

**ANÁLISE FITOQUÍMICA, ATIVIDADES CITOTÓXICA E ANTIBACTERIANA DA  
CASCA DE *Apodanthera smilacifolia* Cong. (CIPÓ-AZOUQUE)**

**PHYTOCHEMICAL ANALYSIS, CITOTOXIC AND ANTIBACTERIAL ACTIVITIES OF  
THE BARK OF *Apodanthera smilacifolia* Cong. (CIPÓ-AZOUQUE)**

Valeria Ferreira<sup>1</sup>, Anna Luiza Simioni Ferrari<sup>2</sup>, Camila Cabral Vidal<sup>2</sup>, Karine Amanda Costa<sup>2</sup>, Rafael Binow Schmidt<sup>2</sup>, Jeferson de Oliveira Salvi<sup>3</sup>.

1. Acadêmica do curso de Biomedicina do Centro Universitário Luterano de Ji-Paraná (CEULJI/ULBRA). [valeriaferreirabiomed@hotmail.com](mailto:valeriaferreirabiomed@hotmail.com)
2. Acadêmicos do curso de Farmácia do Centro Universitário Luterano de Ji-Paraná (CEULJI/ULBRA).
3. Mestre em Biologia Celular e Molecular, Docente das disciplinas de Farmacologia e Toxicologia no CEULJI/ULBRA. [jefersonsalvi@hotmail.com](mailto:jefersonsalvi@hotmail.com)

\* Autor correspondente: [valeriaferreirabiomed@hotmail.com](mailto:valeriaferreirabiomed@hotmail.com)

### RESUMO

O presente estudo teve por objetivo realizar a prospecção fitoquímica e avaliar as atividades citotóxica e antimicrobiana das cascas de *Apodanthera smilacifolia* cong (CIPÓ-AZOUQUE). A família *Cucurbitaceae* Juss é numerosa e heterogênea, assim como muitos táxons vegetais, e apresenta informações distintas acerca de seus gêneros e espécies. Embora sua morfologia seja bastante diversificada, são facilmente reconhecidas pelo hábito trepador. Alguns autores relatam aproximadamente 95 gêneros e um número estimado entre 950 e 980 de espécies distribuídas principalmente nas regiões tropicais e subtropicais do mundo, sendo raras em regiões temperadas. A espécie é popularmente conhecida como Cipó Azougue, Cipó-santo, Catingueira, Chá-de-boubas e Cota, dentre outros. São popularmente utilizados em tratamentos de infecções cutâneas de caráter sífilítico, úlcera dérmica, sarna, herpes. A identificação de metabólitos secundários foi realizada por meio de testes colorimétricos validados, a citotoxicidade foi realizada pelo teste de letalidade frente à microcrustáceo *Artemia salina* e a atividade antibacteriana foi avaliada pelo método de difusão em disco, frente aos microrganismos *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. Os resultados encontraram a presença de alcalóides, flavonóides, saponinas e taninos. O decocto foi classificado como atóxico ( $DL_{50}=8.012 \mu\text{g/mL}$ ) e não foi encontrada atividade antibacteriana sobre todas as cepas testadas.

**Palavras-chave:** Plantas medicinais. Fitoquímicos. Metabólitos secundários. Citotoxicidade aguda. *Artemia salina*. Atividade antibacteriana.

### ABSTRACT

The present project aimed to realize the phytochemical prospection and to evaluate the cytotoxic and antimicrobial activities from the barks of the *Apodanthera smilacifolia* cong (CIPÓ-AZOUQUE). The family *Cucurbitaceae* Juss is numerous and heterogeneous, just like many vegetable clams, and presents different informations about its genus and species. Although its morphology is very diverse, they are easily recognized by the climber manner. However some authors report about 95 genus and the estimated number between 950 and 980 of species mostly spread in the tropical and subtropical regions of the world. Being rare in temperate regions. The specie is popularly known as Cipó Azougue, Cipó-santo, Catingueira, Chá-de-boubas e Cota, among others. They are popularly used on treatments of syphilitic skin infections, dermal ulcer, scabies, herpes. The identification of secondary metabolites was accomplished by validated colorimetric tests, the cytotoxicity by the lethality test against the microcrack *Artemia salina* and the antibacterial activity was evaluated by the disk diffusion method, against the microorganisms *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. The results found the presence of alkaloids, flavonoids, saponins and tannins. The decoction was classified as non-toxic ( $LD50 = 8.012 \mu\text{g} / \text{mL}$ ) and no antibacterial activity above all the tested strains

**Keywords:** Medicinal plants. Phytochemicals. Secondary metabolites. Acute cytotoxicity. *Artemia salina*. Antibacterial activity

## 1. INTRODUÇÃO

A busca pelo alívio e pela cura de doenças por meio da ingestão de ervas e folhas talvez tenha sido uma das primeiras formas de tratamento que se tem conhecimento. Intuitivamente, o homem primitivo procurava descobrir soluções para as suas necessidades básicas de sobrevivência. Suas experiências e observações resultaram em descobertas importantes para soluções de tratamentos de injúrias ou doenças através do uso de diferentes espécies vegetais [1]. No Brasil, o emprego de plantas medicinais historicamente está presente desde o período anterior à colonização, incluídas no cotidiano e na prática medicinal dos índios e, em seguida, parte desse conhecimento foi transmitido para os colonizadores e ainda é empregado empiricamente até os dias atuais [2,3].

Plantas com fins medicinais são aquelas que podem ser cultivadas ou não, e são utilizadas com propósitos terapêuticos e fitoterápicos. Esses últimos podem ser definidos como produtos obtidos das matérias-primas ativas vegetais, com finalidade curativa ou paliativa. O medicamento fitoterápico, portanto, é entendido como simples quando o ativo é proveniente de uma única espécie vegetal medicinal, ou composto quando o ativo é oriundo de mais de uma espécie [4, 5, 6].

O reino vegetal apresenta relevante importância para a química e para a medicina moderna, uma vez que, propiciou a descoberta de diversas substâncias ativas até então desconhecidas. Dados indicam que aproximados 50% dos medicamentos existentes no mercado são originados de produtos naturais que passaram a ser industrializadas, como os fitoterápicos, e foram introduzidos na terapêutica convencional [7]

A grande extensão territorial e a diversidade das condições climáticas fazem com que a flora brasileira apresente diferentes espécies vegetais, representando mais de 20% da diversidade do total do planeta. Algumas podem ser consideradas importantes matérias-primas que passaram a ser incorporadas ao hábito alimentar dos brasileiros [8].

Os compostos fitoquímicos biologicamente ativos, presentes nas plantas, são originados a partir do seu metabolismo secundário. Geralmente se apresentam como estruturas químicas complexas e de baixo peso molecular, diferentemente dos metabólitos primários [9].

A família Cucurbitaceae Juss, é numerosa e heterogênea, assim como muitos táxons vegetais, e apresenta informações distintas acerca de seus gêneros e espécies. Alguns autores relatam aproximadamente 95 gêneros e um número estimado entre 950 e 980 de espécies distribuídas principalmente nas regiões tropicais e subtropicais do mundo, sendo raras em regiões temperadas. [10, 11, 12]. Embora sua morfologia seja bastante diversificada, são

facilmente reconhecidas pelo hábito trepador, gavinhas posicionadas a 90° em relação ao pecíolo, folhas em geral palmatilobadas ou compostas, flores unissexuadas, com cálice e corola pentâmeros, 2 a 5 estames e ovário ínfero [11].

As famílias das cucurbitacinas são triterpenos tetracíclicos altamente oxigenados, descritos como princípios tóxicos da família Cucurbitaceae, gerando interesse à pesquisadores por possuírem diversas atividades biológicas, tais como: citotóxica, antitumoral, antiinflamatória, antifertilizante, fago-repelente, hepatoprotetora e antibacteriana [13].

A espécie *A. smilacifolia* Cogn é popularmente conhecida como Cipó Azogue, Cipó-santo, Catingueira, Chá-de-boubas, Azogue e Cota. É uma herbácea pertencente a família das Cucurbitáceas, sendo distribuída amplamente, e os seus galhos e folhas são popularmente utilizados em tratamentos de infecções cutâneas de caráter sífilítico, úlcera dérmica, sarna, herpes, propriedades anti-inflamatórias e antiofídicas. [11].

Por se tratar de uma planta utilizada popularmente com fins terapêuticos, estudos investigativos são de extrema relevância. Neste contexto, o objetivo do presente estudo foi realizar a prospecção fitoquímica, avaliar a citotoxicidade aguda e a atividade antibacteriana das cascas de *A. smilacifolia* Cong.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Obtenção do material vegetal

As amostras foram adquiridas no mercado municipal de Porto Alegre, Rio Grande do Sul, em dezembro de 2017. O produto encontrava-se em uma embalagem lacrada, com os dados do fabricante e número de registro no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Identificado como Casca de cipó azogue 50 gramas.

Após busca na literatura, cruzaram-se os dados sobre as características morfológicas da parte vegetal, de seus nomes populares, com as indicações terapêuticas e o histórico dos registros do gênero, chegando-se ao nome científico correto: *Apodanthera smilacifolia* Cong. A exsicata está depositada sob registro: MNHN-P-P00257363 no MUSÉUM NATIONAL D' HISTOIRE NATURELLE- FRANÇA e P00751794 Herbário Virtual (Reflora-CNPq).

### 2.2 Preparação dos extratos

#### Extrato Aquoso

Sendo o método mais utilizado pela população, para fins terapêuticos, normalmente em formas de chás e banhos, foram pesadas 2 colheres de sopa (6,7 mg/mL) para 240 mL de água,

correspondendo a uma xícara de chá( brasil, 1998). Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), pelo regulamento técnico N° 519 o extrato aquoso( EA) foi obtido a partir do método de decocção , preparo no qual o produto é fervido em água.

#### Extrato Metanólico

O Extrato metanólico (EM) foi preparado pelo método de maceração, foram pesados 150g das cascas de *A. smilacifolia* e foram adicionados 250 mL do metanol ao material seco, por 48 horas em vidro âmbar, em temperatura ambiente. Após as 48 horas, o material obtido foi filtrado e levado ao evaporador rotativo Quimis ( Q344B1) (700 PSI, 60° C). Foi obtido um rendimento de 2,2 gramas do extrato metanólico[14].

#### 2.3 Prospecção fitoquímica

O Extrato aquoso (EA) foi obtido pelo método de decocção a partir do material vegetal conforme as indicações de preparo do uso popular, correspondendo a duas colheres de chá das cascas de Cipó Azogue, para 240 mL de água destilada, que corresponde à uma xícara de chá, considerando as proporções indicadas pelo regulamento técnico nº 519 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) [15], resultando na concentração de 28,2 mg/mL.

A prospecção fitoquímica foi realizada por meio de testes colorimétricos para a identificação dos principais metabólitos secundários, conforme técnicas qualitativas validadas por Radi e Terrones (2007) [16], Wagner e Bladt (1996) [17], Paech e Tracey (1995) [18], Pereira e Cardoso (2012) [19], Rajeh et. al. (2012) [20]. Os compostos pesquisados foram: Alcaloides, Flavonoides, Triterpenos, Taninos, Antraquinonas, Cumarinos voláteis e Auronas e Chalconas.

Para a identificação de alcaloides, foi utilizado para a extração ácido clorídrico (1%), seguida por análises preliminares com reagentes de Drangendorff, de Bertrand e de Mayer. Após a positividade, o teste confirmatório ocorre pela adição de solução de carbonato de sódio (22%, pH 8-9), extração com clorofórmio e tratamento com ácido acético (pH 5) [20,21].

A identificação das antraquinonas baseou-se na reação de Borntraeger que consiste na adição de diclorometano e de solução aquosa de hidróxido de sódio, é considerado o resultado positivo o aparecimento da coloração vermelha de diferentes intensidades [21].

O processo de verificação da classe das cumarinas foi realizado em papel filtro por meio da adição de gotas de solução de KOH 50% sobre o infuso previamente adicionado. A

positividade para o metabólito é indicada pela presença manchas azuis ou amarelas e o teste foi realizado em triplicata [16].

A presença de flavonoides foi identificada pela formação de um precipitado com cor vermelha ou laranja, indicando a positividade do teste. Para tanto, colocaram-se 2 mL do extrato aquoso e adicionaram-se duas gotas de acetado de chumbo (10 %) [22,23].

Para a identificação da saponinas, foram adicionados aos 2 mL da solução aquosa e mais 5 mL de água destilada fervente. Após o resfriamento, sofreu intensa agitação e repouso por 20 minutos. A formação de espuma com permanência mínima de 15 segundos indica a positividade da reação [15].

A presença de taninos foram pesquisados, adicionando-se 2 mL do infuso em tubos de ensaios com 10 mL de água destilada. Após, a mistura foi filtrada e adicionaram-se duas gotas de cloreto férrico a 10 %. Esta reação indica a presença de taninos quando há o aparecimento de coloração azul ou verde [15,24,25].

#### 2.4 Bioensaio com *Artemia salina*

A atividade citotóxica aguda foi avaliada por meio do teste de letalidade frente ao microcrustáceo *Artemia salina*, da ordem Anostraca, que habita em água salgada [24,27].

Em um balão de fundo chato foi preparada uma solução de sal marinho (35 g/L, pH 8,5) e foram adicionados ovos de *A. salina* para a eclosão das larvas. A aclimação consistiu no controle da temperatura ( $25^{\circ}\text{C} \pm 2$ ) com aeração e iluminação constantes, durante 48 horas. [22,24].

A concentração inicial do EA utilizada foi de 28,2 mg/mL (1) e a partir desta foram realizadas diluições seriadas (1:1; 1:2; 1:5; 1:10; e 1:20) nas seguintes proporções: 14,1 mg/mL (1:2), 5,64 mg/mL (1:5), 2,82 (1:10) mg/mL e 1,41 (1:20) mg/mL. Feito isso, foram transferidos 10 náuplios de *Artemia salina* para os tubos de ensaio, contendo as diluições seriadas para serem avaliadas, o teste foi realizado em triplicata de amostra. Como controle positivo foi utilizado dicromato de potássio 0,1% e como controle negativo foi empregado apenas água salina (35 g/L). Após 24h, realizou-se a contagem dos microcrustáceos vivos, calculou-se o percentual de mortalidade e a determinação da dose letal mediana ( $DL_{50}$ ).

$$\%M = 100 - (MIV \times 100 / MIV_{cn})$$

\*MIV = média dos indivíduos vivos por concentração; \*\*MIVcn = Média dos indivíduos vivos do controle negativo.

A dose letal mediana ( $DL_{50}$ ) foi obtida pelo método da regressão linear com base na correlação do logaritmo das concentrações em função dos percentuais da mortalidade registrados. Ao valor de  $y$  (ordenadas), atribui-se a metade das mortes máximas possíveis ( $n/2$ ); ao resultado de  $x$  obtido (abscissas), aplicou-se o antilogaritmo, resultando no valor final que é convertido para  $\mu\text{g/mL}$  ou PPM [22,26].

É estabelecida uma classificação, na qual as amostras que apresentam uma  $DL_{50} > 1000 \mu\text{g/mL}$  são consideradas atóxicas e as que apresentam a  $DL_{50} < 1000 \mu\text{g/mL}$  são consideradas tóxicas. [22,27].

## 2.5 Atividade antibacteriana

A atividade antibacteriana foi realizada utilizando a técnica de difusão em disco, seguindo o método da *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2011). O meio de cultura utilizado foi o ágar Mueller-Hinton e os microrganismos utilizados foram: a *Escherichia coli* (ATCC 25922) e o *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923).

Para realização da análise antibacteriana foram pipetados 10  $\mu\text{L}$  do EM das seguintes concentrações (500, 250, 150, 100, 50  $\mu\text{g/mL}$ ) de cada amostra sobre discos de papel filtro estéreis com 6 mm de diâmetro, os quais foram levados ao dissecador por 48 horas. Posteriormente, foram preparadas suspensões bacterianas contendo solução fisiológica, obtendo-se uma turvação equivalente a padrão de 0,5 na escala de Mac Farland [32].

Em seguida, essas suspensões foram semeadas em placas de petri com auxílio de swabs estéreis em meio ágar Mueller-Hinton e inoculados os discos impregnados com as determinadas concentrações do EM de *Apodanthera Smilacifolia* cong. O controle negativo foi feito com disco impregnado com DMSO à 10% e o controle positivo, com fármacos antibacterianos, sendo a Clindamicina (2 $\mu\text{g}$ ) para o microrganismo *Staphylococcus aureus* e Ceftriaxona (30 $\mu\text{g}$ ) para *Escherichia coli*. As placas foram incubadas a 37°C por 24 horas, após esse período, os halos de inibição foram medidos com auxílio de um paquímetro manual. Todas as análises foram realizadas em triplicata. Foram considerados atividade antibacteriana os halos de inibição superior a 6 mm de diâmetro [33].

Para avaliação da CIM, o presente estudo baseou-se na classificação indicada por Holetz [24] que estabeleceram os seguintes critérios: CIM abaixo de 100  $\mu\text{g/mL}$  possui forte atividade antibacteriana; entre 100 a 250  $\mu\text{g/mL}$  apresenta boa atividade e entre 500 a 1000  $\mu\text{g/mL}$  apresenta fraca atividade [32].

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Prospecção fitoquímica

Os metabólitos secundários desempenham papéis importantes na bioquímica e na fisiologia dos vegetais. Muitas classes fitoquímicas estão envolvidas nos processos fisiológicos das plantas, particularmente respondendo aos estímulos ambientais [27].

**TABELA 1:** Fitoquímicos presentes no extrato aquoso da casca da *Apodanthera smilacifolia* Cong.

METABÓLITO	PRESENÇA
Alcaloides	+
Antraquinonas	-
Cumarinas	-
Flavonoides	+
Purinas	-
Saponinas	+
Taninos	+
Triterpenos	-

**Legenda:** (+) positivo, (-) negativo.

As diferentes classes desses compostos são originadas a partir do metabolismo da glicose, basicamente oriundos da via do ácido chiquímico e da via do acetato, destacando-se os alcaloides, as cumarinas, os flavonoides, as saponinas e os taninos hidrolisáveis, dentre outros exemplos [20,26].

As atividades biológicas dos metabólitos secundários são reconhecidamente importantes na área farmacêutica. Além de novos medicamentos, as classes químicas farmacologicamente ativas também podem ser empregadas na indústria de alimentos e na área agrônômica, por exemplo [19,26,29].

Com relação aos fitoquímicos identificados no presente estudo, os flavonoides representam uma das classes mais importantes, sendo amplamente distribuídos no reino vegetal e possuindo atividades distintas, tais como: antimicrobiana, antiviral, antiulcerogênica e antineoplásica, além dos efeitos antioxidantes, antihepatotóxico e anti-inflamatório [26,27].

Os taninos são substâncias hidrossolúveis que apresentam propriedades adstringentes lhes proporcionando ação antimicrobiana e antifúngica [27,28]. As saponinas possuem propriedades surfactantes e detergentes, também são capazes de se complexarem com os sais biliares e desempenham efeito citotóxico sobre células tumorais [29,30]. Os alcaloides geralmente são produzidos por bactérias, fungos e plantas. Existe uma variedade de efeitos farmacológicos atribuídos a eles, alguns dos quais, relacionados à proteção contra predadores e na pigmentação das flores [31].

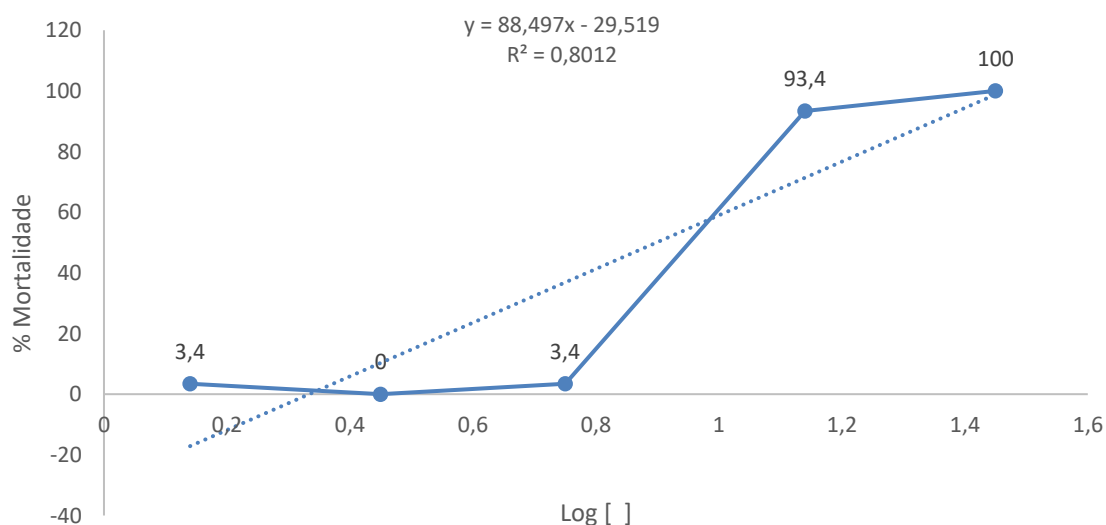
### 3.2 Bioensaio com *Artemia salina*

O teste de citotoxicidade aguda frente o microcrustáceo *A. salina* foi utilizado por diversos estudos para a determinação da mortalidade. Os resultados correspondem à análise toxicológica sobre os náuplios, conforme evidencia a tabela 2.

**TABELA 2.** Apresenta a distribuição da frequência dos óbitos em função do logaritmo e das concentrações

Log [ ]	CN	1,45	1,14	0,75	0,45	0,14
T1	10	0	1	10	10	10
T2	10	0	1	10	10	10
T3	10	0	0	9	10	9
% M	100	100	93,4	3,4	0	3,4

**Legenda:** Log [ ] = logaritmo das concentrações, CN = controle negativo, T1 = tratamento 1 T2 = tratamento 2, T3 = tratamento 3 %M = percentual de mortalidade.



**FIGURA 1.** Regressão linear do percentual de mortalidade em função do logaritmo das concentrações.



Por meio da determinação da equação da reta, a  $DL_{50}$  calculada foi igual à  $8012 \mu\text{g/mL}$ , sendo considerada como atóxica ou sem atividade. Também não foram encontrados na literatura científica resultados que relatem a  $DL_{50}$  de extratos de quaisquer partes da planta utilizando a técnica de *A. salina* para fins de comparação.

### 3.3 Atividade antibacteriana

Os metabólitos secundários apresentam atividade antibacteriana podendo ocorrer por diferentes mecanismos de ação, como, por exemplo, os flavonoides podem ocasionar fragmentação nuclear e condensação da cromatina devido ao bloqueio da enzima tirosina quinase, desencadeando o processo de apoptose celular [34]. As saponinas possuem comportamento anfifílico nas membranas celulares bacterianas e como consequência causam desequilíbrio osmótico [35]. Os taninos, por sua vez, formam complexo com proteínas e bloqueiam a síntese das mesmas, além de diminuir a disponibilidade de íons essenciais para o metabolismo bacteriano [36].

Embora tenha sido confirmado a presença de flavonoides, taninos, saponinas e alcalóides no extrato da *Apodanthera Smilacifolia* Cong, o mesmo não apresentou atividade antibacteriana. Este resultado pode ser devido à quantidade de metabólitos secundários no EM, visto, que a prospecção fitoquímica foi uma análise de caráter qualitativa, dose dependência. O controle positivo para *E. coli* apresentou halo de  $34,6 \pm 2$  mm, e para *S. aureus* foi de  $24 \pm 3$ , não verificou-se halo de inibição no controle negativo.

Não foram encontrados estudos relacionados à *A. smilacifolia* Cong, nem à família das Curcubitaceae, portanto, não foi possível comparar os resultados encontrados no presente trabalho que abordou a prospecção fitoquímica, citotoxicidade aguda e atividade antibacteriana.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

No extrato aquoso de cascas de *A. smilacifolia* Cong foi identificado alcalóides, flavonoides, taninos e saponinas. A Análise da citotoxicidade aguda demonstrou a ausência de toxicidade mediante as concentrações dos EA avaliados. A fração do extrato metanólico não apresentou atividade antibacteriana.

Ressalta-se, portanto, a importância de ensaios *in vitro* e *in vivo* para se investigar o potencial biológico e considerando diferentes solventes, métodos e concentrações do extrato.

Pois é essencial considerar o uso racional das plantas medicinais e dos produtos fitoterápicos no contexto das práticas e de promoção à saúde e bem estar.

## REFÊRENCIAS

- 1- VIEGAS JR, Cláudio; BOLZANI, Vanderlan da Silva; BARREIRO, Eliezer J. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. *Química Nova*, p. 326-337, 2006.
- 2- NETO, F. R. G.; ALMEIDA, G. S. S. A.; JESUS, N. G.; FONSECA, M. R. Estudo etnobotânico de plantas medicinais utilizadas pela Comunidade do Sisal no município de Catu, Bahia, Brasil. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, v.16, n.4, p.856-865, Botucatu, 2014.
- 3- OLIVEIRA, D. M. S.; LUCENA, E. M. P. O uso de plantas medicinais por moradores de Quixadá–Ceará. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, v.17, n.3, p.407-412, Botucatu, 2015
- 4- RAMALHO, L S. Informações sobre medicamentos fitoterápicos: análise de bulas e propagandas em revistas populares. ix, 117 f., il. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde)—Universidade de Brasília, Brasília, 2012
- 5- FRANCA IX, SOUZA JA, BAPTISTA RS, BRITTO. Virgínia Rossana de Sousa. Medicina popular: benefícios e malefícios das plantas medicinais. *Revista Brasileira de Enfermagem*. 2008, vol.61, n.2, pp.201-208.
- 6- SILVEIRA, PF; BANDEIRA, Mary Anne Medeiros and ARRAIS, Paulo Sérgio Dourado. Farmacovigilância e reações adversas às plantas medicinais e fitoterápicos: uma realidade. *Rev. Bras. Farmacogn.* 2008, vol.18, n.4, pp.618-626.
- 7- BALUNAS, M. J., & KINGHORN, A. D. (2005). Drug discovery from medicinal plants. *Life sciences*, 78(5), 431-441.
- 8- LEWINSOHN, THOMAS M., and Paulo I. Prado. "Quantas espécies há no Brasil." *Megadiversidade* 1.1 (2005): 36-42.
- 9- BERG, J. M. T. e LUBERT, J, *Bioquímica*. 6.Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 545p. (2008)
- 10- JUDD, W. S., CAMPBELL, C. S., KELLOGG, E. A., STEVENS, P. F., & DONOGHUE, M. J. *Sistemática Vegetal-: Um Enfoque Filogenético*. Artmed Editora. (2009)
- 11- SCHAEFER, HANNO; RENNER, S S. Phylogenetic relationships in the order Cucurbitales and a new classification of the gourd family (Cucurbitaceae). *Taxon*, v. 60, n. 1, p. 122-138, 2011.

- 12- HALL, CLIMBIÊ FERREIRA; KLEIN, VERA LÚCIA GOMES; BARROS, FÁBIO DE. ORCHIDACEAE of Caldas Novas, state of Goiás, Brazil. *Rodriguésia*, v. 64, n. 4, p. 685-704, 2013.
- 13- VALENTE, LIGIA MARIA MARINO. Cucurbitacins and their main structural characteristics. *Química Nova*, v. 27, n. 6, p. 944-948, 2004.
- 14- BESSA, NGF de et al. Prospecção fitoquímica preliminar de plantas nativas do cerrado de uso popular medicinal pela comunidade rural do assentamento vale verde–Tocantins. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v. 15, n. 4, p. 692-707, 2013
- 15- BRASIL. ANVISA. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria da SVS n. 519 de 26 de junho de 1998. Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de chás-plantas destinadas à preparação de infusões ou decocções. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 29 de jun., 1998
- 16- RADI, P. A.; TERRONES, M. G. H. Metabólitos secundários de plantas medicinais. *Revista Brasileira de Farmácia*, v.20, n.2, p.18-22, 2007
- 17- WAGNER, HILDEBERT; BLADT, Sabine. *Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas*. Springer Science & Business Media, 1996.
- 18- PAECH, K.; TRACEY, M. V. *Modern Methods of Plant Analysis*. Vol. III. 1955
- 19- PEREIRA RJ, CARDOSO MG. Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes. *J Biotec Biodivers*. 2012; 3 (4): 146-152.
- 20- RAJEH, M. A. B. et al. Acute toxicity impacts of *Euphorbia hirta* L extract on behavior, organs body weight index and histopathology of organs of the mice and *Artemia salina*. *Pharmacognosy Research*, v.4, n.3, p.170-177, 2012
- 21- WHO, WORLD HEALTH ORGANIZATION. MARINI-BETOLLO, G. B. Preliminary chemical screening of medicinal plants in field conditions. Roma:DPM, 1980
- 22- TRAVAUX. *Pratiques de Pharmacognosie*. Toulouse: Université de Toulouse, 1982. 111p
- 23- SHINODA, J. A. new biologically active flavone glycoside from the roots of *Cassia fistula* Linn. *Journal of the Pharmaceutical Society of Japan*. v. 48, p. 214-20, 1928.
- 24- MEYER, B. M.; FERRIGNI, N. R.; PUTNAM, J. E.; JACOBSEN, L. B.; NICHOLS, D.E.; MCLAUGHLIN, J. L. Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. *Journal of Medical Plant Research*, v. 45, n.1, p. 31-34, USA, 1982.
- 25- MONTEIRO JM, ALBUQUERQUE UO, ARAUJO EL. Taninos: uma abordagem da química à ecologia. *Quím Nova*. 2005; 28 (5): 892-896. ISSN: 0100-4042

- 26- AMORIM ELC, et al. Simple and accurate procedure for determination of tannin and flavonoid levels and some applications in ethnobotany and ethnopharmacology. *Functional Ecology*, v.2, p. 88-94, 2008
- 27- LIMA, F.O.; BEZERRA, A.S. Flavonóides e radicais livres. *Disciplinarum Scientia*, v.13, n.1, p.111-124, 2012
- 28- MONTEIRO JM, ALBUQUERQUE UO, ARAUJO EL. Taninos: uma abordagem da química à ecologia. *Quím Nova*. 2005; 28 (5): 892-896. ISSN: 0100-4042.
- 29- CUNHA AI, MOURA KS, BARBOSA JC, SANTOS AF. Os metabólitos secundários e sua importância para o organismo. *Diversitas J*. 2016; 1 (2): 175-181.
- 30- CARVALHO CA, MATTA SLP, MELO FCS, ANDRADE DCF, CARVALHO LM, NASCIMENTO PC, SILVA MB, ROSA MB. Cipó-cravo (*Tynnanthus fasciculatus*Miers – Bignoniaceae): estudo fitoquímico e toxicológico envolvendo *Artemia salina*. *Rev. Eletrônica Farm*. 2009; 6 (1): 51-57.
- 31- BRUHN JG, LUNDSTRÖM J. Alkaloids of *carnegiea gigantea*. Arizonine a new tetrahydroisoquinoline alkaloid. *Lloydia*. 1976 Jul-Aug;39(4):197-203.
- 32- BARCELOS IB, *et al.* Análise fitoquímica e das atividades citotóxica, antioxidante, e antibacteriana das flores de *Tabebuia serratifolia* (Vahl) Nicholson. *Revista fitos*. 2017, vol.11, n.1, pp.1-118.
- 33- BONA, E. A. M. et al. Comparação de métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração inibitória mínima (cim) de extratos vegetais aquosos e etanólicos. *Arquivos do Instituto Biológico*, v. 81, n. 3, p. 218-225, 2014.
- 34- CARVALHO OV, OLIVEIRA FS, SARAIVA GL, BOTELHO CV, Ferreira HCC, Santos MR, Silva Junior A, Almeida MR. Potencial antiviral da quercetina sobre o parvovirus canino. *Arq, Bras, Med. Vet. Zootec* , Belo Horizonte, vol,65, nº 2, 2013.
- 35- CARMINATE B, CARVALHO AC, PACHECO TF, NATALI VD, SILVA MB. Investigação Antibacteriana *in vitro* de extratos etanólicos das folhas e cascas de *Cedrelafissilis*Vell. *Ciências e Natura*, Santa Maria, v. 36 Ed. Especial, p. 335-340,2014.
- 36- Pereira AV, Azevêdo TKB, Santos HSS, Santana GM, Trevisan LFA, Azevedo SS, Pereira MV, Paula AFR. Taninos da casca do cajueiro: atividade antimicrobiana. *Agropecuária Técnica*. 2015; 35(1); 121-7.

- 37- SANTOS DS, RODRIGUES MMF. Atividades farmacológicas dos flavonoids: um estudo de revisão. UNIFAP. Macapá, v.7, n.3, p29-35, 2017.
- 38- HOLETZ FB, PESSINI GL, SANCHES NR, CORTEZ DAG, NAKAMURA CV, DIAS FILHO BP. Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v. 97, n. 7, p. 1027-1031, 2002
- 39- SIMÕES CMO, SCHENKEL EP, GOSMAN G, MELLO JCP, MENTZ LA, PETROVICK PR. Farmacognosia: da planta ao medicamento. Editora da UFSC, 1102p. Florianópolis. 2007.
- 40- OLIVEIRA NT, ALMEIDA SSMS. Análise fitoquímica, citotóxica e antimicrobiana do extrato bruto etanólico das folhas da espécie *Ambelania acida* Aublet (Apocynaceae). Biota Amazônia. UNIFAP. 2016; 6 (1): 20-25.