

Determinação do perfil fitoquímico e avaliação das atividades biológicas de extrato da espécie Scleronema micranthum da família Bombacaceae

Determination of the phytochemical profile and evaluation of biological activities of extract of species *Scleronema micranthum* in the Bombacaceae family

DOI 10.5935/2446-4775.20160031

¹MARQUES, Tatiana S.*; ¹PEREIRA, Daniel T. M.; ²ABREU, Alcicley S.; ³SOUZA, Marcos A. S. de.

¹Universidade Federal do Amazonas, UFAM, Manaus, AM, Brasil.

²Universidade do Sul e Sudeste do Pará, UNIFESSPA, Marabá, PA, Brasil.

³Precious Wood Amazon, Itacoatiara, AM, Brasil.

*Correspondências: tati.marquestm@gmail.com

Resumo

As plantas medicinais são usadas desde a antiguidade para tratar diversas doenças e, têm subsidiado a pesquisa farmacêutica na descoberta de novos agentes biologicamente ativos. Neste contexto, foi realizada a prospecção fitoquímica, a avaliação das atividades citotóxica, antimicrobiana e antioxidante do extrato etanólico obtido das folhas da espécie *Scleronema micranthum* Ducke (Bombacaceae), conhecida popularmente como cedrinho. Os resultados obtidos na prospecção fitoquímica sugerem a presença dos componentes metabólicos leucoantocianidinas, flavonoides, saponinas e fenóis. As moderadas atividades citotóxica e antioxidante estabelecidas para o extrato bruto, podem despertar o interesse das empresas farmacêuticas em razão da pesquisa por novos agentes antitumorais e anti-inflamatórios oriundos da Floresta Amazônica. Deste modo, os resultados obtidos neste estudo representam uma clara oportunidade para gerar benefícios econômicos e estimular a competitividade da indústria farmacêutica nacional, a partir da prospecção de novos agentes bioativos aplicados ao controle de doenças de importância para a saúde pública.

Palavras-chave: Prospecção fitoquímica. Toxicidade. *Scleronema micranthum*. Antioxidante. Antimicrobiana.

Abstract

Medicinal plants are used since ancient times to treat various diseases and have subsidized pharmaceutical research in the discovery of new biologically active agents. In this context, we evaluated the phytochemical prospection, the cytotoxicity, antimicrobial and antioxidant activities of the ethanolic extract obtained from

the leaves of the species *Scleronema micranthum* Ducke (Bombacaceae), popularly known as "cedrinho". The results achieved in this phytochemical prospection suggest the presence of leucoanthocyanidins, flavonoids, saponins and phenols, as metabolic components. The moderate cytotoxic and antioxidant activities of the crude extract can arouse the interest of pharmaceutical companies in search of new antitumor and anti-inflammatory agents derived from the Amazon Rainforest. We hope the results obtained in this study indicates a clear opportunity of generating economic benefits and boosting the competitiveness of the national pharmaceutical industry, prospecting new bioactive agents to control diseases of public health importance.

Keywords: Phytochemical prospection. Toxicity. Scleronema micranthum. Antioxidant. Antimicrobial.

Introdução

Os primeiros registros sobre a utilização de plantas medicinais foram descritos no manuscrito Egípcio "Ebers Papirus", de 1.500 a.C., que continham informações acerca de 811 prescrições e 700 drogas. Na China, 500 a.C., plantas como o Gingeng (*Panax ssp.*) já eram utilizadas com finalidades terapêuticas (DUARTE, 2006).

A Química Medicinal tem contribuído de forma irrefutável para o desenvolvimento em ciência e tecnologia voltada à bioprospecção de princípios ativos naturais. Ademais, a biodiversidade da Floresta Amazônica representa um patrimônio químico pouco explorado, com potencial de contribuir com o desenvolvimento e bem-estar da humanidade, ao gerar benefícios econômicos que tem sido cada vez mais valorizado pelos meios acadêmico e industrial (FERRO, BONACELLI e ASSAD, 2006).

Os produtos de origem natural têm demonstrado seu enorme potencial como fontes de compostos bioativos com atividades anti-inflamatória, antinociceptiva e antiespasmódica antimicrobiana (NASCIMENTO et al., 2008); cicatrizante antitumoral; (OLIVEIRA, ALMEIDA e SILVA FILHO, 1990) antidiabética e hiperlipidêmica, dentre outras (GALLETTO et al., 2004).

A família Bombacaceae, pertencente à ordem Malvales, é constituída de plantas arbóreas, distribuídas com frequência nas matas primárias de terra firme e várzea por todo o Estado do Amazonas e compreende cerca de 28 gêneros e 200 espécies, cuja importância econômica é atribuída a utilização da madeira na confecção de móveis, compensados decorativos, construção civil e naval (VANDERLÚCIA e MARILUZI, 2006).

Os indivíduos da espécie *S. micranthum* são árvores emergentes que atingem até 35m de altura e 80cm de diâmetro, cujo estudo fitoquímico preliminar, recentemente realizado com resíduos da madeira, sugeriu a presença de diferentes metabólitos das classes taninos condensados, catequinas, flavonoides e chalconas (CUNHA e ABREU, 2014). Entre as suas atividades biológicas são atribuídas aos flavonoides e catequinas propriedades antitumoral, anti-inflamatória, antioxidante e antiviral (SIMÕES e SCHENKEL, 2002); e aos taninos, em função de sua adstringência, propriedades antidiarreica, antibacteriana e antifúngica (LÔBO et al., 2010).

Nas últimas décadas, o problema de resistência aos antibióticos, em função do seu uso irracional, passou a representar importância considerável no contexto da saúde pública mundial (TRABULSI e ALTERTHUM, 2008). O elevado custo atribuído a terapêutica anticâncer e a não disponibilização de tratamento adequado, tem consumido parcelas significantes de recursos destinados aos sistemas públicos de saúde. A demanda das empresas farmacêuticas por recursos naturais como fonte de modelos para fármacos tem-se justificado pelos altos investimentos em P&D (pesquisa e desenvolvimento), visto que, menos de 2% das plantas superiores foram analisadas para detecção de constituintes com atividades antimicrobiana e antineoplásica (COSTA-LOTUFO et al., 2009; PAVARINI, 2000). Simultaneamente, é notado também o crescimento mundial da demanda por medicamentos à base de plantas nos países desenvolvidos como alternativa mais saudável, ou menos danosa, de tratamento e nos países em desenvolvimento, como resultante do não acesso aos medicamentos farmoquímicos (BRASIL, 2007).

Diante deste cenário, o presente estudo, se propôs a determinar o perfil fitoquímico e avaliar as atividades citotóxica e antimicrobiana do extrato etanólico bruto das folhas da espécie *S. micranthum*, oriunda da exploração sustentável de madeiras da Floresta Amazônica, como fonte de novos agentes bioativos que possam vir a ser utilizados no tratamento de doenças de importância para a saúde pública e ambiental na população brasileira.

Materiais e Métodos

Material vegetal

As partes aéreas frescas foram coletadas durante o processo de poda de árvores sob a responsabilidade do engenheiro florestal da empresa Mil Madeireira Preciosa Ltda. (Precious Woods Amazon Ltda., Dr. Marcos Antônio Silva de Souza, localizada na rodovia AM 363, KM 1,5, Zona Rural, Itacoatiara-AM-Brasil. O material foi identificado por Tereza Bessa sob o número de identificação 06 e sua exsicata foi depositada no herbário 2051 da Universidade Estadual do Amazonas (UEA). O material foi seco em estufa de fluxo de ar contínuo a temperatura de 45– 48°C por 48 horas. Com o auxílio de um moinho de facas, o material foi triturado e armazenado. Os extratos foram obtidos a partir de uma extração à quente utilizando como solvente etanol. Em seguida, o solvente foi removido com auxílio de rotaevaporador e, posteriormente, submetido à secagem em dessecador e armazenado para análise.

Prospecção fitoquímica para caracterização dos constituintes fenólicos

O extrato seco das folhas de *S. micranthum* foi analisado utilizando-se os reagentes convencionais para detecção de grupos fenólicos específicos, tais como: reação de Shinoda (ácido clorídrico e magnésio), solução de cloreto férrico. O perfil químico foi obtido direcionando-se o protocolo para avaliar a presença de flavonoides, usando-se para isso reagentes reveladores como: cloreto férrico. Toda a prospecção fitoquímica foi realizada conforme descrito na literatura (MATOS, 2001). As análises das amostras foram realizadas no Laboratório de Preparo de Amostras e Análises – LPAA / ICET / UFAM.

Avaliação da Toxicidade

O ensaio de toxicidade frente ao microcrustáceo *Artemia Salina* Leach foi realizado conforme a metodologia descrita por Meyer e colaboradores (1982). O extrato foi testado em diferentes concentrações (0, 20, 40, 50, 60, 80, 100, 250, 500, 750 e 1000µg/mL), cada teste foi acompanhado de controle negativo (água salina e Tween 80 a 5%) e positivo com dicromato de potássio (60 e 120µg.mL⁻¹).

Para obtenção dos valores de dose letal (DL₅₀) foi utilizada a análise PROBIT, através do software BIOSTAT® 2009. Para comparação dos valores de DL₅₀ entre as espécies, foi utilizado o intervalo de confiança obtido pela análise PROBIT, 95% de confiança descrito por Finney (1971).

Atividade Antimicrobiana

Método de difusão em Ágar – técnica do disco.

A determinação da atividade antimicrobiana foi realizada pelo método de difusão em Ágar, frente às cepas de *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Escherichia coli* (ATCC 25922), utilizando discos contendo os extratos ESMD nas concentrações 100, 50 e 10 µg.mL⁻¹. Para o controle positivo, foi utilizado o antibiótico amicacina e o controle negativo (branco) foi feito apenas com o solvente DMSO (dimetilsulfóxido). A atividade antimicrobiana foi realizada conforme descrição original de Bauer e colaboradores (1966) e atualizações do National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS 1997, 2000, 2002).

Atividade Antioxidante

A atividade antioxidante foi realizada de acordo com Rufino e colaboradores (2007) e os resultados expressos em EC50, representando a concentração necessária de amostra para a absorção de DPPH em 50%. As amostras de extrato foram preparadas a partir de solução inicial de 60μM, variando a concentração de 10μM a 50μM, todas em triplicata. Utilizou-se álcool metílico como branco para calibrar o espectrofotômetro e para o controle utilizou-se a solução de álcool metílico, acetona e água

Resultados e Discussão

TABELA 2. Classes de metabólitos secundários do extrato etanólico bruto das folhas de S. micrantum.

Metabólicos secundários	S. micranthum (folhas)
Taninos	Negativo
Fenóis	Positivo
Catequinas	Negativo
Flavonóides	Positivo
Leucoantocianidinas	Positivo
Flavonas	Positivo
Saponinas	Positivo
Antocianidinas	Negativo
Chalcona	Negativo

O estudo fitoquímico preliminar da espécie *S. micranthum* sugeriu a presença de diferentes classes de metabólitos secundários, conforme (**TABELA 2**).

A realização do estudo fitoquímico preliminar fez-se necessário em função de se conhecer as possíveis classes de metabólicos de interesse farmacológico e/ou bioativos que podem ou não estar presentes no extrato e assim auxiliar qual o melhor método para sua extração e avaliação da atividade biológica.

Os testes fitoquímicos qualitativos foram baseados na observação visual das mudanças de cor ou a formação de precipitado após a adição dos reagentes específicos. Alguns constituintes químicos presentes nos extratos de plantas medicinais podem responder majoritariamente pela atividade biológica (BESSA et al., 2013).

Neste estudo, os constituintes do extrato etanólico bruto das folhas da espécie *S. micranhtum*, foram identificados qualitativamente, indicando metabólicos secundários, tais como, fenóis, leucoantocianidinas, flavonoides, flavona e saponinas (**TABELA 2**).

Os compostos fenólicos de plantas enquadram-se em diversas categorias, como fenóis simples, ácidos fenólicos (derivados de ácidos benzóico e cinâmico), cumarinas, flavonóides, estilbenos, taninos condensados e hidrolisáveis, lignanas e ligninas (SOUZA et al., 2007)

Dentre as diversas classes de substâncias antioxidantes de ocorrência natural, os compostos fenólicos têm recebido muita atenção nos últimos anos, sobretudo por inibirem a peroxidação lipídica e a lipooxigenase *in vitro* (SOUZA et al. 2007). Os flavonoides atuam como antioxidantes na inativação dos radicais livres, em ambos os compartimentos celulares lipofílico e hidrofílico. Os flavonoides mais investigados são: quercetina, a mirecitina, a rutina e a naringenina (DOSSIÊ, 2009).

A classe das leucoantocianidinas pertence à família dos polifenóis naturais pertencentes à classe dos bioflavonoides, cuja ação antioxidante hidrossolúvel chega a ser superior e a Vitamina E (FERNANDES et al., 2012).

Às saponinas são atribuídas propriedades detergentes e surfactantes, com funções de regulação do crescimento, defesa contra insetos e patógenos, revelando a importância desses compostos na adaptação e sobrevivência vegetal. No organismo humano destaca-se a ação antioxidante junto aos sais biliares e colesterol no tubo digestivo, impedindo sua absorção e a ação citotóxica frente a células tumorais (SIMÕES e SCHENKEL, 2002).

Na literatura não existem dados publicados a respeito da espécie para comparação, porém há um outro trabalho na mesma linha de pesquisa envolvendo esta espécie, onde trabalhou-se com o resíduo da madeira e, através do mesmo é possível fazer a comparação de resultados.

Ao correlacionar com o teste feito com o resíduo da espécie, pode-se observar algumas diferenças nos constituintes, no resíduo foram sugeridos metabólicos como: taninos condensados, catequinas, flavonoides e chalconas (CUNHA e ABREU, 2014).

A diferença entre os resultados pode estar associada a fonte do material, o resíduo fica ainda algum tempo exposto a alguns agentes do intemperismo e, também, por ficar junto a resíduos de outras espécies, o que pode ocasionar um contato entre as mesmas e, por ventura pode ocorrer uma mistura do material. Podendo, assim, perder ou mesmo absorver algum componente metabólico. Intemperismo é o termo geral usado para definir a lenta degradação de materiais, quando expostos a agentes como sol ou chuva (CATTO, ALMEIDA e SANTANA, 2014). Os diferentes metabólitos secundários compõem substâncias que possuem estruturas químicas e propriedades biológicas diversas, que desempenham um papel importante na adaptação das plantas quanto ao ambiente, defesa contra microrganismos e parasitas, proteção da radiação solar e proteção contra herbívoros. Também representam uma fonte de substâncias

farmacologicamente ativas empregadas como medicamentos, cosméticos, matéria-prima para a química fina ou, ainda, como nutracêuticos (LEITE et al., 2010; ROCHA et al., 2011; GRANATO et al., 2013).

Avaliação da Toxicidade

O ensaio de letalidade utilizando cistos de *A. salina* é um método simples, rápido e de baixo custo para o biomonitoramento de extratos de plantas, considerado uma ferramenta útil para avaliação preliminar no estudo de substâncias com potencial atividade biológica (MEYER et al., 1982; SIQUEIRA et al., 1998).

Após a eclosão dos náuplios, foram transferidas cerca de 10 larvas de *A. salina* para tubos de ensaio contendo solução salina e o extrato a ser testado em diferentes concentrações. Após 24 horas de contato com a solução contou-se os náuplios mortos. A determinação da toxicidade foi realizada por meio do percentual de mortalidade das larvas e corrigida através da Fórmula de ABBOTT (1925).

TABELA 3 – Valor de DL (50) de larvas de A. salina para espécie estudada.

Espécie	DL(50) (μg/mL)
S. micranthum	117,667

Existe uma relação entre o grau de toxicidade e a dose letal media (DL₅₀) apresentada por extratos brutos de plantas sobre larvas de *A. Salina* Leach. Deste modo, considera-se que quando são verificados valores acima de 1000µg/mL, estes, não são considerados tóxicos. Um extrato ou substância é considerada altamente tóxica quando a (DL₅₀) for menor que 80µg/mL, moderadamente tóxica, quando os valores são entre 80µg/mL e 250µg/mL e quando os valores forem acima de 250µg/mL a substância é considerada com baixa toxicidade ou não tóxica (MEYER et al., 1982; NGUTA et al., 2010).

Considerando o valor do intervalo de concentração para a toxicidade de um extrato, pode-se afirmar que o extrato etanólico bruto das folhas desta espécie é moderadamente tóxico, pois o valor da DL₅₀ corresponde a 117,667 µg/mL, sugerindo que a espécie *S. micranthum* pode tornar-se uma fonte de matéria-prima promissora e de interesse para indústrias químicas. Quanto menor for o valor da DL₅₀, frente a um organismo teste, maior é sua atividade tóxica, sugerindo potencial atividade antitumoral. Dados experimentais corroboram para que exista uma importante correlação entre a CL₅₀ e a dose efetiva media DE₅₀ obtida para linhagens tumorais (McLAUGHLIN, 1998).

Atividade Antimicrobiana

Atualmente, os resultados do teste de suscetibilidade de agentes antimicrobianos são interpretados comparando o valor do halo de inibição com os critérios publicados pelo CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute), que a cada ano atualiza suas edições. Desta maneira, as amostras bacterianas são categorizadas em sensíveis (S), resistentes (R) ou intermediárias (I) (CLSI, 2011).

Não existe um consenso sobre o nível de inibição aceitável para produtos naturais quando comparados com antibióticos padrões, tanto que, alguns autores consideram somente resultados similares aos de antibióticos, enquanto outros consideram com bom potencial até mesmo aqueles com níveis de inibições superiores (ALIGIANIS et al., 2001).

O resultado da atividade antimicrobiana da espécie S. *micranthum* em estudo pelo método de difusão de disco de papel frente à S. *aureus*, E. *coli e P. aurigenosa* não apresentou halo de inibição em nenhuma das concentrações testadas, o que implica dizer que o extrato vegetal etanólico das folhas desta espécie não apresenta atividade antibacteriana frente aos três organismos testados.

Tal resultado pode ser explicado porque a membrana externa das bactérias Gram negativas apresenta-se como uma barreira a penetração de numerosas moléculas de antibióticos, e, além disso, o espaço periplasmático contém enzimas capazes de quebrar moléculas estranhas (SARTORI, 2005; TORTORA, FUNKE e CASE, 2005).

Extratos vegetais que apresentam atividade antimicrobiana em concentrações acima de 500mg/mL possuem fraca atividade, sendo de difícil aproveitamento farmacêutico no tratamento de infecções bacterianas ou fúngicas (HOLETZ et al., 2002).

Alguns estudos apontam que a presença de metabólicos como taninos e fenóis em extratos etanólicos levam à expectativa de atividade antibacteriana. Porém, apesar da presença de fenóis, a espécie não apresentou atividade antibacteriana, a explicação para isto pode ser a baixa concentração de fenóis no extrato (VELURI et al., 2004).

Atividade Antioxidante

Vários métodos são utilizados para determinar a atividade antioxidante em extratos e substâncias isoladas; um dos mais usados consiste em avaliar a atividade sequestradora do radical livre 2,2- difenil-1-picril-hidrazila - DPPH•, de coloração púrpura que absorve a 515nm. Por ação de um antioxidante (AH) ou uma espécie radicalar (R•), o DPPH é reduzido formando difenil-picril-hidrazina, de coloração amarela, com consequente desaparecimento da absorção, podendo a mesma ser monitorada pelo decréscimo da absorbância. A partir dos resultados obtidos determina-se a porcentagem de atividade antioxidante ou sequestradora de radicais livres e/ou a porcentagem de DPPH remanescente no meio reacional (PAREJO et al., 2003).

A porcentagem de atividade antioxidante (%AA) corresponde à quantidade de DDPH consumida pelo antioxidante, sendo que a quantidade de antioxidante necessária para decrescer a concentração inicial de DPPH em 50% é denominada concentração eficiente (CE50), também chamada de concentração inibitória (CI50). Quanto maior o consumo de DPPH por uma amostra, menor será a sua CE50 e maior a sua atividade antioxidante (El KARAKAYA, 2004; QIAN e NIHORIMBERE, 2004).

Segundo a literatura, plantas que possuem composto como fenóis e flavonoides possuem atividade antioxidante. O extrato etanólico bruto das folhas de *S. micranthum* apresenta tais composto, o que nos trouxe expectativa de atividade antioxidante para este extrato.

A (**FIGURA 1**) mostra o comportamento da amostra em relação ao comprimento de onda específico e as concentrações de DPPH utilizadas no teste. Também é possível observar a curva padrão utilizada nas concentrações testadas das amostras. O gráfico é obtido através do programa Excel, onde plota-se os resultados das absorbâncias em tabelas e posteriormente calcula-se o valor de R².

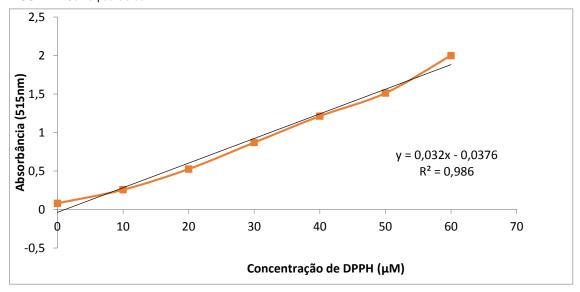


FIGURA 1: Curva padrão do DPPH

A amostra apresentou capacidade de consumo de DPPH supondo preliminarmente a atividade antioxidante para o extrato testado. Pela curva padrão foi possível notar que as absorbâncias das soluções de referência encontram-se dentro do esperado, em proporcionalidade com as concentrações. Através do gráfico, se obteve a seguinte equação da reta: y = 0.032x - 0.0376 que permitiu encontrar a concentração efetiva (EC50), necessária para decrescer a concentração inicial de DPPH em 50% e $R^2 = 0.986$ representa a linearidade da reta. O R^2 , mostra que a reta teve uma linearidade de aproximadamente 98%. As distorções observadas podem ter sido ocasionadas por erros do operador ou do equipamento.

Como grande parte da população ainda desconhece a importância das plantas medicinais, muitos estudos têm sido realizados para esclarecer o papel dos radicais livres em processos fisiopatológicos como envelhecimento, câncer, aterosclerose e, principalmente, inflamação.

A busca por novos fármacos tem motivado vários estudos relacionados à biodiversidade vegetal brasileira, pesquisas com plantas medicinais têm sido incansavelmente realizadas em busca de compostos com elevada atividade antioxidante que inibem os radicais livres, os metabólitos secundários quando comparados com os antioxidantes sintéticos possuem baixa toxicidade e estão sendo investigados cada vez mais (FRANÇA et al., 2012).

Conclusão

Os ensaios para a determinação do perfil fitoquímico mostraram que a espécie possui alguns metabólitos secundários tais como: fenóis, leucoantocianidinas, flavonoides (flavona) e saponinas. Não foram detectadas outras subclasses de flavonoides nesta espécie.

Através dos testes realizados com a espécie *S. micranthum* foi possível observar que a mesma apresenta atividade tóxica moderada frente à *Artemia Salina* Leach. Estes não são estudos conclusivos mas preliminares, logo, os resultados aqui obtidos sugerem ou estimulam a continuidade dos estudos e ensaios de citotoxidade em linhagens de células tumorais específicas.

A atividade antibacteriana não foi identificada neste estudo, pois a espécie não apresentou halo de inibição, isso pode ser atribuído à baixa concentração dos metabólitos caracterizados na mesma.

A atividade antioxidante foi positiva, o que reforça a necessidade de métodos específicos para a extração e o isolamento dos metabólitos secundários presentes, e assim determinar aqueles responsáveis pela atividade antioxidante e suas concentrações.

Estes resultados são apenas uma prévia para os extratos obtidos desta espécie, sendo necessária a continuidade da sua avaliação química e biológica. Na literatura, as informações sobre a mesma ainda são poucas, o que justifica a continuidade dos estudos para confirmação dos resultados obtidos nesta pesquisa.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Universidade Federal do Amazonas (UFAM, Instituto de Ciências Exatas – ICET), ao Laboratório de Preparo de Amostras e Análises (LPAA – ICET), a Precious Woods Amazon/Itacoatiara e à Fundação de Amparo à Pesquisas do Amazonas – FAPEAM.

Referências

ABBOTT, W. S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. Oxford Academic. *Journal of Economic Entomology*, v.18, p.265-266. Oxford.1925. ISSN 0022.0493. [CrossRef] Disponível em: [Link].

ALIGIANIS, N.; KALPOUTZAKIS, E.; MITAKU, S.; CHINOU, J. B. Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oils of Two Origanum Species. ACS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.49, n.9, p.4167-4168, USA. 2001. ISSN 1520-5118. [CrossRef].

BAUER, A. W.; KIRBY, W. M. M.; SHERRIS, J. C.; T URCK, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. Oxford Academic. *American Journal of Clinical Pathology*, v.45, p.493-496, Oxford. 1966. ISSN 1943-7722. [PubMed]

BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: antioxidante activity, occurrence, and potential uses. Elsevier. *Food Chemistry*, v. 99, n. 1, p. 191-203, USA. 2006. ISSN 0308-8146. [CrossRef].

BESSA, N. G. F. de.; BORGES, J. C. M.; BESERRA, F. P.; CARVALHO, R. H. A.; PEREIRA, M, A. B.; FAGUNDES, R.; CAMPOS, S. L.; RIBEIRO, L. U.; QUIRINO, M. S.; CHAGAS JUNIOR, A. F.; ALVES, A. Prospecção fitoquímica preliminar de plantas nativas do cerrado de uso popular medicinal pela comunidade rural do assentamento vale verde – Tocantins. SciElo. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*. v.15, n.4, supl.I, p.692-707, Campinas, 2013. [CrossRef]

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE ATENÇÃO À SAÚDE. Política nacional de promoção da saúde. Brasília: Ministério da Saúde; 51 p. 2007. Disponível em: [Link]. Acesso em: 25 junho 2015.

CATTO, A. L.: ALMEIDA, S. H; SANTANA, R. M. C. Efeitos do intemperismo natural na madeira plástica produzida a partir de resíduos poliméricos e lignocelulósicos. 4º Congresso Internacional de Tecnologias para o Meio Ambiente, Bento Gonçalves. 2014.

COSTA-LOTUFO, L. V.; WILKE, D. V.; JIMENEZ, P. C.; EPIFANIO, R. de A. Organismos marinhos como fonte de novos fármacos: histórico & perspectivas. SBQ. *Química Nova.* v.32, n.3, p.703-716. São Paulo. 2009. ISSN 0100-4042. [CrossRef].

CLSI. 2011. publication M100-S21 Suggested Grouping of US-FDA Approved 614 Antimicrobial Agents That Should Be Considered for Routine Testing and 615 Reporting on Nonfastidious Organisms by Clinical Laboratories.

CUNHA, M. R.; ABREU, A. da S. Avaliação da atividade biológica dos extratos de resíduos de madeira das espécies: Scleronema micranthum da família Bombacaceae, Caryocar villosum da família Caryocaraceae, Aspidosperma desmanthum da família Apocynaceae. Trabalho apresentado em evento do Programa Institucional de Iniciação Científica – PIBIC, UFAM, Manaus, 2014.

DOSSIÊ ANTIOXIDANTE. Revista – fi.com. Food ingredients Brasil, nº 6, 2009.lk

DUARTE, M. C. T. Atividade antimicrobiana de plantas medicinais e aromáticas utilizadas no Brasil. *Revista MultiCiência*, v.7, n.1. Campinas, 2006. ISSN 1806-2946. [Link].

EL KARAKAYA, S. N. Radical scavenging and iron-chelating activities of some greens used as traditional dishes in Mediterranean diet.Taylor&Francis. *International Journal of Food Science Nutrition*, v. 55, n. 1, p. 67-74, USA. 2004. ISSN 1465-3478. [CrossRef].

FERNANDES, P. R. D; SILVA, R. C; MORAIS, A. R, BIZERRA, A. M. C. *Ensaios fitoquímicos em extratos de Aspidosperma pyrifolium.* IX CONGIN (Congresso de iniciação científica do IFRG, 2012.

FERRO, A. F. P.; BONACELLI, M. B. M; ASSAD, A. L. D. Oportunidades tecnológicas e estratégias concorrenciais de gestão ambiental: o uso sustentável da biodiversidade brasileira. SciElo. *Gestão & Produção*. v. 13, n. 3, p. 489-5001, São Carlos. 2006. ISSN 1806-9649. [CrossRef].

FRANÇA, T. L. E.; QUEIROZ, T. M.; ARAÚJO, A. R. S.; MACÊDO, A. A. M. Atividade antioxidante pelo método DPPH de extrato vegetal da casca da aroeira (Myracrodruon urundeuva Fr. All.). Trabalho apresentado no Congresso Norte e Nordeste de Pesquisa e Inovação – VII CONNEPI 2012. ISBN 978-85-62830-10-5.

GALLETTO, R.; SIQUEIRA, V. L. D.; FERREIRA, E. B.; OLIVEIRA, A. J. B.; BAZOTTE, R. B. Absence of antidiabetic and hypolipidemic effect of Gymnema sylvestre in both non-diabetic and alloxan-diabetic rats. SciElo. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v.47, p. 545-551, Curitiba. 2004. ISSN 1678-4324. [CrossRef]

GRANATO, E. M.; GRANATO, M. M.; GERENUTTI, M.; SILVA, M. G.; FERRAZ, H. O.; VILA, M. M. D.C. Prospecção fitoquimica da espécie vegetal *Trixis antimenorrhoea* (Schrank) Kuntze. ABF. *Revista Brasileira de Farmácia*. v.94, n.2, p. 130-135, 2013. ISSN 2176-0667. [Link].

HOLETZ, F. B.; PESSINI, G. L.; SANCHES, N. R.; CORTEZ, D. A. Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. Fiocruz. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz.* v.97, n.7, p.1027-31. Rio de Janeiro. 2002. ISSN 1678-8060. [CrossRef].

LEITE, A. C.; PLACERES NETO, A.; AMBROZIN, A. R. P.; FERNANDES, J. B.; VIEIRA, P. C.; SILVA, M. F. G. F.; ALBUQUERQUE, S. Trypanocidal activity of flavonoids and limonoids isolated from *Myrsinaceae* and *Meliaceae* active plant extracts. SciElo. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. v.20, n.1, p. 01-06, Curitiba. 2010. ISSN 0102-695X. [CrossRef]

LÔBO, K. M. S.; ATAHAYDE, A. C. R.; SILVA, A. M. A.; RODRIGUES, F. F. G.; LÔBO, I. S.; BEZERRA, D. A. C.; COSTA, J. G. M. Avaliação da atividade antibacteriana e prospecção fitoquímica de *Solanum paniculatum* Lam. e *Operculina hamiltonii* (G.Don) D. F. Austin & Staples, do semi-árido paraibano. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*. v.12, n.2, p.227-235. Botucatu. 2010. ISSN 1516-0572. [CrossRef].

MATOS, F. J. Introdução à fitoquímica experimental. 2ª ed. UFC,128p. Fortaleza, 2001.

McLAUGHLIN, J. L. The Use of Biological Assays to Evaluate Botanicals. SAGE. *Drug Information Journal.* v.32, p. 513-524. USA. 1998. ISSN 2168-4804. [CrossRef].

MEYER, B. N. FERRGNI, N. R.; PUTNAM, J. E.; JACOBSEN, L. B.; NICHOLS, D. E.; MCLAUGHLIN, J. L. Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. Thieme. *Planta Médica*. v.45, n.1, p.31-34, 1982. ISSN 0032-0943. [CrossRef] [PubMed]

NASCIMENTO, J. E.; MELO, A. F. M.; LIMA E SILVA, T. C.; VERAS FILHO, J.; SANTOS, E. M., ALBUQUERQUE, U. P.; AMORIM, E. L. C.; Estudo fitoquímico e bioensaio toxicológico frente a larva de Artemia salina Leach. de três espécies medicinais do gênero Phyllanthus (Phyllanthaceae). UNESP. Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada. v. 29, n.2, p. 145-150, São Paulo. 2008. ISSN 1808-4532.

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. *Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically*. 3^a ed. v.24, p.114-121. USA. 1997. (Approved standard M7-A4, PA).

NCCLS. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard-Eighth Edition. NCCLS document M2-A8 [ISBN 1-56238-485-6]. NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2000.

NCCLS (CLSI) – Clinical Laboratory Standards Institute. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Filamentos Fungi: Approved Standard – M38-A. v.22, n.16. 2002.

NGUTA, J. M., M, BARIAA J. M., GAKUYAB D. W., GATHUMBIC P. K., KABASAD J. D., Kiama S.G. Biological screenig of kenya medicinal plant using *Artemia salina* L. (Artemiidae). Elsevier. *Pharmacology*, [s.1], v. 2, [s.n] p. 458-78, USA. 2010. [CrossRef]

OLIVEIRA, A. B.; ALMEIDA, E. R.; SILVA FILHO, A. A. Estrutura química e atividade biológica de naftoquinonas de Bigniaceas brasileiras. SBQ. *Química Nova*, v.13 n.4, p.302-307, São Paulo. 1990. ISSN 1678-7064. [Link]

PAVARINI, M. de F. *Prospecção da diversidade biológica: perspectivas para o caso brasileiro.* Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação Planejamento Energético e Ambiental, COPPE/UFRJ, VII, 88 p. 29,7 cm, Rio de Janeiro. 2000.

PAREJO, I.; VILADOMAT, F.; BASTIDA, J.; ROSAS-ROMERO, A.; SAAVEDRA, G.; MURCIA, M. A.; JIMÉNEZ, M. A.; CORDINA, C. Investigation of Bolivia plant extracts for their radical scavening activityand antioxidante activity. Elsevier. *Life Sciences* v.73, p. 1667-1681. USA. 2003. ISSN: 0024-3205. [CrossRef] [PubMed]

FINNEY, D. J. Probit Analisys, 3rd ed. CAMBRIDGE UNIVERSITY PRESS, Elsevier. *Journal Pharmaceutical Science*, v. 60, p.1281-1432. New York. 1971. ISSN 1520.6017. [CrossRef]

QIAN, H.; NIHORIMBERE, V. Antioxidant power of phytochemicals from Psidium guajava leaf. *Journal of Zhejiang University Science*, v. 5, n. 6, p. 676-683, China. 2004. [CrossRef]

ROCHA, W. S.; LOPES, R. M.; SILVA, D. B.; VIEIRA, R. F.; SILVA, J. P.; AGOSTINI-COSTA, T. S. Compostos fenólicos totais e taninos condensados em frutas nativas do cerrado. SciElo. *Revista Brasileira de Fruticultura*. v.33 n.4, p. 1215-1221, Jaboticabal. 2011. [CrossRef]

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; JIMENEZ J. P.; CALIXTO, F. D. S. Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. *Comunicado Técnico Embrapa*, v.127, p. 1-4, 2007. [Link]

SARTORI, M. R. K. Atividade antimicrobiana de fração de compostos puros obtidos das flores da Acmela brasiliensis Spreng (Wedelia paludosa) (Asteraceae). 81p. Dissertação de Mestrado apresentada no Programa de Mestrado Acadêmico da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNIVALI, Itajaí. 2005.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P. A pesquisa e a produção brasileira de medicamentos a partir de plantas medicinais: a necessária interação da indústria com a academia. SciElo. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.12, n.1, p.35-40, 2002. Disponível em: [Link]. Acesso, em 30 Mar. Maringá. 2015. ISSN 0102-695X. [CrossRef].

SIQUEIRA, J. M.; BOMM, M. D.; PEREIRA, N. F. G.; GARCEZ, W. S.; BOAVENTURA, M. A. D. Estudo Fitoquímico de Unonopsis lindmanii – Annonaceae, biomonitorado pelo ensaio de toxicidade sobre a Artemia salina Leach. SBQ. SBQ. *Química Nova*, v.21. São Paulo. 1998. ISSN 1678-7064. [CrossRef]

SOUSA, C. M.de M; SILVA, H. R.; VIEIRA-JR., G. M.; AYRES, M. C. C.; COSTA, C. L. S.; ARAÚJO, D. S.; CAVALCANTE, L. C. D.; BARROS, E. D. S.; ARAÚJO, P. B.; BRANDÃO, M. S.; CHAVES, M. H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. SBQ. *Química Nova*, v. 30, n. 2, p. 351-355. São Paulo, 2007. Disponível em: [Link]. Acesso em, 30 Jun. 2015. ISSN 1678-7064. [CrossRef]

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. Artmed. *Microbiologia*. 8^a ed. 894p. Porto Alegre. 2005. ISSN 9788582713532.

TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. Atheneu. *Microbiologia*. 5ª ed. 780p. Rio de Janeiro, 2008. ISBN 9788573799811.

VANDERLÚCIA, F. P.; MARILUZI, P. C. CONSTITUINTES QUÍMICOS DE *Bombacopsis glabra* (BOMBACACEAE). SBQ. Química Nova, MG, v. n.2, p.213-215, São Paulo. 2006. ISSN 1678-7064. [CrossRef]

VELURI, R.; WEIR, T. L.; BAIS, H. P.; STERMITZ, F. R.; VIVANCO, J. M. Phytotoxic and antimicrobial activities of catechin derivatives. ACS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. v. 52, p.1077-82. USA. 2004. ISSN 1520-5118. [CrossRef] [PubMed]

Conflito de interesses: O presente artigo não apresenta conflitos de interesse.

Histórico do artigo: Submissão: 29/07/2016 | Aceite: 18/02/2017 | Publicação: 23/052/2017

Como citar este artigo: MARQUES, Tatiana S.; PEREIRA, Daniel T. M.; ABREU, Alcicley S.; SOUZA, Marcos A. S. de. Determinação do perfil fitoquímico e avaliação das atividades biológicas de extrato da espécie *Scleronema micranthum* da família Bombacaceae. *Revista Fitos.* v.10, n.4. p. 433-445. Rio de Janeiro. 2016. e-ISSN 2446.4775. Disponível em: http://revistafitos.far.fiocruz.br/index.php/revistafitos/article/view/361>. Acesso em: 11 maio 2017.

Licença CC BY 4.0: Você está livre para copiar e redistribuir o material em qualquer meio; adaptar, transformar e construir sobre este material para qualquer finalidade, mesmo comercialmente, desde que respeitado o seguinte termo: dar crédito apropriado e indicar se alterações foram feitas. Você não pode atribuir termos legais ou medidas tecnológicas que restrinjam outros autores de realizar aquilo que esta licença permite.