

BÁRBARA SPERANDIO SAMPAIO

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTITUMORAL, PROLIFERATIVA,
ANTIMICROBIANA E ANTI-INFLAMATÓRIA *IN VITRO*, DE EXTRATOS
ETANÓLICOS DE DIFERENTES ESPÉCIES VEGETAIS DA MATA ATLÂNTICA
BRASILEIRA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências de Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Estrutural, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientadora: Anésia Aparecida dos Santos

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2023**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

S192a
2023 Sampaio, Bárbara Sperandio, 1994-
Avaliação da atividade antitumoral, proliferativa,
antimicrobiana e anti-inflamatória *in vitro*, de extratos etanólicos
de diferentes espécies vegetais da Mata Atlântica brasileira /
Bárbara Sperandio Sampaio. – Viçosa, MG, 2023.
1 dissertação eletrônica (86 f.): il. (algumas color.).

Inclui apêndices.

Orientador: Anésia Aparecida dos Santos.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa,
Departamento de Biologia Geral, 2023.

Inclui bibliografia.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2023.535>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Extratos vegetais. 2. Células - Proliferação.
3. Bactericidas. 4. Anti-inflamatórios. 5. Biodiversidade - Mata
Atlântica. I. Santos, Anésia Aparecida dos, 1969-.
II. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Biologia
Geral. Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e
Estrutural. III. Título.

CDD 22. ed. 616.994

Bibliotecário(a) responsável: Bruna Silva CRB-6/2552

BÁRBARA SPERANDIO SAMPAIO

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTITUMORAL, PROLIFERATIVA,
ANTIMICROBIANA E ANTI-INFLAMATÓRIA *IN VITRO*, DE EXTRATOS
ETANÓLICOS DE DIFERENTES ESPÉCIES VEGETAIS DA MATA ATLÂNTICA
BRASILEIRA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências de Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Estrutural, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 11 de abril de 2023.

Assentimento:

Documento assinado digitalmente
 **BARBARA SPERANDIO SAMPAIO**
Data: 06/09/2023 16:17:40-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Bárbara Sperandio Sampaio
Autora

Documento assinado digitalmente
 **ANESIA APARECIDA DOS SANTOS**
Data: 08/09/2023 17:44:36-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Anésia Aparecida dos Santos
Orientadora

AGRADECIMENTOS

Agradeço....

À Deus, por me dar forças durante este caminhar. A Ele toda Honra e Glória!

Ao meu esposo, Cal pelo apoio incondicional, estímulo diário, por me amparar e acolher sendo um pilar essencial em cada desafio. Amor, seu valioso e incansável apoio foi definitivo em todos os momentos. Essa conquista também é sua!

Agradeço a meus pais, Bernardete e Vitor e minhas irmãs, Gabrielle e Jéssica pelas orações e incentivo. Vocês são essenciais na minha vida;

À UFV e ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Estrutural pela valiosa oportunidade;

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pela concessão da bolsa de estudos e ao CNPq pelo apoio financeiro fornecido para a realização deste estudo;

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001;

À minha orientadora, Profa. Anésia Aparecida dos Santos, pelo acolhimento, orientação, acompanhamento e ensinamentos transmitidos ao longo de toda a pesquisa;

À Profa. Marisa Alves Nogueira Diaz pela disponibilização do laboratório e ao Prof. Ciro César Rossi pelo auxílio nos experimentos.;

Ao Prof Leandro Licursi de Oliveira, pela disponibilidade, ajuda e toda instrução que me forneceu, foram fundamentais;

À equipe do herbário pela assistência na confecção das exsicatas e identificação das espécies;

Às colegas de laboratório, especialmente à Mariá, pelo apoio constante e amizade sincera ao longo desta jornada. A todas, meus agradecimentos profundos pelo suporte e disposição em sempre me auxiliar;

Agradeço a todos que de alguma forma contribuíram para o alcance desta conquista.

A todos, meu respeito, reconhecimento, carinho e gratidão.

“Portanto não joguem fora a vossa confiança; ela vos trará uma grande recompensa, pois para alcançar a promessa é preciso perseverar, depois de haver feito a vontade de Deus.”

(Hebreus 10: 35-36)

RESUMO

SAMPAIO, Barbara Sperandio, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, abril de 2023. **Avaliação da atividade antitumoral, proliferativa, antimicrobiana e anti-inflamatória *in vitro*, de extratos etanólicos de diferentes espécies vegetais da mata atlântica brasileira.** Orientadora: Anésia Aparecida dos Santos.

A Mata Atlântica, com a sua rica biodiversidade, abriga diversas espécies vegetais em variados ecossistemas. Essa diversidade botânica motivou a produção de extratos derivados de plantas, fontes promissoras de compostos bioativos. A habilidade desses extratos em demonstrar potenciais biológicos reforça a importância da biodiversidade da Mata Atlântica para a investigação de atividades biológicas, impulsionando o avanço do conhecimento. Nessa pesquisa, serão examinados os potenciais biológicos de extratos provenientes de uma variada gama de plantas presentes na Mata Atlântica, por meio de avaliações *in vitro* das atividades antitumorais, proliferativas, antimicrobianas e anti-inflamatórias. Foram preparados extratos etanólicos (de Serigueleira, Aroeira Branca, Aroeira Preta, Candeia, Caneleira, Jabuticabeira, Pitangueira, Amoreira, Caramboleira e Lobeira) a partir de material vegetal seco e triturado. Após filtração em percolador, os extratos foram submetidos à evaporação rotativa, liofilizados e determinados seus rendimentos. Os resultados das medições de rendimento indicam um processo de extração bem-sucedido, com rendimentos muitas vezes superiores às expectativas iniciais. As atividades antitumoral e proliferativa de 10 extratos de folhas e 1 extrato do fruto foram avaliadas pelo ensaio MTT (brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio). A atividade antitumoral avaliada na linha celular de câncer de mama murino 4T1 mostrou resultados não promissores para qualquer um dos extratos, em contraste com a avaliação da proliferação celular realizada em linhagens celulares normais. Esses resultados foram especialmente promissores na linhagem celular normal VERO, em que os extratos de Caramboleira (250 µg/ml) e Caneleira (250 µg/ml) apresentaram atividade proliferativa significativa. Além disso, o extrato de Fruto de Aroeira Branca (62,5 µg/ml) e o de Lobeira (250 µg/ml) exibiram potencial proliferativo moderado. Vale ressaltar que o extrato de Caneleira (250 µg/ml) demonstrou forte potencial proliferativo na linhagem celular normal BGM. A atividade antimicrobiana foi avaliada pelo método de difusão em ágar e a determinação da concentração inibitória mínima (CIM) foi realizada pelo método de microdiluição em caldo e ensaio de resazurina. O extrato de Aroeira Branca apresentou forte potencial antimicrobiano para ambas as concentrações examinadas (100 mg/ml e 100 µg/ml).

Além disso, os extratos de Aroeira Preta, Caramboleira e Fruto de Aroeira Branca apresentaram significativo potencial antimicrobiano contra todas as cepas bacterianas testadas do gênero *Staphylococcus* na concentração de 100 mg/ml. Notavelmente, o extrato de Pitangueira demonstrou interessante potencial antimicrobiano na concentração de 100 µg/ml. Quatro métodos *in vitro* foram empregados para realização de triagem de ação anti-inflamatória: Inibição da Desnaturação da Albumina; Ação Inibitória da Digestão de Proteinase; Ensaio de Estabilização de Membrana (Hemólise) e Ensaio de Inibição de Hemólise. Dentre os resultados referentes à atividade anti-inflamatória, destacam-se os extratos de Jabuticabeira, que apresentaram alto potencial anti-inflamatório, e o extrato de Candeia, demonstrando potencial moderado. Em seguida os extratos de Caramboleira, Serigueleira e Pitangueira apresentaram classificações de médio potencial anti-inflamatório. Em conclusão, os resultados obtidos neste estudo enfatizam a influência significativa da escolha da técnica de extração e do solvente utilizado para alcançar rendimentos extrativos substanciais. Essa abordagem foi essencial para analisar as atividades biológicas, impulsionando o avanço do conhecimento na pesquisa com extratos naturais obtidos da biodiversidade da Mata Atlântica.

Palavras-chave: Extratos etanólicos. Antitumoral. Proliferação. Antimicrobiano. Anti-inflamatório.

ABSTRACT

SAMPAIO, Barbara Sperandio, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, April, 2023.
Evaluation of *in vitro* antitumor, proliferative, antimicrobial and anti-inflammatory activity of ethanol extracts from different plant species from the Brazilian Atlantic Forest.
Advisor: Anésia Aparecida dos Santos.

The Atlantic Forest, with its rich biodiversity, harbors several plant species in various ecosystems. This botanical diversity has motivated the production of plant-derived extracts, promising sources of bioactive compounds. The ability of these extracts to demonstrate biological potentials reinforces the importance of the Atlantic Forest's biodiversity for investigating biological activities, driving the advancement of knowledge. In this research, the biological potentials of extracts from a wide range of plants present in the Atlantic Forest will be examined through *in vitro* evaluations of antitumor, proliferative, antimicrobial, and anti-inflammatory activities. Ethanol extracts (from Serigueleira, Aroeira Branca, Aroeira Preta, Candeia, Caneleira, Jabuticabeira, Pitangueira, Amoreira, Caramboleira, and Lobeira) were prepared from dried and ground plant material. After percolator filtration, the extracts were subjected to rotary evaporation, lyophilized, and their yields determined. The yield measurement results indicate a successful extraction process with yields often higher than initial expectations. Antitumor and proliferative activities of 10 leaf extracts and 1 fruit extract were evaluated by MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) assay. The antitumor activity evaluated in the murine breast cancer 4T1 cell line showed non-promising results for any of the extracts, in contrast to the cell proliferation evaluation performed on normal cell lines. These results were especially promising in the VERO cell line, where Caramboleira (250 µg/ml) and Caneleira (250 µg/ml) extracts showed significant proliferative activity. Furthermore, White Fruto de Aroeira Branca (62.5 µg/ml) and Lobeira (250 µg/ml) extracts exhibited moderate proliferative potential. It should be noted that Caneleira (250 µg/ml) extract demonstrated strong proliferative potential in the BGM cell line. Antimicrobial activity was evaluated by agar diffusion method and determination of minimum inhibitory concentration (MIC) performed by broth microdilution method and resazurin assay. White Aroeira extract showed strong antimicrobial potential in antimicrobial assays for both examined concentrations (100 mg/ml and 100 µg/ml). Additionally, extracts from Aroeira Preta, Caramboleira, and Fruto de Aroeira Branca showed significant antimicrobial potential against

all tested *Staphylococcus* bacterial strains at a concentration of 100 mg/ml. Notably, Pitangueira extract demonstrated interesting antimicrobial potential at a concentration of 100 µg/ml. Four in vitro methods were employed to screen anti-inflammatory action: Albumin Denaturation Inhibition; Proteinase Digestion Inhibitory Action; Membrane Stabilization Assay (Hemolysis); and Hemolysis Inhibition Assay. Among the results related to anti-inflammatory activity, the Jabuticabeira extracts stood out, presenting high anti-inflammatory potential, and the Candeia extract demonstrating moderate potential. Next, the Caramboleira, Serigueleira, and Pitangueira extracts emerged with medium anti-inflammatory potential ratings. In conclusion, the results obtained in this study emphasize the significant influence of the choice of extraction technique and solvent used to achieve substantial extractive yields. This approach was essential for analyzing the biological activities, driving the advancement of knowledge in research with natural extracts from the Atlantic Forest's biodiversity.

Keywords: Ethanolic extracts. Antitumor. Proliferation. Antimicrobial. Anti-inflammatory.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação da técnica de difusão em ágar realizada no BioNat.....	36
Figura 2 - Representação do teste em microplacas.....	37
Figura 3 - Atividade antitumoral dos extratos etanólicos através de <i>screening</i> para a linhagem celular tumoral 4T1.	43
Figura 4 - Atividade proliferativa dos extratos etanólicos para as linhagens celulares normais VERO e BGM	49
Figura 5 - Percentagens de inibição da desnaturação da albumina pelos extratos	59
Figura 6 - Inibição da ação da tripsina	60
Figura 7 - Percentagens de estabilização da membrana dos eritrócitos (hemólise)	61
Figura 8 - Percentagens de inibição de hemólise	62
Apêndice A - Exemplar de exsicata de <i>Schinus terebinthifolia</i> Raddi (Aroeira Branca).....	77
Apêndice B - Teste preliminar com os extratos para a linhagem VERO	78
Apêndice C - Teste preliminar com os extratos para a linhagem BGM.....	80
Apêndice D - Análise proliferativa dos extratos Caramboleira e Fruto-Aroeira Branca em cultura celular com a linhagem VERO.....	81
Apêndice E - Análise proliferativa dos extratos Lobeira e Aroeira Preta em cultura celular com a linhagem VERO.....	82
Apêndice F - Análise proliferativa dos extratos Caneleira e Aroeira Branca em cultura celular com a linhagem VERO.....	83
Apêndice G - Atividade antimicrobiana pelo método de difusão em ágar/ placas de cinco bactérias do gênero <i>Staphylococcus</i>	84
Apêndice H - Concentração inibitória mínima (CIM) determinada pela técnica da microdiluição em caldo – Controle Positivo: antibiótico Mupirox	85
Apêndice I - Concentração inibitória mínima (CIM) determinada pela técnica da microdiluição em caldo – Extrato de Caramboleira	85
Apêndice J - Concentração inibitória mínima (CIM) determinada pela técnica da microdiluição em caldo – Extrato de Aroeira Preta.....	86

Apêndice K - Concentração inibitória mínima (CIM) determinada pela técnica da microdiluição em caldo – Extrato de Aroeira Branca.....	86
---	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Exemplares depositados no Herbário da UFV	30
Tabela 2 - Obtenção e Rendimento dos extratos durante o processo de extração.....	41
Tabela 3 - Atividade antimicrobiana pelo método de difusão em ágar, realizadas em dois testes independentes	53
Tabela 4 - Atividade antimicrobiana de 3 extratos para determinação da CIM em 5 cepas bacterianas	56
Tabela 5 - Identificação dos tratamentos utilizados	58
Tabela 6 - Resultado geral das atividades biológicas	65

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAS	Ácido acetilsalicílico
ATCC	American Type Culture Collection
ANOVA	Análise de Variância
AMH	Ágar Mueller Hinton
BHI	Infusão de Cérebro e Coração Bovino
BIONAT	Laboratório Química e Bioquímica de Produtos Naturais
BSA	Albumina de Soro Bovino
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
DAMPs	Padrões Moleculares Associados a Dano
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle Medium
DMSO	Dimetilsulfóxido
INCA	Instituto Nacional de Câncer
LIG	Laboratório de Imunoquímica e Glicobiologia
LIMA	Laboratório de Infectologia Molecular Animal
MC	Meio Completo
MG	Minas Gerais
MMPs	Metaloproteinases
MTT	(3- (4,5-dimetiltiazol-2-il) -2,5-brometo de difeniltetrazólio
PAMPs	Padrões Moleculares Associados a Patógenos
PBS	Phosphate Buffered Saline
PRRs	Receptores de Reconhecimento de Padrões
RPMI	Roswell Park Memorial Institute
SFB	Soro Fetal Bovino
TCA	Ácido tricloroacético
UFV	Universidade Federal de Viçosa
VIC	Herbário da Universidade Federal de Viçosa

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	15
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	16
2.1 Material Vegetal	16
2.1.1 Serigueleira (<i>Spondias purpurea</i> L.).....	16
2.1.2 Aroeira Branca (<i>Schinus terebinthifolia</i> raddi).....	17
2.1.3 Aroeira Preta (<i>Lithraea molleoides</i> (Vell.) Engl.).....	18
2.1.4 Candeia (<i>Eremanthus incanus</i> (Less.) Less.).....	19
2.1.5 Caneleira-preta (<i>Nectandra</i> Rol. ex Rottb)	20
2.1.6 Jabuticabeira (<i>Plinia cauliflora</i> (Mart.) Kausel).....	21
2.1.7 Pitangueira (<i>Eugenia uniflora</i> L.).....	22
2.1.8 Amoreira preta (<i>Morus nigra</i> L.).....	22
2.1.9 Caramboleira (<i>Averrhoa carambola</i> L.)	23
2.1.10 Lobeira (<i>Solanum falciforme</i> Farruggia)	24
2.2 Câncer	24
2.3 Proliferação Celular	26
2.4 Infecções Microbianas	27
2.5 Inflamação	28
3 OBJETIVOS.....	29
3.1 Objetivo Geral.....	29
3.2 Objetivos Específicos	29
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	30
4.1 Material Vegetal	30
4.2 Obtenção do Extrato	31
4.3 Cultivo e manutenção das células <i>in vitro</i>	33
4.4 Plaqueamento celular.....	33
4.5 Ensaio de MTT	33
4.6 Análises Estatísticas.....	34
4.7 Micro-organismos e meios de cultivo.....	35
4.8 Avaliação da atividade antimicrobiana pelo método de difusão em ágar/ placas	35
4.9 Determinação da concentração inibitória mínima (CIM) pela técnica da microdiluição em caldo.....	36
4.10 Avaliação da atividade anti-inflamatória dos extratos <i>in vitro</i>	38
4.10.1 Inibição da Desnaturação da Albumina.....	38
4.10.2 Ação Inibidora da Digestão de Proteinase	38

4.10.3 Ensaio de Estabilização de Membrana (Hemólise) e Teste de Inibição da Hemólise	39
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
5.1 Obtenção e rendimento dos extratos	40
5.2 <i>Screening</i> da atividade antitumoral dos extratos etanólicos na cultura celular tumoral – linhagem 4T1	42
5.3 Atividade proliferativa dos extratos etanólicos em cultura celular normal – Linhagens: VERO E BGM	48
5.4 Atividade antimicrobiana dos extratos vegetais em cultura de bactérias gram-positivas e gram-negativas pelo método de difusão em ágar/ placas	53
5.5 Determinação da concentração inibitória mínima (CIM) pelo Método de microdiluição em caldo	55
5.6 Avaliação da atividade anti-inflamatória dos extratos <i>in vitro</i>	57
5.6.1 Inibição da Desnaturação da Albumina	58
5.6.2 Ação Inibidora da Digestão de Protease	60
5.6.3 Ensaio de Estabilização de Membrana (Hemólise)	61
5.6.4 Teste de Inibição da Hemólise	62
5.7 Análise comparativa dos quatro ensaios de atividade anti-inflamatória dos extratos. ...	63
6 CONCLUSÃO	66
REFERÊNCIAS	67
APÊNDICE	77

1 INTRODUÇÃO

A biodiversidade vegetal da Mata Atlântica brasileira, uma das mais ricas e ameaçadas do mundo, tem despertado crescente interesse científico e farmacêutico. Essa região, compreendendo os estados do sudeste brasileiro, abriga uma ampla variedade de biomas, incluindo o Cerrado e a Mata Atlântica, além de fragmentos de caatinga, cada um caracterizado por sua diversidade única. A Mata Atlântica, foco deste estudo, é particularmente conhecida por abrigar uma biodiversidade extraordinária, resultado de sua variabilidade de altitude e latitude, o que contribui para a formação de diversos ecossistemas florestais. Essa riqueza biológica é evidenciada pela presença de mais de 20 mil espécies, das quais 40% são endêmicas desse bioma (Paulo Viana et al., 2013).

A exploração da biodiversidade vegetal tem sido direcionada à produção e utilização de extratos vegetais como fontes potenciais de compostos bioativos. As plantas são reconhecidas por sintetizarem uma vasta gama de compostos secundários, incluindo terpenos, compostos fenólicos e alcaloides, os quais têm sido investigados por suas propriedades farmacológicas. Devido ao fato de que os metabólitos secundários frequentemente desempenham papéis de defesa contra patógenos e herbívoros, a identificação de suas atividades biológicas tem impulsionado a pesquisa farmacêutica e a busca por alternativas terapêuticas (Borges & Amorim, 2020).

A importância da utilização de produtos naturais na medicina, tanto na história ancestral como na contemporaneidade, não pode ser subestimada. Os compostos naturais têm sido tradicionalmente empregados em práticas terapêuticas, e essa tradição continua a seguir a pesquisa e o desenvolvimento de terapias baseadas em produtos naturais (Bakkali et al., 2008). A fitoterapia e a medicina integrativa têm ganhado destaque globalmente, estimulando o estudo científico de plantas medicinais e a busca por novos agentes terapêuticos (Das et al., 2022).

Nesse contexto, a investigação *in vitro* da atividade biológica de extratos vegetais adquire o cultivo crucial. A avaliação da atividade antitumoral, proliferativa, antimicrobiana e anti-inflamatória de extratos naturais em culturas celulares tem o potencial de elucidar o valor terapêutico desses compostos. A complexidade das doenças, como o câncer, exige abordagens multifatoriais, estimulando a busca por agentes que atuem em múltiplos alvos (Zimmermann et al., 2007). Além disso, a resistência antimicrobiana impulsionou a investigação de novos antimicrobianos a partir de fontes naturais, como uma alternativa para o enfrentamento desse problema emergente de saúde pública (Asumang et al., 2021).

O presente trabalho tem como objetivo contribuir para a compreensão e exploração dos potenciais terapêuticos dos extratos vegetais da Mata Atlântica brasileira. Serão avaliadas as atividades antitumoral, proliferativa, antimicrobiana e anti-inflamatória *in vitro*, visando a identificação de extratos com possível potencial terapêutico. Os resultados obtidos podem oferecer *insights* valiosos para a utilização de produtos naturais no desenvolvimento de terapias inovadoras, alinhando-se com o crescente interesse na pesquisa e aplicação de compostos bioativos originários da biodiversidade vegetal.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A biodiversidade vegetal do Brasil corresponde a 20 % do total de espécies do mundo, no entanto, as plantas medicinais endêmicas do Brasil são utilizadas com pouco ou nenhum estudo sobre as propriedades farmacológicas (Rabelo et al., 2013).

A seguir serão abordados em subtópicos, pesquisas realizadas sobre as diferentes espécies vegetais utilizadas, além de estudos nas quatro áreas avaliadas neste estudo.

2.1 Material Vegetal

2.1.1 Serigueleira (*Spondias purpurea* L.)

As espécies da família Anacardiaceae evidenciam importância econômica por fornecerem frutos comestíveis, madeiras úteis e/ou espécies ornamentais. A família possui aproximadamente 70 gêneros e 600 espécies, a maioria sendo árvores e arbustos típicos de regiões tropicais, subtropicais e temperadas do mundo. Deste total, 14 gêneros e 57 espécies são encontradas no território brasileiro. Frutos de importância comercial ou regional, destacam-se os cajás (*Spondias* spp.), o umbu (*Spondias tuberosa* Arruda) e a seriguela (*Spondias purpurea* L.). A *Schinus terebinthifolia* Raddi (aroeira branca) e *Schinus molle* L. são exemplos de Aroeiras, plantas utilizadas na ornamentação de ruas e praças. Entre as espécies que apresentam madeira de boa qualidade estão a aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Allemão) e a aroeira-branca (*Lithrea molleoides* (Vell.) Engl.) (Bachelier & Fls, 2009).

A família Anacardeaceae é dividida em 5 subfamílias: Anacardieae, Spondiadeae, Rhoeae, Semecarpeae e Dobineeae. A subfamília Spondiadeae inclui 17 gêneros e 140 espécies,

com cerca de 14 a 15 espécies pertencentes ao gênero *Spondias* (Bachelier & Fls, 2009; Duvall, 2006; Macía & Barfod, n.d.).

A serigueleira (*Spondias purpurea* L.) é uma árvore frutífera pertencente à família Anacardiaceae, que possui grande capacidade adaptativa ao calor e seca sendo encontradas em sítios e quintais devido a seu valor comercial. É a árvore encontrada em diferentes regiões do Brasil de nome popular seriguela, ciriguela, siriguela ou ceriguela (Ingrid et al., 2017; M. R. Da Silva & Costa, 2021).

Os frutos de seriguela são muito apreciados no nordeste brasileiro, possui formato arredondado e a tonalidade varia de amarelo até tons avermelhados, possui sabor levemente adocicado e com toque ácido, mas as folhas, casca e sementes também são utilizadas e aproveitadas em receitas de uso medicinal nessa região, onde há maior incidência dessa planta, além de apresentar propriedades terapêuticas antibacterianas, diuréticas, antiespasmódicas e antitérmicas (Bernardo et al., 2021).

Pesquisas realizadas para a caracterização fitoquímica das folhas da *Spondias purpurea* L., popularmente conhecida como Seriguela, identificaram a presença de compostos como fenóis totais, flavonoides, esteróis e flavanonas (Ingrid et al., 2017). Além de sua composição química, a Serigueleira apresenta atividade farmacológica no tratamento de diarreias, disenterias e distúrbios gástricos, conforme relatado por Almeida et al., (2017). Outro estudo, conduzido por Zakaria et al., (2016), destaca o uso da serigueleira no tratamento de dores renais, atribuindo-lhe propriedades antiespasmódicas, diuréticas, analgésicas e antianêmicas.

2.1.2 Aroeira Branca (*Schinus terebinthifolia* raddi)

Schinus terebinthifolia Raddi, pertencente à família Anacardiaceae, é uma árvore nativa da América do Sul, distribuída na Argentina, Paraguai, Uruguai e Brasil ocorrendo nos biomas mata atlântica, cerrado e pampas. A árvore chega até 8m de altura, com as folhas e frutos apresentando odor de terebentina (Pereira, 2017).

O gênero *Schinus* é muito conhecido na medicina popular brasileira pois atua como potencial agente antifúngico, antimicrobiano, inseticida e cicatrizante (Santos et al., 2010). Dentro do gênero *Schinus*, várias espécies são utilizadas no reflorestamento e na arborização urbana, como por exemplo *S. molle* e *S. terebinthifolia* (Luz, 2017), além dos frutos dessas

árvores serem atrativos para a fauna, as espécies desse gênero podem ser utilizadas na decoração.

As espécies do gênero *Schinus* possuem muita semelhança morfológica o que dificulta sua identificação exata, além de possuir uma ampla distribuição mundial devido a facilidade adaptativa em diferentes condições climáticas e ambientais e da variedade de nomenclatura territorial. Assim foi necessário, após envio ao herbário, recorrer a especialista para identificação da espécie trabalhada. Os nomes populares para *S. terebinthifolius* são diferentes em cada região, em Minas Gerais são comuns aroeira branca, aroeira-pimenteira, aroeira-mansa, aroeirinha, árvore-da-pimenta, fruto-de-raposa; em São Paulo os nomes mais utilizados são falsa-aroeira, aguaraíba, abacaíba, aroeira-mansa e aroeira-de-minas; no Rio Grande do Sul aroeira; aroeira-braba e aroeira-precoce; no Rio de Janeiro aroeira-de-minas; aroeira-de-sabiá e aroeira-do-campo (Carvalho, 2006).

O tronco da aroeira branca é utilizado para confecção de mourões devido ao baixo valor comercial, além de produzir lenha de boa qualidade. O óleo essencial da semente possui atividade inseticida comprovada em *Musca domestica* (Carvalho, 2006). Os frutos conhecidos como pimenta-rosa ou pimenta-da-jamaica tem sido comercializado como substituição a pimenta-do-reino por possuírem semelhanças em componentes químicos, possuem ardência leve e sabor adocicado sendo utilizados na culinária em todo mundo (Barbosa et al., 2007; Carvalho, 2006).

A Aroeira Branca possui muitas propriedades medicinais descritas, dentre elas ação antioxidante, cicatrização de feridas, atividade antitumoral e antimicrobiano (Barbosa et al., 2007; Guerra et al., 2000). Esta planta é utilizada na medicina popular por suas propriedades anti-inflamatórias, analgésicas, antipiréticas e depurativas e no tratamento de doenças urogenitais e respiratórias (Cavalher-Machado et al., 2008). Segundo estudos realizados por Iwanaga et al., (2019) *Schinus terebinthifolia* apresentou alto teor de fenóis totais, justificando assim sua atividade antioxidante *in vitro*.

2.1.3 Aroeira Preta (*Lithraea molleoides* (Vell.) Engl.)

Pertencente à família Anacardiaceae, *Lithraea molleoides* (Vell.) Engl. é encontrada de Minas Gerais até o Rio Grande do Sul possuindo sinonímia botânica para *Schinus molleoides* Vellozo; *Rhus clauseniana* Turcz.; *Lithraea aroeirinha* March.; *Schinus terebinthifolius* var. *ternifolius* March.; *Schinus leucocarpus* Mart. ex Engl.; *Lithraea lorentziana* Hieron. Os nomes populares são diferentes em cada região, em Minas Gerais os nomes mais conhecidos são aroeira, aroeira-preta, aroeira-branca, aroeirinha e aroeirinha-branca, no Paraná Bugreiro, no Rio Grande do sul e em São Paulo são comuns aroeira-brava e aroeira-preta (Carvalho, 2006). Será utilizado neste trabalho o nome comum Aroeira Preta devido sua utilização na localidade da coleta do ramo. Seu fruto é parecido com o da aroeira-branca, mencionada anteriormente, porém a coloração é escura, justificando o nome popular utilizado na região.

Aroeira Preta é encontrada preferencialmente nos Biomas Mata Atlântica e Cerrado onde se encontram os estados de Minas Gerais, São Paulo, Rio Grande do Sul, Paraná e Santa Catarina, porém essa árvore pode ser encontrada em outros estados do país (Carvalho, 2006).

Seu tronco é reto levemente tortuoso atingindo aproximadamente 15m de altura é conhecido pela produção de lenha de boa qualidade, por ser resistente à flexão e ao choque sua utilização é indicada em construção geral, confecção de postes, carroçarias e diversas finalidades. A casca é rica em taninos podendo ser utilizada na produção de poder tintoral, além do seu cozimento apresentar resultados positivos no combate a diarreia, disenteria possuindo propriedades estimulantes e diuréticas (Carvalho, 2006).

A casca de Aroeira Preta (*Lithraea molleoides*) é rica em taninos podendo ser utilizada na produção de poder tintoral, além do seu cozimento apresentar resultados positivos no combate a diarreia, disenteria possuindo propriedades estimulantes e diuréticas (Carvalho, 2006).

2.1.4 Candeia (*Eremanthus incanus* (Less.) Less.)

A família Asteraceae, é a mais diversa da família vegetal de dicotiledôneas abrangendo 1.620 gêneros com 25.042 espécies. Essa família vem sendo revisitada nos últimos anos e passa por mudanças taxonômicas. Vernoniaceae Cass. é uma tribo com mais de 1.500 espécies onde a candeia se enquadra (Gimenes et al., 2018).

O gênero *Eremanthus* possui 22 espécies (Scolforo et al., 2002) das quais *Eremanthus erythropappus* e *Eremanthus incanus* estão em destaque devido seu valor comercial e abundância no território de Minas Gerais.

A candeia como é conhecida regionalmente tem esse nome devido a sua utilização em velas pela população tradicional de campo (Gimenes et al., 2018), é encontrada na América do Sul. No Brasil ocorre preferencialmente nos estados de Minas Gerais, Bahia, Espírito Santo e Rio de Janeiro onde os biomas predominantes são Cerrado, Caatinga e Mata Atlântica. O seu tronco é utilizado comercialmente no Brasil e no mundo para produção de mourão (Scolforo et al., 2002) e se desenvolve rapidamente em regiões abertas e por isso são consideradas pioneiras invasivas (Junior et al., 2016).

Alguns compostos naturais da Candeia (*Eremanthus incanus*) possuem um aroma peculiar sendo o óleo essencial do tronco da candeia utilizado na indústria farmacêutica e cosmética pois possui alfa-bisabolol, um ativo natural com propriedades anti-inflamatória, antimicrobiana e cicatrizantes. Na espécie *E. incanus* (utilizada neste trabalho) esse ativo é encontrado em baixas quantidades, já na espécie *E. erythropappus* esse ativo é o principal componente sendo mais comercializado e estão presentes em cremes e protetor solar (Scolforo et al., 2002). O α -bisabolol extraído da espécie *E. erythropappus*, apresenta atividades antibacterianas, anti-inflamatórias e cicatrizantes (Rocha et al., 2020). Extrato bruto polar de *E. incanus* foi produzido e submetido a análise de cromatografia líquida de alta eficiência combinada com espectrometria de massa sequencial (HPLC-ESI-MSn) e identificaram 20 compostos, descritos pela primeira vez nesta espécie, em que relataram ser 8 ácidos clorogênicos, 6 flavonoides e 6 derivados fenólicos glicosilados (Gimenes et al., 2018). Trabalhos com extratos foliares de Candeias são escassos na literatura sendo de extrema importância e relevância os dados encontrados neste trabalho para melhor conhecimento das propriedades dessa espécie.

2.1.5 Caneleira-preta (*Nectandra* Rol. ex Rottb)

A família Lauraceae, é distribuída nas regiões tropicais e subtropicais do planeta, predominantemente no sudeste da Ásia e no Brasil. Contém aproximadamente 2500 a 3000 espécies em 49 gêneros (Melo et al., 2006). Hoje são aceitas 114 espécies com distribuição restrita às Américas tropical e subtropical, sendo 43 brasileiras, sobretudo na Mata Atlântica e

Amazônia. *Nectandra* Rol. ex Rottb é o segundo maior gênero de Lauraceae no Novo Mundo, em primeiro lugar se encontra o gênero *Ocotea* Aubl. com cerca de 350 espécies (Baitello et al., 2003; Rohwer & Kubitzki, 1993).

Gêneros da família Lauraceae, incluindo *Nectandra*, são de difícil identificação e não podem ser observados apenas aspectos vegetativos tendo como ponto fundamental o material florido (Rohwer & Kubitzki, 1993).

As espécies de *Nectandra* desenvolvem-se em ambientes úmidos, sempre verdes, em planícies de florestas montanhosas e poucas espécies são encontradas em outros habitats (Rohwer & Kubitzki, 1993). Quase todas as espécies do gênero *Nectandra* são conhecidas pelo nome “Canela” indicando suas propriedades aromáticas.

Estudos fitoquímicos relatam a presença de flavonoides e ligninas em espécies de Canela (*Nectandra sp.*) onde ambos os compostos possuem propriedades biológicas que podem contribuir para o efeito anti-inflamatório desta planta (Melo et al., 2006).

2.1.6 Jabuticabeira (*Plinia cauliflora* (Mart.) Kausel)

A jabuticabeira pertence à família Myrtaceae, amplamente distribuída no Brasil, e nativa do bioma Mata Atlântica (Citadin et al., 2010). *Plinia cauliflora* (Mart.) Kausel, popularmente conhecida como jabuticaba, jaboticaba, jaboticaba-ponhema, jaboticaba-açu, jaboticaba-paulista, é sinônimo de *Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg, *Plinia jabuticaba* (Vell.) Kausel, *Myrcia jabuticaba* (Bem.) Baill. e *Myrciaria jabuticaba* (Vell.) O. Berg (Paula et al., 2021) e é utilizada na medicina tradicional brasileira no tratamento de doenças infecciosas e inflamatórias (Galvão et al., 2021).

As folhas de *P. cauliflora* são utilizadas como xarope ou infusão para o tratamento de doenças inflamatórias e infecciosas como gripe, diarreia, disenteria, labirintite e bronquite (Agra et al., 2008; Cruz & Kaplan, 2004; Paiva et al., 2017).

A Jabuticabeira (*Plinia cauliflora*) é utilizada na medicina tradicional brasileira no tratamento de doenças infecciosas e inflamatórias (Galvão et al., 2021), sendo um potencial anti-inflamatório (Paula et al., 2021). As folhas de jabuticabeira são pouco analisadas em estudos científicos, quando comparadas às demais partes da planta. Os extratos das folhas e dos ramos apresentaram alto teor de flavonoides e de taninos (Paula et al., 2021).

2.1.7 Pitangueira (*Eugenia uniflora* L.)

A família Myrtaceae possui aproximadamente 121 gêneros com plantas frutíferas comercializadas em todo o mundo. O gênero *Eugenia* é considerado o quarto mais importante onde cerca de 350 espécies são nativas do Brasil (Fidelis et al., 2022).

A diversidade do gênero *Eugenia* possui ampla distribuição mundial, sendo que nas Américas é encontrado cerca de 1.000 espécies, onde somente no Brasil encontramos 100 espécies (Carvalho, 2006).

Eugenia uniflora é encontrada na América do Sul e em grande parte do Brasil, com preferência para as regiões Sul e Sudeste (Fidelis et al., 2022) com sinonímia botânica para *Eugenia costata* Camb, *Plinia rubra* L. e *Stenocalyx uniflorus* (L.) Kausel cujos nomes populares são comuns em todo território brasileiro, sendo: pitanga, pitanga-do-mato, pitanga-vermelha ou pitangueira (Carvalho, 2006).

Os frutos da pitangueira são muito saborosos e inseridos na alimentação *in natura* ou utilizada para fazer sucos, sorvetes, doces, licores e geleias e é rico em vitamina C. São conhecidos como pitanga, acerola brasileira, ou acerola do Suriname (Fidelis et al., 2022). Já as folhas são utilizadas como chá para combater diarreia, verminose e febres infantis (Carvalho, 2006).

Os compostos mais comuns identificados nos extratos foliares da Pitangueira (*Eugenia uniflora*) foram polifenóis, como flavonoides (miricitrina, miricetina, rutina e quercetina) e taninos (ácido gálico e ácido elágico) e as principais atividades farmacológicas do extrato incluem atividade biológica como antidepressivo, antidiabético e anti-inflamatório (Brito et al., 2022). As folhas são utilizadas como chá para combater diarreia, verminose e febres infantis (Carvalho, 2006).

2.1.8 Amoreira preta (*Morus nigra* L.)

A espécie *Morus nigra*, pertencente à família Moraceae, é originária do sudoeste da Ásia, conhecida mundialmente como amora ou amora-preta, é aplicada na medicina popular chinesa (Pawlowska et al., 2008).

A árvore da amoreira mede de 5 a 20 metros de altura, com folhas largas e frutos negros comestíveis de sabor adocicado e ácido, que são utilizados na culinária como sucos, vinhos, geleias possuindo enorme variedade de preparo (Erden, 2021). Suas folhas são utilizadas na preparação de chás como recurso curativo para algumas doenças como, diabetes, colesterol, problemas cardiovasculares e obesidade, devido suas ações diuréticas, hipoglicemiante e hipotensoras (Oliveira et al., 2013).

As plantas pertencentes ao gênero *Morus* são ricas em compostos fenólicos, tais como, flavonoides, antocianinas e carotenoides, responsáveis pelas propriedades antioxidante, antitumoral e anti-inflamatória (Padilha et al., 2009).

As plantas pertencentes ao gênero *Morus* (Amoreira) são ricas em compostos fenólicos, tais como, flavonoides, antocianinas e carotenoides, responsáveis pelas propriedades antioxidante, antitumoral e anti-inflamatória (Padilha et al., 2009).

2.1.9 Caramboleira (*Averrhoa carambola* L.)

A família Oxalidaceae, consiste em mais de 900 espécies pertencentes a sete gêneros, dentre eles, destaca-se *Averrhoa*. *A. carambola* L., uma árvore asiática introduzida no Brasil. *A. carambola* é popularmente conhecida como carambola, com frutas comestíveis profundamente suculentas, de coloração amarelo-marrom (Luan et al., 2021).

No Brasil a caramboleira é encontrada em todo território principalmente em regiões quentes e em áreas domésticas para produção de frutas, sendo consumida in natura e acrescentada à culinária regional em doces e sucos (Gol et al., 2015).

Averrhoa carambola L. possui atividades antiobesas e antidiabéticas (Ramadan et al., 2022), atividade anti-inflamatória e antimicrobiana (Otuki et al., 2011; Wakte & Patil, 2011).

Estudos farmacológicos mostram que extratos brutos ou compostos monoméricos de *A. carambola* exibem diversas bioatividades, como antioxidante, antitumoral, anti-inflamatória e outras (Luan et al., 2021). Extratos de *A. carambola* possui atividade antioxidante e antimicrobiana em que podem estar relacionadas à presença de substâncias fenólicas nos extratos (Silva et al., 2021).

2.1.10 Lobeira (*Solanum falciforme* Farruggia)

A família Solanaceae é encontrada na América Central, ao sul do México, sudoeste dos Estados Unidos e Austrália (D'Arcy, 1972). No Brasil, a família Solanaceae é encontrada desde a Amazônia até o sul do país com cerca de 33 gêneros e 500 espécies. Solanaceae está entre as famílias com maior número de espécies, destacando-se o gênero *Solanum* (Oliveira-Filho & Fontes, 2000).

O gênero *Solanum* L possui grande interesse econômico, e incluem espécies conhecidas como o tomate (*S. lycopersicum* L.), batata (*S. tuberosum* L.) e berinjela (*S. melongena* L.). *Solanum falciforme* é espécie endêmica do Brasil e distribuída nos biomas Mata Atlântica e Cerrado. É encontrada à beira de estradas, sendo comumente encontrada nos Estados de Goiás, Distrito Federal, Bahia e Minas Gerais. A *Solanum falciforme* é conhecida popularmente como lobeira ou fruto do lobo (Farruggia & Bohs, 2010).

Solanum falciforme Farruggia foi descrita recentemente por Farruggia, onde se assemelha com outras espécies do mesmo gênero como *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil., *Solanum gomphodes* Dunal e *Solanum crinitum* Lam (Farruggia & Bohs, 2010).

2.2 Câncer

O termo câncer é utilizado para englobar mais de 100 doenças malignas que convergem pelo fato de as células realizarem sucessivas divisões celulares de forma rápida e incontrolável, levando a produção de massas sólidas denominadas tumores ou neoplasias. O crescimento fora de controle e a invasão de outros tecidos são características de células cancerosas (Santos et al., 2023).

Ainda, segundo o Instituto Nacional de Câncer - INCA, existem fatores de risco para a progressão do câncer de origem genética, ou seja, mutações nos genes, e fatores ambientais, estando relacionados com alimentação, medicamentos, estilo de vida etc. Segundo dados levantados pelo Ministério da Saúde (2012) apenas 10 % dos casos são causados por fatores genéticos enquanto 80 – 90 % estão associados a fatores ambientais (Santos et al., 2023).

A progressão do câncer é dita como um dos eventos biológicos mais devastadores para a saúde humana devido a sua origem silenciosa, onde se iniciam diversos eventos celulares que pode progredir ao óbito do paciente.

Estima-se que um em cada cinco indivíduos terão câncer durante sua vida. No mundo, o câncer de mama é o mais recorrente em mulheres com 2,3 milhões de casos, o que corresponde a 24,5 % da população mundial, seguido pelo cólon e reto, com 865 mil (9,4 %); pulmão, com 771 mil (8,4 %); colo do útero, com 604 mil (6,5). Para os homens, o câncer com maior incidência em todo mundo é de pulmão com 1,4 milhão (14,3 %) novos casos, seguido câncer de próstata, com 1,4 milhão (14,1 %) e cólon e reto, com 1 milhão (10,6 %) de novos casos mundialmente (Bray et al., 2018; Sung et al., 2021).

Os dados para o Brasil são semelhantes, a estimativa para o triênio de 2023 a 2025 é de cerca de 704 mil novos casos da doença. Sendo de 74 mil de novos casos (20,3 %) somente para câncer de mama, seguido pelo câncer de cólon e reto com 24 mil (6,5 %); câncer no colo do útero com 17 mil (4,7 %); e pulmão com 15 mil (4,0 %). Para homens o câncer com maior incidência é câncer de próstata com 72 mil (21,0 %) novos casos, seguido do câncer de cólon e reto com 22 mil (6,4 %); câncer de pulmão com 18 mil (5,3 %) e estômago com 13 mil (3,9 %) (Santos et al., 2023).

Durante a pandemia da COVID-19 foram registrados atrasos nos diagnósticos e consequentemente no tratamento da doença em todo mundo. Em estudos realizados por Ribeiro et al., (2022) foi demonstrado que a realização de exames de diagnóstico de câncer foi menor durante a pandemia, do que em anos anteriores. Em 2020, houve redução de 3.767.686 (-44,6 %) em exames citopatológicos, 1.624.056 (-42,6 %) em exames de mamografias, 257.697 (-35,3 %) de biópsias realizadas, 25.172 cirurgias oncológicas (-15,7 %) e 552 (-0,7 %) procedimentos de radioterapia, comparando-se a 2019. Esses dados demonstram um cenário crítico e preocupante no que tange ao acompanhamento e diagnósticos de doenças sérias, como o câncer, além de estimular o estudo e a pesquisa relacionada ao seu tratamento, que foi um impulsionador para a pesquisa em questão.

Uma das características mais marcantes do câncer é a resistência a morte celular, a manutenção da sinalização proliferativa e capacidade de esquivar-se da ação de moléculas ou substâncias supressoras de tumor (Amin et al., 2009). Por isso, é fundamental utilizar estratégias terapêuticas focadas em estimular a morte celular e/ou cessar o ciclo celular (Blowman et al., 2018).

A quimioterapia é uma das abordagens mais utilizada no tratamento do câncer, em que são utilizadas cerca de 300 drogas com função antineoplásicas. Cerca de 90 % dos tumores podem ser tratados com quimioterápicos, entretanto, segundo o – (INCA, 2023) um problema enfrentado a diversos tratamentos quimioterápicos é a aquisição de resistência a drogas desenvolvida pelas células tumorais. Outra questão é que o tratamento quimioterápico se utiliza de medicamentos anticancerígenos para destruir as células tumorais, porém a quimioterapia atinge não somente as células cancerosas como também as células saudias do organismo, levando ao desenvolvimento de efeitos colaterais graves (Santos et al., 2023).

Diante desses dados, pesquisadores de todo mundo buscam mecanismos diversos que eliminem ou reduzam os obstáculos da quimioterapia e desenvolvam formas alternativas para o tratamento do câncer. Os materiais vegetais e produtos derivados destes, vêm sendo uma boa escolha podendo ser fontes de terapias na resolução de obstáculos em diferentes atividades biológicas (Iqbal et al., 2017).

A utilização de produtos naturais tem demonstrado que muitos destes possuem ação antimutagênica, antiproliferativa, antioxidante e desintoxicante, agindo em diferentes vias metabólicas de células tumorais além de registros de ausência ou redução da citotoxicidade em células saudáveis (Blowman et al., 2018).

2.3 Proliferação Celular

A proliferação é uma das quatro etapas do processo de cicatrização de feridas que envolve também os processos de hemostasia, inflamação e remodelação. Essas etapas precisam ocorrer de forma altamente organizada e sobreposta para que a cicatrização ocorra perfeitamente (Guo & DiPietro, 2010).

A fase da hemostasia é a primeira fase do processo de cicatrização a qual se inicia imediatamente após o ferimento, com constrição vascular e formação de coágulos de fibrina. Várias moléculas, como citocinas e fatores de crescimento, também são recrutadas ao local da ferida por meio do sangue (Vidmar et al., 2017).

Uma vez controlado o sangramento, as células inflamatórias migram para ferida e dão início a fase inflamatória, caracterizada pela infiltração sequencial de neutrófilos, macrófagos e linfócitos. Essas células desempenham diversas funções, dentre elas, eliminação de micro-

organismos invasores e restos celulares na área lesionada, bem como a indução e eliminação de células apoptóticas. Desta forma, ocorre a transição para a fase proliferativa da cicatrização (Guo & DiPietro, 2010).

A fase proliferativa normalmente ocorre após ou se sobrepõe à fase inflamatória, onde ocorre a proliferação epitelial e migração sobre a matriz provisória dentro da ferida (reepitelização). Na reparação da derme, os fibroblastos e as células endoteliais estão em destaque e propiciam a formação de colágeno e a formação do tecido de granulação (Guo & DiPietro, 2010).

Os fibroblastos produzem colágeno, glicosaminoglicanos e proteoglicanos, que são os principais componentes da matriz extracelular (MEC), que marca a fase final da cicatrização de feridas, a remodelação (Leal et al., 2014).

A etapa final do processo cicatricial, é caracterizada pelo retrocesso de capilares recém-formados, onde a densidade vascular da ferida volta ao normal. A característica mais enfatizada da fase de remodelação é a reorganização da matriz extracelular (MEC) para uma arquitetura que se aproxima da apresentada pelo tecido normal (Guo & DiPietro, 2010).

2.4 Infecções Microbianas

Doenças transmitidas por bactérias constituem um problema de saúde global. Os mecanismos de entrada de micro-organismos são diversos variando de alimentação e água contaminadas até ambiente hospitalar. Sua patogênese pode variar de acordo com as condições de saúde do hospedeiro, o tipo de micro-organismo e a quantidade do agente a que o hospedeiro foi exposto (Galié et al., 2018).

As cepas bacterianas usadas no presente trabalho são famosas por sua resistência a medicamentos e presença de múltiplos fatores de virulência. Cepas resistentes, de diferentes espécies bacterianas, vêm surgindo a cada novo antibiótico introduzido no tratamento das patologias a ele atribuídas (A. L. Santos et al., 2007), sendo de grande relevância estudos com novos agentes antimicrobianos.

Os fármacos atualmente disponíveis vêm sendo progressivamente ineficazes devido ao aparecimento de mecanismos de resistência bacterianas. Assim, o estudo e a descoberta de novas drogas é uma necessidade urgente, e se torna um grande desafio devido ao

desenvolvimento de resistência, ao tipo de toxicidade que cada droga apresenta e o alto custo financeiro do tratamento. Na tentativa de minimizar esses desafios, estudos vêm sendo realizados na utilização de agentes antimicrobianos derivados de plantas com intuito de servir como um tratamento alternativo eficaz (Hickl et al., 2018).

2.5 Inflamação

A inflamação é uma resposta de defesa à infecção ou lesão tecidual, onde o organismo reage para localizar, inativar e destruir o agente agressor além de potencializar a reparação tecidual (Kulkarni et al., 2016; Villanueva et al., 2017).

A resposta inflamatória se inicia após ocorrer dano celular, que pode ter diferentes origens como vírus, bactérias, parasitas, podendo também ser causadas por agentes físicos, como radiação, trauma e queimaduras, ou agentes químicos, como toxinas. As manifestações clínicas características da inflamação são rubor, calor, edema, dor e prejuízo funcional (Jeong et al., 2013; D. Ribeiro et al., 2015).

A inflamação é uma resposta meticulosamente coordenada do organismo, tendo como objetivo manter o equilíbrio homeostático, assim o processo envolve a atividade de células endoteliais, células epiteliais e o recrutamento de células inflamatórias como neutrófilos, monócitos, macrófagos e, em alguns casos, linfócitos (D. Ribeiro et al., 2015).

O processo inflamatório pode ser classificado como agudo ou crônico, de acordo com a natureza e eficácia da resposta inicial. A inflamação aguda, é rápida no início e de curta duração, durando horas ou alguns dias. Caracteriza-se pela liberação de mediadores químicos, e leva à exsudação de fluidos e proteínas plasmáticas (edema) e à migração de leucócitos, predominantemente neutrófilos, por meio da ativação das células endoteliais. O objetivo desta fase é a eliminação do agente, porém se ele persistir, a inflamação poderá evoluir para a segunda fase, a crônica. A inflamação crônica é definida como uma inflamação prolongada durando de semanas a meses, onde a lesão tecidual e as tentativas de reparação coexistem, as células predominantes são os macrófagos, onde ocorre a formação de tecido conjuntivo e angiogênese (D. Ribeiro et al., 2015).

O entendimento dos mecanismos de defesa que o organismo utiliza para combater os microorganismos são mediados pelo sistema imune inato e adaptativo. A resposta imunológica

inata é considerada a primeira linha de defesa do hospedeiro contra micro-organismos, e atua imediatamente após uma infecção ou lesão. Atuam com participação de componentes solúveis e células efectoras, neutrófilos, macrófagos, células dendríticas e células *natural killer* (NK). Devido a capacidade de fagocitar e eliminar os patógenos, essas células usam um mecanismo, através de receptores de reconhecimento de padrões (PRRs) que se ligam com os PAMPs (padrões moleculares associados a patógenos) presentes na superfície dos micro-organismos e os DAMPs (padrões moleculares associados a dano), que são moléculas liberadas por células hospedeiras danificadas, provenientes de lesão celular, atuando por exemplo, em lesões de trauma ou queimaduras. O resultado desta interação é a produção e secreção de mediadores inflamatórios, iniciando o que chamamos de cascata inflamatória (Krishna & Miller, 2012; Richmond & Harris, 2014; Zhang et al., 2010).

As plantas medicinais contêm metabólitos secundários que possuem inúmeras atividades farmacológicas. Dentre eles, compostos fenólicos e flavonoides possuem atividades como antioxidante e anti-inflamatória (Guzik TJ; et al., 2003).

Apesar da inflamação ser uma defesa imunológica, os eventos celulares e os mediadores envolvidos no processo inflamatório podem estimular, manter ou agravar doenças, sendo os medicamentos anti-inflamatórios de vital importância no tratamento dessas patologias (Sosa et al., 2002).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Obter extratos naturais de diferentes espécies coletadas na mata atlântica brasileira e avaliar a atividade antitumoral, proliferativa, antimicrobiana e anti-inflamatória.

3.2 Objetivos Específicos

- Coletar e obter extratos etanólicos de espécimes vegetais do território brasileiro e do bioma mata atlântica, identificando taxonomicamente as espécies e armazenando exemplares no herbário;
- Quantificar o rendimento dos extratos para avaliar a eficiência do método escolhido;

- Avaliar a atividade antitumoral e a capacidade proliferativa in vitro dos extratos naturais em linhagens celulares tumorais e normais;
- Investigar a atividade antimicrobiana dos extratos em culturas de bactérias gram-positivas e gram-negativas, incluindo a determinação da Concentração Mínima Inibitória (CIM);
- Examinar a possível atividade anti-inflamatória dos extratos por meio de ensaios in vitro.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Material Vegetal

Em março de 2022 foram coletados folhas e/ou frutos de 10 diferentes espécies vegetais nas cidades de Coimbra/MG (-20.858970, -42.876033) e em Conceição do Ibitipoca distrito do município de Lima Duarte, MG 21.6786470, -43,9661970). Estas áreas estão localizadas na Mesorregião da Zona da Mata de Minas Gerais (Mata Atlântica Brasileira) e Lima Duarte.

As plantas foram coletadas em estado fértil, com flores e /ou frutos durante o ano de 2022 para depósito de exsicatas no Herbário da Universidade Federal de Viçosa (VIC) (TABELA 1). A identificação dos espécimes foi feita pelo professor Marco Otávio Dias Pivari (PUC Minas), doutor em Biologia Vegetal com ampla experiência em Taxonomia Vegetal e posteriormente comparada com outras exsicatas no herbário da Universidade Federal de Viçosa, além da utilização do site SpeciesLink concluindo a identificação. A caneleira foi identificada por Flávio Macedo Alves, especialista em Lauraceae, já o ramo de Jabuticabeira ainda está em processo de identificação junto ao herbário da UFV.

Tabela 1 - Exemplares depositados no Herbário da UFV

VIC	Família	Espécie	Nome Popular Regional
55631	Anacardiaceae	<i>Spondias purpurea</i> L.	Serigueleira
55636	Anacardiaceae	<i>Schinus terebinthifolia</i> Raddi	Aroeira Branca
55635	Anacardiaceae	<i>Lithraea molleoides</i> (Vell.) Engl.	Aroeira Preta

55629	Asteraceae	<i>Eremanthus incanus</i> (Less.) Less.	Candeia
55642	Lauraceae	<i>Nectandra</i> Rol. ex Rottb	Caneleira
55628	Myrtaceae	<i>Plinia cauliflora</i> (Mart.) Kausel	Jaboticabeira
55633	Myrtaceae	<i>Eugenia uniflora</i> L.	Pitangueira
55630	Solanaceae	<i>Solanum falciforme</i> Farruggia	Lobeira
55625; 55632; 55637	Moraceae	<i>Morus nigra</i> L.	Amoreira
55626; 55627	Oxalidaceae	<i>Averrhoa carambola</i> L.	Caramboleira

Fonte: Autoria própria (2023).

4.2 Obtenção do Extrato

O processo de extração foi realizado no Laboratório de Química e Bioquímica de Produtos Naturais (BioNat) localizado no Departamento de Bioquímica da UFV, no qual folhas e frutos coletados em março de 2023, a depender do caso, foram lavados em água corrente e separados dos galhos. Foi realizada a secagem deste material por meio de ventilação forçada utilizando desidratador (PE100 Semi Industrial Analógico - Pardal) a 40 °C durante 24h. Em seguida todo material foi triturado com auxílio de liquidificador (ARNOMagiclean) transformando as folhas secas em pó.

A matéria-prima vegetal triturada seca, foi submetida ao processo de filtragem realizada com auxílio do percolador de aço inox (Steelservice) em formato cônico, forrado com algodão, umedecido com algumas gotas álcool etílico (99,8 % P.A.) a fim de evitar seu deslocamento. Após a adição do material vegetal triturado, o volume foi completado imediatamente com álcool etílico a 99,8 % e fechado. O tempo de repouso variou de 3 a 5 dias completos, para enfim, o extrato ser coletado por gotejamento, sendo armazenado em balão volumétrico até a etapa de evaporação rotativa.

É relevante ressaltar que, após iniciar a aquisição do extrato do percolador, o material triturado foi novamente coberto pelo solvente, seguida pela repetição do processo de filtração, até que a coloração translúcida do extrato fosse visualmente visível. Esta classificação de ponto de coloração foi selecionada em resposta à observação de um rendimento do extrato consideravelmente baixo e uma reutilização substancial do solvente, resultando em um aumento

gradual da proporção de solvente em relação ao extrato ao longo das sucessivas filtrações. Diante dessa condição, a decisão foi tomada de encerrar essa etapa.

A evaporação rotativa foi realizada em equipamento conhecido como rotavapor (Evaporador Rotativo – Fisatom 803, digital). O extrato armazenado no balão de evaporação foi inserido no sistema de rotação com aproximadamente 70 rpm mantendo-se sob um banho de aquecimento com temperaturas entre 30 °C e 40 °C. Com isso, o volume do extrato foi reduzido e acondicionado em recipiente para posteriormente ser colocado na cabine de exaustão química (Capela de Exaustão de Gases Nalgon) por aproximadamente 1 mês para término da evaporação do solvente.

Decorridas todas as etapas de obtenção dos extratos estes foram submetidos a liofilização (Liofilizador VirTis BenchTop “K” Series), no Laboratório de Biofísica Ambiental, situado no Departamento de Biologia Geral da UFV, onde as amostras previamente congeladas a -80 °C durante 24 horas, foram inseridas na câmara de vácuo, onde ocorreu sublimação, em temperatura -65 °C, pressão 80 mili torr, durante 72 horas consecutivas.

Ao final deste período de liofilização a maioria dos extratos adquiriram consistência de pó, exceto, os extratos de lobeira, amora e aroeira branca-fruto que permaneceram com consistência gelatinosa, tornando necessária a repetição deste procedimento.

A pesagem em balança analítica (Balança De Precisão Gehaka – Bk3000 C/Cal Interna) dos extratos ocorreu de forma constante ao longo de todas as diferentes etapas da extração, com intuito de calcular o rendimento de cada extrato. Os extratos foram armazenados em dessecador durante 7 dias após a liofilização e mantidos sob refrigeração protegidos da luz.

Calculou-se o rendimento total dos extratos, de acordo com a fórmula:

$$Re = \frac{P_{ext}}{P_{folhas}} \times 100$$

Onde: Re = Rendimento total do extrato (%); P_{ext} = Peso do extrato seco (g); P_{folhas} = Peso das folhas secas em pó (g).

4.3 Cultivo e manutenção das células *in vitro*

As linhagens aderentes de câncer de mama murino (4T1), tecido renal derivado de macaco verde africano (*Cercopithecus aethiops*) adulto normal (VERO) e também de tecido renal derivado de macaco verde africano (*Chlorocebus pygerythrus*) normal (BGM), foram doadas pelo Laboratório de Infectologia Molecular Animal - LIMA, Laboratório de Bioquímica Celular e Bioprodutos (LBB) e Laboratório de Biotecnologia Molecular, respectivamente, localizados na Universidade Federal de Viçosa (UFV-MG). Tais linhagens celulares foram cultivadas em garrafas de cultura de poliestireno com o meio RPMI 1640 (Roswell Park Memorial Institute 1640 medium) e/ou DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) acrescentado de 10 % de soro fetal bovino (SFB) e 1 % de antibióticos (estreptomicina 0,1 mg/ml e penicilina 100 U/ml), denominado meio completo (MC) (Sigma-Aldrich®). As garrafas foram incubadas em estufa (Panasonic – inCusafe) em condições padrão (37 °C com atmosfera úmida (95 %) e 5 % de CO₂) até a confluência das linhagens.

4.4 Plaqueamento celular

Após a confluência celular, as linhagens celulares foram lavadas com PBS-EDTA (2 g/L) (solução fosfato salino), tripsinizada (tripsina-EDTA 2,5 g/L, Sigma-Aldrich®) e ressuspensas em meio completo para contagem na câmara de Neubauer. No plaqueamento foram semeadas para linhagem tumoral 5×10^3 e 1×10^4 células para linhagem normal em 100 µL de meio completo, em cada poço das microplacas de 96 poços. Estas foram incubadas em estufa, sob condições padrão (descrito anteriormente no item 4.3), por 24 horas para aderência.

4.5 Ensaio de MTT

Após aderência das linhagens, os extratos diluídos em dimetilsulfóxido (DMSO 0,4 % - Sigma-Aldrich®) foram incorporados em meio de cultura e cada poço com células recebeu alíquotas de 100 µL da solução nas concentrações de 500 µg/ml, 100 µg/ml e 10 µg/ml para os testes preliminares e na concentração inicial de 250 µg/ml nos testes com diluição seriada. As células foram novamente incubadas em estufa de CO₂ durante 72 horas. Posteriormente, os tratamentos foram substituídos por 50 µl de solução de meio contendo 10 % de MTT (3- (4,5-

dimetiltiazol-2-il) -2,5-brometo de difeniltetrazólio) (0,5 mg/ml - Sigma-Aldrich®) e as placas incubadas por 3 horas, protegidas da luz. Após esse período, o MTT foi substituído por 50 µl de DMSO, por poço, para dissolução dos cristais de formazan sintetizados nas células viáveis pela enzima mitocondrial succinato desidrogenase (KUMAR; NAGARAJAN; UCHIL, 2018). A absorvância das placas foi medida utilizando um espectrofotômetro (SpectraMax®) a 570 nm. Poços com células tratadas com meio completo contendo DMSO 0,4 % foram utilizadas como controle negativo e poços sem células como branco durante a leitura da absorvância. Todas as amostras foram utilizadas em triplicata.

4.6 Análises Estatísticas

A proliferação normalizada representa a viabilidade celular e foi calculada utilizando os dados de absorvância (Abs) conforme a equação:

$$\text{Proliferação Normalizada} = \frac{\text{média Abs tratamento}}{\text{média Abs controle negativo}} \times 100$$

Onde, Abs controle negativo corresponde à absorvância do controle com células sem tratamento (utilizando DMSO) a 570 nm e Abs tratamento representa a absorvância do tratamento das células com os extratos a 570 nm.

As análises estatísticas e a construção dos gráficos se deram pelo programa GraphPad Prism® versão 8.0.1 e Microsoft Office Excel 2019®. A análise foi obtida em gráficos de coluna e aplicada pela Análise de Variância – ANOVA.

Para a realização de testes de eficácia de drogas, na maioria das vezes é utilizado a concentração eficaz (CE50), em que é avaliado uma determinada ação biológica, usando produtos purificados. No presente trabalho utilizou-se diferentes extratos não purificados, apesar da análise cromatográfica não ter sido foco do estudo, é sabido que todo material vegetal contém a presença de diversos constituintes majoritários que podem atuar de forma sinérgica ou antagônica durante a realização de testes de eficácia (Minho et al., 2017), justificando assim a utilização das análises de dados em gráficos de coluna, por serem indicados para comparação de um ou mais conjuntos de dados.

4.7 Micro-organismos e meios de cultivo

Foram realizadas análises antimicrobianas em dois laboratórios, inicialmente no Laboratório de Química e Bioquímica de Produtos Naturais - BioNat (pertencente ao Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal de Viçosa - UFV), seguido pelo Laboratório de Imunoquímica e Glicobiologia - LIG (vinculado ao Departamento de Biologia Geral da mesma instituição).

Foram utilizadas as seguintes cepas de bactérias gram-positivas no BioNat: *Staphylococcus aureus* (10132), *Staphylococcus haemolyticus* (MD57), *Staphylococcus pseudintermedius* (27), *Staphylococcus coagulans* (I5), *Staphylococcus epidermidis* (35984) (Rossi et al., 2016; Souza-Silva et al., 2022).

No LIG o teste foi realizado com 2 bactérias gram-positivas *Staphylococcus aureus* (ATCC 33591) e *Bacillus cereus* (ATCC 14579) e gram-negativas, *Escherichia coli* (ATCC 29214) e *Salmonella entérica* (ATCC 14028).

Os meios de cultivo utilizados foram BHI e Ágar Mueller Hinton (AMH).

4.8 Avaliação da atividade antimicrobiana pelo método de difusão em ágar/ placas

A metodologia de difusão em ágar foi realizada conforme descrito por (Balouiri et al., 2016), com modificações, a qual consiste na utilização de placas de petri contendo meio de cultura AMH com colônias de bacterianas cultivadas por 24 horas a 37 °C. As colônias de bactérias foram diluídas para a escala de McFarland 0.5 (aproximadamente 1:100 em um novo tubo contendo caldo AMH). A inoculação foi feita em superfície pela técnica de Spread Plate Method, com auxílio de swab esterilizado, em forma de estrias na superfície do ágar em três direções, girando a placa em ângulo de 60° após cada estria. A bactéria foi distribuída uniformemente sobre a superfície do ágar e deixado em repouso à temperatura ambiente durante 3 minutos.

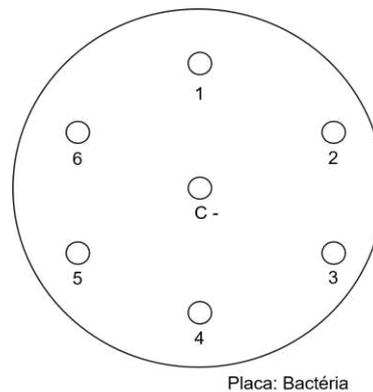
No BioNat os poços foram confeccionados com auxílio do cilindro de encaixe de ponteiros esterilizados. A seguir, os poços foram preenchidos com 50 µL dos extratos a serem testados na concentração de 100 mg/ml, além do controle negativo contendo DMSO puro.

No LIG, a inoculação bacteriana foi feita a técnica de inoculação em profundidade (Pour Plate Method) onde o inoculo foi adicionado ao fundo da placa estéril seguida da adição do meio de cultura. A homogeneização ocorreu por meio de movimentos rotacionais leves. Utilizou-se o 10 μ L de extrato na concentração de 100 μ g/ml e como controle positivo o antibiótico Cefitiofur (30 μ g/ml). Foi incubado por 24 horas em estufa a 35 °C.

A leitura foi realizada pela observação de aparecimento de halo inibidor e através da comparação entre os extratos, a fim de classificá-los quanto ao nível de atividade como sendo: alta, média, baixa e sem atividade.

Todos os ensaios foram realizados em triplicata utilizando-se cepas provenientes do BioNat e LIG.

Figura 1 - Representação da técnica de difusão em ágar realizada no BioNat



Fonte: Autoria própria (2023).

4.9 Determinação da concentração inibitória mínima (CIM) pela técnica da microdiluição em caldo

A determinação da concentração inibitória mínima dos extratos foi realizada segundo a metodologia da diluição em caldo (microdiluição) seguindo os procedimentos preconizados pelo Comitê Europeu de Suceptibilidade Antimicrobiana (EuCAST, documento Broth microdilution – EUCAST reading guide v 4.0 (Eucast, 2023), com as mesmas bactérias utilizadas nas técnicas de difusão em ágar. Foram utilizadas microplacas com 96 poços (Placa Para Cultura de Células – 96 Poços Kasvi). Os microrganismos previamente cultivados, foram diluídos 1:100 em 100 μ L de caldo Mueller Hinton contendo concentrações de extratos

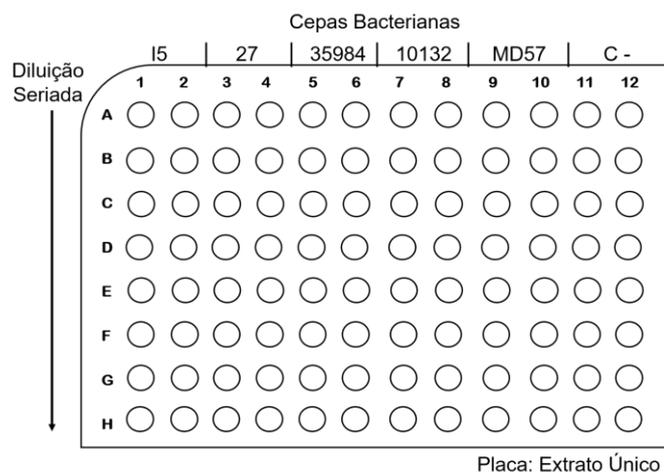
variando de 5000 µg/ml a 0,15 µg/ml. As placas foram incubadas a 37 °C por 24 horas e posteriormente foram adicionados em cada orifício 100 µL de resazurina (7-hidroxi-3H-phenoxazin-3-ona10-óxido) a 0,01 % em solução aquosa esterilizada onde, após 4 horas de reincubação, a leitura qualitativa foi realizada (Präbst et al., 2017).

A determinação da concentração inibitória mínima (CIM) foi de forma visual e qualitativa, onde os poços com ausência de bactérias viáveis apresentaram coloração roxo-azulado e os poços com bactérias viáveis apresentaram coloração rósea (O'Brien et al., 2000). Foi considerado o valor do CIM, aquela menor concentração em que a solução dos poços se mantinha roxo-azulado. Para a classificação dos valores de CIM, foram considerados valores de CIM abaixo de 625 µg/ml como forte inibição, valores de 625 µg/ml a 1.250 µg/ml relacionados com inibição moderada e valores acima de 1.250 µg/ml inibição fraca (Aligiannis et al., 2001).

Meio de cultura sem extrato foram usados como controle negativo. Uma placa com o antibiótico Mupirox (ciclopirox olamine) foi utilizada como controle positivo na concentração de 50 µg/ml.

Os ensaios foram realizados em duplicata utilizando-se cepas provenientes do BioNat.

Figura 2 - Representação do teste em microplacas



Fonte: Autoria própria (2023).

A leitura foi realizada por meio da resazurina é um indicador de oxidação-redução, onde seu uso é indicado em testes antibacterianos e de contaminação bacteriana (Palomino et

al., 2002). A resazurina (7-hidroxi-3H-phenoxazin-3-ona10-óxido) é considerada o indicador mais utilizado em condições de redução em meios de cultura (Fukushima et al., 2003).

4.10 Avaliação da atividade anti-inflamatória dos extratos *in vitro*

Com o intuito de investigar a possível atividade anti-inflamatória dos extratos obtidos, foi realizada uma série de ensaios de *screening* no LIG. O ensaio de inibição de desnaturação da albumina, de inibição da ação da protease tripsina, de estabilidade da membrana e o teste de inibição da hemólise, foram escolhidos como os ensaios de *screening* preliminares para essa análise.

4.10.1 Inibição da Desnaturação da Albumina

Muitos métodos *in vitro*, foram desenvolvidos para um *screening* inicial da ação anti-inflamatória. Um desses métodos baseia-se na proteção contra a desnaturação proteica, considerando que alguns agentes anti-inflamatórios inibem essa desnaturação (Bhaskar & Mohite, 2010).

O método proposto por Sakat et al., (2010) foi adotado, com adaptações, no qual a mistura conteve os extratos e solução aquosa a 1 % da fração albumina sérica bovina (BSA). As amostras foram incubadas a 37 °C por 20 minutos e depois aquecida a 70 °C por 10 minutos. Após resfriar as amostras, a turbidez foi medida em Espectrofotômetro Genesys® 10S UV-VIS a 660 nm. O experimento foi realizado em triplicata.

A inibição percentual da desnaturação da proteína foi calculada da seguinte forma:

$$\% \text{ inibição desnaturação de BSA} = \frac{\text{Abs controle} - \text{Abs tratamento}}{\text{Abs controle}} \times 100$$

Onde, Abs controle corresponde à absorvância do controle a 660 nm e Abs tratamento representa a absorvância do tratamento a 660 nm.

4.10.2 Ação Inibidora da Digestão de Proteinase

O experimento foi conduzido de acordo com o protocolo proposto por (Sakat et al., 2010). A solução de ensaio continha 0,06 % de tripsina e os extratos foram utilizados na concentração de 100 µg/ml. A mistura foi incubada a 37 °C por 5 minutos seguida da adição de BSA 1 % (p/v), e uma subsequente incubação de 25 minutos. Posteriormente, foi adicionado ácido tricloroacético (TCA) a 15%.

A suspensão turva foi centrifugada (Eppendorf Centrifuge 5427 R) a 10.000 rpm por 10 min e a absorbância do sobrenadante foi lida a 210 nm em Espectrofotômetro Genesys® 10S UV-VIS contra o tampão como branco. A droga ácido acetilsalicílico (AAS) foi usada como controle positivo. O experimento foi realizado em triplicata.

A porcentagem de inibição da atividade inibidora da proteinase foi calculada conforme cálculo anterior.

4.10.3 Ensaio de Estabilização de Membrana (Hemólise) e Teste de Inibição da Hemólise

4.10.3.1 Preparação de suspensão de glóbulos vermelhos

Foi coletado (10 ml) de sangue humano fresco e transferido para tubos de centrifugação heparinizados. Os tubos foram centrifugados a 3.000 rpm por 10 minutos e lavados três vezes com igual volume de solução salina normal. O volume do sangue foi medido e reconstituído como suspensão a 10 % (v / v) com solução salina normal.

4.10.3.1 Hemólise induzida por calor e teste de inibição da hemólise

Os dois testes foram realizados utilizando-se de uma mistura de reação (2 ml) que consistia em 1 ml de solução de extrato (100 µg/ml) e 1 ml de suspensão de 10 % de hemácias, em vez de droga, apenas solução salina (Cloreto de Sódio 0,45 g e água destilada) foi adicionada ao tubo de teste de controle. Ácido acetilsalicílico (AAS) foi usado como controle. Todos os tubos de centrífuga contendo a mistura de reação foram incubados em um banho maria (Banho Seco com Agitação (Thermo Shaker) 110v – Modelo K80-100 | Kasvi) a 37 °C por 24 horas para o ensaio de hemólise. No teste de inibição da hemólise a mistura foi incubada a 56 °C por 30 minutos. Ao final da incubação, os tubos foram resfriados em água corrente. A mistura

reacional foi centrifugada (Eppendorf Centrifuge 5427 R) a 2.500 rpm por 5 minutos e a absorvância dos sobrenadantes foi obtida a 560 nm (Sakat et al., 2010), no Espectrofotômetro de Microplacas Multiskan SkyHigh. O experimento foi realizado em triplicata.

A porcentagem de hemólise e a porcentagem da inibição da hemólise foram calculadas pela fórmula mencionada anteriormente.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Obtenção e rendimento dos extratos

Durante o processo de extração foi observado após a etapa de evaporação do etanol no RotaVapor, a consistência gelatinosa dos extratos. Além disso, a formação de uma película seca sobre os mesmos dificultou o processo de secagem na cabine de exaustão química, sendo necessário homogeneizar os extratos diariamente para que o solvente, que se encontrava no interior do frasco fosse evaporado completamente.

Os extratos foram pesados constantemente para verificar a evaporação do restante do solvente. Foi verificada perda de massa ao longo de 1 mês, quando essa passou a ser constante por sucessivas pesagens foi iniciado o processo de liofilização.

A seleção do método de extração que empregou o etanol como solvente foi embasada em sua ampla aplicação em trabalhos científicos anteriores, que obteve resultados positivos nesse domínio. Além disso, a escolha se baseou na disponibilidade e acessibilidade desse solvente. O processo de evaporação rotativa e posterior secagem na cabine de exaustão química durante um mês foi extremamente necessário para se obter o extrato mais puro, o ponto negativo nesta etapa foi a formação de uma película seca do extrato na superfície, o que exigiu a agitação manual diária durante todo o período. Foi optado por levar esses extratos para uma nova etapa de secagem, onde foi retirada toda a água ainda presente nos extratos durante 3 dias consecutivos transformando os extratos gelatinosos em pó, na sua maioria. A facilidade de manuseio e os resultados alcançados foram assertivos devido ao processo de extração bem-sucedido.

O método de extração utilizado forneceu 11 extratos, sendo 10 extratos de folhas e 1 de fruto. Os resultados de rendimento e massa estão apresentados na tabela 2 e discutidos a seguir.

Tabela 2 - Obtenção e Rendimento dos extratos durante o processo de extração.

Extratos	Peso das folhas secas em pó (g)	Peso do Extrato bruto (g)	Peso do extrato seco (g)	Redução do volume após a liofilização (g)	Rendimento total do extrato (%)
Amoreira	61,31	10,93	9,29	1,64	15,15
Caneleira	69,91	12,79	8,28	4,51	11,84
Lobeira	46,61	4,63	2,09	2,54	4,48
Candeia	84,79	21,44	16,93	4,51	19,96
Aroeira Preta	115,34	23,07	19,26	3,81	16,69
Aroeira Branca	107,76	25,92	17,77	8,15	16,49
Aroeira Branca - Fruto	45,67	11,68	7,9	3,78	17,29
Jabuticabeira	215,02	55,64	36,19	19,45	16,83
Caramboleira	219,67	97,69	62,81	34,88	28,59
Serigueleira	146,68	50,32	36,46	13,86	24,85
Pitangueira	162,11	58,01	37,69	20,32	23,47

Fonte: Autoria própria (2023).

* O cálculo do rendimento total dos extratos foi obtido através da divisão do peso do extrato seco sob o peso das folhas secas em pó.

Os resultados mostram variações nos rendimentos dos extratos, onde a Caramboleira registrou o maior rendimento (28,59 %), seguida por Serigueleira (24,85 %) e Pitangueira (23,47 %) e a Lobeira o menor (4,48 %).

Diversas condições podem interferir no produto final da extração, como a parte do material vegetal utilizada, a origem e localização, o tipo de processamento realizado, o tamanho dos fragmentos, o solvente empregado no processo, o tempo de extração, temperatura, polaridade e concentração do solvente (Tiwari et al., 2011).

Os rendimentos obtidos justificam-se em parte pela escolha do solvente etanol, pois pesquisas realizadas apontam que a extração feita com esse solvente tem tido melhores rendimentos pelo fato de ser uma molécula anfifílica e extrair substâncias polares e apolares, quando comparados a outros solventes e outras técnicas de extração (Oliveira et al., 2016).

A discussão dos resultados aborda, de forma abrangente, as propriedades medicinais específicas das espécies investigadas, bem como suas semelhanças e discrepâncias, as quais foram documentadas na literatura científica. Como exemplo, a Aroeira Branca (*Schinus terebinthifolia*) é notória por suas capacidades antioxidantes, cicatrizantes, antitumorais e antimicrobianas, sendo tais atributos atribuídos ao elevado conteúdo de fenóis totais (Barbosa et al., 2007; Guerra et al., 2000). Da mesma forma, a Serigueleira (*Spondias purpurea* L) demonstra atividades antiespasmódicas, diuréticas, analgésicas e antianêmicas, acompanhadas da presença de fenóis totais, flavonoides e esteróis (Almeida et al., 2017; Ingrid et al., 2017; Zakaria et al., 2016).

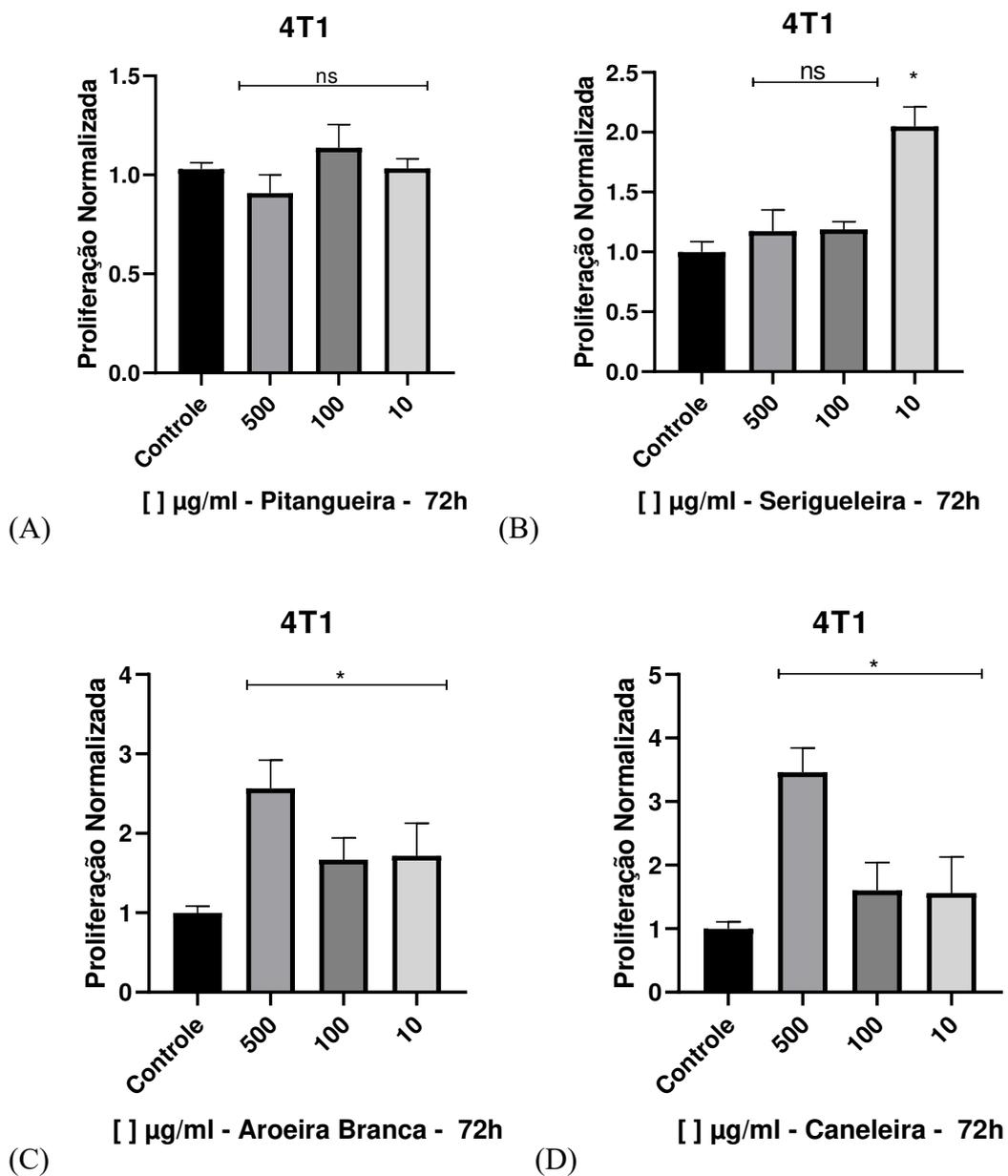
Por outro lado, a Aroeira Preta (*Lithraea molleoides*) destaca-se pela sua alta concentração de taninos, atribuindo-lhe propriedades adstringentes, diuréticas e estimulantes (Carvalho, 2006). A Candeia (*Eremanthus incanus*), por sua vez, é descrita pela presença de α -bisabolol, um composto associado às atividades anti-inflamatórias, antimicrobianas e cicatrizantes (Gimenes et al., 2018; Scolforo et al., 2002). A Jabuticabeira (*Plinia cauliflora*) é notável por seu potencial anti-inflamatório, amparado por um teor elevado de flavonoides e taninos (Galvão et al., 2021; Paula et al., 2021). A Pitangueira (*Eugenia uniflora*), por sua vez, exibe presença de compostos fenólicos como flavonoides e taninos, associados a atividades antidepressivas, antidiabéticas e anti-inflamatórias (Brito et al., 2022). Quanto à caramboleira (*Averrhoa carambola*), possui atividades antioxidantes, antitumorais e anti-inflamatórias (Luan et al., 2021), relacionadas a substâncias fenólicas (M. R. Da Silva & Costa, 2021).

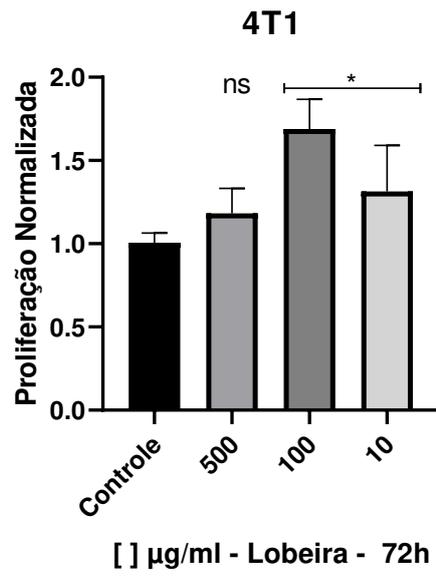
Em conjunto, os resultados obtidos destacam a diversidade de compostos e potenciais farmacológicos das espécies da Mata Atlântica brasileira, oferecendo *insights* valiosos para aplicações terapêuticas e explorando as ricas propriedades medicinais dessas plantas na área de biologia celular e saúde.

5.2 Screening da atividade antitumoral dos extratos etanólicos na cultura celular tumoral – linhagem 4T1

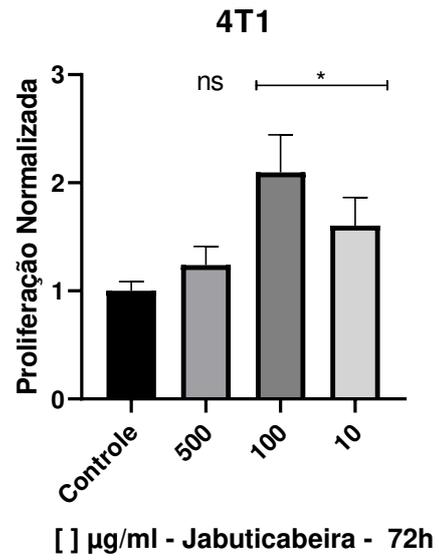
Os extratos foram avaliados em relação à atividade antitumoral através da viabilidade celular medida pelo ensaio do MTT com a linhagem tumoral 4T1 (câncer de mama murino), onde foram determinadas três concentrações iniciais (500 $\mu\text{g/ml}$, 100 $\mu\text{g/ml}$ e 10 $\mu\text{g/ml}$) a fim de obter a concentração com a maior atividade para cada extrato.

Figura 3 - Atividade antitumoral dos extratos etanólicos através de *screening* para a linhagem celular tumoral 4T1.

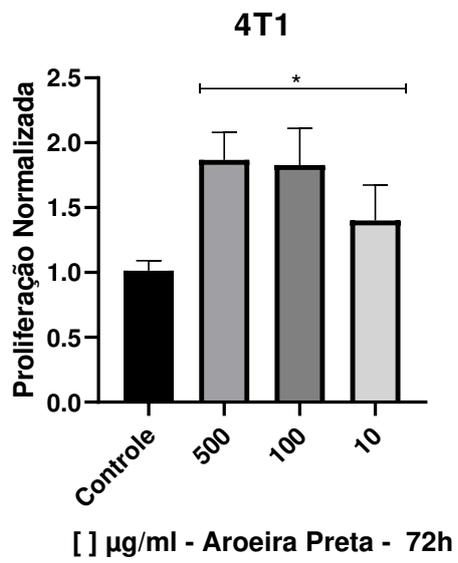




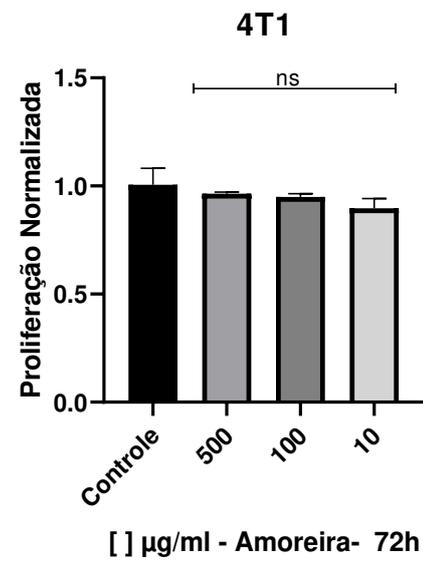
(E)



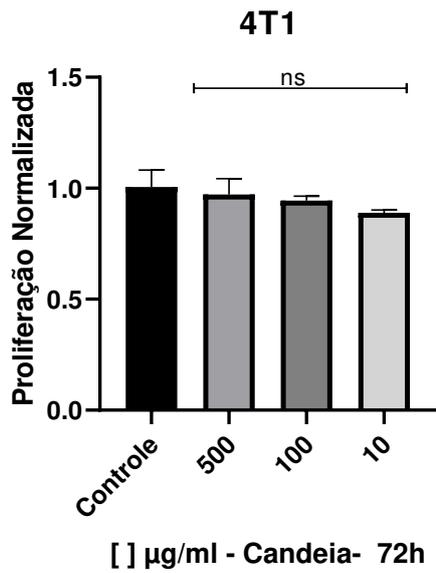
(F)



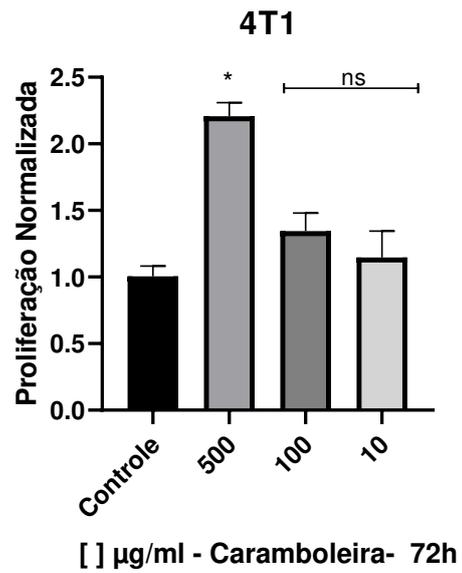
(G)



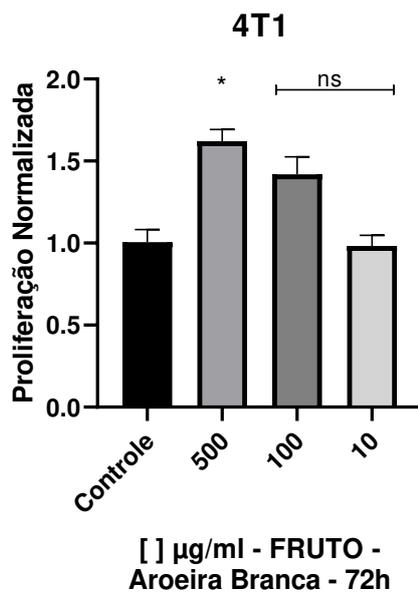
(H)



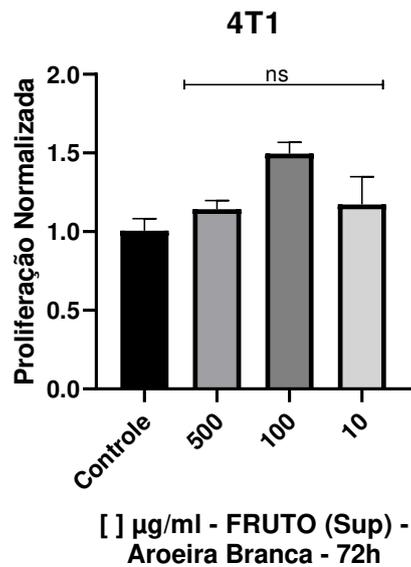
(I)



(J)



(K)



(L)

Legenda: Proliferação Normalizada. As células foram expostas a diferentes concentrações de cada extrato (indicadas abaixo do eixo x) por 72 horas. (*) estatisticamente significativo (p value $< 0,05$) e (ns) não houve diferença significativa em relação ao controle.

Neste *screening* realizado os extratos de Pitangueira (A), Amoreira (H), Candeia (I) e Fruto-Aroeira Branca parte superior (L), não apresentaram diferenças significativas quando comparados ao controle, sendo considerados sem atividade antitumoral.

Para os extratos de Aroeira Branca (C), Caneleira (D) e Aroeira Preta (G), foi observada proliferação celular em todas as concentrações, sendo considerados inviáveis para estudos futuros como putativos extratos com atividade antitumoral. O restante dos extratos, apresentaram proliferação em pelo menos uma concentração, sendo classificados como inviáveis, e nas outras concentrações não apresentam diferença em relação ao controle.

Analisando os resultados apresentados pelos extratos nas diferentes concentrações, temos dois dados que requerem atenção. Primeiro, os extratos não causaram morte da célula cancerosa e em segundo, os valores de proliferação celular estão elevados, ou seja, esse resultado caminhou para o sentido oposto à morte de uma célula tumoral.

Estudos *In Silico* feitos através de várias abordagens, mostram a interação dos componentes do extrato da folha de Aroeira Branca (*Schinus terebinthifolia*) com a tirosinase humana, os resultados deste trabalho indicam a influência de vários compostos, especialmente luteolina possuindo atividade anti-tirosinase (Bezerra et al., 2022). A enzima tirosinase atua na biossíntese de melanina, responsável pela proteção da pele humana dos efeitos prejudiciais da radiação UV do sol, os compostos inibidores de tirosinase vêm sendo muito estudados na cosmética sendo potenciais medicamentos e cosméticos clareadores (Silvério et al., 2013).

Além disso, testes *in vitro* com a linhagem celular de melanoma murino B16F1 foram realizados a fim de investigar o potencial clareador de dois diferentes compostos do extrato de *S. terebinthifolia* e de uma fração de ácido linoleico isolada de *Passiflora edulis* e os resultados mostram que o extrato de *S. terebinthifolia* reduziu a atividade da tirosinase e a combinação do extrato com o ácido linoléico diminuiu a quantidade de melanina produzida pelas células em cultura (Jorge et al., 2012). Com esses dados nota-se que mais estudos devem ser realizados, tanto de forma independentes, como a combinação de extratos, para avaliação da atividade antitumoral do extrato de aroeira branca.

O extrato de serigueleira foi alvo deste estudo devido a atividade fotoprotetora comprovada por (M. R. Da Silva & Costa, 2021), onde a *Spondias purpurea* L, demonstrou bons resultados em relação a proteção contra UV-A, supondo ter relação com a quantidades elevadas de compostos fenólicos presentes em suas folhas, divergindo dos resultados obtidos neste trabalho.

As folhas da aroeira preta são conhecidas por suas propriedades aromáticas e medicinais, no entanto, podem induzir reações alérgicas em indivíduos com sensibilidade dérmica, potencialmente acompanhados de sintomas como febre e mal-estar. Além disso, os

frutos da planta contêm óleos essenciais altamente tóxicos (Carvalho, 2006; Piveta et al., 2014). No entanto, é importante ressaltar que o extrato etanólico obtido neste estudo não declarou citotoxicidade em nossas análises.

Alguns compostos naturais da Candeia (*Eremanthus incanus*) possuem um aroma peculiar sendo o óleo essencial do tronco da candeia utilizado na indústria farmacêutica e cosmética pois possui alfa-bisabolol (Scolforo et al., 2002). Nossos resultados não indicaram propriedades antitumorais para o extrato etanólico desta espécie.

Apesar de nossos resultados não terem demonstrado atividade antitumoral significativa para o extrato foliar de *Eugenia uniflora*, é interessante observar que estudos prévios relatando resultados diferentes. Por exemplo, em um estudo anterior, observou-se atividade antiproliferativa do extrato foliar da pintagueira (*Eugenia uniflora*) em uma linhagem de câncer de mama T47D (Ismiyati et al., 2012). Outro estudo abordou diferentes linhagens celulares de câncer, como HCT-116 (côlon), AGP-01 (ascite gástrica maligna) e SKMEL-19 (melanoma), demonstrando atividade citotóxica e indução da apoptose (Fidelis et al., 2022). Além disso, estudos com a linhagem MCF7 (câncer de mama) destacaram os óleos essenciais de *Eugenia uniflora* como potenciais agentes anticancerígenos (Sobeh et al., 2016). Essa discrepância de resultados destaca a importância das nuances específicas das linhagens celulares e das interações entre os compostos do extrato e as células cancerígenas, demonstrando que as respostas podem variar dependendo das características de cada estudo.

Foram realizados estudos *in vitro* sobre a atividade antitumoral utilizando a linhagem celular de câncer de cólon humano (HT-29). Nesses experimentos, o extrato etanólico do fruto de Amora (*Morus nigra*) anunciou o objetivo de reduzir a viabilidade celular, desencadeando a morte das células da linhagem tumoral. Além disso, foi observado que esse efeito ocorreu por meio de mecanismos independentes da caspase, resultando na diminuição da expressão da p53 mutante em células HT-29 (Erden, 2021).

Estudos sobre a investigação da atividade citotóxica de substâncias isoladas de *Nectandra leucantha*, foram realizados através de análises laboratoriais, onde foram obtidas duas substâncias que apresentaram toxicidade em testes *in vitro* em células de melanoma humano (SKMEL-147). Esses resultados indicam um potencial efeito citotóxico sobre células cancerígenas desse tipo, indicando uma possível utilidade desses produtos em abordagens terapêuticas contra o melanoma humano. Vale ressaltar que a pesquisa realizada pelo autor envolveu o isolamento das duas substâncias em questão, enquanto a presente pesquisa utilizou

o extrato completo das folhas da planta, sem a separação de nenhum componente. Essa diferença na abordagem experimental pode influenciar nos resultados obtidos, uma vez que a interação entre diferentes presentes compostos no extrato pode ter um efeito combinado sobre a atividade antitumoral. Portanto, os resultados divergentes também podem ser atribuídos a diferentes metodologias empregadas, enfatizando a complexidade das interações entre composições naturais e células cancerígenas, e a importância de considerar abordagens variadas para uma compreensão completa do potencial terapêutico dessas substâncias (Sousa et al., 2019).

Com base nos resultados e discussão apresentada, surge um argumento sólido em favor da exploração das complexidades dos resultados divergentes obtidos no âmbito desta pesquisa. As diferenças podem ser atribuídas a diversos fatores, como as características específicas das linhagens celulares utilizadas, a diversidade dos compostos presentes nos extratos e as interações complexas que ocorrem entre esses compostos e as células tumorais.

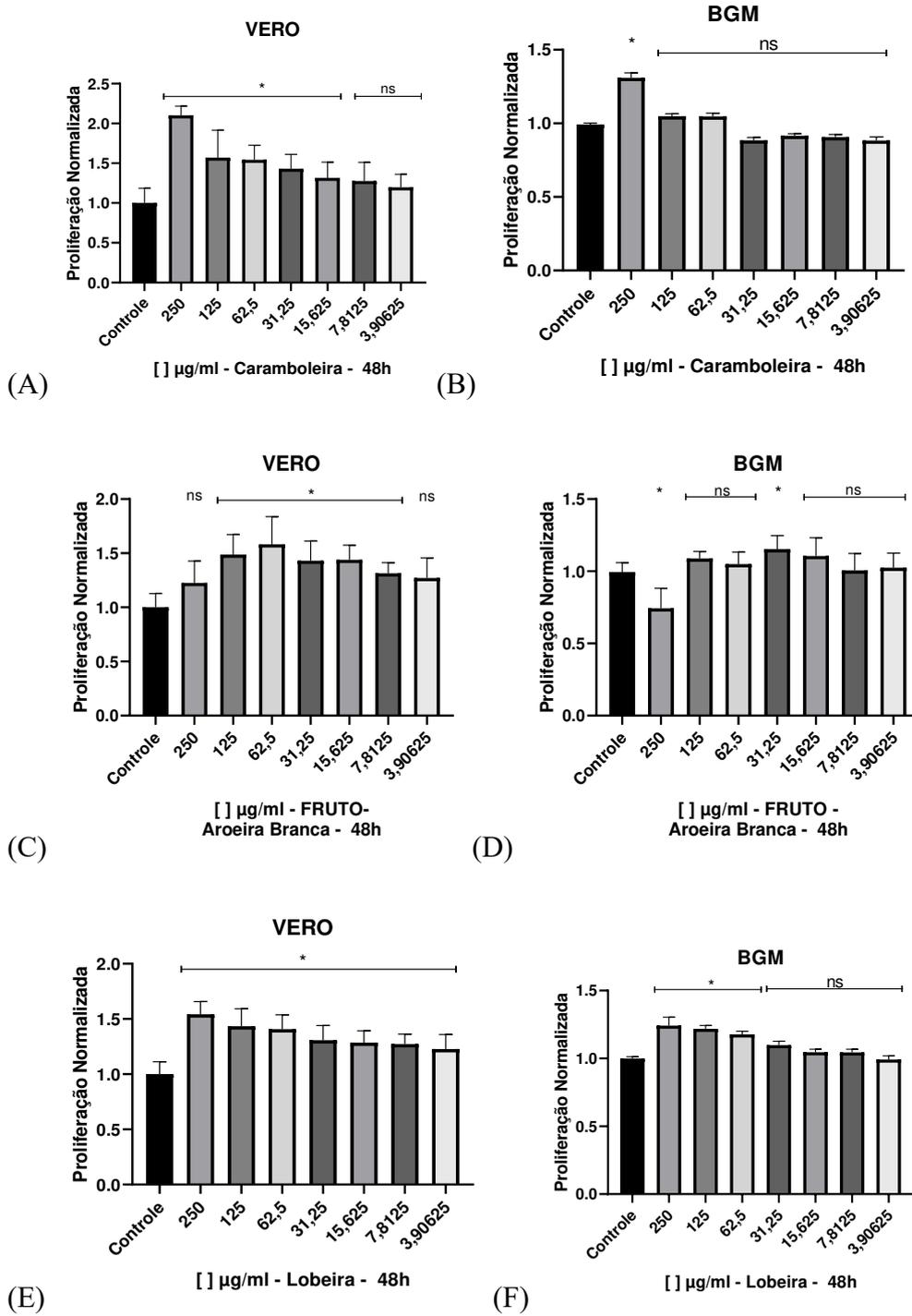
Concluindo, esta série de experimentos revelou a falta de atividade antitumoral em extratos avaliados na linhagem celular 4T1. Esse resultado fundamentou a decisão de ampliar nossa análise, investigando as potencialidades proliferativas e cicatrizantes dos extratos em cultura de células normais. Essa abordagem ampliada permitirá uma compreensão mais abrangente dos efeitos dos extratos, fornecendo informações valiosas para uma avaliação mais completa de suas propriedades biológicas.

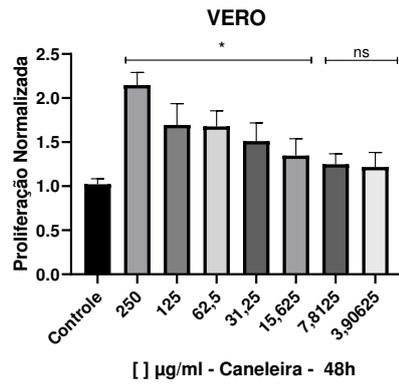
5.3 Atividade proliferativa dos extratos etanólicos em cultura celular normal – Linhagens: VERO E BGM

Para avaliação do potencial proliferativo, as duas linhagens normais de rim de macaco verde africano VERO e BGM passaram por um *screening*, onde foi constatado potencial proliferativo dos extratos vegetais que estão demonstrados nos Apêndices (Apêndice B e C).

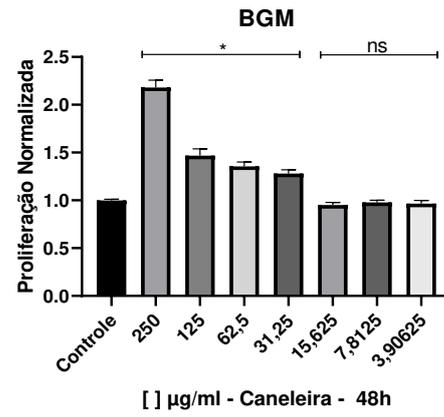
Destes, os extratos com maior potencial proliferativo foram submetidos a avaliação mais detalhada utilizando diluição seriada a partir da concentração inicial determinada de 250 µg/ml.

Figura 4 - Atividade proliferativa dos extratos etanólicos para as linhagens celulares normais VERO e BGM

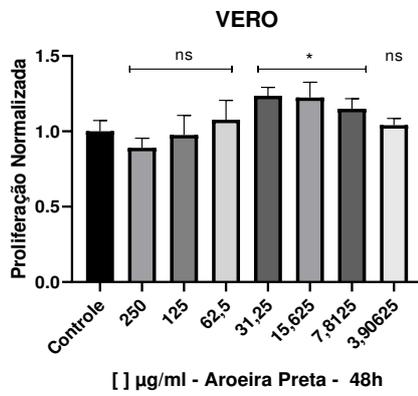




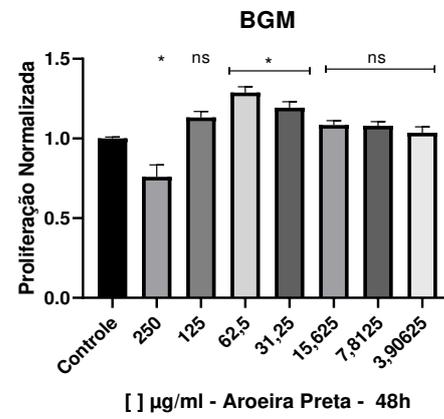
(G)



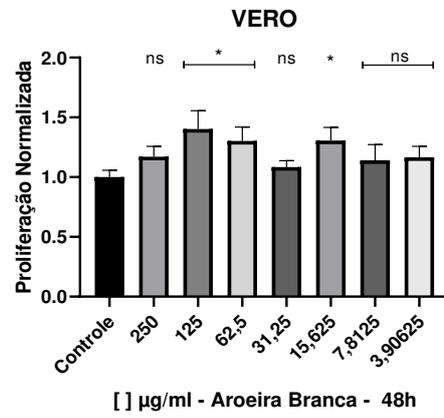
(H)



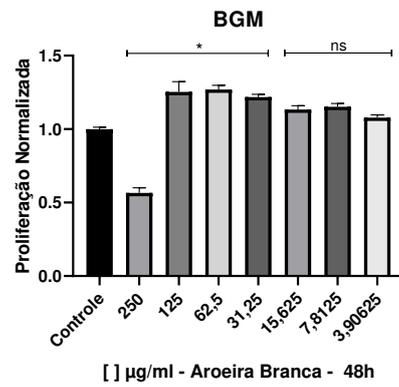
(I)



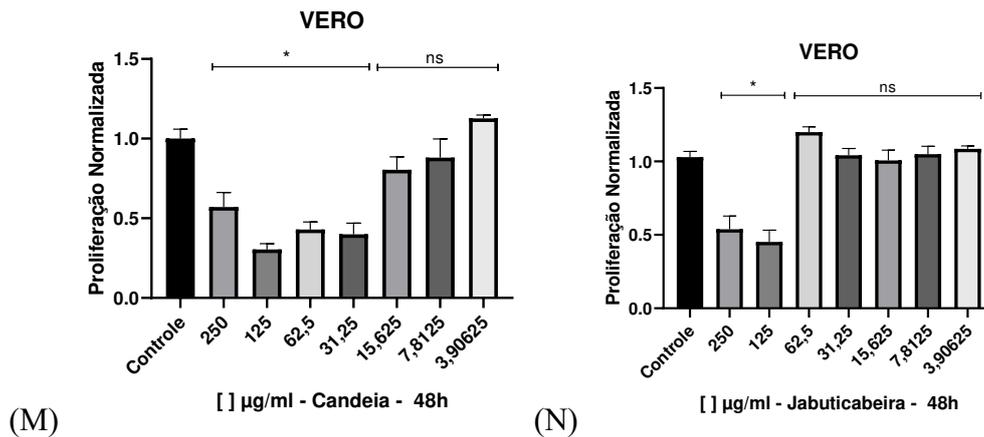
(J)



(K)



(L)



Legenda: Proliferação Normalizada. As células foram expostas a diferentes concentrações de cada extrato (indicadas abaixo do eixo x) por 48 horas. (*) estatisticamente significativo (p value $< 0,05$) e (ns) não houve diferença significativa em relação ao controle.

O trabalho estabelece classificação de acordo com o potencial do composto, sendo dividido em forte potencial, médio e baixo potencial (Aligiannis et al., 2001). No presente trabalho, essa classificação foi empregada para todos os testes realizados.

Para atividade proliferativa dos extratos, foi considerado extrato com forte atividade proliferativa aquele com valor de proliferação normalizada acima de 2,0. Para o extrato que obteve proliferação entre 2,0 e 1,5 foi estabelecido média atividade proliferativa. Para o extrato que valores entre 1,5 a 1,0 foi considerado baixa atividade proliferativa.

O extrato de Caramboleira apresentou atividade proliferativa mais evidente na concentração de 250 µg/ml para VERO (A) onde a proliferação atingiu o dobro da atividade do controle (2,0) sendo classificada como de forte atividade. Na linhagem BGM (B), obteve proliferação (1,3) na concentração de 250 µg/ml sendo classificada como de baixa atividade. Nota-se uma dose resposta de ação do extrato em ambas as linhagens, onde com a diluição do extrato seu efeito vai se tornando menor até se igualar ao grupo controle.

O extrato do FRUTO-Aroeira Branca obteve grande variação em todas as concentrações. Na linhagem VERO (C) seu pico de proliferação ocorreu na concentração 62,5 µg/ml, onde obteve média atividade proliferativa (1,58) e na linhagem BGM (D) foi na concentração 31,25 µg/ml com baixa proliferação (1,15).

O extrato de Lobeira demonstrou médio potencial proliferativo (1,54) para linhagem VERO (E) na concentração de 250 µg/ml, e na mesma concentração apresentou para a linhagem de BGM (F) baixo potencial (1,24) para atividade proliferativa.

O extrato de Caneleira (G e H) foi considerado de grande potencial para atividade proliferativa, (2,14) e (2,17), respectivamente, onde sua ação foi mais elevada na maior concentração utilizada (250 µg/ml).

O extrato de Aroeira Preta obteve-se baixo índice de proliferação em ambas as linhagens celulares. Nas concentrações 31,25 µg/ml e 15,62 µg/ml, em que para VERO (I) foi constatado valores de (1,23) em ambas as concentrações, e para a linhagem BGM (J) foi na concentração 62,5 µg/ml com valor de (1,28).

O extrato de Aroeira Branca em células VERO (K) e BGM (L) apresentou potencial proliferativo discreto (1,4) e (1,28) nas concentrações 125 µg/ml, 62,55 µg/ml, respectivamente, destacando uma taxa de morte celular na concentração de 250 µg/ml na linhagem BGM (0,7).

Foram realizados testes com os extratos de Candeia (M) e Jabuticabeira (N) apenas com a linhagem VERO. Nestas, estes extratos apresentaram índice de morte celular nas primeiras concentrações, sendo considerados inaptos para fins proliferativos.

O óleo essencial do tronco da Candeia (*Eremanthus incanus*) é utilizado na indústria farmacêutica e cosmética pois possui alfa-bisabolol, um ativo natural com propriedades cicatrizantes, esse ativo é o principal componente sendo mais comercializado e estão presentes em cremes e protetor solar (Scolforo et al., 2002).

A aceleração da cicatrização de feridas e inibição do edema de patas em ratos foi constatado ao utilizar extratos de Amoreira (*morus nigra*) *in vivo* (Zhou et al., 2019). Uma hipótese para a divergência dos resultados apresentados neste trabalho se baseia nas diferenças dos métodos de extração e purificação de constituintes do extrato.

Estudos demonstram que a infusão da Canela (*Nectandra* sp.) são utilizadas na medicina popular e atuam na cicatrização de feridas, com propriedades antirreunáticas, digestivas e diuréticas (Corrêa & Pena, 1984).

Alguns modelos de células *in vitro* foram descritos para estudos de cicatrização de feridas, dentre elas células derivadas do epitélio renal (Vidmar et al., 2017), justificando assim, a utilização das linhagens VERO e BGM neste trabalho.

5.4 Atividade antimicrobiana dos extratos vegetais em cultura de bactérias gram-positivas e gram-negativas pelo método de difusão em ágar/ placas

Os 11 extratos foram avaliados em relação à atividade antimicrobiana pelo método de difusão em ágar em Placas de Petri, onde foram realizados dois testes independentes.

No primeiro teste foi realizada análise de 6 extratos na concentração de 100 mg/ml em 5 bactérias gram-positivas do gênero *Staphylococcus* sp. A escolha dos extratos se baseou nos resultados positivos em cultura de células normais de mamíferos realizadas no ensaio de proliferação celular com intuito de averiguarmos se eles exibiam dupla ação. Posteriormente, os extratos que apresentaram atividade antimicrobiana satisfatória foram submetidos ao teste de concentração inibitória mínima (CIM).

No segundo teste foram avaliados os 11 extratos no método de difusão em ágar na concentração de 100 µg/ml com intuito de correlacionar com a utilização das concentrações usadas nos testes para avaliação antitumoral, proliferativo e anti-inflamatório. Neste segundo ensaio, foram utilizadas 4 cepas de bactérias, sendo duas gram-positivas e duas gram-negativas.

Tabela 3 - Atividade antimicrobiana pelo método de difusão em ágar, realizadas em dois testes independentes

EXTRATOS	Cepas Bacterianas									
	I5	27	35984	10132	MD57	33591	14579	29214	14028	
Caramboleira	++	+++	+++	+++	++	-	-	-	-	
Lobeira	-	-	++	-	-	-	-	-	-	
Aroeira Preta	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	+	-	
Caneleira	-	-	++	+	-	-	-		-	
Aroeira Branca	+++	+++	+++	+++	++	++	+++	+++	++	
Fruto- Aroeira Branca	+++	++	+++	++	+++	-	-	-	-	
Pitangueira	nd	nd	nd	nd	nd	+	++	++	+	
Candeia	nd	nd	nd	nd	nd		+			

Jaboticabeira	nd	nd	nd	nd	nd	-	-	-	-
Serigueleira	nd	nd	nd	nd	nd	-	-	-	-
Amoreira	nd	nd	nd	nd	nd	-	-	-	-
Controle Negativo	-	-	-	-	-	nd	nd	nd	nd
Controle Positivo	nd	nd	nd	nd	nd	+++	+++	+++	+++

Legenda: (+++) Extratos/controle positivo (antibiótico) com alto potencial antimicrobiano; (++) Extratos com médio potencial antimicrobiano; (+) Extratos com baixo potencial antimicrobiano, (-) Extratos/controle negativo (Meio de cultura e DMSO) sem a formação do halo de inibição microbiano; (nd) não determinado.

Adotando o sistema de classificação de Aligiannis et al., (2001) o extrato de Aroeira Branca se destacou com alto potencial antimicrobiano nos dois testes, onde é notável que, na utilização de concentrações mais elevadas e mais baixas, sua atividade foi de alta a moderada em todas as cepas bacterianas testadas.

Os extratos de Aroeira Preta, Caramboleira, e Fruto-Aroeira Branca manifestaram um notável potencial antimicrobiano em sua forma de concentração mais elevada (100 mg/ml) conforme demonstrado nos resultados expressos na tabela acima. Entretanto, a eficácia antimicrobiana diminuiu significativamente ao reduzir a concentração para 100 µg/ml. Embora a abordagem de avaliar a atividade antimicrobiana em concentrações mais baixas seja mais específica, é relevante considerar uma atividade moderada, visto que os extratos estudados exibem uma gama de substâncias diferentemente de compostos purificados destacando seus efeitos antimicrobianos.

Os extratos de Lobeira e Caneleira obtiveram baixa/moderada atividade antimicrobiana na concentração de 100 mg/ml, e não foi observada atividade na concentração de 100 µg/ml, sendo considerados extratos com baixo ou nenhum potencial antimicrobiano.

O extrato de Pitanga foi avaliado somente na concentração de 100 µg/ml e apresentou um potencial antimicrobiano considerado de médio a baixo.

Neste método de análise, o crescimento do microrganismo ocorre respeitando a difusão do extrato, restringindo sua área de abrangência formando uma zona de inibição de crescimento

ao redor do extrato que possui ação antimicrobiana. Tal fenômeno introduz toda a teoria que respalda o método de difusão, estudada num primeiro momento apenas para antibióticos (Pinto et al., 2020).

Com esse conceito fundamentado, podemos determinar que para os extratos com formação do halo de inibição (+++, ++, +), o microrganismo teve seu crescimento inibido em função da concentração do antimicrobiano difundido, onde foi suficientemente capaz de impedir o seu desenvolvimento, em oposição ao restante do meio de cultura.

Os extratos da Pintagueira (*Eugenia uniflora*) são conhecidos por apresentarem atividades farmacológicas e têm sido estudados no tratamento de diabetes, distúrbios gastrointestinais hipertensão, além de possuir atividade antimicrobiana (Brito et al., 2022). A atividade antibacteriana foi constatada em extratos etanólicos do fruto e da folha (Fidelis et al., 2022).

O ativo natural, alfa-bisabolol presente no óleo essencial da madeira da Candeia (*Eremanthus incanus*) possui propriedades antimicrobianas (Scolforo et al., 2002). No presente estudo, essa atividade antimicrobiana foi comprovada para a bactéria *Bacillus cereus* (ATCC 14579) utilizando o extrato etanólico foliar de *E. incanus*.

Estudos realizados com extratos de Amoreira (*morus nigra*) comprovaram a atividade antimicrobiana contra bactérias Gram-negativas e Gram-positivas e atividade antioxidante aumentando níveis das enzimas (Zhou et al., 2019). Uma das hipóteses para a divergência dos resultados se dá pelo fato do teste ter sido realizado com outras cepas bacterianas, e pelo fato do extrato não ter sido liofilizado.

Extratos de frutas de Carambola em vários estágios contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas mostram diferentes graus de atividade antimicrobianas (Wakte & Patil, 2011).

5.5 Determinação da concentração inibitória mínima (CIM) pelo Método de microdiluição em caldo

O método de diluição em caldo considera a associação entre a dimensão do crescimento bacteriano no meio líquido e a concentração do extrato testado (Ostrosky et al., 2008). Para determinar qual a concentração onde o extrato seria capaz de inibir o crescimento

bacteriano, foi realizado o teste de microdiluição em caldo que consiste na utilização de microplacas com 96 poços contendo volume máximo de 200 µl.

Os três extratos testados iniciaram a diluição seriada na concentração de 5.000 µg/ml e controle positivo sendo o antibiótico Mupirox, iniciou na concentração de 50 µg/ml, estabelecida pelo grupo de pesquisas do BioNat.

A Leitura realizada com o corante resazurina favorece a verificação da presença de crescimento microbiano, onde a coloração azul indica ausência de crescimento microbiano, enquanto a cor rosa indica a presença de células viáveis em crescimento. Dessa forma notável, é possível realizar a determinação da menor concentração de cada extrato capaz de inibir o crescimento dos micro-organismos indicadores diluídos, conhecida como CIM mostrada na Tabela 4.

Tabela 4 - Atividade antimicrobiana de 3 extratos para determinação da CIM em 5 cepas bacterianas

EXTRATOS	Cepas Bacterianas				
	I5	27	35984	10132	MD57
Caramboleira	2.500	312	1.250	1.875	2.500
Aroeira Preta	58.5	58.5	78	468.5	937.50
Aroeira Branca	625	29	625	625	1.250
Controle Positivo (Mupirox)	6.25	6.25	12.5	25	12.5

Legenda: Os resultados estão expressos em µg/ml

Os valores apresentados representam uma média de duas repetições.

O trabalho de ALIGIANNIS e colaboradores (2001) estabeleceu uma classificação de compostos que apresentam três classes de atividade antimicrobiana, sendo fortes inibidores, inibidores moderados e inibidores fracos. De acordo com essa classificação, temos o extrato de Aroeira Branca e Aroeira Preta considerados fortes inibidores com valor de CIM abaixo de 625 µg/ml para as cepas bacterianas *Staphylococcus coagulans* (I5), *Staphylococcus pseudintermedius* (27), *Staphylococcus epidermidis* (35984) e para o extrato de Aroeira Branca a cepa de *Staphylococcus aureus* (10132). Para o extrato de carambola também foi obtido forte poder inibitório para a cepa *Staphylococcus pseudintermedius* (27). Estes resultados reforçam

e comprovam o resultado obtido anteriormente na avaliação da atividade antimicrobiana pelo método de difusão em ágar. Estudos anteriores na literatura exploraram a atividade antimicrobiana do óleo essencial proveniente do fruto maduro, bem como das folhas e partes aéreas da planta da espécie *Lithraea molleoides* (Aroeira Preta). Essas investigações revelaram uma atividade antimicrobiana de baixa magnitude contra bactérias e leveduras. (Shimizu et al., 2006) Por outro lado, no que diz respeito à espécie *Schinus terebinthifolia* (Aroeira Branca), foi documentada a eficácia do extrato obtido a partir das folhas e dos frutos (Gomes et al., 2020). Em relação à carambola (*Averrhoa carambola*), já existe registro de eficácia do extrato do fruto (Wakte & Patil, 2011).

Apresentaram inibição moderada com valores entre 625 µg/ml a 1.250 µg/ml, o extrato de Caramboleira para a cepa bacteriana *Staphylococcus epidermidis* (35984) e os extratos de Aroeira Preta e Aroeira Branca para a cepa *Staphylococcus haemolyticus* (MD57).

Com fraca inibição e valores acima de 1.250 µg/ml temos o extrato de caramboleira para cepa de *Staphylococcus coagulans* (I5), *Staphylococcus aureus* (10132) e *Staphylococcus haemolyticus* (MD57).

Pesquisas relatam algumas inconsistências na utilização desta técnica como a precipitação de alguns compostos presentes em extratos e a coloração verde da clorofila que em concentrações elevadas interferem na análise (Ostrosky et al., 2008), justificando assim, a necessidade de diminuição da concentração usada no teste de difusão em ágar de 100.000 µg/ml para 5.000 µg/ml.

5.6 Avaliação da atividade anti-inflamatória dos extratos *in vitro*

Avaliou-se a atividade anti-inflamatória dos extratos obtidos no presente estudo em quatro ensaios de *screening* de atividade anti-inflamatória baseados em mecanismos bioquímicos distintos.

Será considerado o extrato com maior potencial anti-inflamatório, aquele que apresentar resultados satisfatórios nos quatro testes, o extrato que apresentar bons resultados de três a dois testes será considerado com médio potencial e o extrato que apresentar resultado satisfatório em um ou nenhum teste, serão classificados com nenhum potencial anti-inflamatório.

As siglas usadas para denominação dos extratos serão apresentadas na Tabela 5 abaixo.

Tabela 5 - Identificação dos tratamentos utilizados

Sigla	Extrato
AB	Aroeira Branca
AP	Aroeira Preta
FRU	Fruto-Aroeira Branca
LOB	Lobeira
AMO	Amoreira
SER	Serigueleira
CAN	Caneleira
CAND	Candeia
PIT	Pitangueira
JAB	Jaboticabeira
CARA	Caramboleira
AAS	Ácido acetilsalicílico - Controle Positivo

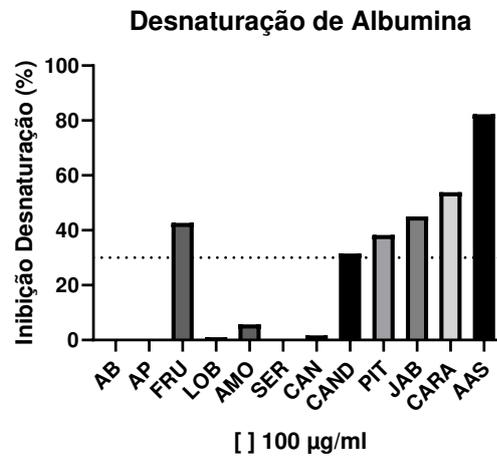
Fonte: Autoria própria

5.6.1 Inibição da Desnaturação da Albumina

A desnaturação de proteína é um evento comprovado em processos inflamatórios, e drogas anti-inflamatórias vem mostrando capacidade protetora para a desnaturação (Sakat et al., 2010).

Para inibição de desnaturação da albumina, foram considerados extratos com potencial, aqueles que apresentaram valores superiores a 30 % da desnaturação. É necessário levar em consideração que não são compostos puros.

Figura 5 - Percentagens de inibição da desnaturação da albumina pelos extratos



Legenda: Percentual de Inibic o da Desnatura o Proteica representada no eixo y. Os extratos variados são especificados no eixo x. O fármaco ácido acetilsalicílico (ASS) foi empregado como controle.

Os resultados da atividade anti-inflamatória *in vitro* revela que cinco extratos inibem a desnatura o da albumina em compara o com o controle. A droga padrão AAS exibiu 82,33 % de inibic o da desnatura o da albumina. Os extratos de Caramboleira, Jabuticabeira e Fruto-Aroeira Branca inibem a desnatura o da albumina em 53,89 %, 45,05 % e 42,73 % respectivamente, quando comparados com controle, possuindo potente atividade anti-inflamatória. Outros extratos como Pitangueira e Candeia inibem a desnatura o de proteínas em 38,31 % e 31,57 % respectivamente. Isso significa que esses compostos possuem boa atividade anti-inflamatória. Verificou-se que o restante dos extratos testados possuiu fraca ou nenhuma capacidade de desnatura o proteica.

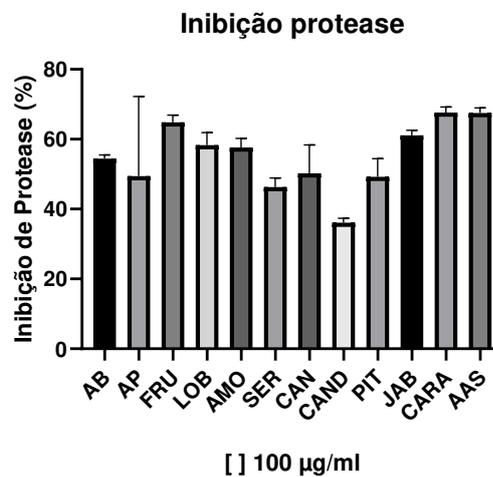
Uma das causas e/ou consequências de respostas inflamatórias   a desnatura o de proteínas. A desnatura o das proteínas acontece tanto por causa da inflama o como também pode causar inflama o.

A desnatura o proteica   simultaneamente causa e consequência da resposta inflamatória (Chopade et al., 2012; Govindappa et al., 2011; Leelaprakash & Dass, 2011; Sakat et al., 2010). O  cido acetilsalicílico e outros fármacos anti-inflamatórios possuem a capacidade de inibir a desnatura o de proteínas (Sakat et al., 2010).

5.6.2 Ação Inibidora da Digestão de Protease

A fim de verificar se os extratos conseguem inibir a atividade enzimática foi realizado o teste de Inibição da Digestão de Protease usando albumina sérica bovina (BSA). Para inibição de Digestão de Protease, os extratos que inibiram mais do que 30 % da digestão proteica foram considerados extratos com potencial, levando em consideração que não são compostos puros.

Figura 6 - Inibição da ação da tripsina



Legenda: Percentual de Inibição da digestão de protease representada no eixo y. Os extratos variados são especificados no eixo x. A droga ácido acetilsalicílico (ASS) foi empregada como controle.

Todos os extratos conseguiram inibir pelo menos 50 % da atividade do AAS, onde todos os extratos foram classificados como fortes potenciais agentes anti-inflamatório.

Durante a inflamação, ocorre degradação de matriz extracelular (processo inflamatório) com muitas metaloproteinases degradando o tecido. Uma das vias de ação dos anti-inflamatórios é impedir as enzimas de clivarem ou de ativar cascatas enzimáticas.

Deve ser levado em consideração a precipitação da enzima tripsina, impedindo a protease de digeri-la, fazendo com que seja necessário a realização de outros testes para a

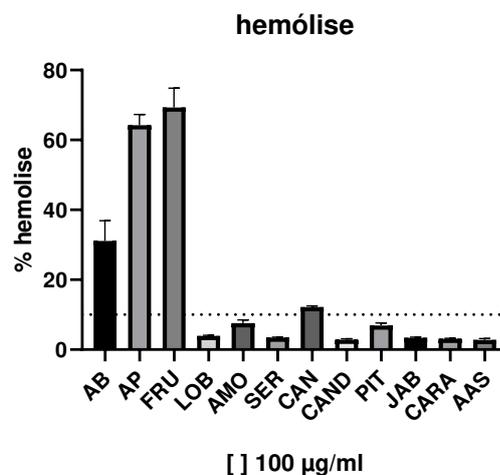
confirmação da atividade anti-inflamatória, pois se fosse utilizado somente este experimento todos os extratos teriam potenciais.

5.6.3 Ensaio de Estabilização de Membrana (Hemólise)

A estabilidade da membrana de eritrócitos foi estudada de forma a avaliar a ação anti-inflamatória pelos extratos.

Foi considerado com efeito não tóxico os extratos que apresentaram menos de 10 % de hemólise. A hemólise acima de 10 % é considerada prejudicial (Sakat et al., 2010), assim, os extratos abaixo desse limite, foram considerados viáveis e a taxa de hemólise causada está dentro da tolerância estabelecida e não causará prejuízo ao organismo.

Figura 7 - Percentagens de estabilização da membrana dos eritrócitos (hemólise)



Legenda: Percentual de hemólise representada no eixo y. Os extratos variados são especificados no eixo x. A droga ácido acetilsalicílico (ASS) foi empregada como controle.

O ASS sendo uma droga usual obteve 2,79 % de hemólise, com isso os extratos que lisaram até 5 % das hemácias, foram considerados como possuidores de efeito similar ao ASS. Nossos resultados demonstraram que a Candeia (2,83 %), Caramboleira (3,10 %), Serigueleira (3,43 %), Jabuticabeira (3,38 %) e Lobeira (3,87 %) possuem forte potencial anti-inflamatório. Os extratos de Pitangueira (6,89 %) e Amora (7,6 %) foram classificados como de médio

potencial. O extrato de Caneleira (12,17 %) ficou no limite sendo considerado de baixo potencial. Os extratos de Aroeira Branca (31,08 %), Aroeira Preta (64,22 %) e Fruto-Aroeira Branca (69,28 %) causaram elevada taxa de hemólise, sendo inaptos para atividade anti-inflamatória.

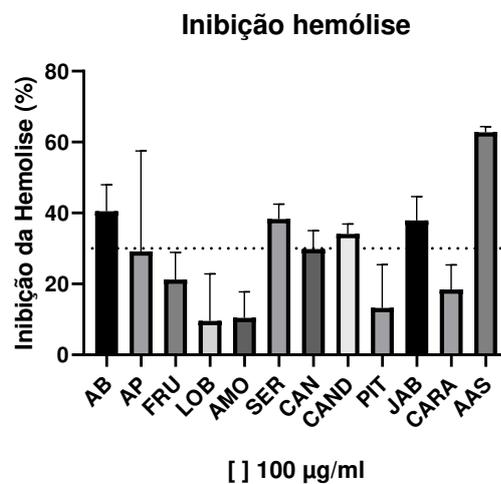
O estudo da estabilização da membrana dos eritrócitos é considerado análogo ao estudo da integridade da membrana de lisossomos (Leelaprakash & Dass, 2011) e vem sendo utilizado em testes anti-inflamatórios *in vitro* visto que os fármacos anti-inflamatórios atuam na estabilização da membrana lisossomal prevenindo a liberação de constituintes lisossomais de neutrófilos ativados (Okoye & Osadebe, 2010; Yoganandam G.P; et al., 2010).

O protocolo estabelecido por Sakat e colaboradores (2010), utilizou temperatura de 37 °C por 24 horas para verificação da hemólise, assim como no presente trabalho e foi observado que grande parte dos extratos não causaram hemólise durante todo esse período.

5.6.4 Teste de Inibição da Hemólise

O método de estabilização da membrana dos glóbulos vermelhos humanos, foi utilizado como forma de avaliar a atividade anti-inflamatória *in vitro*.

Figura 8 - Percentagens de inibição de hemólise



Legenda: Percentual de Inibição da hemólise representada no eixo y. Os extratos variados são especificados no eixo x. A droga ácido acetilsalicílico (ASS) foi empregada como controle.

O AAS apresentou 62,76 % de proteção contra o rompimento de hemácias, assim para os tratamentos com os extratos vegetais, foi estipulado que aqueles que apresentaram 50 % da atividade do AAS, ou seja, os extratos que apresentaram resultados acima de 30 % de inibição da hemólise foram considerados promissores neste teste. Assim, se destacaram os extratos de Aroeira Branca (40,49 %), Serigueleira (38,31 %), Jabuticabeira (37,90 %) e Candeia (34,10), em que ficaram acima do limite estabelecido. Os extratos de Canela (29,82 %) e Aroeira Preta (29,17 %) apresentaram sua capacidade de inibição da hemólise próximo do limite estabelecido, sendo então considerados extratos com moderada atividade protetora contra hemólise. Os demais extratos que ficaram abaixo do limite de 50 % da atividade do ASS, não inibiram o processo de hemólise.

Este teste utiliza o aumento da temperatura, onde a taxa de difusão para dentro da célula aumenta devido ao aumento do movimento molecular, diminuindo o tempo de hemólise (Scott, 1993). Neste estudo foi verificado que o tempo de hemólise para o sangue de ovelha em células expostas a 0,3 M de glicerol à temperatura ambiente foi de aproximadamente 14 minutos, quando submetidas a 40 °C a hemólise ocorreu em 2 minutos, e a 5 °C foi de 2 horas e 30 minutos (Scott, 1993).

5.7 Análise comparativa dos quatro ensaios de atividade anti-inflamatória dos extratos.

Ao avaliar os quatro ensaios realizados para avaliar a atividade anti-inflamatória dos extratos, podemos inferir que, de acordo com a classificação adotada, o extrato com ação anti-inflamatória de destaque foi o extrato da folha de Jabuticabeira (*Plinia cauliflora*). Esta planta é amplamente utilizada na medicina tradicional brasileira para tratamento de doenças infecciosas e inflamatórias (Galvão et al., 2021), apresentando potencial como agente anti-inflamatório (Paula et al., 2021). Essa atividade foi comprovada através dos quatro testes anti-inflamatórios realizados no presente estudo, onde o extrato etanólico da folha de Jabuticabeira exibiu um potencial anti-inflamatório alto, semelhante ao do medicamento comercialmente disponível (AAS).

Em seguida, o extrato de Candeia apresentou médio potencial anti-inflamatório, uma vez que este foi efetivo em três, dos quatro testes realizados e apresentou moderada capacidade

de desnaturação proteica. Dentre as diversas propriedades medicinais da Candeia (*Eremanthus incanus*), destaca-se seu potencial anti-inflamatório, que tem sido objeto de investigação em estudos científicos. Pesquisas recentes têm explorado os compostos naturais presentes na Candeia, como o α -bisabolol, que demonstraram propriedades anti-inflamatórias, antimicrobianas e cicatrizantes em diferentes contextos (Gimenes et al., 2018; Scolforo et al., 2002).

Outro extrato vegetal que teve seu potencial evidenciado neste estudo foi a Serigueleira, com médio potencial anti-inflamatório devido a obtenção de bons resultados em três dos quatro testes realizados. Estudos realizados por Silva & Costa, (2021) comprovam atividade antioxidante para o extrato etanólico de *Spondias purpurea L.* devido a composição química das serigueleiras, contendo elevadas quantidades de compostos fenólicos, conhecidos por conferir efeito antioxidante ao extrato.

De forma similar, o extrato de Caramboleira apresentou resultados promissores em três dos quatro ensaios realizados. As folhas de *A. carambola* apresentaram efeito anti-inflamatório tópico em um modelo de inflamação cutânea em camundongos (Otuki et al., 2011), reforçando os resultados encontrados neste trabalho para este extrato.

Os extratos de Lobeira e do fruto de Aroeira Branca; apresentaram dois resultados elevados dentre os quatro testes realizados. Em estudos recentes, a Lobeira (*Solanum falciforme*) tem despertado interesse devido às suas propriedades anti-inflamatórias, entre outras atividades farmacológicas (Zakaria et al., 2016). Além disso, o fruto da Aroeira Branca (*Schinus terebinthifolia*) também tem sido objeto de investigação quanto à sua atividade anti-inflamatória, bem como seus potenciais ações antioxidantes e antimicrobianas (Barbosa et al., 2007; Iwanaga et al., 2019).

O extrato de Pitangueira, obteve forte resultado em apenas um teste e dois resultados moderados. Estudos dos extratos etanólicos da folha da Pintagueira (*Eugenia uniflora*) têm sido promissores *in vivo* demonstrando capacidade anti-inflamatória (Fidelis et al., 2022). No presente trabalho o extrato de Pitangueira obteve médio potencial anti-inflamatório, comprovando assim, essa atividade para o extrato.

Resultados menos acentuados foram observados nos extratos de Canela, Amoreira, Aroeira Branca e Aroeira Preta. Uma análise fitoquímica revelou a presença de flavonoides e ligninas em espécies de Canela (*Nectandra sp.*), compostos que têm sido associados a

propriedades biológicas capazes de contribuir para o efeito anti-inflamatório dessa planta (Melo et al., 2006).

Para melhor elucidar os diversos experimentos, serão apresentados na tabela a seguir os resultados abrangentes de todos os testes realizados no presente trabalho:

Tabela 6 - Resultado geral das atividades biológicas

Extratos	Anti tumoral 4T1	Proliferativo		Antimicrobiano									Anti-inflamatório			
		VERO	BGM	I5	27	35984	10132	MD57	33591	14579	29214	14028	D.A.	I.P	HE	I.HE
CARA	-	+++	+	++	+++	+++	+++	++	-	-	-	-	+++	+++	+++	-
LOB	-	++	+	-	-	++	-	-	-	-	-	-	-	+++	+++	-
A.P	-	+	+	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	+	-	-	+++	-	++
CAN	-	+++	+++	-	-	++	+	-	-	-	-	-	-	+++	+	++
A.B	-	+	+	+++	+++	+++	+++	++	++	+++	+++	++	-	+++	-	+++
FRU	-	++	+	+++	++	+++	++	+++	-	-	-	-	+++	+++	-	-
PIT	-	+	-	nd	nd	nd	nd	nd	+	++	++	+	++	+++	++	-
CAND	-	+	-	nd	nd	nd	nd	nd		+			++	+++	+++	+++
JAB	-	+	-	nd	nd	nd	nd	nd	-	-	-	-	+++	+++	+++	+++
SER	-	-	-	nd	nd	nd	nd	nd	-	-	-	-	-	+++	+++	+++
AMO	-	-	-	nd	nd	nd	nd	nd	-	-	-	-	-	+++	++	-

Legenda: Resumo abrangente das atividades biológicas investigadas no estudo. (+++) Representa extratos de elevado potencial; (++) denota extratos de potencial moderado; (+) assinalados extratos de potencial reduzido; (-) indica extratos sem atividade observada; (nd) refere-se a não determinado. DA: Desnaturação da Albumina; IP: Inibição de Proteinase; HE: Hemólise; I.HE: Inibição da Hemólise.

6 CONCLUSÃO

Os resultados positivos obtidos no processo de extração e nas análises abrangentes das propriedades biológicas alcançaram com sucesso os objetivos determinados neste estudo.

Os testes proliferativos em cultura de células obtiveram resultados notáveis nos extratos da Caneleira e Caramboleira, sugerindo um caminho promissor para expandir os estudos para diferentes tipos de células e para explorar a capacidade de cicatrização desses extratos.

No que diz respeito à investigação antimicrobiana, os resultados apontaram um potencial antimicrobiano considerável, com destaque para o extrato da Aroeira Branca, que demonstrou atividade significativa contra várias cepas bacterianas. Além disso, os extratos da Caramboleira, Aroeira Preta, Fruto de Aroeira Branca e Pitangueira também apresentaram alta atividade antimicrobiana, abrindo um horizonte de pesquisa em expansão.

No *screening* realizado para a avaliação da atividade anti-inflamatória, os extratos de Jabuticabeira, Candeia, Serigueleira e Caramboleira obtiveram um potencial notável, o que indica a necessidade de realizar mais experimentos, incluindo estudos em organismos vivos, para uma compreensão mais completa de sua eficácia.

Em suma, os resultados obtidos reforçam a importância das técnicas de extração e das características dos solventes como fatores cruciais na obtenção dos resultados observados. Quanto ao futuro, nosso grupo de pesquisa está comprometido em realizar análises complementares, explorando a diversidade de compostos presentes nos extratos. Além disso, pretendemos expandir o escopo das atividades biológicas investigadas, confiantes assim para o avanço contínuo do conhecimento da ligação fascinante entre a biodiversidade vegetal da Mata Atlântica brasileira e as possíveis aplicações terapêuticas desses extratos.

REFERÊNCIAS

Agra, M. D. F., Silva, K. N., Basílio, I. J. L. D., Freitas, P. F. de, & Barbosa-Filho, J. M. (2008). Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil. In *Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy* (Vol. 18, Issue 3).

Aliyiannis, N., Kalpoutzakis, E., Mitaku, S., & Chinou, I. B. (2001). Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two *Origanum* species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(9), 4168–4170. <https://doi.org/10.1021/JF001494M>

Almeida, C. L. F., Brito, S. A., De Santana, T. I., Costa, H. B. A., De Carvalho Júnior, C. H. R., Da Silva, M. V., De Almeida, L. L., Rolim, L. A., Dos Santos, V. L., Wanderley, A. G., & Da Silva, T. G. (2017). *Spondias purpurea* L. (Anacardiaceae): Antioxidant and antiulcer activities of the leaf hexane extract. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/6593073>

Amin, A. R. M. R., Kucuk, O., Khuri, F. R., & Shin, D. M. (2009). Perspectives for Cancer Prevention With Natural Compounds. *Journal of Clinical Oncology*, 27(16), 2712. <https://doi.org/10.1200/JCO.2008.20.6235>

Asumang, P., Boakye, Y. D., Agana, T. A., Yakubu, J., Entsie, P., Akanwariwiak, W. G., Adu, F., & Agyare, C. (2021). Antimicrobial, antioxidant and wound healing activities of methanol leaf extract of *Bridelia micrantha* (Hochst.) Baill. *Scientific African*, 14, e00980. <https://doi.org/10.1016/J.SCIAF.2021.E00980>

Bachelier, J. B., & Fls, P. K. E. (2009). *Comparative floral morphology and anatomy of Anacardiaceae and Burseraceae (Sapindales), with a special focus on gynoeceium structure and evolution*. <https://academic.oup.com/botlinnean/article/159/4/499/2418373>

Baitello, J., Lorea-Hernandez, F., Moraes, P., & Esteves R. & Marcovino. (2003). Lauraceae. In M. G. L. , Wanderley, G. J. , Shepherd, T. S. , Melhem, A. M. , Giuliatti, & M. (eds.) Kirizawa (Eds.), *Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo*. (Vol. 3, pp. 149–223). Parte integrante da Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo. <https://www.infraestruturameioambiente.sp.gov.br/institutodebotanica/wp-content/uploads/sites/235/2016/02/Lauraceae.pdf>

Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils - A review. In *Food and Chemical Toxicology* (Vol. 46, Issue 2, pp. 446–475). <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>

Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibsouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71–79. <https://doi.org/10.1016/J.JPHA.2015.11.005>

Barbosa, L. C. A., Demuner, A. J., Clemente, A. D., Paula, V. F., & Faiz M. D. Ismail. (2007). SEASONAL VARIATION IN THE COMPOSITION OF VOLATILE OILS FROM *Schinus terebinthifolius* RADDI. *Quim. Nova*, 30(8). <https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000800030>

Bernardo, D. B. de F., Silva, W. E. L., Lopes, M. N., & Silva, S. P. (2021, July 4). CARACTERIZAÇÃO FÍSICA E QUÍMICA DAS FOLHAS DE SERIGUELA PARA FINS DE USO EM DESENVOLVIMENTO DE NOVOS PRODUTOS ALIMENTÍCIOS. *CIAGRO2021*. <https://doi.org/10.31692/iiciagro.0069>

Bezerra, J. N., Spadeto, J. P. M., Daré, J. K., Almeida, W. P., Freitas, M. P., & Cormanich, R. A. (2022). In Silico Interactions of the Components from the *Schinus terebinthifolius* Extract with Human Tyrosinase. *ChemPlusChem*, 87(8). <https://doi.org/10.1002/CPLU.202200109>

Bhaskar, V. H., & Mohite, P. B. (2010). DESIGN, SYNTHESIS, CHARACTERIZATION AND BIOLOGICAL EVALUATION OF SOME NOVEL 1, 5 DISUBSTITUTED TETRAZOLE AS POTENTIAL ANTI-INFLAMMATORY AGENTS. *Journal of Optoelectronics and Biomedical Materials*, 2(4), 231–237. https://chalcogen.ro/231_Bashkar.pdf

Blowman, K., Magalhães, M., Lemos, M. F. L., Cabral, C., & Pires, I. M. (2018). Anticancer Properties of Essential Oils and Other Natural Products. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine : ECAM*, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/3149362>

Borges, L. P., & Amorim, V. A. (2020). METABÓLITOS SECUNDÁRIOS DE PLANTAS SECONDARY PLANT METABOLITES. In *Revista Agrotecnologia, Ipameri* (Issue 11).

Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Siegel, R. L., Torre, L. A., & Jemal, A. (2018). Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 68(6), 394–424. <https://doi.org/10.3322/caac.21492>

Brito, W. A., Ferreira, M. R. A., Dantas, D. de S., & Soares, L. A. L. (2022). Biological activities of *Eugenia uniflora* L. (pitangueira) extracts in oxidative stress-induced pathologies: A systematic review and meta-analysis of animal studies. *PharmaNutrition*, 20. <https://doi.org/10.1016/J.PHANU.2022.100290>

Carvalho, P. E. R. (2006). *Espécies Arbóreas Brasileiras*. Embrapa Informação Tecnológica - V2. <https://livimagens.sct.embrapa.br/amostras/00079500.pdf>

Cavalher-Machado, S. C., Rosas, E. C., Brito, F. de A., Heringe, A. P., de Oliveira, R. R., Kaplan, M. A. C., Figueiredo, M. R., & Henriques, M. das G. M. de O. (2008). The anti-allergic activity of the acetate fraction of *Schinus terebinthifolius* leaves in IgE induced mice paw edema and pleurisy. *International Immunopharmacology*, 8(11), 1552–1560. <https://doi.org/10.1016/J.INTIMP.2008.06.012>

Chopade, A., Somade, P. M., & Sayyad, F. (2012). Membrane Stabilizing Activity and Protein Denaturation: A Possible Mechanism of Action for the Anti-Inflammatory Activity of *Phyllanthus amarus*. *JKIMSU*, 67–72.

Citadin, I., Danner, M. A., & Sasso, S. A. Z. (2010). *Jabuticabeiras*. <https://www.scielo.br/j/rbf/a/BRLkYzSBKVXFB8BTmNyRhrL/?format=pdf&lang=pt>

Corrêa, M. P., & Pena, L. de A. (1984). *Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas* | *WorldCat.org* (Vol. 6). <https://www.worldcat.org/pt/title/dicionario-das-plantas-uteis-do-brasil-e-das-exoticas-cultivadas/oclc/21880710>

Cruz, A. V. D. M., & Kaplan, M. A. C. (2004). USO MEDICINAL DE ESPÉCIES DAS FAMÍLIAS MYRTACEAE E MELASTOMATACEAE NO BRASIL. *Floresta e Ambiente*, *11*, 47–52.

D'Arcy, W. G. (1972). Solanaceae Studies II: Typification of Subdivisions of Solanum. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, *59*(2), 262. <https://doi.org/10.2307/2394758>

Das, K., Asdaq, S. M. B., Khan, M. S., Amrutha, S., Alamri, A., Alhomrani, M., Alsanie, W. F., Bhaskar, A., Chandana shree, G., & Harshitha, P. (2022). Phytochemical investigation and evaluation of in vitro anti-inflammatory activity of Euphorbia hirta ethanol leaf and root extracts: A comparative study. *Journal of King Saud University - Science*, *34*(7). <https://doi.org/10.1016/J.JKSUS.2022.102261>

Duvall, C. S. (2006). On the origin of the tree Spondias mombin in Africa. *Journal of Historical Geography*, *32*(2), 249–266. <https://doi.org/10.1016/j.jhg.2005.02.001>

Erden, Y. (2021). Sour black mulberry (*Morus nigra* L.) causes cell death by decreasing mutant p53 expression in HT-29 human colon cancer cells. *Food Bioscience*, *42*, 101113. <https://doi.org/10.1016/J.FBIO.2021.101113>

Eucast. (2023). *eucast*. Development and Validation of EUCAST Disk Diffusion Breakpoints. <https://www.eucast.org/>

Farruggia, F. T., & Bohs, L. (2010). Two new South American species of Solanum section Crinitum (Solanaceae). *PhytoKeys*, *1*, 67–77. <https://doi.org/10.3897/phytokeys.1.661>

Fidelis, E. M., Savall, A. S. P., Pereira, F. de O., Quines, C. B., Ávila, D. S., & Pinton, S. (2022). Pitanga (*Eugenia uniflora* L.) as a source of bioactive compounds for health benefits: A review. *Arabian Journal of Chemistry*, *15*(4). <https://doi.org/10.1016/J.ARABJC.2022.103691>

Fukushima, R. S., Weimer, P. J., & Kunz, D. A. (2003). Use of photocatalytic reduction to hasten preparation of culture media for saccharolytic Clostridium species. *Brazilian Journal of Microbiology*, *34*(1), 22–26. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822003000100006>

Galié, S., García-Gutiérrez, C., Miguélez, E. M., Villar, C. J., & Lombó, F. (2018). Biofilms in the food industry: Health aspects and control methods. *Frontiers in Microbiology*, *9*(MAY), 898. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2018.00898/BIBTEX>

Galvão, B. V. D., Araujo-Lima, C. F., Santos, M. C. P. dos, Seljan, M. P., Carrão-Dantas, E. K., Aiub, C. A. F., Cameron, L. C., Ferreira, M. S. L., Andrade Gonçalves, É. C. B. de, & Felzenszwalb, I. (2021). Plinia cauliflora (Mart.) Kausel (Jaboticaba) leaf extract: In vitro anti-Trypanosoma cruzi activity, toxicity assessment and phenolic-targeted UPLC-MSE metabolomic analysis. *Journal of Ethnopharmacology*, *277*. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.114217>

Gimenes, L. P., Amaral, J. G., Monge, M., Semir, J., Callegari Lopes, J. L., Lopes, N. P., & Bauermeister, A. (2018). Phytochemical and chemotaxonomy investigation of polar crude extract from *Eremanthus incanus* (Asteraceae, Vernoniaeae). *Biochemical Systematics and Ecology*, *81*, 105–108. <https://doi.org/10.1016/J.BSE.2018.10.009>

Gol, N. B., Chaudhari, M. L., & Rao, T. V. R. (2015). Effect of edible coatings on quality and shelf life of carambola (*Averrhoa carambola* L.) fruit during storage. *Journal of Food Science and Technology*, *52*(1), 78–91. <https://doi.org/10.1007/S13197-013-0988-9>/METRICS

Gomes, R. B. de A., de Souza, E. S., Gerhardt Barraqui, N. S., Tosta, C. L., Nunes, A. P. F., Schuenck, R. P., Ruas, F. G., Ventura, J. A., Filgueiras, P. R., & Kuster, R. M. (2020). Residues from the Brazilian pepper tree (*Schinus terebinthifolia* Raddi) processing industry: Chemical profile and antimicrobial activity of extracts against hospital bacteria. *Industrial Crops and Products*, *143*, 111430. <https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2019.05.079>

Govindappa, M., Naga Sravya S., Poojashri M. N., Sadananda T. S., Chandrappa C. P., Gustavo Santoyo, Sharanappa P., & Anil Kumar N. V. (2011). Antimicrobial, antioxidant and in vitro anti-inflammatory activity and phytochemical screening of water extract of *Wedelia trilobata* (L.) Hitchc. *Journal of Medicinal Plants Research*, *5*(24), 5718–5729. <http://www.academicjournals.org/JMPR>

Guerra, M. J. M., Barreiro, M. L., Rodríguez, Z. M., & Rubalcaba, Y. (2000). ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE UN EXTRACTO FLUIDO AL 80 % DE *SCHINUS TEREBINTHIFOLIUS* RADDI (COPAL). *REV CUBANA PLANT MED*, *5*(1), 23–28.

Guo, S., & DiPietro, L. A. (2010). Factors Affecting Wound Healing. <https://doi.org/10.1177/0022034509359125>, *89*(3), 219–229. <https://doi.org/10.1177/0022034509359125>

Guzik TJ, Korb R, & Adamek-Guzik T. (2003). NITRIC OXIDE AND SUPEROXIDE IN INFLAMMATION AND IMMUNE REGULATION. *JOURNAL OF PHYSIOLOGY AND PHARMACOLOGY*, *4*, 469–487. www.jpp.krakow.pl

Hickl, J., Argyropoulou, A., Sakavitsi, M. E., Halabalaki, M., Al-Ahmad, A., Hellwig, E., Aligiannis, N., Skaltsounis, A. L., Wittmer, A., Vach, K., & Karygianni, L. (2018). Mediterranean herb extracts inhibit microbial growth of representative oral microorganisms and biofilm formation of *Streptococcus mutans*. *PloS One*, *13*(12). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0207574>

INCA. (2023). *Estimativa 2023: incidência de câncer no Brasil* | INCA - Instituto Nacional de Câncer. <https://www.inca.gov.br/publicacoes/livros/estimativa-2023-incidencia-de-cancer-no-brasil>

Ingrid, S. O. Y., Soares, C. O. M., Lima, G. A., Oliveira, B. C., Jales, de P. B., Lais Pereira de Sousa N., & Rayssa, F. F. F. (2017). *AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO EXTRATO ETANÓLICO DE FOLHAS DE SIRIGUELA (SPONDIA PURPUREA L.)*. 57º CONGRESSO BRASILEIRO DE QUÍMICA. <http://www.abq.org.br/cbq/2017/trabalhos/7/11626-24096.html>

- Iqbal, J., Abbasi, B. A., Mahmood, T., Kanwal, S., Ali, B., Shah, S. A., & Khalil, A. T. (2017). Plant-derived anticancer agents: A green anticancer approach. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 7(12), 1129–1150. <https://doi.org/10.1016/J.APJTb.2017.10.016>
- Ismiyati, N., Dewi, D., Putri, P., Kusumastuti, S. A., & Febriansyah, R. (2012). Antiproliferative Effect of Ethanolic Extract *Eugenia uniflora* Lam. Leaves on T47D Cells. *Indonesian Journal of Cancer Chemoprevention*. <http://ccrc.farmasi.ugm.ac.id>
- Iwanaga, C. C., Ferreira, L. dos A. O., Bernuci, K. Z., Fernandez, C. M. M., Lorenzetti, F. B., Sehaber, C. C., Vieira Frez, F. C., Bernardes, S. S., Panizzon, G. P., Linde, G. A., Vieira, M. do C., Zanoni, J. N., & Cortez, D. A. G. (2019). In vitro antioxidant potential and in vivo effects of *Schinus terebinthifolia* Raddi leaf extract in diabetic rats and determination of chemical composition by HPLC-ESI-MS/MS. *Natural Product Research*, 33(11), 1655–1658. <https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1425848>
- Jeong, D., Yang, W. S., Yang, Y., Nam, G., Kim, J. H., Yoon, D. H., Noh, H. J., Lee, S., Kim, T. W., Sung, G. H., & Cho, J. Y. (2013). In vitro and in vivo anti-inflammatory effect of *Rhodomyrtus tomentosa* methanol extract. *Journal of Ethnopharmacology*, 146(1), 205–213. <https://doi.org/10.1016/J.JEP.2012.12.034>
- Jorge, A. T. S., Arroiteia, K. F., Santos, I. A., Andres, E., Medina, S. P. H., Ferrari, C. R., Lourenço, C. B., Biaggio, R. M. T. T., & Moreira, P. L. (2012). *Schinus terebinthifolius* Raddi extract and linoleic acid from *Passiflora edulis* synergistically decrease melanin synthesis in B16 cells and reconstituted epidermis. *International Journal of Cosmetic Science*, 34(5), 435–440. <https://doi.org/10.1111/J.1468-2494.2012.00736.X>
- Junior, M. S. de M., Mota, S. da L. L., Machado, E. L. M., & Pereira, I. M. (2016). Vista do Distribuição espacial de *Eremanthus incanus* (Less.) Less. (Asteraceae) em duas áreas com diferentes níveis de conservação. *Revista Brasileira de Biociências*. <https://www.seer.ufrgs.br/index.php/rbrasbioci/article/view/114649/61947>
- Krishna, S., & Miller, L. S. (2012). Innate and adaptive immune responses against *Staphylococcus aureus* skin infections. *Seminars in Immunopathology*, 34(2), 261–280. <https://doi.org/10.1007/S00281-011-0292-6>
- Kulkarni, O. P., Lichtnekert, J., Anders, H. J., & Mulay, S. R. (2016). The Immune System in Tissue Environments Regaining Homeostasis after Injury: Is “Inflammation” Always Inflammation? *Mediators of Inflammation*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/2856213>
- Leal, E. C., Carvalho, E., & Leal, E. C. (2014). Cicatrização de Feridas: O Fisiológico e o Patológico Wound Healing: The Physiologic and the Pathologic. *Revista Portuguesa de Diabetes*, 9(3), 133–143.
- Leelaprakash, G., & Dass, S. M. (2011). INVITRO ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY OF METHANOL EXTRACT OF ENICOSTEMMA AXILLARE. In *Int. J. Drug Dev. & Res* (Vol. 3, Issue 3). <http://www.ijddr.in>
- Luan, F., Peng, L., Lei, Z., Jia, X., Zou, J., Yang, Y., He, X., & Zeng, N. (2021). Traditional Uses, Phytochemical Constituents and Pharmacological Properties of *Averrhoa carambola* L.: A Review. *Frontiers in Pharmacology*, 12. <https://doi.org/10.3389/FPHAR.2021.699899>

Luz, C. L. da S. L. (2017). *Filogenia e Sistemática de Shinus L. (Anacardiaceae), com revisão de um clado endêmico das matas nebulares andinas*.

Macía, M. J., & Barfod, A. S. (n.d.). Economic Botany of *Spondias purpurea* (Anacardiaceae) in. In *Botany* (Vol. 54, Issue 4).

Melo, J. O., TRUITI, M. da C. T., MUSCARÁ, M. N., BOLONHEIS, S. M., DANTAS, J. A., CAPARROZ-ASSEF, S. M., CUMAN, R. K. N., & BERSANI-AMADO, C. Aparecida. (2006). Anti-inflammatory Activity of Crude Extract and Fractions of *Nectandra falcifolia* Leaves. *Biol. Pharm. Bull.* 29, 2241–2245. https://www.jstage.jst.go.jp/article/bpb/29/11/29_11_2241/_pdf/-char/ja

Minho, A. P., Gaspar, E. B., & Domingues, R. (2017). *Guia prático para determinação de curva dose-resposta e concentração letal em bioensaios com extratos vegetais*. Bagé: Embrapa Pecuária Sul, 2017. <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/1074446>

O'Brien, J., Wilson, I., Orton, T., & Pognan, F. (2000). Investigation of the Alamar Blue (resazurin) fluorescent dye for the assessment of mammalian cell cytotoxicity. *European Journal of Biochemistry*, 267(17), 5421–5426. <https://doi.org/10.1046/J.1432-1327.2000.01606.X>

Okoye, F. B. C., & Osadebe, P. O. (2010). A new anti-inflammatory flavonol glycoside from *Alchornea floribunda* leaves. *Natural Product Research*, 24(3), 266–273. <https://doi.org/10.1080/14786410902986894>

Oliveira, A. C. B., Oliveira, A. P., Guimarães, A. L., Silva, F. S., Reis, S. A. G., Ribeiro, L. A. A., & Almeida, J. R. G. S. (2013). Avaliação toxicológica pré-clínica do chá das folhas de *Morus nigra* L. (Moraceae). *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 15(2), 244–249. <https://doi.org/doi:10.1590/s1516-05722013000200012>

Oliveira, ZUCHETTO, M., OLIVEIRA, C. F., PAULA, C. S., DUARTE, A. F. S., MIGUEL, M. D., & MIGUEL, O. G. (2016). Efeito de diferentes técnicas extrativas no rendimento, atividade antioxidante, doseamentos totais e no perfil por clade-dad de *dicksonia sellowiana* (presl.). Hook, dicksoniaceae. *Rev. Bras. Pl. Med.*, 230–239. https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1590/1983-084X/15_106

Oliveira-Filho, A. T., & Fontes, M. A. L. (2000). Patterns of Floristic Differentiation among Atlantic Forests in Southeastern Brazil and the Influence of Climate1. *Biotropica*, 32(4b), 793–810. <https://doi.org/10.1111/J.1744-7429.2000.TB00619.X>

Ostrosky, E. A., Mizumoto, M. K., Lima, M. E. L., Kaneko, T. M., Nishikawa, S. O., & Freitas, B. R. (2008). Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da Concentração Mínima Inibitória (CMI) de plantas medicinais. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 18(2), 301–307. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2008000200026>

Otuki, M. F., Cabrini, D. A., Moresco, H. H., Imazu, P., Silva, C. D. Da, Pietrovski, E. F., Mendes, D. A. G. B., Prudente, A. D. S., Pizzolatti, M. G., & Brighente, I. M. C. (2011). Analysis of the potential topical anti-inflammatory activity of *Averrhoa carambola* L. in mice.

Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2011. <https://doi.org/10.1093/ecam/nej026>

Padilha, M. de M., Vilela, F. C., Silva, M. J. D., Santos, M. H., Silva, G. A., & Paiva, A. G. (2009). Antinociceptive Effect of the Extract of *Morus nigra* Leaves in Mice. *JOURNAL OF MEDICINAL FOOD* 12(6), 1381–1385. <https://doi.org/doi:10.1089/jmf.2009.0012>

Paiva, K. O., Oliveira, G. L., Farias, D. F. A., & Muller, T. S. (2017). Plantas medicinais utilizadas em transtornos do sistema geniturinário por mulheres ribeirinhas, Caravelas, Bahia. *Revista Fitos*, 11, 92–98. <https://doi.org/10.5935/2446-4775.20170019>

Palomino, J. C., Martin, A., Camacho, M., Guerra, H., Swings, J., & Portaels, F. (2002). Resazurin Microtiter Assay Plate: Simple and Inexpensive Method for Detection of Drug Resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 46(8), 2720. <https://doi.org/10.1128/AAC.46.8.2720-2722.2002>

Paula, P. L., Lemos, A. S. de O., Campos, L. M., Ferreira, T. G., Souza, T. F., Queiroz, L. S., Guedes, M. C. M. R., Martins, M. M., Filho, L. R. G., Macedo, G. C., Tavares, G. D., Rocha, V. N., Denadai, Â. M. L., & Fabri, R. L. (2021). Pharmacological investigation of antioxidant and anti-inflammatory activities of leaves and branches extracts from *Plinia cauliflora* (Jaboticaba). *Journal of Ethnopharmacology*, 280. <https://doi.org/10.1016/J.JEP.2021.114463>

Paulo Viana, J., Paula Moreira da Silva, A., Roma, J., & Luiz Saccaro Jr, N. (2013). *Avaliação do Estado de Conservação da Biodiversidade Brasileira: Desigualdades entre Regiões e Unidades da Federação*. <https://www.researchgate.net/publication/259333174>

Pawlowska, A. M., Oleszek, W., & Braca, A. (2008). Quali-quantitative analyses of Flavonoids of *Morus nigra* L. and *Morus alba* L. (Moraceae) fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(9), 3377–3380. <https://doi.org/10.1021/JF703709R>

Pereira, B. A. da S. (2017). *Schinus terebinthifolia Raddi | Árvores do Bioma Cerrado*. <https://www.arvoresdobiomacerrado.com.br/site/2017/03/30/schinus-terebintifolius-raddi/>

Pinto, T. D. J. A. ; KANEKO, T. M. ; & PINTO, A. F. (2020). *Controle Biológico de Qualidade de Produtos Farmacêuticos* (Walter Luiz Coutinho, Eliane Usui, & Juliana Waku, Eds.; 4th ed.). <https://doceru.com/doc/n8xnce5>

Piveta, G., De Fátima, M., Muniz, B., Rejane, L., Reiniger, S., Dutra, C. B., & Pacheco, C. (2014). QUALIDADE SANITÁRIA E FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE AROEIRA-PRETA (*Lithraea molleoides*) SUBMETIDAS A MÉTODOS DE SUPERACÃO DE DORMÊNCIA HEALTH AND PHYSIOLOGICAL QUALITY OF AROEIRA-PRETA (*Lithraea molleoides*) SEEDS EXPOSED TO METHODS OF OVERCOMING DORMANCY. *Ciência Florestal*, 2, 289–297.

Präbst, K., Engelhardt, H., Ringgeler, S., & Hübner, H. (2017). Basic Colorimetric Proliferation Assays: MTT, WST, and Resazurin. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, 1601, 1–17. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6960-9_1

Rabelo, A. S., Oliveira, I. D., Guimarães, A. G., Quintans, J. S. S., Prata, A. P. N., Gelain, D. P., Venceslau, E. M., Santos, J. P. A., Quintans-Júnior, L. J., Bonjardim, L. R., Barison, A.,

- Campos, F. R., Santos, A. D. C., Nogueira, P. C. L., Costa, E. V., Moraes, V. R. S., & Araújo, A. A. S. (2013). Antinociceptive, anti-inflammatory and antioxidant activities of aqueous extract from *Remirea maritima* (Cyperaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, *145*(1), 11–17. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.10.020>
- Ramadan, N. S., El-Sayed, N. H., El-Toumy, S. A., Mohamed, D. A., Aziz, Z. A., Marzouk, M. S., Esatbeyoglu, T., Farag, M. A., & Shimizu, K. (2022). Anti-Obesity Evaluation of *Averrhoa carambola* L. Leaves and Assessment of Its Polyphenols as Potential α -Glucosidase Inhibitors. *Molecules* (Basel, Switzerland), *27*(16). <https://doi.org/10.3390/MOLECULES27165159>
- Ribeiro, C. M., Correa, F. D. M., & Migowski, A. (2022). Efeitos de curto prazo da pandemia de COVID-19 na realização de procedimentos de rastreamento, investigação diagnóstica e tratamento do câncer no Brasil: estudo descritivo, 2019-2020. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, *31*(1), e2021405. <https://doi.org/10.1590/S1679-49742022000100010>
- Ribeiro, D., Freitas, M., Lima, J. L. F. C., & Fernandes, E. (2015). Proinflammatory Pathways: The Modulation by Flavonoids. *Medicinal Research Reviews*, *35*(5), 877–936. <https://doi.org/10.1002/MED.21347>
- Richmond, J. M., & Harris, J. E. (2014). Immunology and skin in health and disease. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, *4*(12). <https://doi.org/10.1101/CSHPERSPECT.A015339>
- Rocha, L. F., Paula, N. R., Nazareno, A. G., & De Carvalho, D. (2020). Development and characterization of nuclear microsatellite markers for *Eremanthus erythropappus* and their transferability across related species. *Biol Res*, *53*, 30. <https://doi.org/10.1186/s40659-020-00298-z>
- Rohwer, J. G., & Kubitzki, K. (1993). Ecogeographical differentiation in *Nectandra* (Lauraceae), and its historical implications. *Botanica Acta*, 88–99.
- Rossi, C. C., Santos-Gandelman, J. F., Barros, E. M., Alvarez, V. M., Laport, M. S., & Giambiagi-deMarval, M. (2016). *Staphylococcus haemolyticus* as a potential producer of biosurfactants with antimicrobial, anti-adhesive and synergistic properties. *Letters in Applied Microbiology*, *63*(3), 215–221. <https://doi.org/10.1111/LAM.12611>
- Sakat, S. S., Juvekar, A. R., & Gambhire, M. N. (2010). INVITRO ANTIOXIDANT AND ANTIINFLAMMATORY ACTIVITY OF METHANOL EXTRACT OF OXALIS CORNICULATA LINN. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, *2*(Ed 1), 146–155. <https://innovareacademics.in/journal/ijpps/Vol2Issue1/322.pdf>
- Santos, A. L., Santos, D. O., Freitas, C. C., Ferreira, B. L. A., Afonso, I. F., Rodrigues, C. R., & Castro, H. C. (2007). *Staphylococcus aureus*: visitando uma cepa de importância hospitalar *Staphylococcus aureus*: visiting a strain of clinical importance. *Medicina Laboratorial • J. Bras. Patol. Med. Lab.* *43* (6), 413–423. <https://doi.org/https://doi.org/10.1590/S1676-24442007000600005>
- Santos, A. C. A. dos, Rossato, M., Serafini, L. A., Bueno, M., Crippa, L. B., Sartori, V. C., Dellacassa, E., & Moyna, P. (2010). *Efeito fungicida dos óleos essenciais de Schinus*.

Santos, Lima, F. C. da S., Martins, L. F. L., Oliveira, J. F. P., Almeida, L. M., & Cancela, M. de C. (2023). Estimativa de Incidência de Câncer no Brasil, 2023-2025. *Revista Brasileira de Cancerologia*, 69(1), 213700. <https://doi.org/10.32635/2176-9745.RBC.2023v69n1.3700>

Scolforo, J. R., Oliveira, A. D., Davide, A. C., & Camolesi, J. F. (2002). *MANEJO SUSTENTADO DAS CANDEIAS Eremanthus erythropappus (DC.) McLeisch e Eremanthus incanus (Less.) Less.* Departamento de Ciências Florestais - Universidade Federal de Lavras. <http://www.nucleoestudo.ufla.br/nemaf/candeia/livro.htm>

Scott, L. A. (1993). Diffusion Across a Sheep Red Blood Cell Membrane. . *Association for Biology Laboratory Education (ABLE)* , 14, 115–144. <http://www.zoo.utoronto.ca/ablepages.-Copyrightpolicy:> <http://www.zoo.utoronto.ca/able/volumes/copyright.htm>

Shimizu, M., Bueno, L., Rodrigues, R., Sallowicz, F., Sawaya, A., & Marques, M. (2006). Óleo essencial de *Lithraea molleoides* (Vell.): composição química e atividade antimicrobiana. *Brazilian Journal of Microbiology*, 36, 556–560. <https://www.scielo.br/j/bjm/a/3gq3NSxqjPFTG77pNjNwTj/abstract/?lang=pt&format=html>

Silva, M. R. Da, & Costa, S. C. C. (2021). *Avaliação da atividade antioxidante, fotoprotetora e estabilidade de formulação em gel contendo do extrato etanólico de Spondias purpurea L.*

Silva, K. B., Pinheiro, C. T. S., Soares, C. R. M., Souza, M. A., Matos-Rocha, T. J., Fonseca, S. A., Pavão, J. M. S. J., Costa, J. G., Pires, L. L. S., & Santos, A. F. (2021). Phytochemical characterization, antioxidant potential and antimicrobial activity of *Averrhoa carambola* L. (Oxalidaceae) against multiresistant pathogens. *Brazilian Journal of Biology*, 81(3), 509–515. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.220259>

Silvério, M. D. O., Castro, C. F. S., & Miranda, A. R. (2013). Avaliação da atividade antioxidante e inibitória da tirosinase das folhas de *Dipteryx alata* Vogel (Baru). *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 15(1), 59–65. <https://doi.org/10.1590/S1516-05722013000100008>

Sobeh, M., Braun, M. S., Krstin, S., Youssef, F. S., Ashour, M. L., & Wink, M. (2016). Chemical Profiling of the Essential Oils of *Syzygium aqueum*, *Syzygium samarangense* and *Eugenia uniflora* and Their Discrimination Using Chemometric Analysis. *Chemistry & Biodiversity*, 13(11), 1537–1550. <https://doi.org/10.1002/CBDV.201600089>

Sosa, S., Balick, M. J., Arvigo, R., Esposito, R. G., Pizza, C., Altinier, G., & Tubaro, A. (2002). Screening of the topical anti-inflammatory activity of some Central American plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 81(2), 211–215. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(02\)00080-6](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(02)00080-6)

Sousa, F. S., Nunes, E. A., Gomes, K. S., Cerchiaro, G., & Lago, J. H. G. (2019). Genotoxic and cytotoxic effects of neolignans isolated from *Nectandra leucantha* (Lauraceae). *Toxicology in Vitro*, 55, 116–123. <https://doi.org/10.1016/J.TIV.2018.12.011>

Souza-Silva, T., Rossi, C. C., Andrade-Oliveira, A. L., Vilar, L. C., Pereira, M. F., Penna, B. de A., & Giambiagi-deMarval, M. (2022). Interspecies transfer of plasmid-borne gentamicin resistance between *Staphylococcus* isolated from domestic dogs to *Staphylococcus aureus*.

Infection, Genetics and Evolution: Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases, 98. <https://doi.org/10.1016/J.MEEGID.2022.105230>

Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., & Bray, F. (2021). Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 71(3), 209–249. <https://doi.org/10.3322/CAAC.21660>

Tiwari, P., Kaur, M., & Kaur, H. (2011). *Phytochemical screening and Extraction: A Review*. v.1(1), 98–106.

Vidmar, J., Chingwaru, C., & Chingwaru, W. (2017). Mammalian cell models to advance our understanding of wound healing: a review. *Journal of Surgical Research*, 210, 269–280. <https://doi.org/10.1016/J.JSS.2016.10.016>

Villanueva, J. R., Esteban, J. M., & Villanueva, L. R. (2017). Solving the puzzle: What is behind our forefathers' anti-inflammatory remedies? *Journal of Intercultural Ethnopharmacology*, 6(1), 128. <https://doi.org/10.5455/JICE.20161204021732>

Wakte, S., & Patil, D. (2011). Antimicrobial and Antioxidant Activity of Averrhoa Carambola L. Fruit at Various Stages of Ripening. *Med. Toxicol*, 5, 121–129.

Yoganandam G.P.; Ilango, K. ;, & De, S. (2010). Evaluation of Anti-inflammatory and Membrane Stabilizing Properties of various extracts of Punica granatum L.(Lythraceae). *International Journal of PharmTech Research CODEN (USA): IJPRIF ISSN*, 2(2), 1260–1263.

Zakaria, Z. A., Balan, T., Azemi, A. K., Omar, M. H., Mohtarrudin, N., Ahmad, Z., Abdullah, M. N. H., Desa, M. N. M., Teh, L. K., & Salleh, M. Z. (2016). Mechanism(s) of action underlying the gastroprotective effect of ethyl acetate fraction obtained from the crude methanolic leaves extract of Muntingia calabura. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 16(1). <https://doi.org/10.1186/s12906-016-1041-0>

Zhang, Q., Raouf, M., Chen, Y., Sumi, Y., Sursal, T., Junger, W., Brohi, K., Itagaki, K., & Hauser, C. J. (2010). Circulating mitochondrial DAMPs cause inflammatory responses to injury. *Nature*, 464(7285), 104–107. <https://doi.org/10.1038/NATURE08780>

Zhou, R., Li, D., Kou, Q., Jiao, Z., & Ning, Z. (2019). Evaluation of anti-inflammatory, antimicrobial and wound healing activity of Morus nigra. *South African Journal of Botany*, 124, 540–545. <https://doi.org/10.1016/J.SAJB.2019.06.021>

Zimmermann, G. R., Lehár, J., & Keith, C. T. (2007). Multi-target therapeutics: when the whole is greater than the sum of the parts. In *Drug Discovery Today* (Vol. 12, Issues 1–2, pp. 34–42). <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2006.11.008>

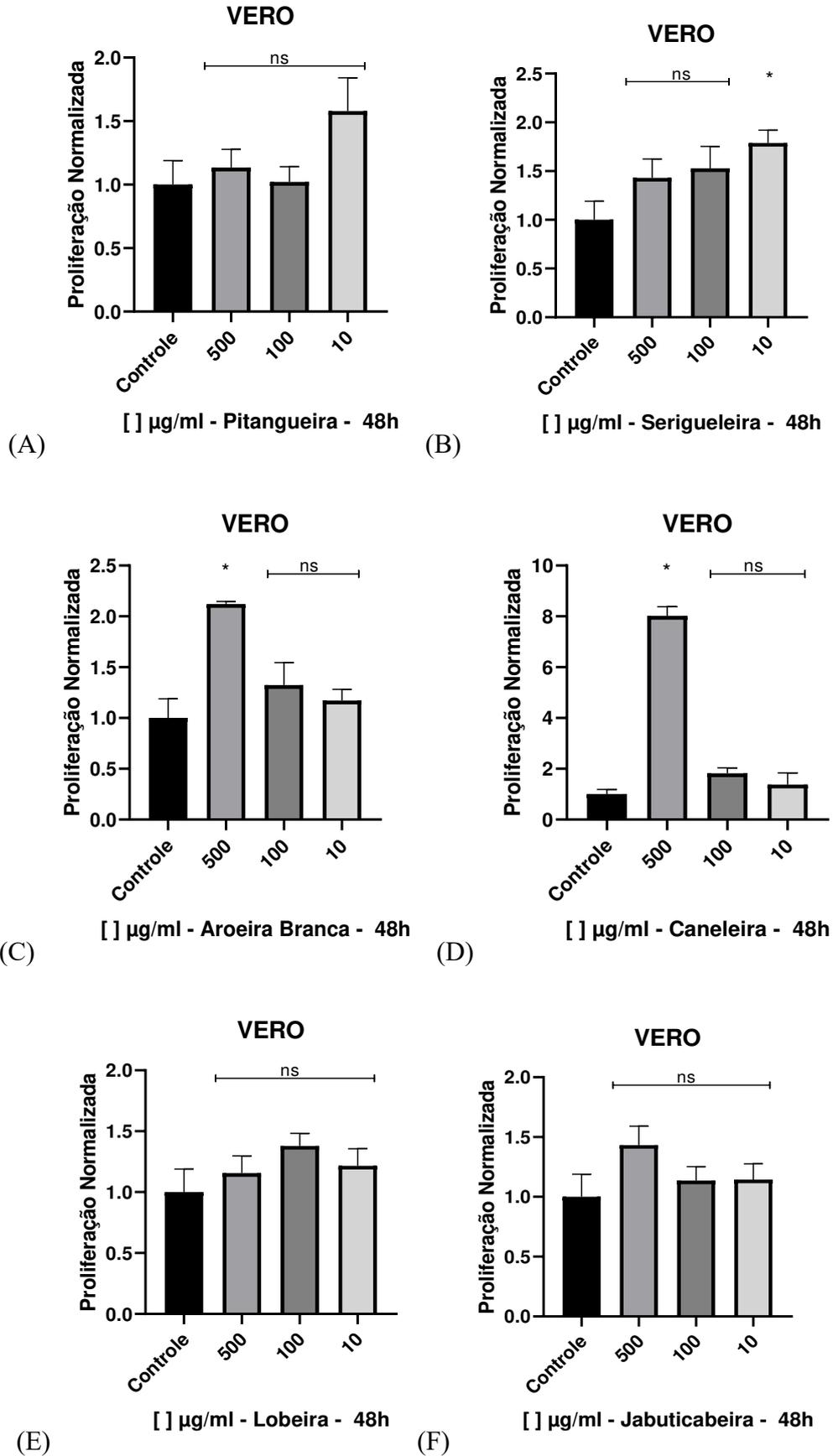
APÊNDICE

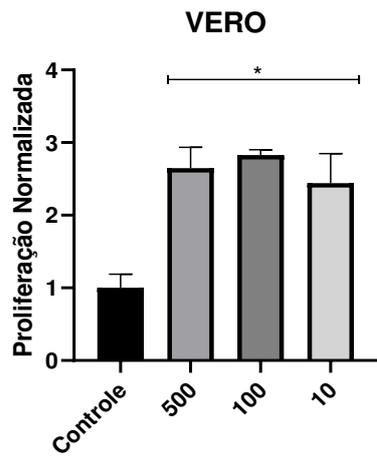
Apêndice A - Exemplar de exsicata de *Schinus terebinthifolia* Raddi (Aroeira Branca)



Legenda: Todas as espécies trabalhadas neste estudo têm a exsicata depositada no herbário VIC-UFV.

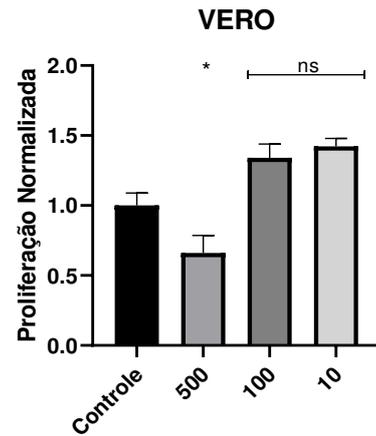
Apêndice B - Teste preliminar com os extratos para a linhagem VERO





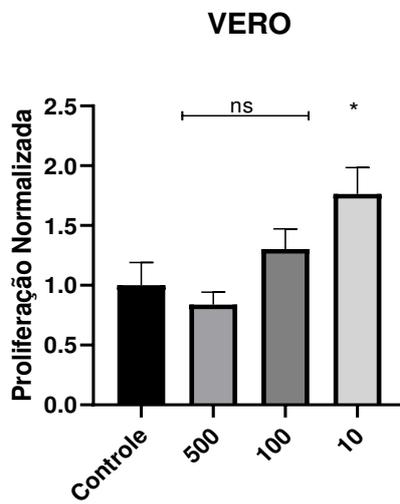
(G)

[] µg/ml - Aroeira Preta - 48h



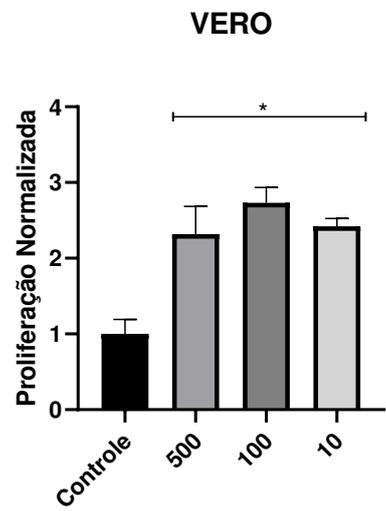
(H)

[] µg/ml - Amoreira - 48h



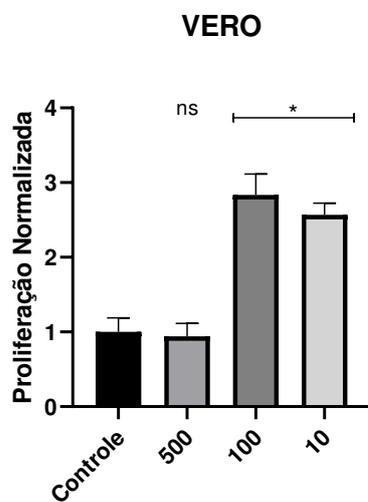
(I)

[] µg/ml - Candeia - 48h

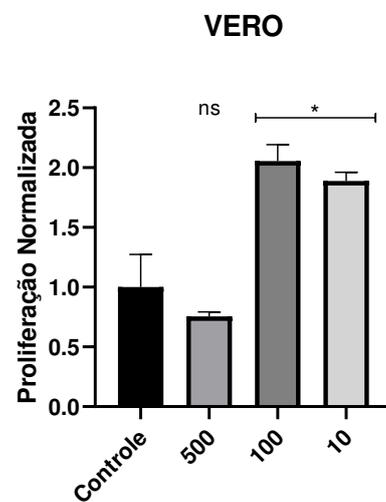


(J)

[] µg/ml - Caramboleira - 48h



(K)

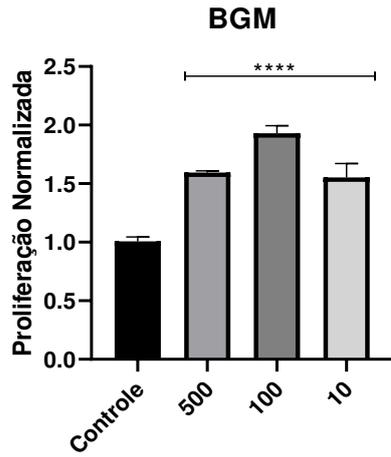
[] µg/ml - FRUTO -
Aroeira Branca - 48h

(L)

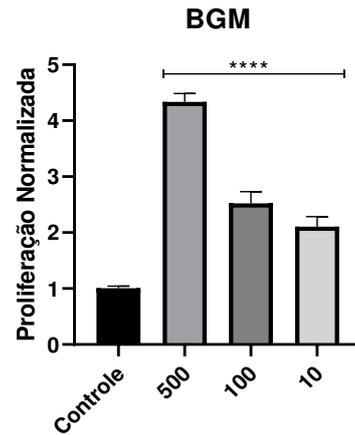
[] µg/ml - FRUTO (sup) -
Aroeira Branca - 48h

Legenda: Proliferação Normalizada. As células foram expostas a diferentes concentrações de cada extrato (indicadas abaixo do eixo x) por 48 horas. (*) estatisticamente significativo (p value $< 0,05$) e (ns) não houve diferença significativa em relação ao controle.

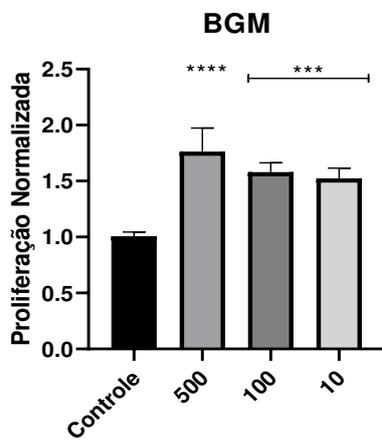
Apêndice C - Teste preliminar com os extratos para a linhagem BGM.



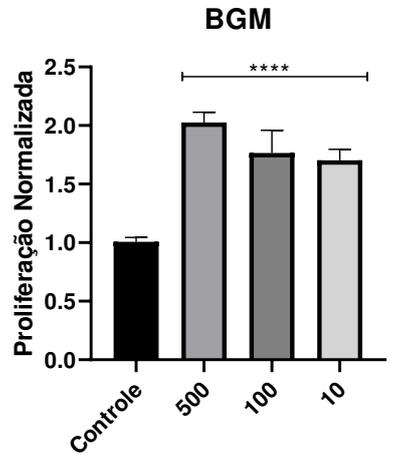
(A) [] µg/ml - Carambola - 48h



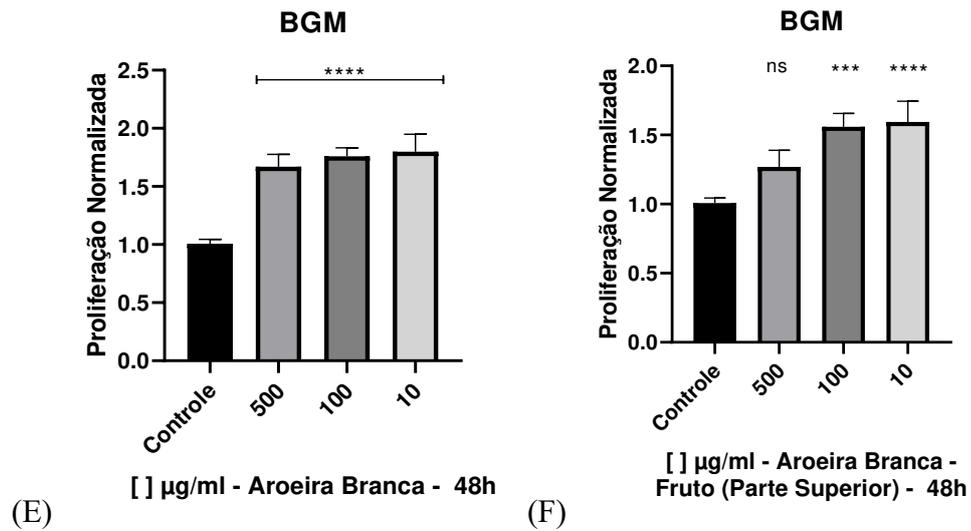
(B) [] µg/ml - Canela - 48h



(C) [] µg/ml - Lobeira - 48h

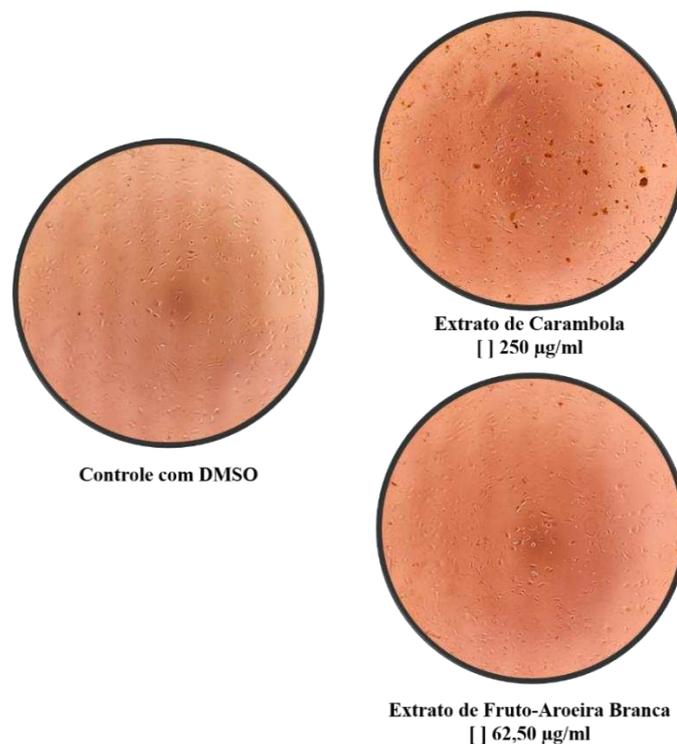


(D) [] µg/ml - Aroeira Preta - 48h



Legenda: Proliferação Normalizada. As células foram expostas a diferentes concentrações de cada extrato (indicadas abaixo do eixo x) por 48 horas. (*) estatisticamente significativo (p value $< 0,05$) e (ns) não houve diferença significativa em relação ao controle.

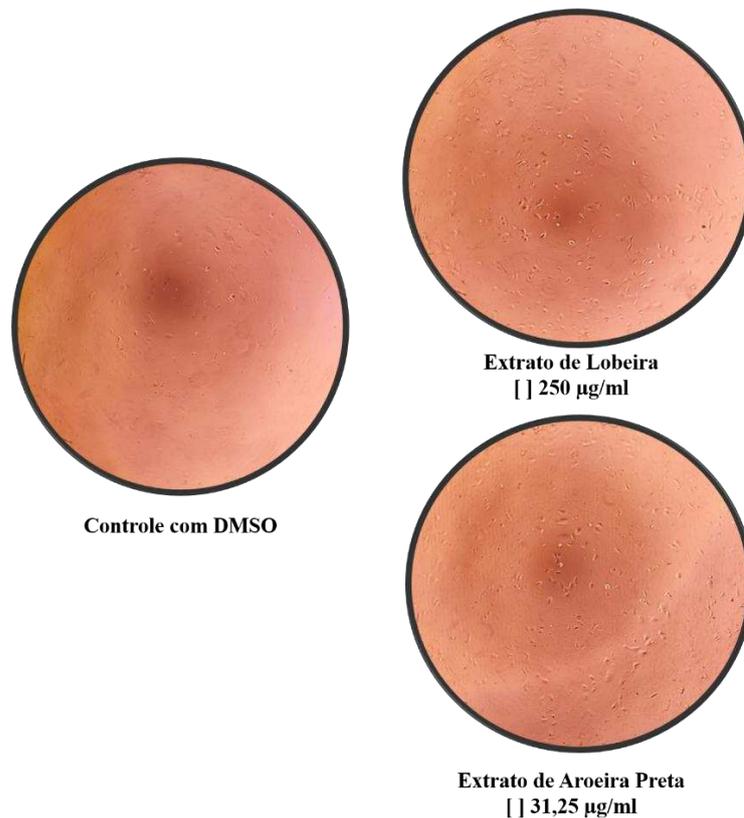
Apêndice D - Análise proliferativa dos extratos Caramboleira e Fruto-Aroeira Branca em cultura celular com a linhagem VERO



Legenda: Proliferação. As células foram expostas a diferentes concentrações de cada extrato por 48h. O extrato de Caramboleira apresentou maior atividade proliferativa na concentração

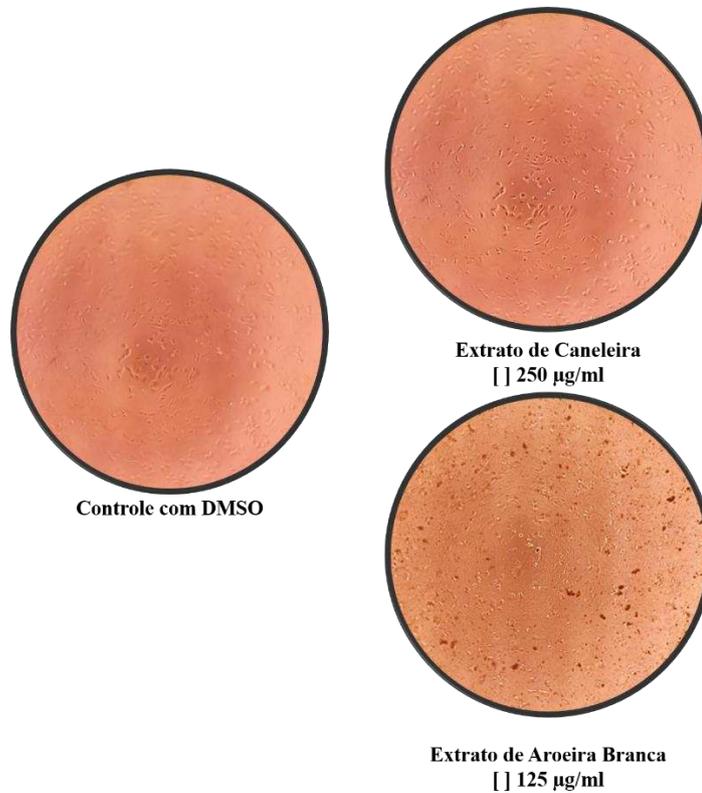
de 250 $\mu\text{g/ml}$ e o extrato do Fruto-Aroeira Branca na concentração de 62,50 $\mu\text{g/ml}$ podendo ser comparados com o grupo controle usando DMSO (mesmo diluente dos extratos).

Apêndice E - Análise proliferativa dos extratos Lobeira e Aroeira Preta em cultura celular com a linhagem VERO



Legenda: Proliferação. As células foram expostas a diferentes concentrações de cada extrato por 48h. O extrato de Lobeira apresentou maior atividade proliferativa na concentração de 250 $\mu\text{g/ml}$ e o extrato do Aroeira Preta na concentração de 31,25 $\mu\text{g/ml}$ podendo ser comparados com o grupo controle usando DMSO (mesmo diluente dos extratos).

Apêndice F - Análise proliferativa dos extratos Caneleira e Aroeira Branca em cultura celular com a linhagem VERO



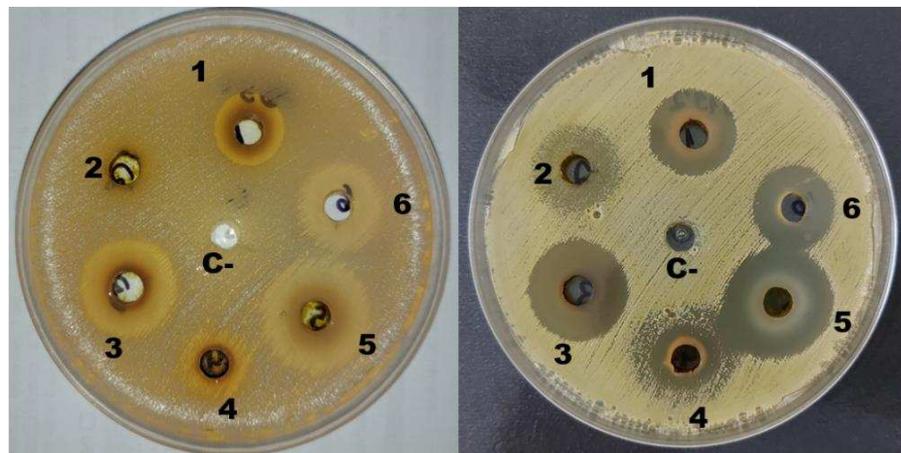
Legenda: Proliferação. As células foram expostas a diferentes concentrações de cada extrato por 48h. O extrato de Caneleira apresentou maior atividade proliferativa na concentração de 250 µg/ml e o extrato do Aroeira Branca na concentração de 125 µg/ml podendo ser comparados com o grupo controle usando DMSO (mesmo diluente dos extratos).

Apêndice G - Atividade antimicrobiana pelo método de difusão em ágar/ placas de cinco bactérias do gênero *Staphylococcus*



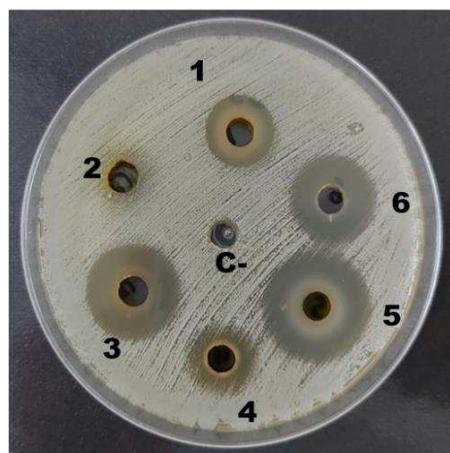
Staphylococcus coagulans (15)

Staphylococcus pseudintermedius (27)



Staphylococcus epidermidis (35984).

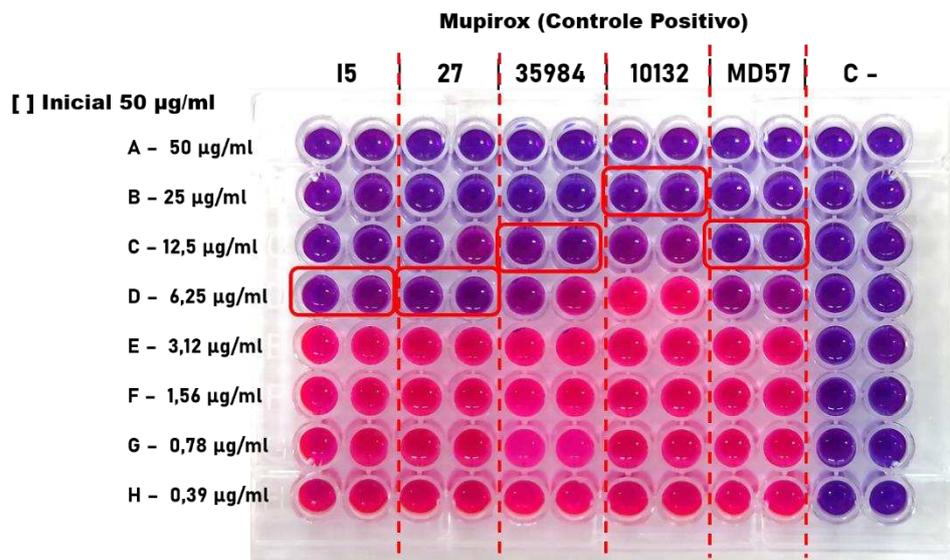
Staphylococcus aureus (10132)



Staphylococcus haemolyticus (MD57)

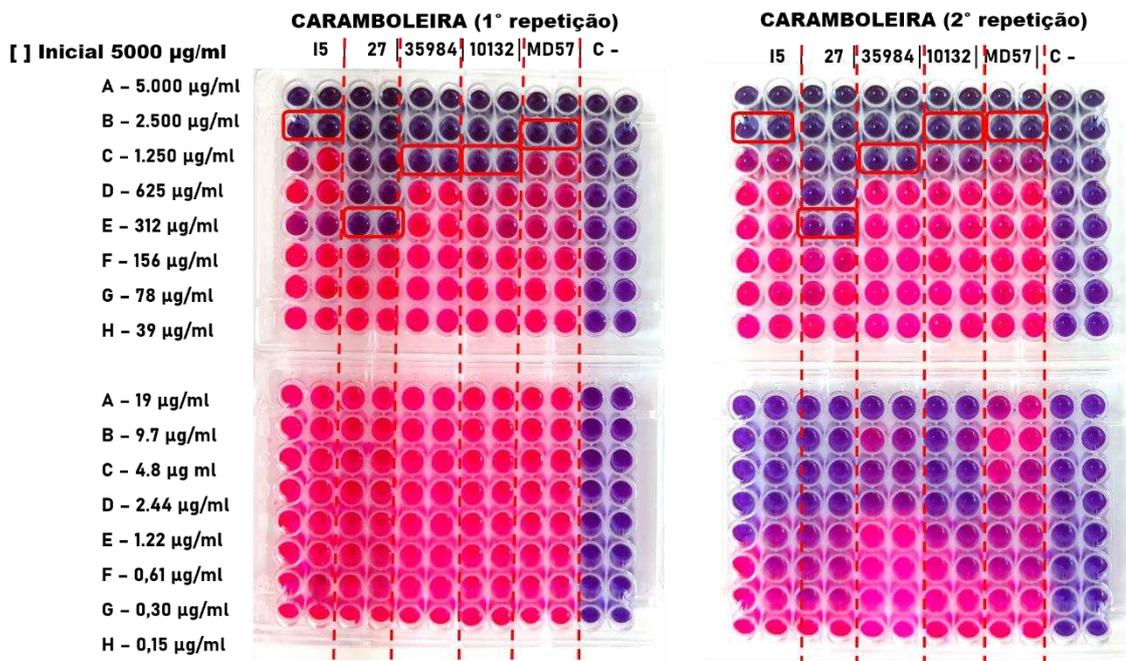
Legenda: (C-) controle negativo (DMSO) sem a formação do halo de inibição microbiano; Extrato na concentração de 100mg/ml (1-6); (1) Caramboleira; (2) Lobeira; (3) Aroeira Preta; (4) Caneleira; (5) Aroeira Branca; (6) Fruto-Aroeira Branca.

Apêndice H - Concentração inibitória mínima (CIM) determinada pela técnica da microdiluição em caldo – Controle Positivo: antibiótico Mupirox



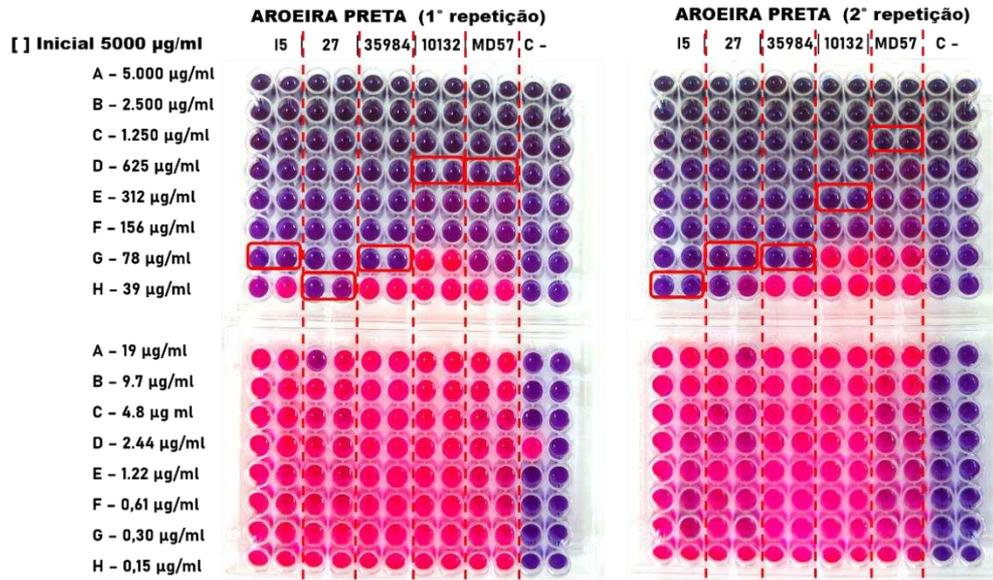
Legenda: (C-) controle negativo (DMSO) e cinco bactérias testadas; Antibiótico Mupirox em concentrações de diluição seriada iniciando em 50 µg/ml. Duas repetições por extrato.

Apêndice I - Concentração inibitória mínima (CIM) determinada pela técnica da microdiluição em caldo – Extrato de Caramboleira



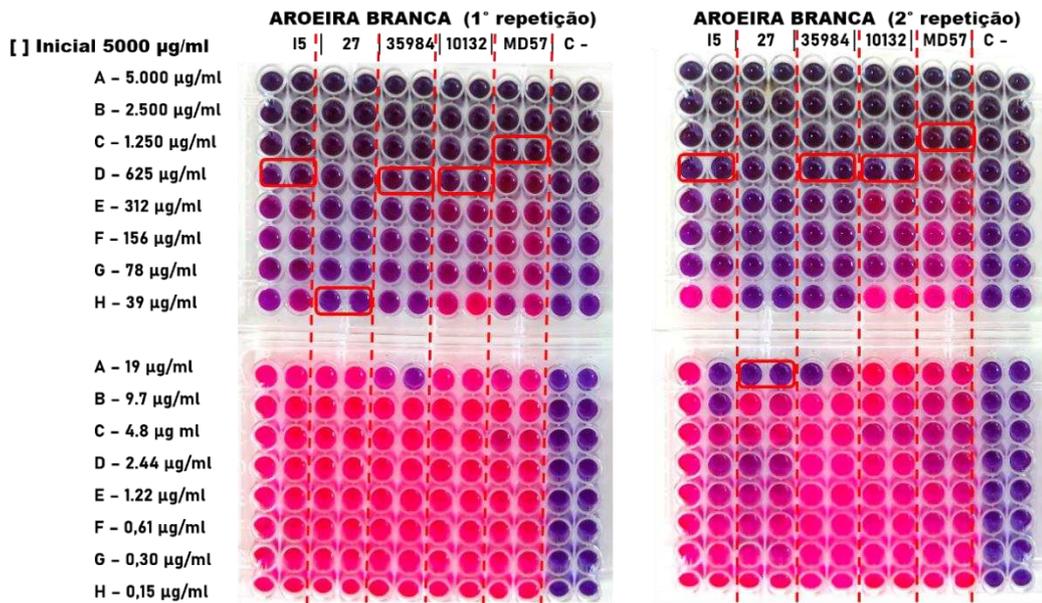
Legenda: (C-) controle negativo (DMSO) e cinco bactérias testadas; Extrato em concentrações de diluição seriada iniciando em 5.000 µg/ml. Duas repetições por extrato; Experimento realizado em duplicata.

Apêndice J - Concentração inibitória mínima (CIM) determinada pela técnica da microdiluição em caldo – Extrato de Aroeira Preta



Legenda: (C-) controle negativo (DMSO) e cinco bactérias testadas; Extrato em concentrações de diluição seriada iniciando em 5.000 µg/ml. Duas repetições por extrato; Experimento realizado em duplicata.

Apêndice K - Concentração inibitória mínima (CIM) determinada pela técnica da microdiluição em caldo – Extrato de Aroeira Branca



Legenda: (C-) controle negativo (DMSO) e cinco bactérias testadas; Extrato em concentrações de diluição seriada iniciando em 5.000 µg/ml. Duas repetições por extrato; Experimento realizado em duplicata.