/L grupo CT (veículo). HCTZ = hidroclorotiazida; EMBF = extrato metanólico bruto das folhas de *M. bimucronata*; FDCMF = fração de diclorometano; FAEF = fração de acetato de etila.

**Figura 58.** Efeito diurético do extrato e frações obtidos de folhas de *M. bimucronata* em ratos normotensos. Volume de urina cumulativo de ratos normotensos tratados oralmente com (A) extrato metanólico bruto das folhas de *M. bimucronata* (EMBF), (B) fração diclorometano (FDCMF) e (C) fração acetato de etila (FAEF).

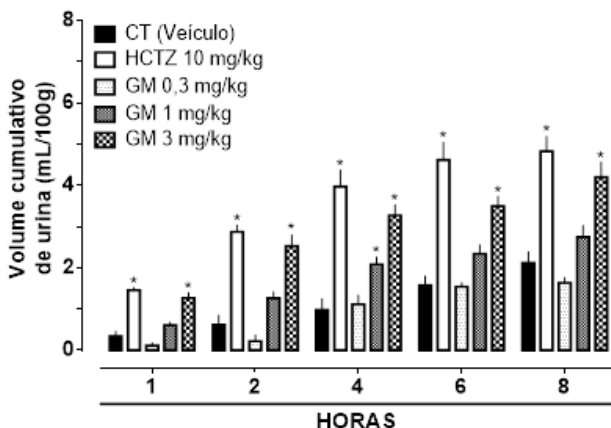


O grupo controle (CT) recebeu veículo (1 mL/kg, v.o.). Os valores da hidroclorotiazida (HCTZ) são apresentados para comparação. Resultados expressos como a média  $\pm$  SEM de seis a oito animais em cada grupo. As análises estatísticas foram realizadas por meio de análise de variância (ANOVA) de duas vias seguida pelo teste de comparações múltiplas de Dunnett. \* $p < 0,05$  quando comparado com o grupo controle.

#### 5.4.2 Efeitos diurético, natriurético e caliurético do galato de metila obtido de *M. bimucronata* em ratos

Após a caracterização química da fração que demonstrou efeito diurético e salurético (FAEF), determinou-se que o constituinte majoritário foi o composto fenólico GM. A Figura 59 demonstra que GM, na dose de 3 mg/kg, foi capaz de estimular a diurese em ratos normotensos.

**Figura 59.** Efeito diurético em ratos induzido pelo galato de metila isolado de *M. bimucronata*. Volume urinário cumulativo de galato de metila (GM), em ratos normotensos.



O grupo controle (CT) recebeu veículo (1 mL/kg, v.o.). Os valores da hidroclorotiazida (HCTZ) são apresentados para comparação. Resultados expressos como a média  $\pm$  SEM de seis a oito animais em cada grupo. As análises estatísticas foram realizadas por meio de análise de variância (ANOVA) de duas vias seguida pelo teste de comparações múltiplas de Dunnett. \* $p < 0,05$  quando comparado com o grupo controle.

O efeito diurético foi associado a valores aumentados dos níveis urinários de  $\text{Na}^+$  e  $\text{K}^+$ , e novamente, nenhum dos tratamentos modificou os valores de pH urinário, como descrito na Tabela 15.

**Tabela 5.** Efeito do tratamento prévio com L-NAME, indometacina e atropina em parâmetros urinários após 8 horas do tratamento oral com galato de metila isolado de *M. bimucronata*, em ratos normotensos.

Grupos	pH	Na <sup>+</sup> (mmol/L)	K <sup>+</sup> (mmol/L)	Índice salurético <sup>a</sup>	
				Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>
CT (veículo)	6,08 ± 0,05	84,55 ± 03,65	23,81 ± 1,37	-	-
HCTZ 10 mg/kg	6,64 ± 0,25	174,20 ± 11,54*	40,76 ± 1,50*	2,06	1,71
GM 0,3 mg/kg	6,37 ± 0,20	90,00 ± 06,89	20,50 ± 2,01	1,06	0,86
GM 1 mg/kg	6,71 ± 0,21	130,00 ± 17,32	28,17 ± 2,45	1,53	1,18
GM 3 mg/kg	6,46 ± 0,17	167,90 ± 12,74*	36,33 ± 2,14*	1,98	1,52
L-NAME (60 mg/kg)	6,32 ± 0,17	125,80 ± 05,83	30,50 ± 3,68	1,46	1,37
L-NAME + GM	6,03 ± 0,22	225,00 ± 34,42*	41,20 ± 2,41*	2,62	1,86
INDO (5 mg/kg)	7,02 ± 0,22	136,70 ± 07,92	31,83 ± 3,37	1,59	1,43
INDO + GM	6,44 ± 0,09	166,70 ± 13,33*	44,75 ± 0,25*	1,94	2,02
ATRO (1,5 mg/kg)	7,07 ± 0,12	129,00 ± 08,71	33,30 ± 4,02	1,50	1,50
ATRO + GM	6,17 ± 0,19	130,00 ± 15,81#	23,07 ± 2,07#	1,51	1,04



O grupo controle (CT) recebeu veículo (1 mL/kg, v.o.). Resultados expressos como a média  $\pm$  SEM de seis a oito animais em cada grupo. As análises estatísticas foram realizadas por meio de análise de variância de uma via (ANOVA) seguida pelo teste de comparações múltiplas de Dunnett. \* $p < 0,05$  quando comparado com o grupo controle. # $p < 0,05$  quando comparado com o grupo tratado com GM 3 mg/kg. <sup>a</sup>Índice salurético = mmol/L grupo de teste / mmol/L grupo CT (veículo). HCTZ = hidroclorotiazida; GM = galato de metila. L-NAME = N $\omega$ -Nitro-L-arginina metil ester hidrocloreto; INDO = indometacina; ATRO = atropina.

Coletivamente, estes resultados propõem que as preparações de *M. bimucronata* e seu composto majoritário GM apresentam efeito diurético e salurético quando administrados oralmente a ratos.

Embora os dados mostrem que tanto a fração EMBF quanto a FAEF foram capazes de estimular o aumento do volume urinário, quando administrados oralmente a ratos, observou-se que tal fato não foi identificado após o tratamento com a fração apolar das folhas de *M. bimucronata* (FDCMF).

Considerando que o composto fenólico GM foi isolado da fração acetato de etila, pode-se sugerir que grande parte dos efeitos diuréticos e saluréticos detectados tanto no EMBF quanto na FAEF podem ser atribuídos à presença desse constituinte.

Esses dados indicam que o fracionamento guiado pela atividade biológica permitiu a manutenção da resposta com o uso decrescente de doses. No entanto, não se deve descartar que outros compostos minoritários presentes no extrato, bem como na FAEF, também apresentem efeito diurético e salurético e, então, contribuam sinergicamente para as propriedades biológicas descritas neste estudo, o que ainda necessita ser investigado futuramente.

O GM, um metil éster do AG, é um composto fenólico vegetal bem estudado e muito conhecido devido às suas propriedades antioxidantes (ABOU-ZAID; LOMBARDO; NOZZOLILLO, 2009; CHO et al., 2003; WHANG et al., 2005). Além disso, outras atividades biológicas já demonstradas para o GM incluem a capacidade de reduzir a apoptose de cardiomiócitos de ratos (KHURANA et al., 2014), atividade antiagregante plaquetária (LIM et al., 2004), efeito anti-inflamatório sobre artrite experimental induzida por zimosan (CORREA et al., 2016) e efeito antibacteriano (NOUNDOU et al., 2016), entre outros.

Desta forma, como mostrado no presente estudo, demonstrou-se as ações diuréticas, natriuréticas e caliuréticas do GM em ratos normotensos (3 mg/kg), um efeito muito semelhante ao encontrado com tratamento com HCTZ (10 mg/kg), um diurético do tipo tiazídico de referência.

Os principais mecanismos envolvidos no efeito diurético causado pelo tratamento de GM também foram investigados. A Figura 60A e a Tabela 15, demonstram a ação da atropina, um antagonista não seletivo do receptor muscarínico de acetilcolina, a qual preveniu completamente a diurese,

natriurese e caliurese induzidas pelo GM. Este fato indica que a ativação dos receptores muscarínicos parece ser fundamental para os efeitos renais de GM.

Em contraste, como exibido na Figura 60B, o tratamento prévio com indometacina, um inibidor da enzima ciclo-oxigenase (COX) não exerceu influência no efeito diurético ou salurético da GM, sugerindo que a geração de prostanoídes endógenos pode não ser essencial para desencadear as ações deste composto.

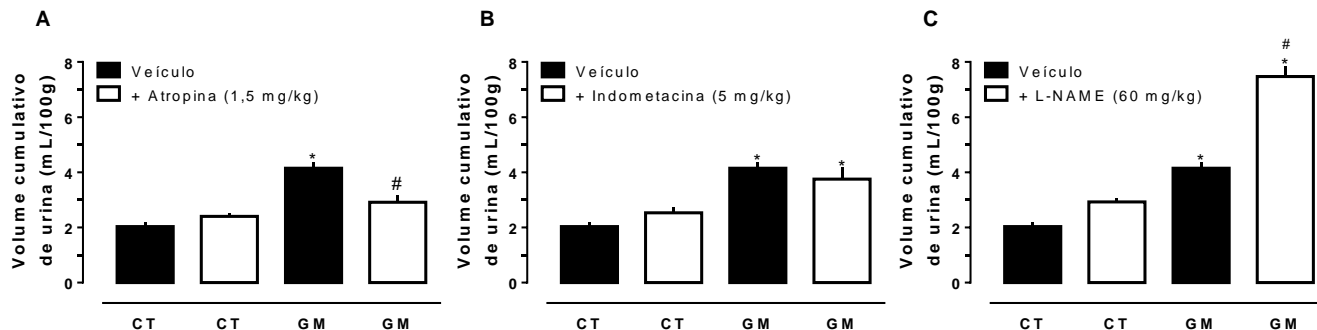
Por outro lado, o pré-tratamento com L-NAME, um inibidor não seletivo da enzima óxido nítrico sintase, aumentou significativamente a diurese induzida por GM, que também foi acompanhada por uma maior excreção urinária de  $\text{Na}^+$  (Figura 60C). É importante ressaltar que atropina, indometacina e L-NAME não foram capazes de ocasionar aumento no volume urinário no grupo tratado com veículo (grupo controle), assim como não causaram mudanças significativas na excreção urinária dos valores de  $\text{Na}^+$  e  $\text{K}^+$  ou pH.

Vários mediadores liberados no leito renal desempenham um papel importante na regulação do calibre das artérias por meio de agentes vasoconstritores e vasodilatadores. As ações vasodilatadoras em particular, auxiliam na manutenção de um fluxo sanguíneo sustentado através dos vasos renais e assim, aumentam a taxa de filtração glomerular. Os principais agentes vasodilatadores estudados incluem os prostanoídes produzidos pela enzima COX e o óxido nítrico liberado pelas diferentes isoformas da enzima óxido nítrico sintase (BREYER; BREYER, 2001; KIM et al., 2009; MOUNT; POWER, 2006; STICHTENOTH; FROLICH, 2000).

Além disso, a ativação de receptores muscarínicos por acetilcolina induz vasodilatação e aumenta o fluxo sanguíneo renal (WIEREMA et al., 1997). Portanto, os receptores muscarínicos de acetilcolina parecem desempenhar um papel importante no desencadeamento dos efeitos renais do GM, sendo que o pré-tratamento com atropina impediu completamente seus efeitos diuréticos e saluréticos.

Por outro lado, enquanto a indometacina era totalmente inerte aos efeitos do GM, o L-NAME foi capaz de amplificar seu efeito diurético. Esse dado corrobora com achados anteriores com outro flavonoide e com a HCTZ, que apresentou resultados semelhantes quando administrados a animais pré-tratados com L-NAME (DE SOUZA et al., 2017a).

**Figura 60.** Efeito do bloqueio do receptor muscarínico e inibição do óxido nítrico sintase e da ciclo-oxigenase na diurese estimulada pelo galato de metila. Diferentes grupos de ratos normotensos foram tratados com galato de metila (3 mg/kg) ou veículo (controle; 1 ml/kg) com ou sem tratamento prévio com (A) antagonista do receptor muscarínico não seletivo (atropina; 1,5 mg/kg), (B) inibidor da ciclo-oxigenase (indometacina; 5 mg/kg) ou (C) inibidor não-seletivo da enzima óxido nítrico sintase (L-NAME; 60 mg/kg).



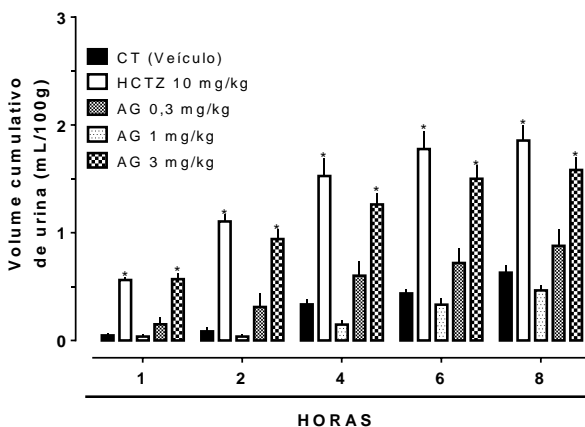
Resultados expressos como a média  $\pm$  SEM de cinco a seis animais em cada grupo. As análises estatísticas foram realizadas por meio de análise de variância (ANOVA) de uma via seguida pelo teste de comparações múltiplas de Dunnett. \* $p < 0,05$  quando comparado com o grupo controle (tratado apenas com veículo). # $p < 0,05$  quando comparado com o grupo tratado com galato de metila. L-NAME = N $\omega$ -Nitro-L-arginina metil ester hidrocloreto.

No entanto, devido à conhecida capacidade antioxidante do GM, existe uma possibilidade acentuada de que ele possa aumentar a biodisponibilidade do óxido nítrico em condições patológicas, nas quais ele é reduzido (sob um intenso estresse oxidativo), por exemplo, na hipertensão, hipótese esta que permanece por ser avaliada em estudos futuros.

#### 5.4.3 Efeito diurético e natriurético do ácido gálico obtido de *M. bimucronata* em ratos

Uma triagem inicial foi realizada para determinar se o AG possuía efeito diurético em ratos nas doses de 0,3 a 3 mg/kg. Como demonstrado na Figura 61, o AG na dose de 3 mg/kg, foi capaz de aumentar eficientemente o volume urinário quando administrado oralmente a ratos, semelhante à referência clínica do diurético do tipo tiazídico HCTZ (usada tanto como controle positivo quanto como controle interno dos experimentos).

**Figura 61.** Volume cumulativo de urina de ratos tratados com ácido gálico (0,3-3 mg/kg).



O grupo controle (CT) recebeu veículo (1 mL/kg, v.o.). Os valores da hidroclorotiazida (HCTZ) são apresentados para comparação. Resultados expressos como a média  $\pm$  SEM de seis a oito animais em cada grupo. As análises estatísticas foram realizadas por meio de análise de variância (ANOVA) de duas vias seguida pelo teste de comparações múltiplas de Dunnett. \* $p < 0,05$  quando comparado com o grupo controle (tratado apenas com veículo). AG = ácido gálico.

Além disso, os dados apresentados na Tabela 16, mostram que o tratamento com AG também promoveu aumento da excreção urinária de  $\text{Na}^+$  sem alterar os níveis de  $\text{K}^+$ , o que é particularmente interessante, pois mostra que o composto é diurético e salurético, mas não possui efeito caliurético. Os valores do pH urinário não foram alterados por nenhum dos tratamentos.

Como tentativa de elucidar o principal modo de ação na diurese e salurese induzida pelo AG, em seguida exploramos o papel de óxido nítrico, receptores muscarínicos de acetilcolina e geração de prostanoídes endógenos.

Assim, diferentes grupos de ratos foram pré-tratados com L-NAME, atropina e indometacina e depois foram dadas AG ou apenas veículo, como mostrado na Figura 61. O pré-tratamento com L-NAME, um inibidor não-seletivo da enzima óxido nítrico sintase, foi capaz de intensificar o efeito diurético do AG (Figura 62A).

Com o uso de atropina, uma droga que age bloqueando não-seletivamente os receptores muscarínicos de acetilcolina, também não foi detectado atenuação na quantidade de urina excretada ao final de oito horas (Figura 62B), sugerindo que a ativação dos receptores muscarínicos provavelmente não é fundamental para o efeito diurético do AG.

Por outro lado, o pré-tratamento com indometacina, um inibidor não-seletivo da ciclo-oxigenase, preveniu totalmente a diurese (Figura 62C) e salurese (Tabela 16) induzida pelo AG, sugerindo que a geração de prostanoídes endógenos parece ser importante para que o AG exerça seu efeito diurético. O AG foi capaz de induzir um efeito diurético e salurético sustentado, mas não caliurético, quando comparado com o grupo tratado com veículo.

Considerando-se que os distúrbios eletrolíticos, especialmente aqueles relacionados a uma perda excessiva de potássio, são um dos principais efeitos colaterais associados aos diuréticos das classes tiazídica e de alça (LEGROUX-GEROT et al. 2004; SARAFIDIS et al. 2010a; SARAFIDIS et al. 2010b; SINGH et al., 2014), esse resultado sugere um potencial para futuras investigações, seja com essa molécula administrada isoladamente ou em combinação com outras drogas.

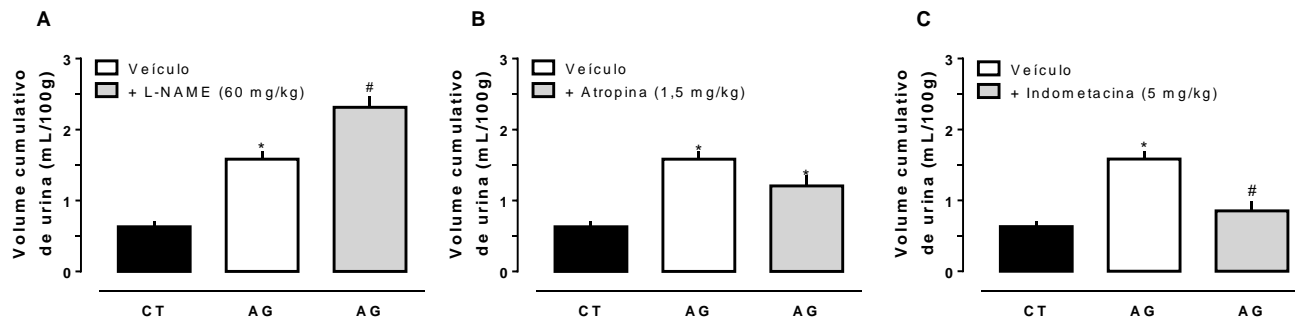
Diuréticos são classificados de acordo com o seu modo de ação ao longo do néfron, o que lhes permite ter efeitos únicos sobre o organismo (FERRARI; FREY, 2000; WARGO; BANTA, 2009). Eles atuam reduzindo a reabsorção de sódio em diferentes locais no néfron, aumentando assim a excreção urinária de sódio e água.

**Tabela 6.** Parâmetros urinários após 8 horas do tratamento oral com ácido gálico isolado de *M. bimucronata*, em ratos normotensos.

Grupos	pH	Na <sup>+</sup> (mmol/L)	K <sup>+</sup> (mmol/L)	Índice salurético <sup>a</sup>	
				Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>
CT (veículo)	6,80 ± 0,12	71,25 ± 11,94	23,74 ± 1,90	-	-
HCTZ 10 mg/kg	6,93 ± 0,15	168,20 ± 10,25*	40,76 ± 1,50*	2,36	1,71
AG 0,3 mg/kg	6,74 ± 0,15	84,69 ± 10,50	26,85 ± 3,39	1,18	1,13
AG 1 mg/kg	6,37 ± 0,20	84,44 ± 08,14	29,19 ± 4,52	1,18	1,22
AG 3 mg/kg	7,23 ± 0,23	122,80 ± 14,44*	28,18 ± 3,22	1,72	1,18
L-NAME + AG <sup>b</sup>	6,24 ± 0,16	190,00 ± 20,00*	33,13 ± 3,20	2,66	1,24
Atropina + AG <sup>b</sup>	6,64 ± 0,25	102,00 ± 12,00	29,83 ± 3,79	1,24	1,39
Indometacina + AG <sup>b</sup>	6,34 ± 0,37	90,00 ± 11,62	29,67 ± 2,40	1,26	1,24

O grupo controle (CT) recebeu veículo (1 mL/kg, v.o.). Resultados expressos como a média ± SEM de seis a oito animais em cada grupo. As análises estatísticas foram realizadas por meio de análise de variância de duas vias (ANOVA) seguida pelo teste de comparações múltiplas de Dunnett. \*p<0,05 quando comparado com o grupo controle (tratado apenas com veículo). # p<0,05 quando comparado com o grupo tratado com ácido gálico (AG). HCTZ = hidroclorotiazida. <sup>a</sup>Índice salurético = mmol/L grupo de teste / mmol/L grupo CT (veículo). <sup>b</sup>AG = ácido gálico na dose de 3 mg/kg.

**Figura 62.** Efeito do pré-tratamento com L-NAME, atropina e indometacina na diurese induzida por ácido gálico. (A) L-NAME, (B) atropina e (C) indometacina em combinação com veículo ou ácido gálico (3 mg/kg) em ratos fêmeas.



O grupo controle (CT) recebeu veículo (1 mL/kg, v.o.). Os valores da hidroclorotiazida (HCTZ) são apresentados para comparação. Resultados expressos como a média  $\pm$  SEM de seis a oito animais em cada grupo. As análises estatísticas foram realizadas por meio de análise de variância bidirecional (ANOVA) seguida do teste de comparações múltiplas de Dunnett. \* $p < 0,05$  quando comparado com o grupo controle (tratado apenas com veículo). # $p < 0,05$  quando comparado com o ácido gálico (AG) + veículo.



Aplicando essas evidências para os achados descritos neste estudo, foi detectado que o pré-tratamento com L-NAME, um inibidor não-seletivo da enzima óxido nítrico sintase, foi capaz de amplificar significativamente o índice diurético induzido pelo AG. Essa habilidade do L-NAME em potencializar a diurese de compostos isolados, embora pouco entendida, já foi descrita na literatura (BOEING et al., 2017; DE SOUZA et al., 2017b).

Por outro lado, enquanto o bloqueio dos receptores muscarínicos de acetilcolina pela atropina foi incapaz de prevenir a diurese induzida pelo AG, o pré-tratamento com indometacina, um inibidor não seletivo da COX, impediu significativamente o efeito diurético do AG.

Considerando que a COX é uma enzima responsável pela formação de prostanoídes, é possível inferir que, pelo menos em parte, as propriedades diuréticas e saluréticas do AG descritas neste estudo se devem à maior liberação desses mediadores vasodilatadores.



## 6 CONCLUSÕES

- No estudo fitoquímico das folhas da espécie *M. bimucronata* foram isolados e identificados: galato de metila (9M1/3M8), ácido gálico (9M3/21M4).
- A partir das cascas do fruto de *M. balata*, foram isolados e identificados: mistura de ácidos oleanólico:ursólico (4C), ácido rotúndico (10D) e composto (25E) com características dos ácidos cinchólico e pomólico.
- Em relação à atividade antimicrobiana das folhas de *M. bimucronata* frente as bactérias sem parede celular (molicutes), a FDCMF foi a que melhor inibiu as cepas. O EBMF exibiu atividade antimollicute moderada.
- Quanto à atividade antifúngica, a FAEF demonstrou eficácia contra *Candida albicans* ATCC10231.
- Ao que compete a atividade antimicrobiana das cascas do fruto de *M. bimucronata* frente as bactérias sem parede celular, a FDCMC foi a única que apresentou atividade antimicrobiana eficaz contra os molicutes.
- Em relação à atividade diurética, o EMBF e a FAEF exibiram efeito diurético e salurético quando administrados por via oral a ratos.
- O componente majoritário GM revelou propriedades diuréticas, natriuréticas e caliuréticas para ratos normotensos, sendo a ativação dos receptores muscarínicos fundamental para estes efeitos.
- O AG induziu efeitos diuréticos e saluréticos, sem interferir na excreção de  $K^+$ , quando administrados por via oral a ratos. Sugere-se que a geração de prostanoídes endógenos é importante para o efeito diurético do AG.



## REFERÊNCIAS

- ABOU-ZAID, M. M.; LOMBARDO, C.; NOZZOLILLO, D. A. Methyl gallate is a natural constituent of maple (genus *Acer*) leaves. **Natural Product Research**, v.23, p.1373-1377, 2009.
- AGATI, G.; AZZARELLO, E.; POLLASTRI, S.; TATTINI, M. Flavonoids as antioxidants in plants: location and functional significance. **Plant Science**, v.196, n.214, p.67-76, 2012.
- AGRA, M. F. Medicinal and poisonous diversity of the flora of “Cariri Paraibano”, Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v.111, p.383-395, 2007.
- AGUIAR, R. M.; DAVID, J. M. J. P. 25a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química - SBQ. **Anais fenólicos do extrato clorofórmico de *Mimosa invisa***. São Paulo, p. 234, 2006.
- AGUILAR, M. I.; BENÍTEZ, W. V.; COLÍN, A.; BYE, R.; RÍOS-GÓMEZ, R., CALZADA, F. Evaluation of the diuretic activity in two Mexican medicinal species: *selaginella nothohybrida* and *Selaginella lepidophylla* and its effects with ciclooxygenases inhibitors, **Journal of Ethnopharmacology**, v.163, p.167-172, 2015.
- AHMAD, F. B.; ISMAIL, G. Medicinal plants used by Kadazandusun communities around crocker range. ASEAN Review of Biodiversity and Enviromental Conservation (ARBEC). **The Crocker Range Socio-Cultural and Human Dimensio**, v. 2, 2003.
- AHMED, R.; IFZAL, S. M.; USMANGHANI, K. Studies on *Achras sapota* L: part IV – chemistry and pharmacology of wood. **Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.12, p.39-40, 2001.
- AJIBADE, T. O.; OYAGBEMI, A. A.; OMOBOWALE, T. O.; ASENUGA, E. R.; AFOLABI, J. M.; ADEAPO, A. A. Mitigation of diazinon-induced cardiovascular and renal dysfunction by gallic acid. **Interdisciplinary Toxicology**, v.9, n.2, p.66-77, 2016.
- ALBUQUERQUE, U.P; HANAZAKI, N. As pesquisas etnodirigidas na descoberta de novos fármacos de interesse médico e farmacêutico:

fragilidades e perspectivas. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.16, p.678-689, 2006.

ALMEIDA, C. L.; BOEING, T.; SOMENSI, L. B.; STEIMBACH, V. M. B.; DA SILVA, L. M., DE ANDRADE, S. F.; MONACHE, F. D.; CECHINEL FILHO, V.; DE SOUZA, P. Diuretic, natriuretic and potassium-sparing effect of nothofagin isolated from *Leandra dasytricha* (A. Gray) Cogn. leaves in normotensive and hypertensive rats. **Chemico-Biological Interactions**, v.268, p.103-110, 2017.

ALMEIDA, F. B.; FERNANDES, C. P.; ROMAO, W.; VANINI, G.; COSTA, H. B.; FRANÇA, H. S.; SANTOS, M. G.; CARVALHO, J. C. T.; FALCÃO, D. Q.; ROCHA, L. Secondary metabolites from leaves of *Manilkara subsericea* (Mart.) Dubard. **Pharmacognosy Magazine**, v.11, n.4, p.533-537, 2015.

ALMEIDA-JÚNIOR, E. B. *Manilkara* in: Lista de Espécies da Flora do Brasil. **Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. 2016. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB14473>>. Acesso em: 01 mar. 2016.

ALTERTHUM, F. Morfologia e estrutura da célula bacteriana. In: TRABULSI-ALTERTHUM. **Microbiologia**. 6. ed. São Paulo: Atheneu, 2015. cap. 2. p.7-19.

AMARAL, G. M.; FONTANA, C.; GASPER, A. L.; FREITAS, D. S.; SEVEGNANI, L. Aspectos da distribuição de Mimosoideae (Fabaceae) arbóreas no planalto de Santa Catarina, sul do Brasil. **Neotropical Biology and Conservation**, v.10, n.2, p.74-84, 2015.

ANTOLOVICH, M.; BEDGOOD, D. R.; BISHOP, A. G.; JARDINE, D.; PRENZLER, P. D.; ROBARDS, K. LC-MS investigation of oxidation products of phenolic antioxidants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.52, n.4, p.962-971, 2004.

APG III. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v.161, n.2, p.105-121, 2009.

ARÉVALO-LOPÉZ, D; NINA, N.; TICONA, J. C.; LIMACHI, I.; SALAMANCA, E.; UDAETA, E.; PAREDES, C.; ESPINOZA, B.; SERATO, A.; GARNICA, D.; LIMACHI, A.; COAQUIRA, D.; SALAZAR, S.; FLORES, N. STERNER, O.; GIMÉNEZ, A.

Leishmanicidal and cytotoxic activity from plants used in Tacana traditional medicine (Bolivia). **Journal of Ethnopharmacology**, v.216, p.120-133, 2018.

ARMSTRONG, K. E.; STONE, G. N.; NICHOLLS, J. A.; VALDERRAMA, E.; ANDERBERG, A. A.; SMEDMARK, J.; GAUTIER, L.; NACIRI, Y.; MILNE, R.; RICHARDSON, J. E. Patterns of diversification amongst tropical regions compared: a case study in *Sapotaceae*. **Frontiers in Genetics: Evolutionary and Population Genetics**, v.5, n.362, p.1-13, 2014.

ASTON, R. A rat diuretic screening procedure. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v.1, n.3, p.277-282, 1959.

AWASARE, S.; BHUJBAL, S.; NANDA, R. In vitro cytotoxic activity of novel oleanane type of triterpenoid saponin from stem bark of *Manilkara zapota* Linn. **Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research**, v.5, n.4, p.183-188, 2012.

BADAVI, M.; SADEGHI, N.; DIANAT, M.; SAMARBAFZADEH, A. Mistura de ácido gálico e ciclosporina e seus efeitos sobre a disfunção cardíaca induzida pela isquemia / reperfusão e expressão de eNOS/iNOS. **International Journal of Cardiovascular Sciences**, v.30, n.3, p.207-218, 2017.

BAJPAI, V. K.; BAEK, K-H.; KANG, S. C. Control of *Salmonella* in foods by using essential oils: a review. **Food Research International**, v.45, n.2, p.722-734, 2012.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils: a review. **Food and Chemical Technology**, v.46, n.2, p.446-475, 2008.

BARRETO, M. L.; STRINA, A. Epidemiologia aplicada às doenças bacterianas: uma introdução. In: TRABULSI-ALTERTHUM. **Microbiologia**. 6. ed. São Paulo: Atheneu, 2015. cap. 13. p.109-116.

BATISTA, L. M.; LIMA, G. R. M.; ALMEIDA, A. B. A.; MAGRI, L. P.; CALVO, T. R.; FERREIRA, A. L.; PELLIZZON, C. H.; HIRUMA-LIMA, C. A.; VILEGAS, W.; SANO, P. T.; BRITO, A. R. M. S. Ulcer healing and mechanism(s) of action involved in the gastroprotective activity of fractions obtained from *Syngonanthus arthrotrichus* and *Syngonanthus bisulcatus*. **Complementary and Alternative Medicine**, v.15, n.1, p.391-399, 2015.

BEBEAR, C.; ROBERTSON, J. Determination of the minimal inhibitory concentration. In: TULLY, J. G.; RAZIN, S. **Molecular and diagnostic procedures in mycoplasmaology**. San Diego, Academic Press, p.189-197, 1996.

BESSA, N.G.F.; BORGES, J.C.M.; BESERRA, F.P.; CARVALHO, R.H.A.; PEREIRA, M.A.B.; FAGUNDES, R.; CAMPOS, S.L.; RIBEIRO, L.U.; QUIRINO, M.S.; CHAGAS JUNIOR, A. F.; ALVES, A. Prospecção fitoquímica preliminar de plantas nativas do cerrado de uso popular medicinal pela comunidade rural do assentamento vale verde – Tocantins. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, v.15, n.4, p.692-707, 2013.

BESSEGHIR, K.; RENNICK, B. Renal tubule transport and electrolyte effects of amiloride in the chicken. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v.219, n.2, p.435-441, 1981.

BEZERRA, D. A. C.; RODRIGUES, F. F. G.; COSTA, J. G. M.; PEREIRA, A. V.; SOUSA, E. O.; RODRIGUES, O. G. Phytochemical approach, bromatologic composition and antibacterial activity of *Mimosa tenuiflora* (Wild) Poiret and *Piptadenia stipulacea* (Benth) Ducke. **Acta Scientiarum, Biological Sciences**, v.33, n.1, p.99-106, 2011.

BIRT, D. F.; JEFFERY, E. Flavonoids. **Advances in Nutrition**, v.4, n.5, p.576–577, 2013.

BISHAYEE, A.; AHMED, S.; BRANKOV, N.; PERLOFF, M. Triterpenoids as potential agents for the chemoprevention and therapy of breast cancer. **Frontiers in Bioscience (Landmark Ed)**, v.16, p.980-996, 2011.

BLOWEY, D. L. Diuretics in the treatment of hypertension. **Pediatric Nephrology**, v. 31, n.12, p.2223-2233, 2016.

BOEING, T.; DA SILVA, L. M.; MARIOTT, M.; ANDRADE, S. F.; DE SOUZA, P. Diuretic and natriuretic effect of luteolin in normotensive and hypertensive rats: role of muscarinic acetylcholine receptors. **Pharmacological Reports**, v.69, n.6, p.1121-1124, 2017.

BONIFÁCIO, B. B.; SPAGNOL, C. M.; ISAAC, V. L. B.; CORRÊA, M. A.; SALGADO, H. R. N. Determinação da atividade antimicrobiana do ácido gálico para formulações dermatológicas. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v.37, suppl.1, 2016.



BRATER, D. C. Diuretic therapy. **The New England Journal of Medicine**, v.339, n.6, p.387-395, 1998.

BREYER, M. D.; BREYER, R. M. G protein-coupled prostanoid receptors and the kidney. **Annual Review of Physiology**, v.63, p.579-605, 2001.

BRUNETTI, C.; FERDINANDO, M. D.; FINI, A.; POLLASTRI, S.; TATTINI, M. Flavonoids as Antioxidants and Developmental Regulators: Relative Significance in Plants and Humans. **International Journal of Molecular Sciences**, v.14, n.2, p.3540-3555, 2013.

BUOGO, B. B. **Análise farmacognóstica de *Mimosa bimucronata* (DC.) Kuntze como potencial espécie medicinal**. 2017. 31f. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso de Ciências Biológicas), Unidade Acadêmica de Humanidades, Ciências e Educação, Universidade do Extremo Sul Catarinense - UNESC. Criciúma-SC, 2017.

BURKART, A. Leguminosae. In: PARODI, L. R. **Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería**. Buenos Aires. Argentina: ACME, 1959. p.443-512.

BURKART, A. **Leguminosas mimosoideas**. Itajaí: Herbário Barbora Rodrigues, 1979. 299p.

CANO-FLORES, A. Biotransformación de triterpenos con diferentes microorganismos. **Revista Mexicana de Ciências Farmacêuticas**, v.44, n.2, p.7-16, 2013.

CARDOSO, L. M.; LEITE, J. P. V.; PELUZIO, M. C. G. Efeitos biológicos das antocianinas no processo aterosclerótico. **Revista Colombiana de Ciências Químico Farmacêuticas**, v. 40, n. 1, p.116-138, 2011.

CARELLI, G.; MACEDO, S. M. D.; VALDUGA, A. T.; CORAZZA, M. L.; OLIVEIRA, J. V.; FRANCESCHI, E.; VIDAL, R.; JASKULSKI, M.R. Avaliação preliminar da atividade antimicrobiana do extrato de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St. - Hil.) obtido por extração com CO<sub>2</sub> supercrítico. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.13, n.1, p.110-115, 2011.

CARGNIN, S. T. **Triterpenos obtidos de fontes naturais: semissíntese, citotoxicidade e atividade antiprotozoária**. 2017. 178f. Tese (Doutorado). Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre-RS, 2017.

CARNEIRO, C.E.; ALVES-ARAUJO, A.; ALMEIDA JR., E.B.; TERRA-ARAUJO, M.H. 2016. *Sapotaceae* in: Lista de Espécies da Flora do Brasil.

**Jardim Botânico do Rio de Janeiro.** Disponível em:

<<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB217>>. Acesso em: 01 mar. 2016.

CARNEIRO, G. G.; RIBEIRO, W. S.; GOIS, G. C.; GOMES DA SILVA, A. P.; BARBOSA, J. A.; DUARTE, M. E. M. Caracterização físico química do fruto abricó de praia (*Mimusopsis comersonii*) armazenado sob atmosfera modificada e condições ambientais. **Agropecuária Técnica**, v. 32, n. 1, p 62-71, 2011.

CARVALHO, P. E. R. Maricá - *Mimosa bimucronata*. **Circular técnica – EMBRAPA**, v.94, p.1-10, 2004.

CAVALCANTI, N. L.; CORDEIRO, R. P. **Avaliação da atividade antimicrobiana para obtenção de creme dermatológico a partir do extrato bruto seco da *Mimosa hostilis* (mart.) Benth (jurema-preta).**

2017. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso de Farmácia), Centro Universitário Tabosa de Almeida. Caruaru-PE, 2017.

CECHINEL FILHO, V. **Medicamentos de origem vegetal:** atualidades, desafios, perspectivas. Editora UNIVALI: Itajaí, 2017. 223p.

CECHINEL FILHO, V.; BRESOLIN, T. M. B. **Fármacos e medicamentos, uma abordagem multidisciplinar.** Editora Santos: São Paulo, 2010. 416p.

CECHINEL FILHO, V; YUNES, R. A. Estratégias para a Obtenção de Compostos Farmacologicamente Ativos a partir de Plantas Medicinais. Conceitos sobre Modificação Estrutural para Otimização da Atividade. **Química Nova**, v.21, n.1, p.99-105, 1998.

CECHINEL FILHO, V; YUNES, R. A.; In **Plantas Medicinais Sob a Ótica da Química Medicinal Moderna** (Calixto, J. B.; Yunes, R. A., Eds.), Ed. Argos, Chapecó-SC, 2001.

CHAMBERS, H. F. Antimicrobianos: considerações gerais. In: Hardman JG, Limbird LE. **As bases farmacológicas da terapêutica Goodman e Gilman**. 10. ed. Rio de Janeiro: McGrawHill do Brasil, 2005. p. 859-876.

CHEN, H.; GAO, Y.; WANG, A.; ZHOU, X.; ZHENG, Y.; ZHOU, J. Evolution in medicinal chemistry of ursolic acid derivatives as anticancer

agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v.92, p.648-655, 2015.

CHENG, J. J.; ZHANG, L. J.; CHENG, H. L.; CHIOU, C. T.; LEE, I. J.; KUO, Y. H. Cytotoxic hexacyclic triterpene acids from *Euscaphis japonica*. **Journal of Natural Products**, v.73, p.1655-1658, 2010.

CHENG, Z. H.; YU, B. Y.; CORDELL, G. A.; QIU, S. X. Biotransformation of quinovic acid glycosides by microbes: direct conversion of the ursane to the oleanane triterpene skeleton by *Nocardia* sp. NRRL 5646. **Organic Letters**, v.6, n.18, p.3163-3165, 2004.

CHIVANDI, E.; MUKONOWENZOU, N.; BERLINER, D. The coastal red-milkwood (*Mimusops caffra*) seed: proximate, mineral, amino acid and fatty acid composition. **South African Journal of Botany**, v.102, n.1, p.137-141, 2016.

CHO, E. J.; YOKOZAWA, T.; RHYU, D. Y.; KIM, S. C.; SHIBAHARA, N.; PARK, J. C. Study on the inhibitory effects of Korean medicinal plants and their main compounds on the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. **Phytomedicine**, v.10, p.544-51, 2003.

CHOPRA, R. N.; NAYAR, S. L.; CHOPRA, I. C. **Glossary of indian medicinal plants**. New Delhi: Council of Scientific and Industrial Research, 1956. 330p.

CHRESTANI, F.; SIERAKOWSKI, M. R.; UCHOA, D. A. E.; NOZAWA, C.; SASSAKI, G. L.; GORIN, P. A. J.; ONO, L. In vitro antiherpetic and antirotaviral activities of a sulfate prepared from *Mimosa scabrella galactomannan*. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.45, p.453-457, 2009.

CIANCIOSI, D.; FORBES-HERNÁNDEZ, T. Y.; AFRIN, S.; GASPARRINI, M.; REBOREDO-RODRIGUEZ, P.; MANNA, P. P.; ZHANG, J.; LAMAS, L. B.; FLÓREZ, S. M.; TOYOS, P. A.; QUILES, J. L.; GIAMPIERI, F.; BATTINO, M. Phenolic compounds in honey and their associated health benefits: a review. **Molecules**, v.23, n.2322, p.1-20, 2018.

CLSI. **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically**. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; Ninth Edition. CLSI document M97-A9, 2012.

COELHO, M. F. B.; DA SILVA, A. C. Plantas de uso medicinal nos municípios de Pontes e Lacerda e de Comodoro, Mato Grosso, Brasil. **Revista Agricultura Tropical**, v.7, n.1, p.53-66, 2003.

COLOMBO, F. C. **Avaliação da eficácia e da citotoxicidade *in vitro* do ácido ursólico e sua incorporação em emulsão cosmética**. 2018. 123f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho". Araraquara-SP, 2018.

CONCEIÇÃO, F. D. P. L. **Síntese de derivados semi-sintéticos do ácido oleanólico com vista à atividade antitumoral**. 2016. 91f. Dissertação (Mestrado), Departamento de Química, Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra. Coimbra-PT, 2016.

CORCORAN, M. P.; MCKAY, D. L.; BLUMBERG, J. B. Flavonoid basics: chemistry, sources, mechanisms of action, and safety. **Journal of Nutrition in Gerontology and Geriatrics**, v.31, n.3, p.176-189, 2012.

CORONADO, H., M.; VEGA Y LEON, S.; GUTIÉRREZ T., R.; VÁZQUEZ F., M.; RADILLA V., C. Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana. **Revista Chilena de Nutrición**, v.42, n.2, p.206-212, 2015.

CORREA, L. B. **Estudo do galato de metila na artrite experimental: avaliação do efeito anti-inflamatório e mecanismo de ação**. 2015. 103f. Dissertação (Mestrado). Mestrado em Biologia Celular e Molecular, Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular, Instituto Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro-RJ, 2015.

CORREA, L. B.; PÁDUA, T. A.; SEITO, L. N.; COSTA, T. E.; SILVA, M. A.; CANDÉA, A. L.; ROSAS, E. C.; HENRIQUES, M. G. Anti-inflammatory effect of methyl gallate on experimental arthritis: inhibition of neutrophil recruitment, production of inflammatory mediators, and activation of macrophages. **Journal of Natural Products**, v.79, n.6, p.1554-1566, 2016.

CORRÊA, M. P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. 6. ed. Rio de Janeiro: IBDF, 1984.

COSTA, A. C. B. P. **Estudo de genes de *Candida albicans* com função desconhecida quanto à formação de biofilme, características biológicas e interação patógeno- hospedeiro**. 2015. 169f. Tese (Doutorado), Pós-

graduação em Biopatologia Bucal, Instituto de Ciência e Tecnologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista, 2015.

COSTA, A. L. P.; SILVA-JÚNIOR, A. C. S. Resistência bacteriana aos antibióticos e saúde pública: uma breve revisão de literatura. **Estação Científica (UNIFAP)**, v.7, n.2, p.45-57, 2017.

COUTINHO, H. D. M.; FREITAS, M. A.; GONDIM, C. N. F. L.; ALBUQUERQUE, R. S.; FERREIRA, J. V. A.; ANDRADE, J. C. Atividade antimicrobiana *in vitro* de Geraniol e Cariofileno sobre *Staphylococcus aureus*. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v.20, n.1, p.98-105, 2015.

CRUZ, G. L. **Dicionário das plantas úteis do Brasil**. 2. ed. Rio de Janeiro: EDEL. 1982.

CUSTODIO, A. A. C.; SPAGNOL, C. M.; ISAAC, V. L. B.; CORRÊA, M. A. Determinação da atividade antioxidante do ácido gálico pelo método ABTS e DPPH para sua utilização como ativo cosmético. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v.38, supl.1, 2017.

DA SILVA, R. C.; DE SOUZA, P.; CRESTANI, S.; GASPAROTTO JÚNIOR, A.; BOLIGON, A. A.; ATHAYDE, M. L.; DA SILVA-SANTOS, J. E. Hypotensive and diuretic effect of the butanolic soluble fraction of the hydroethanolic extract of bark of *Scutia buxifolia* Reissek in rats, **Journal of Ethnopharmacology**, v.172, p.395-401, 2015.

DAVID, J. P. Radical scavenging, antioxidant and cytotoxic activity of Brazilian Caatinga plants. **Fitoterapia**, v. 78, p. 215-218, 2007.

DAVIES, J.; DAVIES, D. Origins and evolution of antibiotic resistance. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v.74, n.3, p.417-433, 2010.

DAVIS, J. J.; XIA, F.; OVERBEEK, R. A.; OLSEN, G. J. Genomes of the class *Erysipelotrichia* clarify the firmicute origin of the class *Mollicutes*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v.63, p.2727-2741, 2013.

DE OLIVEIRA, M. C.; SICHIERI, R.; MOURA, A. S. Weight loss associated with a daily intake of three apples or three pears among overweight women. **Nutrition**, v.19, n.3, p.253-256, 2003.

DE PAULA, J. A. M. **Fitoquímica e atividades biológicas de *Pimenta pseudocaryophyllus* (Gomes) L. R. Landrum (Myrtaceae)**. 2011. 246f. Tese (Doutorado). Instituto de Ciências Biológicas, Programa de Pós-graduação em Biologia, Universidade Federal de Goiás. Goiânia-GO, 2011.

DE SOUZA, P.; BOEING, T.; SOMENSI, L. B.; CECHINEL-ZANCHETT, C. C.; BASTOS, J. K.; PETREANU, M.; NIERO, R.; CECHINEL-FILHO, V.; DA SILVA, L. M.; DE ANDRADE, S. F. Diuretic effect of extracts, fractions and two compounds 2 $\alpha$ ,3 $\beta$ ,19 $\alpha$ -trihydroxy-urs-12-en-28-oic acid and 5-hydroxy-3,6,7,8,4'-pentamethoxyflavone from *Rubus rosaefolius* Sm. (Rosaceae) leaves in rats. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, v. 390, n.4, p.351-360, 2017a.

DE SOUZA P.; CRESTANI S.; GASPAROTTO, F; KASSUYA, C. A; DA SILVA-SANTOS, J. E.; GASPAROTTO JÚNIOR, A. Involvement of bradykinin and prostaglandins in the diuretic effects of *Achillea millefolium* L. (Asteraceae), **Journal of Ethnopharmacology**, v.26, p.157-161, 2013.

DE SOUZA, P.; DA SILVA, L. M.; BOEING, T.; SOMENSI, L. B.; CECHINEL-ZANCHETT, C. C.; CAMPOS, A.; KRUEGER, C. M. A.; BASTOS, J. K.; CECHINEL-FILHO, V.; DE ANDRADE, S. F. Influence of prostanoids in the diuretic and natriuretic effects of extracts and kaempferitrin from *baubinia forficata* link leaves in rats. **Phytotherapy Research**, v.31, n.10, p.1521-1528, 2017b.

DHILLION, S. S.; CAMARGO-RICALDE, S. L. The cultural and ecological roles of Mimosa species in the Tehuacán-Cuicatlán Valley, México. **Economic Botany**, v. 59, n. 4, p. 390-394, 2005.

DIEZ, J. Mechanisms of cardiac fibrosis in hypertension. **The Journal of Clinical Hypertension**, v.9, n.7, p.546-550, 2007.

DJOUVINOV, D. S.; TODOROV, N. A. Influence of dry matter intake and passage rate on microbial protein synthesis in the rumen of sheep and its estimation by cannulation and a non-invasive method. **Animal Feed Science Technology**, v.48, n.3-4, p.289-304, 1994.

DONG, P.; ZHOU, P.; GUO, L. F. Effects of *Euphorbia humifusa* willd on platelets count aggregation and blood lipids in rat. **Chinese Journal of Integrative Medicine**, v.18, p.330-332, 1998.

DONG, F. L.; JI, B.; CHEN, Y. Q. Clinical study on hypoglycemic effects of *Niaobusu* and *Euphorbia humifusa*. **Journal of Sichuan of Traditional Chinese Medicine**, v.20, p.24-25, 2002.

DOS SANTOS, A. L.; SANTOS, D. O.; DE FREITAS, C. C.; FERREIRA, B. L. A.; Afonso, I. F.; RODRIGUES, C. R.; CASTRO, H. C. *Staphylococcus aureus*: visitando uma cepa de importância hospitalar. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v.43, n.6, p.413-423, 2007.

DOUCET, A.; FAVRE, G.; DESCHÊNES, G. Molecular mechanism of edema formation in nephrotic syndrome: therapeutic implications. **Pediatric Nephrology**, v.22, n.12, p.1983-1990, 2007.

ELLISON, D. H. Diuretic drugs and the treatment of edema: from clinic to bench and back again. **American Journal of Kidney Diseases**, v.23, n.5, p.623-643, 1994.

EMBUSCADO, M. E. Spices and herbs: natural sources of antioxidants - a mini review. **Journal of Functional Foods**, v.18, n.2, p.811-819, 2015.

FAGUNDES, H.; OLIVEIRA, C. A. F. *Staphylococcus aureus* intramammary infections and its implications in public health. **Revista Ciência Rural**, v.34, n.4, p.1315-1320, 2004.

FALCÃO, D. Q.; FERNANDES, S. B. O.; MENEZES, F. S. Triterpenos de *Hyptis fasciculata* Benth. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.13, supl., p.81-83, 2003.

FAYEK, N. M.; MONEM, A. R.; MOSSA, M. Y.; MESELHY, M. R. New triterpenoid acyl derivatives and biological study of *Manilkara zapota* (L.) Van Royen fruits. **Pharmacognosy Research**, v.5, n.2, p.55-59, 2013.

FAYEK, N. M.; MONEM, A. R.; MOSSA, M. Y.; MESELHY, M. R.; SHAZLY, A. H. Chemical and biological study of *Manilkara zapota* (L.) Van Royen leaves (Sapotaceae) cultivated in Egypt. **Pharmacognosy Research**, v.4, n.2, p.85-91, 2012.

FERNANDES, C. P. **Desenvolvimento de uma nanoemulsão bioinseticida preparada com extrato de *Manilkara subsericea***. 2014. 134f. Tese (Doutorado), Programa de Pós-graduação em Biotecnologia Vegetal, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro-RJ, 2014.

FERNANDES, C. P.; CORRÊA, A. L.; CRUZ, R. A. S.; BOTAS, G. S.; SILVA-FILHO, M. V.; SANTOS, M. G.; DE BRITO, M. A.; ROCHA, L. Anticholinesterasic activity of *Manilkara subsericea* (Mart.) Dubard triterpenes. **Latin American Journal of Pharmacy**, v.30, n8, p.1631-1634, 2011.

FERNANDES, C. P.; CORRÊA, A. L.; LOBO, J. F.; CAMEL, O. P.; ALMEIDA, F. B.; CASTRO, E. S.; SOUZA, K. F.; BURTH, P.; AMORIM, L. M.; SANTOS, M. G.; FERREIRA, J. L.; FALCÃO, D. Q.; CARVALHO, J. C.; ROCHA, L. Triterpene esters and biological activities from edible fruits of *Manilkara subsericea* (Mart.) Dubard, Sapotaceae. **BioMed Research International**, v.2013, p.1-7, 2013.

FERRARI, P.; FREY, F. J. Pharmacologic action of diuretics in the kidney. **Therapeutische Umschau**, v.57, n.6, p.345-350, 2000.

FERREIRA, A. R. **Avaliação da atividade antifúngica de ésteres benzoicos estruturalmente relacionados frente a espécies de *Candida***. 2016. 42f. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso de Farmácia), Departamento de Ciências Farmacêuticas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa-PB, 2016.

FILHO, R. L.; FERRO, H. M.; DE PINHO, R. S. C. Controle biológico mediado por *Bacillus subtilis*. **Revista Trópica: Ciências Agrárias e Biológicas**, v.4, n.2, p.12-20, 2010.

FRAGA, C. G. Plant polyphenols: how to translate their in vitro antioxidant actions to in vivo conditions. **IUBMB Life**, v.59, p.308-315, 2007.

FRAGA, C. G.; GALLEANO, M.; VERSTRAETEN, S. V.; OTEIZA, P. I. Basic biochemical mechanisms behind the health benefits of polyphenols. **Molecular Aspects of Medicine**, v.31, n.6, 435-445, 2010.

FRANCO, B. D. G. M. **Microbiologia dos alimentos**. Editora Atheneu: São Paulo, 2008. p.35.



FRASER, C. M.; GOCAYNE, J. D.; WHITE, O.; ADAMS, M. D.; CLAYTON, R. A.; FLEISCHMANN, R. D.; BULT, C. J.; KERLAVAGE, A. R.; SUTTON, G.; KELLEY, J. M.; FRITCHMAN, R. D.; WEIDMAN, J. F.; SMALL, K. V.; SANDUSKY, M.; FUHRMANN, J.; NGUYEN, D.; UTTERBACK, T. R.; SAUDEK, D. M.; PHILLIPS, C. A.; MERRICK, J. M.; TOMB, J. F.; DOUGHERTY, B. A.; BOTT, K. F.; HU, P. C.; LUCIER, T. S.; PETERSON, S. N.; SMITH, H. O.; HUTCHISON, C. A.; VENTER, J. C. The minimal gene complement of *Mycoplasma genitalium*. **Science**, v.270, n.5235, p.397-403, 1995.

FREI, B.; HIGDON, J. V. Antioxidant activity of tea polyphenols in vivo: evidence from animal studies. **Journal of Nutrition**, v.133, n.10, p.3275S-3284S, 2003.

GALLEANO, M.; CALABRO, V.; PRINCE, P. D.; LITTERIO, M. C.; PIOTRKOWSKI, B.; VAZQUEZ-PRIETO, M. A.; MIATELLO, R. M.; OTEIZA, P. I.; FRAGA, C. G. Flavonoids and metabolic syndrome. **Annals of The New York Academy of Sciences**, v.1259, n.1, p.87-94, 2012.

GALLEANO, M.; VERSTRAETEN S.V.; OTEIZA P.I., FRAGA C.G. Antioxidant actions of flavonoids: thermodynamic and kinetic analysis. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v.501, n.1, p.23-30, 2010.

GANDINI, A. The irruption of polymers from renewable resources on the scene of macromolecular science and technology. **Green Chemistry**, v.13, n.5, p.1061-1083, 2011.

GANDHIRAJA, N.; SRIRAM, S.; MEENAA, V.; SRILAKSHMI, K.; SASIKUMAR, C.; RAJESWARI, R. Phytochemical screening and antimicrobial activity of the plant extracts of *Mimosa pudica* L. against selected microbes. **Ethnobotanical Leaflets**, v.13, n.1, p.618-624, 2009.

GANGULY, A.; AL MAHMUD, Z.; UDDIN, M. M. N.; RAHMAN, A. In-vivo anti-inflammatory and anti-pyretic activities of *Manilkara zapota* leaves in albino Wistar rats. **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, v.3, n.4, p.301-307, 2013.

GARCIA, G. R. **Caracterização microbiológica e avaliação de uma cepa de *Bacillus subtilis* no desempenho de bezerros da raça holandesa**. 2008. 68f. Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Julio De Mesquita Filho”. Jaboticabal-SP, 2008.

GASPER, A.; HOLLANDS, W.; CASGRAIN, A.; SAHA, S.; TEUCHER, B.; DAINTY, J. R.; VENEMA, D. P.; HOLLMAN, P. C.; REIN, M. J.; NELSON, R.; WILLIAMSON, G.; KROON, P. A. Consumption of both low and high (-)-epicatechin apple puree attenuates platelet reactivity and increases plasma concentrations of nitric oxide metabolites: A randomized controlled trial. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v.559, p.29-37, 2014.

GAYOT, M.; SIST, P. Vulnérabilité des espèces de maçaranduba face à l'exploitation en Amazonie brésilienne: nouvelles normes d'exploitation à définir. In: Cirad, editor. **Bois et forêts destropiques**, v.2, n.280, p.75-90, 2004.

GHAISAS, M. M.; KADAM, A. H.; KASHIRSAGAR, B. D.; DHOTE, V. V.; DASHPANDE, A. D. Evaluation of antihyperlipidemic activity of *Mimusops elengi* L. in Triton WR-1339 induced hyperlipidaemia in rats. **Journal of Natural Remedies**, v.8, n.2, p. 132-137, 2008.

GIRISH, K. S.; MOHANAKUMARI, H. P.; NAGARAJU, S.; VISHWANATH, B. S.; KEMPARAJU, K. Hyaluronidase and protease activities from Indian snake venoms: neutralization by *Mimosa pudica* root extract. **Fitoterapia**, v. 75, p. 378-380, 2004.

GOMPERTZ, O. F.; GAMBALE, W.; CORRÊA, B.; PAULA, C. R. Características gerais dos fungos. In: TRABULSI-ALTERTHUM. **Microbiologia**. 6. ed. São Paulo: Atheneu, 2015. cap. 64. p.543-545.

GOPALAN, S.; KULANTHAI, K.; SADHASIVAM, G.; ARUMUGAM, R.; ARUMUGAM, S. Evaluation of antibacterial activity, phytochemical screening and characterization of *Mimusops elengi* seeds. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v.3, n.4, p.77-82, 2014.

GRADMAN, A. H.; ALFAYOUMI, F. From left ventricular hypertrophy to congestive heart failure: management of hypertensive heart disease. **Progress in Cardiovascular Diseases**, v.48, p.326-341, 2006.

GUTIÉRREZ, D.; DELGADO, S.; VÁZQUEZ-SÁNCHEZ, D.; MARTÍNEZ, B.; CABO, M. L.; RODRÍGUEZ, A.; HERRERA, J. J.; GARCÍA, P. Incidence of *Staphylococcus aureus* and analysis of associated bacterial communities on food industry surfaces. **Applied and Environmental Microbiology**, v.78, n.24, p.8547-8554, 2012.

HALLIWELL, B.; RAFTER, J.; JENNER, A. Health promotion by flavonoids, tocopherols, tocotrienols, and other phenols: direct or indirect effects? Antioxidant or not? **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.81, n.1, p.268S-276S, 2005.

HAMERSKI, L.; CARBONEZI, C. A.; CAVALHEIRO, A. J.; BOLZANI, V. S. Saponinas triterpênicas de *Tocoyena brasiliensis* Mart (Rubiaceae). **Química Nova**, v.28, n.4, p.601-604, 2005.

HAN, N.; BAKOVIC, M. Biologically active triterpenoids and their cardioprotective and anti-inflammatory effects. **Journal of Bioanalysis & Biomedicine**, v.1, S12, 2015.

HARBORNE, J. B.; WILLIAMS, C. A. Advances in flavonoid research since 1992. **Phytochemistry**, v.55, n.6, p.481-504, 2000.

HE, Y. F.; NAN, M. L.; SUN, J. M.; MENG, Z. J.; LI, W.; ZHANG, M. Design, synthesis and cytotoxicity of cell death mechanism of rotundic acid derivatives. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v.23, n.9, p.2543-2547, 2013.

HEARNE, D. A. **Trees for Darwin and Northern Australia**. Canberra: Australian Government Publishing Service. 1975. 130p.

HEBERLE, T.; KRINGEL, D. H.; EVANGELHO, J. A.; DANNENBERG, G.; OLIVEIRA, R.P.; DIAS, A.R.G. **Atividade antimicrobiana de óleo essencial de laranja**. In: XXV Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos: alimentação - a árvore que sustenta a vida. Gramado-RS, 2016. p.1-5.

HOA, N. T.; BACCIGALUPI, L.; HUXHAM, A.; SMERTENKO, A.; VAN, P. H.; AMMENDOLA, S.; RICCA, E.; CUTTING, S. M. Characterization of *Bacillus* species used of oral bacteriotherapy and bacterioprophyllaxis of gastrointestinal disorders. **Applied and Environmental Microbiology**, v.66, n.12, p.5241-5247, 2000.

HOLETZ, F. B.; PENSSINI, G. L.; SANCHES, N. R.; CORTEZ, D. A. G.; NAKAMURA, C.; DIAS-FILHO, B. P. Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infections diseases. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.97, p.1027-1031, 2002.

HOLST, B.; WILLIAMSON, G. Nutrients and phytochemicals: from bioavailability to bioefficacy beyond antioxidants. **Current Opinion in Biotechnology**, v.19, n.2, p.73-82, 2008.

HOSSAIN, H.; JAHAN, F.; HOWLADER, S. I.; DEY, S. K.; HIRA, A.; AHMED A. Evaluation of anti-inflammatory activity and total flavonoids content of *Manilkara zapota* (Linn.) bark. **International Journal of Pharmaceutical & Phytopharmacological Research**, v.2, n.1, p.35-39, 2012.

JAHAN, N.; AHMAD, W.; MALIK, A. Phytochemistry of the genus *Mimosa*. **Journal of the Chemical Society of Pakistan**, v.18, n.1, p.51-55, 1996.

JAIN, S. C.; JAIN, R.; VLIETIINCK. In vivo and in vitro antimicrobial efficacy of *Mimosa hamata*. **Indian Journal of Biotechnology**, v. 3, p. 271-274, 2004.

JARA, D. M. C.; NIVelo, J. G. C. **Estudio farmacognóstico y fitoquímico de las hojas y semillas de *Manilkara bindetata subesp. surimanensis* (Miq), T.D.Penn.** 2016. 51f. Trabajo de Titulación presentado como requisito previo para optar al Grado de Química Y Farmacéutica, Universidad de Guayaquil, Facultad de Ciencias Químicas, Guayaquil, Ecuador, 2016.

JEBASHREE, H. S.; KINGSLEY, S. J.; SATHISH, E. S.; DEVAPRIYA, D. Antimicrobial activity of few medicinal plants against clinically isolated human cariogenic pathogens: an in vitro study. **International Scholarly Research Network**, v.2011, p.1-6, 2011.

JENSEN, P.; THYSSEN, J.; SCHULZ, A.; MENNÉ, T. Occupational irritant contact dermatitis in a carpenter exposed to wood from Brazilian rainforest tree *Manilkara bidentata*. **Contact dermatitis**, v.60, n.4, p.240-241, 2009.

JEON, M.; RAHMAN, N.; KIM, Y. S. Wnt/ $\beta$ -catenin signaling plays a distinct role in methyl gallate-mediated inhibition of adipogenesis. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.479, n.1, p.22-27, 2016.

JIN, L.; LIN, M. Q.; PIAO, Z. H.; CHO, J. Y.; KIM, G. R.; CHOI, S. Y.; RYU, Y.; SUN, S.; KEE, H. J.; JEONG, M. H. Gallic acid attenuates hypertension, cardiac remodeling, and fibrosis in mice with NG-nitro-L-argininemethyl ester-induced hypertension via regulation of histone deacetylase 1 or histone deacetylase 2. **Journal of Hypertension**, v.35, n.7, p.1502-1512, 2017.

JOSÉ, A. E.; CARVALHO, H. H. C.; WIEST, J. M. Avaliação do efeito antibacteriano de extratos de folhas de batata-doce (*Ipomoea batatas* L.) frente a bactérias de interesse em alimentos e correlação com os compostos fenólicos. **Revista Ceres**, v. 62, n.5, p.421-429, 2015.

JUDD, W.S.; CAMPBELL, C.S.; KELLOGG, E.A.; STEVENS, P.F.; DONOGHUE, M.J. 2009. **Sistemática vegetal**: um enfoque filogenético. 3ª ed., Porto Alegre, Artmed, 632p.

JYOTI, M. A.; ZERIN, T.; KIM, T. H.; HWANG, T. S.; JANG, W. S.; NAM, K. W.; SONG, H. Y. In vitro effect of ursolic acid on the inhibition of *Mycobacterium tuberculosis* and its cell wall mycolic acid. **Pulmonary Pharmacology & Therapeutics**, v. 33, p.17-24, 2015.

KACERGIUS, T.; ABU-LAFI, S.; KIRKLIAUSKIENE, A.; GABE, V.; ADAWI, A.; RAYAN, M.; QUTOB, M.; STUKAS, R.; UTKUS, A.; ZEIDAN, M.; RAYAN, A. Inhibitory capacity of *Rhus coriaria* L. extract and its major component methyl gallate on *Streptococcus mutans* biofilm formation by optical profilometry: potential applications for oral health. **Molecular Medicine Reports**, v.16, n.1, p.949-956, 2017.

KADAM, P. V.; YADAV, K. N.; DEODA, R. S.; SHIVATARE, R. S.; PATIL, M. J. *Mimosa elengi*: a review on ethnobotany, phytochemical and pharmacological profile. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v.1, n.3, p.64-74, 2012.

KALABHARATHI, H. L.; SHRUTHI, S. L.; VAIBHAVI, P. S.; PUSHPA, V. H.; SATISH, A. M.; SIBGATULLA, M. Diuretic activity of ethanolic root extract of *Mimosa pudica* in albino rats. **Journal of Clinical and Diagnostic Research**, v.9, n.12, p.FF05-FF07, 2015.

KANDI, S.; GODISHALA, V.; RAO, P.; RAMANA, K. V. Biomedical significance of terpenes: an insight. **Biomedicine and Biotechnology**, v.3, n.1, p.8-10, 2015.

KAR, B.; KUMAR, R. B. S.; KARMAKAR, I.; DOLA, N.; BALA, A.; MAZUMDER, U. K.; HADAR, P. K. Antioxidant and in vitro anti-inflammatory activities of *Mimosa elengi* leaves. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, S976-S980, 2012.

KARKOWSKA-KULETA, J.; RAPALA-KOZIK, M.; KOZIK, A. Fungi pathogenic to humans. **Acta Biochimica Polonica**, v. 56, n. 2, p. 211-224, 2009.

KAU, S. T. Handling of triamterene by the isolated perfused rat kidney. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v.206, n.3, p.701-709, 1978.

KAU, S. T.; KEDDIE, J. R.; ANDREWS, D. A method for screening diuretic agents in the rat. **Journal of Pharmacological Methods**, v. 11, p.67-75, 1984.

KESTRING, D.; MENEZES, L. C. C. R.; TOMAZ, C. A.; LIMA, G. P. P.; ROSSI, M. N. Relationship among phenolic contents, seed predation, and physical seed traits in *Mimosa bimucronata* plants. **Journal of Plant Biology**, v.52, n.6, p.569-576, 2009.

KHALEK, M. A.; KHATUN, Z.; HABIB, M. R.; KARIM, M. R. Antitumor activity of *Manilkara zapota* (L.) fruits against Ehrlich ascites carcinoma in mice. **Biologija**, v.61, n.3-4, p.145-152, 2015.

KHOURI, J.; RESCKI, I. S.; POÇAS-FONSECA, M.; SOUSA, T. M. M.; PEREIRA, L. O.; OLIVEIRA, A. B. B.; GRISOLIA, C. K. Anticlastogenic potential and antioxidant effects of an aqueous extract of pulp from the pequi tree (*Caryocar brasiliense* Camb.). **Genetics and Molecular Biology**, v.30, n.2, p.442-48, 2007.

KHURANA, S.; HOLLINGSWORTH, A.; PICHE, M.; VENKATARAMAN, K.; KUMAR, A.; ROSS, G. M.; TAI, T. C. Antiapoptotic actions of methyl gallate on neonatal rat cardiac myocytes exposed to H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v.2014, n.657512, p.1-9, 2014.

KILIC, K.; SAKAT, M. S.; AKDEMIR, F. N. E.; YILDIRIM, S.; SAGLAM, Y. S.; ASKIN, S. Protective effect of gallic acid against cisplatin-induced ototoxicity in rats. **Brazilian Journal of Otorhinolaryngology**, v.18, S1808-8694, 2018.

KIM, J. A.; SHEEN, M. R.; LEE, S. D.; JUNG, J. Y.; KWON, H. M. Hypertonicity stimulates PGE<sub>2</sub> signaling in the renal medulla by promoting EP<sub>3</sub> and EP<sub>4</sub> receptor expression. **Kidney International**, v.75, p.278-284, 2009.

KIRTIKAR, K. R.; BASU, B. D. **Indian Medicinal Plants**. 2. ed. Allahabad: Lalit Mohan Basu. 1988. p.1494.

KLIS, F. M.; SOSINSKA, G. J.; GROOT, P. W. J.; BRUL, S. Covalently linked cell wall proteins *Candida albicans* and their role in fitness and virulence. **FEMS Yeast Research**, v.9, n.7, p.1013-1028, 2009.

KUMAR, A.; KAUR, R.; ARORA, S. Free radical scavenging potential of some Indian medicinal plants. **Journal of Medicinal Plants Research**, v.4, n.19, p.2034-2042, 2010.

KUMAR, B. N.; SWAMY, B. M.; SWAMY, A.; MURALI, A. Review of natural diuretics, **Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences**, v.1, p. 615-634, 2010.

KUMAR, H.; SAVALIYA, M.; BISWAS, S.; NAYAK, P. G.; MALIYAKKAL, N.; SETTY, M. M.; GOURISHETTI, K.; PAI, K. S. R. Assessment of the in vitro cytotoxicity and in vivo antitumor activity of the alcoholic stem bark extract/fractions of *Mimusops elengi* Linn. **Cytotechnology**, 2015.

KUMAR, H. A. K.; MANDAL, B. K.; KUMAR, K. M.; MADDINEDI, S. B.; KUMAR, T. S.; MADHIYAZHAGAN, P.; GHOSH, A. R. Antimicrobial and antioxidant activities of *Mimusops elengi* seed extract mediated isotropic silver nanoparticles. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v.130, p.1-18, 2014.

KUNTZE, O. *Mimosa bimucronata*. **Rev Gen Plan**, v.1, p.198, 1891.

KUPSKA, M. CHMIEL, T.; JEDRZIEWICZ, R.; WARDENCKI, W.; NAMIESNIK, J. Comprehensive two-dimensional gas chromatography for determination of the terpenes profile of blue honeysuckle berries. **Food Chemistry**, v.152, p.88-93, 2014.

LARGO-JÚNIOR, G.; RIDEOUT, J. A.; RAGASA, C.Y. A Bioactive carotenoid from *Mimosa invisa*. **Philippine Journal of Science**, v.126, n.1, p.107-15, 1997.

LAVAUD, C.; MASSIOT, G.; BECCHI, M.; MISRA, G.; NIGAM, S. K. Saponins from three species of *Mimusops*. **Phytochemistry**, v.41, n.3, p.887-893, 1996.

LEE, M. K.; LEE, K. Y.; JEON, H. Y.; SUNG, S. H.; KIM, Y. C. Antifibrotic activity of triterpenoids from the aerial parts of *Euscaphis japonica* on hepatic stellate cells. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, v.24, n.6, p.1276-1279, 2009.

LEE, T. Z.; JUANG, S. H.; HSU, F. L.; WU, C. Y. Triterpene acids from the leaves of *Planchonella duclitan* (Blanco) Bakhuisan. **Journal of the Chinese Chemical Society**, v.52, n.6, p.1275-1280, 2005.

LEGROUX-GEROT, I.; CATANZARITI, L.; MARCHANDISE, X.; DUQUESNOY, B.; CORTET, B. Bone mineral density changes in hypercalciuretic osteoporotic men treated with thiazide diuretics. **Joint Bone Spine**, v.71, p.51-55, 2004.

LEITE, J. P. V. **Fitoterapia**: bases científicas e tecnológicas. Editora Atheneu: São Paulo, 2009. 328p.

LEWIS, G. P.; SCHRIRE, B. D.; MACKINDER, B. A.; LOCK, J. M. **Legumes of the world**. Kew, Royal Botanic Gardens, 2005, 577p.

LIBY, K. T.; YORE, M. M.; SPORN, M. B. Triterpenoids and rexinoids as multifunctional agents for the prevention and treatment of cancer. **Nature Reviews Cancer**, v.7, n.5, p.357-369, 2007.

LIM, M. Y.; PARK, Y. H.; SON, D. J.; KIM, M. K.; LEE, H. S. Antiplatelet activity of gallic acid and methyl gallate. **Food Science and Biotechnology**, v.13, p.806-809, 2004.

LIU, J. Pharmacology of oleanolic and ursolic acid. **Journal of Ethnopharmacology**, v.49, n.2, p.57-68, 1995.

LOPES, A. C. W. C. **Determinação de ácidos triterpênicos na casca de Malus x doméstica e avaliação do potencial de seus derivados semissintéticos como inibidores da Ca<sup>2+</sup>-ATPase (PfATP6)**. 2017. 205f. Tese (Doutorado). Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre-RS, 2017.

LORENZI, H. **Plantas daninhas do Brasil**: terrestres, aquáticas, parasitas e tóxicas. Nova Odessa: Instituto Plantarum, SP. 2000.

MA, J.; LUO, X.D.; PROTIVA, P.; YANG, H.; MA, C.; BASILE, M.J.; WEINSTEIN, I.B.; KENNELLY, E. J. Bioactive novel polyphenols from



the fruit of *Manilkara zapota* (Sapodilla). **Journal of Natural Products**, v.66, n.7, p.983-986, 2003.

MACHADO, H.; NAGEM, T. J.; PETERS, V. M.; FONSECA, C. S.; OLIVEIRA, T. T. D. Flavonóides e seu potencial terapêutico. **Boletim do Centro de Biologia da Reprodução**, v.27, n.1-2, p.33-39, 2008.

MAHATO, S. B.; KUNDU, A. P. <sup>13</sup>C NMR spectra of pentacyclic triterpenoids-a compilation and some salient features. **Phytochemistry**, v.37, n.6, p.1517-1575, 1994.

MAIMONE, T. J.; BARAN, P. S. Modern synthetic efforts toward biologically active terpenes. **Nature Chemical Biology**, v.3, n.7, p.396-407, 2007.

MALHEIROS, A; BITTENCOURT, C. M. S.; NIERO, R.; CECHINEL FILHO, V. In **Fármacos e medicamentos, uma abordagem multidisciplinar** (Cechinel Filho, V.; Bresolin, T. M. B., Eds). Editora Santos, São Paulo, 2010.

MALI, R. G.; MAHAJAN, S. G.; MEHTA, A. A. In-vitro anthelmintic activity of stem bark of *Mimusops elengi* Linn. **Pharmacognosy Magazine**, v. 3, n.10, p.73-76, 2007.

MARCHIORI, J. N. C. **Elementos de dendrologia**. Santa Maria: Ed. da Universidade Federal de Santa Maria, 1995. 163p.

MARTINS, R. A. **Uso do extrato do Jucá (*Caesalpinia ferrea*) como inibidor verde de corrosão frente ao aço 1020 em meio ácido**. 2017. 72f. Dissertação (Mestrado), Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais, Universidade Federal do Amazonas. Manaus-AM, 2017.

MATILTA, P.; HELLSTROM, J. Phenolic acids in potatoes, vegetables, and some of their products. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.20, n.3, p.152-160, 2007.

MAZZA P. The use of *Bacillus subtilis* as an antidiarrhoeal microorganism. **Bollettino Chimico Farmaceutico**, v.133, n.1, p.3-18, 1994.

MCCULLOUGH, M. J.; SAVAGE, N. W. Oral candidosis and the therapeutic use of antifungal agents in dentistry. **Australian Dental Journal**, v.50, n.4, p.36-39, 2005.

MCLOUGHLIN, S. The breakup history of Gondwana and its impact on pre-Cenozoic floristic provincialism. **Australian Journal of Botany**, v.49, n.3, p.271-300, 2001.

MENDONÇA, D. E.; ONOFRE, S. B. Atividade antimicrobiana do óleo-resina produzido pela copaiba - *Copaifera multijuga* Hayne (Leguminosae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.19, n.2b, p.577-581, 2009.

MENEZES, L. C. C. R.; KLEIN, J.; KESTRING, D.; ROSSI, M. N. Bottom-up and top-down effects in a pre-dispersal seed predation system: are non-predated seeds damaged? **Basic and Applied Ecology**, v.11, n.2, p.126-134, 2010.

MENG, Q.; NIU, Y.; NIU, X.; ROUBIN, R. H.; HANRAHAN, J. R. Ethnobotany, phytochemistry and pharmacology of the genus *Caragana* used in Traditional Chinese Medicine. **Journal of Ethnopharmacology**, v.124, p.350-368, 2009.

MEWALAL, R.; RAI, D. K.; KAINER, D.; CHEN, F.; KÜLHEIM, C.; PETER, G. F.; TUSKAN, G. A. Plant-derived terpenes: a feedstock for specialty biofuels. **Trends in Biotechnology**, v.35, n.3, p.227-240, 2017.

MISHRA, N.; PAREEK, A. Traditional Uses, Phytochemistry and Pharmacology of *Mimusops hexandra* Roxb. **Advances in Pharmaceutical and Ethnomedicines**, v.2, n.2, p.32-35, 2014.

MISRA, G.; NIGAM, S. K.; MITRA, C. R. Studies on *Mimusops* spp. **National Botanic Gardens**, v.26, n.6, p.155-165, 1974.

MISRA, G.; MITRA, C. R. Constituents fruit and seed of *Mimusops elengi*. **Phytochemistry**, v.6, n.3, p. 453, 1967.

MISRA, G.; MITRA, C. R. Constituents of leaves, heartwood and root of *Mimusops elengi*. **Phytochemistry**, v.7, n.3, p.501-502, 1968.

MISRA, G.; MITRA, C. R. *Mimusops manilkara*, constituents of fruit and seed. **Phytochemistry**, v.8, n.1, p.249-252, 1969.

MISRA, G.; NIGAM, S. K.; MITRA, C. R. Constituents of *Mimusops manilkara* leaves and saponins of *Mimusops* seed kernels. **Phytochemistry**, v.8, n.11, p.2255-2256, 1969.

MITCHELL, B. A. Malayan tin tailings - prospects for rehabilitation. **Malayan Forester**, v.20, n.4, p.181-186, 1957.

MNIF, W.; DUCHESNE, M. J.; BALAGUER, P.; NICHOLAS, J. C.; CAVAILLÈS, V.; BARTEGI, A.; BADIA, E. Efficient treatment of Mycoplasma hyorhinis contamination in MCF-7 breast cancer cells with doxycyclin. **Immuno-analyse et biologie spécialisée**, v.22, p.107-110, 2007.

MODI, K. P.; LAHIRI, S. K.; GOSWAMI, S. S.; SANTANI, D. D.; SHAH, M. B. Evaluation of antiulcer potential of *Mimusops hexandra* in experimental gastro duodenal ulcers. **Journal of Complementary and Integrative Medicine**, v.9, n.1, p.1-14, 2012.

MONTALVO, A. F. M. **Análisis farmacognóstico de las semillas de los frutos de *Mimusops* sp. de diferentes grados de maduración**. 2018. 50f. Trabajo de Titulación presentado como requisito previo para optar al Grado de Química Y Farmacéutica, Universidad de Guayaquil, Facultad de Ciencias Químicas, Guayaquil, Ecuador, 2018.

MONTALVO, C. L.; BOULOGNE, I.; SUÁREZ, J. G. A screening for antimicrobial activities of Caribbean herbal remedies. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v.13, n.126, p.2-9, 2013.

MONTEIRO, C. R. M. **Atividade antibacteriana da polpa de buriti (*Mauritia flexuosa*) frente às bactérias de importância em alimentos**. 2017. 41f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação). Curso de Engenharia de Alimentos, Departamento de Engenharia de Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão-PR, 2017.

MORAES, A. M. L.; PAES, R. A.; HOLANDA, V. L. Micologia. In: TEVA, A. et al. **Conceitos e Métodos para a Formação de Técnicos em Laboratórios de Saúde**. Rio de Janeiro: EPSJV, 2009. cap.4. p.399-496.

MOREIRA-ARAÚJO, R. S. R.; SAMPAIO, G. R.; SOARES, R. A. M.; SILVA, C. P.; ARÊAS, J. A. G. Identification and quantification of antioxidant compounds in cowpea. **Revista Ciência Agronômica**, v.48, n.5, p.799-805, 2017.

MORS, W. B.; RIZZINI, C. T.; PEREIRA, N. A. **Medicinal plants of Brazil**. Michigan: Reference Publications, 2000. 501p.

MOTTA, E.V.S.; PINTO, N.C.C.; DUQUE, A.P.N.; MENDES, R. F.; BELLOZI, P.M.Q.; SCIO, E. Atividades antioxidante, antinociceptiva e anti-inflamatória das folhas de *Mucuna pruriens* (L.) DC. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, v.15, n.2, p.264-272, 2013.

MOUNT, P. F.; POWER, D. A. Nitric oxide in the kidney: functions and regulation of synthesis. **Acta Physiologica**, v.187, n.4, p.433-446, 2006.

MOURA, A. C. S.; VILEGAS, W.; DOS SANTOS, L. C. identificação de alguns constituintes químicos de *Indigofera hirsuta* Linn. (Fabaceae) por CLAE-IES-EM (TOF) e avaliação da atividade antirradicalar. **Química Nova**, v.34, n.7, p.1136-1140, 2011.

MUFFLER, K.; LEIPOLD, D.; SCHELLER, M. C.; HAAS, C.; STEINGROEWER, J.; BLEY, T.; NEUHAUS, H. E.; MIRATA, M. A.; SCHRADER, J.; ULBER, R. Biotransformation of triterpenes. **Process Biochemistry**, v.46, p.1-15, 2011.

MULLER, B. M.; KRAUS, J.; FRANZ, G. Chemical structure and biological activity of water-soluble polysaccharides from *Cassia angustifolia* leaves. **Planta Medica**, v.55, n.6, p.536-539, 1989.

NAGANI, K. M.; CHANDA, S. V. Antioxidant capacity of *Manilkara zapota* (L.) leaves extracts evaluated by four in vitro methods. **Nature Science**, v.8, p.260-266, 2010.

NAGASAKO-AKAZOME, Y.; KANDA, T.; OHTAKE, Y.; SHIMASAKI, H.; KOBAYASHI, T. Apple polyphenols influence cholesterol metabolism in healthy subjects with relatively high body mass index. **Journal of Oleo Science**, v.56, n.8, p.417-428, 2007.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural products as sources of new drugs from 1981 to 2014. **Journal of Natural Products**, v.79, n.3, p.629-661, 2016.

NGUYEN, H. T.; HO, D. V.; VO, H. Q.; LE, A. T.; NGUYEN, H. M.; KODAMA, T.; ITO, T.; MORITA, H.; RAAL, A. Antibacterial activities of chemical constituents from the aerial parts of *Hedyotis pilulifera*. **Pharmaceutical Biology**, v.55, n.1, p.787-791, 2017.

NIERO, R.; MALHEIROS, A.; BITTENCOURT, C. M. S.; BIAVATTI, M. W.; LEITE, S. N.; CECHINEL FILHO, V. In **Ciências Farmacêuticas: Contribuição ao Desenvolvimento de Novos Fármacos e Medicamentos** (Cechinel Filho, V.; Bresolin, T. M. B., Eds.). Editora da UNIVALI, Itajaí-SC, 2003.

NOLETO, G. R.; PETKOWICZ, C.L.; MERCÊ, A. L. et al. Two galactomannan preparations from seeds from *Mimosa scabrella* (bracatinga): Complexation with oxovanadium and cytotoxicity on HeLa cells. **Journal Inorganic Biochemistry**, v.103, n. 5, p. 749-57, 2009.

NOUNDOU, X. S.; KRAUSE, R. W.; VUUREN, S. F. V.; NDINTEH, D. T.; OLIVIER, D. K. Antibacterial effects of *Alchornea cordifolia* (Schumach. and Thonn.) Müll. Arg extracts and compounds on gastrointestinal, skin, respiratory and urinary tract pathogens. **Journal of Ethnopharmacology**, v.179, p.76-82, 2016.

NTIE-KANG, F.; LIFONGO, L. L.; SIMOBEN, C. V.; BABIAKA, S. B.; SIPPL, W.; MBAZE, L. M. The uniqueness and therapeutic value of natural products from West African medicinal plants, part II: terpenoids, geographical distribution and drug discovery. **RSC Advances**, v.4, 35348-35370, 2014.

NUNES, X. P. Constituintes químicos, avaliação das atividades citotóxica e antioxidante de *Mimosa paraibana* Barneby (Mimosaceae). **Revista Brasileira Farmacognosia**, v. 18, p. 718-723. 2008.

OGAWA, Y., OOKA, T., SHI, F., OGURA, Y., NAKAYAMA, K., HAYASHI, T. & SHIMOJI, Y. The genome of *Erysipelothrix rhusiopathiae*, the causative agent of swine erysipelas, reveals new insights into the evolution of *Firmicutes* and the organism's intracellular adaptations. **Journal of Bacteriology**, v.193, p.2959-2971, 2011.

OHSAKI, A. Two Diterpene Rhamnosides, Mimosasides B and C, from *Mimosa hostilis*. **Chemistry Pharmacology**, v. 54, n.12, p. 1728-1729, 2006.

OLIVEIRA, J. C. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Composição química das cascas das raízes e flores de *Poincianella pyramidalis* (Fabaceae). **Química Nova**, v.39, n.2, p.189-193, 2016.

OLIVEIRA, M. A.; BARRETO, A. A. O.; QUINTANS-JÚNIOR, L. J.; GUIMARÃES, A. G. Aplicação de terpenos como agentes analgésicos: uma prospecção tecnológica. **Revista GEINTEC**, v.4, n.4, p.1292-1298, 2014.

OLIVEIRA-JUNIOR, R. G.; FERRAZ, C. A. A.; NUNES, X. P.; ALMEIDA, J. R. G. S. Utilização de flavonoides no setor industrial farmacêutico: um estudo de prospecção tecnológica. **Revista GEINTEC**, v.4, n.2, p.859-866, 2014.

OMS – Organização Mundial de Saúde. **A crescente ameaça da resistência antimicrobiana: opções de ação**: sumário executivo. Brasília: OMS, 2012. 16 p.

OSMAN, M. A.; AZIZ, M. A.; HABIB, M. R.; KARIM, M. R. Antimicrobial investigation on *Manilkara zapota* (L.) P. Royen. **International Journal of Drug Development & Research**, v.3, n.1, p.185-190, 2011a.

OSMAN, M. A.; RASHID, M. M.; AZIZ, M. A.; HABIB, M. R.; KARIM, M. R. Inhibition of Ehrlich ascites carcinoma by *Manilkara zapota* L. stem bark in Swiss albino mice. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v.1, n.6, p.448-451, 2011b.

PADAYACHEE, A.; NETZEL, G.; NETZEL, M.; DAY, L.; ZABARAS, D.; MIKKELSEN, D.; GIDLEY, M. J. Binding of polyphenols to plant cell wall analogues - part 2: phenolic acids. **Food Chemistry**, v.135, n.4, p.2287-2292, 2012.

PARRESOL, B. R. Basal area growth for 15 tropical tree species in Puerto Rico. **Forest Ecology and Management**, v.73, p.211-219, 1995.

PAYAL, J. S.; MITESH, S. G.; MAMTA, B. S.; SUNITA, S. G.; DEVIDAS, S. Study of *Mimusops elengi* bark in experimental gastric ulcers. **Journal of Ethnopharmacology**, v.89, p.305-311, 2003.

PEDLEY, L. Derivation and dispersal of Acacia (Leguminosae), with particular reference to Australia, and the recognition of Senegalia and Racosperma. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v.92, n.1, p.219-254, 1986.

PEIXOTO, J. V.; ROCHA, M. G.; NASCIMENTO, R. T. L.; MOREIRA, V. V.; KASHIWABARA, T. G. B. Candidíase: uma revisão de literatura.

**Brasilian Journal of Surgery and Clinical Research**, v.8, n.2, p.75-82, 2014.

PENNINGTON, T.D. Monograph of *Sapotaceae*. **Flora Neotropica**, v.52, p.1-770, 1990.

PENTEADO, J. O.; VOLCÃO, L. M.; RAMOS, D. F.; SILVA-JÚNIOR, F. M.; MUCCILLO-BAISCH, A. L. Atividade antimicrobiana de extratos de *Ilex paraguariensis*. **Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção**, p.136-146, 2016.

PEREIRA, R. J.; CARDOSO, M. G. Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v.3, n.4, p. 146-152, 2012.

PERICO, N.; REMUZZI, G. Edema of the nephrotic syndrome: the role of the atrial peptide system. **American Journal of Kidney Diseases**, v.22, n.3, p.355-366, 1993.

POWDER-GEORGE, Y. L.; MOHAMMED, F. K. GC-MS analysis of the bioactive phytoconstituents of various organic crude extracts from the seed kernels of *Manilkara bidentata* (*balata*) collected in Trinidad, W.I. **Natural Product Research**, v.32, n.3, p.358-361, 2018.

PULLAIAH, T. **Encyclopedia of World Medicinal Plants**. v.1. Delhi India: Daya Books, Regency Publications, 2006. p.1306-1307.

PURNIMA, A.; KOTI, B. C.; THIPPESWAMY, A. H. M.; JAJI, M. S.; SWAMY A. H. M. V.; KURHE, Y. V.; SADIQ, A. J. Antiinflammatory, analgesic and antipyretic activities of *Mimusops elengi* Linn. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.72, n.4, p.480-485, 2010.

PUSHPAVALLI, G.; KALAIARASI, P.; VEERAMANI, C.; PUGALENDI, K.V. Effect of chrysin on hepatoprotective and antioxidant status in D-galactosamine induced hepatitis in rats. **European Journal of Pharmacology**, v.631, n.1-3, p.36-41, 2010.

QAVI, A. H.; KAMAL, R.; SCHRIER, R. W. Clinical use of diuretics in heart failure, cirrhosis, and nephrotic syndrome. **International Journal of Nephrology**, ID 975934, p.1-9, 2015.

QIAO, X.; YANG, W. Z.; GUO, D.; YE, M. Extraction, separation, detection, and structural analysis of flavonoids. **Current Organic Chemistry**, v.15, n.15, p.2541-2566, 2011.

RAZIN, S. The genus *Mycoplasma* and related genera (Class *Mollicutes*). In: M. DWORKIN; FALKOW, S.; ROSENBERG, E.; SCHLEIFER, K. H.; STACKEBRANDT, E. **The Prokaryotes**, 3. ed., v.4, p.836-904. Nova York: Springer, 2006.

RENAUDIN, J.; BRETON, M.; CITTI, C. Molecular genetic tools for mollicutes. Cap. 3. In: BROWNING, G. F.; CITTI, C. **Mollicutes: molecular biology and pathogenesis**. Caister Academic Press: Norfolk, UK. 2014.

RHOURRI-FRIH, B.; RENIMEL, I.; CHAIMBAULT, P.; ANDRÉ, P.; HERBETTE, G.; LAFOSSE, M. Pentacyclic triterpenes from *Manilkara bidentata* resin: isolation, identification and biological properties. **Fitoterapia**, v. 88, n., p.101-108, 2013.

RIMOLI, C. V. **Mecanismo de interação molecular de polieletrólitos antimicrobianos em membrana modelo por espectroscopia vibracional não linear**. 2015. 153f. Dissertação (Mestrado), Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo-SP, 2015.

ROCHA, L. B.; MELO, A. M.; PAULA, S. L. A.; NOBRE, S. A. M.; ABREU, I. N. Gallic acid as the major antioxidant in pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) fruit peel. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, v.17, n.4, p.592-598, 2015.

ROESLER, R.; MALTA, L. G.; CARRASCO, L. C.; HOLANDA, R. B.; SOUSA, C. A. S.; PASTORE, G. M. Atividade antioxidante de frutas do cerrado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.27, n.1, p.53-60, 2007.

RAVN-HAREN, G.; DRAGSTED, L. O.; BUCH-ANDERSEN, T.; JENSEN, E. N.; JENSEN, R. I.; NÉMETH-BALOGH, M.; PAULOVICSOVÁ, B.; BERGSTRÖM, A.; WILCKS, A.; LICHT, T. R.; MARKOWSKI, J.; BÜGEL, S. Intake of whole apples or clear apple juice has contrasting effects on plasma lipids in healthy volunteers. **European Journal of Nutrition**, v.52, n.8, p.1875-1889, 2013.

RÍOS, J. L. Effects of triterpenes on the immune system. **Journal of Ethnopharmacology**, v.128, n.1, p.1-14, 2010.



ROSA, H. H. **Avaliação *in vitro* da ação citotóxica de *Cecropia pachystachya* Trécul, Embaúba**. 2016. 101f. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Farmácia, Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis-SC, 2016.

SAIBABU, V.; FATIMA, Z.; KHAN, L. A.; HAMEED, S. Therapeutic potential of dietary phenolic acids. **Advances in Pharmacological Sciences**, v.2015, n.823539, p.1-10, 2015.

SALVADOR, J. A. R.; MOREIRA, V. M.; GONÇALVES, B. M. F.; LEAL, A. S.; JING, Y. Ursane-type pentacyclic triterpenoids as useful platforms to discover anticancer drugs. **Natural Product Reports**, v.29, n.12, p. 1463-1479, 2012.

SAMPAIO, P. S.; SANCHÓ, L. G.; LAGO, R. F. Implementação da nova regulamentação para prescrição e dispensação de antimicrobianos: possibilidades e desafios. **Cadernos Saúde Coletiva**, v.26, n.1, p.15-22, 2018.

SANTOS, M.; SHAH, A. M. Alterations in cardiac structure and function in hypertension. **Current Hypertension Reports**, v.5, n.428, p.1-18, 2014.

SANTOS, M. E. P.; MOURA, L. H. P.; MENDES, M. B.; ARCANJO, D. D. R.; MONÇÃO, N.B.N.; ARAÚJO, B. Q.; LOPES, J. A. D.; SILVA-FILHO, J. C.; FERNANDES, R. M.; OLIVEIRA, R. C. M.; CITÓ, A. M. G. L.; OLIVEIRA, A. P. Hypotensive and vasorelaxant effects induced by the ethanolic extract of the *Mimosa caesalpinifolia* Benth. (Mimosaceae) inflorescences in normotensive rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v.164, p.120-18, 2015.

SANZ-BISET, J.; CAMPOS-DE-LA-CRUZ, J.; EPIQUIÉN-RIVERA, M. A.; CÁNIGUER, S. A first survey on the medicinal plants of the Chazuta valley (Peruvian Amazon). **Journal Ethnopharmacology**, v.122, n.2, p.333-362, 2009.

SARAFIDIS, P. A.; GEORGIANOS, P. I.; LASARIDIS, A. N. Diuretics in clinical practice. Part I: mechanisms of action, pharmacological effects and clinical indications of diuretic compounds. **Expert Opinion on Drug Safety**, v.9, n.2, p.243-257, 2010a.

SARAFIDIS, P. A.; GEORGIANOS, P. I.; LASARIDIS, A. N. Diuretics in clinical practice. Part II: electrolyte and acid-base disorders complicating diuretic therapy. **Expert Opinion on Drug Safety**, v.9, n.2, p.259-273, 2010b.

SASTROAMIDJOJO, J. S. *Acacia auriculiformis* A. Cunn. **Rimba Indonesia**, v.9, n.3, p.214-225, 1964.

SCHLICKMANN, F. **Estudo químico e avaliação do potencial gastroprotetor, antinociceptivo e antiproliferativo de *Mimusops balata* (abricó-da-praia)**. 2015. 111f. Dissertação de Mestrado em Ciências Farmacêuticas, Universidade do Vale do Itajaí, Itajaí-SC, 2015.

SCHINELLA, G.; AQUILA, S.; DADE, M.; GINER, R.; RECIO, M. C.; SPEGAZZINI, E.; DE BUSCHIAZZO, P.; TOURNIER, H.; RÍOS, J. L. Anti-inflammatory and apoptotic activities of pomolic acid isolated from *Cecropia pachystachya*. **Planta Medica**, v.74, n.3, p.215-220, 2008.

SCHRIER, R. W. Use of diuretics in heart failure and cirrhosis. **Seminars in Nephrology**, v.31, n.6, p.503-512, 2011.

SCHWAB, W.; FUCHS, C.; HUANG, F. C. Transformation of terpenes into fine chemicals. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v.115, n.1, p.3-8, 2013.

SEAL, T. HPLC determination of phenolic acids, flavonoids and ascorbic acid in four different solvent extracts of *Zanthoxylum acanthopodium*, a wild edible plant of Meghalaya state of India. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v.8, n.3, p.103-109, 2016.

SELIM, Y.; LITINAS, K. Cytotoxic and antibacterial activities of two new triterpenoids from the peels of local *Egyptian Malus domestica* L. **Medicinal Chemistry Research**, v.24, n.12, p.4016-4022, 2015.

SHAH, M. B.; GOSWAMI, S. S.; SANTANI, D. D. Effect of *Manilkara hexandra* (Roxb.) Dubard against experimentally-induced gastric ulcers. **Phytotherapy Research**, v.18, n.10, p.814-818, 2004.

SHAHWAR, D.; RAZA, M. A. Antioxidant potential of phenolic extracts of *Mimusops elengi*. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v.2, n.7, p.547-550, 2012.

SHANMUGAM, M. K.; NGUYEN, A. H.; KUMAR, A. P.; TAN, B. K.; SETHI, G. Targeted inhibition of tumor proliferation, survival, and metastasis by pentacyclic triterpenoids: potential role in prevention and therapy of cancer. **Cancer Letters**, v.320, n.2, p.158-170, 2012.

SHARMA, S.; GANGAL, S.; RAUF, A. Lipase mediated hydrolysis of *Mimusops elengi* and Parkinsonia aculeata seed oils for the determination of positional distribution of fatty acids. **Industrial Crops and Products**, v.30, n.2, p.325-328, 2009.

SHEPARD, M. C.; LUNCEFORD, C. D.; FORD, D. K.; PURCELL, R. H.; TAYLOR-ROBINSON, D.; RAZIN, S.; BLACK, F. T. Ureaplasma urealyticum gen. nov., sp. nov.: proposed nomenclature for the Human T (T-Strain) Mycoplasmas. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v.24, n.2, p.160-171, 1974.

SHIVHARE, Y.; UPMANYU, N.; SONI, P.; JAIN, P. Evaluation of analgesic activity of *Manilkara zapota* (leaves). **European Journal of Experimental Biology**, v.1, n.1, p.14-17, 2011.

SILVA, M. J. D. **Caracterização química e avaliação biológica do extrato e frações de *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth. (Mimosoideae)**. 2012. 109f. Dissertação (Mestrado), Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Alfenas. Alfenas-MG, 2012.

SILVA, M. J. D. **Estudo fitoquímico e biológico dos extratos das folhas de *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth.** 2016. 120f. Tese (Doutorado), Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. Araraquara-SP, 2016.

SILVA, S. NEGRI, M.; HENRIQUES, M.; OLIVEIRA, R.; WILLIAMS, D. W.; AZEREDO, J. *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* and *Candida tropicalis*: biology, epidemiology, pathogenicity and antifungal resistance. **FEMS Microbiology Reviews**, v.36, n.2, p.288-305, 2012.

SILVA, R. L.; MARTINS, L. V.; CALOU, I. B. F.; DE DEUS, M. S. M.; FERREIRA, P. M. P.; PERON, A. P. Flavonoides: constituição química, ações medicinais e potencial tóxico. **Acta Toxicológica Argentina**, v.23, n.1, p.36-43, 2015.

SILVA, D. R. **Avaliação de *Bacillus subtilis*, *Trichoderma*, e *Azospirillum* na cultura do trigo (*Triticum aestivum* L.)**. 2017. 36f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação). Curso de Agronomia, Departamento de

Estudos Agrários, Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul. Ijuí-RS, 2017.

SINGH, H. P.; MITTAL, S.; KAUR, S.; BATISH, D. R.; KOHLI, R. K. Characterization and antioxidant activity of essential oils from fresh and decaying leaves of *Eucalyptus tereticornis*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.57, n.15, p.6962-6966, 2009.

SINGH, M.; SONI, P.; UPMANYU, N.; SHIVHARE, Y. In-vitro anti-arthritic activity of *Manilkara zapota* Linn. **Asian Journal of Pharmacy and Technology**, v.1, n.4, p.123-124, 2011.

SINGH, N.; DIXIT, V.; IRCHHAIYA, R.; ALOK, S. Wound healing activity of *Mimusops elengi* Linn. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v.7, n.1, p.349-352, 2016.

SINGH, P.; KNOEDLER, J. J.; KRAMBECK, A. E.; LIESKE, J. C.; BERGSTRALH, E. J.; RULE, A. D. Thiazide diuretic prophylaxis for kidney stones and the risk of diabetes mellitus. **The Journal of Urology**, v.192, n.6, p.1700-1704, 2014.

SOARES, M.; WELTER, L.; GONZAGA, L.; LIMA, A.; MANCINI-FILHO, J.; FETT, R. Avaliação da atividade antioxidante e identificação dos ácidos fenólicos presentes no bagaço de maçã cv. Gala. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.28, n.3, p.727-732, 2008.

SOUSA, C.M.; SOUSA, C. M. M.; SILVA, H. R.; VIEIRA-JR., G. M.; AYRES, M. C. C.; DA COSTA, C. L. C.; ARAÚJO, D. S.; CAVALCANTE, L. C. D.; BARROS, E. D. S.; ARAÚJO, P. B. M.; BRANDÃO, M. S.; CHAVES, M. H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v.30, n.2, p.351-55, 2007.

SOUZA, M. M.; ROCHA, M.; OLIVEIRA, M. S.; BADIALE-FURLONG, E. Avaliação das atividades antifúngica e antimicotoxina de extratos fenólicos de farelo de arroz. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.71, n.3, p.437-441, 2012.

SOUZA, M. M.; BURGER, C.; QUINTÃO, N. L. M.; KREUGER, M. R. O.; DE ANDRADE, S. F. In **Fármacos e medicamentos, uma abordagem multidisciplinar** (Cechinel Filho, V; Bresolin, TMB, Eds). Editora Santos, São Paulo, 2010a.

SOUZA, M. M.; CRUZ, A. B.; SCHUHMACHER, M. B.; KREUGER, M. R. O.; FREITAS, R. A.; CRUZ, R. C. B. In **Ciências Farmacêuticas: Contribuição ao Desenvolvimento de Novos Fármacos e Medicamentos** (Cechinel Filho, V; Bresolin, TMB, Eds.). Editora da UNIVALI, Itajaí-SC, 2003.

SOUZA, M. O.; SILVA, M.; SILVA, M. E.; OLIVEIRA, R. P.; PEDROSA, M. L. Diet supplementation with acai (*Euterpeoleracea Mart*) pulp improves biomarkers of oxidative stress and the sérum lipid profile in rats, *Nutrition*, v.26, n.7-8, p.804-810, 2010b.

SOUZA, M. T. S.; GUIMARÃES, A. G.; ARAUJO, A. A. S.; QUINTANS-JÚNIOR, L. J. Monoterpenos com atividade anti-inflamatória: uma prospecção tecnológica. **Revista GEINTEC**, v.4, n.2, p.867-875, 2014.

SOUZA, R. S. O.; ALBUQUERQUE, U. P.; MONTEIRO, J. M.; AMORIM, E. L. C. Jurema-preta (*Mimosa tenuiflora* [Willd.] Poir.): a review of its tradicional use, phytochemistry and pharmacology. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.51, p.937-947, 2008.

SRINIVASAN, D.; NATHAN, S.; SURESH, T.; PERUMALSAMY, L. Antimicrobial ativity of certain Indian medicinal plants used in folkloric medicine. **Journal of Ethnopharmacology**, v.74, n.3, p.217-220, 2001.

STEVEN, G. A. R. **Estudio de la composición química en corteza de *Mimusoys sp.*** 2018. 92f. Trabajo de Titulación presentado como requisito prévio para optar al Grado de Química y Farmacéutica, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad de Guayaquil, Guayaquil, Ecuador, 2018.

STICHTENOTH, D. O.; FROLICH, J. C. COX-2 and the kidneys. **Current Pharmaceutical Design**, v.6, n.17, p.1737-1753, 2000.

SYDISKIS, R. J.; OWEN, D. G.; LOHR, J. H.; ROSLER, K. H. A.; BLOMSTER, R. N. Inactivation of enveloped viruses by anthraquinones extracted from plants. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.35, n.12, p.2463, 1991.

TEKALE, V.; PANGRIKAR, P. Gallic Acid in Ayurvedic Herbs and Formulations. **Recent Research in Science and technology**, v.3, n.7, p.51–54, 2011.

TESTAI, L.; MARTELLI, A.; CRISTOFARO, M.; BRESCHI, M. C.; CALDERONE, V. Cardioprotective effects of different flavonoids against myocardial ischaemia/reperfusion injury in Langendorff-perfused rat hearts. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v.65, n.5, p.750-756, 2013.

TIMENETSKY, J. Mollicutes (Mycoplasma). In: TRABULSI-ALTERTHUM. **Microbiologia**. 6. ed. São Paulo: Atheneu, 2015. cap. 58. p.503-508.

TOMAZ, C. A.; KESTRING, D.; ROSSI, M. N. Effects of the seed predator *Acanthoscelides schrankiae* on viability of its host plant *Mimosa bimucronata*. **Biological Research**, v.40, n.3, p.281-290, 2007.

TRABULSI, L. R.; CAMPOS, L.; WHITTAM, T.; GOMES T.; RODRIGUES J. Typical and atypical enteropathogenic *Escherichia coli*. **Revista Microbiologia**, v.8, n.5, p.508-513, 2002.

TROMBETTA, D.; CASTELLI, F.; SARPIETRO, M. G.; VENUTI, V., CRISTANI, M. T.; DANIELE, C.; SAIJA, A.; MAZZANTI, G. BISIGNANO, G. Mechanisms of antibacterial action of three monoterpenes. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.49, n.6, p.2474-2478, 2005.

VALENTE, D. M.; SOUSA, J. S.; BASTOS, M. N. C. Estudo taxonômico de *Sapotaceae* Juss. do litoral Paraense. **Acta Amazonica**, v.43, n.2, p.161-168, 2013.

UCHÔA, V. T.; DE PAULA, R. C.; KRETTLI, L. G.; SANTANA, A. E. G.; KRETTLI, A. U. Antimalarial activity of compounds and mixed fractions of *Cecropia pachystachya*. **Drug Development Research**, v.71, n.1, p.82-91, 2010.

UGAZ, O. L. **Investigación Fitoquímica**, Metodos en el estudio de productos naturales. Segunda Edicion. Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú, Lima, 300p, 1994.

VANAMALA, U.; ELUMALAI, A.; ESWARAIH, M. C.; SHAIK, A. An updated review on diuretic plants. **International Journal of Pharmaceutical & Biological Archive**, v.3, n.1, p.29-31, 2012.

VAN DAM, R. M.; NAIDOO, N.; LANDBERG, R. Dietary flavonoids and the development of type 2 diabetes and cardiovascular diseases: review of recent findings. **Current Opinion in Lipidology**, v.24, n.1, p.25-33, 2013.

VASCONCELOS, M. A.; ROYO, V. A.; FERREIRA, D. S.; CROTTI, A. E.; ANDRADE E SILVA, M. L.; CARVALHO, J. C.; BASTOS, J. K.; CUNHA, W. R. In vivo analgesic and anti-inflammatory activities of ursolic acid and oleanolic acid from *Miconia albicans* (Melastomataceae). **Zeitschrift fur Naturforschung - Section C Journal of Biosciences**, v.61, n.7-8, p.477-482, 2006.

VELLECA, W.M.; BIRD, B.R.; FORRESTER, F.T. (1979). Complete media for growth of micoplasmas and ureaplasmas from the urogenital tract: arginine broth medium for growth of *M. hominis*. In: Velleca WM, Bird BR, Forrester FT. **Laboratory diagnosis of Micoplasma infections**: course 8226-C. Atlanta: U.S. Department of Health, Education and Welfare, C.D.C., s.d. 120.

VILEGAS, W.; CARDOSO, C. A. L. Controle Químico de Qualidade de Fitoterápicos e Plantas Medicinais. In: **Química de Produtos Naturais, Novos Fármacos e a Moderna Farmacognosia** (Yunes, R. A.; Cechinel Filho, V., Eds.). Ed. UNIVALI, Itajaí-SC. p. 155-182, 2007.

VIRIATO, A. Terpenoides com atividade antifúngica para *Candida* Berkhout, causadoras de infecções hospitalares. **O Mundo da Saúde**, v.38, n.1, p.40-50, 2014.

WALSH, F. M.; AMYES, S. G. Microbiology and drug resistance mechanisms of fully resistant pathogens. **Current Opinion in Microbiology**, v.7, n.5, p.439-444, 2004.

WANG, D.; ZHUANG, Y.; TIAN, Y.; THOMAS, G. N.; YING, M.; TOMLINSON, B. Study of the effects of total flavonoids of astragalus on atherosclerosis formation and potential mechanisms. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v.2012, n.282383, p.1-10, 2012.

WARGO, K. A.; BANTA, W. M. A comprehensive review of the loop diuretics: should furosemide be first line? **Annals of Pharmacotherapy**, v.43, n.11, p.1836-1847, 2009.

WARRIER, P. K.; NAMBIAR, V. P. K.; RAMANKUTTY, C. **Indian Medicinal Plants: a compendium of 500 species**. v.3. Orient Longman Ltd. Hyderabad (A.P.), 1995. p.393.

WEAVER, P. T. *Manilkara bidentata* (A. DC.) Chev. In: FRANCIS, J. K.; Lowe, C. A. **Bioecología de Árboles Nativos y Exóticos de Puerto Rico y**

**las Indias Occidentales.** United States Department of Agriculture, Forest Service, International Institute of Tropical Forestry. 2000. p.344-348.

WHANG, W. K.; PARK, H. S.; HAM, I. H.; OH, M.; NAMKOONG, H.; KIM, H. K.; HWANG, D. W.; HUR, S. Y.; KIM, T. E.; PARK, Y. G.; KIM, J. R.; KIM, J. W. Methyl gallate and chemicals structurally related to methyl gallate protect human umbilical vein endothelial cells from oxidative stress. **Experimental & Molecular Medicine**, v.37, n.4, p.343-352, 2005.

WIEREMA, T. K.; HOUBEN, A. J.; DE LEEUW, P. W. Acetylcholine-induced vasodilatation in the human hypertensive kidney: inhibition by muscarinic receptor antagonism. **Journal of Hypertension**, p.1649-1651, 1997.

WILBON, P. A.; CHU, F.; TANG, C. Progress in renewable polymers from natural terpenes, terpenoids, and rosin. **Macromolecular Rapid Communications**, v.34, n.1, p.8-37, 2013.

WINK, M. Evolutionary advantage and molecular modes of action of multi-component mixtures used in phytomedicine. **Current Drug Metabolism**, v.9, n.10, p.996–1009, 2008.

WINK, M. Biochemistry of Plant Secondary Metabolism. **Annual Plant Reviews**. v. 40. Chichester: Wiley-Blackwell, 2010.

WINK, M.; ASHOUR, M. L.; EL-READI, M. Z. Secondary metabolites from plants inhibiting ABC transporters and reversing resistance of cancer cells and microbes to cytotoxic and antimicrobial agents. **Frontiers in Microbiology**, v.3, n.130, p.1-15, 2012.

XIAO, M.; FAN, X.; CHEN, S. C.; WANG, H.; SUN, Z. Y.; LIAO, K.; CHEN, S. L.; YAN, Y.; KANG, M.; HU, Z. D.; CHU, Y. Z.; HU, T. S.; NI, Y. X.; ZOU, G. L.; KONG, F.; XU, Y. C. Antifungal susceptibilities of *Candida glabrata* species complex, *Candida krusei*, *Candida parapsilosis* species complex and *Candida tropicalis* causing invasive candidiasis in China: 3 years national surveillance. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v.70, n.3, p.802-810, 2015.

YOGANARASHIMAN, S. N. **Medicinal Plants of India**. Bangalore: Interline publishing. 1996. p.313.



ZAPPI, D. C.; FILARDI, F. L. R.; LEITMAN, P.; SOUZA, V. C.; WALTER, B. M. T.; PIRANI, J. R.; MORIM, M. P. et. al. Growing knowledge: an overview of seed plant diversity in Brazil. **Rodriguésia**, v.66, n.4, p.1085-1113, 2015.

ZHANG, J.; YUAN, K.; ZHOU, W. L. Studies on the active components and antioxidant activities of the extracts of *Mimosa pudica* Linn. from southern China. **Pharmacognosy Magazine**, v.7, n.25, p.35-39, 2011.

ZHANG, R.; ZHANG, B.; SUN, Y.; JIA, Y. Preliminarily study on hypotensive effect of *Euphorbia maculate*. **China Medical Herald**, v.6, p.114-115, 2009.

ZWENGER, S.; BASU, C. Plant terpenoids: applications and future potentials. **Biotechnology and Molecular Biology Reviews**, v.3, n.1, p.1-7, 2008.

WAKSMUNDZKA-HAJNOS, M.; ONISZCZUK, A.; SZEWCZYK, K.; WIANOWSKA, D. Effect of sample preparation methods on the HPLC quantitation of some phenolic acids in plant materials. **Acta Chromatographica**, v.19, p.227-237, 2007.

WALDBAUER, K.; SEIRINGER, G.; NGUYEN, D. L.; WINKLER, J.; BLASCHKE, M.; MCKINNON, R.; URBAN, E.; LADURNER, A.; DIRSCH, V. M.; ZEHL, M.; KOPP, B. Triterpenoic acids from apple pomace enhance the activity of the endothelial nitric oxide synthase (eNOS). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.64, n.1, p.185-194, 2016.



## **APÊNDICES**

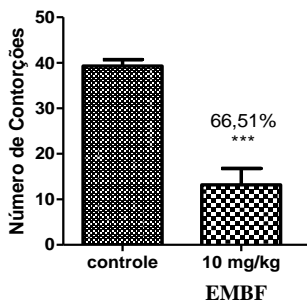


## APÊNDICE A – Avaliação da atividade antinociceptiva

Para avaliação da atividade antinociceptiva, foram utilizados camundongos *Swiss*, sendo os grupos determinados por sexo (somente machos ou somente fêmeas), pesando entre 25 a 35 gramas, aclimatados a temperatura de  $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$  com ciclo claro/escuro de 12 horas mantidos no biotério central da UNIVALI, tratados com água e ração “ad libitum”. Os animais permaneceram no ambiente do teste pelo menos uma hora antes da realização dos experimentos para se adaptarem. Em todos os modelos, diferentes grupos de camundongos foram pré-tratados com os extratos 30 minutos antes da realização do teste, quando os compostos foram injetados via intraperitoneal, na dose de 10 mg/kg, uma hora antes. Os animais do grupo controle receberam somente solução salina. Após os tratamentos, foi aplicado intraperitonealmente ácido acético (0,6%), dissolvido em NaCl 0.9%, previamente tamponado em pH 7.4, numa dose de 0,15 mL/10 g de peso (SOUZA et al., 2003; 2010a). As contorções foram quantificadas acumulativamente durante 20 minutos e o indicativo de antinocicepção adotado foi a redução da resposta nociceptiva (contorção), em relação ao grupo controle. Foi aprovado pelo Comitê de Ética da Univali, protocolo n. 005/14.

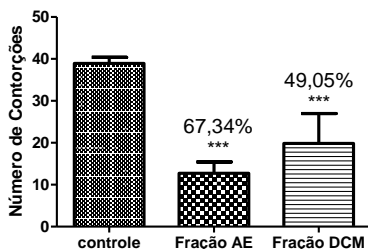
A atividade antinociceptiva foi avaliada com o extrato metanólico bruto e frações das folhas de *M. bimucronata*. A seguir, nas Figuras I e II observam-se as porcentagens de inibição do processo nociceptivo induzido por ácido acético.

**Figura I.** Porcentagem de inibição de contorções abdominais em camundongos após a administração de extrato metanólico bruto de das folhas de *M. bimucronata* e paracetamol por via intraperitoneal na dose de 10mg/kg.



Controle = paracetamol. \*\*\*valor estatisticamente significativo.

**Figura II.** Porcentagem de inibição de contorções abdominais em camundongos após a administração de frações das folhas de *M. bimucronata* e paracetamol por via intraperitoneal na dose de 10mg/kg.



Controle = paracetamol. AE = acetato de etila. DCM = diclorometano. \*\*\*valor estatisticamente significativo.

Pode-se observar que o extrato metanólico bruto e frações das folhas de *M. bimucronata* apresentaram resultados estatisticamente significativos (EMBF 66,51%, FAEF 67,34% e FDCMF 49,05%).

Ressalta-se que na presente pesquisa, os compostos fenólicos GM e AG foram isolados e identificados, sugerindo assim, que a atividade antinociceptiva está atrelada também à atuação destes compostos presentes no extrato metanólico das folhas de *M. bimucronata*.

A fim de conhecimento, o ácido acetilsalicílico e o paracetamol, na mesma dose e modelo possuem efeito inibitório das contorções abdominais em torno de 35% (BRESCIANI et al., 2003; CECHINEL FILHO et al., 1996; NIERO, 2000).

Em outro estudo, os extratos brutos e frações de *Eugenia uniflora* e de *Libidibia ferrea*, demonstraram a presença de AG. A administração dos extratos brutos e frações produziu uma resposta antinociceptiva periférica em todas as doses testadas, reduzindo significativamente o número de contorções abdominais induzidas por ácido acético em camundongos (FALCÃO, 2017), evidenciando o papel antinociceptivo do AG.

Um derivado do GM, 1,2,3,4,6-pentagalil-O- $\beta$ -glucopiranosídeo foi isolado do extrato metanólico das folhas do *S. terebinthifolius* (BALEN, 2015) e foi avaliado quanto ao efeito antinociceptivo em modelo animal. O resultado foi eficaz na inibição da nocicepção induzida pela formalina, ressaltando a eficácia do GM na atividade antinociceptiva.

A maioria das substâncias ativas de interesse farmacológica encontrada nos extratos vegetais, provém de uma variedade de metabólitos secundários que possuem uma constituição complexa, que são produzidos para modular seus próprios metabolismos (FERREIRA; PINTO, 2010; SILVA et al., 2015).

Vale lembrar que a sensação de dor se dá por experiências sensoriais e emocionais, sendo crônica (perdura por longo tempo) ou aguda. É um mecanismo de proteção, no qual o corpo inibe comportamentos que podem resultar à uma injúria maior. Assim, o conjunto das percepções de dor que somos capazes de distinguir é denominado nocicepção e pode ser induzida em um receptor de três modos específicos: a indução de forma mecânica capaz de excitar um mecanorreceptor; do tipo térmica capaz de excitar um termorreceptor; e a indução do tipo química que afeta quimioceptores (BENTO-SILVA; SANTOS; ALMEIDA, 2010; CORTES et al, 2013; DANTAS et al., 2014; KLAUMANN; WOUK; SILLAS, 2008).

As respostas nociceptivas geradas em avaliação em modelos animais são causadas por estímulos químicos ou térmicos. Ainda que não se chegue ao mecanismo de ação definitivo da substância ou extrato da planta em estudo, os modelos experimentais são de grande relevância e representam o ponto de partida para a caracterização farmacológica de novos compostos capazes de interferir com o curso da dor. Os animais submetidos a um estímulo nociceptivo são capazes de exibir respostas comportamentais, motoras e fisiológicas semelhantes às observadas em humanos (LAPA et al., 2003; SILVA et al., 2013; SOUZA et al., 2015).

Conclui-se que, em relação à atividade antinociceptiva, EMBF, FAEF e FDCMF apresentaram resultados estatisticamente significativos.

## REFERÊNCIAS

- BALEN, E. **Atividade analgésica do extrato de *Schinus terebinthifolius* e de derivados 1,2,3,4,6-pentagaloil-o- $\beta$ -glucopiranosídeo e robustaflavona em modelos experimentais de nocicepção em roedores.** 2015. 52f. Dissertação (Mestrado), Ciências da Saúde, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados-MS, 2015.
- BENTO-SILVA, M. T.; SANTOS, M. A. P.; ALMEIDA, F. R. C. Treinamento físico de intensidade leve diminui nocicepção induzida por estímulos térmico e químico em ratos. **Brazilian Journal of Biomotricity**, v.4, n.1, p.14-23, 2010.
- BRESCIANI, L. F. V.; PRIEBE, J. P.; YUNES, R. A.; DAL MAGRO, J.; DELLE MONACHE, F.; DE CAMPOS, F.; DE SOUZA, M. M.; CECHINEL FILHO, V. Pharmacological and phytochemical evaluation of *Adiantum cuneatum* growing in Brazil. **Zeitschrift für Naturforschung**, v.58c, p.191-194, 2003.
- CECHINEL FILHO, V.; BREVIGLIERI, A.; WILLAIN FILHO, A.; SANTOS, A. R. S. Estudo fitoquímico e avaliação preliminar da atividade analgésica de *Bauhinia splendens*. **Revista Brasileira de Farmácia**, v.76, n.4, p.115-117, 1996.
- CORTES, M. L.; CASTRO, M. M. C.; JESUS, R. P.; NETO, J. A. B.; KRAYCHETE, D. C. Uso de terapêutica com ácidos graxos ômega-3 em pacientes com dor crônica e sintomas ansiosos e depressivos. **Revista Dor**, v.14, n.1, p.48-51, 2013.
- DANTAS, R. S.; DIAS, J. A. B.; ALBUQUERQUE, H. C. P.; CABRAL, I. L. O.; MEDEIROS, A. C. D.; SANTOS, V. L. Estudo preliminar fitoquímico e da atividade analgésica do extrato etanólico de *Spondias mombin*. **Biofarm**, v.10, n.4, p.30-33, 2014.
- FALCÃO, T. R. **Atividade anti-inflamatória e antinociceptiva dos extratos brutos e frações de *Eugenia uniflora* e *Libidibia ferrea* in vivo.** 2017. 136f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Centro de



Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal-RN, 2017.

FERREIRA, V. F.; PINTO, A. C. A fitoterapia no mundo atual. **Química Nova**, v.33, n.9, p.1829, 2010.

KLAUMANN, P.R.; WOUK, A.F.P.F.; SILLAS, T. Patofisiologia da dor. **Archives of Veterinary Science**, v.13, n.1, p.1-12, 2008.

LAPA, A. J.; SOUCCAR, C.; LIMA-LANDMAN, M. T. R.; CASTRO, M. S. A.; LIMA, T. C. M. **Métodos de avaliação da atividade farmacológica de plantas medicinais**. Porto Alegre: Sociedade Brasileira de Plantas Medicinais; 2003.

NIERO, R. **Obtenção de novas moléculas com atividade analgésica e antiinflamatória a partir de plantas medicinais brasileiras**.

Florianópolis, 2000. Tese (Doutorado). Departamento de Química. Universidade Federal de Santa Catarina.

SILVA, J. C.; LIMA-SARAIVA, S. R. G.; OLIVEIRA-JÚNIOR, R. G.; ALMEIDA, J. R. G. S. Modelos experimentais para avaliação da atividade antinociceptiva de produtos naturais: uma revisão. **Revista Brasileira de Farmácia**, v.94, n.1, p.18-23, 2013.

SILVA, R. L.; MARTINS, L. V.; CALOU, I. B. F.; DE DEUS, M. S. M.; FERREIRA, P. M. P.; PERON, A. P. Flavonoides: constituição química, ações medicinais e potencial tóxico. **Acta Toxicológica Argentina**, v.23, n.1, p.36-43, 2015.

SOUZA, G. R.; SILVA, J. C.; JÚNIOR, R. G. O.; SARAIVA, S. R. G. L.; GUIMARÃES, A. L.; OLIVEIRA, A. P.; ALMEIDA, J. R. G. S. Atividade antinociceptiva do extrato etanólico das folhas de *Morus nigra* L. (Moraceae). **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v.36, n.1, p.137-142, 2015.



## APÊNDICE B – Avaliação da atividade antiparasitária

*Leishmania spp.* é um protozoário que pertence à família *Trypanosomatidae*, ordem *Kinetoplastida*, filo *Sarcomastigophora*. Durante o ciclo de vida as *Leishmania spp.* apresentam duas formas de desenvolvimento: a forma promastigota e a forma amastigota. No trato intestinal de vetores hematófagos do gênero *Phlebotomus* e *Lutzomyia*, podem ser encontradas as formas promastigotas metacíclicas, as quais possuem alto poder infectante. Quando são inoculadas em um hospedeiro mamífero através da picada do vetor fêmea infectado, envolvem monócitos/macrófagos, sendo, assim, parasitas intracelulares obrigatórios nos hospedeiros mamíferos. Quando são internalizadas nestas células, nos fagolisossomos, as promastigotas se diferenciam em formas amastigotas não móveis que se multiplicam no vacúolo parasitóforo (RITTIG; BOGDAN, 2000; AMARAL, 2011).

A análise de atividade antileishmania foi realizada com parasitas de *Leishmania* cultivados *in vitro*, nas formas promastigotas do complexo *L. amazonensis* e complexo *L. braziliensis*.

Diferentes concentrações das amostras avaliadas (100, 50 e 25 µg/mL) foram posteriormente adicionadas às placas de 96 poços (100 µL). As placas foram incubadas durante 72 horas a 26°C. Após a incubação, adicionou-se uma solução de XTT (1 mg/mL) em PBS (pH 7,0 a 37°C) com PMS (Sigma-Aldrich, 0,06 mg/mL), e incubou-se novamente para 4 horas à 26°C. Como grupos controle foram utilizados DMSO (1%) e como fármaco de referência a Anfotericina B (0,5 µg/mL). Os testes foram feitos em triplicata. A densidade óptica de cada poço foi obtida com o leitor de microplacas HT Synergy no comprimento de onda de 200-450nm. Os valores IC 50 foram calculados usando o programa Gen5 (Biotek).

Para a avaliação contra os trofozoítos de *Giardia lamblia* foram cultivados em meio TYI-S-33 (pH=7,2) e SBF (10%). Os parasitas em crescimento logarítmico foram distribuídos em placas brancas de 96 poços (LUMITRAC) com uma população de 5x10<sup>5</sup> parasitas/mL (100 µL). Foi então adicionado às placas um total de 100 µL de cada amostra a ser avaliada, em diferentes concentrações (100; 50; 25, 12,5 e 6,2 µg/mL), sendo que cada concentração tinha uma referência de controle (meio de cultura e droga sem parasitas) e um controle de crescimento (DMSO 1%). As placas foram

incubadas a 37°C por 48 horas em *Candle Jarr*. Após este tempo, calculou-se a IC 50, usando o método fluorométrico utilizando sal de sódio de Resazurin (1mM, SIGMA-ALDRICH), em um leitor de microplacas HT Synergy, com comprimento de onda de excitação e emissão entre 570 e 630 nm, respectivamente.

Com o intuito de avaliar a citotoxicidade das amostras, também foi feito um ensaio citotóxico com células HeLa. Estas foram cultivadas em meio RPMI-1640, suplementado com gentamicina (40 µg/mL), NaHCO<sub>3</sub> (2,2 g/L) e 5% de SFB, (pH 7,4) sendo incubadas a 37°C com 5% de CO<sub>2</sub> e 100% de umidade relativa. O meio de cultura foi alterado a cada 72 h, utilizando uma solução de separação de células (NaCl 0,8 g/mL, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0,11 g/mL, KCl 0,02 g/mL, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,02 g/mL, EDTA 0,02 g/mL). A metodologia utilizada foi a fluorometria com sal de sódio de Resazurin. As concentrações avaliadas foram 200; 100; 50; 25; 12,5 e 6,2 µg/mL. A LD50 (µg/mL) foi calculada com o programa GEN5.

Cabe ressaltar que as células HeLa foram obtidas de um tumor maligno e possuem tal denominação em razão do nome da doadora, Henrietta Lacks. Esta primeira cultura das células humanas foi iniciada por George Gey, da Universidade Johns Hopkins, em 1951. São mais simples de estudar que as células *in vivo* (no corpo) e as células crescidas *in vitro* (em cultura, fora do corpo). As Células HeLa foram as primeiras células humanas mantidas em cultura por um longo período de tempo e ainda são usadas atualmente nos laboratórios de todo o mundo. Podem ser cultivadas indefinidamente enquanto as condições forem favoráveis para suportar o crescimento e a divisão celular, diferentemente das células normais (KARP, 2005).

A fim de comparação com os resultados dos extratos avaliados, foram utilizados fármacos o controle do experimento (anfotericina B, miltefosina e tinidazol). Tais substâncias são as mais convencionais na prática clínica na terapia contra leishmaniose e giardíase (ARÉVALO-LOPÉZ et al., 2018) e podem causar toxicidade nas células humanas normais.

A Tabela I exibe a atividade antiparasitária de extratos e frações das cascas do fruto de *M. balata* e das folhas de *M. bimucronata* contra *Leishmania amazonensis*, *Leishmania braziliensis*, *Giardia lamblia* e Células HeLa.

**Tabela I.** Atividade antiparasitária de extratos e frações das cascas do fruto de *M. balata* e das folhas de *M. bimucronata*.

Amostras	(µg/mL)			
	<i>Leishmania amazonensis</i>	<i>Leishmania braziliensis</i>	<i>Giardia lamblia</i>	Células HeLa
<u><i>M. balata</i></u>				
EMBC	>100	>100	104±19	161±45
FDCMC	88±2	29±3	76±19	39±4
FAEC	>100	>100	64±0,2	55±6
<u><i>M. bimucronata</i></u>				
EMBF	>100	>100	55±17	67±1
FDCMF	85±5	>100	72±10	41±2
FAEF	>100	>100	53±16	30±12
<u>Controles</u>				
CAT	15±4	17±2	36±14	36±11
Miltefosina	7±2	7±3	--	17±4
Anfotericina B	0,3±0,0	0,2±0,0	--	--
Tinidazol	--	--	0,1	--

Controles positivos = CAT, Miltefosina, Anfotericina B e Tinidazol.

A análise dos extratos e frações avaliados na Tabela I, no que compete aos estudos com *M. balata*, demonstrou eficaz efeito da FDCMC contra os parasitas de *Leishmania braziliensis*. Ainda, a FDCMC apresentou efeito sutil contra os trofozoítos de *Giardia lamblia* e *Leishmania amazonensis*. Ressalta-se que a FDCMC é constituída de importantes terpenos isolados na presente pesquisa. Ainda, a FAEC exibiu atividade relevante contra os trofozoítos de *Giardia lamblia*.

Em relação ao extrato e frações de *M. bimucronata*, o EMBF e a FAEF exibiram importante atividade antiparasitária contra os trofozoítos de *Giardia lamblia*. Ressalta-se que a FAEF é de interesse fitoquímico desta pesquisa, da qual foram isolados os compostos fenólicos AG e GM.

A FDCMF demonstrou atividade relevante contra os parasitas de *Leishmania braziliensis* e contra os trofozoítos de *Giardia lamblia*. Corroborando com os dados obtidos, o estudo de Amaral (2011) verificou

que o polissacarídeo galactomanana presentes nas sementes de *M. scabrella* exibiu relevante efeito leishmanicida.

Também foram realizadas análises frente as células HeLa para avaliar a citotoxicidade dos extratos e frações analisados. Sendo assim, pode-se perceber que, FDCMC, FAEC, EMBF, FDCMF e FAEF exibiram atividade relevante contra as Células HeLa, em alguns casos comparando-se aos fármacos utilizados como controle (CAT: 36 µg/mL; Miltefosina: 17 µg/mL).

Os dados aqui apresentados são relevantes pois na literatura são raras as publicações para os gêneros *Mimosa* e *Mimusops* relacionadas à avaliação da atividade antiparasitária e citotoxicidade. Tais dados impulsionam a continuidade de estudos nesta área.

## REFERÊNCIAS

AMARAL, A. E. **Avaliação dos efeitos de complexos polissacarídeos oxovanádio (IV/V) sobre macrófagos peritoneais de camundongos e *Leishmania in vitro***. 2011. 96f. (Dissertação de Mestrado). Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2011.

KARP, G. **Biologia celular e molecular**: conceitos e experimentos. 3. ed. Manole: São Paulo, 2005. p.3

RITTIG, M. G.; BOGDAN, C. *Leishmania*-host-cell interaction: complexities and alternative views. **Parasitology Today**, v.16, p.292-297, 2000.

## **ANEXOS**





## ANEXO A – Publicações em revistas científicas

SCHLICKMANN, F.; DE SOUZA, P.; BOEING, T.; MARIANO, L. N. B.; STEIMBACH, V. M. B.; KRUEGER, C. M. A.; DA SILVA, L. M.; DE ANDRADE, S. F.; CECHINEL-FILHO, V. Chemical composition and diuretic, natriuretic and kaliuretic effects of extracts of *Mimosa bimucronata* (DC.) Kuntze leaves and its majority constituent methyl gallate in rats. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v.69, n.11, p.1615-1624, 2017.

JPP

JOURNAL OF  
Pharmacy and Pharmacology


**JPP**  
Journal of Pharmacy  
And Pharmacology



ROYAL  
PHARMACEUTICAL  
SOCIETY

Research Paper

### Chemical composition and diuretic, natriuretic and kaliuretic effects of extracts of *Mimosa bimucronata* (DC.) Kuntze leaves and its majority constituent methyl gallate in rats

Fabiele Schlickmann, Priscila de Souza , Thaise Boeing, Luisa N.B. Mariano, Viviane M.B. Steimbach, Clarissa de M.A. Krueger, Luísa M. da Silva, Sérgio F. de Andrade and Valdir Cechinel-Filho

Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Núcleo de Investigações Químico-Farmacêuticas (NIQFAR), Universidade do Vale do Itajaí (UNIVALI), Itajaí, SC, Brazil

#### Keywords

diuresis; kaliuresis; muscarinic receptor; natriuresis; phenolic compounds

#### Correspondence

Priscila de Souza, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Núcleo de Investigações Químico-Farmacêuticas (NIQFAR), Universidade do Vale do Itajaí (UNIVALI), Rua Uruguai, 458, 88302-901 Itajaí, SC, Brazil.  
E-mail: priscilasouza\_rc@yahoo.com.br

Received April 28, 2017

Accepted June 18, 2017

doi: 10.1111/jphp.12785

#### Abstract

**Objectives** Some species of the genus *Mimosa* showed promising results in previous investigations, which include diuretic effect; however, no chemical analyses or animal model has been conducted so far to evaluate the biological properties of *M. bimucronata*.

**Methods** Male Wistar rats received the oral treatment with vehicle; hydrochlorothiazide; methanolic extract from *M. bimucronata* (MEMB), dichloromethane (DCM) and ethyl acetate (EA) fractions or methyl gallate (MG). The cumulative urine volume, electrolytes excretion, pH and osmolality were determined at the end of the experiment.

**Key findings** The chemical studies demonstrated that the phenolic compounds are the majorities in the plant, with the MG being the main substance identified. We showed that MEMB and EA fraction, but not DCM, exhibited diuretic and saluretic effects. Similarly, the MG also revealed diuretic, natriuretic and kaliuretic properties to both normotensive and spontaneously hypertensive rats. Atropine, a muscarinic receptor antagonist, fully prevented MG-induced diuresis and saluresis. In addition, MG did not alter the viability of A7r5 and L929 cell lines and neither stimulated nitric oxide generation.

**Conclusions** These findings suggest that *M. bimucronata* extracts and its majority compound MG present diuretic, natriuretic and kaliuretic properties, which was dependent on the activation of muscarinic acetylcholine receptor.


SCHLICKMANN, F.; BOEING, T.; MARIANO, L. N. B.; DA SILVA, R. C. M. V. A. F.; DA SILVA, L. M.; DE ANDRADE, S. F.; DE SOUZA, P.; CECHINEL-FILHO, V. Gallic acid, a phenolic compound isolated from *Mimosa bimucronata* (DC.) Kuntze leaves, induces diuresis and saluresis in rats. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, v.391, p.649-155, 2018.

Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology (2018) 391:649–655  
<https://doi.org/10.1007/s00210-018-1502-8>

ORIGINAL ARTICLE



## Gallic acid, a phenolic compound isolated from *Mimosa bimucronata* (DC.) Kuntze leaves, induces diuresis and saluresis in rats

Fabiele Schlickmann<sup>1</sup> · Thaise Boeing<sup>1</sup> · Luisa Nathália Bolda Mariano<sup>1</sup> · Rita de Cássia Melo Vilhena de Andrade Fonseca da Silva<sup>1</sup> · Luisa Mota da Silva<sup>1</sup> · Sérgio Faloni de Andrade<sup>1</sup> · Priscila de Souza<sup>1</sup>  · Valdir Cechinel-Filho<sup>1</sup>

Received: 14 February 2018 / Accepted: 6 April 2018 / Published online: 16 April 2018  
© Springer-Verlag GmbH Germany, part of Springer Nature 2018

### Abstract

Although present in the leaves of *Mimosa bimucronata* (DC.) and many other medicinal plants commonly used to augment urinary volume excretion, the effects of gallic acid as a diuretic agent remain to be studied. Wistar rats were orally treated with vehicle, hydrochlorothiazide, or gallic acid. The effects of gallic acid in the presence of hydrochlorothiazide, furosemide, amiloride, L-NAME, atropine, and indomethacin were also investigated. Diuretic index, pH, conductivity, and electrolyte excretion were evaluated at the end of the experiment (after 8 or 24 h). Gallic acid induced diuretic and saluretic (Na<sup>+</sup> and Cl<sup>-</sup>) effects, without interfering with K<sup>+</sup> excretion, when orally given to female and male rats at a dose of 3 mg/kg. These effects were associated with increased creatinine and conductivity values while pH was unaffected by any of the treatments. Plasma Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, and Cl<sup>-</sup> levels were not affected by any of the acute treatments. The combination with hydrochlorothiazide or furosemide was unable to intensify the effects of gallic acid when compared with the response obtained with each drug alone. On the other hand, the treatment with amiloride plus gallic acid amplified both diuresis and saluresis, besides to a marked potassium-sparing effect. Its diuretic action was significantly prevented in the presence of indomethacin, a cyclooxygenase inhibitor, but not with the pretreatments with L-NAME or atropine. Although several biological activities have already been described for gallic acid, this is the first study demonstrating its potential as a diuretic agent.

**Keywords** Flavonoid · Diuretic · Natriuretic · Saluretic · Cyclooxygenase

## ANEXO B – Resumos apresentados em eventos

1) Composição química e potencial antimolécute de extrato e frações das folhas de *Mimosa bimucronata*.



2) Atividade antimolécute de extrato e frações das cascas do fruto de *Mimops balata*.



3) Diuretic effect of *Mimosa bimucronata* (DC.) Kuntze leaves extracts and its main constituent methyl gallate in rats.



We certify that the poster **“DIURETIC EFFECT OF *Mimosa bimucronata* (DC.) Kuntze LEAVES EXTRACTS AND ITS MAIN CONSTITUENT METHYL GALLATE IN RATS”** by **Mariano LNB, Schlickmann F, Boeing T, Silva LM, Steimbach VMB, Krueger CMA, Andrade SF, Cechinel-Filho V, Souza P** was presented at the 49th Brazilian Congress of Pharmacology and Experimental Therapeutics (SBFTE), held in Ribeirão Preto, São Paulo, Brazil, from October 17 to 20, 2017.

Maria Christina W. Avallar  
Congress President

17-20 October, 2017  
Centro de Convenções

Ribeirão Preto, SP, Brazil

