

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA VIDA
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA**

Larissa Martins Duarte Andrade

**ESTUDOS DE NOVAS TINTURAS MÃE HOMEOPÁTICAS DE
PLANTAS MEDICINAIS DA REGIÃO DE GOVERNADOR
VALADARES-MG**

Governador Valadares – Minas Gerais

2019

Larissa Martins Duarte Andrade

**ESTUDOS DE NOVAS TINTURAS MÃE HOMEOPÁTICAS DE
PLANTAS MEDICINAIS DA REGIÃO DE GOVERNADOR
VALADARES-MG**

**Trabalho de Conclusão de Curso,
apresentado ao Departamento de Farmácia
da Universidade Federal de Juiz de Fora –
Campus Governador Valadares, como parte
das exigências para a obtenção do título de
Farmacêutico.**

**Orientador: Prof. Dr. João Eustáquio
Antunes**

Governador Valadares – Minas Gerais

2019

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por me dar saúde e força para superar aos momentos de cansaço e as dificuldades. Sou grata a tudo que Ele proporcionou em minha vida.

Agradeço aos meus pais Geraldo e Lucilene e a minha irmã Laíse por serem meu aconchego, me darem apoio, conselho, incentivo e amor incondicional. Ao meu filho amor incondicional. Aos meus avós paternos Ildeu (in memoriam) e Dulce (in memoriam) e aos maternos Wilson (in memoriam) e Maria, que me deram conselhos e ensinaram valores importantes e contribuíram com a minha educação. Vocês me inspiram, amo muito vocês!

Ao meu namorado Rafael, meu grande companheiro que sempre acreditou no meu potencial, me deu palavra de incentivo, carinho e esteve ao lado ao longo de toda trajetória do curso e da construção deste trabalho. Obrigada pela paciência e por toda ajuda. Eu amo você!

Aos meus tios e tias que sempre me apoiaram, dando conselhos e carinhos, vocês também me inspiram e são muito importantes em minha vida! Aos meus queridos primos e primas e em especial ao: Gabriel, Samara, Natália, Jamilly, Hiyssa, Arthur, que estiveram ao meu lado nessa caminhada, compreenderam meus momentos ausentes e que me fizeram rir em momentos de estresse.

Aos meus queridos amigos e amigas, que são minha família do coração, também me incentivaram e que foram compreensivos com os momentos em que permaneci distante.

Aos mestres, que durante esses anos compartilharam seus conhecimentos comigo, tiveram paciência em ensinar e também deram muitos conselhos, vocês me inspiram, meu muito obrigada!

Agradecer em especial o meu orientador Prof. Dr. João, que acreditou neste projeto e me apoiou durante o TCC, muito obrigada! Em especial também a Prof(a) Dra. Michele, Prof.(a) Dra. Sandra, Prof. Dr. Jerferson, a aluna de iniciação científica Juciara, a servidora Maura, meu namorado Rafael, minha irmã do coração Andrezza, obrigada por me auxiliarem nesse trabalho, pelos ensinamentos, conselhos e pela amizade ao longo dos dias.

Agradeço também aos servidores Vanessa M., Bolivar, Vanessa B., Juliano, Ana Maria, Letícia por terem paciência e sempre estarem disponíveis, vocês indiretamente me auxiliaram neste trabalho, obrigada!

Gratidão a todos que, cientes ou não da sua ação, foram essenciais para a realização desta conquista.

“Viva como se fosse morrer amanhã, mas aprenda como se fosse viver pra sempre.”

Mahatma Ghandi

RESUMO

As tinturas mães (TM's) são extratos etanólicos obtidos a partir de plantas, sendo um tipo de formulação muito comum a ser utilizado na produção de medicamentos homeopáticos. Seu efeito terapêutico está parcialmente atribuído à presença de fitoquímicos e associado, muitas vezes, ao saber popular. Neste trabalho foram estudadas treze tinturas mães obtidas a partir de partes (folha, raiz, casca, rizoma, flor) de nove diferentes plantas coletadas na região de Governador Valadares-MG. As TM's foram preparadas pelo processo de maceração de material vegetal fresco das seguintes plantas: *Petiveria alliacea* (Guiné); *Solidago chilensis* (Arnica); *Erythrina verna* (Mulungú); *Myrciaria dubia* (Camu-camu); *Manilkara longifolia* (Paraju); *Pfaffia glomerata* (Ginseng-brasileiro); *Costus spicatus* (Cana de Macaco); *Spondias tuberosa* (Umbu); *Curcuma longa* (Açafrão da terra), em solução hidroalcoólica 70%. A atividade biológica das TM's foi avaliada frente à viabilidade celular por meio do ensaio com corante brometo de dimetilazol difeniltetrazólio (MTT) e a produção de óxido nítrico (NO) em linhagem de macrófagos murinos (RAW 264.7) após estimulação com lipopolissacarídeo (LPS) e Interferon-gama (IFN- γ). Além do teor de compostos fenólicos totais (TPC) pelo método Folin-Ciocalteu e a atividade antioxidante (AA) usando radicais livres DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil). De modo geral, as TM's não apresentaram citotoxicidade à cultura de células RAW 264.7. Todos os extratos inibiram a produção de NO em alguma concentração testada (2,5; 5,0; 10,0 μ g/mL), porém os extratos das TMs Paraju(folha), Umbu(folha), e Açafrão da terra(Rizoma) foram que tiveram os melhores. O teor de compostos fenólicos totais das plantas variou entre 41,5 – 1449,1 mg equivalentes de ácido gálico(AGE)/ L tintura mãe. As TMs com maior teor de compostos fenólicos foram Camu-camu(folha) e Paraju(folha). E atividade antioxidante em termos de IC50 variou entre 14,1 – 445,8 mg AGE/ L tintura mãe. As TMs com melhor atividade antioxidante são Ginseng-brasileiro(rizoma), Paraju(folha). Podemos destacar neste trabalho a importância da presença de compostos fenólicos com potencial antioxidante observado em todas as TM's estudadas. Nesse mesmo sentido, algumas TM's estudadas também apresentaram capacidade de inibição da produção de NO, sendo, portanto, amostras promissoras para posteriores estudos.

PALAVRAS-CHAVE: Tinturas-mãe; RAW 264.7; Antioxidantes; Compostos fenólicos.

ABSTRACT

Mother tinctures (MTs) are ethanolic extracts obtained from plants, being a type of formulation frequently used in homeopathic production of health problems. Its therapeutic effect is partly attributed to the presence of phytochemicals and is often associated with popular knowledge. In this paper, thirteen mothers tinctures were studied, obtained from parts (leaf, root, bark, rhizome, flower) of nine different plants collected in Governador Valadares-MG region. The MTs were prepared by fresh plant material maceration of the following plants: *Petiveria alliacea* (Guiné); *Solidago chilensis* (Arnica); *Erythrina verna* (Mulungú); *Myrciaria dubia* (Camu-camu); *Manilkara longifolia* (Paraju); *Pfaffia glomerata* (Ginseng-brasileiro); *Costus spicatus* (Cana de Macaco); *Spondias tuberosa* (Umbu); *Curcuma longa* (Açafrão da terra), in hydroalcoholic solution 70%. The MTs biological activity was evaluated against cell viability with dimethylazole diphenyltetrazolium bromide (MTT) and nitric oxide (NO) production in murine macrophages (RAW 264.7) after the development of lipopolysaccharide (LPS) and Interferon-gamma (IFN- γ). In addition to the content of total phenolic compounds (CPT) by the Folin-Ciocalteu method and the antioxidant activity (AA) using free radicals DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). In general, MTs did not show cytotoxicity to RAW 264.7 cell culture. All extracts inhibited NO production at some tested concentration (2.5, 5.0, 10.0 $\mu\text{g} / \text{mL}$), but the Paraju (leaf), Umbu (leaf) and Safflower (Rhizoma) extracts had the best. The total phenolic compounds content of the plants ranged from 41.5 - 1449.1 mg of gallic acid (GAE)/L mother tincture. The MTs with higher content of phenolic compounds were Camu-camu (leaf) and Paraju (leaf). And antioxidant activity in terms of IC50 varied between 14.1 - 445.8 mg GAE / L mother tincture. The MTs with better antioxidant activity are Ginseng-Brazilian (rhizome), Paraju (leaf). The importance of the presence of phenolic compounds with antioxidant potential observed in all the MTs studied is highlighted in this paper. In the same sense, some MTs studied also showed a capacity to inhibit NO production, making promising samples for further studies.

KEY-WORDS: Mothers Tinctures; RAW 264.7; Antioxidant; Phenolic Compounds.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Líquido extrator utilizado na preparação da TM's a partir de vegetal fresco. (FONTE, 2013).....	24
Tabela 2. Diluições das TM's utilizados no ensaio de DPPH.....	27
Tabela 3. Tinturas mãe homeopáticas produzidas a partir de partes de material vegetal fresco	28
Tabela 4. Relação de vegetal fresco utilizado no preparo das tinturas com o volume obtido de cada tintura	35
Tabela 5. Relação teor de compostos fenólicos totais (mg AGE/L tintura mãe); Atividade Antioxidante (ensaio DPPH; IC50, em mg AGE/L tintura mãe) e Teor de compostos fenólicos totais (mg AGE/g material vegetal).....	39

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Viabilidade das células de macrófagos RAW 264.7 não estimulados e não tratados e células não estimuladas sendo tratadas com os extratos etanólicos das plantas produzidas. *p<0,05 vs TM 2 Arnica(raiz); *★p<0,05 vs TM 3 Mulungú(casca); *◆p<0,05 vs TM 6 Paraju(folha); *■p<0,05 vs TM 11 Cana de Macaco(Raiz). 30
- Figura 2.** Relação de produção de óxido nítrico de macrófagos RAW 264.7 tratados com os extratos etanólicos de plantas em três concentrações, estimulados com LPS e IFN- γ . *p<0,05 vs TM 2 Arnica(raiz); *★p<0,05 vs TM 3 Mulungú(casca); *◆p<0,05 vs TM 6 Paraju(folha); *⌘p<0,05 vs TM 7 Ginseng-brasileiro(rizoma); *Ūp<0,05 vs TM 8 Ginseng-brasileiro(flor); *Δp<0,05 vs TM 9 Ginseng-brasileiro(folha); *○p<0,05 vs TM 10 Cana de Macaco(folha); *#p<0,05 vs TM 12 Umbu(folha); *+p<0,05 vs Açafrão da terra(rizoma)..... 33
- Figura 3.** Curva padrão para fenóis totais pelo método de Folin-Ciocalteau 34

SUMÁRIO

1) INTRODUÇÃO	11
1.1) Importância de utilizar testes de viabilidade celular e doseamento de óxido nítrico, quantificação do teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante	12
2) Revisão na Literatura Científica	14
2.1) <i>Petiveria alliacea</i>	14
2.2) <i>Solidago chilensis</i>	15
2.3) <i>Eythrina verna</i>	16
2.4) <i>Myrciaria dubia</i>	17
2.5) <i>Manilkara longifolia</i>	17
2.6) <i>Pffafia glomerata</i>	18
2.7) <i>Costus spicatus</i>	19
2.8) <i>Spondias tuberosa</i>	19
2.9) <i>Curcuma longa</i>	20
3) OBJETIVO GERAL.....	22
3.1) Objetivos específicos	22
4) METODOLOGIA	23
4.1) Seleção e coleta das plantas	23
4.2) Preparação das TM's a partir de planta fresca.....	23
4.3) Ensaio biológicos.....	25
4.3.1) Cultura de RAW 264.7	25
4.3.2) Avaliação da citotoxicidade dos extratos em macrófagos RAW 264.7 tratados com extratos.....	25
4.3.3) Determinação da produção de óxido nítrico (NO) por macrófagos RAW 264.7 tratados com extratos	26
4.4) Testes de determinação de compostos fenólicos	26
4.5) Testes de antioxidantes	26
5) RESULTADOS.....	28

5.1) Produção de TM's	28
5.2) Ensaio biológico - Avaliação da viabilidade celular e das propriedades imunoestimuladoras	29
5.3) Determinação de compostos fenólicos e teste de antioxidantes.....	34
6) CONCLUSÃO	40
7) REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	41

1) INTRODUÇÃO

A utilização de plantas medicinais pelo homem é relatada desde os tempos remotos. Nas diferentes regiões do Brasil as plantas são amplamente utilizadas na medicina popular pelas comunidades locais, na maioria das vezes são o único meio desses povos alcançar a cura. Assim, o uso de plantas medicinais representa um fator importante para a manutenção das condições de saúde das pessoas e prospecção de novos fármacos (HAMILTON, 2003; GOMES et al., 2007; IBIAPINA, 2014).

Homeopatia é uma especialidade médica e farmacêutica que consiste em ministrar ao doente, doses mínimas do medicamento, de acordo com a lei dos semelhantes, para evitar a agravamento dos sintomas e estimular a reação orgânica na direção da cura (FONTES, 2013).

Os medicamentos usados em homeopatia têm origem nos diferentes reinos da natureza, assim como nos produtos químico-farmacêuticos, substâncias e/ou materiais biológicos, patológicos ou não, além de outros agentes de diferente natureza (Farmacopeia Homeopática Brasileira, 2011).

Para produzir medicamentos homeopáticos a partir de vegetais, a primeira etapa é a produção de Tintura mãe (TM). A TM é uma preparação farmacêutica, na forma de solução, resultante da ação dissolvente e/ou extrativa de um insumo inerte hidroalcoólico sobre determinado insumo ativo a partir da qual são obtidos os medicamentos homeopáticos dinamizados (Farmacopeia Homeopática Brasileira, 2011).

O Reino Vegetal constitui a maior fonte para a preparação de medicamentos homeopáticos. O vegetal pode ser usado inteiro e/ou suas partes, nas diversas fases vegetativas, tais como: parte supraterrânea, folha, flor, casca, lenho, rizoma, fruto, e semente (Farmacopeia Homeopática Brasileira, 2011).

A Tintura mãe homeopática foi desenvolvida por Hahnemann para extrair princípios curativos dos vegetais, através de álcool, para serem administrados desta forma e, depois como ponto de partida para o processo de dinamização. As TM's são usadas em tratamentos homeopáticos que envolvem problemas de saúde leves a graves e seus efeitos benéficos foram parcialmente atribuídos à presença de fitoquímicos. Entre os fitoquímicos estão os compostos fenólicos, flavonóides e taninos. A importância da TM têm se tornado cada vez mais evidente devido aos efeitos benéficos à saúde por sua atividade antioxidante, e por serem responsáveis por possíveis ações farmacológicas (ANTOLOVICH et al., 2002).

Neste trabalho foram estudadas treze tinturas mães obtidas a partir de partes (folha, raiz, casca, rizoma, flor) de nove diferentes plantas que são cultivadas na região de Governador Valadares-MG. As TM's foram preparadas pelo processo de maceração de

material vegetal fresco das seguintes plantas: *Petiveria alliacea* (Guiné); *Solidago chilensis* (Arnica); *Erythrina verna* (Mulungu); *Myrciaria dubia* (Camu-camu); *Manilkara longifolia* (Paraju); *Pfaffia glomerata* (Ginseng-brasileiro); *Costus spicatus* (Cana de Macaco); *Spondias tuberosa* (Umbu); *Curcuma longa* (Açafrão da terra). As TM's foram submetidas a teste de viabilidade celular e doseamento de óxido nítrico (NO), quantificação do teor de compostos fenólicos (TPC), atividade antioxidante (AA).

1.1) Importância de utilizar testes de viabilidade celular e doseamento de óxido nítrico, quantificação do teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante

A viabilidade celular é um estudo importante, pois irá avaliar a toxicidade das TM's em estudo. A análise de viabilidade celular envolve a utilização de ferramentas que qualificam e/ou quantificam células “vivas”, ou seja, células metabolicamente ativas em uma cultura (ROGERO et al., 2000). Assim, o teste de viabilidade é um método importante para medir os efeitos tóxicos das TM's.

O ensaio de brometo de [3-(4,5-dimetiltiazol-2yl)-2,5-difenil tetrazolium] (MTT) é amplamente utilizado, ele informa sobre a funcionalidade mitocondrial, sendo o primeiro ensaio de viabilidade celular desenvolvido para testes conduzidos em placa de 96 poços. (RISS et al, 2004).

Os macrófagos são as primeiras células a participar da resposta imunológica e podem ser ativados por uma variedade de estímulos. Sua principal função inclui a fagocitose de partículas estranhas, a apresentação de antígenos, a produção de citocinas e espécies reativas de oxigênio (peróxido de hidrogênio – H₂O₂) e nitrogênio (óxido nítrico – NO) (JOHNSTON, 1988).

O óxido nítrico (NO) atua em muitos processos fisiológicos, entre eles na regulação do sistema imune. Além disso, essa molécula também faz parte do arsenal de primeira defesa do organismo com poder microbicida. (FLORA FILHO; ZILBERSTEIN, 2000).

Na maioria dos processos inflamatórios e autoimunes ocorre um alto nível de produção de NO por macrófagos ou por neutrófilos ou outras células ativadas, com o intuito de ser tóxico para micróbios, parasitas ou células tumorais, mas pode também lesar células saudáveis vizinhas (DURNER et al, 1999). Um aspecto marcante desta molécula é a sua capacidade de ser benéfica ou potencialmente tóxica dependendo da concentração ou depuração tecidual (FLORA FILHO, ZILBERSTEIN, 2000).

Assim o doseamento de NO é importante para poder selecionar TM's que possam ter capacidade de reduzir a produção de NO quando este estiver elevado no organismo (processo inflamatório), e gerar possíveis efeitos benéficos à saúde.

A quantificação de compostos fenólicos nas TM's também é um estudo importante, pois estudos com extratos contendo compostos fenólicos demonstraram poder antioxidante. No reino vegetal são encontradas várias fontes de antioxidantes naturais. (WETTASINGHE & SHAHIDI, 1999).

Os antioxidantes podem ser divididos em duas classes: com atividade enzimática e a sem atividade. Antioxidantes com atividade enzimática são os compostos capazes de bloquear a iniciação da oxidação, ou seja, as enzimas que removem as espécies reativas ao oxigênio. Na segunda classe (sem atividade enzimática), estão moléculas que interagem com as espécies radicalares e são consumidas durante a reação. Nesta classificação, incluem-se os antioxidantes naturais e sintéticos como os compostos fenólicos (MOREIRA & MANCINI-FILHO, 2004).

Os compostos fenólicos são produtos originados do metabolismo secundário das plantas. Eles se formam em condições de estresse como, infecções, ferimentos, radiações UV e se diferem em estrutura química e reatividade (NACZK, 2004).

Quimicamente são constituídos por anéis aromáticos com um ou mais grupos hidroxil substituintes no anel. Existem cerca de cinco mil fenóis, dentre eles, destacam-se os flavonóides, ácidos fenólicos, fenóis simples, cumarinas, taninos, ligninas e tocoferóis (SHAHIDI & NACZK, 1995).

Existem vários métodos espectrofotométricos para quantificação de compostos fenólicos em alimentos e plantas. Esses métodos são baseados em diferentes princípios e são usados para quantificar fenólicos totais, determinar um composto fenólico específico ou uma classe de fenólicos (BRUNE et al, 1991; ANGELO & JORGE, 2007).

O método utilizado para avaliar o TPC foi Folin-Ciocalteu. O reagente de Folin-Ciocalteu é mais sensível à redução pelos fenóis e diminui a tendência à precipitação. (BRUNE et al, 1991; MAXSON, 1972).

O estudo dos compostos fenólicos é interessante, pois eles possuem ação benéfica para o organismo vivo. Eles atuam como antioxidantes em concentrações relativamente baixas, enquanto em altas concentrações comportam-se como pro oxidantes, visto que são suscetíveis à oxidação (ROBARDS, 2003), além disso, contribuem para a redução do risco de doenças como catarata, câncer, aterosclerose, isquemia, alterações no sistema nervoso, dentre outras (TEMPLE, 2000).

Pesquisas envolvendo compostos antioxidantes oriundos de fontes naturais têm sido desenvolvidas em diferentes centros de estudos devido a sua importância na prevenção do desencadeamento das reações oxidativas, tanto nos alimentos como no organismo animal. Os antioxidantes podem agir retardando ou prevenindo a oxidação do substrato envolvido nos processos oxidativos impedindo a formação de radicais livres (HALLIWEL, 1995).

Existem diversos métodos para avaliar a atividade antioxidante, o aplicado foi o ensaio de DPPH(2,2-difenil-1-picrilhidrazil), pois é um método espectrofotométrico *in vitro* mais utilizado atualmente. Este método é considerado, do ponto de vista metodológico, um dos mais fáceis, precisos e reprodutivos na avaliação da atividade antioxidante de sucos de frutas, extratos vegetais e substâncias puras, tais como flavonoides e terpenoides.

A escolha deste projeto foi com o intuito de descobrir plantas medicinais cultivadas na região de Governador Valadares, que tivesse poucos estudos científicos. A partir das plantas medicinais produzir TM's e realizar estudos, para fazer uma triagem de quais TM's teriam um uso potencial no cotidiano, podendo as tinturas serem utilizadas na alopatia.

2) Revisão na Literatura Científica

2.1) *Petiveria alliacea*

A *Petiveria alliacea* (Guiné) pertence à família Phytolaccaceae possui cerca de 17 gêneros e 125 espécies, distribuídas principalmente nas regiões tropicais e subtropicais mundiais.

Originária da floresta Amazônica e distribuída em outras áreas incluindo a América Tropical, Caribe, África, Sri Lanka e o sudeste dos Estados Unidos (ALONSO, 1998). No Brasil são muito encontrados na Região Amazônica, todo Nordeste, Mato Grosso, São Paulo, Rio de Janeiro e Minas Gerais.

A *P. alliacea* é uma planta aromática de 30 centímetros a 1 metro de altura, um subarbusto perene, sublenhoso, ereto, pouco ramificado, com ramos compridos, delgado, ascendentes; folhas curto-pecioladas, alternadas, estipuladas, membranosas, agudas no ápice estreitas na base; flores sésseis, pequenas, reunidas em inflorescências axilares terminais espiciformes de coloração alva; androceu com 4 estames, gineceu unicarpelar com ovário súpero; fruto aquênio cilíndrico, achatado e crenado (DI STASI et al., 1989).

A espécie é conhecida popularmente no Brasil como guiné, raiz-de-conconha, raiz-de-guiné, raiz-de-gambá (PE e SP), tipi, caá, erva-deguiné, cangambá, embiaiando, erva-de-alho (MT), gerataca, gorana-timbó, gorarema, gorazema, iratacaca, macur, mocura-caá (AM),

ocoembro, paraacaca, paracoca, pipi (RJ), entre outros (KUBEC & MUSAH, 2001; KUBEC et al., 2003).

A planta inteira é constituída por triterpenos, cumarinas, betasitosterol, pinitol, alantoína (alcalóide), álcool lignocerílico, ácido lignocérico, lignocerato de lignoceril, alfa-friedelonol, nitrato de potássio, ácido palmítico, ácido linoleico, ácido nonadecanóico, sitosterol, ácido esteárico e ácido oleico (ALONSO, 1998).

As folhas contêm alantoína, nitrato de potássio, álcool lignocerílico, lignocerato de lignocerila, ácido nonadecanoico, ácido oleico, ácido palmítico, ácido esteárico (SOUSA et al. 1987). Há presença ainda de esteróides, terpenóides (isoarborinol, acetato de isoarborinol e cinamato de isoarborinol), saponinas, polifenóis e taninos (RIVAS, 1988).

As principais atividades biológicas de *P. alliacea* se enquadram dentro do campo da infectologia, reumatologia e oncologia. O extrato hidroalcoólico à 70% elaborado a partir das partes áreas tem atividade antimalárica *in vitro* frente a cepas de *Plasmodium falciparum* em doses de 100µg/mL (SAUVAIN, 1989).

2.2) *Solidago chilensis*

O gênero *Solidago* (Asteraceae) possui 80 espécies, destas, 37 contam com alguns estudos. As espécies possuem, de forma geral, atividade anti-inflamatória, antimicrobiana e analgésica (TAMURA, 2009; GOULART 2007; TORRES, 1985).

Essa planta pertence à ordem Asterales Lindl, família Asteraceae Bercht. & J. Presl, gênero *Solidago* L., espécie *Solidago chilensis* Meyen e consta na 1º Ed. da Farmacopeia Brasileira (1926) (TROPICOS, 2009).

Alguns autores ainda consideram como sinônimo *Solidago microglossa* (TROPICOS, 2009). Popularmente é denominada de arnica-brasileira, arnica-silvestre, erva-lanceta, espiga-de-ouro, lanceta, macela-miúda, rabo-de-rojão e sapé-macho (OLIVEIRA, 1998; BRASILEIRO, 2006).

Solidago chilensis é encontrada em muitos países da América do Sul, particularmente nas regiões sul e sudeste do Brasil (TORRES, 1985), sendo utilizada popularmente como sucedânea da *Arnica montana* (arnica-verdadeira) (SCHMEDA-HIRSCHMANN, 2002).

É um vegetal ereto medindo até 1 metro de altura por 1,5 cm de espessura na base. Possui um caule simples, não ramificado, de cor verde claro a acinzentado. O colênquima subepidérmico é pouco desenvolvido e os feixes vasculares são do tipo colateral aberto, relacionados com canais secretores. Suas folhas são sésseis, serrilhadas na porção distal,

alternas, membranosas, com até 10 cm de comprimento, 1,5 cm de largura e lisas. (OLIVEIRA, 1998).

Estudos fitoquímicos demonstraram nas partes aéreas a presença de alcalóides, taninos e flavonóides, no verão e inverno. Na primavera encontra-se somente a presença de taninos e flavonóides (CHICOUREI, 1997). Óleo essencial, ácidos carboxílicos, terpenóides e hidrocarbonetos alifáticos também foram encontrados na planta, sendo suas raízes ricas em diterpenos (MOREL, 2006; TORRES, 1985).

A quercitrina, composto fenólico da classe flavonóide, identificado na planta, também está presente em outras plantas com atividade anti-inflamatória. Estudos do efeito desse composto demonstrou sua atividade anti-inflamatória (MIRANDA, 2001; MEDINA, 2002).

2.3) *Erythrina verna*

Erythrina spp. é um gênero botânico da família Leguminosae (*Fabaceae*), possui mais de cem espécies, presentes em regiões tropicais e subtropicais de ambos os hemisférios. São árvores de porte médio, com madeira mole, flores grandes, vistosas, vermelhas ou alaranjadas. São conhecidas popularmente pelos nomes de mulungú, suinã, suiná, sapatinho-de-judeu, canivete, bico-de-papagaio, comedoi, molongo, murungu, corticeira, sananduva, pau-imortal; **coral tree, coral bean tree** (inglês) (CORREA, 1984; LORENZI, 1992).

Erythrina verna possui uma árvore que mede entre 15 e 20 metros de altura, com espinhos triangulares ao longo dos troncos. As folhas são compostas, longamente pecioladas, trifoliadas, e medem até 12 cm de comprimento (LORENZI, 1992; CARVALHO, 2008).

No Brasil mais de cem espécies são conhecidas como mulungu, os povos indígenas utilizam algumas espécies de *Erythrina* para preparar o curare, poção paralisante da musculatura, empregada para embeber flechas e dardos usados na caça e pesca. Também é utilizada espécie de *Erythrina* como base de bebidas alucinógenas em rituais. A ação neurotrópica da planta é explicada pela presença de alcaloides eritrínicos, encontrados principalmente nas sementes e na casca (FEITOSA 2005; MORAES, 2014).

Há descrição da presença de flavonóides (homohesperidina, faseolina), fenólicos prenilados (faseolidina), triterpenos pentacíclicos (lupeol, eritrodiol), fitoesteróides (betasistosterol, estigmasteroel) e alcalóides nas cascas de mulungu (PANIZZA, 2012).

Estudos em fitomedicina envolvendo várias partes de espécies de mulungu têm demonstrado ação sedativa, ansiolítica, anticonvulsivante, e bloqueadora neuromuscular, por meio de ativação de receptores GABA_A, liberação de acetilcolina, ativação de receptores

muscarínicos e liberação de cálcio intracelular (CARVALHO et al, 2009; MARCHIORO et al, 2005; VASCONCELOS et al, 2007).

2.4) *Myrciaria dubia*

A espécie *Myrciaria dubia* é uma frutadeira nativa de porte arbustivo, família *Myrtaceae*, natural da Amazônia, encontrado nas margens inundáveis dos rios e lagos da Bacia Amazônica, região de várzea e igapó (VILLACHICA, 1996; SILVA, 2001).

Essa planta distribuiu-se por grande parte da Amazônia brasileira, nos Estados do Pará, Amapá, Amazonas, Rondônia, Roraima e Mato Grosso. É encontrada, ainda, na Amazônia peruana e na Amazônia venezuelana (MCVAUGH, 1963).

No Brasil a espécie é conhecida por diversos nomes: araçá, araçarana, araçzinho, araçá-d'água, araçá-do-lago, caçari, murta, sarão e socoró, entretanto, o nome popular mais comum é camu-camu, uma denominação que a espécie recebeu no Peru e é encontrada na maioria das referências sobre *Myrciaria dubia* (VILLACHICA, 1996).

Existe a necessidade de pesquisas de prospecção para o levantamento da distribuição das populações nativas de camu-camu e conhecimento sobre os padrões genéticos por causa da variabilidade encontrada para as populações estudadas na Amazônia (TEIXEIRA et al., 2004).

O camu-camu possui frutos que são promissores para a indústria alimentícia e farmacológica, tendo como função de conservante antioxidante, cosméticos, sucos e pastilhas de vitamina C. Seus frutos apresentam elevado conteúdo de ácido ascórbico. (ENCISO NARAZAS, 1992; ROCA, 1965; YUYAMA et al., 2002).

Os principais compostos bioativos presentes no camu-camu são, vitamina C, β -caroteno, luteína, flavonóides não antocianínicos, ácido elágico e antocianinas (RIBEIRO, 2012).

2.5) *Manilkara longifolia*

Manilkara longifolia é uma planta natural da costa leste brasileira, presente nos estados da Bahia e Espírito Santo (FABRIS, 2013).

Conhecida popularmente no Brasil como Paraju, *M. longifolia* pode ser reconhecida pelo caule com ritidoma formando placas lenhosas, casca interna vinoso-escuro, com abundante látex; ramos robustos com cicatrizes foliares proeminentes; folhas longas dispostas no ápice dos ramos, douradas na superfície abaxial, com grande quantidade de nervuras

secundárias paralelas conspícuas; pelos frutos globosos a discóides, de mesocarpo carnosos fortemente latescente, com cálice reflexo e estilete persistente (FABRIS, 2013).

Podem ser extraídas da madeira de Paraju, por intermédio de solventes orgânicos ou por volatilização, constituintes secundários. Constituintes que podem conter na madeira abrangem taninos, óleos, gomas, resinas, corantes, sais de ácidos orgânicos, compostos aromáticos, depositados preponderantemente no cerne, conferindo-lhe coloração mais acentuada e maior densidade (HELLMEISTER, 1983).

Existem poucos estudos relacionados à *Manilkara longifolia*.

2.6) *Pfaffia glomerata*

Pfaffia glomerata pertence à família *Amaranthaceae* e encontra-se distribuída em toda América do Sul, tropical e subtropical, desde as Guianas até Bolívia, Brasil e Argentina (TESKE E TRENTINI, 2001).

Apresenta distribuição geográfica ampla em todo o Brasil, com respectiva utilização medicinal tanto na região amazônica, na região nordeste como no sul-sudeste (CARRICONDE, 1994; VAN DEN BERG, 1982).

Pfaffia glomerata é conhecida como fáfia, ginseng do pantanal ou ginseng brasileiro, considerada como sucessora do ginseng verdadeiro (*Panax ginseng* C.A. Meyer).

Em estudos farmacológicos encontrou-se atividade antimicrobiana (ALCÂNTARA & ANDRADE, 1994) e de atividade analgésica em modelos animais pelo método da placa quente (SILVA et al., 1998).

Suas propriedades medicinais foram comprovadas como anti-inflamatório e analgésico (NETO ET AL., 2005; QUEIROGA ET AL., 2008), no processo de cicatrização de feridas da pele (GUERREIRO ET AL., 2009; SILVA ET AL., 2010) e no efeito protetor da mucosa gástrica (OTOFUGI, 2005), ação benéfica na aprendizagem e memória de ratos idosos em modelos crônicos (MARQUES, 1998).

As raízes de *P. glomerata* são ricas em saponinas, ácido famérico, ácido glomérico, ácido oleanólico, ecdisterona, rubrosterona, D-glicopiranosil-oleanolato, com importantes atividades farmacológicas. Destaca-se a β -ecdisona, que apresenta atividade adaptógena contra estresses físico e mental (SHIOBARA et al., 1993; VIGO et al., 2003; KAMADA et al., 2009).

2.7) *Costus spicatus*

A *Costus spicatus* é uma espécie pertencente família Zingiberaceae (MENEZES, 2007), também denominada cana do macaco ou cana-do-mato, é uma planta fitoterápica, nativa em quase todo o Brasil, principalmente na mata atlântica e região amazônica (SILVA JUNIOR, 1998). O rizoma desta planta é utilizado para o tratamento de patologias da bexiga e uretra e para expelir pedras nos rins. A infusão das partes aéreas é empregada no tratamento de constipação, dor na garganta, diarreia (SILVA et al, 2000). Sua utilização na medicina tradicional ainda inclui o uso das folhas, hastes e rizomas como diurético e tônico (LORENZI & MATOS, 2008).

A ação antioxidante da *C. spicatus* ainda não está bem esclarecida. Contudo, estudos mostram que muitas espécies das Zinziberaceae podem sequestrar radicais livres (Haraguchi et al, 1996).

Análises químicas realizadas com as porções aéreas da *Costus spicatus* permitiram o isolamento de flavonóides como quercetina 3-O-neohesperidosídeo, diglicosídeos flavônicos(tamarixetina 3-O-neohesperidosídeo, o canferídio 3-O-neohesperidosídeo)(SILVA et al, 2000). Na sua composição química é registrada ainda a presença de ácido oxálico, taninos, saponinas, mucilagens e pectinas (VIEIRA & ALBURQUEQUE, 1998).

2.8) *Spondias tuberosa*

A *Spondias tuberosa*, popularmente chamada de umbu, o umbuzeiro é uma planta frutífera do gênero *Spondias*, nativa de regiões semiáridas do Nordeste brasileiro e pertencente à família das anacardiáceas. É uma arvore de pequeno porte, copa em forma de guarda-chuva, esparramada, tronco curto, galhos retorcidos e muito ramificados. É uma planta xerófila e caducifólia, por isso adaptada ao calor, aos solos pobres e de baixa densidade pluvial (MENDES, 1990).

As folhas do umbu são compostas, com folíolos dísticos e elípticos. A estrutura foliar mostra caracteres anatômicos mesomórficos relacionados às condições ambientais em que a espécie vive (NASCIMENTO-SILVA & PAIVA, 2007).

Uma análise etnofarmacológica da *Spondias tuberosa* identificou usos diversos para tratamento de algumas patologias, sendo elas: diabetes, inflamações, cólicas uterinas, dores de estômago e hipocolesterolemia (LINS NETO et al., 2010).

A *Spondias tuberosa* Arruda (Anacardiaceae), é uma das mais importantes espécies endêmicas do semiárido brasileiro, pois é da vegetação semelhante à savana e é amplamente usado para alimentação, fins medicinais e lenha para combustível (LINS NETO et al. 2010).

Seu principal produto é a fruta, ela possui um gosto ácido que é amplamente apreciado, entretanto as folhas e cascas também possuem muitas utilizações na medicina popular para o tratamento de diferentes doenças, como diabetes, distúrbios lipídicos, diarreia, inflamação, conjuntivite, doenças venéreas, cólicas menstruais, parto placentário, infecção renal, afecções da garganta e antiemético (ARAÚJO et al. 2008 , LINS NETO et al. 2010).

O umbu possui compostos antioxidantes como fenólicos, carotenóides e vitamina C. No entanto, pouco se sabe sobre a composição da semente, que contém óleo, proteína e alguns minerais, por isso devem ser feitos mais estudos com o intuito de investigar suas propriedades (RIBEIRO et al, 2019).

2.9) *Curcuma longa*

A *Curcuma longa* L., é uma planta medicinal conhecida no Brasil popularmente como Cúrcuma, Curcumã, Falso-açafrão, Açafrão, Gengibre dourado, Açafrão da terra e Tumeric (MALLMANN, 2012). A *Curcuma longa* possui semelhança botânica com as espécies *Amomum curcuma* Jacq, *Curcuma doméstica* Valetton, *Stissera curcuma* Raeusch da família *Zingiberaceae* (LINNAEUS, 2014; BRASIL, 2010).

Esta planta é originária do sudeste da Ásia, sendo encontrada principalmente nas encostas de morros das florestas tropicais da Índia. Foi introduzida no Brasil, e é cultivada ou encontrada como subespontânea em vários estados (SCARTEZZINI e SPERONI, 2000).

É uma herbácea que possui caule subterrâneo, de coloração alaranjado, rizomas secundários que vem sendo utilizada na indústria alimentícia e farmacêutica em variadas formas como: cápsula, comprimido, nanopartículas, cremes, microcápsulas, gel, pó, devido às características sensoriais, produção de óleos essenciais, e corantes (BERNI 2014).

A *Curcuma longa* apresenta vários constituintes químicos ativos como os compostos fenólicos e curcuminoides presentes nos extratos etanólicos. Já no óleo volátil de *Curcuma longa* apresenta tumerona, ar-tumerona, β -tumerona, α -turmerona, terpinoleno, car-3-eno, α -felandren, 1,8-cineol, zingibereno, β -sesquifelandreno, turmerol, α -atlantona, curlona, α -terpineno, γ -terpineno, linalool, cânfora e beta-cariofileno (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2015).

Quanto aos componentes químicos já descritos na droga vegetal, pode-se citar também elementos inorgânicos também foram demonstrados, incluindo: potássio, cálcio, sódio, magnésio, zinco, ferro, cobre e manganês (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2015).

A cúrcuma possui diversos constituintes ativos e possui ampla utilização, por exemplo, como anti-inflamatório, anticancerígeno, antimicrobiano, para tratamento da artrite e artrose, pode ser usado também como corante (CECILIO FILHO et al, 2000).

3) OBJETIVO GERAL

O objetivo geral deste trabalho é realizar um teste de triagem em tinturas mãe homeopáticas produzidas a partir de espécies vegetais cultivadas na região de Governador Valadares-MG, avaliando a atividade antioxidante e inibição de óxido nítrico dessas tinturas.

3.1) Objetivos específicos

- Produzir novas Tinturas mãe homeopáticas a partir de espécies: *Petiveria alliacea* (Guiné); *Solidago chilensis* (Arnica); *Erythrina verna* (Mulungu); *Myrciaria dubia* (Camu-camu); *Manilkara longifolia* (Paraju); *Pfaffia glomerata* (Ginseng-brasileiro); *Costus spicatus* (Cana de Macaco); *Spondias tuberosa* (Umbu); *Curcuma longa* (Açafrão da terra);
- Verificar a viabilidade celular de macrófagos RAW 264.7 tratados com os extratos 1-13;
- Dosar óxido nítrico no sobrenadante de cultura de macrófagos RAW 264.7 tratados com os extratos 1-13;
- Quantificar o teor de compostos fenólicos totais;
- Determinar atividade antioxidante das TM's.

4) METODOLOGIA

4.1) Seleção e coleta das plantas

Foi realizado um levantamento de locais onde são cultivadas plantas medicinais na região de Governador Valadares. O local selecionado foi o sítio Pindorama, situado há 10km de Governador Valadares, no Vale do Rio Doce. A partir disso fez-se uma pesquisa com o intuito de selecionar algumas plantas pouco exploradas cientificamente e que eram cultivadas no sítio. As plantas selecionadas foram: *Petiveria alliacea*; *Arnica montana*; *Eythrina verna*; *Myrcuaria dubia*; *Manilkara longifolia*; *Pffafia glomerata*; *Costus spicatus*; *Spondias tuberosa*; *Curcuma longa*.

A localização das plantas foi feita a partir do saber popular. Utilizou-se podão e faca apropriada para coleta, preservando a vida da planta. As partes coletadas em geral foram casca do tronco em excesso das plantas adultas; rizoma; raiz; folhas e flor. Foi coletado somente plantas bem desenvolvida e com aspecto sadio. O horário de coleta foi no período da manhã.

4.2) Preparação das TM's a partir de planta fresca

As plantas foram levadas ao laboratório após a coleta e foram selecionadas as partes sadias e limpas, livres de insetos ou doenças, e lavados em água corrente, com muito cuidado. As partes mais delicadas como folhas foram lavadas com as mãos; as partes mais duras, como cascas, raízes e rizomas usou-se uma escova nova e macia. Não utilizou-se sabão ou produtos de limpeza. Depois as folhas, raízes e rizomas foram enxaguados com água purificada. As partes foram espalhadas em cima de um papel absorvente e com um pano limpo e seco enxugadas com cuidado para não serem danificadas.

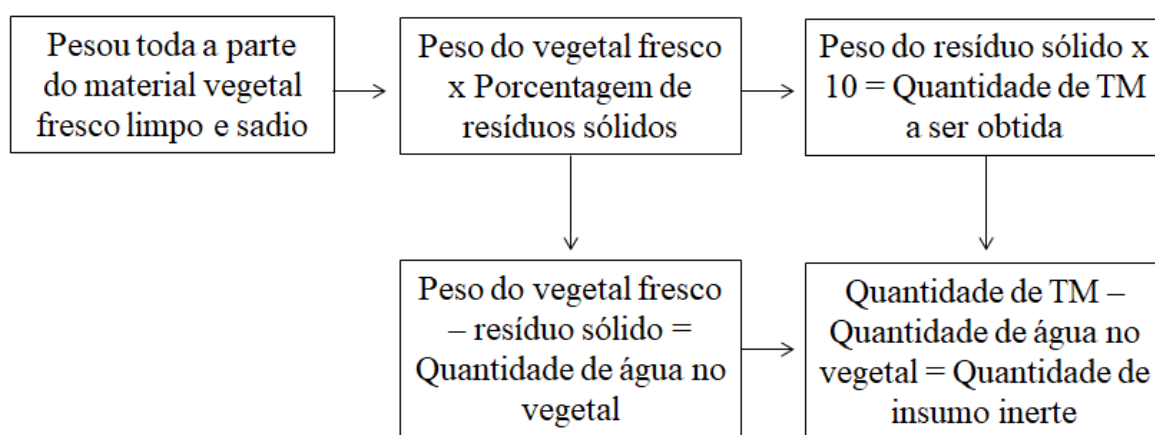
Para preparação das TM's foi calculado o resíduo sólido (r. sol.) das partes coletadas. Pesou-se cerca de 20g das plantas limpas em uma cápsula de porcelana, para isso pequenos fragmentos foram rasurados e foi espalhado as partes da planta para evitar que os fragmentos ficassem sobrepostos. A cápsula foi colocada em uma estufa cerca de 100°C e a cada 5 minutos foram calculados os pesos da cápsula e anotado o valor, até que a planta eliminasse toda a água e atingisse um peso constante. Esse peso obtido refere-se ao r. sol. da planta. Foi então calculado a porcentagem do r. sol. na amostra para cada planta. Em seguida essa porcentagem de r. sólido foi multiplicado por 10 para obter a quantidade final da TM em volume conforme é preconizado pela Farmacopeia Homeopática Brasileira 3ª ed (FONTE, 2013). A amostra de cada planta que foi utilizada para calcular o r. sol. foi descartada.

O líquido extrator foi uma mistura de água e álcool cujo teor alcoólico depende da porcentagem do r. sol. (Tabela 1).

Tabela 1. Líquido extrator utilizado na preparação da TM's a partir de vegetal fresco. (FONTE, 2013).

Resíduo sólido	Teor alcoólico
Até 29%	Usar etanol a 90% (v/v)
Entre 30 e 39%	Usar etanol a 80% (v/v)
Igual ou acima de 40%	Usar etanol a 70% (v/v)

A partir da Tabela 1 foi determinado o teor alcoólico do líquido extrator. A quantidade de líquido extrator necessária foi calculada a partir do volume da quantidade final de TM's subtraído pela quantidade de água presente na planta, mostrado no esquema 1.



Esquema 1. Produção das Tinturas mães de acordo com a Farmacopeia homeopática.

A relação resíduo sólido/volume final de TM's foi de 1/10 (p/v) (10%). E por fim foi calculado o teor hidroalcoólico da TM's.

Após a realização dos cálculos para obtenção do r. sólido e volume final das TM's iniciou-se o processo de maceração. Foi pesado o material vegetal disponível, devidamente limpo, rasurado e então foi acrescentado o volume total do álcool etílico no teor e volumes já previamente calculados. A mistura do vegetal e álcool foi colocada em frascos âmbar de vidro, ao abrigo da luz em temperatura média de 25°C. As tinturas foram agitadas três vezes ao dia, durante 15 dias. O macerado foi filtrado, o resíduo vegetal foi prensado e o líquido obtido foi medido em uma proveta. As TM's que não obtiveram o volume final de acordo com o volume calculado, foram acrescentadas o mesmo líquido extrator, ou seja, a mesma solução hidroalcoólica para completar volume final da TM equivalente a 10% do valor de r. sólido obtido. As TM's compostas de parte vegetal com água destilada e álcool 70% passaram pelo processo de filtração a vácuo e foram novamente colocadas em outro vidro âmbar e rotuladas.

As TMs foram obtidas e para realizar os testes NO e viabilidade celular pelo método MTT foi necessário padronizar todas as TMs na mesma concentração de 10mg/mL. Para isso, foi necessário fazer uma concentração dos extratos utilizando o rotaevaporador. Para realizar esse método pesou-se um balão de fundo redondo e anotado o valor, em seguida adicionou-se um pequeno volume da TM no balão, acoplado-o de forma hermética ao braço giratório do rotaevaporador, para que a bomba a vácuo, ligada ao sistema, pudesse promover um aumento de pressão. Também foi utilizado um banho de gelo com bomba recirculante. O solvente extrator que foi o etanol possui baixo ponto de ebulição, assim ocorreu uma evaporação desse solvente concentrando a amostra de TM. O material coletado foi pesado após a retirada do solvente para obter uma massa da TM sem solvente. Dessa massa de TM foi coletado 10mg de cada extrato em eppendorf para realização dos ensaios biológicos. O restante foi ressuspendido com o líquido extrator e armazenado em frasco âmbar de vidro.

4.3) Ensaios biológicos

4.3.1) Cultura de RAW 264.7

Macrófagos murinos RAW 264.7 foram cultivados em meio *Roswell Park Memorial Institute* (RPMI) 1640 suplementado com 10% de soro bovino fetal, 1 % de aminoácidos essenciais e 0,5% de solução penicilina/estrepctomicina (10.000 UI/mL, 10.000 mg/mL, respectivamente). Após atingirem confluência, as células foram ressuspendidas e contadas em câmara de Neubaner e foram colocadas em placas de 96 poços na concentração de 2×10^5 células/mL para o ensaio de viabilidade por MTT e dosagem de NO por Griess. As células foram então incubadas em atmosfera úmida de 5% de CO₂ a 37 °C.

4.3.2) Avaliação da citotoxicidade dos extratos em macrófagos RAW 264.7 tratados com extratos

A viabilidade dos macrófagos RAW 264.7 foi determinada pelo método colorimétrico do MTT (corante *Thiazolyl Blue Tetrazolium Bromide*- Sigma, St, Louis, MO, USA). Para o teste, após o tempo de cultura de 48 horas, os sobrenadantes da cultura de macrófagos tratados com extratos 1-13 nas concentrações de 2,5µg/mL, 5,0µg/mL e 10µg/mL foram descartados e a seguir 100 µL de RPMI-1640 foram adicionados em todos os poços, e por fim adicionados 10 µL de MTT (5 mg/mL). As placas foram incubadas a 37 °C em estufa com 5% de CO₂. Transcorrido o período de 4 horas a reação foi finalizada com a retirada do meio de cultura e adição de 100 µL de DMSO. A leitura de absorbância foi feita em leitor de microplaca *Multiskan™ FC* Microplate Photometer em comprimento de onda de 570 nm. Os dados foram

inseridos e analisados no programa Prisma 6.0 a partir do teste Mann-Whitney e considerados significantes quando $p < 0,005$.

4.3.3) Determinação da produção de óxido nítrico (NO) por macrófagos RAW 264.7 tratados com extratos

A concentração de NO (indiretamente determinada pela dosagem de nitrito) foi medida pelo método de Griess, no sobrenadante de 48 horas de cultura de macrófagos RAW 264.7 estimulados com LPS (1 $\mu\text{g/mL}$) e IFN- γ (0,9 ng/mL) e foram tratados com extratos 1-13 nas concentrações de 2,5 $\mu\text{g/mL}$, 5,0 $\mu\text{g/mL}$ e 10 $\mu\text{g/mL}$. Para controle foram utilizadas células estimuladas não tratadas.

Para realização do teste 100 μL de sobrenadante de cada poço foram transferidos para placas de 96 poços, posteriormente foi acrescentado igual volume de reagente de Griess (1% de sulfanilamida, 0,1% de *N*-(1-naftil)-etileno diamina hidrocloreto, 5% H_3PO_4 , Sigma, St. Louis, MO, USA). A produção de nitritos foi quantificada pela comparação a uma curva padrão com diferentes concentrações de NaNO_2 . A absorbância medida a 540 nm.

4.4) Testes de determinação de compostos fenólicos

O teste de determinação de compostos fenólicos foi a partir do método Folin-Ciocalteu Swain e Hillis (1959).

Para isso foram pipetados 100 μL da TM (amostra), adicionado 1mL de reagente de Folin 10 vezes diluído em água destilada, fechou os frascos, homogeneizou, e deixou por 3 minutos de repouso ausência de luz. Depois adicionou 1mL de solução saturada de Na_2CO_3 em água destilada (7,5 %; m/v ou 75g/L) e foi homogeneizado. A partir daí foi acrescentado 1mL água destilada, foram tampados os frascos e deixado de repouso por 2 h ao abrigo da luz. A leitura absorbância foi a 760 nm (UV visível) em espectrofotômetro.

O branco foi preparado substituindo-se 1 mL do extrato fenólico por 1 mL água destilada. As amostras foram realizadas em triplicatas. Os resultados foram calculados com base na curva-padrão de ácido gálico, preparada nas mesmas condições que a amostra. O conteúdo fenólico total foi expresso em g equivalente de ácido gálico/ g de material vegetal fresco e em mg ácido gálico/ L tintura mãe.

4.5) Testes de antioxidantes

A atividade antioxidante foi determinada pelo ensaio do radical livre DPPH, de acordo com a metodologia descrita por BRAND-WILLIAMS, CUEVELIER e BERSET (1995), tendo algumas modificações.

O princípio do ensaio do DPPH é a redução do radical livre estável 2,2- difenil-1-picrilhidrazil, o qual apresenta o máximo de absorção a 515-520nm. Ao abstrair um radical hidrogênio do antioxidante em estudo, observa-se uma diminuição da absorbância e da coloração. Utilizando o radical DPPH foi possível determinar a capacidade antioxidante das TM's em relação à sua atividade sequestradora de radical (ASR).

Para isso, pipetou-se 0,1mL de cada extrato etanólico e adicionou-se 3,9mL de solução de DPPH 0,06mM. O branco foi preparado substituindo 1mL do extrato etanólico por 1mL de etanol absoluto 99,9% pureza. A absorbância do branco (A_0) foi determinada imediatamente após a mistura (tempo zero) e a absorbância dos extratos etanólico (A_{30}) foram lida após 6h de repouso no escuro. As leituras espectrofotométricas foram feitas em 517 nm.

As atividades antioxidantes das tinturas-mãe foram determinadas em triplicata. Diferentes diluições do extrato foram usadas (tabela 2), gráficos relacionando as porcentagens de inibição *versus* as diluições foram construídos para determinar o IC50. A concentração de DPPH remanescente (DPPHr) no meio de reação foi calculada com base na curva de calibração de DPPHr. A atividade antioxidante de cada tintura-mãe foi expressa pelo IC50, em % radical DPPH remanescente, μ moles DPPH reduzidos / mL de TM; pelo valor TEAC (atividade antioxidante equivalente ao Trolox, em mM), utilizando a curva padrão de Trolox; e em % Inibição (%I), segundo a equação descrita a seguir:

$$\%I = \frac{(A_0 - A_t)}{A_0} \times 100$$

O A_0 é a absorbância do branco no tempo zero e A_t a absorbância da amostra após “t” min de repouso no escuro.

Tabela 2. Diluições das TM's utilizados no ensaio de DPPH

Diluição de todas as TM's	1/7	2/7	3/7	4/7	5/7	6/7	1
Volume da TM utilizada para diluição (μL)	140	280	420	570	710	860	1000
Volume de etanol absoluto 99,9% pureza utilizado para diluição (μL)	860	720	580	430	290	140	0
Volume total (μL)	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000

5) RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1) Produção de TM's

Para a produção das tinturas não foram coletadas plantas próximas das estradas, pois estão danificadas pelos gases dos tubos de escapamento de automóveis, nem as que crescem a beira dos campos cultivados, pois estas recebem produtos químicos como adubos ou inseticidas. E também as plantas atacadas por pragas e doenças, pois há alteração na qualidade e teor dos componentes químicos da planta.

Foram produzidas treze tinturas mãe homeopática, listadas na tabela 3, indicando a parte que foi utilizada da planta para produção de cada TM.

Tabela 3. Tinturas mãe homeopáticas produzidas a partir de partes de material vegetal fresco

Tinturas mãe homeopáticas produzidas	Parte utilizada da planta	Peso do material vegetal fresco (g)	Volume final (mL)	Teor alcoólico final
1- <i>Petiveria alliacea</i> (Guiné)	Folha	50,0470	330	66,39%
2- <i>Solidago chilensis</i> (Arnica)	Raiz	39,4705	234	65,16%
3- <i>Erythrina verna</i> (Mulungú)	Casca	50,6018	117	60,20%
4- <i>Erythrina verna</i> (Mulungú)	Folha	50,0486	404	68,33%
5- <i>Myrciaria dubia</i> (Camu-camu)	Folha	50,0479	339	66,66%
6- <i>Manilkara longifolia</i> (Paraju)	Folha	50,7030	260	63,33%
7- <i>Pfaffia glomerata</i> (Ginseng-brasileiro)	Rizoma	50,0200	308	65,62%
8- <i>Pfaffia glomerata</i> (Ginseng-brasileiro)	Flor	20,5640	129	65,83%
9- <i>Pfaffia glomerata</i> (Ginseng-brasileiro)	Folha	29,6250	146	62,82%
10- <i>Costus spicatus</i> (Cana de Macaco)	Folha	50,1932	252	63,04%
11- <i>Costus spicatus</i> (Cana de Macaco)	Raiz	37,6071	230	65,54%
12- <i>Spondias tuberosa</i> (Umbu)	Folha	50,0100	442	69,07%
13- <i>Curcuma longa</i> (Açafrão da terra)	Rizoma	50,2060	444	69,08%

Na Tabela 3 é apresentada uma relação dos volumes obtidos na produção das TM's e seu respectivo teor alcoólico final. Os volumes das TM's variaram entre 117 – 444mL, e o teor alcoólico entre 60,20% – 69,08%. A TM com o menor rendimento em volume e menor teor alcoólico foi a TM 3- *Erythrina verna* (Mulungú), a parte utilizada da planta foi à casca. E a TM com o maior rendimento de volume e maior teor alcoólico foi a TM 13- *Curcuma longa* (Açafrão da terra), e a parte utilizada rizoma. Esses resultados estão em destaque na tabela 3. A diferença do teor alcoólico final entre essas tinturas está relacionada com a parte

do vegetal fresco utilizado na preparação da TM e a porcentagem de água presente nessa parte do vegetal fresco. O rizoma fresco do Açafrão da terra (50,2060g) utilizado para o preparo da TM 13, tinha 5,79mL de quantidade de água e o teor alcoólico da TM foi 69,08%. E 50,6018g da casca do Mulungú fresco, continha 38,86mL de quantidade de água.

5.2) Ensaios biológicos - Avaliação da viabilidade celular e das propriedades imunoestimuladoras

No presente estudo foram utilizadas células da linhagem de macrófagos murinos (camundongos) RAW 264.7. A figura 1 apresenta a viabilidade celular de macrófagos RAW 264.7 tratados com os respectivos extratos, e do controle que corresponde às células não tratadas e não estimuladas. Esse primeiro ensaio teve o objetivo de avaliar se as TM's alteram a viabilidade celular. Os resultados apresentados na figura 1 mostram que as TM's não apresentaram citotoxicidade à cultura de células RAW 264.7 nas concentrações de 2,5; 5,0; 10,0µg/mL, mantendo a viabilidade celular acima de 85%.

Foi possível observar que alguns extratos foram capazes de reduzir a viabilidade de macrófagos RAW 264.7 não estimulados, sendo a TM 2- *Solidago chilensis* (Arnica) parte utilizada raiz, na concentração 5,0 µg/mL a que mais reduziu a viabilidade célula. De acordo com a figura esse extrato obteve 86% de viabilidade.

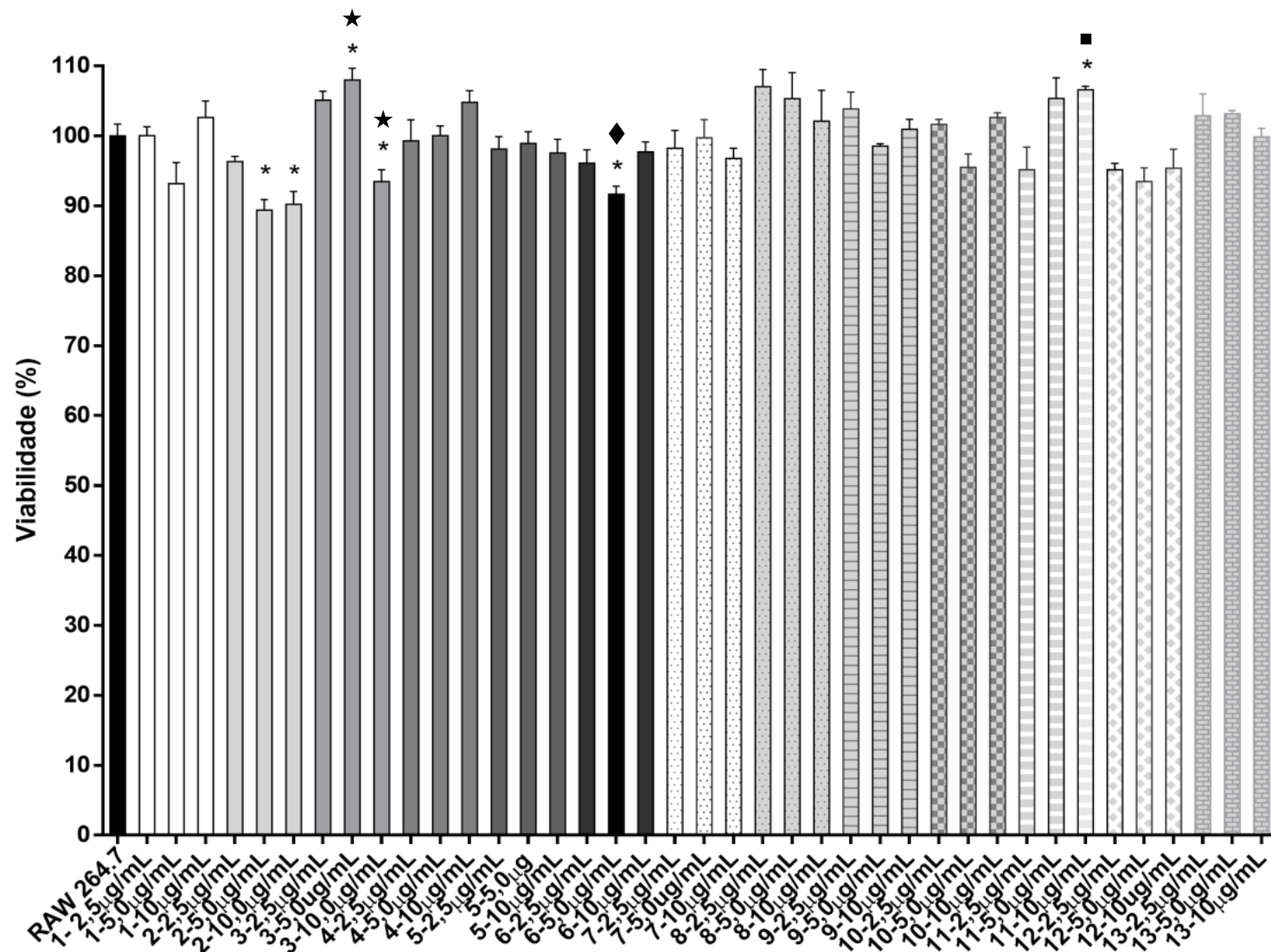


Figura 1. Viabilidade das células de macrófagos RAW 264.7 não estimuladas e não tratadas e células não estimuladas sendo tratadas com os extratos etanólicos das plantas produzidas. * $p < 0,05$ vs TM 2 Arnica(raiz); *★ $p < 0,05$ vs TM 3 Mulungú(casca); *◆ $p < 0,05$ vs TM 6 Paraju(folha); *■ $p < 0,05$ vs TM 11 Cana de Macaco(Raiz).

Com o objetivo de avaliar a propriedade imunomoduladora, as células RAW 264.7 foram estimuladas com lipopolissacarídeo (LPS) e Interferon-gama (IFN- γ), e após 48h foi mensurado a produção de óxido nítrico (NO).

O NO é uma molécula diatômica produzida em células de mamíferos pela enzima NO-sintase, que catalisa a conversão da L-arginina em NO. Trata-se de um radical livre gasoso, considerado como um dos mediadores da inflamação tecidual, mediando não somente atividades pró-inflamatórias, mas também sinais para a regulação do crescimento e diferenciação celular (TEIXEIRA et al., 2005; SILVA, 2007).

O NO desempenha duas funções sobre as células: função regulatória e citotoxicidade. Nas funções regulatórias, é produzido em quantidades reduzidas, sob condições fisiológicas, mediando o relaxamento de vasos, o controle da adesão e a agregação de plaquetas e neutrófilos, estando também envolvido na neurotransmissão (Bredt e Snyder, 1994). No entanto, funções citotóxicas podem ser observadas quando o NO é produzido em grande quantidade (Bellows et al., 2006) por macrófagos, hepatócitos e outras células, após exposição as citocinas ou a outros produtos bacterianos (Moncada et al., 1991).

Na figura 2 são apresentados os resultados de produção de NO por macrófagos RAW 264.7 estimulados com LPS e IFN- γ e de RAW 264.7 estimulados e tratados com as TM's produzidas (extratos etanólicos de plantas) em três concentrações (2,5; 5,0; 10,0 μ g/mL), após 48 horas de cultura. Na concentração 2,5 μ g/mL somente as TM's 5- *Myrciaria dubia* (Camu-camu) parte usada folha e 7- *Pfaffia glomerata* (Ginseng-brasileiro) parte usada rizoma, não foram capazes de inibir a produção de NO em relação ao grupo controle (células RAW264.7 estimuladas não tratadas), as demais TM's foram capazes de inibir nessa concentração.

Na concentração de 5,0 μ g/mL as TM 2 Arnica(raiz) , TM 3 Mulungú(casca), TM 6 Paraju(folha), TM 7 Ginseng-brasileiro(rizoma), TM 8 Ginseng-brasileiro(Flor) , TM 9 Ginseng-brasileiro(folha), TM 10 Cana de macaco(folha), TM 11 Cana de macaco(Raiz), TM 12 Umbu(folha), TM 13 Açafrão da terra(rizoma), reduziram a produção de NO ($p < 0,05$). Ao testar as TM's na concentração 10 μ g/mL as que foram capazes de reduzir a produção de NO foram às tinturas nomeadas como TM 5 Camu-camu(folha), TM 6 Paraju(folha), TM 7 Ginseng-brasileiro(rizoma), TM 9 Ginseng-brasileiro(folha), TM 10 Cana de macaco(folha), TM 11 Cana de macaco(Raiz), TM 12 Umbu(folha), TM 13 Açafrão da terra(rizoma) ($p < 0,05$).

Na linhagem de macrófagos RAW264.7 foi observado que todos os extratos inibiram a produção de NO em alguma concentração testada. Entretanto, os extratos que tiveram os melhores resultados, reduziram a produção de NO de maneira estatisticamente diferente do

padrão e de forma dose dependente foram as TM's 6 *Manilkara longifolia* (Paraju-folha), 12 *Spondias tuberosa* (Umbu-folha), e 13 *Curcuma longa* (Açafrão da terra- rizoma).

O resultado de inibição da produção de óxido nítrico pela *Spondias tuberosa* (Umbu-folha) de forma dose dependente corrobora com o autor Lins Neto que identificou usos do umbu para tratamento de patologias, dentre elas as inflamações.

A inibição da produção de óxido nítrico pela TM 13 *Curcuma longa* (Açafrão da terra- rizoma) corrobora com o autor Cecílio Filho. Este relata que a *Curcuma longa* possui diversos constituintes ativos e uma das suas formas de utilização e como anti-inflamatório.

É importante ressaltar que a inibição na liberação de NO em células RAW 264.7 pelas TM's testadas não esteve atribuída à sua citotoxicidade, pois nenhuma TM nas concentrações testadas promoveu morte celular, como observado por meio do Ensaio de MTT.

Os testes realizados nos extratos avaliaram suas atividades imunomoduladoras e funcionaram como uma triagem para selecionar as TMs mais promissoras as quais foram TMs 6 Paraju(folha), 12 Umbu(folha) e 13 Açafrão da terra(rizoma). Porém, outros testes serão necessários para comprovar suas possíveis atividades anti-inflamatórias.

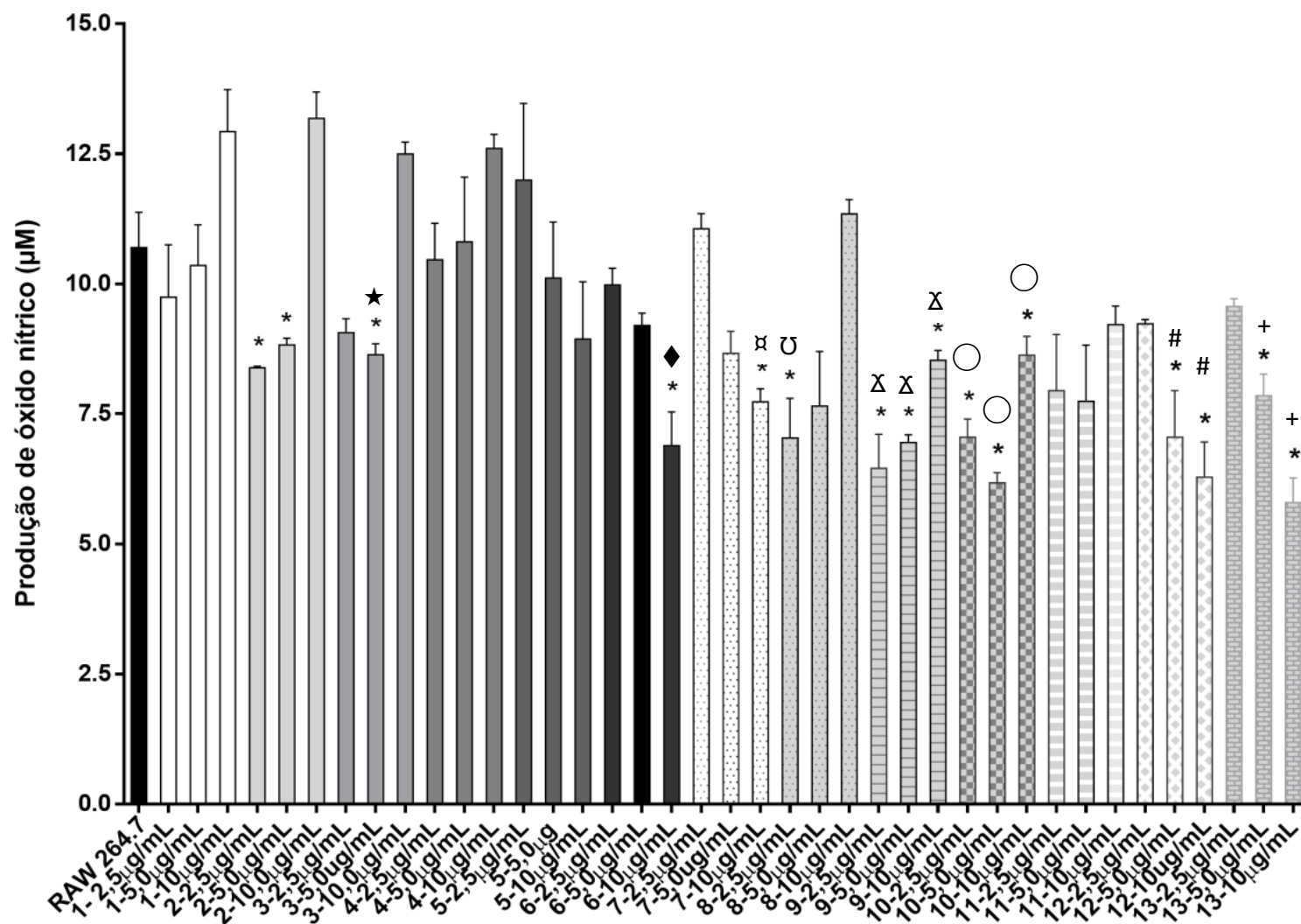


Figura 2. Relação de produção de óxido nítrico de macrófagos RAW 264.7 tratados com os extratos etanólicos de plantas em três concentrações, estimulados com LPS e IFN- γ . * $p < 0,05$ vs TM 2 Arnica(raiz); * $\star p < 0,05$ vs TM 3 Mulungú(casca); * $\blacklozenge p < 0,05$ vs TM 6 Paraju(folha); * $\alpha p < 0,05$ vs TM 7 Ginseng-brasileiro(rizoma); * $\beta p < 0,05$ vs TM 8 Ginseng-brasileiro(flor); * $\Delta p < 0,05$ vs TM 9 Ginseng-brasileiro(folha); * $\circ p < 0,05$ vs TM 10 Cana de Macaco(folha); * $\# p < 0,05$ vs TM 12 Umbu(folha); * $+ p < 0,05$ vs Açafrão da terra(rizoma).

5.3) Determinação de compostos fenólicos e teste de antioxidantes

O ácido gálico foi dissolvido em água destilada, para elaboração da curva padrão, as diluições do ácido gálico foram preparadas nas concentrações 0mg/L; 25,2mg/L; 50,4mg/L; 75,6 mg/L; 126,0mg/L e os resultados de absorvância foram respectivamente 0,020nm; 0,087nm; 0,173nm; 0,270nm; 0,412nm.

Os dados obtidos na curva pelo ensaio de Folin-Ciocalteu são visualizados na figura 3, tendo a leitura da absorvância à 760nm. Esses resultados foram usados na comparação com a absorvância e o conteúdo fenólico das TM's produzidas.

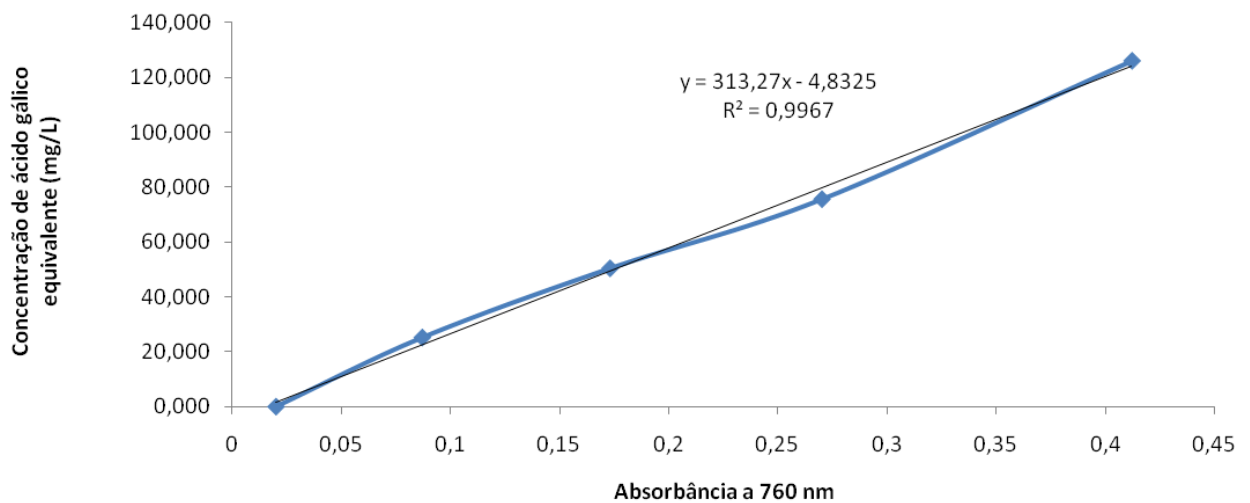


Figura 3. Curva padrão para fenóis totais pelo método de Folin-Ciocalteu

A curva-padrão corresponde à relação gráfica entre os valores de absorvância (A) e os de concentração de ácido gálico. Os valores de compostos fenólicos totais são expressos como equivalentes em miligramas de ácido gálico (AGE) (mg de AGE/g de material vegetal fresco).

Com base na análise gráfica é possível verificar a linearidade da reação e calcular um fator de conversão de valores de absorvância em concentração. Pode-se determinar a concentração das TM's.

Na tabela 4 é apresentado os resultados da relação entre o peso(g) da parte do material vegetal fresco utilizados para produção das tinturas mãe com volume final obtido de TM's(mL). Esse resultado foi convertido em g/L para poder calcular o teor de compostos fenólicos totais (mg AGE/g material vegetal) apresentados na tabela 5.

Tabela 4. Relação de vegetal fresco utilizado no preparo das tinturas com o volume obtido de cada tintura

Tinturas mãe	Parte utilizada da planta	Relação g/mL	Relação g/L
1- <i>Petiveria alliacea</i> (Guiné)	Folha	0,1514	151,4419
2- <i>Solidago chilensis</i> (Arnica)	Raiz	0,1690	169,0168
3- <i>Erythrina verna</i> (Mulungú)	Casca	0,4311	431,0572
4- <i>Erythrina verna</i> (Mulungú)	Folha	0,1238	123,7846
5- <i>Myrciaria dubia</i> (Camu-camu)	Folha	0,1476	147,6252
6- <i>Manilkara longifolia</i> (Paraju)	Folha	0,1952	195,1992
7- <i>Pfaffia glomerata</i> (Ginseng-brasileiro)	Rizoma	0,1625	162,5240
8- <i>Pfaffia glomerata</i> (Ginseng-brasileiro)	Flor	0,1595	159,5469
9- <i>Pfaffia glomerata</i> (Ginseng-brasileiro)	Folha	0,2026	202,5641
10- <i>Costus spicatus</i> (Cana de Macaco)	Folha	0,1993	199,3217
11- <i>Costus spicatus</i> (Cana de Macaco)	Raiz	0,1637	163,7156
12- <i>Spondias tuberosa</i> (Umbu)	Folha	0,1132	113,2140
13- <i>Curcuma longa</i> (Açafrão da terra)	Rizoma	0,1130	113,0358

A leitura das tinturas foi realizada em triplicatas. O valor da absorbância foi aplicado na equação da reta obtida na curva padrão, para calcular o valor de concentração de cada amostra. Em seguida calculou-se a média da concentração a partir das diluições utilizadas no experimento. O resultado da média das triplicatas são apresentados como teor de compostos fenólicos totais (mg equivalente de ácido gálico(AGE) / L tintura mãe) na tabela 5.

O ensaio de Folin-Ciocalteu expressa o conteúdo fenólico total, e apresenta ótima relação matemática, o que pode ser demonstrado pelo coeficiente de regressão obtido ($R^2 = 0,9967$). Os resultados do conteúdo fenólico das tinturas homeopáticas podem ser transformados e correlacionados, criando uma alternativa para a análise e possibilitando comparações.

A análise dos compostos fenólicos totais (TPC) das TM's estão expressos como equivalentes de ácido gálico (mg de AGE/g de amostra) e como mg AGE/L tintura mãe, na tabela 4.

Analisando os resultados das TM's de teor de compostos fenólicos totais (mg AGE/L tintura mãe) os valores variam entre 41,5 – 1449,1 mg AGE/L tintura mãe, sendo o menor

valor referente a TM 7- *Pfaffia glomerata* (Ginseng-brasileiro - rizoma), e a com o maior valor TM 5- *Myrciaria dubia* (Camu-camu- folha). De acordo com a Tabela 5 a TM que apresentou menor teor de compostos fenólicos em mg de AGE/g de amostra também foi a TM 7- *Pfaffia glomerata* (Ginseng-brasileiro - rizoma) obtendo 0,26 mg de AGE/g de amostra. E TM com maior TPC 9,82 mg de AGE/g de amostra foi TM 5- *Myrciaria dubia* (Camu-camu - folha).

Vários estudos têm reportado a relação entre o conteúdo de compostos fenólicos e a atividade antioxidante de produtos vegetais (VELIOGLU et al., 1998; KATSUBE et al., 2004; CHEN et al., 2008). Na literatura o maior valor de compostos fenólicos da casca do caule seco de Mulungú (*Erythrina velutina*) foi entre 151,38-163,66 mg AGE / g (SILVA, 2012), diferente do encontrado neste trabalho que foi de 1,00 mg de AGE/g de material vegetal fresco Mulungú casca. Esses resultados foram diferentes, pois o valor relatado pelo autor Silva é referente a compostos presentes no caule seco, e neste trabalho todas as partes utilizadas dos materiais vegetais estavam frescos. Outro fator que interfere na variação do teor dos compostos fenólicos é quando as plantas são coletadas e analisadas em períodos distintos, a idade da planta e o local de cultivo.

Para Camu-Camu (*Myrciaria dúbia*- folha), TPC foi 9,82 mg de AGE/g de amostra, o dado encontrado de TPC foi abaixo aos achados para polpa fresca (27,58 - 41,66 mg GAE / g) (OLIVEIRA, 2014). Esperou-se encontrar essa diferença no resultados de TPC, pois a folha e a polpa da fruta possuem composições diferentes. É comum encontrar teor de compostos fenólicos em diferentes partes de um mesmo material vegetal.

Diversos compostos fenólicos são produzidos pelas plantas como uma resposta aos estímulos do ambiente, em geral, protegendo-as de fatores ambientais, como estresse, pragas e sol. Plantações expostas ao sol produzem níveis mais elevados destes compostos, em comparação com as cultivadas em ambiente sombreado de floresta (MEYER et al. 2006).

O método espectrofotométrico, independente do tipo de reagente utilizado, Folin-Denis ou Folin-Ciocalteu, não é um método específico, pois detecta todos os grupos fenólicos presentes no extrato, incluindo aquelas proteínas extraíveis. Outra desvantagem é a interferência de reduzir substâncias como ácido ascórbico (NACZK & SHAHIDI, 2004).

O método do DPPH se baseia na transferência de elétrons de um composto antioxidante para um radical livre, o DPPH que ao se reduzir perde sua coloração púrpura. Desta forma, avalia apenas o poder redutor do antioxidante, que ao doar um elétron se oxida, e por este motivo não detecta substâncias pró-oxidantes (DUARTE-ALMEIDA, et al, 2006).

A capacidade antioxidante avaliada no método DPPH teve os resultados expressos em termos de IC50. Ou seja, que é definida como a quantidade de composto antioxidante necessário para diminuir ou reduzir a concentração inicial do radical DPPH em 50% (BRAND-WILLIAMS et al., 1995; CHEN; BERTIN; FROLDI, 2012). Este valor é calculado através da representação gráfica da inibição percentual do radical DPPH em função da concentração do antioxidante.

Os três resultados mais elevados de IC50 em mg AGE/L TM apresentado na tabela 4 foram: 445,8; 374,2; 351,7 mg AGE/L TM, sendo respectivamente as TM's: 2- *Solidago chilensis* (Arnica – raiz); 11- *Costus spicatus* (Cana de Macaco – raiz) e 9- *Pfaffia glomerata* (Ginseng-brasileiro – folha).

Para avaliar o quanto de compostos antioxidantes presentes nas TM's são necessários para reduzir em 50% a concentração inicial de DPPH fez-se o cálculo de relação de mg AGE/g material vegetal fresco. A partir desse parâmetro tem-se que as TM's com menor atividade antioxidantes: 2- *Solidago chilensis* (Arnica – raiz) 2,64 mg AGE/g material vegetal; 11- *Costus spicatus* (Cana de Macaco – raiz) 2,29 mg AGE/g material vegetal; 4- *Erythrina verna* (Mulungu – folha) 2,15 mg AGE/g material vegetal. Essas TM's possuem menor atividade antioxidante em relação às tinturas estudadas, porque é necessário mais quantidade(g) de compostos antioxidantes para conseguir diminuir ou reduzir a concentração inicial do radical DPPH em 50%.

Antioxidantes são compostos capazes de retardar a velocidade da oxidação através de um ou mais mecanismos impedindo a formação de radicais livres e complexação de metais. A atividade antioxidante de compostos fenólicos deve-se principalmente às suas propriedades de oxido-redução desempenhando um papel significativo na absorção e neutralização de radicais livres, atuando como quelante de oxigênio triplete e singlete ou ainda na decomposição de peróxidos (BRENNNA; PAGLIARINI, 2001).

As TM's que apresentaram resultados promissores com maior atividade antioxidante foram: 7- *Pfaffia glomerata* (Ginseng-brasileiro – rizoma) 0,09 mg AGE/g material vegetal; 3- *Erythrina verna* (Mulungu – casca) 0,25 mg AGE/g material vegetal; 6- *Manilkara longifolia* (Paraju – folha) 0,25 mg AGE/g material vegetal; 12- *Spondias tuberosa* (Umbu – folha) 0,56 mg AGE/g material vegetal.

De acordo com Souza et al (2016) o umbu (*Spondias Tuberosa*) apresenta maiores porcentagens de sequestro do radical DPPH (acima de 85%), cujos valores de IC50 resultaram em 1,8 e 1,7 mg/mL de extrato. Os nossos resultados obtidos neste trabalho demonstrou o umbu 0,56 mg AGE/g material vegetal ter mais atividade antioxidante do que relatado por

Souza, por reduzirem 50% do radical DPPH com menor concentração de compostos antioxidantes.

Na comparação dos resultados de material vegetal fresco obtido neste trabalho com o extrato seco relatado na literatura observou que o extrato seco acaba reduzindo a sua atividade antioxidante(AA). Pois a maior AA relatada para extrato etanólico da casca do caule seco de Mulungú (*Erythrina velutina*) foi IC50 de 5,30 g de casca seca do caule / L (SILVA, 2012). E o resultado para o extrato fresco da casca do Mulungú foi de 105,7 mg AGE/ g material vegetal, ou seja, 0,1057g AGE/ g material vegetal.

A partir da triagem realizada nesse trabalho, as TM's mais promissoras foram TM 6- *Manilkara longifolia* (Paraju – folha) e TM 12- *Spondias tuberosa* (Umbu – folha), pois apresentaram elevados teores de compostos fenólicos, bons resultados para atividade antioxidante que pode ser relacionado com uma possível ação de proteção para células do organismo, regeneração celular. E conseguiram reduzir a produção de óxido nítrico de forma dose dependente, indicando pode ter potenciais ações anti-inflamatórias.

Tabela 5. Relação teor de compostos fenólicos totais (mg AGE/L tintura mãe); Atividade Antioxidante (ensaio DPPH; IC50, em mg AGE/L tintura mãe) e Teor de compostos fenólicos totais (mg AGE/g material vegetal)

Tinturas mãe	Parte utilizada da planta	Teor de compostos fenólicos totais (mg AGE/L tintura mãe)	Teor de compostos fenólicos totais (mg AGE/g material vegetal)	Desvio Padrão	Atividade Antioxidante (ensaio DPPH; EC50, em mg AGE/L tintura mãe)	Atividade Antioxidante (ensaio DPPH; EC50, em mg AGE/g material vegetal)
1- <i>Petiveria alliacea</i> (Guiné)	Folha	173,9	1,15	0,0	259,8	1,72
2- <i>Solidago chilensis</i> (Arnica)	Raiz	45,9	0,27	0,0	445,8	2,64
3- <i>Erythrina verna</i> (Mulungú)	Casca	430,5	1,00	8,6	105,7	0,25
4- <i>Erythrina verna</i> (Mulungú)	Folha	59,1	0,48	0,4	266,6	2,15
5- <i>Myrciaria dubia</i> (Camu-camu)	Folha	1449,1	9,82	13,3	53,6	0,36
6- <i>Manilkara longifolia</i> (Paraju)	Folha	1352,0	6,93	26,6	49,0	0,25
7- <i>Pfaffia glomerata</i> (Ginseng-brasileiro)	Rizoma	41,5	0,26	0,0	14,1	0,09
8- <i>Pfaffia glomerata</i> (Ginseng-brasileiro)	Flor	275,9	1,73	1,3	280,3	1,76
9- <i>Pfaffia glomerata</i> (Ginseng-brasileiro)	Folha	312,6	1,54	1,9	351,7	1,74
10- <i>Costus spicatus</i> (Cana de Macaco)	Folha	228,2	1,14	1,9	93,9	0,47
11- <i>Costus spicatus</i> (Cana de Macaco)	Raiz	71,3	0,44	0,4	374,2	2,29
12- <i>Spondias tuberosa</i> (Umbu)	Folha	338,9	2,99	1,3	63,5	0,56
13- <i>Curcuma longa</i> (Açafrão da terra)	Rizoma	153,5	1,36	3,1	184,6	1,63
Ácido gálico (padrão)					115,0	

6) CONCLUSÃO

A realização deste estudo possibilitou coletar nove espécies de plantas na região de Governador Valadares-MG, e a partir delas foram produzidas treze tinturas mãe homeopáticas, uma vez que algumas foram obtidas de partes diferentes da mesma planta.

O ensaio de MTT em cultura de macrófagos RAW 264.7, não promoveu alteração de viabilidade celular, indicando que as TM's não tem efeito citotóxico na célula. As TM's que obtiveram os melhores resultados, reduzindo a produção de NO de maneira estatisticamente diferente do padrão e de forma dose dependente foram as TM's 6, 12, e 13: *Manilkara longifolia* (Paraju – folha); *Spondias tuberosa* (Umbu – folha); *Curcuma longa* (Açafrão da terra – rizoma), respectivamente. A inibição na liberação de NO na RAW 264.7 pelas TM's testados não esteve atribuída à sua citotoxicidade.

As TM 6, 12 e 13 respectivamente, *Manilkara longifolia* (Paraju – folha); *Spondias tuberosa* (Umbu – folha); *Curcuma longa* (Açafrão da terra – rizoma) foram capazes de inibir a produção de óxido nítrico e mantiveram a viabilidade celular acima de 85%. Estes resultados tornam promissores o estudo destas tinturas em novas linhagens celulares e na avaliação de outros mediadores inflamatórios.

A quantidade e o tipo de compostos fenólicos podem variar em diferentes populações de uma mesma espécie. Estas variações no perfil fenólico e na quantidade de certas substâncias presentes na planta têm implicações diretas nas propriedades antioxidantes da matéria prima.

As TM's que tiveram maior teor de compostos fenólicos foram: 5- *Myrciaria dubia* (Camu-camu – folha); 6- *Manilkara longifolia* (Paraju – folha); 12- *Spondias tuberosa* (Umbu – folha). E as TM's que apresentaram maior atividade antioxidante foram: 7- *Pfaffia glomerata* (Ginseng-brasileiro – rizoma); 3- *Erythrina verna* (Mulungu – casca); 6- *Manilkara longifolia* (Paraju); 12- *Spondias tuberosa* (Umbu – folha).

Na literatura científica há poucos dados sobre teor de compostos fenólicos totais (TPC) e a atividade antioxidante (AA) de folhas das espécies estudadas. Assim, neste trabalho destacamos a contribuição de compostos fenólicos no potencial antioxidante das espécies estudadas e isso sugere benefícios para a saúde relacionados esses compostos.

Os estudos realizados dessas TMs permitiram fazer uma triagem para selecionar as TMs mais promissoras em relação inibição de NO e potencial antioxidante, sendo elas a TM 6 *Manilkara longifolia* (Paraju) e a TM 12- *Spondias tuberosa* (Umbu – folha). Portanto, podemos partir desses extratos para realização de estudos posteriores.

7) REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALCÂNTARA, M. & ANDRADE, L.H.C. **Atividade antimicrobiana de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen**. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 13°. Resumos. Fortaleza, UFC, 1994.

ALONSO, J. R. **Tratado de fitomedicina** – bases clínicas y farmacológicas. Buenos Aires: ISIS Ediciones S. R. L., 1998.

ANGELO, Priscila Milene; JORGE, Neuza **Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão**. Rev. Inst. Adolfo Lutz, 66(1): 1-9, 2007.

ANTOLOVICH, M.; PRENZLER, P.D.; PATSALIDES, E.; MCDONALD, S.; ROBARDS, K. **Methods for testing antioxidant activity**. Analyst, v. 127, p. 183-198, 2002.

ARAÚJO, T.A.S. **A new approach to study medicinal plants with tannins and flavonoids contents from the local knowledge**. Journal of Ethnopharmacology, v. 120, p. 72–80, 2008.

BARRATO, L. B.; LANG, K. L.; VANZ, D. C.; REGINATTO, F.H.; OLIVEIRA, J. B.; FALKENBERG, M. Investigação das atividades alelopática e antimicrobiana de *Mikania laevigata* (Asteraceae) obtida de cultivos hidropônico e tradicional. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, v.4, n.18, out./dez.2008.

BERNI, R. F.; CHAVES, F. C. M.; PINHEIRO, J. B.; VAZ, A. P. A. **Produção de açafrão em função de acessos e do peso de rizomas-semente**. Rev. Bras. Pl. Med., 2014.

BERTOLDI, Michele Corrêa, 1980- **Atividade antioxidante in vitro da fração fenólica, 2006 das oleorresinas e do óleo essencial de pimenta rosa (*Schinus Terebinthifolius Raddi*) / Viçosa : UFV, 2006.**

BORGES, Soraia Vilela et al. **Composição química de sementes de umbu (*Spondias tuberosa* Arr. Cam)**. Quim. Nova , São Paulo, v. 30, n. 1, p. 49-52, fevereiro de 2007.

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

BRASIL. **Farmacopeia Brasileira**. Ag ncia Nacional de Vigilância Sanitária. Vol. 2. Brasília: Anvisa, 904 p., 2010.

BRASILEIRO, B. G.; PIZZIOLLO, V.R.; RASLAN, D.S.; JAMAL, C.M.; SILVEIRA, D. **Antimicrobial and cytotoxic activities screening of some Brazilian medicinal plants used in Governador Valadares district**. Revista Brasileira de Ciências Farmac uticas, v.42, p.195-202, 2006.

BRENNA, O.V.; PAGLIARINI, E. **Multivariate analyses of antioxidant power and polyphenolic composition in red wines.** Journal of Agricultural and Food Chemistry. Chicago: v.49, p. 4841-4844, 2001.

BRUNE M, Hallberg L, Skanberg AB. **Determination of ironbinding phenolic groups in foods.** J Food Sci 1991.

BURNS RE. **Method for estimation of tannin in grain sorghum.** Agron J, 1971.

CARRICONDE, C. **Acônito: Pfaffia glomerata (Spreng.) Pedersen.** De volta às raízes, 9(46): 1-3, 1994.

CARVALHO AC, ALMEIDA DS, MELO MG, CAVALCANTI SC, MARÇAL RM. **Evidence of the mechanism of action of E. velutina Willd (Fabaceae) leaves aqueous extract.** J Ethnopharmacol. 2009.

CARVALHO PER. **Mulungu (Erythrina velutina)** [monografia na Internet]. Colombo: Embrapa Florestas; 2008.

CHEN, X. N.; FAN, J. F.; YUE, X.; WU, X. R.; LI, L. T. **Radical scavenging activity and phenolic compounds in persimmon (Diospyros kaki L. cv. Mopan).** Journal of Food Science, Chicago, v. 73, n. 1, p. 24-28, 2008.

CHEN, Z.; BERTIN, R.; FROLDI, G. **IC50 estimation of antioxidant activity in DPPH assay using several statistical programs.** Food Chemistry, v. 138, n. 1, p. 414-420, 2012.

CHICOUREI, E.L.; Pimenta, D.S.; Jorge, L.I.F.; Ferro, V.O. **Contribuição ao conhecimento analítico de três compostas medicinais.** Revista Brasileira de Farmacognosia, v.7, p.59-66, 1997.

CORREA MP. Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. Ministério da Agricultura: **Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal**; 1984.

DI STASI, L. *et al.* **Plantas medicinais na Amazônia.** São Paulo: UNESP, 1989.

DUARTE-ALMEIDA, Joaquim Maurício; SANTOS, Ricardo José dos; GENOVESE, Maria Inês; LAJOLO, Franco Maria. **Avaliação da atividade antioxidante,** Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, 26(2): 446-452, abr.-jun. 2006.

DURNER, J.; GOW, A. J.; STAMLER, J. S.; GLAZEBROOK, J.; **Ancient origins of nitric oxide signaling in biological systems.** PNAS, v.96, n.14, p.206- 207, 1999.

ENCISO NARAZAS, R. M. **Propagación del camu camu (Myrciaria dubia) por injerto.** Lima: **Instituto Nacional de Investigación Agraria.** (Programa de Investigación de Cultivos Tropicales. Informe Técnico, 0.2/2.3-1, p.17, 1992.

FABRIS, L.C.; PEIXOTO, A. L. **Sapotaceae das Restingas do Espírito Santo, Brasil**. Rodriguésia vol.64 no.2 Rio de Janeiro Abril/Junho 2013.

FARMACOPÉIA Brasileira. 1. ed. 1926. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/>>

FARMACOPÉIA Homeopática Brasileira, 3a ed. 2011.

FEITOSA LGP. **Caracterização dos alcaloides de Erythrina verna** [tese]. Ribeirão Preto: Universidade de São Paulo; 2014.

FLORA FILHO R, Zilberstein B **Óxido nítrico: o simples mensageiro percorrendo a complexidade. Metabolismo, síntese e funções**. Rev Ass Med Brasil 46: 265-271, 2000.

FLORA FILHO, R.; ZILBERSTEIN, B. **Óxido Nítrico: O Simples mensageiro percorrendo a complexidade. Metabolismo, síntese e funções**. Rev. Assoc. Med. Bras., v.46, p.265-271, 2000.

FONTES, O.L. **Farmácia Homeopática: teórica e prática**, 4a ed. Malone, 2013, p.8.

GOULART S, GOULARTE, Maria Izabel Moritz, LANG, Karen Luise, LIZ Rafael, SCHENKEL, Eloir Paulo, FRODE Tania Silvia, **Anti-inflammatory evaluation of Solidago chilensis**, Journal of Ethnopharmacology, v.113, p. 346 a 353, 2007.

GUERREIRO, C. P. V.; MARQUES, M. O. M.; FERRACINI, V. L.; QUEIROZ, S. C. N.; MING, L. C. **Produção de β -ecdisona em Pfaffia glomerata (Spreng.) Pedersen em função da adubação orgânica em 6 épocas de crescimento**. Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, 11:392-398, 2009.

HALLIWEL, B. et al. **The characterization of antioxidants**. Food Chem. Toxicol., Oxford, v. 33, n. 7, p. 601-17, 1995.

HAMILTON, A. **Medicinal plants and conservation: issues and approaches**. International Plants Conservation Unit, WWF-UK, 2003.

HARAGUCHI, H., KUWATA, Y., INADA, K., SHINGU, K., MIYAHARA, K., NAGAO, M., YAGI, A. **Antifungal activity from Alpinia galanga and the composition for incorporation of unsaturated fatty acid in cell growth**. Planta Médica, v. 62, p. 308-313, 1996.

HELLMEISTER, J. C. **Madeiras e suas características**. In: Encontro Brasileiro em Madeiras e em Estruturas de Madeira, 1, São Carlos, SP, Brasil, 1983.

IBIAPINA, W. V. et. al. **Inserção da fitoterapia na atenção primária aos usuários do SUS**. Rev. Ciênc. Saúde Nova Esperança –v. 2, n.1, p. 58-68, 2014.

JOHNSTON RB. **Current concepts in immunology: monocytes and macrophages**. N Engl J Med 318: 747-752, 1988.

KAMADA, T.; PICOLI, E. A. T.; VIEIRA, R. F.; BARBOSA, L. C. A.; CRUZ, C. D.; OTONI, W. C. **Variação de caracteres morfológicos e fisiológicos de populações naturais de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen e correlação com a produção de βecdisona.** Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, 11:247-256, 2009.

KATSUBE, T.; TABATA, H.; OHTA, Y.; YAMASAKI, Y.; ANUURAD, E.; SHIWAKU, K.; YAMANE, Y. **Screening for antioxidant activity in edible plant products: comparison of low-density lipoprotein oxidation assay, DPPH radical scavenging assay, and FolinCiocalteu assay.** Journal of Agricultural and Food Chemistry, Washington, v. 52, n. 8, p. 2391-2396, 2004.

KUBEC, R.; KIM, S.; MUSAH, R. A. **The lachrymatory principle of *Petiveria alliacea*.** Phytochemistry, v. 63, 2003.

KUBEC, R.; MUSAH, R. A. **Cysteine sulfoxide derivatives in *Petiveria alliacea*.** Phytochemistry, v. 58, 2001.

LINNAEUS, Carl von. ***Curcuma longa* L. Species Plantarum** 1: 2. 1753. 01 de Maio de 1753. Disponível em Missouri Botanical Garden. 2014. Disponível em: <<http://www.tropicos.org/Name/34500029>>.

LINS NETO, E.M.F.; Peroni, N.; Albuquerque, U.P. (2010). **Traditional Knowledge and Management of Umbu (*Spondias tuberosa*, Anacardiaceae): An Endemic Species from the Semi–Arid Region of Northeastern Brazil.** Economic botany, v. 64, p. 11-21.

LORENZI H. **Árvores brasileiras: Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil.** Nova Odessa: Plantarum; 1992.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas.** 2. ed. São Paulo: Instituto Plantarum, 2008.

MARCHIORO M, BLANK MF, MOURAO RH, ANTONIOLLI AR. **Antinociceptive activity of the aqueous extract of *Erythrina velutina* leaves.** Fitoterapia. 2005.

MARQUES, L. C. **Avaliação da ação adaptógena das raízes de *Pfaffia glomerata* (Sprengel) Pedersen- amaranthaceae.** São Paulo: Universidade Federal de São Paulo, 145p, 1998.

MAXSON ED, Rooney LW. **Evaluation of methods for tannin analysis in sorghum grain.** Cereal Chem 1972.

McVAUGH, R. **Tropical American Myrtaceae. II.** Field Museum of Natural History, Botanical Series 29:315-532. 1963.

MEDINA, F. S.; VERA, B.; GALVEZ, J.; ZARZUELO, A; **Effect of quercitrin on the early stages of hapten induced colonic inflammation in the rat**; Life Sciences; n. 70, p. 3097 - 3108, 2002.

MELO FILHO, José Sebastião. **O etnoconhecimento sobre plantas medicinais no município de Catolé do Rocha, Paraíba**. Dissertação (Mestrado em Sistemas Agroindustriais). Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar. Pombal: UFCG, 2014.

MENDES, B.V. **Umbuzeiro (*Spondias tuberosa* Arr. Cam.): importante fruteira do semiárido**. Mossoro: ESAM, 1990.

MENEZES, I. A. C. et al. **Cardiovascular effects and acute toxicity of the aqueous extract of *Costusspicatus* leaves (*Zingiberaceae*)**. Biologia geral e experimental, v. 7, n. 1, p. 9-13, 2007.

MEYER, S.; et al. **Relationships between optically assessed polyphenols and chlorophyll contents and leaf mass per area ratio in woody plants: A signature of the carbon-nitrogen balance within leaves**. Plant Cell & Environment, v. 29, p. 1338- 1348, 2006.

MINISTÉRIO DA SAÚDE, **Monografia da espécie *Curcuma longa* L**. Organização: Ministério da Saúde e Anvisa. Brasília, 2015.

MIRANDA, Letícia Tereza Gomes Saraiva. **Uso da tintura de arnica em feridas cutâneas abertas em ratos**. São Paulo, Tese (Doutorado em Ciências)-Universidade Federal de São Paulo. Escola Paulista de Medicina. 2001.

MORAES WA. Medicina antroposófica: um paradigma para o século XXI. São Paulo: **Associação Brasileira de Medicina Antroposófica**; 2005.

MOREIRA AVB, Mancini-Filho J. **Influência dos compostos fenólicos de especiarias sobre a lipoperoxidação e o perfil lipídico de tecidos de ratos**. Rev Nutr 2004.

MOREL, A.F.; Dias, C.P.; Simionatto, E.; Stuker, C.Z.; Dacol, I.I. **Antimicrobial activity of extratives of *Solidago microglossa***. Fitoterapia, v.77, p.453-455, 2006.

NACZK M, Shahidi F. **Extraction and analysis of phenolics in food**. J Chromatogr A 2004.

NASCIMENTO-SILVA, O.; Paiva, J.G.A. **Estudos morfológicos e anatômicos em folhas adultas de *Spondias tuberosa* Arruda (*Anacardiaceae* Lindley)**. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas, v. 6, p. 36-43. 2007.

NETO, A. G.; COSTA, J. M.; BELATIA, C. C.; VINHÓLIS, A. H.; POSSEBOM, L. S.; DA SILVA, F. A. A.; CUNHA, W.R.; CARVALHO, J. C.; BASTOS, J. K.; SILVA, M. L.

Analgesic and anti-inflammatory activity of a crude root extract of *Pfaffia glomerata* (Spreng) Pedersen. Journal of Ethnopharmacology, 96:87-91, 2005.

OLIVEIRA, F., Akisue, G.; Akisue, M.K. **Farmacognosia.** (Série Farmácia. Veterinária). São Paulo: Ateneu, 1998.

OLIVEIRA, T.C.S. **Principais compostos bioativos e capacidade antioxidante na polpa do camu-camu (*Myrciaria dubia*) em diferentes estádios de maturação.** 2014. 112 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Instituto de tecnologia, Universidade Federal do Pará, Belém. 2014.

OTOFUGI, G. M. **Vias envolvidas no mecanismo de ação do efeito gastroprotetor das raízes da *Pfaffia glomerata* (Spreng) Pedersen.** Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 177p, 2005.

PANIZZA ST, Veiga RdS, Almeida MCd. **Uso Tradicional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos.** São Paulo: CONBRAFITO; 2012.

PRICE ML, Butler LG. **Rapid visual estimation and spectrophotometric determination of tannin content in sorghum grain.** J Agric Food Chem 1977.

PRICE ML, Van Scoyoc S, Butler LG. **A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain.** J Agric Food Chem 1978.

QUEIROGA, C. L.; SALANDIN, M.; FILHO, A. A. S.; BASTOS, J. K.; FILHO, E. A. S.; MONTANARI, I.; CATHARINO, R.; EBERLIN, M. N. **Atividade anti-inflamatória de saponinas de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen (Amaranthaceae).** 31a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, p:1241-1242, 2008.

RIBEIRO, Leilson de Oliveira; VIANA, Eliseth de Souza; GODOY, Ronel Luiz de Oliveira, FREITAS, Sidinea Cordeiro; FREITAS, Suely Pereira; MATTA, Virgínia Martins. **Nutrients and bioactive compounds of pulp, peel and seed from umbu fruit.** Ciência Rural, Santa Maria, v.49:04, e20180806, 2019.

RIBEIRO, Paula Ferreira de Araujo. **Compostos bioativos de camu-camu (*Myrciaria dúbia*) em função do ambiente de cultivo e do estádio de maturação.** Viçosa, MG, 2012.

Riss TL, Moravec RA, Niles AL, et al. **Cell Viability Assays.** 2013 May 1 [Updated 2016 Jul 1]. In: Sittampalam GS, Coussens NP, Brimacombe K, et al., editors. Assay Guidance Manual [Internet]. Bethesda (MD): Eli Lilly & Company and the National Center for Advancing Translational Sciences; 2004.

RIVAS, M. C. et al. **Actividad antiinflamatoria y analgésica de *Petiveria alliacea*, TRAMIL III.** La Habana, Cuba: MINSAP/enda-caribe, 1988.

ROBARDS, K. **Strategies for the determination of bioactive phenols in plants, fruit and vegetables.** Journal of Chromatography A - Review, n.1000, p. 657–691, 2003.

ROCA, N. A. **Estudio químico-bromatológico de la Myrciaria paraensis** Berg. 1965. 51f. Thesis (Doctor's) - Facultad de Química, Univers. Nacional Mayor de San Marcos, Lima, 1965.

ROGERO, S.O.; HIGA, O.Z.; SAIKI, M.; CORREA, O.V.; COSTA, I. **Toxicology in Vitro**, v. 14, n. 6, p. 497-504, 2000.

SAUVAIN, M. **Estude des plantes antiparasitaires du plâncton dès Guyanes em Amazonie: antipaludiques et antileishmanioses.** Tese (Doutorado em Farmácia) – Universidade de Paris, França, 1989.

SCARTEZZINI P., SPERONI E. **Review on some plants of indian traditional medicinal medicine with antioxidant.** Journal of Ethnopharmacology. 2000.

SCHMEDA-HIRSCHMANN, G., RODRIGUEZ, J., ASTUDILLO, L., **Gastroprotective activity of the diterpene solidagenone and its derivatives on experimentally induced gastric lesions in mice,** Journal of Ethnopharmacology, v. 81, p. 111-115, 2002.

SHAHIDI F, Naczki M. **Food phenolics: sources, chemistry, effects and applications.** Lancaster: Technomic; 1995.

SHISHODIA, S.; MAJUMDAR, S.; BANERJEE, S.; AGGARWAL, B. **Ursolic Acid Inhibits Nuclear Factor- κ B Activation Induced by Carcinogenic Agents through Suppression of I κ B α Kinase and p65 Phosphorylation : Correlation with Down-Regulation of Cyclooxygenase 2 , Matrix Ursolic Acid Inhibits Nuclear Factor- κ B.** The Journal of Cancer Research p. 4375–4383, 2003.

SILVA, A. A. J. **Plantas medicinais.** Florianópolis: EPAGRI: (CD-ROM). 1998.

SILVA, B. P., BERNARDO, R. R., PARENTE, J. P. **Flavonol glycosides from Costus spicatus.** Phytochemistry v. 53, p. 87-92, 2000.

SILVA, H.A. **Desenvolvimento e caracterização do extrato de Erythrina velutina para o tratamento de doença neurodegenerativa,** 2012 113 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza. 2012.

SILVA, M. I.; RIBAS-FILHOJ, M.; MALAFAIA, O.; NASSIF, P. A. N.; RIBAS, M. M.; VARASCHIM, M.; CZECZKO, L. E. **A utilização da Pfaffia glomerata no processo de cicatrização de feridas da pele.** Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva, 4:228-233, 2010.

SILVA, M.L.A.; CUNHA, G.P. & BASTOS, J.K. **Estudo de possíveis efeitos analgésicos de diferentes extratos de *Pfaffia glomerulata***. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 15°. Resumos. Águas de Lindóia, Unifesp, 1998.

SILVA, Raquel Assed Bezerra. **Hidróxido de Cálcio associado à Clorexidina – Estudo em Cultura de Células (RAW 264.7 e Cultura Primária de Células da Linhagem Osteoblástica) e em Tecido Subcutâneo de Camundongos**. Avaliação da Atividade Antimicrobiana Ribeirão Preto, 2007.

SORRIENTO, D.; ILLARIO, M.; FINELLI, R.; IACCARINO, G. **To NFκB or not to NFκB: The Dilemma on How to Inhibit a Cancer Cell Fate Regulator**. Translational medicine @ UniSa v. 4, n. 9, p. 73–85, 2012.

SOUSA, J. R. DEMUNER, A.J., PEDERSOLI, J. L., AFONSO, A. M. **Guiné: erva medicinal ou tóxica? Ciência & Cultura**, v. 39(7), julho, SBPC, 1987.

SOUZA, Daniel Alves; NONATO, Edilene Fernandes; SANTOS, Gildson Alex dos Anjos; SANTOS, Alex; SILVA, Ana Mara De Oliveira; WARTHA, Elma Regina Silva De Andrade. **Potencial Antioxidante De Umbu (*Spondias Tuberosa* Arruda Cam.) Em Distintos Modelos Antioxidantes In Vitro**. Universidade Federal de Sergipe/UFS, São Cristóvão/SE, Brasil, 2016.

SWAIN T, Hillis WE. **The phenolics constituents of *prumus domestica*: the quantitative analysis of phenolic constituents**. J Sci Food Agric 1959.

TAMURA EK, JIMENEZ RS, WAISMAM K, GOBBO-NETO L, Lopes NP, MALPEZZI-MARINHO EA, MARINHO EA, FARSKY SH, **Inhibitory effects of *Solidago chilensis* Meyen hydroalcoholic extract on acute inflammation**, Journal of Ethnopharmacology. N.122, v.3, p.478-485, 2009.

TEIXEIRA M, Cerqueira F, Barbosa CM, Nascimento MS, Pinto M. **Improvement of the inhibitory effect of xanthenes on NO production by encapsulation in PLGA nanocapsules**. J Drug Target 2005.

TEIXEIRA, Aylton Saturnino; CHAVES, Lena da Silva; YUYAMA, Kaoru. **Esterases no exame da estrutura populacional de Camu-camu (*Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh-Myrtaceae)**. Acta Amazonica, Manaus, v. 34, n. 1, 2004.

TEMPLE, N. J. **Antioxidants and disease: More questions than answers** Nutricion Research, v. 20, n. 3, p. 449-459 , 2000.

TESKE, M.; TRENTINI, A. M. **Herbarium: compêndio de fitoterapia. 4 ed. Curitiba: Herbarium**. Laboratório, p:317, 2001.

- TORRES, L.M.B. **Estudo químico da espécie *Solidago microglossa*** D.C. São Paulo. 175p. Tese de Doutorado - Instituto de Química - Universidade de São Paulo. 1985.
- TROPICOS. Quick Name Search: ***Solidago microglossa*** DC. Saint Louis: Missouri Botanical Garden, 2009.
- VAN DEN BERG, M.E. **Plantas medicinais na Amazônia: contribuição ao seu conhecimento sistemático.** Manaus, CNPQ, 1982.
- VASCONCELOS SM, LIMA NM, SALES GT, CUNHA GM, AGUIAR LM, SILVEIRA ER, et al. **Anticonvulsant activity of hydroalcoholic extracts from *Erythrina velutina* and *Erythrina mulungu*.** J Ethnopharmacol. 2007.
- VELIOGLU, Y. S.; NAZZA, G.; GAO, L.; OOMAH, B. D. **Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products.** Journal of Agricultural and Food Chemistry, Washington, v. 46, n. 10, p. 4113-4117. 1998.
- VIEIRA, L.S., ALBUQUERQUE, J.M. **Fitoterapia Tropical – Manual de Plantas Mediciniais.** FCAP - Serviço e Documentação e Informação. Belém, 1998.
- VIGO, C. L. S.; NARITA, E.; MARQUES, L. C. **Validação metodológica de quantificação espectrofotométrica das saponinas de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen-Amaranthaceae.** Revista Brasileira de Farmacognosia, 13:46-49, 2003.
- VILLACHICA, H.L. **El cultivo del camu-camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K.) McVaugh) en la Amazonia peruana.** Mirigraf, Lima. 1996.
- WETTASINGHE M, Shahidi F. **Evening primrose meal: a source of natural antioxidants and scavenger of hydrogen peroxide and oxygen-derived free radicals.** J Agric Food Chem 1999.
- YUYAMA, K. A.; AGUIAR, J. P. L.; YUYAMA, L. K. O. **Camu-camu: um fruto fantástico como fonte de vitamina C.** Acta Amazonica, v.32, n.1, p.169-174, 2002.
- ZANOTTO-FILHO, A.; GELAIN, D.P.; SCHRÖDER, R.; SOUZA, L.F.; PASQUALI, M.A.B.; KLAMT, F.; MOREIRA, J.C.F. **The NFκB-mediated control of RS and JNK signaling in vitamin A-treated cells: Duration of JNK-AP-1 pathway activation may determine cell death or proliferation.** Biochemical Pharmacology v. 77, n. 7, p. 1291–1301, 1 abr. 2009.