



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ  
PRÓ- REITORIA DE ENSINO DE PÓS-GRADUAÇÃO  
CAMPUS MINISTRO REIS VELLOSO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA**

**GUILHERME LIMA DE ARAUJO**

**CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA E AVALIAÇÃO DAS  
ATIVIDADES FORMICIDA E ANTIBACTERIANA DOS EXTRATOS  
AQUOSOS E HIDROETANÓLICOS DE *Anacardium occidentale* L. e  
*Mimosa caesalpinifolia* Benth.**

**PARNAÍBA**

**2020**

**GUILHERME LIMA DE ARAUJO**

**CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA E AVALIAÇÃO DAS  
ATIVIDADES FORMICIDA E ANTIBACTERIANA DOS EXTRATOS  
AQUOSOS E HIDROETANÓLICOS DE *Anacardium occidentale* L. e  
*Mimosa caesalpinifolia* Benth.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal do Piauí, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

Linha de Pesquisa: Química e Bioquímica Aplicada à Biotecnologia

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Leiz Maria Costa Veras  
Coorientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Cíntia Martins Perinotto

PARNAÍBA  
2020

FICHA CATALOGRÁFICA  
Universidade Federal do Piauí  
Biblioteca Setorial Prof. Cândido Athayde – Campus Parnaíba  
Serviço de Processamento Técnico

A659c Araújo, Guilherme Lima de

Caracterização fitoquímica e avaliação das atividades formicida e antibacteriana dos extratos aquosos e hidroetanólicos de *Anacardium occidentale* L. e *Mimosa caesalpinifolia* Benth. [recurso eletrônico] / Guilherme Lima de Araujo. – 2020.

1 Arquivo em PDF

Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade Federal do Piauí, Campus Ministro Reis Velloso, 2020.

Orientação: Prof<sup>º</sup>. Dr<sup>º</sup>. Leiz Maria Costa Veras

Coorientação: Prof<sup>º</sup>. Dr<sup>º</sup>. Cintia Martins Perinotto

1. Caju. 2. Citoxidade. 3. Extratos Foliare. 4. Formigas Cortadeiras. 5. Prospecção Química. 6. Sabiá. I. Título.

CDD: 572

GUILHERME LIMA DE ARAUJO

CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA E AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES  
FORMICIDA E ANTIBACTERIANA DOS EXTRATOS AQUOSOS E  
HIDROETANÓLICOS DE *Anacardium occidentale* L. e *Mimosa  
caesalpinifolia* Benth.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal do Piauí, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

Aprovada em: 19 / 03 / 2020

BANCA EXAMINADORA



---

Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Leiz Maria Costa Veras  
Universidade Federal do Piauí – UFPI  
(Presidente)



---

Prof. Dr.<sup>a</sup>. Francilene Leonel Campos  
Universidade Federal do Piauí – UFPI  
(Membro externo ao programa)



---

Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Gerane Celly Dias Bezerra Silva  
Faculdade Regional da Bahia – UNIRB  
(Membro externo ao programa)



---

Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Cíntia Martins Perinotto  
Universidade Federal do Piauí – UFPI  
(Membro externo ao programa)

## EPÍGRAFE

*“Ações generosas não devem ser reprimidas por conselhos frios”.*

*“O elogio que vem daquele que merece elogio está acima de todas as recompensas”.*

*J. R. R. Tolkien*

## AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar a Deus, pela força, pela saúde e proteção durante essa longa e árdua caminhada.

Aos meus pais Antônio e Elizabeth, as figuras mais inspiradoras e importantes de minha vida. Por todo amor, carinho, incentivo e apoio nos momentos de dificuldade, mesmo com todas as adversidades sofridas. Essa vitória não é somente minha, mas também de vocês!

À minha noiva Marina, pelo amor, compreensão e paciência nos momentos em que estive ausente por conta dos excessivos e árduos trabalhos enfrentados, muito obrigado por tudo!

À minha irmã Gabriela, pelo companheirismo durante todos esses anos de convivência, e por toda ajuda oferecida a mim.

Ao meu “consórcio” de orientadoras, professoras Dr<sup>as</sup>. Leiz, Cíntia e Durcilene, sem as suas ajudas e orientações nada disso seria possível, muito obrigado!

Aos meus amigos que fiz durante a execução desse trabalho e que me ajudaram de forma incalculável, em especial, João e Edmar. A ajuda de vocês foi essencial meus amigos, podem contar comigo sempre!

Ao professor Sebastião (*in memoriam*) por toda força e ajuda dada a mim e a toda minha família enquanto em vida, muito obrigado por tudo!

À todas as pessoas que fazem parte do BIOTEC.

Ao professor Dr. Odair Correa Bueno e a todos do Centro de Estudos de Insetos Sociais da UNESP – Rio Claro (SP) pela parceria realizada na execução de parte do trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, pelo auxílio financeiro durante a execução desse trabalho.

À Universidade Federal do Piauí por todo o espaço e estrutura disponibilizados.

Enfim, a todos aqueles que acreditaram em mim e que, de alguma forma contribuíram nesta etapa de minha vida, embora não citados aqui, merecem meus sinceros agradecimentos.

**Muito obrigado a todos!**

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Rendimento dos extratos aquosos e hidroetanólicos de <i>A. occidentale</i> L. e <i>M. caesalpiniiifolia</i> Benth. ....	42
Tabela 2 - Triagem fitoquímica dos extratos aquosos e hidroetanólicos de <i>A. occidentale</i> L. e <i>M. caesalpiniiifolia</i> Benth. ....	43
Tabela 3 - Quantificação de fenóis, flavonoides, açúcares e saponinas nos extratos aquosos e hidroetanólicos de <i>A. occidentale</i> L. e <i>M. caesalpiniiifolia</i> Benth. ....	45
Tabela 4 - Mortalidade acumulada e sobrevivência mediana de operárias de <i>Atta sexdens</i> submetidas ao bioensaio de incorporação do extrato hidroetanólico de <i>A. occidentale</i> L. em sua dieta artificial.....	49
Tabela 5 - Mortalidade acumulada e sobrevivência mediana de operárias de <i>Atta sexdens</i> submetidas ao bioensaio de incorporação do extrato hidroetanólico de <i>M. caesalpiniiifolia</i> Benth. em sua dieta artificial. ....	49
Tabela 6 - Concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM) dos extratos aquosos e hidroetanólicos de <i>A. occidentale</i> L. e <i>M. caesalpiniiifolia</i> Benth. ....	52

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - <i>Anacardium occidentale</i> (cajueiro): a) folhas e caule; b) infrutescência: fruto e hipocarpo.....	17
Figura 2 - <i>Mimosa caesalpinifolia</i> Benth (sabiá): a) Inflorescência; b) planta em ambiente natural. ....	18
Figura 3 - Estrutura química do Limoneno (à esquerda) e do Mirceno (à direita). ....	20
Figura 4 - Estrutura química de flavonoides. ....	20
Figura 5 - Estrutura química da morfina (à esquerda) e da quinina (à direita). ....	21
Figura 6 - <i>Atta sexdens rubropilosa</i> : a) formiga operária; b) fungo <i>Leucoagaricus gongylophorus</i> em ninho; c) forrageamento; d) ninho.....	23
Figura 7 - Estrutura do ninho de formigas do gênero <i>Atta</i> .....	24
Figura 8 - Organograma experimental da caracterização química e avaliação das atividades biológicas de <i>A. occidentale</i> L. e <i>M. caesalpinifolia</i> Benth. ....	33
Figura 9 - Vista geral do formigueiro de <i>Atta sexdens</i> mantido no laboratório do Centro de Estudo de Insetos Sociais (CEIS) – UNESP.....	38
Figura 10 - Operárias de <i>Atta sexdens</i> submetidas ao tratamento com os extratos analisados incorporados na dieta artificial. ....	39
Figura 11 - perfis cromatográficos dos extratos aquosos e hidroetanólicos de <i>A. occidentale</i> L. e <i>M. caesalpinifolia</i> Benth. Onde: EAS: extrato aquoso de sabiá; EHS: extrato hidroetanólico de sabiá; EAC: extrato aquoso de cajueiro; EHC: extrato hidroetanólico de caju. ....	47
Figura 12 - Curvas de sobrevivência de operárias de <i>Atta sexdens</i> submetidas ao bioensaio de incorporação dos extratos hidroetanólicos de <i>A. occidentale</i> L. (A) e <i>M. caesalpinifolia</i> Benth. (B) em dieta artificial. ....	48
Figura 13 - Citotoxicidade dos extratos utilizando células VERO após 48 horas de exposição: A- EHC: Extrato hidroetanólico de cajueiro ( <i>Anacardium occidentale</i> L.); B – EHS: Extrato hidroetanólico de sabiá ( <i>Mimosa caesalpinifolia</i> Benth.); C – EAC: Extrato aquoso de cajueiro; D – EAS: Extrato aquoso de sabiá.....	55

## LISTA DE ABREVIATURAS

- ATCC – *American Type Culture Collection*
- B.O.D – *Biochemical Oxygen Demand*
- CBM – Concentração Bactericida Mínima
- CIM – Concentração Inibitória Mínima
- CLAE – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
- CLSI – *Clinical Laboratory Standards Institute*
- DMEN – *Dulbecco's Modified Eagle Medium*
- DMSO – Dimetilsulfóxido
- EAC – Extrato Aquoso de Cajueiro
- EAS – Extrato Aquoso de Sabiá
- EHC – Extrato Hidroetanólico de Cajueiro
- EHS – Extrato Hidroetanólico de Sabiá
- GABA – Ácido Gama-Aminobutírico
- IPP – Isopentenilpirofosfato
- IRAS – Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde
- MEP – Metileritritol Fosfato
- MTT – Brometo de [3(4,5 – dimetiltiazol – 2 – il) – 2,5 – difeniltetrazólio]
- OMS – Organização Mundial da Saúde
- PAL – Fenilalanina Amonialíase
- POP's – Poluentes Orgânicos Persistentes
- TGI – Trato Gastrointestinal
- UTI – Unidade de Terapia Intensiva
- UV-vis – Ultravioleta Visível

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	15
<b>2. REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	17
<b>2.1 - Plantas como fonte de compostos bioativos</b> .....	17
2.1.1 - <i>Anacardium occidentale</i> L.....	17
2.1.2 - <i>Mimosa caesalpinifolia</i> Benth. ....	18
2.1.3 - Metabolismo secundário das plantas.....	19
2.1.3.1 – Terpenos.....	19
2.1.3.2 - Compostos fenólicos .....	20
2.1.3.3- Alcaloides.....	21
2.1.4 - Importância na agropecuária.....	21
2.1.4.1 - Formigas-cortadeiras .....	22
2.1.4.2 - Métodos de controle .....	24
2.1.4.3 - Uso de plantas inseticidas como alternativa de controle .....	26
2.1.5 - Importância na saúde dos compostos bioativos obtidos de plantas.....	27
2.1.6 - Resistência bacteriana a antibióticos.....	28
2.1.6.1 - <i>Staphylococcus aureus</i> .....	29
2.1.6.2 - <i>Enterococcus faecalis</i> .....	30
2.1.6.3 - <i>Listeria monocytogenes</i> .....	30
<b>3. OBJETIVO GERAL</b> .....	32
<b>3.1 - Objetivos específicos</b> .....	32
<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	33
<b>4.1 - Organograma experimental</b> .....	33
<b>4.2 - Obtenção dos materiais vegetais</b> .....	33
<b>4.3 - Produção de extratos hidroalcoólicos e aquosos de sabiá (<i>Mimosa caesalpinifolia</i>) e caju (<i>Anacardium occidentale</i>)</b> .....	34
<b>4.4 - Caracterização química qualitativa e quantitativa dos extratos aquosos e hidroetanólicos de <i>Anacardium occidentale</i> L. e <i>Mimosa caesalpinifolia</i> Benth.</b> .....	34

4.4.1 - Fenóis e taninos .....	35
4.4.2 - Saponinas.....	35
4.4.3 - Esteroides e triterpenoides.....	35
4.4.4 - Alcaloides.....	35
4.4.5 - Açúcar redutor e não redutor .....	35
4.4.6 - Ácidos orgânicos.....	35
4.4.7 - Antraquinonas.....	36
4.4.8 - Polissacarídeos.....	36
4.4.9 - Flavonoides.....	36
4.4.10 - Determinação do teor de fenóis .....	36
4.4.11 - Determinação do teor flavonoides .....	36
4.4.12 - Determinação do teor de açúcares.....	37
4.4.13 - Índice de saponificação .....	37
4.4.14 - Perfil cromatográfico.....	38
<b>4.5 - Bioensaio com formigas cortadeiras (<i>Atta sexdens</i>).....</b>	<b>38</b>
4.5.1 - Origem das formigas a serem utilizadas no experimento.....	38
4.5.2 - Dieta artificial para a manutenção das operárias .....	39
4.5.3 - Bioensaio por ingestão para determinação da toxicidade dos extratos hidroetanólicos de <i>Anacardium occidentale</i> L. e <i>Mimosa caesalpinifolia</i> Benth.....	39
<b>4.6 - Determinação da atividade antibacteriana – concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM) dos extratos aquosos e hidroetanólicos de <i>Mimosa caesalpinifolia</i> e <i>Anacardium occidentale</i> .....</b>	<b>40</b>
<b>4.7 - Determinação da citotoxicidade dos extratos aquosos e hidroetanólicos de <i>Anacardium occidentale</i> L. e <i>Mimosa caesalpinifolia</i> Benth. em células VERO.....</b>	<b>41</b>
4.7.1 - Células utilizadas .....	41
4.7.2 - Teste de citotoxicidade.....	41
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>42</b>
<b>5.5 - Caracterização fitoquímica dos extratos aquosos e hidroetanólicos de <i>Anacardium occidentale</i> L. e <i>Mimosa caesalpinifolia</i> Benth.....</b>	<b>42</b>

5.1.2 - Rendimento dos extratos aquosos e hidroetanólicos de <i>Anacardium occidentale</i> L. e <i>Mimosa caesalpinifolia</i> Benth. ....	42
5.1.3 - Triagem fitoquímica qualitativa dos extratos .....	42
5.1.4 - Análise química quantitativa dos extratos aquosos e hidroetanólicos de <i>Anacardium occidentale</i> L. e <i>Mimosa caesalpinifolia</i> Benth.....	44
5.1.5 - Perfil cromatográfico dos extratos aquosos e hidroetanólicos de <i>Anacardium occidentale</i> e <i>Mimosa caesalpinifolia</i> . ....	46
<b>5.6 - Avaliação do efeito dos extratos hidroetanólicos de <i>Anacardium occidentale</i> e <i>Mimosa caesalpinifolia</i> na mortalidade de <i>Atta sexdens</i> .....</b>	<b>48</b>
<b>5.7 - Determinação da concentração inibitória mínima (CIM) e da concentração bactericida mínima dos extratos aquosos e hidroetanólicos de <i>Anacardium occidentale</i> e <i>Mimosa caesalpinifolia</i>.....</b>	<b>52</b>
<b>5.8 - Avaliação da citotoxicidade dos extratos aquosos e hidroetanólicos de <i>Anacardium occidentale</i> L. e <i>Mimosa caesalpinifolia</i> Benth.....</b>	<b>54</b>
<b>6. CONCLUSÕES .....</b>	<b>57</b>
<b>7. REFERÊNCIAS .....</b>	<b>58</b>

## RESUMO

O estudo de compostos químicos de espécies vegetais tem se tornado cada vez mais importante na busca de substâncias biologicamente ativas. Alguns destes compostos, tais como terpenos, compostos fenólicos e alcaloides, apresentam propriedades biológicas pronunciadas e, devido a esse fato, tornam-se ponto de partida como fonte para a obtenção de novos compostos bioativos e sua consequente utilização em diversas áreas do conhecimento. Diante disso, objetivou-se com o presente trabalho realizar a caracterização fitoquímica dos extratos aquosos e hidroetanólicos de *Anacardium occidentale* L. e *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth., bem como, avaliar sua toxicidade em formigas, sua atividade antibacteriana e citotoxicidade. Os extratos hidroetanólicos de *A. occidentale* L. e *M. caesalpiniiifolia* apresentaram-se superiores aos extratos aquosos em termos de rendimento, demonstrando cerca de 5% de superioridade. A triagem fitoquímica demonstrou a presença de diversas classes de metabólitos secundários em ambas as espécies estudadas, sendo o extrato hidroetanólico de *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth superior aos outros analisados. Com relação a análise quantitativa dos extratos foi verificado que em todas as classes analisadas, houve similaridade com relação ao teor dos fitoconstituintes, com exceção dos fenólicos totais. A adição extratos hidroetanólicos, em diferentes concentrações, de *A. occidentale* L. e *M. caesalpiniiifolia* Benth. na dieta artificial de operárias de *Atta sexdens* não influenciaram em suas taxas de mortalidade diárias. A avaliação da atividade antibacteriana dos extratos aquosos e hidroetanólicos de *A. occidentale* L. e *M. caesalpiniiifolia* Benth. por meio da determinação da concentração inibitória mínima (CIM) demonstrou a eficiência do extrato hidroetanólico de *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth. na inibição do crescimento das bactérias Gram-positivas *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* e *Listeria monocytogenes*, com CIM's de 250, 500 e 125  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ , respectivamente. Por meio da determinação da concentração bactericida mínima (CBM) foi possível observar que os extratos somente inibiram o crescimento bacteriano, não sendo considerados bactericidas nas concentrações testadas. O ensaio de citotoxicidade dos extratos aquosos e hidroetanólicos de *A. occidentale* L. e *M. caesalpiniiifolia* Benth. frente a células de linhagem VERO demonstrou que mesmo após 48 horas, as células apresentaram-se viáveis, indicando as suas consequentes atoxicidades. Os resultados obtidos apresentaram grande relevância, uma vez que, possibilitaram a identificação e quantificação de algumas classes de metabólitos secundários, bem como a avaliação da atividade formicida e antibacteriana, sendo a última responsável pela obtenção de resultados positivos. O extrato hidroetanólico de *M. caesalpiniiifolia* Benth. mostrou-se potencial como fonte para a produção de novos produtos biotecnológicos, baseando na sua atividade antibacteriana, entretanto, salienta-se a necessidade da realização de estudos que elucidem os modos de ação e os mecanismos envolvidos em sua atividade antibacteriana.

**Palavras-chave:** caju; sabiá; formigas cortadeiras; saúvas; prospecção química; extratos foliares; citotoxicidade.

## ABSTRACT

The study of chemical compounds from plant species has become increasingly important in the search for biologically active substances. Some of these compounds, such as terpenes, phenolic compounds and alkaloids, have pronounced biological properties and, due to this fact, they become a starting point as a source for obtaining new bioactive compounds and their consequent use in several areas of knowledge. Therefore, the aim of this study was to carry out the phytochemical characterization of the aqueous and hydroethanolic extracts of *Anacardium occidentale* L. and *Mimosa caesalpinifolia* Benth., As well as to evaluate their toxicity in ants, their antibacterial activity and cytotoxicity. The hydroethanolic extracts of *A. occidentale* L. and *M. caesalpinifolia* were superior to aqueous extracts in terms of yield, showing about 5% superiority. Phytochemical screening demonstrated the presence of several classes of secondary metabolites in both species studied, with the hydroethanolic extract of *Mimosa caesalpinifolia* Benth being superior to the others analyzed. Regarding the quantitative analysis of the extracts, it was found that in all the analyzed classes, there was similarity regarding the content of phytochemicals, with the exception of total phenolics. The addition of hydroethanolic extracts, in different concentrations, of *A. occidentale* L. and *M. caesalpinifolia* Benth. in the artificial diet of *Atta sexdens* workers did not influence their daily mortality rates. The evaluation of the antibacterial activity of the aqueous and hydroethanolic extracts of *A. occidentale* L. and *M. caesalpinifolia* Benth. by determining the minimum inhibitory concentration (MIC) demonstrated the efficiency of the hydroethanolic extract of *Mimosa caesalpinifolia* Benth. inhibiting the growth of Gram-positive bacteria *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* and *Listeria monocytogenes*, with MICs of 250, 500 and 125  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ , respectively. Through the determination of the minimum bactericidal concentration (MBC) it was possible to observe that the extracts only inhibited bacterial growth, not being considered bactericidal in the tested concentrations. The cytotoxicity assay of aqueous and hydroethanolic extracts of *A. occidentale* L. and *M. caesalpinifolia* Benth. against VERO lineage cells it was demonstrated that even after 48 hours, the cells were viable, indicating their consequent atoxicities. The results obtained were of great relevance, since they enabled the identification and quantification of some classes of secondary metabolites, as well as the evaluation of ant killer and antibacterial activity, being the latter responsible for obtaining positive results. The hydroethanolic extract of *M. caesalpinifolia* Benth. has shown itself as a potential source for the production of new biotechnological products, based on its antibacterial activity, however, the need to conduct studies that elucidate the modes of action and the mechanisms involved in its antibacterial activity is emphasized.

**Keywords:** cashew; sabiá; leaf-cutting ants; sauvas; ant killer; anti-bacterial; cytotoxicity.

## 1. INTRODUÇÃO

De modo geral, o Brasil é um dos países com maior biodiversidade do planeta, abrigando uma vasta gama de espécies animais e vegetais, em uma grande diversidade de biomas. Os biomas de caatinga e cerrado ocupam cerca de 35% de todo território nacional, e graças a sua ampla extensividade territorial e as suas características edafoclimáticas distintas, possuem uma flora abundante, com 15.220 de espécies vegetais, representando cerca de 47,13% de todas as espécies encontradas no país (JOLY et al., 2019; QUEIROZ et al., 2017).

As plantas, graças ao seu metabolismo secundário, produzem vários compostos que auxiliam as mesmas a manter o potencial competitivo com relação a outras espécies, conferindo-as a capacidade de atrair ou repelir polinizadores, dissuadir herbívoros, proteger contra radiação UV e poluição, no controle de insetos herbívoros, dentre outras funções (REZENDE et al., 2016). Esses compostos não possuem ação direta conhecida em processos como a fotossíntese, respiração ou transporte de solutos nas plantas e diferenciam-se dos metabólitos primários (aminoácidos, nucleotídeos, açúcares e acil lipídeos) por serem restritos no reino vegetal, de modo que alguns compostos só estejam presentes em uma espécie ou grupos de espécies relacionados (TAIZ; ZAIGER, 2014).

Esses compostos podem ser divididos em três grupos quimicamente distintos, sendo eles os terpenos, os compostos fenólicos e os compostos nitrogenados (alcaloides) (TAIZ; ZAIGER, 2014).

Esses compostos possuem um enorme valor agregado tanto do ponto de vista científico, como econômico, uma vez que, de todas as drogas utilizadas na medicina ocidental cerca de 25% são derivadas de plantas, seja como um composto puro (fármaco) ou como uma substância derivada de um produto de síntese natural (REZENDE et al., 2016). Uma grande quantidade de atividades biológicas é descrita para esses compostos, dentre elas, a ação antioxidante (AQUINO et al., 2017; CHIAPETTI, 2018), antitumoral (VIEIRA et al., 2018), anti-inflamatória (MARTÍN, 2018), antifúngica (CHIAPETTI, 2018) e inseticida (SILVA et al., 2018).

Devido à grande diversidade de biomoléculas encontradas nas espécies vegetais, principalmente as selvagens, surge o considerável aumento de pesquisas que buscam determinar os efeitos benéficos dos compostos obtidos de plantas, de modo a alocar e direcionar os benefícios obtidos para a resolução de problemas de diversas áreas (VIZZOTTO et al., 2010).

O potencial inseticida de algumas espécies vegetais vem cada vez mais sendo explorado, uma vez que a seguridade ambiental e alimentar desses compostos bioativos é bem maior que a encontrada nos inseticidas sintéticos. Os produtos à base de plantas, possuem efeito inseticida comprovado e apresentam uma diversidade de compostos ativos, os quais agem sinergicamente, apresentando características atraentes, desalojantes ou repelentes, entre outras que podem ser empregados em sistema de manejo integrado de pragas, como alternativas dirigidas para o controle e monitoramento das populações de insetos (NAVARRO-SILVA et al., 2009).

Dentre as pragas de maior importância e que causam danos econômicos severos na agricultura e silvicultura, as formigas cortadeiras, pertencentes a tribo Attini, se destacam. Esses insetos são considerados animais polívoros, pois alimentam-se de diversas fontes de alimento (DELLA LUCIA e OLIVEIRA, 1993). São insetos que possuem elevada importância ecológica, entretanto, sua alta voracidade aliada à sua polifagia, faz com que as formigas cortadeiras sejam extremamente prejudiciais às áreas de pastagem, florestais e agrícolas, pois coletam grande quantidade de material vegetal fresco para a sustentação da colônia (ARITA et al., 2011). Sendo assim, tornam-se comumente objetos de estudo com a finalidade de obter novos métodos de controle ambientalmente sustentáveis.

Outra importante problemática que deve ser levada em consideração é o aumento da ocorrência da resistência bacteriana a antibióticos, representando um dos principais problemas da saúde pública, visto que, bactérias que outrora eram susceptíveis a certos antibióticos usualmente utilizados, deixaram de responder a esses mesmos agentes, muito em conta da obtenção de resistência natural desses microrganismos devido sua alta capacidade de adaptação, ou do uso indiscriminado desses agentes antibacterianos (LOUREIRO et al., 2016). Nesse sentido, a obtenção de novos compostos que possuam a capacidade de mitigar o crescimento bacteriano utilizando mecanismos de ação distintos dos antibióticos comumente utilizados, representam uma das principais formas para a atenuação da ocorrência da resistência bacteriana.

Diante do exposto, surge cada vez mais a necessidade da realização de estudos fitoquímicos que busquem a identificação de novos compostos químicos com alta atividade biológica explorando a vasta biodiversidade das espécies vegetais existentes. No mesmo contexto, a utilização desses compostos é de essencial importância do ponto de vista ambiental no controle de formigas cortadeiras, uma vez que, os principais compostos químicos utilizados em seu controle encontram-se com uso restrito mediante a adoção brasileira da Convenção de Estocolmo sobre os Poluentes Orgânicos Persistentes (POPs) desde sua entrada em vigor (14 de setembro de 2004). Ao passo que, evidencia-se também a necessidade da realização de estudos que busquem por compostos obtidos de plantas que sirvam como fonte de potenciais bioativos, que possam ser usados efetivamente no controle de agentes bacterianos, aumentando o leque de possibilidades para o controle de bactérias e, dessa forma, contribuir para a mitigação da resistência bacteriana.

## 2. REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 - Plantas como fonte de compostos bioativos

Não é de hoje que se tem conhecimento dos benefícios da utilização de espécies vegetais, uma vez que a utilização de plantas pelo homem é tão antiga quanto a história da humanidade (HEISLER et al., 2015). Surgiu à medida que o ser humano buscava satisfazer suas necessidades e por casualidade, acabou observando efeitos benéficos ocasionados por determinadas plantas (FREIRE et al., 2018). No Egito, alguns papiros destacam a utilização de óleos de rícino e de coentros em diversas aplicações medicinais, cosméticas e conservantes, enquanto que, no período grego e romano, foram descritas a utilização de diversas plantas e ervas com propriedades terapêuticas por Hipócrates, Teofrasto, Celso, Dioscorides, entre outros (AZMIR et al., 2013; CRAGG et al., 2014).

A partir do século XIX, houve grande desenvolvimento nos métodos de extração e purificação de materiais de origem natural que permitiram as primeiras descobertas de princípios ativos em plantas, bem como o estabelecimento da química orgânica sintética que desenvolveu rotas para processos industriais que seriam aplicados na fabricação em larga escala dos primeiros medicamentos (ANDRADE et al., 2018).

#### 2.1.1 - *Anacardium occidentale* L.

O cajueiro (Figura 1) é uma planta tropical, originária do Brasil, dispersa em quase todo o seu território, tendo a região Nordeste uma área plantada superior a 750 mil hectares, representando mais de 95% da produção nacional, sendo os estados do Ceará, Rio Grande do Norte e Piauí os principais produtores (BARRETTO et al., 2014). Encontra-se disperso em larga faixa do mundo tropical, compreendida entre os paralelos 27° N, no sul da Flórida, e 28° S, na África do Sul, sendo que no Brasil, o maior centro de biodiversidade de *Anacardium occidentale* L. compreende o Nordeste brasileiro (PAIVA et al., 2003).

Figura 1 - *Anacardium occidentale* (cajueiro): a) folhas e caule; b) infrutescência: fruto e hipocarpo.



Fonte: Barbosa Filho (2015); Rufino (2004)

Essa espécie pertence à família Anacardiaceae, a qual compreende cerca de 60 a 74 gêneros e 400 a 600 espécies de árvores e arbustos, principalmente tropicais e subtropicais, com poucos representantes de clima temperado (PAIVA et al., 2003).

A *Anacardium occidentale* L. ecótipo de restinga consiste de árvores de folhas perenes, com ramificação baixa e cuja copa pode alcançar 10 a 15 metros de altura, possuindo sistema radicular pivotante muito desenvolvido com extensa rede de raízes fasciculadas, folhas simples alternas, arredondadas ou obovadas, muitas vezes indentadas no ápice e alongadas na base, com pecíolos curtos de 1 a 3 cm (PESSONI, 2007).

Na medicina popular é utilizada desde a raiz, explorando seu potencial purgativo, até as folhas que são usadas como expectorante, além de ser utilizada no tratamento de inflamações, reumatismos, tumores e doenças infecciosas (FRANÇA, 2013; RIBEIRO, 2016). Estudos sobre sua fitoquímica indicaram a presença de diversos compostos, entre eles, saponinas, triterpenos, alcaloides, fenóis e taninos (RIBEIRO, 2016).

### 2.1.2 - *Mimosa caesalpinifolia* Benth.

O sabiá (Figura 2), pertence ao gênero *Mimosa*, família Fabaceae-Caesalpinioideae que compreende cerca de 490 a 510 espécies sendo elas distribuídas na região Palaetropical e no Novo Mundo (Américas) (COSTA et al., 2018). No Brasil encontra-se bastante dispersa, tendo ocorrência natural nos estados do Rio Grande do Norte, Piauí, Ceará, Maranhão e em regiões de Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica (BARBOSA et al., 2008).

Figura 2 - *Mimosa caesalpinifolia* Benth (sabiá): a) Inflorescência; b) planta em ambiente natural.



Fonte: Barbosa (2017)

Botanicamente, o sabiá configura-se como uma árvore de pequeno porte, atingindo altura de 7 a 8 metros, com tronco que apresentam acúleos que desaparecem ao decorrer da idade, possuindo folhas alternadas bipinadas com 4 a 6 pinas opostas, sendo sua inflorescência do tipo panículas de espigas com cerca de 5 a 10 cm de comprimento (RIBASKI et al., 2003).

Se destaca como uma das principais fontes de estacas para cercas no Nordeste brasileiro (BARBOSA et al., 2008) embora seja amplamente utilizada na medicina popular no tratamento de

infecções, de doenças respiratórias e na hipertensão (AGRA et al., 2008; RIBASKI et al., 2003; SANTOS, et al., 2015). Extratos da casca do caule, folhas e raízes dessa planta apresentaram atividade antioxidante e antimicrobiana (SILVA et al., 2012). O estudo fitoquímico da espécie demonstrou a presença de ácidos graxos, esteroides, compostos fenólicos e principalmente flavonoides (SILVA, 2016).

### 2.1.3 - **Metabolismo secundário das plantas**

Os vegetais produzem uma vasta gama de compostos orgânicos conhecidos como metabólitos secundários e que não parecem ter função direta no seu crescimento e desenvolvimento. Esses compostos não possuem ação direta conhecida em processos como a fotossíntese, respiração ou transporte de solutos nas plantas e diferenciam-se dos metabólitos primários (aminoácidos, nucleotídeos, açúcares e acil lipídeos) por apresentarem presença restrita no reino vegetal, de modo que alguns compostos só estejam presentes em uma espécie ou grupos de espécies relacionados (TAIZ; ZAIGER, 2014).

Os metabólitos secundários são compostos de baixo peso molecular que possuem importantes atividades ecológicas, não somente pelo fato de que participam ativamente dos processos de adaptação das plantas a seu ambiente, como o estabelecimento da simbiose com outros organismos e na atração de polinizadores, mas também no auxílio a planta quando a mesma encontra-se em situações adversas, seja pelo ataque de microrganismos (fungos, vírus e bactérias); na competição existente entre as espécies vegetais por espaço físico, por nutrientes e por luz; na intensa exposição à luz solar, outros tipos de estresses abióticos e na herbivoria ocasionada por insetos (JIMÉNEZ et al., 2003).

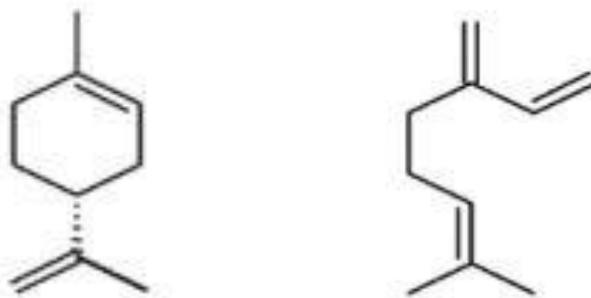
Esses compostos podem ser divididos em três grupos quimicamente distintos, sendo eles os terpenos, os compostos fenólicos e os compostos nitrogenados (alcaloides) (TAIZ; ZAIGER, 2014).

#### 2.1.3.1 - **Terpenos**

Quimicamente, os terpenos (Figura 3) podem ser definidos como “alcenos naturais”, pois apresentam uma dupla ligação carbono-carbono, caracterizando-se como um hidrocarboneto insaturado (MCMURRY, 2011; FELIPE; BICAS, 2016).

Todos os terpenos são formados pelas justaposições de unidades pentacarbonadas que apresentam esqueleto ramificado de isopentano, denominado de isopentenilpirofosfato-IPP (C5), sendo estas suas unidades fundamentais (TAIZ; ZAIGER, 2014). Esses compostos são classificados pelo número de isopentenil que os formam, sendo eles os monoterpenos (duas unidades de C5; 10 carbonos), os sesquiterpenos (três unidades C5; 15 carbonos), os diterpenos (quatro unidades de c5; 20 carbonos), os triterpenos (seis unidades C5; 30 carbonos), os tetraterpenos (oito unidades C5; 30 carbonos) e os politerpenos (com mais de oito unidades de C5) (TAIZ; ZAIGER, 2014).

Figura 3 - Estrutura química do Limoneno (à esquerda) e do Mirceno (à direita).



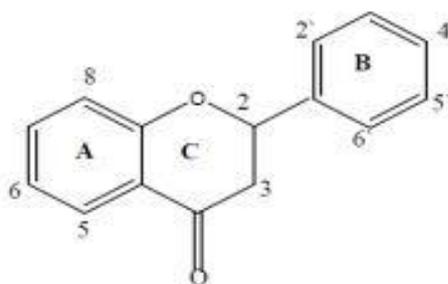
Fonte: FELIPE; BICAS (2016)

Duas rotas metabólicas estão diretamente envolvidas na produção desses compostos, uma consiste na rota do ácido mevalônico, onde esse composto sofre uma série de reações até ser convertido em IPP, enquanto a outra é conhecida como rota do metileritritol fosfato (MEP), onde intermediários da glicólise ou do ciclo de redução fotossintética do carbono são convertidos em IPP (JIMÉNEZ et al., 2003; TAIZ; ZAIGER, 2014).

#### 2.1.3.2 - Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos (Figura 4) são compostos químicos que possuem um anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos, incluindo seus grupos funcionais (ANGELO et al., 2006). Possuem estrutura variável, sendo em consequência disso, multifuncionais (TAIZ; ZAIGER, 2014). Esses compostos são produzidos a partir de duas vias metabólicas principais: a via do ácido chiquímico e a via do ácido mevalônico, a qual é menos significativa (VIZZOTTO et al., 2010).

Figura 4 - Estrutura química de flavonoides.



Fonte: DORNAS et al. (2007)

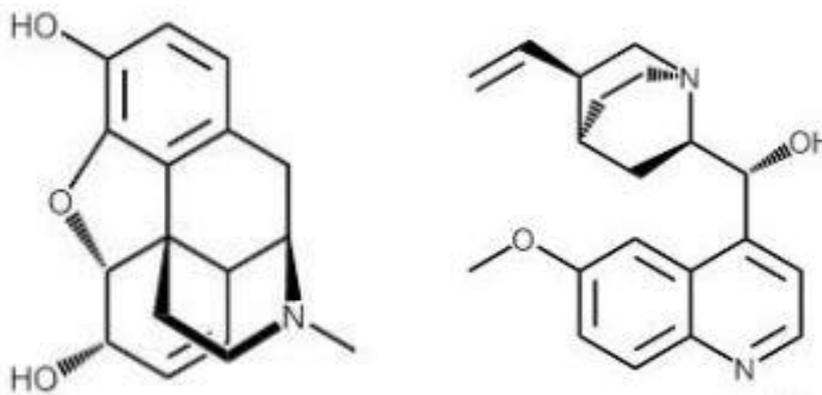
Na rota do ácido chiquímico, precursores de aminoácidos derivados da glicólise e da rota da pentose fosfato são convertidos em aminoácidos aromáticos (fenilalanina, tirosina e triptofano), tendo

como principal intermediário o ácido chiquímico, elemento este que dá nome a essa importante rota (TAIZ; ZAIGER, 2014). Grande parte dos compostos fenólicos produzidos durante o metabolismo secundário são sintetizados a partir da fenilalanina, sendo esta convertida em ácido cinâmico mediante a atividade catalítica da fenilalanina amonialiase (PAL), onde este novo composto gerado passa por uma série de reações de adições de grupos hidroxila e outros substituintes para a produção de diferentes compostos fenólicos (TAIZ; ZAIGER, 2014).

### 2.1.3.3 - Alcaloides

Os alcaloides (Figura 5) são compostos orgânicos cíclicos que possuem pelo menos um átomo de nitrogênio em seu anel e, em sua grande maioria, possuem caráter alcalino, pois a presença do átomo de N representa um par de elétrons não compartilhados (VIZZOTTO et al., 2010).

Figura 5 - Estrutura química da morfina (à esquerda) e da quinina (à direita).



Fonte: CABRAL; PITA (2015)

São sintetizados a partir de aminoácidos, tais como triptofano, tirosina, fenilalanina, lisina, arginina e ornitina, sendo alguns poucos derivados de purinas, como é o caso da cafeína (JIMÉNEZ et al., 2003; VIZZOTTO et al., 2010).

Devido à sua semelhança química com moléculas envolvidas na transmissão de sinais do sistema nervoso, o efeito tóxico dos alcaloides baseia-se na sua capacidade de bloqueio dos neuroreceptores, intermediários da transdução do sinal neuronal e canais iônicos de vertebrados e insetos (JIMÉNEZ et al., 2003). Graças a seu modo de ação, esses compostos são amplamente utilizados na medicina, devido a suas importantes propriedades medicinais, e como venenos ou alucinógenos (VIZZOTTO et al., 2010).

### 2.1.4 - Importância na agropecuária

No decorrer da segunda metade do século XX, logo após a segunda guerra mundial, intensificou-se a utilização de compostos químicos sintéticos (utilizados durante a segunda guerra mundial e depois direcionados para o combate de pragas na agricultura) juntamente com pacote tecnológico da Revolução

Verde, como solução para combater a fome no mundo. Com isso, o poder da indústria agroquímica teve aumento considerável, tornando esses compostos químicos os principais instrumentos de obtenção de capital no campo (DUTRA; SOUZA, 2017).

Entretanto, sua intensiva utilização foi responsável pelo aporte excessivo de compostos químicos no meio ambiente, resultando na contaminação de solos e ambientes aquáticos, promovendo desequilíbrio desses ecossistemas e impactando negativamente a saúde humana (LOPES; ALBUQUERQUE, 2018). Com o objetivo de diminuir a utilização de compostos altamente tóxicos a saúde humana e ao meio ambiente, foi intensificado a busca por alternativas de controle menos agressivas, sendo os extratos vegetais utilizados com sucesso, pois, comparados aos produtos sintéticos, oferecem grandes vantagens como gerar novos compostos, os quais os patógenos são incapazes de inativar, além de serem menos tóxicos, de rápida degradação no ambiente, terem amplo modo de ação e serem derivados de recursos renováveis (SANTOS et al., 2013).

Os extratos vegetais devido à presença de vários compostos bioativos podem apresentar potencial fungicida, herbicida e nematicida, sendo considerados de boa eficiência (SANTOS et al., 2013).

Estudos realizados com extratos obtidos a partir de espécies do gênero *Anacardium*, demonstraram efeito acentuado na mortalidade do caruncho do feijão (*Callosobruchus maculatus*) (ILEKE; OLOTUAH, 2012); da mosca branca (*Bemisia tuberculata*) (ANDRADE FILHO et al., 2013); da cigarrinha-das-raízes (*Mahanarva fimbriolata*), uma importante praga da cultura da cana-de-açúcar (PISTORI et al., 2013); no gorgulho do arroz (*Sitophilus oryzae* L.) uma importante praga que acomete os grãos em pós-colheita (BUXTON et al., 2017). Já em *Callosobruchus maculatus* F., foi verificado alta taxa de mortalidade utilizando extrato etanólico da castanha, ocasionando 100% de mortalidade em um período de 96 horas (OBEMBE; OGUNGBITE, 2017).

Extratos obtidos de *Mimosa caesalpiniiifolia* (sabiá) foram responsáveis por inibir a eclodibilidade de ovos de *Haemonchus contortus*, parasita causador da hemoconose, uma das principais patologias presentes em caprinos, demonstrando assim seu potencial anti-helmíntico (BRITO et al., 2017). Em mosca-branca (*Bemisia tabaci* Gennadius), a utilização desse extrato vegetal afetou a fertilidade do inseto, resultando na redução da taxa de reprodução, no tempo médio de geração e na taxa intrínseca de crescimento (CAVALCANTE et al., 2006).

#### 2.1.4.1 - Formigas-cortadeiras

As formigas do gênero *Atta* (saúvas) e *Acromyrmex* (quenquéns) são popularmente conhecidas por formigas-cortadeiras (Figura 6) pois cortam e transportam vegetais diversos para dentro de seus ninhos, com a finalidade de cultivar fungos que servem como fonte de alimento para as formas jovens e adultas (CAMPOS et al., 2008). Ambas pertencem a ordem Hymenoptera, família Formicidae, subfamília Myrmicinae, e tribo Attini, sendo esta, caracterizada por abranger o grupo de formigas cultivadoras de fungos (ENDRINGER, 2015).

Figura 6 - *Atta sexdens rubropilosa*: a) formiga operária; b) fungo *Leucoagaricus gongylophorus* em ninho; c) forrageamento; d) ninho.



Fonte: Campos et al. (2008)

O gênero *Atta* possui ampla distribuição, sendo encontrado desde o sul dos Estados Unidos ao centro da Argentina, inexistindo no Chile, nas ilhas das Antilhas e no Canadá (MARICONI, 1970 apud FREITAS, 2010).

As formigas cortadeiras são consideradas organismos eusociais, devido a divisão de trabalho mediante as diferenças morfológicas entre indivíduos, estabelecimento de cooperação no cuidado com a prole e pela sobreposição de gerações (HÖLLDOBLER; WILSON, 1990). As saúvas apresentam castas permanentes e temporárias. A casta temporária é constituída pelos indivíduos férteis que são as fêmeas aladas, conhecidas como içás ou tanajuras, e os machos alados, conhecidos como bitus. Enquanto que a casta permanente é composta pela fêmea fundadora do ninho (rainha), e pelas quatro castas de operárias (as jardineiras, as generalistas, as forrageadoras e os soldados) que não possuem função reprodutiva e que são encarregadas por realizar diversas tarefas no ninho (MARICONI, 1970 apud FREITAS, 2010).

Essas formigas são consideradas “verdadeiras agricultoras”, pois são capazes de manipular o fungo (*Leucoagaricus gongylophorus*) sobre o substrato vegetal para otimizar o seu crescimento, transplantando-o de jardins velhos para novos especialmente preparados para acolhê-lo, onde potencializam seu crescimento através da aplicação regular de suas fezes, da limpeza dos esporos contaminantes e da extirpação dos micélios infestados (BORBA et al., 2006).

Em um ecossistema natural, esses insetos possuem preferência por algumas espécies vegetais, as quais são totalmente desfolhadas, enquanto outras não são atacadas, embora sejam abundantes e localizadas próximas ao ninho. Essas variações na coleta do material, é relacionada diretamente com a

espécie de formiga, uma vez que, algumas possuem preferência por plantas monocotiledôneas, outras por dicotiledôneas e algumas por ambas (BORBA et al., 2006).

Do ponto de vista ecológico, as formigas apresentam elevada importância, pois ao forragear, são responsáveis por alterar quimicamente e fisicamente o solo. As mesmas são consideradas engenheiras do ecossistema, pois modulam direta e indiretamente, a disponibilidade de recursos para outras espécies, alterando o estado físico dos materiais bióticos e abióticos (DELLA LUCIA et al., 2013). Vários impactos positivos são relatados para esses insetos, pois modificam a estrutura química e física do solo, ajudando na aeração e na ciclagem de nutrientes (BACCARO et al., 2016).

Embora tenham acentuada importância ecológica, as formigas cortadeiras são responsáveis por consideráveis prejuízos econômicos, afetando a agricultura, a pecuária e a silvicultura em diferentes regiões das Américas ao cortarem grandes quantidades de biomassa vegetal em áreas de pastagens, florestas e cultivos comerciais (BACCARO et al., 2016). Estima-se que a atividade forrageadora em cultivo de *Eucalyptus grandis* Hill é responsável por reduzir até 38% a produção de madeira, enquanto que para *Pinus taeda* L., há o decréscimo de até 5,38% (BURATTO et al., 2012; ZANETTI et al., 2014). Por conta disso, tornam-se comumente objetos de estudo com a finalidade de obter novos métodos de controle.

#### 2.1.4.2 - Métodos de controle

As formigas cortadeiras podem ser controladas por meio de métodos mecânicos, culturais, biológicos e químicos. O método mecânico consiste na remoção das rainhas do seu ninho (Figura 7), levando em consideração o momento do voo nupcial, que possui sazonalidade distinta específica para cada região e, na escavação dos formigueiros recém formados, impedindo o crescimento da colônia (LERMA et al., 2012).

Figura 7 - Estrutura do ninho de formigas do gênero *Atta*



Fonte: Edcentaurus (2011)

Os métodos culturais consistem na diversificação de sistemas de cultivo, preconizando a utilização de sistemas integrados de produção (sistema agrossilvipastoril), uma vez que, aumentam a disponibilidade de plantas e concomitantemente, favorecem o estabelecimento de fauna benéfica, especialmente aves, contribuindo para a supressão natural de formigas cortadeiras (LERMA et al., 2012). O controle biológico preconiza a utilização de predadores naturais, parasitoides e microrganismos

patogênicos, como insetos, nematoides e certos fungos, sendo considerada uma das áreas de pesquisa mais promissoras no controle de formigas cortadeiras; contudo, os resultados laboratoriais promissores utilizando esse método não são reproduzidos com eficácia no campo, destacando a necessidade de elucidar cada vez mais as dificuldades biológicas envolvidas no método em questão para que sejam de fato aplicadas em campo (DELLA LUCIA et al., 2013; BOARETTO et al., 1997).

Os métodos químicos para o controle de formigas cortadeiras são frequentemente utilizados, sendo o produto tóxico aplicado diretamente nos ninhos, nas formulações em pó, líquida ou líquidos nebulizáveis, ou apresentado na forma de iscas granuladas, aplicadas nas proximidades da colônia (BOARETTO et al., 1997).

Os formicidas em pó são utilizados desde o final da década de 50, constando basicamente de um princípio ativo com ação de contato, talco como inerte e veículo de aplicação, sendo aplicados com auxílio de polvilhadeiras, um equipamento manual dotado de um recipiente cônico para o acondicionamento do produto (BOARETTO et al., 1997). Organofosforados, carbamatos e piretróides têm sido utilizados como pó seco para fornecer controle eficiente sob condições ambientais secas e contra ninhos pequenos e rasos (DELLA LUCIA et al., 2013).

Os formicidas líquidos foram pouco difundidos e utilizados em formigas cortadeiras, principalmente em função da baixa eficiência dos produtos testados, devido a necessidade de o produto entrar em contato com as formigas, além do trabalho dispendioso de perfuração do ninho e perdas do produto pela absorção do solo (BOARETTO et al., 1997). Os principais produtos utilizados para o controle de formigas cortadeiras são o fipronil e o tiametoxam. O fipronil age no sistema nervoso ligando-se aos receptores do ácido gama-aminobutírico (GABA), que controlam o fluxo de íons de cloro através da membrana das células nervosas, causando inibição das células sinápticas. Já o tiametoxam faz parte de um grupo químico denominado de neonicotinoide, que age na morte dos insetos pela hiperexcitação ou paralisação do metabolismo (ORTIZ et al., 2017).

O uso de inseticidas fumigantes (inseticidas a gás), principalmente brometo de metila, foi frequentemente utilizado anteriormente contra formigas cortadeiras, principalmente pela facilidade de se espalhar por todo o ninho, causando sua supressão. No entanto, além de sua alta toxicidade a mamíferos, o brometo de metila afeta negativamente a camada de ozônio, e está sendo eliminado conforme acordado no Protocolo de Montreal (DELLA LUCIA et al., 2013).

Frequentemente, inseticidas químicos também são componentes essenciais em receitas de iscas granuladas, onde as próprias formigas transportam e introduzem nas colônias os princípios ativos contidos nas iscas granuladas (LERMA et al., 2012). Esse método consiste na utilização de um substrato atrativo em mistura com um princípio ativo tóxico, em pellets. O inseticida é geralmente dissolvido em óleo de soja refinado e, posteriormente, incorporado ao substrato, sendo utilizado como substrato atrativo polpa cítrica desidratada (BOARETTO et al., 1997). Os principais princípios ativos tóxicos utilizados nas iscas granuladas são a sulfluramida e o fipronil (DELLA LUCIA et al., 2013), porém,

encontram-se com o uso restrito conforme acordado pela convenção de Estocolmo sobre Poluentes Orgânicos Persistentes (POPs) (BRITO et al., 2016), surgindo a necessidade da busca por novos métodos de controle que tragam uma maior segurança ambiental.

#### 2.1.4.3 - Uso de plantas inseticidas como alternativa de controle

Os inseticidas naturais são substâncias resultantes do metabolismo secundário das plantas que, de acordo com estudos químicos e ecológicos, desempenham um papel importante nas interações dos insetos com as plantas, sendo extraídos de várias partes da planta, como folha, fruto, caule ou raiz, tendo como principal função a defesa de espécies vegetais contra a herbivoria realizada por insetos (SILVA et al., 2019).

Várias vantagens são associadas a utilização de inseticidas botânicos, uma vez que, há uma vasta gama de espécies vegetais que podem ser utilizadas para a obtenção de extratos apresentando uma série de vantagens como: apresentar uma rápida ação no controle de insetos praga, apresentar fitotoxicidade baixa, serem seletivos e apresentam degradação rápida, sendo que o controle proporcionado por esses produtos seja associado a suas atividades repelentes, a sua capacidade de causar esterilidade aos insetos ou até mesmo, mosmoreduzir sua herbivoria (DANTAS et al., 2019).

Uma das espécies mais estudadas para o controle de pragas em geral é a *Azadirachta indica* A. Juss, conhecida popularmente como nim. O interesse por essa espécie deve-se à presença de um limonóide denominado azadiractina, cuja atividade sobre alguns insetos é comparável à dos melhores inseticidas sintéticos encontrados no mercado, tendo ação uma vasta gama de insetos em doses baixas, como 50 ppb (TAIZ; ZEIGER, 2014; VIEIRA; PERES, 2017).

Duarte et al. (2019), buscando testar a toxicidade de *Esenbeckia pumila* Pohl (Rutaceae) sobre *Atta sexdens rubropilosa* conseguiram observar o decréscimo de sobrevivência das formigas mediante a incorporação de extratos etanólicos em sua dieta artificial, indicando a atividade formicida sobre a espécie utilizada, especialmente devido a presença do flavonóide rutina e uma mistura de triterpenos,  $\alpha$ -amyrin,  $\beta$ -amyrin e o lupeol, comprovada pela caracterização química do material.

Em um estudo comparativo realizado por Silva et al. (2019), foi reportada a superioridade dos extratos hidroetanólicos sobre os extratos etanólicos utilizando pseudocaule de *Musa acuminata* em aplicação tópica, no qual após 48 horas de bioensaio foi verificado 100% de mortalidade de operárias de *Atta sexdens rubropilosa*.

Em trabalho realizado por Rocha et al. (2018), foi realizada a verificação da toxicidade do óleo essencial de *Pogostemon cablin*, e sua nanoformulação, em *Atta sexdens*, por meio de fumigação para a determinação de sua dose letal. Verificou-se que tanto o óleo essencial quanto sua nanoemulsão possuiu eficiência inseticida e irritabilidade para a formiga cortadeira, indicando o potencial da espécie para a geração de novos produtos formicidas.

Bueno et al. (1995), demonstrou que *Sesamum indicum* L. (gergelim), pode ser utilizada para o controle indireto de formigas cortadeiras, visto que a implementação de suas folhas *in natura* para a

alimentação das formigas reduziu o crescimento do fungo simbiote das formigas cortadeiras. Outras espécies vegetais possuem atividade formicida em *Atta sexdens* comprovada na literatura, como *Helietta peberula* (ALMEIDA et al., 2007), *Carapa guianensis*, *Cedrela fissilis* (AMBROZIN et al., 2006), *Virola sebifera* (BICALHO et al., 2012), *Ricinus communis* (BIGI et al., 2004), *Citrus* spp. (FERNANDES et al., 2002), entre outras.

#### 2.1.5 - Importância na saúde dos compostos bioativos obtidos de plantas

Desde tempos remotos as plantas são utilizadas de forma empírica, prática baseada principalmente nas crenças, observada primeiramente pelos povos indígenas que tinham o uso de plantas medicinais como algo de seu cotidiano (BRUNING et al., 2012). A busca por alívio e cura de doenças, por meio da utilização de ervas e folhas, talvez tenha sido uma das primeiras formas de utilização desses produtos, no qual o homem buscava descobrir soluções para suas necessidades básicas de sobrevivência, como alimentação, moradia, proteção e reprodução, e por meio dessa prática, evidenciou-se que os compostos provindos de plantas possuem a capacidade de exercer papel importante na prevenção e/ou cura de doenças crônicas não transmissíveis como problemas cardiovasculares, câncer, problemas respiratórios, diabetes, etc. (PEREIRA et al., 2012; LAMOTHE et al., 2015).

As plantas são bancos fitoquímicos naturais apresentando rica variedade de compostos para uso terapêutico e, devido a esse fato, há o considerável aumento de estudos científicos e econômicos na busca de novos compostos (MENEZES FILHO; CASTRO, 2019).

Os compostos bioativos produzidos pelas plantas são conhecidos como metabólitos secundários que, embora possuam uma variedade de funções nas plantas, é provável que sua importância ecológica tenha alguma relação com potencial efeito medicinal para os seres humanos (VIZZOTTO et al., 2010). Por exemplo, produtos secundários envolvidos na defesa contra herbívoros por meio de atividade neurotóxica poderia ter efeitos benéficos em seres humanos (ou seja, como antidepressivos, sedativos, relaxantes musculares ou anestésicos), da mesma forma que produtos secundários envolvidas na defesa das plantas por meio de citotoxicidade para patógenos microbianos podem ser úteis como medicamentos antimicrobianos em humanos, se não forem tóxicos (VIZZOTTO et al., 2010).

Várias atividades biológicas são reportadas na literatura para os metabólitos secundários obtidos de espécies vegetais, dentre elas: antitumoral (COSTA; CAVALCANTE, 2018), antiulcerogênica (BRITO, 2018), anti-inflamatória, antinociceptiva (BATISTA et al., 2016), antifúngica (NEVES et al., 2019) e antibacteriana (DELGADO et al., 2018).

Vários compostos obtidos a partir da *Anacardium occidentale* Linn. são descritos focando em suas atividades biológicas. Florêncio et al. (2007), demonstrou a atividade antitumoral do polissacarídeo extraído de caju frente a células tumorais de sarcoma. Outro composto de alta atividade biológica presente em *Anacardium occidentale* Linn. é o ácido anacárdico, principal componente da casca da castanha do caju, liberado como subproduto de cadeias produtivas do caju e que apresenta elevado

potencial por possuir pronunciada atividade antioxidante, gastroprotetora e anti-inflamatória (HAMAD; MUBOFU, 2015; ÖNAL et al., 2019).

Tratando-se da *Mimosa caesalpinifolia* foi verificado em estudo relatado por Silva et al. (2014), que a fração acetato de *Mimosa caesalpinifolia* evitou a genotoxicidade induzida pela exposição de cádmio ao fígado e as células periféricas de ratos, como resultado de sua atividade antioxidante. Em estudo realizado por Silva et al. (2018), foi relatado o efeito de seu extrato hidroetanólico na atenuação de lesões do cólon de ratos com colite induzida, indicando seu potencial anti-inflamatório. Já em trabalho realizado por Araújo et al. (2020), utilizando extratos etanólicos de inflorescências de *Mimosa caesalpinifolia*, foi possível observar sua atividade antileishmanial, uma vez que a utilização do extrato promoveu a inibição significativa do crescimento após 48 horas para formas promastigotas de *Leishmania amazonensis*.

#### 2.1.6 - Resistência bacteriana a antibióticos

A resistência bacteriana aos antibióticos configura-se como um dos principais problemas de saúde pública, visto que, muitas bactérias anteriormente susceptíveis aos antibióticos usualmente utilizados deixaram de responder a esses mesmos agentes (LOUREIRO et al., 2016). A resistência bacteriana é um fenômeno de ocorrência natural, pois há bactérias naturalmente resistentes a certos antimicrobianos (por exemplo, *Enterococcus* resistentes a cafosporina) (ANTONIO et al., 2009).

Os antibióticos são uma classe de fármacos utilizados para o tratamento de doenças infecciosas, que se diferenciam uns dos outros, quanto as suas propriedades físicas, químicas, farmacológicas, no espectro e mecanismos de ação (COSTA; SILVA JÚNIOR, 2017).

A descoberta de antibióticos eficientes no tratamento de infecções bacterianas proporcionou um grande avanço na medicina, reduzindo consideravelmente o número de mortes causadas por doenças infecciosas (MORAES et al., 2016). Entretanto, o mau uso desses fármacos acelera o processo natural de resistência das bactérias contra os antibióticos, devido ao fato de que no ambiente natural esses antimicrobianos são produzidos por populações microbianas como ferramenta de competição por recursos nutricionais e espaço dentro do micro-habitat que ocupam (COSTA; SILVA JÚNIOR, 2017).

No âmbito da saúde, a resistência bacteriana representa um risco à qualidade de vida humana conquistada ao longo dos anos com o avanço da microbiologia, das engenharias, da farmácia e da medicina, comprometendo o orçamento dos sistemas de saúde, sejam eles públicos ou privados (COSTA; SILVA JÚNIOR, 2017).

Os 4 principais mecanismos de defesa de resistência bacteriana aos antibióticos são: a modificação ou destruição enzimática do antibiótico; a prevenção da acumulação intracelular do antibiótico através da redução da permeabilidade celular ao antibiótico; as alterações nas moléculas alvos dos antibióticos, e a produção de moléculas alvo alternativas que não são inibidas pelo antibiótico, enquanto se continua a produzir as moléculas alvo originais, contornando desse modo a inibição induzida pelo antibiótico (LOUREIRO et al., 2016).

Algumas estratégias podem ser adotadas para mitigar o desenvolvimento de resistência bacteriana, como por exemplo a prevenção de doenças bacteriana por meio de controle preventivo utilizando vacinas, uso racional de antibióticos, controle e prevenção de disseminação de microrganismos resistentes, descoberta e desenvolvimento de novos antibióticos (GUIMARÃES et al., 2010).

Diante disso, várias razões justificam a necessidade urgente por novos agentes antimicrobianos, que atuem utilizando mecanismos de ação diferentes aos dos fármacos geralmente utilizados (GUIMARÃES et al., 2010).

A ampla biodiversidade vegetal encontrada no mundo combinada às diversas técnicas indica a potencialidade da descoberta de compostos bioativos com propriedades antibacterianas pronunciadas, aumentando as possibilidades de controle e diminuindo concomitantemente a ocorrência da resistência bacteriana. Os metabólitos secundários com atividade antibacteriana geralmente apresentam estruturas químicas complexas importantes para as interações específicas e reconhecimento por alvos macromoleculares em bactérias patogênicas, associado ao fato de que em extratos vegetais podem haver a presença de vários compostos potenciais no controle do crescimento bacteriano (GUIMARÃES et al., 2010).

#### 2.1.6.1 - *Staphylococcus aureus*

Compreende um grupo de bactérias gram-positivas agrupadas em cachos ou aglomerados de cocos. Sua parede celular é constituída por cápsula camada frouxa de polissacarídeos que protege as bactérias ao inibir a quimiotaxia e fagocitose, também facilita a aderência a materiais sintéticos, sendo rica em peptidoglicano que confere maior rigidez à parede (ALMEIDA et al., 2016).

O gênero *Staphylococcus* foi descrito pela primeira vez no ano de 1880 pelo cirurgião escocês Alexandre Ogston, que observou sua presença em pus de abscessos cirúrgicos e atualmente é um dos microorganismos mais comuns nas infecções piogênicas em todo o mundo (SANTOS et al., 2007).

Esse grupo de bactéria é frequentemente encontrado na pele e fossas nasais de pessoas saudáveis, não obstante, em algumas situações pode tornar-se patogênico e provocar uma ampla variedade de complicações, que vão desde uma simples infecção como espinhas, furúnculos e celulites, até infecções graves, a exemplo de pneumonia, meningite, endocardite, síndrome do choque tóxico, septicemia e outras (SANTOS et al., 2007; GELATTI et al., 2009). Sua patogenicidade é consequente aos fatores de virulência e à elevada resistência a diversos antimicrobianos (LIMA et al., 2015).

O aumento nas taxas de Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (IRAS) ocasionado pela permanência em Unidades de Terapia Intensiva (UTI), estão diretamente relacionadas com os riscos a que os pacientes estão sujeitos e sua vulnerabilidade decorrente dos métodos invasivos empregados (BORER et al., 2012). Os principais fatores de risco relacionados a infecções incluem geralmente, idosos e crianças, uso indiscriminado de antibióticos e corticóides, internação prolongada e presença de dispositivos médicos invasivos (BASSETTI et al., 2012; CHUSRI et al., 2015).

Com base nos dados da Organização Mundial da Saúde (OMS), cerca de 1,4 milhões de infecções ocorrem a qualquer momento, tanto em países desenvolvidos quanto em desenvolvimento, onde verifica-se que UTIs apresentam um elevado índice de IRAS por microrganismos multirresistentes, sendo o *S. aureus*, o patógeno que apresenta o maior índice de mortalidade devido a sua alta virulência e grande prevalência nas instituições de saúde (SOUSA et al., 2016).

#### 2.1.6.2 - *Enterococcus faecalis*

As bactérias do gênero *Enterococcus* spp são bactérias Gram-positivas classificadas como cocos, agrupadas em pares ou cadeias curtas, anaeróbicas facultativas e negativas contra a catalase (MEDELL et al., 2014).

Esse grupo de bactérias foi originalmente classificado como cocos entéricos gram-positivos incluídos no gênero *Streptococcus*, onde no decorrer dos anos foram realizados diversos estudos para distinguir as duas espécies. A princípio, o investigador Sherman dividiu os *Streptococcus* em categorias, organizadas conforme as reações hemolíticas, o grupo de antigénio a que pertencem e o seu fenótipo, no qual um deles correspondia ao grupo *Enterococcus* constituído por bactérias de origem fecal incluindo *Streptococcus faecalis*, *S. liquefaciens*, *S. zymogenes* e *S. durans* (KOBAYAKAWA et al., 2005). Através de técnicas de hibridação do DNA, verificou-se que algumas espécies, incluindo *Streptococcus faecalis* eram abundantemente distintos dos restantes *Streptococcus*, e assim propôs-se a sua transferência para o gênero *Enterococcus* (FACKLAM, 2002).

Consideradas agentes patogênicos oportunistas de elevada importância, apresentam uma capacidade evidente de desenvolver e adquirir resistências contra vários grupos de agentes antimicrobianos, dificultando cada vez mais a escolha de estratégias terapêuticas eficazes (LOPES et al., 2005, KAYAOGU et al., 2004). Compõem a microbiota intestinal de seres humanos e animais saudáveis e estão amplamente distribuídos no ambiente (RIBOLDI et al., 2009; CAMPOS et al., 2013). Pode também ser encontrado em alimentos, normalmente produtos de origem animal, bem como em locais com poucas condições de higiene, onde a sua presença indica contaminação fecal (MARTIN et al., 2008).

Situam-se, principalmente, no trato gastrointestinal e geniturinário, quando presentes em outros locais do organismo podem representar uma espécie patogênica oportunista apresentando assim, uma elevada incidência em pacientes hospitalizados que não se deve somente à sua virulência, mas também ao quadro de imunocomprometimento de indivíduos contidos naquele ambiente (CAUWERTS, 2007). Essa espécie está frequentemente associada a infecções humanas e animais, como bacteremia, septicemia, infecções do trato urinário, infecções de feridas, meningites e endocardites (CAMPOS et al., 2013; CAUWERTS et al., 2007).

#### 2.1.6.3 - *Listeria monocytogenes*

A bactéria *Listeria monocytogenes* diz respeito a um bacilo Gram-positivo, não formador de esporos, anaeróbio facultativo. Apresenta-se na forma móvel devido aos flagelos, possuindo movimento

característico denominado tombamento, que contribui para sua identificação. Apresenta reação positiva para catalase e negativa para oxidase (FRANCO et al., 1996).

Esta bactéria é conhecida pelos cientistas há muito tempo, onde no ano de 1924, os cientistas Murray, Webb e Swann relataram o primeiro isolamento do microrganismo que foi responsável por uma leucocitose mononuclear típica em coelhos denominando-o de *Bacterium monocytogenes* (MURRAY et al., 1926). A designação *Listeria monocytogenes* só foi definida em 1940 depois que outro microrganismo semelhante foi isolado em roedores em 1930 e recebeu o nome de *Listerella hepatolytica* em homenagem ao cirurgião britânico Sir Joseph Lister e em 1948, foi incluída no Manual Bacteriológico Determinativo de Bergey (CRUZ et al., 2008).

Apesar de ser um agente presente no solo e na água, as maiores fontes de transmissão do microrganismo são os alimentos (SILVA et al., 2016). O trato gastrointestinal (TGI) é o principal ponto de entrada do patógeno e, portanto, foco de colonização. A fim de colonizar o TGI, o microrganismo deve sobreviver às condições adversas, como a acidez estomacal, a alta osmolaridade e a presença de sais biliares no intestino delgado (SILVA et al., 2016).

Caracteriza-se por ser um grupo de bactérias que diz respeito a um patógeno oportunista, capaz de ocasionar meningite e septicemia através da ingestão de alimentos contaminados (MANTILLA, 2007) além de listeriose, que condiz com um grupo geral de desordens causadas pela *Listeria monocytogenes*, incluindo em seus sintomas febre e dores musculares, às vezes precedidas de diarreia e outros sintomas gastrointestinais (ROQUE et al., 2018).

A listeriose foi identificada como uma infecção de origem alimentar, onde epidemias focais têm sido associadas ao consumo de leite, queijo, carne inadequadamente cozida, vegetais crus não lavados e repolho contaminado (MURRAY, 2000). Por ocasionar, normalmente, infecções sistêmicas, pode ser potencialmente fatal em indivíduos imunocomprometidos e idosos, também afetando gestantes, podendo provocar aborto, parto prematuro, nados-mortos ou infecções neonatais (LOMONACO et al., 2015).

### 3 OBJETIVO GERAL

Caracterizar quimicamente e avaliar as propriedades biológicas dos extratos aquosos e hidroetanólicos obtidos de folhas das espécies *Anacardium occidentale* L. e *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth.

#### 3.1 Objetivos específicos

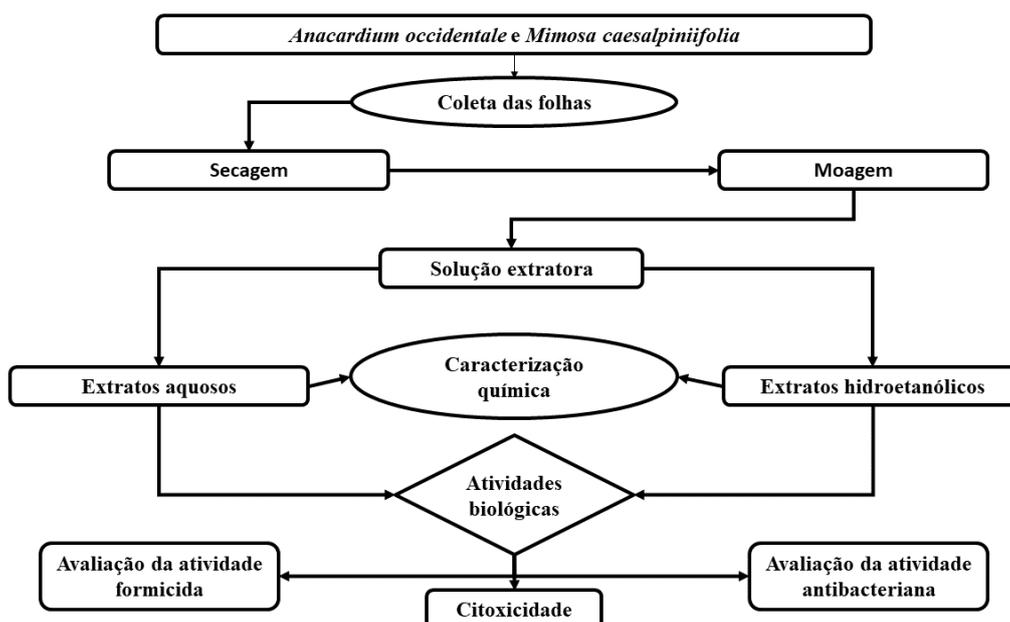
- Obter extratos aquosos e hidroetanólicos de folhas de *A. occidentale* L. (cajueiro) e *M. caesalpiniiifolia* Benth. (Sabiá);
- Verificar a constituição fitoquímica dos extratos aquosos e hidroetanólicos de folhas de *A. occidentale* L. e *M. caesalpiniiifolia* Benth.;
- Determinar os teores de compostos fenólicos, flavonoides, açúcares e de saponinas nos extratos aquosos e hidroetanólicos de folhas de *A. occidentale* L. e *M. caesalpiniiifolia* Benth.;
- Avaliar sobrevivência de operárias de *Atta sexdens* mediante a incorporação dos extratos hidroetanólicos de folhas de *A. occidentale* L. e *M. caesalpiniiifolia* Benth. em sua dieta artificial;
- Verificar a atividade antibacteriana dos extratos aquosos e hidroetanólicos de folhas de *A. occidentale* L. e *M. caesalpiniiifolia* Benth. frente às bactérias gram-positivas *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* e *Listeria monocytogenes*, por meio da determinação da concentração inibitória mínima (CIM);
- Verificar a citotoxicidade dos extratos aquosos e hidroetanólicos de folhas de *A. occidentale* L. e *M. caesalpiniiifolia* Benth. em linhagem de células VERO;

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Organograma experimental

O organograma (Figura 8) abaixo resume a metodologia descrita em detalhes nos itens posteriores. De forma geral, o presente trabalho buscou realizar a caracterização química dos extratos aquosos e hidroetanólicos de *A. occidentale* L. e *M. caesalpinifolia* Benth., bem como verificar as algumas atividades biológicas e, para isso, fez-se necessário inicialmente a produção dos extratos, que consistiu nas etapas subsequentes de coleta das folhas, secagem, moagem e pôr fim a imersão do material vegetal moído nos solventes extratores (água e solução hidroetanólica). Após a obtenção dos extratos aquosos e hidroetanólicos de *A. occidentale* L. e *M. caesalpinifolia* Benth. partiu-se para as etapas de caracterização química, de forma qualitativa usando métodos colorimétricos e, de forma quantitativa. Posteriormente foram realizados bioensaios para a verificação da atividade formicida, antibacteriana e citotoxicidade dos extratos aquosos e hidroetanólicos de *A. occidentale* L. e *M. caesalpinifolia* Benth.

Figura 8 - Organograma experimental da caracterização química e avaliação das atividades biológicas de *A. occidentale* L. e *M. caesalpinifolia* Benth.



Fonte: Autoria própria (2020)

### 4.2 Obtenção dos materiais vegetais

As amostras foliares de *M. caesalpinifolia* Benth. (sabiá) e *A. occidentale* L. (cajueiro) foram coletadas no litoral piauiense, em abril de 2019, nos bairros portinho (2°55'26''S; 41°41'32''W; Parnaíba) e cal (2°50'7''S; 41°43'10''W; Ilha grande), respectivamente.

As regiões selecionadas para a coleta das amostras foliares fazem parte da microrregião do litoral piauiense, com clima Aw de acordo com classificação climática de Köppen (1931), uma vez que

apresentam inverno seco, com pouca ou até mesmo ausente precipitação, e verão com grande intensidade pluviométrica. Essa região contém a presença de população que apresenta diferenças morfológicas em comparação à outras populações encontradas em outras localidades, sendo esta estudada por Andrade et al. (2019), e denominada *A. occidentale* L. ecótipo restinga, por possuir folhas mais curtas e largas, drupas mais curtas e menos veias secundárias.

Para *A. occidentale* L., a escolha do local de coleta ocorreu mediante a análise prévia de resultados reportados por Ribeiro (2016), que indicaram a presença de compostos bioativos importantes para a execução do trabalho, na região selecionada. Entretanto, a ausência de estudos de caracterização química de *M. caesalpinifolia* Benth. mediante a variação espacial no litoral piauiense, impediu a escolha de um local específico para a realização da coleta, sendo o local escolhido apenas em função da disponibilidade de material vegetal, bem como a facilidade para a realização da coleta, visto que a espécie apresenta acúleos que dificultam esse procedimento.

#### **4.3 Produção de extratos hidroalcoólicos e aquosos de sabiá (*Mimosa caesalpinifolia*) e caju (*Anacardium occidentale*)**

Para a produção de extratos hidroalcoólicos de sabiá e caju foi utilizado a metodologia descrita por Ribeiro (2016). O método consistiu na desidratação das folhas recém coletadas em estufa a 40°C durante 24 horas e sua posterior moagem em moinho martelo. Esta primeira etapa da preparação e produção dos extratos brutos possui a finalidade de retirar a água contida no material vegetal e, com isso, diminuir a possibilidade da ocorrência de reações de hidrólise e crescimento microbiano.

Após a moagem do material vegetal, foram pesadas 40 gramas de folhas moídas para um volume de 400 mL de solução extratora (EtOH + H<sub>2</sub>O), em proporção de 70% (v/v) de EtOH / H<sub>2</sub>O por 48 horas ao abrigo de luz e, após esse período, as soluções foram filtradas, concentradas em centrivap até a completa evaporação do etanol e por fim, liofilizadas.

A metodologia envolvida na produção dos extratos aquosos foi similar ao método descrito para a produção dos extratos hidroetanólicos. Nesse caso, após a moagem do material vegetal, foram pesadas 40 gramas de folhas moídas e adicionados 400 mL de água destilada. A solução permaneceu em um tempo de reação de 48 horas ao abrigo de luz e após esse período, as soluções foram filtradas, congeladas e liofilizadas para a obtenção dos extratos aquosos.

#### **4.4 Caracterização química qualitativa e quantitativa dos extratos aquosos e hidroetanólicos de *Anacardium occidentale* L. e *Mimosa caesalpinifolia* Benth.**

A metodologia utilizada para a caracterização fitoquímica qualitativa foi descrita por Barbosa (2001), com a finalidade de detectar a presença de fenóis, taninos, saponinas, esteroides, triterpenoides, alcaloides, açúcares redutores e não redutores, ácidos orgânicos, antraquinonas, polissacarídeos e flavonoides.

#### 4.4.1 - Fenóis e taninos

Foram dissolvidos 50 mg de extrato em 5 mL de água destilada e adicionadas duas gotas de solução alcoólica de  $\text{FeCl}_3$  a 1%. Qualquer mudança na coloração para azul, vermelho ou verde foi considerado indicativo da reação positiva.

#### 4.4.2 - Saponinas

Foram dissolvidos 50 mg de extrato em 5 mL de água destilada. Posteriormente, diluídos para 15 mL com água destilada e agitados vigorosamente manualmente durante 2 minutos em tubos fechados. A permanência de uma camada de espuma sobre a superfície do extrato por mais de meia hora foi considerado como resultado positivo para a presença de saponinas.

#### 4.4.3 - Esteroides e triterpenoides

Foram dissolvidos 50 mg de extrato em 10 mL de clorofórmio. Adicionados 1 mL de Anidrido Acético e agitados suavemente, em seguida, adicionados cuidadosamente, três gotas de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrado (P.A) e a agitados suavemente. O aparecimento de coloração que vão do azul evanescente ao verde persistente, foi considerada como indicativo da presença desses compostos.

#### 4.4.4 - Alcaloides

Foram dissolvidos 50 mg de extrato em 5 mL de solução de HCl à 5%. Foram separadas duas porções de 1 mL em tubos de ensaio, e adicionados gotas dos reativos de Bouchardat e Dragendorff. Os resultados foram considerados positivos quando houve a formação de precipitado laranja avermelhado utilizando o reativo de Bouchardat, ou vermelho tijolo com o reativo de Dragendorff.

#### 4.4.5 - Açúcar redutor e não redutor

Foram dissolvidos 50 mg de extrato em 5 mL de água destilada. Em seguida, foram adicionados 2 mL do reativo de FEHLING A e 2 mL do reativo de FEHLING B e aquecidos em banho-maria em temperatura de ebulição durante 5 minutos. O aparecimento de um precipitado vermelho tijolo, foi considerado positivo para açúcares redutores.

Para extratos que tiveram resultados negativos na técnica anterior, foram dissolvidos 50 mg de extrato seco em 5 mL de água destilada. Posteriormente, foram adicionados 1 mL de HCl concentrados e fervidos em banho-maria por 10 minutos. Após esfriar, a solução foi neutralizada com solução de NaOH a 20%. Foram adicionados 2 mL de FEHLING A e 2 mL de FEHLING B e aquecidos em banho-maria por 5 minutos. Após esse período, o aparecimento de precipitado vermelho indicou a presença de açúcares não redutores.

#### 4.4.6 - Ácidos orgânicos

Foram dissolvidos 50 mg de extrato em 5 mL de água destilada, transferidos 2 mL para um tubo de ensaio e adicionados três gotas do reativo de PASCOVÁ. O resultado foi considerado positivo na descoloração completa do reativo.

#### 4.4.7 - **Antraquinonas**

Foram dissolvidos 50 mg de extrato em 5 mL de Tolueno, em seguida, adicionados 2 mL de solução de  $\text{NH}_4\text{OH}$  à 10% e agitados suavemente. O aparecimento de coloração rósea, vermelha ou violeta na fase aquosa, indicou a reação positiva.

#### 4.4.8 - **Polissacarídeos**

Foram dissolvidos 50 mg de extrato em 5 mL de água destilada e adicionadas duas gotas de lugol. O resultado foi considerado positivo com o aparecimento de coloração azul.

#### 4.4.9 - **Flavonoides**

Foram dissolvidos 50 mg de extrato em 20 mL de água destilada e transferidos para três tubos de ensaio, com 3 mL da solução em cada tubo. Foram acidulados um a pH 3, e os restantes alcalinizados a pH 8,5 e 11. O aparecimento de coloração vermelha em pH 3 indica a presença de antocianinas e antocianidinas e/ou chalconas e auronas; a mudança de coloração para lilás em pH 8,5 indica a presença de antocianinas e antocianidinas; enquanto que para o pH 11 a mudança de coloração para azul púrpura indica a presença de antocianinas e antocianidinas, para amarela indica a presença de flavonas, flavonóis e xantonas, para vermelho-púrpura indica a presença de chalconas e auronas, e para vermelho-laranja resulta em positivo para flavanonóis.

#### 4.4.10 - **Determinação do teor de fenóis**

A quantificação de polifenóis totais das amostras foi mensurada de acordo com a metodologia descrita por Kim et al. (2003), com adaptações. O teste consistiu na utilização de ácido gálico como padrão em diferentes concentrações (200  $\mu\text{g/mL}$ , 150  $\mu\text{g/mL}$ , 100  $\mu\text{g/mL}$ , 50  $\mu\text{g/mL}$ , 25  $\mu\text{g/mL}$ , 10  $\mu\text{g/mL}$ , 5  $\mu\text{g/mL}$ , 0  $\mu\text{g/mL}$ ) de modo a se obter uma curva de calibração para a conversão dos resultados. Para tal, uma alíquota de 100  $\mu\text{L}$  de extrato (1  $\text{mg/mL}$ ) foi diluída em 900  $\mu\text{L}$  de água destilada (somente água foi utilizada na produção do branco). Posteriormente foram adicionados 100  $\mu\text{L}$  do reagente Folin – Ciocalteu e agitados vigorosamente. Após 5 minutos de reação foi adicionado 1 mL de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (7,5%) sendo a solução diluída com água destilada para o volume final de 2,5 mL (400  $\mu\text{L}$  de água). Após 90 minutos de reação ao abrigo de luz, as amostras foram lidas com o auxílio de UV-Vis no comprimento de onda de 750 nm para a verificação da absorbância.

A curva de calibração produzida com as diferentes concentrações do padrão foi utilizada para mensuração da quantidade de fenólicos totais das amostras a serem testadas, sendo os resultados expressos em mg ácido gálico/g de amostra vegetal.

#### 4.4.11 - **Determinação do teor flavonoides**

A determinação do teor de flavonoides totais foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Kumaran (1997). Uma alíquota de 100  $\mu\text{L}$  de extrato (1 $\text{mg/mL}$ ) foi colocada em um tubo de ensaio e em seguida foram adicionados 100  $\mu\text{L}$  de cloreto de alumínio ( $\text{AlCl}_3$ ; 200  $\text{mg/mL}$ ) e uma gota de ácido acético. Posteriormente, a solução foi diluída em etanol (2,3 mL) e acondicionada ao abrigo de luz por 40 minutos para a leitura da absorbância no comprimento de onda de 450 nm. Uma solução com 100

$\mu\text{L}$  de extrato, uma gota de ácido acético e 2,4 mL de etanol foi utilizada como branco. A curva de calibração foi realizada para a mensuração do teor de flavonoides das amostras utilizando como padrão a quercertina em diferentes concentrações (10, 30, 50, 70 e 100  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) para obtenção da equação da reta.

#### 4.4.12 - Determinação do teor de açúcares

Para determinação de açúcares totais das amostras foi utilizada metodologia descrita por Masuko et al. (2005) com algumas modificações. Em um tubo de ensaio foram adicionados 500  $\mu\text{l}$  de extrato, 1,5 mL de ácido sulfúrico concentrado ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) e 300  $\mu\text{l}$  de fenol à 5% e agitados cuidadosamente. Posteriormente, a solução foi colocada em banho-maria à 90°C durante 5 minutos e imersa em seguida em banho de gelo por 5 minutos. As absorbâncias das amostras foram lidas no comprimento de onda de 490 nm e a concentração de açúcares totais mensuradas com o auxílio de curva de calibração utilizando como padrão glucose (10; 20; 30; 40; 50; 60; 80; e 100  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ).

#### 4.4.13 - Índice de saponificação

Na determinação do índice de saponificação foi utilizada metodologia descrita pela Farmacopeia Brasileira (2010) com algumas adaptações. Pesou-se 100 mg de cada amostra em erlenmeyers de 100 ml. Foram adicionados 5 mL de solução alcoólica de KHO 0,1 N, 5 mL de solução de tolueno/etanol 95 % (2:1) neutralizada previamente com solução alcoólica de KHO 0,1 N e 3 gotas de fenolftaleína. O erlenmayer foi adaptado em um condensador vertical de refluxo e submetido a aquecimento por 90 minutos. Após o período em aquecimento a solução foi titulada com ácido clorídrico 0,1 N até o desaparecimento da coloração rósea. A titulação em branco foi realizada em condições idênticas, porém, sem a presença dos extratos a serem analisados. A diferença entre a quantidade de ácido clorídrico gasta nas duas titulações (da amostra e do branco) é equivalente à quantidade de KHO gasto na saponificação. O índice de saponificação de cada extrato foi calculado a partir da seguinte equação:

$$IS = \frac{(V_b - V_a) \cdot N \cdot 56,1}{m}$$

Onde:

IS: valor numérico do índice de saponificação. Expresso em miligrama de hidróxido de potássio (mg KOH)

$V_a$ : Quantidade em mL de ácido clorídrico necessário para a mudança de coloração (neutralização) na titulação dos extratos;

$V_b$ : Quantidade em mL de ácido clorídrico necessário para a mudança de coloração (neutralização) na titulação em branco;

N: valor numérico da normalidade exata da solução de ácido clorídrico, expresso em normal (N);

m: massa em gramas dos extratos analisados.

#### 4.4.14 - Perfil cromatográfico

Os perfis cromatográficos dos extratos foram obtidos utilizando um cromatógrafo líquido de alta eficiência (CLAE, Shimatzu, Tokio – Japão) composto de sistema com duas bombas LC-6AD, forno, degaizeificador, detector UV-vis, injetor automático e um controlador. A cromatografia foi realizada utilizando uma coluna C18 Phenomenex Luna 4,6 x 150 mm, em condições de 30°C de temperatura controlada, com detector configurado para leitura no comprimento de onda ( $\lambda$ ) de 280 nm, vazão de 0,3 mL.min<sup>-1</sup> e injeção automática de 5  $\mu$ L de amostra. As amostras foram dissolvidas previamente em metanol (3 mg.mL<sup>-1</sup>). A fase móvel foi composta por água ultra pura (bomba A) e acetonitrila (bomba B; ACN) com suas proporções variando ao decorrer do tempo. De 0,01 à 5 minutos: 95% de A e 5% de B; de 5 à 10 minutos: 85% de A e 15% de B; de 10 à 15 minutos: 70% de A e 30% de B; de 16 à 26 minutos: 30% de A e 70% de B; de 27 a 37 minutos: 2% de A e 98% de B; de 37 à 41 minutos: 95% de A e 5% de B. O comprimento de onda configurado para leitura no detector (280 nm) foi fixado mediante a prévia análise dos extratos em espectrofotômetro de UV-vis.

### 4.5 Bioensaio com formigas cortadeiras (*Atta sexdens*)

#### 4.5.1 - Origem das formigas a serem utilizadas no experimento

Para a execução do trabalho foram utilizadas operárias forrageadoras de *Atta sexdens*, com massa corpórea variando de 13 a 25 mg. As formigas foram obtidas de formigueiros mantido em laboratório no Centro de Estudos de Insetos Sociais – UNESP (Rio Claro – SP). Para manutenção dos formigueiros, são oferecidos diariamente folhas de *Eucalyptus* sp., flocos de aveias e, ocasionalmente, outras plantas palatáveis para às saúvas, como *Hibiscus* sp., *Ligustrum* sp., folhas e pétalas de roseiras (Figura 9).

Figura 9 - Vista geral do formigueiro de *Atta sexdens* mantido no laboratório do Centro de Estudo de Insetos Sociais (CEIS) – UNESP.



Fonte: Larissa Matunaga (2020)

#### 4.5.2 - Dieta artificial para a manutenção das operárias

As formigas foram mantidas isoladas do formigueiro em placas de petri ou potes, isto é, na ausência do fungo simbionte, mediante a alimentação por dietas sólidas artificiais. As dietas foram compostas de 5 g de glicose, 1g de peptona bacteriológica, 0,1 g de extrato de levedura e 1,5 g de ágar bacteriológico, dissolvidas em 100 mL de água destilada e misturadas, levadas ao micro-ondas para solubilização e homogeneização e, em seguida, autoclavadas a 120°C e 1 atm por 15 minutos. Após esse período, as mesmas foram vertidas em placa de Petri de 10 cm de diâmetro, esterilizadas em estufa a 180° C e, após o resfriamento e a solidificação, envolvidas por filme PVC para acondicionamento e conservação em geladeira, para utilização nos dias subsequentes dos bioensaios (BUENO et al., 1997)

Os extratos hidroetanólicos de *A. occidentale* L. e *M. caesalpiniiifolia* foram filtrados e incorporados na dieta artificial das formigas operárias na concentração de 0,1%, 1% e 2%. Os tratamentos controles consistiram na disposição para as formigas de apenas a dieta artificial, e da adição do solvente utilizado na dissolução dos extratos (metanol) na dieta artificial, para que seja possível verificar a influência destes na mortalidade das operárias.

#### 4.5.3 - Bioensaio por ingestão para determinação da toxicidade dos extratos hidroetanólicos de *Anacardium occidentale* L. e *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth.

A execução do bioensaio foi realizada em laboratório no Centro de Estudos de Insetos sociais (UNESP – Rio Claro – SP).

Em todos os bioensaios as formigas foram retiradas dos formigueiros com auxílio de pinça entomológica e distribuídas em lotes de 50 operárias para cada concentração e extrato testado, divididas em grupos de 10 formigas e mantidas em 5 placas de Petri de 10 cm de diâmetro forradas com papel filtro (Figura 8). Essas placas foram colocadas em estufa para B.O.D com temperatura de 24°C ± 1°C e umidade relativa acima de 70%. Os bioensaios foram examinados diariamente, para a retirada e anotação do número de formigas mortas, durante um período de 11 dias.

Figura 10 - Operárias de *Atta sexdens* submetidas ao tratamento com os extratos analisados incorporados na dieta artificial.



Fonte: Larissa Matunaga (2020)

A dieta para manutenção das formigas (controle) ou a dieta com os extratos incorporados (tratamentos), foram colocadas em papel alumínio na quantidade aproximada de 0.4 a 0.5g/placa. A cada 24 horas a dieta foi renovada e sempre que necessário, os papéis filtro (que geralmente são cortados pelas formigas) foram trocados, a fim de se evitar o desenvolvimento de fungos contaminantes bem como manter o ambiente limpo para as formigas.

A dieta com os respectivos tratamentos foram oferecidas nos 11 dias de experimento, sendo este o período de realização dos experimentos de toxicidade devido ao fato de que este é o número máximo de dias em que as formigas cortadeiras sobrevivem mantidas com dieta artificial isoladas de seu formigueiro (BUENO et. al, 1997).

Os dados do bioensaio foram avaliados por meio de curvas de sobrevivência, utilizando a porcentagem de formigas vivas por dia, nas 5 placas de Petri (levando em conta cada tratamento). O teste não paramétrico “log-rank” foi utilizado para comparar as curvas de sobrevivência obtidas em todos os tratamentos, levando em consideração suas respectivas medianas, utilizando o software Graph-Pad Prism (versão 3.0).

#### **4.6 Determinação da atividade antibacteriana – concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM) dos extratos aquosos e hidroetanólicos de *Mimosa caesalpinifolia* e *Anacardium occidentale***

Para a realização da determinação da atividade antibacteriana por meio da concentração inibitória mínima, os extratos foram previamente preparados. Nesse caso, foram pesados 2 mg de extrato seco e dissolvidos em 1 mL de solvente (água para os extratos aquosos e solução à 10% de DMSO para os extratos hidroetanólicos). A determinação da CIM foi realizada de acordo com a metodologia descrita pela CLSI (2012). O teste consistiu na exposição das bactérias a uma diluição seriada de razão 2, variando a concentração de 1000  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  à 3,9  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ .

Foram utilizadas no presente experimento somente bactérias Gram-positivas devido à baixa atividade reportada na literatura dos extratos testados em bactérias Gram-negativas. As espécies bacterianas utilizadas foram: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 e *Listeria monocytogenes* ATCC 7644.

Uma placa de 96 poços foi delineada de modo que fosse possível testar os extratos frente a cada uma das bactérias a serem testadas, incluindo o controle de crescimento da bactéria, a esterilidade da substância e do meio de cultura. O teste foi realizado em triplicata, utilizando uma placa para cada bactéria. Foram adicionados 100  $\mu\text{L}$  de caldo de Mueller-Hinton em todos os poços e em seguida foram adicionados 100  $\mu\text{L}$  do extrato nos poços localizados na parte superior da placa e retirada imediatamente uma alíquota de 100  $\mu\text{L}$  e transferidas para os poços da linha de baixo. Esse procedimento foi realizado até a chegada na linha da concentração mínima do teste e os 100  $\mu\text{L}$  finais descartados. No controle de crescimento da bactéria os poços ficaram sem a presença do extrato, nos poços da esterilidade da substância ficaram sem a adição das bactérias, enquanto que nos poços da esterilidade do meio só foram

adicionados o meio de cultura. O crescimento bacteriano foi confirmado pela verificação da turbidez da solução após as placas serem incubadas por 24 horas em temperatura de 37°C.

A partir dos poços nos quais não houve crescimento bacteriano visível no teste de CIM, foram coletados 10 µL e inoculados na superfície de placas de petri contendo ágar Mueller-Hinton. As placas foram incubadas a 37°C e, após 24 horas, foi definida a CBM como a menor concentração dos extratos em estudos capazes de causar a morte dos inóculos.

#### **4.7 Determinação da citotoxicidade dos extratos aquosos e hidroetanólicos de *Anacardium occidentale* L. e *Mimosa caesalpinifolia* Benth. em células VERO.**

##### **4.7.1 - Células utilizadas**

Para os ensaios de citotoxicidade, foram utilizadas células da linhagem VERO mantidas no LADIC/UFDPAr. As células foram cultivadas em frascos de cultura contendo meio DMEN suplementado com 10% de soro fetal bovino e 1% de antibióticos penicilina (100 U.mL<sup>-1</sup>) e estreptomicina (100 µg.mL<sup>-1</sup>) à 37°C e 5% de CO<sub>2</sub>.

##### **4.7.2 - Teste de citotoxicidade**

Para os ensaios de citotoxicidade, as células foram cultivadas em placa de 96 poços contendo 100 µL de meio DMEN suplementado na quantidade de 1 x 10<sup>5</sup> células por poço. Essas células foram incubadas em estufa a 37°C e 5% de CO<sub>2</sub> por 4 horas para adesão celular. Após esse tempo, foram feitas duas lavagens com meio DMEN previamente aquecido a 37°C para retirada das células que não aderiram. Posteriormente, foram adicionados 100 µL de DMEN suplementado contendo as soluções-estoque dos extratos, em duplicata, nas concentrações seriadas de 400 a 50 µg. mL<sup>-1</sup> e incubados a 37°C e 5% de CO<sub>2</sub> por 48 h. Ao final desse período, foram adicionados 10 µL de MTT atingindo a concentração de 5 mg.mL<sup>-1</sup> e incubados por mais 4 horas. Em seguida o sobrenadante foi descartado e foi adicionado 100 µL de DMSO em todos os poços. Ao final do processo, a placa foi colocada sob agitação por cerca de 30 min em agitador de Kline para dissolução completa do formazan. Por último, foi realizada a leitura da absorbância a 550 nm em leitora de placa (RODRIGUES et al., 2015). Os resultados foram expressos em porcentagem de viabilidade celular, sendo o grupo controle realizado com meio DMEN completo a 0,5% de DMSO, considerado como 100% de viabilidade das células.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.5 Caracterização fitoquímica dos extratos aquosos e hidroetanólicos de *Anacardium occidentale* L. e *Mimosa caesalpinifolia* Benth.

#### 5.1.2 - Rendimento dos extratos aquosos e hidroetanólicos de *Anacardium occidentale* L. e *Mimosa caesalpinifolia* Benth.

A utilização do cálculo do rendimento de extratos é fundamental no cultivo e colheita de plantas, visto que, implicará diretamente na massa fresca necessária para se obter determinado teor de extrato, com redução das estimativas de custo e menor perda da cadeia produtiva de plantas (RODRIGUES et al., 2011). De modo geral, por meio da análise de rendimento dos extratos (tabela 1) pôde-se observar que os extratos hidroetanólicos de ambas as espécies foram superiores aos obtidos por meio de extrações aquosas. Já na comparação entre as espécies verifica-se que os extratos obtidos do caju são pouco superiores, independentemente do tipo de solução extratora utilizada. Ribeiro (2016), ao trabalhar com *A. occidentale* obteve resultados semelhantes ao presente trabalho, enfatizando que o solvente utilizado é um fator determinante no rendimento dos extratos.

Tabela 1 - Rendimento dos extratos aquosos e hidroetanólicos de *A. occidentale* L. e *M. caesalpinifolia* Benth.

EXTRATOS	Massa (g)	Rendimento (%)
Extrato aquoso de caju	3,599	8,99
Extrato hidroetanólico de caju	5,812	14,53
Extrato aquoso de sabiá	2,673	6,68
Extrato hidroetanólico sabiá	5,594	13,98

Fonte: Autoria própria (2020)

#### 5.1.3 - Triagem fitoquímica qualitativa dos extratos

A prospecção fitoquímica configura-se como uma etapa primordial do estudo dos metabólitos secundários, pois tem a finalidade de elucidar e caracterizar a estrutura química, para verificar suas propriedades biológicas, uma vez que, a investigação dos compostos presentes é essencial na orientação das etapas de produção e uso das moléculas bioativas vegetais (SOARES et al., 2016).

A caracterização fitoquímica dos extratos hidroetanólicos e aquosos de cajueiro e sabiá foram realizadas detectando as principais classes de metabólitos secundários por meio de reações químicas que resultam no desenvolvimento de coloração e/ou precipitado, característico para cada classe de substâncias (GONÇALVES et al., 2016).

Os resultados da triagem fitoquímica dos extratos aquosos e hidroetanólicos de ambas as espécies estão dispostos na tabela 2.

Tabela 2 - Triagem fitoquímica dos extratos aquosos e hidroetanólicos de *A. occidentale* L. e *M. caesalpinifolia* Benth

Espécies		Extratos Foliares								Flav
		FT	SP	ET	ALC	AR	AO	AQ	PS	
<i>Anacardium occidentale</i>	Extrato Aquoso	+	+	-	+	-	+	-	-	Flavonas, Flavonois Xantonas
	Extrato HE	+	+	-	+	-	+	-	-	Flavonas, Flavonois Xantonas
<i>Mimosa caesalpinifolia</i>	Extrato Aquoso	+	+	-	+	-	+	-	-	Flavonas, Flavonois Xantonas
	Extrato HE	+	+	+	+	+	+	-	-	Flavonas, Flavonois Xantonas

O sinal (+) indica presença e (-) indica ausência do constituinte químico; Onde: HE: hidroetanólico; FT: fenóis e taninos; SP: saponinas; ET: esteroides e triterpenos; ALC: alcaloides; AR: açúcar redutor; AO: ácidos orgânicos; AQ: antraquinonas; PS: polissacarídeos; Flav: flavonoides.

Fonte: Autoria própria (2020)

Com base nos resultados descritos, pode-se observar a presença de diversas classes de compostos secundários em ambas espécies, levando em consideração as extrações aquosas e hidroetanólicas.

Para *A. occidentale* L., tanto o extrato aquoso quanto o hidroetanólico foram responsáveis por extrair as mesmas classes de compostos secundários, não havendo diferença entre os mesmos. Foi verificado a presença de saponinas, fenóis, taninos, alcaloides, ácidos orgânicos e flavonoides, corroborando com os resultados obtidos por Ribeiro (2016), que trabalhando com a mesma espécie, observou por meio de análise fitoquímica a presença dos mesmos componentes. Konan (2006), também trabalhando com *A. occidentale* L., também verificou a presença de compostos fenólicos, flavonoides, taninos e saponinas.

O perfil fitoquímico obtido a partir de *M. caesalpinifolia* Benth. também foi verificado. Houve diferença da capacidade extratora dos dois solventes utilizados. A análise demonstrou que o extrato

hidroetanólico apresentou os mesmos constituintes presentes no extrato aquoso, entretanto, foi verificado a presença de esteroides, triterpenos e açúcar redutor em sua constituição, fato não observado nos extratos aquosos. Cavalcante et al., (2006) e Silva et al., (2012) verificaram em seus respectivos trabalhos a presença de taninos, triterpenos e flavonoides em *M. caesalpinifolia* Benth., corroborando com os resultados encontrados no presente trabalho, entretanto, no presente estudo, foi identificado a presença de alcaloides, saponinas e esteroides, fato não observado nos trabalhos mencionados.

#### 5.1.4 - Análise química quantitativa dos extratos aquosos e hidroetanólicos de *Anacardium occidentale* L. e *Mimosa caesalpinifolia* Benth.

A necessidade de se quantificar os metabólitos secundários detectados/isolados segue sendo um dos maiores problemas recorrentes no estudo químico de espécies vegetais, uma vez que, para que se possa estabelecer uma possível relação entre a composição química e a atividade biológica observada, apenas o conhecimento qualitativo do perfil químico não é o suficiente (RODRIGUES, 2007). Dessa forma, no presente trabalho, foi realizada a quantificação de algumas classes de metabólitos secundários presentes nos extratos, tendo em vista a confirmação de sua existência de acordo com a triagem fitoquímica preliminar.

Os resultados da quantificação dos metabólitos secundários presentes nos extratos estão dispostos na tabela 3.

Na quantificação dos compostos fenólicos totais foi possível verificar que, de modo geral, a superioridade dos extratos hidroetanólicos sobre os extratos aquosos para ambas as espécies. Esse fato pode ser explicado pela diferença de polaridade existente entre as duas soluções extratoras, pois de acordo com Freire et al. (2013), a polaridade do solvente é o fator de maior importância na extração e quantificação dos compostos fenólicos totais, já que esses compostos por serem quimicamente distintos, apresentam polaridade diferenciada entre eles.

O extrato hidroetanólico obtido da *M. caesalpinifolia* Benth. foi o que demonstrou uma maior quantidade de fenólicos totais com 59,1 mg de EAG. g<sup>-1</sup> de extrato (5,9 %), diferindo-se estatisticamente dos demais. Silva et al. (2012), trabalhando com a quantificação de compostos secundários da mesma espécie com extrações etanólicas de folhas, obteve 651,9 mg de EAG. g<sup>-1</sup> de extrato, valor muito superior ao encontrado no presente trabalho.

Já para o extrato hidroetanólico de *A. occidentale* L., foi verificado a presença de 51,8 mg de EAG. g<sup>-1</sup> de extrato (5,2 %), resultados superiores aos obtidos por Ribeiro (2016) e Baptista (2018), que em seus estudos encontraram valores de 28,7 e 2,32 mg de EAG. g<sup>-1</sup> de extrato, respectivamente.

Nos resultados analisados, as diferenças encontradas no presente trabalho com relação aos verificados na literatura deve-se principalmente à sazonalidade, bem como as condições edafoclimáticas distintas, já que, de acordo com Gobbo Neto et al. (2007), os metabólitos secundários representam uma interface química entre as plantas e o ambiente circundante.

Tabela 3 - Quantificação de fenóis, flavonoides, açúcares e saponinas nos extratos aquosos e hidroetanólicos de *Anacardium occidentale* L. e *Mimosa caesalpinifolia* Benth.

	Fenóis totais		Flavonóides totais		Açúcares totais		Saponificação	
	mg de EAG. g <sup>-1</sup> de amostra	Porcentagem (%)	mg de EQ. g <sup>-1</sup> de amostra	Porcentagem (%)	mg de EG. g <sup>-1</sup> de amostra	Porcentagem (%)	mg de KOH. g <sup>-1</sup> de amostra	Porcentagem (%)
<b>Extrato aquoso de cajueiro</b>	0,048339	0,005	0,012218	0,001	0,543237	0,0054	233,4067	23,3407
	± 0,002171 <sup>A</sup>	± 0,0001	± 0,00001 <sup>A</sup>	± 0,00001	± 0,000434 <sup>A</sup>	± 0,00001	± 5,4870 <sup>A</sup>	± 0,5487
<b>Extrato aquoso de sabiá</b>	0,032855	0,004	0,012205	0,001	0,542431	0,0054	243,3107	24,3311
	± 0,011438 <sup>A</sup>	± 0,001	± 0,00001 <sup>A</sup>	± 0,00001	± 0,000672 <sup>A</sup>	± 0,00001	± 3,3806 <sup>A</sup>	± 0,3381
<b>Extrato hidroetanólico de cajueiro</b>	51,82557	5,1825	0,012234	0,001	0,543702	0,0054	233,5468	23,3547
	± 0,681 <sup>B</sup>	± 0,0681	± 0,00001 <sup>A</sup>	± 0,00001	± 0,000519 <sup>A</sup>	± 0,00001	± 4,0585 <sup>A</sup>	± 0,4058
<b>Extrato hidroetanólico de sabiá</b>	59,14187	5,9142	0,012213	0,001	0,542747	0,0054	241,8918	24,1892
	± 1,008321 <sup>C</sup>	± 0,100832	± 0,00001 <sup>A</sup>	± 0,00001	± 0,001095 <sup>A</sup>	± 0,00001	± 0,3674 <sup>A</sup>	± 0,0367

Médias seguidas por letras iguais nas colunas não diferem estatisticamente de acordo com o teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: Autoria própria (2020)

Na quantificação de flavonoides totais foi verificado o baixo teor dessa classe de compostos em todos os extratos analisados, sendo que nenhum dos extratos analisados mostraram-se diferentes estatisticamente entre si, demonstrando que o teor de flavonoides não variou, independente da espécie e da solução extratora utilizada. Na literatura científica também foram observados teores baixos de flavonoides nos extratos das espécies aqui tratadas. Ribeiro (2016) e Baptista (2018) trabalhando com *A. occidentale* L. obtiveram teores de 2,80 e 0,34 mg de EQ. g<sup>-1</sup>, valores pouco superiores aos obtidos em nosso trabalho, porém, sem diferenças muito significativas. Thé et al. (2015) também verificou a baixa concentração de flavonoides para *M. caesalpinifolia* Benth., encontrando teor de 2,553 mg de EQ. g<sup>-1</sup>. Pode se inferir que a quantidade de flavonoides presentes nos extratos exerce importância insignificante na composição dos fenólicos totais, sendo este composto em sua grande maioria provavelmente por taninos e/ou outras classes de compostos fenólicos distintos.

Com relação ao teor de açúcares totais nas amostras foi verificado que em todos os extratos testados houve baixa concentração dessa classe de moléculas, não diferindo estatisticamente entre si. Resultados que de certa forma eram esperados, principalmente para os extratos hidroetanólicos, uma vez que açúcares simples são pouco solúveis em álcool, e à medida que seu peso molecular aumenta a solubilidade é ainda mais diminuída (ASQUIERI, 1995). Outro fato que deve ser levado em consideração é que as folhas por serem considerados as principais fontes (órgão exportador de fotoassimilados) das plantas, são responsáveis por disponibilizar compostos produzidos na fotossíntese (principalmente açúcares), para órgãos não-fotossintéticos que não produzem produtos fotossintéticos em quantidades suficientes para suas próprias necessidades de crescimento ou reserva (drenos; ex: frutos, raízes, etc.), sendo portanto a translocação dos açúcares da fonte para os drenos por meio dos feixes vasculares a possível explicação do baixo teor de açúcares nas folhas (TAIZ; ZAIGER, 2014).

Por meio da verificação do teor saponinas foi possível verificar que esse composto foi responsável por cerca de 25% da composição de todos extratos testados, evidenciando a alta concentração de saponinas em suas composições. Nenhum extrato demonstrou superioridade em relação ao outro, entretanto, foi possível verificar que as médias obtidas dos extratos de sabiá, foram levemente superiores, mesmo não sendo suficientemente significantes para a diferenciação estatística. As saponinas são glicosídeos de alta massa molecular e representam um conjunto de compostos que apresentam um núcleo fundamental denominado aglicona ou sapogenina, sendo constituída de um triterpeno ou esteroide, e covalentemente ligada a diferentes números e tipos de unidade de açúcar, sendo altamente solúveis em água, etanol e metanol (BITENCOURT, 2014; RODRIGUES et al., 2016), justificando a boa extração desses compostos com os solventes utilizados no presente trabalho.

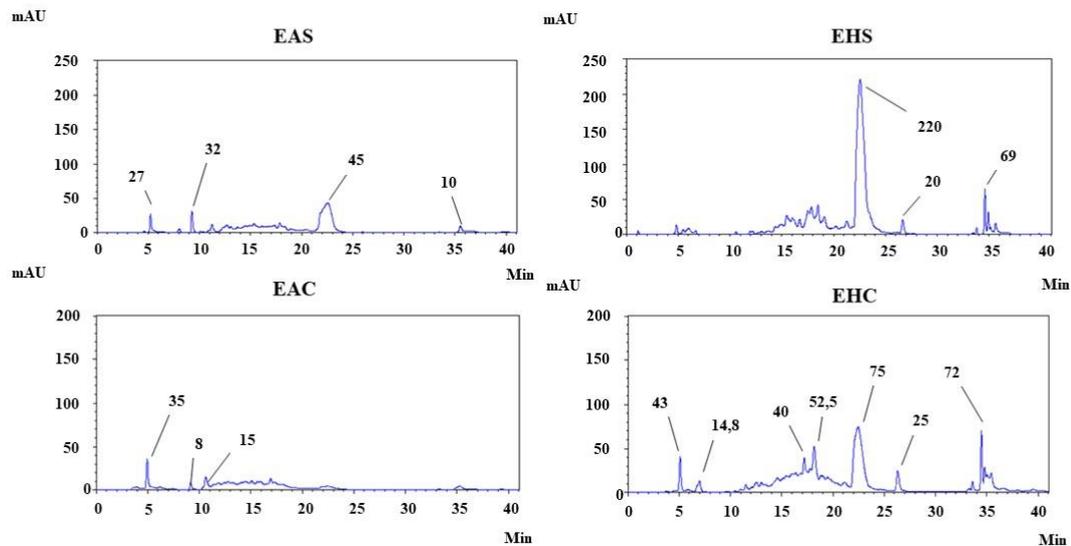
#### **5.1.5 - Perfil cromatográfico dos extratos aquosos e hidroetanólicos de *Anacardium occidentale* e *Mimosa caesalpinifolia*.**

A cromatografia é um método físico-químico de separação fundamentada na migração diferencial dos componentes de uma mistura, que ocorre devido a diferentes interações, entre duas fases

imiscíveis, a fase móvel e a fase estacionária, sendo amplamente utilizada na caracterização química de espécies vegetais para a identificação de compostos (DEGANI et al., 1998).

A figura 11 demonstra os picos majoritários dos perfis cromatográficos de todos os extratos analisados.

Figura 11 - perfis cromatográficos dos extratos aquosos e hidroetanólicos de *A. occidentale* L. e *M. caesalpinifolia* Benth. Onde: EAS: extrato aquoso de sabiá; EHS: extrato hidroetanólico de sabiá; EAC: extrato aquoso de cajueiro; EHC: extrato hidroetanólico de caju.



Fonte: Autoria própria (2020)

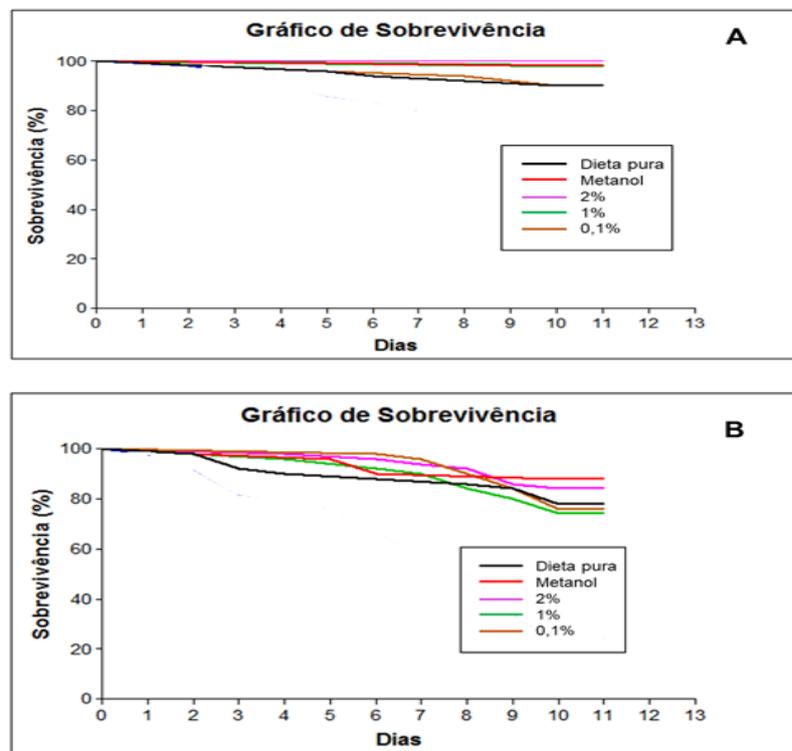
Pode se perceber através da visualização dos perfis cromatográficos, variação existente entre os extratos testados, levando em consideração tanto a espécie, quando a solução extratora utilizada. O EHC foi o que demonstrou uma maior quantidade de picos em relação aos outros extratos analisados, tendo sete picos majoritários. De forma geral os extratos, mesmo apresentando quantidade de picos majoritários distintos, demonstram alguns picos em sua grande maioria, em um mesmo tempo de retenção, tendo variação principalmente em suas intensidades. O EHS foi responsável por demonstrar o pico mais intenso dentre os extratos analisados, sendo este detectado em um tempo de retenção de 22,5 minutos com uma intensidade de 220 mAU. Nas análises qualitativas realizadas com auxílio de curvas de calibração, foi demonstrado que o EHS obteve um maior teor de compostos fenólicos, sendo esse fato amparado possivelmente por este apresentar o pico majoritário mais intenso dentre as outras amostras.

## 5.6 Avaliação do efeito dos extratos hidroetanólicos de *Anacardium occidentale* e *Mimosa caesalpiniiifolia* na mortalidade de *Atta sexdens*

Os resultados obtidos nos bioensaios por ingestão dos extratos hidroetanólicos de *A. occidentale* L. e *M. caesalpiniiifolia* Benth. estão dispostos na figura 12 que contém as curvas de sobrevivência e nas tabelas 5 e 6, que possuem a porcentagem de mortalidade acumulada diárias, seu respectivo valor mediano (Md), que demonstra o dia no qual metade das formigas estavam mortas, bem como a interpretação mediante a análise estatística “log-rank”.

Por meio da figura 12, pode-se perceber que os extratos hidroetanólicos de *A. occidentale* L. e *M. caesalpiniiifolia* Benth. que as curvas de sobrevivências das formigas mediante aos tratamentos apresentaram comportamento similares aos obtidos dos tratamentos controles com a dieta pura e metanol, indicando que ambos os extratos não influenciaram na sobrevivência diária das operárias de formigas cortadeiras.

Figura 12 - Curvas de sobrevivência de operárias de *Atta sexdens* submetidas ao bioensaio de incorporação dos extratos hidroetanólicos de *A. occidentale* L. (A) e *M. caesalpiniiifolia* Benth. (B) em dieta artificial.



Fonte: Autoria própria (2020)

Por meio das tabelas 4 e 5 foi possível verificar que a incorporação dos extratos hidroetanólicos de *A. occidentale* L. e *M. caesalpiniiifolia* Benth. nas concentrações de 0,1%, 1% e 2%, não influenciaram na mortalidade das formigas cortadeiras, visto que, suas medianas não diferiram

estatisticamente, por meio do teste “log rank” (teste estatístico não paramétrico utilizado para a comparação de medianas), das medianas obtidas dos testes controles, evidenciando que a utilização dos extratos não se mostraram efetivos no controle de formigas cortadeiras.

Tabela 4 - Mortalidade acumulada e sobrevivência mediana de operárias de *Atta sexdens* submetidas ao bioensaio de incorporação do extrato hidroetanólico de *A. occidentale* L. em sua dieta artificial

Tratamento	% acumulada de mortalidade por dia						Md*
	1	2	3	6	8	10	
<b>Dieta pura</b>	0	0	0	6	8	10	>11a
<b>Metanol</b>	0	0	0	0	0	2	>11a
<b>2%</b>	0	0	0	0	0	0	>11a
<b>1%</b>	0	0	0	0	0	2	>11a
<b>0,1%</b>	0	0	0	4	6	10	>11a

\* Letras distintas em relação ao controle indicam diferença significativa de acordo com o teste “log rank” ( $p < 0,05$ ). Valores com mediana acima de 11 dias indicam que durante os dias de execução do bioensaio não foi observado a mortalidade de 50% das operárias de *Atta sexdens*  
 Fonte: Autoria própria (2020)

Tabela 5 - Mortalidade acumulada e sobrevivência mediana de operárias de *Atta sexdens* submetidas ao bioensaio de incorporação do extrato hidroetanólico de *M. caesalpinifolia* Benth. em sua dieta artificial.

Tratamento	% acumulada de mortalidade por dia						Md*
	1	2	3	6	8	10	
<b>Dieta pura</b>	0	2	8	12	14	22	>11a
<b>Metanol</b>	0	2	2	10	10	12	>11a
<b>2%</b>	0	0	0	2	10	24	>11a
<b>1%</b>	0	0	0	8	16	26	>11a
<b>0,1%</b>	0	0	0	4	8	16	>11a

\* Letras distintas em relação ao controle indicam diferença significativa de acordo com o teste “log rank” ( $p < 0,05$ ). Valores com mediana acima de 11 dias indicam que durante os dias de execução do bioensaio não foi observado a mortalidade de 50% das operárias de *Atta sexdens*  
 Fonte: Autoria própria (2020)

Vários trabalhos na literatura destacam a importância da utilização de espécies vegetais no controle desses insetos, visto que, as plantas desenvolvem defesas químicas contra a herbivoria, criando uma complexa inter-relação entre ambos, aumentando o interesse na análise de seus constituintes químicos e seus efeitos sobre formigas cortadeiras (FREITAS, 2010).

Em trabalho desenvolvido por Silva et al. (2019), utilizando extratos de etanólicos e hidroetanólicos do pseudocaule de *Musa acuminata* constatou que a aplicação tópica dos extratos

ocasionou mortalidade de operárias de *Atta sexdens rubropilosa*, com resultados superiores obtidos pelo extrato hidroetanólico.

Freitas (2010), testando a toxicidade de *Rauia* sp. demonstrou sua alta atividade em *Atta sexdens rubropilosa*. O teste foi realizado com extratos obtidos a partir das folhas e do caule, utilizando soluções extratoras de polaridade decrescente, de modo a obter frações distintas. Os resultados reportados pela autora demonstraram que houve uma maior mortalidade de operárias de formiga cortadeira nas frações extraídas com solventes menos polares, indicando que os compostos presentes em *Rauia* sp. responsáveis pela atividade formicida possuem baixa polaridade.

Na caracterização fitoquímica dos extratos testados no presente trabalho foram identificadas classes importantes de metabólitos secundários produzidos pelas plantas, que as utilizam de forma a combater a herbivoria promovida pelos insetos, como por exemplo: terpenos, alcaloides, saponinas e compostos fenólicos, justificando a realização dos testes formicidas para a verificação da possível mortalidade, fato não observado.

É importante destacar que além do teste de ingestão, realizado no presente trabalho, há outros métodos que são utilizados na verificação da atividade formicida de extratos e substâncias obtidas de espécies vegetais, e que a partir deles, poderiam obter-se resultados positivos utilizando os extratos do presente utilizando outras metodologias. Rocha et al. (2018) para a verificação da mortalidade de *A. opaciceps*, *A. sexdens* e *A. sexdens rubropilosa* utilizou método baseado na exposição à fumigação das formigas cortadeiras, obtendo resultados positivos. Freitas (2010), utilizou metodologia que consistia na nebulização dos extratos de *Rauia* sp. em panelas fúngicas mantidas por *A. sexdens*, reduzindo a massa fúngica e demonstrando que o material testado possui potencial para controlar indiretamente as formigas cortadeiras, visto que o foco foi diminuir a disponibilidade de seu alimento. Já Silva et al. (2019) utilizou metodologia baseada na aplicação tópica de extratos de *Musa acuminata*, obtendo nesse caso resultados positivos para o controle de formigas cortadeiras.

Algumas classes de compostos fenólicos possuem atividade pronunciada na mortalidade dos insetos. Alguns flavonoides específicos são conhecidos agentes fagoinibidores, como por exemplo a rutina (SILVA et al., 2016), e inibidores de crescimento (GAZZONI et al., 1997). De acordo com a análise fitoquímica qualitativa houve a presença de flavonoides nos extratos testados, entretanto, apresentaram teores baixos de acordo com o teste quantitativo realizado, sendo esse fato uma possível explicação da ineficiência dos extratos na mortalidade das formigas cortadeiras no bioensaio. Outra importante classe de compostos fenólicos que possuem atividade comprovada na mortalidade de insetos são as cumarinas. Esses compostos conseguem inibir a cadeia transportadora de elétrons e também comprometem a capacidade de desintoxicação dos insetos, o que reduz, por exemplo, sua tolerância a xenobióticos (SOUZA et al., 2017).

Outro metabólito secundário encontrado nos extratos utilizados foram os alcaloides. Esses compostos são ácidos não-proteicos, classificados como tóxicos qualitativos, pois seus efeitos são

observados mesmo em pequenas quantidades (CAVALCANTE et al., 2006). A caracterização química dos materiais comprovou a presença dos compostos nas espécies, entretanto não se sabe o teor desses compostos nos extratos utilizados, embora inferências sobre a influência da concentração na inatividade inseticida seja complexa, visto que, são compostos que possuem atividade em baixas concentrações.

Os terpenos são uma classe de metabólitos secundários que estão diretamente relacionados com métodos de defesa das plantas contra os insetos. Os limonóides são compostos pertencentes ao grupo de triterpenos que possuem considerável atividade tóxica, tendo como principal representante a azadiractina, um limonóide complexo obtido de *Azadirachta indica*, planta popularmente conhecida por Neem (TAIZ; ZAIGER, 2014). Essa classe de compostos só esteve presente no EHS de acordo com a análise fitoquímica quantitativa, entretanto o teor desse composto não foi determinado em técnicas de caracterização fitoquímica, indicando que possivelmente essa classe de compostos esteja em baixas concentrações no extrato EHS, sendo esse fator responsável pela ineficiência do extrato em diminuir a sobrevivência das operárias de formiga cortadeira.

Os terpenos são uma classe de metabólitos secundários que estão diretamente relacionados com métodos de defesa das plantas contra os insetos. Os limonóides são compostos pertencentes ao grupo de triterpenos que possuem considerável atividade tóxica, tendo como principal representante a azadiractina, um limonóide complexo obtido de *Azadirachta indica*, planta popularmente conhecida por Neem (TAIZ; ZAIGER, 2014). Essa classe de compostos só esteve presente no EHS de acordo com a análise fitoquímica quantitativa, entretanto o teor desse composto não foi determinado em técnicas de caracterização fitoquímica, indicando que possivelmente essa classe de compostos esteja em baixas concentrações no extrato EHS, sendo esse fator responsável pela ineficiência do extrato em diminuir a sobrevivência das operárias de formiga cortadeira.

Outra classe de metabólitos secundários presentes nos extratos testados foram as saponinas, que são compostos que possuem a presença de elementos lipofílicos (esteroides ou triterpenos) e hidrofílicos (açúcares) na mesma molécula tendo, portanto, propriedades detergentes, formando espuma quando misturada a água. Esses compostos possuem a capacidade de formar complexos com os esteroides, podendo interferir na absorção destes pelo sistema digestivo, além de que, podem interagir com esteroides das membranas plasmáticas das células, causando mudança de conformação na estrutura e consequente aumento da permeabilidade, o que permite a entrada de íons e água para o interior das células, resultando na ruptura da mesma (TAIZ; ZAIGER, 2014; SOUZA et al., 2016).

### 5.7 Determinação da concentração inibitória mínima (CIM) e da concentração bactericida mínima dos extratos aquosos e hidroetanólicos de *Anacardium occidentale* e *Mimosa caesalpinifolia*

As bactérias são parte integral e inseparável da vida na terra, encontradas em diversos lugares (pele, mucosas, tratos intestinais, etc.), sendo algumas consideradas benéficas e muitas outras consideradas maléficas ao ser humano, devido as complicações a saúde ocasionada pelas mesmas (SANTOS, 2004).

As bactérias possuem um curto tempo de geração (minutos ou horas) podendo responder rapidamente as mudanças do ambiente e, em consequência disso, ao passo que antibióticos são introduzidos no ambiente, respondem tornando-se resistentes às drogas utilizadas, sendo essa capacidade uma natural consequência da habilidade das populações bacterianas de se adaptarem (SANTOS, 2004).

O isolamento de substâncias ativas naturais provindas de plantas possuem importância considerável e sua utilização devido a suas atividades biológicas possuem inúmeras vantagens, pois esses compostos podem ser administrados e/ou quantificados de forma reprodutível e em doses exatas, constituindo um benefício do ponto de vista experimental e terapêutico, aumentando o leque de possibilidades de compostos que tenham efeitos em infecções bacterianas, diminuindo consideravelmente o processo de obtenção de resistência (COLEGATE et al., 1993).

Os dados referentes a determinação da concentração inibitória mínima e concentração bactericida mínima estão dispostas na tabela 4.

Tabela 6 - Concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM) dos extratos aquosos e hidroetanólicos de *A. occidentale* L. e *M. caesalpinifolia* Benth.

Extratos	<i>S. aureus</i>		<i>E. faecalis</i>		<i>L. monocytogenes</i>	
	CIM ( $\mu\text{g.mL}^{-1}$ )	CBM ( $\mu\text{g.mL}^{-1}$ )	CIM ( $\mu\text{g.mL}^{-1}$ )	CBM ( $\mu\text{g.mL}^{-1}$ )	CIM ( $\mu\text{g.mL}^{-1}$ )	CBM ( $\mu\text{g.mL}^{-1}$ )
<b>EAC</b>	> 1000	> 1000	500	> 1000	> 1000	> 1000
<b>EHC</b>	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000
<b>EAS</b>	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000
<b>EHS</b>	250	> 1000	500	> 1000	125	> 1000

Fonte: Autoria própria (2020)

Os testes do presente trabalho demonstraram que o extrato aquoso de *A. occidentale* L. foi responsável por inibir o crescimento de *Enterococcus faecalis* em concentrações acima de 500  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ , não inibindo o crescimento das outras bactérias utilizadas. Não foi verificado atividade antibacteriana do extrato hidroetanólico de *A. occidentale* L. nas concentrações testadas para nenhuma bactéria. Vários trabalhos na literatura reportam a atividade do extrato hidroetanólico de *A. occidentale* L. em diversas

cepas bacterianas, principalmente em *S. aureus* (GALVÃO et al., 2017; SILVA et al., 2007), fato aqui não observado. SILVA (2012), avaliando a atividade antibacteriana de extratos aquosos de *A. occidentale* L. verificou a inibição de crescimento de cepas de *Enterococcus faecalis*, utilizando método de diluição em ágar, obtendo halo de inibição de 10 mm.

Tratando-se dos extratos de *M. caesalpinifolia* Benth., foi possível observar que o extrato aquoso não apresentou atividade antibacteriana para nenhuma das bactérias utilizadas, entretanto, seu extrato hidroetanólico foi responsável por inibir o crescimento de todas as bactérias testadas, sendo a *L. monocytogenes* a mais sensível a presença do extrato, tendo efeito antibacteriano em concentrações acima de  $125 \mu\text{g.mL}^{-1}$ . O EHS, para *S. aureus* obteve valores de inibição em concentrações acima de  $250 \mu\text{g.mL}^{-1}$ , resultado esse superior ao obtido por Silva et al. (2012) que utilizando uma fração butanólica de *M. caesalpinifolia* Benth. obteve valor de concentração inibitória mínima de  $500 \mu\text{g.mL}^{-1}$ , ressaltando a superioridade dos resultados obtidos no presente trabalho.

Para *E. faecalis*, o EHS obteve valores de concentração inibitória mínima de  $500 \mu\text{g.mL}^{-1}$ . Khan et al. (2011) trabalhando com extrato metanólico de *M. rubicaulis*, obteve valor de concentração inibitória mínima de  $1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$ , valor inferior ao encontrado no presente estudo, utilizada para fins de comparação por pertencer a mesma família da espécie tratada nessa discussão.

Como mencionado anteriormente, a *L. monocytogenes* foi a espécie bacteriana mais susceptível a presença do extrato hidroetanólico de sabiá, com seu crescimento inibido em concentrações acima de  $125 \mu\text{g.mL}^{-1}$ . Digrak et al. (1999) testando a atividade antibacteriana de extrato clorofórmico de *Acacia mollinissima*, uma espécie pertencente à família das Mimosáceas, utilizando método de difusão em ágar, verificou a inibição do crescimento da *L. monocytogenes*, apresentando halo de inibição de 31 mm.

Segundo Callou et al. (2012), não existe um consenso sobre o nível de inibição aceitável para produtos naturais, tanto que alguns autores consideram somente resultados similares aos de antibióticos, enquanto outros consideram com bom potencial mesmo aqueles com níveis de inibições inferiores. É importante salientar que, a avaliação de um extrato bruto levando como base um antibiótico considerase um tanto inoportuna, visto que em um extrato bruto geralmente há a presença uma grande variedade de compostos que podem agir sinergicamente ou antagonicamente, levando em consideração suas atividades biológicas.

Aliannis et al. (2001), sugeriram uma classificação para materiais vegetais com base em seus valores de CIM, sendo: forte inibição: CIM até  $500 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ; moderada inibição: CIM de 600 à  $1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ; fraca inibição: CIM acima de  $1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$ . Demonstrando que o EAC ocasionou forte inibição na *E. faecalis*, ao passo que o EHS proporcionou forte inibição para todas as cepas testadas.

O teste para a avaliação da concentração bactericida mínima demonstrou que nenhum dos extratos testados (EAC e EHS) obteve caráter bactericida nas concentrações testadas, visto que, quando passado o período de incubação da placa contendo a inoculação da solução onde não houve o

crescimento bacteriano no teste de CIM, houve crescimento bacteriano aparente em meio de cultura, indicando que os mesmos somente inibiram o crescimento bacteriano.

O melhor potencial de inibição de crescimento das cepas utilizadas foi obtido a partir da utilização do EHS. Este por sua vez, de acordo com as caracterizações fitoquímicas, apresentou um maior teor de compostos fenólicos em comparação aos outros, sendo essa classe de moléculas reportada rotineiramente na literatura por possuir várias atividades biológicas, dentre elas, a atividade antibacteriana. Sabendo que a quantidade encontrada flavonoides no EHS foi baixa, a atividade antibacteriana promovida por esse extrato pode ser associada a presença de outras classes de compostos fenólicos, como por exemplo, os taninos.

Em um estudo realizado por Pereira et al. (2015), utilizando espécies vegetais aromáticas do nordeste brasileiro, foi possível comprovar a atividade antibacteriana de taninos isolados de *Mimosa tenuiflora* e *Mimosa arenosa*, visto que, a atividade antibacteriana aumentava proporcionalmente em *S. aureus* à medida que havia o aumento da concentração dos taninos isolados.

O mecanismo de ação envolvido a inibição do crescimento bacteriano está associado à formação de complexos entre taninos e a parede celular fazendo com que ocorra a inibição do transporte de nutrientes para a célula ocasionando a morte dessas (ALMEIDA, 2014). Essa classe de compostos possui também a capacidade de inativar enzimas essenciais às bactérias, configurando-se com prováveis mecanismos da ação antimicrobiana (SANTOS et al., 2014).

### **5.8 - Avaliação da citotoxicidade dos extratos aquosos e hidroetanólicos de *Anacardium occidentale* L. e *Mimosa caesalpinifolia* Benth.**

Os testes de citotoxicidade são ensaios *in vitro*, utilizando em geral linhagens celulares estabelecidas, verificando os padrões de morfologia celular e possíveis alterações causadas pelo efeito citotóxico de biomateriais. Os testes consistem em colocar o material direta ou indiretamente em contato com uma cultura de células de mamíferos, verificando-se as alterações celulares por diferentes mecanismos, entre os quais a incorporação de corantes vitais ou a inibição da formação de colônias celulares (ROGERO et al., 2003).

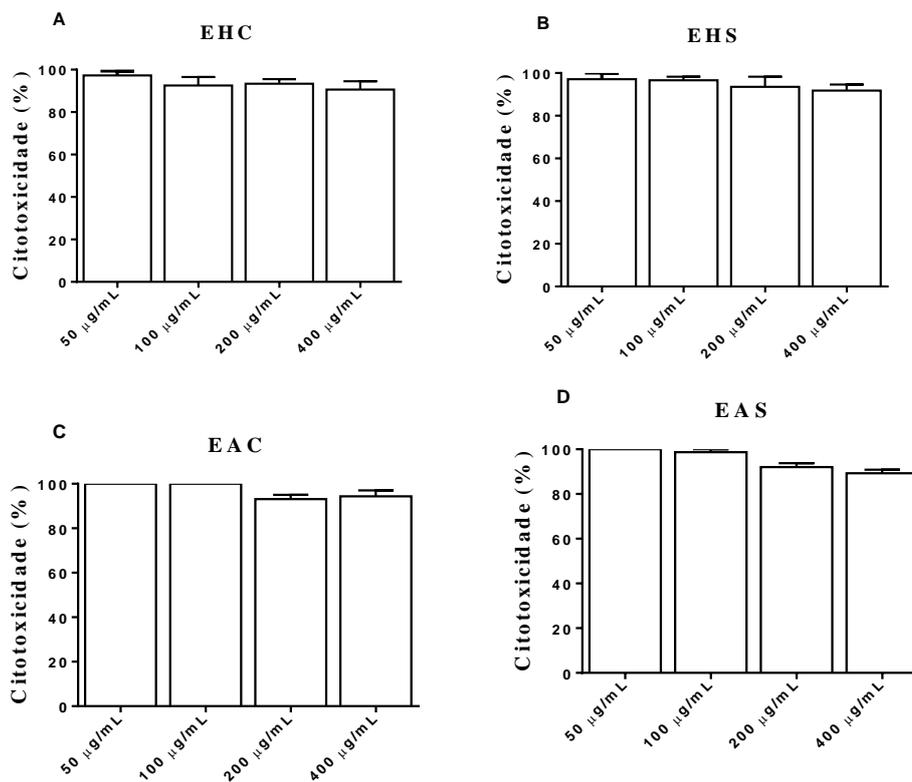
Um dos métodos mais utilizados para a avaliação da citotoxicidade (assim como proliferação celular) é o ensaio colorimétrico baseado no sal de tetrazólio MTT (brometo de [3(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio]) para a avaliação da atividade oxidativa mitocondrial, muito utilizado no rastreamento e modulação da resistência aos medicamentos em casos clínicos individualizados, como em tratamento de tumores para a verificação da concentração inibitória de um antitumoral (MOYSÉS, 2016).

O teste consiste na entrada do MTT nas células através da membrana plasmática e, em contato com o superóxido produzido pela atividade mitocondrial, é oxidado ao MTT-formazan, que possui cor púrpura e insolúvel em água, sendo a oxidação do MTT proporcional à atividade mitocondrial e, portanto, à viabilidade celular (MONÇÃO et al., 2014).

A determinação da citotoxicidade *in vitro* é uma prática comum na avaliação biológica de produtos provindos de plantas para a saúde, e fundamental para a análise da biocompatibilidade, sendo que pela exposição de uma cultura celular a um determinado biomaterial de interesse, é possível caracterizar reações adversas de citotoxicidades resultantes (MASSON; LOMBELLO, 2016)

Os dados referentes aos resultados obtidos do teste de citotoxicidade utilizando células VERO encontram-se dispostos na figura 13.

Figura 13 - Citotoxicidade dos extratos utilizando células VERO após 48 horas de exposição: A-EHC: Extrato hidroetanólico de cajueiro (*Anacardium occidentale* L.); B – EHS: Extrato hidroetanólico de sabiá (*Mimosa caesalpinifolia* Benth.); C – EAC: Extrato aquoso de cajueiro; D – EAS: Extrato aquoso de sabiá.



Fonte: A autoria própria (2020)

De acordo com os resultados pode-se observar que nenhum dos extratos testados apresentou efeito na redução da viabilidade celular de linhagem VERO, indicando que nas concentrações testadas, os compostos analisados não se mostraram citotóxicos no ensaio realizado.

Com o objetivo de avaliar a citotoxicidade de infusões de *A. occidentale* L., Alves (2011), verificou que nas concentrações de 1, 10, 100 e 200 µg.mL<sup>-1</sup>, não foi observado efeito tóxico em células de neutrófilos humano. Araújo (2013) analisando a citotoxicidade de taninos isolados de extratos brutos etanólicos de *A. occidentale* L. verificaram que em nenhuma das concentrações testadas ocasionaram a hemólise significativa de grupos sanguíneos humano. Esses resultados reportados corroboram com os obtidos no presente trabalho para *A. occidentale* L.

Em trabalho realizado por Monção et al. (2014) foi verificada a citotoxicidade de extratos etanólicos de *M. caesalpinifolia* Benth. em *Artemia salina* e macrófagos murinos. Os resultados

reportam que o extrato etanólico de *M. caesalpiniiifolia* Benth. não exibiu efeito toxicológico nos ensaios realizados, corroborando com os resultados encontrados no presente trabalho.

Em geral, na medicina popular são utilizados extratos vegetais, sem levar em consideração o aspecto de toxicidade, fato que reforça a necessidade da realização de ensaios que comprovem sua seguridade de uso (ALVES, 2011).

Os resultados apresentados mostram-se promissores para a obtenção de futuros produtos biotecnológicos usando como base os extratos testados no presente trabalho, visto que, a verificação de toxicidade comprovou a seguridade de seu uso.

## 6 CONCLUSÕES

Por meio da caracterização fitoquímica qualitativa dos extratos foi possível verificar a presença de várias classes importantes e de atividades biológicas importantes de acordo com dados da literatura.

A caracterização química quantitativa demonstrou que todos os extratos apresentaram um alto teor de saponinas, representando cerca de 25% da massa total do extrato. Com relação ao teor de compostos fenólicos, foi verificado que os extratos hidroetanólicos de ambas as espécies foram superiores aos extratos aquosos, sendo o EHS responsável por apresentar a concentração de compostos fenólicos mais alta dentre os outros analisados.

Nenhum dos extratos utilizados ocasionaram efeito na mortalidade de operárias de *Atta sexdens*, nas condições testadas, indicando a necessidade de estudos futuros que elucidem os possíveis empecilhos da ineficiência dos extratos utilizados, a realização de extrações com as mesmas espécies utilizando solventes de menor polaridade, visto que outros compostos podem ser extraídos nessas condições, ou até mesmo, a utilização de outras metodologias comumente utilizadas na verificação da toxicidade de extratos e materiais provindos de espécies vegetais em formigas cortadeiras.

O EHS foi o extrato testado com maior atividade antibacteriana testado frente a cepas bacterianas utilizadas, sendo a *Listeria monocytogenes* a mais sensível a presença do extrato, com concentração inibitória mínima de  $125 \mu\text{g.mL}^{-1}$ , considerada uma forte inibição;

Nenhum dos extratos utilizados mostraram-se tóxicos para células VERO em um período de 48 horas, validando a utilização desses compostos para a obtenção de produtos biotecnológicos com base em sua seguridade e sua atividade antibacteriana, tratando-se primordialmente do extrato hidroetanólico de *Mimosa caesalpinifolia* Benth.

A utilização do extrato hidroetanólico de *Mimosa caesalpinifolia* Benth. mostra-se promissora como fonte para a obtenção de novos produtos biotecnológicos, devido principalmente à sua atividade antibacteriana e sua biosseguridade. Entretanto, reforça-se a necessidade de estudos posteriores que busquem a identificação e isolamento dos compostos associados a atividade antibacteriana na espécie tratada, bem como a verificação dos mecanismos de ação utilizados.

## 7 REFERÊNCIAS

- AGRA, M. D. F. et al. Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 3, p. 472–508, 2008.
- ALIGIANNIS, N.; KALPOUTZAKIS, E.; MITAKU, S.; CHINOU, I. B. Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two *Origanum* species. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, n. 49, p. 4168-4170, 2001.
- ALMEIDA, L. A.; **Determinação de taninos em extratos de casca de banana**. Monografia (Bacharelado em engenharia química) – Instituto de Ciência e Tecnologia, UNIFAL. Poços de Caldas – MG, 2014.
- ALMEIDA, M. S. C.; MENDONÇA, R. L.; FREITAS, M. Z. C.; VADESMET, L. C. *Staphylococcus Aureus*. **Mostra Científica em Biomedicina**, vol.1, no.1, 2016.
- ALMEIDA, R. N. A.; PENAFLORES, M. F. G. V.; SOMOTE, S. Y.; BUENO, O. C.; HEBLING, M. J. A.; PAGNOCCA, F. C.; FERNANDES, J. B.; VIEIRA, P. C.; SILVA, M. F. G. F. Toxicity of substances isolated from *Heliopsis scabra* RE Fr. (Rutaceae) to the Leaf-cutting ant *Atta sexdens* L. (Hymenoptera: Formicidae) and the symbiotic fungus *Leucoagaricus gongylophorus* (Singer) Möller. **BioAssay**, v. 2, n. 2, p. 1- 8, 2007.
- ALVES, F. C. S. **Avaliação do potencial antimicrobiano de infusões de folhas de cajueiro (*Anacardium occidentale* Lin) frente a bactéria *Streptococcus mutans***. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) Programa de Pós-graduação em Biotecnologia, UFC. Sobral – CE, 2011.
- AMBROZIN, A. R. P.; LEITE, A. C.; BUENO, F. C.; VIEIRA, P. C.; FERNANDES, J. B.; BUENO, O. C.; SILVA, M. F. G. F.; PAGNOCCA, F. C.; HEBLING, M. J. A.; BACCI JÚNIOR, M. Limonoids from andiroba oil and *Cedrela fissilis* and their insecticidal activity. **Journal Brazilian Chemical Society**, v. 17, n. 3, p. 542-547, 2006.
- ANDRADE FILHO, N. N.; ROEL, A. R.; YANO, M.; CARDOSO, C. A. L.; MATIAS, R. Toxicity of oil from *Anacardium humile* Saint Hill (Anacardiaceae), on *Bemisia tuberculata* (Bondar, 1923) (Hemiptera: Aleyrodidae) on cassava plants. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 8, n. 2, p. 185-190, 2013.
- ANDRADE, C. H.; KIIMMERLE, A. E.; GUIDO, R. V. C. Perspectivas da química medicinal para o século XXI: desafios e oportunidades. **Química Nova**, v. 41, n. 4, p. 476-483, 2018.
- ANDRADE, I. M.; NASCIMENTO, J. D. O.; SOUSA, M. V.; SANTOS, J. O.; MAYO, S. J. A morphometric study of the restinga ecotype of *Anacardium occidentale* (Anacardiaceae): wild coastal cashew populations from Piauí, Northeast Brazil. **Feddes Repertorium**, v. 0, p. 1-12, 2019.
- ANGELO, P.M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – uma breve revisão. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, V. 66, n. 01, p. 1-9, 2006.
- ANTONIO, N. S.; OLIVEIRA, A. C.; CANESINI, R.; ROCHA, J. R.; Mecanismos de resistência bacteriana. **Revista Eletrônica de Medicina Veterinária**, v. 7, n. 12, 2009.
- AQUINO, V. V. F; COSTA, J. G. M.; ANGÉLICO, E. C.; MEDEIROS, R. S.; ARAÚJO, M. F.; RODRIGUES, O. G. Metabólitos secundários e ação antioxidante de *Croton heliotropiifolius* e *Croton blanchetianus*. **Acta Brasiliensis**, v. 1, n. 3, p. 7-10, 2017.
- ARAÚJO, B. Q.; MONÇÃO, N. B. N.; OLIVEIRA, L. G. C.; SANTANA, L. C. L. R.; ARCANJO, D. D. R.; RODRIGUES, K. A. F.; CARVALHO, F. A. A.; CITÓ, A. M. G. L. 3-O- acyl triterpenoids and antileishmanial effect of the ethanolic extract from *Mimosa caesalpinifolia* inflorescences. **Current Bioactive Compounds**, v. 16, n. 1, 2020.

- ARAÚJO, J. S. C. **Investigação dos efeitos citotóxico, genotóxico e o potencial antibacteriano associados ao biofilme dental dos taninos isolados de *Anacardium occidentale* Linn e *Anadenanthera macrocarpa* (Benth.) Brenan.** Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, UEPB. Campina Grande: PB, 2013.
- ARITA, L. S.; FUJIHARA, R. T.; FORTI, L. C. Formigas cortadeiras. In: PALEARI, L. M.; CAMPOS, R. S. P.; OTSUKA, H. CARVALHO, M. B. **Experimentando ciência: teorias e práticas para o ensino da biologia.** São Paulo: Cultura Acadêmica, 2011.
- ASQUIERI, E. R. **Solubilidade de açúcares em etanol e sua aplicação na indústria açucareira.** Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP. Campinas: SP, 1995.
- AZMIR, J.; ZAIDUL, I. S. M.; RAHMAN, M. M.; SHARIF, K. M.; MOHAMED, A.; SAHENA, F.; JAHURUL, M. H. A.; GHAFUOR, K.; NORULAINI, N. A. N.; OMAR, A. K. M. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. **Journal Food Engineering**, v. 117, n. 4, p. 426-436, 2013.
- BACCARO, F. B.; FEITOSA, R. M.; FERNANDEZ, F.; FERNANDES, I. O.; IZZO, T. J.; SOUZA, J. L. P.; SOLAR, R. **Guia para os gêneros de formigas do Brasil.** Manaus: Ed. IMPA, 2016.
- BAPTISTA, A. B. **Extrato de folhas de caju (*Anacardium occidentale* L.) e de cajú (*Anacardium microcarpum* D.): prospecção fitoquímica, atividade antioxidante, antimicrobiana e anti-inflamatória, *In vitro* e *In vivo*.** Tese (Doutorado em Ciências da Nutrição) – Programa de Pós-graduação da Ciência da Nutrição, UFV. Viçosa – MG, 2018.
- BARBOSA, T. R. L.; SILVA, M. P. S.; BARROSO, D. G. Plantio do sabiazeiro em pequenas e médias propriedades. **Manual técnico 2**, Niterói, 12 p. 2008.
- BARBOSA, W. L. R. et al. **Manual para análise fitoquímica e cromatográfica de extratos vegetais.** Universidade Federal do Pará (UFPA). Belém - PA, 2001.
- BARRETTO, L. C. O. *Anacardium occidentale* L.: prospecção tecnológica aplicada à tecnologia de compostos bioativos em produtos alimentícios. **Revista Geintec**, São Cristóvão, v. 4, n. 4, p. 1356-1366, 2014.
- BASSETTI, M.; TRECARCHI, E. M.; MESINI, A.; SPANU, T.; GIACOBBE, D. R.; ROSSI, M. SHENONE, E.; PASCALE, G. D.; MOLINARI, M. P.; CAUDA, R.; VISCOLI, C.; M. TUMBARELLO. Risk factors and mortality of healthcare-associated and community-acquired *Staphylococcus aureus* bacteraemia. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 18, n. 9, p. 862-869, 2012.
- BATISTA, E. K. F.; TRINDADE, H. I.; LIRA, S. R. S.; MULLER, J. B. B. S.; SILVA, L. L. B.; BATISTA, M. C. S. Atividades antinociceptiva e anti-inflamatória do extrato etanólico de *Luehea divaricata*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 18, n. 2, p. 433-441, 2016.
- BICALHO, K. U.; TEREZAN, A. P.; MARTINS, D. C.; FREITAS, T. G.; FERNANDES, J. B.; SILVA, M. F. G. F.; VIEIRA, P. C.; PAGNOCCA, F. C.; BUENO, O. C. Evaluation of the toxicity of *Virola sebifera* crude extracts, fractions and isolated compounds on the nest of leaf-cutting ants. **Psyche**, v. 2012, 7 p. 2012.
- BIGI, M. F. M. A.; TORKOMIAN, V. L. V.; GROOTE, S. T. C. S.; HEBLING, M. J. A.; BUENO, O. C.; PAGNOCCA, F. C.; FERNANDES, J. B.; VIEIRA, P. C.; SILVA, M. F. G. F. Activity of *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) and ricinine against the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae) and the symbiotic fungus *Leucoagaricus gongylophorus*. **Pest Management Science**, v. 60, p. 933-938, 2004.
- BITENCOURT, R. G. **Extração e fracionamento de saponinas por extração sequencial em leito fixo utilizando dióxido de carbono supercrítico, etanol e água.** Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP. Campinas: SP, 2014.

- BOARETTO, M. A. C.; FORTI, L. C. Perspectivas no controle de formigas cortadeiras. **Série Técnica IPEF**, v. 11, n. 30, p. 31-46, 1997.
- BORBA, R. S.; LOECK, A. E.; BANDEIRA, J. M.; MORAES, C. L.; CENTENARO, E. D. Crescimento do fungo simbiote de formigas cortadeiras do gênero *Acromyrmex* em meios de cultura com diferentes extratos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 3, p. 725- 730, 2006.
- BORER, U.; SAIDEL, ODES. G.; ESKIRA, S.; NATIV, R.; RIESENBERG, K.; LIVSHIZ, R. I.; SCHLAEFFER, F.; SHERF, H.; PELED, N. Risk factors for developing clinical infection with carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in hospital patients initially only colonized with carbapenem-resistant *K pneumoniae*. **American Journal of Infection Control**, v. 40, n. 5, p. 421-425, 2012.
- BRASIL. Farmacopeia Brasileira. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA**, Brasília, v. 2, 546 p. 2010.
- BRITO, D. R. B.; COSTA JÚNIOR, L. M.; GARCIA, J. L.; LOPES, S. G.; SANTOS, G. C. O.; SOUSA, J. V. S. *In vitro* action of *Mimosa caesalpinifolia* ketone extract on *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus colubriformis*. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 38, n. 4, p. 1963-1972, 2017.
- BRITO, J. S.; FORTI, L. C.; OLIVEIRA, M. A.; ZANETTI, R.; WILCKEN, C. F.; ZANUNCIO, J. C.; LOECK, A. E.; CALDATO, N.; NAGAMOTU, N. S.; LEMES, P. G.; CAMARGO, R. S. Use of alternatives to PFOS, its salts and PFOSF for the control of leaf-cutting ants *Atta* and *Acromyrmex*. **International Journal of Research in Environmental Studies**, v. 3, p. 11- 92, 2016.
- BRITO, S. A. **Avaliação da atividade antiulcerogênica das folhas e frutos de *Spondias mombin* L. (Anacardiaceae)**. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Centro de Ciências da Saúde, UFPE. Recife: PE, 2018.
- BRUNING, M. C. R.; MOSEGUI, G. B. G.; VIANNA, C. M. M. A utilização da fitoterapia e de plantas medicinais em unidades básicas de saúde nos municípios de Cascavel e Foz do Iguaçu – Paraná: a visão dos profissionais de saúde. **Ciência & Saúde Coletiva**, 17(10):2675-2685, 2012.
- BUENO, O. C.; HEBLING, M. J. A.; SILVA, O. A.; MATENHAUER, A. M. C. Effect of sesame (*Sesamum indicum* L.) on nest development of *Atta sexdens rubropilosa* Forel (Hym., Formicidae). **Journal Applied Entomology**, Berlin, v. 119, p. 341-343, 1995.
- BUENO, O. C.; MORINI, M. S. C.; PAGNOCCA, F. C.; HEBLING, M. J. A.; SILVA, O. A. Sobrevivência de operárias de *Atta sexdens rubropilosa* Forel (Hymenoptera: Formicidae) isoladas do formigueiro e alimentadas com dietas artificiais. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 26, n. 1, p. 107-113, 1997.
- BURATTO, D. A.; CARDOSO, J. T.; ROLIM, F. A.; REIS FILHO, W. Avaliação dos danos causados por formigas-cortadeiras do gênero *Acromyrmex* (Hymenoptera) aos plantios de *Pinus taeda* no planalto sul-catarinense. **Floresta**, Curitiba, v. 42, n. 4, p. 683-690, 2012.
- BUXTON, T.; TAKAHASHI, S.; NIWATA, I.; OWUSU, E. O.; KIM, C. S. Isolation and characterization of the insecticidal compounds in *Anacardium occidentale* (cashew nut) shell liquid against the rice weevil, *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Entomology and Zoology Studies**, v. 5, n. 2, p. 1241-1246, 2017.
- CABRAL, C.; PITA, J. R. **Ciclo de exposições: temas de saúde, farmácia e sociedade**. Coimbra: CEIS 20, 2015.
- CALLOU, M. J. A.; MIRANDA, R. C. M.; FEITOSA, T. R.; ARRUDA, F. V. F.; NASCIMENTO, M. S.; GUSMÃO, N. B. Avaliação da atividade antimicrobiana da casca de *Mimosa caesalpinifolia* Benth (Sabiá). **Scientia Plena**, v. 8, n. 1, p. 1-7, 2012.
- CAMPOS, A. C. F. B.; SOUZA, N. R.; SILVA, P. H. C.; SANTANA, A. P. Resistência antimicrobiana em *Enterococcus faecalis* e *Enterococcus faecium* isolados de carcaças de frango. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, n. 5, p. 575-580, 2013.

- CAMPOS, A. E. de C; ZORZENON, F. J. **Programa de sanidade em agricultura familiar: formigas cortadeiras**. São Paulo: Instituto Biológico, 2008.
- CAUWERTS, K.; DECOSTERE, A.; GRAEF, E. M.; HAESEBROUCK, F.; PASMANS, F. High prevalence of tetracycline resistance in *Enterococcus* isolates from broilers carrying the erm (B) gene. **Avian Pathology**, v. 36, p. 395-399, 2007.
- CAVALCANTE, G. M.; MOREIRA, A. F. C.; VASCONCELOS, S. D. Potencialidade inseticida de extratos aquosos de essências florestais sobre mosca-branca. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n. 1, p. 9-14, 2006.
- CHIAPETTI, T. P. **Atividade antioxidante e antifúngica de extratos foliares de *Maytenus* ssp. sobre *Cylindrocladium clavatum***. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Programa de Pós-graduação em Agronomia, UNIOESTE. Marechal Cândido Rondon: PR, 2018.
- CHUSRI, S.; SILPAPOJAKUL, K.; MCNEIL, E.; SINGKHAMANAN, K.; CHONGSUWIVATWONG, V. Impact of antibiotic exposure on occurrence of nosocomial carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* infection: A case control study. **Journal Infection and Chemotherapy**, v. 21, n. 2, p. 90-95, 2015.
- CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. **Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically**. 6.ed. Wayne: NCCLS, 53 p., 2012.
- COLEGATE, S. M.; MOLYNEUS, R. J. Introduction and Overview. in: **Bioactive Natural Compounds**. Ed. Colegate, S. M., Molyneux: USA, 1993.
- COSTA, A. C. F.; CAVALCANTE, G. M. Atividade antitumoral *in vitro* de *Prosopis juliflora* frente a células de câncer de mama e câncer de ovário. **Acta Biomedica Brasiliensia**, v. 9, n. 1, p. 130-136, 2018.
- COSTA, A. L. P.; SILVA JUNIOR, A. C. S. Resistência bacteriana aos antibióticos e saúde pública: uma breve revisão de literatura. **Estação Científica**, Macapá, v. 7, n. 2, p. 45-57, 2017.
- COSTA, M. G.; ARAUJO, L. L.; SOUZA, H. J. R.; XAVIER JÚNIOR, S. R.; SILVA, W. L. S. *Mimosa* L. (Fabaceae: Caesalpinioideae) no herbário Instituto Agrônômico do Norte da Embrapa Amazônia Oriental. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 13, n. 3, p. 377-384, 2018.
- CRAGG, G. M.; GROTHAUS, P. G.; NEWMAN, D. J. New horizons for old drugs and drugs leads. **Journal of Natural Products**, v. 77, p. 703-723, 2014.
- CRUZ, C. D.; MARTINEZ, M. B.; DESTRO, M. T. *Listeria monocytogenes*: um agente infeccioso ainda pouco conhecido no Brasil. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 19, n. 2, p. 195-206, 2008.
- DANTAS, P. C.; ARAÚJO, R. G. V.; ABREU, L. A.; ARAÚJO JÚNIOR, J. V.; BATISTA, A. S.; SABINO, A. R.; CUNHA, J. L. X. L.; DUARTE, A. G. Toxicidade de extratos vegetais em *Coccidophilus citricola* (Bréthes, 1905) (coleoptera: coccinellidae). **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v. 5, n. 3, p. 2060-2067, 2019.
- DEGANI, A. L. G.; CASS, Q. B.; VIEIRA, P. C. Cromatografia um breve ensaio. **Química Nova na Escola**, n. 7, p. 21-25, 1998.
- DELGADO, L. A.; SIQUEIRA, D. S.; FERREIRA, J. L. S.; CAVALCANTE, J. N. M.; SILVA, R. C. M. O.; FILGUEIRA, R. C.; BEZERRA, R. V.; OLIVEIRA, H. M. B. F.; MARINHO, M. G. V.; OLIVEIRA FILHO, A. A. Atividade antibacteriana do extrato etanólico bruto da *Gossypium hirsutum* L. contra *Pseudomonas aeruginosa*. **Revista Uningá**, v. 55, n. 4, p. 80-87, 2018.
- DELLA LUCIA, T. M. C.; OLIVEIRA, P.S. Forrageamento. In: Della Lucia, T.M.C. (ed.). **As formigas cortadeiras**. Ed. Folha de Viçosa, p. 84-105, 1993.
- DELLA LUCIA, T. M. C.; GANDRA, L. C.; GUEDES, R. N. C. Managing leaf-cutting ants: peculiarities, trends a challenges. **Pest Management Science**, v. 70, p. 14-23, 2013.

- DIGRAK, M.; ALMA, M. H.; ILÇIM, A.; SEN, S. Antibacterial and antifungal effects os various commercial plant extracts. **Pharmaceutical Biology**, v. 37, n. 3, p. 216-220, 1999.
- DUARTE, G. K. G. F.; MENEZES, A. C. S.; NAVES, P. L. F.; BUENO, O. C.; SANTOS, R. G.; SILVA JUNIOR, W. M. Toxicidade de *Esenbeckia pumila* Pohl (Rutaceae) sobre *Artemia salina* e *Atta sexdens rubropilosa*. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 32, n. 1, p. 101-112, 2019.
- DUTRA, R. M. S.; SOUZA, M. M. O. Impactos negativos do uso de agrotóxicos à saúde humana. **Revista Brasileira de Geografia Médica e da Saúde**, Uberlândia, v. 13, n. 24, p. 127-140, 2017.
- EDCENTAURUS. **Atuante atualizada agrícola agranja**. Fonte: <<https://edcentaurus.com.br/agranja/edicao/751/materia/3772>>. Acesso em: fev. 2020.
- ENDRINGER, F. B. **Ecologia e forrageamento da formiga cortadeira *Atta robusta* (Borgmeier, 1939)**. Tese (Doutorado em Ecologia e Recursos Naturais) – UENF. Campo dos Goytacazes: RJ, 2015.
- FACKLAM, R. What Happened to the Streptococci: Overview of Taxonomy and Numenclature changes. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 15, n. 4, p. 613-630, 2002.
- FELIPE, L. O.; BICAS, J. L. Terpenos, aromas e a química dos compostos naturais. **Química Nova**, São Paulo, v. 39, n. 2, p. 120-130, 2016.
- FERNANDES, J. B.; DAVID, V.; FACCHINI, P. H.; SILVA, M. F. G. F.; RODRIGUES FILHO, E.; VIEIRA, P. C. Extrações de óleos de sementes de citros e suas atividades sobre a formiga cortadeira *Atta sexdens* e seu fungo simbiote. **Química Nova**, v. 25, n. 6B, p. 1091-1095, 2002.
- FLORÊNCIO, A. P. S.; MELO, J. H. L.; MOTA, C. R. F. C.; MELO JÚNIOR, M. R.; ARAÚJO, R. V. S. Estudo da atividade antitumoral do polissacarídeo (PJU) extraído de *Anacardium occidentale* frente a um modelo experimental do sarcoma 180. **Revista Eletrônica de farmácia**, v. 4, n. 1, p. 61-65, 2007.
- FRANÇA, R. C. **Caracterização físico-química e atividade antioxidante de pseudofrutos de caju e cajuí nativos do Tocantins**. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Programa de Pós-graduação em Biotecnologia, UFT. Gurupi: TO, 2013.
- FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. 1º edição, editora Atheneu, p.46-47, São Paulo, 1996.
- FREIRE, C. J.; BARBOSA, L. R. S.; COSTA, J. G.; SANTOS, R. G. A.; SANTOS, A. F. Phytotherapy in pediatrics: the production of knowledge and practices in Primary Care. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 71, n. 1, p. 682-690, 2018.
- FREIRE, J. M.; ABREU, C. M. P.; ROCHA, D. A.; CORRÊA, A. D.; MARQUES, N. R. Quantificação de compostos fenólicos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 43, n. 12, p. 2291-2296, 2013.
- FREITAS, T. G. **Toxicidade de extratos de *Rauia* sp. (Rutaceae) para operárias de *Atta sexdens* FOREL (Hymenoptera: Formicidae)**. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Instituto de Biociências, UNESP. Rio Claro: SP, 2010.
- GALVÃO, J. N.; ARAÚJO, A. C. J.; MANGUEIRA, C. E. A.; PEREIRA, E. A.; RODRIGUES, J. T.; PEREIRA, J. H. A.; CAVALCANTE, M. L.; BITU, V. C. N. Avaliação da atividade antibacteriana e modulatória do extrato etanólico de *Anacardium occidentale* Linn. **Revista Interfaces**, v. 5, n. 15, p. 44-47, 2017.
- GAZZONI, D. L.; HÜLSMEYER, A.; CAMPO, C. B. H. Efeito de diferentes doses de rutina e de quercertina na biologia de *Anticarsia gemmatalis*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 7, p. 673-681, 1997.
- GELATTI, L. C.; SUKIENNIK, T.; BECKER, A. P.; INOUE, F. M.; CARMO, M. S.; CASTRUCCI, F. M. S.; PIGNATARI, A. A. C.; RIBEIRO, L. C.; BONAMIGO, R. R.; AZEVEDO, P. A. Sepse por *Staphylococcus aureus* resistente à metilina adquirida na comunidade no sul do Brasil. **Revista Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 42, n. 4, Aug. 2009.

- GOBBO NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.
- GONÇALVES, A. P. P.; VIEIRA, G. D.; CUNHA, P. N. A.; KISSLER, T. V. L.; HERNÁNDEZ, A. E. F.; TELES, C. B. G. Caracterização fitoquímica e atividade antimicrobiana de extratos de *Solanum subinerme* (Solanaceae). **Revista Brasileira de Pesquisa em Saúde**, Vitória, v. 18, n. 2, p. 8-16, 2016.
- GUIMARÃES, D. O.; MOMESSO, L. S.; PUPO, M. T. Antibióticos: importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. **Química Nova**, v. 33, n. 3, p. 667-679, 2010.
- HAMAD, F. B.; MUBOFU, E. B. Potential biological applications of bio-based anacardic acids and their derivatives. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, p. 8569-8590, 2015.
- HEISLER, E. V.; BUDÓ, M. L. D.; SCHIMITH, M. D.; BADKE, M. R.; CEOLIN, S.; HECK, R. M. Uso de plantas medicinais no cuidado à saúde: produção científica das teses e dissertações da enfermagem brasileira. **Enfermería Global**, v. 14, n. 39, p. 404-407, 2015.
- HÖLLDOBLER, B.; WILSON, E.O. **The ants**. The Belknap Press of Harvard University, Cambridge, Massachusetts. 732 p., 1990.
- ILEKE, K. D.; OLOTUAH, O. F. Bioactivity of *Anacardium occidentale* (L.) and *Allium sativum* (L.) powders and oils extracts against cowpea bruchid, *Callosobruchus maculatus* (Fab.) [Coleoptera: Chrysomelidae]. **Internacional Journal of Biology**, v. 4, n. 1, p. 96-103, 2012.
- JIMÉNEZ, G. S.; DUCOING, H. P.; SOSA, M. R. La participación de los metabolitos secundários em la defensa de las plantas. **Revista Mexicana de Fitopatología**, v. 21, n. 3, p. 355-363, 2003.
- JOLY, C. A.; PADGURSCHI, M. C. G. Apresentando o diagnóstico brasileiro de biodiversidade e serviços ecossistêmicos. In: JOLY, C. A.; SCARANO, F. R.; SEIXAS, C. S.; METZGER, J. P.; OMETTO, J. P.; BUSTAMANTE, M. M. C.; PADGURSCHI, M. C. G.; PIRES, A. P. F.; CASTRO, P. F. D.; GADDA, T.; TOLEDO, P. **1º diagnóstico brasileiro de biodiversidade e serviços ecossistêmicos**. São Paulo: Plataforma Brasileira de Biodiversidade, 2019.
- KAYAOGLU, G.; ORSTAVIK, D. Virulence factors of *Enterococcus faecalis*: relationship to endodontic disease. **Critical Reviews in Oral Biology & Medicine**, v. 15, p. 308-320, 2004.
- KHAN, A. M.; QURESHI, R. A.; GILLANI, S. A.; ULLAH, F. Antimicrobial activity of selected medicinal plants of Margalla Hills, Islamabad, Pakistan. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 5, n. 18, p. 4665-4670, 2011.
- KIM, D.O.; JEONG, S.W.; LEE, C.Y. Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. **Food Chemistry**, v.81. p.321-326, 2003.
- KOBAYAKAWA, S.; JETT, B. D.; GILMORE, M. S. Biofilme formation of *Enterococcus faecalis* on intraocular lens material. **Current Eye Research**, v. 30, n. 9, p. 741-745, 2005.
- KONAN, N. A. **Estudo farmacognóstico e toxicológico de *Anacardium occidentale* Linn. (Anacardeaceae) clone CCP-76**. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, USP. São Paulo: SP, 2006.
- KÖPPEN, W. **Grundriss der klimakunde**. Berlin: W. Guyter, 390 p., 1931.
- KUMARAN, P.; PARUCHURI, Y. L. Kinetics of phenol biotransformation. **Water Research**, v. 31, n. 1, p. 11-22, 1997.
- LAMOTHE, L. M.; SRICHUWON, S.; REUHS, B. L.; HAMAKER, B. R. Quinoa (*Chenopodium quinoa* W.) and amaranth (*Amaranthus caudatus* L.) provide dietary fibres high in pectic substances and xyloglucans. **Food Chemistry**, United States, v. 167, n. 1, p.490-496, 2015.

- LERMA, J. M.; ECHEVERRI, C. G.; ARMBRECHT, I.; BRENER, A. F.; CALLE, Z. Leaf-cutting ants revisited: towards rational management and control. **International Journal of Pest Management**, v. 58, n. 3, p. 225-247, 2012.
- LIMA, M. F. P.; BORGES, M. A.; PARENTE, R. S.; JUNIOR, R. C. V.; OLIVEIRA, M. E. *Staphylococcus aureus* e as infecções hospitalares – revisão de literatura. **Uningá Review**, v. 21, n. 1, p. 32-39, 2015.
- LOMONACO, S.; NUCERA, D.; The evolution and epidemiology of *Listeria monocytogenes* in Europe and the United States. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 35, p. 172-183, 2015.
- LOPES, C. V. A.; ALBUQUERQUE, G. S. C. Agrotóxicos e seus impactos na saúde humana e ambiental: uma revisão sistemática. **Saúde Debate**, Rio de Janeiro, v. 42, n. 117, p. 518-534, 2018.
- LOPES, M. F. S.; RIBEIRO, T.; ABRANTES, M.; MARQUES, J. J. F.; TENREIRO, R.; CRESPO, M. T. B. Antimicrobial resistance profiles of dairy and clinical isolates and type strains of *enterococci*. **International Journal of Food Microbiology**, v. 103, p. 191-198, 2005.
- LOUREIRO, R. J.; ROQUE, F.; RODRIGUES, A. T.; HERDEIRO, M. T.; RAMALHEIRA, E. O uso de antibióticos e as resistências bacterianas: breves notas sobre sua evolução. **Revista Portuguesa de Saúde Pública**, v. 34, n. 1, p. 77-84, 2016.
- MANTILLA, S. P. S. Ocorrência de *Listeria* sp em amostras de carne bovina moída comercializada no município de Niterói, RJ, Brasil. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 4, p. 1225-1230, 2007.
- MARICONI, F. A. M. **As saúvas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1970.
- MARTIN, B.; COROMINAS, L.; GARRIGA, M.; AYMERICH, T. Identification and tracing of *Enterococcus* spp. by RAPD-PCR in traditional fermented sausages and meat environment. **Journal of Applied Microbiology**, v. 106, p. 66-77, 2008.
- MARTÍN, C. M. C. **Estudo químico do extrato etanólico das folhas de *Murraya paniculata* (L.) Jack e avaliação da ação anti-inflamatória**. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP. Araraquara: SP, 2018.
- MASSON, A. O.; LOMBELLO, C. B. Metodologias de avaliação citotóxica: estudo comparativo segundo tempo de exposição. **9º congresso Latino-Americano de órgão artificiais e biomateriais**, 10 p., 2016.
- MASUKO, T.; MINAMI, A.; IWASAKI, N.; MAJIMA, T.; NISHIMURA, S. I.; LEE, Y. C. Carbohydrate analysis by a phenol-sulfuric acid method in microplate format. **Analytical Biochemistry**, v. 339, p. 69-72, 2005.
- MCMURRY, J. **Química Orgânica - Combo**. 7 ed. São Paulo: Cengage Learning, 1344 p., 2011.
- MEDELL, M.; HART, M.; BATISTA, M. L. Sensibilidade antimicrobiana *in vitro em* isolados de *Enterococcus faecalis* e *Enterococcus faecium* obtidos de pacientes hospitalizados. **Biomedical**, v. 34, n. 1, 2014.
- MENEZES FILHO, A. C. P.; CASTRO, C. F. S. Classes fitoquímicas de metabólitos secundários em extratos etanólicos foliares de espécies do cerrado brasileiro. **Revista Saúde & Ciência Online**, v. 8, n. 1, p. 45-61, 2019.
- MONÇÃO, N. B. N. ; COSTA, L. M. ; ARCANJO, D. D. R. ; ARAUJO, B. Q. ; LUSTOSA, M. C. G. ; RODRIGUES, K. A. F. ; Carvalho, F. A. A. ; COSTA, A. P. R. ; CITÓ, A. M. G. L. . Chemical constituents and toxicological studies of leaves from *Mimosa caesalpinifolia* Benth., a Brazilian honey plant. **Pharmacognosy Magazine**, v. 10, p. 456-462, 2014.
- MORAES, A. L.; ARAÚJO, N. G. P.; BRAGA, T. L. Automedicação: revisando a literatura sobre a resistência bacteriana aos antibióticos. **Revista Eletrônica Estácio Saúde**, v. 5, n. 1, p. 122-132, 2016.

MOYSÉS, D. A. **Avaliação do potencial citotóxico e genotóxico do piroxicam em linhagens VERO**. Dissertação (Neurociências e Biologia Celular) – Instituto de Ciências Biológicas, UFPA Belém: PA, 2016.

MURRAY, E. G. D.; WEBB, R. A.; SWANN, M. B. R. A disease of rabbits characterised by a large mononuclear leukocytosis, caused by a hitherto undescribed bacillus *Bacterium monocytogenes* (n.sp.). **Journal Pathology Bacteriology**, v.29, p.407-439, 1926.

MURRAY, P. R. **Microbiologia Médica**. 3ª edição, ed. Guanabara Koogan, p.181-183, São Paulo, 2000.

NAVARRO-SILVA, M. A.; MARQUES, F. A.; DUQUE, J. E. L. Review of semiochemicals that mediate the oviposition of mosquitoes: a possible sustainable tool for the control and monitoring of Culicidae. **Revista Brasileira de Entomologia**, Curitiba, v. 53, n.1, p.1-6, 2009.

NEVES, A. M.; SILVA, H. S.; SOUZA, E. B.; FONTENELLE, R. O. S.; SILVA, A. C. S.; MORAIS, S. M. Perfil fitoquímico e avaliação da atividade antifúngica da fração hexânica de *Mitracarpus baturitensis* (Rubiaceae). **Essentia**, v. 20, n. 1, p. 96-101, 2019.

OBEMBE, O. M.; OGUNGBITE, O. C. Biototoxicity of different parts of *Anacardium occidentale* (Linn.) against *Callosobruchus maculatus* (F.) infestation on stored cowpea seeds. **International Journal of Horticulture**, v. 7, n. 9, p. 64-75, 2017.

ÖNAL, B.; ÖZEN, D.; DEMIR, B.; AK, D. G.; DURSUN, E.; DEMIR, C.; AKKAN, A. G.; ÖZYAZGAN, S. The anti-inflammatory effects of anacardic acid on a TNF –  $\alpha$  – induced human saphenous vein endothelial cell culture model. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, doi: 10.2174/1389201020666191105154619, 2019.

ORTIZ, G.; SOCOLOWSKI, P. C.; VIEIRA, A. S.; BUENO, O. C. Ação de produtos utilizados no cultivo da cana-de-açúcar sobre as formigas cortadeiras. In: FONTANETTI, C. S.; BUENO, O. C. **Cana-de-açúcar e seus impactos: uma visão acadêmica**. 1. Ed. Bauru – SP: Ed. Canal 6, 2017.

PAIVA, J. R.; CRISÓSTOMO, J. R.; BARROS, L. M. Recursos genéticos do cajueiro: coleta, conservação, caracterização e utilização. **Documentos 65 – EMBRAPA**, 42 p., 2003.

PEREIRA, A. V.; AZEVÊDO, T. K. B.; SANTANA, G. M.; TREVISAN, L. F. A.; HIGINO, S. S. S.; COSTA, M. R. M.; PEREIRA, M. S. V.; AZEVEDO, S. S. Análise da atividade antimicrobiana de taninos totais de plantas aromáticas do Nordeste brasileiro. **Revista Agrotec**, v. 36, n. 1, p. 109-114, 2015.

PEREIRA, R. J.; CARDOSO, M. G. Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 3, N.4: pp. 146-152, 2012.

PESSONI, L. A. **Estratégias de análise da diversidade em germoplasma de cajueiro (*Anacardium spp. L.*)**. Tese (Doutor em Genética e Melhoramento) – Programa de Pós-graduação em Genética e Melhoramento, UFV. Viçosa: MG, 2007.

PISTORI, M. G. B.; ROEL, A. R.; VALÉRIO, J. R.; OLIVEIRA, M. C. M.; GRISOTO, E.; MATIAS, R. Effect of *Anacardium humile* St. Hill (Anacardiaceae) Aqueous Extract on *Mahanarva fimbriolata* (Stal, 1854) (Hemiptera: Cercopidae). **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 35, n. 4, p. 413-417, 2013.

QUEIROZ, L. P.; CARDOSO, D.; FERNANDES, M. F.; MORO, M. F. **Diversity and Evolution of flowering of the caatinga domain**. Springer, doi: 10.1007/978-3-319-68339-3\_2, 41p., 2017.

REZENDE, F. M.; ROSADO, D.; MOREIRA, F. A.; CARVALHO, W. R. S. Vias de síntese de metabólitos secundários em plantas. In: FURLAN, C. M. **VI botânica no inverno: 2016**. São Paulo: USP (Instituto de Biociências), 223 p., 2016.

RIBASKI, J. et al. Sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia*) Árvore de Múltiplo uso no Brasil. **Comunicado Técnico Embrapa**, 2003.

RIBEIRO, N. C. **Caracterização química e de atividade biológica de *Anacardium microcarpum* Ducke e *Anacardium occidentale* L. (Anacardiaceae) no estado do Piauí, Brasil**. Dissertação

(Mestrado em Biotecnologia) – Programa de Pós-graduação em Biotecnologia, UFPI. Parnaíba: PI, 2016.

RIBOLDI, G. P.; FRAZZON, J.; AZEVEDO, P. A.; FRAZZON, A. P. G. Antimicrobial resistance profile of *Enterococcus* spp. isolated from food in Southern Brazil. **Brazilian Journal Microbiology**, v. 40, p. 125-128, 2009.

ROCHA, A. G.; OLIVEIRA, B. M. S.; MELO, C. R.; SAMPAIO, T. S.; BLANK, A. F.; LIMA, A. D.; NUNES, R. S.; ARAÚJO, A. P. A.; CRISTALDO, P. F.; BACCI, L. Lethal effect and behavioral responses of leaf-cutting ants to essential oil of *Pogostemon cablin* (Lamiaceae) and its nanoformulation. **Neotropical Entomology**, v. 47, p. 769-779, 2018.

RODRIGUES, F. A.; PIMENTA, V. S. C.; BRAGA, K. M. S.; ARAUJO, E. G. Obtenção de extratos de plantas do cerrado. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 13, n. 23, p. 870-887, 2016.

RODRIGUES, K. A.; AMORIM, L. V.; DIAS, C. N.; MORAES, D. F. C.; CARNEIRO, S. M. P.; CARVALHO, F. A. A. *Syzygium cumini* (L.) skeels essential oil and its major constituent  $\alpha$ -pinene exhibit anti-*Leishmania* activity through immunomodulation *in vitro*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 160, n. 3, p. 32-40, 2015

RODRIGUES, T. S.; GUIMARÃES, S. F.; RODRIGUES DAS DÔRES, R. G.; GABRIEL, J. V. Métodos de secagem e rendimento dos extratos de folhas de *Plectranthus barbatus* (boldo-da-terra) e *P. ornatos* (boldo-miúdo). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 13, especial, p. 587-590, 2011.

RODRIGUES, C. M. **Caracterização quali e quantitativa de metabólitos secundários em extratos vegetais**. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, UNESP. Araraquara: SP, 2007.

ROGERO, S. O.; LUGÃO, A. B.; IKEDA, T. I.; CRUZ, A. S. Teste *in vitro* de citotoxicidade: estudo comparativo entre duas metodologias. **Materials Research**, São Carlos, v. 6, n. 3, p. 317-320, 2003.

ROQUE, P. A.; CARVALHO, C. W. F.; CARVALHO, C. V. F.; BARBOSA, F. R.; PEREIRA, D. E. *Listeria Monocytogenes*: um patógeno perigoso com doença pouco notificada no Brasil: uma revisão literária. **International Journal of Nutrology**, v. 11, n. 1, 2018.

SANTOS, A. L.; SANTOS, D. O.; FREITAS, C. C.; FERREIRA, B. L. A.; AFONSO, I. F.; RODRIGUES, C. R.; CASTRO, H. C. *Staphylococcus aureus*: visitando uma cepa de importância hospitalar. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 43, n. 6, 2007.

SANTOS, L. A.; MENEZES, J. S.; RUFINO, L. R. A.; OLIVEIRA, N. M. S.; FIORINI, J. E. Determinação da atividade antimicrobiana do extrato hidroalcolólico da planta *Plectranthus ornatos* Codd (Boldo chinês). **Revista Médica de Minas Gerais**, v. 24, n. 4, p. 464-469, 2014.

SANTOS, M. E. P. et al. Hypotensive and vasorelaxant effects induced by the ethanolic extract of the *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth. (Mimosaceae) inflorescences in normotensive rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 164, p. 120–128, 2015.

SANTOS, N. Q. A resistência bacteriana no contexto da infecção hospitalar. **Texto Contexto Enferm.**, v. 13, p. 64-70, 2004.

SANTOS, P. L.; PRANDO, M. B.; MORANDO, R.; PEREIRA, G. V. N.; KRONKA, A. Z. Utilização de extratos vegetais em proteção de plantas. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v.9, p. 2562-2576, 2013.

SILVA, E. M.; TOSCANO, L. C.; SALES, A. C. Atividade inseticida de extratos de plantas sobre *Brevicoryne brassicae* (L. 1758) (Homoptera: Aphididae) em couve-manteiga. **Cadernos de Agroecologia**, v. 13, n. 2, 2018.

SILVA, H. R.; GIANOGLOU, F. M.; CAMPOS, M. F.; GRACIANO, E. M. A.; TOLEDO, R. C. C. Listeriose: uma doença de origem alimentar pouco conhecida no Brasil. **Higiene Alimentar**, v. 30, n. 262, 2016.

SILVA, J. G.; SOUZA, I. A.; HIGINO, J. S.; SIQUEIRA JUNIOR, J. P.; PEREIRA, J. V.; PEREIRA, M. S. V. Atividade antimicrobiana do extrato de *Anacardium occidentale* Linn. em amostras

multirresistentes de *Staphylococcus aureus*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 4, p. 572-577, 2007.

SILVA, M. J. D. **Estudo fitoquímico e biológico dos extratos das folhas de *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth.** Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP. Araraquara: SP, 2016.

SILVA, M. J. D.; ENDO, L. H.; DIAS, A. L. T.; SILVA, G. A. S.; SANTOS, M. H.; SILVA, M. A. Avaliação da atividade antioxidante e antimicrobiana dos extratos e frações orgânicas de *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth. (Mimosaceae). **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 33, n. 2, p. 267-274, 2012.

SILVA, M. J. D.; VILEGAS, W.; SILVA, M. A.; MOURA, C. F. G.; RIBEIRO, F. A. P.; SILVA, V. H. P.; RIBEIRO, D. A. Mimosa (*Mimosa caesalpiniiifolia*) prevents oxidative DNA damage induced by cádmium exposure in wistar rats. **Toxicology Mechanisms and Methods**, v. 24, n. 8, p. 567-574, 2014.

SILVA, M. J. D.; VILEGAS, W.; SILVA, M. A.; PAIOTTI, A. P. R.; PASTRELO, M. M.; RUIZ, P. L. M.; MOURA, C. F. G.; OSHIMA, C. T. F.; RIBEIRO, D. A. The anti-inflammatory potential of *Mimosa caesalpiniiifolia* following experimental colitis: role of COX-2 and TNF-alpha expression. **Drug Research**, v. 68, n. 4, p. 196-204, 2018.

SILVA, R. A. **Ação antimicrobiana de *Anacardium occidentale* L.: Potencial biotecnológico na geração de produtos anticárie.** Tese (Doutorado em Biotecnologia). Universidade Federal do Maranhão, RENORBIO. São Luís: MA, 2012.

SILVA, T. C.; CAMARGO, A. B.; SANCHES, L. A.; GARLET, J. *Musa acuminata* pseudostem extract on the control of *Atta sexdens rubropilosa*. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 35, n. 2, p. 459-466, 2019.

SILVA, T. R. F. B.; ALMEIDA, A. C. S.; MOURA, T. L.; SILVA, A. R.; FREITAS, S. S.; JESUS, F. G. Effect of the flavonoid rutin on the biology of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 38, n. 2, p. 165-170, 2016.

SOARES, N. P.; SANTOS, P. L.; VIEIRA, V. S.; PIMENTA, V. S. C.; ARAÚJO, E. G. Técnicas de prospecção fitoquímica e sua importância para o estudo de biomoléculas derivadas de plantas. **Enciclopédia biosfera**, Goiânia, v. 13, n. 24, p. 991-1010, 2016.

SOUSA, D. M.; SOUSA, A. F. L.; IBIAPINA, A. R. S.; QUEIROZ, A. A. F. L. N.; MOURA, M. E. B.; ARAÚJO, T. M. E. Infecção por *Staphylococcus aureus* resistente em unidades de terapia intensiva: revisão integrativa. **Revista Enfermagem UFPE online**, Recife, v. 10, n. 4, p. 1315-1323, 2016.

SOUZA, B. R.; COELHO, G. M.; ROCHA, E. C.; JESUS, F. G.; MENEZES, A. C. S.; ARAÚJO, M. S. Topical toxicity of *Esenbeckia pumila* extracts on leaf-cutting ants *Atta laevigata* and *Acromyrmex balzani*. **Journal of Agricultural Science**, v. 9, n. 12, p. 248-258, 2017.

SOUZA, F. M.; LOPES, F. B.; EIFERT, E. C.; MAGNABOSCO, C. U.; COSTA, M. F. O.; BRUNES, L. C. Extratos vegetais como moduladores da fermentação ruminal. **Documentos 331 – EMBRAPA**, 44 p., 2016.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 6. Ed., Artmed, 2014.

THÉ, P. M. P.; CHAGAS NETO, F. C.; LEAL, L. K. A. M. Análise bromatológica e do potencial nutricional de plantas do nordeste do Brasil: potencial antioxidante do sabiá (*Mimosa caesalpiniiifolia* Benth). **5º simpósio de segurança alimentar**, Bento Gonçalves, 4 p. 2015.

VIEIRA, D. S.; MOURA, J. B.; SILVA, F. E. S.; TANIWAKI, F.; CARDOSO, T. C. Atividade antitumoral da folha de *Hymenaea martiana* hayne em células mamárias de cães. **PUBVET**, Maringá, v. 12, n. 8, p. 1-6, 2018.

VIEIRA, M. R.; PERES, L. S. Uso de extrato foliar de nim, *Azadirachta indica* A. Juss, para o controle do pulgão *Brevicoryne brassicae* (L.) em cultivos de brócolis. **Cultura Agrônômica**, Ilha Solteira, v. 26, n. 4, p. 492-501, 2017.

VIZZOTTO, M.; KROLOW, A. C.; WEBER, G. E. B. Metabólitos secundários encontrados em plantas e sua importância. **Documentos 316**, Pelotas, EMBRAPA, 16 p. 2010.

ZANETTI, R.; ZANUNCIO, J. C.; SANTOS, J. C.; SILVA, W. L. P.; RIBEIRO, G. T.; LEMES, P. G. An overview of integrated management of leaf-cutting ants (Hymenoptera: Formicidae) in brazilian forest plantations. **Forests**, v. 5, n. 3, p. 439-454, 2014.