

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS  
FARMACÊUTICAS**

**CONTROLE DE QUALIDADE E ATIVIDADE  
BIOLÓGICA DE *Sida rhombifolia* L.**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**Luísa Mulazzani Machado**

**Santa Maria, RS, Brasil  
2012**

**CONTROLE DE QUALIDADE E ATIVIDADE BIOLÓGICA**  
**DE *Sida rhombifolia* L.**

**Luísa Mulazzani Machado**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Área de concentração em Produtos Naturais, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências Farmacêuticas**

**Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Melânia Palermo Manfron**

**Santa Maria, RS, Brasil**  
**2012**

**Universidade Federal de Santa Maria  
Centro de Ciências da Saúde  
Programa de Pós- Graduação em Ciências Farmacêuticas**

A Comissão examinadora, abaixo assinada, aprova a dissertação de Mestrado

**CONTROLE DE QUALIDADE E ATIVIDADE BIOLÓGICA DE *Sida  
rhombifolia* L.**

elaborada por  
**Luísa Mulazzani Machado**

como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências  
Farmacêuticas**

**COMISSÃO EXAMINADORA:**

**Melânia Palermo Manfron**  
(Presidente/Orientador)

**Carine Viana Ieggli** (UNIPAMPA)

**Maria Rosa Chitolina Schetinger** (UFSM)

Santa Maria, 7 de Dezembro de 2012

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus, pela vida, por me iluminar sempre.

Aos meus pais, por não medirem esforços, me apoiarem e por me proporcionar a vida. Em especial, ao meu Pai que esteve sempre disposto a me ajudar (ou melhor, fazer todas as minhas coletas!). Aos meus avôs, minhas tias e ao Pedro.

À minha orientadora, pela oportunidade. Pela paciência, confiança, disponibilidade ao longo desses anos.

À Vera, por toda ajuda e empenho que sempre me mostrou.

Aos colegas de laboratório Rachel, Dai, Aline, Rafa, Queila, Raquel, Tiago, Gustavo, à Camila e a Rosana que já foram embora, mas fazem muita falta. Com certeza, vocês não só melhoraram os meus dias como os fizeram muito mais divertidos.

A todos os funcionários do Departamento de Farmácia Industrial.

Aos professores Sérgio Dalmora, Sydney Alves, Rafael Moresco e os seus alunos que contribuíram com o meu trabalho e estiveram sempre dispostos a ajudar.

Às minhas amigas que me ajudam a deixar tudo mais fácil quando as coisas parecem difíceis.

À UFSM por me proporcionar a graduação e a pós-graduação.

## RESUMO

Dissertação de Mestrado  
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas  
Universidade Federal de Santa Maria

### CONTROLE DE QUALIDADE E ATIVIDADE BIOLÓGICA DE *Sida rhombifolia* L.

Autora: Luísa Mulazzani Machado  
Orientadora: Melânia Palermo Manfron  
Local e Data de Defesa: Santa Maria, 07 de dezembro de 2012.

*Sida rhombifolia* L. pertence à família Malvaceae, é nativa do continente americano e pode ser encontrada em todas as regiões do Brasil. É conhecida popularmente por guanxuma, e utilizada na medicina tradicional como antiinflamatória, hipoglicemiante e hipolipidemiante. O objetivo deste trabalho foi determinar e avaliar os parâmetros físico-químicos de qualidade nas quatro estações do ano e nas partes aéreas e raízes da droga vegetal; realizar o doseamento de polifenóis totais, flavonoides e taninos condensados nos extratos das partes aéreas e raízes de *S. rhombifolia* nas quatro estações; avaliar a atividade antioxidante e antimicrobiana nestes mesmos extratos; investigar a atividade hipoglicemiante e hipolipidemiante dos extratos que apresentarem maior conteúdo de flavonoides, assim como analisar parâmetros bioquímicos de toxicidade hepática, renal e pancreática e citotoxicidade em células NCTC clone 929 por incorporação do corante vermelho neutro. A droga vegetal foi coletada nas quatro estações do ano no município de Santa Maria, RS, separada em partes aéreas e raízes e feitos extratos hidroetanólicos 70% de cada uma destas coletas. Os parâmetros físico-químicos variaram de acordo com a parte da planta analisada e a estação. Os valores encontrados para matéria estranha, determinação de água e cinzas insolúveis em ácido clorídrico estão de acordo com os estabelecidos para drogas vegetais. A coleta de inverno apresentou maior conteúdo de cinzas totais, tanto para as partes aéreas (21,20%) quanto para as raízes (17,63%). Os índices de intumescência variaram significativamente entre as partes aéreas e raízes, e os maiores índices obtidos para cada uma das coletas foram nas amostras do verão (35,47%) e outono (18,40%), respectivamente. Houve diferença significativa entre os conteúdos de polifenóis totais e flavonoides ao longo do ano e estes concentraram-se diferentemente entre as partes aéreas e raízes. O conteúdo de taninos não sofreu variação entre as partes analisadas da planta e de sazonalidade. Os extratos das partes aéreas (172,50 µg/mL) e das raízes (374,08 µg/mL) do inverno foram os que apresentaram melhor atividade antioxidante. Os extratos de *S. rhombifolia* apresentaram boa atividade antibacteriana e não apresentaram atividade contra fungos. Os extratos das partes aéreas do verão e das raízes do inverno não demonstraram atividade hipoglicemiante e hipolipidemiante em animais saudáveis. Os marcadores de danos hepáticos, renais e pancreáticos não variaram em relação ao grupo controle, e as IC<sub>50</sub> obtidas nos testes de citotoxicidade das partes aéreas e raízes foram 8,88 mg/mL e 12,57 mg/mL, respectivamente.

**Palavras-chave:** *Sida rhombifolia*, parâmetros físico-químicos, atividade biológica, variação sazonal

## ABSTRACT

Master Dissertation  
Graduate Program in Pharmaceutical Sciences  
Federal University of Santa Maria, RS, Brazil

### QUALITY CONTROL AND BIOLOGICAL ACTIVITIES OF *Sida rhombifolia* L.

Author: Luísa Mulazzani Machado

Advisor: Melânia Palermo Manfron

Place and Date of Defense: Santa Maria, December 7, 2012.

*Sida rhombifolia* L belongs to the family Malvaceae, it is native to the American continent and can be found in all regions of Brazil. It is popularly known as “prickly sida”, and used in traditional medicine as anti-inflammatory, antidiabetic and lipid lowering. The aim of this study was to determine and evaluate the physical and chemical parameters of quality in the four seasons and the aerial parts and roots of the plant drug; determining the content of total polyphenols, flavonoids and tannins in the extracts of the aerial parts and roots of *S. rhombifolia* in four seasons; evaluating the antimicrobial and antioxidant activity in these same extracts; investigating the hypoglycemic and lipid lowering activity of extracts that have a higher content of flavonoids, as well as to analyze biochemical parameters of liver, kidney and pancreatic toxicity and cytotoxicity in cells NCTC clone 929 by incorporation of neutral red dye. The drug was collected at the four seasons in Santa Maria, RS, separated into aerial parts and roots and made hydroethanolic extracts 70% from each of these collections. The physico-chemical parameters varied according to the plant part analyzed and the season. The values found for strange matter, determination of water and ash insoluble in hydrochloric acid are consistent with those established for herbs. The winter collection showed higher content of total ash, both to shoots (21.20%) and roots (17.63%). The swelling rates varied significantly among the aerial parts and roots, and the highest rates obtained for each of the samples were collected in summer (35.47%) and autumn (18.40%), respectively. There were significant differences between the content of total polyphenols and flavonoids throughout the year and these have focused differently from the aerial parts and roots. The content of tannins and did not suffer seasonal variation nor the distribution between the parties analyzed the plant. The extracts of the aerial parts (172.50 g / mL) and roots (374.08 g / mL) of winter presented the best antioxidant activity. Extracts of *S. rhombifolia* showed good antibacterial activity while showed no activity against fungi. The extracts of the aerial parts and roots of the summer of the winter showed no hypoglycemic and lipid lowering activity in healthy animals, the markers of liver, kidney and pancreatic damage did not vary in relation to the control group, and the IC<sub>50</sub> obtained at the cytotoxicity assays were 8.88 mg/mL e 12.57 mg/mL, respectively.

**Keywords:** *Sida rhombifolia*, physico-chemical parameters, biological activity, seasonal variation

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1-	<i>Sida rhombifolia</i> L. ....	16
Figura 2-	Biossíntese dos metabólitos secundários .....	20
Figura 3-	Estrutura básica dos polifenóis .....	23
Figura 4-	Sub-classes dos flavonoides .....	24
Figura 5-	Flavan-3-ol .....	26
Figura 6-	Mecanismo de ação dos antioxidantes primários .....	29
Figura 7-	Antioxidantes sintéticos .....	29
Figura 8-	Molécula de tocoferol e seus principais substituintes .....	29
Figura 9-	Ácido cinâmico e seus principais substituintes .....	30
Figura 10-	Estruturas da miricitina e quercitina .....	32
Figura 11-	Critérios para avaliação da atividade antimicrobiana de extratos brutos de plantas .....	35
Figura 12-	Conteúdo de polifenóis totais, flavonoides e taninos condensados nos EB das partes aéreas e raízes de <i>S. rhombifolia</i> .....	58
Figura 13-	Gráfico da inibição do DPPH pelo ácido ascórbico e EB das partes aéreas e raízes de <i>S. rhombifolia</i> .....	59

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1-	Porcentagem de material estranho nas partes aéreas e raízes de <i>S. rhombifolia</i> .....	53
Tabela 2-	Porcentagem de água nas partes aéreas e raízes de <i>S. rhombifolia</i> .....	53
Tabela 3-	Porcentagem de cinzas totais, insolúveis em ácido clorídrico e sulfatadas das partes aéreas de <i>S. rhombifolia</i> .....	54
Tabela 4-	Porcentagem de cinzas totais, insolúveis em ácido clorídrico e sulfatadas das raízes de <i>S. rhombifolia</i> .....	55
Tabela 5-	Índice de intumescência das partes aéreas e raízes de <i>S. rhombifolia</i> .....	55
Tabela 6-	Conteúdo de polifenóis totais, flavonoides e taninos condensados nos EB das partes aéreas de <i>S. rhombifolia</i> .....	56
Tabela 7-	Conteúdo de polifenóis totais, flavonoides e taninos condensados nos EB das raízes de <i>S. rhombifolia</i> .....	57
Tabela 8-	IC <sub>50</sub> dos EB das partes aéreas e raízes de <i>S. rhombifolia</i> frente ao radical DPPH .....	58
Tabela 9-	CIM dos EB das partes aéreas de <i>S. rhombifolia</i> .....	59
Tabela 10-	CIM dos EB das raízes de <i>S. rhombifolia</i> .....	60
Tabela 11-	Variação dos pesos corporais dos animais durante o tratamento ..	61
Tabela 12-	Glicemias obtidas no sangue total dos animais durante o tratamento .....	62
Tabela 13-	Colesterol total e triglicérides obtidos nos soros dos animais após o tratamento .....	62
Tabela 14-	Marcadores de danos renais, hepáticos e pancreáticos obtidos nos soros dos animais após o tratamento .....	63
Tabela 15-	IC <sub>50</sub> dos EB de <i>S. rhombifolia</i> frente às células NCTC .....	64



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ALT- Alanina aminotransferase  
ANOVA- Análise de variância  
ANVISA- Agência Nacional de Vigilância Sanitária  
AST- Aspartato aminotransferase  
ATCC- American Type Culture Collection  
BHA- Butil-hidroxi-anisol  
BHT- Butil-hidroxi-tolueno  
CCD- Cromatografia em Camada Delgada  
CIM- Concentração Inibitória Mínima  
CL<sub>50</sub>- Concentração Letal média  
CLSI- Clinical and Laboratory Standards  
DPPH- 2,2-difenil-1-picril-hidrazil  
EB- Extrato bruto  
HDL- Lipoproteínas de alta densidade  
IC<sub>50</sub>- Concentração inibitória de 50%  
LDL- Lipoproteína de baixa densidade  
NCTC 929- Células do tecido conjuntivo de camundongo  
OMS- Organização Mundial da Saúde  
PG- Propilgalato  
STZ- Streptozotocina  
TBHQ- Terc-butil-hidroquinona  
UV- Ultravioleta  
VLDL- Lipoproteínas de densidade muito baixa

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO .....	11
2	REVISÃO DA LITERATURA .....	14
2.1	<i>Sida rhombifolia</i> .....	14
2.2	Controle de qualidade .....	17
2.3	Metabolismo secundário .....	19
2.3.1	Flavonoides .....	23
2.3.2	Taninos .....	25
2.4	Atividade antioxidante .....	27
2.5	Atividade antimicrobiana.....	32
2.6	Atividade hipoglicemiante.....	35
2.7	Citotoxicidade .....	38
2.8	Lipídeos e dislipidemias .....	40
2.9	Marcadores bioquímicos .....	43
3	METODOLOGIA.....	46
3.1	Obtenção da droga .....	46
3.2	Preparo do extrato vegetal .....	46
3.3	Análises físico-químicas .....	46
3.3.1	Determinação de matéria estranha .....	46
3.3.2	Determinação de água pelo método gravimétrico .....	46
3.3.3	Determinação de cinzas totais .....	47
3.3.4	Determinação de cinzas insolúveis em ácido clorídrico .....	47
3.3.5	Determinação de cinzas sulfatadas .....	47
3.3.6	Determinação do índice de intumescência .....	47
3.4	Doseamentos .....	48
3.4.1	Determinação do teor de polifenóis totais .....	48
3.4.2	Determinação do teor de flavonoides .....	48
3.4.3	Determinação do teor de taninos condensados .....	48
3.5	Atividade antioxidante .....	49
3.6	Atividade antimicrobiana .....	49
3.6.1	Preparo dos extratos .....	49
3.6.2	Micro-organismos .....	50

3.6.3	Preparação dos inóculos .....	50
3.6.4	Realização do teste .....	51
3.6.5	Incubação e leitura .....	51
3.7	Atividade hipoglicemiante e hipolipidêmica .....	51
3.7.1	Seleção, distribuição e tratamento dos animais .....	51
3.8	Atividade citotóxica .....	52
3.9	Análise estatística .....	52
4	RESULTADOS .....	53
4.1	Matéria estranha .....	53
4.2	Determinação de água .....	53
4.3	Cinzas totais, cinzas insolúveis e cinzas sulfatadas .....	54
4.4	Índice de intumescência .....	55
4.5	Doseamentos .....	56
4.6	Atividade antioxidante .....	58
4.7	Atividade antimicrobiana .....	59
4.8	Atividade hipoglicemiante e hipolipidêmica .....	61
4.8.1	Peso dos animais .....	61
4.8.2	Glicemias .....	61
4.8.3	Lipídeos plasmáticos .....	62
4.8.4	Marcadores bioquímicos .....	63
4.9	Atividade citotóxica .....	64
5	DISCUSSÃO .....	65
6	CONCLUSÕES .....	70
7	REFERÊNCIAS .....	71

## INTRODUÇÃO

Muitos países em desenvolvimento são dotados de vastos recursos de produtos naturais. Este patrimônio natural, que inclui plantas medicinais, vem sendo utilizado há séculos pelos nativos como substâncias medicamentosas no alívio de injúrias, no cuidado da saúde, fragrâncias, flavorizantes, materiais de controle de pragas, entre outros (ADESINA, 2005). O Brasil possui tradição no uso de plantas com fins terapêuticos pela vasta diversidade, fácil obtenção e baixo custo destes produtos. A comercialização destas plantas é realizada em feiras, mercados e lojas de produtos naturais e muitas vezes não possuem certificação de qualidade e suas supostas atividades farmacológicas não foram comprovadas (VEIGA et al., 2005; FRANZOTTI, 2006).

O estudo das plantas medicinais e seus extratos vegetais são de grande importância, tendo em vista a utilização das substâncias ativas como protótipos para o desenvolvimento de novos fármacos sintéticos e como fonte de matérias-primas farmacêuticas, tanto para obtenção de fármacos modificados quimicamente, quanto de adjuvantes e fitofármacos (GUIMARÃES; FARIA, 2007; BARBOSA et al., 2008; CORRÊA et al., 2008; MARIATH et al., 2009).

O processamento de matérias-primas vegetais visando sua utilização na produção de medicamentos e cosméticos requer conhecimentos que vão além da cultura popular, exigindo pesquisas de metodologias analíticas, a padronização do controle de qualidade, produção adequada, bem como o planejamento para a garantia de qualidade (SCHENKEL et al., 2004).

Os vegetais produzem os chamados metabólitos secundários, como os alcaloides, flavonoides, fenóis e terpenos, que tem a capacidade de reagirem com outros organismos no ambiente. Estes metabólitos secundários das plantas, anteriormente sem atividades farmacológicas conhecidas, estão sendo profundamente usados e investigados pelas indústrias farmacêutica, alimentícia, cosmética e pesticida (MABBERLEY, 2000; SENGUL et al., 2009). Nas plantas eles servem como mecanismo de defesa contra micro-organismos, insetos e herbívoros. Atualmente, pesquisadores têm focado nas plantas medicinais para extrair antioxidantes naturais e de baixo custo para substituir aditivos sintéticos que podem ter efeitos tóxicos, carcinogênicos e anormais nos seres humanos. Portanto, há um crescente interesse nestas substâncias pelos seus potenciais usos como antioxidantes em alimentos e na indústria farmacêutica (PAREKH; CHANDA, 2007; GÖKTÜRK et al., 2007; DOUGHARI et al., 2008).

A resistência de bactérias patogênicas a antibióticos é a maior preocupação no tratamento infecto-contagioso, tanto de humanos quanto de animais. As bactérias são capazes de se adaptarem rapidamente em presença de moléculas antimicrobianas, e com o uso indevido destes medicamentos, há um aumento na resistência bacteriana (KEMPER, 2008). Portanto, há um crescente aumento do interesse no desenvolvimento de compostos provenientes de recursos naturais, seguros e efetivos com baixa toxicidade aos sistemas eucarióticos (FERNÁNDEZ-LÓPEZ et al., 2005).

O diabetes, uma doença que atinge o mundo todo, tem nas plantas medicinais uma fonte de tratamento alternativo bem aceito. Há mais de 1000 espécies de plantas antidiabéticas descritas na literatura científica (MARLES; FARNSWORTH, 1995). Atualmente há um crescente interesse em fitoterápicos devido aos efeitos colaterais associados aos agentes hipoglicemiantes sintéticos usados no tratamento do diabetes mellitus (KIM et al., 2006). Inúmeros compostos estão sendo pesquisados com o objetivo de atenuar os parâmetros bioquímicos e imunológicos alterados, bem como as complicações clínicas do diabetes (GUERRA et al., 2009).

A doença aterosclerótica é uma das principais causas de morbidade e mortalidade no mundo. As doenças cardiovasculares lideram os índices de mortalidade no Brasil, e são responsáveis por 50% dos óbitos nos Estados Unidos. A utilização de plantas medicinais tornou-se um recurso terapêutico alternativo de grande aceitação pela população e que vem crescendo junto a comunidade médica, desde que sejam utilizadas plantas cujas atividades biológicas tenham sido investigadas cientificamente, comprovando sua eficácia e segurança (NOLDIN et al., 2003, LEITE, 2009).

O estímulo ao uso de fitoterápicos objetiva prevenir, curar ou minimizar os sintomas das doenças, com um custo mais acessível à população e aos serviços públicos de saúde, comparativamente àqueles obtidos por síntese química, que são, em geral, mais caros devido às patentes tecnológicas envolvidas (TOLEDO et al., 2003). A avaliação científica de plantas medicinais utilizadas popularmente forneceu medicamentos efetivos para o tratamento de muitas doenças. Entre 1983 e 1994, mais de 60% dos medicamentos anticâncer aprovados nos Estados Unidos foram de origem natural (STÈVIGNY et al., 2005). A seleção de plantas para pesquisa e desenvolvimento de novos fármacos é baseada nos relatos sobre o efeito terapêutico de uma determinada espécie, sendo um valioso atalho para a descoberta de novos fármacos (MENEZES et al., 2007).

Neste contexto, este trabalho teve por objetivo determinar parâmetros físico-químicos de qualidade das partes aéreas e raízes de *Sida rhombifolia* nas quatro estações do ano,

realizar o doseamento de polifenóis totais, flavonoides e taninos dos extratos brutos provenientes destas coletas; investigar a atividade antioxidante, antimicrobiana, atividade hipoglicemiante, hipolipidêmica, citotóxica e determinar parâmetros bioquímicos de toxicidade hepática, renal e pancreática.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 *Sida rhombifolia*

A espécie *Sida rhombifolia* pertence à família Malvaceae que é constituída por 243 gêneros e 4225 espécies (STEVENS, 2012). Membros desta família são amplamente distribuídos por todo o mundo, possuem distribuição cosmopolita, principalmente em regiões tropicais e com exceção de regiões muito frias (CRONQUIST, 1981; HEYWOOD, 1993). Para o Brasil, Barroso e colaboradores (1977) mencionaram a ocorrência de 31 gêneros e 200 espécies. As Malvaceae possuem representantes de considerável valor econômico, sendo utilizadas na ornamentação em todo o mundo, como as espécies dos gêneros *Alcea*, *Hibiscus* e *Malvaviscus* ou, ainda, por serem utilizadas na indústria têxtil como *Gossypium* (algodão) e *Urena* (juta). Espécies do gênero *Sida*, um dos maiores da família em número de espécies, são consideradas “daninhas” e/ou “invasoras” e o reconhecimento dessas plantas é importante para evitar infestação em culturas e conseqüentemente prejuízos à economia agrícola. Ferreira e colaboradores (1984) e Brandão e colaboradores (1985) alertaram para o possível interesse econômico da flora invasora, inclusive de espécies de *Sida*. Segundo esses autores, essa flora pode ser utilizada como alimento, medicinal, ornamental ou, ainda, forrageira.

Muitas espécies da família Malvaceae são largamente usadas na terapêutica, como emoliente, antifebril, diurético, anti-inflamatório no tratamento de reumatismos, entre outras aplicações (AHMED et al., 1990).

O gênero *Sida* apresenta ampla distribuição neotropical com várias espécies bem representadas nas Américas. No Brasil este gênero possui muitos representantes nas regiões Nordeste e Sul e, em menor proporção, nas regiões Norte, Centro-Oeste e Sudeste (BARRACHO, 1998). São conhecidas mais de 170 espécies, sendo a grande maioria considerada invasora, principalmente em pastagens e culturas anuais. Toleram solos pouco férteis e ácidos, mas seu desenvolvimento é limitado (KISSMANN; GROTH, 2000).

As diversas espécies de *Sida* são conhecidas no Brasil pelo nome vulgar de “guanxumas” (CONSTANTIN et al., 2007).

As espécies de *Sida* são usadas na medicina popular com diversas atividades, como a *Sida acuta*, que possui atividade antifebril, diurética, vermífuga, no tratamento da asma, úlceras, malária, além da atividade antimicrobiana (PIEME, et al., 2010). Pieme e colaboradores (2010) propõem que a atividade antiproliferativa e os efeitos antioxidantes

relatados com o uso do extrato metanólico de *S. acuta* devem-se principalmente à presença de quercetina. A fração acetato de etila do extrato de *Sida galheirensis* obteve menor Concentração Inibitória de 50% (CI<sub>50</sub>) frente ao radical 2,2-difenil, 1-picrilhidrazila (DPPH), caracterizando, então, atividade antioxidante.

As raízes e folhas de *Sida rhomboidea* Roxb são usadas na Índia como tônico, para cura de febres, doenças cardíacas e todos os tipos de inflamação. Estudos farmacológicos utilizando extratos desta planta indicaram atividade antinociceptiva e anti-inflamatória (VENKATESH et al.,1999).

*Sida cordifolia* é nativa da América tropical, mas encontra-se disseminada em diversas regiões de clima tropical e sub-tropical no mundo. É usada na medicina folclórica para o tratamento de estomatites, bronquite asmática e congestão nasal. Os efeitos anti-inflamatórios e analgésicos foram testados e confirmados no extrato aquoso desta planta, comprovando sua utilização popular (FRANZOTTI et al., 2000).

*Sida rhombifolia* conhecida popularmente por guanxuma (Figura 1), malva-preta, relógio e vassourinha. É nativa do continente americano, ocorrendo mais intensamente na América do Sul e com menos intensidade no sul dos Estados Unidos. No Brasil ocorre em todas as regiões, sendo a espécie mais comum na região Sul. É uma planta perene, subarborescente e ereta. Seu nome popular de “relógio” vem da pontualidade com que as flores se abrem e se fecham diariamente. (KISSMANN; GROTH, 2000, LORENZI, 2008).

Segundo Ferreira e Macedo (1984) e Brandão e colaboradores (1985) há um possível interesse econômico desta flora, que pode ser usada como alimento, medicinal e ornamental. Na Índia, por volta de 1930, foi estimulado o cultivo de *S. rhombifolia* visando as longas fibras provenientes do caule e ramos (KISSMANN; GROTH, 2000).

Um levantamento etnofarmacológico feito em Porto Alegre, Rio Grande do Sul, indica o uso das raízes e sementes como emagrecedor, fortalecedor do couro cabeludo, inflamação dos nervos e contra a azia (VENDRUSCULO; MENTZ, 2006). Ainda no Rio Grande do Sul, o chá de toda planta é utilizado contra pedras nos rins e fortificante (SIMÕES et al., 2004). Na região amazônica, as folhas são usadas como anticatarrais e emolientes. Em outras regiões do país, como Minas Gerais, a planta é utilizada como béquica, emoliente, tônica, anti-hemorroidal, febrífuga e estomacal (GAVILANES et al., 1982; GRANDI; SIQUEIRA, 1982). A raiz da guanxuma é usada no tratamento do diabetes mellitus, apresentando sobre os níveis de glicose, triglicérides e colesterol no sangue. São ditas fortemente diuréticas, anti-inflamatórias e febrífugas (AMARAL, 2004, STEFFEN, 2010).





Figura 1- *Sida rhombifolia* L.

Fonte: [http://www.floradecanarias.com/sida\\_rhombifolia.html](http://www.floradecanarias.com/sida_rhombifolia.html)

Na medicina tradicional Indiana, Ayurveda, *S. rhombifolia* é comumente conhecida como “Bala”. É utilizada como diurética, antifebril, tônico, anti-inflamatória, cicatrizante e como um rejuvenescedor do tecido e sistema muscular. As raízes são usadas no tratamento de reumatismo e afecções neurológicas, como epilepsia (KIRTIKAR; BASU, 1990; WARRIER, 1994). Estudos fitoquímicos relatam a presença de taninos, alcaloides, flavonoides, glicosídeos e o isolamento de  $\beta$ -fenetilaminas, quinolizidinas e triptaminas carboxiladas (PRAKASH et al., 1981; DHALWAL et al., 2007).

Khalil e colaboradores (2006) demonstraram que o extrato hidroetanólico das folhas de *S. rhombifolia* apresenta atividade anti-inflamatória significativa pelo método do edema em pata de rato induzido pela carragenina, quando comparado ao padrão positivo indometacina.

Segundo Iswantini e colaboradores (2009), o extrato metanólico tratado com hexano obteve Concentração Letal ( $CL_{50}$ ) de 501,23 mg/L frente à artemia salina, e efeito inibitório superior a 50% da xantina oxidase em concentrações inferiores a  $CL_{50}$ . Sugerindo então, eficiência deste extrato no tratamento da gota.

A atividade antioxidante *in vitro* via radical DPPH foi avaliada por Dhalwal e colaboradores (2007), obtendo melhor  $IC_{50}$  para o extrato bruto das raízes, seguido das folhas, planta total e caules. Neste mesmo estudo foram avaliados os efeitos de extrato da raiz sobre a peroxidação lipídica, que se mostrou eficiente.

O extrato hidrometanólico de *S. rhombifolia* apresentou atividade antimicrobiana mais satisfatória que o extrato metanólico pelo método de zona de inibição. Os micro-organismos mais sensíveis foram *S. dysenteriae* e *S. typhi*. Pela determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM), o extrato hidrometanólico também foi mais eficiente, sendo os micro-

organismos mais sensíveis *P. vulgaris*, *S. typhi*, *S. dysenteriae* e *K. pneumoniae* (ASSAM et al., 2010).

Dhalwal e colaboradores (2010) identificaram moderados efeitos hipoglicemiantes e hipolipidêmicos dos extratos aquosos das folhas de *S. rhombifolia* em ratos normais.

Ranjan e colaboradores (2011) concluíram que extratos metanólicos nas concentrações de 200 e 400 mg/kg de animal das raízes de *S. rhombifolia* apresentaram potente atividade anti-diarréica, possivelmente atribuída à presença de taninos.

## 2.2 Controle de qualidade

Segundo Farias (2004), para se analisar a qualidade de matérias-primas vegetais é preconizado o emprego de metodologias químicas, físicas ou físico-químicas e biológicas. De acordo com a Resolução RDC nº 10 de 2010, fica instituído a notificação de drogas vegetais no âmbito da ANVISA, assim consideradas as plantas medicinais ou suas partes que contenham as substâncias ou classes de substâncias responsáveis pela ação terapêutica após os processos de coleta, estabilização e secagem, íntegras, rasuradas, trituradas ou pulverizadas. As drogas vegetais devem apresentar metodologias, especificações e resultados de testes de identidade e qualidade de acordo com a Farmacopeia Brasileira e a Organização Mundial da Saúde (OMS). A eficácia desta matéria-prima que posteriormente originará um medicamento é dada pela comprovação dos efeitos biológicos, através de ensaios farmacológicos pré-clínicos e clínicos. A segurança relaciona-se com a ausência de efeitos adversos ou tóxicos e contaminantes nocivos à saúde (FARIAS, 2004; ALONSO, 2008).

Muitos são os problemas observados no uso de plantas medicinais, destacando-se as falsificações, substituições e sofisticações. As falsificações são adulterações grosseiras da matéria-prima, fornecendo-se uma espécie vegetal semelhante morfológicamente da solicitada enquanto que as substituições caracterizam-se pelo fornecimento de espécies do mesmo gênero ou com a mesma atividade farmacológica que a solicitada. Já a sofisticação é uma prática mais difícil de ser detectada, pois ocorre normalmente, pela adição de substâncias sintéticas ou naturais, com estrutura semelhante a dos princípios ativos, a plantas medicinais ou fitoterápicos (SHARAPIN, 2001).

A Farmacopeia Brasileira (2010) e a OMS (1998) classificam os materiais estranhos em partes da matéria-prima vegetal ou de outras drogas vegetais, diferentes do farmacógeno, acima do limite especificado para a espécie; quaisquer organismos, partes ou produtos dos

organismos, diferentes daqueles descritos e especificados para o referido material vegetal; material mineral não aderido à droga, tais como, terra, areia e pedras.

A determinação de cinzas permite a verificação de impurezas inorgânicas, não voláteis que podem estar presentes como contaminantes, diferenciando estas das cinzas fisiológicas (orgânicas) que são características de cada espécie (OMS, 1998, ALONSO, 2008).

As cinzas totais incluem cinzas fisiológicas e de materiais estranhos. Esse conteúdo estabelece a quantidade de substância residual não volátil, eliminando as substâncias orgânicas no processo de incineração (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010). São constituídas principalmente por carbonatos, fosfatos, silicatos e sílica (EVANS, 1996). A presença de alguns elementos como cobre em grande quantidade, alumínio e metais pesados podem representar um risco tóxico aos usuários (ALMEIDA et al., 2002; LOPES et al., 2002). Esta metodologia permite detectar adulterações e evitar a exposição do consumidor ao risco real do uso do material vegetal inadequado (AMARAL et al., 2003).

Na determinação de cinzas insolúveis em ácido, o ácido consome as cinzas fisiológicas expressando o conteúdo em derivados de sílica decorrentes da contaminação da droga com areia, terra e pedra (MARQUES, 1996; CÍRIO et al., 2003).

As cinzas sulfatadas são representadas pelo resíduo não volatizado após calcinação com ácido sulfúrico concentrado. Os metais presentes na droga convertem-se em sulfatos, e como estes são mais resistentes ao calor, permitem obter resultados mais precisos do que aqueles obtidos com simples calcinação (SHARAPIN, 2001).

O excesso de umidade em matérias-primas vegetais permite a ação de enzimas, podendo acarretar na degradação de constituintes químicos, além de proporcionar o crescimento de fungos e bactérias, as drogas devem ter um mínimo de umidade para uma boa conservação (SIMÕES et al., 2004). De acordo com a maior parte das farmacopeias, esta umidade deve manter-se entre 5-16% a fim de garantir uma boa conservação da droga.

O índice de intumescência mede o volume ocupado por 1g da droga seca (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010), servindo para analisar o teor de mucilagens na planta. Quanto maior o índice de intumescência, mais mucilagens a planta possui. Segundo Costa (1982) a quantidade de mucilagens está diretamente relacionada com a atividade antidiarreica por reterem água.

### 2.3 Metabolismo secundário das plantas

O metabolismo significa a interação de todos os processos bioquímicos que ocorrem dentro das células, essenciais ao ser vivo. O metabolismo compreende dois processos distintos que são o catabolismo e o anabolismo. O catabolismo também pode ser chamado de degradação e é o processo no qual os nutrientes e os constituintes celulares são degradados para aproveitamento de seus metabólitos e geração de energia. Anabolismo, ou biossíntese é o processo onde os metabólitos são sintetizados a partir de precursores. Os processos anabólicos possibilitam a produção de uma grande variedade de compostos que são responsáveis por processos essenciais à vida e a adaptação da planta ao meio em que vive (LEITE, 2009).

A primeira etapa do processo de produção de substâncias no interior das células é o chamado metabolismo primário que resulta nos metabólitos primários, amplamente encontrados no reino vegetal. Estes metabólitos são indispensáveis à manutenção da vida e têm como função degradar macromoléculas, fornecer energia e precursores biossintéticos e o anabolismo de metabólitos primários, carboidratos, lipídeos e proteínas (LEITE, 2009).

O metabolismo secundário é influenciado pelas condições ambientais, ocorrendo a síntese de compostos de distribuição mais restrita, os metabólitos secundários. Estes compostos têm como função garantir vantagens para a sobrevivência das espécies, atuando na defesa contra herbívoros e micro-organismos, na proteção contra os raios ultravioleta (UV) e na atividade alelopática. A partir dos metabólitos secundários se originam grande parte dos produtos naturais farmacologicamente ativos como os flavonoides, taninos, alcaloides e óleos essenciais (LEITE, 2009). Estes são produzidos por reações enzimáticas no interior das células vegetais, a partir dos metabólitos primários. A interação do ambiente com os mecanismos fisiológicos das plantas pode influenciar no metabolismo secundário, implicando em uma grande variação na produção de metabólitos secundários intra e interespecies (ARIMURA et al., 2005).

Intermediários primários são utilizados para originar as diferentes rotas metabólicas que ocorrem como sequência de reações químicas e enzimáticas. A rota do acetato origina os ácidos graxos e antraquinonas, enquanto que a do chiquimato origina os ácidos benzóicos simples, fenilpropanóides, taninos hidrolisáveis e cumarinas. A rota metabólica do mevalonato e ácido cítrico sintetiza os óleos essenciais, terpenos, saponinas e glicosídeos cardiotônicos. A via dos aminoácidos biossintetiza a classe dos alcaloides. A combinação de diferentes rotas metabólicas proporciona uma maior variedade estrutural de produtos naturais, podendo ser chamada de rotas metabólicas mista. A combinação das rotas do chiquimato e

acetato são responsáveis pela biossíntese de compostos polifenólicos como os flavonoides e taninos condensados (LEITE, 2009). O biossíntese dos metabólitos secundários nas plantas está ilustrado na figura 2.

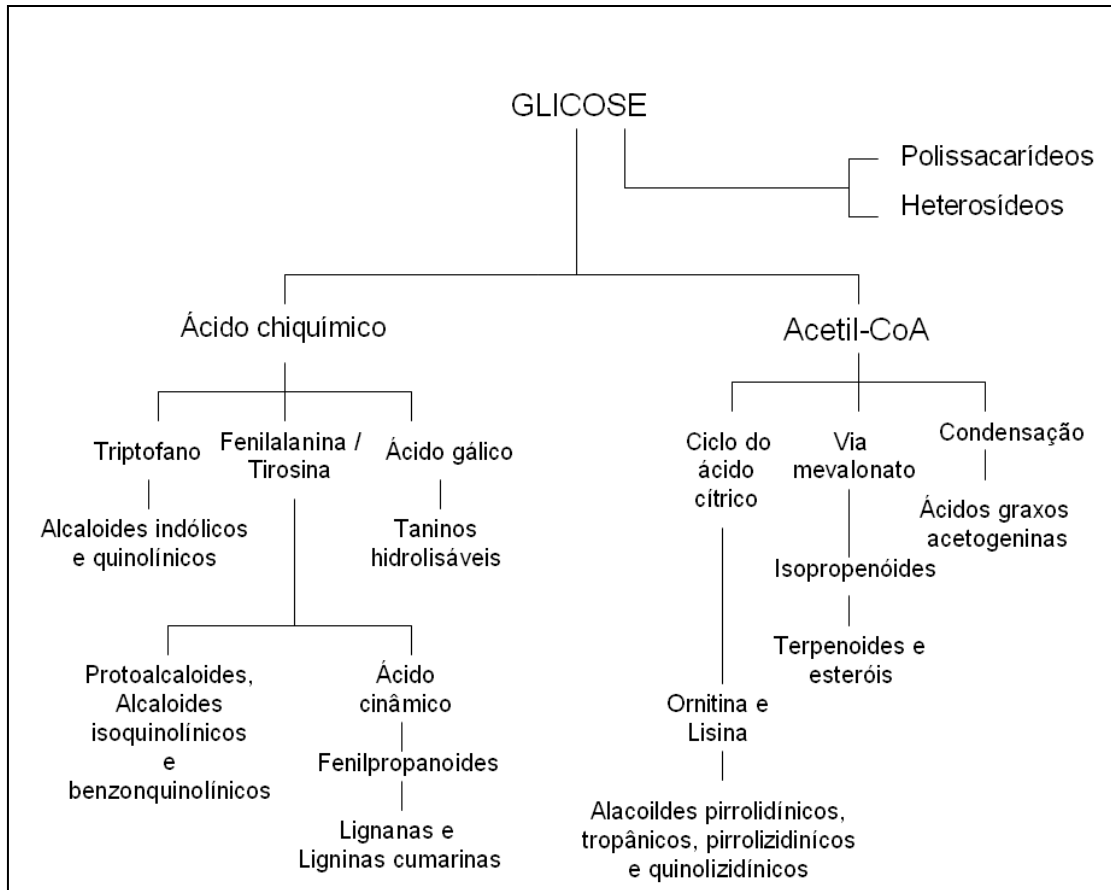


Figura 2- Biossíntese dos metabólitos secundários  
Fonte- Simões, 2004.

A presença e quantidade dos metabólitos secundários são influenciadas pela carga e expressão genética, pelos processos bioquímicos e fisiológicos das plantas, além da influência ambiental (DARROW; BOWERS, 1997). Variações temporais e espaciais no conteúdo total de metabólitos secundários assim como as proporções relativas destes ocorrem em diferentes níveis sazonais, diários, inter e intraespecífica. Muitas vezes, as variações podem ser decorrentes do desenvolvimento foliar e/ou surgimento de novos órgãos concomitante a uma constância no conteúdo total de metabólitos, levando a uma menor concentração destas substâncias por diluição (LINDROTH et al., 1987; SPRING; BIENERT, 1987; HARTMANN, 1996; HENDRIKS et al., 1997).

Um dos fatores de maior importância sobre o conteúdo de metabólitos secundários é a época em que a planta é coletada, podendo variar a quantidade e até a natureza destes

constituintes. As folhas de *Digitalis obscura* apresentam baixa concentração de cardenolídeos na primavera e um acúmulo no verão, passando por um decréscimo durante o inverno (ROCA-PÉREZ et al., 2004). No inverno, o ruibarbo não contém antraquinonas, as quais começam a se formar com a chegada do calor, a partir da oxidação dos antranóis (EVANS, 1996).

A composição de metabólitos pode variar também durante o ciclo dia/noite, principalmente no caso dos óleos voláteis. O óleo essencial do *Ocimum gratissimum* apresenta uma variação de mais de 80% em eugenol se coletado ao meio-dia ou no final da tarde (SILVA et al., 1999). A idade e o desenvolvimento da planta, assim como os diferentes órgãos podem alterar a quantidade e as proporções relativas dos componentes. As folhas de *Gentiana lutea* são ricas em C-glicosídeos na fase da floração, enquanto os O-glicosídeos estão mais acumulados antes do desenvolvimento das flores (BOWERS; STAMP, 1993; EVANS, 1996; JENKS et al., 1996; MENKOVIC et al., 2000; HENDRIKS et al., 1997)

Apesar de o calor intenso levar a uma perda excessiva de óleos voláteis, a formação destes encontra-se normalmente aumentada em temperaturas mais elevadas. A faixa em que ocorrem variações na temperatura é um dos fatores que exerce maior influência no desenvolvimento das plantas, afetando assim, a produção de metabólitos secundários. As folhas de tabaco (*Nicotiana tabacum*) elevam em até cinco vezes o conteúdo de ácido clorogênico e seus isômeros após baixas temperaturas (KOEPPPE et al., 1970; EVANS, 1996).

Frequentemente, o estresse hídrico acarreta em consequências significantes nas concentrações dos metabólitos secundários, sendo que esta situação geralmente leva a um aumento na produção de vários destes metabólitos, como os glicosídeos cianogênicos, glucosinolatos, terpenoides, antocianinas e alcaloides. Já em relação aos compostos fenólicos, não é possível estabelecer uma correlação entre as suas concentrações e o estresse hídrico (DUSTIN; COOPER-DRIVER, 1992; HÖFT et al., 1996; JUNG, 2004).

Em relação à radiação UV, há uma correlação bem estabelecida entre a intensidade da radiação e a produção de compostos fenólicos, tais como flavonoides, taninos e antocianinas. Estes metabólitos têm a capacidade de absorver ou dissipar a energia solar, dificultando a danificação dos tecidos pela radiação UV-B, proteção que é devido à capacidade antioxidante destas substâncias. Os flavonoides acumulam-se principalmente em tecidos superficiais, absorvendo a radiação UV-B sem comprometer a fotossíntese. A intensidade da luz também é um fator que influencia a concentração como de terpenoides, glicosídeos cianogênicos e alcaloides (CALDWELL et al., 1993; HIRATA et al., 1993; WATERMAN; MOLE, 1994; ALENIUS et al., 1995; LARSON, 1995; CUADRA et al., 1997; MARKHAM et al., 1998;

GRACE; LOGAN, 2000; BIEZA; LOIS, 2001; BURNS et al., 2001; JEONG et al., 2004; TATTINI et al., 2004). A exposição solar da *Atropa belladonna* leva a um aumento nos níveis de alcaloides, ao contrário dos alcaloides de *Tabernaemontana pachysiphon*, que diminuem sob a exposição ao sol. As folhas de hortelã mantidas sob dia longo apresentam somente traços de mentofurano, enquanto que as mantidas sob dia curto o apresentam como componente majoritário do óleo essencial (YAMAURA et al., 1989; VOIRIN et al., 1990; EVANS, 1996; IOANNIDIS et al., 2002).

A adição de nutrientes, particularmente nitrogênio, aumenta a produção de biomassa, afetando tanto o metabolismo primário quanto o secundário. A produção de metabólitos nitrogenados é aumentada pela maior disponibilidade de nitrogênio no solo, mas o aumento da biomassa pode levar a uma menor concentração destes metabólitos nos tecidos. Solos pobres em nutrientes geralmente apresentam uma proporção maior de derivados fenólicos e menor de derivados nitrogenados, já que síntese destes depende da disponibilidade de nitrogênio (EVANS, 1996; WATERMAN; MOLE, 1994).

A relação entre altitude e metabólitos é positiva na síntese de flavonoides, podendo ser explicada por quanto maior a altitude, maior é a exposição à radiação UV. O gênero *Leontodon* coletado em altitude mais elevado apresentou maior conteúdo flavonoídico (VEIT et al., 1996; BACHEREAU et al., 1998; ZIDORN; STUPPNER, 2001).

A poluição atmosférica também pode afetar o metabolismo de algumas substâncias, assim como fatores mecânicos aos quais as plantas estão susceptíveis. Danos causados a planta, ou ataque de herbívoros levam a um aumento na produção de metabólitos secundários com intuito de defesa (REYMOND et al, 2000; ZHENG; WU, 2004).

Nas últimas décadas, o interesse pelos compostos fenólicos vem aumentando devido suas estruturas e ações protetoras nas plantas, principalmente ação antioxidante contra as espécies reativas de oxigênio. Os compostos fenólicos são um dos maiores grupos de metabólitos secundários, divididos de acordo com o número de anéis fenóis e os outros elementos de suas estruturas (PROESTOS et al., 2005).

O nome polifenóis vem da nomenclatura poli que significa muitos e de fenol, o qual é constituído por um anel aromático ligado a uma hidroxila (-OH). A estrutura de um polifenol deve apresentar mais de um anel aromático, tendo cada um, pelo menos uma hidroxila ligada (Figura 3).

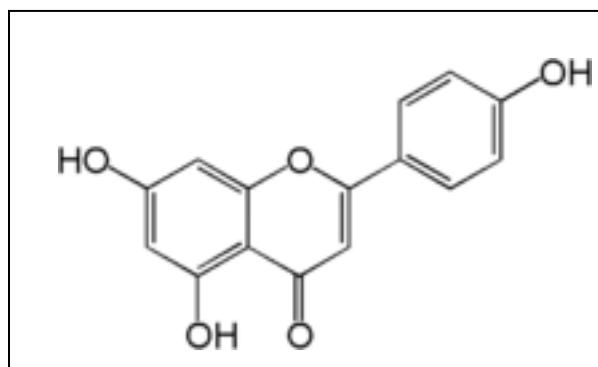


Figura 3- Estrutura básica dos polifenóis.  
Fonte- Simões, 2004.

Nas plantas, os polifenóis agem, principalmente, na proteção contra raios UV e ataques de micro-organismos e herbívoros, tendo um importante papel no crescimento e reprodução das plantas (IGNAT, 2011). Nos animais apresentam uma vasta gama de propriedades farmacológicas como antialérgica, antiaterogênica, anti-inflamatória, antiviral, antifúngica, antitrombótica, cardioprotetora e vasodilatadora (BALASUNDRAM et al., 2006).

Os polifenóis têm despertado a atenção dos pesquisadores devido a suas ações antioxidantes, antiateroscleróticas, hipoglicemiantes e anticancerígenas (WANG et al., 2000; HAVSTENN, 2002; NEGRI, 2005; PEREIRA; ABDALLA, 2006; MACHADO et al., 2008).

Evidências epidemiológicas crescentes sugerem que quanto mais se consome alimentos ou bebidas ricas em polifenóis menor é a incidência de doenças cardiovasculares (REIN et al., 2000). Estudos sugerem que o consumo de *Camellia sinensis* está associado à redução do risco de eventos cardiovasculares, mas os mecanismos do benefício ainda permanecem indefinidos (YAMADA; WATANABE, 2007). Diabetes induzido por aloxano e subsequente elevação de açúcar sanguíneo foram modificados pela administração de polifenóis de chá-verde (*Camellia sinensis*). Os polifenóis podem inibir a agregação plaquetária por diferentes mecanismos, incluindo inibição da lipoxigenase, ciclooxigenase e AMPc (LANDOLFI et al., 1984; LAUGHTON et al., 1991).

### 2.3.1 Flavonoides

Os flavonoides são amplamente distribuídos no reino vegetal e representam um dos grupos fenólicos mais importantes e diversificados (SIMÕES, 2004). Barnes e colaboradores (2001) indicaram, como principais fontes deste grupo, frutos como uvas, cerejas, maçã, groselhas, frutas cítricas e hortaliças, tais como pimenta, tomate, espinafre, cebola e brócolis. A estrutura fundamental é composta por 15 átomos de carbono, dispostos em C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>, sendo



dois anéis fenólicos e um pirano. A biossíntese dos flavonoides ocorre pela combinação das rotas do chiquimato e acetato (Di CARLO et al., 1999; LEITE, 2009). De acordo com Leite (2009), são frequentemente encontrados no meio metabólico na forma de heterosídeos, mas também aparecem na forma livre, sendo esta a melhor forma de absorção no organismo.

As subclasses dos flavonoides são diferenciadas a partir de modificações no anel central, e a diversidade estrutural pode ser atribuída ao nível de oxidação e às variações do esqueleto básico (TAHARA, 2007). A figura 4 mostra as subclasses dos flavonoides.

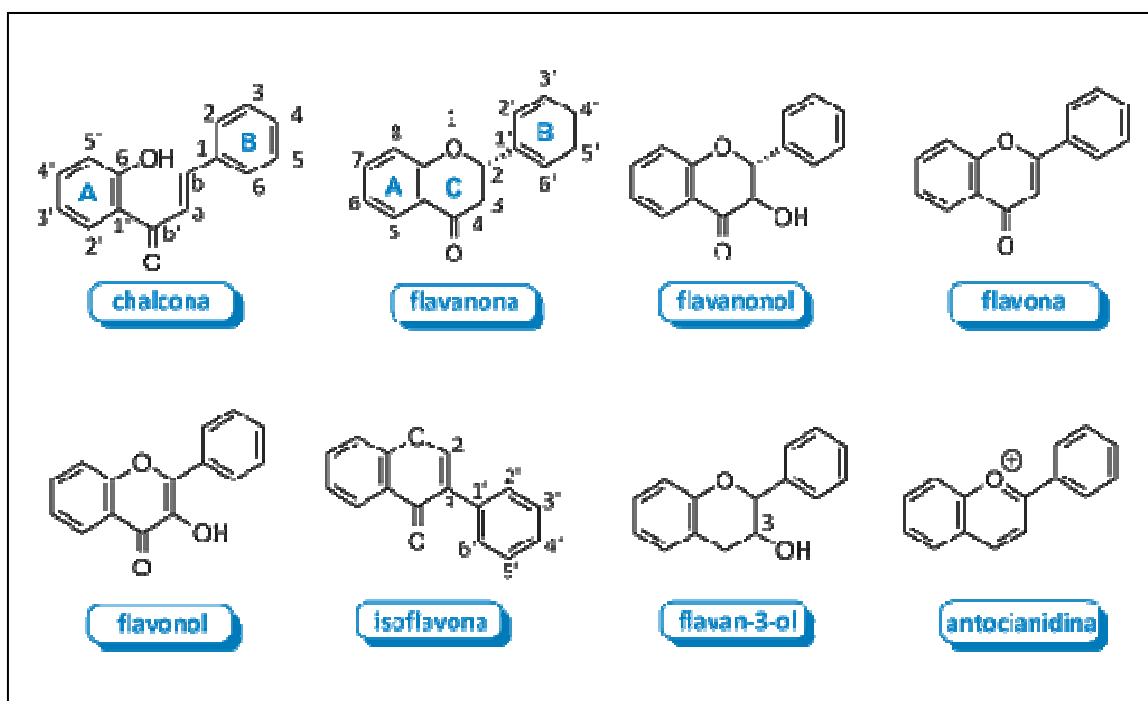


Figura 4- Sub-classes dos flavonoides

Fonte: Coutinho, et al., 2009.

Os flavonoides mais importantes são: quercetina, campferol, miricetina e crisina. A quercetina é encontrada principalmente nas frutas (cereja, amora, uva, morango, jabuticaba), grãos, batata, berinjela, feijão marrom e cebola. O campferol está presente no rabanete, couve, escarola e nabo. A quantidade de flavonoides presente nas bebidas é alta e a miricetina é o mais importante, encontrado principalmente em vinhos e suco de uva (STEINBERG et al., 2000). Aos flavonoides são atribuídas inúmeras atividades biológicas, entre elas atividade antimicrobiana, anti-inflamatória, anticarcinogênica e hipoglicemiante. A propriedade vasodilatadora é muito útil no tratamento de doenças cardiovasculares e a ação antioxidante, uma das principais características dos flavonoides, desempenha função protetora e no tratamento de doenças degenerativas (LOPEZ-REVUELTA et al., 2006).

O óxido nítrico é potente inibidor da adesão e agregação plaquetária e trombose e os flavonoides são capazes de aumentar a sua produção pelo endotélio, ação útil no tratamento de doenças vasculares, como a trombose (FREEDMAN et al., 1998).

Oliveira e colaboradores (2002) observaram que a administração do flavonoide antocianina e da própolis, rica em flavonoides e compostos fenólicos reduziram os níveis de glicose e triglicerídeos em coelhos diabéticos.

Kamalakkannan e Prince (2003) constataram que ratos com diabetes induzido por estreptozotocina (STZ) tiveram concentrações séricas de glicose reduzidas quando tratados com rutina em diferentes doses, além de aumentar os níveis de insulina, de peptídeo-C e proteger os animais com diabetes induzido da peroxidação lipídica.

Menezes e colaboradores (2007) isolaram os flavonoides quercetina-3,7-*O*-dirhamnosido e kaempferol-3,7-*O*-dirhamnosido do extrato aquoso de *Bauhinia forficata* L. e apenas o derivado da quercitina do extrato de *Bauhinia monandra*, e confirmaram a atividade hipoglicemiante destes extratos em camundongos normoglicêmicos.

Pinheiro e Aragão (2011) atribuem ao composto fenólico ácido clorogênico e aos flavonoides orientina e a isoorientina a ação hipoglicemiante do extrato metanólico de *Cecropia pachystachya* em ratos com diabetes induzido por aloxano.

Pereira (2012) comprovou a atividade anti-inflamatória das folhas de *Morus Alba*, das quais já foram isolados flavonoides como quercitina e rutina (KIM et al., 1999).

Estudos vêm demonstrando a ação a apigenina no combate ao câncer, como o efeito antiproliferativo de células no câncer de próstata (GUPTA et al., 2001), e em células cancerígenas gástricas (WU et al., 2005). Markaverich e colaboradores (1988) e Singhal e colaboradores (1995) relataram a inibição do crescimento de células em tumores pela quercitina.

### 2.3.2 Taninos

Os taninos não são definidos pela sua composição química, que é demasiadamente variável, mas por um conjunto de propriedades devidas, em grande parte, às hidroxilas fenólicas presentes em suas moléculas (COSTA, 1982). Os mesmos possuem a capacidade de formar complexos insolúveis com proteínas e são responsáveis pela adstringência de muitos frutos e produtos vegetais, por precipitarem proteínas salivares (BRUNETON, 1991). Historicamente, os taninos são importantes pela capacidade de transformar a pele de animais em couro.

São divididos em dois grupos: taninos hidrolisáveis, que consistem em ésteres de ácido gálico facilmente hidrolisáveis e provenientes da rota do chiquimato. Estes taninos são menos comumente encontrados se comparados aos taninos condensados (HELDT, 1996; LEITE, 2009). Os taninos condensados ou proantocianidinas são de origem flavonoídica, e são assim denominados por não sofrerem hidrólise a apresentarem pigmentos avermelhados da classe das antocianidinas. Apresentam como unidade estrutural fundamental o núcleo flavan-3-ol, a catequina (Figura 5) (LEITE, 2009). São responsáveis pelas características normalmente atribuídas a estas substâncias, como adstringência e precipitação de proteínas. A ocorrência destes compostos é comum em angiospermas e gimnospermas, principalmente em plantas lenhosas (HASLAM, 1989; LEITE, 2009; MELLO; SANTOS, 2001).

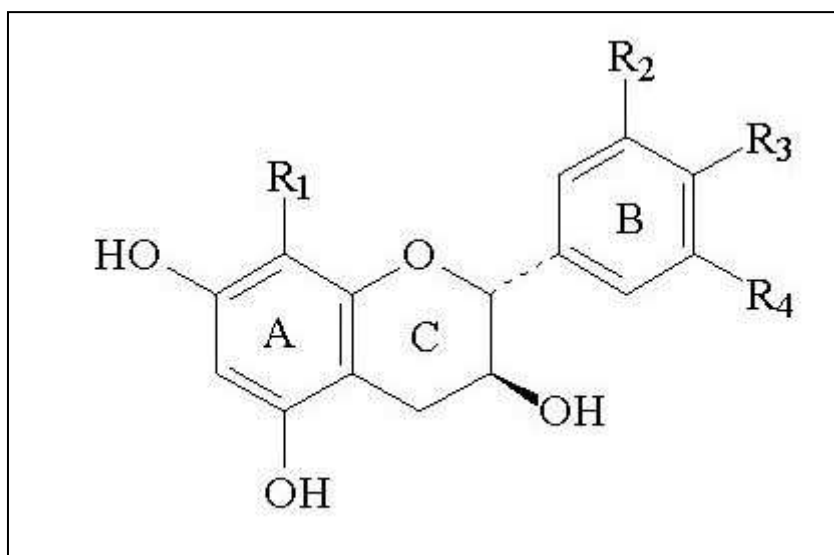


Figura 5- Flavan-3-ol  
Fonte- Simões, 2004

Apresentam função protetora nas plantas contra herbívoros e microrganismos patogênicos, e ainda função fotoprotetora, devido as suas hidroxilas livres. Plantas ricas em taninos são diversamente utilizadas na medicina tradicional. Exercem efeito antidiarreico e antiséptico, no tratamento de hemorragias, feridas, queimaduras, problemas estomacais e processos inflamatórios em geral. Os possíveis modos de ação dos taninos são relacionados a três propriedades: complexação com íons metálicos, atividade antioxidante e sequestradora de radicais livres e a capacidade de complexarem-se com proteínas (COSTA, 1992; MELLO; SANTOS, 2001). Costa (1992) relata que os taninos são importantes antídotos nos envenenamentos por via oral, com alcaloides e sais metálicos tóxicos.

Chung e colaboradores (1998) sugerem que os taninos beneficiam a saúde devido suas propriedades anticarcinogênicas e antimicrobianas. Kiluskie e colaboradores (1992) concluíram que os taninos possuem atividade anti-HIV por inibirem a transcriptase reversa, dificultando a replicação viral.

De acordo com Khan e Mukhtar (2007), os principais constituintes do chá-verde ou chá-preto (*Camellia sinensis*) são epicatequina, epigallocatequina e epigallocatequina galato, derivados da catequina, e suas propriedades podem auxiliar no tratamento de doenças cardiovasculares, diabetes e câncer.

Polychronopoulos e colaboradores (2008) observaram que o chá preto reduziu os níveis de glicose em pacientes não obesos. A administração de chá preto em ratos diminuiu a elevação da glicose sanguínea e também promoveu a redução de peso (SHOJI; NAKASHIMA, 2006). Bursill e colaboradores (2007) relataram eficiência do extrato do chá-verde na redução da glicose sanguínea e do colesterol em coelhos. Os efeitos protetores tanto do chá preto e quanto do verde sobre a oxidação de lipoproteínas podem contribuir para a prevenção da aterosclerose (KIM; MOON, 2005, YEOMANS et al., 2005; THOMAS et al., 2008). Todos os polifenóis presentes no chá preto exibem uma significativa atividade antioxidante, o que permite sugerir que a prevenção de doenças crônicas, como o diabetes, pode ser devido à esta ação (POLYCHRONOPOULOS et al., 2008).

#### **2.4 Atividade antioxidante**

Radicais livres são moléculas orgânicas e inorgânicas ou átomos que contêm um ou mais elétrons não pareados. São moléculas altamente instáveis, com meia-vida curtíssima e muito reativa quimicamente. Alguns exemplos destes radicais são:  $^1\text{O}_2$ ,  $\text{O}_2^-$ ,  $\text{OH}^\cdot$ ,  $\text{NO}^\cdot$ ,  $\text{ONOO}^-$ ,  $\text{Q}^\cdot$  (HALLIWELL, 1994).

A formação dos radicais livres pode acontecer no citoplasma, nas mitocôndrias ou nas membranas. (YU; ANDERSON, 1997). O processo de formação *in vivo* ocorre via ação catalítica de enzimas, durante os processos de transferência de elétrons que ocorrem no metabolismo celular e pela exposição a fatores exógenos (CERUTTI, 1994). Os processos endógenos que provocam a formação destes radicais são a respiração celular, inflamações, peroxissomos e citocromo P450. Os fatores exógenos que aumentam o risco de formação dos radicais livres são poluentes do ar, radiações gama e UV, medicamentos, dieta rica em ácidos gordos e poli-insaturados e cigarro (BIANCHI; ANTUNES, 1999; PIETTA, 2000; SORG, 2004).

A concentração dos radicais pode aumentar devido à maior geração intracelular ou pela deficiência de mecanismos antioxidantes. O próprio organismo é capaz de combater as consequências habituais causadas pelos radicais livres, porém, há situações em que estes mecanismos de defesa não são suficientes para prevenir e reparar os danos causados por estas reações indesejáveis. O desequilíbrio entre a formação de moléculas oxidantes e antioxidantes pode ocasionar um acúmulo dos produtos destas reações que resultará em danos celulares, que é chamado de estresse oxidativo (SIES, 1993; SORG, 2004). A ocorrência de um estresse oxidativo moderado, frequentemente é acompanhada do aumento das defesas antioxidantes enzimáticas, mas a produção de uma grande quantidade de radicais livres pode causar danos e morte celular (ANDERSON, 1996).

Alguns destes efeitos em sistemas biológicos incluem a peroxidação de membranas lipídicas, dano oxidativo de ácidos nucleicos, carboidratos e oxidação de grupos sulfídrilas nas proteínas. Os danos oxidativos induzidos nas células e tecidos têm sido relacionados com a etiologia de várias doenças, incluindo doenças degenerativas tais como as cardiopatias e aterosclerose, diabetes, problemas pulmonares (HALLIWELL, 1994; SIES, 1993). Influenciam também a formação de espécies que danificam o DNA e desempenham um papel importante nos processos de mutagênese e carcinogênese (POULSEN et al., 1998).

Para superar estes problemas, há uma vasta gama de compostos antioxidantes. Estas substâncias eliminam radicais livres reduzindo o nível de estresse oxidativo, inibindo e reduzindo as lesões causadas pelos radicais livres nas células, e, conseqüentemente, prevenindo as inúmeras doenças relacionadas ao estresse oxidativo (SIES, 1993; WU; HANSEN, 2008). Para que uma substância seja considerada antioxidante, ela deve estar presente em baixa concentração quando comparada a do extrato oxidável, atrasando ou inibindo a oxidação deste substrato de maneira eficaz. Estas substâncias podem ter origem endógena, que são as enzimas como a superóxido dismutase, catalase e glutatona peroxidase, ou origem exógena, que são as vitaminais, polifenóis e minerais (SIES; STAHL, 1995).

Bailey (1996) classificou os antioxidantes em primários, sinérgicos, removedores de oxigênio, biológicos, agentes quelantes e antioxidantes mistos. Os antioxidantes primários são compostos fenólicos que promovem a remoção ou inativação dos radicais livres formados durante a iniciação ou propagação da reação, através da doação de átomos de hidrogênio a estas moléculas, interrompendo a reação em cadeia (SIMIC; JAVANOVIC, 1994).

O átomo de hidrogênio ativo do antioxidante é captado pelos radicais livres  $R^\bullet$  e  $ROO^\bullet$  formando-se espécies inativas para a reação em cadeia e um radical inerte ( $A^\bullet$ ) procedente do

antioxidante (Figura 6). Este radical, estabilizado por ressonância, não tem a capacidade de iniciar ou propagar as reações oxidativas (FRANKEL, 1980).

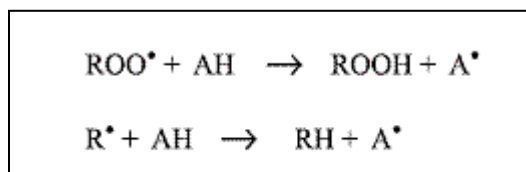


Figura 6- Mecanismo de ação dos antioxidantes primários.  
Fonte- Ramalho; Jorge, 2006

Os principais antioxidantes e mais conhecidos deste grupo são os polifenóis, como butil-hidroxi-anisol (BHA), butil-hidroxi-tolueno (BHT), terc-butil-hidroquinona (TBHQ) e propil galato (PG), que são sintéticos (Figura 7), e tocoferóis (Figura 8), que são naturais. De acordo com Namiki (1990) e Bailey (1996) são classificados como antioxidantes biológicos.

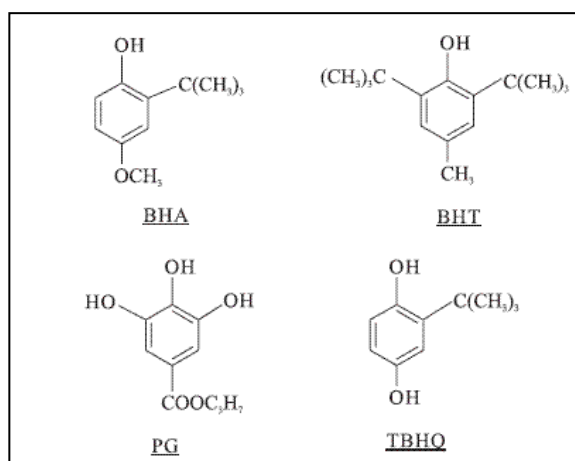


Figura 7- Antioxidantes sintéticos.  
Fonte- Ramalho; Jorge, 2006.

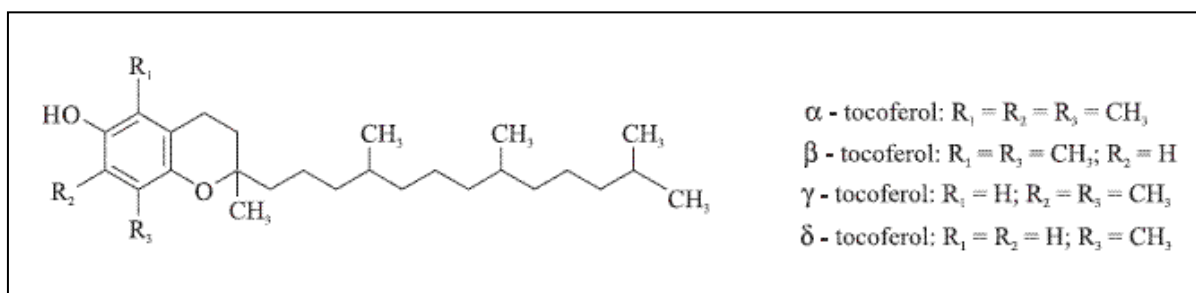


Figura 8- Molécula de tocoferol e seus principais substituintes.  
Fonte- Ramalho; Jorge, 2006.

As substâncias sinergistas possuem pouca ou nenhuma atividade antioxidante, mas podem aumentar a atividade dos antioxidantes primários quando usados em combinação adequada a estes. Alguns antioxidantes primários quando usados em combinação podem atuar sinergisticamente (BAILEY, 1996).

Os removedores de oxigênio são compostos que atuam capturando o oxigênio presente no meio, através de reações químicas estáveis tornando-os, conseqüentemente, indisponíveis para atuarem como propagadores da auto-oxidação. Ácido ascórbico, seus isômeros e seus derivados são os melhores exemplos deste grupo. O ácido ascórbico pode atuar também como sinergista na regeneração de antioxidantes primários (BELITZ; GROSCH, 1998, BAILEY, 1996).

Os antioxidantes biológicos incluem várias enzimas, como glucose oxidase, superóxido dismutase e catalases. Estas substâncias podem remover oxigênio ou compostos altamente reativos de um sistema alimentício (BAILEY, 1996, KEHRER; SMITH, 1992).

Os agentes quelantes/sequestrantes complexam íons metálicos, principalmente cobre e ferro, que catalisam a oxidação lipídica. Um par de elétrons não compartilhado na sua estrutura molecular promove a ação de complexação. Os mais comuns são ácido cítrico e seus sais, fosfatos e sais de ácido etileno diamino tetra acético (EDTA) (LABUZA, 1971; BAILEY, 1996).

Os antioxidantes mistos incluem compostos de plantas e animais que têm sido amplamente estudados como antioxidantes. Entre eles estão várias proteínas hidrolisadas, flavonoides e derivados de ácido cinâmico (Figura 9) (BAILEY, 1996).

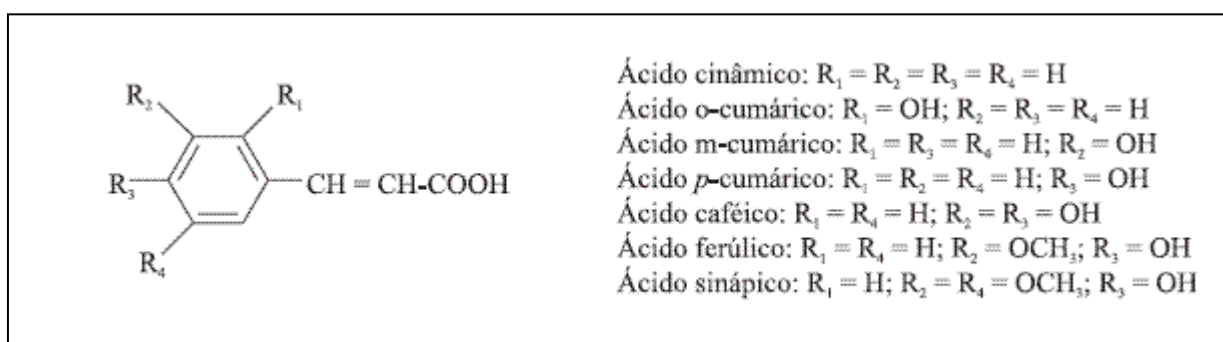


Figura 9- Estrutura química do ácido cinâmico e seus principais substituintes.  
Fonte- Ramalho; Jorge, 2006

O reparo das lesões causadas pelos radicais livres também é um mecanismo antioxidante, removendo os danos das moléculas de DNA e reconstruindo as membranas celulares. Em outras situações há a adaptação do organismo, com o aumento das enzimas antioxidantes (BIANCCHI; ANTUNES, 1999).

Os antioxidantes sintéticos, usados na conservação de alimentos, produtos farmacêuticos e cosméticos apresentam efeitos secundários que podem causar danos no fígado, além de serem suspeitos de causarem mutagenicidade e neurotoxicidade. (PIETTA, 2000; SORG, 2004; GÖKTÜRK et al., 2007).

A fim de evitar estes problemas, extratos de plantas e seus metabólitos derivados estão sendo alvos de estudos, pois podem proporcionar antioxidantes naturais e de baixo custo que podem substituir antioxidantes sintéticos (PROESTOS et al., 2005; GÖKTÜRK et al., 2007; KEYVAN DASTMALCHI et al., 2008). Numerosos estudos clínicos e epidemiológicos associam o consumo de frutas e vegetais com a redução dos riscos de desenvolvimento de doenças crônicas como o câncer, doenças cardiovasculares e diabetes, e a população já vem percebendo que uma dieta contendo antioxidantes naturais é mais segura que com seus análogos sintéticos (KEYVAN DASTMALCHI et al., 2008).

Dentre as diversas classes de metabólitos secundários que apresentam atividade antioxidante, os compostos fenólicos têm recebido uma atenção maior, sobretudo por inibirem a peroxidação lipídica e a lipooxigenase *in vitro* (SOARES, 2001). A atividade antioxidante dos fenóis se deve principalmente a sua estrutura química. Desenvolvem uma atividade redutora devido as suas hidroxilas que doam elétrons aos radicais livres, neutralizando ou sequestrando-os e ainda na quelação de metais de transição. Os intermediários formados nestes processos são relativamente estáveis, devido à ressonância do anel aromático presente na estrutura destas substâncias (SOARES, 2001; CHUM, 2005). Nos flavonoides, a atividade antioxidante é ainda mais expressiva devido às hidroxilas em C<sub>4</sub> e C<sub>3</sub> do anel B, tendo o restante da estrutura base uma pequena influência. A miricitina e a quercitina são os flavonoides que apresentam caráter antioxidante mais efetivo (Figura 10) (SILVA et al., 2002; URSO; CLARKSON, 2003).

A atividade antioxidante de extratos vegetais pode ser avaliada pelos métodos  $\beta$ -caroteno-linolenato e DPPH. O método do  $\beta$ -caroteno-linolenato avalia a atividade de inibição de radicais livres gerados durante a peroxidação do ácido linoléico. O método está fundamentado em medidas espectrofotométricas da descoloração (oxidação) do  $\beta$ -caroteno induzida pelos produtos de degradação oxidativa do ácido linoléico (MILLER, 1971).



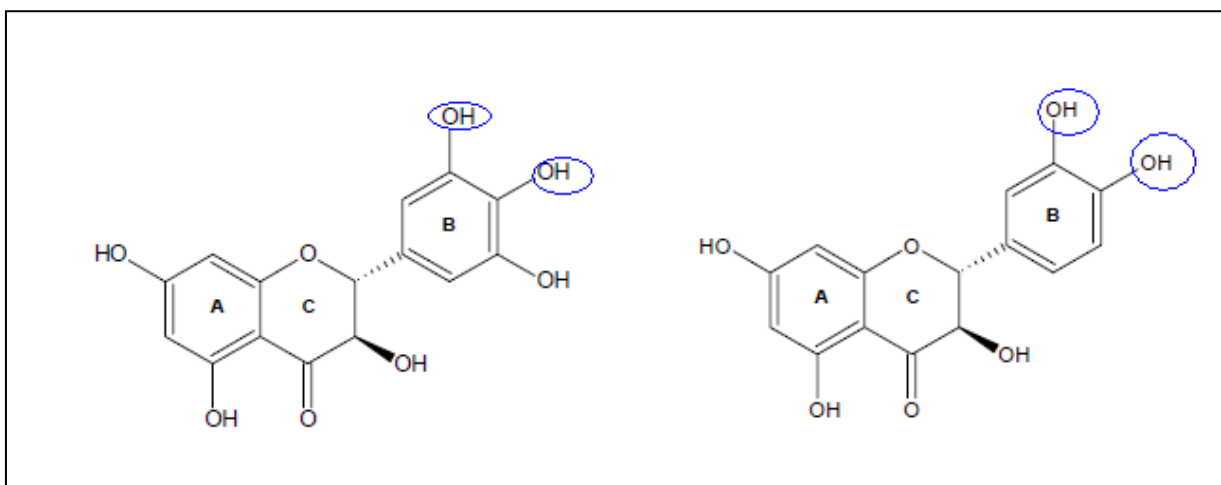


Figura 10- Estruturas da miricetina e quercetina.  
Fonte- Simões, 2004.

O DPPH é um cromóforo muito estável de coloração violeta. À medida que o DPPH sofre redução pelos componentes presentes na solução, observa-se mudança da sua coloração para amarela, proporcional à concentração da substância com atividade antioxidante, em conformidade com a Lei de Lambert e Beer e medida espectrometricamente a 517 nm (BLOIS, 1958).

Zainol e colaboradores (2003) avaliaram a atividade antioxidante dos extratos de quatro espécies de *Centella asiática* e os resultados mostraram que a folha e a raiz da centela apresentaram tanta atividade antioxidante quanto à do  $\alpha$ -tocoferol. Os resultados também sugeriram que os compostos fenólicos são os principais contribuintes para a atividade antioxidante.

*Melissa officinalis* apresentou atividade antioxidante frente a radicais livres naturais e sintéticos (KEYVAN DASTMALCHI et al., 2008). Vijayabaskar e Shiyamala (2012) atribuem ao alto conteúdo polifenólico a atividade antioxidante de *Turbinaria ornate*.

As atividades antioxidantes *Allium vineale* e de três flavonoides isolados desta espécie foram avaliadas e comprovadas por Demirtas e colaboradores (2013), que sugerem um possível sinergismo entre os compostos analisados.

## 2.5 Atividade antimicrobiana

As plantas medicinais são conhecidas por produzirem moléculas bioativas que reagem com outros organismos no ambiente inibindo crescimento bacteriano e fúngico, desenvolvendo a chamada atividade antimicrobiana (SENGUL et al., 2009). As substâncias

que inibem patógenos e têm baixa toxicidade às células hospedeiras são promissoras para o desenvolvimento de novas drogas antimicrobianas (PAREKH; CHANDA, 2007).

O desenvolvimento de patógenos resistentes a múltiplas drogas expõe um desafio global à medicina. Além disso, há uma necessidade contínua em desenvolver novos agentes antimicrobianos para minimizar a ameaça de aumento da resistência antimicrobiana (JANOVSKÁ et al., 2003).

O interesse em plantas com propriedades antimicrobianas tem sido revisto devido problemas circulantes associados ao uso de antibióticos, como a resistência que os micro-organismos vem desenvolvendo às drogas e a efeitos secundários indesejados de certos antibióticos (TEKE et al., 2011).

Extratos de plantas têm sido de grande interesse no tratamento de diversas doenças infecciosas e na preservação de alimentos dos efeitos tóxicos dos oxidantes. A atividade antimicrobiana de extratos forma a base de muitas aplicações, incluindo a preservação de alimentos crus e processados, medicamentos alternativos, terapias naturais e produtos farmacêuticos (REYNOLDS, 1996; LIS-BALCHIN; DEANS, 1997).

Compostos sintetizados pelo metabolismo secundário de espécies vegetais são responsáveis pela atividade antimicrobiana destas. Atribui-se a compostos fenólicos a capacidade de inibir o crescimento ou provocar a morte de micro-organismos (HAVSTEEM, 2002). Segundo Scalbert (1991), os taninos condensados são os componentes que possuem maior toxicidade em relação aos micro-organismos. De acordo com Simões (2004), existem três hipóteses para o mecanismo de ação antimicrobiana dos taninos. A primeira consiste na inibição das enzimas dos micro-organismos e/ou a complexação dos substratos destas enzimas. A segunda seria sobre a capacidade de os taninos agirem sobre as membranas celulares e modificarem seus metabolismos. A terceira hipótese menciona a complexação dos taninos com íons metálicos, diminuindo a disponibilidade destes elementos para o metabolismo dos micro-organismos.

Walsh e colaboradores (2003) observaram o extravasamento dos constituintes celulares pela membrana quando avaliaram a atividade antimicrobiana do eugenol e timol, concluindo que o sítio de ação destas substâncias é a membrana citoplasmática.

De acordo com Rios e colaboradores (1988), os principais métodos para avaliação da atividade antimicrobiana são ensaios bioautográficos, de difusão e de diluição.

Nos ensaios bioautográficos, os compostos dos extratos ou frações analisados são separados por Cromatografia em Camada Delgada (CCD) e a cromatoplaça é colocada em placas de Petri com meio de cultura inoculado com o micro-organismo teste. Zonas de

inibição de crescimento microbiano caracterizam a presença de substâncias ativas. Esse método permite a localização destes constituintes, tendo importância relevante na pesquisa de compostos antimicrobianos em vegetais (RIOS et al., 1988; BRANDÃO, 2004).

No método da difusão em Ágar a substância a ser analisada é colocada e um meio de cultura sólido inoculado com um micro-organismo. O aparecimento de um halo indica que não há crescimento microbiano, confirmando a atividade da substância analisada. O pequeno volume de amostra necessário e a possibilidade de se testar vários compostos em uma mesma placa, são vantagens do método de difusão em Ágar (VANDEN BERGHE; VLIETINCK, 1991). Dentre os métodos de difusão, o mais adequado para se trabalhar com extratos vegetais extraídos com solventes orgânicos é o que utiliza o disco, pois é possível evaporar o solvente antes da sua colocação no meio de cultura (RIOS et al., 1988).

Os métodos de diluição são aqueles em que os extratos ou substâncias a serem testadas são adicionados a meios de cultura líquidos ou sólidos, previamente inoculados com o microrganismo teste e incubados. Após a incubação, o crescimento do microrganismo é comparado com o controle negativo. O método de diluição em meio líquido é o recomendado para a determinação da CIM (VANDEN BERGHE; VLIETINCK, 1991).

A CIM é a menor concentração capaz de inibir o crescimento de um organismo e é considerada uma excelente ferramenta para determinar a suscetibilidade dos organismos aos antimicrobianos, e o método de diluição em caldo é aceitável para medir quantitativamente a atividade *in vitro* de um agente antimicrobiano frente a um determinado isolado bacteriano (ANDREWS, 2001).

Não existe um consenso sobre o nível aceitável para extratos de materiais vegetais quando comparados com antibióticos padrões. Holetz e colaboradores (2002) sugerem os seguintes critérios quando se avalia o extrato bruto de vegetais (Figura 11). Considera-se que extratos vegetais que apresentam atividade antimicrobiana em concentrações acima de 500 mg/mL são de difícil aproveitamento farmacêutico no tratamento de infecções bacterianas ou fúngicas.

<i>CIM</i>	<i>RESULTADO</i>
< 100 µg/mL	Boa atividade antimicrobiana
100 – 500 µg/mL	Moderada atividade antimicrobiana
500 – 1000 µg/mL	Fraca atividade antimicrobiana
> 1000 µg/mL	Inativo

Figura 11- Critérios para aceitação da atividade antimicrobiana de extratos brutos de plantas.

Fonte- Holetz, 2002.

A espécie *Bauhinia splendens*, utilizada no Brasil como um agente anti-infeccioso, mostrou-se ativa contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas (CECHINEL et al., 1995). Grange e Davey (1990) e Cushnie e Lamb (2005) mencionaram a forte ligação entre a concentração de flavonoides e a atividade antimicrobiana que os extratos da própolis apresentam.

O alecrim, *Rosmarinus officinalis*, apresentou atividade antimicrobiana frente a bactérias orais formadoras do biofilme dental (SILVA et al., 2008). O extrato de semente de uva, rico em taninos apresentou alta atividade antibacteriana *in vitro* contra cepas de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, baixa atividade contra cepas de *Salmonella* sp e atividade antioxidante comparável ao ácido ascórbico (ROTAVA et al., 2009).

## 2.6 Atividade hipoglicemiante

O diabetes mellitus é uma doença conhecida há mais de 2500 anos e que afeta em torno de 50 milhões de pessoas em todo o mundo, no Brasil, estima-se que esta doença atinge quase 12 milhões de indivíduos. Tanto países desenvolvidos quanto os em desenvolvimento são atingidos semelhantemente por esta doença, como os Estados Unidos que possui 2% da população atingida e a Índia, 1,9%. Estima-se que até 2025, 5,4% da população mundial seja afetada pela doença (KIM et al., 2006; ALONSO, 2008; SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2009). É um transtorno metabólico dos carboidratos, lipídeos e proteínas, caracterizado por apresentar altas concentrações de glicose no sangue e na urina. Isso decorre de um mau funcionamento do tecido pancreático responsável pela produção de insulina ou da incapacidade da insulina exercer adequadamente seus efeitos nos tecidos periféricos (ALONSO, 2008; SBD, 2009).

De acordo com Cade (2008), o diabetes causa uma vasta gama de complicações para a saúde, afetando quase todos os órgãos do corpo. Pode levar a complicações vasculares, oftalmológicas, renais, hepáticas e neurológicas. Nos indivíduos diabéticos, eleva-se em três vezes o índice de mortalidade, bem como as possibilidades de infarto do miocárdio, e em dez vezes de contrair cegueira ou gangrena, referentemente à população normal (ALONSO, 2008). Essas complicações são consequências de vários mecanismos fisiopatológicos, incluindo síndrome metabólica e estresse oxidativo. As características primárias da síndrome metabólica incluem perda de peso, hipertensão, anormalidade no colesterol e resistência à insulina (JOHNSON et al. 2009). O estresse oxidativo é atualmente o fator unificador no desenvolvimento das complicações do diabetes.

A OMS e a Associação Americana de Diabetes incluíram quatro classes clínicas na classificação do Diabetes: DM tipo 1, DM tipo 2, diabetes mellitus gestacional e outros tipos específicos (SBD, 2009).

- Diabetes tipo I ou insulino-dependente: trata-se dos casos em que o pâncreas não fabrica a quantidade de insulina adequada, resultado da destruição das células  $\beta$  por fatores genéticos, pancreatite aguda, auto-imunidade, etc. Estes casos são comumente diagnosticados na infância e juventude, constituindo 5 a 10% dos casos de diabetes. Requer aos pacientes a incorporação de insulina externa (ALONSO, 2008).
- Diabetes tipo II ou não insulino-dependente: caracteriza-se por defeitos na ação e na secreção da insulina. Em geral, ambos os defeitos estão presentes quando a hiperglicemia se manifesta, porém pode haver predomínio de um deles. É a forma mais comum da doença atingindo cerca de 90 a 95% dos casos. Os portadores do diabetes tipo II caracterizam-se como um grupo geneticamente heterogêneo que abrange predominantemente adultos acima dos 40 anos, mas ocasionalmente adolescentes e crianças. Sabe-se que o diabetes do tipo II possui um fator hereditário maior que aquele do tipo I. Além disso, há uma estreita relação com a obesidade e o sedentarismo. Estima-se que 60 a 90% dos portadores da doença sejam obesos. Os fármacos usados são a insulina e os hipoglicemiantes orais. (SILVA, 2002; SBD, 2006; NETO et al., 2009).

A Sociedade Brasileira de Diabetes (2009) define os agentes antidiabéticos orais como substâncias que têm a finalidade de baixar a glicemia e mantê-la normal. De acordo com o mecanismo de ação principal, podem ser divididos em agentes que aumentam a secreção pancreática de insulina (sulfonilureias e glinidas); os que reduzem a velocidade de absorção dos glicídios (inibidores da alfa-glicosidases); diminuidores da produção hepática de glicose

(biguanidas); e os que aumentam a utilização periférica da glicose (glitazonas). Entretanto, estas drogas sintéticas possuem eficácia limitada e podem apresentar efeitos secundários, e nem sempre são satisfatórias para manter ou evitar as complicações do estágio avançado do diabetes (MOLLER, 2001). Atualmente há um crescente interesse em fitoterápicos devido aos efeitos adversos associados aos agentes hipoglicemiantes sintéticos. Espera-se que plantas medicinais tenham um grau de eficácia similar aos tratamentos convencionais, porém sem os efeitos adversos (KIM, 2006).

Plantas medicinais têm sido longamente usadas para tratar pacientes diabéticos e continuam sendo aceitas como terapias alternativas. Há mais de mil plantas antidiabéticas descritas na literatura científica (MARLES; FARNSWORTH, 1995). A maioria das plantas que são utilizadas no tratamento do diabetes, ao serem farmacologicamente avaliadas, apresentam atividade hipoglicemiante e possuem constituintes químicos que podem ser utilizados como modelos para novos agentes no tratamento desta disfunção. A grande diversidade de classes químicas encontradas nos fitoterápicos utilizadas para o tratamento do diabetes, entre elas os triterpenoides, alcaloides, cumarinas e flavonoides, indicam que uma variedade de mecanismos de ação deve estar envolvida na redução do nível de glicose no sangue. Tais mecanismos podem ter ação pancreática, estimulando a produção e a liberação de insulina, mantendo a integridade ou restaurando as células  $\beta$ ; resistência aos hormônios que aumentam a taxa de glicose; aumento do número e da sensibilidade do sítio receptor de insulina; diminuição da perda de glicogênio; aumento do consumo de glicose nos tecidos e órgãos; eliminação de radicais livres; resistência à peroxidação de lipídeos; correção da desordem metabólica causada em lipídeos e proteínas e estímulo ao aumento da microcirculação do sangue no organismo. Podem atuar a nível intestinal reduzindo a absorção de glicose por ação principalmente das mucilagens. O que deve ser cuidado é que em alguns casos a hipoglicemia é um efeito colateral devido à sua toxicidade, especialmente a hepatotoxicidade (MARLES; FARNSWORTH, 1995; SAID et al., 2002; VOLPATO et al., 2002; HOU et al., 2003; NEGRI, 2005; ALONSO, 2008).

A *Catharanthus roseus*, conhecida como vinca, substituiu a insulina durante a 2ª Guerra Mundial na Indochina e nas Filipinas. Outros países como África do Sul, Vietnã, Austrália e Inglaterra também sofreram com a falta de insulina e recorreram à importação de chás elaborados com esta espécie. Quando o abastecimento de insulina foi normalizado, os médicos observaram que não houve maior morbidade durante o período de substituição. Sendo assim, existem hoje nos mercados asiático e europeu dois produtos patenteados, recomendados como alternativa à insulina (ALONSO, 2008).

Alonso (2008) destaca outras espécies que por mecanismos indiretos agem diminuindo a glicose como a *Cynara scolymus* (alcachofra), que acelera a oxidação dos glicídeos devido a grande presença de oxidases. *Arctium lappa* (bardana), rica em vitamina B, um co-fator enzimático, colabora na correção do metabolismo glicídico. Muitas espécies da família *Malvaceae* agem por ação das fibras interferindo na absorção intestinal dos glicídios, destacando-se *Abelmoschus esculentus*, *Althaea rosea*, *Hibiscus moscheutos*.

Grover e colaboradores (2001) demonstraram um efeito insulino-mimético direto do extrato de *Mormodica charantia*, por baixar a glicemia mesmo quando a maior parte das células  $\beta$  foram destruídas.

Plantas comestíveis, tais como *Allium cepa* L. (cebola) e *Allium sativum* L. (alho), ambos da família Liliaceae, são usadas no tratamento do diabetes com uma atividade semelhante à tolbutamida, aumentando a secreção e liberação de insulina pelo pâncreas. São caracterizadas por possuir concentração baixa de carboidrato e gordura, além de impedir as complicações cardiovasculares diabéticas (BALUCHNEJADMOJARAD et al., 2003, ALONSO, 2008).

O extrato aquoso da folha de *Aloe vera* mostrou atividade hipoglicêmica em ratos com diabetes tipo I e II, apresentando maior atividade no diabetes tipo II do que a glibenclamida. *Aloe vera* melhorou a cicatrização de ferimentos nos ratos que tiveram o diabetes induzido por STZ (OKYAR et al., 2001).

O extrato metanólico das raízes de *Sida cordifolia* L. (Malvaceae) apresentou atividade hipoglicêmica e o mecanismo de ação pode ser atribuído à liberação da insulina através do estímulo das células  $\beta$  do pâncreas, como no caso das sulfoniluréias (KANTH; DIWAN, 1999).

## 2.7 Citotoxicidade

O câncer trata-se de um processo comum a um grupo heterogêneo de doenças que diferem em etiologia, frequência e manifestações clínicas. É uma doença crônica degenerativa, caracterizada pela perda de função e alteração no controle da proliferação, diferenciação e morte celular, com multiplicação desordenada das células, pode invadir órgãos e tecidos. A origem dessas células é resultado de alterações genéticas, independente de ocorrer de forma esporádica ou hereditária, e mutações produzidas por agentes químicos, físicos e biológicos. (BRENTANI et al., 1998; SIMPSON et al., 1998; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2002; TEIXEIRA; NOGUEIRA, 2003).

As neoplasias configuram-se como um grande problema de saúde pública tanto nos países desenvolvidos quanto subdesenvolvidos. As estatísticas mundiais, segundo a Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer e a OMS (2008), mostraram a ocorrência de 12,4 milhões de casos novos e 7,6 milhões de óbitos por câncer no mundo. É considerada a segunda maior causa de morte na população, superada apenas pelas doenças do sistema vascular, e existem inúmeras dificuldades encontradas no seu tratamento, como a resistência medicamentosa, toxicidade, baixa especificidade (MESQUITA, 2009).

O aumento da incidência de câncer é, principalmente, consequência do aumento da expectativa de vida da população, pois o aparecimento dessa patologia é favorecido pelo envelhecimento do organismo (CAIRNS, 1981). Mais de 90% dos tumores poderiam ser prevenidos e os maiores agravantes desta alta incidência são o cigarro, álcool, poluição, raios UV (OMS, 2008). Apesar do desenvolvimento tecnológico e científico em pesquisas com fármacos antitumorais, ainda são encontrados vários tumores que não possuem tratamento adequado, bem como a grande maioria dos quimioterápicos utilizados provocam uma imunossupressão, deixando o paciente exposto a quadros infecciosos (HENTY et al., 2001).

A busca por agentes antitumorais torna-se incessante, e os produtos de origem natural são uma das principais fontes de recurso para aquisição e desenvolvimento de novas drogas, uma vez que mais da metade das drogas atualmente comercializadas são produtos naturais ou relacionados a eles. Considerando os agentes antitumorais, nos últimos cinquenta anos, a pesquisa de novas drogas introduziu na terapêutica cerca de 70 medicamentos, sendo cerca de 60% produtos naturais ou seus derivados. Atualmente, mais de 30 compostos de origem natural estão em diferentes fases de estudo clínico para os mais diversos tipos de câncer (CRAGG; NEWMAN, 2007; GORDALIZA, 2007).

Com a cultura de células é possível o desenvolvimento de diversas linhagens celulares oriundas de tumores humanos, possibilitando o desenvolvimento de metodologias para triagens *in vitro*. O Instituto Nacional do Câncer dos Estados Unidos desenvolveu um painel de células cancerígenas com cerca de 60 linhagens oriundas de tumores sólidos e do sistema hematopoiético, permitindo a avaliação em diversos tipos de células neoplásicas, possibilitando a descoberta de drogas com maior especificidade, além de ser rápida e eficaz. A metodologia *in vitro* para avaliação de espécies vegetais tem permitido a análise de centenas de extratos, princípios ativos e substâncias obtidas por síntese (MONKS et al., 1990; RUBINSTEIN et al., 1990; SKEHAN et al., 1991).

Pesquisas indicam que mais de 1000 espécies de plantas apresentam atividades antitumorais significantes. Esses produtos de origem vegetal apresentam uma grande



variedade de classes de compostos e estruturas que incluem alcaloides, flavonoides, terpenos, entre outros (FERRAZ et al., 2005).

Dentre os fármacos anticancerígenos derivados de plantas utilizados clinicamente têm-se os alcaloides vincristina e vinblastina, isolados da *Catharanthus roseus*, que são utilizados para o tratamento de linfomas e leucemia infantil (CRAGG; NEWMAN, 2007).

O diterpeno taxol ou paclitaxel (Taxol ®) é extraído das cascas do pinheiro *Taxus brevifolia* e das folhas de várias espécies de *Taxus* e é empregado terapêuticamente para o tratamento de câncer ovariano, mamário e pulmonar (GANESAN, 2008; MESQUITA, 2009).

A partir da camptotecina, isolada da árvore *Camptotheca acuminata Decne*, derivaram-se uma classe de agentes clinicamente ativos utilizados no tratamento de câncer de ovário e cervical (BUTLER, 2004).

Os agentes conhecidos com ação sobre o câncer podem ser classificados em dois grupos. O primeiro que é constituído por drogas que inibem a iniciação do processo carcinogênico e o segundo, por drogas que inibem a proliferação de células doentes (DUVOIX et al., 2005).

## 2.8 Lipídeos e dislipidemias

Os lipídeos são substâncias de origem biológica insolúveis em água e solúveis em solventes apolares. Estão presentes em todos os tecidos e apresentam grande importância em vários aspectos da vida. Dos pontos de vista fisiológico e clínico, os lipídeos biologicamente mais relevantes são os fosfolipídeos, o colesterol, os triglicerídeos e os ácidos graxos. Os fosfolipídeos formam a estrutura básica das membranas celulares. Os ácidos graxos podem ser classificados como saturados, mono ou polinsaturados de acordo com o número de ligações duplas na sua cadeia. O colesterol é precursor dos hormônios esteróides, dos ácidos biliares, da vitamina D e atua na fluidez e ativação das enzimas situadas nas membranas celulares. Os triglicerídeos são formados a partir de três ácidos graxos ligados a uma molécula de glicerol e constituem uma das formas de armazenamento energético mais importante no organismo, depositados nos tecidos adiposos e musculares (MOTTA, 2003; SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2007).

O transporte dos lipídeos no sangue é realizado pelas lipoproteínas, que são compostas por lipídeos e proteínas denominadas apolipoproteínas. As lipoproteínas carregam os lipídeos em seus núcleos e são solúveis no plasma devido à natureza hidrofóbica da parte protéica. São classificadas de acordo com a densidade em as ricas em triglicerídeos, maiores e menos

densas, que são os quilomícrons e lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDL); as ricas em colesterol, lipoproteínas de densidade baixa (LDL), que possuem mais triglicerídeos que proteínas; e lipoproteínas de densidade alta (HDL), que possuem mais proteínas que triglicerídeos, consideradas “colesterol bom”. (MOTTA, 2003; SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2007).

As desordens do metabolismo lipídico são denominadas de dislipidemias e podem ser associadas à incidência de doenças cardiovasculares, obesidade, diabetes, hipertensão e esteatose hepática. Nas últimas décadas relacionou-se o aumento na morbidade e mortalidade por doenças vasculares com desordens dos lipídeos no sangue. De acordo com o documento IV Diretrizes Brasileiras sobre Dislipidemias e Diretriz de Prevenção da Aterosclerose do Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia (2007) as dislipidemias podem ser submetidas a dois tipos de classificação: laboratorial e etiológica.

Classificação laboratorial:

- Hipercolesterolemia isolada: elevação isolada do colesterol total, em geral representada por aumento do LDL-colesterol.
- Hipertrigliceridemia isolada: elevação isolada dos triglicerídeos, em geral representada por aumento das VLDL, ou dos quilomícrons, ou de ambos.
- Hiperlipidemia mista: Valores aumentados do colesterol total e dos triglicerídeos.
- HDL-Colesterol baixo: Isolado ou em associação com aumento de LDL-colesterol e/ou de triglicerídeos.

Classificação etiológica:

- Primárias: as dislipidemias primárias são consequentes a causas genéticas. Algumas delas manifestam-se apenas em função da influência de fatores ambientais, devido dieta inadequada e/ou ao sedentarismo. As dislipidemias primárias englobam as hiperlipidemias e as hipolipidemias (diminuições nos níveis plasmáticos de lipídios).
- Secundárias
  - Devido a doenças como diabetes tipo II, hipotireoidismo, síndrome nefrótica, hepatopatias, entre outras;
  - Medicamentos como anti-hipertensivos, corticosteróides, estrógenos, entre outros;
  - Hábitos de vida inadequados (dieta, tabagismo e etilismo).

Alterações lipídicas como a hipercolesterolemia e a hipertrigliceridemia estão associadas com a formação da placa esclerótica. A aterosclerose é uma doença inflamatória crônica de origem multifatorial que ocorre em resposta à agressão endotelial, acometendo principalmente a camada íntima de artérias de médio e grande calibre. A formação da placa aterosclerótica inicia-se com a agressão ao endotélio vascular devido a fatores de risco como elevação de lipoproteínas aterogênicas (LDL, VLDL, remanescentes de quilomícrons), diminuição do HDL (< 40 mg/dL), hipertensão arterial, tabagismo, diabetes melito, idade (>45 anos para homens e >55 anos para mulheres) e histórico familiar de aterosclerose (SANTOS et al., 2001; LISKOV, 2005).

A disfunção endotelial aumenta a permeabilidade às lipoproteínas plasmáticas favorecendo a retenção das mesmas no espaço subendotelial. Alguns mediadores da inflamação estimulam a migração e proliferação de células que produzirão citocinas, fatores de crescimento, e matriz extracelular que formará parte da capa fibrosa da placa aterosclerótica. A ruptura desta capa expõe material lipídico altamente trombogênico, levando à formação de um trombo sobrejacente. Este processo, também conhecido por aterotrombose, é um dos principais determinantes das manifestações clínicas da aterosclerose (MOTTA, 2003; SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2007).

Vários fármacos sintéticos são empregados no tratamento destas patologias, como por exemplo, substâncias da classe das estatinas, fibratos, ácido nicotínico e colestiramina, mas estes produzem importantes reações adversas e tóxicas, o que limita a sua utilização terapêutica (RANG et al., 2007).

Associados ao tratamento farmacológico, para prevenir e combater as dislipidemias é indicado que se diminua a ingestão de alimentos ricos em colesterol, ácidos graxos saturados e insaturados presentes nas gorduras animais e gorduras vegetais hidrogenada. Os ácidos graxos insaturados como ácido linoléico, ômega-3, são encontrados na soja, canola, linhaça, azeitona, abacate e peixes, diminuem o colesterol total, os triglicerídeos e aumentam o HDL. As fibras solúveis representadas pela pectina e gomas reduzem o tempo de transito gastrointestinal, diminuindo a absorção do colesterol. Os fitosteróis encontrados somente nos vegetais desempenham função análoga ao colesterol e reduzem a colesterolemia por competirem com a absorção do colesterol no intestino (MOTTA, 2003; SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2007).

A utilização de substâncias antioxidantes, como flavonoides, vitaminas C e E, e os carotenoides, com o objetivo de prevenir ou reduzir o desenvolvimento da doença aterosclerótica, vem sendo amplamente pesquisada e estudada (HERTOG, et al., 1993).

Estudos demonstraram relação inversa entre o consumo de alimentos ricos em flavonoides e a mortalidade por doença arterial coronariana em função de sua ação na inibição da oxidação da LDL e na redução da agregação plaquetária (STEINBERG, 2000). Com relação ao vinho tinto e suco de uva, algumas pesquisas demonstraram a ação antioxidante de ambos *in vitro*, sendo que *in vivo* apenas o vinho tinto foi eficaz. Portanto, os estudos apenas sugerem que os flavonoides presentes na dieta podem estar envolvidos na prevenção da aterosclerose por inibirem a oxidação das LDL, diminuindo sua aterogenicidade e, conseqüentemente, o risco de doença arterial coronariana. Alimentação rica em frutas e vegetais diversificados fornece doses apropriadas de substâncias antioxidantes, que certamente contribuirão para a manutenção da saúde (HERTOG et al., 1993; DA LUZ; LAURINDO, 1999; SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2007).

Uma dieta controlada, a prática de exercícios físicos e o não tabagismo contribuem para o tratamento e combate de doenças vasculares. Se essas medidas não forem suficientes, será necessário o uso de terapia medicamentosa condicionada ao tipo de dislipidemia presente.

## **2.9 Marcadores de danos hepáticos, renais e pancreáticos**

A utilização de extratos vegetais com fins terapêuticos tem sido crescente, tanto em países desenvolvidos como em países em desenvolvimento, através de uma intensa ascensão da indústria farmacêutica. Milhões de pessoas utilizam um sistema de medicina tradicional, onde o conhecimento a respeito da maioria das plantas medicinais está baseado no uso popular, sem qualquer investigação a respeito de seus constituintes químicos e efeitos biológicos (SHARAPIN, 1996; HEINRICH, 2004; CARVALHO, 2005). As evidências científicas de ocorrências de intoxicação e efeitos colaterais relacionados com o uso de plantas medicinais dificilmente chegam ao alcance dos usuários, fazendo com que estes desacreditem na existência de efeitos adversos. Mesmo as drogas vegetais com toxicidade baixa conhecida, podem levar a problemas graves caso existam fatores de risco associados (COELHO, 1998; CORDEIRO et al., 2005; SILVA et al., 2006; AMORIM et al., 2007; ALEXANDRE et al., 2008).

O diagnóstico de várias enfermidades é auxiliado com variáveis bioquímicas como enzimas, proteínas, hormônios e minerais. As enzimas aminotransferases dividem-se em aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT), são intracelulares e estão amplamente distribuídas nos tecidos humanos, principalmente nos hepatócitos (MOTTA,

2003). O aumento da atividade da ALT e da AST no soro é geralmente considerado como um sensível indício de dano hepático, causado por lesões estruturais que resultam na ruptura dos hepatócitos (MEYER et al., 1995). A ALT encontra-se principalmente no citoplasma enquanto 80% da AST esta na mitocôndria das células hepáticas. Portanto, em danos hepatocelulares leves, a forma predominante no soro é ALT, e em lesões graves há a liberação de enzima mitocondrial, elevando a relação ALT/AST (MOTTA, 2003).

A dosagem de creatinina sérica é considerada rotina para a maioria dos protocolos experimentais de toxicidade por ser um excelente avaliador da função renal. A creatinina é resultado da desidratação da creatina, esta que age como reserva energética nas células musculares e cerebrais. A creatinina livre que difunde do músculo para o plasma funciona somente como resíduo da degradação da creatina e é removida quase que inteiramente por filtração glomerular. A produção de creatinina não é influenciada pelo metabolismo protéico e outros fatores externos, a velocidade de excreção é constante e a quantidade de creatinina excretada diariamente é proporcional. Então, alterações nas concentrações séricas indicam algum tipo de disfunção renal (MOTTA, 2003).

Os aminoácidos provenientes do catabolismo protéico são desaminados com conseqüente produção de amônia, que como é potencialmente tóxica ao organismo, é convertida em uréia no fígado. Após a sua síntese, é transportada pelo plasma até os rins, onde é filtrada pelos glomérulos e 30-60% é excretada na urina. Como seus níveis séricos são afetados por diversos fatores como o conteúdo protéico da dieta e estado de hidratação do organismo, a sua dosagem para estabelecer danos renais é menos específica que a creatinina, mas ainda assim muito útil na distinção de várias causas de insuficiência renal (MOTTA, 2003).

A amilase sérica é secretada pelas glândulas salivares (forma S) e pelas células do pâncreas (forma P), estas que são secretadas no intestino por meio do ducto pancreático. Níveis séricos aumentados de amilase são marcadores de danos pancreáticos, como pancreatite, lesões traumáticas e carcinomas. Não é uma dosagem específica de dano pancreático sofrendo alterações na insuficiência renal, em lesões das glândulas salivares, e muitas outras desordens como uso de certos medicamentos e abuso de álcool (MOTA, 2003). Já a lipase é uma enzima altamente específica que catalisa a hidrólise dos ésteres de glicerol dos triglicérides em presença de sais biliares. É sintetizada pelas células acinares do pâncreas e também pode ser encontrada na mucosa intestinal, leucócitos, células do tecido adiposo, língua e leite e sua dosagem no soro ou plasma é exclusivamente usada para detectar

desordens pancreáticas. Na pancreatite aguda, o aumento da lípase geralmente acompanha a amilase (MOTTA, 2003).

### **3 METODOLOGIA**

#### **3.1 Obtenção da droga vegetal**

*Sida rhombifolia* foi coletada em todas as estações do ano na cidade de Santa Maria, Rio Grande do Sul. Uma amostra foi identificada e depositada no Herbário do Departamento de Biologia da Universidade de Santa Maria (UFSM) sob exsicata nº 12871 . O material vegetal foi separado em partes aéreas e raízes e seco em estufa com ar circulante a 40°C. As diferentes partes foram trituradas em moinho e armazenadas separadamente, totalizando oito amostras.

#### **3.2 Preparação do extrato vegetal**

Os extratos hidroetanólicos 70% foram obtidos por maceração a frio com renovação do solvente até esgotamento total da planta, e então, liofilizados.

#### **3.3 Análises físico-químicas**

Foram realizadas as análises físico-químicas das oito amostras de *S. rhombifolia* de acordo com a Farmacopeia Brasileira, 5ª edição (2010). As análises foram realizadas em triplicata.

##### **3.3.1 Determinação de matéria estranha**

Tomou-se 25g da droga em pó por quarteamento e espalhou-se em camada fina sob uma superfície plana. Foram separados manualmente os materiais estranho à droga, inicialmente a olho nu, e em seguida com uma lente de aumento. Este material foi pesado e sua porcentagem foi determinada.

##### **3.3.2 Determinação de água pelo método gravimétrico**

Foram pesados 3g e transferidos para cadinhos previamente dessecados e pesados. Os cadinhos com a droga foram levados a estufa à 105°C por 5 horas, e pesados até peso

constante. O peso perdido durante a dessecação foi calculado e determinou-se então, a porcentagem de água em relação à droga seca.

### 3.3.3 Determinação de cinzas totais

Foram pesados 3g das drogas pulverizadas em cadinhos previamente tarados e incinerados em mufla a até 600°, e pesados até peso constante. A porcentagem de cinzas totais foi calculada em relação à droga seca.

### 3.3.4 Determinação de cinzas insolúveis em ácido clorídrico

O resíduo obtido no teste de cinzas totais foi fervido com 25mL de ácido clorídrico 7% coberto com vidro de relógio. O resíduo insolúvel foi recolhido com água quente em filtro de papel isento de cinzas e então incinerado a até 500°C. A porcentagem de cinzas insolúveis foi calculada em relação às cinzas totais e à droga seca.

### 3.3.5 Determinação de cinzas sulfatadas

Para a determinação de cinzas sulfatadas foram pesados 1g das drogas, que foram umedecidas com ácido sulfúrico em cadinho previamente tarado, e carbonizado em bico de Bunsen. As amostras foram novamente umedecidas, carbonizadas, e então levadas a mufla a até 800°C. As amostras foram pesadas até peso constante e a porcentagem foi calculada em relação à droga seca.

### 3.3.6 Determinação do índice de intumescência

Foram pesados 1g das drogas, transferidos para uma proveta de 25 mL e marcados os volumes que ocuparam. Foram adicionados 25 mL de água, e as provetas foram agitadas a cada 10 minutos, durante 60 minutos. Após 3 horas em repouso, foi medido o volume ocupado pela droga. Foi calculada a diferença de volume, e relacionada à 1g de droga.



### 3.4 Doseamentos

Os doseamentos foram realizados em triplicata para os oito extratos brutos (EB) de *S. rhombifolia* e para as curvas-padrão.

#### 3.4.1 Determinação do teor de polifenóis totais

A determinação do teor de polifenóis foi feita pelo método Folin-Ciocalteu modificado (CHANDRA; MEJIA, 2004).

Os extratos de *S. rhombifolia* foram diluídos em água a 0,04%. A 1 mL desta diluição adicionou-se 1 mL de Folin-Ciocalteu, e, após 5 minutos no escuro, foi adicionado 2 mL de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 20 %. As amostras permaneceram 20 minutos no escuro, e então foi realizada leitura a 730 nm espectrofotômetro UV/Visível obtendo-se a concentração de polifenóis totais presentes nas amostras. As concentrações de polifenóis totais nas amostras foram determinadas a partir da curva-padrão de ácido gálico nas concentrações de 1 µg/mL, 3 µg/mL, 10 µg/mL, 25 µg/mL, 50 µg/mL, 80 µg/mL e 100 µg/mL, preparada nas mesmas condições das amostras.

#### 3.4.2 Determinação do teor de flavonoides

O teor de flavonoides foi determinado de acordo com Rio (1996) modificado, onde utilizou-se curva de rutina como padrão, nas concentrações de 10 µg/mL, 20 µg/mL, 50 µg/mL, 80 µg/mL, 100 µg/mL, 130 µg/mL e 150 µg/mL.

Os extratos de *S. rhombifolia* foram diluídos em metanol 70 %, na concentração de 0,4%. Foi adicionado a 1,1 mL destes extratos 75 µL de cloreto de alumínio a 5 % em metanol, e 3,9 mL de metanol a 70 %. As amostras foram mantidas por 30 minutos no escuro, e então foram realizadas as leituras a 425 nm em espectrofotômetro UV/Visível.

#### 3.4.3 Determinação do teor de taninos condensados

A concentração de taninos condensados foi determinada pelo método da vanilina, de acordo com Agostini-Costa (1999). Os extratos de *S. rhombifolia* foram preparados na concentração de 0,4% em metanol. Foi adicionado 5 mL da solução reagente de vanilina (vanilina-HCl-metanol 4-10-86) a 1 mL destes extratos. Após repouso de 15 minutos foram

realizadas as leituras em 490 nm em espectrofotômetro UV/Visível. A curva foi preparada com o padrão catequina nas concentrações 25 µg/mL, 50 µg/mL, 150 µg/mL, 300 µg/mL, 450 µg/mL, 600 µg/mL, 800 µg/mL, 900 µg/mL e 950 µg/mL, nas mesmas condições das amostras.

### 3.5 Atividade antioxidante

Para determinar a atividade antioxidante dos extratos de *S. rhombifolia*, foi utilizado o método fotocolorimétrico do DPPH proposto por Choi e colaboradores (2002). Foram preparadas soluções dos extratos e do padrão ácido ascórbico em etanol nas concentrações de 200µg/mL, 100µg/mL, 50 µg/mL, 25 µg/mL, 12,5 µg/mL, 6,25 µg/mL, 3,125 µg/mL, 1,5625 µg/mL. Foram tomados 2,5mL de cada diluição e adicionados 1 mL de DPPH 0,3mM em etanol. Após 30 minutos foi realizada a leitura em 518nm em espectrofotômetro UV/Visível. Foi usado como controle negativo solução 0,3 mM de DPPH em etanol, e como controle positivo, cada diluição das plantas e o do padrão sem adição de DPPH. A porcentagem de inibição foi calculada de acordo com a fórmula:

$$\% \text{inibição} = \frac{[(\text{Abs amostra} - \text{Abs branco})] \times 100}{\text{Abs controle negativo}}$$

### 3.6 Atividade antimicrobiana

Para a avaliação da atividade antimicrobiana dos extratos de *S. rhombifolia*, foi utilizado o método de microdiluição em caldo, de acordo com o Clinical and Laboratory Standards CLSI M07-A8 (2009) para bactérias e CLSI M38-A2 (2008) para fungos filamentosos, a fim de determinar a CIM. Foram utilizadas placas de microdiluição estéreis, contendo 96 poços e os testes foram realizados em duplicata.

#### 3.6.1 Preparação dos extratos

Os extratos de *S. rhombifolia* foram diluídos nas concentrações de 512 µg/mL, 256 µg/mL, 128 µg/mL, 64 µg/mL, 32 µg/mL, 16 µg/mL, 8 µg/mL e 4 µg/mL

### 3.6.2 Micro-organismo

Foram testadas cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC (American Type Culture Collection) 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 35318, *Salmonella pullorum* ATCC 9140, *Enterococcus faecalis* ATCC 1299, *Micrococcus* sp., *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus intermedius*, , *Providencia rettgeri*, *Streptococcus agalactiae*, *Proteus mirabilis*, *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*. As cepas que não são ATCC são provenientes de isolados clínicos.

### 3.6.3 Preparação dos inóculos

A preparação do inóculo das espécies bacterianas foi realizada seguindo o protocolo do CLSI M07-A8 (2009). Os inóculos foram preparados a partir de bactérias ativadas através de cultivos em ágar Mueller Hinton, durante 24 h a 35 °C. A seguir foi preparado o inóculo em solução em salina 0,85 % estéril, ajustando-se a turvação em espectrofotômetro até obter transmitância equivalente de uma solução-padrão da escala de Mc Farland 0,5 em comprimento de onda de 630 nm. A suspensão de trabalho foi produzida fazendo-se uma diluição 1:10 com meio líquido caldo Mueller-Hinton, sendo que 10 ul foi inoculado nas placas de microdiluição.

Os inóculos das leveduras foram preparados a partir de cultivos em Ágar Sabouraud durante 48 horas a 30 °C. A seguir foi preparada uma solução em salina 0,85 % estéril, ajustando-se a turvação em espectrofotômetro até obter transmitância equivalente de uma solução-padrão da escala de Mc Farland 0,5 em comprimento de onda de 530 nm. O inóculo foi produzido fazendo-se uma diluição 1:100 em solução salina estéril e posteriormente uma diluição 1:50, no meio RPMI- 1640. Posteriormente, 100 ul desse inóculo foram adicionados a placa.

A metodologia para o fungo filamentosos testado seguiu o documento do CLSI M38-A2 (2008). O fungo filamentosos foi inicialmente incubado em tubo com Agar batata-dextrose a 30°C por sete dias. Decorrido esse período, as colônias foram cobertas com aproximadamente 1 mL de salina 0,85 % estéril. A seguir essa mistura de conídios foi transferida para um tubo estéril, onde a densidade foi ajustada em espectrofotômetro a 530 nm, até atingir 80 a 82 % de transmitância (0,009 a 0,11 de absorvância). A suspensão foi diluída a 1:50 no meio de cultura, finalizando a etapa de preparação do inóculo. A seguir uma quantidade de 100 ul foi inoculada nas placas de microdiluição.

### 3.6.4 Realização do teste

Foram distribuídos 200 µL de cada diluição dos extratos de *S. rhombifolia* na placa de microdiluição e 100 µl de suspensão de levedura ou 10µl de suspensão bacteriana. O controle positivo continha 0,1 ml do inóculo e 0,1 ml do meio, sem o extrato de *S. rhombifolia* e o controle negativo continha 0,2 mL do extrato e 0,1 mL do meio para crescimento dos microorganismos. O ensaio foi realizado em duplicata.

### 3.6.5 Incubação e leitura do teste

As microplacas inoculadas com bactérias foram incubadas a 35-37 °C por 24 horas, e as inoculadas com fungos foram incubadas a 25-27 °C por 48 horas. As leituras foram realizadas após período de incubação, mediante comparação visual com o controle de crescimento positivo. Os resultados foram expressos CIM.

## 3.7 Atividade hipoglicemiante e hipolipidemiante

A atividade biológica dos extratos das partes aéreas e raízes de *Sida rhombifolia* foi analisada em ratos Wistar machos pesando entre 180 e 220 g e sadios. Os animais foram provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Santa Maria foram mantidos sob um período de adaptação, com fotoperíodo de 12 horas de claro e escuro e temperatura ambiente de 25 °C e umidade mantida por ar condicionado. Os animais receberam ração e água *ad libitum*.

O protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Federal de Santa Maria, sob número 009/2012.

### 3.7.1 Seleção, distribuição e tratamento dos animais

Os animais foram separados em 3 grupos, sendo I o grupo controle e II e III os grupos tratados, estes foram pesados e tiveram suas glicemias medidas pelo glicosímetro Accu-Check®- Roche. Os grupos tratados com extratos de *S. rhombifolia*, receberam por gavagem 1,5 mL dos extratos das partes aéreas coletadas no verão e raiz coletadas no inverno na concentração de 500 mg/kg por peso de animal. Esta dose foi dividida em três doses de

0,5mL, que foram administradas ao longo do dia. O grupo controle recebeu solução fisiológica nas mesmas condições.

O tratamento durou vinte e um dias e as glicemias foram medidas semanalmente. Ao final do tratamento, os animais foram anestesiados e o sangue coletado por punção cardíaca para a dosagem de colesterol total, triglicerídeos e marcadores de danos hepáticos, renais e pancreáticos. Todas as dosagens foram realizadas no sistema automatizado Cobas Mira®, por metodologias cinéticas e enzimáticas colorimétricas.

### **3.8 Atividade citotóxica**

Os ensaios foram realizados *in vitro* utilizando a cultura de linhagem de células do tecido conectivo de camundongo (NCTC) clone 929 por incorporação do corante vermelho neutro (NOGUEIRA et al., 2008). As células foram mantidas no meio mínimo essencial de Eagle com 0,1 mM de 146 aminoácidos não essenciais, 1 mM de sódio e suplemento com 10% de soro bovino fetal. As células de aderência foram tratadas com tripsina e suspensão celular ajustada para  $2 \times 10^5$  células/mL. O volume de 0,2 mL da suspensão celular foi adicionado em cada poço de placa de 96 poços e colocado em incubadora de CO<sub>2</sub> a 37 °C por 24 horas. Em seguida as células foram expostas as diluições dos extratos das partes aéreas coletadas no verão e das raízes coletadas no inverno. Como controle utilizou-se meio de cultura. Cada concentração foi testada em triplicata e o vermelho neutro extraído com solução de ácido acético 1 % em etanol 50 %. A absorbância foi determinada em 540 nm em leitor de microplacas.

### **3.9 Análise estatística**

Os dados foram analisados por análise de variância (ANOVA), seguido do teste de Tukey. Valores de  $p < 0,05$  foram considerados como indicativos de significância. O ensaio de citotoxicidade foi avaliado pelo método de Probitos.

## 4 RESULTADOS

### 4.1 Determinação de matéria estranha

Não há uma monografia específica para *S. rhombifolia* padronizando suas determinações físico-químicas, mas a Farmacopeia Brasileira (2010) estabelece para a maioria das drogas vegetais um limite máximo de até 2% de materiais estranhos (Tabela 1).

Tabela 1- Porcentagem de material estranho das partes aéreas e raízes de *S. rhombifolia*.

<i>S. rhombifolia</i>	% Matéria estranha			
	Primavera	Verão	Outono	Inverno
Partes aéreas	0	0	0	0
Raízes	0,12 ± 0,015	0,08 ± 0,004	0	0

Médias ± desvios padrões.

As partes aéreas de *S. rhombifolia* não apresentaram contaminação em nenhuma das quatro coletas, enquanto que as coletas da raiz da primavera e verão apresentaram uma pequena presença de materiais estranhos.

### 4.2 Determinação de água

Segundo a Farmacopeia Brasileira (2010) as drogas vegetais não devem conter maior quantidade de umidade que as preconizadas que variam entre 5 e 16%. Todas as amostras das partes aéreas e raízes de *S. rhombifolia* após a secagem a temperatura de  $\pm 40^\circ$ , mantiveram-se entre estes limites (Tabela 2).

Tabela 2- Porcentagem de água das partes aéreas e raízes de *S. rhombifolia*.

<i>S. rhombifolia</i>	% Água			
	Primavera	Verão	Outono	Inverno
Partes aéreas	2,47 ± 0,0004 <sup>d</sup>	5,89 ± 0,0005 <sup>b</sup>	6,26 ± 0,0005 <sup>a</sup>	3,78 ± 0,0001 <sup>c</sup>
Raízes	1,68 ± 0,0001 <sup>c</sup>	4,34 ± 0,0009 <sup>a</sup>	3,72 ± 0,0008 <sup>b</sup>	3,71 ± 0,0009 <sup>b</sup>

Letras comparam as médias entre os grupos em cada variável (horizontal). As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5 % de probabilidade.

Média ± desvio padrão.

Nas partes aéreas houve diferença significativa na quantidade de água entre as quatro coletas, tendo o outono maior índice de água e a primavera o menor. Nas raízes a coleta do verão obteve índice de água significativamente maior, seguida das coletas do inverno e outono que não apresentaram diferença significativa entre si, e a coleta da primavera apresentou o menor índice de água. Comparando os diferentes órgãos, a coleta do inverno não apresentou diferença significativa entre as partes aéreas e raízes enquanto que nas coletas da primavera, verão e outono, as parte aéreas apresentaram índice de água superior as raízes.

### 4.3 Determinação de cinzas totais, cinzas insolúveis em ácido clorídrico e cinzas sulfatadas

Alonso (2006) ressalta a importância na análise de diferentes tipos de cinzas para se diferenciar as cinzas fisiológicas, ou orgânicas, provenientes do próprio metabolismo da planta, e as não fisiológicas originadas por matéria estranha inorgânica (terra e areia). Tanto para as partes aéreas quanto para as raízes de *S. rhombifolia* houve diferença significativa no teor de cinzas totais nas amostras coletadas no inverno (Tabela 3 e 4). Os valores de 21,20% nas partes aéreas e 17,63% nas raízes foram consideravelmente maiores que os encontrados nas demais estações do ano.

Tabela 3- Porcentagem de cinzas totais, insolúveis e sulfatadas nas partes aéreas de *S. rhombifolia*.

Estações	Cinzas totais (%)	Cinzas insolúveis (%)	Cinzas sulfatadas (%)
Primavera	10,85 ± 0,0123 <sup>b</sup>	1,30 ± 0,0088 <sup>a</sup>	9,72 ± 0,0028 <sup>b</sup>
Verão	11,34 ± 0,005 <sup>b</sup>	0,48 ± 0,0008 <sup>a</sup>	10,88 ± 0,0061 <sup>a</sup>
Outono	10,99 ± 0,0094 <sup>b</sup>	0,32 ± 0,0013 <sup>a</sup>	9,44 ± 0,0053 <sup>b</sup>
Inverno	21,20 ± 0,02 <sup>a</sup>	1,22 ± 0,0027 <sup>a</sup>	9,19 ± 0,0019 <sup>b</sup>

Letras comparam as médias entre os grupos em cada variável (vertical). As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5 % de probabilidade. Média e desvio padrão.

Tabela 4- Porcentagem de cinzas totais, insolúveis e sulfatadas nas raízes de *S. rhombifolia*.

Estações	Cinzas totais (%)	Cinzas insolúveis (%)	Cinzas sulfatadas (%)
Primavera	8,37 ± 0,0055 <sup>b</sup>	0,91 ± 0,001 <sup>b</sup>	5,85 ± 0,0009 <sup>c</sup>
Verão	6,16 ± 0,00012 <sup>b</sup>	0,30 ± 0,0024 <sup>c</sup>	6,87 ± 0,0071 <sup>b</sup>
Outono	9,55 ± 0,0141 <sup>b</sup>	1,28 ± 0,0022 <sup>ab</sup>	8,50 ± 0,0014 <sup>a</sup>
Inverno	17,63 ± 0,0148 <sup>a</sup>	1,46 ± 0,0008 <sup>a</sup>	7,38 ± 0,0018 <sup>b</sup>

Letras comparam as médias entre os grupos em cada variável (vertical). As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5 % de probabilidade. Média e desvio padrão.

Observou-se que apenas na primavera ocorreu diferença significativa nos teores de cinzas totais entre as partes aéreas e raízes. As cinzas insolúveis em ácido clorídrico, não apresentaram diferença significativa entre partes aéreas e raízes em nenhuma das coletas. Na determinação de cinzas sulfatadas, as partes aéreas apresentaram teores mais elevados significativamente que as raízes nas quatro estações. Entre as estações do ano, a droga coletada no inverno apresentou maior teor de cinzas totais tanto nas partes aéreas quanto nas raízes. As cinzas insolúveis não variaram nas partes aéreas, enquanto que nas raízes houve variação entre as quatro coletas. Nas cinzas sulfatadas, as partes aéreas do verão e as raízes do inverno apresentaram teores mais elevados que as demais estações.

#### 4.4 Índice de intumescência

Os índices de intumescência de *S. rhombifolia* estão apresentados na tabela 5.

Tabela 5- Índice de intumescência das partes aéreas e raízes de *S. rhombifolia*.

<i>S. rhombifolia</i>	Índice de Intumescência (%)			
	Primavera	Verão	Outono	Inverno
Partes aéreas	33,33 ± 2,3 <sup>a</sup>	35,47 ± 0,46 <sup>a</sup>	29,60 ± 0,8 <sup>b</sup>	23,33 ± 1,28 <sup>c</sup>
Raízes	8,80 ± 0,8 <sup>b</sup>	17,60 ± 2,26 <sup>a</sup>	18,40 ± 2,01 <sup>a</sup>	7,73 ± 2,89 <sup>b</sup>

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si (horizontal). Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5 % de probabilidade. Média e desvio padrão.



As partes aéreas da primavera e verão obtiveram índices significativamente mais elevados que as amostras coletadas no outono e inverno. Já nas raízes, as amostras coletadas no verão e outono não obtiveram diferença entre si, mas apresentaram diferença da primavera e inverno, que também não se diferenciaram significativamente. Uma grande diferença foi observada entre as partes analisadas, sendo que as partes aéreas das quatro estações apresentaram índices de intumescência consideravelmente maiores que os obtidos pelas raízes da guanxuma.

#### 4.5 Doseamentos

Os doseamentos de polifenóis totais, flavonoides e taninos condensados foram realizados nos extratos brutos das partes aéreas e das raízes das quatro coletas de *S. rhombifolia*. Os resultados dos doseamentos nos extratos das partes aéreas encontram-se na tabela 6 e os resultados das raízes na tabela 7.

Tabela 6- Conteúdo de polifenóis totais, flavonoides e taninos condensados nas partes aéreas de *S. rhombifolia*.

Partes aéreas	mg/g de EB			
	Primavera	Verão	Outono	Inverno
Polifenóis	5,36 <sup>b</sup>	6,92 <sup>a</sup>	4,31 <sup>d</sup>	4,94 <sup>c</sup>
Flavonoides	1,23 <sup>c</sup>	1,44 <sup>a</sup>	1,35 <sup>b</sup>	1,28 <sup>c</sup>
Taninos	0,91 <sup>a</sup>	1,95 <sup>a</sup>	1,33 <sup>a</sup>	2,24 <sup>a</sup>

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si (horizontal). Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5 % de probabilidade.

Tabela 7- Conteúdo de polifenóis totais, flavonoides e taninos condensados nas raízes de *S. rhombifolia*.

Raízes	mg/g de EB			
	Primavera	Verão	Outono	Inverno
Polifenóis	3,40 <sup>b</sup>	4,0 <sup>a</sup>	3,39 <sup>b</sup>	3,41 <sup>b</sup>
Flavonoides	0,81 <sup>c</sup>	0,90 <sup>b</sup>	0,94 <sup>b</sup>	1,02 <sup>a</sup>
Taninos	0,28 <sup>a</sup>	1,09 <sup>a</sup>	1,21 <sup>a</sup>	1,83 <sup>a</sup>

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si (horizontal). Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5 % de probabilidade.

Tanto os polifenóis totais quanto os flavonoides variaram significativamente entre os extratos das partes aéreas e das raízes, sendo que as concentrações mais elevadas encontraram-se nas partes aéreas. As partes aéreas apresentaram diferenças significativas nas concentrações de polifenóis totais nas quatro coletas, sendo o verão a estação com maior quantidade de polifenóis e o outono com a menor. Já nas raízes, houve diferença significativa na amostra coletada no verão, em relação às outras estações do ano que tiveram valores menores. As partes aéreas coletadas no verão também obtiveram teores mais elevados de flavonoides, enquanto que as amostras da primavera e inverno apresentaram os menores teores sem diferenciar-se significativamente entre si. Nas raízes, a maior concentração de flavonoides foi encontrada no inverno e a menor na primavera. A concentração de taninos não sofreu diferença significativa nos dois diferentes órgãos analisados. Não foi constatada diferença significativa na concentração de taninos nas quatro estações do ano. A figura 11 mostra as dosagens de polifenóis totais, flavonoides e taninos de *S. rhombifolia* nas quatro estações.

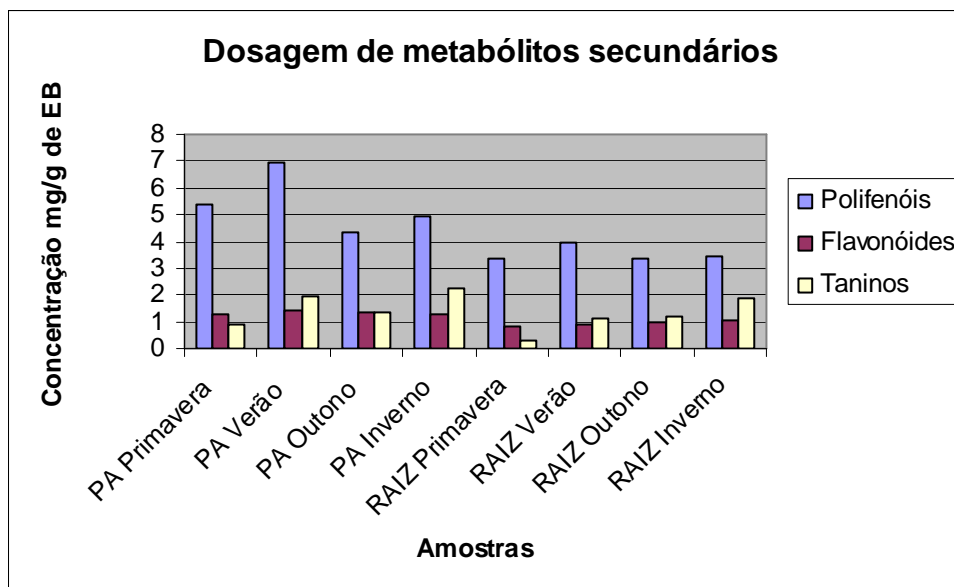


Figura 12- Conteúdo de polifenóis totais, flavonoides e taninos nos extratos brutos as partes aéreas e raízes de *S. rhombifolia* nas quatro estações do ano.

#### 4.6 Atividade antioxidante

As  $IC_{50}$  dos extratos das partes aéreas e raízes de *S. rhombifolia* nas quatro estações estão na tabela 8.

Tabela 8-  $IC_{50}$  dos EB das partes aéreas e raízes de *S. rhombifolia* frente ao radical DPPH.

<i>S. rhombifolia</i>	$IC_{50}$ ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )			
	Primavera	Verão	Outono	Inverno
Partes aéreas	208,47	188,03	208,41	172,51
Raízes	705,83	376,0	636,40	374,08

Os extratos das amostras coletadas no inverno obtiveram a menor concentração inibitória do radical DPPH. As partes aéreas necessitam de 172,5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  do extrato bruto para inibir 50% do radical DPPH, enquanto que as raízes precisam estar na concentração de 374  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Na primavera, os extratos das partes aéreas e das raízes apresentaram menor atividade antioxidante, sendo que para as raízes a atividade foi consideravelmente menor. As curvas do padrão ácido ascórbico e dos extratos que apresentaram melhor atividade antioxidante estão ilustradas na figura 13.

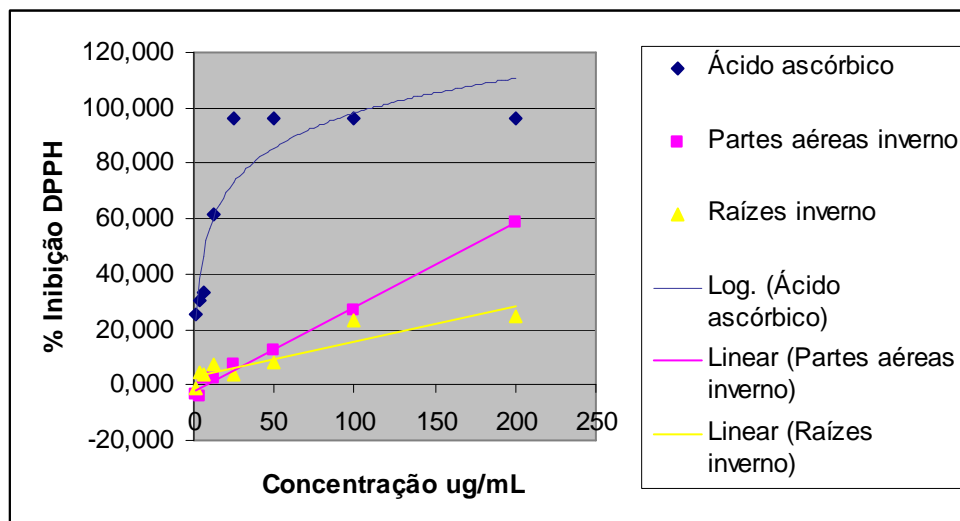


Figura 13- Gráfico da inibição do DPPH pelo ácido ascórbico e EB das partes aéreas e raízes de *S. rhombifolia*

#### 4.7 Atividade antimicrobiana

As tabelas 9 e 10 apresentam os resultados da atividade antimicrobiana pelo CIM das partes aéreas e raízes da guanxuma nas quatro estações do ano.

Tabela 9- CIM dos EB das partes aéreas de *S. rhombifolia*.

Micro-organismos	CIM ( $\mu\text{g/mL}$ )			
	Primavera	Verão	Outono	Inverno
<i>Staphylococcus aureus</i>	256	256	256	128
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	128	256	128	64
<i>Micrococcus sp.</i>	128	256	128	64
<i>Listeria monocytogenes</i>	64	128	64	32
<i>Escherichia coli</i>	256	128	32	64
<i>Staphylococcus intermedius</i>	256	128	128	128
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	256	64	256	64
<i>Salmonella pullorum</i>	256	128	256	128
<i>Enterococcus faecalis</i>	64	64	128	128

<i>Providencia rettgeri</i>	128	128	256	128
<i>Streptococcus agalactie</i>	256	256	128	128
<i>Proteus mirabilis</i>	256	256	256	128

Tabela 10- CIM dos EB das raízes de *S. rhombifolia*.

Micro-organismos	CIM ( $\mu\text{g/mL}$ )			
	Primavera	Verão	Outono	Inverno
<i>Staphylococcus aureus</i>	128	128	64	64
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	128	64	32	32
<i>Micrococcus</i> sp.	128	64	32	32
<i>Listeria monocytogenes</i>	64	32	16	32
<i>Escherichia coli</i>	64	64	128	16
<i>Staphylococcus intermedius</i>	128	128	256	128
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	64	64	256	8
<i>Salmonella pullorum</i>	128	128	512	128
<i>Enterococcus faecalis</i>	128	128	128	128
<i>Providencia rettgeri</i>	128	128	128	128
<i>Streptococcus agalactie</i>	128	128	256	128
<i>Proteus mirabilis</i>	128	128	256	256

Pelos parâmetros de Hoetzel et al. (2002), *S. aureus* apresentou boa sensibilidade aos extratos das raízes do inverno e do outono, e sensibilidade moderada aos demais extratos testados. O extrato das partes aéreas do verão apresentou atividade moderada contra *L. monocytogenes*, enquanto que os demais extratos apresentaram uma alta sensibilidade destacando-se a raiz do outono que apresentou CIM de 16  $\mu\text{g/mL}$ . *P. aeruginosa* e *Micrococcus* sp mostraram-se sensíveis às partes aéreas do inverno e as raízes do verão, do outono e do inverno. O extrato da raiz do inverno destacou-se frente a *E. coli* apresentando

CIM de 16  $\mu\text{g/mL}$  e frente a *K. pneumoniae* com CIM de 8  $\mu\text{g/mL}$ , a menor CIM observada neste experimento. *E. faecalis* foi sensível às partes aéreas da primavera e do verão, e moderadamente sensível aos demais extratos. Exceto o extrato da raiz do outono que apresentou fraca atividade antimicrobiana frente a *S. pullorum*, os demais micro-organismos testados (*S. intermedius*, *P. rettgeri*, *S. agalactie*, *P. mirabilis*) apresentaram sensibilidade moderada a todos os extratos testados. Frente aos fungos *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans* e *Cryptococcus neoformans*, as CIM foram maiores que 512  $\mu\text{g/mL}$ , considerando então uma fraca atividade antimicrobianas dos extratos de *S. rhombifolia*.

#### 4.8 Atividade hipoglicemiante e hipolipidêmica

##### 4.8.1 Peso dos animais

As médias e os desvios padrões dos pesos dos animais no início e final do tratamento encontram-se na tabela 11.

Tabela 11- Variação dos pesos corporais dos animais durante o tratamento.

Grupos	Peso (g)	
	1° dia	21° dia
Grupo I	212,74 $\pm$ 11,7	280,35 $\pm$ 18,4
Grupo II	190,92 $\pm$ 18,93	248,35 $\pm$ 18,93
Grupo III	187,31 $\pm$ 1,65	258,55 $\pm$ 1,65

Grupo I: animais tratados com solução fisiológica (controle)

Grupo II: animais tratados com EB 500 mg/kg das partes aéreas coletadas no verão

Grupo III: animais tratados com EB 500 mg/kg das raízes coletadas no inverno

Os valores estão expressos em média  $\pm$  desvio padrão.

Não foi observada diferença significativa no aumento dos pesos dos animais entre os grupos, isso significa que os ganhos de peso dos animais foram proporcionais aos pesos iniciais, sem sofrer influência do tratamento recebido.

##### 4.8.2 Glicemia dos animais

As glicemias dos animais antes do início do tratamento e ao final do tratamento estão apresentadas na tabela 12.

Tabela 12- Glicemias obtidas no sangue total dos animais durante o tratamento.

Grupos	Glicemia (mg/dL)		
	1º dia	7º dia	14º dia
Grupo I	93,33 ± 2,52 <sup>a</sup>	87 ± 6,56 <sup>a</sup>	96 ± 6,08 <sup>a</sup>
Grupo II	76 ± 4,36 <sup>b</sup>	110 ± 15,87 <sup>a</sup>	94,33 ± 11,59 <sup>ab</sup>
Grupo II	83,33 ± 2,87 <sup>a</sup>	88,33 ± 11,55 <sup>a</sup>	94,33 ± 5,5 <sup>a</sup>

Grupo I: animais tratados com solução fisiológica (controle)

Grupo II: animais tratados com EB 500 mg/kg das partes aéreas coletadas no verão

Grupo III: animais tratados com EB 500 mg/kg das raízes coletadas no inverno

Letras comparam as médias entre os grupos em cada variável (horizontal). As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5 % de probabilidade.

Média e desvio padrão.

Os grupos I e III não tiveram as suas glicemias alteradas no decorrer do tratamento.

No grupo II houve um aumento da glicose sanguínea após uma semana de tratamento, porém, na terceira dosagem a glicemia já estava estatisticamente igual à primeira, não havendo então, diferença estatística entre o início e final do tratamento. Não foi observada diferença significativa nas glicemias entre os três grupos no 7º e 14º.

#### 4.8.3 Lipídeos plasmáticos

As dosagens de colesterol total e triglicerídeos no final do tratamento estão apresentadas na tabela 13.

Tabela 13- Colesterol total e triglicerídeos obtidos no dos animais após o tratamento.

Dosagens (mg/dL)	Grupos tratados		
	Grupo I	Grupo II	Grupo III
Colesterol total (mg/dL)	101,7 ± 26,5 <sup>a</sup>	67,3 ± 13,87 <sup>a</sup>	76 ± 20,07 <sup>a</sup>
Triglicerídeos (mg/dL)	109,2 ± 55,45 <sup>a</sup>	78,87 ± 59,93 <sup>a</sup>	57,6 ± 25,06 <sup>a</sup>

Grupo I: animais tratados com solução fisiológica (controle)

Grupo II: animais tratados com EB 500 mg/kg das partes aéreas coletadas no verão

Grupo III: animais tratados com EB 500 mg/kg das raízes coletadas no inverno

Letras comparam as médias entre os grupos em cada variável (horizontal). As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5 % de probabilidade.

Média e desvio padrão.

A análise estatística não identificou diferença significativa entre os grupos tratados e controle, mas ao final do tratamento os grupos tratados com *S. rhombifolia* apresentaram diminuição nos níveis séricos de colesterol total e triglicerídeos quando comparados ao grupo controle.

#### 4.8.4 Marcadores de danos hepáticos, renais e pancreáticos

A tabela 14 apresenta as dosagens dos marcadores que são relacionados a danos ao funcionamento hepático, renal e pancreático.

Tabela 14- Marcadores de danos renais, hepáticos e pancreáticos obtidos do soro dos animais após o tratamento.

Dosagens	Grupos tratados		
	Grupo I	Grupo II	Grupo III
Uréia (mg/dL)	40,8 ± 5,10 <sup>a</sup>	75,93 ± 12,54 <sup>a</sup>	80,35 ± 24,67 <sup>a</sup>
Creatinina (mg/dL)	0,68 ± 0,13 <sup>a</sup>	0,8 ± 0,33 <sup>a</sup>	0,71 ± 0,25 <sup>a</sup>
AST (U / L)	179 ± 33,95 <sup>a</sup>	165 ± 23,47 <sup>a</sup>	113,5 ± 27,93 <sup>a</sup>
ALT (U / L)	10 ± 1,73 <sup>a</sup>	17 ± 6 <sup>a</sup>	7,7 ± 3,5 <sup>a</sup>
Lípase (U / L)	14,9 ± 3,37 <sup>a</sup>	23,2 ± 5,2 <sup>a</sup>	21,1 ± 9,62 <sup>a</sup>
Amilase (U / L)	1084 ± 113,58 <sup>a</sup>	938,7 ± 257,94 <sup>a</sup>	1241,7 ± 398,02 <sup>a</sup>

Grupo I: animais tratados com solução fisiológica (controle)

Grupo II: animais tratados com EB 500 mg/kg das partes aéreas coletadas no verão

Grupo III: animais tratados com EB 500 mg/kg das raízes coletadas no inverno

Letras comparam as médias entre os grupos em cada variável (horizontal). As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5 % de probabilidade.

Média e desvio padrão.

Após o tratamento, os animais tratados com os extratos de *S. rhombifolia* não apresentaram diferenças significativas nas dosagens bioquímicas quando comparados ao grupo controle.



#### 4.9 Citotoxicidade

As atividades citotóxicas em células NCTC clone 929 apresentaram os seguintes  $IC_{50}$  (Tabela 15).

Tabela 15-  $IC_{50}$  dos EB de *S. rhombifolia* frente as células NCTC.

Amostras	$IC_{50}$ (mg/mL)		
	$IC_{50}$	$IC_{50I}$	$IC_{50S}$
Partes aéreas verão	8,88	11,58	6,12
Raízes inverno	12,70	15,74	8,25

$IC_{50}$ - Índice de citotoxicidade que causa a morte celular de 50%

$IC_{50I}$ - Limite inferior

$IC_{50S}$ - Limite superior

Análise estatística- Probitos

As  $IC_{50}$  indicam que nestas doses os extratos são capazes de inibir 50% das células cancerígenas testadas.

## 5 DISCUSSÃO

O estudo de *Sida rhombifolia* nas quatro estações do ano permite um controle físico-químico dando suporte importante no controle de qualidade da droga vegetal como insumo farmacêutico. A variação sazonal influencia os metabólitos secundários, tanto na produção, concentração e distribuição de substâncias como polifenóis, flavonoides e taninos, entre outros.

Como as drogas vegetais são consideradas insumos farmacêuticos, devem estar inteiramente livres de sinais visíveis de contaminação por materiais estranhos (OMS, 1998). No geral, a Farmacopeia Brasileira (2010) preconiza um máximo de 2% de matérias estranhas nas drogas vegetais, salvo algumas exceções. Para as inflorescências da camomila, *Matricaria recutita*, máximo de 5%, nas raízes de ruibarbo, *Rheum officinalis*, 1% e para as folhas do boldo, *Peumus boldus*, até 3% de material estranho. Os valores encontrados de material estranho nas amostras de *S. rhombifolia* mantiveram-se abaixo destes valores preconizados.

Os cuidados na secagem, separação, moagem e armazenamento dos diferentes órgãos favorecem que as drogas fiquem livres de contaminantes. O contato direto da raiz com a terra favorece a aderência destes, portanto os cuidados no manejo de plantas medicinais devem ser rigorosos.

Alonso (2008) ressalta a importância na análise de diferentes tipos de cinzas para se diferenciar as cinzas fisiológicas, ou orgânicas, originadas do próprio metabolismo da planta, e as não fisiológicas provenientes de matéria estranha inorgânica (terra e areia). Os valores encontrados para *S. rhombifolia* de cinzas totais nas partes aéreas (10,85%; 11,34%; 10,99%) e raízes (8,37%; 6,16%; 9,55%) das coletas de primavera, verão e outono, respectivamente, encontram-se dentro da normalidade da maioria das plantas farmacopeicas como as folhas do capim limão, *Cymbopogon citratus*, que podem chegar a 9% de cinzas totais, as raízes do ruibarbo, 13%, e as folhas da malva, *Malva sylvestris*, que podem apresentar até 16% de cinzas totais. Houve um aumento significativo de cinzas totais tanto nas partes aéreas quanto nas raízes na coleta do inverno. Este aumento não foi constatado nas cinzas insolúveis em ácido clorídrico, o que indica que a maior parte destas cinzas é de origem fisiológica, relacionadas aos minerais presentes no conteúdo celular. O considerável aumento de cinzas totais nas amostras coletadas no inverno não foi observado nas cinzas sulfatadas, estas que oferecem um resultado mais preciso que os obtidos por calcinação simples. A uniformidade quanto às cinzas fisiológicas ajudam a garantir a legitimidade da droga, indicando que não há variação no conteúdo de minerais da droga.

Segundo Evans (1996), as cinzas insolúveis medem a quantidade de sílica presente na amostra, normalmente proveniente de impurezas. Sendo assim, os teores de cinzas insolúveis preconizados são baixos, salvo algumas plantas que são conhecidamente ricas em material orgânico, como o meimendo negro (*Hyoscyamus niger* L.), cuja Farmacopeia Europeia (2002) permite um máximo de até 12% de cinzas insolúveis em ácido clorídrico.

Os valores de cinzas insolúveis tanto nas partes aéreas, quanto nas raízes de *S. rhombifolia* foram bastante inferiores aos obtidos nas cinzas totais em todas as coletas. Estes valores também estão de acordo com valores já preconizados pela Farmacopeia Brasileira (2010), tais como as raízes de Ratânia, *Krameria triandra*, que podem apresentar até 2%, ou as folhas de boldo, *Peumus boldus*, 6% de cinzas insolúveis.

Como as cinzas insolúveis são, na maior parte, provenientes de contaminação, é provável que não haja interferência da sazonalidade. Relacionando os resultados obtidos pela determinação de matéria estranha e cinzas insolúveis em ácido clorídrico, pode-se afirmar que a droga vegetal estudada e os seus extratos estão dentro dos limites preconizados para contaminação externa.

Simões (2004) relaciona a água residual encontrada na droga vegetal seca diretamente ao seu correto armazenamento. Na Farmacopeia Brasileira há monografias estabelecendo limites de teor de umidade para diferentes plantas, os valores de *S. rhombifolia* estão de acordo com os encontrados para folhas de malva, *Malva sylvestris*, podem conter até 16% de umidade, os caules da carqueja, *Baccharis trimera*, até 8% e as raízes da genciana, *Gentiana lutea*, tem índice máximo de água de 5% (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2010). A diferença significativa encontrada nos índices de umidade nas estações do ano e nos órgãos analisados provavelmente se deva a fatores ambientais e fisiológicos da própria planta já que todas as amostras passaram pelo mesmo processo de secagem e armazenamento. No verão, quando o índice pluviométrico é maior, as raízes concentram maior quantidade de água. Devido ao calor excessivo, as folhas não mantêm essa umidade, mas suas necessidades são supridas pelas raízes. A maior quantidade de mucilagens presentes nas raízes durante o verão pode favorecer uma maior capacidade de armazenamento de água. No verão o índice de intumescência foi maior tanto para as raízes (17,6%) quanto para as partes aéreas (35,47%). Pereira (2012) relatou para as folhas de *Morus alba*, maior índice de intumescência nas amostras coletadas em setembro e em dezembro, coincidindo com os encontrados para *S. rhombifolia*. Casoti (2012) encontrou para as sementes de *Pithecoctenium echinatum* uma média de 40,13 % no índice de intumescência nas amostras analisadas e Zanetti (2002), 29,6% para as folhas de *Tropaeolum majus*.

As concentrações de polifenóis e flavonoides de *S. rhombifolia* variaram significativamente entre as partes aéreas e raízes e nas quatro estações do ano, sendo que os extratos das partes aéreas apresentaram maiores teores significativos destes metabólitos que os extratos das raízes em todas as coletas. As concentrações de taninos não sofreram variação entre os órgãos analisados e sazonalmente, provavelmente devido a principal função destes ser a proteção do vegetal contra a ação de micro-organismos e herbívoros. Esses dados estão de acordo com os encontrados por Pereira (2012) nas folhas de *M. alba* que encontrou maiores concentrações de polifenóis totais e flavonoides nas amostras coletadas em dezembro. Os metabólitos secundários, polifenóis e flavonoides, têm sua concentração influenciada pela radiação solar, explicando a maior presença destes no verão.

Os extratos de guanxuma demonstram atividade antioxidante frente ao radical DPPH sendo as amostras do inverno as que apresentaram maior eficiência. A guanxuma apresenta compostos antioxidantes, tanto nas partes aéreas quanto nas raízes, mas em concentrações diferentes, já que para se obter a mesma inibição do radical DPPH, os extratos das raízes devem estar significativamente mais concentrados. Comparando as concentrações inibitórias mínimas obtidas com os extratos de *S. rhombifolia* (partes aéreas, 172,508 µg/mL e raiz, 374,083 µg/mL) e o padrão, o ácido ascórbico (6,9 µg/mL), os extratos precisam estar vinte e cinco a cinquenta e quatro vezes mais concentrados que o ácido ascórbico. Com isso podemos inferir que a atividade antioxidante dos extratos brutos é baixa, mas está de acordo com outros dados encontrados na literatura. Os extratos brutos dos caules e folhas de *Mirabilis jalapa* apresentaram IC<sub>50</sub> trinta e seis a vinte e duas vezes maiores que o padrão ácido ascórbico (WALKER, 2007). Casoti (2012) encontrou IC<sub>50</sub> para as sementes de *P. echinatum* quarenta e cinco vezes superior ao ácido ascórbico.

O aumento da resistência bacteriana frente aos agentes terapêuticos tradicionais vem aumentando o interesse em produtos naturais a fim de se descobrir novos antimicrobianos. Bylka e colaboradores (2004) atribuem aos flavonoides e taninos a atividade antimicrobiana. Com exceção do extrato das raízes de *S. rhombifolia* provenientes do outono, que apresentou CIM de 512 µg/mL para a *Salmonella pullorum*, todas as outras cepas de bactérias Gram positivas e Gram negativas foram sensíveis aos oito extratos de *S. rhombifolia* em concentrações inferiores a 500 µg/mL. A menor CIM foi do extrato das raízes do inverno (8 µg/mL) frente *K. pneumoniae*, seguido das raízes do outono (16 µg/mL) frente *L. monocytogenes* e partes aéreas outono e inverno (32 µg/mL) frente *L. monocytogenes* e *E. coli*, respectivamente. No geral, as menores CIM's foram observadas nos extratos das raízes, portanto estes apresentam uma melhor atividade. Como já constatado, os taninos

apresentaram distribuição semelhantes entre as partes aéreas e raízes durante todo o ano, o que nos permite atribuir a estes compostos a atividade antimicrobiana dos extratos de *S. rhombifolia*.

Os extratos de *S. rhombifolia* apresentaram significativa atividade antimicrobiana frente a *S. aureus*, *E. coli* e *P. aeruginosa* quando comparados aos resultados obtidos pelas frações de *Morus alba* (PEREIRA et al., 2012).

*S. rhombifolia* não altera os níveis de glicose em animais saudáveis com a glicemia dentro da normalidade, pois não foram observadas variações significativas durante o tratamento e entre os grupos tratados e o não tratado. Os níveis de colesterol e triglicerídeos não apresentaram diferença significativa, embora os animais tratados com os extratos de guaxuma tenham apresentado níveis inferiores aos animais controle. Favoravelmente a estes dados, não foram observados aumentos significativos nos marcadores de danos hepáticos, renais e pancreáticos nos grupos tratados quando comparados ao controle, sugerindo que o uso de extratos de *S. rhombifolia* na concentração de 500 mg/kg não causa comprometimento à estas funções.

Silva e colaboradores (2005) avaliaram os efeitos da *Calendula officinalis* após trinta dias de tratamento nas doses de 250 a 1000 mg/Kg. Ao final do tratamento, os níveis séricos de glicose, triglicerídeos, colesterol total, creatinina e AST, não se mostraram alterados enquanto que a ALT de todos os grupos tratados elevaram-se significativamente no grupo controle e a uréia do grupo tratado com extrato 1000 mg/mL também apresentou aumento significativo. A infusão de raízes de *Chiococca alba* foi administrada durante sete dias em animais normais. Ao fim do tratamento, as dosagens de glicose, uréia, creatinina, AST, ALT dos animais tratados não apresentaram diferença significativa em relação ao grupo controle, enquanto que colesterol total, triglicerídeos encontraram-se diminuídos e a amilase aumentada, caracterizando dano pancreático (RODRIGUES, et al., 2006). Casoti (2012) também não observou danos hepáticos e renais após a administração do extrato de *P. echinatum* por 6 dias. Extratos de *Eugenia uniflora* (500 mg/kg) apresentaram aumento significativo da AST, colesterol total e triglicerídeos, enquanto que a glicemia manteve-se estável em relação ao grupo controle após dois dias de uso contínuo (LORA, 2007). As análises das enzimas ALT e AST são importantes indicadores de lesões nas células hepáticas (MARTIN et al., 1981). A elevação nos níveis plasmáticos de uréia e creatinina fornece indícios de sobrecarga renal, insuficiência renal aguda ou, ainda, de aumento no catabolismo protéico, e o aumento da lipase específica desordens pancreáticas. Portanto uma substância

não provoca dano renal ou hepático sem interferir na atividade desses marcadores (VIJAYALAKSHMI et al., 2000).

Os extratos de *S. rhombifolia* possuem ação citotóxica *in vitro* frente às células NCTC clone 929, sendo um indicativo para modelos experimentais de câncer. Pela mesma metodologia, Pereira (2012) avaliou a atividade citotóxica das folhas de *M. Alba* obtendo IC<sub>50</sub> de 3,24 mg/mL. O extrato de *Synadenium umbellatum* apresentou atividade citotóxica por um período de 12, 24 e 48 horas com IC<sub>50</sub> de 7,9 mg/mL, 5,2 mg/mL e 3,6 mg/mL (VALADARES et al., 2007). Os resultados encontrados para *S. rhombifolia* são úteis na estimativa de doses iniciais para testes *in vivo*.

## 6 CONCLUSÕES

- A sazonalidade e a o órgão da planta analisado têm influência sob os parâmetros físico-químicos;
- Os conteúdos de polifenóis totais e flavonoides variam durante o ano e estes se distribuem diferentemente entre as partes aéreas e raízes;
- O conteúdo de taninos não varia durante o ano e a sua distribuição é uniforme entre as partes aéreas e raízes;
- Os extratos das partes aéreas de *Sida rhombifolia* apresentam atividade antioxidante em concentrações mais baixas que os extratos das raízes;
- Os extratos das partes aéreas e raízes de *S. rhombifolia* demonstram boa atividade antibacteriana e não apresentam atividade antifúngica eficiente;
- A CIM variou entre os extratos das partes aéreas e raízes e entre as estações;
- Os extratos de *S. rhombifolia* na dose e no período avaliado não diminuem significativamente os níveis de glicose, colesterol total e triglicérides em animais saudáveis;
- Os extratos de *S. rhombifolia* não comprometem as funções hepáticas, renais e pancreáticas na dose e período avaliado;
- Os extratos de *S. rhombifolia* apresentam atividade citotóxica frente às células NCTC clone 929.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADESINA, S. K. The nigerian *Zanthoxylum*: chemical and biological values. **Afr. J. Trad.**, v.2, n.3, p. 282-301, 2005.
- AGOSTINI COSTA, T. S. et al. Avaliação de metodologias para determinação de taninos no suco de caju. **Boletim CEPPA**. Curitiba, v. 12, n. 2, p. 167-176, 1999.
- AHMED, Z.; KAZMI, S. N. H. A. Phytochemical investigation of *Abutilon pakistanicum*. **J. Nat. Prod.**, v. 5, p.1342-1344, 1990.
- ALENIUS, C. M.; VOGELMANN, T. C.; BORNMAN, J. F. A three-dimensional representation of the relationship between penetration of u.v.-B radiation and u.v.-screening pigments in leaves of *Brassica napus*. **New Phytol.**, v. 131, n. 3, p. 297-302, 1995.
- ALEXANDRE, R. F.; BAGATINI F.; SIMÕES, C.M.O. Potenciais interações entre fármacos e produtos à base de valeriana ou alho. **Rev. Bras. Farmacogn.**, v.18, p. 455-463, 2008.
- ALMEIDA, M.M.B, et al. Determinação de nutrientes minerais em plantas medicinais. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 22, p.94-97, 2002.
- ALONSO, J. **Fitomedicina**: curso para profissionais da área da saúde. 1ª ed. São Paulo: Pharmabooks, 2008.
- AMARAL, F.M.M., et al. Avaliação da qualidade de drogas vegetais comercializadas em São Luis/Maranhão. **Ver. Bras. Farmacogn.**, v.13 p. 27-30, 2003.
- AMARAL, N. V. PREVALÊNCIA DO USO DE PLANTAS MEDICINAIS ENTRE OS DIABÉTICOS DO BAIRRO GUAJUVIRAS DA CIDADE DE CANOAS/RS. **56º Congresso Brasileiro de Enfermagem**; Enfermagem hoje: coragem de experimentar muitos modos de ser [livro em formato eletrônico]; 2004 Out 24-29 [capturado 26 Mai de 2011]; Gramado (RS), Brasil. Brasília (DF): ABEn; 2005. Disponível em: <http://bstorm.com.br/enfermagem>. ISBN 85-87582-23-2
- AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Diagnosis and classification of Diabetes Mellitus. **Diabetes Care.**, v. 29, p. 43-48, 2006.
- AMORIM, M. F. D. et al. The convertible role of Kava (*Piper methysticum* G. Foster) an anxiolytic herb, on toxic hepatitis. **Rev. Bras. Farmacogn.**, v.17, p. 448-452, 2007.
- ANDERSON, D. Antioxidant defences against reactive oxygen species causing genetic and other damage. **Mutation Research**, Amsterdam, v. 350, n.1, p.103-108, 1996.
- ANDREWS, J. M. Determination of minimum inhibitory concentrations. **J. Antimicrob. Chemother.**, v. 48, n. 5, p. 5-16, 2001.
- ARIMURA, G. et al. Herbivore-induced, indirect plant defences. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1734, p. 91-111, 2005.



ASSAM, J. P. et al. In vitro antibacterial activity and acute toxicity studies of aqueous-metanol extract of *Sida rhombifolia* Linn. (Malvaceae). **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v.10, n.40, 2010.

BACHEREAU, F.; MARIGO, G.; ASTA, J. Effect of solar radiation (UV and visible) at high altitude on CAM-cycling and phenolic compound biosynthesis in *Sedum album*. **Physiol. Plant.**, v. 104, n. 2, p.203-210, 1998.

BAILEY, A. E. *Bailey's Industrial Oil and Fat Products*. 5th ed, v. 3, John Wiley: New York, 1996.

BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMAN, S. Phenolic compound in plants and agri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**, v. 99, p. 191–203, 2006.

BALUCHNEJADMOJARAD, T. et al. Beneficial effect of aqueous garlic extract on the vascular reactivity of streptozotocin diabetic rats. **J. Ethnopharmacol.**, v. 85, p. 139-144, 2003.

BARRACHO, G. S. **Taxonomia do gênero Sida L. seção cordifoliae (DC.) Fryxell (Malvaceae) no Brasil**. 1998. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco, 1998.

BARBOSA, F. et al. Sources of alpha-, beta-, gamma-, delta- and epsilon-carotenes: A twentieth century review. **Rev. Bras. Farmacogn.**, v.18, p.135-154, 2008.

BARNES, J.; ANDERSON, L. A.; PHILLIPSON, J. D. St John's wort (*Hypericum perforatum* L.): a review of its chemistry, pharmacology and clinical properties. **J. Pharm. Pharmacol.**, v. 53, n. 5, p. 583-600, 2001.

BELITZ, H. D.; GROSCH, W. *Química de los Alimentos*. Acribia: Zaragoza, 1988.

BIANCHI, M. L. P.; ANTUNES, L. M. G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Rev. Nutr.**, Campinas, v. 12, n. 2, p. 123-130, 1999.

BIEZA, K.; LOIS, R. An Arabidopsis Mutant Tolerant to Lethal Ultraviolet-B Levels Shows Constitutively Elevated Accumulation of Flavonoids and Other Phenolics. **Plant Physiol.**, v. 126, n. 3, p. 1105-1115, 2001.

BLOIS, M. S. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. **Nature**, v. 81, p. 1199-1200, 1958.

BOWERS, M. D.; STAMP, N. E. Effects of plant age, genotype, and herbivory on *Plantago* performance and chemistry. **Ecology**, v. 74, n. 6, p. 1778-1791, 1993.

BRANDÃO, M. et al. Novos enfoques para plantas consideradas daninhas. **Inf. Agropec.**, v. 11, n.1, p. 3-12, 1985.

- BRANDÃO, G. C. Isolamento biomonitorado de substâncias antimicrobianas de *Polygonum spectabil* e Mart e determinação da CIM para uma chalcona antimicrobiana. 2004. 194p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas)- Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2004.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) nº10, de 10 de março de 2010. Dispõe sobre a notificação de drogas vegetais. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, março, 2010.
- BRENTANI, R. R. et al. **Bases da Oncologia**. 1 ed., São Paulo, Livraria e editora Marina, p. 91-98, 1998.
- BRUNETON, J. *Elementos de Fitoquímica y de Farmacognosia*, Acribia, SA: Espanha, 1991.
- BURNS, A. E.; GLEADOW, R. M.; WOODROW, I. E. [Light alters the allocation of nitrogen to cyanogenic glycosides in Eucalyptus cladocalyx](#). **Oecologia**, v. 133, n. 3, p. 288-294, 2002.
- BURSILL, C. A.; ABBEY, M.; ROACH, P. D. A. Green tea extract lowers plasma cholesterol by inhibiting cholesterol synthesis and upregulating the LDL receptor in the cholesterol-fed rabbit. **Atherosclerosis**, v. 193, n. 1, p. 86-93, 2007.
- BUTLER, M. S. Reviews: The Role of Natural Product Chemistry in Drug Discovery. **Journal of Natural Products**., v.6, p. 2141-2153, 2004.
- BYLKA, W.; MATLAWSKA, I.; PILEWSKI, N. A. Natural flavonoids as antimicrobial agents. **J. Am. Nutraceutical Assoc.**, v. 7, p. 24-31, 2004.
- CADE, W. T. Diabetes-related microvascular and macrovascular diseases in the physical therapy setting. **Physical Therapy**, v. 88, n. 11, p. 1322-1335, 2008.
- CAIRNS, J. The origin of human cancers. **Nature**, v. 289, p. 253-257, 1981.
- CALDWELL, M. M. R.; ROBBERECHT, R.; FLINT, S. D. Prospects for UV-acclimation in higher plants. **Physiol. Plant.**, v. 58, p. 445-450, 1983.
- CARVALHO, J. C. T. **Formulário Médico – Farmacêutico de Fitoterapia**. Belo Horizonte: Ciência Brasiliis, p. 2-9, 2005.
- CASOTI, R. **Estudo Farmacognóstico de *Pithecoctenium echinatum* (Jacq.) Baill.** 2012. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas)- Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2012.
- CECHINEL FILHO, V. et al. Estudo Fitoquimico e Avaliacao Preliminar da Atividade Analgesica de Bauhinia Splendens. **Rev.Bras. Farm.**, v. 76, n. 4, p. 115-117, 1995.
- CERUTTI, P.A. Oxy-radicals and cancer. **Lancet**. London, v. 344, n. 8926, p. 862-863, 1994.

CHANDRA, S.; MEJIA, E.G. Polyphenolic compounds, antioxidant capacity, and quinone reductase activity of an aqueous extract of *Ardisia compressa* in comparison to mate (*Ilex paraguariensis*) and green (*Camellia sinensis*) teas. **J. Agric. Food Chem.**, v. 52, p. 3583-3589, 2004.

CHOI, C. W. et al. Antioxidant activity and free radical scavenging capacity between Korean medicinal plants and flavonoid by assay-guided comparison. **Plant Science**, v.163, p. 1161-1168, 2002.

CHUN, O. K. et al. Daily consumption of phenolics and total antioxidant capacity from fruit and vegetables in the American diet. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 85, n. 10, p. 1715-1724, 2005.

CHUNG, K. et al. Tannins and human health: a review. **Crit. Rev. Food Sci. Nutrition**, v. 38, p. 421-464, 1998.

CÍRIO, G.M., et al. Interrelação de parâmetros agronômicos e físicos de controle de qualidade de *Maytenus ilicifolia*, Mart ex. Reiss (Espinheira-santa) como insumo para indústria farmacêutica. **Visão acadêmica**, v.4, p.67-76, 2003.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). **Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeast**. Document M27-S3. Wayne, Pa: Clinical and Laboratory Standards Institute 2008.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). **Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals**, approved standard. 4<sup>a</sup> ed. Wayne, Pennsylvania: CLSI, 99p., 2009.

COELHO, H. J. Farmacovigilância: um instrumento necessário. **Cad. Saúde Pública**, v.14, p.871-875, 1998.

CONSTANTIN, J. et al. Controle de diferentes espécies de guanxuma com aplicações sequenciais de flumiclorac-pentil. **Acta Sci. Agron.**,v. 29, n. 4, p. 475-480, 2007

CORDEIRO, C. H. G.; CHUNG, M. C.; SACRAMENNTO, L. V. S. Interações medicamentosas de fitoterápicos e fármacos: *Hypericum perforatum* e *Piper methysticum*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.15, n. 3, p. 271-278, 2005.

CORRÊA, M. F. P.; MELO, G. O.; COSTA, S. S. Substâncias de origem vegetal potencialmente úteis na terapia da Asma. **Rev. Bras. Farmacogn.**, v. 18, p. 785-797, 2008.

COSTA, A. F. *Farmacognosia*. 2<sup>a</sup> ed., Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, v. III, 1032 p, 1982

COUTINHO, M. A. S.; MUZITANO, M. F.; COSTA, S. S. Flavonoides: potencial agentes terapêuticos para o processo inflamatório. **Rev. Virtual Quim.**, v. 1, n. 3, p. 241-256, 2009.

CRAGG, G. M.; NEWMAN, D. J. Discovery and development of antineoplastic agents from natural sources. **Cancer Investigation**, v. 17, n. 2, p. 153-163, 1999.

CRONQUIST, A. **An integrated system of classification of flowering plants**. New York: Columbia University Press. p.1262, 1981.

CUADRA, P.; HARBORNE, J. B.; WATERMAN, P. G. Increases in surface flavonols and photosynthetic pigments in *Gnaphalium luteo-album* in response to UV-B radiation. **Phytochemistry**, v. 45, n. 7, p. 1377-1383, 1997.

CUSHNIE, T. P.; LAMB, A. J. Antimicrobial activity of flavonoids. **Int J Antimicrob Agents**, v. 26, p. 343-356, 2005.

DA LUZ, P. L.; LAURINDO, F. R. Radicais livres e antioxidantes em doenças cardiovasculares. **Farmacol. Terap. Cardiovasc.**, v. 31, p. 551-66, 1999.

DARROW, K.; BOWERS, M. D. Phenological and population variation in iridoid glycosides of *Plantago lanceolata* (Plantaginaceae). **Biochemical Systematic Ecology**, v. 25, n. 1, p. 1-11, 1997.

DEMIRTAS, I. et al. Studies on the antioxidant potential of flavones of *Allium vineale* isolated from its water-soluble fraction. **Food Chemistry**, v. 136, p. 34-40, 2013.

DI CARLO, et al. Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. **Life Sci.**, v. 65, n. 4, p. 337-53, 1999.

DHALWAL, K.; DESHPANDE, Y. S.; PUROHIT, A. P. Evaluation of *In Vitro* Antioxidant Activity of *Sida rhombifolia* (L.) Ssp. *Retusa* (L.). **J. Med. Food.**, v.10, n 4, p- 683-688, 2007.

DHALWAL, K. et al. Hypoglycemic and hypolipidemic effect of *Sida rhombifolia* ssp. *Retusa* in diabetic induced animals. **International Journal of Phytomedicine**. v. 10, p. 160-165, 2010.

DOUGHARI, J. H.; EL-MAHMOOD, A. M.; TYOYINA, I.,. Antimicrobial activity of leaf extracts of *Senna obtusifolia* (L.). **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 22, p. 102-106, 2008.

DUSTIN, C. D.; COOPER-DRIVER, G. A. Changes in phenolic production in the hay-scented fern (*Dennstaedtia punctilobula*) in relation to resource availability. **Biochem. Syst. Ecol.** v.20, n. 2, p. 99-106, 1992.

DUVOIX, A. Chemopreventive and Therapeutic Effects of Curcumin. **Cancer letters**, v. 233, p.181-190, 2005.

EVANS, W.C. **Trease and Evans's Pharmacogony**. 14<sup>o</sup> ed. London: WB Saunders Company, 1996.

FARIAS, M. R. **Avaliação da qualidade de matérias-primas vegetais**. In: SIMÕES, C.M.O., et al. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 5. ed. Porto Alegre/ Florianópolis: Ed. Da UFRGS/ Ed da UFSC, 2004.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 5ª ed. São Paulo: **Atheneu**, 2010.

FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J. et al. Antioxidant and antibacterial activities of natural extracts application in beef meatballs. **Meat Science**, v. 69, p. 371–380, 2005.

FERRAZ, A., et al. Screening for antiproliferative activity of six southern Brazilian species of *Hypericum*. **Phytomedicine**, v.12, n. 1-2, p. 112-115, 2005.

FERREIRA, M. B.; MACEDO, G. A. R.; Laca-Buendia, J. P. Plantas daninhas com possibilidades de forrageiras para bovinos em condições de cerrado. **Planta Daninha**, v. 7, n.1, p. 41-48, 1984.

FRANKEL, E. N. Lipid oxidation. **Prog. Lip. Res.**, v. 19, p. 1-22, 1980.

FRANZOTTI, E. M. et al. Anti-inflammatory, analgesic activity and acute toxicity of *Sida cordifolia* L. (malva-branca). **J. Ethnopharmacol.**, v. 72, p. 273-278, 2000.

FRANZOTTI, E., M. **Identificação de agonistas e antagonistas de receptores nucleares em extratos de plantas medicinais: *Morus nigra* L. *Plectranthus ornatus* codd., *Ipomoea cairica* (L) sweet e *Pouteria torta* (mart.) radlk. 108f.** Tese (Doutorado em Ciências da Saúde)-Universidade de Brasília, 2006.

FREEDMAN, J. E. et al. Impaired platelet production of nitric oxide predicts presence of acute coronary syndromes. **Circulation**, v. 98, n. 15, p. 1481-1486, 1998.

GANESAN, A. The impact of natural products upon modern drug discovery. **Current opinion in chemical biology**. v. 12, p. 306-317, 2008.

GAVILLANES, M. L. et al. **Oréades**, v. 8, n.14/15, p.34-37, 1982.

GORDALIZA, M. Natural products are leads to anticancer drugs. **Clinical and translational Oncology.**, v. 9, n. 12, p. 767-776, 2007.

GÖKTÜRK, N. B.; GÜLCAN, G. O.; YAS, S. A. Evaluation of the antiradical and antioxidant potential of grape extracts. **Food Chemistry**. v. 18, 1131–1136, 2007.

GRACE, S. C.; LOGAN, B. A. Energy dissipation and radical scavenging by the plant phenylpropanoid pathway. **Phil. Trans. R. Soc. Lond.**, v. 355, n. 1402, p. 1499-1510, 2000.

GRAGG, G. M.; NEWMAN, D. J. Biodiversidade, um componente essencial na descoberta de novos fármacos. In: YUNES, R. A.; CECHINEL, V. F. **Química de produtos naturais, novos fármacos e a farmacognosia**, 1 ed. Itajaí: UNIVALI, p. 51-79, 2007.

GRANDI, T. S. M., SIQUEIRA, D. M. **Oréades**, v.8, n.14-15, p.126-39, 1982.

GRANGE, J. M.; Davey, R. W. Antibacterial properties of propolis (bee glue). **J. R. Soc. Med.**, v. 83, p.159-160, 1990.

- GROVER, J. K. et al. Traditional Indian anti-diabetic plants attenuate progression of renal damage in streptozotocin induced diabetic mice. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 76, p. 233-238, 2001.
- GUERRA, M. O. BECHO, J. R. M., MACHADO, H. Rutina: estrutura, metabolismo e potencial farmacológico. **Revista interdisciplinar de estudos experimentais**, v.1, n.1, p. 21-25, 2009.
- GUIMARÃES, S. D. A.; FARIA, A. R. Substâncias da natureza com atividade anti-*Trypanosoma cruzi*. **Rev. Bras. Farmacogn.**, v. 17, p. 455-465, 2007.
- GUPTA, A.; GUPTA, R.; LAL, B. Effect of *Trigonella foenum-graecum* (fenugreek) seeds on glycaemic control and insulin resistance in type 2 diabetes mellitus: a double blind placebo controlled study. **The journal of the Association of Physicians of India**, v. 49, p. 1057-1061, 2001.
- HALLIWELL, B. Free radicals and antioxidants: a personal view. **Nutrition Reviews**, New York, v. 52, n. 8, p. 253-265, 1994
- HARTMANN, T. Diversity and variability of plant secondary metabolism: a mechanistic view. **Ent. Exp. Appl.**, n. 80, p. 177-188, 1996.
- HASLAM, E. Plant polyphenols (syn vegetable tannins) and chemical defense - a reappraisal. **J. Chem. Ecol.**, v. 14, p. 1789--1805, 1988.
- HAVSTEEN, B. H. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. **Pharmacol. Ther.**, v. 96, n. 2-3, p. 67-202, 2002.
- HEINRICH, M. et al. **Fundamentals of Pharmacognosy and Phytoterapy**. Filadélfia: Elsevier Science, p. 287-289, 2004.
- HELDT, H. **Plant Biochemistry and Molecular Biology**., University Press: Oxford, 1997.
- HENDRIKS, H.; et al. The Content of Parthenolide and its Yield per Plant During the Growth of *Tanacetum parthenium*. **Planta Med.**, v. 63, n. 4, p.356-359, 1997.
- HENTY, P. H., et al. **Harrison`s – principles of internal medicine**. 15 ed. Rio de Janeiro: McGraw Hill Companies, 2001.
- HERTOG, M. G. et al. Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study. **The Lancet**. v. 2, n. 8878, p. 1007-1077, 1993.
- HEYWOOD, V. H. **Flowering plants of the world**. New York: Oxford University Press, 335p., 1993.
- HIRATA, K.; et al. Effects of Near-Ultraviolet Light on Alkaloid Production in *Catharanthus roseus* Plants. **Planta Med.**, v. 59, n. 1, p. 46-50, 1993.

HÖFT, M.; VERPOORTE, R.; BECK, E. [Growth and alkaloid contents in leaves of \*Tabernaemontana pachysiphon\* Stapf \(Apocynaceae\) as influenced by light intensity, water and nutrient supply.](#) **Oecologia**, v. 107, n. 2, p. 160-169, 1996.

HOLETZ, F. B. et al. Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. **Mem. inst. Oswaldo Cruz**, v. 97, n. 7, p. 1027-1031, 2002.

HOU, C. C.; LIN, S. J.; CHENG, J. T.; HSU, F. L. Antidiabetic dimeric guianolides and a lignan glycoside from *Lactuca indica*. **J. Nat. Prod.**, v. 66, p. 625-629, 2003.

IGNAT, I.; VOLF, I.; POPA, V. I. A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. **Food Chem.**, v. 126, n. 4, p. 1821-1835, 2011.

IOANNIDIS, D.; BONNER, L.; JOHNSON, C. B. UV-B is Required for Normal Development of Oil Glands in *Ocimum basilicum* L. (Sweet Basil). **Ann. Bot.**, v. 90, n.4, p. 453-460, 2002

ISLAM, M. E.; HAQUE, M. E.; MOSADDIK, M. A. Citotoxicity and Antibacterial and Antibacterial activity of *Sida rhombifolia* (Malvaceae) Grown in Bangladesh. **Phytoter. Res.**, v. 17, p.973-975, 2003.

ISWANTINI, D.; DARUSMAN, L. K.; HIDAYAT, R. Indonesian *Sidaguri* (*Sida rhombifolia* L.) as Antigout and Inhibition Kinetics of Flavonoids Crude Extract on the Activity of Xanthine Oxidase. **Journal of Biological Sciences**, v.9, n.5, p. 504-508, 2009.

JANOVSKÁ, D.; KUBÍKOVÁ, K.; KOKOSKA, L. Screening for antimicrobial activity of some medicinal plant species of traditional Chinese medicine. **Czech Journal of Food Science**, v. 21, p. 107-111, 2003.

JEONG, S. T. et al. Effects of plant hormones and shading on the accumulation of anthocyanins and the expression of anthocyanin biosynthetic genes in grape berry skins. **Plant Sci.**, v. 167, n. 2, p. 247-252, 2004.

JENKS, M. A.; TUTTLE, H. A.; FELDMANN, K. A. Changes in epicuticular waxes on wildtype and *eceriferum* mutants in *Arabidopsis* during development. **Phytochemistry**, v. 42, n. 1, p. 29-34, 1996.

JOHNSON, R. J.; PEREZ-POZO, S. E.; SAUTIN, Y. Y. Hypothesis: could excessive fructose intake and uric acid cause type 2 diabetes? **Endocrine Reviews**. v. 30, n. 1, p. 96-116, 2009.

JUNG, S. Variation in antioxidant metabolism of young and mature leaves of *Arabidopsis thaliana* subjected to drought. **Plant Sci.**, v. 166, n. 2, p. 459-466, 2004.

KAMALAKKANNAN, N.; PRINCE, P. S. M. Hypoglycaemic effect of water extracts of *Aegle marmelos* fruits in streptozotocin diabetic rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 87, p. 207-210, 2003.

KANTH, V. R.; DIWAN, P. V. Analgesic, anti-inflammatory and hypoglycaemic activities of *Sida cordifolia*. **Phytoter. Res.**, v. 13, p. 75-77, 1999.

KEHRER, J. P.; SMITH, C. V. In: FREI, B. *Natural antioxidants in human health and disease*, Academic Press: San Diego, 1992.

KEMPER, N. Veterinary antibiotics in the aquatic and terrestrial environment. **Ecological Industry**, v. 8, p.1–13, 2008.

KEYVAN DASTMALCHI, H. J. et al. Chemical composition and in vitro antioxidative activity of a lemon balm (*Melissa officinalis* L.) extract. **LWT.**, v. 41, p. 391–400, 2008.

KHALIL, N. M.; SPEROTTO, J. C.; MANFRON, M. P. Anti-inflammatory activity of the hydroalcoholic extract of leaves of *Sida rhombifolia* L. (Malvaceae). **Acta Farm. Bonaerense**, v. 25, n.2, p.260-261, 2006.

KHAN, N.; MUKHTAR, H. Tea polyphenols for health promotion. **Life Sci.**, v. 81, p. 519-533, 2007.

KILKUSKIE, R. E. et al. HIV and reverse transcriptase inhibition by tannins *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, v. 2, p. 1529-1534, 1992.

KIRTIKAR, K. R.; BASU, B. D. *Indian Medicinal Plant*, Vol. 1. India: International Book Distributor, Dehradun, p. 309-310, 1990.

KIM, Y. S. et al. Antioxidative flavonoids from the leaves of *Morus alba*. **Arch. Pharm. Res.**, v. 22, n.1, p. 81-85, 1999.

KIM, C; MOON, S. Epigallocatechin-3-gallate causes the P21/WAF1-mediated G1-phase arrest of cell cycle and inhibits matrix metalloproteinase-9 expression in TNF induced vascular smooth muscle cells. **Arch. Biochem. Biophys.**, v. 435, p. 264-272, 2005.

KIM, Y. W. et al. Metformin restores leptin sensitivity in high-fat-fed obese rats with leptin resistance. **Diabetes**, v. 55, n. 3, p. 716-724, 2006.

KISSMANN, K. G.; GROTH, D. **Plantas infestantes e nocivas II**. 2<sup>a</sup> ed. p.159-162, São Paulo: BASF, 2000.

KOEPPE, D. E.; et al. The Effect of Age and Chilling Temperature on the Concentration of Scopolin and Caffeoylquinic Acids in Tobacco. **Physiol. Plant.**, v. 23, n. 2, p. 256-266, 1970.

LABUZA, T. P. Kinetics of lipid oxidation in foods. **Crit. Rev. Food Technol.**, v. 3, p. 355-405, 1971.

LANDOLFI, R.; MOWER, R. L.; STEINER, M. Modification of platelet function and arachidonic acid metabolism by biflavonoids. Structure-activity relations. **Biochem. Pharmacol.**, v. 33, n. 9, p. 1525-1530, 1984.

LAUGHTON, M. J. et al. Inhibition of mammalian 5-lipoxygenase and cyclo-oxygenase by flavonoids and phenolic dietary additives: Relationship to antioxidant activity and to iron ion-reducing ability. **Biochem. Pharmacol.** v. 42, n. 9, p. 1673-1681, 1991.



- LARSON, R. A. Plant defenses against oxidative stress. **Arch. Insect Biochem. Physiol.**, v. 29, n. 2, p. 175-186, 1995.
- LEITE, J. P. V. **Fitoterapia: bases científicas e tecnológicas**. São Paulo: Editora Atheneu, 2009.
- LI WL, ZHENG HC, BUKURU J, DE KIMPE N. Natural medicines used in the traditional chinese medical system for therapy of diabetes mellitus. **J. Ethnopharmacol.** v. 92, p. 1–21, 2004.
- LINDROTH, R. L.; HSIA, M. T. S.; SCRIBER, J. M. Seasonal patterns in the phytochemistry of three *Populus* species. **Biochem. Syst.**, v.15, n. 6, p. 681-686, 1987.
- LIS-BALCHIN, M.; DEANS, S. G. Bioactivity of selected plant essential oils against *Listeria monocytogenes*. **Journal of Applied Bacteriology.** v. 82, p. 759–762, 1997.
- LISKOV, T. P. **Guia de estudo por Mahan e Escott-Stump: krause alimentos, nutricao & dietoterapia**. 11 ed. São Paulo: Roca, 2005.
- LOPES, R. M. et al. Farmacologia de flavonoides no controle hiperlipidêmico em animais experimentais. **Biotecnologia, ciência e desenvolvimento**. São Paulo, n. 17, p. 18-22, 2000.
- LOPES, M. F. G. et al. Estudo mineral de plantas medicinais. **Rev. Bras. Farmacogn.**, n.12, p.115-116, 2002.
- LOPEZ-REVUELTA, A. et al. Membrane cholesterol contents influence the protective effects of quercetin and rutin in erythrocytes damaged by oxidative stress. **Chem. Biol Interact.**, v. 161, n. 1, p. 79-91, 2006.
- LORA, J. **AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DE FOLHAS DE *Eugenia uniflora* L. (MYRTACEAE)**. 2007. 59f. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais)- Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, 2007.
- LORENZI, H.; MATOS, F.J. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas**. São Paulo: Instituto Plantarum, 2002.
- LORENZI, H. **Plantas daninhas do Brasil**, 4.ed. Nova Odessa: Plantarum, p.421, 2008.
- MABBERLY, D. J. **The plant book**. Cambridge: Cambridge University Press. p.661, 2000.
- MACHADO, H. et al. Flavonoides e seu potencial terapêutico. **Bol. Cent. Biol. Reprod.**, Minas Gerais, v. 26, n. único, p. 37, 2008.
- MARIATH, I. R. et al. Plants of the American continent with antimalarial activity. **Rev. Bras. Farmacogn.**, v. 19, p. 158-192, 2009.
- MARKAVERICH, B. M. et al. Bioflavonoid interaction with rat uterine type II binding sites and cell growth inhibition. **J. Steroid Biochem.**, v. 30, p. 71-78, 1988.

- MARKHAM, K. R.; et al. Possible protective role for 3',4'-dihydroxyflavones induced by enhanced UV-B in a UV-tolerant rice cultivar. **Phytochemistry**, v. 49, n. 7, p. 1913-1919, 1998.
- MARLES, R. J.; FARNSWORTH, N. R. Antidiabetic plants and their active constituents. **Review Phytomedicine**, v. 2, p. 137-189, 1995.
- MARQUES, L.C. **Curso de Fitoterapia**. Recife: Sindicato das Indústrias de Produtos Farmacêuticos do Estado de Pernambuco, 1996.
- MARTIN, D. W.; MAYES, P. A.; RODWELL, Y. W. **HARPER'S Review of Biochemistry**, California: Lange Medical. 1981.
- MELLO, J. P. C.; Santos, S. C. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENCKEL, E. P. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. UFSC: Porto Alegre; 3ª ed., 2001.
- MENEZES, F. S. et al. Hypoglycemic activity of two Brazilian *Bauhinia* species: *Bauhinia forfi cata* L. and *Bauhinia monandra* Kurz. **Rev. bras. Farmacognosia**, v. 17, n. 1, p. 8-13, 2007
- MENKOVIC., N.; SAVIKIN-FODULOVIC., K.; SAVIN, K. Chemical composition and seasonal variations in the amount of secondary compounds in *Gentiana lutea* leaves and flowers. **Planta Med.**, v. 66, n.2, p. 178-180, 2000.
- MESQUITA, M. L. **Potencial antitumoral de substâncias isoladas de plantas do Cerrado brasileiro: estudos preliminares do mecanismo de ação da atividade citotóxica**. 2009. Tese de Doutorado. Brasília, 2009.
- MEYER, D. J.; COLES, E. H.; RICH, L. J. **Medicina de Laboratório Veterinária: interpretação e diagnóstico**. São Paulo: Roca, p-47-61, 1995.
- MILLER, H. E. A simplified method for the evaluation of antioxidant. **Journal of American Oil Chemist's Society**, v. 48, n. 2, p. 91, 1971.
- MOLLER, D. E. New drug targets for type 2 diabetes and the metabolic syndrome **NATURE**, v. 414, p. 821-827, 2001.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE (BR). **Ações de Enfermagem para o controle do câncer: uma proposta de integração ensino-serviço**. Rio de Janeiro (RJ): Instituto Nacional do Câncer, 2002.
- MONKS, A. Feasibility of a Highflux Anticancer Drug Screening Using a Diverse Panel of Cultured Human Tumor Cell Lines. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 83, p. 757-766, 1991.
- MOTTA, V. T. **Bioquímica clínica para o laboratório: princípios e interpretações**. 4. ed. Porto Alegre: Médica Missau, 2003.
- NAMIKI, M. Antioxidants/antimutagens in food. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, v. 29, n. 4, p. 273-300, 1990.

NCCLS. National Committee for Clinical Laboratory Standards. **Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically**, 3.ed. v. 24, p. 114-121, 1997.

NEGRI G. Diabetes melito: Plantas e princípios ativos naturais hipoglicemiantes. **Rev. Bras. Ciênc. Farm.**, v. 41, n. 2, p. 121-142, 2005.

NETO, F. et al. Systematic use of *Solidago microglossa* DC in the cicatrization of open cutaneous wounds in rats. **Braz. J. Morphol. Sci.**, v. 21, p. 207-210, oct., 2009.

NOGUEIRA, M. A., et al. A novel sunscreen agent having antimelanoma activity. **II Farmaco**, v. 58, n. 11, p. 1163-1169, 2003.

NOLDIN, V. F. et al. Composição química e atividades biológicas das folhas de *Cynara scolymus* L. (alcachofra) cultivada no Brasil. **Quím. Nova**, v. 26, n. 3, 2003.

OKYAR, A.; CAN, A.; AKEV, N.; BAKTIR, G.; SUTLÜPINAR, N. Effect of *Aloe vera* leaves on blood glucose level in type I and type II diabetic rat models. **Phytother. Res.**, v. 15, p. 157-161, 2001.

OLIVEIRA T. T. et al. Efeito de antocianina e própolis em diabetes induzida em coelhos. **Medicina**, Ribeirão Preto, v. 35, p. 464-469, 2002.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Quality Control methods for medicinal plants materials**. Genebra, 1998.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **World cancer reports**, 2008.

PAREKH, J.; CHANDA, S. V. In vitro antimicrobial activity and phytochemical analysis of some Indian medicinal plants. **Turkish Journal of Biology**. v. 31, p. 53-58, 2007.

PEREIRA, I. R.O.; ABDALLA, D. S. P. Soy isoflavones reduce heat shock proteins in experimental atherosclerosis. **Eur. J. Nutr.**, v. 45, p. 178-186, 2006.

PEREIRA, C. B. **Determinação de Parâmetros Físico-Químicos, Atividade Anti-inflamatória e Antimicrobiana de *Morus alba* L. (Moraceae)**. 2012. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas)- Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2012.

PIEME, C. A. et al. *In vitro* cytotoxicity and antioxidant activities of five medicinal plants of Malvaceae family from Cameroon. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 29, n. 3, p. 223-228, 2010.

PIETTA, P. G. Flavonoids as antioxidants. **J. Nat. Prod.**, v. 63, p. 1035-1042, 2000.

PINHEIRO, D. L. J.; ARAGÃO, D. M. O. Potencial hipoglicemiante e padronização do extrato metanólico de *Cecropia pachystachya*. **34ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, Florianópolis, 2001.

POLYCHRONOPOULOS, E. et al. Effect of black and green tea consumption on blood glucose levels in non-obese elderly men and women from mediterranean islands (medis epidemiological study). **Eur. J. Nutr.**, v. 47, p. 10-16, 2008.

POULSEN, H. E.; PRIEME, H.; LOFT, S. Role of oxidative DNA damage in cancer initiation and promotion. **European Journal of Cancer Prevention.**, Oxford, v.7, n.1, p.9-16, 1998.

PRAKASH, A.,VARMA, R. K.,GHOSAL, S. Alkaloid Constituents of *Sida acuta*, *S. humilis*, *S. rhombifolia* and *S. spinos*. **Planta Med.**,v. 43, p.384, 1981.

PROESTOS, C.; et al. RP-HPLC analysis of the phenolic compounds of plant extracts. Investigation of their antioxidant capacity and antimicrobial activity. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 53, p.1190–1195, 2005.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Quim. Nova**, v. 29, n. 4, p. 755-760, 2006.

RANG, H. P. et al. **Farmacologia**. 6ª ed., Elsevier: Rio de Janeiro, 2007.

RANJAN, S. R. et al. Evaluation of antidiarrhoeal activity of *Sida rhombifolia* L. root. **IRJP.**, v. 5, n. 9, p. 157-160, 2011.

REIN, D. et al. Epicatechin in human plasma: In vivo determination and effect of chocolate consumption on plasma oxidation status. **Journal of Nutrition**, n.130, p. 2109-2114, 2000.

REYMOND, P.; et al. Differential Gene Expression in Response to Mechanical Wounding and Insect Feeding in Arabidopsis. **The Plant Cell**, v. 12, n., p. 707-719, 2000.

REYNOLDS, J. E. F. **Martindale-the Extra Pharmacopeia**. 31<sup>st</sup> ed. London: Royal Pharmaceutical Society of Great Britain, 1996.

RIO, R.G.W. **Métodos de controle químico de amostras de própolis**. 1996. Dissertação (Mestrado em Fármaco e Medicamentos)- Universidade de São Paulo, São Paulo, 1996.

RIOS, J. L.; RECIO, M. C.; VILLER, A. Screening as methods for natural products with antimicrobial activity: Review of the literature. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 23, p. 127-149, 1988.

ROCA-PÉREZ, L.; et al. Seasonal cardenolide production and *Dop5βr* gene expression in natural populations of *Digitalis obscura*. **Phytochemistry**, v. 65, n. 13, p. 1869-1878, 2004.

RODRIGUES, E. R. et al. Estudo de parâmetros bioquímicos em ratos sob a ação de planta medicinal *Chiococca alba* (L.) Hitchc. **Rev. Bras. Pl. Med.**, v. 8, n. 4, p. 169-172, 2006.

ROTAVA, R. et al. Atividade antibacteriana, antioxidante e tanante de subprodutos da uva. **Ciência Rural**, v. 39, n.3, 2009.

- RUBINSTEIN, L. V., et al. Comparison of in vitro anticancer-drug-screening data generated with a tetrazolium assay versus a protein assay against a diverse panel of human tumor cell lines. **Journal of National Cancer Institute**, v. 82, p. 1113-1118, 1990.
- SAID, O.; KHALIL, K.; FULDER, S.; AZAIZEH, H. Ethnopharmacological survey of medicinal herbs in Israel, the Golan Heights and the West Bank Region. **J. Ethnopharmacol.**, v. 83, p. 251-265, 2002.
- SANTOS, R. D. et al. III Diretrizes Brasileiras sobre Dislipidemias e Diretriz da Prevenção da Aterosclerose: Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. **Arq. Bras. Cardiol.**, São Paulo, v. 77, n. 3, 2001.
- SCALBERT, A. Antimicrobial properties of tannins. **Phytochemistry**, v. 30, p. 3875-3883, 1991.
- SCHENKEL, E.P., et al. **Saponinas**. In: SIMÕES, C.M.O., et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5.ed. Porto Alegre/ Florianópolis: Ed. Da UFRGS/Ed. Da UFSC, 2004.
- SENGUL, M., et al. Total phenolic content, antioxidant and antimicrobial activities of some medicinal plants. **Pak. J. Pharm. Sci.**, v.22, n.1, p.102-106, 2009.
- SHARAPIN, N. Normatização da Indústria Farmacêutica. In: **Seminário sobre Industrialización y Legalizacion de Products Fitofarmacéuticos em Iberoamérica e Reunión Construtiva de La Red Iberoamericana de Productos Fitofarmacéuticos**. Guatemala, p. 42-44, 1996.
- SHARAPIN, N. **Controle de Qualidade de Plantas Mediciniais e Fitofarmacos - Prescrições Farmacopéicas**. Boletim Oficial de la corporación para la investigación Multidisciplinaria y el desarrollo sustentable de la Flora Nacional v.2, n. 3, p. 3-7, 2001.
- SHOJI, Y; NAKASHIMA, H. Glucose lowering effects of power formulation of african black tea extract in Kk-A(Y)/Tajcl diabetic mouse. **Arch. Pharm. Res.**, v. 29, n. 9, p. 786-794, 2006.
- SIES, H. Oxidative stress: From basic research to clinical application. **Am. J. Med.**, v. 91, p. 31-38, 1991.
- SIES, H. Strategies of antioxidant defence. Review. **European Journal of Biochemistry**, Berlin, v. 215, n. 2, p. 213-219, 1993.
- SIES, H.; STAHL, W. Vitamins E and C, b-carotene, and other carotenoids as antioxidants. **American Journal of Clinical Nutrition.**, Bethesda, v.62, n.6, p.1315-1321, 1995.
- SILVA, M. G. V.; et al. Chemical variation during daytime of constituents of the essential oil of *Ocimum gratissimum* leaves. **Fitoterapia**. v. 70, p. 32-34, 1999.
- SILVA, M. M. et al. Structure-antioxidant Activity Relationships of Flavonoids: A Re-examination. **Free Radical research**, v. 36, n. 11, p. 1219-1227, 2002.

SILVA, E. J. R. et al. Avaliação do tratamento subcrônico com o extrato hidroalcoólico de *Calendula offi cinalis* L. sobre os parâmetros bioquímicos e hematológicos em ratas Wistar. **Rev. Bras. Farmacogn.**, v. 15, n. 2, p. 88-93, 2005.

SILVA, M. S. A. et al. Atividade antimicrobiana e antiaderente *in vitro* do extrato de *Rosmarinus offi cinalis* Linn. sobre bactérias orais planctônicas. **Rev. Bras. Farmacogn.**, v. 18, n. 2, p. 236-240, 2008.

SIMIC, M. G.; JAVANOVIC, S. V. In: ; HO, C. T. et al. *Inactivation of oxygen radicals by dietary phenolic compounds in anticarcinogenesis*. **Food Phytochemicals for Cancer Prevention**, p. 20, Washington, 1994.

SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre. Florianópolis: Universidade Federal do Rio Grande do Sul/ Universidade Federal Santa de Santa Catarina. 2004.

SIMPSON, A. J. G., CABALLERO, O. L., DANI, S. U. **Oncogenes e genes supressores**. In: BRENTANI, et al. *Bases da Oncologia*. 1 ed., São Paulo, Livraria e editora Marina, p. 91-98, 1998.

SINGHAL, R. L. et al. Quercetin down-regulates signal transduction in human breast carcinoma cells. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, v. 208, p. 425–431, 1995.

SKEHAN, P. et al. New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening. **Journal of National Cancer Institute**, v. 82, p. 1107-1118, 1990.

SOARES, M. S. **Estudo do melhoramento do sabor de cacau (*Theobroma cacao* L.) através de ação enzimática durante a fermentação**. Campinas, 2001. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 2001.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. IV Diretriz Brasileiras sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose do Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia . **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 88, supl. 1, 2007.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. **Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes**, 3 ed. Itapevi, SP: A. Araújo Silva Farmacêutica, 2009.

SORG, O. Oxidative stress: a theoretical model or biological reality? **C. R. Biol.**, v. 327, p. 649-662, 2004.

SPRING, O.; BIENERT, U. J. Capitata Glandular Hairs from Sunflower Leaves: Development, Distribution and Sesquiterpene Lactone Content. **J. Plant Physiol.**, v. 130, n. 4/5, p. 441-448, 1987.

STEFFEN, S. J. **Plantas Mediciniais – Usos populares tradicionais**. Instituto Anchieta de pesquisas/ UNISINOS, p.47, 2010.

STEINBERG, F. M. et al. Cocoa and chocolate flavonoids: Implications for cardiovascular health. **Journal of the American Dietetic Association**, n. 2; v. 103; p. 215-223, 2003.

STEVENS, P. F. Angiosperm Phylogeny Website. Version 12, July 2012. Disponível em: <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>. Acesso em: 20 de novembro de 2012.

STÉVIGNY, C.; BAILLY, C.; QUETIN-LECLERCQ, J. Cytotoxic and Antitumor Potentialities of Aporphinoid Alkaloids. **Curr. Med. Chem. Anti-Cancer Agents**, v.5 p.173-182, 2005.

TAHARA, A journey of twenty-five years through the ecological biochemistry of flavonoids. **S. Biosci., Biotechnol., Biochem.**, v. 71, n. 6, p. 1387-1404, 2007.

TATTINI, M.; et al. Differential accumulation of flavonoids and hydroxycinnamates in leaves of *Ligustrum vulgare* under excess light and drought stress. **New Phytol.**, v. 163, n. 3, p. 547-561, 2004.

TEIXEIRA, J. B.; NOGUEIRA, M. S. Câncer gástrico: fatores de risco em clientes atendidos nos serviços de atenção terciária em um município do interior paulista. **Revista Latino Americana de Enfermagem**, v. 11, n.1, p. 43-43, 2003.

TEKE, G. N. et al. Antimicrobial and antioxidant properties of methanol extract, fractions and compounds from the stem bark of *Entada abyssinica* Stend ex A. Satabie. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 11, n. 57, p. 1-8, 2011.

THOMAS, S. R.; WITTING, P. K.; DRUMMOND, G. R. Redox control of endothelial function and dysfunction: molecular mechanisms and therapeutic opportunities. **Antioxid. Redox Signal**, v. 10, n. 10, p. 1713-1765, 2008.

TOLEDO, A. C.; HIRATA, L. L.; BUFFON, M. C. M.; MIGUEL, M. D.; MIGUEL, O. G. Fitoterápicos: uma abordagem farmacotécnica. **Revista Lecta**, v. 21, n. 1/2, p. 7-13, 2003.

URSO, M. L.; CLARKSON, P. M. Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. **Toxicology**, v. 189, n. 1, p. 41-54, 2003.

VALADARES, M. C.; CASTRO, N. C.; CUNHA, L. C. *Synadenium umbellatum*: citotoxicidade e danos ao DNA de células da medula óssea de camundongos. **Rev. Bras. Cienc. Farm.**, v. 43, n. 4, 2007.

VANDEN BERGHE, D.A.; VLIETINCK, A. J. Screening methods for antibacterial and antiviral agents from higher plants. In DEY, P. M. and HARBONE, J. B. **Methods in Plant Biochemistry**, p. 47-69, London: Academic Press, 1991.

VEIGA, J. V. F., PINTO, A. C., MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura. **Quím. Nova**, v.28, n.3, p.519-528, 2005.

VEIT, M.; et al. Diurnal Changes in Flavonoids. **J. Plant Physiol.** v. 148, n.3/4, p. 478-482, 1996

VENDRUSCOLO, G. S., MENTZ, L. A. Levantamento etnobotânico das plantas utilizadas como medicinais por moradores do bairro Ponta Grossa, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. **IHERINGIA, Sér. Bot.**, Porto Alegre, v. 61, n. 1/2, p. 83-103, 2006.

VENKATESH, et al. Antinociceptive and anti-inflammatory activity of *Sida rhomboidea* leaves. **J. Ethnopharmacol.** v. 67, n. 2, p. 229-232, 1999.

VIJAYABASKAR, P.; SHIYAMALA, V. Antioxidant properties of seaweed polyphenol from *Turbinariaornata* (Turner) J. Agardh, 1848. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 2, n. 1, p. 90-98, 2012.

VIJAYALAKSHMI, T; MUTHULAKSHMI, V; SACHDANANDAM, P. Toxic studies on biochemical parameters carried out in rats with Serankottai nei, a siddha drug-milk extract of *Semecarpus anacardium* nut. **J. Ethnopharmacol.**, v. 69, p. 9-15, 2000.

VOIRIN, B.; BRUN, N.; BAYET, C. Effects of daylength on the monoterpene composition of leaves of *Mentha x piperita*. **Phytochemistry**, v. 29, n. 7, p.749-755, 1990.

VOLPATO, G. T.; DAMASCENO, D. C.; CALDERON, I. M. P.; RUDGE, M. V. C. Revisão de plantas brasileiras com comprovado efeito hipoglicemiante no controle do Diabetes mellitus. **Rev. Bras. Pl. Med.**, v. 4, p. 35-45, 2002.

WALKER, C. I. B. *Mirabilis jalapa* L. **Atividade farmacológica e citotóxica**. 2007. Dissertação (Ciências Farmacêuticas)- Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2007.

WALSH, S. E. et al. Development of bacterial resistance to several biocides and effects on antibiotic susceptibility. **Journal of Hospital Infection.**, v. 55, n. 2, p. 98-107,2003.

WANG, H.; PROVAN, G. J.; HELLIWELL, K. Tea flavonoids: their functions, utilisation and analysis. **Trends Food Sci. Technol.**, v. 11, n. 4-5, p. 152-60, 2000.

WARRIER, P. K. **Compendium of 500 Species**, Vol. 5. Orient Longman, Hyderabad, p. 135-137, 1994.

WATERMAN, P. G.; MOLE, S. **Analysis of phenolic plant metabolites**. 1<sup>st</sup> ed., Blackwell Scientific Publications: Oxford, 1994.

WINK, M. Evolution of secondary metabolites from ecological and molecular phylogenetic perspective. **Phytochemistry**, v. 64, p. 3-19, 2003.

WU, Q.; WANG, M.; SIMON, J. E. Determinations of proanthocyanidins in fresh grapes and grape products using liquid chromatography with mass spectrometric detection. **Rapid. communications in Mass Spectrometry**, v. 84, n. 2, p. 2062-2068, 2005.

WU, X. J; HANSEN, C. Antioxidant capacity, phenolic content, polysaccharide content of *Lentinus edodes* grown in Whey permeate based submerged culture. **J. Food Sci.**, v. 73, p. 434-438, 2008.

YAMADA, H.; WATANABE, H. Tea polyphenols in preventing cardiovascular diseases. **Cardiovasc. Res.**, v. 1573, n. 2, p. 439-440, 2007.



YAMAURA, T.; TANAKA, S.; TABATA, M. Light-dependent formation of glandular trichomes and monoterpenes in thyme seedlings. **Phytochemistry**, v. 28, n. 3, p. 741-744, 1989.

YEOMANS, V. C.; LINSEISEN, J.; WOLFRAM, G. Interactive effects of polyphenols, tocopherol and ascorbic acid on the Cu<sup>2+</sup> mediated oxidative modification of human low density lipoproteins. **Eur. J. Nutr.**, v. 44, p. 422–428, 2005.

YU, T. W.; ANDERSON, D. Reactive oxygen species induced DNA damage and its modification: a chemical investigation. **Mutation Research**, Amsterdam, v. 379, n. 2, p. 201-210, 1997.

ZAINOL, M. K. et al. Antioxidative activity and total phenolic compounds of leaf, root and petiole of four accessions of *Centella asiatica* (L.) Urban. **Food Chem.**, v. 81, p. 575-581, 2003.

ZANETTI, G. D. *Tropaleum majus* L. MORFO-HISTOLOGIA, FITOQUÍMICA, ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E TOXICIDADE. 2002. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Farmacêutica)- Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2002.

ZHENG, Z.; WU, M. Cadmium treatment enhances the production of alkaloid secondary metabolites in *Catharanthus roseus* **Plant Sci.**, v. 166, n. 2, p. 507-514, 2004.

ZIDORN, C.; STUPPNER, H. Evaluation of chemosystematic characters in the genus *Leontodon* (ASTERACEAE). **Taxon.**, v. 50, n. 1, p. 115-133, 2001.

<[http://www.floradecanarias.com/sida\\_rhombifolia.html](http://www.floradecanarias.com/sida_rhombifolia.html)> Acesso em 22 nov. 2012.