



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

MARIA CAROLINA ALVES DA SILVA

POTENCIAL CITOGENOTÓXICO DO EXTRATO AQUOSO FOLIAR DE
***Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir. (LEGUMINOSAE)**

PETROLINA

2022

MARIA CAROLINA ALVES DA SILVA

**POTENCIAL CITOGENOTÓXICO DO EXTRATO AQUOSO FOLIAR DE
Mimosa tenuiflora (Willd.) Poir. (LEGUMINOSAE)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Colegiado de Ciências Biológicas da Universidade
Federal do Vale do São Francisco, *Campus* Ciências
Agrárias, como requisito parcial para a obtenção do
grau de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof^ª. Dr^ª Kyria Cilene de Andrade
Bortoleti

Coorientador: Ma. Palloma Lima de Oliveira

PETROLINA

2022

S586p Silva, Maria Carolina Alves da
Potencial citogenotóxico do extrato aquoso foliar de *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir. (Leguminosae) / Maria Carolina Alves da Silva. – Petrolina-PE, 2022.
xv, 61f. : il.; 29 cm.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Federal do Vale do São Francisco, Campus Ciências Agrárias, Petrolina-PE, 2022.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Kyria Cilene de Andrade Bortoleti.

Inclui referências.

1. Plantas medicinais. 2. *Mimosa tenuiflora*. 3. Citotoxicidade. 4. Genotoxicidade. I. Título. II. Bortoleti, Kyria Cilene de Andrade. III. Universidade Federal do Vale do São Francisco.

CDD 581.634

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

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

FOLHA DE APROVAÇÃO

MARIA CAROLINA ALVES DA SILVA

POTENCIAL CITOGENOTÓXICO DO EXTRATO AQUOSO FOLIAR
DE *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir. (LEGUMINOSAE)

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

Aprovado em: 02 de setembro de 2022.

Banca Examinadora



Dr^a Kyria Cilene de Andrade – Orientadora
Universidade Federal do Vale do São Francisco

Dr^o Draulio Costa da Silva – Primeiro examinador
Universidade Federal do Vale do São Francisco

Ma. Cinthia Silva dos Santos Vieira – Segundo examinador
Centro de Manejo de Fauna da Caatinga

À minha família!

Dedico

AGRADECIMENTOS

Aos meus amados Pais, Vandemar Nogueira da Silva e Francisca Verônica Alves da Silva, por toda dedicação e apoio que me deram em todas as minhas sandices, por nunca desistirem e por tudo que fizeram para que eu pudesse alcançar meus objetivos. O amor de vocês é meu tudo.

À minha irmã Ana Cecília Alves Nogueira, por estar sempre ao meu lado e por ser minha melhor amiga. A maior sorte que tive na vida foi ter você como irmã. Te amo.

As minhas queridas avós Maria de Lourdes da Silva (in memoriam) e Cezarina Francisca de Souza (in memoriam) por todo amor e incentivo que me deram.

Ao meu amigo Felipe Negreiros. Obrigada pelo companheirismo e apoio durante esses treze anos de amizade.

À minha orientadora, Kyria Cilene de Andrade Bortoleti, pela oportunidade que me ofereceu e por toda orientação oferecida. Agradeço também à Palloma Lima de Oliveira, por toda paciência e cuidado dedicados durante a construção desse trabalho. Muito obrigada.

Aos meus amigos da rádio fofoca, que estão comigo desde o início dessa aventura, obrigada por todos os momentos de felicidade, por toda ajuda e principalmente pela paciência. Vocês são pessoas especiais.

À minha colega de laboratório, Angélica Barbosa Jericó, Muito obrigada por ser minha amiga e professora particular. Te amo Angel.

Ao Cemafauna Caatinga, pela infraestrutura disponibilizada para a realização deste trabalho.

"É ótimo celebrar o sucesso, mas mais importante ainda é assimilar as lições trazidas pelos erros que cometemos". - Bill Gates

RESUMO

Mimosa tenuiflora (Willd.) Poir, popularmente conhecida como jurema preta, é uma planta nativa do Nordeste Brasileiro, utilizada na medicina popular para o tratamento de queimaduras, gastrite, úlceras da pele e inflamações. Apresenta algumas propriedades biológicas comprovadas como antimicrobiana, antioxidante e cicatrizante e, adicionalmente, foi apontada como embriotóxica, fetotóxica e abortiva em bovinos, caprinos e ovinos. O presente estudo avaliou a composição fitoquímica do extrato aquoso foliar de *M. tenuiflora* mediante cromatografia em camada delgada, bem como o potencial citogenotóxico de diferentes concentrações do referido extrato utilizando o teste do MTT (3,12 a 1.600 µg/mL) e ensaio de micronúcleo com bloqueio de citocinese (CBMN) (50, 100 e 200 µg/mL) na linhagem celular de fibroblasto L929. O extrato apresentou os metabólitos secundários triterpenos, saponinas e esteroides, da classe dos terpenos; xantinas, da classe dos compostos nitrogenados; e compostos fenólicos, incluindo cumarinas, ligninas, taninos condensados e antraquinonas. Na análise de citotoxicidade, as concentrações de 3,12 (100,24%) a 200 µg/mL (79,98%) não apresentaram efeito citotóxico, enquanto que as concentrações de 400 µg/mL (77,47 %), 800 µg/mL (44,96 %) e 1600 µg/mL (19,70 %) demonstraram uma diminuição na viabilidade celular. No que tange à genotoxicidade, a concentração de 50 µg/mL não apresentou alterações nucleares significativas [MN (11,0), BN (15,33), PN (0,33)], frente ao CN [MN (5,0), BN (7,67), PN (1,22)], indicando ausência de ação genotóxica. Entretanto, as concentrações de 100 e 200 µg/mL mostraram genotoxicidade para o valor médio de MN [24,83 (100 µg/mL) e 48,83 (200 µg/mL)] e de BN [27,00 (100 µg/mL) e 60,33 (200 µg/mL)], quando comparados ao controle negativo ($p < 0,05$). Os dados obtidos demonstraram ausência de citogenotoxicidade para concentrações inferiores à 50 µg/mL do extrato aquoso foliar de *M. tenuiflora*, frente a células L929, enfatizando um potencial promissor desta espécie como fonte natural de recursos terapêuticos.

Palavras-chave: Jurema preta. Cromatografia. Fitoquímica. Teste MTT. Ensaio CBMN.

ABSTRACT

Mimosa tenuiflora (Willd.) Poir (Fabaceae), commonly known as jurema preta, is a native plant to the Brazilian Northeast, used in popular medicine in the treatment of burns, gastritis, skin ulcers, and inflammation. This plant has shown biological properties such as antimicrobial, antioxidant, and healing action; in addition, it was identified as embryotoxic, fetotoxic and abortive in cattle, goats and sheep. The present study evaluated the phytochemical composition and cytogenotoxic potential of aqueous leaf extract of *M. tenuiflora*, using thin layer chromatography, MTT assay ($3.12 - 1,600 \mu\text{g.mL}^{-1}$) and CBMN test (50, 100 and $200 \mu\text{g.mL}^{-1}$) on L929 fibroblast cells, respectively. The extract showed secondary metabolites, including triterpenes, such as saponins and steroids, xanthins, and phenolic compounds, such as coumarins, lignins, hydrolysable tannins and anthraquinones. In the cytotoxicity, the concentrations of $3.12 (100.24 \%) - 200 \mu\text{g.mL}^{-1} (79.98\%)$ showed absence of cytotoxic effect, while the concentrations of 400 (77.47%), 800 (44.96%) and $1,600 \mu\text{g.mL}^{-1} (19.70\%)$ presented decreased cellular viability. In terms of genotoxicity, the mean number of micronuclei (11.00), nuclear buds (15.33) and nucleoplasmic bridge (0.33) revealed absence of genotoxic effect only for concentration of $50 \mu\text{g.mL}^{-1}$, when compared to the negative control (5.0 micronuclei, 7.67 nuclear buds and 1.22 nucleoplasmic bridge). In turn, the concentrations of 100 [micronuclei (24.83), nuclear buds (27.00) and nucleoplasmic bridge (0.66)] and $200 \mu\text{g.mL}^{-1}$ [micronuclei (24.83), nuclear buds (27.00) and nucleoplasmic bridge (0.44)] presented genotoxicity, when compared to the negative control ($p < 0.05$). Our data demonstrated absence of cytogenotoxicity to the concentrations lower than $50 \mu\text{g.mL}^{-1}$ of aqueous leaf extract of *M. tenuiflora* on L929 fibroblast cells, confirming its potential as a natural source of therapeutic resources.

Key-words: Jurema preta. Chromatography. Phytochemical. MTT test. CBMN assay.

LISTAS DE FIGURAS

- Figura 1 - Espécie *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir. A) Arbusto; B) Folhas, flores e caule espinhoso. 25
- Figura 2 - Formação de micronúcleo (MN) e pontes nucleoplasmáticas (PN) em células em divisão nuclear. Micronúcleos originam-se de cromossomos inteiros atrasados ou de fragmentos cromossômicos acêntricos. As PN originam-se de cromossomos dicêntricos que podem ser causados por reparo incorreto de quebras de DNA de fita dupla ou fusões de terminais de telômeros. Fonte: adaptado a partir de FENECH (2011). 36
- Figura 3 - Viabilidade celular da linhagem L929 exposta a diferentes concentrações (3,12, 6,25, 12,5, 25, 50, 100, 200, 400, 800 e 1600 µg/mL) do extrato aquoso foliar de *M. tenuiflora* mediante o ensaio de MTT. Os valores correspondem à média da porcentagem de viabilidade celular. CN (Controle Negativo; meio de cultura DMEM); CP (Controle Positivo; Triton-X 100, 1%). *Porcentagem média da viabilidade celular estatisticamente diferente, quando comparadas com o CN pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$). 42
- Figura 4 - Células L929 expostas a diferentes concentrações do extrato foliar de *M. tenuiflora* (200; 100 e 50 µg/mL) através do ensaio CBMN. (A) Célula binucleada com micronúcleo (seta); (B) Célula binucleada com broto nuclear (seta); (C) Célula mononucleada; (D) Célula binucleada; (E) Célula trinucleada; (F) Célula tetranucleada. 43

LISTAS DE TABELAS

Tabela 1 -	Atividades biológicas descritas para espécies do gênero <i>Mimosa</i> L. de acordo com a literatura.	23
Tabela 2 -	Compostos químicos e suas respectivas classes presentes em diferentes partes vegetais da espécie <i>Mimosa tenuiflora</i> .	30
Tabela 3 -	Sistemas efluentes e reveladores utilizados para análise dos metabólitos secundários presentes no extrato aquoso foliar de <i>Mimosa tenuiflora</i> mediante CCD.	38
Tabela 4-	Número de alterações nucleares individuais e total em células L929 binucleadas após exposição à diferentes concentrações do extrato aquoso foliar de <i>M. tenuiflora</i> mediante o ensaio de CBMN.	42

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AMES	Ensaio de Reversão de Mutação em <i>Salmonella Typhimurium</i>
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BN	Brotos Nucleares
CBMN	Ensaio de Micronúcleo com Bloqueio de Citocinese
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CHL/IU	Células pulmonares de hamster chinês
CHO	Ovário de hamster Chinês
CN	Controle Negativo
CP	Controle Positivo
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle Medium
DMSO	Dimetilsulfóxido
DMT	Dimetiltryptamina
EMA	European Medicines Agency; Agência Europeia de Medicamentos
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
FDA	Food and Drug Administration; Administração de Alimentos e Medicamentos
HCN	Ácido Cianídrico
HTSA	Herbário do Trópico Semiárido
NCDI	Índice de Citotoxicidade por Divisão Celular
OMS	Organização Mundial da Saúde; World Health Organization

PIC	Práticas Integrativas e Complementares
PNPIC	Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares
PNPMF	Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos
RENAME	Relação Nacional de Medicamentos Essenciais
RENISUS	Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	16
2.	OBJETIVOS	18
2.1.	OBJETIVO GERAL	18
2.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	18
3.	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	19
3.1.	O USO DAS PLANTAS MEDICINAIS.....	19
3.2.	FAMÍLIA LEGUMINOSAE Juss. (FABACEAE L.)	22
3.3.	GÊNERO <i>Mimosa</i> L.: ASPECTOS BOTÂNICOS E ATIVIDADES BIOLÓGICAS	22
3.4.	ESPÉCIE <i>Mimosa tenuiflora</i> (Willd.) Poir.	24
3.5.	METABÓLITOS SECUNDÁRIOS	26
3.6.	AVALIAÇÃO DO POTENCIAL CITOGENOTÓXICO DE PLANTAS MEDICINAIS	31
4.	METODOLOGIA	36
4.1.	OBTENÇÃO DO MATERIAL VEGETAL DE <i>Mimosa tenuiflora</i>	36
4.2.	PROCESSAMENTO DO MATERIAL VEGETAL E OBTENÇÃO DO EXTRATO AQUOSO FOLIAR DE <i>Mimosa tenuiflora</i>	37
4.3.	CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA DO EXTRATO AQUOSO FOLIAR DE <i>Mimosa tenuiflora</i>	37

4.4.	AVALIAÇÃO DA CITOGENOTOXICIDADE DO EXTRATO AQUOSO FOLIAR DE <i>Mimosa tenuiflora</i>	39
4.4.1	Cultura e manutenção da linhagem celular	39
4.4.2	Ensaio do MTT	39
4.4.3	Ensaio do Micronúcleo com Bloqueio da Citocinese (CBMN)	40
4.5.	ANÁLISE ESTATÍSTICA	41
5.	RESULTADOS	41
5.1.	CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA	41
5.2.	ANÁLISE DA CITOTOXICIDADE	41
5.3.	ANÁLISE DA GENOTOXICIDADE	42
6.	DISCUSSÃO	43
7.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	46
	REFERÊNCIAS	47

1. INTRODUÇÃO

O uso das propriedades terapêuticas vegetais está intrinsecamente relacionado à origem e costumes das comunidades tradicionais desde a antiguidade; assim, grande parte do conhecimento farmacobotânico é derivado do saber empírico dessas populações (LEMOS; VIEIRA-SILVA, 2021).

As plantas medicinais são consideradas fontes naturais para a síntese de biomoléculas ativas (VAKELE; ODUN-AYA; REDDY, 2022), uma vez que produzem os metabólitos secundários (BEZERRA, 2008), os quais atuam na manutenção da vida celular vegetal (TISSIER et al., 2014). Por outro lado, a diversidade desses compostos ativos e suas interações sinérgicas e/ou antagônicas, conferem aos vegetais propriedades biológicas, como antioxidante, anti-inflamatória, antiviral, antibacteriana, antifúngica, entre outras, despertando o interesse farmacológico, industrial e agrônomo (BEZERRA, 2008; LIYANAARACHCHI et al., 2018; PEREIRA; CARDOSO, 2012).

Diversos estudos têm sido realizados para comprovar a potencialidade das plantas medicinais de diferentes ecossistemas (VASCONCELOS et al., 2007). Contudo, um aumento progressivo dos estudos de bioprospecção da vegetação do semiárido nordestino tem sido notado (ARAUJO et al., 2020). Dentre as plantas nativas do Nordeste Brasileiro, *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir, conhecida popularmente como jurema preta, tem sido explorada pelas suas propriedades terapêuticas, destacando-se a ação analgésica, cicatrizante, antioxidante, antimicrobiana, alucinógena, gastroprotetora (AMARIZ et al., 2022; RODRIGUES, 2018), além de ser usada no tratamento de lesões cutâneas e queimaduras (OLIVEIRA, 2011). Nesta região, além do uso medicinal, a jurema preta é utilizada como forragem na alimentação de bovinos, caprinos e ovinos, principalmente, na estação seca; entretanto, a ingestão de suas folhas já foi associada a malformações congênitas nestes animais, indicando um efeito teratogênico (PIMENTEL et al., 2007), o qual foi atrelado a presença de alcalóides na composição dessa planta (BEZERRA; PINHEIRO; LUCENA, 2021).

Trabalhos anteriores investigaram as ações tóxica e citogenotóxica dos extratos aquoso e etanólico foliar de *M. tenuiflora* mediante o bioensaio

com *Allium cepa* L. Dos Santos (2017) observou efeitos tóxicos para as concentrações de 0,5 mg/mL, 1,0 mg/mL, 1,5 mg/mL e 2,5 mg/mL do extrato aquoso, enquanto que atividades tóxicas e citotóxicas foram reveladas para as concentrações 1,0 mg/mL, 1,5 mg/mL e 2,5 mg/mL do extrato etanólico foliar (MIRANDA, 2018), as quais foram relacionadas aos fitoconstituintes presentes nos respectivos extratos.

Neste contexto, o uso popular da jurema preta suscita a preocupação de identificar sua efetividade terapêutica e suas possíveis reações adversas, estimulando estudos voltados ao seu potencial, eficiência e segurança de uso (GURIB-FAKIM, 2006; BEZERRA, 2008). Por essa razão, o Sistema Único de Saúde e órgãos de regulamentação internacionais como a Administração de Alimentos e Medicamentos (*Food and Drug Administration*; FDA) e Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico (*Organization for Economic Cooperation and Development*; OECD) determinam que diversos ensaios de toxicidade devem ser realizados tanto para validar a segurança do uso de fitoterápicos, como para identificar doses que possam, eventualmente, induzir efeitos adversos (FDA, 2016; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2016; OECD, 2016).

Dentre eles, destaca-se: o teste de citotoxicidade do brometo de 3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5- difeniltetrazólio (MTT), o qual avalia a viabilidade celular após à exposição a compostos químicos mediante a atividade da enzima mitocondrial desidrogenase succínica (ARAÚJO et al., 2015; HAYON et al., 2003); bem como o Ensaio de Micronúcleo com Bloqueio de Citocinese (*Cytokinesis-Block Micronucleus Assay*; CBMN), teste de genotoxicidade que identifica alterações nucleares em células binucleadas resultantes de perda e/ou quebra cromossômica (FENECH, 2000; 2007), sendo ambos recomendados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (ANVISA, 2004).

Diante do exposto, o presente trabalho visou a avaliação fitoquímica do extrato aquoso foliar de *M. tenuiflora*, bem como sugerir concentrações desse extrato vegetal para estudos pré-clínicos mediante a investigação do seu potencial citogenotóxico sobre a cultura de células de fibroblasto da linhagem L929.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

- Avaliar a constituição fitoquímica e o potencial citogenotóxico do extrato aquoso foliar de *Mimosa tenuiflora*.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estabelecer o perfil fitoquímico do extrato aquoso foliar de *M. tenuiflora*, de forma qualitativa, utilizando a cromatografia de camada delgada.
- Estimar a citotoxicidade de diferentes concentrações do extrato aquoso foliar de *M. tenuiflora* mediante o teste de viabilidade celular com brometo de 3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5- difeniltetrazólio (MTT) em células L929.
- Avaliar o potencial genotóxico de concentrações do extrato aquoso foliar de *M. tenuiflora*, previamente selecionadas pelo ensaio de MTT, mediante o ensaio do micronúcleo com bloqueio de citocinese (CBMN) em células L929.
- Definir concentrações seguras de uso em testes de atividades biológicas da espécie *M. tenuiflora*.

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1. O USO DE PLANTAS MEDICINAIS

As espécies vegetais têm sido utilizadas para fins terapêuticos pela humanidade desde a antiguidade (OMWENGA et al., 2015), devido aos compostos ativos presentes nestas plantas, os quais causam efeitos fisiológicos nos organismos, conferindo assim às propriedades medicinais (JAMSHIDI-KIA; LORIGOOINI; AMINI-KHOEI, 2018; PHILLIPSON, 2001).

O conhecimento empírico é considerado um tratamento culturalmente duradouro, uma vez que este é aprimorado e perpetuado ao longo das gerações. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), cerca de 80% da população mundial faz uso das plantas medicinais na atenção primária à saúde (DE LUCENA, 2019; FERREIRA, 2019; OMWENGA et al., 2015; SALMERÓN-MANZANO et al., 2020).

Em nível mundial, a maioria dos países apresenta tradições no uso das plantas medicinais, seja para alimentos, medicamentos e/ou cosméticos. Estima-se que o setor de ervas global atingirá US\$ 746,9 bilhões até o final de 2022, sendo os principais exportadores do mundo a Índia e a China (SINGH et al., 2022). No Brasil, o uso das plantas medicinais tem influência dos saberes indígenas, em conjunto aos conhecimentos europeus e africanos (REZENDE; COCCO, 2002). A utilização dessas plantas na medicina popular tem despertado o interesse científico, visto que os vegetais apresentam substâncias bioativas, as quais podem ser aplicadas na fabricação de medicamentos. É sabido que cerca de 50% dos medicamentos industrializados têm como base os recursos vegetais (CUNHA et al., 2016; SILVA, 2018; SILVA, 2001; VAN; WINK, 2017).

Apesar do Brasil apresentar uma grande biodiversidade, muitas espécies vegetais têm princípios ativos desconhecidos; apenas 8 %, das mais de 55.000 espécies catalogadas, foram estudadas em relação aos compostos bioativos (MAGALHÃES, 2019; TESSER; SOUSA; NASCIMENTO, 2018), a exemplo do alho (*Allium sativum* L.) e o alecrim-pimenta (*Lippia sidoides* Cham.), presentes na Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (RENISUS) (BRASIL, 2022).

Com isso, o Ministério da Saúde em apoio às Práticas Integrativas e Complementares (PIC), condutas terapêuticas baseadas no conhecimento empírico, fundou a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC), gerando a publicação da Portaria número 971/2006, no ano de 2006. A PNPIC lista os recursos terapêuticos que podem ser ofertados pelo Sistema Único de Saúde (SUS), com foco na atenção continuada, humanizada e integral à saúde (DE LUCENA, 2019; HABIMORAD et al., 2020; TESSER; SOUSA; NASCIMENTO, 2018).

Em junho do mesmo ano, através do Decreto Presidencial n.º 5.813, foi publicada a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (PNPMF), estabelecendo estratégias para o consumo racional e seguro das plantas medicinais e/ou fitoterápicos com o intuito de promover o uso sustentável da biodiversidade, o desenvolvimento da cadeia produtiva e da indústria nacional, envolvendo vários ministérios, a saber, Ministério do Meio Ambiente (MMA); Ministério da Ciência e Tecnologia (MCT); Ministério da Cultura (MinC); Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior (MDIC) e órgãos como a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e Fiocruz (SANTOS; CARVALHO, 2018).

Assim, a PNPMF constitui parte essencial das políticas públicas de saúde, meio ambiente, desenvolvimento econômico e social, atuando como elemento fundamental na promoção da qualidade de vida da população brasileira. No campo da toxicologia, busca criar e apoiar centros de pesquisas que estudem os efeitos adversos de plantas medicinais e fitoterápicos sobre os organismos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006).

Tais decretos publicados favoreceram a criação da Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde (RENISUS), divulgada em fevereiro de 2009. Esta relação consiste em uma lista com 71 espécies de diferentes famílias botânicas e sua finalidade é orientar pesquisas e estudos farmacogenéticos com plantas nativas dos biomas brasileiros (RENISUS, 2009), com potencial gerador de produtos atrativos ao SUS, visando a segurança e eficácia dos tratamentos (SILVA, 2018). Entre elas, pode-se citar: *Erythrina mulungu* (Mart. ex Benth.), o mulungu, espécie encontrada em todas as regiões do país e, popularmente, utilizada pela sua ação sedativa e hipotensiva (DE BONA et al., 2012); e *Plantago ovata* Forssk,

o psílio, indicada como possível desintegrante na formulação de comprimidos orodispersíveis (ABBAS et al., 2021).

Adicionalmente, a Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (RENAME) compreende os medicamentos indicados para o atendimento de doenças ou de agravos no âmbito do SUS e, até 2020, foram inclusos 12 fitoterápicos, a exemplo de alcachofra (*Cynara scolymus* L.); aroeira (*Schinus terebinthifolia* Raddi); babosa [*Aloe vera* (L.) Burm. F.]; cáscara-sagrada (*Rhamnus purshiana* DC.); espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek); guaco (*Mikania glomerata* Spreng.); garra-do-diabo (*Harpagophytum procumbens* DC. ex Meissn.); hortelã (*Mentha x piperita* L.); isoflavona de soja [*Glycine max* (L.) Merr.]; plantago (*Plantago ovata* Forssk.); salgueiro (*Salix alba* L.); e unha-de-gato [*Uncaria tomentosa* (Willd. ex Roem. & Schult.)] (RENAME, 2020).

Os fitoterápicos são usados pela medicina popular de diversas formas, como chás, infusões e xaropes, por exemplo. Algumas preparações são conhecidas pela população como "garrafada", que é composto de uma mistura de diferentes plantas e partes vegetais. O "lambedor" também é bastante conhecido e utilizado por estas comunidades, principalmente como expectorantes (AGRA et al., 2008).

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

3.2. FAMÍLIA LEGUMINOSAE Juss. (FABACEAE L.)

Leguminosae (Fabaceae), pertencente à ordem Fabales, é considerada a terceira maior família das Angiospermas. Atualmente, com base em trabalhos prévios e em análises filogenéticas utilizando marcadores moleculares cloroplastidiais *matK*, está subdividida em seis subfamílias: Duparquetioideae, Cercidoideae, Detarioideae, Dialioideae, Caesalpinioideae (com a antiga subfamília Mimosoidae incluída) e Papilionoideae, englobando cerca de 750 gêneros e aproximadamente 19.500 espécies (LPWG, 2013; 2017). Apresenta uma ampla distribuição mundial (CAVADA et al., 2020; LPWG, 2017) e, no Brasil, as leguminosas estão presentes em todos os domínios fitogeográficos, com maiores incidências no Cerrado, Amazônia, Mata Atlântica e Caatinga, nesta ordem (FLORA DO BRASIL, 2020).

Em relação às características morfológicas, os representantes da família apresentam-se de forma diversificada, incluindo árvores com madeira de lei, arbustos, ervas, liana/volúvel/trepadeira e subarbustos (FLORA DO BRASIL, 2020). Entre suas principais características estão as folhas compostas e alternas, apresentando estípulas e, às vezes, pulvino na base; fruto seco e deiscente ou indeiscente, em formato de vagem (OLIVEIRA, 2011).

É um grupo comumente conhecido pela sua importância econômica, devido ao fornecimento de produtos à indústria alimentícia, como o amendoim (*Arachis hypogaea*), soja (*Glycine max*), lentilha (*Lens culinaris*) e feijões (*Phaseolus* spp. e *Vigna* spp.), os quais se destacam por serem ricos em proteínas e micronutrientes, ou seja, com alto teor nutricional (VASCONCELOS et al., 2020). Adicionalmente, exibem relevante importância ecológica, auxiliando na melhoria de solos cultivados, atuando na fixação de nitrogênio, mediante a simbiose dos nódulos radiculares com bactérias pertencentes ao gênero *Rhizobium* (ANDREWS; ANDREWS, 2017).

3.3. GÊNERO *Mimosa* L.: ASPECTOS BOTÂNICOS E ATIVIDADES BIOLÓGICAS

O gênero *Mimosa* L. pertence ao clado Mimosoideae e é composto por mais de 540 representantes, os quais se distribuem na região neotropical,

havendo elevadas concentrações e endemismo no Paraguai, Argentina, Uruguai e México. No Brasil, há ocorrência de representantes em todo o território nacional (MEIRA et al., 2020; RIZWAN et al., 2022; SIMON et al., 2011). Morfologicamente, seus representantes apresentam frutos craspédio, lomento ou sacelo, enquanto que a ausência de glândulas apicais nas anteras distingue *Mimosa* de gêneros afins (DOURADO; CONCEIÇÃO; SANTOS-SILVA, 2013; SIMON et al., 2011).

Suas espécies apresentam importância econômica, ecológica e medicinal. São utilizadas na produção de madeira, lenha e carvão, além de ser utilizada para a recuperação de áreas degradadas (FRANCO et al., 1995). Quanto às propriedades biológicas, de uma forma geral, já foram descritas ação cicatrizante (KOKANE et al., 2008), antifúngica (KANG et.al., 2004), inseticida contra ovos de *Bemisia tabaci* (*gennadius*) (CAVALCANTE; MOREIRA; VASCONCELOS, 2006), entre outras, conforme um levantamento bibliográfico realizado para representantes do gênero *Mimosa* e listado na Tabela 1. Segundo Rizwan et al. (2022), tais atividades biológicas apresentadas pelas espécies pertencentes ao gênero em questão são proporcionadas pela ação de compostos bioativos, como flavonoides, esteroides, saponinas, alcaloides e taninos.

Por outro lado, as espécies *Mimosa ophthalmocentra* Mart. ex Benth. E *Mimosa tenuiflora* apresentaram atividade embrioletal, teratogênica e fetotóxica. (BEZERRA; PINHEIRO; LUCENA, 2021; PESSÔA, 2007). O efeito embrioletal e teratogênico de *M. ophthalmocentra* foi observado pelo aumento no índice de anomalias e/ou malformação fetal em ratas Wistar tratadas com ração contendo 10% de sementes da referida espécie (PESSÔA, 2007).

Tabela 1 - Atividades biológicas descritas para espécies do gênero *Mimosa* L. de acordo com a literatura.

Espécies	Estrutura vegetal	Atividade biológica	Referências
<i>M. tenuiflora</i>	Folhas e flores	Antiprotzoária	Bautista et al. (2011)
<i>M. pudica</i> L.	Raiz	Antifúngica	Kang et.al. (2004)
<i>M. calsalpinilolia</i> <i>Benth.</i>	Folhas	Inseticida	Cavalcante; Moreira; Vasconcelos (2006)

Espécies	Estrutura vegetal	Atividade biológica	Referências
<i>M. ophtalmocentra</i> <i>Mart. ex Benth.</i>	Parte aérea	Antioxidante	David et al. (2007)
<i>M. pudica</i> L.	Raiz	Cicatrizante	Kokane et al. (2008)
<i>M. tenuiflora</i>	Folhas	Antioxidante	Franco; Costa; Pavão (2018)
<i>M. paraibana</i> Barneby	Parte aérea	Antioxidante	Nunes et al. (2008)
<i>M. tenuiflora</i>	Folha	Antinociceptiva	Oliveira (2011)
<i>M. tenuiflora</i>	Casca	Antimicrobiana	Bezerra et al. (2011)

3.4. ESPÉCIE *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir.

Mimosa tenuiflora (Willd.) Poir., conhecida popularmente no Brasil como jurema preta, ocorre nos domínios fitogeográficos do Cerrado e da Caatinga (FLORA DO BRASIL, 2020), sendo neste último comumente encontrada, uma vez que se caracteriza por apresentar resistência à seca e por colonizar facilmente os ambientes degradados e/ou erodidos dessa região semiárida (ARAÚJO; LEITE; PAES, 2004; BAKKE et al., 2007). Assim, apresenta uma ampla distribuição no nordeste brasileiro, compreendendo os Estados de Alagoas, Bahia, Ceará, Maranhão, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Rio Grande do Norte e Sergipe, enquanto que na região Sudeste, encontra-se restrita ao Estado de Minas Gerais (FLORA DO BRASIL, 2020).

Este táxon apresenta porte arbustivo, caule espinhoso, folhas compostas bipinadas (Figura 1) e flores esbranquiçadas. Seus frutos são do tipo vagem deiscente, cujo tamanho varia entre 2,5 a 5,0 mm de comprimento (AMARIZ et al., 2022; FERREIRA; EVANGELISTA, 2021; HERNANDEZ et al., 2021; MEIRA et al., 2020).



Figura 1: Espécie *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir. A) Arbusto; B) Folhas, flores e caule espinhoso. Fonte: <http://legacy.tropicos.org/ImageSearch.aspx> Autor: O. M. Montiel.

A jurema-preta apresenta grande importância ecológica atuando na restauração de áreas degradadas devido ao seu rápido crescimento e capacidade de rebrota (MAIA-SILVA et al., 2012; ROQUE; LOIOLA, 2013). Adicionalmente, destaca-se como forrageira no semiárido nordestino, sendo utilizado na dieta animal devido à persistência da sua folhagem durante o período de seca (PIMENTEL et al., 2007). Vale ressaltar que essa planta tem seu estágio de brotação no início do período chuvoso no Nordeste, combinando com o período de reprodução das cabras (PIMENTEL et al., 2007).

Entretanto, na literatura, há relatos de casos de malformações congênitas em bovinos, caprinos e ovinos após a ingestão dessa planta pelas fêmeas prenhas (DANTAS et al., 2010; PIMENTEL et al., 2007; SANTOS; DANTAS; RIET-CORREA, 2012), evidenciando um potencial embriotóxico, fetotóxico e abortivo. Tais malformações foram relacionadas à presença de alcalóides nas folhas desse vegetal (BEZERRA; PINHEIRO; LUCENA, 2021).

Considerando os constituintes químicos presentes em *M. tenuiflora*, este vegetal é empregado na cultura popular e na medicina tradicional. Em rituais indígenas da região Nordeste e de religiões afro-brasileiras, por exemplo, as cascas do caule são utilizadas na fabricação do “vinho jurema”, uma bebida alucinógena cujo efeito foi associado à presença do alcalóide indólico dimetiltriptamina (DMT) (AMARIZ et al., 2022).

Para fins medicinais, o uso do caule e da raiz de *M. tenuiflora* é destacado, devido aos metabólitos secundários presentes nessas partes do vegetal (AGRA et al., 2008; CORDEIRO; FÉLIX, 2014; GOMES; BANDEIRA, 2012; PEREIRA JÚNIOR et al., 2014; RIBEIRO et al., 2014). Uma análise fitoquímica identificou 33 compostos químicos nas estruturas vegetais da jurema-preta, a exemplo de saponinas, triterpenoides, esteroides, alcaloides indólicos e flavonoides, os quais foram associados às propriedades antioxidantes, cicatrizantes e antimicrobianas descritas para a referida planta (BEZERRA; PINHEIRO; LUCENA, 2021).

Contudo, as folhas de *M. tenuiflora* são aplicadas, principalmente, na forma de banhos e lavagens contra úlceras externas (AGRA et al., 2008; AGRA; FREITAS; BARBOSA-FILHO, 2007), além de serem referidas na literatura para alívio de dentalgia (uso tópico) (ALBUQUERQUE; ANDRADE, 2002), no tratamento de queimaduras, acne e problemas de pele (BEZERRA et al., 2011; SILVEIRA; MAIA; COELHO, 2012).

Encontra-se, na base de dados nacional do Instituto Nacional da Propriedade Industrial (INPI) (<https://busca.inpi.gov.br/pePI/>), o pedido de patente de número BR 10 2017 013991 3 A2, depositada em 28/06/2017 pela Universidade Estadual da Paraíba, referente a um biocoagulante a base de extrato de *M. tenuiflora*. Esse biocoagulante foi desenvolvido a partir do extrato da casca do caule, com o intuito de ser um tratamento alternativo aos coagulantes inorgânicos.

3.5. METABÓLITOS SECUNDÁRIOS

Metabólitos são definidos como compostos orgânicos produzidos para manutenção da vida celular vegetal, sendo divididos em duas classes, metabólitos primários e metabólitos secundários. Os metabólitos primários, a exemplo de açúcares, lipídios e proteínas, são aqueles relacionados às vias metabólicas de manutenção vegetal, como respiração celular, fotossíntese, armazenamento de energia e biossíntese de proteínas (TISSIER et al., 2014).

Por outro lado, os metabólitos secundários estão relacionados às interações com o ambiente, auxiliando na defesa contra estresses bióticos e abióticos (ALAMGIR, 2018; TISSIER et al., 2014). Suas ações têm despertado interesse tanto pelas atividades biológicas, oriundas dos mecanismos envolvidos na resposta dos vegetais aos estímulos do ambiente, quanto pelo uso na farmacologia e importância comercial na área alimentar e agrônômica, por exemplo (PEREIRA; CARDOSO, 2012).

De acordo com a natureza química e estrutural, os metabólitos secundários são classificados em terpenoides ou terpenos (como os glicosídeos, carotenóides e esteróides vegetais), compostos nitrogenados (como alcalóides e glucosinolatos) e os compostos fenólicos (como ácidos fenólicos, cumarinas, lignanas, estilbenos, flavonóides, taninos e lignina) (ALAMGIR, 2018; TAIZ; ZEIGER, 2006; TISSIER et al., 2014). Os terpenoides ou terpenos apresentam grandes efeitos benéficos (CHRISTIANSON, 2017), são constituídos por unidades de isopentenilpirofosfato (IPP-C5) e, conforme o número de unidades de carbono (C), podem ser classificados em diferentes subgrupos: os monoterpenos (C_{10}); sesquiterpenos (C_{15}); diterpenos (C_{20}); sesterterpenos (C_{25}); triterpenos (C_{30}), como as saponinas; tetraterpenos (C_{40}), com destaque para os carotenos e xantofilas; e politerpenos (mais de 40 carbonos) (SULSEN et al., 2013; VIZZOTTO; KROLOW; WEBER, 2010).

Os monoterpenos e sesquiterpenos exercem a função de atrair polinizadores e repelir insetos na defesa das plantas, sendo compostos encontrados nos óleos essenciais. No grupo dos diterpenos, encontra-se a gibberalina, importante hormônio que atua no crescimento e desenvolvimento vegetal, além de ser utilizado na armazenagem de produtos, como repelentes e inseticidas. Por sua vez, os tetraterpenos destaca-se pela presença dos carotenos que são importantes antioxidantes e dissipadores de radicais livres (SHARIFI-RAD et al., 2017; SINGH; PANDEY, 2018; VIZZOTTO; KROLOW; WEBER, 2010).

Compostos nitrogenados são um grupo bem diversificado abrangendo os alcaloides, betalainas, xantinas, glucosinolato, glicosídeos cianogênicos e aminoácidos não proteicos, cujas formações ocorrem a partir de aminoácidos aromáticos e alifáticos (ALAMGIR, 2018).

Os alcalóides são moléculas orgânicas nitrogenadas que possuem pelo menos um átomo de nitrogênio em seu anel (ALAMGIR, 2018; PAGARE et al., 2015; VIZZOTTO; KROLOW; WEBER, 2010). Com base em seu precursor biossintético e sistema heterocíclico, os compostos foram classificados em diferentes grupos: alcalóides de piridina, pirrolidina, tropane, indolizidina, quinolina, isoquinolina, alcalóides fenantreno, fenetilamina, indol e purina (HIMANSHU et al., 2020). São conhecidos por suas diversas propriedades terapêuticas como anticâncer, antimicrobiana anti-inflamatória, antiviral e analgésica (JIANG et al., 2016; QUINTANA et al., 2020). Assim, são considerados fontes para a produção farmacológica e fonte de alimentos funcionais, a exemplo da cafeína e nicotina (KISHIMOTO et al., 2016; ROBERTS et al., 2010). A cafeína é uma xantina sintetizada a partir de uma base nitrogenada (VIZZOTTO; KROLOW; WEBER, 2010).

Por outro lado, os glicosídeos cianogênicos consistem em uma cadeia de carbono derivada de cinco aminoácidos proteicos (DE SOUZA et al., 2019; STANGARLIN et al., 2011), sendo eles o β -glicosídeos de α -hidroxinitrilas, os quais são caracterizados por liberar cianeto de hidrogênio quando hidrolisados por β -glicosidases e α -hidroxinitrilases. Podem estar envolvidos no transporte e rotatividade de nitrogênio, e no desenvolvimento das plantas bem como associados à defesa da planta contra patógenos e herbivoria, mediante ativação das β -glucosidases (CUNY et al., 2019).

Os compostos fenólicos constituem um grupo de moléculas orgânicas bem diversificado (MUS et al., 2016). Caracterizados por apresentar um anel aromático, com um ou mais agrupamento hidroxila (VIZZOTTO; KROLOW; WEBER, 2010), são classificados como fenólicos simples, flavonoides (incluindo os grupos: flavonas, flavanonas, flavonóis, isoflavonoides e antocianidinas), taninos, cumarinas, quinonas, ligninas, ácidos fenólicos, hidroxicinamatos e estibenos. (MEYER et al., 2013; MUS et al., 2016).

Entre os compostos fenólicos, destaca-se o grupo dos flavonoides como um dos mais abundantes entre os vegetais. Estão relacionados nas plantas à ação antioxidante, proteção contra a radiação UV, na defesa contra patógenos, coloração das flores e auxiliam na atração de animais polinizadores. Na saúde humana, seu consumo está relacionado a diversos

benefícios, como antitumoral, antialérgico, anti-inflamatório, antimicrobiano e antioxidante (SHAHIDI; AMBIGAIPALAN, 2015).

O estágio de maturação da planta é um dos fatores que interferem na produção de metabólitos, já que tecidos mais jovens tendem a possuir maior taxa biossintética de metabólitos. Em *Arnica montana* L., ocorre uma elevada produção de derivados da helenalina enquanto plantas jovens e, semanas depois do surgimento das folhas, os níveis caem para próximo de zero. Outro fator é a disponibilidade hídrica. Sabe-se que a constância de chuvas pode ocasionar a perda de substâncias hidrossolúveis por lixiviação e que períodos curtos de seca podem elevar a produção de alguns metabólitos (GOBBO-NETO; LOPES, 2007).

Além disso, alguns metabólitos podem apresentar características diferenciadas, como os compostos fenólicos que são encontrados em substâncias alelopáticas. Essas substâncias, quando liberadas pela planta no meio, impedem o crescimento de outros vegetais (GHIMIRE et al., 2019). O sorgo é um exemplo de vegetal que produz substâncias alelopáticas, produzindo o sorgoleone, aleloquímico que reduz o crescimento de ervas daninhas (TIBUGARI et al., 2019).

Outros compostos fenólicos, os taninos são encontrados em diferentes partes da planta (PAES et al., 2006) e conferem proteção às plantas contra a herbivoria (NEWSOME; LI; VAN BREEMEN, 2016). Podem atuar na inibição da peroxidação lipídica e auxiliar na eliminação de radicais como o superóxido, hidroxila e peroxila, compostos importantes no estado pró-oxidante celular, evitando danos oxidativos no DNA (SHAHIDI; AMBIGAIPALAN, 2015). As antraquinonas são compostos fenólicos utilizados na indústria farmacêutica por possuírem atividades laxativas, antifúngicas e antibacterianas (MALIK et al, 2016).

As antocianinas são representantes do grupo dos flavonoides e atuam como atrativos para agentes polinizadores e dispersores (KUMAR; PANDEY, 2013). Por sua vez, as cumarinas são utilizadas na indústria alimentar como aromatizante (SPROLL et al., 2008) e a lignina é um dos constituintes da parede celular vegetal e confere resistência estrutural às plantas (MACEDA et al., 2021).

Além dos efeitos benéficos já abordados, os metabólitos também podem apresentar efeito tóxico. Por exemplo, os glicosídeos cardioativos podem ocasionar paralisia do coração na fase de sístole, quando utilizado em altas concentrações; enquanto que, quando utilizado em baixa concentração, é empregado no controle de problemas relacionados ao baixo débito cardíaco (VIZZOTTO; KROLOW; WEBER, 2010; DE REZENDE et al, 2016).

Por sua vez, os glicosídeos cianogênicos são capazes de formar gás cianeto de hidrogênio ou ácido cianídrico (HCN), quando hidrolisados. O HCN é um composto de ação tóxica que interfere na cadeia de transporte de elétrons respiratórios, sendo considerado um dos venenos de ação mais rápida em mamíferos (DE SOUZA et al, 2019; STANGARLIN et al., 2011).

Para *M. tenuiflora*, já foi relatado o isolamento e identificação dos alcaloides: N,N-dimethyltryptamine (ROSSI et al., 2019), 2-methyl-tetrahydro- β -carboline (GARDNER et al., 2014), N-methyltryptamine (GARDNER et al., 2014); saponinas: Mimonosides A, B e C (ANTON et al., 1993; JIANG et al., 1991a; JIANG et al., 1991b); flavonoides: 6-demethoxycapillarisin, Tenuiflorin B e C (LEON et al., 2004), Sakuranetin (CRUZ et al., 2016) e os terpenos: 8,15-labdanediol, ent-8(17)-labden-15-ol (FUKUYAMA et al., 1999), em extratos foliares, da raiz e casca da planta (Tabela 2).

Tabela 2 - Compostos químicos e suas respectivas classes presentes em diferentes partes vegetais da espécie *Mimosa tenuiflora*.

Classe	Composto químico	Parte da planta	Referência
Alcaloide	N,N-dimethyltryptamine	raiz	Rossi et al. (2019)
	Yuremamine	casca	Vepsalainen et al. (2005)
	2-methyl-tetrahydro- β -carboline	folhas e sementes	Gardner et al. (2014)
	N-methyltryptamine	folhas e sementes	Gardner et al. (2014)
	Mimonosides A	casca	Anton et al. (1993)
	Mimonosides B	casca	Anton et al. (1993)

Saponinas	Mimonosides C	casca	Anton et al. (1993)
	Campesterol-3-O- β -Dgluco pyranosyl	casca	Anton et al. (1993)
	Stigmasterol-3-O- β -Dgluco pyranosyl	casca	Anton et al. (1993)
	β -Sitosterol-3-O- β -Dglucop yranosyl	casca	Anton et al. (1993)
Flavonoides	6-demethoxy-4'- -Omethylcapilarisine	folhas	Leon et al. (2004)
	6-demethoxycapillarisin	folhas	Leon et al. (2004)
	Tenuiflorin A	folhas	Leon et al. (2004)
	Tenuiflorin B	folhas	Leon et al. (2004)
	Tenuiflorin C	folhas	Leon et al. (2004)
Terpenos	8,15-labdanediol	folhas	Fukuyama et al. (1999)
	ent-8(17)-labden-15-ol	folhas	Fukuyama et al. (1999)

3.6. AVALIAÇÃO DO POTENCIAL CITOGENOTÓXICO DE PLANTAS MEDICINAIS

Dado o aumento contínuo da utilização de espécies vegetais para fins medicinais, um aumento progressivo dos estudos de bioprospecção da vegetação do semiárido nordestino tem sido observado (ARAUJO *et al.*, 2020). Entretanto, apesar do uso popular significativo de produtos vegetais como agentes terapêuticos, muitas informações farmacobotânicas ainda são desconhecidas, gerando incertezas sobre sua efetividade medicinal e possíveis reações adversas.

As plantas medicinais são constituídas por uma mistura complexa de compostos biologicamente ativos, a qual pode conferir propriedades biológicas a esses vegetais como atividades antioxidantes, anti-inflamatórios,

antimutagênicas, antimicrobianas, entre outras, sendo assim, benéficas à saúde humana (ALIYU et al., 2009; DAS; JAGANNATH; DINDA, 2012; GOWRI; CHINNASWAMY, 2011).

Por outro lado, determinados metabólitos produzidos pelas plantas podem, eventualmente, exibir propriedades tóxicas, revelando-se como citotóxico, genotóxico, mutagênico e/ou carcinogênico. Tais danos podem afetar processos como a replicação e transcrição de genes e gerar alterações cromossômicas, levando ao câncer e processos de morte celular (PING et al., 2012).

Dessa forma, considerando os efeitos adversos dos fitoconstituintes e suas interações, agências governamentais têm exigido a realização de prévia de testes de segurança para o uso das plantas medicinais, incluindo testes toxicológicos *in vivo* e *in vitro*, os quais seguem protocolos internacionais recomendados pela FDA (*Food and Drug Administration*; Administração de Alimentos e Medicamentos) (FDA, 2010), EMA (*European Medicines Agency*; Agência Europeia de Medicamentos) (EMA, 2013) e OECD (*Organization for Economic Cooperation and Development*; Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico) (OECD, 2016). No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) é responsável pelas diretrizes para os testes de avaliação da segurança, bem como qualidade e eficácia dos possíveis fitoterápicos (ANVISA, 2014).

O uso de cultura de células *in vitro* tem sido indicado pelas agências regulamentadoras em investigações toxicológicas para o desenvolvimento de compostos medicinais, o que resultaria em uma redução do grande número de modelos animais necessários em testes de toxicidade *in vivo* (MACGAW; ELGORASHI; ELOFF, 2014; MOURA et al., 2012). Nos testes *in vitro*, qualquer substância é analisada com facilidade, rapidez, segurança e boa correlação com os resultados *in vivo*, havendo um controle das condições experimentais e alta reprodutibilidade das condições dos testes e seus respectivos resultados (ARAÚJO et al., 2015). Em adição, a disponibilidade de banco de células provenientes de diferentes organismos aumenta o acesso e o uso de modelos *in vitro*, tornando-os uma importante alternativa para as avaliações de toxicidade (CELIK, 2012; CERQUEIRA, 2008; DOS REIS; DALMOLIN; DALLEGRAVE, 2017).

Diferentes testes podem ser utilizados na investigação do modo de ação e dos efeitos dos princípios ativos das plantas medicinais nas células e em seu material genético. O ensaio de citotoxicidade é um dos primeiros passos recomendados para a avaliação da toxicidade das substâncias derivadas de extratos vegetais para fins farmacêuticos ou cosméticos (LI; ZHOU; XU, 2015; MACGAW; ELGORASHI; ELOFF, 2014). Eles avaliam o potencial de um composto candidato, produzir danos na função de organelas ou estruturas vitais para as células, como mitocôndrias e membranas plasmáticas, e/ou induzir interferência no ciclo mitótico. Os testes de citotoxicidade são utilizados também para definir concentrações a serem usadas em testes *in vitro* posteriores (ARAÚJO et al., 2015; EMA 2013; FDA 2010).

Para garantir a seguridade do uso das plantas medicinais é essencial avaliar seu potencial tóxico. Para essa avaliação, uma gama de métodos, como o ensaio de reversão de mutação em *Salmonella typhimurium* (AMES) (MORTELMANS; ZEIGER, 2000), o bioensaio *A. cepa* (BAGATINI et al., 2007) e Teste do micronúcleo com bloqueio da citocinese (FENECH, 2000) são utilizados (SPONCHIADO, 2016).

Entre os ensaios citotóxicos, destaca-se o teste do brometo de 3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5- difeniltetrazólio (MTT), descrito por Mosmann (1983) e recomendado pela ISO 10993-5-2009 (MILLER et al. 2017). É um ensaio rápido, tecnicamente acessível, semi-automatizado, preciso e capaz de alto rendimento amostral (HAYON et al., 2003). Baseia-se na atividade da enzima mitocondrial desidrogenase succínica; em células viáveis, essa enzima cliva o MTT produzindo os cristais de formazan, os quais são insolúveis e apresentam coloração violeta. Por outro lado, em células não viáveis, o MTT não é clivado e, conseqüentemente, não há formação dos cristais de formazan, resultando em uma suspensão celular com coloração translúcida e/ou amarelada (ARAÚJO et al., 2015; HAYON et al., 2003). Assim, a porcentagem da viabilidade celular é mensurada mediante leitura da absorbância em espectrofotômetro. Quanto mais escura a suspensão celular, maior o número de células viáveis e metabolicamente ativas (ARAÚJO et al., 2015).

Diferentes linhagens celulares são recomendadas para a validação dos ensaios citotóxicos por distintos protocolos. As linhagens BALB / c 3T3

(fibroblastos de camundongo), MRC-5 (pulmão de feto humano), WI-38 (pulmão de feto humano), Vero (rim de macaco), V79 (fibroblasto de pulmão de hamster), BHK-21 (rim do Hamster sírio) e L929 (fibroblastos de camundongo) são indicadas pelo ISO 10993-5-2009, enquanto que os linfócitos de sangue periférico de mamíferos, culturas primárias humanas, CHO (ovário de hamster Chinês), V79, CHL/IU (Células pulmonares de hamster chinês), L5178Y (linfoma de camundongo) e TK6 (linfoblastoma humano) são recomendadas por OECD TG 473 e 487. Entre as células citadas, destaca-se a linhagem L929 de fibroblasto de camundongo, considerada uma das primeiras linhagens celulares estabelecidas em cultura contínua (DROZD et al., 2019). É uma linhagem derivada do tecido aureolar subcutâneo e adiposo de camundongos machos (C3H/Na) de 100 dias, cuja cultura foi estabelecida por WR Earle em 1940 (BCRJ-0188, 2020).

Diferentes trabalhos têm reportado as propriedades tóxicas de extratos vegetais e de seus derivados utilizados na medicina popular, incluindo o potencial citotóxico de plantas do bioma Caatinga mediante ensaio de MTT. Extratos aquosos foliares delipidados e não delipidados de *Bauhinia cheilantha* (Bong.) Steud., não foram citotóxicos para as concentrações com atividade antioxidante comprovadas em células L929, sugerindo potencial como fonte natural de recurso terapêutico (OLIVEIRA, 2020).

Por sua vez, o extrato aquoso da casca do caule de *Zizyphus joazeiro* Mart. (juazeiro), cuja atividade anti-helmíntica foi comprovada, não se mostrou citotóxico para a linhagem celular Vero (IC_{50} de 0,75 mg/mL). Contudo, um efeito citotóxico dose-dependente foi observado nas concentrações mais altas do extrato (0,8 a 2,7 mg/mL) e para as frações de saponinas (IC_{50} de 0,20 mg/mL), sugerindo as saponinas como responsáveis pelo efeito citotóxico de *Z. joazeiro* (GOMES et al., 2016).

Outros ensaios recomendados para a avaliação de segurança das substâncias são os testes de genotoxicidade, os quais são responsáveis pela medição de danos ao DNA (CORVI; MADIA, 2017). Dentre eles, pode-se citar o ensaio do micronúcleo (MN), preconizado pela ANVISA (ANVISA, 2004) e por várias agências reguladoras internacionais, como o *Guidance on Genotoxic Testing and Data Interpretation for Pharmaceuticals Intended for Human Use* (ICH) (CORDELLI; BIGNAMI; PACCHIEROTTI, 2021).

Uma das variantes do ensaio do MN, o Teste do Micronúcleo com Bloqueio de Citocinese (*Cytokinesis-Block Micronucleus* - CBMN) é um método internacionalmente reconhecido para medir a instabilidade cromossômica, bem como a citostase e citotoxicidade, frente ao tratamento com agentes genotóxicos (FENECH, 2007; 2020; ZAGUIA et al., 2020). O ensaio investiga a presença de erros de replicação em células binucleadas, após um ciclo celular, quando expostas a substâncias de interesse (FENECH, 2007). Neste teste, após a exposição de 24 h das células ao tratamento, haverá a adição do inibidor de citocinese, Citocalasina B, que bloqueará a polimerização das fibras de actina, impossibilitando a citocinese no final da divisão celular (OECD, 2016). A análise das células binucleadas garante que as células em questão passaram por um ciclo mitótico após o início do contato com o material testado (FENECH, 2000; 2011; 2020).

Os micronúcleos (MN), Pontes Nucleoplásmicas (PN) e Brotos Nucleares (BN) são os bioindicadores de genotoxicidade e instabilidade cromossômica averiguados mediante o CBMN. O MN possui aparência de um núcleo pequeno ao lado do núcleo principal e são formados pela quebra cromossômica (fragmentos acêntricos) e/ou perda de um cromossomo inteiro, indicando ação clastogênica e aneugênica, respectivamente. A PN é formada por cromossomos dicêntricos, que não se rompem durante a anáfase, podendo estar relacionado a fusões de extremidades de telômeros, separação defeituosa de cromátides irmãs e falha no reparo de quebras de DNA (Figura 2) (FENECH, 2011; HAYASHI, 2016). Por outro lado, o BN é gerado durante o processo de eliminação de DNA amplificado, complexos de reparo de DNA e, provavelmente, dos cromossomos que excedem nas células aneuploides. Ele é conectado ao núcleo por uma haste nucleoplasmática que, se rompida, pode originar um MN (BONASSI et al., 2007; FENECH, 2011).

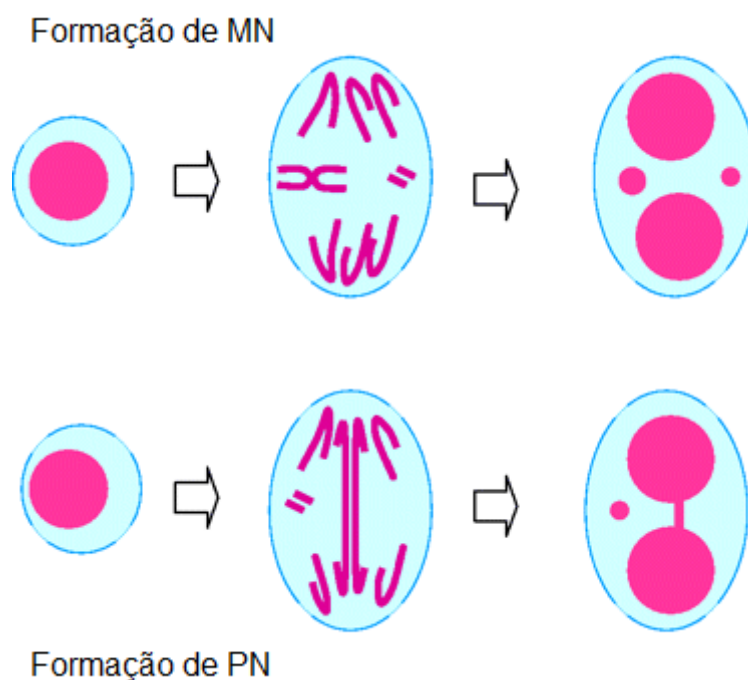


Figura 2: Formação de micronúcleo (MN) e pontes nucleoplasmáticas (PN) em células em divisão nuclear. Micronúcleos originam-se de cromossomos inteiros atrasados ou de fragmentos cromossômicos acêntricos. As PN originam-se de cromossomos dicêntricos que podem ser causados por reparo incorreto de quebras de DNA de fita dupla ou fusões de terminais de telômeros. Fonte: adaptado a partir de FENECH (2011).

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

Um estudo de genotoxicidade utilizando o teste de Ames e ensaio de MN em *Mus musculus* foi realizado para extrato etanólico de *M. tenuiflora* não sendo observado efeito genotóxico para as concentrações de 100 µg/mL e 50 µg/mL (teste de Ames) nem para as doses de 100 a 200 mg/kg (SILVA et al., 2013).

4. METODOLOGIA

4.1. OBTENÇÃO DO MATERIAL VEGETAL DE *Mimosa tenuiflora*

Folhas de *M. tenuiflora* foram coletadas no *Campus* de Ciências Agrárias (S 09°19'35.4"; W 040°32'38.9", município de Petrolina, Pernambuco, Brasil), pertencente à Universidade Federal do Vale do São Francisco (UNIVASF). Após a devida identificação da espécie, as exsiccatas foram preparadas e depositadas no Herbário do Trópico Semiárido - HTSA (Embrapa Semiárido, Petrolina-PE), sob tombamento nº 6901.

4.2. PROCESSAMENTO DO MATERIAL VEGETAL E OBTENÇÃO DO EXTRATO AQUOSO FOLIAR DE *Mimosa tenuiflora*

As folhas de *M. tenuiflora* foram higienizadas, secas em estufa a 70 °C por 24 h e, posteriormente, maceradas em um moinho de facas para a obtenção de um pó fino.

Para preparação do extrato bruto, cerca de 50 g deste pó foram adicionados em 500 mL de água destilada à temperatura ambiente, permanecendo em agitação mecânica por 24 h. Passado esse período, o extrato foi filtrado em funil de Buchner com placa de vidro sinterizada G3, sendo, em seguida, centrifugado a 6.000 rpm por 30 min a 4 °C. Posteriormente, o sobrenadante (extrato aquoso) foi filtrado, para a remoção de partículas em suspensão, sendo os resíduos descartados. O extrato aquoso total foi concentrado em evaporador rotativo a 45 °C e, posteriormente, seco em chapa aquecedora a 45 °C. Após secagem, as amostras do extrato foliar foram dissolvidas em água ultrapura, sendo estas submetidas ao banho-maria a 60 °C por 12 h, para a dissolução completa do extrato.

4.3. CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA DO EXTRATO AQUOSO FOLIAR DE *Mimosa tenuiflora*

Para identificar a presença qualitativa dos diferentes metabólitos secundários no extrato aquoso foliar de *M. tenuiflora*, foi utilizada a Cromatografia em Camada Delgada (CCD). De acordo com a sua polaridade, o extrato foi solubilizado e uma alíquota foi submetida às análises em placas pré-elaboradas de CCD (Silicycle TLC – Aluminum F254), contendo 5 cm de

altura cada. Foi delimitado 1 cm na borda inferior da placa e a amostra foi aplicada a partir dessa medida. As placas foram eluídas com diferentes sistemas de solventes (Tabela 3), seguindo a metodologia descrita por Wagner e Bladt (1996).

Tabela 3: Sistemas efluentes e reveladores utilizados para análise dos metabólitos secundários presentes no extrato aquoso foliar de *Mimosa tenuiflora* mediante CCD.

CLASSE DE METABÓLITOS	SISTEMA ELUENTE	SISTEMA REVELADOR
Alcaloides	Tolueno: acetato de etila: dietilamina (70:20:10)	Dragendorff
Antocianinas	Acetato de etila: ácido fórmico: ácido acético glacial: água (100:11:11:26)	Vanilina sulfúrica 5-10 min a 100°C
Antraquinonas	Éter de petróleo: acetato de etila: ácido fórmico (75:25:1)	H ₂ SO ₄ etanólico 10%
Compostos fenólicos	Acetato de etila: ácido fórmico: ácido acético glacial: água (100:11:11:26)	Folin ciocalteu
Cumarinas	Tolueno: éter (1:1 saturado com ácido acético 10%)	Vanilina sulfúrica 5-10 min a 100°C
Derivados antracênicos	Acetato de etila: metanol: água (100:13,5: 10)	KOH etanólico 10%
Ligninas	Clorofórmio:metanol: água (70:30:4)	Vanilina sulfúrica 5-10 min a 100°C
Mono, sesqui e diterpenos	Tolueno: acetato de etila (93:7)	Vanilina sulfúrica 5-10 min a 100°C
Naftoquinonas	Tolueno: ácido fórmico (99:1)	KOH etanólico 10%
Saponinas	Clorofórmio: ácido acético: metanol: água (64:32:12:8)	Vanilina sulfúrica 5-10 min a 100°C
Taninos condensados	Acetato de etila: ácido acético glacial: ácido fórmico: água (100:11:11:26)	Vanilina sulfúrica 5-10 min a 100°C
Taninos hidrolisáveis	n-butanol: acetona: tampão fosfato pH 5,0 (40:50:10) (Xavier,2001)	Sulfato ferroso amoniacal (1%)
Triterpenos e esteroides	Tolueno: clorofórmio: etanol (40:40:10)	Lieberman-Burchard 5-10 min a 110 °C
Xantinas	Acetato de etila: metanol: água (100:13,5:10)	Dragendorf

4.4. AVALIAÇÃO DA CITOGENOTOXICIDADE DO EXTRATO AQUOSO FOLIAR DE *Mimosa tenuiflora*

4.4.1. Cultura e manutenção da linhagem celular

Para avaliação do potencial citogenotóxico, a linhagem celular L929, oriundas de fibroblasto de murinho, foram cedidas pelo Banco de Células do Rio de Janeiro (BCRJ, Brasil). As células foram cultivadas em meio de cultura completo Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM), suplementados com Soro Bovino Fetal (SBF) (10%), antibiótico/antimicótico [penicilina (100 U/mL)/estreptomicina (100 µg/mL)/amphotericina B (0,25 µg/mL), a 37 °C com 5% de CO₂ atmosférico. Ao atingir cerca de 100% de confluência, as células foram submetidas ao teste de citotoxicidade do MTT (brometo de 3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5- difeniltetrazólio) e ao CBMN (Ensaio do Micronúcleo com Bloqueio de Citocinese).

4.4.2. Ensaio do MTT

A viabilidade celular foi determinada mediante o teste de MTT, seguindo o protocolo descrito por Mosmann (1983), com algumas modificações. Células L929 (2x10⁴ células/poço) foram semeadas em placas de Elisa com 96 poços, contendo meio de cultura DMEM (100 µL/poço) e incubadas a 37 °C em 5% de CO₂ atmosférico por 24 h. Em seguida, o extrato foliar aquoso de *M. tenuiflora* foi diluído em meio DMEM, filtrado (22 µm de diâmetro) e adicionado em cada poço, obtendo-se as concentrações finais de 3,12; 6,25; 12,5; 25; 50; 100; 200; 400; 800 e 1.600 µg/mL. Triton x-100 1% e meio de cultura DMEM foram usados como controle positivo (CP) e negativo (CN), respectivamente.

As placas foram incubadas a 37 °C em 5% de CO₂ atmosférico por 24 h e, após esse período de exposição, o volume de 20 µL da solução do MTT (5 mg/mL) (Nº CAS 298-931, Sigma) foi adicionado nos poços e as placas

foram novamente incubadas a 37 °C por 3 h. Posteriormente, o sobrenadante foi descartado e os cristais de formazan dissolvidos com 100 µL de DMSO (dimetilsulfóxido). As absorbâncias foram medidas em espectrofotômetro a 570 nm.

4.4.3. Ensaio do Micronúcleo com Bloqueio da Citocinese (CBMN)

A genotoxicidade do extrato aquoso foliar de *M. tenuiflora* foi avaliada pelo ensaio de CBMN, de acordo com Melegari et al. (2015), com algumas adaptações. Células L929 (1×10^5 células/poço) foram semeadas em placas com 24 poços, contendo meio DMEM completo e incubadas a 37 °C em 5 % de CO₂ atmosférico por 24 h. Decorrido o período de estabilização, as células foram expostas às concentrações do extrato aquoso foliar de *M. tenuiflora* (50, 100 e 200 µg/mL, as quais foram selecionadas baseadas no teste do MTT), ao MMS (metanossulfonato de metila, 2×10^{-2} M) como controle positivo (CP) e ao meio de cultura DMEM completo como controle negativo (CN). As placas foram incubadas a 37 °C em 5% de CO₂ atmosférico por 24 h.

Após a exposição aos tratamentos, o meio de cultura foi descartado e citocalasina B (14930-96-2, Sigma-Aldrich) diluída em meio DMEM (300 µg/mL) foi adicionada aos poços. Após 28 h de incubação, as células foram fixadas em solução fixadora metanol:ácido acético (9:1) e as lâminas foram preparadas pelo método de gotejamento, coradas com DAPI:Glicerol (1:1) e analisadas em microscópio de epifluorescência Leica DFC345 FX e software Leica LASX.

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

Em adição, o índice de citotoxicidade por divisão celular (NCDI) foi avaliado de acordo com a OECD #487 (2016), usando a fórmula $(NDCI) = [M1 + 2(M2) + 3(M3) + 4(M4)]/N$, onde M1-M4 correspondem ao número de células

viáveis com 1-4 núcleos, e N, o número total de células analisadas. A unidade experimental consiste na média de três réplicas técnicas por poço (500 células/lâmina), totalizando 1500 células/poço e 4500 células/tratamento.

4.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os experimentos foram realizados em triplicata. Para avaliação da cito- e genotoxicidade, a normalidade dos dados foi verificada pelo teste de Shapiro-Wilk, enquanto a homogeneidade foi testada pelos testes de ANOVA e de Levene. Após esta análise, o teste Kruskal-Wallis (não paramétrico) foi aplicado para avaliar a viabilidade celular e o CBMN, mediante o software Statistica 8.0 ($p < 0,05$).

5. RESULTADOS

5.1. CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA

A análise qualitativa de metabólitos secundários do extrato aquoso foliar de *M. tenuiflora* revelou presença fortemente positiva para antraquinonas, cumarinas, ligninas, taninos condensados, esteroides e outros triterpenos e xantinas. Por sua vez, as saponinas e outros compostos fenólicos estão presentes moderadamente.

5.2. ANÁLISE DA CITOTOXICIDADE

O ensaio de MTT revelou ausência de citotoxicidade para as concentrações de 3,12 µg/mL (100,24 %) a 200 µg/mL (79,98 %), quando comparadas ao CN (100%). Entretanto, as concentrações de 400 µg/mL (77,47 %), 800 µg/mL (44,96 %) e 1600 µg/mL (19,70%) demonstraram efeito citotóxico (viabilidade celular abaixo de 80 %), embora apenas a concentração de 1600 µg/mL tenha apresentado diferença estatística ($p < 0,05$) frente ao CN.

5.3. ANÁLISE DA GENOTOXICIDADE

O número médio de MN (micronúcleo; 11,00), BN (broto nuclear; 15,33) e PN (ponte nucleoplasmática; 0,33) revelou ausência de efeito genotóxico para a menor concentração testada (50 µg/mL), quando comparado ao CN (5,00 MN; 7,67 BN e 1,22 PN) ($p < 0,05$). Entretanto, as concentrações de 200 e 100 µg/mL mostraram genotoxicidade para o valor médio de MN [24,83 (100 µg/mL) e 48,83 (200 µg/mL)] e de BN [27,00 (100 µg/mL) e 60,33 (200 µg/mL)], quando comparados ao controle negativo ($p < 0,05$) (Figura 4). Em relação ao NCDI, o número médio de células bi- tri- e tetranucleares não revelou ação citotóxica significativa para as concentrações testadas, quando comparado ao controle negativo ($p < 0,05$) (Tabela 4), ratificando os dados obtidos pelo ensaio de MTT (Figura 3).

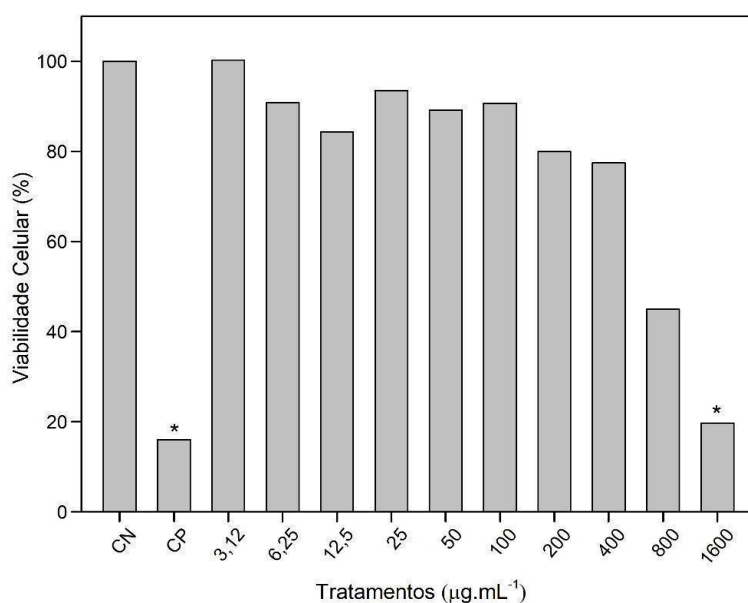


Figura 3. Viabilidade celular da linhagem L929 exposta a diferentes concentrações (3,12, 6,25, 12,5, 25, 50, 100, 200, 400, 800 e 1600 µg/mL) do extrato aquoso foliar de *M. tenuiflora* mediante o ensaio de MTT. Os valores correspondem à média da porcentagem de viabilidade celular. CN (Controle Negativo; meio de cultura DMEM); CP (Controle Positivo; Triton-X 100, 1%). *Porcentagem média da viabilidade celular estatisticamente diferente, quando comparadas com o CN pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$).

Tabela 4: Número de alterações nucleares individuais e total em células L929 binucleadas após exposição à diferentes concentrações do extrato aquoso foliar de *M. tenuiflora* mediante o ensaio de CBMN.

Tratamento (µg/mL)	Alterações (Média ± Desvio padrão)	
	Média (1000 células)	Média (500 células)

	MN	BN	PN	Total	NCDI
CN	5,00± 0,27	7,67± 0,98	1,22± 0,68	13,89± 1,59	1,51± 0,04
CP	51,83± 8,18b	36,50± 1,87b	3,44± 1,26a	91,78± 9,14b	1,53± 0,03a
200	48,83± 6,61b	60,33± 3,88b	0,44± 0,42a	109,61± 9,75b	1,49± 0,02 ^a
100	24,83 ± 2,49b	27,00 ± 5,49b	0,66± 0,27a	52,50 ± 7,67b	1,59± 0,05 ^a
50	11,00± 1,90a	15,33 ± 1,89a	0,33± 0,27a	26,67 ± 3,60a	1,59± 0,08a

Legenda: Os valores correspondem à média das alterações nucleares em 9.000 células/tratamento e seus respectivos desvios-padrão (DP). MN (Micronúcleos); BN (Brotos nucleares); PN (Pontes nucleoplasmáticas); CN (controle negativo; meio de cultura DMEM); CP [controle positivo; MMS (2×10^{-2} M)]; ^aMédia das alterações nucleares estatisticamente semelhante, quando comparadas com o controle negativo, pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$). ^bMédia das alterações nucleares estatisticamente diferentes, quando comparadas com o controle negativo, pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$).

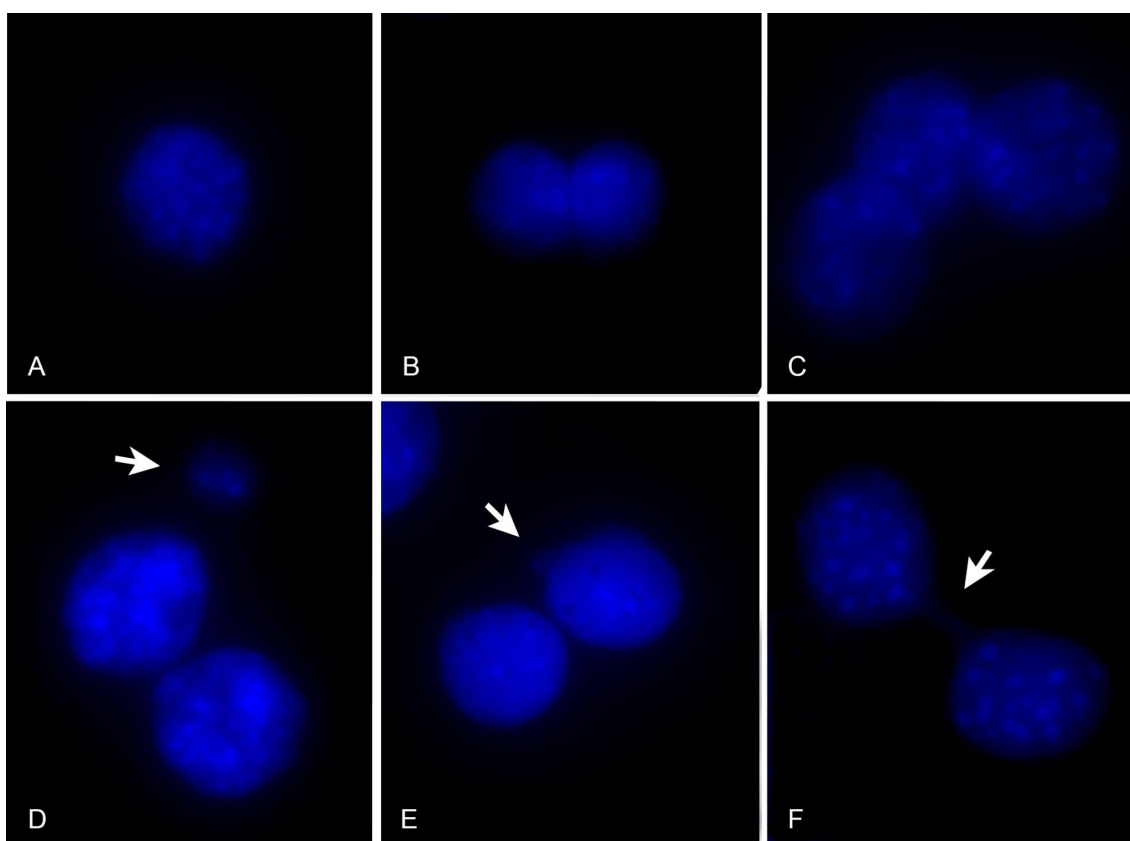


Figura 4. Células L929 expostas a diferentes concentrações do extrato foliar de *M. tenuiflora* (200; 100 e 50 µg/mL) através do ensaio CBMN. (A) Célula mononucleada; (B) Célula binucleada; (C) Célula trinucleada; (D) Célula binucleada com micronúcleo (seta); (E) Célula binucleada com broto nuclear (seta); (F) Célula binucleada ponte nucleoplasmática (seta).

6. DISCUSSÃO

Neste estudo, a análise fitoquímica qualitativa do extrato aquoso foliar de *M. tenuiflora*, bem como a investigação do seu potencial citogenotóxico frente a linhagem celular L929, sugerem que a jurema preta

pode ser uma fonte natural terapêutica, sendo o seu uso seguro estabelecido para concentrações menores de 50 ug/mL.

A avaliação fitoquímica do extrato em estudo revelou a presença de vários metabólitos secundários, principalmente de compostos fenólicos como antraquinonas, cumarinas, ligninas e taninos condensados, de triterpenos como os esteróides e de compostos nitrogenados como as xantinas. Entretanto, saponinas e outros compostos fenólicos também foram moderadamente presentes.

De uma forma geral, esta fitoconstituição corrobora com alguns dados disponíveis na literatura para outras partes vegetais de *M. tenuiflora*, bem como para outras espécies pertencentes ao gênero *Mimosa* L. Por exemplo, a presença de antraquinonas foi notada no extrato bruto da casca do caule de *M. tenuiflora* (NEVES, 2012), enquanto que saponinas e outros triterpenos foram descritos para o extrato metanólico da casca do caule desta espécie (JIANG et al., 1991). Por sua vez, taninos hidrolisados e condensados, várias classes de flavonoides, como flavonóis, flavanonas, flavononois e xantonas, além de esteroides livres e triterpenoides, foram visualizados no extrato etanólico foliar de *M. tenuiflora* (BEZERRA et al. 2011). Em se tratando de outros representantes do gênero, a presença de taninos, saponinas, alcaloides, terpenoides fenóis, glicosídeos, flavonoides e cumarinas foi descrita para o extrato metanólico foliar de *M. pudica* (GANDHIRAJA et al., 2009).

É sabido que a composição fitoquímica de extratos vegetais podem variar de acordo com o tipo de extração aplicada (CHAN et al., 2015). Por exemplo, o extrato etanólico apresenta facilidade de penetrar a membrana celular das plantas devido sua polaridade, extraíndo substâncias intracelulares de polaridade semelhante, a exemplo dos flavonoides, os quais são mais solúveis em solventes polares e diferenciam-se daqueles que não possuem tanta afinidade pelo etanol (TIWARI et al., 2011).

A presença desses fitoconstituintes e suas interações sinérgica e/ou antagônica influencia diretamente nas propriedades biológicas descritas para *M. tenuiflora*. Em termos terapêuticos, *M. tenuiflora* destaca-se pela ação analgésica, cicatrizante, antioxidante, antimicrobiana, alucinógena e gastroprotetora (AMARIZ et al., 2022; RODRIGUES, 2018), além de ser usada no tratamento de lesões cutâneas e queimaduras (OLIVEIRA, 2011).

As atividades anti-inflamatória, antioxidante, antimicrobiana e antifúngica da jurema preta já foram relacionadas a presença de compostos fenólicos, inclusive taninos; estes compostos se caracterizam, entre outros fatores, por possuírem alta capacidade de complexação com outras macromoléculas, agindo como camadas protetoras sobre tecidos epiteliais lesionados (ALMEIDA et al., 2005; MONTEIRO; ALBUQUERQUE; ARAÚJO, 2005). Esta atuação justifica a indicação da jurema preta na medicina tradicional para banhos e lavagens contra úlceras externas, queimaduras, acne e problemas de pele (MONTEIRO; ALBUQUERQUE; ARAÚJO, 2005).

Por outro lado, o potencial embriotóxico, fetotóxico e abortivo apresentado por *M. tenuiflora*, levando a malformações em bovinos, caprinos e ovinos, foram relacionadas a presença de alcalóides nas folhas desse vegetal (BEZERRA; PINHEIRO; LUCENA, 2021), os quais não foram identificados no presente estudo. Entretanto, alguns autores indicaram a inibição da síntese do DNA como o processo bioquímico inicial das malformações congênitas, bem como afirmaram que a taxa e o tipo de malformação poderiam se correlacionar com o grau e duração da interferência na síntese do DNA (SCOTT, RITTER; WILSON, 1971), mecanismos de ação isolada ou conjunta dos taninos, flavonóides e triterpenoides.

Em relação a citotoxicidade, o extrato aquoso foliar de *M. tenuiflora* apresentou diminuição na viabilidade celular (menor que 80 %) nas concentrações de 400, 800 e 1600 µg/mL, para linhagem celular testada. Este mesmo intervalo de concentrações do extrato foliar ácido de *M. candollei* também foi citotóxico frente as células L929 (MELO, 2022). Por sua vez, o extrato etanólico de *M. candollei* apresentou citotoxicidade apenas para a concentração de 1600 µg/mL. Alguns autores atribuem aos terpenos a ação de diminuir a concentração de cálcio intracelular, inibindo a proteína quinase C e, consequentemente, ocorre uma redução da proliferação celular (DE ANDRADE PAES et al., 2012; SHEREMET et al., 2012), atividade que poderia justificar a citotoxicidade das concentrações elevadas do extrato em avaliação.

Além dessa ação citotóxica, diterpenos, triterpenos, como as saponinas, flavonoides e ligninas já foram associados à inibição da topoisomerase II, o que pode levar a aderência cromossômica, devido a alterações em nível de condensação, bem como a erros de segregação

mitótica que resultam em perdas cromossômicas, promovendo uma ação genotóxica (ZHENG et al., 2010). Moreira (2016) atribuiu às antraquinonas um potencial genotóxico devido a capacidade de causar quebras nas fitas de DNA e danos durante a segregação cromossômica, enquanto que De Bona et al. (2012) associou aos taninos a capacidade de quebrar fitas simples de DNA. Considerando que esses metabólitos compõem o extrato aquoso foliar de *M. tenuiflora*, sugere-se que os mesmos possam ser responsáveis pela genotoxicidade das concentrações de 100 e 200 µg/mL notada no presente estudo.

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

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

- O extrato aquoso foliar de *Mimosa tenuiflora* apresenta como principais fitoconstituintes antraquinonas, cumarinas, ligninas, taninos condensados, esteroides e outros triterpenos e xantinas. Além das saponinas e outros compostos fenólicos.
- Ausência de citotoxicidade é notada para as concentrações entre 3,12 a 200 µg/mL do extrato aquoso foliar de *M. tenuiflora*
- A concentração de 50 µg/mL do extrato aquoso foliar de *M. tenuiflora* apresenta citogenotoxicidade para linhagem celular L929.
- O extrato aquoso foliar de *M. tenuiflora* apresenta potencial terapêutico e seus fitoconstituintes podem ser responsáveis pelas diferentes propriedades biológicas apresentadas por este recurso vegetal.

REFERÊNCIAS¹

- ABBAS, S.; SHERAZI, M.; KHAN, A.; ALYAMI, H. S.; LATIF, M.; QURESHI, Z. U. R.; ASAD, M. H. H. B. Investigation of Plantago ovata Husk as Pharmaceutical Excipient for Solid Dosage Form (Orodispersible Tablets). **BioMed Research International**, 2021.
- AGRA, M. D. F.; SILVA, K. N.; BASÍLIO, I. J. L. D.; FREITAS, P. F. D.; BARBOSA-FILHO, J. M. Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil. **Revista brasileira de farmacognosia**, v. 18, p. 472-508, 2008.
- AGRA, M. F.; FREITAS, P. F.; BARBOSA-FILHO, J. M. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 1, p. 114-140, 2007.
- ALAMGIR, A. N. M. **Therapeutic use of medicinal plants and their extracts: Volume 2: phytochemistry and bioactive compounds**. Springer, 2018.
- ALBUQUERQUE, U. P.; ANDRADE, L. H. C. Uso de recursos vegetais da caatinga: o caso do agreste do estado de Pernambuco (Nordeste do Brasil). **Interciencia**, v. 27, n. 7, p. 336-346, 2002.
- ALIYU, A. B.; IBRAHIM, M. A.; MUSA, A. M.; IBRAHIM, H.; ABDULKADIR, I. E.; OYEWALE, A. O. Evaluation of antioxidant activity of leave extract of *Bauhinia rufescens* Lam. (Caesalpiniaceae). **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 3, n. 8, p. 563-567, 2009.
- ALMEIDA, C. F. C. B. R.; SILVA, T. D. L.; AMORIM, E. L. C.; MAIA, M. D. S.; ALBUQUERQUE, U. P. Life strategy and chemical composition as predictors of the selection of medicinal plants from the caatinga (Northeast Brazil). **Journal of arid environments**, v. 62, n. 1, p. 127-142, 2005.
- AMARIZ, I. A. E.; PEREIRA, E. C. V.; ALENCAR FILHO, J. M. T. D.; SILVA, J. P. D.; SOUZA, N. A. C. D.; de OLIVEIRA, A. P.; ... PEREIRA, R. N. Chemical study of Mimosa tenuiflora barks. **Natural Product Research**, v. 36, n. 7, p. 1893-1897, 2022.
- ANDREWS, M.; ANDREWS, M. E. Specificity in legume-rhizobia symbioses. **International journal of molecular sciences**, v. 18, n. 4, p. 705, 2017.
- ANTON, R.; JIANG, Y.; WENIGER, B.; BECK, J. P.; RIVIER, L. Pharmacognosy of Mimosa tenuiflora (willd.) poiret. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 38, n. 2-3, p. 145-152, 1993.
- ANVISA, AGÊNCIA DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (Brasil). Resolução Da Diretoria Colegiada - RDC N° 26, de 13 de maio de 2014. Resolução RE 90, dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos e o registro e a notificação de produtos tradicionais fitoterápicos. Brasília, p. 2-5, 2014.

ANVISA, AGÊNCIA DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Guia para a realização de estudos de toxicidade pré-clínica de fitoterápicos. Resolução RE 90, p. 2–5, 2004.

ARAUJO, J. R. S.; NUNES, P. H. V.; SILVA, C. M.; MELO, S. D.; LIMA, M. O.; ARAÚJO, S. S.; VERAS, B. O. Antimicrobial Activity Of Essential Oils From Caatinga Plant Species. Antimicrobial Potential of Essential Oils. **New York: Nova Science Publishers**, v.1, p 93- 128, 2020.

ARAUJO, L. V. C. de; LEITE, J. A. N.; PAES, J. B. Estimativa da produção de biomassa de um povoamento de jurema-preta (*Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poiret. com cinco anos de idade. **Biomassa & Energia**, v. 1, n. 4, p. 347-352, 2004.

ARAUJO, S. D. S.; FERNANDES, T. C.; MARIN-MORALES, M. A.; BRASILEIROVIDAL, A. C.; BENKO-ISEPPON, A. M. Mutagenicity, genotoxicity and cytotoxicity assays of medicinal plants: first step for drug development. **Therapeutic Medicinal Plants: From Lab to the Market**, p. 130-153, 2015.

BAGATINI, M. D.; SILVA, A. C. F. D.; TEDESCO, S. B. Uso do sistema teste de *Allium cepa* como bioindicador de genotoxicidade de infusões de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.17, n.3, 2007.

BAKKE, I. A.; BAKKE, O. A.; ANDRADE, A. P.; SALCEDO, I. H. Forage yield and quality of a dense thorny and thornless" jurema-preta" stand. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, p. 341-347, 2007.

BAUTISTA, E.; CALZADA, F.; ORTEGA, A.; YÉPEZ-MULIA, L. Antiprotozoal activity of flavonoids isolated from *Mimosa tenuiflora* (Fabaceae-Mimosoideae). **Journal of the Mexican Chemical Society**, v. 55, n. 4, p. 251-253, 2011.

BCRJ - Banco de células do Rio de Janeiro. Caracterização das culturas celulares. Rio de Janeiro. Disponível em: <http://www.nce.ufrj.br/bcrj/Joomla_busca1.asp?bcrj=0188>. Acesso em 11. Abr. 2022.

BEZERRA, D. A. C. **Estudo Fitoquímico, Bromatológico e Microbiológico de *Mimosa tenuiflora* (Wild) Poiret e *Piptadenia stipulacea* (Benth) Ducke.** Dissertação de Mestrado na Pós-Graduação em Zootecnia - UFCG, Paraíba, 2008.

BEZERRA, D. A. C.; RODRIGUES, F. F. G.; DA COSTA, J. G. M.; PEREIRA, A. V.; DE SOUSA, E. O.; RODRIGUES, O. G. Abordagem fitoquímica, composição bromatológica e atividade antibacteriana de *Mimosa tenuiflora* (Wild) Poiret e *Piptadenia stipulacea* (Benth) Ducke. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 33, n. 1, p. 99-106, 2011.

BEZERRA, J. J. L.; PINHEIRO, A. A. V.; LUCENA, R. B. Phytochemistry and teratogenic potential of *Mimosa tenuiflora* (willd.) poir.(Fabaceae) in ruminants: A systematic review. **Toxicon**, v. 195, p. 78-85, 2021.

¹ De acordo com Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 6023.

BONASSI, S.; ZNAOR, A.; CEPPI, M.; LANDO, C.; CHANG, W. P.; HOLLAND, N.; FENECH, M. An increased micronucleus frequency in peripheral blood lymphocytes predicts the risk of cancer in humans. **Carcinogenesis**, 28(3), 625-631, 2007.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Plantas de Interesse ao SUS. Portal da saúde [online]. 2017. Acesso em 09. Ago. 2022.

CAVADA, B. S.; OSTERNE, V. J. S.; OLIVEIRA, M. V.; PINTO-JUNIOR, V. R.; SILVA, M. T. L.; BARI, A. U.; ... NASCIMENTO, K. S. Reviewing Mimosoideae lectins: A group of under explored legume lectins. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 154, p. 159-165, 2020.

CAVALCANTE, G. M.; MOREIRA, A. F. C.; VASCONCELOS, S. D. Potencialidade inseticida de extratos aquosos de essências florestais sobre mosca-branca. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, p. 9-14, 2006.

CELIK, T. A. Potential genotoxic and cytotoxic effects of plant extracts. **A Compendium of Essays on Alternative Therapy**, p. 233-250, 2012.

CERQUEIRA, N. Métodos alternativos ainda são poucos e não substituem totalmente o uso de animais. **Ciência e Cultura**, v. 60, n. 2, p. 47-49, 2008.

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

CHRISTIANSON, D. W. Structural and chemical biology of terpenoid cyclases. **Chemical reviews**, v. 117, n. 17, p. 11570-11648, 2017.

CORDEIRO, J. M. P.; FÉLIX, L. P. Botanical medical knowledge of native species of the Caatinga and spontaneous plants in the Agreste region of the state of Paraíba, Brazil. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 16, n. 3, p. 685-692, 2014.

CORDELLI, E.; BIGNAMI, M.; PACCHIEROTTI, F. Comet assay: a versatile but complex tool in genotoxicity testing. **Toxicology Research**, v. 10, n. 1, p. 68-78, 2021.

CORVI, R.; MADIA, F. In vitro genotoxicity testing—Can the performance be enhanced?. **Food and Chemical Toxicology**, v. 106, p. 600-608, 2017.

CRUZ, M. P.; ANDRADE, C. M.; SILVA, K. O.; DE SOUZA, E. P.; YATSUDA, R.; MARQUES, L. M.; CLEMENTE-NAPIMOGA, J. T. Antinociceptive and anti-inflammatory activities of the ethanolic extract, fractions and flavones isolated from *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir (Leguminosae). **PloS one**, v. 11, n. 3, p. e0150839, 2016.

CUNHA, A. L.; MOURA, K. S.; BARBOSA, J. C.; DOS SANTOS, A. F. Os metabólitos secundários e sua importância para o organismo. **Diversitas Journal**, [S. l.], v. 1, n. 2, p. 175–181, 2016.

DANTAS, A. F. M.; RIET-CORREA, F.; MEDEIROS, R. M.; GALIZA, G. J. N. D.; PIMENTEL, L. D. A.; ANJOS, B. L. D.; MOTA, R. A. Malformações congênitas em ruminantes no semiárido do Nordeste Brasileiro. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, p. 807-815, 2010.

DAS, S. N.; JAGANNATH, P. V.; DINDA, S. C. Evaluation of anti-inflammatory, anti-diabetic activity of Indian *Bauhinia vahlii* (stembark). **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 2, n. 3, p. S1382-S1387, 2012.

DAVID, J. P.; MEIRA, M.; DAVID, J. M.; BRANDÃO, H. N.; BRANCO, A.; AGRA, M. F.; BARBOSA, M. R. V.; QUEIROZ, L. P.; GIULIETTI, A. M. Radical scavenging, antioxidant and cytotoxic activity of Brazilian Caatinga plants. **Fitoterapia**, v. 78, p. 215- 218, 2007.

DE BONA, A. P.; BATITUCCI, M. C. P.; ANDRADE, M. A.; RIVA, J. A. R.; PERDIGÃO, T. L. Estudo fitoquímico e análise mutagênica das folhas e inflorescências de *Erythrina mulungu* (Mart. ex Benth.) através do Teste de Micronúcleo em roedores. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 14, p. 344-351, 2012.

DE LUCENA, R. F. P.; CARVALHO, T. K. N.; DA COSTA FERREIRA, E.; BONIFÁCIO, K. M.; DA SILVA SANTOS, S.; DE LUCENA, C. M. Plantas e animais medicinais: uma abordagem etnobiológica e etnoecológica. **Plantas e Animais Medicinais da Paraíba: Um Olhar da Etnobiologia e Etnoecologia**, p. 10, 2019.

DE REZENDE, F. M.; ROSADO, D.; MOREIRA, F. A.; DE CARVALHO, W. R. S. Vias de síntese de metabólitos secundários em plantas. **Laboratório de Ensino de Botânica**, v. 93, 2016.

DE SOUZA, C. G.; DE MOURA, A. K. B.; DA SILVA, J. N. P.; SOARES, K. O.; DA SILVA, J. V. C.; VASCONCELOS, P. C. Fatores antinutricionais de importância na nutrição animal: Composição e função dos compostos secundários. **Pubvet**, v. 13, p. 166, 2019.

DE SOUZA, G. S.; DA SILVA SANTOS, L.; CARDOZO, N. C. G. D. S.; LOPES, E. A. P. Identificação de metabólitos secundários em extrato hidroetanólico foliar de *Libidibia ferrea* (Mart. ex Tul.) LP Queiroz. **Diversitas Journal**, 7(2), 2022.

DOS REIS, A.; DALMOLIN, S. P.; DALLEGRAVE, E. Animal models for hearing evaluations: a literature review. **Revista CEFAC**, v. 19, n. 3, p. 417-428, 2017.

DOS SANTOS, C. S. **Avaliação do potencial tóxico, citogenotóxico e anticitotóxico do extrato aquoso de *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poiret mediante bioensaio com *Allium cepa* L.** Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Federal do Vale do São Francisco, 2017.

DOURADO, D. A. O.; CONCEIÇÃO, A. de S.; SANTOS-SILVA, J. O gênero *Mimosa* L. (Leguminosae: Mimosoideae) na APA Serra Branca/Raso da Catarina, Bahia, Brasil. **Biota Neotropica**, v. 13, p. 225-240, 2013.

DROZD, E.; BUBKO, I.; JAWORSKA, K.; GRUBER-BZURA, B. M. The application of an *in vitro* micronucleus test in mouse fibroblast L929 cells. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 841, p. 36-42, 2019.

EMA - European Medicines Agency. ICH M3 (R2) Non-clinical safety studies for the conduct of human clinical trials for pharmaceuticals. Ema, London, 2013.

FDA. Food and Drug Administration. M3(R2) Nonclinical Safety Studies for the Conduct of Human Clinical Trials and Marketing Authorization for Pharmaceuticals. EUA, Rockville, 2010.

FDA. Food and Drug Administration. Botanical Drug Development Guidance for Industry. U.S. Department of Health and Human Services. p. 18-20. 2016. Disponível em: <https://www.fda.gov/files/drugs/published/Botanical-Drug-Development--Guidance-for-Industry.pdf>. Acesso em: 27 de mar. de 2022.

FENECH, M. Cytokinesis-Block micronucleus cytome assay evolution into a more comprehensive method to measure chromosomal instability. **Genes**, v. 11, n. 10, p. 1203, 2020.

FENECH, M. Cytokinesis-block micronucleus cytome assay. **Nature protocols**, v. 2, n. 5, p. 1084, 2007.

FENECH, M. The *in vitro* micronucleus technique. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 455, n. 1-2, p. 81-95, 2000.

FENECH, M.; KIRSCH-VOLDERS, M.; NATARAJAN, A. T.; SURRALLS, J.; CROTT, J. W.; PARRY, J.; ... THOMAS, P. Molecular mechanisms of micronucleus, nucleoplasmic bridge and nuclear bud formation in mammalian and human cells. **Mutagenesis**, v. 26, n. 1, p. 125-132, 2011.

FERREIRA, E. T.; DOS SANTOS, E. S.; MONTEIRO, J. S.; GOMES, M. D. S. M.; DE OLIVEIRA MENEZES, R. A.; DE SOUZA, M. J. C. A utilização de plantas medicinais e fitoterápicos: uma revisão integrativa sobre a atuação do enfermeiro. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 2, n. 3, p. 1511-1523, 2019.

FERREIRA, T. L.; EVANGELISTA, A. J.J. *Mimosa tenuiflora*'s antimicrobial activity on bacteria and fungi from medical importance: an integrative review. **Archives of Microbiology**, v. 203, n. 6, p. 3399-3406, 2021.

FIGUEREDO, F. G.; FERREIRA, E. O.; LUCENA, B. F.; TORRES, C. M.; LUCETTI, D. L.; LUCETTI, E. C.; ... MATIAS, E. F. . Modulation of the antibiotic activity by

extracts from *Amburana cearensis* AC Smith and *Anadenanthera macrocarpa* (Benth.) Brenan. **BioMed Research International**, 2013.

FLORA DO BRASIL. Fabaceae. Disponível em: <https://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/listaBrasil/ConsultaPublicaUC/ConsultaPublicaUC.do>. Acesso em: 10 de jul. de 2020.

FRANCO, A.A.; DIAS, L.E.; FARIA, S. M.; CAMPELLO, E.F.C.; SILVA, E.M.R.. Use Of Nodulate And Mycorrizal Forest Leguminous Trees As Agents Of Recovery An Maintenance Of Soil Life: A Technological Model. **Oecologia Australis**, v. 1, n. 1, p. 459-467, 1995.

FRANCO, S. P. B.; COSTA, J.; PAVÃO, J. Análise cromatográfica e avaliação do potencial antioxidante da mimosa tenuiflora. **CONADIS**. 2018.

FRANCO, S. P. B.; DOS SANTOS, A. F.; DA COSTA, J. G.; DE CABRAL SANT'ANNA, S. A.; SOUZA, M. A.; PAVÃO, J. M. D. S. J. Prospecção de metabólitos secundários em *Mimosa Tenuiflora* (Wild) Poir. **Semiárido Brasileiro Volume 3**, p. 64, 2019.

FUKUYAMA, Y., YOKOYAMA, R., OHSAKI, A., TAKAHASHI, H., & MINAMI, H. An example of the co-occurrence of enantiomeric labdane-type diterpenes in the leaves of *Mimosa hostilis*. **CHEMICAL AND PHARMACEUTICAL BULLETIN-TOKYO-**, v. 47, p. 454-455, 1999.

GANDHIRAJA, N.; SRIRAM, S.; MEENAA, V.; SRILAKSHMI, J. K.; SASIKUMAR, C.; RAJESWARI, R. Phytochemical screening and antimicrobial activity of the plant extracts of *Mimosa pudica* L. against selected microbes. **Ethnobotanical leaflets**, v. 2009, n. 5, p. 8, 2009.

GARDNER, D.; RIET-CORREA, F.; LEMOS, D.; WELCH, K.; PFISTER, J.; PANTER, K. Teratogenic effects of *Mimosa tenuiflora* in a rat model and possible role of N-methyl-and N, N-dimethyltryptamine. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 62, n. 30, p. 7398-7401, 2014.

GHIMIRE, B. K.; Yu, C. Y.; GHIMIRE, B.; SEONG, E. S.; CHUNG, I. M. Allelopathic Potential of Phenolic Compounds in *Secale Cereale* Cultivars and Its Relationship with Seeding Density. **Applied Sciences**, v. 9, n. 15, p. 01-17, 2019.

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

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

GOMES, T. B.; BANDEIRA, F. P. S. de F. The use and diversity of medicinal plants in a quilombola community in Raso da Catarina, Bahia. **Acta Botanica Brasilica**, v. 26, n. 4, p. 796-809, 2012.

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

GURIB-FAKIM, A. Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow. **Molecular aspects of Medicine**, v. 27, n. 1, p. 1-93, 2006.

HABIMORAD, P. H. L.; CATARUCCI, F. M.; BRUNO, V. H. T.; SILVA, I. B. D.; FERNANDES, V. C.; DEMARZO, M. M. P.; PATRICIO, K. Potencialidades e fragilidades de implantação da Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 25, p. 395-405, 2020.

HAYASHI, M. The micronucleus test—most widely used in vivo genotoxicity test. *Genes and Environ* 38(1): 18, 2016.

HAYON, T.; DVILANSKY, A.; SHPILBERG, O.; NATHAN, I. Appraisal of the MTT-based assay as a useful tool for predicting drug chemosensitivity in leukemia. **Leukemia & lymphoma**, v. 44, n. 11, p. 1957-1962, 2003.

HERNANDEZ, C.; CADENILLAS, L.; MAGHUBI, A. E.; CACERES, I.; DURRIEU, V.; MATHIEU, C.; BAILLY, J. D. Mimosa tenuiflora aqueous extract: role of condensed tannins in anti-aflatoxin b1 activity in *Aspergillus flavus*. **Toxins**, v. 13, n. 6, p. 391, 2021.

HIMANSHU, J.; JADON, G.; BHADAURIA, R. S.; KISHOR, A. A review article on: plant alkaloids. **International Journal of Pharmaceutical Sciences Erudition**, v. 9, 2020.

IRMISCH, S.; JIANG, Y.; CHEN, F.; GERSHENZON, J.; KÖLLNER, T.G. Terpene synthases and their contribution to herbivore-induced volatile emission in western balsam poplar (*Populus trichocarpa*). **BMC Plant Biol** 14(1): 270, 2014.

JAMSHIDI-KIA, F.; LORIGOOINI, Z.; AMINI-KHOEI, H. Medicinal plants: Past history and future perspective. **Journal of herbmed pharmacology**, v. 7, n. 1, 2018.

JIANG, Q. W.; CHEN, M. W.; CHENG, K. J.; YU, P. Z.; WEI, X.; SHI, Z. Therapeutic potential of steroidal alkaloids in cancer and other diseases. **Medicinal Research Reviews**, v. 36, n. 1, p. 119-143, 2016.

JIANG, Y.; MASSIOT, G.; LAVAUD, C.; TEULON, J. M.; GUÉCHOT, C.; HAAG-BERRURIER, M.; ANTON, R. Triterpenoid glycosides from the bark of *Mimosa tenuiflora*. **Phytochemistry**, v. 30, n. 7, p. 2357-2360, 1991a.

JIANG, Y.; MASSIOT, G.; LAVAUD, C.; TEULON, J. M.; GUÉCHOT, C.; HAAGBERRURIER, M.; ANTON, R. Triterpenoid glycosides from the bark of *Mimosa tenuiflora*. **Phytochemistry**, v. 30, p. 2357-2360, 1991b.

KANG, J. G.; SHIN, S. Y.; KIM, M. J.; BAJPAI, V.; MAHESHWARI, D. K.; KANG, S. C. Isolation and anti-fungal activities of 2-hydroxymethyl-chroman-4-one produced by *Burkholderia* sp. MSSP. **The Journal of Antibiotics**, v. 57, n. 11, p. 726-731, 2004.

KISHIMOTO, S.; SATO, M.; TSUNEMATSU, Y.; WATANABE, K. Evaluation of biosynthetic pathway and engineered biosynthesis of alkaloids. **Molecules**, v. 21, n. 8, p. 1078, 2016.

KOKANE, D. D.; MORE, R. Y.; KALE, M. B.; NEHETE, M. N.; MEHENDALE, P. C.; GADGOLI, C. H. Evaluation of wound healing activity of root of *Mimosa pudica*. **Journal of Ethnopharmacology**, v.124, p. 311-315, 2008.

KUMAR, S.; PANDEY, A. K. Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. **The Scientific World Journal**, v. 2013, p. 10-16, 2013.

LEMOES, J. R. G.; VIEIRA-SILVA, T. C. Vegetable drugs used by traditional and indigenous communities to treat intestinal parasites: a literature review. **Saúde (Santa Maria)**, 2021.

LEAL, L. K. A. M.; NECHIO, M.; SILVEIRA, E. R.; CANUTO, K. M.; FONTENELE, J. B.; RIBEIRO, R. A.; VIANA, G. S. B. Anti-inflammatory and smooth muscle relaxant activities of the hydroalcoholic extract and chemical constituents from *Amburana cearensis* AC Smith. **Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives**, V. 17, n. 4, 335-340, 2003.

LEÓN, L.; MALDONADO, E.; CRUZ, A.; ORTEGA, A. Tenuiflorins A-C: New 2-phenoxychromones from the leaves of *Mimosa tenuiflora*. **Planta medica**, v. 70, n. 06, p. 536-539, 2004.

LI, W.; ZHOU, J.; XU, Y. Study of the in vitro cytotoxicity testing of medical devices. **Biomedical reports**, v. 3, n. 5, p. 617-620, 2015.

LIYANAARACHCHI, G. D.; SAMARASEKERA, J. K. R. R.; MAHANAMA, K. R. R.; HEMALAL, K. D. P. Tyrosinase, elastase, hyaluronidase, inhibitory and antioxidant activity of Sri Lankan medicinal plants for novel cosmeceuticals. **Industrial Crops and Products**, v. 111, p. 597-605, 2018.

LPWG. The Legume Phylogeny Working Group. AZANI, N.; BABINEAU, M.; BAILEY, C. D.; BANKS, H.; BARBOSA, A. R.; PINTO, B. R.; BOATWRIGHT, J. S.; BORGES, L. M. A new subfamily classification of the Leguminosae based on a taxonomically comprehensive phylogeny. V. 66, n. 1, p. 44-77, 2017.

LPWG. THE LEGUME PHYLOGENY WORKING GROUP. Legume phylogeny and classification in the 21st century: progress, prospects and lessons for other species-rich clades. **Taxon** 62(2): 217-248, 2013.

MACEDA, A.; SOTO-HERNÁNDEZ, M.; PEÑA-VALDIVIA, C. B.; TREJO, C.; TERRAZAS, T. Lignina: composición, síntesis y evolución. **Madera y bosques**, v. 27, n. 2, 2021.

MAGALHÃES, K. N. **Plantas medicinais da caatinga do Nordeste brasileiro: etnofarmacopeia do Professor Francisco José De Abreu Matos**. Tese de Doutorado em Desenvolvimento e Inovação Tecnológica em Medicamentos. Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2019.

MAIA-SILVA, C.; SILVA, C. I. D.; HRNCIR, M.; QUEIROZ, R. T. D.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. Guia de plantas: visitadas por abelhas na Caatinga. 2012.

MALIK, E. M.; MULLER, C. E. Anthraquinones as pharmacological tools and drugs. **Medicinal Research Reviews**, v. 36, n.4, p. 705-748, 2016.

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

MEIRA, C. L. C.; NOVAES, C. G.; NOVAIS, F. C.; De JESUS, V. D. S.; DE OLIVEIRA, D. M.; AGUIAR, R. M. Application of principal component analysis for the evaluation of the chemical constituents of *Mimosa tenuiflora* methanolic extract by DLLME/GC–MS. **Microchemical Journal**, v. 152, p. 104284, 2020.

MELEGARI, S. P.; DE CARVALHO PINTO, C. R.; MOUKHA, S.; CREPPY, E. E.; MATIAS, W. G. Evaluation of cytotoxicity and cell death induced in vitro by saxitoxin in mammalian cells. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A**, v. 78, n. 19, p. 1189-1200, 2015.

MELO, S. D. **Avaliação citogenotóxica de extratos das espécies *Mimosa candollei* R. Grether e *Cajanus cajan* (L.) Huth com potencial para novos agentes terapêuticos**. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Federal de Pernambuco, 2022.

MILLER, F.; HINZE, U.; CHICHKOV, B.; LEIBOLD, W.; LENARZ, T.; PAASCHE, G. Validation of eGFP fluorescence intensity for testing *in vitro* cytotoxicity according to ISO 10993-5. **Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials**, v. 105, n. 4, p. 715-722, 2017.

MINISTÉRIO DA SAÚDE - MS. Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos. 1ª ed, 2006. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/politica_nacional_fitoterapicos.pdf. Acesso em: 24 de mar. de 2022.

MIRANDA, A. J. S. **Avaliação genotóxica e antigenotóxica do extrato etanólico foliar de *Mimosa tenuiflora* (willd.) Poiret, mediante o bioensaio com *Allium cepa* L.** Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Federal do Vale do São Francisco, 2018.

MONTEIRO, J. M.; ALBUQUERQUE, U. P.; ARAÚJO, E. L. Taninos: uma abordagem da química à ecologia. *Química Nova*, v. 28, n. 5, p. 892, 2005

MOREIRA, T. F. **Perfil antioxidante e efeito dos extratos, frações e das antraquinonas crisofanol, emodina e fisciona de *Rhamnus sphaerosperma* var. *pubescens* sobre a viabilidade celular e estresse oxidativo em células tumorais de colo uterino e carcinoma oral.** Tese de Doutorado. Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, Universidade Estadual Paulista, 2016.

MORTELMANS, K.; ZEIGER, E. The Ames Salmonella/microsome mutagenicity assay. **Mutation research/fundamental and molecular mechanisms of mutagenesis**, v. 455, n. 1-2, p. 29-60, 2000.

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

MOURA, N.; VASCONCELOS, A. C.; BERNABÉ, B.; TEIXEIRA, L. J.; SARAIVA, S. Ensaio toxicológicos: Um estudo sobre a utilização de testes in vivo e in vitro. **Enciclopédia biosfera**, v. 8, n. 15, 2012.

MUS, F.; CROOK, M.B.; GARCIA, K.; COSTAS, A.G.; GEDDES, B.A.; KOURI, E.D.; PARAMASIVAN, P.; Ryu, M.H.; OLDROYD, G.E.D.; POOLE, P.S.; UDVARDI, M.K.; VOIGT, C.A.; ANÉ, J.M.; UDVARDI, M.K. Symbiotic nitrogen fixation and the challenges to its extension to nonlegumes. **Appl Environ Microbiol** 82(13): 3698-3710, 2016.

NEVES, M. S.; BRANDÃO, H. N. Estudo fitoquímico biomonitorado da *Mimosa tenuiflora* (willd.) Poir. (jurema-preta) pela atividade antioxidante. Universidade Estadual de Feira de Santana, 2012.

NEWSOME, A. G.; LI, Y.; VAN BREEMEN, R. B. Improved quantification of free and ester-bound gallic acid in foods and beverages by UHPLC-MS/MS. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 64, n. 6, p. 1326-1334, 2016.

NUNES, X. P.; MESQUITA, R. F.; SILVA, D. A.; LIRA, D. P.; COSTA, V. C. O.; SILVA, M. V. B.; XAVIER, A. L.; DINIZ, M. F. F. M.; AGRA, M. F. Constituintes químicos, avaliação das atividades citotóxica e antioxidante de *Mimosa paraibana* Barneby (Mimosaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, p. 718-723, 2008.

OECD. Test. No 487: In vitro mammalian cell micronucleus test. OECD guidelines for the testing of chemicals, Section, v. 4, p. 1-26, 2016.

OLIVEIRA, L. B. D. **Avaliação de atividades farmacológicas de *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir.** Dissertação de Mestrado em Ciências Farmacêutica. Universidade Federal de Pernambuco - Recife - PE, 2011.

OLIVEIRA, P. L. **AValiação do potencial biológico e citotóxico de extratos aquosos de folhas de *Bauhinia cheilantha* (Bongard) Steude (LEGUMINOSAE).** Dissertação de Mestrado em Ciências Biológicas. Universidade Federal de Pernambuco, 2020.

OMWENGA, E.O.; HENSEL, A.; SHITANDI, A.; GOYCOOLEA, F.M. Ethnobotanical survey of traditionally used medicinal plants for infections of skin, gastrointestinal tract, urinary tract and the oral cavity in Borabu sub-county, Nyamira county, Kenya. **Journal of ethnopharmacology**, v. 176, p. 508-514, 2015.

DE ANDRADE PAES, A. M.; CAMARA, A. L.; DE FARIAS FREIRE, S. M.; DA ROCHA BORGES, M. O. Relaxant effect of *Jatropha gossypifolia* L. on uterine smooth muscle. **International Journal of phytomedicine**, 4, 310-313, 2012.

PAGARE, S.; BHATIA, M.; TRIPATHI, N.; PAGARE, S.; BANSAL, Y. K. Secondary metabolites of plants and their role: **Overview. Current Trends in Biotechnology and Pharmacy**, v. 9, n. 3, p. 293-304, 2015.

PANTER, K. E., LEE, S. T., GARDNER, D. R., STEEGELMEIER, B. L., RALPHS, M. H., DAVIS, T. Z., ... & COOK, D. Plants teratogenic to livestock in the United States. **Poisoning by Plants, Mycotoxins and Related Toxins**. 2011.

PEREIRA JÚNIOR, L. R.; ANDRADE, A. P. D.; ARAÚJO, K. D.; BARBOSA, A. D. S.; BARBOSA, F. M. Espécies da caatinga como alternativa para o desenvolvimento de novos fitofármacos. **Floresta e Ambiente**, v. 21, p. 509-520, 2014.

PEREIRA, R. J.; CARDOSO, M.G. Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes. **Journal of biotechnology and biodiversity**, v. 3, n. 4, 2012.

PESSÔA, C. R. D. M. **Embriofetotoxicidade da *Mimosa ophtalmocentra* em ratas**. Monografia (Graduação em Medicina Veterinária) - Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Universidade Federal de Campina Grande, PB, 2007.

PHILLIPSON, J.D. Fitoquímica e plantas medicinais. **Fitoquímica**.v.56, n.3, p 43-237, 2001.

PIMENTEL, L. A.; CORREA, F. R.; GARDNER, D.; PANTER, K. E.; DANTAS, A. F. M.; MEDEIROS, R. M. T.; MOTA, R. A.; ARAÚJO, J. A. S. *Mimosa tenuiflora* as a cause of malformations in ruminants in the northeastern Brazilian semiarid rangelands. **Veterinary pathology**, v. 44, n. 6, p. 928-931, 2007.

PING, K. Y.; DARAH, I.; YUSUF, U. K.; YENG, C.; SASIDHARAN, S. Genotoxicity of *Euphorbia hirta*: an *Allium cepa* assay. **Molecules**, v. 17, n. 7, p. 7782-7791, 2012.

QUINTANA, V. M.; SELISKO, B.; BRUNETTI, J. E.; EYDOUX, C.; GUILLEMOT, J. C.; CANARD, B.; CASTILLA, V. Antiviral activity of the natural alkaloid anisomycin against dengue and *Zika viruses*. **Antiviral Research**, v. 176, p. 104749, 2020.

RENAME. Relação nacional de medicamentos essenciais. 1ª Ed, p. 108-112, 2020. Disponível em:
https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/relacao_medicamentos_rename_2020.pdf. Acesso em: 24 de ago. de 2022

REZENDE, H. A.; COCCO M. I. M. A utilização de fitoterapia no cotidiano de uma população rural. **Revista Esc Enferm USP**, São Paulo, v. 36, n. 3, p. 282-8, 2002.

RIBEIRO, D. A.; MACÊDO, D. G.; OLIVEIRA, L. G. S.; SARAIVA, M. E.; OLIVEIRA, S. F.; SOUZA, M. M. A.; MENEZES, I. R. A. Potencial terapêutico e uso de plantas medicinais em uma área de Caatinga no estado do Ceará, nordeste do Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 16, p. 912-930, 2014.

RIZWAN, K.; MAJEED, I.; BILAL, M.; RASHEED, T.; SHAKEEL, A.; IQBAL, S. Phytochemistry and Diverse Pharmacology of Genus *Mimosa*: **A Review**. **Biomolecules**, v.12, n.1, p. 83, 2022.

ROBERTS, M.; STRACK, D.; WINK, M. Biosynthesis of Alkaloids and Betalains. **Annual Plant Review**, v. 40, p. 20-91, 2010.

RODRIGUES, M. F. **Efeito gastroprotetor e imunomodulador de *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir (Fabaceae)**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco, 2018.

ROQUE, A. A.; LOIOLA, M. I. B. Potencial de uso dos recursos vegetais em uma comunidade rural no semiárido potiguar. **Revista Caatinga**, v. 26, n. 4, 2013.

ROSSI, G. N.; CREVELIN, E. J.; DE OLIVEIRA SILVEIRA, G.; EUGÊNIA COSTA QUEIROZ, M.; YONAMINE, M.; CECILIO HALLAK, J. E.; GUIMARÃES DOS

SANTOS, R. Internet method for the extraction of N, N-dimethyltryptamine from *Mimosa hostilis* roots: Does it really extract dimethyltryptamine?. **Journal of Psychedelic Studies**, v. 3, n. 1, p. 1-6, 2019.

SALMERÓN-MANZANO, E.; GARRIDO-CARDENAS, J. A.; MANZANO-AGUGLIARO, F. Tendências mundiais de pesquisa sobre plantas medicinais. **Revista Internacional de Pesquisa Ambiental e Saúde Pública**, v. 17, n. 10, pág. 3376, 2020.

SANTOS, J. R. S.; DANTAS, A. F. M.; RIET-CORREA, F. Malformações, abortos e mortalidade embrionária em ovinos causada pela ingestão de *Mimosa tenuiflora* (Leguminosae). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 11, p. 1103-1106, 2012.

SANTOS, M. G.; CARVALHO, A. C. B. Plantas medicinais: saberes tradicionais e o sistema de saúde. **Saberes tradicionais e locais**, p. 73, 2018.

SCOTT, W. J.; RITTER, E. J.; WILSON, J. G. DNA synthesis inhibition and cell death associated with hydroxyurea teratogenesis in rat embryos. *Developmental biology*, v. 26, n. 2, p. 306-315, 1971.

SHAHIDI, F.; AMBIGAIPALAN, P. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects—A review. **Journal of Functional foods**, v. 18, p. 820-897, 2015.

SHARIFI-RAD, J.; SUREDA, A.; TENORE, G. C.; DAGLIA, M.; SHARIFI-RAD, M.; VALUSSI, M.; IRITI, M. Biological activities of essential oils: From plant chemoecology to traditional healing systems. **Molecules**, v. 22, n. 1, p. 70, 2017.

SHEREMET, A. I.; AZMI, A.; VISSENBERG, K.; VERBELEN, J. P.; IAB, B. Effect of inhibitors serine/threonine protein kinases and protein phosphatases on mitosis progression of synchronized tobacco by-2 cells. **Tsitologija i Genetika**, 46(2), 3-11, 2012.

SILVA, A. R. L. D. F. C. Plantas medicinais comprovadas cientificamente como antidiarreicas: uma revisão. 2018.

SILVA, S. R.; BUITRÓN, X.; OLIVEIRA, L. D.; MARTINS, M. V. M. **Plantas medicinais do Brasil: aspectos gerais sobre legislação e comércio**. Quito, Equador: TRAFFIC América do Sul, 2001.

SILVA, V. A.; GONÇALVES, G. F.; PEREIRA, M. S.; GOMES, I. F.; FREITAS, A. F.; DINIZ, M. F.; PESSÔA, H. L. Assessment of mutagenic, antimutagenic and genotoxicity effects of *Mimosa tenuiflora*. **Revista brasileira de farmacognosia**, v. 23, n.2, p. 329-334, 2013.

SILVEIRA, P. F.; MAIA, S. S. S.; COELHO, M. de F. B. Potencial alelopático do extrato aquoso de folhas de *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir. na germinação de *Lactuca sativa* L. **Bioscience Journal**, v. 28, n. 3, 2012.

SIMON, M. F.; GREETHER, R.; de QUEIROZ, L. P.; SÄRKINEN, T. E.; DUTRA, V. F.; HUGHES, C. E. The evolutionary history of *Mimosa* (Leguminosae): toward a phylogeny of the sensitive plants. **American Journal of Botany**, 98(7), 1201-1221. 2011.

SINGH, P. A.; BAJWA, N.; CHINNAM, S.; CHANDAN, A.; BALDI, A. An overview of some important deliberations to promote medicinal plants cultivation. **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, p. 100400, 2022.

SINGH, P.; PANDEY, A. K. Prospective of essential oils of the genus *Mentha* as biopesticides: A review. **Frontiers in plant science**, v. 9, p. 1295, 2018.

SPONCHIADO, G.; ADAM, M. L.; SILVA, C. D.; SOLEY, B. S.; de MELLO-SAMPAYO, C.; CABRINI, D. A.; ... OTUKI, M. F. Quantitative genotoxicity assays for analysis of medicinal plants: A systematic review. **Journal of ethnopharmacology**, v. 178, p. 289-296, 2016.

SPROLL, C.; RUGE, W.; ANDLAUER, C.; GODELMANN, R.; LACHENMEIER, D. W. HPLC analysis and safety assessment of coumarin in foods. **Food chemistry**, v.109. n. 2, 462-469, 2008.

STANGARLIN, J. R.; KUHN, O. J.; TOLEDO, M. V.; PORTZ, R. L.; PASCHOLATI, S. F. A defesa vegetal contra fitopatógenos. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 10, n. 1, p. 18-46, 2011.

SUBRAHMANYAN, D.; DKS, J. M.; RAJ, M. An unusual manifestation of *Abrus precatorius* poisoning: a report of two cases. **Clinical toxicology**, v. 46, n. 2, p. 173-175, 2008.

SÜLSEN, V. P.; CAZORLA, S. I.; FRANK, F. M.; LAURELLA, L. C.; MUSCHIETTI, L. V.; CATALAN, C. A.; ... MALCHIODI, E. L. Natural terpenoids from *Ambrosia* species are active in vitro and in vivo against human pathogenic trypanosomatids. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, V. 7, n.10, e2494, 2013.

TESSER, C. D.; SOUSA, I. M. C. D.; NASCIMENTO, M. C. D. Traditional and complementary medicine in primary health care in Brazil. **Saúde em Debate**, 42, 174-188, 2018.

TIBUGARI, H.; MANYERUKE, N.; MAFERE, G.; CHAKAVARIKA, M.; NYAMUZUWE, L.; MARUMAHOKO, P.; MANDUMBU, R. Allelopathic effect of stressing sorghum on weed growth. **Cogent Biology**, v. 5, n. 1, p. 01-10, 2019.

TISSIER, A.; ZIEGLER, J.; VOGT, T. Specialized Plant Metabolites: Diversity and Biosynthesis. In: Krauss GJ e Nies DH (eds) *Ecological Biochemistry: Environmental and Interspecies Interactions*. **John Wiley & Sons**, UK, p. 14-37, 2014.

TIWARI, P., BIMLESH, K., MANDEEP, K., GURPREET, K., & HARLEEN, K. Phytochemical Screening and extraction. A Review of Internationale Pharmaceutica Scientia, v.1 n.1, p.98-106, 2011.

VAKELE, Y.; ODUN-AYO, F.; REDDY, L. In vitro antioxidant and cytotoxicity activities of selected indigenous South African medicinal plants. **African Health Sciences**, v. 22, n. 1, p. 395-403, 2022.

VAN WYK, B. E.; WINK, M. **Medicinal plants of the world**. CABI, 2017.

VASCONCELOS, M. W.; GRUSAK, M. A.; PINTO, E.; GOMES, A.; FERREIRA, H.; BALÁZS, B.; IANNETTA, P. The biology of legumes and their agronomic, economic, and social impact. In: *The Plant Family Fabaceae*. **Springer, Singapore**, p. 3-25, 2020.

VASCONCELOS, S. M. L.; GOULART, M. O. F.; MOURA, J. B. D. F.; MANFREDINI, V.; BENFATO, M. D. S.; KUBOTA, L. T. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. **Química Nova**, 2007.

VIANA, G. S. B; BANDEIRA, M. A. M.; MATOS, F. J. A. Analgesic and antiinflammatory effects of chalcones isolated from *Myracrodruon urundeuva* Allemão. **Phytomedicine**, v.10, p. 189-195, 2003.

WAGNER, H.; BLADT, S. **Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas**. Springer Science & Business Media, 1996.

ZAGUIA, N.; LAPLAGNE, E.; COLICCHIO, B.; CARIOU, O.; AL-JAWHARI, M.; HEIDINGSFELDER, L.; HEMPEL, W. M.; BEL HADJ JRAD, B.; JEANDIDIER, E.; DIETERLEN, A.; CARDE, P.; VOISIN, P.; M'KACHER, R. A new tool for genotoxic risk assessment: Reevaluation of the cytokinesis-block micronucleus assay using semi-automated scoring following telomere and centromere staining. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 850, p. 503143, 2020.

ZHENG, M. S.; LEE, Y. K.; LI, Y.; HWANGBO, K.; LEE, C. S.; KIM, J. R.; ... SON, J. K. Inhibition of DNA topoisomerases I and II and cytotoxicity of compounds from *Ulmus davidiana* var. *japonica*. **Archives of pharmacal research**, v. 33, n. 9, 1307-1315, 2010.