



**TAMIRIS ROCHA FANTI RAIMUNDO**

**BIOPROSPECÇÃO DE SUBSTÂNCIAS BIOATIVAS EM *Pfaffia glabrata***

**INCONFIDENTES- MG**

**2016**

**TAMIRIS ROCHA FANTI RAIMUNDO**

**BIOPROSPECÇÃO DE SUBSTÂNCIAS BIOATIVAS EM *Pfaffia glabrata***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como pré-requisito de conclusão do curso de Licenciatura em Ciências Biológicas no 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.Msc. Wallace Ribeiro Corrêa

**INCONFIDENTES – MG**

**2016**

**TAMIRIS ROCHA FANTI RAIMUNDO**

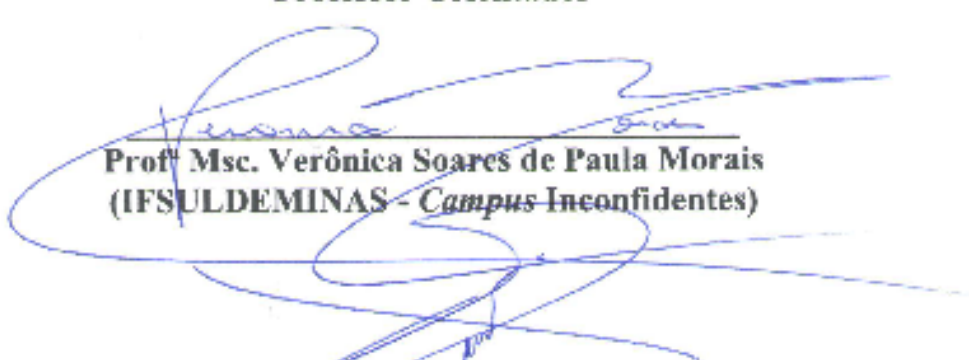
**BIOPROSPECÇÃO DE SUBSTÂNCIAS BIOATIVAS EM *Pfaffia glabrata***

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



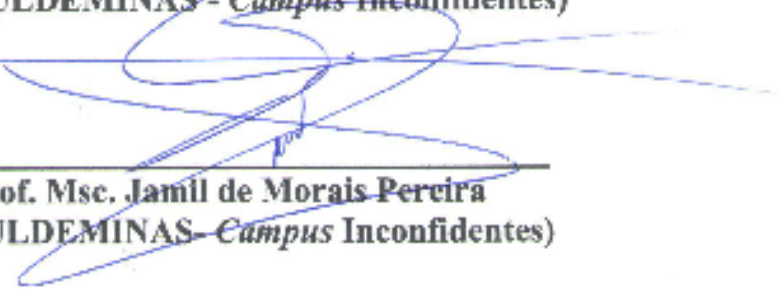
---

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



---

**Prof. Msc. Verônica Soares de Paula Morais**  
**(IFSULDEMINAS - *Campus* Inconfidentes)**



---

**Prof. Msc. Jamil de Morais Pereira**  
**(IFSULDEMINAS- *Campus* Inconfidentes)**

*Dedico este trabalho aos meus pais, meus avós e meus irmãos queridos que jamais deixaram de me incentivar, mesmo em momentos difíceis. Também dedico ao meu querido namorado, por ser sempre paciente e por me apoiar em qualquer decisão que eu tome.*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus e aos meus protetores, bem como a Beata Nhá Chica que me iluminam a cada passo neste mundo tanto em minhas decisões pessoais quanto acadêmicas.

A pessoa mais importante da minha vida, que me ensinou a ser o que sou, a ter os princípios que tenho, a ser humana e fazer as coisas sempre com amor e respeito ao próximo independente de ser reconhecida ou não. A quem eu queria que me visse agora dando mais um passo nesta vida que é fruto de seus ensinamentos. Ao senhor meu querido avô! Espero que esteja feliz de onde quer que me olhe agora e orgulhoso por este título que também é seu.

Agradeço imensamente a minha família que me deu todo o apoio e me fez persistir sempre independente dos desafios que tive. Obrigada a todos vocês minha mãe Wanessa, meu pai Rogério, minha avó Dalva, meu irmão Dérick, minha madrastra Paula Érica e também ao meu companheiro Allan, por ser meu alicerce em todas as horas que pensei em desistir. Só vocês sabem o que fiz para chegar aqui e sem vocês eu garanto que não teria conquistado nem a metade e não conquistarei. Amo muito vocês!

Agradeço ao meu querido orientador Prof. Dr. Wallace, por me ajudar todo momento na construção deste trabalho para que eu o elaborasse da melhor maneira possível. Sou muito grata pela sua atenção e paciência no decorrer de todo este tempo e principalmente por ter me dado chance de mostrar o meu melhor e de abraçar meu sonho de trabalhar com plantas medicinais. Agradeço também aos demais professores do curso que contribuíram muito para minha formação e para me enriquecer de conhecimentos ao longo desta jornada.

Sou grata ao IFSULDEMINAS *Campus* Inconfidentes por todas as oportunidades que me proporcionou, corroborando meu aperfeiçoamento no ramo da Licenciatura em Ciências Biológicas de maneira extracurricular. Não há como descrever aqui minha imensa gratidão por realizar um grande sonho que foi o intercâmbio, em que me fez crescer muito enquanto pessoa e também como profissional.

Por último e não menos importante, gostaria de agradecer ao Professor Nilmar Arbex, que tive a honra de conhecer, pessoa incrível que me inspirou a seguir nesta área fabulosa da medicina tradicional. Agradeço também as meninas do laboratório de Biociências. Por fim, sou grata a todos que contribuíram para a elaboração deste trabalho de conclusão de curso. Fico feliz em ter conhecido pessoas que marcaram meus dias e ficarão guardadas pra

sempre. Obrigada a todos aqueles que permitiram que eu vivesse momentos extraordinários que marcaram a pessoa que sou.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Representação dos constituintes estruturais de <i>Pfaffia glabrata</i> . .....	15
<b>Figura 2</b> - Representação da morfologia de <i>Pfaffia glabrata</i> . .....	15
<b>Figura 3</b> - Distribuição de <i>Pfaffia glabrata</i> no Brasil, apresentado pelo Centro Nacional de Conservação da Flora (CNCFLORA).. .....	16
<b>Figura 4</b> - Localização geográfica de onde a planta <i>Pfaffia glabrata</i> foi coletada para realização do presente estudo. ....	21
<b>Figura 5</b> - Esquema da preparação dos extratos brutos extraídos em solventes orgânicos. ....	22
<b>Figura 6</b> - Representação gráfica da atividade antioxidante analisando o percentual de inibição do radical DPPH frente às concentrações dos extratos, do Ácido gálico e da Quercetina. ....	28
<b>Figura 7</b> - Resultado da análise da atividade antioxidante utilizando o método DPPH dos extratos etanólico e hexânico de <i>Pfaffia glabrata</i> . .....	28
<b>Figura 8</b> - Resultado da análise da atividade antimicrobiana de extratos de <i>P. glabrata</i> , utilizando o método de microdiluição em placa de 96 poços. ....	30
<b>Figura 9</b> - Representação do percentual de inibição frente às diferentes concentrações dos dois extratos e de Diclofenaco. ....	31

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1-** Conteúdo de fenólicos solúveis totais e capacidade antioxidante pelo método DPPH dos extratos hexânico e etanólico de *P. glabrata*.....27
- Tabela 2-** Conteúdo fenólico determinado pelo ensaio colorimétrico Folin Ciocalteau presente em cada extrato frente ao Desvio Padrão e ao Coeficiente de Variação.....27
- Tabela 3** - Atividade antimicrobiana dos extratos brutos de *Pfaffia glabrata* expressa em termos de Concentração Biocida Mínima (CBM mg/mL), determinada pela técnica de microdiluição.....29



## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	09
2. REFERENCIAL TEÓRICO .....	12
2.1. FAMÍLIA Amaranthaceae .....	12
2.2. GÊNERO <i>Pfaffia</i> .....	13
2.3. <i>Pfaffia glabrata</i> .....	14
2.4. ATIVIDADE ANTIOXIDANTE .....	17
2.5. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA .....	17
2.6. ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA .....	18
3. METODOLOGIA .....	20
3.1. COLETAS DO MATERIAL VEGETAL.....	20
3.2. PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS BRUTOS .....	21
3.3. ENSAIO PARA A AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DPPH ...	22
3.4. ENSAIO PARA A AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE FOLIN ...	23
3.5. ENSAIO PARA A AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA .....	23
3.6. ENSAIO PARA A AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA <i>IN VITRO</i> .....	24
3.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	25
4. RESULTADOS .....	26
4.1. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.....	26
4.2. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA.....	29
4.3. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA <i>IN VITRO</i> .....	30
5. DISCUSSÃO.....	32
6. CONCLUSÃO .....	36
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	37

## RESUMO

Plantas do gênero *Pfaffia* pertencente à família Amaranthaceae, são conhecidas popularmente como “Ginseng brasileiro” ou “para tudo”, devido a sua alta eficiência em diversos tratamentos. Assim, o presente trabalho teve o intuito de avaliar a atividade antioxidante, antimicrobiana e anti-inflamatória de extratos da espécie *Pfaffia glabrata*. Posterior a coleta, secagem, maceração e obtenção do extrato etanólico e hexânico da planta, realizou-se a avaliação da atividade antioxidante utilizando o método DPPH e FOLIN. O extrato etanólico apresentou uma melhor concentração de compostos fenólicos (2.20 mg GAE/g) e atividade antioxidante (IC<sub>50</sub> = 169,39 µg/mL no DPPH). Mediante aos resultados da análise antimicrobiana, obtido *in vitro* frente a bactérias (gram-positivas e gram-negativas) determinado pelo método de microdiluição, em duas concentrações de cada extrato (0,5 µg/mL e 1,0 µg/mL), indicou que a planta contém metabólitos secundários com potencial considerável frente a alguns microorganismos. É possível inferir que *P. glabrata* é pouco eficiente em inibir bactérias Gram-positivas como é o caso de *Staphylococcus aureus*, com exceção de *Bacillus subtilis* que apresentou uma boa efetividade na menor concentração de extrato utilizada no experimento. Isso pode ser explicado pela ausência de outras concentrações no estudo, pela qualidade da planta ou até mesmo pela baixa sensibilidade destes organismos utilizados. Em se tratando da atividade anti-inflamatória dos extratos, utilizando a técnica de desnaturação de albumina BSA, observa-se uma melhor eficiência no extrato bruto etanólico apresentando IC<sub>50</sub> 308, 37 µg/mL ± 0,45, ou seja, nessa concentração o extrato inibe 50% da desnaturação proteica. Já o extrato hexânico necessita de uma concentração maior que 400 µg/mL para atingir esta porcentagem mínima de inibição. Dessa forma, constata-se que esta espécie vegetal exibe um potencial antioxidante, antimicrobiano e anti-inflamatório pertinentes, na qual, estão diretamente relacionadas ao conteúdo fenólico presente na planta. Logo, *P. glabrata* é de fato promissora e contribuirá para produção de novas pesquisas, criação de fitoterápicos para combate a microorganismos patogênicos, processos inflamatórios e para a diminuição de radicais livres produzidos no organismo.

**Palavras-chave:** *Pfaffia glabrata*, Amaranthaceae, compostos fenólicos, eficiência.

## ABSTRACT

Plants of the genus *Pfaffia* in the Family Amaranthaceae, are known popularly as “Brazilian Ginseng” or “for all”, due to its high efficiency in various treatments. Thus the present work was to evaluate the antioxidant, antimicrobial and anti-inflammatory activity of extracts of the species *Pfaffia glabrata*. After collecting, drying, maceration and ethanolic extract both removal as plant hexanico, evaluation of antioxidant activity using the DPPH and FOLIN method. The ethanolic extract presented a better level of phenolic compounds (2.20 mg GAE/g) antioxidant activity (IC<sub>50</sub> =  $\mu$ g/mL at 169.39 DPPH). By antimicrobial analysis in which the biological assay in vitro was made in front of bacteria (Gram – positive and Gram- negative) determined by microdilution method with two concentrations of each extract which are 0,5  $\mu$ g/mL and 1.0  $\mu$ g/mL, note that consists of plant secondary metabolites with considerable potential in front of some microorganisms. It is possible to infer that *P. glabrata* is ineffective in inhibiting Gram-positive bacteria such as *Staphylococcus aureus*, with the exception of *Bacillus subtilis* which presented a good effectiveness in the lowest concentration of extract used in the study. This may be explained by the absence of other concentrations in the study, on the quality of the plant, or even by the low sensitivity of these organisms used. In the case of the anti-inflammatory activity of extracts using the technique of denaturation of albumin BSA, observed greater efficiency presenting in ethanolic extract with IC<sub>50</sub> 308, 37 / mL  $\pm$  0.45, meaning that concentration extract inhibits 50 % of protein denaturation. But the hexane extract needs a higher concentration than 400 mg / mL to achieve this minimum percentage inhibition. Thus, it appears that this plant species exhibits a potential antioxidant, antimicrobial and anti-inflammatory relevant, which are directly related to the phenolic content present in the plant. Thus, *P. glabrata* is promising indeed and contribute to the production of new research, creation of herbal medicines to combat pathogenic microorganisms, inflammatory processes and the reduction of free radicals produced in the body.

**Keywords:** *Pfaffia glabrata*, Amaranthaceae, phenolic compounds, efficiency.

## 1. INTRODUÇÃO

A Organização Mundial da Saúde – OMS a partir da década de 1970 tem voltado seus olhos para a medicina tradicional, reconhecendo a relevância que as plantas medicinais têm no tratamento de diversas enfermidades. Nesse sentido, novas pesquisas e projetos têm sido propostos para obtenção e uso mais seguro de substâncias naturais no controle de enfermidades (OMS 2000; 2011). De acordo com a mesma, uma planta só é considerada como medicinal quando esta contem um ou mais órgãos que apresentem alguma substância bioativa com finalidade terapêutica.

Avanços científicos envolvendo o uso de medicamentos alelopáticos, permitiram um melhor combate a distintas enfermidades que atingem o homem e exterminam milhões de pessoas há muito tempo. Porém, estes medicamentos são de custo elevado e pouco acessíveis à população de baixa renda. Nesse sentido, muitos países como a África, mesmo depois de séculos de avanços ainda sofrem intermitentemente com doenças parasitárias, bacterianas e outros males que atingem a humanidade, exibindo taxas de mortalidade elevadas e expectativa de vida baixas. Neste contexto, a medicina popular pode ser um diferencial e atuar como uma alternativa viável no controle de enfermidades, melhorando assim os aspectos sociais apresentados (FIRMO *et al.*, 2011).

O Brasil, portanto é um país privilegiado no uso de plantas para o controle de doenças, já que é muito beneficiado pela grande diversidade de biomas e espécies vegetais,

além do conhecimento empírico proporcionado por sua riqueza étnico-cultural (GARLET & IRGANG, 2001; HOLETZ *et al.*, 2002; VEIGA-JÚNIOR *et al.*, 2005; ETHUR *et al.*, 2011). A relevância das plantas para o desenvolvimento de novos medicamentos foi reconhecida no país, tornando-se oficial, através do lançamento da Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, regulamentada pelo Decreto No. 5.813 em 22 de junho de 2006. Este decreto contém diretrizes que permitem o uso racional das plantas medicinais, mantendo a integridade da Biodiversidade do país, Brasil (2006).

O conhecimento e uso das plantas para fins terapêuticos é muito antigo e em muitos casos, é a única forma viável de tratamento para a cura de diversas doenças (BOTSARIS & MACHADO, 1999). Esse conhecimento adquirido pela população foi utilizado para a descoberta de novos medicamentos usados na medicina tradicional, como esta sendo o objetivo deste trabalho.

A maior parte das plantas com potencial terapêutico usadas mediante a aplicação do conhecimento popular tem pouco embasamento científico que explique suas atividades, faltando assim uma comprovação científica para seu uso (FIRMO *et al.*, 2011). Neste âmbito, é que o presente trabalho visa comprovar diversas atividades biológicas da espécie *Pfaffia glabrata*. Esta espécie pertencente à família Amaranthaceae, em que na atualidade apresenta cerca de 169 gêneros e 2360 espécies incluindo a família Chenopodiaceae. Os representantes da família tem distribuição bastante ampla com dominância em áreas tropicais e subtropicais da América e África, com exceção de locais frios no Hemisfério Norte (MARCHIORETTO *et al.*, 2010).

As *Pfaffias* são abundantemente diversificadas dentro do território brasileiro sendo que das 34 espécies representantes do gênero distribuídas nas Américas do Norte, Central e Sul, 20 estão presentes no Brasil (SIQUEIRA & GRANDI, 1986). Consoante ao que a literatura trás, suas espécies vegetais demonstram grande eficiência no combate a diversos tratamentos como diabetes, tratamento para antienvhecimento, anticancerígena e muitos outros.

Deste modo, faz-se necessário a bioprospecção de substâncias bioativas de *Pfaffia glabrata*, na qual, se refere a uma busca sistemática por organismos, genes, enzimas, compostos, processos e partes provenientes de seres vivos, que tenham potencial econômico e, eventualmente, levam ao desenvolvimento de um produto. Sendo assim, o presente trabalho

teve o objetivo de verificar a capacidade antioxidante, antimicrobiana e anti-inflamatória de extratos brutos de *Pfaffia glabrata*.

## 2. REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1.FAMÍLIA Amaranthaceae

A família Amaranthaceae Juss. possui distribuição cosmopolita, exceto nas regiões mais frias do Hemisfério Norte do globo terrestre, com predominância nas regiões tropicais e subtropicais da América e da África (SIQUEIRA, 2004). Baseada em características morfológicas e moleculares, as Amaranthaceae são plantas da divisão Magnoliophyta, da classe Magnoliopsida, ordem Caryophyllales (SOUZA & LORENZI, 2005).

Atualmente as Amaranthaceae apresentam cerca de 169 gêneros e 2360 espécies incluindo as espécies da família Chenopodiaceae. No Brasil ocorrem 23 gêneros e aproximadamente 71 espécies endêmicas (MARCHIORETTO *et al.*, 2010).

Os representantes da família apresentam hábito variado, sendo encontrados como ervas suculentas, subarbustos, arbustos ou trepadeiras, anuais ou perenes; folhas alternas ou opostas, simples, sem estípulas. A inflorescência é do tipo cimosa ou racemosa, geralmente muito densa; flores não vistosas, bissexuadas ou unissexuadas; fruto aquênio ou cápsula circuncisa, raramente baga ou drupa (SOUZA & LORENZI, 2005).

A família apresenta muitas espécies com importância alimentícia e medicinal (SALVADOR *et al.*, 2002; SALVADOR, 2005). Dentre suas diversas atividades biológicas,

destaca-se como antioxidante (CHAUDHURI & SEVANAN, 2013), redutor de colesterol (PLATE & ARÊAS, 2002), antimicrobiano (SALVADOR *et al.*, 2009) e antiproliferativo (CHAUDHURI e SEVANAN, 2013). Ainda são utilizadas como agente anti-inflamatório do trato urinário, em doenças venéreas, vermífugo, diurético, antiulceroso, antirreumático, analgésico, laxante, para a melhora do apetite, para problemas respiratórios, para o tratamento dos olhos e para a asma (AGRA *et al.*, 2008).

Estudos fitoquímicos realizados com algumas espécies de *Amaranthaceae* mostraram a ocorrência de alcaloides, betalainas, betaxantina, ecdisteroides, esteroides ( $\Delta^0$ ,  $\Delta^5$  e  $\Delta^7$ ), flavonoides (agliconas, C e O-glicosídeos), saponinas e terpenoides (SALVADOR, 2002; SALVADOR *et al.*, 2009; SALVADOR *et al.*, 2011).

## 2.2.GÊNERO *Pfaffia*

O gênero *Pfaffia* Mart. pertence à tribo *Gomphreneae*, e sua distribuição geográfica tem como base o trabalho de Siqueira & Grandi (1986). Das 34 espécies do gênero distribuídas nas Américas do Norte, Central e Sul, 20 ocorrem no Brasil, sendo o território brasileiro um centro de diversidade do gênero. As espécies do gênero *Pfaffia* são distribuídas na área neotropical, estendendo-se do sul do México ao longo dos trópicos, incluindo a Bacia Amazônica, Baía Blanca na Argentina, mas a região sudeste do Brasil é o principal centro de diversidade do gênero (SIQUEIRA & GRANDI, 1986).

Das 20 espécies de *Pfaffia* encontradas no Brasil, 19 são encontradas no Cerrado, sendo o estado de Minas Gerais considerado o centro de diversidade e endemismo do gênero. As *Pfaffias* são encontradas ainda na caatinga, campo limpo, campo rupestre, carrasco, floresta ciliar ou galeria (MARCHIORETTO *et al.*, 2015).

Espécies do gênero *Pfaffia* são comercializadas no Brasil como substitutos para *Panax spp.* (Ginseng, Araliaceae). Devido à morfologia da *Pfaffia* se semelhante as raízes de ginseng, são conhecidas popularmente como "ginseng brasileiro" ou como "paratudo" e são amplamente utilizados na medicina popular como tônico e afrodisíaco, tendo relatos para algumas espécies de propriedades como analgésica, antidiabética, anticancerígena, usadas para combater reumatismo e distúrbios gástricos (FREITAS *et al.*, 2004; OLIVEIRA, 2008). São utilizadas ainda em homeopatia e no combate ao envelhecimento precoce (SIQUEIRA,



1990). Tribos indígenas no Brasil, principalmente os Carajás, fazem o uso das raízes maceradas de *Pfaffia* como antipirética e antidiarreica (SILVA, 1983).

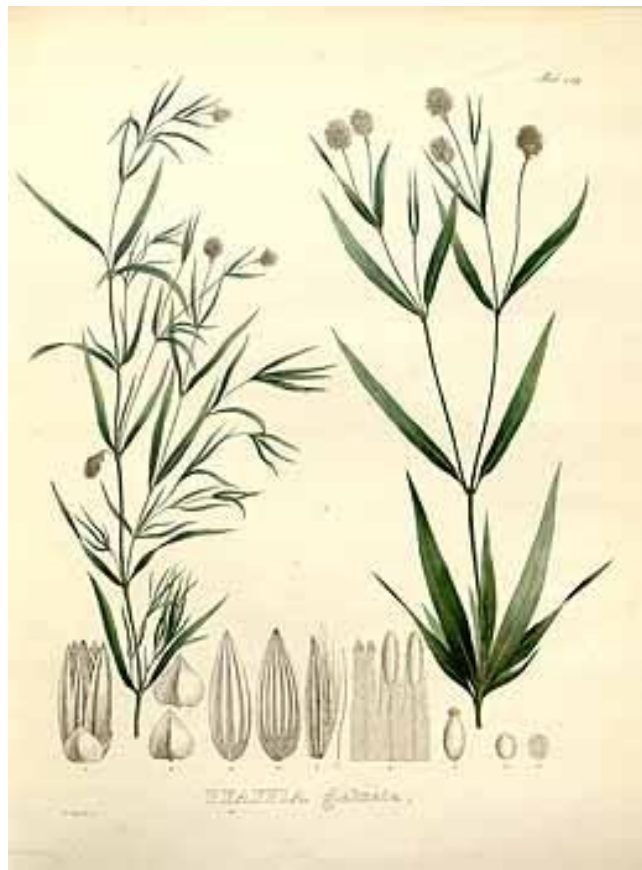
Estudos farmacológicos demonstram que o gênero *Pfaffia* é promissor para a bioprospecção de agentes ativos, podendo-se citar as espécies *P. paniculata* e *P. iresinoides* com relatos de ação anti-inflamatória e analgésica (TANIGUCHI *et al.*, 1997). Outros estudos com *P. paniculata* demonstram que extratos de suas raízes apresentam ainda propriedades antioxidantes (LEAL *et al.*, 2010), antitumoral (NAGAMINE *et al.*, 2009) e são utilizadas como revigorante, regenerador celular, indicado para o esgotamento físico e mental (RATTES & GOSMANN, 2002).

### 2.3. *Pfaffia glabrata*

A espécie vegetal *Pfaffia glabrata* apresenta características morfológicas tais como erva ou subarbusto variando de 50 centímetros à 1 metro de altura, com caule ereto, ramoso, estriado, glabro e levemente piloso, raízes semilenhosas. Se define ainda com folhas lanceoladas, ápice acuminado, base atenuada, face adaxial glabra, face abaxial glabra a levemente pilosa e tricomas setosos. Inflorescência do tipo capituliforme. Bráctea mediana ovalado-lanceolada, brácteas laterais ovaladas. Sépalas escuras, oblongo-lanceoladas. Tubo estaminal mais curto que as sépalas. Ovário oblongo-ovalado, estigma capitado (MACHIORETTO *et al.*, 2008; MARCHIORETTO *et al.*, 2015). As figuras a seguir representam as estruturas vegetativas da espécie de *Pfaffia glabrata*:

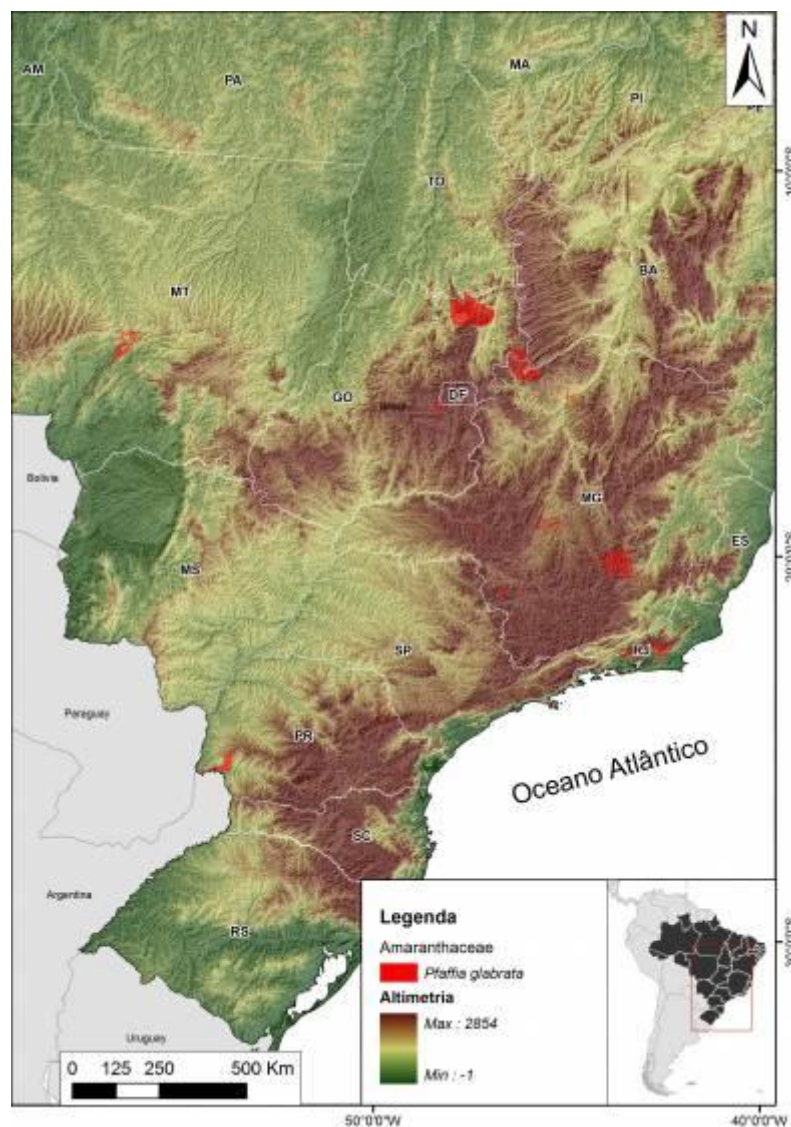


**Figura 1** - Representação dos constituintes estruturais de *Pfaffia glabrata*. **Fonte:** MARCHIORETTO *et al.*, 2010.



**Figura 2-** Representação da morfologia de *Pfaffia glabrata*. **Fonte:** Plantillustration

A planta foi considerada “Rara” (R) diante das categorias adotadas para a avaliação de risco de extinção da flora do Estado do Paraná (PR) pela Secretaria de Estado do Meio Ambiente (SEMA/GTZ-PR, 1995). De acordo com Marchioretto *et al.*, (2012), *P. glabrata* ocorre nos estados das regiões Centro Oeste (Mato Grosso, Goiás), Sudeste (Minas Gerais, São Paulo) e Sul (Paraná) encontrada em regiões de solos úmidos e beiras de rio, com altitudes de aproximadamente 500 metros. Possui registros de ocorrência desde o Norte da América do Sul até o Sul do Brasil, podendo chegar ainda na Argentina e Paraguai (MARCHIORETTO *et al.*, 2009). A figura a seguir exhibe esta distribuição da espécie no Brasil.



**Figura 3-** Distribuição de *Pfaffia glabrata* no Brasil, apresentado pelo Centro Nacional de Conservação da Flora (CNCFLORA). Fonte: CNCFLORA (2016).

## 2.4.ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Avanços corroboram para o entendimento de que as plantas possuem substâncias bioativas que proporcionam efeitos benéficos à saúde. Uma característica relevante sobre uma planta é sua capacidade antioxidante, já que ao ser ingerida tem a capacidade de sequestrar radicais livres presentes no organismo. Esse efeito reduz a ação dos radicais que podem desencadear reações colaterais indesejáveis, resultando em danos celulares e seu excesso no organismo pode causar o tão temido câncer. Além disto, os radicais livres promovem o processo de envelhecimento e estão relacionados com as doenças cardíacas, com o Mal de Parkinson e de Alzheimer.

A produção de radicais livres no organismo humano, ocorre por meio de vários fatores externos tais como: poluentes do ambiente, fumaça de cigarro, álcool, luz, radiação entre outros. Por isso, recomenda-se o uso de alimentos com capacidade antioxidante. Segundo Arbos (2004), a atividade antioxidante de plantas é expressa devido à combinação de flavonoides, fenóis, e outras substâncias, por serem classes de substâncias capazes de doar elétrons para um radical livre, inativando-o, tornando-o um composto eletricamente estável.

De acordo com Corrêa, *et al.*, (2014), plantas da família Amaranthaceae também são capazes de acumular essas substâncias fenólicas, apresentando potencial como agentes antioxidantes, podendo minimizar consequentemente os efeitos lesivos de radicais livres e espécies reativas de oxigênio (ROS).

## 2.5.ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

A resistência bacteriana aos medicamentos atuais é um problema global que envolve muitos tipos de infecções e tornou-se uma objeção tanto em países desenvolvidos como em desenvolvimento. Este infortúnio é uma crescente ameaça à saúde pública global, que envolve todos os principais patógenos microbianos e medicamentos antimicrobianos. Tal resistência aos antibióticos é uma múltipla herança de décadas passadas do uso indevido destes (COSTELLOE *et al.*, 2010) e um problema difícil de superar devido à falta de incentivos e conscientização (HÖJGÅRD, 2012).

Assim, a busca por novas substâncias antimicrobianas a partir de fontes naturais, tem ganhado importância nas companhias farmacêuticas destacando a utilização de plantas,

fontes de substâncias fenólicas, que possuem muitas atividades biológicas, tais como antioxidantes e atividade antimicrobiana, correlacionando o conteúdo fenólico das plantas medicinais a atividade antimicrobiana (ALBAYRAK *et al.*, 2012).

Na avaliação da atividade antimicrobiana de extratos vegetais, analisa-se a menor concentração do extrato capaz de impedir o crescimento do microrganismo-teste; esse valor é conhecido como Concentração Inibitória Mínima (CMI). As (CMIs) são consideradas o "padrão ouro" para determinar a suscetibilidade do microrganismo a agentes antimicrobianos e, portanto, são usados para avaliar o desempenho de todos os outros métodos de susceptibilidade (ANDREWS, 2002).

Em uma análise de plantas utilizadas na medicina tradicional, destacam-se os extratos vegetais com ação antimicrobiana, devido a sua importância no desenvolvimento e produção de produtos farmacêuticos e cosméticos (OSTROSKY, *et al.*, 2008). Assim a família Amaranthaceae merece um destaque, porque é um grupo que apresenta um número considerável de espécies com atividade antimicrobiana (NIRAIMATHI *et al.*, 2013; SALVADOR *et al.*, 2009).

Devido ao aumento da resistência das bactérias aos fármacos, há um estímulo na busca por substâncias potencialmente ativas no controle de doenças provocadas por microorganismos, como é o caso deste estudo que basea-se em confirmar se os extratos brutos e frações de *Pfaffia glabrata* apresentam atividade frente a microrganismos gram-positivos e gram-negativos.

## 2.6.ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA

Considerando a diversidade de compostos químicos encontrados em extratos de *Pfaffia* spp. utilizados como agentes terapêuticos, surgiu a necessidade de avaliar também a ação anti-inflamatória baseando-se na afirmação de Tanimoto (2013), que os polifenóis, substâncias anti-inflamatórias, também são reportadas nesse gênero.

O processo de inflamação é considerado um mecanismo de defesa do organismo, consistindo em uma reação do tecido vivo vascularizado à uma agressão de natureza: química, física ou biológica. O organismo age para destruir o agressor, conforme uma resposta a esses estímulos já citados que por sua vez acaba liberando, ativando ou sintetizando mediadores químicos ou farmacológicos da inflamação, ocasionando alterações no fluxo

sanguíneo, dilatação de vasos, aumento da viscosidade do sangue, dentre outros processos (BECHARA & SZABÓ, 2006).

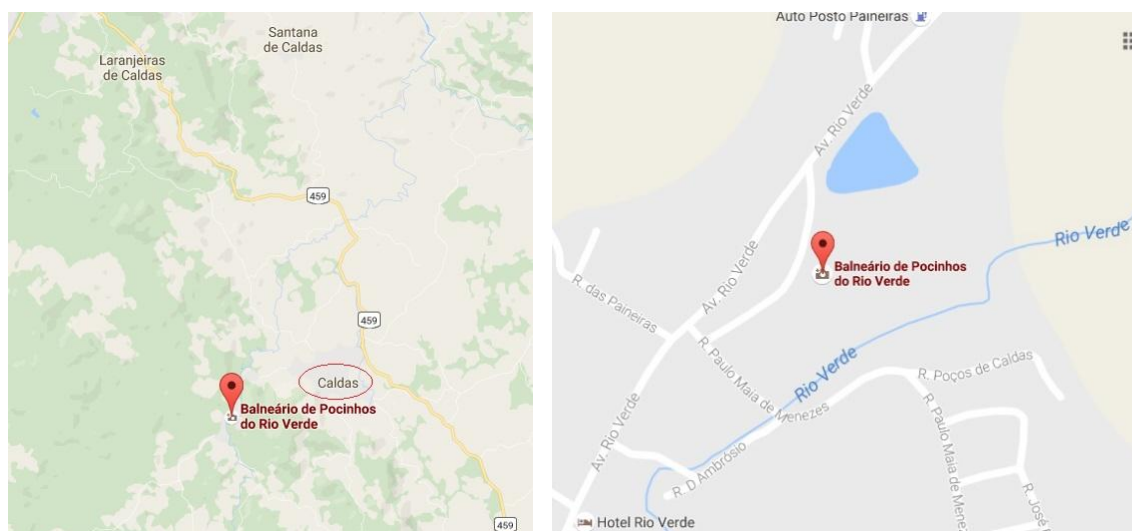
De acordo com Barton (2008), a inflamação gera um estado de exsudação e hiperemia dos vasos sanguíneos, ocasionando processos aparentes como vermelhidão, calor, inchaço e dor local, que se manifesta em resposta à lesão tecidual causada por trauma físico, produtos químicos nocivos, agentes patogênicos ou ainda em respostas a doenças autoimunes.

Devido ao total desconforto que esse processo causa no organismo, é muito comum fazer o uso de drogas anti-inflamatórias não esteroides, na qual estão disponíveis no mercado há décadas para o alívio da dor. No entanto, pesquisas demonstram os diversos efeitos colaterais causados pelo consumo desse tipo de medicamento, tais como: complicações renais (SEKHON *et al.*, 2005), efeitos no sistema cardiovascular (AYGÜN *et al.*, 2012; VONKEMAN & VAN DE LAAR, 2010) e até mesmo no sistema gastrointestinal (HAWKEY, 2000). Dessa forma, o presente trabalho visa analisar a ação anti-inflamatória de *Pfaffia glabrata* e sua efetividade, contribuindo para futuras pesquisas e elaboração de novos fitoterápicos.

### **3. METODOLOGIA**

#### **3.1. COLETA DO MATERIAL VEGETAL**

O material vegetal da espécie *P. glabrata* foi coletado em seu hábitat natural na Cachoeira Antônio Monteiro no bairro Pocinhos do Rio Verde no município de Caldas/MG Brasil. As coordenadas geográficas do local estão na latitude 21°56'54,40" Sul e longitude 46°24'57,30" Oeste. No momento da coleta a planta estava em floração (maio de 2014), coletada no período da manhã pelo Prof. Dr. Wallace Ribeiro Corrêa (IFSULDEMINAS). O material vegetal foi identificado pelo professor e transportada para o laboratório de Biociências do IFSULDEMINAS – Inconfidentes para processamento. Os mapas a seguir indicam a localização da coleta:

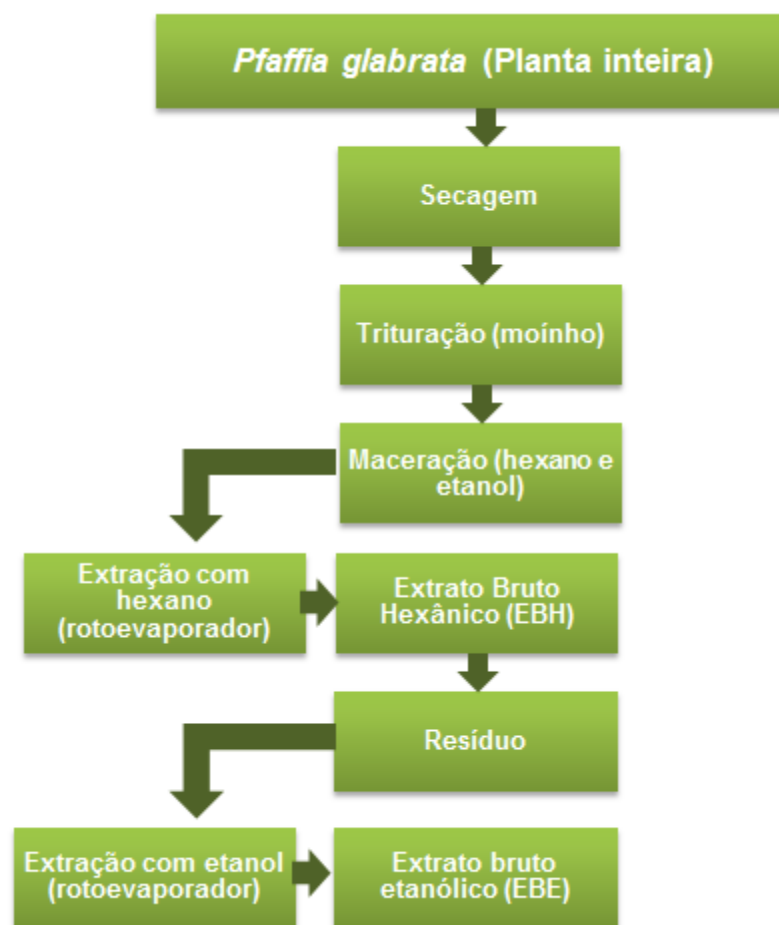


**Figura 4-** Localização da coleta da planta *Pfaffia glabrata*.

### 3.2. PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS BRUTOS

Posterior ao processo de secagem em uma estufa com ar circulante à temperatura de 40°C, o material vegetal da espécie *P. glabrata* (planta total) foi moída em moinho de faca (MERSE – A11 basic). O pó da planta foi pesado totalizando 0,262 Kg, transferido para um frasco *Erlenmeyer* e submetido ao processo de maceração com solventes orgânicos em ordem crescente de polaridade, tais como hexano de baixa polaridade e o etanol para alta polaridade. Os solventes foram utilizados na proporção massa de pó/solvente 1:20 (massa/volume) e removidos em evaporador rotatório sob pressão reduzida, até a obtenção do extrato bruto hexânico e etanólico. O processo de extração é representado na figura a seguir.





**Figura 5-** Esquema da preparação dos extratos brutos extraídos em solventes orgânicos.

### 3.3. ENSAIO PARA A AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO 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 mg/L) em etanol, e para cada diluição (10 µL) foi adicionado 50 µL de solução de DPPH (10 mg/mL). Decorridos 30 minutos a absorvância foi medida em espectrofotômetro, no comprimento de onda ( $\lambda$ ) igual a 517 nm (nanômetro) e a porcentagem de atividade antiradical calculada (HUANG & PRIOR, 2005). Como controle positivo foi

utilizado o flavonoide quercetina (40 mg/L) e como controle negativo o diluente. Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

### 3.4. ENSAIO PARA A AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO FOLIN

A amostra foi analisada quanto ao seu conteúdo de fenólicos totais solúveis, utilizando 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 a 200 mg/L. Para a substância de referência (ácido gálico) foi elaborada a curva analítica na concentração de 6,25; 12,5; 25; 50; 100 e 200 mg/L. A absorvância da amostra e amostra-padrão foram medidas em espectrofotômetro ( $\lambda = 730$  nm) e os resultados foram expressos como mg de equivalentes de ácido gálico (GAE) por grama de extrato ou fração em base seca (mg de GAE/g). Como controle positivo utilizou-se o flavonóide quercetina (40 mg/L) e como controle negativo o diluente. Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

### 3.5. ENSAIO PARA A AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

O ensaio biológico *in vitro* frente a bactérias (gram-positivas, gram-negativas) foi determinado pelo método de microdiluição seguindo a adequação de metodologia como descrita por Salvador (2005). Para cada extrato foram analisadas duas concentrações distintas (0,5  $\mu\text{g/mL}$  e 1,0  $\mu\text{g/mL}$ ) diante de todas as bactérias descritas.

Como indicadoras para a execução dos ensaios, utilizou-se bactérias cepas padrão da *American Type Culture Collection* (ATCC) e de campo: bactérias Gram-negativas: *Salmonella typhimurium* (St) – cepa de campo, Gram-positivas: *Staphylococcus aureus* (ATCC 14458), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6558), *Staphylococcus aureus* (ATCC 8-), *Staphylococcus aureus* (ATCC+ 7), *Bacillus subtilis* (ATCC Ct) *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228), *Staphylococcus epidermidis*

(6ep) – cepa de campo e *Kocuria hizophila* (ATCC 9341). Todas as bactérias foram cultivadas por 24 horas à 37°C em ágar Müller Hinton (MH). As cepas das indicadoras foram mantidas como culturas puras no Laboratório de Farmacognosia, Tecnologia Fitofarmacêutica e de Bioensaios do Instituto de Biologia/ Departamento de Farmácia/ Unicamp (IB/DFV/UNICAMP) e no laboratório de biociências do IFSULDEMINAS – Campus Inconfidentes MG.

Com relação ao método de microdiluição, foi utilizado em cada poço 50 µL de meio TSB (TryptoneSoyaBroth), 50 µL de amostras-teste preparadas em propilenoglicol/água esterilizada (1:19, v/v) nas concentrações de 0,5 e 1,0 mg/mL ou dos controles experimentais e mais 10 µL de inóculo (suspensão de micro-organismos em solução salina a 0,9% esterilizada, numa concentração de  $5.10^6$  UFC/mL). Os controles do inóculo e do meio também foram previstos.

Após um período de incubação de 24 horas, cada poço recebeu um inóculo de 20 µL de tetrazólio. Posterior a um novo período de incubação a 37° C, por cerca de 24 horas, realizou-se leitura visual, comparando as amostras com os controles. Os experimentos foram realizados em duplicata, para cada cepa indicadora.

### 3.6. ENSAIO PARA A AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA *IN VITRO*

Para a execução da atividade anti-inflamatória *in vitro* do extrato bruto foi utilizada a técnica de desnaturação de albumina BSA de acordo com Mizushima e Kobayashi (1968) com modificação. O ensaio se baseia na capacidade do extrato inibir a desnaturação da proteína (BSA), sendo a desnaturação de proteínas de tecido uma das causas bem documentadas de doenças inflamatórias e artríticas (CHOPADE *et al.*, 1998; MOHITE e BHASKAR, 2011).

Para tanto 1,0 mg dos extratos foram dissolvidos em 20 µL de DMSO e 980 µL de tampão fosfato (pH 7,0), sendo obtida uma solução a 1 mg/mL. A solução estoque de BSA 10% foi obtida adicionando 10 µg 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 µg/mL. O controle

negativo foi obtido utilizando-se 20 µL de água destilada adicionado a 180 µL 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 e depois a desnaturação do BSA foi obtida, mantendo a placa de microtitulação a 60 °C em um banho maria durante 10 minutos. Posterior a um tempo de cinco minutos de resfriamento foi procedida a 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: % de inibição de desnaturação do BSA = [(Média de absorção do composto teste) - 1] x100 Média de absorção do controle.

### 3.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados apresentados neste estudo 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. RESULTADOS**

### **4.1. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE**

Os extratos hexânico e etanólico apresentaram capacidade antioxidante avaliada pelo ensaio indireto DPPH, destacando o extrato etanólico que obteve  $IC_{50} = 169,39 \mu\text{g/mL}$ , de forma que esta atividade apresentou relação com o conteúdo de fenólicos totais solúveis determinados pelo ensaio colorimétrico Folin Ciocalteu (Tabela 1). A Tabela 2 apresenta os conteúdos fenólicos, com os valores que representam o Desvio Padrão e o Coeficiente de Variação dos dois extratos analisados.

**Tabela 1-** Conteúdo de fenólicos solúveis totais e capacidade antioxidante pelo método DPPH dos extratos hexânico e etanólico de *P. glabrata*:

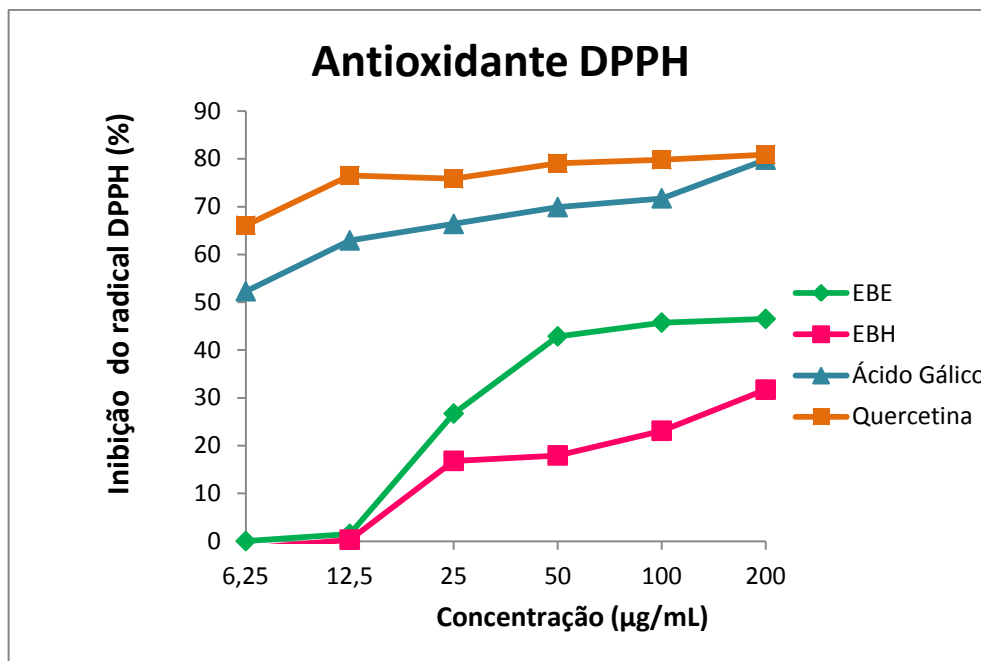
Amostras	Conteúdo fenólico <sup>a</sup> (mg GAE/g) <sup>b</sup>	Ensaio DPPH, IC <sub>50</sub> <sup>a</sup> , (µg/mL) <sup>c</sup>
EBE	2.20 (0.05)	169,39 (1.5)
EBH	1.78 (0.06)	> 200((1,1)
Quercetina*	-	8.30 (2.10)
Ácido caféico*	-	11.20 (2.40)

<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 IC50 (concentração que inibe 50% do radical DPPH) em microgramas por mililitros (µg /mL). \*: Controle positivo.

**Tabela 2-** Conteúdo fenólico *determinado pelo ensaio colorimétrico Folin Ciocalteau* presente em cada extrato frente ao Desvio Padrão e ao Coeficiente de Variação:

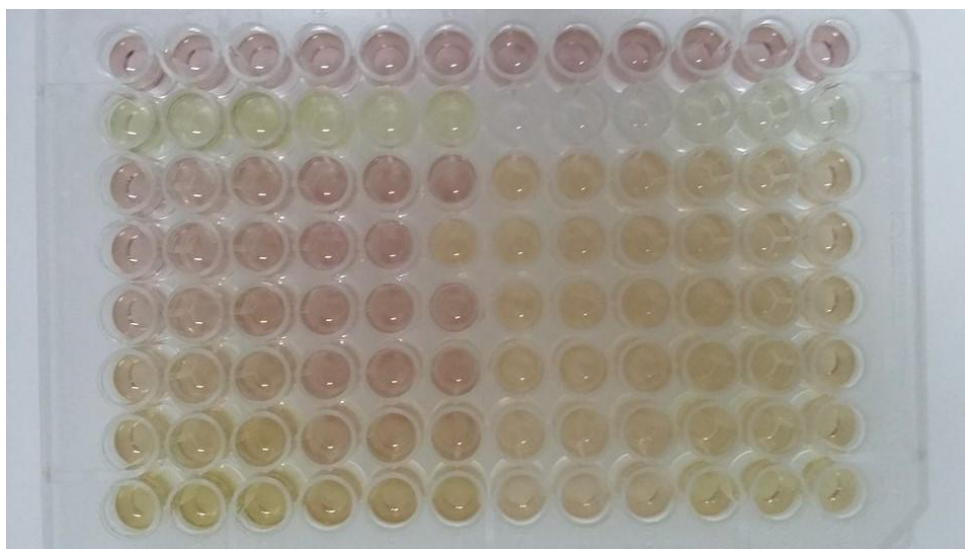
Amostras	Conteúdo fenólico (mg GAE/g)	Desvio Padrão	Coeficiente de Variação
Extrato bruto etanólico (EBE)	2.20 (0.05)	0,5	0,4
Extrato bruto hexânico (EBH)	1.78 (0.06)	0,5	0,6

A Figura 6 a seguir representa o percentual de inibição do radical DPPH frente às concentrações dos extratos e dos controles do Ácido gálico e da Quercetina utilizadas no estudo:



**Figura 6-** Representação gráfica da atividade antioxidante analisando o percentual de inibição do radical DPPH frente às concentrações dos extratos.

A figura 7 abaixo, ilustra o resultado da análise antioxidante utilizando o radical DPPH:



**Figura 7-** Resultado da análise da atividade antioxidante utilizando o radical DPPH dos extratos etanólico e hexânico de *Pfaffia glabrata*.

## 4.2. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Os resultados obtidos dos extratos brutos de *Pfaffia glabrata* em concentrações distintas (0,5 µg/mL e 1,0 µg/mL) indicou que esta espécie apresenta atividade antimicrobiana (Tabela 3). Os resultados mais significativos foram demonstrados diante das cepas de *Salmonella typhimurium* (ATCC Ct), *Bacillus subtilis* (ATCC Ct), *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228) e *Kocuria rhizophila* (ATCC 9341). Em contrapartida as cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC 14458), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6558), *Staphylococcus aureus* (ATCC 8-) e *Staphylococcus aureus* (ATCC +7) não apresentaram inibição nas concentrações estudadas (Tabela 3).

**Tabela 3** - Atividade antimicrobiana dos extratos brutos de *Pfaffia glabrata* expressa em termos de Concentração Biocida Mínima (CBM mg/ml), determinada pela técnica de microdiluição.

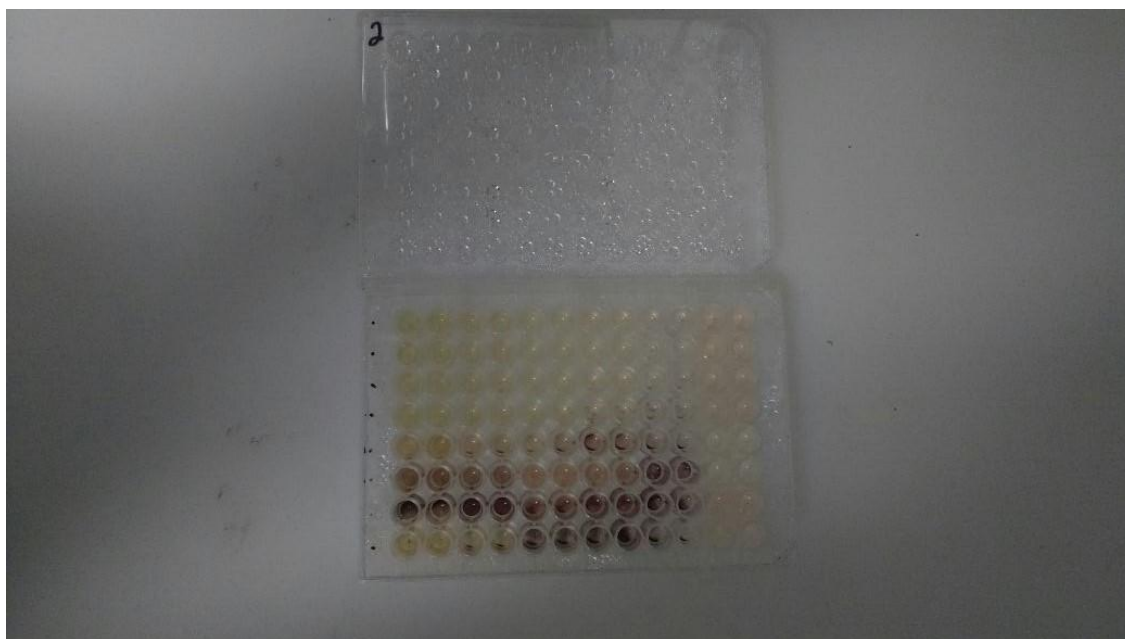
MICROORGANISMOS	EBE CBM (mg/mL)	EBH CBM (mg/mL)
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 14458)	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 6558)	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 8- )	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC+ 7)	-	-
<i>Salmonella typhimurium</i> (ATCC Ct)	0,5	0,5
<i>Bacillus subtilis</i> (ATCC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

American Type Culture Collection (ATCC); -: não se observou inibição do crescimento microbiano até a maior concentração avaliada (1,0 mg/mL) para os extratos brutos; CBM: concentração biocida mínima (mg/mL) =



concentração que inibe em 100% o desenvolvimento microbiano. Dados expressos como média de análise em duplicata. Amostras: EBH: extrato bruto em hexano; EBE: extrato bruto em etanol.

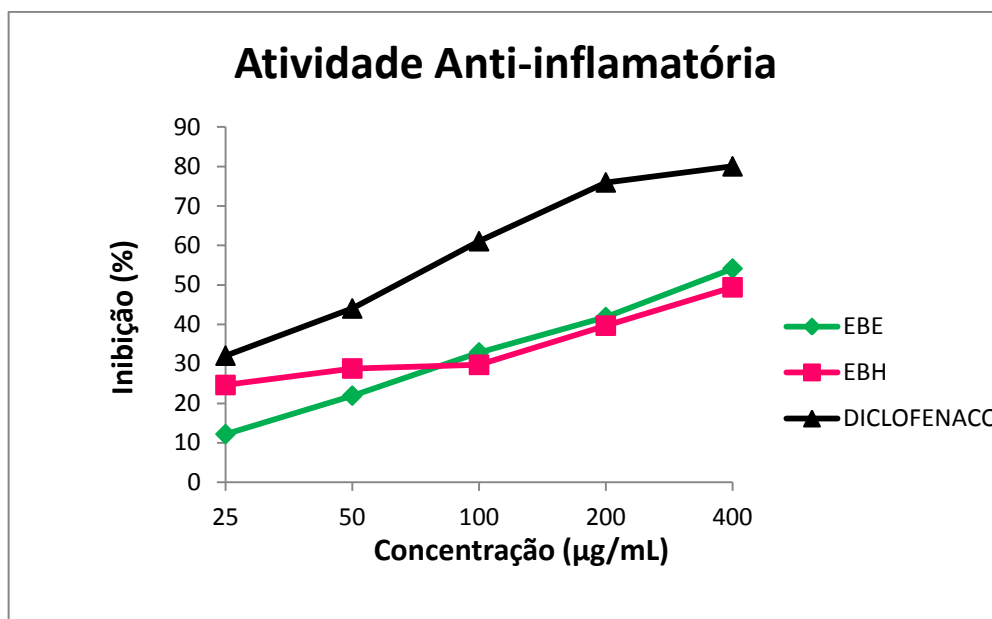
Adicionalmente, observa-se na Figura 8 os resultados (mudança de coloração) obtidos na análise da atividade antimicrobiana dos extratos :



**Figura 8-** Resultado da análise da atividade antimicrobiana de extratos de *P. glabrata*, utilizando o método de microdiluição.

#### 4.3.AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA *IN VITRO*

Os resultados da análise da capacidade anti-inflamatória dos extratos *in vitro* utilizando o ensaio da desnaturação da albumina de soro bovino (BSA), indicou valores mais relevantes para o extrato etanólico, comparado ao hexânico (Figura 9).



**Figura 9-** Representação do percentual de inibição frente às diferentes concentrações dos dois extratos.

O resultado do gráfico corrobora o entendimento de que a atividade inibidora de desnaturação proteica depende da concentração no intervalo de 200 a 400 µg/mL. Nota-se que o extrato etanólico apresentou melhor resultado na concentração de 400 µg/mL, inibindo 54,14% da desnaturação. O extrato hexânico provavelmente necessita de uma concentração maior que 400 µg/mL para apresentar 50% da desnaturação proteica. A determinação da  $IC_{50}$ , estimando-se a concentração que reduz em 50% a desnaturação proteica para cada amostra-teste do extrato etanólico indicou um valor de  $IC_{50}$  de  $308,37 \pm 0,45$  µg/mL.

## 5. DISCUSSÃO

A separação de substâncias orgânicas localizados nas espécies vegetais, o descobrimento de suas atividades e mecanismos de ação, seguem sendo um dos maiores desafios no ramo da química farmacêutica, fitoquímica e farmacologia (MACIEL *et al.*, 2007). Cascatas metabólicas tanto no corpo humano quanto em espécies vegetais geram radicais livres, no qual, são altamente reativos e trazem grandes malefícios ao organismo. A autoproteção natural que combate o dano celular causado por este processo oxidativo, se dá por meio de compostos antioxidantes presentes abundantemente em inúmeras plantas já estudadas.

Os resultados apresentados na Tabela 1 e 2, Figura 6 e 7, destacam que o extrato etanólico de *P. glabrata* tem capacidade antioxidante, sendo esta atividade relacionada com o conteúdo de fenólicos totais solúveis, determinado pelo ensaio colorimétrico Folin Ciocalteu. A análise do IC50 mostrado na Tabela 1 sustenta a melhor eficiência do extrato etanólico comparado ao hexânico, já que quanto menor for o IC50 melhor é a atividade apresentada pela planta perante os princípios ativos. Sendo assim, quanto maior a concentração da amostra e menor a absorvância, maior o consumo de DPPH e portanto o elevado consumo de DPPH pela amostra resulta em uma maior atividade antioxidante (ALVES *et al.*, 2007).

A metodologia utilizada na pesquisa, baseia-se na transferência de elétrons de um composto antioxidante para um radical livre, o DPPH, que ao se reduzir perde sua coloração

púrpura. Duarte-Almeida *et al.*, (2006), em seu estudo faz uma comparação entre o método de sequestro de radicais livres frente ao método utilizando a reação acoplada de ácido linolênico e  $\beta$ - caroteno e conclui que há uma discrepância nos resultados apresentados que pode variar de acordo com as espécies vegetais. Porém, em seu trabalho sobre atividade antioxidante de algumas frutas, a maior eficiência relacionada a este tipo de atividade foi na utilização do método DPPH, o mesmo utilizado nesta pesquisa com *P. glabrata*.

Os resultados obtidos no presente estudo constata a presença de princípios ativos presentes em produtos naturais obtidos de plantas do gênero *Pfaffia* (LEAL *et al.*, 2010; CORREA 2014) e justifica a ampla utilização de espécies da família Amaranthaceae para inibição de efeitos deletérios do estresse oxidativo (SALVADOR *et al.*, 2006; LEAL *et al.*, 2010; CHAUDHURI & SEVANAN, 2013).

Diversas plantas da família Amaranthaceae apresentam atividade antimicrobiana considerável já reportadas. A partir de 1982, Barros (1982) já mencionava sobre o combate à asma, bronquite e febre utilizando-se de raízes de *Gomphrena arborescens*. Siqueira (1992) também cita o uso de raízes de *Gomphrena* para o tratamento de infecções respiratórias com resultados significativos. Em contrapartida, ainda são escassos estudos relacionados a espécie *Pfaffia glabrata*, e de acordo com os resultados obtidos nesta pesquisa, a espécie vegetal tem grande potencial antimicrobiano frente aos microorganismos já citados.

Considerando os valores apresentados pela Tabela 3 e Figura 8, é possível inferir que os dois extratos avaliados compõem-se de metabólitos secundários com potencial considerável frente a alguns microorganismos. Nota-se que a planta é pouco eficiente em inibir bactérias gram-positivas como é o caso de *Staphylococcus aureus*, com exceção de *Bacillus subtilis* que apresentou uma boa efetividade na menor concentração de extrato utilizada no experimento. A ausência de atividade antibactericida pode ser decorrente da concentração dos extratos que foram utilizadas (0,5  $\mu\text{g/mL}$  e 1,0  $\mu\text{g/mL}$ ), da qualidade da planta (alterada por condições de solo, tipo de colheita, época de coleta, sazonalidade e teor de ativos) ou até mesmo por uma baixa sensibilidade destes organismos estudados frente aos extratos (PINHO *et al.*, 2012).

Schneider *et al.*, (2008) analisaram a atividade antimicrobiana de extratos de *Pfaffia glomerata* coletadas em diferentes épocas do ano, em dezembro/2006 e em maio/2006, frente aos microorganismos: *Streptococcus pyogenes* (ATCC 25922) *Escherichia coli* (ATCC 19615), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) e *Staphylococcus aureus* (ATCC

25929) concluindo que os extratos das plantas da primeira coleta apresentaram melhor atividade frente a todas as bactérias utilizadas, já o extrato obtido por meio das plantas da segunda coleta foi capaz de inibir apenas microorganismos Gram-positivos. De acordo com os autores, a época de coleta das plantas influencia a produção de metabólitos secundários capazes de apresentar atividade antimicrobiana. Salientando o fato da importância da coleta em épocas distintas, o que não foi realizado no presente estudo e que pode ter influenciado nos resultados obtidos.

Bona *et al.*, (2014) desenvolveram estudos comparando diferentes métodos de avaliação da atividade antimicrobiana tais como: método de difusão em ágar por disco e por poço e também o método de microdiluição, usando extratos etanólicos e aquosos das espécies folhas das plantas *Psidium guajava* (goiabeira branca), *Myrciaria cauliflora* (jaboticabeira) e *Syzygium cumini* (jambolão). As folhas foram coletadas em janeiro/2014 e fevereiro/2014 e os testes realizados com cepas padrão de *Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii* (CCCD B005), *Candida albicans* (ATCC 10231), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 13883), *Salmonella enterica* (ATCC 14028), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923). Para os autores, o método de microdiluição possibilitou a visualização da atividade inibitória dos extratos em menores concentrações, porém, o mesmo não ocorreu nos métodos de difusão em ágar. Pode ser observado também que ao contrário do método de microdiluição, alguns extratos nem mesmo apresentaram atividade inibitória quando foram utilizados nos testes de difusão. O que corrobora o aumento da utilização da técnica de microdiluição usada no presente estudo, pelo fato de possuir maior rendimento, baixo custo, utilizando pequenas quantidades de amostras, é mais sensível que outras técnicas e apresenta uma maior confiabilidade dos resultados (ELOFF, 1998; OSTROSKY *et al.*, 2008).

A presença de um campo amostral pequeno relacionado a bactérias Gram-negativas não permite induzir ao fato de que os extratos são eficientes diante desta linhagem de organismos, no entanto, é possível inferir que ambos extratos são bastante competentes na inibição de *Salmonella typhimurium*, sendo este um dado precioso diante da insuficiência de informações relacionadas a *P. glabrata*, portanto faz-se necessário novas pesquisas.

Os medicamentos anti-inflamatórios são uns dos agentes terapêuticos mais procurados e usados no mundo atual, no entanto, estes apresentam muitos efeitos adversos além de ter limitações em sua eficácia e potencialidade (PARENTE, 2001; FIORUCCI *et al.*,

2001). Frente a esta problemática indesejável o presente trabalho buscou explorar a atividade anti-inflamatória de *Pfaffia glabrata*, já que a literatura trás dados bastante relevantes sobre esta atividade presente em Amaranthaceae. De acordo com a análise feita nos dois extratos tanto etanólico quanto hexânico, demonstrada na Figura 9, obteve-se sucesso ao observar que a atividade inibidora de desnaturação proteica está presente e mostra ser eficaz, porém, em diferentes concentrações no extrato etanólico comparado ao hexânico.

Em virtude das propriedades químicas do extrato bruto etanólico, este apresentou maior eficácia, já que em uma concentração de  $308,37 \mu\text{g/mL} \pm 0,45 \mu\text{g/mL}$  expressou 50% de inibição de desnaturação de proteínas. Ao passo que, o extrato hexânico necessita de uma concentração maior que  $400 \mu\text{g/mL}$  para atingir este percentual de inibição. Deste modo, o extrato etanólico mostra-se promissor uma vez que não encontra-se relatos sobre a atividade anti-inflamatória de *P. glabrata*, sendo este o primeiro relato da atividade em ensaios anti-inflamatórios *in vitro*.

Em suma, a reunião de todos os resultados obtidos com a realização deste trabalho comprovaram que a espécie vegetal *Pfaffia glabrata* é de fato promissora, no entanto, faz-se necessário outros estudos envolvendo esta espécie vegetal para descoberta de novas atividades e de identificação dos princípios ativos, corroborando a produção de novas pesquisas e criação de fitoterápicos capazes de suprir as necessidades de comunidades carentes.

## 6. CONCLUSÃO

Conforme as análises feitas dos extratos hexânico e etanólico da espécie *P. glabrata*, constata-se que esta exibe um potencial antioxidante, antimicrobiano e anti-inflamatório.

No entanto, é necessário realizar outras técnicas, até mesmo *in vivo* para legitimar tais atividades expostas pelos extratos da planta, já que não se pode descartar uma análise de toxicidade que avalia os possíveis efeitos colaterais que o consumo de um futuro fitoterápico baseado nesta planta pode causar. Logo, averiguar estas atividades contribui para futuras prospecções biológicas.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRA, M. F.; SILVA, K. N.; BASÍLIO, I. J. L. D.; FREITAS, P. F.; FILHO, J. M. B. Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 3, p. 472-508, 2008.

ALBAYRAK, S.; ASKSOY, A.; SAGDIC, O.; ALBAYRAK S. Antioxidant and antimicrobial activities of different extracts of some medicinal herbs consumed as tea and spices in Turkey. **Journal of Food Biochemistry**, v. 36, n. 5, p. 547-554, 2012.

ALVES CQ, Brandão HN, David JM, David JP, Lima LS. Avaliação da atividade antioxidante de flavonóides. *Diálogos e ciência – Revista da rede ensino FTC*, 5(12): 7- 8, 2007.

ANDREWS, J. M. Determination of minimum inhibitory concentrations. **J Antimicrob Chemother**, jun;49(6):1049-2002, 2002.

ARBOS, K. A. **Estudo do potencial antioxidante de vegetais da família Cruciferae de diferentes cultivos**. 2004. 86f. Tese (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba.



AYGÜN, D. KAPLAN, S. ODACI, E.; ONGER, M. E.; ALTUNKAYNAK, M. E. Toxicity of non-steroidal anti-inflammatory drugs: a review of melatonin and diclofenac sodium association. **Histology and Histopathology**, v. 27, n. 4, p. 417, 2012.

BARROS, M.A.G. Plantas medicinais: uso e tradições em Brasília, DF. Oreades, 1981/1982. **Boletim do Departamento de Botânica do ICB/UFMG**, 8 (14/15), 1982.

BARTON, G. M. A calculated response: control of inflammation by the innate immune system. *The Journal of Clinical Investigation*, v.118, n.2, 2008.

BECHARA, G. H.; SZABÓ, M. P. J. Processo inflamatório. Alterações vasculares e mediação química. 2006. Disponível em: <[http://www.fcav.unesp.br/Home/departamentos/patologia/GERVASIOHENRIQUEBECHARA/inflam\\_aspectosvasculares2006.pdf](http://www.fcav.unesp.br/Home/departamentos/patologia/GERVASIOHENRIQUEBECHARA/inflam_aspectosvasculares2006.pdf)> Acesso em: 05 Mar. 2016.

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.

BONA, E. A. M.; PINTO, F. G. S.; FRUET, T. K.; JORGE, T. C. M.; MOURA, A. C. Comparação de métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração inibitória mínima (cim) de extratos vegetais aquosos e etanólicos. **Arq. Ins. Bio.**, São Paulo, v.81, n.3, p.218 -225, 2014. Disponível em: <[http://www.biologico.sp.gov.br/docs/arq/v81\\_3/218-225.pdf](http://www.biologico.sp.gov.br/docs/arq/v81_3/218-225.pdf)> Acesso em: 07 Ago. 2016.

BOTSARIS, A.S.; MACHADO, P.V. Introdução à fitoterapia: momento terapêutico fitoterápicos. Rio de Janeiro: **Flora Medicinal**, 1999. p. 8-11.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos. Brasília: Série B - Textos Básicos de Saúde, 2006. 60p.

CHAUDHURI, D.; SEVANAN, M. Phytochemical Composition of the Extracts from *Iresineherbstii* and its Therapeutic use via Antioxidant and Cytotoxic Potential by Multiple In Vitro Assays. **International Journal of Phytomedicine**, v. 4, n. 4, p. 477-485, 2013.

CHOPADE, S. O.; BANSODE, P. N.; HIWARSE, S. S. Studies on fertilizer and water management to onion. **PKV Research Journal**, v.22, p.44-47, 1998.

CNCFlora. *Pfaffia glabrata* in Lista Vermelha da flora brasileira versão 2016.1 **Centro Nacional de Conservação da Flora**. Disponível em <[http://cncflora.jbrj.gov.br/portal/pt-br/profile/Pfaffia glabrata](http://cncflora.jbrj.gov.br/portal/pt-br/profile/Pfaffia%20glabrata)>. Acesso em: 05 Set. 2016.

CORREA, W.R. **Prospecção de substâncias bioativas em *Pfaffia townsendii* e *Pfaffia tuberosa* (Gomphreneae, Amaranthaceae)**. 2014. Tese (Doutorado em Ciências - Área Fármacos e Medicamentos). Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia. Campinas. Disponível em: <<http://www.bibliotecadigital.unicamp.br/document/?code=000937985>> Acesso em: 11 Mar. 2016.

COSTELLOE, C.; METCALFE, C.; LOVENING, A.; MANT, D.; HAY, A. D. Effect of antibiotic prescribing in primary care on antimicrobial resistance in individual patients: systematic review and meta-analysis. **Bmj**, v. 340, 2010.

DUARTE-ALMEIDA, J. M.; SANTOS, R. J.; GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema  $\beta$ -caroteno /ácido linoleico e método de sequestro de radicais DPPH. **Ciê. Tecnol. Aliment.**, Campinas, 26(2):446-452, abr-jun, 2006.

ELOFF, J. N. A Sensitive and Quick Microplate Method to Determine the Minimal Inhibitory Concentration of Plants Extracts for Bacteria. **Planta Médica**, v.64, p.711-713, 1998.

ETHUR, L.Z. *et al.* Comércio formal e perfil de consumidores de plantas medicinais e fitoterápicos no município de Itaqui – RS. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.13, n.2, p.121-28, 2011.

FIORUCCI, S.; MELI, R.; BUCCI, M.; CIRINO, G. Dual inhibitors of cyclooxygenase and 5-lipoxygenase. A new avenue in anti-inflammatory therapy? **Biochemical Pharmacology**, v. 62, p. 1433, 2001.

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. **Caderno de Pesquisas**, São Luís, v. 18, n. especial, dez. 2011. Disponível em: <[http://www.pppg.ufma.br/cadernosdepesquisa/uploads/files/Artigo%2010\(7\).pdf](http://www.pppg.ufma.br/cadernosdepesquisa/uploads/files/Artigo%2010(7).pdf)> Acesso em: 10 Ago. 2016

FREITAS, C.S.; BAGGIO, C. H.; DA SILVA SANTOS, J. E.; RIECK, L.; SANTOS, C. A. D.; JUNIOR, C. C.; MING, L. C.; CORTEZ, D. A. G.; MARQUES, M. C. A. Involvement of nitric oxide in the gastroprotective effects of an aqueous extract of *Pfaffia glomerata* (Spreng) Pedersen, Amaranthaceae, in rats. **Life Sciences**, v. 74, n. 9, p. 1167-1179, 2004.

GARLET, T.M.B.; IRGANG, B.E. Plantas medicinais utilizadas na medicina popular por mulheres trabalhadoras rurais de Cruz Alta, Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.4, n.1, p.9-18, 2001.

HAWKEY, C. J. Nonsteroidal anti-inflammatory drug gastropathy. **Gastroenterology**, v. 119, n. 2, p. 521-535, 2000.

HOLETZ, F.B.; PESSINI, G. L.; SANCHES, N. R.; CORTEZ, D. A.; NAKAMURA, C. V.; FILHO, B. P. Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. **Memórias do Instituto Oswald Cruz**, v.97, n.7, p.1027-31, 2002. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12471432>> Acesso em: 04 de Mai. 2016.

HÖJGÅRD, S. Antibiotic resistance—why is the problem so difficult to solve?.**Infection Ecology & Epidemiology**, v. 2, 2012.

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

LEAL, P.F.; KFOURI, M. B.; ALEXANDRE, F. C.; FAGUNDES, F. H. R.; 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 Super critical Fluids**, v. 54, n. 1, p. 38-45, 2010. Disponível em: <<http://www.repositorio.unicamp.br/handle/REPOSIP/63228>> Acesso em: 04 de Mai. 2016.

MACIEL, M. A. M.; GOMES, F. E. S.; PINTO, A. C.; CÓLUS, I. M. S.; MAGALHÃES, N. S. S.; GRYNBERG, N. F.; ECHEVARRIA, A. Aspectos sobre Produtos Naturais na Descoberta de Novos Agentes Antitumorais e Antimutagênicos. **Revista Fitos**, v.3, n.01, mar 2007. Disponível em: < <http://revistafitos.far.fiocruz.br/index.php/revista-fitos/article/view/66>> Acesso em: 20 Mai. 2016.

MARCHIORETTO, M.S.; SENA, L.; SIQUEIRA, J. C. de *Amaranthaceae* in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. 2015. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB42>>. Acesso em: 15 Novem. 2015

MARCHIORETTO, M.S.; AZEVEDO, F.; JOSENDE, M. V. F.; SCHNORR, D. M. Biogeografia da família Amaranthaceae no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Botânica**, v. 59, p. 171-190, 2008.

MARCHIORETTO, M. S.; MIOTTO, S.T.S.; SIQUEIRA, J.C. O gênero *Pfaffia* Mart. (Amaranthaceae) no Brasil. **Hoehnea** (37) 3. P. 461-511, 20 fig., 2010. Disponível em: < <http://www.scielo.br/pdf/hoehnea/v37n3/v37n3a04.pdf>> Acesso em: 15 Nov. 2015.

MARCHIORETTO, M.S.; SENNA, L.; SIQUEIRA, J.C. **Amaranthaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil**, 2012. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2012/FB000042>>. Acesso em: 15 Ago. 2016.

MARCHIORETTO, M.S.; MIOTTO, S.T.S.; SIQUEIRA, J.C. Padrões de distribuição geográfica das espécies brasileiras de *Pfaffia* (Amaranthaceae). **Rodriguésia**, v. 60, n. 3, p. 667-681, 2009.

MIZUSHIMA, Y.; KOBAYASHI, M. Interaction of anti-inflammatory drugs with serum proteins, specially with some biologically active proteins. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 20, n. 3, p. 169-173, mar. 1968.

MOHITE, P. B.; BHASKAR, V. H. Potential Pharmacological Activities of Tetrazoles in The New Millennium. **International Journal of PharmTech Research**, v.3, n. 3, p.1557-1566, Jul-Sept, 2011.

NAGAMINE, M.K.; DA SILVA, T. C.; MATSUZAKI, P.; PINELLO, K. C.; COGLIAT, B.; PIZZO, C. R.; AKISUE, G.; HARAGUCHI, M.; GÓRNIK, S. L.; SINHORINI, I. L.; RAO,

K. V.; BARBUTO, J. A.; DAGLI, M. L. Cytotoxic effects of butanolic extract from *Pfaffia paniculata* (Brazilian Ginseng) on cultured human breast cancer cell line MCF-7. **Experimental and Toxicologic Pathology**, v. 61, n. 1, p. 75-82, 2009.

NIRAIMATHI, K.L.; VEERAPPAN, S.; LAVANYA, R.; BRINDHA, P. Biosynthesis of silver nanoparticles using *Alternanthera sessilis* (Linn.) extract and their antimicrobial, antioxidant activities. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 102, p. 288-291, 2013.

OLIVEIRA, A.R.; FREITAS, S.P. Levantamento fitossociológico de plantas daninhas em áreas de produção de cana-de-açúcar. **Planta Daninha**, v. 26, n. 1, p. 33-46, 2008.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. General guidelines for methodologies on research and evaluation of traditional medicine. Genebra, 2000. Disponível em: <[http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/66783/1/WHO\\_EDM\\_TRM\\_2000.1.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/66783/1/WHO_EDM_TRM_2000.1.pdf)>. Acesso em: 28 dez. 2015.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. The World Medicines Situation 2011: traditional medicines: global situation, issues and challenges. Genebra: Organização Mundial da Saúde, 2011. 12p.

OSTROSKY, E. A.; MIZUMOTO, M. K.; LIMA, M. E. L.; KANEKO, T. M.; NISHIKAWA, S. O.; FREITAS, B. R. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais. **Rev. Bras. Farmacogn.** v.18, n.2, p.301-307, 2008.

PARENTE, L. Pros and cons of selective inhibition of cyclooxygenase-2 versus duas lipooxygenase/cyclooxygenase inhibition: is two better than one? **The Journal of Rheumatology**, v. 28, p.2375-2382. 2001.

PICCINELLI, A.L.; DE SIMONE, F.; PASSI, S.; RASTRELLI, L. Phenolic constituents and antioxidant activity of *Wendita calysina* leaves (burrito), a folk Paraguayan tea. **J. Agric. Food Chem.** V.52, p.5863-5868, 2004.

PINHO, L.; SOUZA, P. N. S.; SOBRINHO, E. M.; ALMEIDA, A. C.; MARTINS, E. R. Atividade antimicrobiana de extratos hidroalcoolicos das folhas de alecrim-pimenta, aroeira, barbatimão, erva baleeira e do farelo da casca de pequi. **Ciência Rural, Santa Maria**, v. 42, n.2, p.326-331, fev, 2012. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782012005000003>> Acesso em: 20 Ago. 2016.

PLATE, A.Y.A.; ARÊAS, J.A.G. Cholesterol-lowering effect of extruded amaranth (*Amaranthuscaudatus L.*) in hypercholesterolemic rabbits.**Food Chemistry**, v. 76, n. 1, p. 1-6, 2002.

RATTES, S. M. K.; GOSMANN, G. Gênero *Pfaffia*: aspectos químicos, farmacológicos e implicações para o seu emprego farmacêutico. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.12, n.2, p. 85-93, 2002. Disponível em: < <http://www.scielo.br/pdf/rbfar/v12n2/a05v12n2.pdf>> Acesso em: 15 Fev. 2016

SALVADOR, M.J. **Estudo químico, biológico e biotecnológico de *Alternanthera maritima* e *Alternanthera tenella* (Gomphreneae, Amaranthaceae)**. 2005. 410p. Doutorado (Doutorado em Ciências - Área Química), Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

SALVADOR, M.J.; DE LOURENÇO, C. C.; ANDREAZZA, N. L.; PASCOAL, A. C.; STEFANELLO, M. E. Antioxidant capacity and phenolic content of four Myrtaceae plants of the south of Brazil. **Natural Product Communications**, v. 6, n. 7, p. 977-982, 2011.

SALVADOR, M.J.; PEREIRA, P. S.; FRANÇA, S. C.; CANDIDO, R. C.; ITO, I. Y.; DIAS, D. A. Bioactive chemical constituents and comparative antimicrobial activity of callus culture and adult plant extracts from *Alternanthera tenella*. **Zeitschrift für Naturforschung. C, A journal of biosciences**, v. 64, n. 5, p. 373, 2009.

SALVADOR, M.J. et al. Bioactivity of crude extracts and some constituents of *Blutaparou portulacoides* (Amaranthaceae). **Phytomedicine**, v. 9, n. 6, p. 566-571, 2002.

SALVADOR, M.J. et al. Isolation and HPLC quantitative analysis of antioxidant flavonoids from *Alternanthera tenella* Colla. **Zeitschrift fur Naturforschung C-Journal of Biosciences**, v. 61, n. 1-2, p. 19-25, 2006.

SECRETARIA DE ESTADO DO MEIO AMBIENTE (SEMA/GTZ). **Lista Vermelha de Plantas Ameaçadas de Extinção no Estado do Paraná, Curitiba, PR**, p.139, 1995.

SEKHON, I. et al. Glomerular Tip Lesion Associated With Nonsteroidal Anti Inflammatory Drug-Induced Nephrotic Syndrome. **American Journal of Kidney Diseases**, v. 46, n. 4, p. e55-e58, 2005.

SCHENEIDER, J.; NEVES, M.; EBERHARDT, G. N.; MUSSURY, R. M.; MELO, A. M. M. F. Atividade antimicrobiana in vitro das raízes de duas espécies da família Amaranthaceae ( *Pfaffia glomerata* e *Gomphrena elegans*). **Interbio** v.2, n.1, 2008.

SILVA, I.M. A flora na vida do índio Karajá. **Atas da Sociedade Brasileira de Botânica. Brasil. seção RJ**, 2: 21-32, 1983.

SIQUEIRA J.C. O gênero *Gomphrena* L. (Amaranthaceae) no Brasil. **Pesquisas – Botânica**, v. 43, p. 5197, 1992.

SIQUEIRA J. C. Amaranthaceae de Mata Atlântica. *Acta Biologica Leopoldensia*. v. 12, p. 165-173, 1990.

SIQUEIRA, J. C.; GRANDI, T. S. M. O gênero *Pfaffia* Mart.(Amaranthaceae) nos cerrados e campos rupestres de Minas Gerais. **Acta Biologica Leopoldensia**, v. 8, n. 2, p. 213-230, 1986.

SIQUEIRA, J.C. Amaranthaceae: padrões de distribuição geográfica e aspectos comparativos dos gêneros africanos e sul-americanos. **Pesquisa Botânica**, v. 55, p. 177-185, 2004.

SOUZA, V.C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II**. Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2005. 640 p. Disponível em: <

[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_nlinks&ref=000208&pid=S1516-0572201000030001500051&lng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_nlinks&ref=000208&pid=S1516-0572201000030001500051&lng=en)> Acesso em: 20 mai. 2015.

TANIGUCHI, S. F. *et al.* Effect of *Pfaffia iresinoides* on the experimental inflammatory process in rats. **Phytotherapy Research**, v. 11, n. 8, p. 568-571, 1997.

TANIMOTO, A. **Avaliação da atividade anti- inflamatória intestinal de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen.** 2013. 67 p. Mestrado (Mestrado em Ciências Biológicas, Área de concentração: Farmacologia. Instituto de Biociências, UNESP, *Campus* Botucatu.

VEIGA-JÚNIOR, V.F.V.; PINTO, A.C.; MACIEL, M.A.M. Plantas medicinais: cura segura? **Química Nova**, v.28, n.3, p.519-28, 2005.

VONKEMAN, H.E.; VAN DE LAAR, M. A. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs: adverse effects and their prevention. In: *Seminars in Arthritis and Rheumatism*. **WB Saunders**, v. 39, N. 4, p. 294-312, 2010.

WU, X.; BEECHER, G.R.; HOLDEN, J.M.; HAYTOWITZ, D.B.; GEBHARDT, S.E.; PRIOR, R.L. Lipophilic and hydrophilic capacities of common foods in the United States. **J. Agric. Food Chem**, V.52, p.4026-4037, 2004.