



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DO SÃO FRANCISCO  
CURSO DE GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**ANGÉLICA BARBOSA JERICÓ**

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL CITOGENOTÓXICO DO EXTRATO AQUOSO DAS  
CASCAS DO CAULE DO *Sarcomphalus joazeiro* (Mart.) Hauenschild**

**PETROLINA  
2023**

**ANGÉLICA BARBOSA JERICÓ**

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL CITOGENOTÓXICO DO EXTRATO AQUOSO DAS  
CASCAS DOS CAULE DO *Sarcomphalus joazeiro* (Mart.) Hauenschild**

Trabalho apresentado a Universidade Federal do Vale do  
São Francisco – UNIVASF, *Campus* Ciências Agrárias,  
como requisito para obtenção do título de Bacharel em  
Ciências Biológicas.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Kyria Cilene de Andrade Bortoleti  
Coorientadora: MS. Palloma Lima de Oliveira

**PETROLINA  
2023**

J55a Jericó, Angélica Barbosa  
Avaliação do potencial citogenotóxico do extrato aquoso das cascas do caule do *Sarcomphalus joazeiro* (Mart.) Hauenschild / Angélica Barbosa Jericó. – Petrolina-PE, 2023.  
69 f.: il.; 29 cm.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Federal do Vale do São Francisco, Campus Ciências Agrárias, Petrolina-PE, 2023.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Kyria Cilene de Andrade Bortoleti.

Inclui referências.

1. Plantas medicinais. 2. Citotoxicidade. 3. Genotoxicidade. 4. Juazeiro (Botânica). I. Título. II. Bortoleti, Kyria Cilene de Andrade. III. Universidade Federal do Vale do São Francisco.

CDD 581.634

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema Integrado de Bibliotecas - SIBI/UNIVASF.  
Bibliotecária: Andressa Laís Machado de Matos CRB – 4/2240.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DO SÃO FRANCISCO**  
**CURSO DE GRADUAÇÃO CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**FOLHA DE APROVAÇÃO**

**ANGÉLICA BARBOSA JERICÓ**

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL CITOGENOTÓXICO DO EXTRATO AQUOSO DAS  
CASCAS DO CAULE DO *Sarcomphalus joazeiro* (Mart.) Hauenschild**

Trabalho de conclusão de curso apresentado  
como requisito parcial para obtenção do título de  
Bacharela em Ciências Biológicas, pela  
Universidade Federal do Vale do São Francisco.

Aprovado em: 16 de fevereiro de 2023.

**Banca Examinadora**

  
Kyria Cilene de Andrade Bortoleti (Feb 16, 2023 23:46 GMT-3)

Dr<sup>a</sup>. Kyria Cilene de Andrade Bortoleti - Orientadora,  
Universidade Federal do Vale do São Francisco

  
Draulio Costa da Silva (Feb 17, 2023 10:38 GMT-3)

Dr. Draulio Costa da Silva, Primeiro examinador  
Universidade Federal do Vale do São Francisco

  
ILKA FERNANDA MENDES PEREIRA (Feb 17, 2023 13:20 GMT-3)

Ma. Ilka Fernanda Mendes Pereira, Segundo examinador

À Deus e a minha família.

Dedico.

## AGRADECIMENTOS

Sou eternamente grata a Deus por toda força que Ele tem me dado ao longo da minha vida, e mesmo nos momentos de pouca fé, Ele tem me erguido.

Agradeço aos meus pais Antônio Francisco Jericó (*in memoriam*) e a Maria Jucicleide Barbosa Jericó, por todo amor, dedicação e ensinamentos. Por terem valorizado tanto a minha educação quanto a de meu irmão e por sempre estarem preocupados em nos dá bons estudos. AMO!

Agradeço ao meu irmão Antônio Francisco Jericó Júnior, que é meu exemplo, meu orgulho e meu limãozinho, obrigada por sempre cuidar de mim, te amo!

Agradeço aos meus avós maternos Josefa Barbosa da Silva e José Barbosa filho (*in memoriam*).

Agradeço aos meus avós paternos Gumercindo Francisco Jericó (*in memoriam*) e Maria Izaías de Jesus Jericó (*in memoriam*).

Agradeço aos meus tios, primos, madrinha, padrinho, e a meus afilhados por sempre me darem tanto carinho, serem fonte de energia nessa minha caminhada. Amo!

Agradeço à minha orientadora Kyria Cilene de Andrade Bortoleti, por ter me acolhido no laboratório, por me proporcionar grandes oportunidades de aprendizado e por toda paciência com a minha lentidão (risos). Obrigada por não ter desistido de mim, mora no meu coração.

Gratidão à minha coorientadora Palloma Lima de Oliveira, por quem tenho um grande carinho, paciência em pessoa, dedicada, carinhosa e sempre disposta a ajudar. Muito obrigada por não ter me deixado desistir! Agradeço a você e Dona Lúcia por terem me acolhido em seu lar e por todos ensinamentos. Vocês estão no meu coração.

Quero agradecer aos amigos da Univasf (Maria Carolina, Brunara, Ana Caroline, Rogério, Jefferson, Daniela, Vladimir, Naine, Aline, Emmanuelle, Gilson), pois foi com vocês que passei a maior parte do meu tempo nesses últimos anos, com muita aprendizagem, aperreios e diversão. Amo cada um!

Agradeço aos meus amigos de infância (Soraia, Tacia, Tacila, Cleane, Jaqueline, Sabrina, Suedna) pela força que sempre me deram mesmo que estivéssemos distantes e a minha amiga Crislayne Rodrigues (*in memoriam*).

Ao Cemafauna Caatinga, pela infraestrutura disponibilizada para a realização deste trabalho e a UFPE. Por fim, agradeço a todas as pessoas que contribuíram direta ou indiretamente na execução deste trabalho.

“Não diga que a vitória está perdida se é de batalhas que se vive a vida,  
tente outra vez”.

- Raul Seixas



## RESUMO

*Sarcomphalus joazeiro* (Mart.) Hauenschild (Rhamnaceae), conhecida como juazeiro ou juá, tem sido utilizada na medicina popular para problemas respiratórios, estomacais, intestinais, higiene pessoal, bem como é apontada cientificamente como cicatrizante, antioxidante, antibacteriana, antifúngica e antipirética, sendo uma espécie promissora para obtenção de fitofármacos. Entretanto, o uso indiscriminado desse vegetal suscita uma preocupação quanto à possíveis efeitos adversos à saúde humana, uma vez que seu potencial tóxico foi pouco investigado. Nesse sentido, o presente estudo avaliou a composição fitoquímica do extrato aquoso das cascas do caule de *S. joazeiro* mediante cromatografia em camada delgada (CCD), assim como o potencial citogenotóxico de diferentes concentrações do referido extrato utilizando o teste de MTT (3,12 a 1.600 µg/mL) e ensaio de micronúcleo com bloqueio de citocinese (CBMN; 50, 100 e 200 µg/mL) na linhagem celular de fibroblasto de murino L929. O extrato apresentou metabólitos secundários pertencentes a classe dos terpenos (esteroides, saponinas, triterpenos), dos compostos fenólicos (lignanas, taninos condensados e outros) e derivados antracênicos. O teste de MTT evidenciou ausência de efeito citotóxico para as concentrações de 3,12 a 200 µg/mL, cuja viabilidade celular variou entre 104,45 a 139,71%, enquanto que as concentrações de 400 (20,73%), 800 (18,75%) e 1.600 (16,20%) µg/mL mostraram-se citotóxicas. Em relação à genotoxicidade, a concentração de 50 µg/mL não apresentou alterações nucleares significativas [MN (23,67), BN (14,33), PN (1,67)], frente ao CN [MN (8,67), BN (6,44), PN (1,11)], sugerindo ausência de ação genotóxica. Contudo, as concentrações de 100 e 200 µg/mL foram genotóxicas para o valor médio de MN [30,00 (100 µg/mL) e 42,67 (200 µg/mL)], BN [23,22 (200 µg/mL)] e PN [4,67 (200 µg/mL)], quando comparados ao controle negativo. Possivelmente, o efeito genotóxico notado para concentrações acima de 100 µg/mL pode estar associado a ação isolada e/ou conjunta dos fitoconstituintes presentes nesse extrato. Por outro lado, a ausência de citogenotoxicidade visualizada para concentrações ≤ que 50 µg/mL indica um potencial promissor desta espécie como fonte natural de recursos fitoterápicos, embora outros estudos pré-clínicos precisem ser realizados.

**Palavras-chave:** Juazeiro. Sistema aquoso convencional. Teste MTT. Micronúcleo.

## ABSTRACT

*Sarcomphalus joazeiro* (Mart.) Hauenschild (Rhamnaceae), known as juazeiro or joá, has been used in folk medicine for respiratory, stomach and intestinal problems, personal hygiene, as well as, it is identified as healing, antioxidant, antibacterial, antifungal and antipyretic, being a promising species to obtain phytopharmaceuticals. However, the indiscriminate use of this plant raises concerns about possible adverse effects on human health, since its toxic potential has been poorly investigated. In this context, the present study evaluated the phytochemical composition of the conventional aqueous extracts of the stem bark of *S. joazeiro* by means of thin layer chromatography (TLC), as well as the cytogenotoxic potential of different concentrations of the referred extract using the MTT test (3.12 to 1,600  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ) and cytokinesis blocking micronucleus assay (CBMN), at concentrations of 50, 100 and 200  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  in the L929 fibroblast cell line. The extract presented the secondary metabolites lignans, saponins, condensed tannins, triterpenes and steroids, phenolic compounds and anthracene derivatives. MTT test showed no cytotoxic effect for concentrations from 3.12 to 200  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ , which cell viability ranged between 104.45 to 139.71%. In turn, viability of L929 cells was reduced to 20.73%, 18.75% and 16,20% at 400, 800 and 1,600  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ , showing cytotoxic effect. In relation to genotoxicity, the concentration of 50  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  did not show a genotoxic effect [MN (23.67), BN (14.33), PN (1.67)], when compared with CN [MN (8.67), BN (6.44), PN (1.11)]. However, the concentrations of 100 and 200  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  were genotoxic for the average value of MN [30.00 (100  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ) and 42.67 (200  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ )], BN [23.22 (200  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ) mL] and PN [4.67 ((200  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ )] when compared with the negative control ( $p < 0.05$ ). Possibly, the genotoxic effect noted for concentrations greater than 100  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  may be associated with the isolated and/or combined action of the phytochemicals present in this extract. On the other hand, the absence of cytogenotoxicity for concentrations  $\leq 50 \mu\text{g.mL}^{-1}$  emphasizes their promising potential as a natural source of therapeutic resources, although other preclinical studies need to be performed.

**Key-words:** Juazeiro. Conventional aqueous system. MTT test. Micronucleus.

## LISTAS DE FIGURAS

- Figura 1 - Figura 1: A - Indivíduo de *Sarcomphalus joazeiro* ocorrente na Caatinga; B - *Sarcomphalus joazeiro* com presença de espinhos em seu tronco. 27
- Figura 2 - Esquema com alguns dos principais metabólitos secundários encontrados nas plantas. 30
- Figura 3 - Reação de redução do MTT (um sal de coloração amarela e solúvel em água) a formazan (sal de coloração arroxeadada e insolúvel em água). 37
- Figura 4 - Formação de micronúcleo em células em divisão nuclear. 38
- Figura 5 - Avaliação da viabilidade celular em linhagem de fibroblasto de murino (L929) expostas a diferentes concentrações do extrato aquoso das cascas do caule do *Sarcomphalus joazeiro* mediante o ensaio de MTT. 47
- Figura 6 - Células de fibroblasto de camundongo L929 expostas à diferentes concentrações do extrato aquoso das cascas do caule *S. joazeiro* (50, 100 e 200 µg/mL) através do ensaio CBMN. 49

## LISTAS DE TABELAS

Tabela 1 -	Atividades biológicas descritas para estruturas vegetais de espécies pertencentes aos gêneros <i>Sarcomphalus</i> e <i>Ziziphus</i> .	26
Tabela 2 -	Compostos químicos e suas respectivas classes presentes em diferentes partes vegetais pertencentes aos gêneros <i>Sarcomphalus</i> e <i>Ziziphus</i> .	33
Tabela 3 -	Avaliação da citotoxicidade de diferentes extratos pertencentes à espécie <i>Sarcomphalus joazeiro</i> mediante o teste de MTT.	37
Tabela 4 -	Sistemas de solvente, padrões, reveladores e forma de detecção dos compostos na triagem fitoquímica por Cromatografia em Camada Delgada para o extrato aquoso das cascas do caule de <i>Sarcomphalus joazeiro</i> .	41
Tabela 5 -	Método de avaliação da presença de metabólitos secundários.	43
Tabela 6 -	Classe dos metabolitos secundários evidenciados nas cascas do caule do extrato aquoso de <i>Sarcomphalus joazeiro</i> .	46
Tabela 7 -	Número de alterações nucleares individuais e total em células L929 binucleadas após exposição à diferentes concentrações do extrato aquoso das cascas do caule de <i>Sarcomphalus joazeiro</i> mediante o ensaio de CBMN.	48

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BN	Broto Nuclear
CB	Ensaio de Micronúcleo com Bloqueio de Citocinese
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CBMN	Ensaio de Micronúcleo com Bloqueio de Citocinese
CN	Controle Negativo
CNS	Conselho Nacional de Saúde
CP	Controle Positivo
DAPI	(4',6-diamidino-2-phenylindole)
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle Medium
DMSO	Dimetilsulfóxido
EMA	European Medicines Agency; Agência Europeia de Medicamentos
FDA	Food and Drug Administration; Administração de Alimentos e Medicamentos
HCN	Ácido Cianídrico
INIPI	Instituto Nacional da Propriedade Industrial
MN	Micronúcleo
MTT	(3- (4,5- dimetiltiazol-2-il) -2,5-difeniltetrazólio brometo)
NCDI	Índice de Citotoxicidade por Divisão Celular
OECD	Organization for Economic Cooperation and Development; Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico
PN	Ponte Nucleoplasmática

PNPIC	Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares
PNPMF	Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos
RENISUS	Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS
SUS	Sistema Único de Saúde

## SUMÁRIO

<b>1.</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>17</b>
<b>2.</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>19</b>
2.1.	OBJETIVO GERAL .....	19
2.2.	OBJETIVOS ESPECIFICOS .....	19
<b>3.</b>	<b>FUNDAMENTAÇÃO TEORICA</b> .....	<b>20</b>
3.1.	PLANTAS MEDICINAIS E SEU USO POPULAR .....	20
3.2.	FAMÍLIA RHAMNACEAE Juss. ....	23
3.3.	A ESPÉCIE <i>Sarcomphalus joazeiro</i> (Mart.) Hauenschild - sin. Bas. <i>Ziziphus joazeiro</i> (Mart.).....	25
3.4.	METABOLITOS SECUNDÁRIOS: CLASSIFICAÇÃO E PROPRIEDADES BIOLÓGICAS ASSOCIADAS.....	29
3.5.	AVALIAÇÃO DO POTENCIAL CITOGENOTÓXICO DE PLANTAS MEDICINAIS .....	34
<b>3.5.1.</b>	<b>Teste de MTT</b> .....	<b>36</b>
<b>3.5.2.</b>	<b>Ensaio do Micronúcleo com Bloqueio de Citocinese (CBMN)</b> .....	<b>37</b>
<b>4.</b>	<b>METODOLOGIA</b> .....	<b>40</b>
4.1.	OBTENÇÃO DO MATERIAL VEGETAL.....	41
4.2.	PROCESSAMENTO DO MATERIAL VEGETAL E PREPARAÇÃO DO EXTRATO AQUOSO CONVENCIONAL DAS CASCAS DO CAULE DE <i>Sarcomphalus joazeiro</i> .....	42
4.3.	CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA DO EXTRATO AQUOSO CONVENCIONAL DAS CASCAS DO CAULE DE <i>Sarcomphalus joazeiro</i> .....	43
4.4.	ANÁLISE DA CITOGENOTOXICIDADE DO EXTRATO AQUOSO CONVENCIONAL DAS CASCAS DO CAULE DE <i>Sarcomphalus joazeiro</i> .....	43
<b>4.4.1.</b>	<b>Cultura e manutenção da linhagem celular L929</b> .....	<b>43</b>
<b>4.4.2.</b>	<b>Teste do MTT</b> .....	<b>44</b>
<b>4.4.3.</b>	<b>Ensaio do Micronúcleo com Bloqueio da Citocinese (CBMN)</b> .....	<b>44</b>
4.5.	ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	45
<b>5.</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	<b>46</b>
5.1.	IDENTIFICAÇÃO DOS FITOCONSTITUINTES .....	46
5.2.	ANÁLISE DA CITOTOXICIDADE .....	46

5.3. ANÁLISE DA GENOTOXICIDADE .....	47
<b>6. DISCUSSÃO .....</b>	<b>50</b>
<b>7. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>55</b>
<b>REFERENCIAS .....</b>	<b>56</b>



## 1. INTRODUÇÃO

A utilização das plantas para fins medicinais é uma prática antiga, passada de geração a geração, sendo aplicadas na prevenção e tratamento de doenças. Esse conhecimento empírico tem sido utilizado como base para pesquisas científicas com o intuito de comprovar a eficácia, qualidade e segurança dessas propriedades terapêuticas, contribuindo com a produção de novos fitoterápicos (JÜTTE et al., 2017).

As propriedades medicinais dos vegetais são atribuídas à presença dos metabólitos secundários, cuja composição e quantidade em determinada planta está relacionada a fatores climáticos, temporais e/ou ambientais. Esses compostos apresentam diferentes ações, podendo interagir de forma aditiva, sinérgica e/ou antagônica, causando efeitos benéficos ou tóxicos para um organismo (GOBBONETO; LOPES, 2007; JAMSHIDI-KIA; LORIGOOINI; AMINI-KHOEI, 2018).

É apontado que o Brasil apresenta um excelente potencial de bioprospecção tecnológica, o qual é atrelado a sua diversidade de ecossistemas (MING, 2001). Contudo, as Caatingas são ditas como ecossistemas menos estudados tendo apenas 8% da sua biodiversidade vegetal com compostos ativos caracterizados (OLIVEIRA et al. 2021).

Conhecida popularmente como juazeiro, juá, juá-espinho, juá-fruta, laranjeira-de-vaqueiro, enjuá, entre outras, *Sarcomphalus joazeiro* (Mart.) Hauenschild é considerada uma espécie-chave nas Caatingas, uma vez que é uma das plantas nativas mais exploradas neste ecossistema, suscitando preocupação em termos de conservação e uso sustentável (DANTAS et al., 2014). Do ponto de vista medicinal, as cascas do caule e as folhas são indicadas no tratamento de caspas, reumatismo, gripe, febre, bronquite crônica, azia, indigestão, cárie dental, além de serem utilizados como cicatrizantes, antisséptico e tônico capilar, entre outros, preparadas mediante decocção e/ou infusão (CARTAXO; SOUSA; ALBUQUERQUE, 2010).

Além das atividades supracitadas, extratos das cascas do caule e/ou de folhas de *S. joazeiro* revelaram ação antioxidante (ALVIANO et al., 2008; SILVA et al., 2011), antibacteriana (SCHUHLY et al., 1999), antimicrobiana (ARAÚJO et al., 2017), antifúngica (CRUZ et al., 2007), antipirética (NUNES et al., 1987). Tais atividades biológicas do juazeiro foram diretamente relacionadas ao perfil químico

deste vegetal, composto principalmente por saponinas, triterpenoides, n-alkanes (SCHUHLY et al., 1999; MARQUES; NASCIMENTO; TORRES, 2017). Assim, considerando o potencial do juazeiro para a geração de produtos farmacológicos, torna-se necessário avaliar os efeitos adversos do uso desse vegetal, reiterando a importância do desenvolvimento do presente trabalho.

Neste contexto, diferentes órgãos de regulamentação internacional estabelecem vários tipos de testes de toxicidade para avaliar a segurança do uso de fitoterápicos, determinando concentrações seguras (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2016; OECD, 2016). No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) é responsável pelas diretrizes para os testes de avaliação da segurança, bem como qualidade e eficácia dos possíveis fitoterápicos (ANVISA, 2014). Entre os testes citogenotóxicos indicados, dois ensaios foram aplicados no presente estudo: o teste de citotoxicidade do brometo de 3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5- difeniltetrazólio (MTT) (Mosmann, 1983) e o teste genotóxico do Ensaio de Micronúcleo com Bloqueio de Citocinese (*Cytokinesis-Block Micronucleus Assay*; CBMN), o qual avalia as alterações nucleares em células binucleadas resultantes de perda e/ou quebra cromossômica (FENECH, 2007; 2011).

Dessa forma, o presente trabalho teve por finalidade caracterizar o extrato das cascas do caule do juazeiro, identificando os seus fitoconstituintes e avaliando seus potenciais citogenotóxicos sobre a cultura de células de fibroblastos da linhagem L929, disponibilizando dados seguros sobre as concentrações desse extrato para uso em futuras pesquisas pré-clínicas.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. OBJETIVO GERAL

- Avaliar o perfil fitoquímico e potencial citogenotóxico do extrato obtido por sistema aquoso convencional das cascas do caule de *Sarcomphalus joazeiro* (Mart.) Hauenschild.

### 2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar os fitoconstituintes presentes no extrato aquoso das cascas do caule de *S. joazeiro*.
- Avaliar o potencial citotóxico de diferentes concentrações do extrato aquoso das cascas do caule de juazeiro mediante o teste de viabilidade celular MTT em cultura de células de fibroblasto de murinos L929.
- Investigar a genotoxicidade de diferentes concentrações, previamente selecionadas pelo teste do MTT, do extrato aquoso das cascas do caule do juazeiro, mediante o ensaio do micronúcleo com bloqueio de citocinese em células L929.
- Identificar concentrações seguras para posteriores testes *in vitro* pré-clínicos em outras linhagens celulares.

### 3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

#### 3.1. PLANTAS MEDICINAIS E SEU USO POPULAR

As plantas medicinais são utilizadas para fins terapêuticos desde o período Neolítico (10.000 a.C. e 4.000 a.C.), principalmente pelas civilizações da Grécia, Egito, China e Índia (ALVES, 2013). Para o Egito, China e Índia, registros apontam a utilização de plantas medicinais para o tratamento de doenças datados em aproximadamente 5.000 anos (ANG-LEE; MOSS; YUAN, 2001; JAMSHIDI-KIA; LORIGOOINI; AMINI-KHOEI, 2018).

De uma forma geral, os vegetais são utilizados como recurso alimentar e/ou fonte de medicamentos pela população humana (JAMSHIDI-KIA; LORIGOOINI; AMINI-KHOEI, 2018), sendo considerados o pilar da medicina tradicional, uma vez que os chás são de baixo custo e fácil acesso para a população. Estima-se que mais de 3,3 bilhões de pessoas em países subdesenvolvidos fazem uso de plantas medicinais, atuando na ação primária da saúde básica (HUNT, 2000; SINGH, 2015).

O uso das plantas para fins medicinais é atrelado a diversidade de compostos bioativos presentes em diferentes estruturas vegetais, como sementes, raízes, folhas, frutos, cascas do caule e flores. Dentre esses compostos ativos, os metabólitos secundários apresentam diferentes efeitos fisiológicos nos organismos vivos, resultando em propriedades biológicas terapêuticas (PHILLIPSON, 2001; JAMSHIDI-KIA; LORIGOOINI; AMINI-KHOEI, 2018). Por exemplo, o óleo essencial das sementes da *Pimpinella asnisum* L., popularmente conhecida como anis, é constituído por diversos fitoquímicos, como anetol, estragol, eugenol, pseudisoeugenol, metil chavicol e anisaldeído, cumarinas, *escopoleting*, *umbeliferon*, estróis, hidrocarbonetos terpenos e poliacetilenos, os quais foram associados aos efeitos farmacológicos antimicrobianos, anticonvulsivantes, anti-inflamatórios, antiespasmódicos, broncodilatadores, estrogênicos, expectorantes e inseticidas desse vegetal (SUN et al., 2019).

De acordo com Ming (2001), no Brasil, o conhecimento acerca das plantas medicinais teve forte influência da cultura indígena, africana e europeia, sendo um recurso bastante explorado no país devido ao forte conhecimento popular e ao seu baixo custo. Este país apresenta uma grande biodiversidade de flora, sendo crescente a busca por novos compostos e, conseqüentemente, pela comprovação

científica para o tratamento de doenças com uso de plantas medicinais (CALIXTO; RIBEIRO, 2004; BADKE et al., 2012, FARIAS; BORGES; PEREIRA, 2015; HASENCLEVER et al., 2017).

Desde a segunda metade do século XX, o crescimento da indústria farmacêutica correspondeu a um grande impacto no desenvolvimento de medicamentos no Brasil. No entanto, os materiais geralmente usados como insumos para os testes eram predominantemente compostos por plantas estrangeiras. Atualmente, é possível observar um aumento de estudos voltados à bioprospecção de produtos derivados da flora nacional (BRANDÃO et al., 2006; ROSA et al., 2021; ALMEIDA et al., 2022). Sabe-se que diferentes constituintes químicos presentes nos vegetais possuem atividades biológicas que podem ser aproveitadas pelas indústrias farmacêutica, alimentícia e cosmética (LI, 2020).

Na busca de incentivar o uso de fitoterápicos no Brasil, por meio do Sistema Único de Saúde (SUS), o governo criou a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) e a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (PNPMF), sustentada pelo decreto nº 5.813 de junho de 2006, visando ampliar as opções terapêuticas oferecidas aos usuários do SUS e a melhoria da atenção à saúde e inclusão social (FIGUEIREDO et al., 2014). Além disso, em 2009, o Ministério da Saúde lançou a Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde (RENISUS), com uma lista de 71 espécies de plantas com potencial medicinal, com intuito de promover pesquisa, desenvolvimento e inovação dos produtos fitoterapêuticos (BRASIL, 2009; RENISUS, 2009).

Dentre os representantes presentes na lista da RENISUS, *Lippia sidoides* Cham, conhecida como alecrim-pimenta, alecrim-bravo e estrepa-cavalo, foi estudada quanto às propriedades do óleo essencial extraído das folhas, observando-se atividade antifúngica (FONTENELLE et al., 2007), anti-helmíntica (CAMURÇA-VASCONCELOS et al., 2008), larvicida e acaricida (CARVALHO et al., 2003; CAVALCANTI et al., 2010). Tais atividades biológicas foram relacionadas a presença das substâncias, como o timol e carvacrol (JUNIOR- FARIAS et al., 2012).

Outra relação importante, refere-se a Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (RENAME), ferramenta que compreende medicamentos indicados para atendimento de doenças ou de agravos no âmbito do SUS. Até 2020, esta lista possuía 12 fitoterápicos inclusos, sendo eles: alcachofra (*Cynara scolymus* L.); aroeira (*Schinus terebinthifolia* Raddi); babosa [*Aloe vera* (L.) Burm. f.]; cáscara-sagrada

(*Rhamnus purshiana* DC.); espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek); guaco (*Mikania glomerata* Spreng.); garra-do-diabo (*Harpagophytum procumbens* DC. ex Meissn.); hortelã (*Mentha x piperita* L.); isoflavona de soja [*Glycine max* (L.) Merr.]; plantago (*Plantago ovata* Forssk.); salgueiro (*Salix alba* L.); e unha-de-gato [*Uncaria tomentosa* (Willd. ex Roem. & Schult.)] (RENAME, 2020).

A Caatinga é rica em espécies vegetais utilizadas tanto na medicina popular quanto na produção e comércio de produtos fitoterápicos (BENKO-ISEPPON et al., 2012), sendo o conhecimento prévio de cunho popular das comunidades tradicionais de grande relevância para bioprospecção de produtos naturais desse ecossistema (ALBUQUERQUE et al., 2007).

Algumas das plantas mais conhecidas e popularizadas entre os habitantes locais são: o cumaru [*Amburana cearensis* (Allemão) A. C. Sm.] com atividades antibacteriana (FIGUEREDO et al., 2013), anti-inflamatória, relaxante muscular (LEAL et al., 2003) e com potencial antiproliferativo em linhagens humanas de células cancerígenas (BASTOS et al., 2020), a aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Allemão), que possui atividades analgésica, anti-inflamatória (VIANA, BANDEIRA, MATOS, 2003) e antiúlcero-gênica (SOUZA et al., 2007), o angico [*Anadenanthera colubrina* var. *cebil* (Griseb.) Altschul], utilizado popularmente como antisséptico, cicatrizante e contra tosse e bronquite (AGRA et al., 2008), a imburana [*Commiphora leptophloeos* (Mart.) J.B.Gillet.] cujo uso popular está relacionado ao tratamento de gripe, tosse, bronquite, doenças hepáticas e no trato urinário (AGRA et al., 2008), a pata-de-vaca ou mororó [*Bauhinia cheilantha* (Bongard) Steudel], mandacaru (*Cereus jamacaru* D.C) e muitas outras.

Atualmente, apenas cerca de 8 % da biodiversidade do ecossistema caatinga apresenta os compostos ativos caracterizados (OLIVEIRA et al., 2021). Entre eles, pode-se citar a composição fitoquímica da casca do caule de *Cnidocolus quercifolius* Pohl (sin.: *Cnidocolus phyllacanthus* (Mull. Arg.) Pax & L. Hoffm.), popularmente conhecida como favela, em que foram identificados três terpenoides (lupeol-3y-O-cinamato, lupeol-3y-O-dihidrocina-mato e filacantona). Essas substâncias foram relacionadas com atividades antibacterianas, sobretudo a filacantona. Assim, o potencial antibacteriano de *C. quercifolius* corrobora com o seu uso popular no tratamento de infecções urinárias (OLIVEIRA- JUNIOR et al., 2018).

Apesar da ampla utilização das plantas medicinais, o conhecimento acerca das propriedades químicas e tóxicas dessas plantas em alguns casos são desconhecidas

por seus usuários (PEDROSO; ANDRADE; PIRES, 2021). Neste sentido, a utilização dessas plantas em concentrações desconhecidas pode causar efeitos antagônicos, como observado uma hipotensão severa nos camundongos após a administração dos extratos aquosos da casca do caule das espécies *Blepharocalyx salicifolius* (Kunth) O. Berg (maria-preta) e a *Scutia buxifolia* Reissek (coronilha) na concentração de 5mg/mL (SILVA; MOREIRA; MENEZES, 2021).

### 3.2. FAMÍLIA RHAMNACEAE Juss.

A família Rhamnaceae pertence a ordem Rosales, composta por aproximadamente 52 gêneros e cerca de 1000 espécies (LIMA; BARBOSA; GIULIETTI, 2020). Inicialmente, baseando-se em análises de sequência de DNA (regiões plastidiais rbcL e trnL-F), esta família vegetal foi datada em aproximadamente 64 milhões de anos, sendo considerada um grupo monofilético (AXELROND; RAVEN, 1978; RICHARDSON et al., 2004). Entretanto, a partir da descoberta de fósseis de flores no México (final Campaniano - 73 milhões de anos) e fósseis de frutos e folhas na Colômbia (Cretáceo-Maastrichtiano - 68 milhões de anos) com características semelhantes à representantes das tribos Rhamneae e Paliureae, estima-se que Rhamnaceae tem, pelo menos, 73 milhões de anos (ONSTEIN et al., 2015).

Apresenta distribuição cosmopolita, com predominância nas regiões tropicais, como Brasil, África e Austrália. Contudo, alguns gêneros têm ocorrência em regiões temperadas (MORI; BROWN, 1994). Pode ser encontrada nas diversas formas de vida como árvores, arbustos, trepadeiras e ervas; alguns representantes da família apresentam a tendência ao xeromorfismo, capacidade de sobrevivência em ambientes mais secos. Sua dispersão pode ocorrer de forma anemocórica (pelo vento), como exemplo em *Gouania polygama* (Jacq.) Urb. (canillo) (MORI; BROWN, 1994), assim como por zoocoria, a exemplo do gênero *Frangula* Reissek (amieiro-negro) cuja dispersão acontece por intermédio das aves (AXELROND; RAVEN, 1978; HAMPE; BAIRLEIN, 2000; RICHARDSON et al., 2004).

Morfologicamente, as espécies podem ser hermafroditas ou polígamas, espinescentes ou inermes. As folhas podem ser alternas ou opostas, sésseis ou pecioladas, simples, membranáceas a coriáceas e suas estipulas podem ser livres ou conatas; a inflorescência varia entre dicásio, tirso, fascículo ou umbeladas, com flores actinomorfas pediceladas ou sésseis, com cinco estames, anteras do tipo bitecas; o

ovário pode ser súpero ou ínfero, com carpelo de dois a três lóculos, apresentando uma placentação basal com dois a três estiletos, os quais podem ser encontrados livres ou unidos. Quanto ao fruto, podem ser do tipo drupa, cápsula ou esquizocarpo, alado ou não, enquanto as sementes são obovadas a elipsoides e castanhas (LIMA; BARBOSA; GIULIETTI, 2020).

No Brasil, nota-se a ocorrência de 14 gêneros (*Alvimiantha* Grey- Wilson, *Ampelozizyphus* Ducke, *Colletia* Comm.ex Juss., *Colubrina* Rich. Ex Brongn., *Condalia* Cav., *Crumenaria* Mart., *Discaria* Hook., *Frangula* Reissek, *Gouania* Jacq., *Hovenia* Thunb., *Karwinskia* Zucc., *Reissekia* Endl., *Rhamnidium* Reissek, *Rhamnus* L., *Sarcomphalus* P. Browne, *Scutia* (Comm. Ex. DC.) Brongn.) e, aproximadamente, 48 espécies, distribuídas em vários biomas, como Floresta Amazônica, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica, Pampas e Pantanal, havendo uma predominância em mata ciliar, floresta estacional decidual, floresta estacional perenifolia, floresta estacional semidecidual, floresta ombrófila, caatingas e restingas (LIMA; BARBOSA; GIULIETTI, 2020).

A família Rhamnaceae apresenta diversas espécies de interesse econômico, como: *Condalia microphylla* Cav. (Piquillín), *Condalia hookeri* M. C. Johnst. (madeira azul), *Condalia buxifolia* Reissek (folha-de-buxo), *Rhamnus caroliniana* Walt. (Espinheira da carolina), *Zizyphus jujuba* (L.) Gaertn (zimbrão), *Sarcomphalus joazeiro* (Mart.) Hauenschild (juazeiro), por produzirem frutos e sementes comestíveis. Na indústria têxtil, as espécies *Discaria chacaye* (G. Don) Tortosa (chacay-chacay) e *Reissekia smilacina* (Sm.) Steud. (amora lisa) são usadas na lavagem de tecidos. Na indústria alimentícia, as espécies *Rhamnus inebrians* R. Br. e *C. buxifolia* são utilizadas para preparo de bebidas. Por sua vez, na pecuária, a espécie *D. chacaye* é usada para forragem de gado (SOUZA; LORENZI, 2005). Com uso medicinal, a cerveja indiana (*Ampelozizyphus amazonicus* Ducke) tem sido usada por povos indígenas como antimalárico (ANDRADE-NETO et al., 2008), enquanto que *Rhamnus prinoides* L'Herit (gesho) é utilizada como antibacteriano (MOLLA et al., 2016).



### 3.3. A ESPÉCIE *Sarcomphalus joazeiro* (Mart.) Hauenschild - sin. Bas. *Ziziphus joazeiro* (Mart.)

O gênero *Ziziphus* Mill. apresenta uma estimativa de 6,2 a 6,4 milhões de anos, estando distribuído nas regiões tropicais e subtropicais (Ásia, África, América do Norte, América do Sul, Oceania e Europa) (RICHARDSON et al., 2004). Engloba cerca de 170 espécies, entre as quais, destaca-se *Ziziphus jujuba* (L.) Gaertn e *Ziziphus mauritiana* Lam., devido a sua importância econômica (ISLAM; SIMMONS, 2006).

No último estudo filogenético de Rhamnaceae, baseando-se em análises dos genes nucleares (ITS e 26S rDNA) e plastidiais (trnL-*F*), foi observado que as espécies de *Ziziphus* do Velho Mundo estão mais próximas de *Paliurus* do Novo Mundo, formando um grupo parafilético (ISLAM; SIMMONS, 2006). Diante disso, as espécies do gênero *Ziziphus* do Novo Mundo passaram a ser agrupadas ao gênero *Sarcomphalus* P. Browne (HAUENSCHILD, 2016).

O gênero *Sarcomphalus* é composto por aproximadamente 33 espécies, com uma distribuição dos Estados Unidos à América do Sul. No Brasil, existe a ocorrência de seis espécies: *Sarcomphalus cinnamomum* (Triana & Planch.) Hauenschild (Maria-preta), *Sarcomphalus glaziovii* (Warm.) Hauenschild (quina-preta), *Sarcomphalus joazeiro* (Mart.) Hauenschild (juazeiro, juá), *Sarcomphalus mistol* (Griseb.) Hauenschild (mistol), *Sarcomphalus platyphyllus* (Reissek) Hauenschild (joazeiro), *Sarcomphalus undulates* (Reissek) Hauenschild (joazeiro) (HAUENSCHILD, 2013; LIMA; BARBOSA; GIULIETTI, 2020).

Os representantes deste gênero têm sido alvo de estudos com interesses farmacológicos, bem como para indústria alimentícia e de cosméticos. Um exemplo é a espécie *Sarcomphalus mistol*, cujos extratos etanólicos do caule e da folha foram avaliados fitoquimicamente, identificando-se a presença de ácido gálico, o qual foi associado ao potencial antioxidante da referida espécie (LORENZO et al., 2022). Na Tabela 1, encontram-se sumarizadas as atividades biológicas relatadas para alguns representantes deste gênero.

Dentre as espécies de *Sarcomphalus*, conhecida popularmente como juazeiro, juá, juá-espinho, juá-fruta, laranjeira-de-vaqueiro e enjuá, *Sarcomphalus joazeiro* encontra-se distribuída em todo o Nordeste brasileiro até o norte de Minas Gerais (LORENZI, 2009). É uma árvore perenifólia e heliófita, apresentando raízes pivotantes que possibilitam a obtenção de água existente no subsolo, fator esse que

permite que a planta permaneça verde até em períodos de longas secas. Caracteriza-se por um porte que varia de médio a alto; o tronco pode ser reto ou tortuoso, esgalhado e com espinhos robustos (Figura 1).

**Tabela 1-** Atividades biológicas descritas para estruturas vegetais de espécies pertencentes aos gêneros *Sharcomphalus* e *Ziziphus*.

<b>Espécie</b>	<b>Estrutura Vegetal</b>	<b>Atividade Biológica</b>	<b>Referências</b>
<i>Ziziphus jujuba</i> (L.) Gaertn	Casca do caule	Anti-inflamatório, antimicrobiano	Hamedi et al. (2016)
<i>Ziziphus mauritiana</i> Lam	Semente, fruto	Diurético, anticancerígeno, citotóxico, trata má digestão	Mishra; Khullar; Bhatia (2011); Pareek (2013)
<i>Ziziphus numularia</i> (Burm.f.) Wight & Arn.	Raiz	Sedativo-hipnótico, antipirético e analgésico	Rauf et al. (2016)
<i>Ziziphus xylopyrus</i> (Retz.) Willd.	Casca do caule	Tratamento de cólera	Rao; Sunitha (2011)
<i>Ziziphus spinachristi</i> (Mill.) Georgi	Fruto, folhas	Laxante, antiparasita, hipoglicemiante, hipotensor, anti-inflamatório, antioxidante, agente protetor do fígado	Saied et al. (2008)
<i>Ziziphus oxyphylla</i> (ZO) Edgew	Fruto, casca do caule, folhas	Antinociceptivo, anti-inflamatório, antipirético, antioxidante, antibacteriano	Anmad; Ahmad; Naqvi (2017)
<i>Ziziphus lotus</i> (L.)	Fruto, semente	Antioxidante, antiproliferativa, antidiabética	El Maaiden et al. (2019)
<i>Sarcomphalus glaziovii</i> (Warm.) Hauenschild	Casca do caule	Antibacteriano, citotóxico	Santos et al. (2019)
<i>Sarcomphalus mistol</i> (Griseb.) Hauenschild	Folha, casca do caule	Antioxidante	Lorenzo et al. (2022)

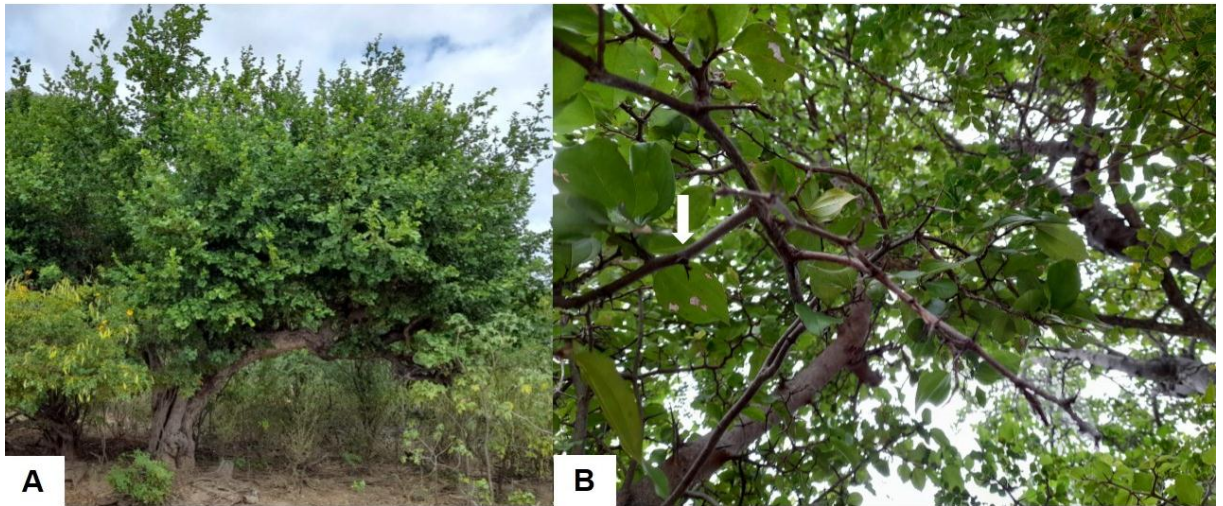


Figura 1: A - Indivíduo de *Sarcomphalus joazeiro* ocorrente na Caatinga; B - *Sarcomphalus joazeiro* com presença de espinhos em seu tronco (seta). Fonte: Autor.

A casca do caule mostra uma espessura de até 14 mm, sendo a casca externa de cor cinza-escuro a levemente castanho, rígida e pouco desenvolvida; por sua vez, a casca interna é amarelada e, por incisão, apresenta exsudato transparente, aquoso, com sabor amargo e odor distinto (Figura 1). Suas folhas são alternas, de consistência membranácea a levemente coriácea, forma ovalada à elíptica, com a presença de tricomas na nervura em sua face abaxial; apresenta inflorescência axilar de forma globosa com flores são amarelo-esverdeada, ovário indumento glabro com a presença de dois lóculos e seus frutos são drupa globosa, amarelada, carnosas, adocicadas e ácidas (LORENZI, 2009; DANTAS et al., 2014; LIMA; BARBOSA; GIULIETTI, 2020).

A importância ecológica, econômica e social do juazeiro é indiscutível. Como forrageira, esta planta é utilizada na alimentação animal, sendo suas folhas um recurso alimentar valioso para bovinos, caprinos e suínos durante o período de seca, por apresentar alto teor de proteína bruta e baixo teor de tanino. Por sua vez, na alimentação humana, os frutos são consumidos *in natura* e, quando maduros, apresentam cerca de 25 mg de vitamina C/100 g de polpa. Sua madeira resistente é atrativa para atividade de extrativismo, sendo utilizada como lenha e empregada em construções rurais, marcenarias e carpintarias. Destaca-se na fabricação de cosmético, a exemplo de xampus, anticaspas, tônicos capilares e pastas de dente. Adicionalmente, esta espécie é indicada na restauração e recuperação ambiental (CARVALHO, 2007; CARTAXO; SOUSA; ALBUQUERQUE, 2010; DANTAS et al.,

2014).

Do ponto de vista medicinal, as cascas do caule e as folhas são indicadas no tratamento de caspas, reumatismo, gripe, febre, bronquite crônica, azia, indigestão, cárie dental, além de serem utilizados como cicatrizantes, antisséptico e tônico capilar, entre outros, preparadas mediante decocção e/ou infusão (CARTAXO; SOUSA; ALBUQUERQUE, 2010). Extratos das cascas do caule e/ou de folhas de *S. joazeiro* revelaram ação antioxidante (ALVIANO et al., 2008; SILVA et al., 2011; SÁ-FILHO et al., 2021), antibacteriana (SCHUHLY et al., 1999), antimicrobiana (ARAÚJO et al., 2016), antifúngica (CRUZ et al., 2007), antipirética (NUNES et al., 1987; SÁ-FILHO et al., 2021), anti-inflamatória, antidiabética e analgésica (SÁ-FILHO et al., 2021). Tais atividades biológicas do juazeiro foram diretamente relacionadas ao perfil químico deste vegetal, composto principalmente por saponinas, triterpenoides, n-alkanes (SCHUHLY et al., 1999; MARQUES; NASCIMENTO; TORRES, 2017).

Uma busca realizada no Instituto Nacional da Propriedade Industrial (INPI), utilizando o gênero sin. *Ziziphus*, encontrou o depósito de três patentes: a primeira está relacionada a área cosmética intitulada “Xampu natural contendo extrato da casca de *Ziziphus joazeiro*” (Pedido- BR 10 2020 007919 0); a segunda foi encontrada na área farmacêutica com o título de “Encapsulação de compostos fenólicos da farinha de frutos de juazeiro (*Ziziphus joazeiro* Mart.)” (Pedido- BR 10 2020 017071 6); e a terceira, foi visualizada na área alimentícia com a produção de “Farinha mista de frutos de juazeiro (*Ziziphus joazeiro* Mart.)” (Pedido- BR10 2020 01170660).

#### 3.4. METABOLITOS SECUNDÁRIOS: CLASSIFICAÇÃO E PROPRIEDADES BIOLÓGICAS ASSOCIADAS

As estruturas vegetais apresentam um ou mais compostos químicos ativos, que podem atuar alterando sistemas enzimáticos e/ou processos fisiológicos (SOUZA et al., 2017). Tais fitoquímicos são capazes de agir de forma: sinérgica, potencializando os efeitos individuais de cada metabólito; antagônica, diminuindo os efeitos de um ou até de todos os metabólitos presentes, ou aditiva, mediante o somatório de efeitos dos metabólitos (JAMSHIDI-KIA; LORIGOOINI; AMINI-KHOEI, 2018).

As interações podem ser consideradas positivas, quando elevam o efeito e a resposta terapêutica, bem como quando diminuem ou anulam os efeitos tóxicos; ou

negativas, podendo propiciar o surgimento de novas doenças, aumentar a toxicidade e reduzir ou inativar possíveis efeitos terapêuticos (BRANCO, 2019). O citronelol, por exemplo, é um composto presente no óleo essencial de *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br. ex P. Wilson (erva cidreira), que potencializa a ação anti-hipertensiva de medicamentos como Nitroprussiato e Minoxidil (vasodilatadores), indicando uma ação positiva e sinérgica (RASOOL HASSAN, 2012; SOUZA et al., 2017). Em contrapartida, o uso constante da combinação de *Ginkgo biloba* L. e Nifedipina (bloqueador de canais de cálcio), visando ao aumento de uma ação anti-hipertensiva, apresentou uma atividade antagônica, observando-se o aparecimento de reações adversas como dores de cabeça e inchaço no tornozelo (TEIXEIRA; SANTOS, 2011)

De uma forma geral, as plantas apresentam uma rede metabólica extensa, sendo dividida em metabólitos primários e secundários. Os metabólitos primários são moléculas como aminoácidos, lipídios, proteínas, ácidos nucleicos e açúcares, em geral essenciais para a sobrevivência das espécies vegetais, uma vez que são responsáveis por atividades básicas como respiração celular, fotossíntese, armazenamento de energia e biossíntese de proteínas (AHARONI; GALILI, 2011; TISSER; ZIEGLER; VOGT, 2014).

Por sua vez, os metabólitos secundários são responsáveis pelas propriedades biológicas das plantas (KABERA et al., 2014). Esses metabólitos são associados ao sistema de defesa vegetal, conferindo proteção contra predadores como fungos, bactérias e insetos, atuam como sinalizadores na atração de polinizadores e dispersores de sementes (TAIZ; EIGER, 2013), são responsáveis por propriedades terapêuticas como antimicrobiana, anti-inflamatória, antifúngica, antiviral e antioxidante (WINK; SCHIMMER, 2018), bem como são explorados na indústria biofarmacêutica de corantes e aromas (KABERA et al., 2014; AMORIM; BORGES, 2020).

Neste contexto, nas últimas décadas, um grande interesse tem sido voltado à identificação desses compostos, bem como à investigação quanto às suas atividades biológicas (NARAYANI; SRIVASTAVA, 2017). Estima-se que aproximadamente 200.000 metabólitos já foram identificados em espécies vegetais (TISSIER; ZIEGLER; VOGT, 2014), os quais foram classificados em três principais grupos: os terpenos, compostos nitrogenados e compostos fenólicos, sendo estes subdivididos de acordo com a sua função, biossíntese (AMORIM; BORGES, 2020) (Figura 2).

Os terpenos, conhecidos também como terpenoides ou isoprenoides, são hidrocarbonetos cíclicos ou acíclicos. Constituem um grande grupo de fitoconstituintes, os quais são classificados de acordo com o número de isopentenilpirofosfato (IPP-C5) que compõem suas estruturas em: monoterpenos (C<sub>10</sub>), sesquiterpenos (C<sub>15</sub>), diterpenos (C<sub>20</sub>), triterpenos (C<sub>30</sub>), tetraterpenos (C<sub>40</sub>) e politerpenos (mais de 40 carbonos) (ROY, 2019). É considerada a maior classe de compostos com diversidade química e estrutural, com cerca de 80.000 constituintes, entre eles, os esteroides, carotenoides e ácido giberélico (CHRISTIANSON, 2018; COX-GEORGIAN et al., 2019).



Figura 2: Esquema com alguns dos principais metabólitos secundários encontrados nas plantas.

Nos vegetais, esse grupo pode ser representado pela presença de óleos essenciais, que são considerados os mais voláteis e com menor massa molecular, responsáveis pelos componentes odoríferos das plantas (FOREZI et al., 2021).

Muitos terpenoides têm sido alvo de estudos devido às suas propriedades terapêuticas, a exemplo de anticonvulsivo, anti-hipertensivo, analgésica, anti-inflamatória é encontrada na *Cannabis* (FRANKLIN; CUNNINGTON; YOUNG, 2001), bem como ao uso pela indústria de cosméticos como fragrâncias, a exemplo do mentol (BATOOL et al., 2018). Contudo, estudos têm mostrado que alguns compostos como  $\gamma$ -pineno e a cânfora podem apresentar efeitos citotóxicos. Assim como, já foi relatado dermatite alérgica de contato com o uso de  $\gamma$ -pineno e mircenol. Sendo assim, são necessárias pesquisas que determinem concentrações seguras para uso dos terpenos (KIM et al., 2020).

Outro representante pertencente a classe dos terpenoides é o grupo das saponinas, as quais são consideradas esteroides e apresentam duas partes principais, a aglicona e uma porção de açúcar. Sua classificação ocorre de acordo com o número de átomos de carbono, número de oxigênio e nitrogênio presentes na molécula (EL AZIZ; ASHOUR; MELAD, 2019). Estes compostos foram atrelados à atividade antibacteriana, apresentada pelas concentrações de 0,0625 e 0,125 mg/mL do extrato da casca do caule de quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) contra as cepas de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus edidermidis* e *Bacillus cereus* (DONG et al., 2020).

Os compostos nitrogenados destacam-se pelos seus representantes, como os alcaloides, glicosídeos cianogênicos e aminoácidos (TAIZ; ZEIGER, 2004). Os alcaloides são um grupo de fitoquímicos bem diversificado de compostos, apresentando poucos aminoácidos para a biossíntese como o triptofano e lisina (ASHRAF et al., 2018). Além dos vegetais, nos quais são encontrados em aproximadamente 20% das espécies, esses compostos podem ser produzidos por outros organismos como bactérias, fungos e outros animais (PARK et al., 2001; KABERA et al., 2014). Na indústria farmacológica, os alcaloides têm sido bem utilizados, podendo-se citar a morfina (extraída da espécie *Papaver somniferum* L./papoula), a cafeína (extraída de *Coffea* ssp.), a nicotina (extraída de *Nicotina* sp.) e a codeína (extraída de *P.somniferum* L.) (ROBERTS et al., 2010; AMORIM; BORGENS, 2020).

Por sua vez, os compostos fenólicos constituem um grupo muito diversificado, tendo em sua composição um grupo fenol, uma hidroxila funcional e um anel aromático. Os fenóis vegetais formam um grupo heterogêneo, com cerca de 10.000 compostos; entre esses, alguns são solúveis apenas em solventes orgânico, outros são ácidos carboxílicos e glicosídeos solúveis em água e ainda existem os que são grandes polímeros insolúveis (TAIZ; ZEIGER, 2004; MARTINEZ-GONZALEZ et al., 2019). De uma forma geral, eles são caracterizados por apresentar atividades anti-inflamatória, anticâncer, antioxidantes, entre outras (PARK, et al., 2001; KABERA et al., 2014).

Os compostos fenólicos podem ser classificados em: fenólicos simples, flavonoides (composto por flavonas, flavanonas, flavonois, isoflavonoides e antocianidinas), ácidos fenólicos (ácidos hidroxibenzoicos e ácidos hidroxinêmicos), estibenos, cumarinas, lignanas e taninos (SHAHIDI; AMBIGAIPALAN, 2015). Apresentam atividades como antioxidante, podendo ser usadas de forma eficaz e segura na produção de alimentos ou produtos farmacêuticos, como forma de prevenção ou para minimizar a peroxidação lipídica; também agem no retardamento na formação de alguns produtos tóxicos da oxidação, mantendo a qualidade nutricional e prolongando a vida útil de produtos alimentícios e farmacêuticos (POLAT KOSE; GULCIN, 2021).

Adicionalmente, os taninos condensados fazem parte de um grupo polímeros fenólicos, formado pela polimerização de unidades de flavonoides, sendo apontados como responsáveis pela defesa vegetal (encontrado principalmente na parte lenhosa da planta) (TAIZ; ZEIGER, 2004). Os taninos condensados presentes em *Vigna angularis* (Willd.) Ohwi et Ohashi (feijão-azuki) apresentou atividade inibitória na proliferação celular e na melanogênese de células de melanoma de camundongo, assim como, mostraram capacidade antioxidante e proteção contra danos ao DNA (CHAI et al., 2019).

Em suma, os metabólitos secundários são considerados importantes compostos para fabricação de medicamentos, como os alcaloides, terpenoides e fenilpropanoides (SANCHITA, 2018), bem como importantes constituintes para a indústria cosmética e agroquímica (HASSAN, 2012; LI et al., 2020).

Os tipos e abundância dos metabólitos secundários nas plantas variam de acordo com as condições ambientais (KUTCHAN, 2001). Estão diretamente relacionados a processos bioquímicos, ecológicos, fisiológicos e evolutivos, assim



como a variações temporais e espaciais, como a sazonalidade, ciclo diurno/noturno, nutrientes, disponibilidade de água, altitude, temperatura, entre outros (ESTOMBA; FERNANDEZ; STELLA, 2010). Também o estágio de desenvolvimento da planta e a diferenciação dos órgãos podem influenciar na composição e quantidade dos metabólitos (DOAN; ERVIN; FELTON, 2004; EVANS, 2009), a exemplo de os óleos essenciais, ácidos fenólicos e flavonoides, cuja biossíntese é maior em tecidos vegetais mais jovens (GERSHENZON; MAFFEI; CROTEAU, 1989; JIANG et al., 2013).

Desse modo, o estudo sistemático dos extratos obtidos de diferentes partes das plantas, como folhas, caules, flores, frutas e raízes para selecionar a parte da planta que apresenta maior quantidade de substâncias bioativas, faz-se necessário para utilização eficiente desses compostos (IRAKLI; KATSANTONIS; KLEISIARIS, 2015).

Em um estudo realizado com Rhamnaceae foi observado a presença de várias classes de metabólitos secundários, havendo a predominância dos grupos fenólicos, glicosídeos triperpeno e flavona O-glicosídeos (KANG et al., 2019). Entre os representantes dessa família, os gêneros *Ziziphus* e *Sarcomphalus* destaca-se por apresentar alguns compostos secundários (Tabela 2), os quais são relacionados à diferentes atividades biológicas.

**Tabela 2-** Compostos químicos e suas respectivas classes presentes em diferentes partes vegetais de espécies pertencentes aos gêneros *Sarcomphalus* e *Ziziphus*.

Metabólitos secundários	Classe	Espécie	Composto químico	Parte da planta	Referência
<b>Compostos nitrogenados</b>	Alcaloide	<i>Z. oxyphylla</i>	Oxifilina-B1	Raiz	Kaleem et al. (2013)
		<i>Z. oxyphylla</i>	Nummularina-C4	Raiz	Kaleem et al. (2013)
		<i>Z. oxyphylla</i>	Nummularina-R5	Raiz	Kaleem et al. (2013)
		<i>Z. oxyphylla</i>	Oxifilina-D3	Raiz	Kaleem et al. (2013)
<b>Terpenos</b>	Saponinas	<i>Z. jujuba</i> ; <i>Z.jujuba</i> var. <i>Spinosa</i>	<i>Ziziphus</i> saponina I	Folhas	Guo et al. (2011)
		<i>Z. jujuba</i> ; <i>Z.jujuba</i> var. <i>Spinosa</i>	<i>Ziziphus</i> saponina II	Folhas	Guo et al. (2011)
		<i>Sarcomphalus glaziovii</i>	ácido epigouânico, ácido epigouânico	Caule	Santos et al. (2019)

<b>Compostos fenólicos</b>	Flavonoides	Ziziphus jujuba	procianidina B2,	Fruto	Choi et al. (2011)
		Ziziphus jujuba	quercetina-3-O - rutinosídeo 6"-	Fruto	Choi et al. (2011)
		Ziziphus jujuba	hidroxibenzoilspinosin a	Semente	Choi et al. (2011)
		Ziziphus jujuba	quercetina-3- O- galactosídeo	Fruto	Choi et al. (2011)
		Ziziphus jujuba	epicatequina	Fruto	Choi et al.(2011)

### 3.5. AVALIAÇÃO DO POTENCIAL CITOGENOTÓXICO DE PLANTAS MEDICINAIS

A propriedade medicinal das plantas está associada a produção de metabólitos secundários, os quais compõem uma mistura complexa de compostos biologicamente ativos (DAR; SHAHNAWAZ; QAZI, 2017). A depender da concentração e o tipo das interações entre esses compostos, seus efeitos biológicos podem trazer benefícios à saúde humana, mediante às atividades antioxidantes, anti-inflamatórias, antimutagênicas, antimicrobianas, entre outras (ALIYU et al., 2009; DAS; JAGANNATH; DINDA, 2012; GOWRI; CHINNASWAMY, 2011).

Por outro lado, esses compostos podem exibir propriedades tóxicas, de natureza citotóxica, genotóxica, mutagênica ou carcinogênica, ocasionando alterações em nível de DNA. Tais danos podem afetar processos como a replicação e transcrição de genes e gerar alterações cromossômicas, levando ao câncer e processos de morte celular (PING et al., 2012). Diante disso, torna-se necessário identificar as concentrações que esses fitoquímicos podem induzir efeitos adversos antes de formulá-los e comercializá-los como fitoterápicos (CLARK, 1996; ASSAYED; ABD EL-ATY, 2009; DAR; SHAHNAWAZ; QAZI, 2017).

Os estudos clínicos desses medicamentos fitoterápicos são conduzidos a partir das recomendações da RDC nº 39/2008 (Instruções operacionais: Informações necessárias para a condução de ensaios clínicos com fitoterápicos), bem como do Conselho Nacional de Saúde (CNS), presentes na Resolução nº 466/2012 e Resolução nº 251/1997. Além disso, agências governamentais de regulação internacional e nacional exigem a realização de testes que garantam a segurança de uso das plantas medicinais (GALLOWAY, 2017). Esses testes toxicológicos realizados

*in vitro* e *in vivo* são recomendados pela FDA (*Food and Drug Administration*; Administração de Alimentos e Medicamentos) (FDA, 2010), EMA (*European Medicines Agency*; Agência Europeia de Medicamentos) (EMA, 2013) e OECD (*Organization for Economic Cooperation and Development*; Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico) (OECD, 2016). No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) é o órgão responsável por garantir a segurança de novos fitofármacos, bem como qualidade e eficácia (ANVISA, 2004).

As agências regulamentadoras têm incentivado o uso de testes preliminares usando cultura de células *in vitro*, em investigações toxicológicas para o desenvolvimento de compostos medicinais (CANNELLA et al., 2019). Os testes *in vitro* apresentam bom controle das condições experimentais e alta reprodutibilidade das condições dos testes e de seus resultados, além de permitirem analisar qualquer substância com facilidade, rapidez, segurança e boa correlação com os resultados *in vivo* (ARAÚJO et al., 2015).

Diferentes testes podem ser utilizados na investigação do modo de ação e dos efeitos dos princípios ativos das plantas medicinais nas células e em seu material genético. Os ensaios de citotoxicidade permitem a determinação de concentrações tóxicas a serem usadas em testes *in vitro* posteriores (TOLOSA; DONATO; GOMES-LECHÓN, 2015). Eles podem avaliar a interferência de um composto, observando-se diferentes parâmetros, como: a viabilidade celular, por meio da investigação de alterações morfológicas, alterações na permeabilidade da membrana ou no estado fisiológico, com o uso de corantes como azul de Tripán e iodeto de propídio); proliferação celular, mediante o monitoramento do índice mitótico, o qual pode ser realizado pela observação de proteínas nucleares e síntese de DNA); bem como, atividade metabólica, analisando a capacidade de sobrevivência à alterações fisiológicas, como nos testes do MTT e captação do vermelho neutro (LI; ZHOU; XU, 2015; MACGAW; ELGORASHI; ELOFF, 2014; TOLOSA; DONATO; GOMES-LECHÓN, 2015). Dentre os ensaios de citotoxicidade indicados, destacam-se o MTT (brometo de 3- (4,5- dimetiliazol-2-il) -2,5-difeniltetrazólio) (MOSMANN, 1983), azul de Tripán (MISCHELL; SHIINGI, 1980) e vermelho neutro (HOLLERT et al., 2000).

Por outro lado, o ensaio de genotoxicidade permite avaliar a capacidade de substâncias induzirem alterações no material genético, podendo ser avaliados tanto em células somáticas ou germinativas (OECD, 2015), averiguando as concentrações de uso seguro (CORVI; MADIA, 2017). A exposição a agentes genotóxicos pode,

eventualmente, propiciar o surgimento de doenças, como o câncer, envolvendo, por exemplo, alterações em genes supressores do tumor, protooncogenes e genes responsáveis pelo sistema de reparo do DNA (HOLLAND et al., 2008; TONELINE et al., 2014; OECD, 2015).

Um dano genético associado a um possível sistema de reparo celular defeituoso pode introduzir erros de replicação. Alguns exemplos de danos ao DNA são quebras na dupla fita pela destruição da ligação fosfodiéster, oxidação, fragmentação da molécula, entre outros, que podem resultar em mutações genéticas ou em alterações cromossômicas (DE MARINI, 2019). Os micronúcleos, pontes nucleoplasmáticas e brotos nucleares são considerados biomarcadores de eventos de genotoxicidade e de instabilidade cromossômica (FENECH, 2011).

### **3.5.1. Teste do MTT**

O teste de citotoxicidade *in vitro* do MTT (brometo de 3- (4,5- dimetiltiazol-2-il) -2,5-difeniltetrazólio) é um ensaio preliminar recomendado e normatizado pela ISO 10993/2009. Este método cria um ambiente artificial semelhante ao fisiológico *in vivo*, medindo a capacidade do material ser tóxico para as células, por meio da análise da morte celular ou pela inibição da proliferação celular (WANG et al., 2013; MAGALHAES; THA; LEME, 2018).

Descrito por Mosmann (1983), o método de MTT baseia-se na atividade da enzima mitocondrial desidrogenase succínica. Em células viáveis, essa enzima cliva o MTT produzindo os cristais de formazan, os quais são insolúveis e apresentam coloração violeta (Figura 3). Por outro lado, em células não viáveis, o MTT não é clivado e, conseqüentemente, os cristais de formazan não são formados, resultando em uma suspensão celular com coloração translúcida e/ou amarelada. Assim, a porcentagem da viabilidade celular é mensurada mediante leitura da absorbância em espectrofotômetro. Quanto mais escura a suspensão celular, maior o número de células viáveis e metabolicamente ativas (ARAÚJO et al., 2015). Na tabela 3, estão apresentadas avaliações anteriores de extratos vegetais de *S. joazeiro* mediante o teste de MTT.

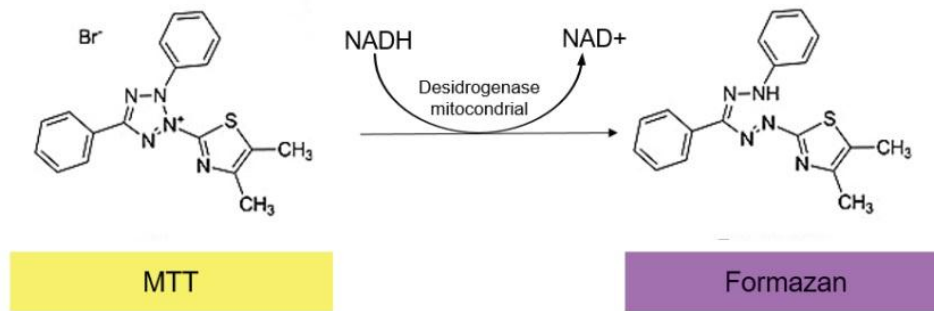


Figura 3: Reação de redução do MTT (um sal de coloração amarela e solúvel em água) a formazan (sal de coloração arroxeadada e insolúvel em água) Fonte: (MAGALHÃES; THÁ; LEME, 2018).

**Tabela 3-** Avaliação da citotoxicidade de diferentes extratos pertencentes à espécie *Sarcomphalus joazeiro* mediante o teste de MTT.

Espécie/Tipo de extrato	Concentrações testadas	Linhagem Celular	Citotóxico	Referência
<i>Sarcomphalus joazeiro</i> / Extrato comercial glicólico	0,39;0,78; 1,56; 6,25 mg/mL	Células de macrófagos RAW 264.7	NÃO	BOTAN, 2018
<i>Sarcomphalus joazeiro</i> / Extrato aquoso das cascas do caule	0,55 mg/mL	Vero	SIM	GOMES et al. (2016)
<i>Sarcomphalus joazeiro</i> / Fração de saponinas das cascas do caule	0,20 mg/mL	Vero	SIM	GOMES et al. (2016)

### 3.5.2. Ensaio do Micronúcleo com Bloqueio de Citocinese (CBMN)

O micronúcleo (MN) é uma alteração nuclear, formada por uma pequena massa cromatínica nuclear delimitada por envoltório e separada do núcleo principal (Figura 4). Este fragmento é formado durante a telófase da mitose ou da meiose, no momento em que o envoltório nuclear é reconstruído ao redor dos cromossomos (HOLLAND et al., 2008).

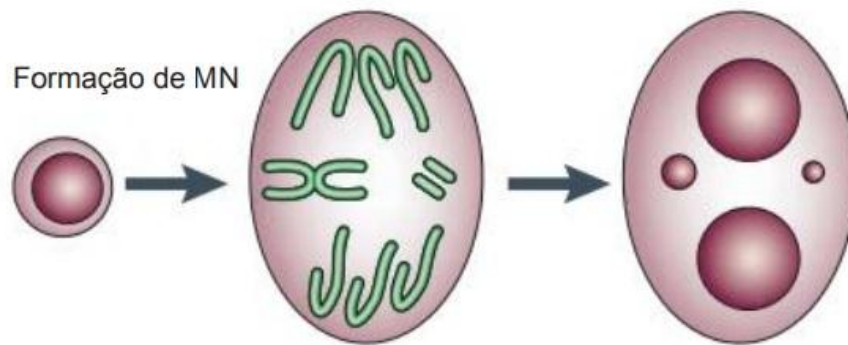


Figura 4: Formação de micronúcleo em células em divisão nuclear. Fonte: Adaptado de Fenech (2007).

De acordo com Fenech (2011), o surgimento de um micronúcleo ocorre nas células filhas, devido a ocorrência de danos citotóxicos ou genotóxicos nas células parentais, ocasionados por fatores internos ou externos. Entre eles, pode-se citar: falha genética hereditária, insuficiência de micronutrientes importantes como cofatores para proteínas na síntese ou reparo do DNA, assim como, a exposição à determinados compostos químicos.

Esses fatores podem ter uma ação clastogênica e/ou aneugênica levando a quebra e formação de fragmentos cromossômicos (clastogênese) e/ou alterar os mecanismos de divisão celular propiciando a perda de um cromossomo inteiro (aneugênese); em ambos os casos, o material genético não estará integrado ao núcleo principal das células, sendo um indicativo de que houve dano celular (BOLOGNESI et al., 2013; TONELINE et al., 2014).

Diante disso, o Ensaio de Micronúcleo com Bloqueio de Citocinese (CBMN) é um teste citogenético padrão, internacionalmente reconhecido, para medir a instabilidade cromossômica, bem como a citostase e citotoxicidade, frente ao tratamento com agentes genotóxicos, (FENECH, 2020). O ensaio investiga a presença de erros de replicação em células binucleadas, após um ciclo celular, quando expostas a substâncias de interesse (FENECH, 2007).

Neste teste, após a exposição de 24 h das células ao tratamento, haverá a adição do inibidor de citocinese, Citocalasina B, que bloqueará a polimerização das fibras de actina, impossibilitando a citocinese no final de divisão celular (OECD, 2016). A análise das células binucleadas garante que as células em questão passaram por um ciclo mitótico após o início do contato com o material testado (FENECH, 2020).

Como parâmetros, três biomarcadores são avaliados: Micronúcleo (biomarcador de quebra cromossômica e/ou perda de cromossomos inteiros), broto nuclear (biomarcador de eliminação de DNA amplificado e/ou complexos de reparo de DNA) e ponte nucleoplasmática (um biomarcador que indicam presença de cromossomos dicêntricos, gerados a partir de quebras cromossômicas seguidas por fusões) (FENECH, 2007; 2011;2020).

O CBMN permite, ainda, a avaliação da citotoxicidade por meio do cálculo da proporção de células necróticas e apoptóticas, além de analisar o índice de proliferação celular pela quantificação de células mono, bi e multinucleadas (citostase) (FENECH, 2007; OECD, 2016).

Na literatura, existem alguns estudos toxicológicos voltados à espécies da família Rhamnaceae. Boriollo et al. (2014) avaliaram a genotoxicidade de extrato das cascas do caule de *Sarcomphalus joazeiro*, mediante exposição de células da medula óssea de camundongo, sendo observado ausência de efeito mutagênico na concentração (2 g.kg) e presença de efeito antimutagênico, similarmente ao verificado para o extrato metanólico das folhas de *Ziziphus mauritiana* Lam. (RAMAR et al., 2020).

## 4. METODOLOGIA

### 4.1. OBTENÇÃO DO MATERIAL VEGETAL

Cascas do caule de *Sarcomphalus joazeiro* foram coletadas no *Campus* de Ciências Agrárias (CCA) da Universidade Federal do Vale do São Francisco – UNIVASF (9°19'79.1" S; 040° 33'37.1" W, Petrolina, Brasil), inserido em área do bioma Caatinga, na estação chuvosa (Fevereiro/2021). A espécie foi identificada e uma exsiccata foi depositada no Herbário Vale do São Francisco (HVASF, Petrolina – PE, Brasil), sob o tombo 24074.

### 4.2 PROCESSAMENTO DO MATERIAL VEGETAL E PREPARAÇÃO DO EXTRATO AQUOSO CONVENCIONAL DAS CASCAS DO CAULE de *Sarcomphalus joazeiro*

Cascas do caule de *S. joazeiro* foram higienizadas, secas em estufa a 37 °C por 24 h e trituradas em liquidificador para a obtenção de um pó. Para preparação do extrato aquoso bruto, cerca de 50 g de cascas de caule foram adicionados em 500 mL de água destilada à temperatura ambiente (TA) e permaneceram sob agitação mecânica por 24 h. Após esse período, o extrato foi filtrado em funil de Buchner com placa de vidro sinterizada G3 e centrifugados a 6000 rpm por 30 min a 4 °C. Em seguida, o sobrenadante (extrato aquoso bruto) foi filtrado para a remoção das partículas em suspensão, sendo os resíduos descartados. Com o auxílio de um evaporador rotativo, o extrato aquoso foi concentrado e seco em chapa aquecedora a 45 °C. Após secagem, a amostra do extrato aquoso foi dissolvida em água ultrapura com auxílio do banho-maria à 60 °C por 12 h.

### 4.3. CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA DO EXTRATO AQUOSO CONVENCIONAL DAS CASCAS DO CAULE DE *Sarcomphalus joazeiro*

A presença qualitativa dos diferentes metabólitos secundários no extrato aquoso das cascas do caule de *S. joazeiro* foi realizada mediante a Cromatografia em Camada Delgada (CCD). Para isso, o extrato foi solubilizado de acordo com a sua polaridade e uma alíquota foi submetida às análises em placas pré-elaboradas de CCD (Silicycle TLC – Aluminum F254). Com intuito de identificar os principais grupos



de metabólicos secundários, o extrato foi adicionado a 1 cm da borda inferior com o capilar de vidro e as placas foram eluídas com diferentes sistemas de solventes (Tabela 04), seguindo o protocolo descrito por Wagner e Bladt (1996). Para avaliação, o critério estabelecido foi a intensidade da coloração das manchas obtidas após a eluição (Tabela 05).

**Tabela 4** - Sistemas de solvente, padrões, reveladores e forma de detecção dos compostos na triagem fitoquímica por Cromatografia em Camada Delgada para o extrato aquoso convencional das cascas do caule de *Sarcomphalus joazeiro*.

Classe de metabólitos	Sistema eluente	Padrão	Revelador	Deteção ( $\lambda$ )
Lignanas	Clorofórmio:metanol: água (70:30:4)	-	Sem revelador	UV-254: mancha escura sobre a placa UV-365: azul (eleuterosídeo)
			Vanilina sulfúrica 5-10 min a 100°C	Vis: violeta e marrom UV-365: azul e violeta
Mono, sesqui e diterpenos	Tolueno: acetato de etila (93:7)	Timol	Sem revelador	UV-254: mancha escura (mínimo duas C=C)
			Vanilina sulfúrica 5-10 min a 100°C	Vis: Azul, violeta, laranja, verde, vermelho e marrom
Naftoquinonas	Tolueno: ácido fórmico (99:1)	Lapachol	Sem revelador	UV-254: mancha escura
			KOH etanólico 10%	Vis: violeta e marrom UV-365: Amarelo e marrom
Saponinas	Clorofórmio: ácido acético: metanol: água (64:32:12:8)	Saponina	Sem revelador Vanilina sulfúrica 5-10 min a 100°C	UV-254: mancha escura sobre a placa Vis: verde, azul, violeta e vermelho-marrom UV-365: verde, escuro, azul, violeta
Taninos Condensados	Acetato de etila: ácido acético glacial: ácido fórmico: água (100:11:11:26)	Catequina	Vanilina sulfúrica 5-10 min a 100°C	Vis: vermelho

<b>Taninos hidrolisáveis</b>	n-butanol: acetona: tampão fosfato pH 5,0 (40:50:10) (Xavier,2001)	Ácido gálico	Sem revelador	Vis: vermelho, marelo-marrom ou verde
			Sulfato ferroso amoniacal (1%)	UV-365: azul, violeta
<b>Triterpenos e esteroides</b>	Tolueno: clorofórmio: etanol (40:40:10)	Stigmasterol	Liberman-Burchard 5-10 min a 110 °C	Vis: cinza a vermelho-marrom UV-365: azul, azul-violeta
<b>Xantinas</b>	Acetato de etila: metanol: água (100:13,5:10)	Cafeína (extrato contendo chá preto)	Dragendorff	Vis: marrom
<b>Alcalóides</b>	Tolueno: acetato de etila: dietilamina (70:20:10)	-	Sem revelador	UV-254: mancha escura sobre a placa UV-365: azul, verde, violeta e amarelo
			Dragendorff	Vis: marrom, laranja-amarronzado
<b>Antocianinas</b>	Acetato de etila: ácido fórmico: ácido acético glacial: água (100:11:11:26)	Azul de metileno	Sem revelador	Vis: Azul-violeta, vermelho e amarelo
			Vanilina sulfúrica 5-10 min a 100°C	Vis: amarelo. vermelho-violeta e azul-violeta
<b>Antraquinonas</b>	Éter de petróleo: acetato de etila: ácido fórmico (75:25:1)	Antraquinona	Sem revelador H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> etanólico 10%	Vis: amarelo UV-254: mancha escura  Vis: amarelo UV-365: Amarelo e laranja-amarronzado – Azul (estilbenoides agliconas)
<b>Compostos fenólicos</b>	Acetato de etila: ácido fórmico: ácido acético glacial: água (100:11:11:26)	Ácido gálico	Sem revelador	UV-254: fluorescência escura UV-365: amarelo, laranja. Azul (cumarinas e fenilpropanóides)
			Folin ciocalteu	VIS: mancha escura  UV-254: manchas escuras

			Sem revelador	UV-365: azul, verde, amarelo e violeta-azulado
<b>Cumarinas</b>	Tolueno: éter (1:1 saturado com ácido acético 10%)	Cumarina	Vanilina sulfúrica 5-10 min a 100°C	UV-365: azul, -azul-esverdeado (cumarinas simples) amarelo, azul e marrom (derivados)
<b>Derivados antracênicos</b>	Acetato de etila: metanol: água (100:13,5: 10)	Antraquinona	Sem revelador	Vis: vermeho, marelo UV-254: manchas escuras UV-365: azul, amarelo e laranja
			KOH etanólico 10%	Antraquinonas: vermelho (Vis/UV-365) Antrona e antranol: amarelo (Vis/UV-365) Aloe-resina: azul (Vis/UV-254/UV-365)

**Tabela 5-** Método de avaliação da presença de metabólitos secundários.

<b>Grau de intensidade</b>	<b>Crítérios</b>
Fortemente positivo	(+++)
Moderadamente positivo	(++)
Fracamente positivo	(+)
Ausente	(-)

A quantidade de sinais positivos está relacionada a intensidade da coloração correspondente aos compostos observada. +: baixa intensidade; ++ média intensidade; +++ alta intensidade. Nas amostras com sinal negativo não foram observadas coloração correspondente à presença dos compostos.

#### 4.4. ANÁLISE DA CITOGENOTOXICIDADE DO EXTRATO AQUOSO CONVENCIONAL DAS CASCAS DO CAULE DE *Sarcomphalus joazeiro*

##### 4.4.1 Cultura e manutenção da linhagem celular L929

A linhagem celular L929 oriunda de fibroblasto de murinos foi cedida pelo Banco de Células do Rio de Janeiro (BCRJ, Brasil) e utilizada para a avaliação do potencial citogenotóxico do extrato das cascas do caule de *S. joazeiro*. Essas células foram cultivadas em meio de cultura completo Dulbecco's Modified Eagle Medium

(DMEM), suplementado com Soro Bovino Fetal (10%) e solução antibiótico/antimicótica (penicilina (100 U/mL)/estreptomicina (100 µg/mL)/anfotericina B (0,25 µg/mL), em estufa a 37 °C com 5 % CO<sub>2</sub> atmosférico. Ao atingir cerca de 100% de confluência, as células foram submetidas ao teste de citotoxicidade do MTT (brometo de 3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5- difeniltetrazólio) e ao CBMN (Ensaio do Micronúcleo com Bloqueio de Citocinese).

#### **4.4.2 Teste do MTT**

O ensaio do MTT foi realizado seguindo o protocolo de Mosmann (1983), com algumas alterações. Em placas de Elisa com 96 poços, as células L929 (2x10<sup>4</sup> células/poço) foram semeadas em meio de cultura DMEM (100 µL/poço) e incubadas a 37 °C em 5 % CO<sub>2</sub> atmosférico por 24 h. Posteriormente, o extrato aquoso das cascas do caule de juazeiro foi submetido a uma diluição seriada, filtrado (22 µm de diâmetro) e adicionado nos poços, obtendo-se dez concentrações finais (3,12; 6,25; 12,5; 25; 50; 100; 200; 400; 800 e 1600 µg/mL). Meio de cultura DMEM foi usado como Controle Negativo (CN) e o Triton X-100 1% foi utilizado como Controle Positivo (CP).

Em seguida, as placas foram incubadas a 37 °C em 5 % CO<sub>2</sub> atmosférico por 24 h. Passado esse tempo de exposição, foram adicionados 20 µL da solução do MTT (5 mg/mL) (Nº CAS 298-931, Sigma) em cada poço e as placas foram novamente incubadas a 37 °C por 3 h. Em sequência, o sobrenadante foi descartado e os cristais de formazan dissolvidos com 100 µL de Dimetilsulfóxido (DMSO). Foi utilizado o espectrofotômetro para a leitura das absorbâncias a 570 nm.

#### **4.4.3 Ensaio do Micronúcleo com Bloqueio da Citocinese (CBMN)**

A investigação da genotoxicidade do extrato aquoso das cascas do caule de juazeiro foi realizada mediante o ensaio de CBMN, seguindo os protocolos de Melegari et al. (2015) e Fenech (2020), com modificações.

Células L929 (1x10<sup>5</sup> células/poço) foram semeadas em placas de 24 poços contendo meio DMEM completo e incubadas a 37 °C em 5 % de CO<sub>2</sub> atmosférico por 24 h. Após esse período de estabilização, as células foram expostas às concentrações do extrato aquoso das cascas do caule de juazeiro, previamente selecionadas pelo teste de citotoxicidade (50, 100 e 200 µg/mL), ao MMS (metanossulfonato de metila,

$2 \times 10^{-2}$  M) como controle positivo (CP) e ao meio de cultura DMEM completo como controle negativo (CN). As placas foram incubadas a 37 °C em 5% de CO<sub>2</sub> atmosférico por 24 h.

Após a exposição das células aos diferentes tratamentos, o sobrenadante (meio de cultura) foi descartado e foram adicionados 800 µL de meio completo juntamente com 10 µL de citocalasina B (300 µg/mL) (14930-96-2, Sigma-Aldrich) por poço. As placas permaneceram em estufa por 28 h, com o intuito de completar mais um ciclo de divisão celular, obtendo-se células binucleadas. Após esse período, o conteúdo dos poços foi transferido para microtubos, os quais foram centrifugados por 3 min a 7000 rpm, descartando-se o sobrenadante. As células foram fixadas em solução Carnoy (9 metanol: 1 ácido acético, v:v) e as lâminas foram preparadas pelo método de gotejamento, coradas com DAPI:Glicerol (1:1) e analisadas em microscópio de epifluorescência Leica DFC345 FX e software Leica LASX.

O experimento foi realizado em triplicada (três poços/tratamento). Para cada tratamento, a réplica técnica consistiu em 1.000 células binucleadas/lâmina, totalizando 3.000 células/poço e 9.000 células/tratamento. A quantidade de micronúcleos (MN), broto nuclear (N) e ponte nucleoplasmática (PN) foi calculada pela divisão do número de células portadoras das alterações observadas pelo número total de células analisadas em cada tratamento.

Em adição, o índice de citotoxicidade por divisão celular (NCDI) foi avaliado de acordo com a OECD #487 (2016), usando a fórmula  $(NDCI) = [M1 + 2(M2) + 3(M3) + 4(M4)]/N$ , onde M1-M4 correspondem ao número de células viáveis com 1-4 núcleos, e N, o número total de células analisadas. A unidade experimental consiste na média de três réplicas técnicas por poço (500 células/lâmina), totalizando 1500 células/poço e 4500 células/tratamento.

#### 4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O delineamento experimental foi realizado em triplicata para ambos os testes (citotoxicidade e genotoxicidade). A normalidade dos dados foi avaliada pelo teste de Shapiro-Wilk e a homogeneidade pelo teste ANOVA seguido pelo Teste de Levene. Como os dados foram não paramétricos, foi aplicado o teste de Kruskal-Wallis para avaliar a viabilidade celular e a quantidade de alterações nucleares de forma individual ou total, mediante o software Statistica 8.0 ( $p < 0,05$ ).

## 5. RESULTADOS

### 5.1. IDENTIFICAÇÃO DOS FITOCONSTITUINTES

A análise qualitativa dos fitoconstituintes presentes no extrato aquoso convencional das cascas do caule de *Sarcomphalus joazeiro*, mediante Cromatográfica com Camada Delgada (CCD), evidenciou uma presença moderadamente positiva de lignanas e derivados antracênicos, bem como fracamente positiva de saponinas, taninos condensados e outros compostos fenólicos (Tabela 6).

**Tabela 6** - Classe dos metabólitos secundários evidenciados no extrato aquoso das cascas do caule de *Sarcomphalus joazeiro*.

<b>Extrato aquoso das cascas do caule de <i>Sarcomphalus joazeiro</i></b>	
Classe de metabólitos secundários	Grau de intensidade
Lignanas	(++)
Saponinas	(+)
Taninos condensados	(+)
Triterpenos e esteroides	(+)
Compostos fenólicos	(+)
Derivados antracênicos	(++)

Grau de intensidade dos metabólitos secundários: (++) moderadamente positivo, (+) fracamente positivo.

### 5.2. ANÁLISE DA CITOTOXICIDADE

Os resultados obtidos pelo teste de MTT evidenciaram ausência de ação citotóxica (viabilidade celular acima de 80%) para sete menores concentrações testadas (3,12; 6,25; 12,5; 25,0; 50,0; 100 e 200 µg/mL), cujas viabilidades celulares variaram entre 104,45% a 139,71%. Entretanto, houve uma redução na viabilidade celular inferior a 80 % para as concentrações de 400 µg/mL (20,73%), 800 µg/mL (18,75%) e 1.600 (16,20%) µg/mL, enfatizando um efeito citotóxico, quando comparado ao controle negativo ( $p < 0,05$ ) (Figura 5).

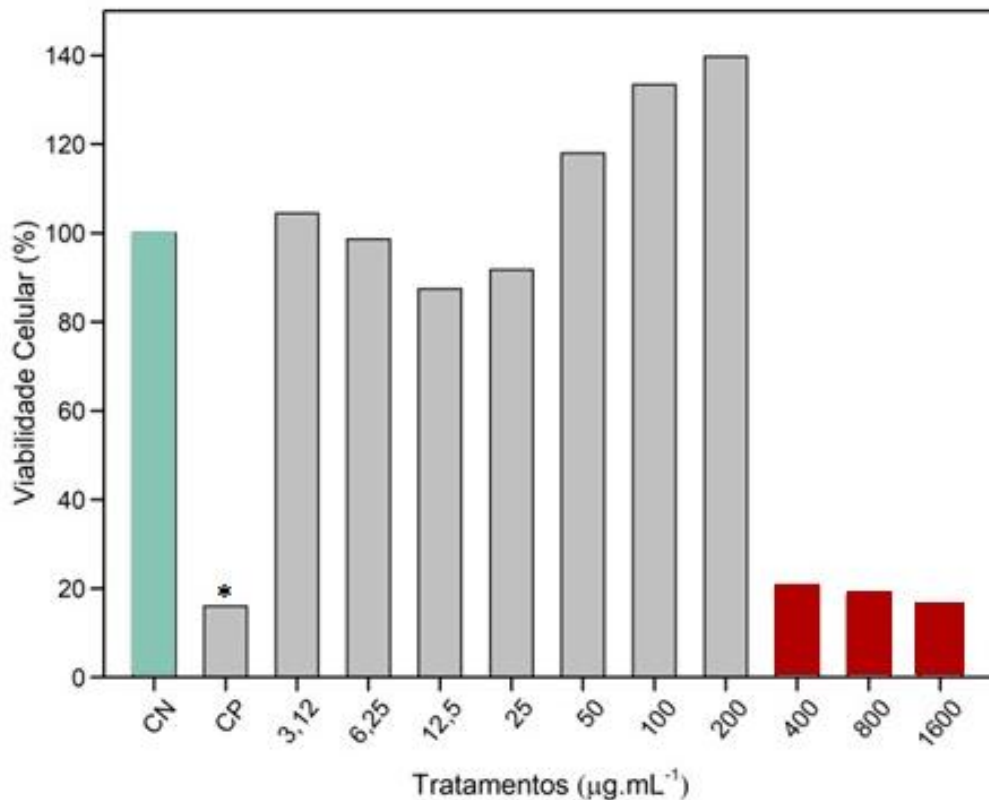


Figura 5: Avaliação da viabilidade celular em linhagem de fibroblasto de murino (L929) expostas a diferentes concentrações do extrato aquoso das cascas do caule do *Sarcomphalus joazeiro* mediante o ensaio de MTT. Os valores correspondem à média da porcentagem da viabilidade celular. CN: Controle Negativo (meio DMEM); \*CP: Controle positivo (Triton-X 100 a 1%). \*porcentagem média da viabilidade celular estatisticamente diferente quando comparadas com o controle negativo pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis ( $p < 0,05$ ).

### 5.3. ANÁLISE DA GENOTOXICIDADE

Dentre as três concentrações testadas pelo Ensaio do Micronúcleo com Bloqueio de Citocinese (CBMN), apenas a concentração de 50  $\mu\text{g/mL}$  não se apresentou genotóxica, conforme visualizado pelo número médio de 23,67 MN (Micronúcleos), 14,33 BN (Broto Nuclear), 1,67 PN (Ponte Nucleoplasmática) e 39,67 NTA (Número Total de Alterações), quando comparado aos dados obtidos para o CN (8,67 MN; 6,44 BN; 1,11 PN; 16,22 NTA) ( $p < 0,05$ ) (Tabela 7). A concentração de 100  $\mu\text{g/mL}$  induziu a formação de 30,00 MN, 15,89 BN, 1,00 PN e 46,89 NTA em células L929 binucleadas, sendo o número de MN e NTA significativamente maiores que os encontrados para o CN ( $p < 0,05$ ), enquanto que a maior concentração testada (200  $\mu\text{g/mL}$ ) revelou valores médios de 42,67 MN, 23,22 BN, 4,67 PN e 70,56 NTA, os quais também foram superiores ao encontrado para o CN (Tabela 7). Desta forma, as

concentrações de 100 e 200 µg/mL mostraram genotoxicidade frente as células L929 (Tabela 7), induzindo a formação de MN, BN e PN, conforme visualizado na Figura 6.

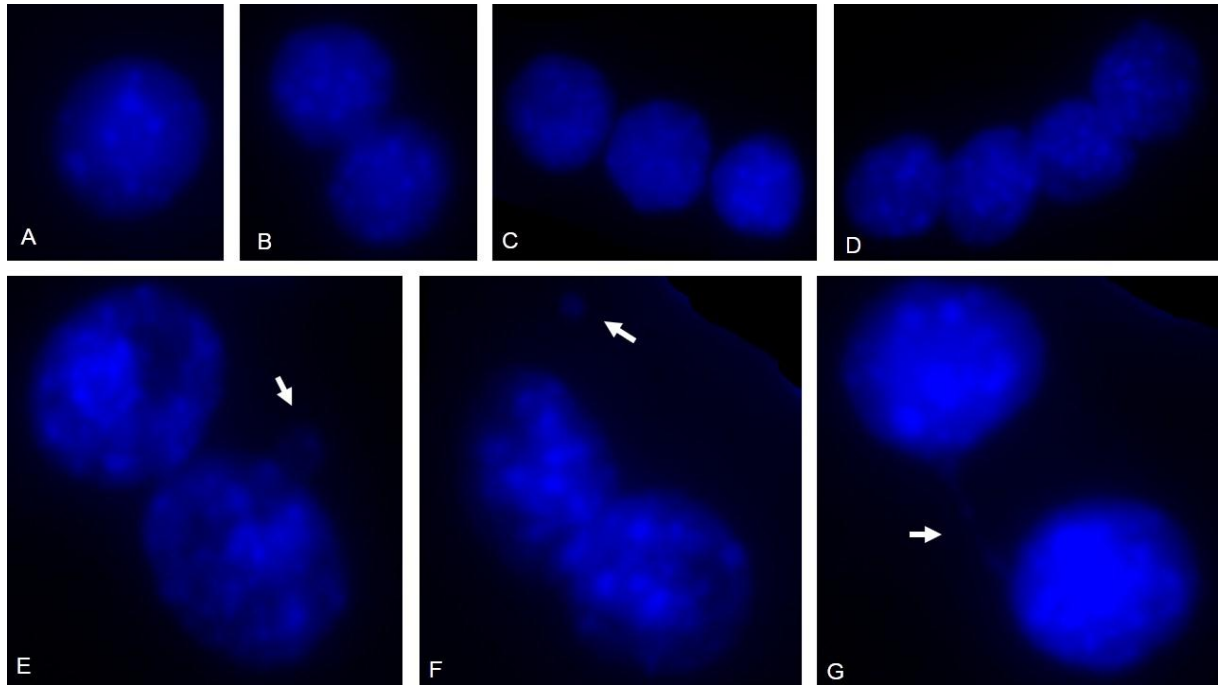
**Tabela 7** - Número de alterações nucleares individuais e total em células L929 binucleadas após exposição à diferentes concentrações do extrato aquoso das cascas do caule de *S. joazeiro* mediante o ensaio de CBMN.

Tratamento (µg/mL)	Alterações nucleares (Média± Desvio padrão)				
	Média (1000 células)			Média (500 células)	
	MN	BN	PN	NTA	NCDI
CN	8,67± 1,41 a	6,44± 1,57 a	1,11± 0,31 a	16,22± 2,73 a	1,53± 0,03 a
CP	<b>45,78± 1,99 b</b>	<b>20,78± 1,87 b</b>	2,00± 0,94 a	<b>68,56± 2,59 b</b>	1,55± 0,02 a
200	<b>42,67±1,89 b</b>	<b>23,22± 1,87 b</b>	<b>4,67± 1,70 b</b>	<b>70,56± 3,95 b</b>	<b>1,34± 0,02 b</b>
100	<b>30,00± 1,94 b</b>	15,89± 1,85 a	1,00± 0,00 a	<b>46,89± 3,41 b</b>	1,52± 0,03 a
50	23,67± 1,73 a	14,33± 1,58 a	1,67± 1,00 a	39,67± 2,40 a	1,52± 0,03 a

Legenda: Os valores correspondem à média das alterações nucleares em 9.000 células/tratamento e seus respectivos desvios-padrão (DP). MN (Micronúcleos); BN (Brotos nucleares); PN (Pontes nucleoplasmáticas); NTA (Número Total de Alterações); CN (Controle negativo - meio de cultura DMEM); CP [controle positivo - MMS (2X 10<sup>-2</sup> M)]; <sup>a</sup> Média das alterações nucleares estatisticamente semelhante, quando comparadas com o controle negativo, pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis (p< 0,05). <sup>b</sup> Média das alterações nucleares estatisticamente diferentes, quando comparadas com o controle negativo, pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis (p< 0,05).

Quanto ao NCDI, foi observado que não teve alteração no número médio de células binucleares, trinucleares e tetranucleares para as concentrações de 50 µg/mL e 100 µg/mL, evidenciando ausência de ação citotóxica para as concentrações testadas, ao ser comparado com o controle negativo (p< 0,05) (Tabela 6).





**Figura 6:** Células de fibroblasto de camundongo L929 expostas à diferentes concentrações do extrato aquoso das cascas do caule *S. joazeiro* (50, 100 e 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) através do ensaio CBMN. (A) Célula mononucleada; (B) Célula binucleada; (C) Célula trinucleada; (D) Célula tetranucleada; (E) Célula binucleada com o broto nuclear (seta); (F) Célula binucleada com micronúcleo (seta); (G) Célula binucleada com ponte nucleoplasmática (seta).

## 6. DISCUSSÃO

É fato que as plantas medicinais estão entre as principais fontes efetivas de agentes terapêuticos por serem constituídas por uma diversidade estrutural de compostos com potencial farmacológico (ALVES et al., 2022). Assim, as análises fitoquímicas são realizadas, com o intuito de determinar as principais classes de metabólitos secundários presentes nos extratos vegetais, envolvidas nas suas respectivas atividades biológicas (MATOS, 2009).

Neste estudo, o perfil fitoquímico do extrato aquoso das cascas do caule de *S. joazeiro* foi constituído por compostos fenólicos (ligninas, taninos condensados e outros), terpenos (esteroides, saponinas e triterpenos) e derivados antracênicos, havendo a predominância de ligninas e derivados antracênicos, os quais foram identificados pela primeira vez em extrato aquoso das cascas do caule de juazeiro.

Trabalhos anteriores relatam a presença de diferentes fitoconstituintes para o extrato das cascas do caule de *S. joazeiro*. Andrade et al. (2019b) identificaram derivados de saponinas, mediante cromatografia líquida de alta performance, em um extrato aquoso desta parte vegetal. Por sua vez, Schuhly et al. (1999) relataram a presença de triterpenoides (a exemplo de ácido betulínico e derivados, ácido ursólico e ácido alfitólico) e saponinas em uma fração diclorometano desse extrato. Para extratos etanólicos, foram visualizadas saponinas, fenois, taninos, esteroides, triterpenoides (ácido betulinico, ácido oleanólico e lupeol) e alcaloides (MARQUES; NASCIMENTO; TORRES, 2017), bem como quercetina, ácido cítrico, saponinas e jujubosídeos, os quais conferem propriedades surfactante ou detergente a este extrato (ARAÚJO et al., 2022). Tais divergências notadas, quanto à distribuição e concentração dos conteúdos de metabólitos secundários nos extratos das cascas do caule de juazeiro, podem ser atribuídas a fatores ambientais (ESTOMBA; FERNANDEZ; STELLA, 2010) e/ou ao próprio método de extração dos extratos (CHAN et al., 2015).

Esta composição fitoquímica e suas possíveis interações sinérgicas, antagônicas e/ou aditivas justifica diferentes atividades biológicas apresentadas pelos extratos de juazeiro. De acordo com a literatura, as saponinas possuem um potencial inibitório contra bactérias (SIDANA; SINGH; SHARMA, 2016), uma vez que apresentam habilidade de quebrar a integridade celular de micro-organismos (BRITO et al., 2015). Assim, sugere-se que um dos fatores que contribuem para atividade antimicrobiana de *S. joazeiro* é a presença de saponinas, conforme observado para o

extrato aquoso das cascas de juazeiro, o qual mostrou uma ação contra *Staphylococcus epidermidis* (ALVIANO et al. 2008), bem como para o extrato etanólico das cascas do caule, o qual apresentou uma significativa capacidade de inibição de biofilme bacteriano (ARAUJO et al., 2022). Gomes et al. (2016) atribuiu à fração de saponinas presente em extrato das cascas de juazeiro a atividade anti-helmíntica em caprinos, enquanto Botan (2018) sugeriu que esses constituintes estariam relacionados à inibição da expressão da citocina TNF- $\alpha$  e de óxido nítrico levantando uma ação anti-inflamatória para o extrato glicólico de juazeiro.

Quanto às ligninas, este tipo de metabólito foi associado à atividade antioxidante do óleo de gergelim (RAY; KATYAL, 2016). As ligninas também tem sido alvo de estudo no alívio da menopausa e, pelo efeito antiestrogênico, é indicada para substituir a terapia de reposição de estrogênio, apresentando menos risco de coagulação sanguínea quando comparado a reposição hormonal (BEDELL, NACHTIGALL, NAFTOLIN, 2014).

Os taninos condensados são conhecidos por agir como antioxidantes fisiológicos, por evitarem danos oxidativos e celulares em resposta à seca e à irradiação UV-B (GOURLAY et al., 2021). Os taninos presentes em *Ziziphus jujuba* apresentam propriedades de inibição da tirosinase, mostrando assim potencial para ser utilizada na preservação de alimentos e cosméticos clareadores (SONG et al., 2020). Já os derivados antracênicos têm demonstrado propriedades laxativas, ação antifúngica e potencial antioxidante, como observado no gênero *Cassia* sp. L. (Fabaceae) (YEN; CHUANG, 2000; LI et al., 2004; KHURM et al., 2020).

Desta forma, acredita-se que os fitoconstituintes isolada ou conjuntamente (JAIN; KHATANA; VIJAYVERGIA, 2019) contribuem com a ação antioxidante (ALVIANO et al., 2008; SILVA et al., 2011; SÁ-FILHO et al., 2021), antibacteriana (SCHUHLY et al., 1999), antimicrobiana (ARAÚJO et al., 2016), antifúngica (CRUZ et al., 2007), antipirética (NUNES et al., 1987; SÁ-FILHO et al., 2021), anti-inflamatória, antidiabética e analgésica (SÁ-FILHO et al., 2021) mostrada pelos extratos das cascas do caule e/ou de folhas de *S. joazeiro*.

Por sua vez, essas atividades biológicas comprovadas cientificamente embasam o conhecimento tradicional, o qual destaca o uso do juazeiro no tratamento de doenças respiratórias, úlceras gástricas, indigestão, combate à febre, dores de cabeça e, até mesmo, como produtos de higiene pessoal (xampu, pasta de dentes,

combate à caspa, entre outros) (SCHUHLY et al., 1999; CARTAXO; SOUZA; ALBUQUERQUE, 2010; BORIOLLO et al., 2014).

É sabido que muitas plantas são de grande relevância etnofarmacológica e que o conhecimento popular é o ponto inicial para o desenvolvimento de novos fármacos. Contudo, muitas plantas medicinais de uso comum podem apresentar efeitos adversos quando consumidas de forma inadequada e em concentrações desconhecidas, ocasionando, inclusive danos severos ao organismo como o efeito mutagênicos (BARDOLOI; SOREN, 2022). Logo, a busca por novos princípios ativos devem vir em conjunto com uma avaliação do perfil de segurança dos extratos avaliados.

Considerando o uso empírico e a falta de investigação quanto à toxicidade das plantas medicinais, neste estudo, o potencial citogenotóxico do extrato aquoso das cascas do caule do juazeiro foi determinado, utilizando os testes do MTT e CBMN, os quais são validados pela FDA (*Food and Drug Administration*; Administração de Alimentos e Medicamentos) (FDA, 2010), EMA (*European Medicines Agency*; Agência Europeia de Medicamentos) (EMA, 2013), OECD (*Organization for Economic Cooperation and Development*; Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico) (OECD, 2016) e ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), agências responsáveis por garantir o uso dos fitoterápicos com segurança, qualidade e eficácia.

Na análise da citotoxicidade do extrato aquoso das cascas do caule de *S. joazeiro*, foi notada uma redução da viabilidade celular para as concentrações mais altas (400, 800 e 1.600 µg/mL). Trabalhos anteriores relatam a ausência de citotoxicidade para as concentrações  $\leq 6,25$  mg/mL e  $\leq 3,12$  mg/mL do extrato comercial glicólico de *S. joazeiro* sobre células de macrófagos RAW 264.7 expostas por 5 min e 24 h, respectivamente (BOTAN, 2018). Por sua vez, o extrato aquoso e uma fração de saponinas obtidas das cascas do caule de juazeiro apresentaram-se citotóxicas em células Vero; entretanto, a fração de saponinas mostrou-se mais tóxicas com um IC50 = 0,20 mg/mL (GOMES et al., 2016).

Ao estudar o potencial citotóxico das frações AcOEt, MeOH e EEB de *Amburana cearensis* (Allemão) A. C. SM. (Umburana-de-cheiro), notou-se que as concentrações de 400 e 1000 µg/mL das frações AcOEt e MeOH foram citotóxicas, enquanto que o EEB apresentou maior viabilidade celular nas respectivas concentrações, sugerindo que a presença ou ausência da citotoxicidade seja

resultado de efeitos sinérgicos entre os constituintes de cada fração/extrato avaliado (ARAÚJO, 2018).

Alguns autores atribuem aos terpenos a ação de diminuir a concentração de cálcio intracelular, inibindo a proteína quinase C e, conseqüentemente, ocorre uma redução da proliferação celular (PAES et al., 2012; SHEREMET et al., 2012), atividade que poderia justificar a citotoxicidade das concentrações elevadas do extrato em avaliação. Por outro lado, é possível que uma ação sinérgica entre os fitoconstituintes encontrados no extrato avaliado de juazeiro, no presente trabalho, esteja associado ao resultado citotóxico para as concentrações acima de 400 µg/mL, bem como ao efeito genotóxico notado para as concentrações  $\geq 100$  µg/mL.

Os resultados indicam que os fitoquímicos modificaram a polimerização das fibras do fuso (ação aneugênica) e/ou promoveram quebras cromossômicas (ação clastogênica), levando a um aumento significativo de micronúcleos, brotos nucleares e pontes nucleoplasmáticas. Além da ação citotóxica, diterpenos, triterpenos, como as saponinas, flavonoides e ligninas já foram associados à inibição da topoisomerase II, o que pode levar a aderência cromossômica, devido a alterações em nível de condensação, bem como a erros de segregação mitótica que resultam em perdas cromossômicas, promovendo uma ação genotóxica (ZHENG et al., 2010).

Poucos trabalhos retratam estudos de genotoxicidade voltados à extratos vegetais de juazeiro. Boriollo et al. (2014) avaliaram a genotoxicidade do extrato glicólico da casca do *S. joazeiro* frente células da medula óssea de camundongos pelo teste de MN; nenhuma ação genotóxica foi notada para as concentrações testadas ((0,5 g.kg<sup>-1</sup> e 2 g.kg<sup>-1</sup>), entretanto a concentração de (2g.kg<sup>-1</sup>) mostrou ação antimutagênica (anticlastogênica e/ou antianeugênica) quando exposto ao agente quimioterápico cloridrato de doxorubicina (5 mg.kg<sup>-1</sup>).

Como os fitoconstituintes atuam promovendo as propriedades biológicas e, concomitantemente, podem apresentar ações tóxicas e citogenotóxicas em diferentes linhagens celulares, é imprescindível o desenvolvimento de estudos científicos que avaliem o perfil fitoquímico, as propriedades biológicas e o potencial citogenotóxico de extratos vegetais com potencial terapêutico, garantindo sua exploração pela população de forma eficaz e indicando concentrações seguras, reduzindo assim possíveis efeitos adversos à saúde humana.

Em suma, a análise fitoquímica qualitativa do extrato aquoso das cascas do caule de *S. joazeiro* e os resultados obtidos com a investigação do potencial

citogenotóxico frente a linhagem celular L929, sugerem que o juazeiro pode ser uma fonte natural terapêutica, sendo o seu uso seguro estabelecido para concentrações menores de 50 ug/mL. Entretanto, testes pré-clínicos adicionais são necessários para validar sua segurança de uso.

## 7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

- O extrato aquoso das cascas do caule de *S. joazeiro* apresenta como principais fitoconstituintes lignanas e derivados antracênicos. Entretanto, as saponinas, taninos condensados, triterpenos e esteroides, bem como outros compostos fenólicos também foram identificados no referido extrato.
- As três maiores concentrações do extrato aquoso das cascas do caule de juazeiro testadas (400, 800 e 1600 µg/mL) mostraram-se citotóxicas, frente as células L929, conforme revelado pelo teste de MTT.
- As concentrações de 100 e 200 µg/mL do extrato aquoso das cascas do caule de juazeiro mostraram-se genotóxicas, uma vez que induziram uma elevada frequência de micronúcleos, brotos nucleares e pontes nucleoplasmáticas em células L929 binucleadas.
- As concentrações menores ou igual a 50 µg/mL são indicadas para *testes in vitro* pré-clínicos em outras linhagens celulares por não apresentarem potencial citogenotóxico.

## REFERENCIAS

- ADS, E. N.; RAJENDRASOZHAN, S.; HASSAN, S. I.; SHARAWY, S. M. S.; HUMAIDI, J. Phytochemical, antimicrobial and cytotoxic evaluation of *Ziziphus spina-christi* (L.) stem bark. **Biomedical Research**, v. 28, n. 15, p. 6646-6653, 2017.
- AGRA, M. F.; SILVA, K. N.; BRASÍLIO, I. J. L. D.; FREITAS, P. F.; BARBOSA-FILHO, J. M. Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil. **Revista brasileira de farmacognosia**, v. 18, p. 472-508, 2008.
- AHMAD, R.; AHMAD, N.; NAQVI, A. A. "Ziziphus oxyphylla": Revisão etnobotânica, etnofarmacológica e fitoquímica. **Biomedicina & Farmacoterapia**, v. 91, p. 970-998, 2017.
- ALBUQUERQUE, U. P.; MEDEIROS, P. M.; ALMEIDA, A. L. S.; MONTEIRO, J. M.; NETO, E. M. D. F. L.; MELO, J. G.; SANTOS, J. P. Medicinal plants of the caatinga (semi-arid) vegetation of NE Brazil: a quantitative approach. **Journal of ethnopharmacology**, v. 114, n. 3, p. 325-354, 2007.
- ALIYU, A. B.; IBRAHIM, M. A.; MUSA, A. M.; IBRAHIM, H.; ABDULKADIR, I. E.; OYEWALE, A. O. Evaluation of antioxidant activity of leave extract of *Bauhinia rufescens* Lam. (Caesalpinaceae). **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 3, n. 8, p. 563-567, 2009.
- ALMEIDA, B. V. et al. Mixtures of medicinal plants from caatinga: Basis for further bioprospecting studies. **South African Journal of Botany**, v. 151, p. 158-177, 2022.
- ALVIANO, W. S.; ALVIANO, D. S.; DINIZ, C. G.; ANTONIOLLI, A. R.; ALVIANO, C. S.; FARIA, L. M.; CARVALHO, M. A. R.; SOUZA, M. M. G.; BOLOGNESE, A. M. In vitro antioxidant potential of plant extracts and their activities against oral bacteria based on Brazilian folk medicine. **Arch Oral Biol**, v. 53, p. 545-552, 2008.
- ALAMGIR, A. N. M. **Therapeutic use of medicinal plants and their extracts: Phytochemistry and bioactive compounds**. Springer International Publishing AG, v.2, 2018.
- ALBAYRAK, S., AKSOY, 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, L. F. Production of Phytotherapeutics in Brazil: History, Problems and Perspectives. **Revista Virtual de Química**, Rio de Janeiro, v. 5, n. 3, p.450-513, 2013.
- ALVES, M. B. N.; BARROS, N. B.; LUGTENBURG, C. A. B.; BARROS, R. R. Uso empírico de plantas medicinais no tratamento de doenças. **Brazilian Journal of Development**, v. 8, n. 4, p. 31491-31503, 2022.
- ALVIANO, W.S., ALVIANO, D.S., DINIZ, C.G., ANTONIOLLI, A.R., ALVIANO, C., FARIAS, L.M., CARVALHO, M.A.R., SOUZA, M.G., BOLOGNESE, A.M. *In vitro* antioxidant potential of medicinal plant extracts and their activities against oral bacteria based on Brazilian folk medicine. **Archives of Oral Biology**, v.53, p. 545–552, 2008
- AMORIM, V. A; BORGES, L. P. Metabólitos secundários de plantas. **Revista Agrotecnologia, Ipameri**, v. 11, n. 1, p. 54-67, 2020.



- ANDRADE-NETO, V. F. D.; BRANDÃO, M. D. G. L.; NOGUEIRA, F.; ROSÁRIO, V. E. D.; KRETTLI, A. U. *Ampeloziziphus amazonicus* Ducke (Rhamnaceae), a medicinal plant used to prevent malaria in the Amazon Region, hampers the development of *Plasmodium berghei* sporozoites. **International Journal for Parasitology**, v. 38, n. 13, p. 1505-1511, 2008.
- ANDRADE, J.C.; SILVA, A.R.P.; FREITAS, M.A.; AZEVEDO R. B.; FREITAS, T.S.; FRANZ A.G.; COUTINHO, H.D.M. Controle de biofilmes bacterianos e fúngicos por produtos naturais de *Ziziphus joazeiro* Mart. (Rhamnaceae). **Imunologia comparativa, microbiologia e doenças infecciosas**, v. 65, p. 226-233, 2019a.
- ANDRADE, J. C., SILVA, A. R. P., SANTOS, A. T. L., FREITAS, M. A., CARNEIRO, J. N. P., GONÇALO, M. I. P., COUTINHO, H. D. M. UPLC-MS-ESI-QTOF characterization and evaluation of the antibacterial and modulatory antibiotic activity of *Ziziphus joazeiro* Mart. aqueous extracts. **South African Journal of Botany**, v.123, p. 105-112, 2019b.
- ANDRADE-BUSTAMANTE, G.; GARCÍA-LÓPEZ, A. M., CERVANTES-DÍAZ, L., AÍLCATZIM, C. E., BORBOA-FLORES, J.; RUEDA-PUENTE, E. O. Estudio del potencial biocontrolador de las plantas autóctonas de la zona árida del noroeste de México: control de fitopatógenos. **Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias UNCuyo**, v. 49, n. 1, p. 127-142, 2017.
- ANG-LEE, M. K.; MOSS, J.; YUAN, C. S. Herbal medicines and perioperative care. **Jama**, v. 286, n. 2, p. 208-216, 2001.
- ANVISA, Agência de Vigilância Sanitária (Brasil). Resolução Da Diretoria Colegiada - RDC N° 26, de 13 de maio de 2014. Resolução RE 90, dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos e o registro e a notificação de produtos tradicionais fitoterápicos. Brasília, p. 2–5, 2014. ANVISA, AGÊNCIA DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Guia para a realização de estudos.
- ARAUJO, José Rafael da Silva. **Avaliação do potencial antioxidante, citotóxico e genotóxico do extrato foliar de *Amburana Cearensis* ( Allemao) A. C. SM.** 2018.96f. Dissertação (mestrado- Programa de Pós- graduação em Genética) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2018.
- ARAÚJO, E.; ARAÚJO, W.; LIMA, E.; ARAÚJO, M.; MAGALHAES, I.; LIMA, T.; PRADO, R. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO *Ziziphus joazeiro* MARTIUS: UMA CONTRIBUIÇÃO ORGÂNICA PARA A ODONTOLOGIA. **Jornada Odontológica dos Acadêmicos da Católica**, v. 2, n. 1, 2017.
- ARAÚJO, S. D. S.; FERNANDES, T. C.; MARIN-MORALES, M. A.; BRASILEIRO-VIDAL, A. C.; BENKO-ISEPPON, A. M. Mutagenicity, genotoxicity and cytotoxicity assays of medicinal plants: first step for drug development. **Therapeutic Medicinal Plants: From Lab to the Market**, p. 130-153, 2015.
- ARAÚJO, N. J.; SILVA, A. R. P.; COSTA, M. S.; FREITAS, T. S.; BARBOSA FILHO, J. M.; MATOS, Y. M.; ANDRADE-PINHEIRO, J. C. Chemical characterization UPLC-ESI-QToF-MSE, antibacterial and antibiofilm potential of *Sarcomphalus joazeiro* (MART.) Hauenschild. **Food Bioscience**, v. 50, p. 102066, 2022.
- ARAÚJO, S. D. S.; FERNANDES, T. C.; MARIN-MORALES, M. A.;

- ASHRAF, M. A.; IQBAL, M.; RASHEED, R.; HUSSAIN, I.; RIAZ, M.; ARIF, M. S. Environmental stress and secondary metabolites in plants: an overview. **Plant metabolites and regulation under environmental stress**, p. 153-167, 2018.
- ASSAYED, M. E.; ABD EL- ATY, A.M. Plantas crucíferas: toxicidade fitoquímica versus quimioproteção contra câncer. *Mini revisões em química medicinal*, v. 9, n.13, p. 1470-1478, 2009.
- AXELROD, D. I.; RAVEN, P. H. Late Cretaceous and Tertiary vegetation history of Africa. In **Biogeography and ecology of southern Africa** (ed. M.J.A. Werger), p. 77-130, 1978.
- AYRES, D. C.; AYRES, D.C.; LOIKE, J. D. **Lignans: chemical, biological and clinical properties**. Cambridge university press, 1990.
- BADKE, M.R.; BUDÓ, M.L.D.; ALVIM, N.A.T.; ZANETTI, G.D.; HEISLER, E.V. Saberes e práticas populares de cuidado em saúde com o uso de plantas medicinais. **Texto & Contexto - Enfermagem**, v.21, n.2, p.363-370, 2012.
- BENKO-ISEPPON, A. M.; PINANGÉ, D. S. B.; CHANG, S. C.; MORAWETZ, W. Ethnobotanical uses of the native flora from Brazilian North-Eastern region. In: RAI, M. et al. (Eds.) **Advances in the Study of Medicinal Plants**. CRC Press, New Hampshire, p. 84-105, 2012.
- BARDOLOI, A.; SOREN, A. D. Genotoxicity induced by medicinal plants. **Bulletin of the National Research Centre**, v. 46, n. 1, p. 1-11, 2022.
- BASTOS, E. G. P.; AGUIAR, A. A.; BASTOS, E. G. P.; SOARES, I. M.; GRIVICICH, I.; MIRI, J. M.; ASCÊNCIO, S. D.; AGUIAR, R. W. S. Antiproliferative effect of *Amburana cearensis* seed extracts on human cancer cell lines. **African Journal of Biotechnology**, v. 19, n. 1, p. 56-64, 2020
- BATOOL, I.; NISAR, S.; HAMROUNI, L.; JILANI, M. I. Extraction, production and analysis techniques for menthol: a review. **International Journal of Chemical and Biochemical Sciences**, v. 14, p. 71-76, 2018.
- BEDELL, S.; NACHTIGALL, M.; NAFTOLIN, F. The pros and cons of plant estrogens for menopause. **The Journal of steroid biochemistry and molecular biology**, v. 139, p. 225-236, 2014.
- BORGES, L. P.; AMORIM, V. A. Metabólitos secundários de plantas secondary plant metabolites. **Revista Agrotecnologia**, Ipameri, v.11, n.1, p. 54-67,2020.
- BORIOLLO, M. F. G.; RESENDE, M. R.; SILVA, T. A. D.; PÚBLIO, J. Y.; SOUZA, L. S.; DIAS, C. T. D. S.; FIORINI, J. E. Evaluation of the mutagenicity and antimutagenicity of *Ziziphus joazeiro* Mart. bark in the micronucleus assay. **Genetics and molecular biology**, v. 37, p. 428-438, 2014.
- BOTAN, Andresa Graciutti. **Citotoxicidade e ação anti-inflamatória in vitro dos extratos glicólicos de *Morus nigra* (amora), *Ziziphus joazeiro* (juá) e *Vitis vinifera* (uva)**, Orientador: Luciane Dias de Oliveira. 2018. 36f. Dissertação (Mestrado)- Mestrado em Biopatologia Bucal, Universidade Estadual Paulista (Unesp), São José dos Campos, 2018.
- BRASIL. **Ministério da Saúde. Plantas de Interesse ao SUS. Portal da saúde**. 2009. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/composicao/sctie/daf/pnppmf/ppnppmf/arquivos/2014/renisus.pdf>. Acesso em 17. Mai. 2022.

BRANCO, D. A. B. C. **Interações medicamentosas**. Editora Senac São Paulo, 2019.

BRANDÃO, M. G. L.; COSENZA, G. P.; MOREIRA, R. A.; MONTE-MOR, R. L. M. Medicinal plants and other botanical products from the Brazilian Official Pharmacopoeia. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, n. 3, p. 408-420, 2006.

BRITO, S. M., COUTINHO, H. D., TALVANI, A., CORONEL, C., BARBOSA, A. G., VEGA, C., MENEZES, I. R. Analysis of bioactivities and chemical composition of *Ziziphus joazeiro* Mart. using HPLC–DAD. **Food chemistry**, v.186, p.185-191, 2015.

CALIXTO, J.S.; RIBEIRO, E.M. O cerrado como fonte de plantas medicinais para uso dos moradores de comunidades tradicionais do Alto Jequitinhonha, MG. In: ENCONTRO DA ANPPAS, 2. **Anais**. Indaiatuba: ANPPAS, 2004.

CAMURÇA-VASCONCELOS, A. L. F.; BEVILAQUA, C. M. L.; MORAIS, S. M.; MACIEL, M. V.; COSTA, C. T. C.; MACEDO, I. T. F.; NAVARRO, A. M. C. Anthelmintic activity of *Lippia sidoides* essential oil on sheep gastrointestinal nematodes. **Veterinary Parasitology**, v. 154, n. 1-2, p. 167-170, 2008.

CANNELLA, V.; ALTOMARE, R.; CHIARAMONTE, G.; DI BELLA, S.; MIRA, F.; RUSSOTTO, L.; GUERCIO, A. Cytotoxicity Evaluation of Endodontic Pins on L929 Cell Line. **BioMed Research International**, v. 2019, 2019.

CARTAXO, S. L.; SOUZA, M. M. A.; ALBUQUERQUE, U. P. Medicinal plants with bioprospecting potential used in semi-arid northeastern Brazil. **Journal of ethnopharmacology**, v. 131, n. 2, p. 326-342, 2010.

CARVALHO, A. F. U.; F. U., MELO, V. M. M.; CRAVEIRO, A. A.; MACHADO, M. I. L.; BANTIM, M. B.; RABELO, E. F.I. Larvicidal activity of the essential oil from *Lippia sidoides* Cham. against *Aedes aegypti* Linn. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 98, p. 569-571, 2003.

CAVALCANTI, S. C. H.; NICULAU, E. D. S.; BLANK, A. F.; CÂMARA, C. A. G.; ARAÚJO, I. N.; ALVES, P. B. Composition and acaricidal activity of *Lippia sidoides* essential oil against two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae* Koch). **Bioresource Technology**, v. 101, n. 2, p. 829-832, 2010.

CHAI, W. M.; WEI, Q. M.; DENG, W. L.; ZHENG, Y. L.; CHEN, X. Y.; HUANG, Q.; PENG, Y. Y.. Anti-melanogenesis properties of condensed tannins from *Vigna angularis* seeds with potent antioxidant and DNA damage protection activities. **Food & function**, v. 10, n. 1, p. 99-111, 2019.

CHAN, S. M.; KHOO, K. S.; SIT, N. W. Interactions between plant extracts and cell viability indicators during cytotoxicity testing: implications for ethnopharmacological studies. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v. 14, n. 11, p. 1991-1998, 2015.

CHOI, S. H.; AHN, J. B.; KOZUKUE, N.; LEVIN, C. E.; FRIEDMAN, M. Distribution of free amino acids, flavonoids, total phenolics, and antioxidative activities of jujube (*Ziziphus jujuba*) fruits and seeds harvested from plants grown in Korea. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 59, n. 12, p. 6594-6604, 2011.

CHRISTIANSON, D. W. Correction to structural and chemical biology of terpenoid cyclases. **Chemical Reviews**, v. 118, n. 24, p. 11795-11795, 2018.

- CLARK, A. M. Natural products as a resource for new drugs. **Pharmaceutical research**, v. 13, n. 8, p. 1133-1141, 1996.
- CORDELLI, E.; BIGNAMI, M.; PACCHIEROTTI, F. Comet assay: a versatile but complex tool in genotoxicity testing. **Toxicology Research**, v. 10, n. 1, p. 68-78, 2021.
- CORVI, R.; MADIA, F. In vitro genotoxicity testing—Can the performance be enhanced?. **Food and Chemical Toxicology**, v. 106, p. 600-608, 2017.
- COX-GEORGIAN, D.; RAMADOSS, N.; DONA, C.; BASU, C. Therapeutic and medicinal uses of terpenes. In: **Medicinal Plants**. Springer, Cham, p. 333-359, 2019.
- CRUZ, M. C. S.; SANTOS, P. O.; BARBOSA J. R. A. M.; DE MÉLO, D. L. F. M.; ALVIANO, C. S.; ANTONIOLLI, A. R.; TRINDADE, R. C. Antifungal activity of Brazilian medicinal plants involved in popular treatment of mycoses. **Journal of ethnopharmacology**, v. 111, n. 2, p. 409-412, 2007.
- CUI, Q.; DU, R.; LIU, M.; RONG, L. Lignans e seus derivados de plantas como antivirais. **Moléculas**, v. 25, n. 1, p. 183, 2020.
- DANTAS, F. C. P.; TAVARES, M. L. R.; TARGINO, M. S.; COSTA, A.; DANTAS, F. O. *Ziziphus joazeiro* Mart.-Rhamnaceae: características biogeoquímicas e importância no bioma Caatinga. **Revista Principia**, n. 25, p. 51-57, 2014.
- DAR, R. A.; SHAHNAWAZ, M.; QAZI, P. H. General overview of medicinal plants: A review. **The journal of phytopharmacology**, v. 6, n. 6, p. 349-351, 2017. DAS, S. N.; JAGANNATH, P. V.; DINDA, S. C. Evaluation of anti-inflammatory, anti-diabetic activity of Indian *Bauhinia vahlii* (stem bark). **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 2, n. 3, p. S1382-S1387, 2012.
- DEDERER, H.; WERR, M.; ILG, T. Differential sensitivity of *Ctenocephalides felis* and *Drosophila melanogaster* nicotinic acetylcholine receptor  $\alpha 1$  and  $\alpha 2$  subunits in recombinant hybrid receptors to nicotinoids and neonicotinoid insecticides. **Insect biochemistry and molecular biology**, v. 41, n. 1, p. 51-61, 2011.
- DEMARINI, D. M. The role of genotoxicity in carcinogenesis. Tumour site concordance and mechanisms of carcinogenesis. **International Agency for Research on Cancer**, 2019.
- DOAN, A. T.; ERVIN, G.; FELTON, G. Temporal effects on jasmonate induction of anti-herbivore defense in *Physalis angulata*: seasonal and ontogenetic gradients. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 32, n. 2, p. 117-126, 2004.
- DONG, S.; YANG, X.; ZHAO, L.; ZHANG, F.; HOU, Z.; XUE, P. Antibacterial activity and mechanism of action saponins from *Chenopodium quinoa* Willd. husks against foodborne pathogenic bacteria. **Industrial crops and products**, v. 149, p. 112350, 2020.
- EL AZIZ, M. M. A.; ASHOUR, A. S.; MELAD, A. S. G. A review on saponins from medicinal plants: chemistry, isolation, and determination. **J. Nanomed. Res**, v. 8, n. 1, p. 282-288, 2019.
- EL MAAIDEN, E.; EL KHARRASSI, Y.; MOUSTAID, K.; ESSAMADI, A. K.; NASSER, B. Comparative study of phytochemical profile between *Ziziphus spina christi* and *Ziziphus lotus* from Morocco. **Journal of Food Measurement and Characterization**, v. 13, n. 1, p. 121-130, 2019.

- EL MAAIDEN, E.; EL KHARRASSI, Y.; QARAH, N. A.; ESSAMADI, A. K.; MOUSTAID, K.; NASSER, B. Genus *Ziziphus*: A comprehensive review on ethnopharmacological, phytochemical and pharmacological properties. **Journal of ethnopharmacology**, v. 259, p. 112950, 2020.
- EMA - European Medicines Agency. ICH M3 (R2) Non-clinical safety studies for the conduct of human clinical trials for pharmaceuticals. Ema, London, 2013.
- ESTOMBA, D.; FERNANDEZ, H. M.; STELLA, A. M. Antioxidantes y porfirinas de *Adesmia boronioides*, *Larrea divaricata* y *Atriplex lampa* cultivadas in vitro. **Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias**, v. 42, n. 2, p. 135-142, 2010.
- EVANS, W. C. **Trease and Evans Pharmacognosy, International Edition E-Book**. Elsevier Health Sciences, 2009.
- FARIAS, L. F.; BORGES, F.V.; PEREIRA, M.P. Levantamento etnofarmacológico de plantas medicinais utilizadas no bairro Jardim Primavera, Alta Floresta–MT. **Enciclopédia Biosfera**, v. 11, n. 21, p. 3225, 2015.
- FARIAS-JUNIOR, P. A.; RIOS, M. C.; MOURA, T. A.; ALMEIDA, R. P.; ALVES, P. B.; BLANK, A. F.; SCHER, R. Leishmanicidal activity of carvacrol-rich essential oil from *Lippia sidoides* Cham. **Biological Research**, v. 45, n. 4, p. 399-402, 2012.
- FDA – Food and Drug Administration. M3(R2) Nonclinical Safety Studies for the Conduct of Human Clinical Trials and Marketing Authorization for Pharmaceuticals. EUA, Rockville, 2010.
- FENECH, M. Cytokinesis-block micronucleus cytome assay. **Nature protocols**, v. 2, n. 5, p. 1084-1104, 2007.
- FENECH, M. Micronuclei and their association with sperm abnormalities, infertility, pregnancy loss, pre-eclampsia and intra-uterine growth restriction in humans. **Mutagenesis**, v. 26, n. 1, p. 63-67, 2011.
- FENECH, M. The in vitro micronucleus technique. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 455, n. 1-2, p. 81-95, 2000.
- FENECH, M. Cytokinesis-Block micronucleus cytome assay evolution into a more comprehensive method to measure chromosomal instability. *Genes*, v. 11, n. 10, p. 1203, 2020.
- FERNANDES, T. M. Medicamentos no Brasil: Entre Naturais e Sintéticos (1920 a 2000). **Revista Fitos**, v. 7, n. 02, p.119-124, 2012.
- FIGUEREDO, C.A.; GURGEL, I.G.D.; GURGEL, G.D.I. A Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos: construção, perspectivas e desafios. **Revista de Saúde Coletiva**. Rio de Janeiro, v.24, n.2, p.381-400, 2014.
- FIGUEREDO, F. G.; FERREIRA, E. O.; LUCENA, B. F. F.; TORRES, C. M. G; LUCETTI, D. L.; LUCETTI, E. C. P.; SILVA, J. M. F. L.; SANTOS, F. A. V.; MEDEIROS, C. R.; OLIVEIRA, G. M. M.; COLARES, A. V.; COSTA, J. G. M.; COUTINHO, H. D. M.; MENEZES, I. R. A.; SILVA, J. C. F.; KERNTOPF, M. R.; FIGUEIREDO, P. R. L.; MATIAS, E. F. F. Modulation of the antibiotic activity by extracts from *Amburana cearensis* AC Smith and *Anadenanthera macrocarpa* (Benth.) Brenan. **BioMed Research International**, v. 2013, 2013.
- FONTENELLE, R. O. S.; MORAIS, S. M.; BRITO, E. H. S.; KERNTOPF, M. R.; BRILHANTE, R. S. N.; CORDEIRO, R. A.; ROCHA, M. F. G. Chemical composition,

toxicological aspects and antifungal activity of essential oil from *Lippia sidoides* Cham. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 59, n. 5, p. 934-940, 2007.

FOREZI, L.S, FERREIRA, P.G.; HÜTHER, C.M.; DA SILVA, F.D.C.; FERREIRA, V.F. **Aqui Tem Química: parte IV**. Terpenos na Perfumaria. 2021.

FRANKLIN, L. U.; CUNNINGTON, G. D.; YOUNG, D. Terpenes-based pesticide treatments for killing terrestrial arthropoda including among others, lice, lice eggs, mites and ants <https://patents.google.com/patent>. **EP1211938A1/en**, 2001.

GALLOWAY, S. M. International regulatory requirements for genotoxicity testing for pharmaceuticals used in human medicine, and their impurities and metabolites. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, v. 58, n. 5, p. 296-324, 2017.

GERSHENZON, J.; MAFFEI, M.; CROTEAU, R. Biochemical and histochemical localization of monoterpene biosynthesis in the glandular trichomes of spearmint (*Mentha spicata*). **Plant Physiology**, v. 89, n. 4, p. 1351-1357, 1989.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química nova**, v. 30, p. 374-381, 2007.

GOMES, D. C., de LIMA, H. G., VAZ, A. V., SANTOS, N. S., SANTOS, F. O., DIAS, Ê. R., BATATINHA, M. J. M. *In vitro* anthelmintic activity of the *Zizyphus joazeiro* bark against gastrointestinal nematodes of goats and its cytotoxicity on Vero cells. **Veterinary Parasitology**, v. 226, p.10-16, 2016.

GOURLAY, G.; HAWKINS, B. J.; ALBERT, A.; SCHNITZLER, J. P.; PETER C. C. Condensed tannins as antioxidants that protect poplar against oxidative stress from drought and UV-B. **Plant, Cell & Environment**, v. 45, n. 2, p. 362-377, 2022.

GOWRI, S.; CHINNASWAMY, P. Evaluation of *in vitro* antimutagenic activity of *Caralluma adscendens* Roxb. In bacterial reverse mutation assay. **Journal of Natural Product and Plant Resources**, v. 1, n. 4, p. 27-34, 2011.

GUEDES, T.B, SAWAYRA, R.J., NOGUEIRA, C. Biogeography, vicariance and conservation of snakes of the neglected and endangered Caatinga region, northeastern Brazil. **Journal of Biogeography**, v. 41, p. 919-931, 2014.

GUO, S.; DUAN, J. A.; TANG, Y.; QIAN, Y.; ZHAO, J.; QIAN, D.; SHANG, E. Simultaneous qualitative and quantitative analysis of triterpenic acids, saponins and flavonoids in the leaves of two *Zizyphus* species by HPLC–PDA–ELSD. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**, v. 56, n. 2, p. 264-270, 2011.

HAMEDI, S.; SHAMS-ARDAKANI, M. R.; SADEGHPOUR, O.; AMIN, G.; HAJIGHASEMALI, D.; ORAFAI, H. Designing mucoadhesive discs containing stem bark extract of *Zizyphus jujuba* based on Iranian traditional documents. **Iranian Journal of Basic Medical Sciences**, v. 19, n. 3, p. 330, 2016.

HASENCLEVER, L.; PARANHOS, J.; COSTA, C.R.; CUNHA, G.; VIERIA, D. A indústria de fitoterápicos brasileira: desafios e oportunidades. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 22, n. 8, p.2559-2569, 2017.

HASSAN, B. A. R. Medicinal plants (importance and uses). **Pharmaceutica Analytica Acta**, v. 3, n. 10, p. 1000-1139, 2012.

- HAUENSCHILD, F.; FAVRE, A.; MICHALAK, I.; MUELLNER-RIEHL, A. N. The influence of the Gondwanan breakup on the biogeographic history of the ziziphoids (Rhamnaceae). **Journal of Biogeography**, v. 45, n. 12, p. 2669-2677, 2018.
- HAUENSCHILD, F.; MATUSZAK, S.; MUELLNER-RIEHL, A. N.; FAVRE, A. Phylogenetic relationships within the cosmopolitan buckthorn family (Rhamnaceae) support the resurrection of *Sarcomphalus* and the description of *Pseudoziziphus* gen. nov. **Taxon**, v. 65, n. 1, p. 47-64, 2016.
- HAYON, T.; DVILANSKY, A.; SHPILBERG, O.; NATHAN, I. Appraisal of the MTT-based assay as a useful tool for predicting drug chemosensitivity in leukemia. *Leukemia & lymphoma*, v. 44, n. 11, p. 1957-1962, 2003.
- HOLLERT, H.; DUERR, M.; ERDINGER, L.; BRAUNBECK, T. Cytotoxicity of settling particulate matter and sediments of the Neckar River (Germany) during a winter flood. **Environmental Toxicology and Chemistry: an International Journal**, v. 19, n. 3, p. 528-534, 2000.
- HUNT, D. Etnobotânica ecológica: tropeçando em novas práticas e paradigmas. **MASA J**, v.16, p.1–13, 2000.
- IRAKLI, M.; KATSANTONIS, D.; KLEISIARIS, F. Evaluation of quality attributes, nutraceutical components and antioxidant potential of wheat bread substituted with rice bran. **Journal of Cereal Science**, v. 65, p. 74-80, 2015.
- IRMISCH, S.; JIANG, Y.; CHEN, F.; GERSHENZON, J.; KÖLLNER, T. GTerpene synthases and their contribution to herbivore-induced volatile emission in western balsam poplar (*Populus trichocarpa*). **BMC Plant Biology**, v. 14, n. 1, p. 1-16, 2014.
- ISLAM, Melissa B.; SIMMONS, Mark P. A thorny dilemma: testing alternative intrageneric classifications within *Ziziphus* (Rhamnaceae). **Systematic Botany**, v. 31, n. 4, p. 826-842, 2006.
- JAFARIAN, A.; ZOLFAGHARI, B.; SHIRANI, K. Cytotoxicity of different extracts of arial parts of *Ziziphus spina-christi* on Hela and MDA-MB-468 tumor cells. **Advanced biomedical research**, v. 3, 2014.
- JAIN, C.; KHATANA, S.; VIJAYVERGIA, R. Bioactivity of secondary metabolites of various plants: a review. **International Journal Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 10, n. 2, p. 494-504, 2019.
- JIANG, X.; LIU, Y.; LI, W.; ZHAO, L.; MENG, F.; WANG, Y.; GAO, L. Tissue-specific, development-dependent phenolic compounds accumulation profile and gene expression pattern in tea plant [*Camellia sinensis*]. **PloS One**, v. 8, n. 4, p. e62315, 2013.
- JAMSHIDI-KIA, F.; LORIGOOINI, Z.; AMINI-KHOEI, H. Medicinal plants: Past history and future perspective. **Journal of herbmed pharmacology**, v. 7, n. 1, 2018.
- JÜTTE, R.; HEINRICH, M.; HELMSTÄDTER, A.; LANGHORST, J.; MENG, G.; NIEBLING, W.; TRAMPISCH, H. J. Herbal medicinal products—Evidence and tradition from a historical perspective. *Journal of ethnopharmacology*, v. 207, p. 220-225, 2017.
- KABERA, J. N.; Semana, E.; Mussa, A. R.; He, X. Plant secondary metabolites: biosynthesis, classification, function and pharmacological properties. **J. Pharm. Pharmacol**, v. 2, n. 7, p. 377-392, 2014.

- KALEEM, W. A.; MUHAMMAD, N.; QAYUM, M.; KHAN, H.; KHAN, A.; ALIBERTI, L.; DE FEO, V. Antinociceptive activity of cyclopeptide alkaloids isolated from *Ziziphus oxyphylla* Edgew (Rhamnaceae). **Fitoterapia**, v. 91, p. 154-158, 2013.
- KANG, K. B.; ERNST, M.; HOOFT, J.J. V. D.; SILVA, R.R.; PARK, J.; MEDEMA, M.H.; DORRESTEIN, P.C. Comprehensive mass spectrometry-guided phenotyping of plant specialized metabolites reveals metabolic diversity in the cosmopolitan plant family Rhamnaceae. **The Plant Journal**, v. 98, n. 6, p. 1134-1144, 2019.
- KHURM, M.; WANG, X.; ZHANG, H.; HUSSAIN, S.N.; QAISAR, M.N.; HAYAT, K.; GUO, Z.O. Gênero *Cassia* L.: visão geral etnofarmacológica e fitoquímica. **Pesquisa em Fitoterapia**, v. 35, n. 5, p. 2336-2385, 2020.
- KIM, T., SONG, B.; CHO, K. S.; LEE, I. S.. Therapeutic potential of volatile terpenes and terpenoids from forests for inflammatory diseases. **International journal of molecular sciences**, v. 21, n. 6, p. 2187, 2020.
- LI, F. K.; LAI, C. K.; POON, W. T.; CHAN, A. Y. W.; CHAN, K. W.; TSE, K. C.; LAI, K. N. Aggravation of non-steroidal anti-inflammatory drug-induced hepatitis and acute renal failure by slimming drug containing anthraquinones. **Nephrology Dialysis Transplantation**, v. 19, n. 7, p. 1916-1917, 2004.
- LI, W.; ZHOU, J.; XU, Y. Study of the in vitro cytotoxicity testing of medical devices. **Biomedical reports**, v. 3, n. 5, p. 617-620, 2015.
- LI, Y.; KONG, D.; FU, Y.; SUSSMAN, M. R.; WU, H. The effect of developmental and environmental factors on secondary metabolites in medicinal plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 148, p. 80-89, 2020.
- LIMA, R.B. (in memoriam); BARBOSA, M.R.V.; GIULIETTI, A.M. *Rhamnaceae in Flora e Funga do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB207>>. Acesso em: 11 jun. 2022
- LIU, M. J.; CHENG, C.Y. A taxonomic study of the genus *Ziziphus*. **Acta Horticulturae**. v.390, p.161-165, 1995.
- LORENZO, M. E.; CASERO, C. N.; GÓMEZ, P. E.; SEGOVIA, A. F.; FIGUEROA, L. C.; QUIROGA, A.; BARONI, M. V. Antioxidant characteristics and antibacterial activity of native woody species from Catamarca, Argentina. **Natural Product Research**, v. 36, n. 4, p. 885-890, 2022.
- LORENZO, M.; GOMEZ, P.; SEGOVIA, A.; QUIROGA, A., FIGUEROA, L.; BARONI, M. Contenido Fenólico y actividad antioxidante de extractos etanólicos de *Larrea divaricata* Cav., *Larrea Cuneifolia* Cav. y *Sarcomphalus Mistol* (Griseb.) Hauenschild, precedentes de diferentes áreas del valle Centra de Catamarca. **Revista del CIZAS**, v. 1, n. 2, 2019.
- LORENZI, H.E. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**, ed.5, v.1, Nova Odessa, Instituto Plantarum, 2009.
- MAGALHÃES, W. L. E.; THÁ, E. L.; LEME, D. M. Método de determinação de concentrações não citotóxicas para avaliação da capacidade protetora da lignina contra danos ao DNA. **Concórdia: Embrapa Florestas**, 2018.



MARQUES, C. A.; NASCIMENTO, A. M. D.; TORRES, J. C. Caracterização morfo-anatômica e testes fitoquímicos em amostras comerciais de *Ziziphus joazeiro* Mart. (Rhamnaceae). **Revista Fitos**, [S.l.], v. 10, n. 4, p. 417-432, maio 2017.

MARTINEZ-GONZALEZ, A. I.; Díaz-Sánchez, Á. G.; De La Rosa, L. A.; Bustos-Jaimes, I.; Alvarez-Parrilla, E. J. S. A. P. A. M. Inhibition of  $\alpha$ -amylase by flavonoids: Structure activity relationship (SAR). **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 206, p. 437-447, 2019.

MATOS, F. D. A. **Introduction to Experimental Phytochemistry**. Ed 3. Edições UFC.2009.

MCGAW, L. J.; ELGORASHI, E. E.; ELOFF, J. N. Cytotoxicity of African medicinal plants against normal animal and human cells. In: **Toxicological survey of African medicinal plants**. Elsevier, p. 181-233, 2014

MELO, Suyane de Deus. **Avaliação citogenotóxica de extratos das espécies *Mimosa candollei* R. Grether e *Cajanus cajan* (L.) Huth com potencial para novos agentes terapêuticos**. 2022. 38 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2022.

MING, L.C. A Etnobotânica na recuperação do conhecimento popular. In: Encontro internacional sobre agroecologia e desenvolvimento rural sustentável, Botucatu. **Anais**. Botucatu: UNESP, 2001.

MISCHELL, B. B; SHIINGI, S. M. Selected Methods in Cellular Immunology. W.H. Freeman Company, New York, USA. 1980.

MISHRA, T.; KHULLAR, M.; BHATIA, A. Anticancer potential of aqueous ethanol seed extract of *Ziziphus mauritiana* against cancer cell lines and Ehrlich ascites carcinoma. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2011, 2011.

MORI, S. A.; BROWN, J. L. Report on wind dispersal in a lowland moist forest in central French Guiana. **Brittonia**, v. 46, n. 2, p. 105-125, 1994.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of immunological methods**, v. 65, n. 1-2, p. 55-63, 1983.

MOLLA, Y.; NEDI, T.; TADESSE, G.; ALEMAYEHU, H.; SHIBESHI, W. Evaluation of the in vitro antibacterial activity of the solvent fractions of the leaves of *Rhamnus prinoides* L'Herit (Rhamnaceae) against pathogenic bacteria. **BMC complementary and alternative medicine**, v. 16, n. 1, p. 1-9, 2016.

NARAYANI, M.; SRIVASTAVA, S. Elicitation: a stimulation of stress in in vitro plant cell/tissue cultures for enhancement of secondary metabolite production. **Phytochemistry Reviews**, v. 16, n. 6, p. 1227-1252, 2017.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural products as sources of new drugs from 1981 to 2014. **Journal of natural products**, v. 79, n. 3, p. 629-661, 2016.

NUNES, P. H.; MARINHO, L. C.; NUNES, M. L.; SOARES, E. O. Antipyretic activity of an aqueous extract of *Zizyphus joazeiro* Mart.(Rhamnaceae). **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 20, n. 5, p. 599-601, 1987.

- NWODO, J.N.; IBEZIM, A.; SIMOBEN, C. V.; NTIE-KANG, F. Exploring cancer therapeutics with natural products from African medicinal plants, part II: alkaloids, terpenoids and flavonoids. **Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents)**, v. 16, n. 1, p. 108-127, 2016.
- OECD - ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT. OECD Guidance document on revisions to OECD genetic toxicology test guidelines. August 31, 2015.
- OECD - ORGANISATION FOR ECONOMIC COOPERATION AND DEVELOPMENT. OECD Guideline for the testing of chemicals. 487: *in vitro* mammalian cell micronucleus test. 2016a.
- OECD - ORGANISATION FOR ECONOMIC COOPERATION AND DEVELOPMENT. TG 473: *In Vitro* Mammalian Chromosomal Aberration Test. 2016b
- OLIVEIRA, C B. S.; BBARROS, A. V.; MELO, B. K. C.; COSTA, T. N. B. G.; CAMPOS, D. M. D. O.; OLIVEIRA, J. I. N. AS RIQUEZAS DA CAATINGA E SEU POTENCIAL FARMACOLÓGICO: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA. **South American Journal of Basic Education, Technical and Technological**, v. 8, n. 1, p. 771-791, 2021.
- OLIVEIRA-JÚNIOR, R. G.; FERRAZ, C. A. A.; PONTES, M. C.; CAVALCANTE, N. B.; CRUZ A., E. C.; OLIVEIRA, A. P.; SILVA A., J. R. G. Antibacterial activity of terpenoids isolated from *Cnidioscolus quercifolius* Pohl (Euphorbiaceae), a Brazilian medicinal plant from Caatinga biome. **European Journal of Integrative Medicine**, v. 24, p. 30-34, 2018.
- ONSTEIN, R.E.; CARTER, R. J.; XING, Y.; RICHARDSON, J. E.; LINDER, H. P. Do Mediterranean-type ecosystems have a common history?—insights from the buckthorn family (Rhamnaceae). **Evolution**, v. 69, n. 3, p. 756-771, 2015.
- PAREEK, S. Nutritional composition of jujube fruit. **Emirates Journal of Food and Agriculture**, p. 463-470, 2013.
- PARK, E. S.; MOON, W. S.; SONG, M. J.; KIM, M. N.; CHUNG, K. H.; YOON, J. S. Antimicrobial activity of phenol and benzoic acid derivatives. **International biodeterioration & biodegradation**, v. 47, n. 4, p. 209-214, 2001.
- PEDROSO, R.S.; ANDRADE, G.; PIRES, R. H. Plantas medicinais: uma abordagem sobre o uso seguro e racional. **Physis: Revista de Saúde Coletiva**, v. 31, 2021.
- PING, K. Y.; DARAH, I.; YUSUF, U. K.; YENG, C.; SASIDHARAN, S. Genotoxicity of *Euphorbia hirta*: an *Allium cepa* assay. **Molecules**, v. 17, n. 7, p. 7782-7791, 2012.
- PHILLIPSON, J.D. Fitoquímica e plantas medicinais. **Fitoquímica**, v.56, n.3, p 43-237, 2001.
- POLAT KOSE, Leyla; GULCIN, İlhami. Evaluation of the antioxidant and antiradical properties of some phyto and mammalian lignans. **Molecules**, v. 26, n. 23, p. 7099, 2021.
- RAMAR, M. K.; DHAYANANDAMOORTHY, Y.; RAMACHANDRAN, S. S.; KANDASAMY, R. HPLC-ESI-QqQ based standardization, mutagenic and genotoxic potential of methanol extract of *Ziziphus mauritiana* Lam leaves. **Journal of ethnopharmacology**, v. 246, p. 112216, 2020.

RAO, B. R. P.; SUNITHA, S. Medicinal plant resources of Rudrakod sacred grove in Nallamalais, Andhra Pradesh, India. **Journal of Biodiversity**, v. 2, n. 2, p. 75-89, 2011.

RASOOL HASSAN, B. Medicinal plants (importance and uses). **Pharmaceut Anal Acta**, v. 3, p.139, 2012.

RAUF, A.; ALI, J.; KHAN, H.; MUBARAK, M. S.; PATEL, S. Emerging CAM Ziziphus nummularia with in vivo sedative-hypnotic, antipyretic and analgesic attributes. **3 Biotech**, v. 6, n. 1, p. 1-10, 2016.

RAY, R. S.; KATYAL, A. Myeloperoxidase: bridging the gap in neurodegeneration. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 68, p. 611-620, 2016.

RENAME. Relação nacional de medicamentos essenciais. 1ª Ed, p. 108-112, 2020. Disponível em: <[https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/relacao\\_medicamentos\\_rename\\_2020.pdf](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/relacao_medicamentos_rename_2020.pdf)> Acesso em: 20 de nov. de 2022

RENISUS. Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS. 2009. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/composicao/sctie/daf/plantas-medicinais-e-fitoterapicas/ppnmpf/arquivos/2014/renisus.pdf> Acesso em: 20 de nov. de 2022.

RICHARDSON, J.E.; CHATROU, L. W.; MOLS, J. B.; ERKENS, R. H. J.; PIRIE, M. D. Historical biogeography of two cosmopolitan families of flowering plants: Annonaceae and Rhamnaceae. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences**, v. 359, n. 1450, p. 1495-1508, 2004.

ROBERTS, M. F.; STRACK, D.; WINK, M. Biosynthesis of alkaloids and betalains. **Annual Plant Reviews Volume 40: Biochemistry of Plant Secondary Metabolism**, p. 20-91, 2010.

ROSA, M. N.; SILVA, L. R. V. LONGATO, G. B.; EVANGELISTA, A. F.; GOMES, I. N. F.; ALVES, A. L. V.; OLIVEIRA, B. G.; PINTO, F. E.; ROMÃO, W.; REZENDE, A. R.; ARAÚJO, A. A. C.; OLIVEIRA, L. S. F. M.; SOUZA, A. A. M.; OLIVEIRA, S. C.; RIBEIRO, R. L. M. A.; SILVA, V. A. O.; REIS, R. M. Bioprospecting of Natural Compounds from Brazilian Cerrado Biome Plants in Human Cervical Cancer Cell Lines. **International journal of molecular sciences**, v. 22, n. 7, p. 3383, 2021.

ROY, D. N. **Terpenoids against human diseases**. CRC Press, 2019.

RURAL SUSTENTÁVEL, Botucatu. **Anais**. Botucatu: UNESP, 2001.

SÁ-FILHO, G. F.; SILVA, A. I. B.; COSTA, E. M.; NUNES, L. E.; RIBEIRO, L. H. F.; CAVALCANTI, J. R. L. P.; GUZEN, F. P.; OLIVEIRA, L. C.; CALVACANTE, J. S. Medicinal plants used in the Brazilian caatinga and the therapeutic potential of secondary metabolites: a review. **Research, Society and Development**. v. 10, n. 13, 2021.

SAIED, A. S.; GEBAUER, J.; HAMMER, K.; BUERKERT, A. Ziziphus spina-christi (L.) Willd.: a multipurpose fruit tree. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 55, n. 7, p. 929-937, 2008.

SAK, K.; EVERAUS, H. Multi-target cytotoxic actions of flavonoids in blood cancer cells. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention**, v. 16, n. 12, p. 4843-4847, 2015.

- SANCHITA, A. S. Gene expression analysis in medicinal plants under abiotic stress conditions. In: **Plant metabolites and regulation under environmental stress**. Academic Press, p. 407-414. 2018.
- SANTOS, C. H. C.; CARVALHO, M. G.; FRANKE, K.; WESSJOHANN, L. Dammarane-type triterpenoids from the stem of *Ziziphus glaziovii* Warm. (Rhamnaceae). **Phytochemistry**, v. 162, p. 250-259, 2019.
- SCHÜHLY, W.; HEILMANN, J.; CALIS, I.; STICHER, O. New triterpenoids with antibacterial activity from *Zizyphus joazeiro*. **Planta medica**, v. 65, n. 08, p. 740-743, 1999.
- SHAHIDI, F.; AMBIGAIPALAN, P. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects—A review. **Journal of Functional foods**, v. 18, p. 820-897, 2015.
- SIDANA, J., SINGH, B., SHARMA, O. P. Saponins of Agave: Chemistry and bioactivity. **Phytochemistry**, v.130, p. 22-46, 2016.
- SILVA, F. C. L. E.; MOREIRA, C. MENEZES. EFEITOS DO USO SIMULTÂNEO DOS EXTRATOS VEGETAIS DE *B. salicifolius* E *S. buxifolia* SOBRE ATIVIDADE DA ECA. **Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão**, v. 13, n. 3, 2021.
- SILVA, T. C. L.; ALMEIDA, C. C. B. R.; VERAS FILHO, J.; SOBRINHO, T. P.; AMORIM, E. L. C.; COSTA, E. P.; ARAÚJO, J. M. Atividades antioxidante e antimicrobiana de *Ziziphus joazeiro* Mart. (Rhamnaceae): avaliação comparativa entre cascas e folhas. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 32, n. 2, 2011.
- SINGH R. Plantas Medicinais: Uma Revisão. **Revista de Ciências Vegetais**, v.3, n.1, p.50-55, 2015.
- SOARES, S.; FERRER-GALEGO, R.; BRANDAO, E.; SILVA, M.; MATEUS, N.; FREITAS, V. D. Contribution of human oral cells to astringency by binding salivary protein/tannin complexes. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 64, n. 41, p. 7823-7828, 2016.
- SOLECKI, R. S. Shanidar IV, a Neanderthal Flower Burial in Northern Iraq. **Science**, v.190, n.4217, p.880–881, 1975.
- SONG, W.; LIU, L. L.; REN, Y. J.; WEI, S. D.; YANG, H. B. Inhibitory effects and molecular mechanism on mushroom tyrosinase by condensed tannins isolation from the fruit of *Ziziphus jujuba* Mill. var. *spinosa* (Bunge) Hu ex HF Chow. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 165, p. 1813-1821, 2020.
- SOUZA, V. C.; LORENZI, H. Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado no APG II. **Nova Odessa**, SP: Instituto Plantarum, p. 640, 2005.
- SOUZA, J. B. P.; ATALIBA, F. J. B.; COSTA, D. A.; FARIAS, A. D. Interações planta medicinal x medicamento convencional no tratamento da hipertensão arterial. **Infarma Ciências Farmacêuticas**, v. 29, n. 2, p. 90-9, 2017.
- SOUZA, S. M. C.; AQUINO, L. C. M.; MILACH, A. C.; BANDEIRA, M. A. M.; NOBRE, M. E. P.; VIANA, G. S. B. Antiinflammatory and antiulcer properties of tannins from *Myracrodruon urundeuva* Allemão (Anacardiaceae) in rodents. **Phytotherapy Research**, v. 21, n. 3, p. 220-225, 2007.

- SUN, W.; SHAHRAJABIAN, M. H.; CHENG, Q.; Sabatini, S. Anis (*Pimpinella anisum* L.). A dominant spice and traditional medicinal herb for food and medicinal purposes. **Cogent Biology**, v.5, n.1, 2019.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia Vegetal. 3ª. **Porto Alegre. Ed. Artmed**, 2004.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5d. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013.
- TISSIER, A.; ZIEGLER, J.; VOGT, T. Specialized plant metabolites: diversity and biosynthesis. **Ecological biochemistry: environmental and interspecies interactions**, p. 14-37, 2014.
- TEIXEIRA, J. B. P.; DOS SANTOS, J. V. **Fitoterápicos e Interações Medicamentosas**. UFJF. 2011.
- TOLOSA, L.; DONATO, M. T.; GÓMEZ-LECHÓN, M. J. General cytotoxicity assessment by means of the MTT assay. In: **Protocols in in vitro hepatocyte research**. p. 333-348, 2015.
- TROVÃO, D. M., FERNANDES, P.D.; ANDRADE, L. A.; NETO, J. D. Variações sazonais de aspectos fisiológicos de espécies da Caatinga. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.11, p.307-311, 2007.
- VIANA, G. S. B.; BANDEIRA, M. A. M.; MATOS, F. J. A. Analgesic and antiinflammatory effects of chalcones isolated from *Myracrodruon urundeuva* Allemão. **Phytomedicine**, v. 10, n. 2-3, p. 189-195, 2003.
- VIZZOTTO, M.; KROLOW, A.C.R.; WEBER, G.E.B. Metabólitos secundários encontrados em plantas e sua importância. **Embrapa Clima Temperado- Documentos (INFOTECA-E)**, 2010.
- WANG, M. O.; ETHERIDGE, J. M.; THOMPSON, J. A.; VORWALD, C. E.; DEAN, D.; FISHER, J. P. Evaluation of the in vitro cytotoxicity of cross-linked biomaterials. **Biomacromolecules**, v. 14, n. 5, p. 1321-1329, 2013.
- WINK, M. **Annual plant reviews, functions and biotechnology of plant secondary metabolites**. New Delhi: John Wiley & Sons, 2010. Disponível em: <[https://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=Unf0\\_uibhX8C&oi=fnd&pg=PR7&dq=Annual+plant+reviews,+functions+and+biotechnology+of+plant+secondary+metabolites&ots=Wv5MIS2q\\_l&sig=up00Dj1Zq0xaB8BxivZknNhzhTE#v=onepage&q=Annual%20plant%20reviews%2C%20functions%20and%20biotechnology%20of%20plant%20secondary%20metabolites&f=false](https://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=Unf0_uibhX8C&oi=fnd&pg=PR7&dq=Annual+plant+reviews,+functions+and+biotechnology+of+plant+secondary+metabolites&ots=Wv5MIS2q_l&sig=up00Dj1Zq0xaB8BxivZknNhzhTE#v=onepage&q=Annual%20plant%20reviews%2C%20functions%20and%20biotechnology%20of%20plant%20secondary%20metabolites&f=false)> Acesso em 10 de nov. 2022.
- WINK, M.; SCHIMMER, O. Molecular modes of action of defensive secondary metabolites. **Annual Plant Reviews online**, p. 21-161, 2018. YEN, G. C.; CHUANG, D. Y. Antioxidant properties of water extracts from *Cassia tora* L. in relation to the degree of roasting. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 48, n. 7, p. 2760-2765, 2000.