



Mantenedora: SESG Sociedade de Educação Superior Guairacá Ltda
Credenciamento Portaria N° 463 de 07/05/20 DOU N° 88 de 11/05/20
CNPJ 06.060.722/0001-18

CENTRO UNIVERSITÁRIO UNIGUAIRACÁ
INSTITUTO SUPERIOR DE ENSINO
BACHARELADO EM FARMÁCIA

AVALIAÇÃO DE ATIVIDADE BIOLÓGICA E TOXICIDADE DA *Persea major*

GUARAPUAVA

2022

AVALIAÇÃO DE ATIVIDADE BIOLÓGICA E TOXICIDADE DA *Persea major*

Leonardo Pacheco (acadêmico)¹

Luciana Erzinger Alves de Camargo (orientador)²

Resumo

A utilização de plantas no tratamento de ferimentos e enfermidades é tão antiga que não se sabe desde quando se iniciou, perdurando-se até os dias atuais com grande aplicabilidade. Com a quantidade quase imensurável de plantas existentes, muitas delas acabam tendo uma carência no âmbito de pesquisa, como no caso da *Persea major* conhecida popularmente por “Pau de Andrade”. A *P. major* é uma planta medicinal pertencente à família *Lauraceae*, nativa do sul do Brasil, corriqueiramente suas cascas são utilizadas por meio de infusão tanto na administração oral quando no uso tópico em lesões cutâneas e distúrbios gástricos, para uso humano e especialmente no meio veterinário, destacando por sua propriedade cicatrizante. No presente estudo o propósito foi a realizar a quantificação de fenóis totais da *P. major* por meio do método de Folin–Ciocalteu modificado, nos extratos aquoso e etanólico, nas concentrações 10, 1 e 0,1 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Mostrando superior o método com o extrato etanólico ($181,66 \pm 0,18^b$, $117,84 \pm 0,20^d$, $32,54 \pm 0,12^s$) respectivamente às concentrações testadas. Foi realizada a determinação da atividade antioxidante sobre ABTS⁺. Demonstrando surpreendentes resultados, na avaliação constata-se que, na maior concentração dos extratos aquoso e etanólico apresentam significativa capacidade de reduzir o radical formado, próximo de uma efetividade de 100% de inibição. Além da quantificação de fenóis e avaliação da atividade antioxidante, foi realizada a análise da atividade citotóxica do extrato da *P. major* sobre hemácias, nas concentrações, nas concentrações 10, 1 e 0,1 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ das soluções de *P. major* obtidas por infusão aquosa e maceração alcoólica, sendo obtido baixíssimo percentual de hemólise, em algumas concentrações chegam a 0%, mostrando-se pouco tóxica. Desta maneira ampliamos a o conhecimento da *P. major* possibilitando melhor utilização e modos de utilização desta planta com tantas qualidades.

Palavras-chave: Produtos naturais, compostos fenólicos, atividade antioxidante, hemólise

¹ Graduando(a) em Farmácia pelo Centro Universitário UNIGUAIACÁ.

² Orientadora, Farmacêutica Doutora em Química Orgânica

1. Introdução

O uso de plantas medicinais como forma de tratamento para desordens é relatado desde as antigas civilizações até os dias atuais. O acúmulo do conhecimento sobre as propriedades terapêuticas naturais vem sendo passado ao longo das gerações, principalmente por meio do conhecimento popular, o qual se tornou a base para a pesquisa em produtos naturais^{1,2}.

Na atualidade, as plantas medicinais têm servido direta ou indiretamente como subsídios para compor a terapia moderna, que é composta por uma vasta gama de produtos, com variados mecanismo de ações específicas sobre diversos receptores diferentes, fato que representou grande impacto na saúde mundial^{3,4}.

No contexto do uso de plantas medicinais, grande interesse tem surgido em torno da planta *Persea major*, popularmente conhecida como “Pau de Andrade” ou abacateiro-do-mato. A *P. major*, é uma planta medicinal pertencente à família *Lauraceae*, nativa do sul do Brasil, cuja aplicação é frequente. Compreende uma árvore de grande porte, podendo chegar a 25 metros de altura⁵. *P. major* é uma espécie nativa da América do Sul, sendo encontrada em regiões tropicais e subtropicais⁶. No Brasil sua distribuição abrange o nordeste, sudeste e sul, com domínios no serrado e mata atlântica⁷.

Habitualmente na região Sul do Brasil, as cascas da *P. major* tem sido empregadas por meio de infusão, tanto para administração oral, quanto tópica, pelos populares em lesões, inflamações cutâneas e distúrbios gástricos, para uso humano e especialmente no meio veterinário^{6,8}.

A principal indicação terapêutica da *P. major* é sua propriedade cicatrizante, além dessa sua atividade, ela apresenta atributos significativos nas atividades antibacterianas, antissépticas, antifúngicas e até mesmo analgésicas⁹.

As cascas da *P. major* diferenciam-se das demais, por causa de forma de distribuição dos seus tecidos esclerenquimáticos, pela presença de células oleíferas e mucilaginosas. São encontradas características na estrutura da casca desta espécie que manifestam gigantesca importância no reconhecimento da mesma, servindo também como forma de parâmetros no controle de qualidade⁶.

Em relação a sua composição fitoquímica, são apontados a presença de metabólitos secundários como taninos, esteróides, mucilagens e alcalóides os quais apresentam várias propriedades. Atividade bactericida, efeito gastroprotetor, efeitos cicatrizantes, ação analgésica e antiedematogênica, são alguns referidos ao extrato feito com sua casca⁶.

Metabólitos secundários como flavonóides, taninos e antraquinonas pertencem ao grupo dos polifenóis, sendo caracterizados por reações particulares de cada grupo¹⁰. Os compostos fenólicos ou polifenóis são substâncias que dispõem de um núcleo fenol em sua estrutura química, pois possuem no mínimo um anel aromático com um ou mais grupos hidroxilas. São substâncias redutoras e, o que significa que se oxidam facilmente. Substâncias oxidantes são utilizadas para a caracterização dos polifenóis, sendo distinguido pela presença e/ou desenvolvimento de colorações específicas, conforme o método adotado^{10,11}.

Atualmente se aceita que os compostos fenólicos são todos aqueles que contêm um ou mais anéis aromáticos e são em sua maioria derivados do metabolismo do ácido xiquímico e/ou da via do acetato. Entre os compostos fenólicos, os ácidos fenólicos, cumarinas, flavonóides, taninos e quinonas salientam-se por suas atividades farmacológicas¹¹. Os taninos apresentam atividades fungicida, bacteriostática e antiviral, por meio de inibição enzimática, sendo utilizados em casos de úlcera gástrica; possui também atividade antioxidante, sendo aplicados em casos de doenças degenerativas^{10,12}.

Há uma carência nos estudos relacionados à identificação, composição química e potencial toxicológico e segurança terapêutica da *P. major*, e suas formas de administração. Dessa forma o presente trabalho tem por objetivo quantificação de compostos fenólicos, comprovar as atividades biológicas, pela análise de atividade antioxidante sobre o radical ABTS, e a segurança na utilização do extrato das cascas da *P. major* pela avaliação do potencial citotóxico das cascas de *P. major*, sob duas formas de extração aquosa e alcoólica em células normais sob um modelo de hemólise.

Justifica-se este trabalho como uma ferramenta na caracterização da espécie do ponto de vista de atividade e constituintes, bem como a segurança na sua utilização, visto que além da utilização tópica, há também o uso frequente interno, com

reduzidas publicações sobre essa planta que apresenta uma utilização bem regional.

2. Métodos

A amostra de *P. major* foram obtidas por meio de compra em uma farmácia de fitoterápicos da cidade de Guarapuava - PR, os demais reagentes, vidrarias e equipamentos utilizados foram disponibilizados pelo Centro Universitário Uniguairacá. Os testes ocorreram nos laboratórios da instituição.

2.1 Preparo das amostras de *P. major*

Para os ensaios de quantificação de fenóis totais, avaliação da atividade antioxidante e atividade citotóxica sobre hemácias, a amostra obtida, foi pesada em duas alíquotas para a extração dos compostos ativos.

Foram pesadas duas amostras de 2,5g e uma foi submetida a infusão com água fervente (25mL), permanecendo em infusão tampada por 15 minutos, enquanto que a outra alíquota, obtida da mesma amostra, foi pesada , 2,5g, e foi submetida à maceração em álcool 70% por 15 minutos (25mL) (LU et al., 2011). Em seguida as soluções foram filtrados por algodão, originando a solução mãe dos diferentes extratores. A partir da solução mãe procederam-se diluições sucessivas com água destilada ou tampão fosfato salina (PBS) 10 mmol.L⁻¹ e 15 mmol.L⁻¹ NaCl, conforme ensaio. Os resultados foram expressos em µg.mL⁻¹ e mg.mL⁻¹ baseando-se nos volumes utilizados para as preparação das soluções testadas. Ambas as soluções (extrato aquoso e extrato etanólico) foram preparados e calculadas para ficar em três concentrações diferentes (10, 1 e 0,1 ug/mL).

2.2 Quantificação de fenóis totais

A quantificação de fenóis totais da *P. major*, foi determinada pelo método de Folin–Ciocalteu modificado, compreendendo na redução do ácido fofomolíbdico-fosofotúngstico pelas hidroxilas fenólicas em meio alcalino. Às soluções na concentração de 10, 1 e 0,1 ug/mL, foi acrescentada a solução de Folin-Ciocalteu; sendo a reação iniciada pelo acréscimo de uma solução de carbonato de sódio (7,5% p/v). Posteriormente a mistura foi incubada a 37° C por 15min e determinada a absorbância em 680 nm. Utilizou-se como padrão o ácido gálico¹³.

2.3 Atividade da *P. major* sobre o ABTS^{•+}

Foi determinada a atividade antioxidante sobre ABTS^{•+} ¹⁴. O ABTS^{•+} é um radical catiônico que pode ser gerado por reação química, eletroquímica ou enzimática a partir de uma solução de ABTS. Quando o ABTS é oxidado pelo persulfato de potássio, ocorre a formação do ABTS^{•+}. A atividade antioxidante dos extratos de *P. major* pôde ser mensurada quantitativamente pela redução da absorbância, devido o ABTS^{•+} receber um elétron de um agente antioxidante para se estabilizar. Inicialmente uma mistura aquosa de ABTS (7 mmol.L⁻¹) e persulfato de potássio (2,45 mmol.L⁻¹) foi incubada a temperatura ambiente e ao abrigo da luz por 12 horas. A solução formada de ABTS^{•+} foi diluída em PBS 10 mmol.L⁻¹, pH 7,4 a uma absorbância de 0,70 (734 nm). Então as amostras (nas [] de 10, 1 e 0,1 ug/mL). dos extratos de *P. major*, obtidas por diferentes extratos foram incubadas com o ABTS^{•+} por 30 minutos a temperatura ambiente, e em seguida, foi observada a redução do ABTS^{•+} pelo extrato da planta. A porcentagem de inibição de ABTS^{•+} foi calculada segundo a equação (Eq. (1))¹⁵.

$$(\%) \text{ Inibição ABTS}^{\bullet+} = \frac{\text{Abs controle} - \text{Abs Teste}}{\text{Abs controle}} \times 100\% \text{ (Eq. (1))}$$

4.4 Atividade citotóxica sobre hemácias.

Diferentes concentrações (10, 1 e 0,1 ug/mL) das soluções de *P. major* obtidas por infusão aquosa e maceração alcoólica forma incubadas por 24h com a solução de hemácias 3% dos pesquisadores, contendo 1,08 g.L⁻¹ de glicose, 0,3 g.L⁻¹ de penicilina e 0,5 g.L⁻¹ de estreptomina, 37° C¹⁶, sob homogeneização constante. A reação foi finalizada pela centrifugação da solução (5 min., 4 °C, 1200 g). O conteúdo de hemoglobina liberado, devido à ação citotóxica das preparações foi determinado no sobrenadante através do registro da absorbância, λ= 540 nm e a porcentagem da hemólise foi calculada segundo a equação (Eq. (2)) ¹⁵.

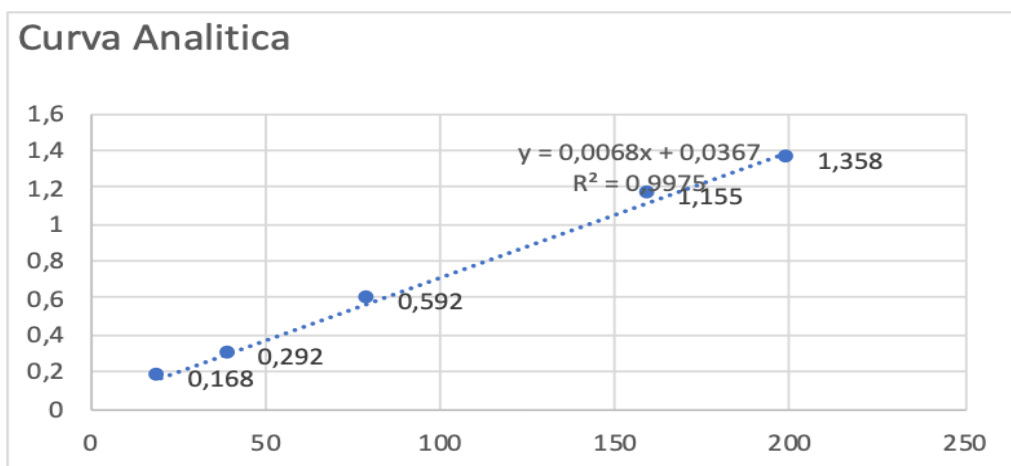
$$\text{Hemólise (\%)} = \frac{\text{Abs teste} - \text{Abs hemólise 100\%}}{\text{Abs teste}} \times 100\% \text{ (Eq. (2))}$$

3. Resultados

3.1 Quantificação de fenóis totais

As concentrações de ácido gálico, usado como padrão de compostos fenólicos para a confecção da curva de calibração foram: 20 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, 40 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, 60 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, 80 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ e 160 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. A partir da curva obtida (Figura 1), usou-se a equação da reta para calcular as concentrações de compostos fenólicos presentes nas amostras de *P. Major* e para analisar se o método apresenta comportamento linear.

Figura 1 – Curva padrão da absorbância a 680 nm, em função da concentração de ácido gálico, utilizando reagente de Folin- Ciocalteau para reação.



Fonte: o autor, 2022.

A concentração de fenóis totais presentes nos extratos de *P. major* obtidos por diferentes tipos de soluções extratoras, aquosa e etanólica, foram determinados baseando-se na equivalência da concentração de ácido gálico, conforme demonstrada na curva padrão (figura 1).

Tabela 1 - Teor de Fenólicos totais: resultados expressos em $\mu\text{g.mL}^{-1}$ como média e desvio padrão, análise estatística com $p < 0,05$.

Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	Extrato Aquoso (EA)	Extrato Etanol (EE)
10	$108,87 \pm 0,23^a$	$181,66 \pm 0,18^b$
1	$88,72 \pm 0,15^c$	$117,84 \pm 0,20^d$
0,1	$15,87 \pm 0,09^f$	$32,54 \pm 0,12^g$

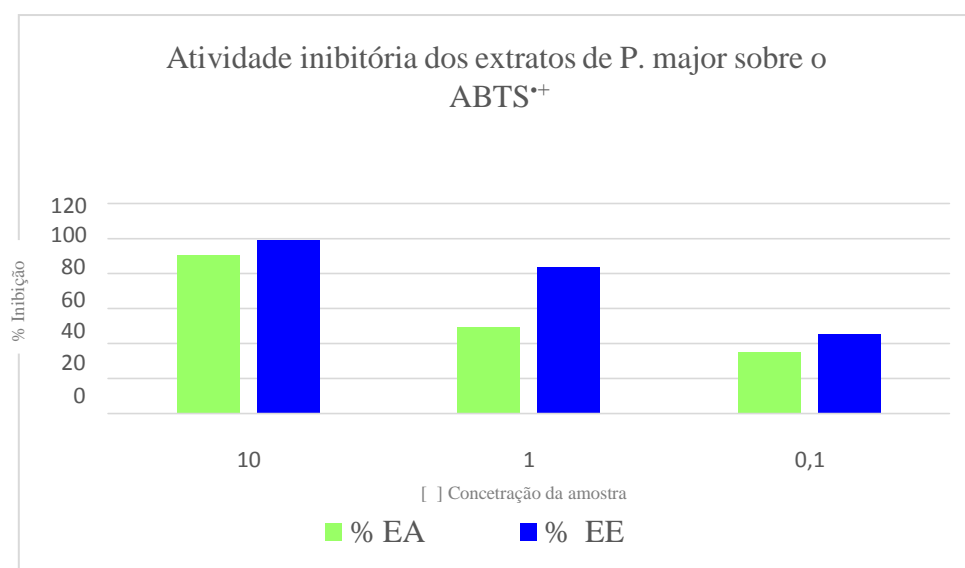
Fonte: o autor, 2022

De acordo com os valores apresentados (tabela 1) demonstrou-se que a diferença de polaridade dos solventes empregados interferiu na concentração de fenóis totais, pois a concentração desses compostos foi superior nas amostras obtidas por extração etanólica ($181,66 \mu\text{g.mL}^{-1} \pm 0,18$), ($117,84 \mu\text{g.mL}^{-1} \pm 0,20^{\text{d}}$) e ($32,54 \mu\text{g.mL}^{-1} \pm 0,12^{\text{e}}$) em ordem decrescente de concentração (10, 1 e $0,1 \mu\text{g.mL}^{-1}$), quando comparados a amostra obtida por extração aquosa ($108,87 \mu\text{g.mL}^{-1} \pm 0,23^{\text{a}}$), ($88,72 \mu\text{g.mL}^{-1} \pm 0,15^{\text{c}}$) e ($15,87 \mu\text{g.mL}^{-1} \pm 0,09^{\text{f}}$) em ordem decrescente de concentração (10, 1 e $0,1 \mu\text{g.mL}^{-1}$), apresentando diferença estatística significativa entre os tipos de extratores.

3.2. Atividade dos extratos de *P. Major* sobre o ABTS^{•+}

Os resultados do gráfico apresentado na figura 2 demonstram a atividade antioxidante da *P. major* sobre o ABTS^{•+}.

Figura 2 - Percentual de inibição da atividade antioxidante das soluções de *P. major* sobre o ABTS^{•+} com diferentes solventes



Observa-se que na maior concentração dos extratos aquoso e etanólico apresentam significativa capacidade de reduzir o radical formado, próximo de uma efetividade de 100% de inibição. À medida que a concentração diminui, há uma queda acentuada da capacidade antioxidante sobre ABTS^{•+} principalmente para o extrato aquoso, já o extrato etanólico mantém a atividade antioxidante mais constante mesmo em concentrações mais baixas.

3.3 Atividade citotóxica sobre hemácias.

Para a análise de citotoxicidade sobre células normais, utilizaram-se hemácias, que são células de fácil obtenção e representam bem o modelo de células normais de rápida reposição no sistema circulatório. Após a incubação das hemácias com diferentes concentrações dos extratos aquoso e etanólico da *P. major*, e outras soluções utilizadas as quais poderiam servir como interferente, o sistema foi centrifugado a fim de mensurar a solução espectrofotometricamente, $\lambda=540$ nm, o resultado da absorbância correspondente a quantidade de hemoglobina liberada pela atividade citotóxica dos extratos de *P. major*, que aplicada na equação 2, forneceu a porcentagem de hemólise dos compostos (tabela 2), avaliados comparativamente a um 100% de hemólise.

Tabela 2 - Citotoxicidade da das soluções de *P. major* com diferentes solventes sobre um modelo de hemácias (3%), representado em percentual de hemólise em 24 h. Valores expressos como média e desvio padrão.

Amostras Concentração (ug/mL)	EA % Hemólise	EE % Hemólise
10	0,50 ± 0,018	0,62 ± 0,027
1	0,0 ± 0,0	0,35 ± 0,031
0,1	0,0 ± 0,0	0,13 ± 0,014
Etanol 10	0,09 ± 0,007	0,08 ± 0,007

4. Discussão

A partir dos resultados obtidos podemos avaliar que, as soluções obtidas da *P. Major* são ricas em compostos fenólicos, pois em trabalho semelhante, Camargo et.al., 2016¹⁷ encontrou teor de fenólicos totais para os chás da *C. sinensis*, 1 ug.mL⁻¹ obtidas por diferentes métodos de fermentação, a saber, os chás verde (76,00 ug.mL⁻¹ ± 0,162) e branco (85,36 ug.mL⁻¹ ± 0,057) quando comparados ao vermelho (45,47 ug.mL⁻¹ ± 0,102) e preto (43,34 ug.mL⁻¹ ± 0,034). No presente trabalho a concentração apresentou-se superior (tabela 1), mostrando ainda diferença significativa entre os métodos de extração dos metabólitos (88,72 ± 0,15^c, para a EA e 117,84 ± 0,20^d para a EE em solução de 1ug.L⁻¹). Foi possível observar ainda que o método de quantificação apresentou-se linear, pois o R² foi de 0,9975. O resultado da quantificação de compostos fenólicos sugere que os extratos que possuem um conteúdo de fenóis totais mais elevado, conseqüentemente apresentam uma maior atividade antioxidante¹⁸.

A pesquisa da atividade antioxidante sobre ABTS^{•+} tem sido usado amplamente como modelo experimental, para a análise da atividade antioxidante de produtos naturais devido a sua característica catiônica semelhante ao OH[•], que é considerada a espécie reativa de oxigênio (ERO) mais reativa em sistemas biológicos, devido a sua rápida capacidade em se combinar com metais ou outros radicais, o seu curto tempo de meia vida, e de possuir a capacidade de oxidar biomoléculas, sem preferência ou especificidade¹⁹. Essa ERO pode ser produzida a partir da reação do HOCl e O₂^{•-} ou pelas reações de Fenton e Harber-Weiss, de ocorrência durante o processo inflamatório.

A produção de EROS ocorre naturalmente em células aeróbicas e sua superprodução tem sido associada com a peroxidação lipídica além da sua acumulação estar relacionada a ocorrência de grande quantidade de doenças crônicas¹⁷.

Portanto, é coerente analisar a atividade antioxidante de produtos naturais, pois um produto natural de grande destaque em relação às suas atividades biológicas é a curcumina. Sabe-se que as atividades biológicas como anti-inflamatória e antitumoral conferidas à curcumina são dependentes de sua capacidade antioxidante^{20,21}.

O Gráfico da figura 2 demonstra a atividade antioxidante das soluções obtidas da *P. Major* sobre o ABTS^{•+}. Observa-se que na maior concentração das soluções apresentam a mesma capacidade de reduzir o radical formado, próximo de uma efetividade de 100% de inibição. À medida que a concentração diminui, há uma queda da capacidade antioxidante sobre ABTS^{•+} principalmente para as soluções obtidas por extração aquosa.

O emprego da curcumina de forma tópica demonstrou tanto a remoção de EROS de modo não enzimático, quanto a indução ao aumento da expressão de enzimas anti oxidantes²². Explica-se a afirmativa acima pela sua capacidade em apresentar tanto atividades antioxidantes, em baixas concentrações (5 e 10 µg.mL⁻¹), quanto atividades pró oxidativas, presentes em concentrações mais elevadas (25 µg.mL⁻¹)²³.

Considerando que a população que faz uso de soluções obtidas da *P. major* a faz sob a forma de uso tópico e uso interno, há a necessidade de se demonstrar a segurança dessas soluções, para isso se torna-se importante a avaliação de baixa toxicidade sobre células normais, pois metabólitos secundários, podem em doses elevadas apresentar toxicidade por atividades pró oxidativas^{23,24}.

O resultado do ensaio de hemólise pode ser visualizado na tabela 2, a qual não foi plotada sob a forma de gráfico, pois não ficaria visual, dada ao baixo percentual de hemólise. Observou-se a aparente ausência da hemólise quando a solução de hemácias foi tratada com solução aquosa nas diversas concentrações, exceto na maior (10ug.mL^{-1}), corroborando com o descrito acima^{23,24}. Já na solução obtida por extração aquosa observa-se um percentual pequeno, porém presente em todas as concentrações, fato esse que não pode ser atribuído ao etanol em si, pois quando o mesmo foi utilizado puro e na concentração mais alta (10ug.mL^{-1}), apresentou percentual de hemólise não significativo quando comparado ao EA da *P. major*.

Desse modo podemos inferir que as soluções obtidas da *P. major* são ricas em compostos fenólicos, o que justifica sua atividade antioxidante e pouco tóxica para células normais. Quanto ao método de extração observa-se que a extração por meio etanólico extrai uma concentração maior dos compostos fenólicos.

5. REFERÊNCIAS

- 1 - BRASIL. Portaria n. 971, de 03 de maio de 2006. Dispõe e aprova a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) no Sistema Único de Saúde. Disponível em: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2006/prt0971_03_05_2006.html.
- 2 - SIVEEN, K. S.; UDDIN, S.; MOHAMMAD, R. M. Targeting acute myeloid leukemia stem cell signaling by natural products. **Molecular Cancer**, 2017; 16, 1: 1-13.
- 3 - SUETH-SANTIAGO, V.; MENDES-SILVA, G. P.; DECOTÉ-RICARDO, D.; LIMA, M. E. F. Curcumina, o pó dourado do açafão-da-terra: introspecções sobre química e atividades biológicas. **Química Nova**, 2015; 38, 4: 538-552,.
- 4 - JOHNSON, K. E.; FORWARD, J. A.; TIPPY, M. D.; CEGLOWSKI, J. R.; EL-HUSAYNI, S.; KULENTHIRARAJAN, R.; MACHLUS, K. R.; MAYER, E. L.; ITALIANO, J. E. JR.; BATTINELLI, E. M. Tamoxifen Directly Inhibits Platelet Angiogenic Potential and Platelet-Mediated Metastasis. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, 2017; 37:664–674.
- 5 - SOMENSI, L. B.; CURY, T. B.; CURY, B. J.; STEIMBACH, V. M. B.; NIERO, R.; SOUZA, L. M.; SILVA, M.; ANDRADE, S. F. Hydroalcoholic extract from bark of *Persea major* (Meisn.) L.E. Kopp (Lauraceae) exerts antiulcer effects in rodents by the strengthening of the gastric protective factors, **Journal of Ethnopharmacology**, 2017; 209: 294-304.

- 6 - MARANHO, L.T; PREUSSLER, K. H; ROCHA, L. D. Organização estrutural da casca de *Persea major* Kopp (Lauraceae). **Acta Botanica Brasilica**, 2009; 23(2): 509-515.
- 7 - GOTTLIEB, O. R. **Chemosystematics of the lauraceae**. Phytochemistry. 1972; 11:1537-70.
- 8 - BATISTA, A. N. L. de; JUNIOR, J. M. B.; LÓPEZ, S. N.; FURLAN, M.; CAVALHEIRO, A. J.; SILVA, D. H. S.; BOLZANI, V. S. da. Aromatic compounds from three brazilian Lauraceae species. **Química Nova**, 2010; 33 (3): 321-323.
- 9 - VOLPATO, L.; GABARDO, M. C. L.; LEONARDO, D. P.; TOMAZINHO, P. H.; MARANHO, L. T.; BARATTO-FILHO, F. Effectiveness of *Persea major* Kopp (Lauraceae) extract against *Enterococcus faecalis*: a preliminary in vitro study. **BMC Res Notes**, 2017; 10: 119-124.
- 10 - SIMÕES, C.M.O. Farmacognosia da Planta ao Medicamento - 6 a Ed. UFSC 2010
- 11 - HIGDON, J.V.; FREI, B. Tea catechins and polyphenols: health effects, metabolism, and antioxidant functions, **Critical Reviews in Food Science Nutrition**, 2003; 43: 89-143.
- 12 - COSTA, R.M.; MAGALHÃES, A.S.; PEREIRA, J.A.; ANDRADE, P.B.; VALENTÃO, P.; CARVALHO, M.; SILVA, B.M. Evaluation of free radical-scavenging and antihemolytic activities of quince (*Cydonia oblonga*) leaf: A comparative study with green tea (*Camellia sinensis*). **Food and Chemical Toxicology**, 2009; 47: 860-865.
- 13 - BORA, K.; MIGUEL, O.G.; ANDRADE, C.A.; OLIVEIRA, A.O.T. Determinação das concentrações de polifenóis e do potencial antioxidante das diferentes frações do extrato de folhas de *Dicksonia sellowiana*, (Presl.) Hook, DICKSON IACEAE. **Revista Visão acadêmica**, 2005; 6: 6-15.
- 14 - RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolourisation assay. **Free Radical Biology and Medicine**, 1999; 26: 1231-1237.
- 15 - ESPADA, R.; VALDESPINA, S.; ALFONSO, C. RIVA, G. BALLESTEROS, M.P. TORRADO. Effect of aggregation state on the toxicity of different amphotericin B preparations. **International Journal of Pharmaceutics**, 2008; 361: 64-69.
- 16 - JAIN, N.C. et al. Schalm's veterinary hematology. 5.ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 2006. 1344p.
- 17 - CAMARGO, L. E. A.; PEDROSO, L. S.; VENDRAME, S. C.; MAINARDES, R. M.; KHALIL, N. M. Antioxidant and antifungal activities of *Camellia sinensis* (L.) Kuntze leaves obtained by different forms of production. **Brazilian Journal of Biology**, 2016; 76 (2): 428- 434.

- 18 - ALMAJANO, M.P.; CARBÓ, R.; JIMENEZ, J.A.L.; GORDON, M.H. Antioxidant and antimicrobial activities of tea infusions. *Food Chemistry*, 2008; 108: 55–63.
- 19 - TSANG, A.H.K.; CHUNG, K.K.K. Oxidative and nitrosative stress in Parkinson's disease. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2009; 1792: 643–650.
- 20 - PRASAD, S.; GRUPTA, S. C.; TYAGI, A. K.; AGGARWAK, B. B. Curcumin, a component of golden spice: From bedside to bench and back. *Biotechnology Advances*, 2014; 32: 1053 – 1064.
- 21 - AKBİK, D.; GHADIRI, M.; CHRZANOWSKI, W.; ROHANIZADEH, R. Curcumin as a wound-healing agent. *Life Sciences*. 2014; 116: 1-7.
- 22 - PANCHATCHARAM, M.; MIRIYALA, S.; GAYATHRI, V.; SUGUNA, L. Curcumin improves wound healing by modulating collagen and decreasing reactive oxygen species. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 2006; 290: 87-96.
- 23 - SCHATSTUHL, A.; MUTSAERS, H.; PENNING, S.; SZAREK, W.; RUSSEL, F.; WAGENER, F. Curcumin-induced fibroblast apoptosis and in vitro wound contraction are regulated by antioxidants and heme oxygenase: implications for scar formation. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 2009; 13 (4): 712-725,.
- 24 - PEDROSO, L. S. ; FAVERO, G. M. ; CAMARGO, L. E. A. ; MAINARDES, RUBIANA MARA ; KHALIL, NAJEH MAISSAR. Effect of the o-methyl catechols apocynin, curcumin and vanillin on the cytotoxicity activity of tamoxifen. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry (Print)*, 2013; 28 (.4): 734-40.