



**HELOINA NATHALLIÊ MARIANO DA SILVA**

**PROPRIEDADES FARMACOLÓGICAS DE *Chamissoa altissima***

**INCONFIDENTES – MG**

**2016**

**HELOINA NATHALLIÊ MARIANO DA SILVA**

**PROPRIEDADES FARMACOLÓGICAS DE *Chamissoa altissima***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado com o pré-requisito de conclusão do curso de Graduação em Licenciatura em Ciências Biológicas do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais – Campus Inconfidentes, para obtenção do título de Licenciada em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. DSc. Wallace Ribeiro Corrêa

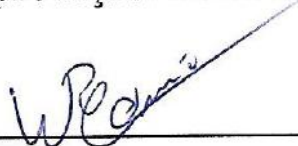
**INCONFIDENTES – MG**

**2016**

**HELOINA NATHALLIÊ MARIANO DA SILVA**

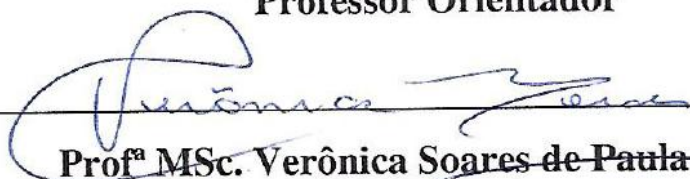
**PROPRIEDADES FARMACOLÓGICAS DE *Chamissoa altissima***

**Data de aprovação: 18 de Outubro de 2016**



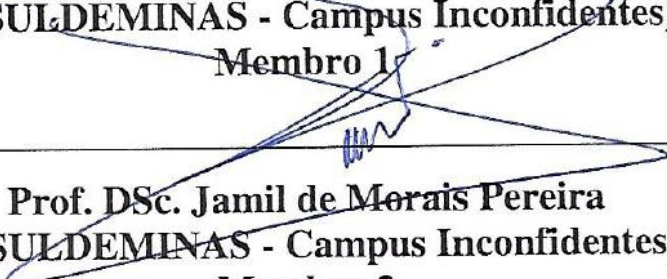
---

**Prof. DSc. Wallace Ribeiro Corrêa  
(IFSULDEMINAS - Campus Inconfidentes)  
Professor Orientador**



---

**Profª MSc. Verônica Soares de Paula Moraes  
(IFSULDEMINAS - Campus Inconfidentes)  
Membro 1**



---

**Prof. DSc. Jamil de Moraes Pereira  
(IFSULDEMINAS - Campus Inconfidentes)  
Membro 2**

*Eu Dedico*

*A minha família, sobretudo aos meus pais por serem exemplos na minha  
vida de força e coragem.]]*

## *Agradecimentos*

Agradeço primeiramente a Deus, por permitir que eu esteja concluindo um dos sonhos da minha vida, que era realizar uma graduação de Licenciatura e também por sempre estar ao meu lado nas minhas tomadas de decisões, dando-me toda força e coragem de que tanto necessito, demonstrando o seu amor por mim através de pessoas muito especiais que Ele colocou na minha vida durante essa etapa, pessoas que eu nunca imaginava que um dia eu conheceria, assim como meus amigos mexicanos.

Agradeço, aos meus pais, por terem me incentivado a estudar desde quando eu era criança, tendo toda paciência necessária para ensinar-me a ler, a escrever e a fazer contas, do jeito simples deles, mas com todo o amor e carinho. Agradeço-os por estarem também comigo nessa etapa tão importante para mim, fazendo-me acreditar em mim mesma quando nem eu mesma acreditava, mostrando-me o quanto eu poderia ser capaz.

Agradeço aos amigos da Rep Happy: Eduarda Nathalliê, Daiane Souza, Franciane Heloisa, Claudinéia Paiva, Daniele Lima, Mirella Tamara, Márcia Beatriz e William Pereira por todos esses anos de amizade e carinho e por fazerem o meu dia sempre mais feliz, com suas músicas, piadas, risadas altas e por chorarem comigo sempre quando precisei, oferecendo-me todo o amparo.

Agradeço ao companheirismo do Carlos Eduardo, que trouxe paz, tranquilidade e boas energias aos meus dias, sendo essencial para a efetivação desse trabalho.

Agradeço aos meus colegas de sala, que sempre foram meus companheiros e amigos para todas as horas, principalmente ao Matias Landim, a Fernanda Costa, a Danielle Pádua, a Fernanda Coltri e ao João Batista.

Agradeço ao professor Doutor Marcos Magalhães e toda sua equipe da zoologia, por terem contribuído com a minha formação através de projetos e estágios, ensinando-me a escrever - e a ser - melhor.

Agradeço, de coração, ao professor orientador Doutor Wallace Ribeiro Corrêa, por ter me dado a oportunidade de fazer pesquisa junto a ele, a qual teve uma grandiosa colaboração em minha vida acadêmica, apoiando-me, incentivando, tendo toda paciência comigo, ensinando tudo o que sei em relação a laboratório e, além de tudo, por ser um grande amigo e pai para mim. Agradeço também ao professor Nilton Souto, pela paciência e pelos conselhos para a realização desse trabalho.

Agradeço às meninas do Laboratório, Suelen Simão, Tamiris Rocha, Roberta Souza e Jenniffer Albano, por serem companheiras e auxiliarem-me em tudo, sendo uma verdadeira equipe, pois sempre estávamos unidas para todas as horas, dando coragem umas para as outras, quando nada parecia dar certo.

Agradeço aos professores Verônica Soares de Paula Moraes e Jamil de Moraes Pereira, por terem aceitado o meu convite para participarem da minha banca e pelas contribuições dadas a esse trabalho.

Agradeço aos professores que tive no México, Claribel, Angel e Gonzalo, que me ensinaram tudo sobre laboratório e metabolismo secundário das plantas, tendo toda a paciência comigo, até quando não me entendiam pelo idioma, sendo eles cruciais para o meu aperfeiçoamento e para a elaboração desse trabalho. Mais que professores, tornaram-se meus grandes amigos.

Agradeço a todos os professores do IFSULDEMINAS – Campus Inconfidentes, que contribuíram para a minha formação tanto acadêmica como pessoal. Agradeço também, a UNICAMP por disponibilizar seu laboratório para algumas análises desse trabalho.

Agradeço a todos que contribuíram de forma direta e indireta para a realização desse trabalho. Meu muito OBRIGADA!

*Ninguém é tão ignorante,  
que não tenha algo a ensinar.*

*Ninguém é tão sábio  
que não tenha algo a aprender.*

*Blaise Pascal*

## RESUMO

As plantas, através de seu metabolismo secundário, produzem compostos de natureza química muito diversificados, de acordo com cada grupo taxonômico, o que confere a elas uma capacidade terapêutica, capaz de tratar várias doenças, sejam elas crônicas ou agudas. O emprego desse recurso natural vem sendo utilizado pela humanidade desde a antiguidade, estando relacionada com a história e com a cultura de cada povo, que sempre buscou na natureza recursos viáveis contra as enfermidades que o assombravam. Todavia, atualmente várias regiões do mundo ainda continuam a usufruir dos fitoterápicos, de acordo com suas condições sociais, suas crenças e sua cultura; além disso, a indústria farmacêutica também lançou o seu olhar para esse tipo de alternativa, uma vez que estes poderiam contribuir para o desenvolvimento de novos fármacos no combate às doenças atuais, como a resistência das bactérias frente aos antibióticos. Isso fez com que ampliassem os estudos em relação à sua comprovação científica, até então ausente de conhecimentos concretos da validação desses usos. Assim, o presente trabalho tem por objetivo avaliar a capacidade antioxidante, anti-inflamatória e antimicrobiana de *Chamissoa altissima*, uma espécie praticamente intocada do ponto de vista farmacológico e que está presente em uma família de grande destaque farmacêutico. Para isso, foram realizados os ensaios DPPH, Orac<sub>FL</sub> e Folin-Ciocalteu para a análise da atividade antioxidante, também foi utilizado o ensaio da desnaturação da albumina BSA para a avaliação anti-inflamatória e o ensaio de microdiluição em placas de 96 poços para a avaliação antimicrobiana, utilizando as concentrações de 0,5 e 1 mg/mL. Os resultados para a análise antioxidante demonstram que esta planta apresenta uma considerável atividade antioxidante, sendo o valor de IC<sub>50</sub> do DPPH 108,45 para o extrato bruto etanólico e >200 para o extrato bruto hexânico; para o ensaio Orac<sub>FL</sub> os valores foram de 3049,27 μmol de TE/g para o extrato bruto etanólico e 2320 μmol de TE/g para o extrato bruto hexânico, que se relacionaram com os resultados dos conteúdos fenólicos realizado pelo Folin-Ciocalteu. Os resultados da atividade anti-inflamatória demonstraram serem satisfatórias para o extrato bruto etanólico, que inibiu 53,1% da desnaturação proteica na concentração de 400 μg/mL. Os resultados da atividade antimicrobiana também apresentaram atividades positivas de ambos os extratos, principalmente em relação às bactérias Gram-positivas. Frente a esses resultados, conclui-se que essa espécie apresenta atividade antioxidante, anti-inflamatória e antimicrobiana, o que corrobora com a importância da triagem da bioatividade das plantas, especialmente dessa espécie, possibilitando assim futuras prospecções.

**Palavras-chave:** Atividades biológicas; família Amaranthaceae; plantas medicinais.



## ABSTRACT

Plants through, their secondary metabolism, producing compounds of chemical nature very diverse, according to each taxonomic group, which gives them a therapeutic capacity, capable of treating many diseases, whether chronic or acute. The application of this natural resource has been used by mankind since ancient times, being related to the history and culture of each people, which has always sought in nature reasonable efforts against diseases that haunted them. However, recently, many regions in the world still continue using phytotherapies according to their social conditions, belief and culture; moreover, the pharmaceutical industry has also given its attention to this type of alternative, since these could contribute in the development of new drugs to combat recent diseases, such as bacteria resistance from antibiotics. This led to an enlargement of studies related to its scientific proof, which until now lack the concrete knowledge of these uses. Therefore, this study aims to evaluate the antioxidant capacity, anti-inflammatory and antimicrobial of the species *Chamissoa altissima*, which is a species practically untouchable on the pharmacological point of view and that is present in a family of large pharmaceutical highlight. For this, it was performed DPPH assays, Orac<sub>FL</sub> and Folin-Ciocalteu for the analyses of antioxidant activity, also it was performed an assay of BSA albumin denaturation for the anti-inflammatory activity and the assay of 96-well plate microdilution for the antimicrobial, using the concentrations of 0,5 and 1 mg/ml. The results for antioxidant analysis show that this plant presents a considerable antioxidant activity, being the value of IC<sub>50</sub> from DPPH 108,45 to crude ethanolic extract and > 200 for the crude hexane extract; for the assay of Orac<sub>FL</sub> the values were 3049,27 μmol of TE/g for the crude ethanol extract and 2320 μmol of TE/g for the crude hexane extract, which were related to the results of the phenolic contents performed by Folin-Ciocalteu reagent. The results of the anti-inflammatory activity proved to be satisfactory for the crude ethanolic extract, that showed inhibition of more than 50% at a concentration of 400 μg/mL, inhibiting 53,1% of the denaturation. The results of the antimicrobial activity also showed positive activities for both extracts, especially in relation to the Gram-positive bacteria. Front of these results, it was concluded that the species has antioxidant activity, anti-inflammatory and antimicrobial support the importance of screening for bioactivity of plants, especially of this species, thus enabling future prospects.

**Key words:** Biological activities; Amaranthacea family; medicinal plants

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Espécie <i>Chamissoa altissima</i> .....	17
<b>Figura 2:</b> Exemplos de flavonoides com atividade anti-inflamatória.....	22
<b>Figura 3:</b> Processo de escoamento dos solventes orgânicos.....	25
<b>Figura 4:</b> Extração do extrato, com o evaporador rotatório.....	25
<b>Figura 5-</b> Porcentagem de inibição do radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) pelos extratos brutos etanólicos (EBH) e hexânicos (EBH).....	29
<b>Figura 6:</b> Atividade anti-inflamatória <i>in vitro</i> pelo ensaio BSA do extrato bruto etanólico e hexânico de <i>Chamissoa altissima</i> .....	32

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Chave para espécies.....	15
<b>Tabela 2:</b> Chave para as variedades.....	16
<b>Tabela 3:</b> Distribuição dos gêneros da família Amaranthaceae no Brasil nas suas correspondentes tribos.....	17
<b>Tabela 4:</b> Plantas com atividades antioxidantes presentes na família Amaranthacea.....	19
<b>Tabela 5:</b> Conteúdo de fenólicos solúveis totais e capacidade antioxidante pelos métodos DPPH e ORAC <sub>FL</sub> do extrato etanólico de <i>Chamissoa altissima</i> .....	30
<b>Tabela 6:</b> Atividade antibacteriana dos extratos brutos da planta inteira de <i>Chamissoa altissima</i> , expressa em termos de concentração biocida mínima, CBM (mg/mL), determinada pela técnica de microdiluição.....	34

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	13
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	15
2.1 GÊNERO <i>Chamissoa</i> Kunth .....	15
2.2 FAMÍLIA AMARANTHACEA.....	17
2.3 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.....	18
2.4 ATIVIDADE ANTI-INFLAMATORIA.....	20
2.5 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA.....	22
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	24
3.1 COLETA DO MATERIAL VEGETAL.....	24
3.2 PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS BRUTOS.....	24
3.3 ENSAIOS PARA A ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.....	25
3.3.1 Ensaio para a avaliação da atividade antioxidante DPPH.....	25
3.3.2 Ensaio orac <sub>FL</sub> .....	25
3.3.3 Ensaio para a avaliação da atividade antioxidante Folin.....	26
3.4 ENSAIO PARA A AVALIAÇÃO DE ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA.....	26
3.5 ENSAIO PARA A AVALIAÇÃO ANTIMICROBIANA.....	27
3.6 ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	28
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	29
4.1 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.....	29
4.2 ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA.....	32
4.3 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA.....	33
5. CONCLUSÃO.....	36
6. REFERÊNCIAS.....	37

## 1. INTRODUÇÃO

O homem, desde os primórdios, vem buscando alternativas viáveis contra as doenças que assombram a humanidade. Um dos recursos naturais mais utilizados por eles para este fim eram as plantas. Duarte (2006) traz várias evidências sobre esse uso, que datam desde 4000 a.C, a exemplo do manuscrito Egípcio “*Ebers papyrus*”, de 1500 a. C, que contém 811 prescrições e 700 drogas, além do primeiro texto chinês sobre plantas medicinais, datando de 500 a.C, trazendo a descrição de nomes, doses e indicações do uso de plantas para o tratamento de doenças.

No Brasil, o emprego das plantas medicinais para fins terapêuticos existia antes da colonização do país, quando os índios utilizavam-nas e depois transmitiam seus conhecimentos para os colonizadores, o que as tornou largamente empregadas na medicina caseira (LIMA *et al.*, 2012).

Apesar do grande progresso da medicina a partir da segunda metade do século XX, as plantas ainda são utilizadas pelas comunidades para a manutenção da saúde e alívio das enfermidades, principalmente em países em desenvolvimento (SOUZA & FELFILI, 2006). Os principais motivos estão relacionados às condições de pobreza e à falta de acesso aos medicamentos, associados à fácil obtenção das plantas e à tradição popular do seu uso com fins medicinais (VEIGA JUNIOR & PINTO, 2005).

Segundo Firmo *et al.* (2011), esse grande emprego dos fitoterápicos aumenta a necessidade de mais estudos relacionados ao esclarecimento e informações sobre os efeitos colaterais e toxicológicos das plantas, tornando-os mais seguros, uma vez que estas são utilizadas há séculos; no entanto, só estão sendo comprovadas cientificamente nos dias atuais.

Cabe ao Brasil investir mais em pesquisas neste âmbito, já que o país apresenta uma rica biodiversidade em sua flora, que pode ser revertida para a saúde da população, economizando tempo e dinheiro, através dos conhecimentos já existentes por parte das comunidades (PEREIRA & CARDOSO, 2012).

Alguns estudos recentes já vêm comprovando essa eficácia dos produtos naturais no controle das enfermidades, como por exemplo o estudo de Pereira & Cardoso (2012), que relatam a capacidade *in natura* de inúmeros fitoquímicos, destacando os compostos fenólicos, os nitrogenados, os carotenoides, o ácido ascórbico e os tocoferóis, que estão relacionados a uma significativa atividade antioxidante, estando associados a uma diminuição de mortalidade por doenças crônicas não transmissíveis, como por exemplo o câncer.

Outros estudos descobriram que as propriedades farmacológicas apresentadas pelas plantas medicinais estão associadas a metabólitos secundários, gerados a partir do metabolismo da glicose, por meio de dois intermediários principais: o ácido quínico e o acetato (SIMÕES *et al.*, 2001). Cientes de tal, vários pesquisadores vêm utilizando esses metabólitos a produção de substâncias farmacologicamente ativas, na busca de tentar solucionar importantes problemas atuais, como a resistência microbiana às drogas sintéticas (BEZZERA, 2008).

Nesse contexto, destaca-se a família Amaranthacea, um importante táxon vegetal com alta complexidade taxonômica e plantas com importância alimentícia e medicinal (VEGA-GALVEZ *et al.*, 2010; SALVADOR, 2005). Assim, espécies dessa família têm despertado interesse no meio científico, pois estudos farmacológicos demonstram serem promissoras para a prospecção de agentes biologicamente ativos, já que muitas espécies apresentam atividades biológicas documentadas em literatura, como antipirética, antimicrobiana, anti-inflamatória, analgésica, antioxidante e antitumoral (LEAL *et al.*, 2010; SALVADOR, 2005).

A contribuição deste estudo é avaliar as atividades antioxidante, anti-inflamatória e antimicrobiana da espécie *Chamissoa altissima*, uma planta praticamente intocada do ponto de vista químico e farmacológico.

## 2. REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 GÊNERO *Chamissoa* Kunth.

As espécies pertencentes a este gênero estão inseridas na família Amaranthaceae e caracterizam-se por serem ervas ou subarbustos, eretos ou decumbentes, hermafroditas, ou raramente, ginomonóico. Suas folhas são alternas, membranáceas, sésseis ou pecioladas. Em relação à flor, apresenta cinco tépalas iguais e um androceu com cinco estames e seus frutos são em forma de cápsulas (SENNA *et al.*, 2010).

Esse gênero apresenta duas espécies e cinco variedades, sendo elas: *Chamissoa acuminata* var. *acuminata*, *C. acuminata* var. *swansonii*, *C. acuminata* var. *maximilianii*, *C. altissima* var. *altissima* e *C. altissima* var. *rubella*. Ambas as espécies estão distribuídas nas regiões tropicais do Novo Mundo e no Oeste da Índia (SOHMER, 1977).

Segundo Senna *et al.* (2010), no Brasil, no estado da Bahia, são encontrados todos os táxons referidos para o gênero e, de acordo com os autores, as duas espécies diferenciam-se pela morfologia da inflorescência e pelo tipo de arilo, observado na Tabela 1.

**Tabela 1:** Chave para espécies

1. Plantas hermafroditas; flores bissexuadas; estilete proporcionalmente mais curto que o estigma.....	1. <i>C. acuminata</i>
1'. Plantas ginomonóicas; flores bissexuadas e femininas; estilete proporcionalmente mais longo que o estigma.....	2. <i>C. altissima</i>

Fonte: (SENNA *et al.*, 2010)

No entanto, as variedades das espécies de *Chamissoa acuminata* são distintas, pelas folhas, cor das flores e forma dos estiletos, de acordo com a Tabela 2.

**Tabela 2:** Chave para as variedades

1. Erva ereta; folhas lineares a estreito-lanceoladas, hifódroma; flores vivas apresentando tépalas com faixa dorsal vinácea.....	a. <i>Chamissoa acuminata</i> var. <i>acuminata</i>
2. Tubo estaminal 0,5-0,6 mm compr., ápice do ovário com um espessamento semelhante a um anel ao redor do estilete.....	b. <i>C. acuminata</i> var. <i>maximilianii</i>
2'. Tubo estaminal 1,5-1,7 mm compr., ápice do ovário entumescido.....	c. <i>C. acuminata</i> var. <i>swansonii</i>

Fonte: (SENNA *et al.*, 2010)

A espécie do presente estudo, *Chamissoa altissima*, apresenta duas variedades que se diferenciam pelas suas flores, tendo a variedade *C. altissima* var. *altissima* flores de coloração esbranquiçada, creme ou amarelada, e a *C. altissima* var. *rubella*, flores vináceas. Ambas as variedades são neotropicais, incluindo as Antilhas; no Brasil, a sua ocorrência estende-se do Norte até o Sudeste (SENNA *et al.*, 2010).

Segundo Oyama *et al.* (2010), essa espécie floresce durante todo o ano, é conhecida vulgarmente no Paraná como mofungo-gigante e tem hábito escandente, flores paniculadas, frutos subglobosos e sementes pretas.

Com relação a fitofisionomia, tanto a espécie *Chamissoa altissima* quanto a *Chamissoa acuminata* e suas variedades são encontradas predominantemente em clareiras e bordos de matas e áreas perturbadas por ação antrópica (SIQUEIRA, 1992; SOHMER, 1977;).

Em estudo realizado em Porto Alegre por Barros & Kinupp (2008), a espécie *Chamissoa altissima* destacou-se em alguns minerais; como por exemplo o magnésio, na concentração maior que 700 mg.100 g<sup>-1</sup> MS, o manganês 89,2 mg.100 g<sup>-1</sup>MS, o Zinco 6,8 mg.100 g<sup>-1</sup>MS e o boro 4,6 mg.100 g<sup>-1</sup>MS, indicando o seu potencial nutricional.

Mors *et al.* (2000) relatam o uso medicinal do gênero *Chamissoa* Kunth, indicando que esta pode apresentar alternativas viáveis para fins terapêuticos; no entanto, ainda são poucos os trabalhos explorando a espécie *Chamissoa altissima*, seja em relação à sua morfologia ou composição química, o que torna necessárias pesquisas mais profundas, vez que essa espécie pertence a uma família de grande destaque farmacológico.





**Figura 1:** Espécie *Chamissoa altissima*. IFSULDEMINAS – INCONFIDENTES, 2016.

## 2.2 FAMÍLIA AMARANTHACEAE

De acordo com Souza & Lorenzi (2008), a família Amaranthaceae apresenta 2000 espécies em 170 gêneros. Para o Brasil, são citados, 145 espécies em 19 gêneros, sendo 71 espécies endêmicas de diferentes biomas brasileiros.

**Tabela 3:** Distribuição dos gêneros da família Amaranthaceae no Brasil nas suas correspondentes tribos.

CELOSIEAE	AMARANTHEAE	GOMPHRENEAE	CHENOPODIEAE
<i>Celosia</i>	<i>Achyranthes</i>	<i>Alternanthera</i>	<i>Chenopodium</i>
	<i>Amaranthus</i>	<i>Blutaparon</i>	<i>Sarccornia</i>
	<i>Chamissoa</i>	<i>Froelichiella</i>	<i>Salsola</i>
	<i>Cyathula</i>	<i>Gomphrena</i>	
	<i>Herbstia</i>	<i>Iresine</i>	
		<i>Lecosia</i>	
		<i>Pfaffia</i>	
		<i>Pedersenina</i>	
		<i>Quartenella</i>	
		<i>Hebanthe</i>	
		<i>Froelichia</i>	
		<i>Xerosiphon</i>	
		<i>Guilleminea</i>	
		<i>Pseudoplantago</i>	

(Adaptado de MARCHIORETTO *et al.*, 2010; OGUNDIPE & CHASE, 2009; SAGE *et al.*, 2007)

Sua distribuição é cosmopolita, com exceção das regiões mais frias do Hemisfério Norte, com predominância nas regiões tropicais e subtropicais da América e da África (SIQUEIRA, 2004).

As espécies são encontradas em ambientes distintos, como cerrado, campos rupestres, beira de matas, restingas, terrenos baldios e cultivados, embora tenham mais preferências por ambientes abertos; outras podem ser encontradas no interior de florestas. Seus hábitos de crescimento são diferenciados, no entanto, predominam-se ervas, subarbustos, arbustos ou trepadeiras, anuais ou perenes (SOUZA & LORENZI, 2005).

De acordo com Marchioretto (2008), a família não é exigente em solos férteis e vários gêneros foram encontrados em Latossolo, caracterizado por apresentar baixos teores de nutrientes e alta concentração de alumínio.

Além da ocorrência de espécies em diferentes ecossistemas, a família também compreende muitas espécies com atividades biológicas, que são usadas na alimentação e na medicina, principalmente seus órgãos subterrâneos, pois as substâncias extraídas são de interesse farmacêutico (MUSSURY & SCALON, 2007).

Estudos de sua composição química demonstram a presença de antraquinonas, auronas, betacianinas, betalainas, betaxantinas, cromocalcoides, exdiesteroides, flavonoides, protoalcalóides, saponinas, esteroides e triterpenos. Esses compostos apresentam várias atividades biológicas, sendo alguns deles as betalaínas e as betaxantinas, utilizados na indústria como corantes e conservantes e os flavonoides que atuam como antioxidante, antimicrobiano, antitumoral, anti-inflamatório, citotóxico, antiprotozoário, antidiabético, antialérgico e antiviral (FERREIRA *et al.*, 2004).

### 2.3 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Os antioxidantes são um conjunto heterogêneo de substâncias presentes no organismo humano, nos alimentos e nas plantas, sendo cruciais para a vida, pois são capazes de inibir as oxidações geradas pelo organismo.

A oxidação, por sua vez, acontece naturalmente na vida aeróbica, no metabolismo humano que produz radicais livres, estando envolvidos na produção de energia, fagocitose, regulação do crescimento celular, sinalização intercelular e síntese de substâncias biológicas importantes (BARREIRO *et al.*, 2006).

No entanto, se a produção de radicais livres supera a capacidade antioxidante em um sistema vivo, várias patologias podem ser desencadeadas, bem como doenças

cardiovasculares, doença de Alzheimer e de Parkinson, câncer, seguidas de doenças inflamatórias e imunológicas como artrite, asma, alergia e outras relacionadas com o processo de envelhecimento (SALVADOR *et al.*, 2006).

Córdova & Navas (2000) definem os radicais livres como sendo moléculas instáveis, ou fragmentos de moléculas, sem um par de elétrons nas suas órbitas exteriores, altamente reativos, que, com a sua ativação, podem ocasionar processos traumáticos nos tecidos pelo desencadeamento de diversas cadeias de reações. Se um radical reage com um não-radical, é então produzido um novo radical livre.

A partir dos anos 90, descobriram-se as influências que os produtos naturais apresentavam perante o estresse oxidativo gerado por esses radicais, dando início a estudos mais detalhados nessa área. Hung *et al.* (2005) demonstram tal quando relatam o aumento drástico nas últimas décadas nos números de publicações nesse sentido, que passaram de 1.684 em 1993 para 6.510 em 2003.

Nessas décadas, constatou-se que as micromoléculas encontradas na dieta alimentar, que impedem o dano gerado pelos radicais livres, são os tocoferóis, carotenoides, flavonoides, entre outras, que podem ser de origem sintética, como os (BHA- butil-hidroxianisol, BHT- butil-hidroxitolueno entre outros (BARREIROS *et al.*, 2006).

Atualmente, os produtos naturais vêm tendo uma aplicação terapêutica mais difusa do que os medicamentos sintéticos, por estes apresentarem uma ideia de que são mais seguros e por serem fontes naturais de substâncias antioxidantes (VELLOSA *et al.*, 2007).

Várias espécies da família Amaranthaceae apresentam essas micromoléculas, possuindo grande potencial antioxidante, como descrito na Tabela 4, que aborda as substâncias identificadas e os respectivos métodos utilizados.

**Tabela 4:** Plantas com atividades antioxidantes presentes na família Amaranthaceae.

<b>Espécies</b>	<b>Atividade antioxidante/ Método empregado</b>	<b>Substâncias Identificadas</b>	<b>Referências</b>
<i>Amaranthus caudatus</i> <i>Amaranthus paniculatus</i>	Positiva/ $\beta$ -caroteno-ac.linoleico Positiva/ $\beta$ -caroteno-ac.linoleico	Fenólicos	Klimczar; Malecka; Pacholek (2002)
<i>Amaranthus hybridus</i> <i>Celosia argenta</i>	Positiva (Baixa atividade) /DPPH Negativa/DPPH	-	Iwalewa <i>et al.</i> ; (2005)
<i>Amaranthus sp.</i>	Positiva/Inibição da lipoperoxidação	-	Lindsey; Motsei; Jager (2002)
<i>Amaranthus paniculatus</i>	Positiva/Quimioluminescência- luminol, ABTS	-	Haque <i>et al.</i> ; (2006)

<i>Alternanthera sessilis</i>	Positiva/ DPPH Inibição da lipoperoxidação	Fenólicos	Shyamala <i>et al.</i> ; (2005)
<i>Amaranthus tricolor</i> <i>Amaranthus cruentus</i> <i>Amaranthus powellii</i> <i>Iresine herbstii</i> <i>Celosia cristata</i> <i>Gomphrena globosa</i> <i>Celosia plumosa</i>	Positiva/DPPH	Betalainas (Betacianinas e Betaxantinas)	Cai; Sun; corke (2005)/ Cai; Sun; (2003)
<i>Alternanthera tenella</i>	Positiva/ORAC	Flavonoides	Salvador <i>et al.</i> ; (2006)
<i>Amaranthus paniculatus</i> <i>Amaranthus gangeticus</i> <i>Amaranthus blitum</i> <i>Amaranthus viridis</i> <i>Amaranthus hybridus</i>	Positiva (principalmente A. blitum)/ $\beta$ -caroteno - ac.linoleico, DPPH	Fenólicos	Amin; Norazaidah; Hainida (2006)
<i>Amaranthus hybridus</i>	Positiva(Baixaatividade)/DPPH, FRAP	Fenólicos	Chitindingu <i>et al.</i> ; (2007)
<i>Achyranthes aspera</i>	Positiva(Baixa atividade)/DPPH, ABTS, FRAP	Fenólicos (Baixo conteúdo)	Surveswaran <i>et al.</i> ; (2007)
<i>Pfaffia glomerata</i>	Positiva/ TBARS	-	De Souza <i>et al.</i> ; (2005)

(-): Ausentes ou não identificadas.

Fonte: (TOMEI, 2008).

## 2.4 ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA

A inflamação é uma resposta do organismo à uma infecção ou dano tecidual, incluindo dois mecanismos de defesa: uma resposta inespecífica (resposta inata), que acomete certas características na região inflamada (vermelhidão, edema, calor, dor e perda de função) e uma resposta imunológica, na qual há produção de anticorpos específicos, no intuito de combater um determinado agente invasor. No entanto, a resposta inflamatória inicial pode não ser satisfatória e se complexar para um estado crônico (COUTINHO *et al.*, 2009).

Tal resposta é dividida em dois processos: agudo e crônico. Isto se dá de acordo com a idade, a duração ou o tempo de evolução do mesmo. A inflamação aguda é de curta duração, por alguns minutos ou horas ou no máximo de um a dois dias, estando relacionada ao estímulo causal, tendo como principal resultado a exsudação de fluidos e proteínas do plasma e emigração de leucócitos, predominantemente neutrófilos. Já a inflamação crônica é mais insidiosa: sua duração é mais prolongada, sendo caracterizada pelo influxo de linfócitos e macrófagos com a proliferação de vasos sanguíneos (neoangiogênese) e do tecido conjuntivo (fibroplasia) (ROITTI *et al.*, 2013).

O processo inflamatório se desenvolve pela atuação de mediadores químicos, que intervêm nas respostas imunológicas, sendo os responsáveis pelas características da área inflamada.

A maioria desses mediadores foram estudados, resultando em conhecimentos que possibilitam o desenvolvimento de drogas anti-inflamatórias. Entretanto, os principais responsáveis pelo processo inflamatório são: histamina, metabólitos do ácido araquidônico (prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos), fator de ativação plaquetária, bradicinina, óxido nítrico, neuropeptídeos e citocinas; destes, os principais alvos das terapias farmacológicas recentemente são a histamina, o complemento, o ácido araquidônico e as citocinas (ROITTI *et al.*, 2013).

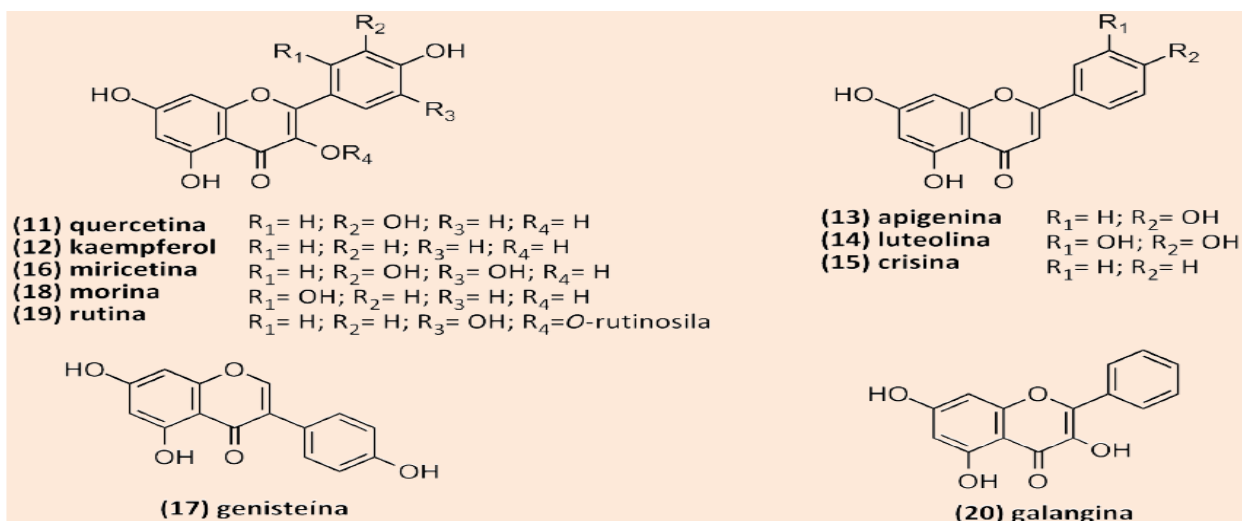
De acordo com Antonow *et al.* (2007), um dos anti-inflamatórios mais utilizados atualmente são os glicocorticoides (GC), dos quais os mais conhecidos são: a cortisona, hidrocortisona, beclometasona, betametasona, dexametasona, metilprednisolona, prednisolona e triancinolona.

A ação dos GC consiste na transcrição de várias citocinas, na indução do gene codificador do COX-2 (Ciclo-Oxigenase 2) em monócitos, na inibição da transcrição da fosfolipase A2 induzida por citocinas, na diminuição da ativação e da proliferação e sobrevivência de eosinófilos e linfócitos T (DAMIANI *et al.*, 2001).

Além dos glicocorticoides, há também, segundo Batlouni (2010), os fármacos não esteroidais (AINEs) que são muito utilizados. Eles atuam na inibição da atividade da Ciclo-Oxigenase e conseqüentemente em todas as sínteses de prostaglandina (PG), por isso são eficazes no combate a dores e febres. A enzima Ciclo-Oxigenase apresenta duas formas (COX-1 e COX-2). Ambas são inibidas pelos anti-inflamatórios, entretanto, a inibição da COX-1 pode acarretar sérios problemas como ulceração gástrica, já que esta é produzida na mucosa gástrica. Ciente de tal fato, há então vários fármacos AINES, que utilizam inibidores seletivos para a COX-2, todavia, ensaios *in vitro* apresentaram uma possibilidade dos inibidores seletivos causarem doença coronariana aguda (ROBINS *et al.*, 2008).

A descoberta de moléculas bioativas naturais com propriedades farmacológicas, podem ser uma alternativa a esses medicamentos sintéticos, evitando assim, graves efeitos colaterais.

De acordo com Coutinho *et al.* (2009), os flavonoides são moléculas bioativas que apresentam diversas atividades biológicas, como capacidade anti-inflamatória, sendo de grande potencial farmacêutico, conforme ilustrado na Figura 2.



**Figura 2:** Exemplos de flavonoides com atividade anti-inflamatória

Fonte: (COUTINHO *et al.*, 2009).

As plantas apresentam os flavonoides como um de seus constituintes químicos, o que permite que algumas delas apresentem ação anti-inflamatória. Essa atividade dos flavonoides está relacionada com sua capacidade de inibir enzimas implicadas no metabolismo do ácido araquidônico, como a Ciclo-Oxigenase, lipooxigenase, fosfato de dinucleótido de adenina e nicotinamida (NADPH) oxidase, xantina oxidase e radicais livres. (MIDDLETON *et al.*, 2000)

Alguns estudos relatam a atividade anti-inflamatória em espécies da família Amaranthaceae, a exemplo de Neto *et al.* (2005), que estudaram essa atividade nas raízes de *Pfaffia glomerata* (Spreng), e Wiese (2008), em *Alternanthera tenella* Colla, entre outros estudos, os quais comprovam que as espécies dessa família podem apresentar esse tipo de atividade biológica.

## 2.5 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Os microrganismos podem infectar o ser humano através da inalação, ingestão, transmissão sexual, picadas de insetos ou mordidas de animais ou injeção; no entanto, caracteriza-se uma infecção bacteriana quando esta consegue atravessar as barreiras cutâneas ou as mucosas, alcançando os tecidos corporais e não sendo removida por meio de uma resposta imune (ROBINS *et al.*, 2008).

Segundo os dados da Organização Mundial da Saúde (OMS), as infecções causam 25% das mortes em todo o mundo e 45% nos países menos desenvolvidos (WANNMACHER, 2006). É notório que aproximadamente a metade das mortes, nos países menos desenvolvidos, está ligada às infecções, comprovando ser esta uma das maiores preocupações atuais. Essa preocupação é justificada pelo alto índice de resistência de algumas bactérias por antibióticos.

De acordo com Oliveira (2006), os fatores que levam à resistência das bactérias as drogas, estão relacionadas ao uso indiscriminado dos antibióticos, principalmente os de amplo espectro, prescritos pelos médicos em determinados casos onde são inviáveis ou dispensáveis ou até mesmo quando a prescrição é somente para contentar o paciente. Já segundo Santos (2004), a resistência bacteriana pode ocorrer tanto em nível hospitalar como na comunidade, devido a dispersão desses microrganismos no ambiente. Entretanto, os hospitais tornam-se mais propícios por apresentar pessoas imunodeprimidas e sujeitas a diversas terapias medicamentosas e/ou invasivas, o que as tornam suscetíveis a adquirir uma infecção hospitalar.

Atualmente, muitas das enfermidades causadas por patógenos como *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus*, ente outros, e infecções causadas por patógenos reemergentes como por exemplo *Mycobacterium tuberculosis*, não podem ser tratadas com os antimicrobianos existentes (SANTOS, 2004). Esse fato traz uma preocupação em nível mundial em relação à saúde humana. Pesquisas em busca de antimicrobianos fazem-se necessárias e podem contribuir significativamente no desenvolvimento do campo da saúde, encontrando substâncias mais promissoras e menos tóxicas na corrida contra a resistência e o surgimento de microrganismos patogênicos (MICHELIN *et al.*, 2005).

Para este fim, pesquisas têm outorgado atenção aos fitoterápicos, como uma alternativa nesta busca por drogas antimicrobianas, já que estes apresentam atividades biológicas, produzidas pelo metabolismo secundário bacteriano, capazes de tardar o crescimento ou erradicar certos microrganismos. Essa alternativa já vem sendo utilizada empiricamente há séculos e só foram comprovadas cientificamente nos dias atuais (DUARTE, 2006).

A atividade antimicrobiana das plantas tem sido conferida a pequenos terpenóides e compostos fenólicos como timol, carvona, carvacrol, mentol e muroleno, que também, na forma pura, exibem atividade antibacteriana ou antifúngica (DELAMARE *et al.*, 2007).

Com o uso de plantas na manipulação de fitoterápicos, o Brasil teria muitos benefícios, visto que o país apresenta uma rica biodiversidade, acarretando uma redução na importação de medicamentos, promovendo assim, a autossuficiência e fornecendo à população um maior número de medicamentos e uma maior valorização das tradições populares. É fato que o sistema público de saúde no Brasil não possui uma política de assistência farmacêutica capaz de suprir as necessidades medicamentosas da população, especialmente na região nordeste brasileira, onde a população carente apresenta dificuldades para obter os medicamentos essenciais (SILVA *et al.*, 2006).

### 3. MATERIAL E METÓDOS

#### 3.1 COLETA DO MATERIAL VEGETAL

O material vegetal da espécie *Chamissoa altissima* foi coletado em seu habitat natural no município de Inconfidentes – MG no bairro Pinhalzinho, com as respectivas coordenadas geográficas: latitude 22°22' 6.93" S e longitude 46°20'20.61" S, em abril de 2015 no período da manhã, pelo professor Wallace Ribeiro Corrêa (IFSULDEMINAS), sendo transportado ao laboratório de Biociências do IFSULDEMINAS – Inconfidentes para processamento.

#### 3.2 PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS BRUTOS

Para preparação dos extratos brutos, a planta foi estabilizada e seca em estufa com ar circulante à temperatura de 40°C. O material vegetal da espécie *Chamissoa altissima* (planta total) foi pulverizado em moinho de faca (MERSE – A11 basic). O pó da planta foi pesado (69,6g), acondicionado em *Erlenmeyer* e submetido ao processo de maceração com solventes orgânicos em ordem crescente de polaridade (hexano para baixa polaridade e etanol para alta polaridade), na proporção massa de pó/solvente 1:20 (massa/volume). O solvente foi removido em evaporador rotatório, sobre pressão reduzida, conforme as figuras 3 e 4, até a obtenção do extrato bruto hexânico e etanólico.





**Figura 3:** Processo de escoamento dos solventes orgânicos. IFSULDEMINAS – Inconfidentes, 2015.



**Figura 4:** Extração do extrato, com o evaporador rotatório. IFSULDEMINAS – Inconfidentes, 2015

### 3.3 ENSAIOS PARA A ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

#### 3.3.1 Ensaio para a avaliação da atividade antioxidante DPPH

O radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) é estável, de coloração púrpura e, quando reduzido, passa a ter coloração amarela. Neste ensaio, foi avaliada a capacidade das amostras-teste e amostra-padrão de reduzir o radical DPPH. Para tanto, 2,6 mg da amostra foi dissolvida em etanol (1 mL), obtendo-se uma solução estoque. Várias diluições foram preparadas, 6,25 a 200 ppm (partes por milhão) em etanol e, para cada amostra (10  $\mu$ L), foi adicionado 50  $\mu$ L de solução de DPPH (10 mg/mL). Decorridos 30 minutos, a absorbância foi medida em espectrofotômetro, por comprimento de onda ( $\lambda$ ) igual a 517 nm (nanômetro) e a porcentagem de atividade antiradical calculada (HUANG; OU; PRIOR, 2005; CUENDET *et al.*, 1997). Como controle positivo, foi utilizado o flavonoide quercetina (40 ppm) e, como controle negativo, o diluente. Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

#### 3.3.2 Ensaio ORAC<sub>FL</sub>

A capacidade antioxidante do extrato foi mensurada utilizando-se o ensaio ORAC<sub>FL</sub> com fluoresceína como sonda fluorescente e AAPH (2,2'-Azobis (2-amidiopropane) dihydrochloride) como fonte de radical livre; esta fora realizada no Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas, Campinas/SP. Os experimentos foram realizados em placas de microtitulação de 96 poços de acordo com metodologia descrita por Prior *et al.*,

(2003) e Ou *et al.*, (2001), com modificações de Salvador *et al.*, (2006). Com isso, foram preparadas soluções estoques dos extratos (50 mg/mL) em tampão fosfato/DMSO (99:1, v/v) e diluídas 100, 500, 1000, 5000 e 10000 vezes com tampão fosfato. A leitura foi realizada utilizando-se filtro fluorescente (excitação  $\lambda = 485$  nm e emissão  $\lambda = 528$  nm) em leitor de microplaca, monitorando a cinética de reação a cada 2 min por um período de 70 min (temperatura = 37°C). Os resultados foram expressos como  $\mu\text{mol}$  de Trolox equivalente (TE) por grama de extrato ou fração em base seca ( $\mu\text{M}$  de TE/g). Como controle positivo, foram utilizados a quercetina e o ácido cafeico e, como controle negativo, a solução diluente. Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

### 3.3.3 Ensaio para a avaliação da atividade antioxidante Folin-Ciocalteu

A amostra foi analisada quanto ao seu conteúdo de fenólicos totais solúveis, utilizando-se o método colorimétrico Folin-Ciocalteu (PICCINELLI *et al.*, 2004; WU *et al.*, 2004). Para tanto, os extratos foram solubilizados em etanol, sendo preparadas diluições com concentrações entre 6,25 e 200 ppm. Para a substância de referência (ácido gálico), foi elaborada a curva analítica na concentração de 6,25; 12,5; 25; 50; 100 e 200 ppm. A absorbância da amostra e amostra-padrão foram medidas em espectrofotômetro ( $\lambda = 730$  nm) e os resultados foram expressos em mg de equivalentes de ácido gálico (GAE) por grama de extrato ou fração em base seca (mg de GAE/g). Como controle positivo, foi utilizado o flavonoide quercetina (40 ppm) e como controle negativo, o diluente. Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

### 3.4 ENSAIO PARA AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA

A atividade anti-inflamatória *in vitro* do extrato bruto foi realizada utilizando a técnica de desnaturação de albumina BSA. O ensaio baseia-se na capacidade do extrato em inibir a desnaturação da proteína (BSA), sendo a desnaturação de proteínas de tecido uma das causas bem documentadas de doenças inflamatórias e artríticas (CHOPAIDE *et al.*, 2012). Para isto, 1,0 mg dos extratos foram dissolvidos em 20  $\mu\text{L}$  de DMSO e 980  $\mu\text{L}$  de tampão fosfato (pH 7,0), sendo obtida uma solução a 1 mg/mL. A solução estoque de BSA 10% foi obtida adicionando 10  $\mu\text{g}$  de BSA em 100 mL de tampão fosfato (pH 7,0). Os experimentos foram realizados em placas de microtitulação de 96 poços, onde as amostras-teste foram analisadas nas concentrações finais de 400, 200, 100, 50, 25 e 12,5  $\mu\text{g/mL}$ . O controle negativo foi obtido utilizando-se 20  $\mu\text{L}$  de água destilada adicionado a 180  $\mu\text{L}$  de solução

BSA a 10%. O controle positivo foi obtido utilizando-se 1 mg de diclofenaco dissolvido em 1000 µL de tampão fosfato (pH 7,0) e fracionado em várias concentrações. Todas as amostras foram analisadas em triplicata. Após a montagem, a placa contendo as amostras-teste foi incubada a 37 °C por 15 minutos em uma estufa BOD, depois, a desnaturação do BSA foi obtida, mantendo a placa de microtitulação a 60 °C em banho-maria durante 10 minutos. Após um tempo de cinco minutos de resfriamento, foi procedida à leitura em leitor de placas de 96 poços (absorbância no comprimento de onda de 660 nm). A percentagem de inibição da desnaturação proteica foi calculada utilizando a fórmula:

$$\% \text{ de inibição de desnaturação do BSA} = \frac{[(\text{Média de absorção do composto teste}) - 1] \times 100}{\text{Média de absorção do controle}}$$

### 3.5 ENSAIO PARA A AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

No laboratório de Biociências do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais- *Campus* Inconfidentes, Inconfidentes/MG, foram feitos ensaios para ação antimicrobiana, determinada pelo método de microdiluição em placa de 96 poços, assim, determinando as Concentrações Biocidas Mínimas (CBM), seguindo a adequação de metodologia descrita por Salvador (2005). Para a execução dos ensaios foram utilizadas bactérias padrão, Gram-positivas: *Staphylococcus aureus* (ATCC 14458), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6558), *Staphylococcus aureus* (ATCC 8- ), *Staphylococcus aureus* (ATCC+ 7), *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228), *Bacillus subtilis* (ATCC Ct), *Kocuria rhizophila* (ATCC 9341) e uma Gram-negativa: *Salmonella typhimurium* (ATCC Ct).

As bactérias foram cultivadas em meio *Müller Hinton* (MH) em placas de 20 x 150 mm, 24 horas antes da inoculação nas placas. Para a montagem foi utilizado 50 µL de meio *Tryptone Soya Broth* (TSB) em todos os poços, 50 µL da droga-teste, preparadas em propilenoglicol (1:19) nas concentrações de 0,500 e 1,000 mg/mL. Cada poço recebeu um inóculo de 10 µL de suspensão de microrganismos, numa concentração de (5.106 ufc/mL). Como controle positivo, utilizou-se a bacitracina 2,7 mg/mL e como controle negativo, propilenoglicol/TSB (1:19).

As placas-teste foram mantidas à temperatura ambiente por cerca de 2 horas e depois incubadas a 37° C por cerca de 24 horas. Decorrido o período de incubação, cada poço recebeu um inóculo de 20 µL de tetrazólio. Após um novo período de incubação a 37° C

por cerca de 24 horas, a leitura foi feita visualmente, comparando as amostras com os controles. Os experimentos foram realizados em duplicata, para cada cepa indicadora utilizada.

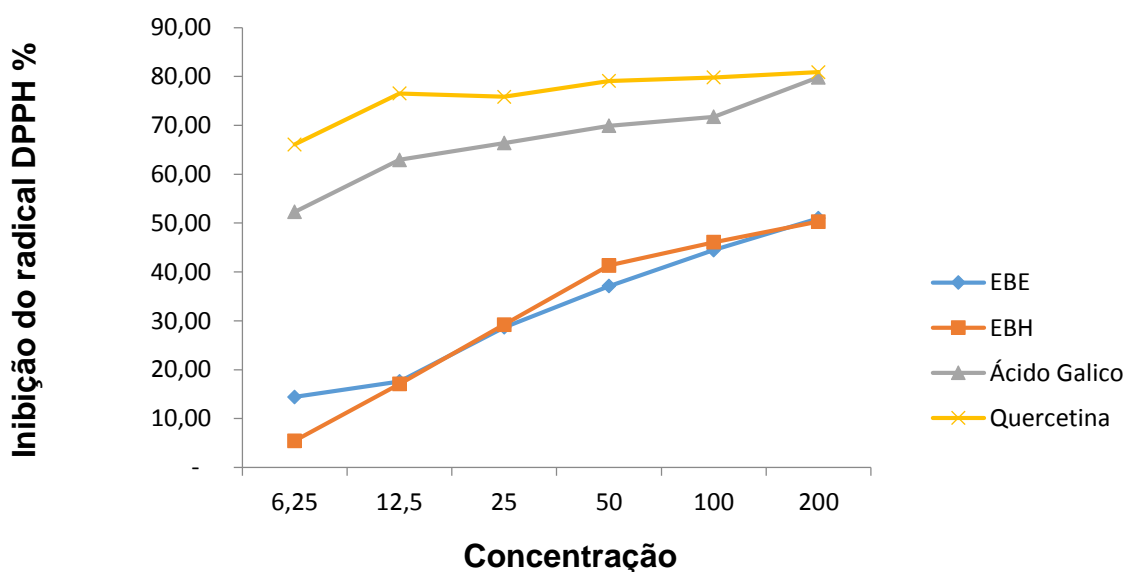
### 3.6 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os resultados obtidos nos experimentos corresponderam à média das repetições, desvio padrão da média e coeficiente de variação. Os dados obtidos foram analisados por meio do software Origin 6.0 e Microsoft Office Excel 2010.

## 4.0 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 4.1 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Os extratos brutos hexânicos e etanólicos da espécie *Chamissoa altissima* apresentaram capacidade antioxidante, analisadas pelo ensaio indireto DPPH, avaliando a capacidade dos extratos em reduzir este radical livre. As porcentagens de inibição do radical DPPH dos extratos analisados estão apresentadas na Figura 5



**Figura 5:** Porcentagem de inibição do radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) pelos extratos brutos etanólicos (EBH) e hexânicos (EBH). IFSULDEMINAS- Campus Inconfidentes, 2016.

De acordo com o resultado, observar-se que o extrato bruto etanólico apresentou um melhor percentual de inibição em relação ao extrato bruto hexânico. No entanto, esses valores ainda são pequenos quando comparados com os controles positivos ácido gálico e quercetina.

Realizou-se também o IC<sub>50</sub> (Concentração que inibe 50% do DPPH), com IC<sub>50</sub> de 108,45 µg/mL para o extrato bruto etanólico e IC<sub>50</sub> > 200 µg/mL para extrato bruto hexânico (Tabela 5).

Outras análises corroboram essa afirmação, através dos resultados apresentados na Tabela 5, pelo ensaio direto, mediado por transferência de hidrogênio ORAC<sub>FL</sub> (Ensaio envolvendo estudo cinético, com fluoresceína como sonda fluorescente, avaliando a capacidade dos extratos em sequestrar radicais peroxil gerados pela fonte radicalar AAPH), o qual apresentou valores significativos, como 3049,27 µmol de TE/g para o extrato EBE e 2320 µmol de TE/g para o extrato EBH.

**Tabela 5:** Conteúdo de fenólicos solúveis totais e capacidade antioxidante pelos métodos DPPH e ORAC<sub>FL</sub> do extrato etanólico de *Chamissoa altissima*.

Amostras	Conteúdo fenólico <sup>a</sup> (mg GAE/g) <sup>b</sup>	Ensaio DPPH, IC <sub>50</sub> <sup>a</sup> , (µg/mL) <sup>c</sup>	Ensaio ORAC <sup>a</sup> (µmol de TE/g) <sup>d</sup>
EBE	1,31 (0,1)	108,45 (1,85)	3049,27 (2,3)
EBH	1,02 (0,1)	>200	2320 (5,1)
Quercetina*	-	8,30 (2,10)	5,62 (0,89) <sup>e</sup>
Ácido cafeíco*	-	11,20 (2,40)	2,86 (2,02) <sup>e</sup>

<sup>a</sup>Média (RSD%, desvio padrão relativo) de ensaios triplicata. <sup>b</sup>Conteúdo de fenólicos solúveis totais expresso em miligramas de ácido gálico equivalentes por grama de extrato (mg de GAE/g). <sup>c</sup>Dados do ensaio DPPH expresso como IC<sub>50</sub> (concentração que inibe 50% do radical DPPH) em microgramas por mililitros (µg /mL). <sup>d</sup>Dados ORAC<sub>FL</sub> expresso com o micro mol de Trolox equivalentes por grama de extrato (µmol deTE/g). <sup>e</sup>Dados ORAC<sub>FL</sub> expressas em equivalente de Trolox relativa, média (% RSD, desvio padrão relativo) de ensaios triplicata.

Prado (2014) realizou o mesmo experimento do presente estudo na espécie *Pfaffia glomerata*, pertencente à mesma família, constatando para o extrato bruto etanólico um valor de 1538,99 µmol de TE/g, o que a autora considerou como sendo uma boa atividade

antioxidante. Tomei (2008) também fez menção a uma boa atividade antioxidante, utilizando o mesmo método na espécie *Alternanthera maritima*, com o valor de 2560,94 para o EBE. Pode-se considerar que os resultados apresentados pela espécie *Chamissoa altissima* também são de boa atividade, uma vez que o resultado apresentado foi de 3049,27  $\mu\text{mol}$  de TE/g.

A avaliação do conteúdo de fenólicos totais foi realizada empregando o método indireto Folin Ciocalteu, no intuito de avaliar a quantidade de fenóis totais solúveis contida nas amostras, a fim de estabelecer uma correlação entre o conteúdo fenólico e a atividade antioxidante destas amostras. Os resultados foram apresentados em miligramas de ácido gálico equivalentes por grama de extrato (mg de GAE/g). Através desse ensaio, pôde-se constatar o teor de substâncias fenólicas em ambos os extratos da *Chamissoa altissima*, apresentando o EBE uma quantidade de 1,31 mg de GAE/g e o EBH 1,02 mg de GAE/g (Tabela 5). Esses resultados confirmam os resultados do DPPH e do ORAC<sub>FL</sub>, indicando que o EBE apresenta a maior atividade antioxidante, devido a sua maior quantidade de fenóis totais solúveis.

Até o presente momento não foram encontrados trabalhos que relatem a atividade antioxidante da espécie *Chamissoa altissima* e que, de acordo com os resultados apresentados nesta pesquisa, essa espécie vem apresentar uma considerável capacidade antioxidante (Tabela 5), principalmente pelo extrato EBE, o que também mostrou correlação com a quantidade de conteúdos fenólicos totais, corroborando assim estudos na literatura que relatam que espécies pertencentes à família Amaranthaceae demonstram serem promissoras para a prospecção de agentes biologicamente ativos, como os antioxidantes (LEAL *et al.*, 2010).

A capacidade antioxidante dos produtos naturais está relacionada às substâncias de natureza polifenólicas (PICCINELLI *et al.*, 2004; AQUINO, 2001). Isto se dá pela sua capacidade de sequestrar radicais livres, doar elétrons ou átomos de hidrogênio e quelar cátions metálicos (SOARES, 2002). Desta forma, observa-se que as atividades antioxidantes dos extratos podem estar relacionadas aos seus conteúdos fenólicos, que foram positivos no ensaio Folin Ciocalteu.

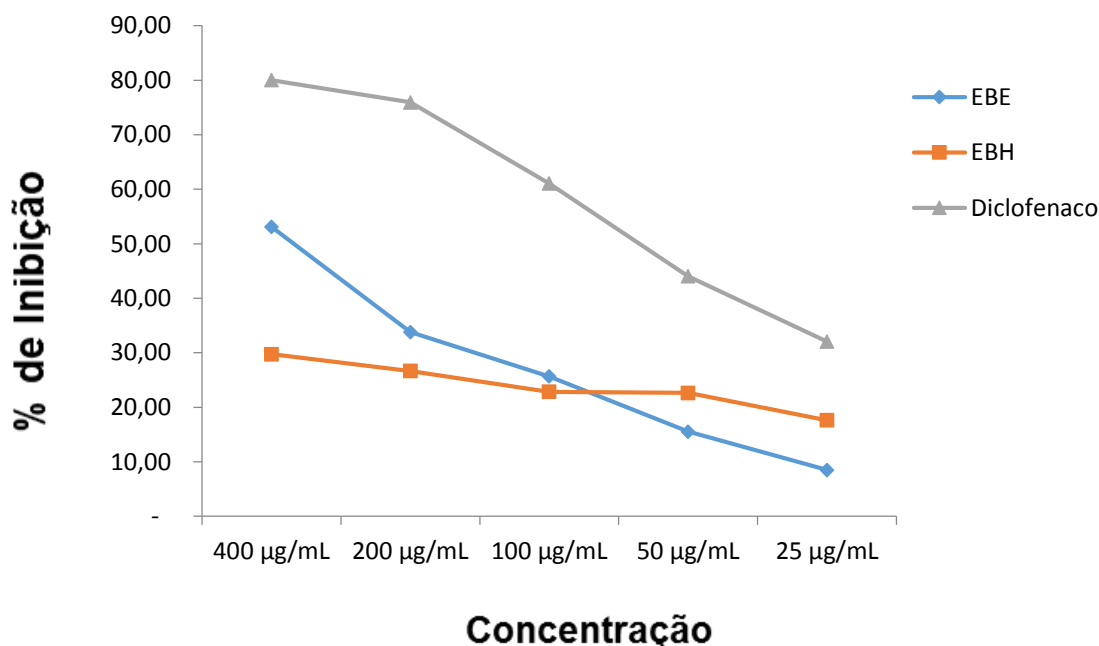
Segundo Tomei (2008), o estresse oxidativo vem ocasionando, nos últimos anos, um grande número de doenças, o que tem despertado o estudo de produtos naturais ricos em antioxidantes, visando à quimioprevenção, devido à sua capacidade de sequestrar radicais livres. Assim, estudos com produtos naturais são cruciais, uma vez que o Brasil apresenta uma rica biodiversidade que está escassa em termos de estudos de sua composição química e biológica.

## 4.2 ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA

As amostras dos extratos brutos hexânicos e etanólicos da espécie *Chamissoa altissima* foram comparadas com a amostra-referência diclofenaco, na avaliação da atividade anti-inflamatória *in vitro*, utilizando-se o ensaio da desnaturação da albumina de soro bovino (BSA), um ensaio que avalia a capacidade do extrato em inibir a desnaturação da proteína (BSA) (CHOPADE *et al.*, 2012; BHASKAR & MOHITE, 2010).

Os resultados demonstram, na Figura 6, que ambos os extratos apresentam atividade inibitória da capacidade de desnaturação proteica; no entanto, elas estão associadas à concentração dos extratos, que variam de 25 µg/mL à 400 µg/mL, ou seja, quanto maior a concentração, maior a capacidade inibitória.

O extrato bruto etanólico foi o que apresentou melhor resultado na concentração de 400 µg/mL, inibindo 53,1% da desnaturação (Figura 6), valor este considerado como satisfatório quando ultrapassa os 50% (CORRÊA, 2014).



**Figura 6:** Atividade anti-inflamatória *in vitro* pelo ensaio BSA do extrato bruto etanólico e hexânico de *Chamissoa altissima*. IFSULDEMINAS - Campus Inconfidentes, 2016

Procedeu-se também à realização da  $IC_{50}$ , estimando-se a concentração que reduz em 50% a desnaturação proteica para cada amostra-teste. O valor de  $IC_{50}$  para a amostra apresentou uma atividade inibitória com  $IC_{50}$  de  $368,6 \pm 1,9$  µg/mL para o extrato bruto



etanólico (EBE) e  $IC_{50} > 400$  para o extrato bruto hexânico (EBH), correlacionando que o melhor resultado é do extrato bruto etanólico. A baixa eficácia do EBH frente à desnaturação proteica pode ser justificada por este conter substâncias menos polares, o que de certa forma não são muito eficazes quanto as mais polares, em relação a essa atividade biológica; segundo Kiemer (2003), a atividade anti-inflamatória dos extratos está associada aos flavonoides e às ligninas.

De acordo com CHOPADE *et al.*, (2012) e BHASKAR & MOHITE (2010), os mecanismos pelos quais acomete a desnaturação provavelmente envolvem alterações eletrostáticas dos hidrogênios e das ligações dissulfeto, sendo a desnaturação de proteínas de tecido uma das causas bem documentadas de doenças inflamatórias e artríticas.

Estudos com algumas espécies da família Amaranthaceae confrontam com os resultados apresentados no presente estudo, como por exemplo a pesquisa feita por Corrêa (2014), que avaliou a atividade anti-inflamatória do extrato bruto etanólico empregando a mesma metodologia do presente trabalho, obtendo o valor de  $IC_{50}$  de 400,0  $\mu\text{g/mL}$  para a espécie *Pfaffia townsendii*. Esse resultado indica que a espécie *Chamissoa altissima* apresenta uma melhor atividade anti-inflamatória quando comparada com a espécie *Pfaffia townsendii*, que teve seu  $IC_{50}$  mais elevado.

Contudo, esse resultado enfatiza a necessidade de futuras prospecções para a espécie em questão, uma vez que inúmeras plantas vêm sendo utilizadas na terapêutica para dor e para inflamação sem haver uma validação farmacológica. Dessa forma, investigações pré-clínicas de plantas representa uma necessidade que não pode ser desprezada (GRASSI, 2011).

#### 4.3 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

A atividade antimicrobiana da espécie *Chamissoa altissima* foi verificada pelo método de microdiluição, na qual os extratos brutos hexânicos e etanólicos apresentaram a concentração biocida mínima (CBM), capaz de inibir o crescimento da maioria das bactérias utilizadas neste estudo.

Ambos os extratos, de acordo com a Tabela 6, apresentaram atividade antibacteriana para as bactérias *Staphylococcus aureus* (ATCC 14458), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6558), *Staphylococcus aureus* (ATCC 8-), *Staphylococcus aureus* (ATCC+ 7) e *Bacillus subtilis* (ATCC Ct), com exceção da bactéria *Kocuria rhizophila* (ATCC 9341) que apresentou resultado somente para o extrato bruto hexânico e o *Staphylococcus epidermidis*

(ATCC 12228) e *Salmonella typhimurium* (ATCC Ct) que não apresentaram nenhum resultado.

O extrato etanólico apresentou o melhor resultado em relação à bactéria *Bacillus subtilis* (ATCC Ct) (Tabela 6), uma vez que obteve (CBM= 0,5 mg/mL), enquanto os demais extratos obtiveram (CBM= 1,0 mg/mL).

**Tabela 6:** Atividade antibacteriana dos extratos brutos da planta inteira de *Chamissoa altissima*, expressa em termos de concentração biocida mínima, CBM (mg/ml), determinada pela técnica de microdiluição. IFSULDEMINAS – *Campus Inconfidentes*, 2016.

MICROORGANISMOS	EBE	EBH
	CBM (mg/mL)	CBM (mg/mL)
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 14458)	1,0	1,0
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 6558)	1,0	1,0
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 8- )	1,0	1,0
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC+ 7)	1,0	1,0
<i>Salmonella typhimurium</i> (ATCC Ct)	-	-
<i>Bacillus subtilis</i> (ATCC Ct)	0,5	1,0
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (ATCC 12228)	-	-
<i>Kocuria rhizophila</i> (ATCC 9341)	-	1,0

American Type Culture Collection (ATCC); -: não se observou inibição do crescimento microbiano até a maior concentração avaliada de 1,0 mg/mL para os extratos brutos; CBM: concentração biocida mínima (mg/mL) = concentração que inibe em 100% o desenvolvimento microbiano. Amostras: EBH: extrato bruto em hexano; EBE: extrato bruto em etanol.

Corrêa (2014) e Prado (2014) avaliaram a atividade antimicrobiana de extratos brutos etanólicos e hexânicos através do método de microdiluição em placa de 96 poços, em algumas plantas da família Amaranthaceae, tais como *Pfaffia townsendii*, *Pfaffia tuberosa* e *Pfaffia glomerata*, e comprovaram que estas foram positivas em relação às bactérias, *Staphylococcus aureus*, *Kocuria rhizophila* e *Bacillus subtilis*, assim como neste estudo, que confirma que espécies dessa família são de grande potencialidade farmacêutica.

Os mecanismos pelos quais os extratos podem inibir o crescimento dos microrganismos são variados e podem ser esclarecidos, em parte, devido à natureza hidrofóbica de alguns componentes (NICOLSON *et al.*, 1999). A possível presença de compostos fenólicos apresentados no resultado do ensaio Folin Ciocalteu pode justificar a ação antimicrobiana dessa espécie, visto que estudos realizados têm indicado que os

flavonoides (compostos fenólicos) são uma das classes de antioxidantes que apresentam a capacidade de inibir ou inativar microrganismos, demonstrando baixa toxicidade em animais (HAVSTEEN, 2002; WU *et al.*, 2013).

Referindo-se aos resultados de inibição, os extratos não demonstraram positivos para a bactéria Gram-negativa *Salmonella typhimurium* (ATCC Ct), não manifestando sensibilidade ao extrato até a maior concentração, indicando que os extratos foram mais eficazes frente às bactérias gram-positivas. No entanto, não se pode afirmar que essa planta não seja eficaz a outras bactérias Gram-negativas, dado que foi testada somente uma, havendo a necessidade de outros estudos que possam averiguar.

Em relação às Gram-positivas, o extrato bruto hexânico foi mais eficaz que o extrato bruto etanólico em relação à bactéria *Kocuria rhizophila* (ATCC 9341), que apresentou sensibilidade somente ao EBH, sendo este resultado importante, pois essa bactéria causa patogenicidade em seres humanos quando o organismo do hospedeiro está em estado de baixa imunidade, sendo esta uma bactéria oportunista (BECKER, *et al.*, 2008).

As demais Gram-positivas *Staphylococcus aureus* (ATCC 14458), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6558), *Staphylococcus aureus* (ATCC 8- ), *Staphylococcus aureus* (ATCC+ 7) e *Bacillus subtilis* (ATCC Ct), foram sensíveis a ambos os extratos, com exceção somente da bactéria *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228), que não apresentou sensibilidade a nenhum. Esse resultado expressa uma grande potencialidade dessa planta para o efetivo controle contra infecções que estes microrganismos causam.

Na atualidade, essas bactérias Gram-positivas vêm se tornando problemas na terapêutica anti-infecciosa, sendo estes motivo de grande preocupação entre os cientistas, os microbiologistas e os médicos clínicos. Algumas espécies sofreram grandes modificações na sensibilidade aos antimicrobianos com o passar dos anos, destacando-se os estafilococos, como é o caso do *Staphylococcus aureus*, que apresenta uma resistência amplamente difundida em todo o mundo (TAVARES, 2000).

De acordo com Santos (2004), essa bactéria passou a ser resistente à penicilina, o que levou a uma grande epidemia hospitalar. A partir de então, nas últimas décadas, a resistência bacteriana, principalmente causada por este microrganismo, tem ocasionado um impacto significativo no ambiente hospitalar e nas comunidades do mundo todo.

Contudo, os resultados apresentam uma expressiva contribuição para a caracterização da atividade antimicrobiana da espécie em estudo, validando a importância da triagem da bioatividade das plantas.

## 5. CONCLUSÃO

O presente estudo possibilitou concluir que:

- Os extratos brutos etanólico e hexânico de *Chamissoa altissima* apresentam atividade antioxidante, determinada pelos ensaios DPPH, Folin Ciocalteau e Orac<sub>FL</sub>.
- Os extratos brutos etanólico e hexânico de *Chamissoa altissima* apresentam atividade antimicrobiana, pelo método microdiluição em placa de 96 poços.
- Os extratos brutos etanólicos e hexânicos da *Chamissoa altissima* apresentam atividade anti-inflamatória, determinada pelo método *in vitro*, BSA.
- Frente aos resultados apresentados, a espécie *Chamissoa altissima* apresenta potencial para futuras prospecções.

## 6. REFERÊNCIAS

ANTONOW, D. R.; MONTEIRO G. A.; ARAUJO M. C. S. Glicocorticoides: Uma Meta-Análise. **Revista Disc. Scientia**. Série: Ciências da Saúde, Santa Maria, v.8, n.1, p.51-68, 2007.

AQUINO, R.; MORELLI, S.; LAURO, M. R.; ABDO S.; SAIJA, A.; TOMAINO, A. Phenolic constituents and antioxidant activity of an extract of *Anthurium versicolor* leaves. **J. Nat. Prod**, v.64, n.8, p.1019-1023, 2001.

BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: Relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Quim. Nova**, v.29, n.1, p.113-123, 2006.

BARROS, I. B. I.; KINUPP, V. F. Teores de proteína e minerais de espécies nativas, potenciais hortaliças e frutas. **Ciênc. Tecnol. Aliment**, v.28, n.4, p.846-857, 2008.

BATLOUNI, M. Anti-inflamatórios não esteroides: efeitos cardiovasculares, cérebro vasculares e renais. **Arq Bras Cardiol**, v.94, n.4, p. 556-563, 2010.

BECKER, K.; RUTSCH, F.; UEKÖTTER, A.; KIPP, F.; KÖNIG, J. MARQUARDT, T.; PETERS, G.; VON EIFF, C. *Kocuria rhizophila* Adds to the Emerging Spectrum of Micrococcal Species Involved in Human Infections. **Journal of Clinical Microbiology**, v.46, p.3537-3539, 2008.

BEZERRA, D. A. C. **Estudo fitoquímico, bromatológico e microbiológico de *Mimosa tenuiflora* (Wild) Poiret e *Piptadenia stipulacea* (Benth) Ducke**. 2008. 62p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia Sistemas Agrossilvipastoris no Semi-Árido) - Universidade Federal de Campina Grande.

BHASKAR, V. H.; MOHITE, P. B. Design, synthesis, characterization and biological evaluation of some novel 1, 5 disubstituted tetrazole as potential anti-inflammatory agents. **J. Opt. Adv. M**, v.2, p.231-237, 2010.

CÓRDOVA, A.; NAVAS, F. J. Os radicais livres e o dano muscular produzido pelo exercício: papel dos antioxidantes. **Rev. Bras. Med. Esporte**, v.6, n.5, p.204-208, 2000.

CORRÊA, W. A. **Prospecção de substâncias bioativas em *Pfaffia townsendii* e *Pfaffia tuberosa* (Gomphreneae, Amaranthaceae)**. 2014. 190p. Tese (Doutorado em Ciências na concentração de Fármacos, Medicamentos e Insumos para a saúde) – Instituto de Biologia UNICAMP.

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

CHOPADE, A. R.; SOMADE, P. M.; SAYYAD, F. J. Membrane Stabilizing Activity and Protein Denaturation: A Possible Mechanism of Action for the Anti-Inflammatory Activity of *Phyllanthus amarus*. **Journal of Krishna Institute of Medical Sciences University**, v.1, n.1, p.67-72, 2012.

CUENDET, M.; HOSTETTMANN, K.; POTTERAT, O.; DYATMIKO, W. Iridoid glucosides with free radical scavenging properties from *Fagraea blumei*. **Helvetica Chimica Acta**, v.80, n.4, p.1144-1152, 1997.

DAMIANI, D.; KUPERMAN, H.; DICHTCHEKENIAN, V.; MANNA, T.D.; SETIAN, N. Corticoterapia e suas repercussões: a relação custo–benefício. **Revista Pediatria**, São Paulo, n.1, p.71-82, 2001.

DELAMARE, A. P. L.; MOSCHEN-PISTORELLO, I. T.; ARTICO, L.; ATTI-SERAFINI, L.; ECHEVERRIGARAY, S. Antibacterial activity of the essential oils of *Salvia officinalis* L. and *Salvia tribola* L. cultivated in South Brazil. **Food Chem**, v.100, p.603-608, 2007

DUARTE, M.C.T. Atividade Antimicrobiana de Plantas Medicinais e Aromáticas Utilizadas no Brasil. **Revista MultiCiência: construindo a história dos produtos naturais**, Campinas, v.7, 2006.

FERREIRA, E. O.; SALVADOR, M. J.; PRAL, E. M. F.; ALFIERI, S. C.; ITO, I. Y.; DIAS, D. A: A New Heptasubstituted (*E*) Aurone Glucoside and Other Aromatic Compounds of *Gomphrena agrastis* with Biological Activity. **Z. Naturforsch**, v.59, p.499-505, 2004.

FIRMO, W. C. A .; MENEZES, V. J. M.; PASSOS, C. E. C.; DIAS, C. N.; ALVES, L. P. L.; DIAS, I. C. L.; NETO, M. S.; OLEA, R.S. G. Contexto histórico, uso popular e concepção científica sobre plantas medicinais. **Cad. Pesq**, v.18, p.90-95, 2011.

GRASSI, L. T. ***Chenopodium ambrosioides* L. – Erva de Santa Maria (Amaranthaceae): Estudos do potencial anti-inflamatório, antinociceptivo e cicatrizante**. 2011. 147p. Dissertação (Mestre em Ciências Farmacêuticas) – Universidade do Vale do Itajaí.

HAVSTEEN, B. H. The biochemistry and medicinal significance of the flavonoids. **Pharmacology & Therapeutics**, v.96, n.2-3, p.67-202, 2002.

HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R. L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **J. Agric. Food Chem**, v.53, p.1841-1856, 2005.

KIEMER, A. K.; HARTUNG, T.; HUBER, C.; VOLLMAR, A. *Phyllanthus amarus* has anti-inflammatory potential by inhibition of iNOS, COX-2, and cytokines via the NF- $\kappa$ B pathway, **Journal of Hepatology**, v.38, p.289- 297, 2003.

LEAL, P. F.; KFOURI, M. B.; ALEXANDRE, F. C.; FAGUNDES, F. H.; PRADO, J. M.; TOYAMA, M. H.; MEIRELES, M. A. A. Brazilian Ginseng extraction via LPSE and SFE: Global yields, extraction kinetics, chemical composition and antioxidant activity. **The Journal of Supercritical Fluids**, v.54, n.1, p.38-45, 2010.

LIMA, R. K.; CARDOSO, M. G.; ANDRADE, M. A.; GUIMARAES, P. L.; BATISTA, L. R.; NELSON, D. L. Bactericidal and antioxidant activity of essential oils from *Myristica fragrans* Houtt and *Salvia microphylla* H.B.K. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v.89, p.523-528, 2012.

MARCHIORETTO, M. S.; MIOTTO, S. T. S.; SIQUEIRA, J. C. O Gênero *Pfaffia* Mart. (Amaranthaceae) no Brasil. **Hoehnea**, v.37, n.3, p.461-511, 2010.

MARCHIORETTO, M. S.; AZEVEDO, F.; JOSENDE, M. V. F.; SCHNORR, D. M. Biogeografia da Família Amaranthaceae no Rio Grande Do Sul. **Pesquisas, Botânica**, São Leopoldo, v.59, p.171-190, 2008.

MICHELIN, D. C.; MORESCHI, P. E.; LIMA, A. C.; NASCIMENTO, G. G. F.; PAGANELLI, M. O.; CHAUD, M. V. Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos vegetais. **Rev. Bras. Farmacogn**, v.15, n.1, p.316-320, 2005

MIDDLETON, E.; KANNADASAMY, C.; THEOHARIDES, T. C. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implication for inflammation, heart disease and cancer. **Pharmacol ver**, v.52, n.4, p.673-751, 2000.

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

MUSSURY, R. M.; SCALON, S. P. Q. Considerações sobre a morfo-anatomia dos órgãos vegetativos de Amaranthaceae com ênfase no gênero *Pfaffia* Mart. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.9, n.4, p.97-102, 2007.

NETO, A. G.; COSTA, J. M. L. C.; BELATI, C. C.; VINHOLIS, A. H. C.; POSSEBOM, L. S.; SILVA FILHO, A. A.; SILVA, M. L. A. Analgesic and anti-inflammatory activity of a crude root extract of *Pfaffia glomerata* (Spreng) Pedersen. **Journal of ethnopharmacology**, v.96, n.1, p.87-91, 2005.

NICOLSON, K.; EVANS, G.; OTOOLE P. W. Potentiation of methicillin activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by diterpenes. **FEMS Microbiology Letters**, v.179, p.233-239, 1999.

OGUNDIPE, O.T.; CHASE, M. Phylogenetic analyses of Amaranthaceae based on matk DNA sequence data with emphasis on West African species. **Turkish Journal of Botany**, v.33, n.3, p.153-161, 2009.

OLIVEIRA, A. L. Resistência bacteriana a antibióticos: uma análise da conduta hospitalar. **Revista Cesumar- Ciências Humanas e Sociais Aplicadas**, v.11, n.1, p.59-69, 2006.

- OU, B.; HAMPSCH-WOODILL, M.; PRIOR, R. L. Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.49, n.10, p.4619-4626, 2001.
- OYAMA, S. O.; SOUZA, L. A.; MUNERATTO, J. C.; ALBIERO, A. L. M. Morphological and Anatomical Features of the Flowers and Fruits during the Development of *Chamissoa altissima* (Jacq.) Kunth (Amaranthaceae). **Braz. Arch. Biol. Technol**, v.53, n.6, p.425-1432, 2010.
- PEREIRA, R. J.; CARDOSO, M. G. Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v.3, n.4, p.146-152, 2012.
- PICCINELLI, A. L.; DE SIMONE, F.; PASSI, S.; RASTRELLI, L. Phenolic constituents and antioxidant activity of *Wenditacalysina* leaves (burrito), a folk Paraguayan tea. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.52, n.19, p.5863-5868, 2004.
- PRADO S. C. **Avaliação da atividade antioxidante e antimicrobiana dos extratos brutos e frações de *Pfaffia glomerata***. 2014. 46p. Monografia (Graduação em Licenciatura em Ciências Biológicas) – IFSULDEMINAS, Inconfidentes.
- PRIOR, R. L.; HOANG, H.; GU, L.; WU, X.; BACCHIOCCA, M.; HOWARD, L.; HAMPSCH-WOODILL, M.; HUANG, D.; OU, B.; JACOB, R. Assays for hydrophilic and lipophilic antioxidant capacity (oxygen radical absorbance capacity (ORACFL)) of plasma and other biological and food samples. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.51, n.11, p.3273-3279, 2003.
- ROBINS, C.; KUMAR, V.; ABBAS, A. K.; FAUSTO, N.; MITCHELL, R. N. **Patologia Básica**. Elsevier Editora Ltda, 8º edição, 2008. 1298p.
- ROITT, I. M.; DELVES. P. J.; MARTIN, J. S.; BURTON, D. R. **Fundamentos de Imunologia**. 12ª ed. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, 2013. 552p.
- SAGE, R. F.; SAGE, T. L.; PEARCY, R. W.; BORSCH, T. The taxonomic distribution of C4 photosynthesis in *Amaranthaceae* sensu stricto. **American Journal of Botany**, v.94, n.12, p.1992-2003, 2007.
- SALVADOR, M. J.; FERREIRA, E. O.; MERTENS-TALCOTT, S. U.; CASTRO, W. V.; BUTTERWECK, V.; DERENDO RF, H.; DIAS, D. A. Isolation and HPLC quantitative analysis of antioxidant flavonoids from *Alternanthera tenella* Colla. **Zeitsch. Für Naturforsch**, v.61, p.19-25, 2006.
- SALVADOR, M. J. **Estudo químico, biológico e biotecnológico de *Alternanthera marítima* e *Alternanthera tenella* (Gomphreneae, Amaranthaceae)**. 2005. 410p. Tese (Doutorado em Ciências - Área Química) - Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.
- SANTOS, N. Q. A resistência bacteriana no contexto da infecção hospitalar. **Revista Texto Contexto Enferm**, v.13, n. esp, p.64-70, 2004.
- SENNA, L. R.; GIULIETTI, A. M.; RAPINI, A. Flora da Bahia: Amaranthaceae – Amaranthoideae e Gomphrenoideae. **Sitientibus Série Ciências Biológicas**, v.10, n.1, p.3-73, 2010.



- SILVA, M. I. G.; GONDIM, A. P. S.; NUNES, I. F. S.; SOUSA, F. C. Utilização de fitoterápicos nas unidades básicas de atenção à saúde da família no município de Maracanaú (CE). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.16, n.4, p.455-462, 2006.
- SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMAN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Florianópolis: Editora da UFSC, 2001. 1102p.
- SIQUEIRA, J.C. Amaranthaceae: padrões de distribuição geográfica e aspectos comparativos dos gêneros Africanos e Sul americanos. **Pesquisas, Botânica**, v.55. p.177-185, 2004.
- SIQUEIRA JC. O gênero *Gomphrena* L. (Amaranthaceae) no Brasil. **Pesquisas**, v.1, n.43, p.5-197, 1992.
- SOARES, S.E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Rev. Nutr. Campinas**, v.15, n.01, p.71-81, 2002.
- SOHMER SH. A revision of *Chamissoa* (Amaranthaceae). **Bull. Torrey Bot. Club**, v.104, n.2, p.111-126, 1977.
- SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática: Guia ilustrado para identificação das famílias de fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG II**. 2ª ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2008. 309p.
- SOUZA, C. D.; FELFILI, J. M. Uso de plantas medicinais na região de Alto Paraíso de Goiás, GO, Brasil. **Acta Botânica Brasílica**, v.20, n.01, p.135-142, 2006.
- SOUZA, V.C.; LORENZI, H. **Botânica Sistemática: Guia ilustrado para identificação das famílias dos Angiospermas da flora brasileira**, baseado em APG II. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2005. 640p.
- TAVARES, W. Bactérias Gram-positivas problemas: resistência do estafilococo, do enterococo e do pneumococo aos antimicrobianos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.33, n.3, p.281-301, 2000.
- TOMEI, R. R. **Prospecção de antioxidantes em *Alternanthera maritima* (planta in natura e obtida por cultura de células)**. 2008. 123p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade do Vale do Paraíba, São José dos Campos/SP.
- VEGA-GÁLVEZ, A.; MIRANDA, M.; VERGARA, J.; URIBE, E.; PUENTE, L.; MARTÍNEZ, E. A. Nutrition facts and functional potential of quinoa (*Chenopodium quinoa Willd.*), an ancient Andean grain: a review. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.90, n.15, p.2541-2547, 2010.
- VEIGA JÚNIOR, V. F.; PINTO, A. C. Plantas medicinais: cura segura? **Química Nova**, v.28, n.03, p.519-528, 2005.
- VELLOSA, J. C. R.; BARBOSA, V. F.; OLIVEIRA, O. M. M. F. Pesquisa de produtos naturais: plantas e radicais livres. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v.4, n.2, p.119-130, 2007.

WANNMACHER, L. Evidências sobre o uso de antibacterianos nas infecções respiratórias altas. **Organização Pan-Americana da Saúde/Organização Mundial da Saúde-Brasil**, v.4, n.1, p.1-6, 2006.

WIESE, L. P. L. **Avaliação de atividade Antioxidante e anti-inflamatória de extrato e frações de *Alternanthera tenella* colla**. 2008. 78p. Dissertação (Pós-graduação em farmácia) – Universidade Federal de Santa Catarina.

WU, T.; HE, M.; ZANG, X.; ZHOU, Y.; QYU, T.; PAN, S.; XU, X. A structure-activity relationship study of flavonoids as inhibitors of *E. coli* by membrane interaction effect. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1828, n.11, p. 2751-2756, 2013.

WU, X.; BEECHER, G. R.; HOLDEN, J. M.; HAYTOWITZ, D. B.; GEBHARDT, S. E.; PRIOR, R. L. Lipophilic and hydrophilic antioxidant capacities of common foods in the United States. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.52, n.12, p.4026-4037, 2004.