

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO PIAUÍ

**CENTRO DE CIÊNCIAS DA NATUREZA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**PERFIL FITOQUÍMICO, ATIVIDADES
ANTIMICROBIANA E ANTIOXIDANTE E ANÁLISE
TOXICOLÓGICA *in silico* DE EXTRATOS
ETANÓLICOS DE RASURAS DE *Matricaria recutita* L.**

NATASHA ALVES ROCHA

ORIENTADORA: PROFA. DRA. VALDILÉIA TEIXEIRA UCHÔA

Co-ORIENTADORA: PROFA. DRA. BENEILDE CABRAL MORAES

Teresina – PI
2023

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO PIAUÍ

**CENTRO DE CIÊNCIAS DA NATUREZA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**PERFIL FITOQUÍMICO, ATIVIDADES
ANTIMICROBIANA E ANTIOXIDANTE E ANÁLISE
TOXICOLÓGICA *in silico* DE EXTRATOS
ETANÓLICOS DE RASURAS DE *Matricaria recutita* L.**

NATASHA ALVES ROCHA

Dissertação/Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Estadual do Piauí, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Química – Área de concentração: Bioprospecção fitoquímica.

Orientadora: Profa. Dra. Valdiléia Teixeira Uchôa.

Teresina – PI

2023

Perfil fitoquímico, atividades antimicrobiana e antioxidante e análise toxicológica *in silico* de extratos etanólicos de rasuras de *Matricaria recutita* L..

NATASHA ALVES ROCHA

Dissertação/Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Estadual do Piauí, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre/Doutor em Química – Área de concentração: XXXXX

Aprovado em 29 de maio de 2023.

Membros da Banca:

Profa. Dra. Valdiléia Teixeira Uchôa
(Presidente da Banca/orientadora – UESPI)

Prof. Dra. Beneilde Cabral de Moraes
(Coorientadora – UESPI)

Profa. Dra. Francielle Alline Martins
(Membro Titular – UESPI)

Prof. Dr. João Sammy Nery De Souza
(Membro Titular – UFPI)

Prof. Dra. Rosa Virginia Soares Mamede
(Membro Suplente – UESPI)

Teresina – PI

2023

Dedicatória

Este trabalho é dedicado aos meus pais, Rosenira Alves (in memoriam) e Edmundo Rocha, que sempre incentivaram suas filhas a voarem e serem as melhores versões de si mesmas.

AGRADECIMENTOS

- ❖ Agradeço a Deus por me proporcionar a realização de mais uma conquista profissional, sempre guiando e vigiando meus passos.
- ❖ Agradeço a Universidade Estadual do Piauí, que durante sete anos vem sendo meu segundo lar.
- ❖ Agradeço as parcerias firmadas com a UFPI (Departamento de parasitologia e química), UFAL e IFAL, para a execução do trabalho e por todo conhecimento adquirido com os referidos colaboradores. Além de agradecer a CAPES, pela bolsa de pesquisa concedida durante o curso de mestrado.
- ❖ Agradeço aos meus pais, Rosenira Alves e Edmundo Rocha, por serem meus exemplos, por sempre iluminarem meus passos e abrirem portas na minha vida. Por sempre fazerem o impossível para me proporcionar a melhor educação, as melhores oportunidades e sempre me incentivarem a alçar voos maiores.
- ❖ Agradeço a minha irmã Camila Rocha, por sempre acreditar mais no meu potencial do que eu mesma, sempre apoiando meus sonhos e me fazendo enxergar o quão grande eu sou, sempre dizendo o quanto se orgulha e se inspira em mim.
- ❖ Agradeço a minha irmã de alma, Maria Rita Fernandes, por ter se tornado minha família fora de casa, por sonhar meus sonhos, abraçar minhas grandes ideias, me apoiar quando necessário e fazer valer a frase que a nossa família não é apenas a de sangue.
- ❖ Agradeço a minha amiga Maria Karina da Silva, pela linda amizade construída ao longo da graduação e do mestrado, sempre compartilhando dos mesmos sonhos e tornando, além da vida, a rotina de trabalho e pesquisa mais leve e mais amorosa.
- ❖ Agradeço a minha orientadora, Profa. Dra. Valdiléia Teixeira Uchôa, por todo ensinamento repassado ao longo dos anos de orientação e por todas as oportunidades a mim ofertadas.
- ❖ Agradeço a minha tia Rosirene e minha avozinha Rosa, por sempre vibrarem e apoiarem meus sonhos e meus estudos.
- ❖ Por fim, agradeço a todos os meus amigos, colegas e professores, que foram imprescindíveis em cada etapa do meu processo de mestrado.

Epígrafe

*“O fardo é proporcional às forças, como a recompensa
será proporcional à resignação e à coragem”.*

(Allan Kardec)

RESUMO

Rocha, N. A. **Perfil fitoquímico, atividades antimicrobiana e antioxidante e análise toxicológica *in silico* de extratos etanólicos de rasuras de *Matricaria recutita* L.** 2023. 78 p. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Estadual do Piauí. Teresina.

Matricaria recutita L. é uma planta medicinal amplamente utilizada devido às suas atividades farmacológicas, decorrentes da presença abundante de compostos bioativos, principalmente compostos fenólicos, que conferem à planta propriedades ansiolíticas, antimicrobianas, anti-inflamatórias, entre outras. Deste modo, o presente estudo teve como objetivo realizar o perfil fitoquímico de extratos etanólicos de rasura comerciais da planta medicinal *M. recutita*, determinar a Concentração Inibitória Mínima de microrganismos, avaliar o potencial antioxidante e a atividade tóxica dos compostos identificados nos extratos etanólicos. O perfil fitoquímico dos extratos etanólicos de rasura comerciais de *M. recutita* foi obtido por meio da prospecção fitoquímica preliminar e da identificação e quantificação via UPLC-DAD-UV. A inibição microbiana foi realizada pela técnica de microdiluição seriada. A atividade antioxidante foi obtida usando o método de sequestro do radical DPPH. A atividade toxicológica foi obtida por predição ADMET. Dentre os principais compostos bioativos identificados nos extratos etanólicos, observou-se que apigenina e quer cetina são os compostos majoritários, no extrato F com 23,47 µg/mL de quer cetina e no extrato D com 24,30 µg/mL de apigenina, corroborando com a inibição da atividade dos microrganismos observada para os extratos etanólicos da planta, que obteve a CIM de $6,25 \times 10^3$ µg/mL. Todos os extratos apresentaram potencial antioxidante, destacando-se a amostra H com maior potencial ($IC_{50} = 34,78$). Por fim, pode-se prever através do Pré-ADMET que apenas os compostos bioativos quer cetina e vitexina não apresentaram perfil mutagênico. Todas as amostras apresentaram qualidade e segurança com potencial efeito profilático na saúde humana, sendo indicadas para futuros testes complementares *in silico* para uma avaliação terapêutica mais detalhada para aplicação de testes subsequentes *in vivo*.

Palavras-chave: *Matricaria recutita* L.; CLUE; ADMET; Apigenina; Microrganismos.

ABSTRACT

Rocha, N. A. **Phytochemical profile, antimicrobial and antioxidant activities and *in silico* toxicological analysis of ethanolic extracts from *Matricaria recutita* L.** 2023. 78 p. Dissertation (Master's in Chemistry) – State University of Piauí. Teresina.

Matricaria recutita L. is a widely used medicinal plant due to its pharmacological activities, resulting from the abundant presence of bioactives, mainly phenolic compounds, which confer anxiolytic, antimicrobial, anti-inflammatory properties to the plant, among others. Therefore, the present study aimed to carry out the phytochemical profile of ethanol extracts from commercial erasures of the medicinal plant *M. recutita*, determine the minimum inhibitory concentration of microorganisms, evaluate the antioxidant potential and toxic activity of the compounds identified in the extracts. For this purpose, the phytochemical profile of the Extrato etanólico of commercial erasures of *M. recutita* was carried out through preliminary phytochemical prospecting and identification and quantification via UPLC-DAD-UV. Microbial inhibition was performed using the serial microdilution technique. Antioxidant activity was obtained using the DPPH radical scavenging technique. Toxicological activity was obtained by the ADMET method. Among the main bioactive compounds identified in ethanolic extracts, it was observed that apigenin and quercetin are the major compounds, in extract F with 23.47 µg/mL of quercetin and in extract D with 24.30 µg/mL of apigenin, corroborating with the inhibition of the activity of the microorganisms observed for the ethanolic extracts of the plant, which obtained the MIC of 6.25×10^3 µg/mL. All extracts showed antioxidant potential, highlighting sample H with the highest potential ($IC_{50} = 34.78$). Finally, it can be predicted through Pre-ADMET that only the bioactive compounds quercetin and vitexin did not show a mutagenic profile. All samples showed quality and safety with a potential prophylactic effect on human health, being indicated for future complementary tests *in silico* for a more detailed therapeutic evaluation for the application of subsequent tests *in vivo*.

Keywords: *Matricaria recutita* L.; UPLC; ADMET; Apigenin; Microorganisms.

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1. Estrutura molecular do sesquiterpeno α -bisabolol.....	21
Figura 2.2. Processo de isolamento e quantificação de compostos bioativos por meio da técnica de Cromatografia Líquida De Alta Eficiência.	23
Figura 2.3. a) Apigenina. b) Apigenina-7-O-glucosídeo.....	25
Figura 2.4. Estrutura básica do bioativo flavonoide.	27
Figura 2.5. Mecanismo de redução do DPPH.	27
Figura 3.1. Concentração de extrato utilizada em cada poço.....	38
Figura 4.1. Cromatogramas obtidos para os extratos etanólicos de rasuras de <i>M. recutita</i> por meio da técnica de CLUE-UV-DAD em comprimento de onda igual a 289nm.....	46
Figura 4.2. Compostos bioativos identificados por CLUP. 1: vitexina 2: catequina 3: quercetrina 4: luteolina 5: amentoflavona 6: apigenina 7: crisina 8: acacetina 9: pinocembrina.....	52

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1. Principais classes de compostos com atividade antimicrobiana	29
Tabela 2.2. Principais proteínas e enzimas submetidas a avaliação de toxicidade ..	33
Tabela 3.1. Comprimento de onda dos padrões analíticos analisados.....	37
Tabela 4.1. Análise de rotulagem para as amostras de A à I de <i>M. recutita</i> seguindo as normativas da RDC nº 26/2014.	41
Tabela 4.2. Resultados da prospecção fitoquímica preliminar dos extratos etanólicos de <i>M. recutita</i>	43
Tabela 4.3. Concentração dos compostos bioativos identificados e quantificados nos extratos etanólicos de <i>M. recutita</i>	53
Tabela 4.4. Atividade bactericida dos extratos etanólicos de <i>M. recutita</i> frente a ação da resazurina.....	53
Tabela 4.5. Concentração inibitória (IC ₅₀) dos extratos etanólicos de <i>M. recutita</i>	55
Tabela 4.6. Predições ADMET	58

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

%AA – Percentual de atividade antioxidante.

+S9 – Célula com ativação metabólica

ADMET – Absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade.

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária.

BBB – Barreira Hematoencefálica

BHI – *Brain heart infusion*

Cl₅₀ – Concentração inibitória média

CIM – Concentração mínima inibitória.

CLAE – Cromatografia líquida de alta eficiência.

CLUE – Cromatografia líquida de ultra eficiência.

CYP – Citocromo P4500.

DAD – Arranjo diodo.

DL₅₀ – Dose letal média.

DPPH – 2,2-difenil-1-picrilhidrazil.

Ext – Extrasynthese.

HIA – Absorção intestinal humana.

HRSD – Escala de classificação de Hamilton para depressão.

OMS – Organização Mundial da Saúde.

P-gp – *P*-glicoproteína.

PPB – Barreira da proteína plasmática.

RAM – Reações adversas à medicamentos.

RDC – Resolução da diretoria colegiada.

RMN – Ressonância Magnética.

ROS – Espécie reativa a oxigênio.

-S9 – Célula sem ativação metabólica.

Sig – Sigma-Aldrich.

SNC – Sistema nervoso central.

UV – Ultravioleta.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO.....	13
1.1 Objetivos	14
1.1.1 Objetivo Geral	14
1.1.2 Objetivos específicos	14
CAPÍTULO 2 - REFERENCIAL TEÓRICO	16
2.1 Plantas medicinais: classificação e normativas brasileiras.....	16
2.2 Família Asteraceae e a espécie <i>Matricaria recutita</i> L.....	17
2.3 Perfil fitoquímico da <i>M. recutita</i>	19
2.3.1 Cromatografia Líquida De Alta Eficiência (CLAE)	22
2.4 Atividades biológicas da <i>M. recutita</i>	24
2.4.1 Atividade antioxidante	26
2.4.2 Atividade antimicrobiana	28
2.4.3 Avaliação da toxicidade por predição ADMET	30
CAPÍTULO 3 - METODOLOGIA EXPERIMENTAL.....	34
3.1 Seleção amostral.....	34
3.2 Análise de rótulo e folheto informativo	34
3.3 Preparo dos extratos etanólicos das amostras de <i>Matricaria recutita</i> L	34
3.4 Perfil fitoquímico dos extratos etanólicos de <i>M. recutita</i>	35
3.4.1 Prospecção Fitoquímica Preliminar	35
3.4.2 Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência dos extratos etanólicos das amostras de <i>M. recutita</i>	35
3.4.2.1 Identificação e calibração dos padrões analíticos	36
3.4.2.2 Identificação e quantificação dos flavonóides nos extratos etanólicos de rasuras de <i>M. recutita</i>	37
3.5 Avaliação da atividade antimicrobiana <i>in vitro</i> dos extratos etanólicos das rasuras de <i>M. recutita</i>	37
3.6 Avaliação do potencial antioxidante dos extratos etanólicos das amostras de <i>M. recutita</i> frente ao radical de DPPH	39
3.7 Predição ADMET.....	40
CAPÍTULO 4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	41

4.1 Análise de rótulo e folheto informativo	41
4.2 Pefil fitoquímicos dos extratos etanólicos das amostras de <i>M. recutita</i>	42
4.2.1 Prospecção fitoquímica preliminar dos extratos etanólicos das amostras de <i>M. recutita</i>	42
4.2.2 Identificação e quantificação dos flavonóides nos extratos etanólicos de rasuras de <i>M. recutita</i>	43
4.3 Avaliação da atividade antimicrobiana <i>in vitro</i> dos extratos etanólicos das amostras de <i>M. recutita</i>	53
4.4 Avaliação do potencial antioxidante dos extratos etanólicos das amostras de <i>M. recutita</i> frente ao radical de DPPH	55
4.5 Predição ADMET.....	56
CAPÍTULO 5 - CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	62

Capítulo 1

INTRODUÇÃO

O uso de plantas medicinais no tratamento de doenças corresponde a uma prática milenar transmitida por gerações com base no conhecimento popular transmitido pelos mais diversos povos e comunidades¹. A relação entre o homem e o uso de ervas medicinais foi estabelecida desde os primórdios da humanidade, onde aqueles que dedicavam seu tempo ao cultivo e compreensão da utilidade das plantas eram considerados intermediários divinos².

O método mais comum de consumo de plantas medicinais para fins terapêuticos é por meio de infusões preparadas a partir de partes aéreas, capítulos florais, cascas e raízes desses produtos³. Os chás medicinais são usados há séculos para tratar problemas de saúde, desde resfriados e dores de cabeça até doenças mais graves, como o câncer⁴.

Como consequência da constante evolução do conhecimento e dos métodos científicos, também evoluíram o modo de consumo, utilização e isolamento dos compostos bioativos que conferem às plantas as suas propriedades terapêuticas. Assim, hoje em dia é possível obter os benefícios dos Fitoterápicos Tradicionais através da ingestão de extratos secos e compostos bioativos isolados encapsulados, ou na forma de xaropes e tinturas, através da extração dos princípios ativos em meio a solventes orgânicos, como o etanol⁵.

Dentre as plantas medicinais mais consumidas no mundo, encontra-se a *Matricaria recutita* L., conhecida popularmente como camomila. Seu amplo uso se deve às atividades biológicas e farmacológicas associadas à planta, que resultam da presença majoritária de compostos fenólicos, como as flavonas apigenina e luteolina, os flavonóis queracetina e rutina e a flavanona naringenina, atribuindo *M. recutita* a efeitos ansiolíticos, anti-inflamatório, antimicrobiano e antioxidante⁶.

O consumo de plantas medicinais é considerado livre, portanto, tais produtos não necessitam de prescrição médica. No entanto, a camomila não está completamente livre de reações adversas e toxicidade. Diante disso, Gaião et al.⁷

(2017) analisaram a interferência do consumo do chá de camomila no desenvolvimento gestacional, onde mostraram que a ingestão da infusão da planta durante a gestação foi responsável por promover o nascimento de recém-nascidos com baixo peso e fora do tamanho ideal, embora não tenha demonstrado potencial abortivo. Devido às possíveis reações adversas, é necessário o exercício da fitovigilância de forma concisa afim de garantir a qualidade e segurança do consumo dos medicamentos tradicionais à base de plantas, especialmente as rasuras, que por sua vez correspondem as plantas embaladas sem a presença do consumidor final, constituídas por várias partes da planta, que são secas e seccionadas⁸.

Diante do exposto, o presente trabalho realizou o perfil fitoquímico dos extratos etanólicos de rasura comerciais de *M. recutita* de diferentes produtores disponíveis na cidade de Teresina-PI, bem como a determinação da Concentração Inibitória Mínima para a bactéria *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* e o fungo *Candida albicans*. Além disso, avaliou-se o potencial antioxidante por meio do sequestro de radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) e o perfil de absorção, distribuição metabolismo, excreção e toxicidade através da predição *in silico* dos extratos etanólicos.

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo Geral

Realizar um estudo do perfil fitoquímico e bioatividades de extratos etanólicos de rasura de *Matricaria recutita* L. de diferentes produtores disponibilizadas na cidade de Teresina-PI.

1.1.2 Objetivos específicos

- Identificar e quantificar os principais compostos fenólicos presentes nos extratos etanólicos;
- Determinar a Concentração Inibitória Mínima dos extratos frente as bactérias *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* e ao fungo *Candida albicans*;
- Avaliar o potencial o potencial antioxidante dos extratos etanólicos;

- Realizar a análise de absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade dos compostos bioativos identificados nos extratos etanólicos.

Capítulo 2

REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Plantas medicinais: classificação e normativas brasileiras

A utilização de plantas com fins profiláticos é uma prática milenar construída de maneira empírica por meio do senso comum e da sabedoria popular, sendo disseminada ao longo das gerações⁹. De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), cerca de três quartos da população mundial recorrem à medicina tradicional popular para atender às necessidades de saúde, considerando fatores financeiros, sociais e culturais¹⁰.

Com o desenvolvimento dos métodos farmacognósticos, as plantas medicinais passaram a ser consumidas de diversas maneiras, como em cápsulas produzidas por meio de extratos secos, em forma de xarope e tinturas por meio da extração dos princípios ativos em meio a solventes específicos, ou por meio da infusão das plantas *in natura* ou das rasura, que consistem na droga seca ou seccionada para preparo posterior ao tempo da colheita¹¹.

É importante ressaltar que a legislação brasileira estabelece uma diferença entre os tipos de formulações preparadas exclusivamente com matéria-prima ativas vegetais, e essas distinções correspondem ao modo de comprovação da segurança e da eficácia terapêutica do produto¹². A primeira classificação é dos medicamentos fitoterápicos, que para serem comercializados e consumidos, devem possuir a segurança e a eficácia baseadas em evidências clínicas caracterizadas pela constância de sua qualidade. Por sua vez, a segunda categoria corresponde aos Produtos Tradicionais Fitoterápicos, que possuem a segurança e efetividade baseadas em dados de uso seguro e efetivo publicados na literatura técnico-científica dispensando-se a vigilância de um médico para sua utilização e sem a necessidade de prescrição médica ou de monitorização¹³.

No Brasil, existem diversas resoluções específicas regulamentadas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) que garantem a segurança e a

eficácia dos fitoterápicos¹⁴. A Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 26 de 2014 da ANVISA determina os critérios que os produtos tradicionais fitoterápicos devem seguir para poder obter o registro e serem comercializados. Esses critérios são analisados por meio de um controle de qualidade, que consiste em um conjunto de operações e medições para assegurar a excelência dos produtos, compreendendo análises físico-químicas, perfil fitoquímico, análise microbiológica e comprovação da eficácia¹⁵.

2.2 Família Asteraceae e a espécie *Matricaria recutita* L.

A família Asteraceae, também conhecida como Compositae, é uma das maiores famílias botânicas que possuem flores, compreendendo cerca de 23.000 espécies distribuídas em mais de 1.600 gêneros¹⁶. A classe botânica é amplamente distribuída em todo o mundo, entretanto, como evidenciado por Santana et al.⁸ (2021), ao analisar a distribuição geográfica de sete famílias botânicas, dentre estas, as espécies pertencentes à família Asteraceae destacaram-se no estudo, devido à sua presença em todos os territórios ao redor do globo terrestre (com exceção dos polos), sendo mais abundantes em regiões temperadas e semiáridas⁸.

As plantas da família Asteraceae são facilmente reconhecidas pelas características morfológicas florais, que consistem em um conjunto de pequenas flores agrupadas em um disco ou capítulo rodeado por brácteas. Esse arranjo de flores compostas corresponde a uma adaptação evolutiva que tem como finalidade promover o aumento da eficiência da polinização, atraindo, desse modo, uma grande variedade de polinizadores, desde insetos até aves¹⁸.

As espécies pertencentes a esta família desempenham um importante papel econômico e social. Além de estarem presentes na base alimentar da maior parcela da população mundial, são consideradas insumos indispensáveis na produção de óleos e fitoterápicos¹⁹. Como exemplos disso, temos as espécies *Lactuca sativa* L., conhecida popularmente como alface, que está presente em praticamente todos os guias alimentares atuais²⁰; *Helianthus annuus* L., o girassol, que é encontrada na base alimentar de muitas espécies de seres vivos, sendo ainda uma matéria-prima importante na indústria óleoquímica²¹; e *Matricaria recutita* L., popularmente conhecida como camomila, que é amplamente consumida devido aos seus efeitos terapêuticos, como ação cicatrizante, ansiolítica, emenagoga e anti-inflamatória. É

utilizada ao longo das gerações para tratar, principalmente, doenças de fundo nervoso, como no caso da ansiedade generalizada²².

Assim como outras espécies de sua família, a *M. recutita*, possui folhas alternadas com segmentos lineares agudos. Suas inflorescências são do tipo capítulos, com a característica de serem ginomonóicas, ou seja, possuem flores unisexuais femininas e hermafroditas²³. Além disso, a *M. recutita* é uma planta anual que pode crescer até 50 cm de altura, com um caule bastante ramificado e ereto. Sua propagação ocorre através de sementes cilíndricas presentes no centro da flor e deve ser cultivada em clima temperado com elevada umidade no ar atmosférico, uma vez que a planta não suporta altas temperaturas e períodos de muita seca. Entretanto, pode suportar longos períodos de geadas²⁴. No que diz respeito ao solo de cultivo da planta, o mesmo deve estar entre pH 6 a 7,5, além de ser rico em matéria orgânica, como esterco bovino. Por fim, a colheita da planta deve ser realizada somente quando todos os capítulos florais estiverem completamente abertos, evitando assim o enfraquecimento da raiz e a perda de suas propriedades terapêuticas²⁵.

A ação farmacológica da planta está relacionada a variedade de cultivo, como por exemplo ao tempo de colheita e ao clima da região, que afetam diretamente a composição de componentes bioativos. O estudo conduzido por Amaral et al.²⁶ (2014) na cidade de Piraquara, no estado do Paraná, analisou a influência da colheita em diferentes estágios de desenvolvimento da *M. recutita* cultivada na região. Ao todo foram coletadas amostras da planta em 5 momentos diferentes, sendo eles: 85 dias após o cultivo, assim como nos dias 92, 99, 106 e 113 que sucederam o plantio. Com o estudo, pôde-se concluir que as espécies colhidas no 85º dia de cultivo possuíram maior rendimento de óleo essencial, que por sua vez é rico em inúmeras substâncias fitoterápicas, como o α-bisabolol, que é primordial para a própria sobrevivência da planta. Em contrapartida, a fração colhida no 113º dia apresentou o menor rendimento de óleo essencial, havendo uma redução acentuada nos teores de seus constituintes, como é o caso do óxido de cariofileno, que caiu de 4,07% no 85º dia para 0,41% no 113º.

Embora a camomila seja amplamente utilizada, a planta não é isenta de Reações Adversas à Medicamentos (RAM). Jeschke et. al.²⁷ (2012) realizou um estudo observacional durante o período de dois anos, onde trinta e oito médicos de atenção primária documentaram todas as RAM relacionadas a utilização (prescrição

ou automedicação) de plantas medicinais pertencentes a família das Asteraceae. Ao todo, 18.830 pacientes receberam 42.378 medicamentos da família botânica. A Asteraceae mais frequentemente prescrita e automedicada foi *M. recutita*, constituindo 23% do total de consumo. Ao todo 11 RAM não graves foram relatados por 6.961 pacientes resultando assim em um risco relativo de 0,13% acordando com permitido pelas diretrizes do Observatório de Uppsala. Considerando os padrões de automedicação e efeitos colaterais, estudos e relatórios sugerem que as RAM poderiam ser 99,9% evitadas com o preenchimento das lacunas acerca da ampliação dos estudos de plantas medicinais e a fiscalização e criação de normas de segurança de utilização, comercialização e produção mais rígidas²⁸.

2.3 Perfil fitoquímico da *M. recutita*

As plantas produzem uma infinidade de compostos químicos que podem ser divididos em duas classes: os metabólitos primários e os metabólitos secundários. Os metabólitos primários são considerados substâncias comuns entre todas as plantas, constituindo a matriz evolutiva das espécies, possuem função estrutural, estética e energética²⁹. Em contrapartida, os metabólitos secundários podem variar de planta para planta, considerando que existe uma série de fatores que influenciam na presença ou ausência de determinado metabólito, ressaltando-se ainda que cada espécie produz um certo grupo de substâncias que são chamados de fitocomplexos³⁰. Dentre os fatores que podem afetar a disponibilidade de certos componentes químicos na planta, destacam-se a sazonalidade, o ritmo circadiano, o desenvolvimento da espécie e o modo de extração dos princípios ativos³¹.

Existem três principais métodos de extração de compostos bioativos de plantas: destilação, extração por solvente e maceração. A destilação é utilizada principalmente para obtenção de óleos essenciais de plantas aromáticas, porém é limitada a compostos voláteis³². Borsato, A. V.³³ (2006), ao utilizarem o processo de destilação para extração do óleo essencial de camomila, evidenciaram que os compostos majoritários obtidos pelo processo foram os sesquiterpenos α-bisabolol e β-bisabolol, com a concentração de 17,99% e 27,49%, respectivamente. Entretanto, evidenciaram que a técnica implica desvantagens em relação ao rendimento do óleo, uma vez que a amostra de *M. recutita* analisada por Borsato, A. V.³³ (2006), tiveram uma perda de 38,7% de material volátil.

Na extração por solvente, utiliza-se um solvente orgânico adequado para a obtenção dos compostos desejados. O solvente utilizado deve possuir baixa toxicidade, considerando que embora o extrato passe pelo processo de filtração e condensação, ainda é possível encontrar resquícios do solvente³⁴. Simões³⁵ (2015), que ao compararem a toxicidade de diferentes solventes orgânicos, sendo esses o etanol, metanol e acetona, averiguaram que o etanol apresentou a menor Dose Letal (DL₅₀) entre os três compostos para cepas de bactérias analisadas, sendo a *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*.

A maceração, por sua vez, é um processo de extração à frio que possui uma rentabilidade e concentração de bioativos, com o uso de solvente, como o etanol, devido à sua polaridade. A obtenção do extrato por maceração ocorre através da mistura da planta com um solvente, deixando-a em repouso por um tempo determinado possibilitando a dissolução dos compostos desejados. Depois, a mistura é filtrada e o solvente é evaporado para obtenção extrato final. O solvente mais empregado na técnica é o etanol, dado sua propriedade físico-química³⁶.

Como evidenciou-se, a extração de compostos bioativos de uma matriz vegetal com etanol é um processo amplamente empregado e recomendado. A utilização da substância ocorre em razão de suas propriedades físico-químicas, em especial a sua polaridade, sendo uma substância polar, desse modo, solubilizando compostos polares presentes em muitas plantas, como no caso de compostos fenólicos, flavonoides e alcaloides³⁷.

De Sousa³⁸ et al. (2011), ao analisarem três extratos etanólicos de rasuras diferentes de *M. recutita* obtidos pela técnica de extração à frio, obtiveram uma média baixa de 12,9 mg/g de compostos fenólicos totais. Por outro lado, Ansolini et al.³⁹ (2006), ao analisarem o extrato de *M. recutita* preparado por aquecimento, obtiveram uma concentração de 25 mg/g de compostos fenólicos totais, demonstrando assim que a extração de bioativos de plantas com etanol é um processo eficiente para a obtenção de compostos fenólicos. Ainda, é importante ressaltar que diferentes técnicas de extração podem levar a variações na concentração e na composição dos metabólitos obtidos⁴⁰. Desse modo, é fundamental a utilização de metodologias adequadas para garantir a obtenção de extratos de alta qualidade, seguros e eficazes para uso terapêutico.

A atividade biológica e farmacológica de uma planta está diretamente relacionada as classes de metabólitos que a constituem. Assim também como o

interesse das indústrias farmacêuticas, químicas, agronômicas, entre outras⁴¹. Os metabólitos secundários podem ser divididos em três classes principais: Terpenos, Alcaloides e Compostos fenólicos⁴².

Os terpenos são hidrocarbonetos insaturados derivados de isoprenos que podem apresentar ligações com oxigênio, tornando-se terpenóides⁴³. Devido à sua composição de carbono e hidrogênio insaturados, eles possuem baixa densidade e alta volatilidade e são encontrados frequentemente em óleoresinas de plantas⁴⁴. Segundo Silva et al.⁴⁵ (2020), os terpenos e terpenóides associam-se as atividades biológicas de ação anti-inflamatória, antiadipogênica, antinociceptiva, antimicrobiana e antitumoral.

A vista das atividades biológicas associadas *M. recutita*, Sobrinho, Simionatto e Cabral⁴⁶ (2014), avaliaram a composição fitoquímica do óleo essencial de camomila e a sua ação citotóxica frente a células neoplásicas, como resultado, Sobrinho, Simionatto e Cabral⁴⁶ (2014) identificaram o sesquiterpeno α -bisabolol (Figura 2.1) como componente majoritário do óleo. Além disso, o óleo apresentou a atividade citotóxica diante das linhagens de célula MCF-7 e PC-03, que por sua vez referem-se aos cânceres de mama e de próstata, respectivamente.

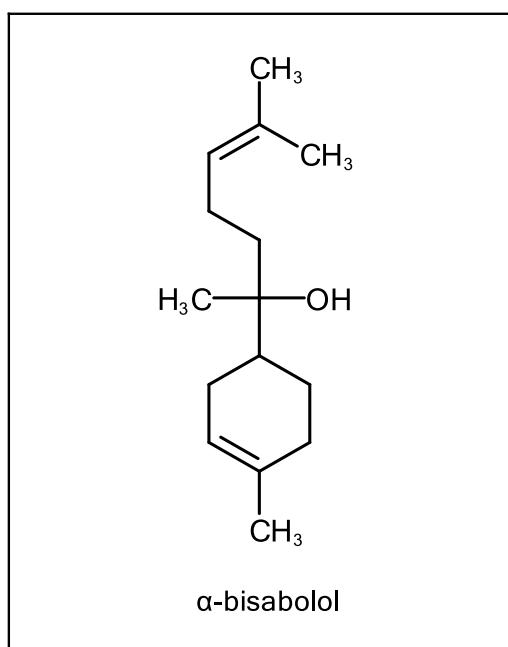


Figura 2.1. Estrutura molecular do sesquiterpeno α -bisabolol.

Fonte: autores, 2023.

Os alcaloides são derivados de aminoácidos (alcaloides verdadeiros) e de substâncias com bases nitrogenadas (pseudoalcaloides), sendo encontrados em apenas 20% das plantas vasculares, tendo a maior ocorrência em plantas pertencentes a classe das agiospermas⁴⁷. Embora haja poucos relatos na literatura acerca do isolamento de alcaloides, essa classe de metabólitos é correlacionada a ligantes endógenos que possuem uma variedade de efeitos no Sistema Nervoso Central (SNC), como alucinógeno (cocaína), sedativo (morfina) e estimulante (cafeína). Diante dos efeitos propiciados pelos alcaloides no SNC, Caleja et al.⁴⁸ (2017), indicaram que embora os alcaloides estejam presentes em diversos fitofármacos, é necessário um controle no consumo bioativos.

A última classe de metabólitos secundários é a dos compostos fenólicos, as substâncias integrantes dessa classe apresentam como grupo funcional a carboxila e são divididas em duas categorias: os hidroxibenzoicos e os hidroxicinâmicos. Os hidroxibenzoicos são compostos de taninos hidrossolúveis e raramente são encontrados em plantas medicinais, diferentemente dos compostos hidroxicinâmicos, que por sua vez são amplamente encontrados em alimentos e plantas⁴⁹. A *M. recutita* é uma planta medicinal rica em compostos fenólicos, dentre os bioativos que compõe a planta, destacam-se os compostos bioativos herniarina, ácido clorogênico, ácido caféico, apigenina, luteolina, quercitrina, queracetina, catequina, vitexina e amentoflavona⁵⁰. Além das classes citadas, estima-se que mais de 120 metabólitos secundários com potencial terapêutico já foram identificados na planta⁵¹.

É importante enfatizar que a determinação do perfil fitoquímico de uma planta é realizada por meio da aplicação de técnicas analíticas preconizadas pela literatura que promovam a separação dos bioativos, considerando as propriedades físico-químicas dos metabólitos secundários pretendidos de isolamento.

2.3.1 Cromatografia Líquida De Alta Eficiência (CLAE)

A identificação, quantificação e isolamento de metabólitos secundários são imprescindíveis para compreensão de suas funções biológicas e seus potenciais terapêuticos⁵². Existem inúmeros métodos aplicados na química de produtos naturais voltados para a caracterização dessas substâncias, como as técnicas cromatográficas, a espectrometria de massas e ressonância magnética (RMN)⁵³.

Entretanto, considerando a dificuldade existente em isolar metabólitos secundários de matrizes vegetais devido da existência de existem milhares de compostos diferentes em uma única planta, a técnica de cromatografia é o método de isolamento mais utilizado, pois é capaz de separar os compostos de interesse dos demais compostos na matriz, considerando suas propriedades físico-químicas, como por exemplo o tamanho, a carga de polaridade e a solubilidade em solventes distintos⁵⁴. Na atualidade, o teste cromatográfico mais utilizado é a Cromatografia Líquida De Alta Eficiência (CLAE), que é frequentemente utilizada para separar, identificar e quantificar compostos bioativos em amostras complexas⁵⁵.

A CLAE é uma técnica altamente eficiente para o isolamento e quantificação de compostos, especialmente em misturas complexas, como no caso dos metabólitos secundários encontrados em plantas, drogas, formulações farmacêuticas e poluentes em amostras ambientais. A técnica oferece alta sensibilidade e precisão na quantificação de compostos bioativos, o que a torna valiosa para estudos quantitativos e qualitativos⁵⁶.

O processo de isolamento e quantificação por meio da CLAE é composto por quatro etapas, que englobam desde a preparação da amostra até a detecção e análise dos compostos (Figura 2.2).

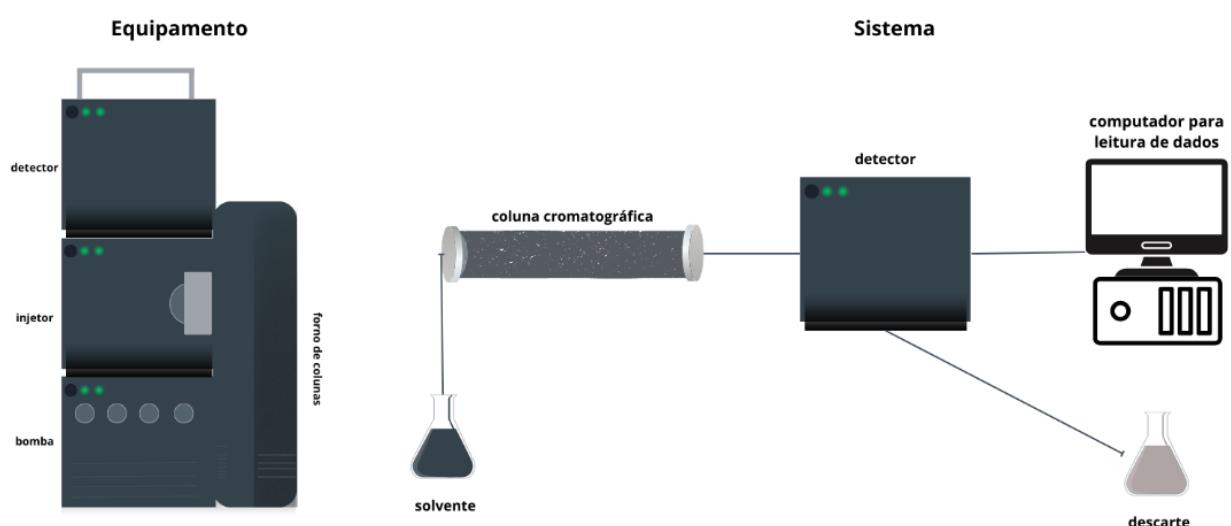


Figura 2.2. Processo de isolamento e quantificação de compostos bioativos por meio da técnica de Cromatografia Líquida De Alta Eficiência.

Fonte: autores, 2023.

A primeira etapa no processo de isolamento e quantificação é a preparação da amostra, que deve ser preparada com solventes que orgânicos que garantam a máxima recuperação e pureza dos compostos de interesse, como no caso de etanol ou metanol⁵⁷. Por sua vez, a etapa dois corresponde a separação dos compostos por meio do cromatógrafo, onde ocorre passagem da amostra através de uma coluna de separação empacotada com uma fase estacionária, constituída por partículas de sílica, polímeros ou outros materiais dependendo do tipo de análise a ser realizada, e com uma fase móvel, que é um solvente ou uma mistura de solventes que são continuamente bombeados através da coluna para separar os compostos de interesse⁵⁸.

A terceira etapa consiste na detecção e na análise dos compostos separados, sendo realizados com o auxílio de detectores específicos que se baseiam em propriedades físicas, como a absorção de luz ultravioleta, ou em propriedades químicas, como a fluorescência⁵⁹. A quantificação dos compostos é feita com base na intensidade do sinal do detector e na construção de curvas de calibração⁶⁰. Por fim, uma vez que os compostos são separados e quantificados, a etapa final é a identificação dos compostos. Isso pode ser feito por meio de técnicas espectrométricas, como a espectrometria de massas, que fornece informações sobre a massa molecular dos compostos e sua estrutura química⁶¹.

O processo de isolamento correto e efetivos de bioativos de plantas é essencial, pois através da identificação é possível determinar suas propriedades farmacológicas e avaliar o potencial terapêutico da planta para o tratamento de diversas doenças⁶². Além das técnicas de isolamento, as plantas medicinais para serem considerada efetivas diante a detecção das atividades farmacológicas, é necessário a realização de estudos *in vitro* e *in vivo*, que por sua vez permitem avaliar a eficácia, segurança e toxicidade dos compostos que a compõem⁶³.

2.4 Atividades biológicas da *M. recutita*

Dentre as ações farmacológicas da *M. recutita* destacam-se as ações anti-inflamatórias e antioxidantes, que tem como principal responsável a flavona apigenina, indicada como biomarcador da autenticidade da espécie (Figura 2.3a)⁶⁴. De modo geral a apigenina pode ser identificada em plantas estando livres ou

conjugadas com um ou mais açúcares ligados ao seu grupo hidroxila, como a exemplo da apigenina-7-O-glicosídeo (Figura 2.3b)⁶⁵.

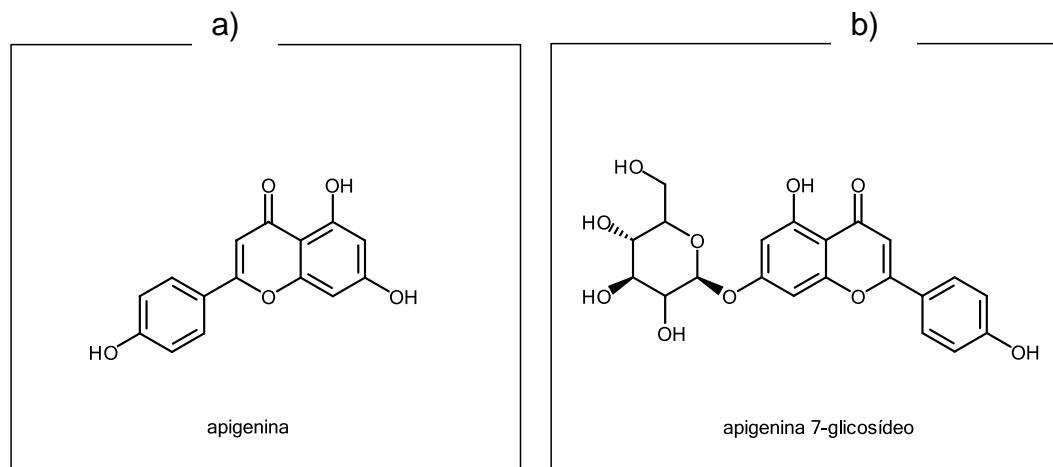


Figura 2.3. a) Apigenina. b) Apigenina-7-O-glicosídeo.

Fonte: autores, 2023.

Com o objetivo de verificar o mecanismo de ação da apigenina-7-O-glicosídeo (apig-7-gli), Zheng et al.⁶⁶ (2005) analisaram sua ação na defesa contra lesões hepáticas causadas pelo tetracloreto de carbono (CCl_4), uma hepatotoxina nociva ao sistema hepático. Além disso, os autores avaliaram o efeito inibitório da geração de substâncias capazes de reagir com oxigênio (Reactive Oxygen Species - ROS), que levam à produção de radicais livres nos hepatócitos, as células responsáveis pelas reações endócrinas e exócrinas do fígado. Os resultados encontrados por Zheng et al.⁶⁶ (2005) indicaram que a apig-7-gli isolada da planta *Ixris chinensis* T. apresentou efeito hepatoprotetor, associado à sua propriedade antioxidante, que atuou como uma espécie de "vassoura" eliminando as ROS.

Outra propriedade correlacionada a esta flavona, utilizada como marcador biológico da *M. recutita* em decorrência de sua alta concentração na planta, é a ação anti-inflamatória. Schimitz et al.⁶⁷ (2009) analisou tal atividade em lesões cutâneas induzidas em ratos, utilizando injeções intradérmicas de glicose-oxidase (H_2O_2), xantina-oxidase (enzima produzida pelo ácido úrico) e hidroperóxido de cumeno ($C_9H_{12}O_2$). As lesões causadas pela xantina-oxidase e pelo $C_9H_{12}O_2$ foram inibidas pela ação da apigenina, entretanto aquelas causadas pela glicose-oxidase não foram completamente inibidas, o que levou os autores a concluírem que a atividade anti-inflamatória da substância está diretamente relacionada à sua atividade

antioxidante, uma vez que foi possível observar a reação eliminatória dos radicais livres.

Além da atividade anti-inflamatória e antioxidante, estudos apontam para a utilização da *M. recutita* no tratamento de diversas enfermidades, como gastrite, cólicas, enxaquecas, ansiedade e depressão. Em um estudo realizado por Pacífico et al.⁶⁸ (2018), uma análise exploratória de rótulo aberto foi conduzida, na qual avaliaram o efeito ansiolítico da *M. recutita* em indivíduos com transtorno de ansiedade e depressão comórbida em 179 participantes que tinham conhecimento de todos os processos do experimento. Os pacientes responderam previamente a perguntas pertinentes na escala de classificação de Hamilton para depressão (HRSD) e consumiram 1500mg de *M. recutita* diariamente durante oito semanas. Com a finalização das semanas destinadas ao teste, as perguntas da HRSD foram reaplicadas, e os autores constataram que houve uma redução significativa nos sintomas associados à depressão e ansiedade, permitindo concluir que a *M. recutita* possui efeito ansiolítico.

2.4.1 Atividade antioxidante

Além de suas propriedades terapêuticas, muitas plantas possuem atividade antioxidante agregando efeitos benéficos a saúde humana⁶⁹. Os antioxidantes são substâncias que ajudam a proteger o organismo contra o estresse oxidativo, que por sua vez é um processo que ocorre no organismo quando há um desequilíbrio entre a proporção de radicais livres e de substâncias antioxidantes⁷⁰. Os radicais livres são moléculas instáveis potencialmente danosas as células associando-se a várias doenças crônicas, como câncer, doenças cardiovasculares e neurodegenerativas⁷¹. A atividade dos antioxidantes proporciona a neutralização dos radicais livres, os quais recebem elétrons e são, assim, estabilizados, impedindo que causem danos às células⁷². Adicionalmente, determinados tipos de antioxidantes podem interromper a sequência de reações químicas iniciada pelos radicais livres, evitando que causem danos ainda maiores⁷³.

As plantas medicinais são ricas em compostos antioxidantes, como flavonoides, terpenoides e ácido ascórbico, que podem ajudar a neutralizar os radicais livres e a reduzir o estresse oxidativo no organismo. Mercês e Santos⁷⁴ (2022) indicaram que dentre os bioativos com maior potencial antioxidante, os

flavonóides (Figura 2.4) destacam-se devido as suas propriedades químicas, como a presença de grupos hidroxila e a estrutura cíclica da molécula, que permitem a neutralização de radicais livres e a redução do estresse oxidativo. Além disso, os flavonoides também são capazes de modular enzimas antioxidantes endógenas, o que pode ajudar a proteger as células do dano oxidativo.

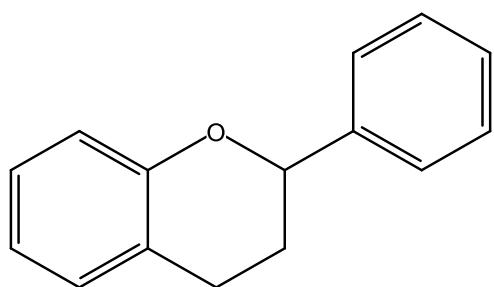


Figura 2.4. Estrutura básica do bioativo flavonoide.

Fonte: autores, 2023.

Por sua vez, a camomila contém uma grande variedade de compostos antioxidantes. De Azevedo et al.⁷⁵ (2020), ao avaliarem o efeito antioxidante de chás comerciais, frente a captura do radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) (Figura 2.5), indicaram que a concentração de eficiência do chá de *M. recutita* foi igual a 60% na concentração de 100µg/mL, comprovando desse modo a atividade antioxidante da espécie.

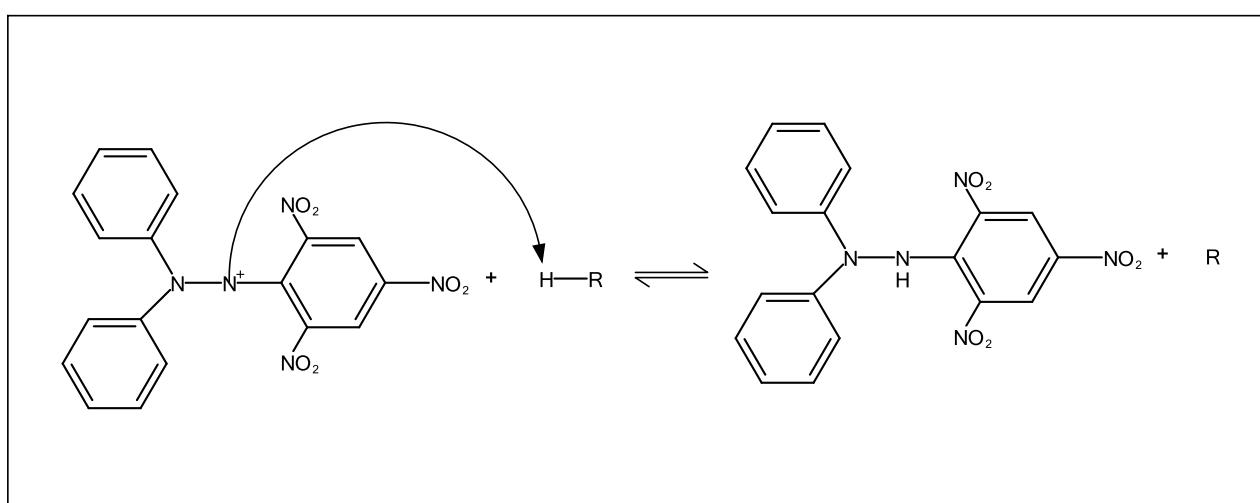


Figura 2.5. Mecanismo de redução do DPPH.

No estudo conduzido por Silva⁷⁸ (2010), o autor avaliou a composição fenólica e o potencial antioxidante de oito infusões provenientes de plantas medicinais distintas, ao tratar-se da camomila foram encontradas cinco classes de bioativos, sendo a apigenina, luteolina, miricetina, quercetina e patuletina. Ainda, a infusão da planta apresentou um IC_{50} igual a 82,49 μ g/mL demonstrando o efeito antioxidante da infusão. Através do estudo, Silva⁷⁸ (2010) associou o efeito antioxidante da infusão a rica presença de compostos fenólicos, que por sua vez possuem propriedade redox, permitindo que tais substâncias atuem como agente redutores ou doadores de hidrogênio, funcionando como agentes antioxidantes.

Além disso, os compostos antioxidantes presentes na camomila podem ajudar a proteger a pele contra danos causados pelos raios ultravioletas, além de ajudar a reduzir a inflamação e melhorar a hidratação da pele⁷⁷. Isso pode ajudar a prevenir o envelhecimento precoce da pele, bem como outras condições de pele, como acne e eczema. Da Silva Filho et al.⁷⁸ (2022) apontaram que o extrato glicólico da *M. recutita* é um excelente aliado para fins cosmecêuticos devido aos bioativos dicaffeoil-2-7-anidro-octulopiranosonico e a luteolina-O-glucorinida, sendo por sua vez compostos comumente utilizados em farmácias devido aos seus efeitos antioxidantes.

2.4.2 Atividade antimicrobiana

A utilização de bioativos naturais de plantas para o combate de microorganismos patogênicos é uma abordagem promissora na busca por novos agentes antimicrobianos⁷⁹. Comparativamente aos agentes antimicrobianos sintéticos, a utilização de bioativos naturais apresenta algumas vantagens, como menor toxicidade e menor risco de desenvolvimento de resistência bacteriana, que vem sendo um grande dilema da comunidade médica atual⁸⁰. Além disso, inúmeros compostos bioativos podem ser obtidos a partir de plantas cultivadas localmente, tornando a sua utilização mais acessível e sustentável⁸¹.

Os compostos bioativos, como os flavonoides, alcaloides e terpenoïdes, podem atuar individualmente ou associados, aumentando a sua eficácia no combate a diferentes patógenos, incluindo bactérias, fungos e vírus (Tabela 2.1)⁸².

Tabela 2.1. Principais classes de compostos com atividade antimicrobiana

Classe	Subclasse	Exemplo	Mecanismo
Compostos fenólicos	Flavonóide	Crisina	Ligaçāo com a biomolécula adesina impedindo a complexação celular
Terpenóides		Capsaicina	Desintegração da membrana
Alcalóides		Piperina	Interage com a parede celular

A *M. recutita*, devido a sua rica variedade de compostos ativos, vem sendo apontada de acordo com Silva⁷⁸ (2010) como uma planta potencialmente eficaz na inibição de patógenos, dado a atividade antimicrobiana relatada para os flavonoides e ácidos fenólicos, que por sua vez são os componentes majoritários da espécie. Esses compostos são capazes de coibir o crescimento de várias espécies de bactérias e fungos, incluindo *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* e *Aspergillus niger*.

Carvalho et al.⁷⁹ (2014) avaliaram a atividade antimicrobiana do extrato etanólico e metanólico de camomila frente às bactérias ATCC *S. aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli* e *Salmonella enterica* subsp. *enterica* sorovar *Typhimurium*. Os autores utilizaram para determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos extratos a técnica de microdiluição em caldo *TSB*, e observaram que apenas a bactéria *P. aeruginosa* foi inibida pela ação dos extratos. Em contrapartida, Carvalho et al.⁷⁹, ao avaliar a CIM do óleo essencial de camomila, identificou que o extrato foi capaz inibir a atividade antimicrobiana das espécies *Acinetobacter baumannii*, *Shigella* sp. e *Staphylococcus* sp. com CIMs de 227 e 455 mg/mL.

A atribuição da atividade antimicrobiana a *M. recutita* tem levado ao desenvolvimento de remédios à base da planta. Por exemplo, o extrato de camomila tem sido utilizado para tratar feridas e queimaduras, devido à sua capacidade de prevenir a infecção bacteriana e acelerar o processo de cicatrização. Além disso, o óleo essencial de camomila tem sido utilizado para tratar infecções fúngicas na pele e nas unhas, e também para aliviar os sintomas de infecções respiratórias, como a sinusite⁸⁷.

Outro remédio à base de camomila é o chá de camomila, que é frequentemente utilizado para tratar problemas gastrointestinais, como náuseas, vômitos, cólicas e diarreia. Além de possuir propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes, o chá de camomila também possui atividade antimicrobiana, o que pode ajudar a tratar infecções gastrointestinais causadas por bactérias e fungos⁸⁸.

Ainda, Maia et al.⁸⁹ (2017) avaliaram o efeito coadjuvante do extrato etanólico de camomila associado aos medicamentos bactericidas norfloxacino e cefalexina frente a inibição da atividade do patógeno *S. aureus*. Por meio da técnica de diluição em caldo *BHI*, os autores constataram uma maior eficácia dos medicamentos, assim como a necessidade de uma menor CIM, quando estes associaram-se aos extratos da planta.

2.4.3 Avaliação da toxicidade por predição ADMET

A avaliação da toxicidade de extratos etanólicos é uma etapa essencial para avaliar a segurança e eficácia de extratos de plantas medicinais, principalmente aqueles que são candidatos a fármacos⁹⁰. Através dessa avaliação, é possível determinar o potencial citotóxico de um extrato, ou seja, sua capacidade de danificar ou matar células, em vista que embora bioativos sejam atribuídos a efeitos benéficos a saúde, também podem apresentar toxicidade se utilizados em doses elevadas ou combinados com outras substâncias⁹¹. Além disso, a avaliação citotóxica é importante para a descoberta de novos medicamentos e a aferição do potencial de sinergismo entre diferentes compostos bioativos presentes em um extrato, uma vez que alguns compostos podem potencializar a ação de outros, enquanto outros podem inibir sua atividade⁹².

A fim de avaliar o efeito citotóxico *in vivo* de tinturas de *M. recutita*, Delarmelina, Batitucci e Gonçalo⁹³ (2012) avaliaram os extratos em duas concentrações, sendo 1 mg/mL e 5 mg/mL, frente ao micronúcleo em medula óssea de roedores e através do teste de *Allium cepa* L., considerando que os roedores foram submetidos a exposição as tinturas durante o período de cinco dias. Os resultados obtidos por Delarmelina, Batitucci e Gonçalo⁹³ (2012) indicaram que as concentrações testadas não apresentaram efeito citotóxico e, portanto, sendo indicados para testes clínicos com a finalidade de utilização do fitoterápico em terapias.

Como evidenciado por Matic et al.⁹⁴ (2013), os extratos e infusões preparadas a partir de dosagens específicas de camomila foram capazes de inibir o crescimento de células cancerígenas em cultura de células, considerando que os autores identificaram o efeito citotóxico seletivo de infusões da planta frente a células mononucleares do sangue periférico, onde as infusões obtiveram uma Concentração inibitória média (IC50) variando entre 1,7 µg/mL e 3,37 µg/mL. Além disso, Matic et al.⁹⁴ (2013) realizaram a identificação fitoquímica das infusões constando uma alta concentração de compostos fenólicos, de maneira majoritária da apigenina. Desse modo, os autores correlacionaram diante dados obtidos na literatura a ação citotóxica com as células cancerígenas analisadas aos bioativos pertencentes a classe dos flavonoides.

Embora crucial, a avaliações *in vivo* demandam um elevado custo e um longo período de análise. Diante do fato, atualmente os modelos de testes *in silico* vem validando-se com uma importante ferramenta para avaliação prévia de compostos químicos com potencial terapêutico, antes que estes sejam submetidos a testes em animais ou humanos⁹⁵.

As avaliações *in silico* baseiam-se em modelos computacionais que possibilitam a previsão teórica de propriedades físico-químicas, biológica e tóxicas. Tais informações podem ser utilizadas para selecionar compostos com maior probabilidade de serem seguros e eficazes. Ademais, essa avaliação pode auxiliar no entendimento dos mecanismos de ação dos compostos e na identificação de possíveis alvos moleculares para terapias⁹⁶.

Diversos modelos *in silico* podem ser utilizados para prever comportamentos citotóxicos potenciais como no caso da predição ADMET que consiste em um método baseado na previsão do comportamento químico de absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade no organismo humano. Essa abordagem é capaz de identificar possíveis riscos de toxicidade ou efeitos colaterais indesejados antes mesmo dos compostos serem submetidos a testes em laboratório. Além disso, a predição ADMET pode ajudar a entender melhor os mecanismos de ação dos compostos e a identificar possíveis alvos moleculares para terapias, auxiliando no desenvolvimento de medicamentos mais seguros e eficazes⁹⁷.

O modelo de predição ADMET leva em consideração diversos aspectos do composto analisado, como a estrutura molecular, a sua solubilidade em água e

lipídios, assim como a presença de grupos funcionais que podem vir a influenciar em sua interação com as proteínas presentes no organismo⁹⁸.

A predição de absorção do ensaio corresponde a verificação da capacidade que um composto com potencial farmacológico possui de ser absorvido pelo trato gastrointestinal, onde são avaliados fatores como a solubilidade do composto em água e lipídios, a permeabilidade através das membranas celulares e a presença de transportadores que possam influenciar sua absorção no intestino⁹⁹.

Por sua vez, a previsão da distribuição é uma etapa crucial no teste *in silico* ADMET, pois se refere à habilidade que o composto tem de se disseminar pelo organismo após ter sido absorvido¹⁰⁰. Esta disseminação pode ser afetada por diversos fatores, incluindo a capacidade de se ligar às proteínas plasmáticas e de atravessar as membranas celulares para chegar ao local de ação¹⁰¹. Ao que se refere ao metabolismo, são avaliadas as enzimas hepáticas responsáveis pela biotransformação dos compostos químicos, bem como os produtos metabólicos resultantes do processo. Para a excreção, são avaliadas as vias de eliminação do composto, incluindo a urina, as fezes e a bile¹⁰².

Por fim, para avaliar a toxicidade, são utilizados modelos de predição que levam em conta a interação do composto com as proteínas e enzimas no organismo, bem como seus possíveis efeitos adversos¹⁰³. Dentre as principais proteínas e enzimas submetidas a avaliação de toxicidade molécula com potencial farmacológico, tem-se o citocromo P450 (CYP), as proteínas transportadoras, enzimas antioxidantes e as proteínas do sistema nervoso central (SNC)¹⁰⁴ (Tabela 2.2).

Tabela 2.2. Principais proteínas e enzimas submetidas a avaliação de toxicidade.

Molécula	Tipos	Descrição
Citocromo P450 (CYP)	CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6, CYP2D6, CYP3A4	Enzimas encontradas principalmente no fígado, sendo responsáveis pelo metabolismo de diversos fármacos como antidepressivos, antidiabéticos e anticoagulantes. São metabolizadas de maneiras distintas por cada organismo, portanto alguns indivíduos podem apresentar elevados níveis de alguma das enzimas potencializando os efeitos colaterais dos medicamentos, ou níveis baixos, causando efeito subterapêutico
Proteína transportadora	<i>P</i> -glicoproteína (<i>P</i> -gp)	Proteína presente em diversas membranas sendo responsável pelo transporte de fármacos e outras substâncias para fora da célula
Proteínas do SNC	Proteínas transportadoras da barreira hematoencefálica (BBB)	Consiste em uma estrutura física capaz de regular a entrada de substâncias químicas no cérebro, protegendo desse modo o cérebro da ação de agentes tóxicos e patogênicos

Ao realizar a predição ADMET para a molécula de quercetina, De Moura, De Araújo e De Sousa¹⁰⁵ (2004), constatou que a quercetina inibiu a ação da enzima HMG-CoA (regulador endócrino), além de mostrar-se mais segura e com menos riscos de potenciais toxicológicos quando comparado ao medicamento utilizado para tratamento de colesterol simvastatina. Desse modo De Moura, De Araújo e De Sousa¹⁰⁵ (2004) apontaram que o isolamento da molécula de quercetina é qualificado para a aplicação de ensaios *in vitro* e *in vivo*.

Capítulo 3

METODOLOGIA EXPERIMENTAL

3.1 Seleção amostral

As rasura de *M. recutita* foram obtidas em nove lojas de Produtos Naturais da cidade de Teresina – Piauí. Tendo como critérios de amostragem o armazenamento em embalagem primária e a distinção de produtores e marcas, em cada estabelecimento foi adquirida uma amostra. As amostras foram codificadas de A à I e armazenadas ao abrigo do calor e da luz no Centro de Tecnologia Mineral (CETEM), localizado na Universidade Estadual do Piauí para subsequente caracterização das rasura secas e produção dos extratos etanólicos com a finalidade de realização dos perfis fitoquímicos e avaliação das atividades farmacológicas.

3.2 Análise de rótulo e folheto informativo

A análise de rótulo e folheto informativo das embalagens primárias das nove rasura foram realizadas com base na RDC nº 26/2014, regulamentada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA)¹⁰⁶.

3.3 Preparo dos extratos etanólicos das amostras de *Matricaria recutita* L.

Preparou-se suspensões na proporção de 2 g de *M. recutita* para 10mL de álcool etílico 95% em béqueres (0,2 g/L), os deixando em repouso em uma capela de exaustão por 48 horas. Decorrido o tempo filtrou-se a suspensão a vácuo com o auxílio de um funil de Büchner em frascos flaconetes de vidro cristal de 10mL. Vedou-se os recipientes os etiquetando de acordo com a codificação de cada rasura, armazenando-os a temperatura refrigerada no laboratório GERATEC, na Universidade Estadual do Piauí.

3.4 Perfil fitoquímico dos extratos etanólicos de *M. recutita*

O perfil fitoquímico dos extratos etanólicos das rasuras de *M. recutita* foram obtidos por meio da aplicação do teste de Prospecção Fitoquímica Preliminar, seguindo a metodologia proposta por Matos¹⁰⁷ (1988) e Cromatografia Líquida De Ultra Eficiência acoplada com detectores de arranjo de diodos (DAD) e ultravioleta (UV).

3.4.1 Prospecção Fitoquímica Preliminar

A prospecção fitoquímica preliminar foi escolhida com o intuito de averiguar a presença de seis classes de metabólitos secundários nas amostras de camomila, sendo esses: Taninos e Fenóis, utilizando a reação com cloreto de férrico e acetato de chumbo; Flavonóides, através da reação de shinoda; Cumarinas, através do aparecimento de fluorescências esverdeadas sobre a irradiação em lâmpada ultravioleta com comprimento de onda (λ) de 254 a 366 nm; Catequinas e Flavononas, utilizando a reação de aquecimento de hidróxido de potássio e ácido clorídrico; e alguns tipos de flavonóides por meio da variação de pH, como: Flavonas, Flavonóis, Xantonas e Auronas. Vale ressaltar que a técnica da prospecção fitoquímica preliminar trata-se de uma técnica qualitativa baseada nas propriedades químicas e físico-químicas dos principais grupos constituintes da matéria vegetal.

3.4.2 Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência dos extratos etanólicos das amostras de *M. recutita*

Utilizou-se um Cromatógrafo Líquido De Ultra Eficiência, com injetor automático de 2 μ L, acoplado a um detector de arranjo de diodo (DAD) e luz ultravioleta (UV) gerenciado pelo software Labsolution - Shimadzu®, com coluna cromatográfica C18 kinitex, nas proporções de 150x4,6mm com 5 μ m (phenomenex), a uma temperatura de 33°C. As condições cromatográficas foram ajustadas para os comprimentos de onda entre 249 e 366nm, utilizando um sistema gradiente, tendo como fase móvel água milliQ e acetronitrila (75% de água:25% de acetonitrila no tempo 0 minutos e 76% de acetonitrila em 32-35 minutos)¹⁰⁸.

3.4.2.1 Identificação e calibração dos padrões analíticos

Foram utilizados nove padrões analíticos das marcas *Sigma-Aldrich* (Sig) e *Extrasynthese* (Ext), sendo eles a vitexina (Ext), catequina (Sig), quercitrina (Ext), amentoflavona (ext), luteolina (Sig), apigenina (Ext), crisina (Sig), acacetina (Ext) e pinocembrina (Sig). Pesou-se 1 mg de cada padrão e os transferiu para vial do cromatógrafo de 1,5 mL, solubilizando cada amostra com metanol grau UPLC ou metanol água milliQ (7:3) para os flavonóides glicosídicos. Para determinação das curvas de calibração foram preparadas soluções estoques de cada padrão com as concentrações variando de 200 μ g/mL a 1000 μ g/mL em metanol, sendo posteriormente diluídos para concentrações entre 2 μ g/mL, 5 μ g/mL, 7,50 μ g/mL, 10 μ g/mL e 15 μ g/mL também com metanol para obtenção das respostas de calibração, adequabilidade, precisão, exatidão e linearidade, sendo considerados adequados quando o coeficiente de variação fosse menor que 10% (APÊNDICE A). Por fim, por meio das curvas de calibração de cada padrão foram obtidos os cromatogramas identificando o comprimento de onda de cada padrão como pode ser visto na Tabela 3.1.

Tabela 3.1. Comprimento de onda dos padrões analíticos analisados.

Pico cromatográfico	Padrão analítico	Comprimento de onda (λ)
1	Vitexina	270 nm
2	Catequina	279 nm
3	Quercitrina	257 nm
4	Amentoflavona	269 nm
5	Luteolina	347 nm
6	Apigenina	338 nm
7	Crisina	268 nm
8	Acacetina	268 nm
9	Pinocembrina	290 nm

* λ máximo

3.4.2.2 Identificação e quantificação dos flavonóides nos extratos etanólicos de rasuras de *M. recutita*

A identificação procedeu com a análise dos extratos etanólicos de rasura de *M. recutita*, para isso utilizou-se 3 mL de cada extrato etanólico, os filtrando em unidades filtrantes de 0,22 μ m. Após a filtragem, os transferiu para o vial do UPLC. Os perfis espectrais dos picos traçados por meio da análise foram comparados aos espectros (λ) previamente obtidos para cada padrão analisado.

3.5 Avaliação da atividade antimicrobiana *in vitro* dos extratos etanólicos das rasuras de *M. recutita*

Avaliou-se a atividade antimicrobiana dos extratos de camomila para os seguintes microrganismos: a bactéria gram-positiva *Staphylococcus aureus* (ATCC-25923), a bactéria gram-negativa *Escherichia coli* (ATCC-25922) e a levedura *Candida albicans* (ATCC -10231). Preparou-se os inóculos (bacterianos e fúngico) a partir de um pré-inóculo incubado em estufa à temperatura de 37°C por 24 horas (para as bactérias) e 48 horas (para a levedura). O inóculo foi ajustado para $1,5 \times 10^8$

UFC/mL, que corresponde a 0,5 na escala de McFarland. Utilizou-se para a técnica de microdiluição placas com 96 poços de fundo chato (12 colunas e 8 linhas) com tampas. Foram preparadas as suspensões em microtubos de 1,5mL (tipo eppendorfs), com o intuito de serem aplicadas posteriormente aos poços das microplacas. As suspensões em cada microtubo para o teste de atividade antimicrobiana intrínseca constituiu-se de: 900 μ L de meio *Breath-heart infusion* (BHI) a 10% e 100 μ L do inóculo, totalizando o volume final de 1 mL por microtubo. O experimento foi realizado em triplicata, representada por 3 colunas. A cada poço (em cada coluna) foi adicionado 100 μ L da suspensão (meio BHI + inóculo).

Em seguida, realizou-se a microdiluição seriada do extrato, que consistiu na adição de 100 μ L de extrato, partindo-se da concentração inicial da Solução Estoque de 200.000 μ g/mL nos poços já contendo o meio com o inóculo, tomando-se o cuidado de homogeneizar a solução por 3 vezes antes da transferência para o poço seguinte.

Considerando a utilização de 100 μ L de cada extrato, a concentração inicial do primeiro poço foi igual a 100.000 μ g/mL. Como os poços seguintes foram seguidos da diluição seriada, utilizou-se uma proporção de 1:2, desse modo o segundo poço possuiu uma concentração de 50.000 μ g/mL, o terceiro com 25.000 μ g/mL, o quarto com 12.500 μ g/mL, o quinto com 6.250 μ g/mL, o sexto com 3.125 μ g/mL, o sétimo com 1.562,5 μ g/mL, e o último (oitavo) consistiu no poço de controle, onde foi adicionado somente a suspensão de BHI 10% + inóculo (Figura 3.1).

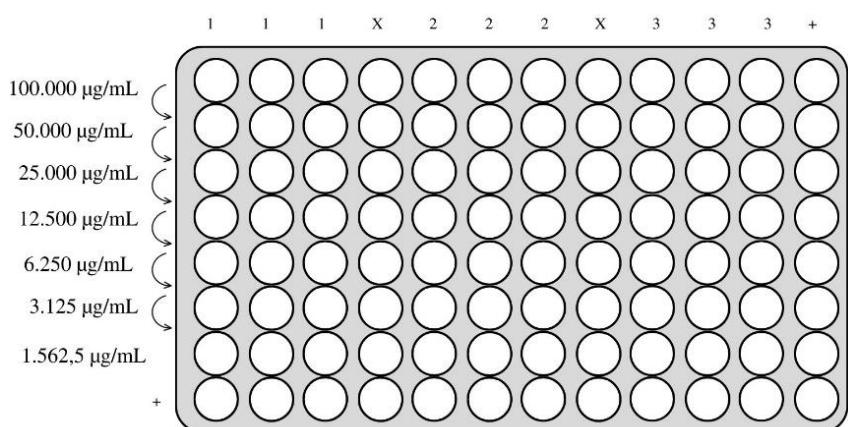


Figura 3.1. Concentração de extrato utilizada em cada poço.

Fonte: autores, 2023

As microplacas foram acondicionadas em incubadora a 37°C por um período de 24 (bactérias) e 48 horas (levedura). Após o período de 24 horas, a leitura dos poços, com ou sem crescimento bacteriano, foi realizada após adição de 20 µL da solução aquosa de resazurina sódica a 0,01% (m/V). Para a confirmação de crescimento ou ausência da levedura, foram retirados de cada poço, 5 µL da suspensão, semeando-as em placas de Petri contendo meio Sabouraud. Estes semeios foram levados a estufa de crescimento, sendo incubados a temperatura de 37°C durante o período de 48 horas.

3.6 Avaliação do potencial antioxidante dos extratos etanólicos das amostras de *M. recutita* frente ao radical de DPPH

A atividade antioxidante dos extratos etanólicos de *M. recutita* foi determinada pelo método de monitoramento do consumo de DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrazila) em espectrofotômetro UV-vis proposta por Sousa et al.¹⁰⁹ (2021). Para a análise, preparou-se inicialmente uma solução estoque do radical DPPH em metanol (40 µg/mL) a mantendo a sombra de luz e ambiente refrigerado. Em seguida, preparou-se suspensões nas concentrações de 200, 100, 50, 25 e 12,5 µg/mL de cada extrato etanólico de *M. recutita* em meio a metanol 95%. Para calibração do espectrofotômetro utilizou-se uma solução contendo 2,7 mL de metanol e 0,3 mL da suspensão de extrato recém preparada correspondente a maior concentração (200 µg/mL). A atividade antioxidante foi determinada utilizando uma triplicata, monitorando as absorbâncias das misturas reacionais (0,3mL amostra : 2,7mL solução estoque) a 516 nm, no período total de análise que consistiu em 30 minutos. O percentual de atividade antioxidante (%AA) foi determinado conforme a equação do percentual de absorbância (Equação 1). Os resultados foram expressos pelo valor de IC₅₀, que corresponde a concentração capaz de reduzir em 50% a concentração inicial de DPPH. Vale ressaltar que para o controle positivo do ensaio utilizou-se o flavonoide rutina e o composto sintético butilhidroxitolueno (BHT).

$$\% \text{ AA} = \frac{\text{Abs}_{DPPH} - (\text{Abs}_{\text{amostra}} - \text{Abs}_{\text{branco}})}{\text{Abs}_{DPPH}} \times 100 \quad (\text{Equação 1})$$

3.7 Predição ADMET

A fim de determinar a toxicidade e interação dos bioativos isolados dos extratos etanólicos das rasura de *M. recutita*, realizou-se a predição ADMET (absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade) com o auxílio site PreADMET® (PreADMET/Tox – Previsão de Absorção, Distribuição, Metabolização, Excreção e Toxicidade, 2021). As fórmulas estruturais dos bioativos isolados e identificados por meio da técnica de UPLC, foram obtidas pelo servidor online <https://preadmet.webservice.bmdrc.org/>, e assim foram submetidos ao teste ADMET, sendo possível determinar a similaridade dos compostos com drogas, além da determinação da toxicidade e das propriedades farmacológicas dos compostos *in silico*¹¹⁰.

Capítulo 4

RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Análise de rótulo e folheto informativo

De acordo com a RDC nº 26 de maio de 2014, a rotulagem de produtos fitoterápicos deve incluir informações sobre a composição do produto, incluindo a parte da planta utilizada, a concentração e o modo de preparo. Além disso, a rotulagem deve conter informações sobre a indicação de uso, modo de uso, contraindicações, efeitos colaterais e cuidados a serem tomados. É importante ressaltar que a rotulagem de produtos fitoterápicos não pode fazer alegações terapêuticas ou indicar a cura de doenças, devendo ser utilizada apenas como auxiliar no tratamento de sintomas leves e como parte de uma abordagem integrativa da assistência à saúde.

Na presente pesquisa foi possível observar que todas as nove amostras de não atenderam a RDC nº 26/2014 regulamentada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), como pode ser visto na tabela 4.1.

Tabela 4.1. Análise de rotulagem para as amostras de A à I de *M. recutita* seguindo as normativas da RDC nº 26/2014.

Telefone do Serviço de Atendimento ao Consumidor	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Número do lote	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Validade	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
Data de fabricação	+	-	+	+	+	-	+	-	+	
Posologia	-	+	+	+	-	-	-	-	-	
Folheto informativo	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Frases de alegação	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+

+: informação presente; -: informação ausente.

Vale ressaltar que todas as rasuras analisadas foram fabricadas e distribuídas no ano de 2021. Por sua vez, a legislação brasileira impõe um prazo de até 180 dias a partir do término do registro atual, que tem duração máxima de 2 anos, para que as empresas cumpram um novo regulamento.

4.2 Pefil fitoquímicos dos extratos etanólicos das amostras de *M. recutita*

4.2.1 Prospecção fitoquímica preliminar dos extratos etanólicos das amostras de *M. recutita*

A preparação do extrato etanólico propiciou uma melhor solubilização dos compostos fenólicos presentes nas rasuras de *M. recutita*, tendo em vista as propriedades físico-químicas referentes a interação entre o solvente e a classe de compostos bioativos.

Por meio da técnica preliminar, não foi possível observar mudanças visuais quando testada a presença de cumarinas em todos os 9 extratos. Em contrapartida, todos os extratos apresentaram variação na coloração quando aplicado os testes de prospecção para flavonóides, taninos, catequinas e flavononas, indicando, assim, a presença de tais substâncias (Tabela 4.2).

Tabela 4.2. Resultados da prospecção fitoquímica preliminar dos extratos etanólicos de *M. recutita*

Metabolito	AMOSTRAS								
	A	B	C	D	E	F	G	H	I
Catequinas	++	++	+	++	+	+	+	++	++
Flavononas	++	++	+	++	+	+	+	++	++
Taninos	++	++	++	++	++	++	++	++	++
Flavonóides	++	++	++	++	++	++	++	++	++
Cumarinas	-	-	-	-	-	-	-	-	-

-: Ausente; +: Moderado; ++: Forte.

Freitas et al.¹¹¹ (2014), por meio da prospecção fitoquímica preliminar, identificaram a presença de taninos no extrato etanólico das folhas de *M. recutita*. Entretanto, ao aplicarem o teste para identificação de cumarina e catequina, observaram a ausência de tais metabólitos, corroborando com o resultado observado na presente pesquisa. A ausência de determinadas classes de metabólitos secundário quando aplicada a prospecção preliminar em tubos corresponde ao fato da técnica, embora bastante usual, consiste em um método qualitativo, no qual a própria coloração do extrato pode interferir no resultado final, sendo desse modo necessário o emprego de técnicas de identificação complementares mais específicas para confirmação dos resultados. Além disso, a presença ou ausência de metabólitos secundários em plantas podem variar de acordo com o período de colheita, a sazonalidade, método de embalagem, de liofilização, etc¹¹².

4.2.2 Identificação e quantificação dos flavonóides nos extratos etanólicos de rasuras de *M. recutita*

Como pôde ser observado por meio dos cromatogramas dispostos na figura 7, os extratos etanólicos de rasura de *M. recutita* A, B, C e E apresentaram menores concentrações do composto bioativo **1**, enquanto os extratos D, F, H, I disponibilizaram as menores concentrações de **5**. Por sua vez, os extratos C e H apresentaram como componente minoritário o composto **7**. O extrato etanólico C

apresentou a mesma concentração dos padrões de **1** e **7**, sendo 0,37 µg/mL, além disso, o extrato C, dentre todos os nove extratos, apresentou a maior concentração do flavonoide **2**, com 7,84 µg/mL.

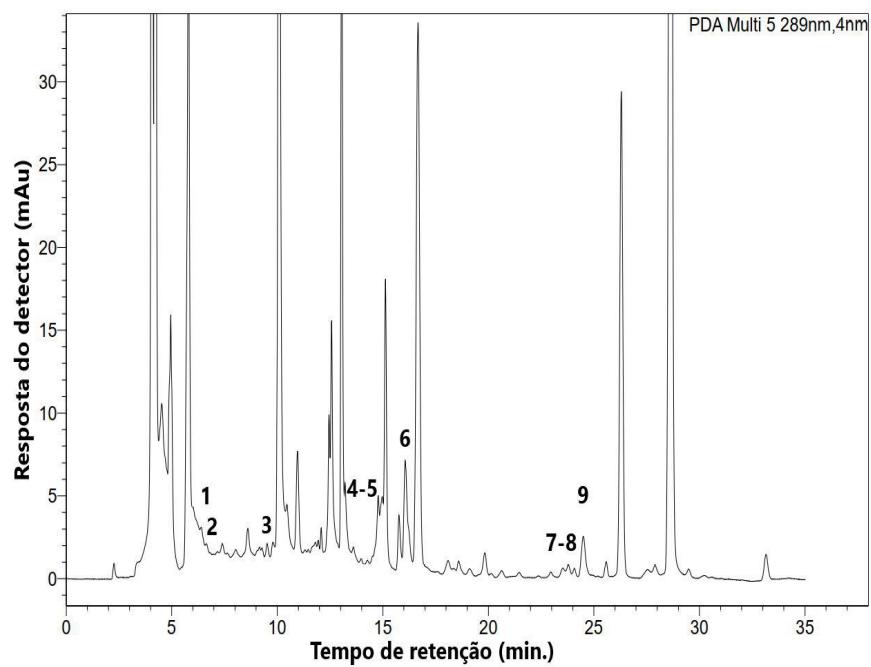
Embora tenham apresentado concentrações baixas, os compostos bioativos correspondentes aos picos cromatográficos indicados como **8** e **9** nos cromatogramas H e I apresentados na figura 4.1, demonstraram possuir percentuais estatisticamente consideráveis maiores que 1 µg/mL nos extratos etanólicos de *M. recutita* B, D, E, F, G e H. O extrato etanólico F apresentou o maior percentual do composto **3** (23,47 µg/mL) e de **4** (14,56 µg/mL). Por sua vez o extrato etanólico A apresentou a concentração mais baixa do composto **4**, com um total de 4,94 µg/mL.

Dentre os nove extratos etanólicos de *M. recutita* analisados, o extrato etanólico D expressou a maior concentração dos compostos bioativos **6**, **3** e **4**, sendo a concentração de cada composto igual a 24,30 µg/mL, 13,05 µg/mL e 11,60 µg/mL, respectivamente. Em contrapartida, o extrato etanólico G, apresentou as menores concentrações de todos os padrões analisados, como pode ser visto na Tabela 4.3.

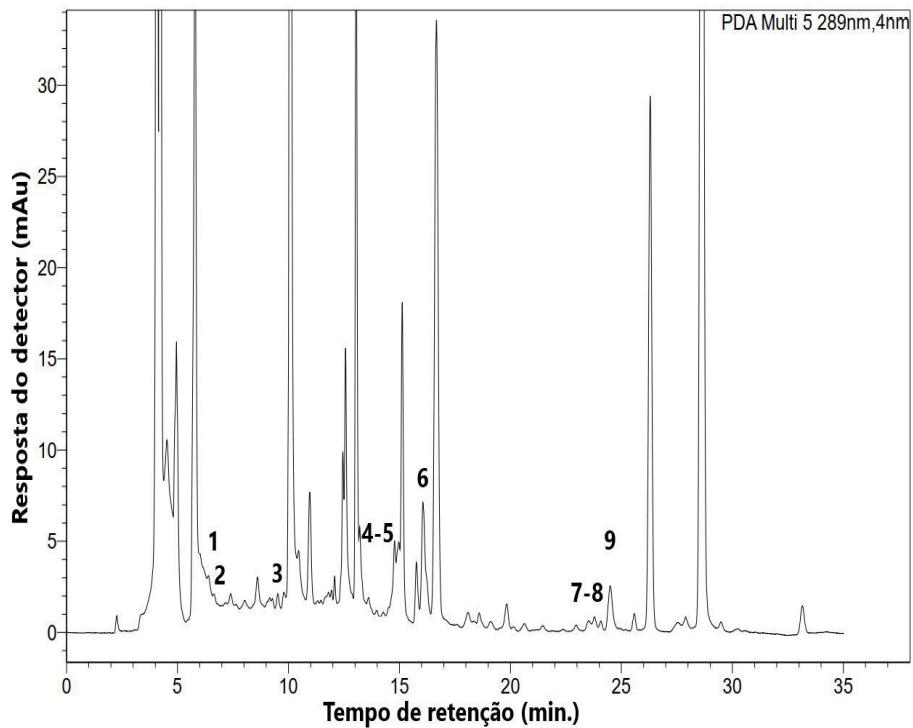
Tabela 4.3. Concentração dos compostos bioativos identificados e quantificados nos extratos etanólicos de *M. recutita*

Compostos Bioativos	Amostras ([] µg/mL)								
	A	B	C	D	E	F	G	H	I
1	0,36	0,31	0,37	0,63	0,22	0,93	1,75	1,25	0,27
2	3,57	7,36	7,84	4,11	6,76	7,17	4,34	3,02	3,23
3	8,10	9,00	9,05	13,05	7,53	23,47	6,20	14,74	11,84
4	4,94	5,77	5,20	11,60	9,45	14,56	5,16	11,94	13,21
5	1,07	0,89	2,82	0,23	3,72	0,88	2,93	0,23	0,23
6	7,41	12,24	14,04	24,30	14,70	19,58	4,51	3,32	13,63
7	0,93	0,49	0,37	0,88	0,53	2,18	0,54	1,16	0,39
8	0,93	1,16	0,70	1,28	1,03	1,87	0,80	1,21	0,86
9	0,36	1,38	0,92	1,19	1,30	1,85	1,36	0,86	0,85

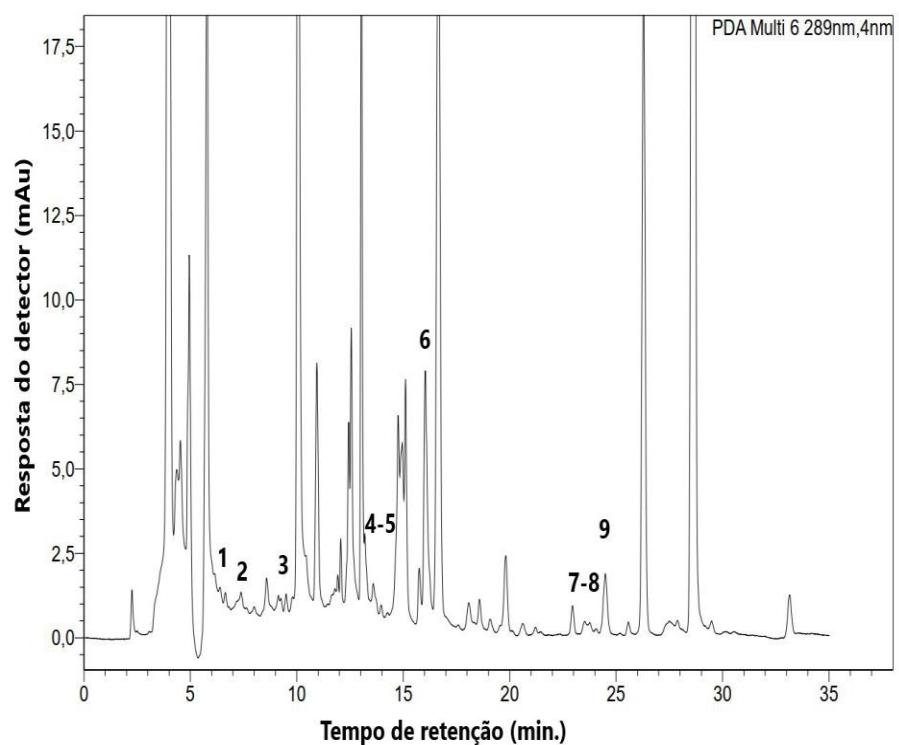
1: vitexina **2:** catequina **3:** quercetrina **4:** luteolina **5:** amentoflavona **6:** apigenina **7:** crisina **8:** acacetina **9:** pinocembrina.



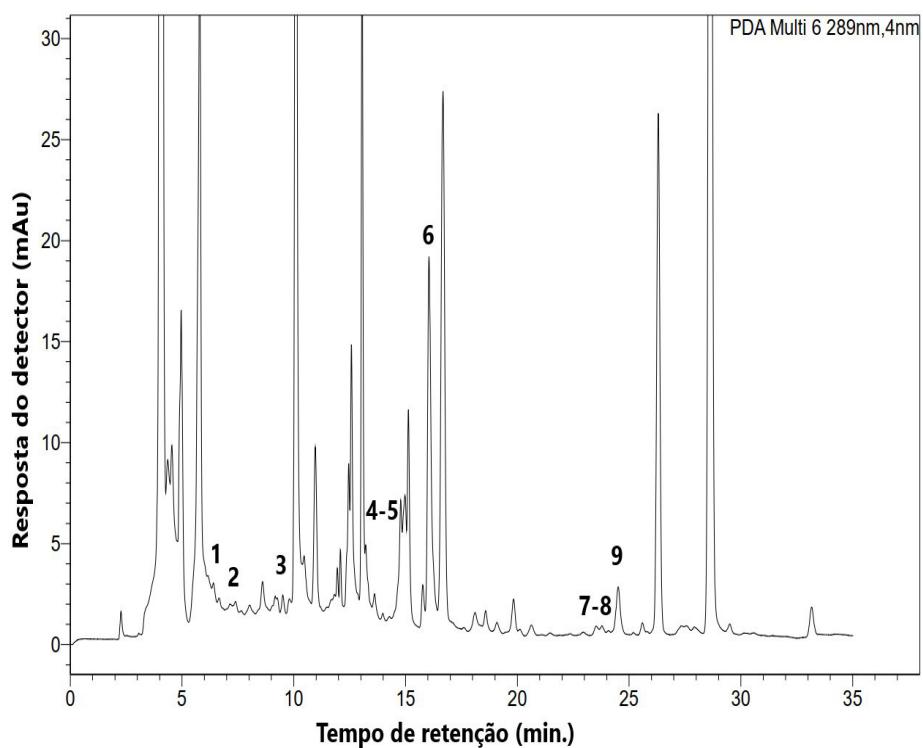
Extrato etanólico A



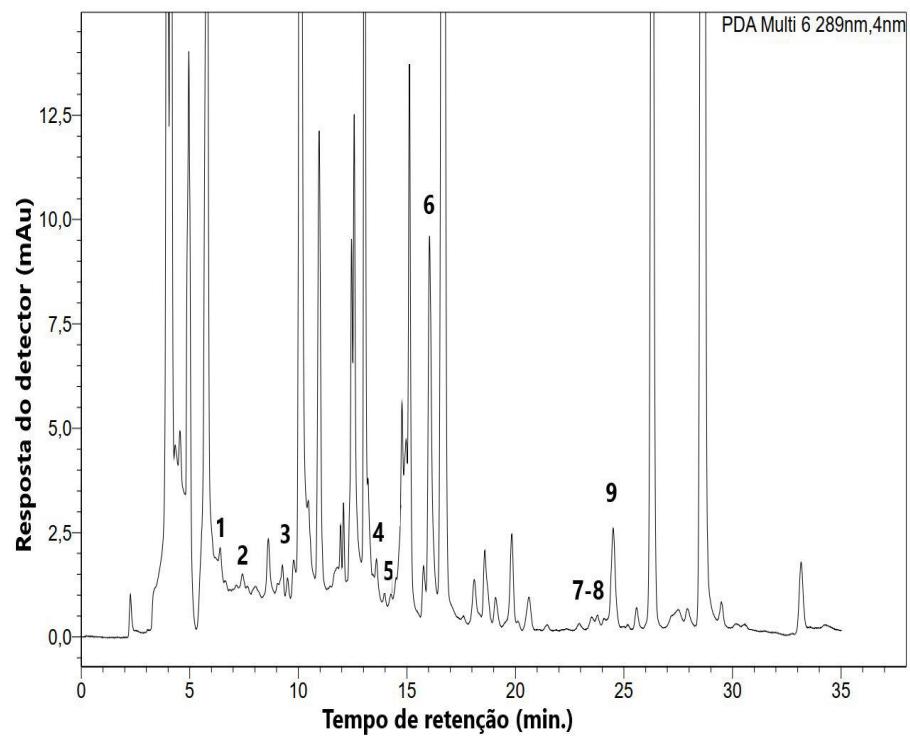
Extrato etanólico B



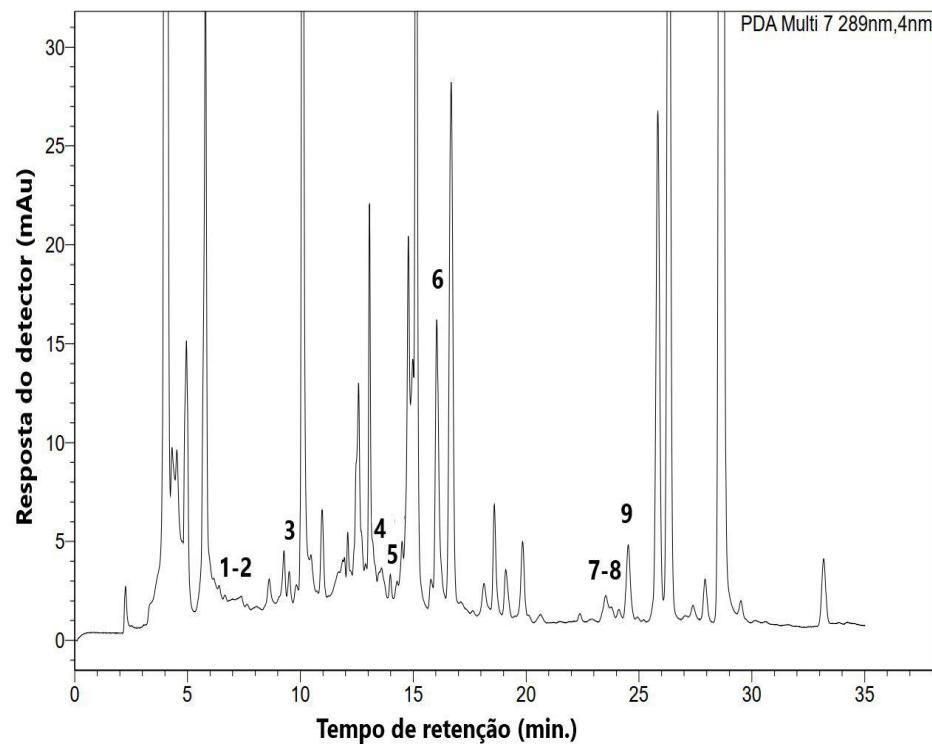
Extrato etanólico C



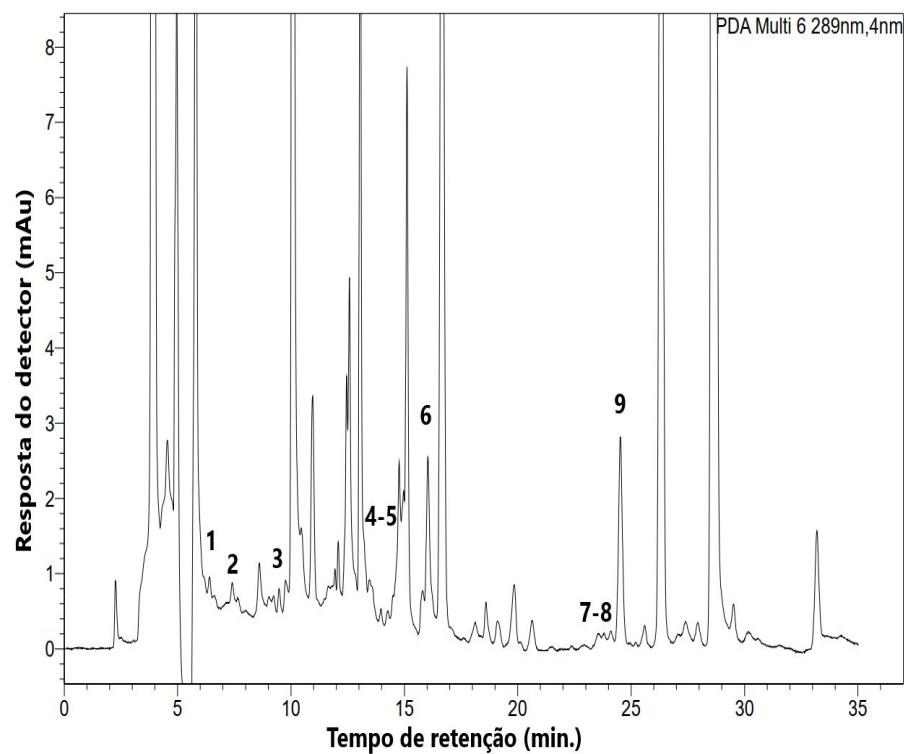
Extrato etanólico D



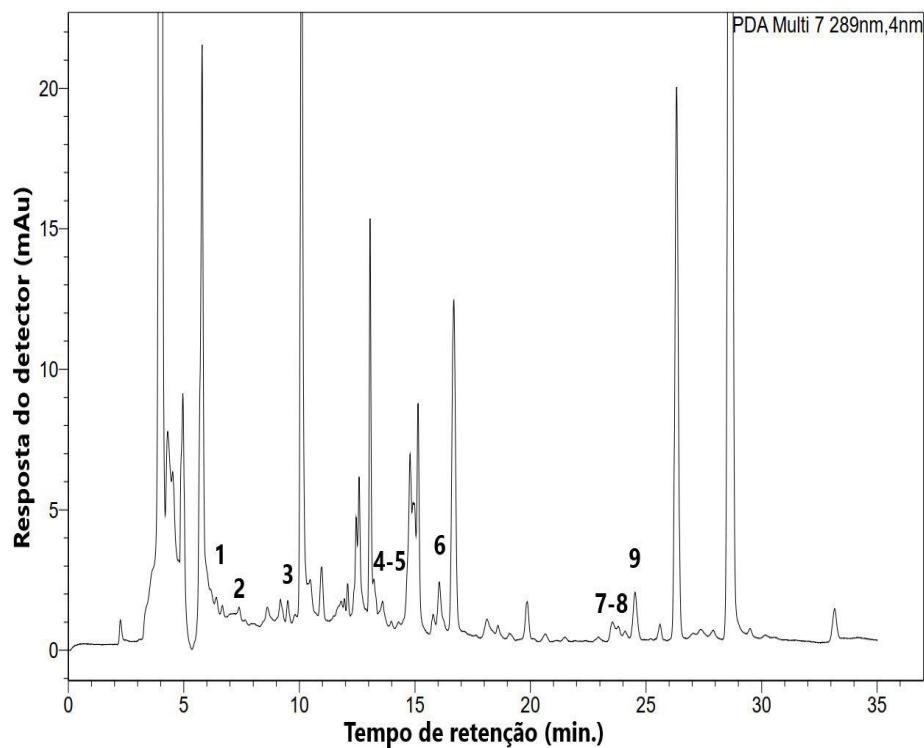
Extrato etanólico E



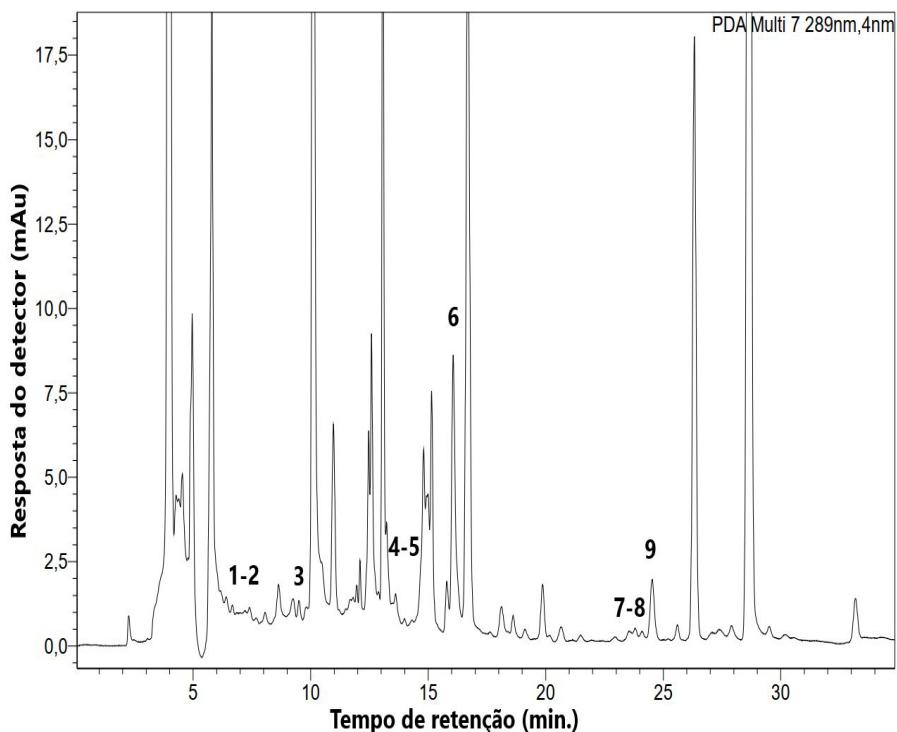
Extrato etanólico F



Extrato etanólico G



Extrato etanólico H



Extrato etanólico I

Figura 4.1. Cromatogramas obtidos para os extratos etanólicos de rasuras de *M. recutita* por meio da técnica de CLUE-UV-DAD em comprimento de onda igual a 289 nm.

Fonte: autores, 2023.

Como foi possível verificar, todos os extratos etanólicos provenientes das rasura de *M. recutita* analisados apresentaram os nove padrões previamente caracterizados. Dentre os compostos identificados e quantificados a vitexina, amentoflavona e crisina, mostraram-se como os componentes minoritário em todos os nove extratos. A vitexina (Figura 4.2.1) é uma biomolécula agonista de receptores GABA, devido a sua capacidade de ligar-se ao receptor celular, associa-se ao efeito ansiolítico, atuando no organismo semelhante ao efeito de substâncias benzodiazepínicas (ansiolíticos sintéticos). Por sua vez, a amentoflavona (Figura 4.2.5) é um biflavonoide que age no organismo como um inibidor enzimático, em especial na inibição de enzimas que oxidam xenobióticos, que são moléculas orgânicas estranhas, como toxinas e drogas. Além disso, a amentoflavona possui a atividade moduladora alostérica de benzodiazepínicos nos receptores GABA¹¹³.

O composto bioativo minoritário nos extratos etanólicos de *M. recutita* C e H, a crisina (Figura 4.2.7), foi apontada em um estudo *in silico* desenvolvido por Del Fabbro¹¹³ (2019), como um composto protetor neurodegenerativo para as doenças de Parkinson e esclerose múltipla, agindo na inibição das enzimas degenerativas histona deacetilase (HDCA) e glicogênio sintase kinase-3β. Além disso, embora em concentrações baixas, os extratos etanólicos B, D, E, F, G e H apresentaram percentuais estatisticamente significativos do composto pinocembrina (Figura 4.2.9), que corresponde a um importante antioxidante e de acacetina (Figura 4.2.8), que é associada ao efeito antiviral da própolis¹¹⁴.

Os compostos bioativos em maior concentração identificadas nos extratos etanólicos de rasura de *M. recutita* foram a quercitrina (Figura 4.2.3), luteolina (Figura 4.2.4) e apigenina. A quercitrina é um composto glicosídeo proveniente da ligação entre o flavonoide catequina e o açúcar ramnose. Vechia et al.¹¹⁵ (2016), ao analisarem a composição química por meio da Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), da espécie pertencente à família Asteraceae, a *Solidago chilensis* Meyen, identificaram a quercitrina como seu composto bioativo majoritário, possuindo uma concentração igual a 5,29% da planta. A *S. chilensis* é popularmente utilizada através de tintura como um antimicrobiano tópico no tratamento de inflamações cutâneas, corroborando assim com a associação de seu composto bioativo majoritário, a quercitrina, a sua ação antimicrobiana. Entretanto, faz-se necessária a realização de mais estudos a respeito da ação antibacteriana e antifúngica deste composto.

Outro composto bioativo identificado no extrato etanólico da *M. recutita* foi a biomolécula luteolina, por sua vez, o composto corresponde a estrutura de um bioflavonóide, correlacionando-se as atividades antioxidante e anti-inflamatória¹¹⁶

A flavona apigenina (Figura 4.2.6), pertencente a classe dos flavonóides, é indicada como marcador biológico da *M. recutita*, sendo atribuído ao biocomposto e seus derivados as mais diversas ações terapêuticas, como a atividade ansiolítica, antimicrobiana e antioxidante¹¹⁷. Por sua vez, a molécula **6** apresentou o maior percentual em termos de concentração. Esse composto vem validando-se como um importante agente da ação antimicrobiana e antiparasitária, como evidenciado por Fonseca-Silva et al.¹¹⁸ (2016), que ao avaliaram o efeito deste composto no tratamento oral em camundongos infectados com *L. amazonenses*, uma das cepas parasitárias transmissoras de Leishmania, observaram a eficácia da apigenina

isolada no tratamento da doença parasitária. Ainda, Fonseca-Silva et al.¹¹⁸ (2016) destacaram que a ação da apigenina promoveu a inibição da atividade parasitária nos camundongos sem agregar ao grupo teste efeitos colaterais, considerando que efeitos adversos são comuns com a aplicação dos tratamentos atuais.

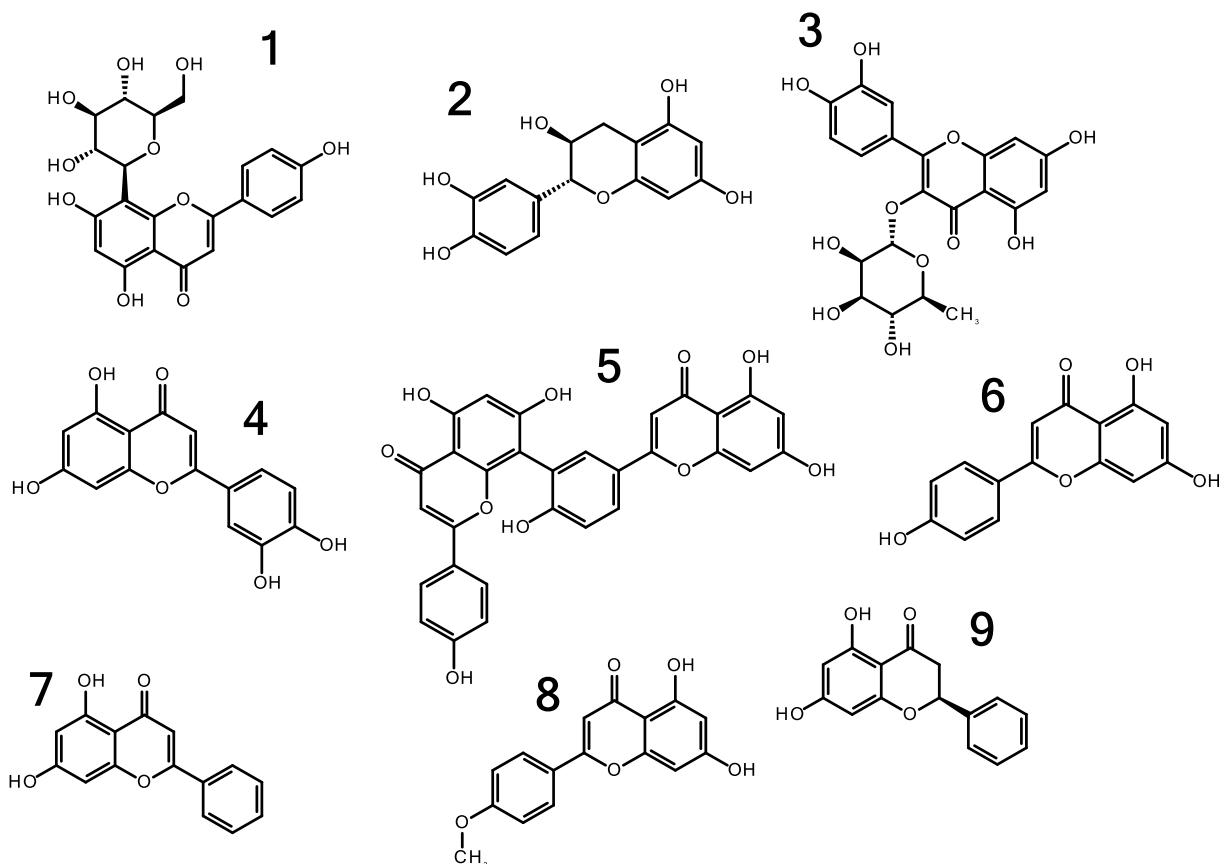


Figura 4.2. Compostos bioativos identificados por CLUP. 1: vitexina 2: catequina 3: quercetrina 4: luteolina 5: amentoflavana 6: apigenina 7: crisina 8: acacetina 9: pinocembrina.

Fonte: autores, 2023.

4.3 Avaliação da atividade antimicrobiana *in vitro* dos extratos etanólicos das amostras de *M. recutita*

A Concentração Inibitória Mínima (CIM) é definida como a menor concentração de extrato capaz de inibir o crescimento microbiano das bactérias gram-positiva *S. aureus*, gram-negativa *E. coli* e da levedura *C. albicans*.

Para a realização do teste de suscetibilidade das bactérias, utilizou-se a molécula indicadora de resazurina, que consiste em uma substância de coloração azul não-fluorescente, que ao entrar em contato com bactérias metabolicamente ativas, é reduzida a resorufina, passando a adotar uma coloração rosa altamente fluorescente. Caso a coloração do meio após a inserção da resazurina permaneça azul, é um indicativo da inibição bacteriana¹¹⁹.

Todos os extratos etanólicos de *M. recutita*, mostraram-se eficazes na inibição da atividade bacteriana de *S. aureus* e *E. coli*. Além disso, todos os extratos etanólicos (A-I), apresentaram a CIM firmada em $6,10 \times 10^3$ µg/mL. Nas concentrações mais baixas, $3,12 \times 10^3$ µg/mL e $1,56 \times 10^3$ µg/mL nenhuma amostra mostrou a capacidade de inibir a atividade bacteriana frente a resazurina (Tabela 4.4).

Tabela 4.4. Atividade bactericida dos extratos etanólicos de *M. recutita* frente a ação da resazurina.

Extrato	<i>Staphylococcus aureus</i> ([] µg/mL)						
	1×10^5	5×10^4	$2,5 \times 10^4$	$1,25 \times 10^4$	$6,25 \times 10^3$	$3,12 \times 10^3$	$1,56 \times 10^3$
A	+	+	+	+	+	-	-
B	+	+	+	+	+	-	-
C	+	+	+	+	+	-	-
D	+	+	+	+	+	-	-
E	+	+	+	+	+	-	-
F	+	+	+	+	+	-	-
G	+	+	+	+	+	-	-
H	+	+	+	+	+	-	-
I	+	+	+	+	+	-	-

	<i>Escherichia coli</i> ([] µg/mL)						
A	+	+	+	+	+	-	-
B	+	+	+	+	+	-	-
C	+	+	+	+	+	-	-
D	+	+	+	+	+	-	-
E	+	+	+	+	+	-	-
F	+	+	+	+	+	-	-
G	+	+	+	+	+	-	-
H	+	+	+	+	+	-	-
I	+	+	+	+	+	-	-

+: inibiu a atividade do microrganismo; -: não inibiu a atividade do microrganismo

Todos os extratos etanólicos de *M. recutita* inibiram o crescimento das bactérias gram-negativa (*E. coli*) e gram-positiva (*S. aureus*). Atividade bactericida dos extratos etanólicos de *M. recutita* foi evidenciada por Marcioli¹²⁰ (2015), no qual o autor apontou a ação do extrato frente a bactérias pertencentes a classe das *Alicyclobacillus spp.* Por sua vez, Bezerra (2009), ao analisar a CIM da infusão de flores de camomila frente *S. aureus* e *E. coli*, não observou nenhuma ação inibitória propiciada pelo infuso, entretanto, ao refazer o teste utilizando dessa vez o óleo essencial das flores da *M. recutita*, Bezerra¹²¹ (2009) evidenciou a ação inibitória do óleo essencial, sendo a CIM igual a 0,0652 mg/mL.

Além da atividade bactericida, avaliou-se a CIM para a levedura *C. albicans*, a qual os extratos etanólicos de *M. recutita* conseguiram inibir a atividade fúngica na concentração mínima de $6,25 \times 10^3$ µg/mL. Melo et al.¹²¹ (2010), avaliaram a atividade antifúngica da pomada comercial a base de camomila 10% AD-Muc®, em 29 cepas de *C. albicans*. Das cepas analisadas, o produto inibiu o crescimento de 28, apontando assim, o potencial papel coadjuvante do composto bioativo no tratamento da estomatite protética causada por infecções associadas a candidíase. Ainda, o estudo preliminar realizado por Dos Santos et al.¹²² (2016), demonstrou o potencial antifúngico *in vitro* do extrato etanólico da camomila. O fato de as amostras estudadas apresentarem uma boa atividade antimicrobiana, relaciona-se

diretamente com presença de flavonóides em sua composição, que possuem o potencial inibitório de microrganismos patógenos, como o caso da apigenina e quercitrina.

4.4 Avaliação do potencial antioxidante dos extratos etanólicos das amostras de *M. recutita* frente ao radical de DPPH

Os extratos etanólicos de *M. recutita* foram avaliados quanto ao potencial de sequestro do radical de DPPH que consiste em um ensaio que realiza a medição do comprimento de onda da solução contendo o agente antioxidante e o radical livre ao decorrer de um tempo pré-determinado¹²³. Quanto menor a concentração do extrato capaz de reduzir 50% do radical DPPH, melhor é a atividade antioxidante deste¹²⁴.

Como é possível observar na Tabela 4.5, os extratos etanólicos de *M. recutita* B e H apresentaram concentrações de IC₅₀ inferiores ao dos padrões utilizados, sendo o BHT com Cl₅₀ igual a 69,34 µg/mL e a Rutina, com Cl₅₀ igual a 47,08 µg/mL. O extrato etanólico H apresentou o IC₅₀ igual a 34,78 µg/mL, enquanto o extrato etanólico B apresentou o Cl₅₀ de 40,20 µg/mL, desse modo infere-se que os extratos B e H possuem a maior capacidade antioxidante comparando-se o resultado obtido pelo demais extratos analisados. Em contrapartida, o extrato etanólico de *M. recutita* D apresentou o maior Cl₅₀, sendo igual a 158,27 µg/mL, demonstrando que o extrato possui uma baixa capacidade antioxidante, assim como os extratos etanólicos A e I, com IC₅₀ de 103,98 µg/mL e 102,14 µg/mL, respectivamente.

Tabela 4.5. Concentração inibitória (Cl₅₀) dos extratos etanólicos de *M. recutita*.

Extrato etanólico de <i>M. recutita</i>	IC ₅₀ (µg/mL)
Rutina (+)	47,08 ± 4,65
BHT (+)	69,34 ± 5,53
A	103,98 ± 36,06
B	40,20 ± 4,05

C	63,18 ± 4,54
D	158,27 ± 10,87
E	71,59 ± 0,92
F	86,29 ± 0,49
G	71,90 ± 5,38
H	34,78 ± 0,66
I	102,14 ± 6,67

(+): controle positivo.

O IC_{50} corresponde a identificação da concentração necessária para inibir 50% da oxidação de um substrato. Essa avaliação é útil para comparar a atividade antioxidante de diferentes compostos e determinar a concentração ideal em uma formulação, além de avaliar possíveis efeitos tóxicos¹²⁵.

Cada extrato etanólico de *M. recutita* apresentou uma IC_{50} distinta, em uma ordem descrente o extrato etanólico H demonstrou o melhor potencial antioxidante, desse modo segue-se a seguinte ordem para o potencial antioxidante dos extratos: H>B>C>E>G>F>I>A>D.

Almeida et al.¹²⁶ (2016) indicou em seu estudo, que embora os flavonoides possuam uma contribuição extremamente crucial para a atividade antioxidante da *M. recutita*, a presença majoritária de outras classes de compostos fenólicos como taninos, cumarinas e ácidos fenólicos, podem interferir no potencial antioxidante da *M. recutita*, o que corrobora com os resultados apresentados no estudo, considerando que a análise de quantificação e identificação dos extratos etanólicos só foi realizada para os derivados de flavonas.

4.5 Predição ADMET

Como verificou-se nos ensaios *in vitro* os diferentes extratos etanólicos de *M. recutita* possuem atividades antimicrobiana e antioxidante, tendo em vista a ação direta dos compostos bioativos sobre tais ações, fez-se necessária a avaliação do potencial toxicológico das substâncias isoladas por meio da técnica cromatográfica

UPLC. Para isso, utilizou-se o modelo *in silico* ADMET, que corresponde a um método *in silico* utilizado para avaliar as propriedades farmacocinéticas e toxicológicas de moléculas com potencial terapêutico, para isso o método baseia-se na predição da absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade de tais substâncias¹²⁷. Considera-se ainda, que a avaliação do potencial toxicológico é uma etapa essencial para moléculas candidatas a fármacos, como evidenciado por Silva & Padilha¹²⁸ (2023), uma vez que visa avaliar a segurança de tais substâncias para o potencial uso em humanos.

Todos os resultados obtidos por meio da predição ADMET estão dispostos na Tabela 4.6.

Tabela 3.6. Predições ADMET

ADMET	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Ligaçāo às Proteínas Plasmáticas (LPP)(%)	61.32	86.70	64.95	100	99.72	99.4	95.0	90.92	98.45
Penetração da Barreira Hematoencefálica (PBH)	0.038	1.58	0.037	0.12	0.37	0.27	0.93	0.15	0.91
Permeabilidade na pele (logK_p. cm/hour)	-4.61	-2.7	-4.64	-3.44	-4.3	-4.15	-3.35	-3.36	-3.40
Absorção do Intestino Humano (AIH%)	31.37	97.64	24.94	81.19	79.43	88.12	92.64	93.04	92.35
Permeabilidade em células CaCo-2 (nm/sec)	5.49	54.25	7.37	12.87	4.54	10.54	2.48	12.79	2.47
Inibição da glicoproteína-P	N	N	N	I	N	N	N	N	N
Solubilidade em água (mg/L)	196.17	431.88	31.89	0.14	220.69	111.16	61.79	60.05	157.54
Solubilidade em água pura (mg/L)	344.56	119.08	151.86	0.044	121.50	79.59	55.06	38.15	86.62
Teste Ames	NM	M	NM	M	M	M	M	M	M

Ames TA100 (+S9)	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+
Ames TA100 (-S9)	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+
Ames TA1535 (+S9)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ames TA1535 (-S9)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Carcinogenicidade em camundongos	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-
Carcinogenicidade em ratos	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-
Inibição da enzima CYP2C19	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
Inibição da enzima CYP2C9	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I

(*) Inibidor, (**) Substrato, (+S9): ativação metabólica, (-S9): sem ativação metabólica

Os compostos **1** e **3** apresentaram uma interação fraca em relação a Ligação com a Proteína Plasmática (LPP), sendo respectivamente 64,95% e 61,32%, considerando que o percentual de PPB considerado de alta probabilidade de ligação corresponde aqueles compostos que possuem valores superiores a 89%.

No que se refere a Penetração da Barreira Hematoencefálica (PBH) os compostos **1** e **3** dispuseram de uma baixa taxa de penetração, com valores iguais a 0.037 e 0.038, respectivamente. Em contrapartida, os demais compostos apresentaram valores superiores a 0.1. Ainda, com exceção dos compostos **1** e **3**, que apresentaram taxas de absorção intermediária, todas as demais moléculas apresentaram uma alta porcentagem de Absorção Intestinal Humana (AIH).

Todos os nove compostos bioativos apresentaram valores inferiores a 0.1 em relação a permeabilidade na pele, indicando a eficácia destes para possíveis formulações tópicas. As previsões ADMET de permeabilidade em células CaCo-2, que correspondem a células provenientes de adenocarcinoma de cólon humano, indicaram que os compostos bioativos **8**, **5**, **6**, **2**, **4**, **3** e **1** possuíram coeficientes de permeabilidade intermediário, enquanto **7** e **9** apresentaram coeficientes indicativas de baixa permeabilidade.

Apenas o composto bioativo **5** apresentou possibilidade de inibição da glicoproteína P, que corresponde a uma proteína pertencente a diversos tecidos do corpo humano, como no trato gastrointestinal e no fígado, auxiliando na proteção do organismo contra substâncias estranhas e xenobióticos.

A predição ADMET indicou que apenas os compostos bioativos **3** e **1** não apresentaram perfil mutagênico. Nos testes de linhagens específicas com ativação metabólica (+S9) e sem ativação metabólica (-S9), os compostos bioativos **8**, **6**, **2**, **7** e **9** apresentaram potencial para o desenvolvimento mutagênico na cepa TA100, mas não na cepa TA1535. Por sua vez, os biocompostos **5**, **3** e **1** apresentaram previsões negativas para as linhagens específicas avaliadas, enquanto o composto **4** apresentou uma predição positiva apenas para a cepa TA100.

Os compostos bioativos **7**, **9** e **3** foram os únicos compostos a expressar previsões negativas quanto ao teste de carcinogenicidade em camundongos. Por outro lado, quando testado a carcinogenicidade em ratos, os compostos **2**, **7**, **9**, **3** e **1** também descreveram previsões negativas.

Por fim, de acordo com a Regra de Lipinski's, as substâncias **5** e **3** indicaram não poderem obter a classificação como possíveis drogas, considerando que **5**

possui peso molecular maior que 500 u.m.a. e mais de cinco doadores de ligação de H, e que a substância **3** apresentou em sua estrutura mais de 5 doadores de ligação de H.

Deste modo, a predição ADMET dos compostos bioativos identificados dos extratos etanólicos de *M. recutita* demonstram que apenas a **3** e **1** não apresentaram um perfil mutagênico no teste de Ames, que consiste em uma técnica utilizada para avaliar o potencial mutagênico de compostos químicos. Através da exposição a bactérias mutantes que não podem crescer sem um aminoácido específico, o teste é capaz de identificar a capacidade do composto em causar mutações nas células humanas. A quantificação do número de mutações permite avaliar a intensidade do efeito mutagênico. Esse teste é importante para a triagem de compostos com potencial mutagênico e carcinogênico na indústria farmacêutica e química, contribuindo para evitar possíveis riscos à saúde humana¹²⁹.

Em contrapartida, os compostos bioativos **4**, **6**, **2**, **7**, **5** e **9** associaram-se a possíveis mutações. Resultados semelhantes aos obtidos no presente estudo foram observados por Toroco et al.¹³⁰ (2023), que ao realizarem o teste de Ames para a **6**, **5** e **7**, observaram que o composto bioativo **5** apresentou nível de toxicidade moderada. O nível de toxicidade no teste de Ames é medido pela capacidade do composto analisado em inibir a ação ou matar as bactérias usadas no ensaio. Desse modo, compostos que possuem uma alta taxa de toxicidade podem ser nocivos, portanto, não são recomendados para uso em produtos de consumo¹³¹.

Capítulo 5

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As rasuras de *M. recutita* apresentaram discordância em relação ao cumprimento das normas brasileiras de embalagem regulamentadas pela RDC nº 26/2014. Ainda, os extratos etanólicos produzidos a partir das rasuras de *M. recutita*, apresentaram como compostos bioativos as flavonas apigenina, quercetrina e luteolina, que por sua vez corroboram com os resultados positivos para a inibição de microrganismos e para a potencial atividade antioxidante em relação ao radical DPPH.

Através dos testes de inibição da atividade antimicrobiana foi possível averiguar o potencial antifúngico e antibactericida dos extratos etanólicos de camomila, comprovando sua possível eficácia terapêutica no tratamento de doenças microbianas, ou até mesmo na aplicação dos extratos ou bioativos como coadjuvantes no tratamento de doenças recorrentes, como a candidíase. Entretanto, os resultados da análise ADMET indicaram que dos nove compostos bioativos identificados e quantificados de *M. recutita*, apenas a quercetrina e a vitexina não apresentam possíveis perfis mutagênicos, sendo um resultado importante para a avaliação da aplicação farmacológica desses compostos como ativos em formulações ou até mesmo como drogas em potencial.

Apesar desses resultados, é necessário realizar estudos complementares em modelos *in silico*, como o docking molecular e o teste QSAR (Quantitative Structure-Activity Relationship), para avaliar a aplicação de compostos identificados, além de promover o isolamento dos compostos bioativos, em especial a quercetrina e a vitexina, para avaliação isolada dos efeitos farmacológicos *in vivo* dos bioativos.

REFERÊNCIAS

1. PATRÍCIO, Karina Pavão et al. O uso de plantas medicinais na atenção primária à saúde: revisão integrativa. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 27, p. 677-686, 2022. Doi: <https://doi.org/10.1590/141575020270677>
2. SOTO-RESTREPO, Valentina; TABORDA-OCAMPO, Gonzalo; GARZON-MENDEZ, William. Salvinorina A: terpeno alucinógeno presente en *Salvia divinorum* Epling & Játiva. **Colombia Forense**, v. 4, n. 1, 2017.
3. LI, Guangdi; DE CLERCQ, Erik. A medicinal chemist who reshaped the antiviral drug industry: John Charles Martin (1951–2021). **Medicinal Research Reviews**, v. 42, n. 2, p. 647-653, 2022. Doi: <https://doi.org/10.1002/med.21858>.
4. VEIGA JUNIOR, Valdir F.; PINTO, Angelo C.; MACIEL, Maria Aparecida M. Plantas medicinais: cura segura?. **Química nova**, v. 28, p. 519-528, 2005. Doi: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422005000300026>.
5. CECHINEL-ZANCHETT, Camile Cecconi et al. Diuretic and renal protective effect of kaempferol 3-O-alpha-l-rhamnoside (afzelin) in normotensive and hypertensive rats. **Journal of Natural Products**, v. 83, n. 6, p. 1980-1989, 2020. Doi: <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.0c00274>.
6. OLIVEIRA, Daniela Moura de; BASTOS, Deborah Helena Markowicz. Biodisponibilidade de ácidos fenólicos. **Química Nova**, v. 34, p. 1051-1056, 2011. Doi: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422011000600023>.
7. GAIÃO, Cristina Kelly Toscano et al. Avaliação e classificação da contraindicação de plantas medicinais usadas popularmente na interferência reprodutiva. In: **Congresso brasileiro de ciências de saúde**, n. II. 2017. p. 12.
8. ARAÚJO, Pedro Nogueira et al. Quality control of commercial samples of “arnica” (*Arnica montana* and *Solidago chilensis*) from Rio de Janeiro, Brazil. **Revista Agrogeoambiental**, v. 13, n. 1, 2021. Doi: <http://orcid.org/0000-0002-0801-6993>
9. FLOR, Alessandra Simone Santos de Oliveira; BARBOSA, Wagner Luiz Ramos. Sabedoria popular no uso de plantas medicinais pelos moradores do bairro do sossego no distrito de Marudá-PA. **Revista brasileira de plantas medicinais**, v. 17, p. 757-768, 2015. Doi: https://doi.org/10.1590/1983-084X/14_064.
10. MORESKI, Danieli Bobbo; BUENO, Fernanda Giacomini; DE SOUZA LEITE-MELLO, Eneri Vieira. Ação cicatrizante de plantas medicinais: um estudo de

- revisão. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, v. 22, n. 1, 2018. Doi: <https://doi.org/10.25110/arqsaude.v22i1.2018.6300>.
11. SOUZA, Jéssica Silva; FORTUNA, Jorge Luiz. Breve revisão sobre uso medicinal de três plantas encontradas na mata atlântica do extremo sul da Bahia: *Fevillea trilobata*, *Cordia verbenacea* e *Carapichea ipecacuanha*. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 5, n. 3, p. 10015-10040, 2022. Doi: <https://doi.org/10.34119/bjhrv5n3-169>.
12. FREITAS, Juliano Carlo Rufino et al. Avanços na Síntese, Atividades Biológicas e Aplicações de Cordiaquinonas: Uma Revisão. **Revista Virtual de Química**, v. 13, n. 6, p. 1353-1371, 2021. Doi: <https://doi.org/10.21577/1984-6835.20210088>.
13. FERREIRA, Ewerton Elivaldo et al. A importância do uso de fitoterápicos como prática alternativa ou complementar na atenção básica: revisão da literatura. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 1, p. e44611124643-e44611124643, 2022. Doi: <https://doi.org/10.33448/rsd-v11i1.24643>.
14. DA ROCHA GALUCIO, Natasha Costa et al. Análise do perfil de segurança de medicamentos fitoterápicos no Brasil: revisão de literatura. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 13, p. e159101320888-e159101320888, 2021. Doi: <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i13.20888>.
15. FONSECA, Lyca da et al. Herbal medicinal products from Passiflora for anxiety: An unexploited potential. **The Scientific World Journal**, v. 2020, 2020. Doi: <https://doi.org/10.1155/2020/6598434>.
16. PÉREZ, Aracely Hernández et al. Plantas medicinales de la familia Asteraceae con actividad hipoglucemiantre en México. Una revisión. **Boletín de Ciencias Agropecuarias del ICAP**, v. 8, n. 16, p. 14-17, 2022. Doi: <https://doi.org/10.29057/icap.v8i16.8274>.
17. FUNK, Vicki Ann et al. Classification of compositae. **Systematics, evolution, and biogeography of Compositae**, 2009.
18. CORREIA, Suzimone; DAVID, Juceni; DAVID, Jorge. Metabólitos secundários de espécies de Anacardiaceae. **Química Nova**, v. 29, p. 1287-1300, 2006.
19. BEZERRA, Amanda Letícia Fiorentino Mandu et al. Óleos essenciais uma alternativa para o controle de larvas do gênero *Anopheles*: uma revisão. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 11, p. e37101119384-e37101119384, 2021. Doi: <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i11.19384>.

20. KIM, Moo Jung et al. Nutritional value, bioactive compounds and health benefits of lettuce (*Lactuca sativa* L.). **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 49, p. 19-34, 2016. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2016.03.004>.
21. LEWI, Dalia; ESTEBAN, Hopp; ESCANDÓN, Alejandro. Sunflower (*Helianthus annuus* L.). **Agrobacterium protocols**, p. 291-298, 2006. Doi: <https://doi.org/10.1385/1-59745-130-4:291>.
22. PETRONILHO, Sílvia et al. *In vitro* and *in vivo* studies of natural products: A challenge for their valuation. The case study of chamomile (*Matricaria recutita* L.). **Industrial crops and products**, v. 40, p. 1-12, 2012. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.02.041>.
23. NARVAES, João Victor Rodrigues et al. Avaliação da eficácia da *Chamomilla recutita* L. no tratamento de lesões cutâneas. **Research, Society and Development**, v. 12, n. 4, p. e21312441300-e21312441300, 2023. Doi: <https://doi.org/10.33448/rsd-v12i4.41300>.
24. DEMARTELAERE, Andréa Celina Ferreira et al. Aspectos farmacológicos das plantas medicinais e as implicações com o meio ambiente: revisão bibliográfica: Pharmacological aspects of medicinal plants and the implications for the environment: literature review. **Brazilian Journal of Development**, v. 8, n. 10, p. 69198-69219, 2022. Doi: <https://doi.org/10.34117/bjdv8n10-279>.
25. HELLMANN, Mardjori Andrade; VELASQUEZ, Leonardo Garcia. Contaminação microbiológica em plantas medicinais e hortaliças e sua implicação no estado de saúde do consumidor: revisão. **Arquivo de Ciências da Saúde UNIPAR**, v. 21, n. 2, p. 123-130, 2017. Doi: <https://doi.org/10.25110/arqsaud.v21i2.2017.5862>.
26. AMARAL, Wanderlei. et al. Desenvolvimento da camomila, rendimento e qualidade do óleo essencial em diferentes idades de colheita. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 16, p. 237-242, 2014. Doi: <https://doi.org/10.1590/S1516-05722014000200011>.
27. JESCHKE, Elke et al. Remedies containing Asteraceae extracts: a prospective observational study of prescribing patterns and adverse drug reactions in German primary care. **Drug safety**, v. 32, p. 691-706, 2009. Doi: <https://doi.org/10.2165/00002018-200932080-00007>.
28. CONSOLINI, Alicia; RAGONE, Maria. Patterns of self-medication with medicinal plants and related adverse events-a South American survey. **Current drug**

- safety, v. 5, n. 4, p. 333-341, 2010. Doi: <https://doi.org/10.2174/157488610792246019>.
29. DE SÁ-FILHO, Geovan Figueirêdo et al. Plantas medicinais utilizadas na caatinga brasileira e o potencial terapêutico dos metabólitos secundários: uma revisão. **Research, society and development**, v. 10, n. 13, p. e140101321096-e140101321096, 2021. Doi: <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i13.21096>.
30. REBELO, Diana et al. Tratamento médico dentário da hipersensibilidade dentinária – o estado da arte. **Revista Portuguesa de Estomatología, Medicina Dentária e Cirugia Maxilofacial**, v. 52, n. 2, p. 98-106, 2011. Doi: [https://doi.org/10.1016/S1646-2890\(11\)70018-8](https://doi.org/10.1016/S1646-2890(11)70018-8).
31. DOS SANTOS, Sandra Larissa Freitas et al. Uso de plantas medicinais nos serviços do sistema único de saúde: uma revisão narrativa. **Revista Saúde & Ciência Online**, v. 5, n. 3, p. 63-80, 2016. Doi: <https://doi.org/10.35572/rsc.v5i3.407>.
32. JUSTINO, Heloísa de Fátima Mendes et al. Uso de tecnologias não convencionais para extração de compostos bioativos de subprodutos de frutas e vegetais: revisão. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 14, p. e44111435488-e44111435488, 2022. Doi: <https://doi.org/10.33448/rsd-v11i14.35488>.
33. BORSATO, Aurélio Vínius. **Rendimento e composição química do óleo essencial da camomila submetida à secagem em camada fixa**. 2006. 165f. Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010.
34. MACIEL, Michelline et al. Extratos vegetais usados no controle de dípteros vetores de zoonoses. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 12, p. 105-112, 2010. Doi: <https://doi.org/10.1590/S1516-05722010000100015>.
35. SIMÕES, Charles Fernandes dos Santos. **Perfil fitoquímico e estudo das atividades antimicrobiana, citotóxica e anti-inflamatória de annona muricata L.** 2015. 97f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2015.
36. ROBERT, Ana Paula; SIEBEN, Priscila Gritten; DE LIMA, Andressa. Etnobotânica da planta *Tabernaemontana sananho* Ruiz & Pavon (Apocynaceae) - Revisão Integrativa. **Revista Fitos**, 2023. Doi: <https://doi.org/10.32712/2446-4775.2023.1432>.

37. SOUZA, Rafaella Ribeiro; GASPAROTI, Pabline Silva; DE PAULA, Joelma Abadia Marciano. Obtenção de extratos de plantas medicinais: uma revisão de escopo dos métodos extrativos modernos em comparação ao método clássico por SOXHLET. **Revista Movimenta ISSN**, v. 1984, p. 4298, 2022.
38. DE SOUZA, Rodrigo Aparecido Moraes et al. Compostos fenólicos totais e atividade antioxidante de chás comercializados no Brasil. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 29, n. 2, 2011. Doi: <http://dx.doi.org/10.5380/cep.v29i2.25488>.
39. ASOLINI, Fabia Cristina et al. Atividade antioxidante e antibacteriana dos compostos fenólicos dos extratos de plantas usadas como chás. **Brazilian Journal of food technology**, v. 9, p. 206-215, 2006. Doi:
40. PASCHOAL, Jonas Augusto Rizzato et al. Validação de métodos cromatográficos para a determinação de resíduos de medicamentos veterinários em alimentos. **Química Nova**, v. 31, p. 1190-1198, 2008. Doi: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422008000500048>.
41. PASSOS, Carolina et al. Terpenóides com atividade sobre o Sistema Nervoso Central (SNC). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, p. 140-149, 2009. Doi: <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2009000100024>.
42. MANETTI, Liliana Maria; DELAPORTE, Rosemeres Horwat; LAVERDE JR, Antonio. Metabólitos secundários da família Bromeliaceae. **Química Nova**, v. 32, p. 1885-1897, 2009. doi: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000700035>.
43. SILVA, Francisca Crislândia Oliveira et al. Bioatividades de Triterpenos isolados de plantas: Uma breve revisão. **Revista Virtual de Química**, v. 12, n. 1, 2020. Doi: <https://doi.org/10.21577/1984-6835.20200018>
44. COELHO, Gabriela de Jesus et al. Perspectives on the use of extracts from Amazonian plants and fruits (açaí, copaiba, salva-do-marajo, pupunha and bacuri) as potential modulators of ruminal fermentation: a brief overview. **CES Medicina Veterinaria y Zootecnia**, v. 17, n. 2, p. 36-62, 2022. Doi: <https://dx.doi.org/10.21615/cesmvz.6773>.
45. SILVA, Francisca Crislândia Oliveira et al. Bioatividades de Triterpenos isolados de plantas: Uma breve revisão. **Revista Virtual de Química**, v. 12, n. 1, 2020. Doi: <https://doi.org/10.21577/1984-6835.20200018>.

46. SOBRINHO, Maithê Candido; SIMIONATTO, Euclésio; CABRAL, Marcia Regina Pereira. Atividade citotóxica do óleo e frações de *Matricaria recutita* (camomila). **ANAIIS DO ENIC**, n. 6, 2014.
47. DE ARAÚJO, Syzana Aparecida Costa et al. Usos potenciais de *Melia azedarach* L. (Meliaceae): um levantamento. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 76, p. 141-148, 2021. Doi: <https://doi.org/10.1590/1808-1657v76p1412009>.
48. CALEJA, Cristina et al. Caracterização do perfil fenólico de extratos aquosos de *Matricaria recutita* L. obtidos por decocção. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 40, n. spe, p. 136-139, 2017. Doi: <https://doi.org/10.19084/RCA16212>.
49. ANGELO, Priscila Milene; JORGE, Neuza. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, n. 1, p. 1-9, 2007. Doi: <https://doi.org/10.53393/rial.2007.v66.32841>.
50. NARVAES, João Victor Rodrigues et al. Avaliação da eficácia da *Chamomilla recutita* L. no tratamento de lesões cutâneas. **Research, Society and Development**, v. 12, n. 4, p. e21312441300-e21312441300, 2023. Doi: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v12i4.41300>.
51. PEREIRA, Tuani Tancredo. **Descrição farmacobotânica e caracterização fitoquímica preliminar de inflorescências de Matricaria chamomilla L. e comparação com óleos voláteis**. 2022. 52f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Farmácia) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2022.
52. PINTO, Angelo. et al. Produtos naturais: atualidade, desafios e perspectivas. **Química nova**, v. 25, p. 45-61, 2002. Doi: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422002000800009>.
53. OLDONI, Tatiane Luiza Cadorin. **Prospecção e identificação de compostos bioativos de subprodutos agroindustriais**. 2010. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.
54. GANDOLFI, Renata Cristina et al. A importância da técnica de cromatografia líquida de alta eficiência no isolamento do fármaco enantiômero puro esomeprazol. **International Journal of Health Management Review**, v. 6, n. 1, 2020. Doi: <https://doi.org/10.37497/ijhmreview.v6i1.193>.
55. SOARES, Nayane et al. Técnicas de prospecção fitoquímica e sua importância para o estudo de biomoléculas derivadas de plantas. **Enciclopédia Biosfera**, v. 13, n. 24, 2016.

56. PRATA, Paloma Santana. Técnicas Cromatográficas Multidimensionais na Investigação de Metabólitos Secundários. **Scientia Chromatographica**, v. 8, n. 4, p. 209-229, 2016. Doi: <http://dx.doi.org/10.4322/sc.2016.034>.
57. CALDAS, Sergiane Souza et al. Principais técnicas de preparo de amostra para a determinação de resíduos de agrotóxicos em água por cromatografia líquida com detecção por arranjo de diodos e por espectrometria de massas. **Química Nova**, v. 34, p. 1604-1617, 2011. Doi: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422011000900021>.
58. TEIXEIRA, Viviane Gomes; COUTINHO, Fernanda; GOMES, Ailton. Principais métodos de caracterização da porosidade de resinas à base de divinilbenzeno. **Química nova**, v. 24, p. 808-818, 2001. Doi: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422001000600019>.
59. DE MATOS, Simone Pires. **Técnicas de análise química: Métodos clássicos e instrumentais**. Saraiva Educação SA, 2015.
60. CHIARADIA, Mariza C; COLLINS, Carol H; JARDIM, Isabel. O estado da arte da cromatografia associada à espectrometria de massas acoplada à espectrometria de massas na análise de compostos tóxicos em alimentos. **Química Nova**, v. 31, p. 623-636, 2008. Doi: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422008000300030>.
61. MATA, Adriana. et al. Identificação de compostos voláteis da cúrcuma empregando microextração por fase sólida e cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas. **Food Science and Technology**, v. 24, p. 151-157, 2004. Doi: <https://doi.org/10.1590/S0101-20612004000100027>.
62. DINIZ, Raquel de Jesus Silva et al. Espécies vegetais no tratamento da ansiedade: revisão sistemática de estudos clínicos e experimentais. **Scientia Generalis**, v. 3, n. 1, p. 46-62, 2022.
63. NAGAO-DIAS, Aparecida et al. Reações alérgicas a medicamentos. **Jornal de pediatria**, v. 80, p. 259-266, 2004. Doi: <https://doi.org/10.1590/S0021-75572004000500004>.
64. DOMINGUES, Bruna Cristina Lopes Domingues et al. Suplementos Alimentares: Aspectos Químicos e Aplicações de Macro e Micronutrientes. **Revista Virtual de Química**, v. 15, p. 1-41, 2023. Doi: <http://dx.doi.org/10.21577/1984-6835.20220121>.
65. PREVEDELLO, Maiara Trindade; COMACHIO, Gabrieli. Antioxidants and their relationship with free radicals, and Chronic Non communicable Diseases: a

- literature review. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 6, p. 55244-55285, 2021. Doi: <http://dx.doi.org/10.34117/bjdv7n6-096>.
66. ZHENG, Qiu-Sheng et. al. Mechanisms of apigenin-7-glucoside as a hepatoprotective agent. **Biomed Environ Sci**, v. 18, n. 1, p. 65-70, 2005.
67. ZOROV, Dmitry; JUHASZCOVA, Magdalena; SOLLOTT, Steven. Mitochondrial reactive oxygen species (ROS) and ROS-induced ROS release. **Physiological reviews**, v. 94, n. 3, p. 909-950, 2014. Doi: <https://doi.org/10.1152/physrev.00026.2013>.
68. SCHMITZ, Wanderlei Onofre et al. Atividade hepatoprotetora do extrato alcoólico da *Camellia sinensis* (L.) Kuntze (chá-verde) em ratos Wistar tratados com dietilnitrosamina. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, p. 702-709, 2009. Doi: <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2009000500009>.
69. PACÍFICO, Dvison de Melo et al. Prospecção científica e tecnológica de *Matricaria recutita* L. (Camomila). **Revista GEINTEC: Gestão, Inovação e Tecnologias**, v. 8, n. 2, p. 4339-4356, 2018.
70. VELASQUE, Leandra Fiori Lopes; LOBO, Ana Carolina Martini. Revisão de literatura sobre os efeitos terapêuticos do açaí e sua importância na alimentação. **Biosaúde**, v. 18, n. 2, p. 97-106, 2016.
71. PREVEDELLO, Maiara Trindade; COMACHIO, Gabrieli. Antioxidants and their relationship with free radicals, and Chronic Non communicable Diseases: a literature review. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 6, p. 55244-55285, 2021. Doi: <https://doi.org/10.34117/bjdv7n6-096>.
72. MAFRA, Denise; ABDALLA, Dulcinéia Saes Parra; COZZOLINO, Sílvia Maria Franciscato. Peroxidação lipídica em pacientes com insuficiência renal crônica. **Revista de Nutrição**, v. 12, p. 205-212, 1999. Doi: <https://doi.org/10.1590/S1415-52731999000300001>.
73. SCHNEIDER, Cláudia Dornelles; OLIVEIRA, Alvaro Reischak de. Radicais livres de oxigênio e exercício: mecanismos de formação e adaptação ao treinamento físico. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 10, p. 308-313, 2004. Doi: <https://doi.org/10.1590/S1517-86922004000400008>.
74. AUGUSTO, Ohara. **Radicais livres: bons, maus e naturais**. Oficina de Textos, 2006.

75. MERCÊS, Ziane Conceição; SANTOS, Joicyane Carolaine Das Mercês. Compostos bioativos-flavonoides. **Revista Arquivos Científicos (IMMES)**, v. 5, n. 2, p. 1-12, 2022.
76. DE AZEVEDO, Sarah Serra et al. Avaliação da atividade antioxidante de chás comercializados em feiras livres e de chás industrializados em São Luís-Maranhão, Brasil. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 8, p. e06985320-e06985320, 2020. Doi: <https://doi.org/10.33448/rsd-v9i8.5320>.
77. RIBEIRO, Carolina; NEIVA, Juliana; NEIVA, Paula. **Guia prático da beleza por dentro e por fora**. Editora Schwarcz-Companhia das Letras, 2014.
78. SILVA, Nathália Cristina Cirone. **Estudo comparativo da ação antimicrobiana de extratos e óleos essenciais de plantas medicinais e sinergismo com drogas antimicrobianas**. 2010. 75f. Dissertação (Mestrado em Biologia) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2010.
79. SANTOS, Rômulo Freire et al. Propriedades antimicrobianas de extratos da casca de jurema-preta (*Mimosa tenuiflora* (Wild.) Poir.) Antimicrobial properties of jurema-preta (*Mimosa tenuiflora* (wild.) poir.) pear extracts. **Brazilian Journal of Development**, v. 8, n. 3, p. 16915-16930, 2022. Doi: <https://doi.org/10.34117/bjdv8n3-094>.
80. ROCHA, Rodhes Geovana de Almeida et al. Ação da *Lippia sidoides* Cham nas infecções de faringe, cavidade oral e problemas odontológicos: uma revisão de literatura. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 3, p. e34911326537-e34911326537, 2022. Doi: <https://doi.org/10.33448/rsd-v11i3.26537>.
81. DA SILVA FILHO, Marcos Antônio et al. Therapeutic property of chamomile (*Matricaria recutita* L.) applied to skin care. **Brazilian Journal of Development**, v. 8, n. 5, p. 36272-36280, 2022.
82. MESADRI, Juliana; WAGNER, Roger; FAGUNDES, Mariane Bittencourt. Potencial das microalgas na indústria farmacêutica. **Microalgas: potenciais aplicações e desafios**, p. 45-62, 2021. Doi: <https://doi.org/10.4322/mp.978-65-994457-8-1.c2>.
83. DA CRUZ GOMES, Jéssica et al. Phytochemical determination and sun protection factor evaluation of the species *Acmella oleracea* and *Cipura paludosa*. **Brazilian Journal of Development**, v. 8, n. 1, p. 2137-2154, 2022. Doi: <https://doi.org/10.34117/bjdv8n1-138>.

84. CARVALHO, André et al. Avaliação da atividade antibacteriana de extratos etanólico e de ciclohexano a partir das flores de camomila (*Matricaria chamomilla* L.). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 16, p. 521-526, 2014. Doi: https://doi.org/10.1590/1983-084X/12_159.
85. LINS, Raul et al. Avaliação clínica de bochechos com extratos de Aroeira (*Schinus terebinthifolius*) e Camomila (*Matricaria recutita* L.) sobre a placa bacteriana e a gengivite. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 15, p. 112-120, 2013. Doi: <https://doi.org/10.1590/S1516-05722013000100016>.
86. BOHNEBERGER, Gabriela et al. Fitoterápicos na odontologia, quando podemos utilizá-los?. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 2, n. 4, p. 3504-3517, 2019. Doi: <https://doi.org/10.34119/bjhrv2n4-114>.
87. MAIA, Rodrigo Rafael et al. *Matricaria recutita* extract associated with norfloxacin or cephalexin enhances the antimicrobial activity of these drugs against *Staphylococcus aureus*. **Biotemas**, v. 30, n. 2, p. 25-33, 2017.
88. DA SILVA NETO, Irineu Ferreira et al. Investigação das Atividades Farmacológicas de Plantas Medicinais Comercializadas em Juazeiro do Norte, CE: uma Revisão de Literatura. **Ensaios e Ciência Biológicas Agrárias e da Saúde**, v. 25, n. 5-esp., p. 758-767, 2021. Doi: <https://doi.org/10.17921/1415-6938.2021v25n5-esp.p758-767>.
89. MORAES, Fernanda. Alimentos funcionais e nutracêuticos: definições, legislação e benefícios à saúde. **Revista eletrônica de farmácia**, v. 3, n. 2, 2006.
90. DALLA VECHIA, Luciana; GNOATTO, Simone; GOSMANN, Grace. Derivados oleananos e ursanos e sua importância na descoberta de novos fármacos com atividade antitumoral, anti-inflamatória e antioxidante. **Química Nova**, v. 32, p. 1245-1252, 2009. Doi: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000500031>.
91. DELARMELINA, Juliana Macedo; BATITUCCI, Maria do Carmo Pimentel; GONÇALVES, Jefferson Luiz de Oliveira. Efectos citotóxico, genotóxico y mutagénico *in vivo* de la tintura de *Matricaria chamomilla* L. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 17, n. 2, p. 149-159, 2012.
92. MATIĆ, Ivana et al. Chamomile and marigold tea: Chemical characterization and evaluation of anticancer activity. **Phytotherapy research**, v. 27, n. 6, p. 852-858, 2013.

93. ROSIM, Roice Eliana; DE OLIVEIRA, Carlos Augusto Fernandes; CORASSIN, Carlos Humberto. Aflatoxina M1 e Aflatoxina B1-Lisina Como Biomarcadores de Avaliação Da Eficiência de Adsorventes Para Aflatoxinas: Artigo de Revisão. **Ensaios e Ciência C Biológicas Agrárias e Da Saúde**, v. 22, n. 3, p. 171-178, 2018. Doi: <https://doi.org/10.17921/1415-6938.2018v22n3p171-178>.
94. MANADAS, Rui; PINA, Maria Eugénia; VEIGA, Francisco. A dissolução *in vitro* na previsão da absorção oral de fármacos em formas farmacêuticas de liberação modificada. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 38, p. 375-399, 2002. Doi: <https://doi.org/10.1590/S1516-93322002000400002>.
95. FERREIRA, Leonardo; ANDRICOPULO, Adriano. ADMET modeling approaches in drug discovery. **Drug discovery today**, v. 24, n. 5, p. 1157-1165, 2019. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2019.03.015>.
96. PINTO, Douglas Chaves de Alcântara et al. O potencial da xantona natural α-mangostina no desenvolvimento de novos agentes anti-infecciosos: uma revisão. **Química Nova**, v. 46, p. 77-94, 2023. Doi: <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170954>.
97. PEDROSA-SILVA, Iago Kaue Simbah et al. Estudos químicos e atividades farmacológicas de espécies pertencentes ao gênero *Byrsonima*: uma revisão integrativa. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 2, p. e5411220972-e5411220972, 2022. Doi: <https://doi.org/10.33448/rsd-v11i2.20972>.
98. PEREZ, Carla Cristina et al. A versatilidade de derivados de silício na descoberta de novos fármacos. **Revista Virtual de Química**, v. 13, n. 4, p. 981-992, 2021. Doi: <https://doi.org/10.21577/1984-6835.20210023>.
99. COTA, Hartur Nunes; KLAUMANN, Paulo Roberto. Bloqueio do Plano Transverso do Abdomen guiado por ultrassom: revisão de literatura. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 5, p. 22821-22850, 2020. Doi: <https://doi.org/10.34117/bjdv6n5-004>.
100. PEREIRA NETTO, Annibal. et al. Avaliação da contaminação humana por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) e seus derivados nitrados (NHPAs): uma revisão metodológica. **Química nova**, v. 23, p. 765-773, 2000. Doi: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422000000600010>.
101. FERREIRA, Rafaela; GLAUCIUS, Oliva; ANDRICOPULO, Adriano. Integração das técnicas de triagem virtual e triagem biológica automatizada em alta escala:

- oportunidades e desafios em P&D de fármacos. **Química Nova**, v. 34, p. 1770-1778, 2011. Doi: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422011001000010>.
102. MOREIRA, Fátima; MOREIRA, Josino. A importância da análise de especiação do chumbo em plasma para a avaliação dos riscos à saúde. **Química Nova**, v. 27, p. 251-260, 2004. Doi: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422004000200015>.
103. ORELLANA, Myriam; GUAJARDO, Viviana. Actividad del citocromo P450 y su alteración en diversas patologías. **Revista médica de Chile**, v. 132, n. 1, p. 85-94, 2004. Doi: <http://dx.doi.org/10.4067/S0034-98872004000100014>.
104. DE MOURA, Maria Camila Leal; DE ARAÚJO, Verônica Lorrânnny Lima; DE SOUSA, Joubert Aires. Análise farmacocinética, toxicológica e farmacodinâmica *in silico* do flavonoide quercetina isolado das sementes de *Bixa orellana*. **I. Research, Society and Development**, v. 9, n. 3, p. e170932242-e170932242, 2020.
105. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 2014. Resolução-RDC nº 26, de 13 de maio de 2014. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos e do registro da notificação de produtos tradicionais fitoterápicos. Diário Oficial União.
106. Matos, F. J. A. 2009. Introdução à fitoquímica experimental (3^a ed.). Fortaleza: Edições UFC.
107. DO NASCIMENTO, Ticiano Gomes et al. Polymeric nanoparticles of Brazilian red propolis extract: preparation, characterization, antioxidant and leishmanicidal activity. **Nanoscale research letters**, v. 11, p. 1-16, 2016. Doi: <https://doi.org/10.1186/s11671-016-1517-3>.
108. SOUSA MOURÃO, Penina et al. *Cecropia pachystachya* Trécul: identification, isolation of secondary metabolites, *in silico* study of toxicological evaluation and interaction with the enzymes 5-LOX and α-1-antitrypsin. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A**, v. 85, n. 20, p. 827-849, 2022. Doi: <https://doi.org/10.1080/15287394.2022.2095546>.
109. DE FREITAS, Josivany. et al. Prospecção fitoquímica e avaliação da citotoxicidade e genotoxicidade de *Helenium cf. amarum* (Raf.) H. Rock. **Revista cubana de plantas medicinais**, p. 338-348, 2014.
110. GOBBO-NETO, Leonardo; LOPES, Norberto Peporine. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química nova**, v. 30, p. 374-381, 2007. Doi: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000200026>.

111. HANRAHAN, Jane et al. Semisynthetic preparation of amentoflavone: a negative modulator at GABAA receptors. **Bioorganic & medicinal chemistry letters**, v. 13, n. 14, p. 2281-2284, 2003. Doi: [https://doi.org/10.1016/S0960-894X\(03\)00434-7](https://doi.org/10.1016/S0960-894X(03)00434-7).
112. Dell Fabro, Lucian. 2019. Efeito do flavonoide crisina em modelos de doenças neurodegenerativas. [Tese de doutoramento, Universidade Federal do Pampa]. Repositório Institucional da UNIPAMPA.
113. Damodaran. 2021. Propolis. In **Nutraceuticals** (pp. 795-812). Academic Press. doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821038-3.00046-X>.
114. VECHIA et al. Isolamento químico e validação analítica por cromatografia líquida de alta eficiência de quercitrina em *Solidago chilensis* Meyen (Asteraceae). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 18, p. 288-296, 2016. Doi: https://doi.org/10.1590/1983-084X/15_128.
115. AZIZ, Nur; KIM, Mi-Yeon; CHO, Jae Youl. Anti-inflammatory effects of luteolin: A review of *in vitro*, *in vivo*, and *in silico* studies. **Journal of ethnopharmacology**, v. 225, p. 342-358, 2018. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2018.05.019>.
116. ROCHA, Natasha Alves et al. Uma revisão bibliográfica sobre a utilização da Camomila (*Matricaria recutita* L.) no tratamento do Transtorno de Ansiedade Generalizada. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 5, p. e56811528680-e56811528680, 2022. Doi: <https://doi.org/10.33448/rsd-v11i5.28680>.
117. FONSECA-SILVA, Fernanda et al. Oral efficacy of apigenin against cutaneous leishmaniasis: involvement of reactive oxygen species and autophagy as a mechanism of action. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 10, n. 2, p. e0004442, 2016. Doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004442>.
118. ROCA, Beatriz Mendes et al. Avaliação do uso da resazurina em teste de suscetibilidade *in vitro* frente a *Sporothrix brasiliensis*. **VITTALLE-Revista de Ciências da Saúde**, v. 31, n. 2, p. 32-37, 2019.
119. Marcioli, J. M. D. A. (2015). **Avaliação da atividade antioxidante e antimicrobiana de produtos naturais e associação com conservantes químicos de alimentos** [Trabalho de Conclusão de Curso], Universidade Tecnológica Federal do Paraná.
120. Bezerra, Suzana Barbosa (2009). **Atividade gastroprotetora e antimicrobiana do extrato seco de *Matricaria recutita* (camomila) e do alfa-**

bisabolol: possíveis mecanismos de ação [Dissertação de Mestrado]. Universidade Estadual do Ceará.

121. Matos, Bruno Mello de et al. Atividade antifúngica de uma pomada à base de *Chamomilla recutita* sobre *Candida albicans*. **Revista da Associação Paulista de Cirurgiões-Dentistas**, v. 64, n. 1, p. 55-58, 2010.
122. DOS SANTOS, José Ewerton Felinto et al. Atividade antifúngica *in vitro* de plantas medicinais frente a leveduras isoladas de secreção vaginal. **SaBios-Revista de Saúde e Biologia**, v. 11, n. 3, p. 34-44, 2016.
123. DA SILVA, Alex Teófilo et al. Atividade antioxidante e anti-inflamatória da espécie *Sideroxylon obtusifolium* (Humb. ex Roem. & Schult.) TD Penn.: uma revisão integrativa. **Diversitas Journal**, v. 6, n. 3, p. 3133-3158, 2021.
124. ALVES, Clayton et al. Métodos para determinação de atividade antioxidante *in vitro* em substratos orgânicos. **Química Nova**, v. 33, p. 2202-2210, 2010. Doi: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422010001000033>.
125. KANAKIS et al. An overview of structural features of DNA and RNA complexes with saffron compounds: Models and antioxidant activity. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 95, n. 3, p. 204-212, 2009. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2009.03.006>.
126. Almeida, Thiago da Silva (2016). **Identificação, Atividade Antioxidante e Análise Toxicogenômica de Compostos Fenólicos de Sementes de *Triplaris gardneriana* Wedd.** [Tese de doutoramento, Universidade Federal do Ceará]. Repositório Institucional da Universidade Estadual do Ceará.
127. PICCIRILLO, Erika; AMARAL, Antonia Tavares do. Busca virtual de compostos bioativos: conceitos e aplicações. **Química Nova**, v. 41, p. 662-677, 2018. Doi: <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170210>.
128. SILVA, Daniella Felix; DE MELLO PADILHA, Itácio Queiroz. Avaliação *in silico* de propriedades farmacocinéticas de compostos antileucêmicos publicados por periódicos científicos. **Archives of Health Sciences**, v. 30, n. 1, 2023. Doi: <https://doi.org/10.17696/2318-3691.30.1.2023.172>.
129. AMADO, Patrícia et al. Recent Advances of DprE1 Inhibitors against *Mycobacterium tuberculosis*: Computational Analysis of Physicochemical and ADMET Properties. **ACS omega**, v. 7, n. 45, p. 40659-40681, 2022.

130. TAROCO, Hosane Aparecida et al. Análise farmacocinética e toxicológica *in silico* para derivados de flavonas. **OPEN SCIENCE RESEARCH X**, v. 10, n. 1, p. 175-191, 2023.
131. BOSQUESI, Priscila Longhin et al. Toxicidade de fármacos nitrofurânicos. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, p. 231-238, 2008.