



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO**

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO**

**UNIVERSIDADE REGIONAL DO CARIRI**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ETNOBIOLOGIA  
E CONSERVAÇÃO DA NATUREZA – PPGETNO**

**GERSON JAVIER TORRES SALAZAR**

**Identificação de metabólitos secundários fenólicos, avaliação da atividade antioxidante e toxicidade das cascas do caule de *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. como base de compreensão da sua bioatividade para novas formas de usos medicinais**

**CRATO - CE**

**2022**

**GERSON JAVIER TORRES SALAZAR**

**Identificação de metabólitos secundários fenólicos, avaliação da atividade antioxidante e toxicidade das cascas do caule de *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. como base de compreensão da sua bioatividade para novas formas de usos medicinais**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Etnobiologia e Conservação da Natureza (UFRPE, UEPB, URCA e UFPE) como parte dos requisitos para obtenção do título de doutor em Etnobiologia e Conservação da Natureza.

Orientador: Prof. Dr. José Galberto Martins da Costa  
Universidade Regional do Cariri URCA

**CRATO - CE**

**2022**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal Rural de Pernambuco  
Sistema Integrado de Bibliotecas  
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

S161i

Salazar, Gerson Javier Torres

Identificação de metabólitos secundários fenólicos, avaliação da atividade antioxidante e toxicidade das cascas do caule de *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. como base de compreensão da sua bioatividade para novas formas de usos medicinais / Gerson Javier Torres Salazar. - 2022.

204 f. : il.

Orientador: Jose Galberto Martins da Costa.

Inclui referências, apêndice(s) e anexo(s).

Tese (Doutorado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Etnobiologia e Conservação da Natureza, Recife, 2022.

1. *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. 2. barbatimão. 3. medicina popular. 4. atividade antioxidante. 5. toxicidade. I. Costa, Jose Galberto Martins da, orient. II. Título

CDD 304.2

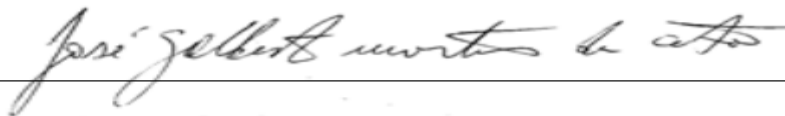
---

**GERSON JAVIER TORRES SALAZAR**

**Identificação de metabólitos secundários fenólicos, avaliação da atividade antioxidante e toxicidade das cascas do caule de *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. como base de compreensão da sua bioatividade para novas formas de usos medicinais**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Etnobiologia e Conservação da Natureza (UFRPE, UEPB, URCA e UFPE) como parte dos requisitos para obtenção do título de doutor em Etnobiologia e Conservação da Natureza.

Aprovada em 20 de junho de 2022




Prof Dr. José Galberto Martins da Costa - URCA  
(Presidente/Orientador)



Prof(a) Dra. Elcida Araujo - UFPE



Prof Dr. Henrique Douglas Melo Coutinho – URCA



Prof(a) Dra. Maria Flaviana Bezerra Moraes-Braga – URCA



Prof Dr. Raimundo Nonato Pereira Teixeira - URCA

**CRATO - CE**

**2022**

## AGRADECIMENTOS

A Deus por me dar o dom da vida e o livre arbítrio para escolher o que fazer e que caminhos trilhar, ainda tendo a certeza de que independentemente das minhas escolhas, Ele nunca me desampara. Graças Deus por cuidar de todos meus seres amados que se encontram a muitos quilômetros de distância, quase nada posso fazer para cuidá-los, mas a sensação de tranquilidade que me dá ao protegê-los, estabelece um ponto de equilíbrio na minha vida, cujo valor é incomensurável. Agradeço por me levar nos palmos das tuas mãos, em todos os meus caminhos e projetos. Senhor, obrigado por ser a rocha forte sob a qual edifico a minha vida.

Aos meus imensamente amados e constantes pais, por não desviar o olhar de mim e me acompanhar física e/ou espiritualmente com as suas orações, amor abnegação por onde ando. Mãe Gloria del Carmen Salazar de Torres, a senhora é uma benção na minha vida, sei que seu amor por mim não tem medida, você é combustível no meu viver, pai José Cipriano Torres Urbano, o senhor é para mim um exemplo de vida em todos os aspectos, você é referência de comportamento para ser um bom homem de Deus. Qualquer intento por descrever a minha boaventura por ter vocês, é curto e defeituoso.

Aos meus irmãos, Njurka Coromoto, siempre presente com a suas características de capacidade na escuta e a sua alegria para me impulsionar nos momentos das provações; Gloris Josefina, com seu forte caráter, não obstante demonstrando preocupação por a minha saúde; Glenda José, com seu dons especiais da paciência, calma e equilíbrio emocional, que a dota do poder resolutivos nas situações em que sempre preciso do seu auxílio; José Daniel, com a sua equanimidade e temperamento combativo que não fraqueja ante as dificuldades, um guerreiro de Deus; e Geneisis Jesus, com a sua coragem para enfrentar o diário viver, e ao mesmo tempo sua alegria trasbordante em cada momento, mesmo quando está em meio a treva o seu sorriso nunca se apaga, ele é o guerreiro alegre. Todos eles, mesmo que imbuídos em seus afazeres cotidianos torcem pelo meu crescimento profissional, e vibram com os meus sucessos.

Ao orientador e companheiro professor José Galberto Martins da Costa pela confiança e apoio desde o início; por ter aberto o seu laboratório, por ter propiciado condições para desenvolver essa pesquisa e por compreender cada momento pessoal que atravessei. Pelas oportunas conversas que ajudaram a nortear a pesquisa. Aos colegas Fabiola Rodrigues, Fábio Rodrigues, Junio Dias por sua inestimável e colaborativa ajuda em boa parte dos ensaios *in vitro*, Cicera Janaine Camilo, Carla Nonato, Debora Odília

Leite, Natalia Kelly Carvalho e Johnatan Wellisson Silva, que fizeram mais amena a minha passada pelo Laboratório de Pesquisa de Produtos Naturais.

Aos professores Henrique Douglas Melo Coutinho, Maria Flaviana Bezerra Morais-Braga, Marta Maria de Almeida Souza pelas suas valiosas contribuições no desenvolvimento da minha pesquisa tanto no cenário experimental como também na compreensão dos aspectos etnofarmacológicos. Ao professor Francisco Assis Bezerra da Cunha, por ter me aberto tão gentilmente e atentamente as portas do seu laboratório de criação de *Drosophila melanogaster* para poder desenvolver uma parte crucial da minha pesquisa nos ensaios *in vivo*.

A Sandra Mara Pimentel Duavy, uma bela e amada surpresa da vida. Obrigado pela sua amorosa companhia de vida e todo o apoio além do atinente ao doutorado, na saúde e nas doenças, na fartura e na precariedade da vida; muitas experiências, viagens, diligências, conversas sob assuntos corriqueiros ou complexos, em soma uma história de vida excitante no percorrer de todo este tempo.

A Elkin Bedoya e Liadis Bedoya, amigos desde tempos no que cursávamos o ensino médio, que tem chegados a serem meus irmãos, companheiros da fé e colunas de oração que me confortam e apoiam quando os necessito, mas que também me confrontam quando necessário para voltar ao andar certo. A Gladis Sayas de Bedoya, mãe dos meus irmãos da fé, ela é como uma segunda mãe para mim.

Aos professores, funcionários e colegas de outras turmas do PPGETNO da UFRPE, anteriores e posteriores a minha, pelos encaminhamentos, facilitações, discussões, debates e leituras, enfim, por todas as contribuições que recebi durante as disciplinas que compõem este doutorado.

À banca examinadora, composta pelo Professor Dr. Henrique Douglas Melo Coutinho, Professora Dra. Maria Flaviana Bezerra Morais-Braga, pelas ricas contribuições para o desenvolvimento desta dissertação.

À Universidade Regional do Cariri e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES pelo incentivo à pesquisa através da concessão das bolsas de mestrado.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

	Pág.
<b>Figura 1</b> <i>Stryphnodendron rotundifolium</i> Mart., em diferentes épocas do ano, na Chapada do Araripe.....	33
<b>Figura 2</b> Localização geográfica da chapada do Araripe.....	34
<b>Figura 3</b> Vistas aéreas de diferentes partes da chapada do Araripe.....	34
<b>Figura 4</b> Estrutura química do ácido gálico.....	38
<b>Figura 5</b> Estrutura química do ácido elágico.....	38
<b>Figura 6</b> Estrutura geral de flavonóides.....	38
<b>Figura 7</b> Estrutura de taninos hidrolisáveis.....	38
<b>Figura 8</b> Estrutura dos taninos condensados.....	39
<b>Figura 9</b> Compostos fenólicos encontrados em vegetais.....	40
<b>Figura 10</b> Biossíntese de flavonóides e taninos.....	41
<b>Tabela 1</b> Proantocianidinas de acordo com o grau de hidroxilação dos anéis A e B dos monómeros básicos.....	42
<b>Figura 11</b> A) Reação de transferência de elétron na presença de oxigênio gerando um complexo polifenólico-Fe <sup>+3</sup> . B) Redução do Fe <sup>+3</sup> , pela formação de semiquinona e quinona e Fe <sup>+2</sup> . R=H, OH.....	45
<b>Figura 12</b> Obtenção da fração rica em compostos tânicos, quantificação e identificação de compostos fenólicos.....	47
<b>Figura 13</b> Mecanismo de defesa antioxidante enzimático.....	50
<b>Figura 14</b> Formação do radical ABTS <sup>•+</sup> pela ação do persulfato de potássio e sua redução produzida por um antioxidante.....	51
<b>Figura 15</b> Reação química que descreve a produção de Fe <sup>2+</sup> a partir da redução de Fe <sup>3+</sup> presente no complexo com TPTZ (2,4,6-tripiridil- <i>s</i> -triazina)..	52
<b>Figura 16</b> Reação química que descreve a inibição do radical DPPH <sup>•</sup> .....	52
<b>Figura 17</b> Formação do aduto 1:2 vermelho fluorescente entre MDA e TBA por meio de um mecanismo de adição nucleofílica catalisado por ácido.....	53
<b>Figura 18</b> Reação química competitiva que descreve a formação do complexo ferroína (ph) <sub>3</sub> Fe <sup>+2</sup> a partir de (Fe <sup>+2</sup> - Fe <sup>+3</sup> ) / fenantrolina, em presença da fração rica em taninos.....	54
<b>Figura 19</b> Principais produtos da oxidação do DNA por <sup>•</sup> OH.....	57
<b>Figura 20</b> Provável mecanismo para a formação de MDA a partir do componente 2-desoxirribose de um desoxirribonucleotídeo de DNA.....	58
<b>Figura 21</b> Processo de lipoperoxidação e formação de EROs.....	62
<b>Figura 22</b> Moscas <i>Drosophila melanogaster</i> aumentadas 40X.....	64
<b>Figura 23</b> Material suplementar do artigo: An update on the ethnobotanical, phytochemical, and pharmacological characteristics of the genus <i>Stryphnodendron</i> .....	199
<b>Figura 24</b> Comprovante do SISGEN.....	203

<b>Figura 25</b> Comprovante do MMA, ICMBio, SISBIO.....	204
--	-----



## LISTA DE SÍMBOLOS, ABREVIATURAS E SIGLAS

**UPLC–ESI-qTOF-MS/MS:** Cromatografia Líquida de UltraPerformance - Ionização por ElectroSpray - análise de espectrometria de massa Tandem-tempo-de-voo em quadrupolo

**MS:** Espectrometria de massa

**DPPH•:** 1,1-difenil-2-picrilhidrazil

**ABTS<sup>•+</sup>:** 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)

**FRAP:** Poder antioxidante redutor de íons Fe<sup>+3</sup>

**RAC:** Capacidade Antioxidante Relativa

**o-phe:** 1,10 o-fenantrolina,

**2-DR:** 2- desoxirribose,

**IC<sub>50</sub>:** Concentração na que a propriedade avaliada atinge 50% de atividade

**Fe<sup>+2</sup> / Fe<sup>+3</sup>:** Ferro em estados de oxidações +2 e +3

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>:** Peróxido de oxigênio

**FS:** Fração acetona: água da casca do caule de *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. Seca

**Flavan 3-ols:** Derivados de flavanas com estrutura 2-fenil-3,4-diidro-2H-cromen-3-ol

**MCF-7 e MDA-MB-435:** Linhagens celulares de adenocarcinoma de mama humano

**B16F10Nex-2:** Células tumorais de melanoma murino B16F10Nex-2

**EROs:** Espécies Reativas de Oxigênio

**ERs:** Espécies Reativas

**FLONA:** Floresta Nacional do Araripe

**SISGEN:** Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado

**DNA:** Ácido Desoxirribonucleico

**Mo<sup>+6</sup> / Mo<sup>+5</sup>:** Molibdênio nos estados de oxidações +6 e +5

**TPTZ:** 2,4,6 tripiridil-s-triazina

**ANOVA:** Análise de Variância

**OMS:** Organização Mundial de Saúde

**NIIP:** Instituto Nacional de Propriedade Industrial

**OMPI:** Organização Mundial da Propriedade Intelectual

**ILDIS:** The International Legume Database and Information Service

**FAL:** fenilalanina amônia liase

**Acetil – CoA:** Acetil coenzima A

**PACs:** Proantocianidinas  
**OPACs:** Oligômeros de PACs  
**O<sub>2</sub><sup>•-</sup>:** Ânion superóxido  
**<sup>1</sup>O<sub>2</sub>:** Oxigênio singlete  
**OH<sup>•</sup>:** Radical hidroxil  
**NO<sup>•</sup>:** Óxido nítrico  
**Dina/cm:** Unidade de força / unidade de comprimento  
**cP:** Centipoise (unidade de medida de viscosidade)  
**Debye:** Unidade de momento de dipolo  
**SOD:** Superóxido dismutase  
**GPx:** Glutathione peroxidase  
**CAT:** Catalase  
**GSH:** Glutathione reduzida  
**GSSG:** Glutathione oxidada  
**GR:** Glutathione reductase  
**GST:** glutathione transferase  
**NADPH:** Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato reduzida  
**G6PDH:** Glicose 6-fosfato desidrogenase  
**CoQH<sub>2</sub>:** Ubihidroquinona  
**NADP<sup>+</sup>:** Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato oxidada  
**nm:** Nanometro  
**Abs:** Absorbância  
**R<sup>•</sup>:** Espécie radical  
**DPPH-H:** Espécie não reativa DPPH-H hidrazina incolora ou de cor amarelo pálido  
**MDA:** Malonildialdeído  
**TBA:** Ácido tiobarbitúrico  
**MDA-TBA<sub>2</sub>:** Aduto 1:2 vermelho fluorescente entre MDA e TBA  
**(ph)<sub>3</sub>Fe<sup>+2</sup>:** Complexo ferroína a partir de (Fe<sup>+2</sup> - Fe<sup>+3</sup>) / fenantrolina  
**HH:** Hemocromatose hereditária  
**L<sup>•</sup>:** Radical lipídico  
**LOO<sup>•</sup>:** Radical peroxil  
**LH:** Ácido graxo poliinsaturado  
**ECVAM:** Centro Europeu para a Validação de Métodos Alternativos

## SUMÁRIO

	Pag.
RESUMO.....	11
ABSTRACT.....	13
ESTRUTURAÇÃO DA TESE.....	15
1 INTRODUÇÃO.....	18
1.1 OBJETIVOS.....	23
1.1.1 Geral.....	23
1.1.2 Específicos.....	23
1.2 ESTRATÉGIAS DE PESQUISA.....	24
CAPÍTULO I: Fundamentação teórica.....	28
2.1 Plantas medicinais no mundo e no Brasil.....	28
2.2 <i>Stryphnodendron</i> .....	30
2.2.1 <i>Stryphnodendron rotundifolium</i> Mart.....	33
2.3 Compostos fenólicos.....	36
2.3.1 Biossíntese dos flavonóides e taninos.....	40
2.3.2 Propriedades biológicas e farmacocinética das proantocianidinas.....	43
2.3.3 Propriedades farmacológicas das proantocianidinas.....	44
2.4 Compostos fenólicos: extração, quantificação e identificação.....	46
2.5 Defesa antioxidante endógena e exógena.....	49
2.6 Determinação de atividade antioxidante <i>in vitro</i> de produtos naturais.....	51
2.7 Espécies Reativas de Oxigênio, estresse oxidativo e condições patológicas.....	55
2.7.1 Ferro.....	59
2.7.2 Peroxidação lipídica.....	61
1.8 Avaliação de toxicidade por modelos alternativos.....	62
1.8.1 <i>Drosophila melanogaster</i> na avaliação de parâmetros toxicológicos.....	63
1.9 Dimensões sócio-culturais da pesquisa.....	65
2. REFERÊNCIAS.....	70
CAPÍTULO 2: ARTIGO 1: An update on the ethnobotanical, phytochemical, and pharmacological characteristics of the genus <i>Stryphnodendron</i> .....	101
CAPÍTULO 3: ARTIGO 2: Antioxidant Activity of <i>Stryphnodendron rotundifolium</i> Mart. Stem Bark Fraction in an Iron Overload Model.....	159
CAPÍTULO 4: ARTIGO 3: Advances in Evaluation of Antioxidant and Toxicological Properties of <i>Stryphnodendron rotundifolium</i> Mart. in <i>Drosophila melanogaster</i> Model.....	178
CAPÍTULO 5: CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	195
5.1 PRINCIPAIS CONCLUSÕES.....	195
5.2 CONTRIBUIÇÕES TEÓRICAS E/OU METODOLÓGICAS DA TESE.....	196
5.3 PRINCIPAIS LIMITAÇÕES DO ESTUDO.....	197
5.4 PROPOSTAS DE INVESTIGAÇÕES FUTURAS.....	197
5.5 ORÇAMENTO.....	198
ANEXOS: Material suplementar do artigo: An update on the ethnobotanical, phytochemical, and pharmacological characteristics of the genus <i>Stryphnodendron</i> ....	199
Comprovante do SISGEN.....	203
Comprovante do MMA, ICMBio, SISBIO.....	204

Torres Salazar Gerson Javier; Dr. em Etnobiologia e Conservação da Natureza; Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE); junho 2022; Identificação de metabólitos secundários fenólicos, avaliação da atividade antioxidante e toxicidade das cascas do caule de *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. como base de compreensão da sua bioatividade para novas formas de usos medicinais; José Galberto Martins da Costa.

## RESUMO

*Stryphnodendron rotundifolium* Mart., conhecido como "barbatimão" planta com ocorrência na Chapada do Araripe, é tradicionalmente usada na forma de decocção ou infusão para o tratamento de feridas, úlceras gástricas, gastrite, inflamações, infecções, e câncer, condições que são precedidas e evoluem através de processos oxidativos, entre outras. O objetivo deste estudo foi avaliar a atividade antioxidante, toxicidade e caracterizar quimicamente a fração acetona: água (7:3) das cascas do caule do *Stryphnodendron rotundifolium* Mart., como base de compreensão da sua bioatividade para novas formas de usos medicinais. Foram determinados os níveis de compostos fenólicos totais pelo reagente *Folin-Ciocalteu*, flavonóides pelo reagente cloreto de alumínio ( $\text{AlCl}_3$ ), taninos hidrolisáveis pela reação com (iodato de potássio)  $\text{KIO}_3$  e taninos condensados pelo ensaio da vanilina, a identificação de constituintes foi feita por análise de Cromatografia Líquida de Ultra eficiência acoplada com Espectrometria de Massa de Ionização por Eletrospray de Tempo de Voo quadrupolo (UPLC–ESI–qTOF–MS/MS). A atividade antioxidante *in vitro* foi avaliada pelos métodos: sequestro de radical livre 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH<sup>\*</sup>), descoloração de radical 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS<sup>+</sup>), Poder antioxidante redutor de íons  $\text{Fe}^{+3}$  (FRAP), Capacidade Antioxidante Relativa (RAC) que avalia a redução do  $\text{Mo}^{+6}$  no reagente de molibdênio (VI), atividade quelante – redutora de ( $\text{Fe}^{+2}/\text{Fe}^{+3}$ ) no ensaio da 1,10 o-fenantrolina, degradação oxidativa da 2- desoxirribose, peroxidação lipídica em tecidos sanguíneos de *Drosophila melanogaster*. A toxicidade *in vivo* foi avaliada por taxa de mortalidade de *Artemia salina*, e em moscas *Drosophila melanogaster* por tempo de sobrevivência e parâmetros locomotores. Revelou-se  $\text{IC}_{50}$  8,65  $\mu\text{g}/\text{mL}$  e inibição máxima de 82,4% do DPPH<sup>\*</sup>;  $\text{IC}_{50}$  0,74 $\mu\text{g}/\text{mL}$  e eliminação máxima de 95,3% do ABTS<sup>+</sup>;  $\text{IC}_{50}$  3,27 $\mu\text{g}/\text{mL}$  e atividade máxima de 74,7% do FRAP;  $\text{IC}_{50}$  11,10 $\mu\text{g}/\text{mL}$  atividade máxima de 80,62% de RAC; degradação oxidativa da 2-Desoxirribose revelou níveis de proteção de até 72,2% contra  $\text{Fe}^{+2}$  50 $\mu\text{M}$  e 43% contra a reação de Fenton ( $\text{Fe}^{+2}$  50 $\mu\text{M} + \text{H}_2\text{O}_2$  0,5mM); o ensaio da 1,10 o-fenantrolina revelou até 93% de quelação de  $\text{Fe}^{+2}$  e 84% de redução de  $\text{Fe}^{+3}$ , em 0,2mg/mL;  $\text{IC}_{50}$  29,76 $\mu\text{g}/\text{mL}$  e inibição máxima de 70,25 % da peroxidação lipídica. Fenóis totais foram quantificados em 25,02 mg ácido gálico /g. FS (fração seca); taninos condensados em 54,8mg catequina /g. FS; taninos hidrolisáveis em 28,8mg ácido tânico /g. FS; e flavonoides em 3,36 mg quercetina /g. FS. Foram identificados 4'-O-metil-epigalocatequina-epigalocatequina, epigalocatequina-(4→8)-epigalocatequina, ácido gálico, epigalocatequina-(4→8)-epigalocatequina-(4→8)-epigalocatequina, 4'-O-metil-epigalocatequina-3-O-galato (4→6)-epigalocatequina-3-O-galato, epigalocatequina-(4→6)-epigalocatequina, epigalocatequina-(4→8)-epigalocatequina-(4→8)-epigalocatequina-3-O-galato, epigalocatequina, epigalocatequina-(4→8)-epigalocatequina-3-O-gallate, robinetinidol-

4'-O-metil-epigallocatequina e o isômero C-hexosil-O-pentosil-5,7-dihidroxicromona. Ensaio de toxicidade à *Artemia salina*, revelaram mortalidade menor de 10%, na concentração de 0,250mg/mL; tempos de sobrevivências e parâmetros locomotores de moscas *Drosophila melanogaster* suplementadas com a fração, revelaram ausência de toxicidade evidente até 0,250 mg/mL, quando comparada ao controle (0.000 mg/mL), sem alteração de funções locomotoras de escalada e movimento em campo aberto. Em conclusão, a fração tânica de *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. possui potente atividade antioxidante, especialmente por quelação de  $Fe^{+2}$ , indicando ser uma fonte de compostos antioxidantes com potencial para ser utilizada no desenvolvimento de bio-produtos com fins terapêuticos no tratamento de condições patológicas de estresse oxidativo, especialmente aquelas em que a sua fisiopatologia a sobrecarga de ferro desempenha um papel significativo.

**Palavras chaves:** *Stryphnodendron rotundifolium* Mart., barbatimão, medicina popular, atividade antioxidante, toxicidade.

Torres Salazar Gerson Javier; Dr. in Ethnobiology and Nature Conservation; Rural Federal University of Pernambuco (UFRPE); June 2022; Identification of phenolic secondary metabolites, evaluation of antioxidant activity and toxicity of stem bark of *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. as a basis for understanding its bioactivity for new forms of medicinal uses; José Galberto Martins da Costa.

## ABSTRACT

*Stryphnodendron rotundifolium* Mart., known as "barbatimão", a plant with occurrence in Chapada do Araripe, is traditionally used as a decoction or infusion for the treatment of wounds, gastric ulcers, gastritis, inflammation, infections, and cancer, conditions that are preceded and evolve through oxidative processes, among others. The aim of this study was to evaluate the antioxidant activity, toxicity and chemically characterize the acetone:water (7:3) fraction of the stem bark of *Stryphnodendron rotundifolium* Mart., as a basis for understanding its bioactivity for new forms of medicinal uses. The levels of total phenolic compounds were determined by the *Folin-Ciocalteu* reagent, flavonoids by the aluminum chloride reagent ( $\text{AlCl}_3$ ), hydrolysable tannins by the reaction with  $\text{KIO}_3$  and condensed tannins by the vanillin assay. Ultra efficiency coupled with Quadrupole Time of Flight Electrospray Ionization Mass Spectrometry (UPLC–ESI–qTOF–MS/MS). *In vitro* antioxidant activity was evaluated by the following methods: 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH $\cdot$ ) free radical scavenging, 2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) radical decolorization. (ABTS $^{2+}$ ),  $\text{Fe}^{+3}$  ion-reducing antioxidant power (FRAP), Relative Antioxidant Capacity (RAC) that evaluates the reduction of  $\text{Mo}^{+6}$  in the molybdenum reagent (VI), chelating – reducing activity of ( $\text{Fe}^{+2}/\text{Fe}^{+3}$ ) in the 1,10 o-phenanthroline assay, 2-deoxyribose oxidative assay, lipid peroxidation in blood tissues of *Drosophila melanogaster*. *In vivo* toxicity was evaluated by *Artemia salina* mortality rate, and in *Drosophila melanogaster* flies by survival time and locomotor parameters.  $\text{IC}_{50}$  was found to be 8.65 $\mu\text{g}/\text{mL}$  and maximum inhibition of 82.4% of DPPH $\cdot$ ;  $\text{IC}_{50}$  0.74 $\mu\text{g}/\text{mL}$  and maximum elimination of 95.3% of ABTS $^{2+}$ ;  $\text{IC}_{50}$  3.27 $\mu\text{g}/\text{mL}$  and maximum FRAP activity of 74.7%;  $\text{IC}_{50}$  11.10 $\mu\text{g}/\text{mL}$  maximum activity of 80.62% of RAC; oxidative degradation of 2-Deoxyribose revealed protection levels of up to 72.2% against  $\text{Fe}^{+2}$  50 $\mu\text{M}$  and 43% against the Fenton reaction ( $\text{Fe}^{+2}$  50 $\mu\text{M}$  +  $\text{H}_2\text{O}_2$  0.5mM); the 1,10 o-phenanthroline assay revealed up to 93%  $\text{Fe}^{+2}$  chelation and 84%  $\text{Fe}^{+3}$  reduction, at 0.2mg/mL;  $\text{IC}_{50}$  29.76 $\mu\text{g}/\text{mL}$  and maximum inhibition of 70.25% of lipid peroxidation. Total phenols were quantified at 25.02 mg gallic acid/g. DS (dry fraction); tannins condensed into 54.8mg catechin/g. DF; hydrolysable tannins to 28.8mg tannic acid/g. DS; and flavonoids at 3.36 mg quercetin/g. DS. 4'-O-Methyl-epigallocatechin-epigallocatechin, epigallocatechin-(4 $\rightarrow$ 8)-epigallocatechin, gallic acid, epigallocatechin-(4 $\rightarrow$ 8)-epigallocatechin-(4 $\rightarrow$ 8)-epigallocatechin, 4'-O-Methyl -epigallocatechin-3-O-gallate (4 $\rightarrow$ 6)-epigallocatechin-3-O-gallate, epigallocatechin-(4 $\rightarrow$ 6)-epigallocatechin, epigallocatechin-(4 $\rightarrow$ 8)-epigallocatechin-(4 $\rightarrow$ 8)-epigallocatechin-3-O-gallate, epigallocatechin, epigallocatechin-(4 $\rightarrow$ 8)-epigallocatechin-3-O-gallate, robinetinidol-4'-O-methyl-epigallocatechin and the C-hexosyl-O-pentosyl-5,7-dihydroxychromone isomer. *Artemia salina* toxicity tests revealed a mortality of less than 10% at a concentration of 0.250mg/mL; survival times and locomotor parameters of *Drosophila melanogaster* flies supplemented with the fraction, revealed no evident toxicity up to 0.250 mg/mL, when compared to the control (0.000 mg/mL), without alteration of locomotor functions of climbing and movement in the open field. In conclusion, the tannic fraction of

*Stryphnodendron rotundifolium* Mart. has potent antioxidant activity, especially by chelation of Fe<sup>+2</sup>, indicating that it is a source of antioxidant compounds with potential to be used in the development of bio-products with therapeutic purposes in the treatment of pathological conditions of oxidative stress, especially those in which their pathophysiology iron overload plays a significant role.

**Keywords:** *Stryphnodendron rotundifolium* Mart., barbatimão, folk medicine, antioxidant activity, toxicity.

## ESTRUTURAÇÃO DA TESE

A tese está organizada em uma **INTRODUÇÃO**, que contempla uma revisão abordando aspectos relacionados a cura alternativa de doenças através do uso de plantas, por parte de diversos grupos culturais, destacando-se no Brasil as comunidades indígenas, rurais, quilombolas e até urbanas. Relacionando o uso de espécies do gênero *Stryphnodendron* "barbatimão" na medicina popular para o tratamento de diversas condições patológicas e estudos de comprovação de bioatividade e fitoconstituintes, em particular resenhas de uso de partes da espécie *Stryphnodendron rotundifolium* Mart., pelas comunidades tradicionais e locais do Brasil, com múltiplas finalidades medicinais. São salientados estudos de uso medicinal popular, de atividade farmacológicas e constituição fitoquímicas da espécie *Stryphnodendron rotundifolium* Mart., para delinear a importância da pesquisa no aprofundamento do sistemas de conhecimentos relacionados à compreensão dos usos medicinais populares da espécie, seus fitoconstituintes fenólicos, atividade antioxidante e toxicidade, uma vez que grande parte das doenças em humanos tem sua origem e/ou progressão em reações deletérias de base oxidativa, que são em parte responsáveis por injúrias moleculares que ocorrem nas células. Portanto, são proposto os modelos experimentais a usar no desenvolvimento do trabalho e justificados pela suas especificidades e economia na pesquisa de atividade antioxidante e toxicidade, e também pelas semelhanças que apresentam com mecanismos envolvidos na patogênese de diversas doenças humanas.

Neste sentido o objetivo da tese é identificar metabólitos secundários fenólicos e avaliar a atividade antioxidante e toxicidade do extrato acetona: água (7:3) das cascas do caule de *Stryphnodendron rotundifolium* Mart., *in vitro* e em modelos experimentais *in vivo* (*Artemia salina* e *Drosophila melanogaster*), como base para avançar na compreensão da bioatividade de novas formas de usos na medicinal popular, e propor orientações de práticas adaptativas e de inovação que contribuam para o incremento do *status* de conhecimento medicinal da espécie.

O objetivo da pesquisa é alcançado segundo o item **ESTRATÉGIAS DE PESQUISA**, que delinea e justifica o roteiro do trabalho desde a coleta do material vegetal até a avaliação da bioatividade do *Stryphnodendron rotundifolium* Mart., possivelmente exibida pela planta quando se usa para tratar condições patológicas relatadas, através da realização de ensaios de mecanismos diversos de atividade antioxidante e de toxicidade por taxa de sobrevivência e função de parâmetros



locomotores, fazendo uso de diversos modelos experimentais *in vitro* e *in vivo*, quantificação e identificação de constituintes fenólicos com seus respectivos análise estatísticos.

É apresentada uma estruturada e organizada **FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA** dos eixos teóricos sobre os quais a tese se fundamenta, identificada como **CAPÍTULO I**, incluindo um texto das dimensões sócio-culturais ligadas ao tema principal desenvolvido na tese.

Os matérias e métodos assim como os resultados obtidos nesta pesquisa estão descritos nos itens manuscritos e neles constam tópicos, resumo, introdução, materiais e métodos, resultados, discussão, conclusões, nas que se encontram descritos comentários relacionados ao que se considera mais relevante dentro do que foi pesquisado e por último, as referências, item que apresentam as citações feitas na introdução e discussão.

O **CAPÍTULO 2**, é integrado pelos itens descritos no manuscrito identificado como o primeiro artigo de revisão intitulado **An update on the ethnobotanical, phytochemical, and pharmacological characteristics of the genus *Stryphnodendron***, submetido na revista *Journal of Ethnopharmacology*, no que *Stryphnodendron rotundifolium* Mart., se destaca como uma das espécie mais citadas do gênero em estudos etnobotânicos, etnofarmacológicos, de atividades farmacológicas e composição fitoquímica, a revisão evidenciou algumas lacunas enquanto a dados de aspectos toxicológicos nos trabalhos na área etnofarmacológica e nos estudos de atividade farmacológicas, como também poucos estudos antioxidantes, norteando assim, a pesquisa sobre atividade antioxidante do *Stryphnodendron rotundifolium* Mart., *in vitro* e toxicidade *in vivo*, que visou o **CAPÍTULO 3**, o artigo de pesquisa intitulado **Antioxidant Activity of *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. Stem Bark Fraction in an Iron Overload Model**, publicado na revista *Foods*, no que se descobriu que a espécie possui alto teor de proantocianidinas polihidroxiladas com grande capacidade de doação de elétrons, e potente atividade quelante de  $Fe^{2+}$  em condição de sobrecarga, que contribui significativamente na inibição da degradação oxidativa da 2-desoxirribose, além de ter baixa toxicidade, indicando que é uma fonte de compostos antioxidantes com potencial para ser utilizada no desenvolvimento de fármacos no contexto de distúrbios por sobrecarga de ferro. Por sua vez o artigo anterior visou o **CAPÍTULO 4**, a continuidade da pesquisa, com a produção de outro artigo de pesquisa sobre toxicidade *in vivo* e antioxidante da espécie *in vitro*, intitulado **Advances in Evaluation of Antioxidant and Toxicological Properties of *Stryphnodendron rotundifolium* Mart.**

**in *Drosophila melanogaster* Model.**, que foi publicado na revista *Foods*, revelando que em concentrações terapêuticas observou-se expressiva atividade scavenging e inibição de peroxidação lipídica induzida por sobrecarga de ferro, e baixa toxicidade relacionada a ausência de alterações nas funções locomotoras no modelo experimental, o que continua perfilando a espécie como um produto natural promissor no desenvolvimento de drogas para tratar doenças por sobrecarga de ferro.

Contudo, no **CAPÍTULO 5** referente às considerações finais da presente tese, se pretende promover um *status* de conhecimento de bioatividade medicinal sobre a espécie que ultrapasse o meramente conteúdo nos manuscritos publicados, servindo de ponto de alicerse e projeção de novas e mais diversificadas linhas de pesquisas em torno à espécie *Stryphnodendron rotundifolium* Mart na área de bioatividade medicinal, focando especialmente em parâmetros de toxicidade, isolamento e identificação de fitoconstituintes para garantir usos terapêuticos.

## 1. INTRODUÇÃO

Os primeiros achados sobre a cura alternativa de doenças através do uso das plantas, datam de mais de sessenta mil anos, segundo descobertas por meio de pesquisas arqueológicas feitas no Irã. Na China, 3.000 a.C., existiam farmacopeias que compilavam as ervas e as suas indicações terapêuticas, indicando que o uso das plantas medicinais faz parte da história da humanidade, com importância tanto nos aspectos medicinais mais naturais e menos lesiva à saúde, como culturais de domínio exclusivamente humano (DI STASI, 1996).

No Brasil, a prática da medicina pelas ervas tem origem com as comunidades indígenas e a participação das culturas negra e europeia, na época em que era colônia de Portugal (ARAÚJO, 1979; REZENDE; COCCO, 2002; LORENZI; MATOS, 2002). Essa prática, deu-se pelas tribos indígenas, com os ensinamentos dos pajés, que praticavam uma pluralidade de medecinas tradicionais pelas ervas através da transmissão de conhecimentos por gerações, que vêm se transformando e atualizando a partir das especificidades históricas e de sua eficácia pragmática (WAGNER; WISENAUER, 2006; MANUELA *et al.*, 2021, p. 57). Além dos benefícios medicinais da biodiversidade no “bem-estar humano”, os conhecimentos tradicionais a ela associados são também assunto de narrativas orais históricas, da elaboração mítica e de práticas rituais, xamânicas ou religiosas que compõem os regimes de transmissão de saberes, assim como produzem uma memória coletiva, que é revivida e narrada oralmente ao longo das gerações (SEIXAS *et al.*, 2019). No Brasil, estes conhecimentos persistem em comunidades indígenas (OLIVEIRA, 2006), quilombolas (RODRIGUES, 2007; PASA *et al.*, 2015; LISBOA *et al.*, 2017; BELTRESCHI *et al.*, 2018), urbanas (BITU *et al.*, 2015; MACEDO *et al.*, 2018) e rurais (ALVES; POVH, 2013; FAGUNDES *et al.*, 2017).

O uso terapêutico de plantas medicinais tem implicações na identificação de terapias (farmacológicas ou não) que podem gerar melhoria na qualidade de vida em pacientes com doenças crônicas ou na própria sobrevivência; e em descoberta de fontes locais de bio-compostos no desenvolvimento de medicamentos com significativas consequências econômicas, possibilitando a autonomia na gestão de políticas de saúde e alavancar investimentos em ciência e tecnologia (CORDELL; COLVARD, 2012).

Percebe-se que produtos naturais têm sido, historicamente, modelos para fármacos, segundo Newman; Cragg (2016), 25% das prescrições em farmácias nos EUA entre 1959-1980 continham um composto derivado de plantas superiores e 89 dos

medicamentos derivados de plantas usados na medicina ocidental foram descobertos através do estudo de medicinas tradicionais, salientando-se que os produtos naturais continuam a ser protagonistas no mercado farmacêutico e considerados importantes fontes de inovação (DAVID; WOLFENDER; DIAS, 2014; HARVEY; EDRADA-EBEL; QUINN, 2015; NEWMAN; CRAGG, 2016).

Embora, no Brasil, já mais de 350 mil espécies de plantas foram identificadas, um número não superior a dez mil apenas têm alguma propriedade medicinal conhecida, e informações sobre plantas medicinais tem crescido apenas 8% anualmente (GUERRA *et al.*, 2001; REZENDE; COCCO, 2002; FONSECA, 2012). Isto, certamente reafirma a necessidade de seguir no investimento nas pesquisas nessa área. A importância do desenvolvimento de novos medicamentos é evidente, especialmente aqueles derivados de plantas medicinais, devido à sua grande variedade e fácil acesso para pessoas com menos poder de compra, e presume-se que pelo menos metade destas plantas contenham substâncias chamadas de princípios ativos, as quais têm propriedades curativas e preventivas para muitas doenças (LORENZI; MATOS, 2002; IZUMI *et al.*, 2011).

O gênero *Stryphnodendron* Leguminosae (Fabaceae Lindl.), conhecido no Brasil como "casca da virgindade", "casca da juventude", ou "barbatimão" que na língua indígena tupi-guarani significa "a árvore que aperta", têm sido amplamente empregadas na medicina popular para o tratamento de diarreia, leucorréias, como anticoagulante e cicatrizante (VILAR *et al.*, 2010).

Espécies do gênero *Stryphnodendron* têm sido usadas principalmente no tratamento de feridas, infecções e inflamações, embora seu uso no tratamento de dores, lesões, doenças geniturinárias e úlceras gástricas também tenha sido relatado com frequência. Em menor escala, estudos destacam o uso de algumas espécies no tratamento de câncer, problemas respiratórios, sangramentos e diabetes. Onde as cascas são preparadas por maceração, decocção e infusão, para ser administradas em forma oral, tópica e através de banhos de assento (PEREIRA *et al.*, 2009; OLIVEIRA *et al.*, 2014; BITU *et al.*, 2015; MACÊDO *et al.*, 2016; NASCIMENTO *et al.*, 2016; LISBOA *et al.*, 2017; MACEDO *et al.*, 2018; MACÊDO *et al.*, 2018; DURÃO *et al.*, 2021).

Investigações da farmacologia química demonstraram que formulações derivadas do gênero *Stryphnodendron* exibem bioatividade relacionadas à diversidade e teor de seus metabólitos secundários, podendo ter associações a seus usos na medicina popular. Ainda podem ser citadas atividade antimicrobiana (SOUZA *et al.*, 2007a; 2007b; OLIVEIRA *et al.*, 2011; FILHO *et al.*, 2013; SOUZA *et al.*, 2013b; ALMEIDA *et al.*, 2017); antiviral

(FELIPE *et al.*, 2006; CECÍLIO *et al.*, 2012); antifúngica (SANCHES *et al.*, 2005; ISHIDA *et al.*, 2006; 2009; LUIZ *et al.*, 2015; FREITAS *et al.*, 2018); cicatrizante e cura de feridas (LOPES 2003; LOPES *et al.*, 2005; MINATEL *et al.*, 2010); estimuladora da produção e orientação de fibras colágenas na cicatrização (RODRIGUES *et al.*, 2017); anti-inflamatória (LIMA *et al.*, 1998; HENRIQUES *et al.*, 2016; CARVALHO *et al.*, 2020); antioxidante (COSTA *et al.*, 2012; SABINO *et al.*, 2017; SALAZAR *et al.*, 2021); anti-úlceras e gastroprotetor (AUDI *et al.*, 1999; DEMARQUE *et al.*, 2018); antigenotóxica (FILHO *et al.*, 2011); angiogênica e estimuladora do reparo tecidual (PINTO *et al.*, 2015; CHAVES *et al.*, 2016); favorecedora da proliferação da epitelização na cicatrização (COELHO *et al.*, 2010; HERNANDES *et al.*, 2010); e anticâncer (SANTOS *et al.*, 2018; KAPLUM *et al.*, 2018; VALDIVIA *et al.*, 2018).

Cascas dessas espécies têm revelado ácidos fenólicos, flavonóides, flavan 3-ols e taninos (Proantocianidinas) (MELLO *et al.*, 1996a; LOPES *et al.*, 2009; SIQUEIRA *et al.*, 2012; COSTA *et al.*, 2012; VANDESMET *et al.*, 2017; PELLEZ *et al.*, 2018; JUNIOR *et al.*, 2020; GOMES *et al.*, 2021; SALAZAR *et al.*, 2021);

Entre as espécies do gênero, *Stryphnodendron rotundifolium* Mart., tem ocorrências confirmadas no Norte do Brasil (Amazonas, Pará, Tocantins), Nordeste (Bahia, Ceará, Maranhão, Piauí), Centro-Oeste (Goiás, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso), Sudeste (Minas Gerais, São Paulo) e Sul (Paraná). Com domínios fitogeográficos na Caatinga, Cerrado, Pantanal. No entanto, a espécie possui ampla distribuição, principalmente no Cerrado, entre vegetação dos tipos Campo Limpo, Campo Rupestre, Cerrado (*lato sensu*) (SCALON, 2015; BFG, 2015, 2021; LIMA *et al.*, 2020).

*S. rotundifolium* é usada na medicina popular pelas comunidades tradicionais no Nordeste do Brasil, sendo que a casca do caule é empregada especialmente nas formas de decocções e macerações em água (OLIVEIRA, *et al.*, 2012; 2014; BITU *et al.*, 2015; MACÊDO *et al.*, 2016; MACEDO *et al.*, 2018). A planta e especialmente usada pelas mulheres, na forma de banho de assento a partir do chá da casca para infecções vaginais e doenças sexualmente transmissíveis, e dada a propriedade adstringente conferida pelos taninos, ainda a utilizam para promover a constrição vaginal, daí a denominação popular de casca da virgindade (SILVA, 2007).

Quanto aos modos de uso do *S. rotundifolium* Mart., a casca do caule imersa em água, é usada para tratar leucorréias e problemas ginecológicos, como antibacteriano, anti-hemorragico, antiulcerogênico, antidiarreico, anti-inflamatórios, adstringente e antisséptico, para limpeza e cura de feridas, sendo estas propriedades atribuídas ao teor

de taninos presentes nas espécies do gênero (VASCONCELOS *et al.*, 2004). Decoctos, macerados e purê das cascas do caule e raízes são preparados por imersão em água, para tratar feridas, inflamações, gastrite, dores e lesões, úlceras, infecções, câncer, doenças venéreas e hemorragias, por ingestão oral na forma de chás, aplicação tópica e banho (OLIVEIRA *et al.*, 2012; 2014; MACÊDO *et al.*, 2016; 2018).

Estudos farmacológicos têm sido realizados com extratos hidroetanólico e frações ricas em taninos de *S. rotundifolium*, revelando efeito modulador de atividade antibacteriana segundo Oliveira *et al.*, (2011), e atividade citoprotetora (COUTINHO *et al.*, 2017). Em relação a estudos de atividade antioxidante com *S. rotundifolium* Mart., estes são incipientes, no entanto, uma pesquisa *in vitro* e *ex vivo*, com extratos aquosos e hidroetanólico de folhas e cascas da espécie exibiram atividade sequestradora de radicais livres e inibição da peroxidação lipídica induzida por Fe<sup>+2</sup>, levando os autores a sugerir o uso da espécie contra patologias inflamatórias e estresse oxidativo (COSTA *et al.*, 2012).

Acredita-se que atividades farmacológicas do gênero *Stryphnodendron* estão relacionadas aos teores de taninos presentes nas cascas do vegetal, que podem variar entre 20% a 50% dos compostos presentes na planta (CORRÊA, 1978).

É de especial importância o estudo da atividade antioxidante da espécie *S. rotundifolium* Mart, como possível fator mediador de efeito quimioprotetor e anticarcinogênico, como verificado em outras espécies do gênero em linhagens celulares de adenocarcinoma de mama humano, MCF-7 e MDA-MB-435, segundo Sabino *et al.*, (2017); e como preventivo de doenças relacionadas ao estresse oxidativo e proliferação de células tumorais de melanoma murino B16F10Nex-2, segundo (SANTOS *et al.*, 2018; BALDIVIA *et al.*, 2018). O anterior descrito, delinea a importância de pesquisas que envolvam a química de produtos naturais, para a descoberta de novas e mais apuradas associações entre usos medicinais da espécie *S. rotundifolium* Mart., seus fitoconstituintes e atividades biológicas.

No estudo de bioatividade de produtos de plantas frente a EROs, a mosca *Drosophila melanogaster* é um modelo alternativo importante, já que tem sido usado para o estudo de mecanismos envolvidos na patogênese de diversas doenças humanas (BIER, 2005). Além de compartilharem inúmeros genes, a *Drosophila melanogaster* e os humanos conservam vias metabólicas e sinalizadoras em comum (BENTON, 2008). Órgãos que controlam a absorção, armazenamento e metabolismo em humanos estão presentes como complexos celulares em moscas, desempenhando as mesmas funções (ROVENKO *et al.*, 2015). Na biologia celular e molecular, é usado como modelo

experimental para análise dos processos que envolvem as doenças humanas uma vez que 177 dos 289 genes relacionados a doenças em humanos, são encontrados na mosca e têm as mesmas funções que nos humanos (RUBIN *et al.*, 2000). Portanto, ensaios com *Drosophila melanogaster* para avaliar bioatividade de produtos naturais constituem uma importante ferramenta de pesquisa de atividade antioxidante.

Consideramos importante e complementar para a área do estudo das plantas medicinais do Brasil, a realização do presente estudo transversal aos eixos etnobiológico e etnofarmacológico com foco em avaliar as propriedades antioxidantes e de toxicidade *in vitro* e *in vivo* da fração cetoaquosa rica em oligômeros fenólicos de altos pesos moleculares da casca do caule do "barbatimão" *S. rotundifolium* Mart., compreendendo sua bioatividade para novas formas de usos medicinais, e orientar práticas adaptativas e de inovação que contribuam para o incremento do *status* de conhecimento medicinal da espécie e a sua conseqüente conservação, sem dissociação das concepções nativas.

## 1.1 OBJETIVOS

### 1.1.1 Geral:

Identificar metabólitos secundários fenólicos e avaliar toxicidade e atividade antioxidante de um extrato hidro-acetônico das cascas do caule de *Stryphnodendron rotundifolium* Mart., como base de compreensão da sua bioatividade para novas formas de usos medicinais.

### 1.1.2 Específicos:

- Obter o extrato hidro-acetônico da casca do caule de *Stryphnodendron rotundifolium* Mart.;
- Identificar e quantificar famílias de compostos fenólicos no extrato da casca do caule de *Stryphnodendron rotundifolium* Mart.;
- Identificar compostos fenólicos isolados do extrato, por meio de técnicas cromatográficas e espectrométricas;
- Investigar a atividade antioxidante do extrato da casca do caule de *Stryphnodendron rotundifolium* Mart., através de ensaios *in vitro* e *ex-vivo*;
- Avaliar a toxicidade do extrato de *Stryphnodendron rotundifolium* Mart., pelo uso de modelos experimentais alternativos *in vivo*;
- Melhorar a nossa compreensão sobre a bioatividade da espécie *Stryphnodendron rotundifolium* Mart., para propor novas formas de usos medicinais, a partir dos resultados da pesquisa.



## 1.2 ESTRATÉGIAS DE PESQUISA

Para ponderar funcionalidade bioativa do *S. rotundifolium* Mart., realizamos ensaios de atividade antioxidante e de toxicidade com extrato (7:3) acetona água das cascas do caule da espécie, tendo em mente que condições patológicas geralmente são precedidas e evoluem através de processos oxidativos associados a ações deletérias de radicais livres nos organismos vivos (AUGUSTO, 2006).

Cascas do gênero *Stryphnodendron* comumente são usadas na forma de decocto em água, e administrada via oral e tópica para tratar diversas condições patológicas, tais decoctos são ricos em taninos polihidrosilados de consideráveis polaridades, uma vez que a água é um solvente que favorece a extração deste tipo de compostos em plantas (COWAN, 1999; PANDEY; TIPATHI, 2014). Quando são feitas as decocções com água, os taninos se encontram em uma matriz de interação com as proteínas próprias da planta, razão pela qual no trabalho usamos acetona na obtenção do extrato, para evitar as interações taninos – proteínas, segundo, Cork; Krockenberger, (1991), garantindo assim, que os taninos fiquem livres de proteínas complexadas.

A coleta do material para preparo da exsicata e extrato da espécie *S. rotundifolium* Mart., foi realizada no Ceará – Brasil, na Floresta Nacional do Araripe (FLONA – Araripe) ao Oeste do Crato na localidade de Barreiro Grande, numa elevação aproximada de 869 m de altitude, latitude 07°81'42" S, longitude 039°28'42" W, entre as 07:00 – 09:00 am. Para a identificação, coleta e organização do material botânico e os procedimentos para preparo da exsicata seguimos as recomendações descritas por (DI STASI, 1996).

O material botânico foi depositado no Herbário Caririense Dárdano de Andrade – Lima da Universidade Regional do Cariri – URCA, identificado e guardado sob o Número de Herbário 14.074. Além disso, foi realizado Cadastro no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen) sob o número A9536D5.

Separações mecânicas das cascas úmidas do caule foram feitas, e estas foram submetidas a secagem a 40 °C por 48 h. Posteriormente submetemos o material seco a moagem para otimizar a extração. Realizou-se uma extração hexânica para a remoção dos lipídeos, a fração líquida foi separada da parte sólida, e se procedeu a secagem do material sólido para retirar qualquer resíduo de hexano. Solventes não polares orgânicos como n-hexano, têm uma baixa eficiência de extração para taninos e normalmente é utilizado no

tratamento da amostra para remover os lipídios e clorofila e/ou para evitar as reações enzimáticas (MUELLER-HARVEY, 2001; OKUDA *et al.*, 1989).

Após remoção dos lipídios do material vegetal, se realizou a extração com mistura acetona 99 % - água (7:3) para evitar interações entre taninos e proteínas do vegetal (CORK; KROCKENBERGER, 1991; CADAHÍA *et al.*, 1997; LATORRE *et al.*, 1998). Depois a acetona foi removida a 65 °C por rota-evaporação a pressão reduzida, e posteriormente continuou-se reduzindo o volume de água em banho Maria a 70 °C por 24 horas, deixando-se aclimatar a temperatura ambiente para congelamento e liofilização. Se obteve uma fração rica em taninos na forma de um pó cristalino seco, e se realizaram quantificação, identificação de compostos fenólicos, ensaios antioxidantes e de toxicidade.

A acetona é preferível para extrair taninos de altos pesos moleculares porque tem menor susceptibilidade a reação com eles e aumenta o poder de infiltração do material vegetal (MUELLER-HARVEY, 2001; DAUCHOT, 1973; OKUDA *et al.*, 1989).

Ensaio químicos foram realizados para detectar presença de famílias de metabolitos secundários no extrato liofilizado, tais como fenóis, taninos, flavonóides, alcalóides, esteróides e/ou triterpenóides de acordo com os métodos de Matos (2009) e Campbell; Shawn, (2005), baseados na visualização de modificações de cor e formação de precipitado após a adição de reagentes específicos.

Foram feitas quantificações de polifenóis totais pelo método *Folin-Ciocalteu* conforme Singleton; Rossi (1995), modificado por Nuutila *et al.*, (2003), expressando os resultados em (mg ácido gálico / g fração seca FS); taninos condensados pelo ensaio da vanilina conforme Broadhurst; Jones (1978), e os resultados foram expressos em (mg catequina / g FS); taninos hidrolisáveis conforme Bossu *et al.*, (2006), com modificações, e os resultados expressos em (mg de ácido tânico / g FS); flavonoides conforme Funari; Ferro (2006), e os resultados expressos em (mg de quercetina / g FS).

Compostos fenólicos (flavan-3-ols, com ligações interflavânicas 4→8 ou 4→6) presentes na amostra foram identificados por Cromatografia Líquida de UltraPerformance - Ionização por ElectroSpray - análise de espectrometria de massa Tandem-tempo-de-voe em quadrupolo (UPLC-ESI-qTOF-MS/MS). Detectores de espectrometria de massa (MS) oferecem informações valiosas para a identificação de taninos, no modo de electropray de íon negativo, geralmente sendo empregada a ionização (BUENDIA *et al.*, 2010; GASPEROTTI *et al.*, 2010).

Flavan-3-ols têm uma ocorrência natural elevada e disseminada, principalmente em plantas de interesse medicinal, segundo, Bravo; Mateos, (2008); El Gharras, (2009); D'archivio *et al.*, (2010), exibem comumente ação antioxidante inibidoras de espécies reativas (ERs), reconhecidas por sua alta reatividade química, e induzir peroxidação lipídica, oxidação massiva de proteínas e danos no DNA (MATÉS *et al.* 1999).

Nesse sentido avaliamos a atividade antioxidante *in vitro* pelos métodos, sequestro do radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH•) baseado na remoção do radical do meio de reação pelos antioxidantes da amostra, conforme (CHOI *et al.*, 1994; PULIDO *et al.*, 2000). Descoloração do radical 2, 2' azinobis (ácido 3-etilbenzotiazolína-6-sulfônico) ABTS•<sup>+</sup> que mede a capacidade de neutralizar radicais livres, por meio da doação de um elétron (RE *et al.*, 1999; MOURE *et al.*, 2001). Inibição da degradação oxidativa da 2-Desoxirribose, conforme Gutteridge (1981), baseado na quantificação do principal produto desta degradação, o malonildialdeído (MDA) (CHEESEMAN *et al.*, 1988).

Subsequentemente se avaliou a capacidade antioxidante relativa CAR pelo método de complexação do reagente fosfomolibdenio, baseado na redução do Mo<sup>+6</sup> a Mo<sup>+5</sup> e subsequente formação do complexo verde de fosfato / Mo<sup>+5</sup> (PRIETO *et al.*, 1999). O ensaio do Poder Antioxidante Redutor de íon Fe<sup>+3</sup> (FRAP) baseado na produção do íon Fe<sup>+2</sup> a partir da redução do íon Fe<sup>+3</sup> presente no complexo 2,4,6 tripiridil-s-triazina (TPTZ), conforme, (BENZIE; STRAIN, 1999; ANTOLOVICH *et al.*, 2002). Além do mais, foi avaliada a atividade antioxidante dos compostos pela sua capacidade em quelar Fe<sup>2+</sup> ou reduzir Fe<sup>3+</sup> através do ensaio da 1,10 o-fenantrolina (o-phe), baseado na reação de Fe<sup>2+</sup> livre com o-phe para formar um complexo laranja-vermelho cuja intensidade da cor é proporcional à absorbância (MINNOTI; AUST, 1987).

Estratégia de avaliar a atividade antioxidante e toxicidade *in vitro* e *in vivo* por testes com diferentes mecanismos de ação foi adotada visando comparação de resultados conforme recomendam (KAUR; KAPPOR, 2002; SUN; HO, 2005).

Para à biosegurança na exploração da bioatividade de *S. rotundifolium* Mart., foram realizados ensaios *in vivo* preliminares de determinação de toxicidade em *Artemia salina* por taxa de mortalidade (MEYER *et al.*, 1982).

Produtos naturais polifenólicos com elevada capacidade antioxidante demonstrada *in vitro* são potenciais alvos de pesquisas de atividade *in vivo*, no entanto, podem não apresentar a mesma atividade *in vivo*, uma vez que no segundo caso é preciso considerar a biodisponibilidade, ou seja, em que extensão ele pode chegar aos tecidos-alvo e exercer sua função; fatores ambientais (exposição ao sol, grau de maturação);

fatores relacionados à matriz composicional, como a presença de inibidores de absorção e interação com outros compostos; o processo de obtenção, estrutura química, concentração e os fatores de variação ligados ao hospedeiro, como idade, presença de patologia, atividade enzimática, dentre outras (D'ARCHIVIO *et al.*, 2010).

No entanto, um interessante passo é a realização dos ensaios *in vivo* com moscas *Drosophila melanogaster*, por não implicar sacrifício de modelos experimentais animais, como ratos e camundongos, bem como diminuição de custos e tempo necessário para o desenvolvimento de pesquisas e medicamentos (POLLI *et al.*, 2004; LENNERNÄS; ABRAHAMSSON, 2005). Também podem prever a extensão do desempenho farmacocinético *in vivo* da atividade antioxidante em tecidos biologicamente similares, possibilitando correlações *ex vivo* / *in vivo* (KARALIS *et al.*, 2008).

Em geral, polifenóis demonstram atividade antioxidante *in vitro*, mas as suas diferentes estruturas químicas podem gerar diferentes reações ao metabolismo, fazendo-os diferir na atividade *in vivo*. Por isso se diz que estudos *in vitro* são menos efetivos na medida real da capacidade antioxidante por colocarem em contato compostos bioativos somente com tecidos ou moléculas-alvo sem considerar, porém, a ação prévia do organismo sobre ele (D'ARCHIVIO *et al.*, 2010).

Realizamos testes *ex vivo* da capacidade do extrato de inibir a peroxidação lipídica induzida em moscas *Drosophila melanogaster* por sobrecarga de íon  $Fe^{+2}$ , medindo os níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARs) conforme (OHKAWA *et al.*, 1979). Ensaios *in vivo* de tempo de sobrevivência e do desempenho locomotor de moscas *D. melanogaster* por meio de ensaios de geotaxia negativa e de rastreamento de movimento em campo aberto foram feitos conforme (FEANY; BENDER, 2000; ABOLAJI *et al.* 2014; WHITE *et al.*, 2010; DUAVY *et al.*, 2019).

Análises dos dados de quantificação, ensaios antioxidantes, e toxicidade foram feitos pelo menos 3 vezes e expressos como média ( $n=3$ )  $\pm$  desvio padrão (DP) usando a Análise de Variância (ANOVA), quando preciso, sucedida pelo teste de Tukey de comparações múltiplas para dados com distribuição normal e desvios padrões significativamente semelhantes, pelo programa GraphPad Prism 6. Os valores estatísticos considerados foram aqueles com  $p$  inferiores a 0,05 ( $p < 0,05$ ). Nas análises de UPLC o desvio padrão da resposta foi dado pelo desvio padrão da ordenada na origem, determinado por análise estatística da regressão linear no programa Microsoft Office Excel 2007, com intervalo de confiança de 95%.

## **CAPÍTULO I: Fundamentação teórica**

### **2.1 Plantas medicinais no mundo e no Brasil**

Historicamente o emprego de plantas para o tratamento e cura de doenças acompanha a humanidade desde seus primórdios. Soma-se a este fato, o entendimento de que esta prática é significativa na população mundial e no Brasil (DI STASI, 1996). Tem-se a informação de que os primeiros achados sobre a cura alternativa de doenças, através das plantas, data de mais de sessenta mil anos, onde as descobertas se deram por meio de pesquisas arqueológicas no Irã. No Brasil, essa prática tem origem com as comunidades indígenas e a participação das culturas negra e europeia, (MARTINS *et al.*, 2000; REZENDE; COCCO, 2002). Essa prática, deu-se pelas tribos indígenas, com os ensinamentos dos pajés, que praticavam a medicina pelas ervas através da transmissão oral de conhecimentos de geração para geração (WAGNER; WISENAUER, 2006). Por isso a importância de novos medicamentos, especialmente aqueles derivados de plantas medicinais, devido à sua grande variedade e fácil acesso para pessoas com menos poder de compra (IZUMI *et al.*, 2011).

Plantas medicinais são aquelas que possuem tradição de uso em uma população ou comunidade e, que são capazes de prevenir, aliviar ou curar enfermidades (GADELHA *et al.*, 2013). Também podem ser definidas como todo e qualquer vegetal que possuam substâncias, em um ou mais órgãos, que possam ser utilizadas para fins terapêuticos, bem como que sejam precursores de fármacos semissintéticos (VEIGA *et al.*, 2005).

Muitas das propriedades biológicas das plantas usadas para fins medicinais estão associadas à sua constituição de compostos bioativos, como os compostos fenólicos (MATOS, 2000). Por isso, a identificação destes constituintes químicos constitui um passo indispensável para a compreensão do mecanismo de ação do princípio ativo.

Em sua grande parte, estes compostos do metabolismo das plantas exibem funções de proteção ao vegetal e capacidade antioxidante contra danos oxidativos (DZIKI *et al.*, 2014). Uma planta pode produzir milhares de substâncias diferentes, onde apenas uma ou algumas são responsáveis pela atividade terapêutica ou tóxica (HAMBURGER; HOSTETTMANN, 1991). Normalmente, os compostos presentes em menor proporção na planta são os que apresentam melhores efeitos terapêuticos, conseqüentemente é de grande importância e interesse terapêutico conhecer os principais grupos de metabólitos secundários com seus respectivos métodos de extração, para que se possam isolar,

identificar e dosar (YUNES; CALIXTO, 2001). Também se faz necessário dispor de testes biológicos ou farmacológicos relativamente simples para identificar a atividade procurada no extrato da planta. Estes testes devem ser altamente sensíveis, uma vez que alguns desses compostos estão presentes em pequena concentração, e também devem ser específicos para determinados alvos biológicos.

A utilização de plantas medicinais tem recebido incentivos da Organização Mundial de Saúde (OMS), reafirmando a importância das plantas medicinais no cuidado da saúde, recomendando entre outros aspectos a criação de programas globais para a identificação, validação, preparação, cultivo e conservação das plantas medicinais utilizadas na medicina tradicional, bem como assegurar o controle de qualidade dos fitoterápicos (MIGUEL; MIGUEL, 2004). Isto, com a intenção de ampliar o arsenal terapêutico para saúde pública, e tendo em vista ainda, que o uso de plantas medicinais é, por vezes, o único recurso disponível para comunidades de baixo poder aquisitivo, que não tenham acesso à medicina moderna (SILVA *et al.*, 2015).

Para atender a essas recomendações deve-se associar, numa primeira abordagem, de validação das propriedades medicinais baseado na análise das duas formas de conhecimento envolvidas no processo: o empírico que faz referência as plantas utilizadas pelas comunidades, sua frequência e coerência no uso medicinal, e o científico que implica identificação do material botânico, justificção de propriedades para seu uso, e como devolver à comunidade a informação devidamente corrigida. Isso possibilitará o uso adequado das plantas medicinais quer diretamente pelo usuário, quer indiretamente, através da aplicação da tecnologia adequada a sua transformação em produtos fitoterápicos (MATOS, 2007).

Na Região Nordeste do Brasil, a utilização de plantas medicinais como prática terapêutica está disseminada nas famílias, incorporando por vezes, simpatias e oração, num misto de credence e fé, herança dos pajés e dos jesuítas (SILVA, 2003). Neste contexto, encontram-se os “prescritores populares”, personagens bastante conhecidos da cultura nordestina, onde as populações normalmente de baixa renda os têm como fonte de consulta para seus males. São figuras marcantes, com espaço garantido em mercados públicos e em feiras livres, orientando o uso e o preparo das plantas para curar as mais diversas doenças (VIEIRA, 2012).

Neste contexto, o Brasil não é apenas rico em biodiversidade, mas também em pluralidade cultural. Na Caatinga do Nordeste brasileiro (semiárido), por exemplo na chapada do Araripe com vegetação de Cerrado, o uso de plantas medicinais como prática

terapêutica é comum entre seus habitantes. Este bioma é um dos menos conhecidos, protegido e pesquisado do país (MAGALHÃES *et al.*, 2019). Esta realidade faz com que o presente trabalho possa ser um possível cenário de comunicação entre a química de produtos naturais – medicina popular – farmacologia – etnofarmacologia e medicina moderna, ao respeito do gênero *Stryphnodendron* e em particular à espécie *S. rotundifolium* Mart. Este raciocínio de pesquisa em parte é conectado com a ideia já pré-existente na concepção do projeto Farmácia viva do professor Francisco José de Abreu Matos.

## 2.2 *Stryphnodendron*

O gênero *Stryphnodendron* da família (Leguminosae), conhecido no Brasil como "barbatimão", "casca da virgindade" ou "casca da juventude", de acordo com <http://www.theplantlist.org> do website da Royal Botanic Gardens, tem 53 nomes de espécies listadas, incluindo nomes infra-específicos, sendo 15 sinônimos, 30 nomes de espécies aceitos, 7 espécies não resolvidas; e 1 nome mal aplicado; e o website <http://www.tropicos.org> também lista 30 nomes de espécies legitimamente reconhecidas. As espécies listadas estão distribuídas nas Américas do Sul, Central e Tropical (região Neotropical), nos países Bolívia, Colômbia, Suriname, Equador, Guiana Francesa, Panamá, Nicarágua, Costa Rica, Venezuela e Brasil, segundo, Scalon, (2007; 2015), sendo o Brasil o país com maior número de espécies, encontradas em diversos biomas, principalmente no Cerrado e na Amazônia, bem como na Caatinga e na Mata Atlântica (OCCHIONI, 1990; LUCKOW, 2005).

O gênero *Stryphnodendron* apresenta grande variação em relação ao hábito, incluindo espécies subarbustivas e arbustivas com caule muito ramificado ou pequenas (2 a 3 m) médias (6 a 15 m) e grandes (16 a 45 m) árvores monocaules com pouca variação intraespecífica (RIZZINI; HERINGER, 1987). Possui ampla distribuição na região neotropical, com predominância na América do Sul, exceto *Stryphnodendron excelsum* Harms, presente apenas na América Central (Nicarágua, Costa Rica e Panamá). O gênero *Stryphnodendron* tem a Nicarágua como limite norte e o Paraná, estado do Brasil, como limite sul, estando ausente principalmente na Cordilheira dos Andes (SCALON, 2007).

Na obra intitulada "Plantas Úteis e Exóticas Cultivadas no Brasil", se identificaram 8 espécies principais no gênero: *Stryphnodendron augustum* Beth., *Stryphnodendron Coriaceum* Beth., *Stryphnodendron floribundum* Beth.,

*Stryphnodendron guyanensis* Beth., *Stryphnodendron microstachyum* Poepp., *Stryphnodendron polyphyllum* Mart., *Stryphnodendron rotundifolium* Mart., e *Stryphnodendron barbatiman* Mart., com o uso relatado de pó de casca de *Stryphnodendron polyphyllum* Mart., para parar sangramento nasal e uterino e no tratamento de leucorréia; e *Stryphnodendron barbatiman* Mart., como antidiarreico, como paralisante de sangramento uterino e em feridas e úlceras (CORRÊA, 1978).

Estudos etnobotânicos, etnofarmacológicos e quimofarmacológicos têm contribuído amplamente para o conhecimento do potencial terapêutico do gênero *Stryphnodendron*. Um dos primeiros estudos químicos do gênero determinou 22,6% p/p dos taninos na espécie *Stryphnodendron adstringens* (Mart) Coville, atribuindo grande importância econômica ao gênero no Brasil (PRIMO, 1945). Esse conteúdo de tanino também está relacionado às propriedades biológicas relatadas por pesquisas. As propriedades farmacológicas dos taninos em espécies de plantas são conhecidas por serem devidas, pelo menos em parte, a características gerais comuns, como complexação com íons metálicos, atividade antioxidante e sequestrante de radicais livres, complexação com macromoléculas como proteínas e polissacarídeos, associados em maior ou em menor medida, às classes de taninos condensados e hidrolisáveis (HASLAM, 1996).

A importância do gênero no Brasil é notável e de longa data na medicina popular. Desde tempos remotos, diferentes espécies do gênero eram utilizadas por comunidades indígenas e quilombolas para tratar diversos problemas de saúde, como infecções e principalmente cicatrização de feridas (SCALON, 2007).

Na prática da medicina popular, as (folha, casca do caule, raiz e casca interna) de espécies do gênero também estão associadas à assepsia do corpo humano em situações de doenças infecciosas ou processos inflamatórios. Embora não haja uma noção explícita sobre os metabólitos secundários das espécies e suas propriedades bioativas pelas comunidades que os utilizam, há conhecimento sobre os efeitos e usos dessas espécies, especificamente em pessoas com conhecimentos ancestrais sobre plantas medicinais, transmitidas de geração em geração. Historicamente, em comunidades onde não existia atendimento médico por falta desses profissionais, a prática da medicina popular foi o primeiro socorro na proteção da saúde humana, onde os diversos conhecimentos sobre a casca do gênero *Stryphnodendron* tornaram-se muito importantes para os tratamento de escorbuto, leucorréia, problemas ginecológicos, como antibacteriano, anti-hemorrágico, antiulcerogênico, antihipertensivo, contra diarreia e processos inflamatórios, como adstringentes, antisépticos, diuréticos, para limpeza e cicatrização de feridas,



especialmente e amplamente utilizado na forma de decocção (VASCONCELOS *et al.*, 2004; SILVA, 2007).

A dinâmica de uso em torno das espécies de *Stryphnodendron* encorajou importantes estudos etnobotânicos e etnofarmacológicos em comunidades ancestrais e urbanas brasileiras (OLIVEIRA *et al.*, 2014; SARAIVA *et al.*, 2015; BITU *et al.*, 2015; MACÊDO *et al.*, 2016; FAGUNDES *et al.*, 2017; BELTRESCHI *et al.*, 2018; LISBOA, *et al.*, 2017; MACEDO *et al.*, 2018; MACÊDO *et al.*, 2018). Orientando à comunidade científica do Brasil e o mundo no desenvolvimento de pesquisas sobre a fitoquímica, propriedades farmacológicas e biológicas de diferentes espécies do gênero para estabelecer relações com seus usos na medicina popular.

Efeitos medicinais dessas espécies têm sido atribuídos ao conteúdo de compostos fenólicos, principalmente taninos. No entanto, a fim de compreender melhor as propriedades benéficas do gênero *Stryphnodendron*, estudos fitoquímicos permitiram o isolamento e identificação de vários metabólitos importantes, entre eles ácidos fenólicos, flavonóides, flavan-3-ols, proantocianidinas do tipo B com ligações interflavânicas C<sub>4</sub>→C<sub>8</sub> e C<sub>4</sub>→C<sub>6</sub>, triterpenos pentacíclicos, triterpenos pentacíclicos glicosilados e sapogeninas, associados a atividades biológicas em espécies do gênero (TURSCH, *et al.*, 1963; 1966; MELLO *et al.*, 1996a; 1996b; LOPES, 2003; COSTA *et al.*, 2012; YOKOSUKA *et al.*, 2008; 2016; PINTO *et al.*, 2015; RIBEIRO *et al.*, 2015; HENRIQUES *et al.*, 2016; DEMARQUE *et al.*, 2018; VANDESMET *et al.*, 2017).

No que concerne a propriedades biológicas em espécies do gênero, atividade antimicrobiana tem sido uma das mais pesquisadas (ISHIDA *et al.*, 2006; SOUZA *et al.*, 2007a; 2007b; OLIVEIRA *et al.*, 2011; FILHO *et al.*, 2013; SOUZA N, *et al.*, 2013; ALMEIDA *et al.*, 2017). Outros estudos abordaram a atividade antioxidante (COSTA *et al.*, 2012; ZOCOLER, 2005), antígenotóxica (FILHO *et al.*, 2011) e cicatrizante (LOPES, 2003).

Pesquisas relacionadas ao gênero *Stryphnodendron* geraram resultados que sugerem possíveis conexões com efeitos antivirais (CECILIO *et al.*, 2012; FELIPE *et al.*, 2006), atividade anti-artrite (HENRIQUES *et al.*, 2016) e atividade anti-enzimática com possíveis efeitos contra a diabetes (PINTO *et al.*, 2015). Da mesma forma, no decorrer das pesquisas etnobotânicas e biológicas, foram gerados registros de formulações fitoterápicas, bem como pedidos de patentes junto ao Instituto Nacional de Propriedade Industrial (NIIP) e à Organização Mundial da Propriedade Intelectual (OMPI) (MINISTÉRIO da SAÚDE e ANVISA, 2014). No entanto, resultados controversos em

relação à toxicidade também têm sido gerados, necessitando de mais estudos, principalmente sobre os compostos de natureza clínica.

### 2.2.1 *Stryphnodendron rotundifolium* Mart.

A espécie *S. rotundifolium* Mart., como pode ser vista em diferentes fotografias na (Figura 1), possui as sinonímias *Stryphnodendron discolor* Benth, *Stryphnodendron goyazense* Taub., *Stryphnodendron obovatum* Benth, e é popularmente conhecida como "barbatimão", com ocorrência na chapada do Araripe do nordeste do Brasil (SCALON, 2007, 2015; BFG, 2015, 2021; LIMA et al., 2020). Sua casca é usada por grande parte da população do Cariri no tratamento de úlceras, gastrite, inflamação, infecções vaginais e na cicatrização e cura de feridas (OLIVEIRA et al., 2011; 2014).

**Figura 1.** *Stryphnodendron rotundifolium* Mart., em diferentes épocas do ano, na Chapada do Araripe.

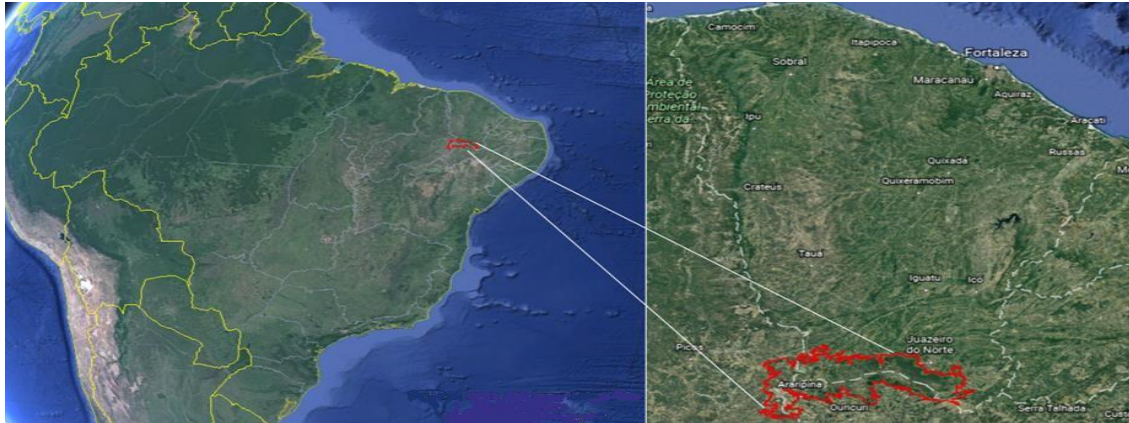


Fonte: Gerson Javier Torres Salazar; Crato, 2021.

*S. rotundifolium* Mart é o nome aceito com o registro 28306 do ILDIS (The International Legume Database and Information Service) (2010-07-14); segundo o mapa de elevação do Brasil, coletores qualificados relatam ocorrência da espécie no Ceará na localidade da Chapada do Araripe (figuras 2 e 3), 14 km ao ocidente de Crato; numa

elevação menor de 900 m, latitude 07° 16' 00" S, longitude 039° 39' 00" W (ALWYN *et al.*, 1985).

**Figura 2.** Localização geográfica da chapada do Araripe



Fonte: <http://folhadomeio.com.br/wp-content/uploads/2021/06/1.png>

**Figura 3.** Vistas aéreas de diferentes partes da chapada do Araripe



Fonte: Gerson Javier Torres Salazar; Crato, 2022.

Estudo etnobotânico - etnofarmacológico, relata que a tintura, xarope, infusão e decocção da casca do caule e casca interna de *S. rotundifolium* no Nordeste do Brasil têm sido utilizadas para o tratamento de inflamação uterina, câncer, inflamação, ferida, dor de

garganta, gastrite, úlcera, problemas ginecológicos, inflamação da pele, fadiga respiratória, diabetes, doença venérea, hemorragia, como anti-helmínticos, para hipertensão, anemia, problemas hepáticos, infecção do trato urinário, dor generalizada, tuberculose e infecção vaginal (MACEDO *et al.*, 2018).

A casca de *S. rotundifolium* Mart., imersa em água ou em decocção é usada por ingestão oral, banho ou aplicada no local afetado para tratar inflamação do útero, doença genital, ferida, inflamação, câncer, cicatrizes e inflamação da pele em comunidades do Cerrado do Nordeste brasileiro (RIBEIRO *et al.*, 2014). Outro estudo relata o uso medicinal da casca do caule e da casca interna do caule, para inflamação geral, câncer, inflamação uterina, fadiga respiratória, sangramento, cicatrização de feridas, inflamação dos ovários, infecção vaginal, dor abdominal, cicatrização, úlcera, lesão, infecção sanguínea, gastrite, inflamação da garganta, infecção do folículo piloso (fervura), infecção do trato urinário e dor de garganta (SOUZA *et al.*, 2014).

No Pernambuco - Brasil, um estudo para conhecer o uso de plantas medicinais nativas citadas por populações tradicionais de áreas de Cerrado, quanto às indicações terapêuticas e versatilidade, relatou que a imersão em água da casca interna do caule de *S. rotundifolium*, é usada em forma de banho ou ingestão oral para tratar inflamação, infecção vaginal, cicatrização, dores generalizadas e tuberculose (SARAIVA *et al.*, 2015). Por outro lado, é importante salientar que nos estudos anteriormente citados, verificou-se que em relação ao barbatimão, de modo geral os praticantes da medicina popular se importam pouco com as doses e massa de material vegetal utilizado nos preparos medicinais administrados, o tempo necessário para tratar as doenças e as contra-indicações. É provável que as pessoas que usam a espécie, no seus instintos pensem *a priori* que o remédio natural não representa nenhum riscos à saúde, desde que seja usado como eles indicam.

Os relatórios etnofarmacológicos e etnobotânicos têm sido usados para direcionar estudos de identificação e isolamento de metabólitos secundários de vários órgãos da planta *S. rotundifolium* Mart., juntamente com a avaliação das propriedades farmacológicas (antioxidante, antimicrobiana, antiinflamatória, citoprotetora contra íons metálicos, efeito hepático, trypanocidal e leishmanicidal) *in vitro*, *in vivo* e *ex vivo*, a fim de poder relacionar as propriedades químicas associadas às estruturas moleculares presentes na espécie com seus usos relatados por praticantes de medicina popular (OLIVEIRA *et al.*, 2014; MACÊDO *et al.*, 2016; MACEDO *et al.*, 2018).

Particularmente, na identificação por análises fitoquímicas de presença de classes de metabólitos secundários no extrato etanólico de casca de *S. rotundifolium* Mart., taninos, flavonas, flavonóides, flavononois, xantonas, chalconas, flavononas, esteróides e alcalóides foram evidenciados, mas os compostos específicos dessas classes não foram identificados nem isolados (OLIVEIRA et al., 2011; RODRIGUES et al., 2008).

Em pesquisas de bioatividade *in vitro*, *in vivo* e *ex vivo* com folhas e cascas do caule da espécie *S. rotundifolium* Mart., tem-se identificado especificamente, ácido gálico, ácido caféico, rutina, catequina, Kaempferol, e epigalocatequina (COSTA et al., 2012; DEMARQUE et al., 2018; VANDESMET et al., 2017). Evidentemente são poucos metabólitos secundários fenólicos identificados ao considerar a brecha de tempo desde o ano 2012 até o ano 2018, sem considerar os anos prévios nos que já tem-se desenvolvidos pesquisas sobre a espécie.

Apesar de terem sido desenvolvido pesquisas de propriedades bioativas com a espécies *S. rotundifolium* Mart., nem sempre tem sido acompanhadas de isolamento e identificação de metabolitos secundários com possível associação às propriedades bioativas dos materiais vegetais utilizados. Entre estas pesquisas podem ser citadas, o efeito citoprotetor contra  $Hg^{+2}$  e  $Al^{+3}$  em modelos de plantas do extrato hidroetanólico de cascas (COUTINHO et al., 2017); modulação da atividade antibacteriana de antibióticos contra *Echerichia coli* 27 and *Staphylococcus aureus* 358 do extrato hidroetanólico de cascas secas (OLIVEIRA et al., 2011); atividade antibacteriana contra *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), *Streptococcus salivarius* (ATCC 9758) e *Streptococcus oralis* (ATCC 10557), de uma tintura hidroalcóolica (FILHO et al., 2013); atividade de toxicidade hepática de extrato hidroetanólico (AQUINO et al., 2017).

Tais pesquisas de propriedades bioativas em torno a *S. rotundifolium* Mart., para gerar o alicerce na justificativa de uso da espécie na medicina popular tradicional, fazem mais do que necessário o desenvolvimento de estudos mais apurados quanto a identificação de metabólitos secundários responsáveis pela exibição de propriedades farmacológicas e conseqüentemente medicinais.

### **2.3 Compostos fenólicos**

Compostos fenólicos pertencem à classe de compostos que inclui diversidade de estruturas simples e complexas, com pelo menos um anel aromático no qual, ao menos um hidrogênio é substituído por um grupamento hidroxila (SIMÕES et al., 1999). Os

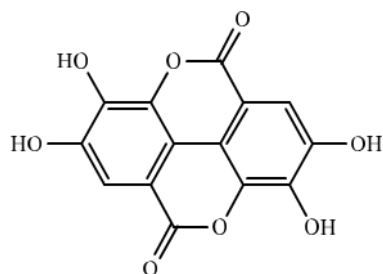
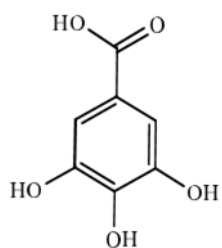
compostos fenólicos, como os ácidos fenólicos, cumarinas, flavonóides e taninos, são uns dos mais vastos grupos de metabolitos presentes em todos os vegetais, e se relacionam a processos metabólicos e de sustentação ou proteção das plantas, formam parte das defesas contra ataque de insetos, herbívoros e de agentes patogénicos, também são agentes protetores contra temperaturas externas, estresse nutricional e hídrico, radiação ultravioleta (UV) e oxidação das biomoléculas. Essencialmente, estas funções são devidas às suas propriedades antioxidante (MATOS, 2000; MATTILA *et al.*, 2007; CHUNGLONG *et al.*, 2008; SPROLL *et al.*, 2008; CASSIDY; KAY, 2013; BAKHOUCHE *et al.*, 2013).

Estes compostos fenólicos ocorrem na natureza como misturas de ésteres, éteres ou ácidos livres, as vezes encontram-se geralmente ligados quimicamente a açúcares, e são considerados potentes antioxidantes (DUARTE-ALMEIDA *et al.*, 2006; MARQUES; FARAH, 2009; COSTA 2009). Dentre os compostos fenólicos pertencentes ao metabolismo secundário dos vegetais encontram-se estruturas como ácidos fenólicos dos derivados de cumarinas, pigmentos hidrossolúveis, ligninas, taninos, e ainda fazem parte de proteínas, alcalóides e terpenóides (CUNHA *et al.*, 2012).

Nos vegetais ressaltam-se na defesa e herbivoria, na inter-relação entre animal – vegetal, na inibição da germinação de sementes e do crescimento de fungos, em alelopatia, e como fenilpropanoide supressores do apetite de insetos (HARBORNE, 1985). Ainda, na defesa contra a herbivoria, as procianidinas, podem se condensar, em muitas formas, originando taninos (STEVENS *et al.*, 1998).

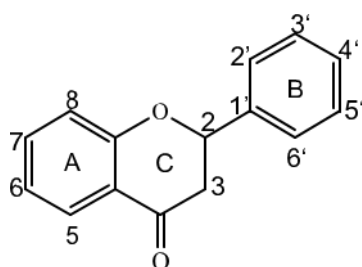
Os fenólicos são classificados de acordo com o tipo de esqueleto principal ( $C_6$ ), que constituirá o anel benzênico. Assim, por exemplo, os fenóis simples (ácido gálico e elágico, figuras 4 e 5) e as benzoquinonas –  $C_6$ ; os flavonóides e isoflavonoides ( $C_6-C_3O_2-C_6$ ) (Figura 6), estes compostos possuem 15 átomos de carbono em sua estrutura fundamental, constituída de duas fenilas ligadas por uma cadeia de três carbonos formando um anel heterocíclico de O, e um grupo cetona. Nestes compostos tricíclicos, as unidades são denominadas núcleos A, B, C e os átomos de carbono recebem numeração com números ordinários nos núcleos A e C, e os mesmos números seguidos de linha (') no núcleo B; taninos hidrolisáveis constituídos de ésteres de ácidos gálicos e ácidos elágicos glicosilados ( $C_6-C_1$ )<sub>n</sub> (Figura 7) e taninos condensados ou proantocianidinas constituídos por polimerização de unidades de flavan-3-ol e/ou flavan 3,4-diol, produtos do metabolismo do fenilpropanol ( $C_6-C_3-C_6$ )<sub>n</sub> (Figura 8) (HELDT, 1997; SIMÕES *et al.*, 1999).

**Figura 4.** Estrutura química do ácido gálico **Figura 5.** Estrutura química ácido elágico



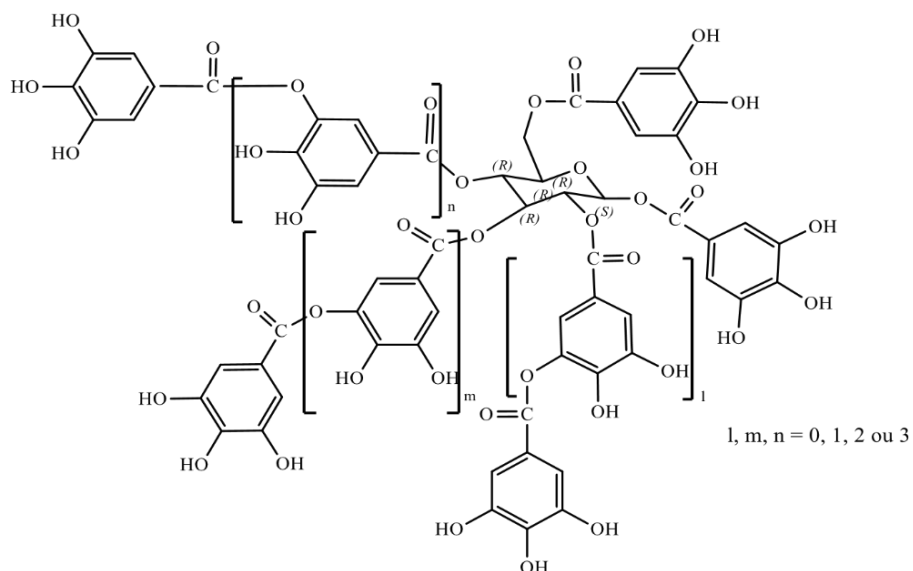
Fonte: Estruturas desenhadas por Gerson Javier Torres Salazar; Crato, 2022.

**Figura 6.** Estrutura geral de flavonóides



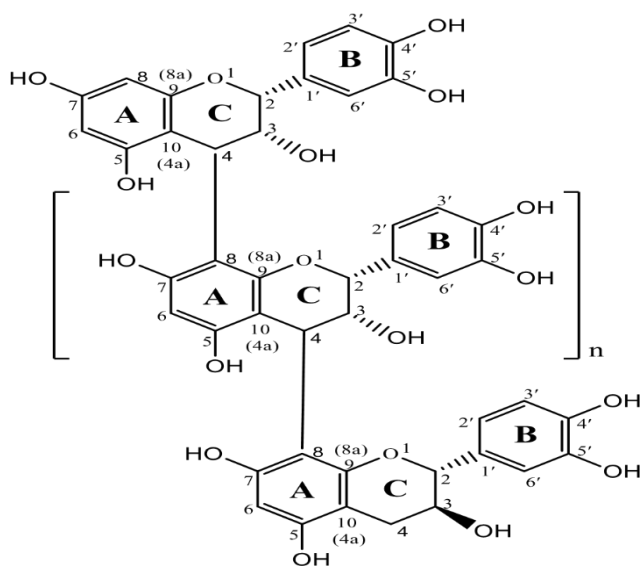
Fonte: Estrutura desenhada por Gerson Javier Torres Salazar; Crato, 2022.

**Figura 7.** Estrutura de taninos hidrolisáveis



Fonte: Adaptado de NAKAMURA *et al.*, (2003)

**Figura 8.** Estrutura dos taninos condensados



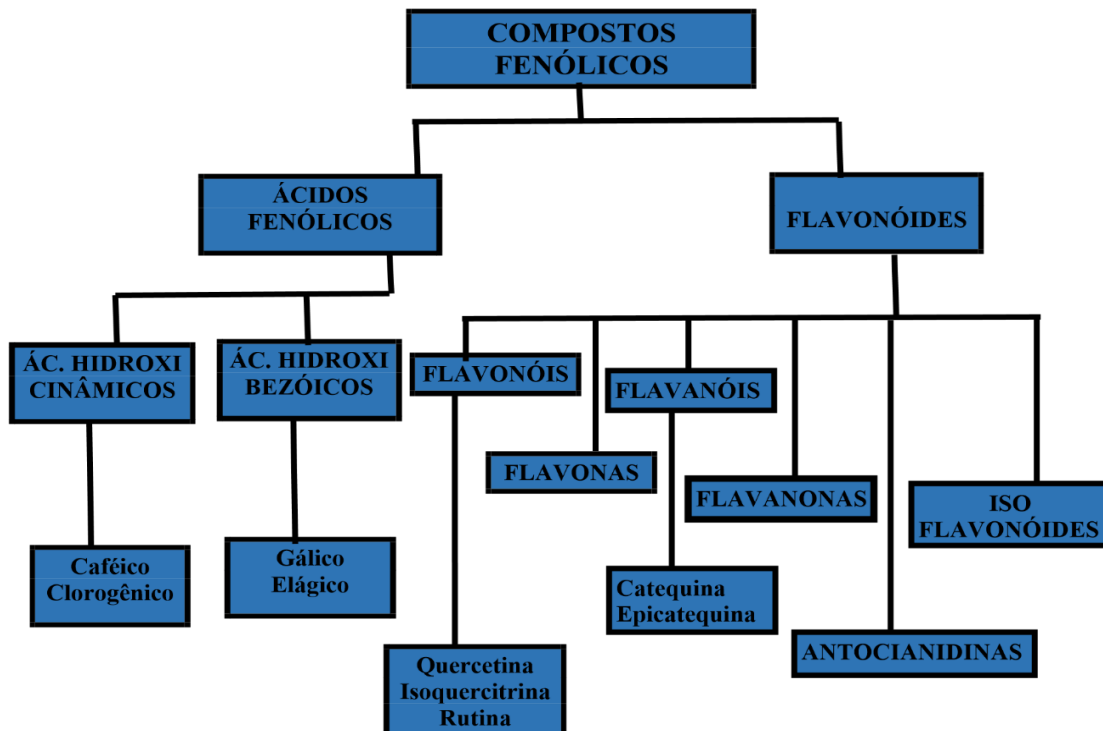
Fonte: Adaptado de QUEIROZ *et al.*, (2002)

No que tange aos tipos de ligações, quantidades de grupos hidroxilas, presença ou não de grupos cetonas, são essas características estruturais que determinam a sua classificação, por exemplo, as flavanas, leucoantocianidinas e proantocianidinas, são flavonóides nos quais é possível encontrar estruturas oligomerizadas, caracterizadas pela ausência de ligação olefínica entre os carbonos 2 e 3, e também da hidroxila na posição 3 (SIMÕES *et al.*, 1999).

Os compostos fenólicos encontram-se agrupados em classes em função da sua estrutura química, e são classificados em dois grandes grupos, flavonóides e ácido fenólicos (Figura 9) (MANACH *et al.*, 2004; LIMA *et al.*, 2007).



**Figura 9.** Compostos fenólicos encontrados em vegetais

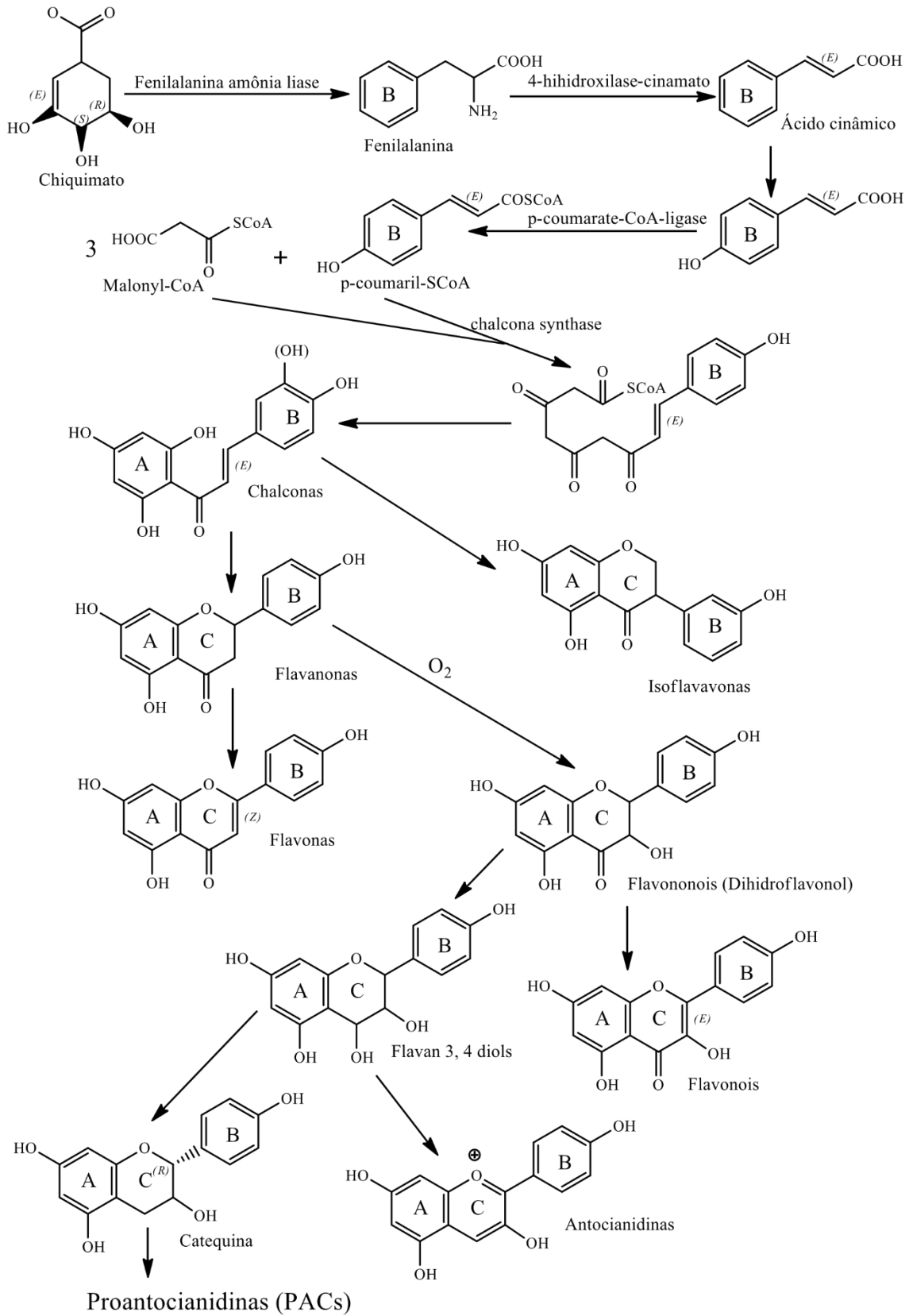


Fonte: Adaptado de LIMA, (2008).

### 2.3.1 Biossíntese dos flavonóides e taninos

As etapas de biossíntese de flavonóides iniciam-se com o metabolismo de fenilpropanoides, e estão relacionadas a duas rotas biogénicas: a via do ácido chiquímico (carboidratos) e a via do acetato - malato (malonil - CoA e acetil - CoA) (MANN, 1987) (Figura 10).

**Figura 10.** Biossíntese de flavonóides e taninos



Fonte: Adaptado de (MANN 1996; KARAM *et al.*, 2013).

A fenilalanina é transformada pela FAL (fenilalanina amônia liase) em ácido cinâmico, que sofre hidroxilação formando o ácido cumárico, que se une a três moléculas de malonato ativados por acetil coenzima A (Acetil – CoA), formando respectivamente p-cumaril-CoA e malonil-CoA, que se condensam em estrutura ativada que servirá de substrato a ação da enzima chalcona sintase, produzindo chalcona precursora de flavanonas, isoflavanonas, flavanonóis, flavonas, flavonóis, catequinas, antocianidinas, proantocianidinas (PACs) e proantocianidinas poliméricas (JONE, 1984; SEYFERT, 1982).

Podemos considerar várias classes nas PACs, consoante com seu grau de hidroxilação: procianidina, prodelfinidina (as mais comuns), propelargonidina, profisentidina e prorobinetidina. Ao serem hidrolisadas vão libertar cianidinas, delfinidinas, pelargonidina, fisentidina e robinetidina respectivamente, sendo que as unidades monoméricas constitutivas nas procianidinas, são catequinas e epicatequinas, e nas prodelfinidinas, são galocatequinas e epigalocatequinas conforme o indicado na (tabela 1) (REZENDE, 2008).

**Tabela 1.** Proantocianidinas de acordo com o grau de hidroxilação dos anéis A e B dos monómeros básicos

Classe de PACs	Unidade monomérica constituinte	Substituintes					
		3	5	7	3'	4'	5'
Procianidina	Catequina	OH	OH	OH	OH	OH	H
	Epicatequina						
Prodelfinidina	Galocatequina	OH	OH	OH	OH	OH	OH
	Epigalocatequina						
Propelargonidina	Afizelequina	OH	OH	OH	H	OH	H
Profisentidina	Fisetinidol	OH	H	OH	OH	OH	H
Prorobinetidina	Robinetinidol	OH	H	OH	OH	OH	OH

Fonte: Adaptado de (REZENDE, 2008).

As proantocianidinas (PACs), assim denominadas provavelmente pelo fato de possuírem pigmentos avermelhados das classes das antocianidinas, como cianidina e delfinidina, têm rica diversidade estrutural, resultante de padrões de substituições entre estruturas, diversidade de posições entre suas ligações e a estereoquímica de seus compostos (MELLO; SANTOS, 2001).

Taninos condensados são compostos fenólicos de grande interesse econômico e ecológico estando presente na maioria das plantas e podendo variar de concentração no

tecido vegetal, dependendo da idade e do crescimento da planta, da parte coletada, da época ou ainda, do local de coleta (SIMÓN *et al.*, 1999).

### 2.3.2 Propriedades biológicas e farmacocinética das proantocianidinas

As plantas usam um sofisticado mecanismo de defesa química como a produção de taninos, principalmente reconhecidos pela função de inibirem herbívoros, pois em altas concentrações em frutos, folhas, sementes ou demais tecidos jovens tornam-se impalatáveis aos fitófagos e ainda combinados a algumas proteínas, estes tecidos resistem fortemente à putrefação (MOORE, 1998; VOLZ; CLAUSEN, 2001).

A presença de taninos em espécies de plantas permite de modo natural o afastamento dos animais herbívoros e insetos, pela adstringência que provoca a nível das papilas gustativas (CASTEJON, 2011). Ainda, se o predador persistir na alimentação com tais vegetações, tal fato pode conduzi-lo à morte (MONTEIRO *et al.*, 2005).

Dados sobre biodisponibilidade e farmacocinética clínica de PACs indicam que sua absorção parece estar inversamente correlacionada com o grau de polimerização, principalmente no que diz respeito à absorção dessas moléculas pela barreira intestinal e seu metabolismo pela microbiota (SMERIGLIO *et al.*, 2017). Entre as PACs, as relativamente pequenas, incluindo PACs diméricas e triméricas, podem ser mais facilmente absorvidos e digeridos em comparação com PACs de alto peso molecular, pois estes podem complexar proteínas, amidos e enzimas digestivas (ZHANG *et al.*, 2016).

Estudos *in vitro* e *in vivo* revelaram que derivados oligoméricos de PACs são absorvidos no intestino delgado, indicando que as moléculas encontradas nos fluidos biológicos são diferentes daquelas ingeridas. Embora pequenas quantidades de monômeros e dímeros de PACs tenham sido encontradas no plasma de seres humanos, os derivados metilados e glicosídeos parecem ser os principais metabólitos. Além disso, as PACs são catabolizadas pela microflora intestinal do cólon em metabólitos mais simples, como fenil valerolactona, ácidos fenilacéticos, fenilpropionato e ácido fenilbutírico, que permanecem no lúmen colônico, onde podem neutralizar os efeitos de agentes pró-oxidantes (ZHANG *et al.*, 2016; MARÍN *et al.*, 2015).

Pesquisas *in vivo* indicaram que oligômeros de PACs (OPACs) são hidrolisados em epicatequina no intestino delgado de ratos (ZHANG *et al.*, 2016). No entanto, procianidinas administradas a ratos tanto de forma oral quanto intravenosa, geram traços de dímeros e trímeros de procianidinas na urina (LI *et al.*, 2013). Esses resultados

sugerem que trómeros e dímeros de PACs podem ser absorvidos *in vivo*, em parte devido à semelhança do coeficiente de permeabilidade ao do manitol e à biodisponibilidade limitada de polímeros no lúmen intestinal (OU; GU, 2014). A absorção através da barreira intestinal é provavelmente limitada a PACs de baixa polimerização e seus metabólitos derivados são absorvidos pelo cólon (STALMACH *et al.*, 2014). Assim, se pensa que os produtos naturais derivados do *Stryphnodendron* exercem seus efeitos biológicos não apenas formando estruturas complexas não absorvíveis de alta massa molar que podem produzir efeitos locais no trato gastrointestinal, mas também como dímeros e trómeros de taninos absorvíveis que produzem efeitos sistêmicos (OU; GU, 2014; VELDERRAIN-RODRÍGUEZ *et al.*, 2014; JIMÉNEZ *et al.*, 2014; NUÑEZ-SÁNCHEZ *et al.*, 2014).

### **2.3.3 Propriedades farmacológicas das proantocianidinas**

As PACs são uns dos fenólicos mais abundantes na dieta humana, estudos epidemiológicos conectam consumo de PACs, às propriedades benéficas para a saúde e são atribuídas aos seus metabólitos conjugados e colônicos. Também foi descrito que as PACs modulam o ritmo circadiano (BLADÉ *et al.*, 2016).

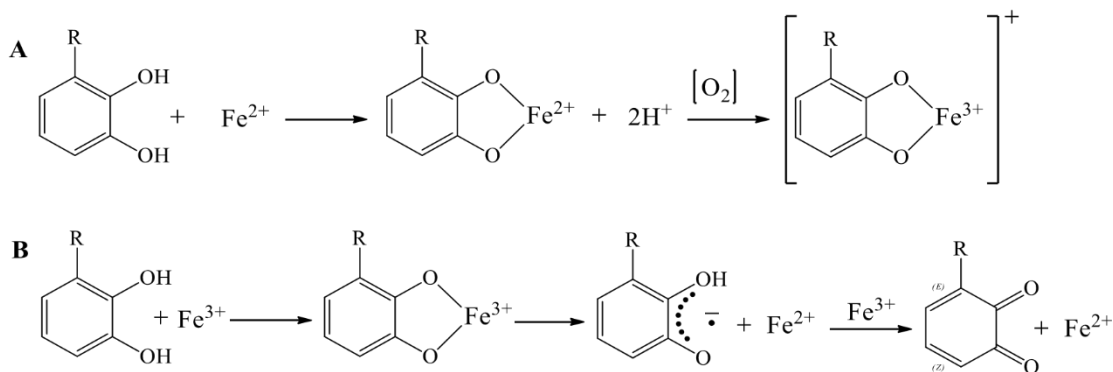
O uso de medicamentos com taninos está relacionado à suas propriedades adstringentes, sendo empregada como anti-diarréico, anti-séptico, cicatrizante na proteção da pele e mucosas (MONTEIRO *et al.*, 2005).

As PACs, como a maioria dos compostos fenólicos são capazes de sequestrar espécies reativas de oxigênio e nitrogênio (ex.:  $O_2^{\cdot-}$ ,  $OH^{\cdot}$  e  $NO^{\cdot}$ ) doando prótons, gerando um radical fenoxilo relativamente estável; também contribuem como antioxidantes pela formação de complexos (tanino - íon metálico) com os íons ferro e o cobre responsáveis pela formação de radicais livres, sendo esta mais uma razão pela qual se atribui às PACs o papel de antioxidante (FARIA, 2000; SANTOS-BUELGA; SCALBERT, 2000).

Em sua grande parte, os compostos fenólicos exibem elevada capacidade antioxidante, possivelmente atribuída à atividade redutora e/ou quelante de íons metálicos como ferro e à inativação de reações radicalares (OLIVEIRA *et al.*, 2009; MAQSOOD *et al.*, 2014). Em adição as suas propriedades antioxidantes, os compostos fenólicos como as PACs diméricas ou triméricas com grupos catecol podem agir como moduladoras de estresses oxidativo na célula por doação de elétrons (ROMERO-JIMÉNEZ *et al.*, 2005). Por exemplo, as PACs com grupos catecol promovem maior efetivação da atividade

antioxidante devido ao aumento do potencial padrão de redução do  $\text{Fe}^{+3}$  e quelação de  $\text{Fe}^{+2}$  (Figura 11) (PERRON; BRUMAGHIM, 2009).

**Figura 11.** A) Reação de transferência de elétron na presença de oxigênio gerando um complexo polifenólico- $\text{Fe}^{+3}$ . B) Redução do  $\text{Fe}^{+3}$ , pela formação de semiquinona e quinona e  $\text{Fe}^{+2}$ . R=H, OH.



Fonte: Adaptado de (PERRON; BRUMAGHIM, 2009)

PACs têm uma grande aplicação a nível da medicina em diversas áreas, podendo ser antioxidante, anti-inflamatório, cardioprotetor, prevenção do cancro, neuroprotetora, para tratamento de infeções do trato urinário, entre tantas outras (LANDETE, 2012; SIMÕES *et al.*, 2003).

Em processos de cura de feridas, queimaduras e inflamações, os taninos auxiliam formando camada protetora (complexo tanino – proteína e/ou polissacarídeo) sobre tecidos epiteliais lesionados. Isto, provavelmente pela sua habilidade de se ligar as proteínas e outras macromoléculas. Também são conhecidos como captadores de radicais livres, que interceptam o oxigênio ativo formando radicais estáveis (MELLO *et al.*, 2001; SOARES *et al.*, 2008).

Atividade anti-carcinogênica dos taninos do chá verde (*Camelia sinensis*) rico em ácido tânico e outros polifenóis, foi evidenciada em japoneses que consomem o chá, ao mostrarem baixos riscos de câncer gástrico (CHUNG *et al.*, 1998). Taninos das espécies *Quercus suber* L. e *Quercus coccifera* L. tem efeito gastroprotetor, variando entre 61 e 91% (KHENNOUF *et al.*, 2003). Por outra parte, Chung *et al.*, (1998), relataram que nozes com teores cerca de 25% de taninos podem ser responsáveis pela alta incidência de câncer de estômago em determinada localidade dos EUA, onde pessoas comumente as consomem após o almoço.

Pelas pesquisas feitas até a data, pode-se pensar que a dualidade de efeitos positivos / negativos dos taninos poderia estar relacionada ao tipo, concentração e modo de administração o consumo.

#### **2.4 Compostos fenólicos: extração, quantificação e identificação**

Para a extração de metabólitos secundários em matrizes naturais é importante considerar o efeito de penetração dos solventes nos corpos porosos, e as interações específicas. O efeito de penetração é uma medida relacionada com a tensão superficial (dina/cm) responsável pela miscibilidade ou imiscibilidade entre líquidos, e a viscosidade (centipoise cP = mPa.s) que pode ser interpretada como a correspondência dos atritos internos nos fluidos devido às interações intermoleculares. Segundo o tempo que dura o fenômeno de interação de solventes com materiais vegetais, pode-se deduzir em que medida um solvente é penetrante. Douchot, (1973), classifica por ordem crescente de penetração, sucessivamente o isopropanol, o etanol, o metanol e a acetona. Salientando que esta ordem corresponde a valores em aumento da tensão superficial e a valores decrescentes da viscosidade. Assim, estes dois parâmetros podem contribuir a prever o poder de penetração dos solventes e misturas de solventes.

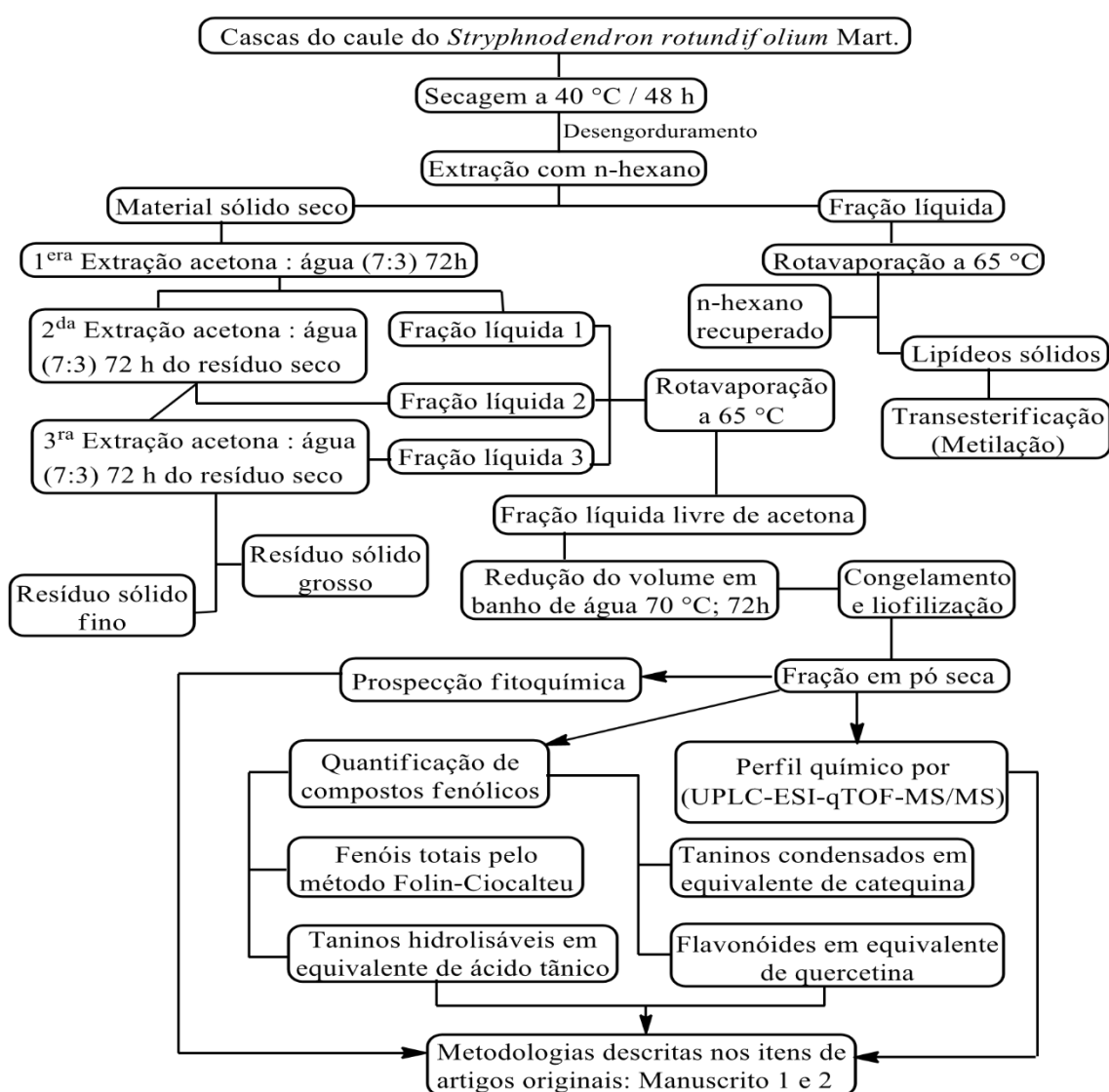
Em relação as interações específicas dos solventes com materiais vegetais, a constante dielétrica (dina/cm) e o momento dipolar (debyes) são responsáveis pela dissolução – extração dos metabólitos secundários desejados. Quanto maior a constante dielétrica, maiores são os poderes de dissolução dos solventes e maiores são suas polaridades (REICHARDT, 1971). Neste sentido, compostos fenólicos caracterizados por serem polares, serão convenientemente extraídos com solventes ou misturas de solventes polares, como a água, metanol, etanol, acetona ou diferentes relações de misturas entre tais solventes.

Para estabelecer corretamente a escolha racional dos solventes, se devem ter referências claras sobre as interações específicas possíveis entre o substrato a dissolver e os solventes. Pode-se dizer, de uma forma muito geral, que a velha regra dos alquimistas “*SIMILIA SIMILIBUS SIMILIA*”, “o similar dissolve o similar”, é muitas vezes confirmada.

Para a obtenção de uma fração rica em taninos a partir de cascas do caule do *S. rotundifolium*, usou-se uma mistura (7:3) acetona – água, para evitar as interações entre os taninos e as proteínas do vegetal (OKUDA *et al.*, 1989; CORK; KROCKENBERGER,

1991; CADAHÍA *et al.*, 1997; COWAN 1999; MUELLER-HARVEY, 2001). Na (Figura 12), se visualiza o fluxograma do processo de extração, ensaios de quantificação das classes de compostos fenólicos, e a análise de identificação de compostos por Cromatografia Líquida de Ultra - Performance acoplada com Espectrometria de Massa de Ionização por Electrospray de Tempo de Voo quadrupolo UPLC-ESI-qTOF-MS/MS.

**Figura 12.** Obtenção da fração rica em compostos tânicos, quantificação e identificação de compostos fenólicos.



Fonte: Gerson Javier Torres Salazar; 2022.

Moléculas de compostos fenólicos possuem uma grande variabilidade de estruturas, reatividade de suas subunidades com materiais oxidativos e complexação com



íons metálicos e macromoléculas, portanto, processos de isolamento, identificação e quantificação tornam-se complexos (MONTEIRO *et al.*, 2005).

Ensaio colorimétrico são usados para quantificar grupos de taninos e compostos fenólicos no geral. No entanto, alguns autores afirmam que não há método ideal e ao mesmo tempo reforçam que os métodos colorimétricos são os mais utilizados para a análise de taninos (SCHOFIELD; PELL; MBUGUA, 2001). Entre os métodos colorimétricos, o de Folin-Ciocalteu é o mais utilizado na quantificação de fenóis totais, por ser mais prático e menos dispendioso, apesar de ser quimicamente complexo (AMORIM *et al.*, 2008). A reação baseia-se no princípio de que em meio alcalino os fenóis reduzem a mistura dos ácidos fosfotúngstico e fosfomolibdico em óxidos de tungstênio e molibdênio de cor azul (MONTEIRO *et al.*, 2006).

O método da Vanilina é um método colorimétrico que detecta grupos funcionais específicos dos taninos, os quais exploram as diferenças estruturais que ocorrem na molécula, este é mais sensível às proantocianidinas do que aos flavan-3-óis e, portanto, muito utilizado para detecção e quantificação dos taninos condensados (NACZK; SHAHIDI, 2004; MONTEIRO *et al.*, 2005).

A reação colorimétrica entre tanino hidrolisável e solução de iodato de potássio ( $KIO_3$ ), é um método simples e fácil, de baixo custo para determinação de tanino hidrolisável, que podem ser úteis em estudos de nutrição, medicina e ecologia, considerado o método mais adequado para determinações de elagitaninos e galotaninos (MONTEIRO *et al.*, 2005; BOSSU *et al.*, 2006).

O teor de flavonóides pode ser quantificado pelo método colorimétrico da reação com solução de cloreto de alumínio ( $AlCl_3$ ), que se baseia na propriedade do cátion alumínio ( $Al^{+3}$ ) de formar complexos estáveis com flavonóides, ocorrendo, na análise espectrofotométrica, um deslocamento para maiores comprimentos de onda e uma intensificação de suas absorções, sem interferência de outras classes de substâncias fenólicas, principalmente a dos ácidos fenólicos (MARCUCCI, *et al.*, 2003; VENNAT *et al.*, 1992; WOLLENWEBER.; JAY 1998; WOISKY; SALATINO 1998).

Os métodos cromatográficos são os mais utilizados para o isolamento e purificação de compostos polifenólicos, principalmente taninos hidrolisáveis e condensados (proantocianidinas, prodelfinidinas, prorobinetinidinas e profisetenidinas) em extratos e frações de barbatimão (HENRIQUES *et al.*, 2016). Estes métodos cromatográficos são acoplados a detectores por espectrometria de massa (MS) que oferecem padrões de fragmentações dos compostos isolados, que posteriormente por

análises comparativo de dados de literaturas de perfis espectrais compatíveis são identificados.

## 2.5 Defesa antioxidante endógena e exógena

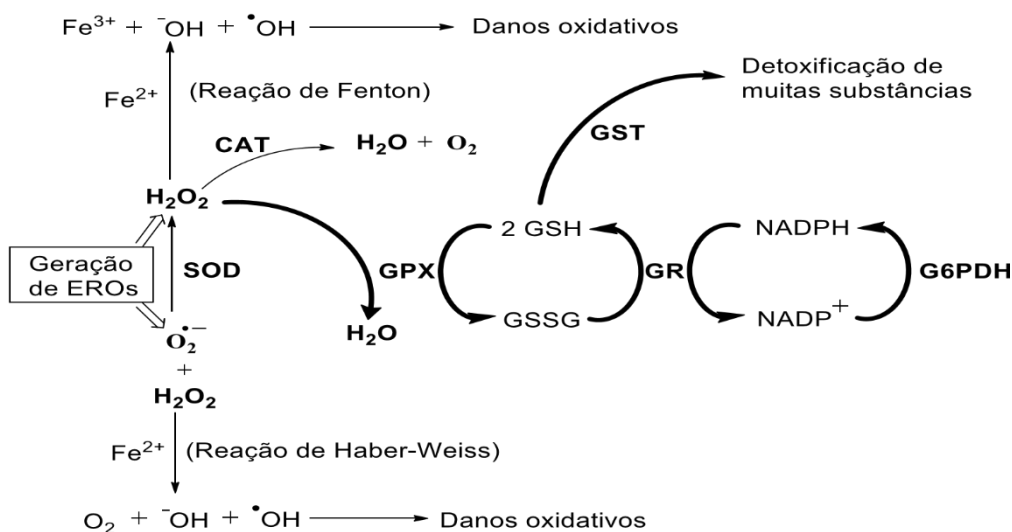
Antioxidante é qualquer substância que, quando presente em baixas concentrações, comparadas às concentrações de um substrato oxidável, retarda significativamente ou impede a oxidação desse substrato (REZENDE, 2008).

Do ponto de vista biológico, podemos conceituar antioxidantes como substâncias que protegem sistemas biológicos contra os efeitos potencialmente danosos de processos ou reações que promovem a oxidação de macromoléculas ou estruturas celulares (ABDALLA, 1993).

Para os sistemas biológicos é importante o equilíbrio entre os agentes pró-oxidantes e o sistema de defesa antioxidante, encontrado principalmente no meio intracelular. O sistema de defesa pode ser dividido em duas categorias, enzimático e a não-enzimático. A defesa que envolve o sistema enzimático inclui a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx), glutathione reductase (GR), glutathione-S-transferase (GST), glicose 6-fosfato desidrogenase (G6PDH), tioredoxina (Figura 13), e o sistema não enzimático envolve glutathione reduzida (GSH), ubiquinol, peptídeos de histidina, proteínas ligadas ao ferro (transferrina e ferritina), ácido diidrolipóico e ubihidroquinona (CoQH<sub>2</sub>). Além dos antioxidantes produzidos pelo corpo, o organismo utiliza aqueles provenientes da dieta como o  $\alpha$ -tocoferol (vitamina- E),  $\beta$ -caroteno (pro-vitamina-A), ácido ascórbico (vitamina- C), e compostos fenólicos onde se destacam os flavonóides e poliflavonóides (HALLIWELL *et al.*, 1995; NIKI, 2014). É interessante ressaltar a correlação existente entre atividade antioxidante de substâncias polares e capacidade de inibir ou retardar o aparecimento de células cancerígenas, além de retardar o envelhecimento das células em geral (HO *et al.*, 1994).

Dentre os antioxidantes biológicos de baixo peso molecular, podem ser destacados os carotenóides, a bilirrubina, a ubiquinona e o ácido úrico. Porém, as mais importantes micromoléculas no combate ao estresse oxidativo são os tocoferóis e o ácido ascórbico (vitamina C) (BABIOR, 1997).

**Figura 13.** Mecanismo de defesa antioxidante enzimático.



Fonte: Adaptado de (MATTOS, 2009).

O radical superóxido  $O_2^{\bullet -}$  é convertido em  $H_2O_2$  pela enzima SOD dependente Cu/Zn (Cu/ZnSOD, *Sod*<sup>1</sup> – citosol) ou pela SOD dependente Mn (MnSOD, *Sod*<sup>2</sup> – mitocôndria), (NORDBERG; ARNER, 2001). O  $H_2O_2$  é mais estável do que  $O_2^{\bullet -}$  e pode se difundir para fora da mitocôndria e entrar no citosol e núcleo.  $H_2O_2$  pode ser convertido a  $H_2O$  pela GPx (mitocondrial e citosólica) ou pela CAT nos peroxissomos. No entanto,  $H_2O_2$ , pode reagir com  $Fe^{+2}$  via reação de Fenton, para produzir o radical hidroxil  $HO^{\bullet}$ . A GR reduz a glutatona oxidada (GSSG) à GSH, depletando nicotinamida adenina dinucleótido fosfato reduzida (NADPH) (FERREIRA; MATSUBARA, 1997; LUSHCHAK, 2014). A enzima Glicose 6-fosfato desidrogenase (G6PDH) recicla nicotinamida adenina dinucleótido fosfato oxidada ( $NADP^+$ ) a NADPH. A GST conjuga eletrófilos hidrofóbicos,  $H_2O_2$  e hidroperóxidos lipídicos com a glutatona reduzida e auxilia a excreção (NITURE, 2014; ABOLAJI *et al.*, 2014; HALLIWELL, 1999).

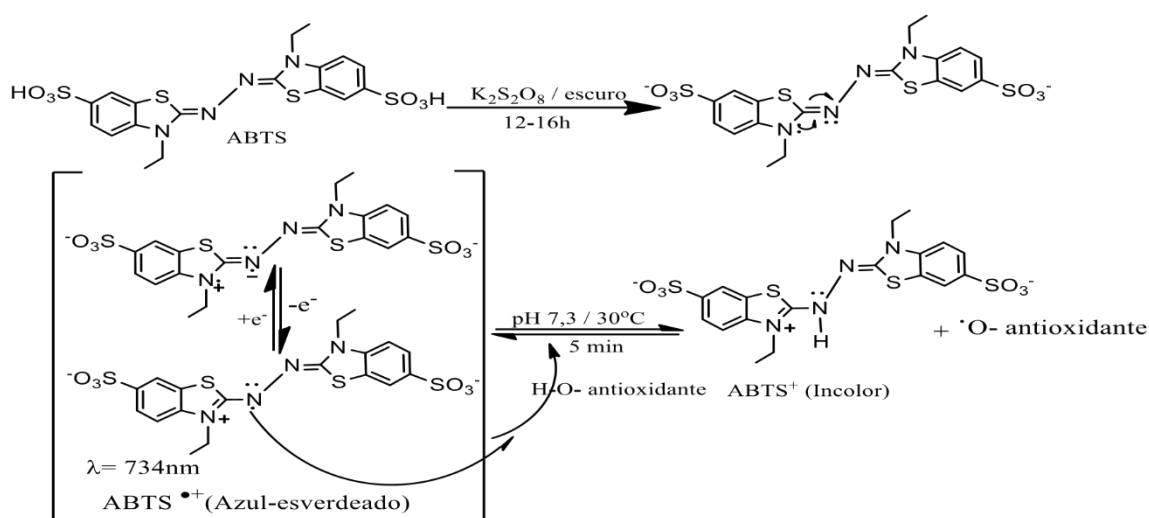
A ação de certas espécies vegetais como antioxidante tem desde sempre suscitado algum interesse por parte dos cientistas já que certas doenças como cancro, esclerose múltipla, arteriosclerose ou até VIH, estão associadas á presença de oxigênio reativo e radicais livres em grandes concentrações no organismo (CASTEJON, 2011; CUNHA, 2005; FARIA, 2000; SIMÕES *et al.*, 2003). Esse efeito traduz-se na ação antiinflamatória, antimicrobiana e antibacteriana, entre outras, obtidos pelos polifenóis.

## 2.6 Determinação de atividade antioxidante *in vitro* de produtos naturais

A maior parte dos métodos para avaliação da atividade antioxidante *in vitro* é baseada na capacidade em remover os radicais livres do meio, pela rápida doação de um átomo de hidrogênio para espécies radicais (PRIOR; CAO, 2000).

O método de descoloração do radical  $ABTS^{\bullet+}$  mede a capacidade do antioxidante em sequestrar radicais livres, por meio da doação de um elétron para o  $ABTS^{\bullet+}$ , reduzindo-o a  $ABTS^{2-}$ , sendo que esta redução em um elétron provoca a descoloração e consequentemente, uma diminuição na absorbância. Quanto maior o decaimento da Abs em 734 nm, maior a capacidade antioxidante dos compostos presentes na amostra (Figura 14) (RE *et al.*, 1999; MOURE *et al.*, 2001).

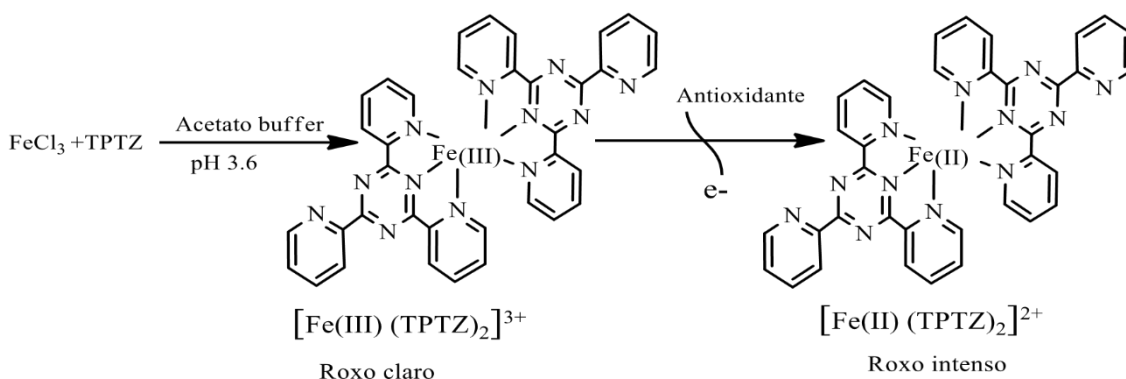
**Figura 14.** Formação do radical  $ABTS^{\bullet+}$  pela ação do persulfato de potássio e sua redução produzida por um antioxidante.



Fonte: Adaptado de HUANG *et al.* (2005) e VAN DEN BERG *et al.* (1999).

O ensaio do Poder Antioxidante Redutor de íon  $Fe^{+3}$  (FRAP) é baseado na produção do íon  $Fe^{+2}$  a partir da redução do íon  $Fe^{+3}$  presente no complexo  $[Fe(III)(TPTZ)_2]^{+3}$  (figura 15). Quando a redução ocorre, há uma alteração na tonalidade da mistura de reação, passando de roxo claro a um roxo intenso, cuja absorbância pode ser medida no comprimento de onda de 595nm, quanto maior a absorbância ou intensidade da coloração, maior é o potencial antioxidante (BENZIE; STRAIN, 1999; ANTOLOVICH *et al.*, 2002).

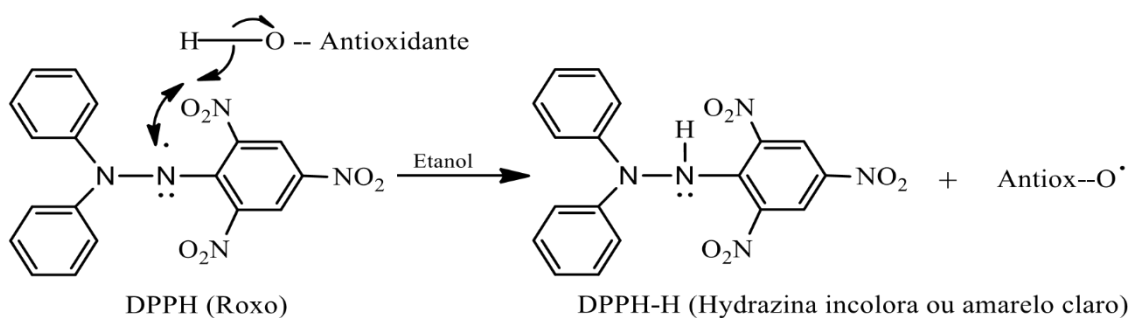
**Figura 15.** Reação química que descreve a produção de  $\text{Fe}^{2+}$  a partir da redução de  $\text{Fe}^{3+}$  presente no complexo com TPTZ (2,4,6-tripiridil-s-triazina).



Fonte: Adaptado de (BENZIE; STRAIN, 1999; ANTOLOVICH *et al.*, 2002).

A atividade sequestradora de radical livre  $\text{DPPH}^\bullet$  é acompanhada pela desaparecimento da absorção do  $\text{DPPH}^\bullet$  em 518 nm, e o grau da diminuição da cor roxa é proporcional à concentração e potência das moléculas antioxidante (AH) ou uma espécie radical ( $\text{R}^\bullet$ ) através da doação do hidrogênio ou elétrons (Figura 16) (CHOI *et al.*, 1994; SÁNCHEZ-MORENO *et al.*, 1998; BRAND-WILLIAMS *et al.*, 1995; SANTOS *et al.*, 2007).

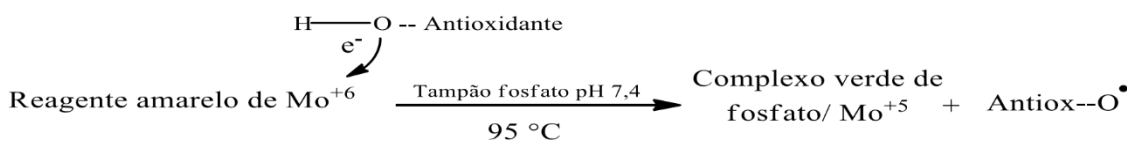
**Figura 16.** Reação química que descreve a inibição do radical  $\text{DPPH}^\bullet$



Fonte: Adaptado de (BRAND-WILLIAMS *et al.*, 1995; SANTOS *et al.*, 2007)

A Capacidade Antioxidante Relativa (CAR), ou o método do reagente fosfomolibdênio, se baseia na redução do  $\text{Mo}^{+6}$  a  $\text{Mo}^{+5}$  (Reação a), pelos compostos presentes no extrato e subsequente formação do complexo verde de fosfato/ $\text{Mo}^{+5}$  em alta temperatura, cuja absorbância é medida em 695 nm. É um modo simples de avaliar a CAR de uma mistura complexa de compostos (PRIETO *et al.*, 1999).

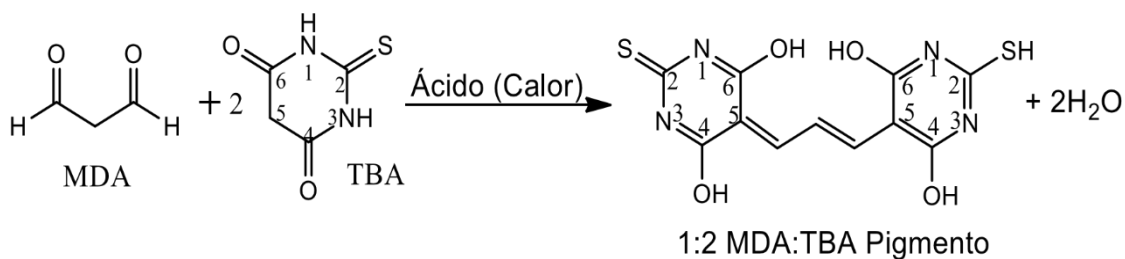
### Reação a. Redução do $\text{Mo}^{+6}$ a $\text{Mo}^{+5}$



O ensaio da inibição da degradação oxidativa da 2-DR *in vitro*, o monossacarídeo de 5 átomos de carbono (pentose), que forma parte da estrutura de nucleotídeos do ácido desoxirribonucleico (ADN), é determinada conforme Gutteridge, (1981). Baseada na quantificação do principal produto desta degradação, o malonildialdeído (MDA), um composto de três carbonos formado a partir do ataque do radical hidroxil à 2-DR (CHEESEMAN *et al.*, 1988).

O MDA formado a partir da degradação da 2-DR, é detectado e quantificado espectrofotometricamente em meio ácido através da adição de ácido tiobarbitúrico (TBA) que, depois de aquecimento, forma um aduto cromóforo (MDA-TBA<sub>2</sub>) (Figura 17), com pico de absorção em 532 nm. A formação do aduto em ácido é provavelmente iniciada por ataque nucleofílico envolvendo o carbono 5 de (ácido tiobarbitúrico) TBA e o carbono 1 de MDA seguido por desidratação e reação subsequente do aduto intermediário 1:1 com uma segunda molécula de TBA (GUTTERIDGE, 1981; GUTTERIDGE, 1985).

**Figura 17.** Formação do aduto 1:2 vermelho fluorescente entre MDA e TBA por meio de um mecanismo de adição nucleofílica catalisado por ácido.

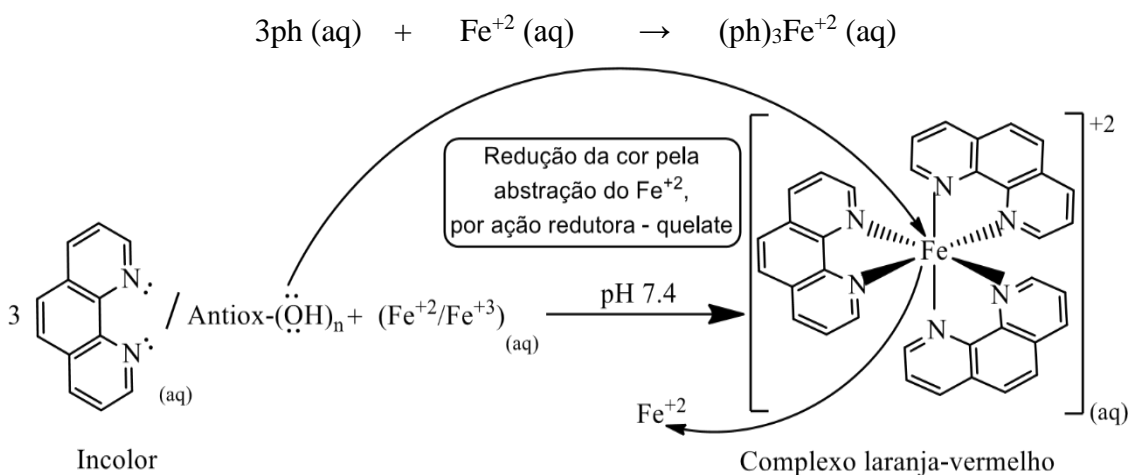


Fonte: Adaptado de (NAIR; TURNER, 1984; SAWICKI *et al.*, 1963).

A peroxidação lipídica *in vitro* foi avaliada em tecido sanguíneo de *Drosophila melanogaster* expostos a diferentes concentrações de  $\text{Fe}^{+2}$ , pelos níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), conforme (OHKAWA *et al.*, 1979).

Com o ensaio da 1, 10 orto-fenantrolina pode-se avaliar a atividade antioxidante dos compostos pela sua capacidade em quelar  $\text{Fe}^{2+}$  ou reduzir  $\text{Fe}^{3+}$ , o qual é baseado na reação de  $\text{Fe}^{2+}$  livre com (o-phe), para formar um complexo laranja-vermelho cuja intensidade da cor é proporcional à medida da absorbância (Figura 18) (MINNOTI; AUST, 1987).

**Figura 18.** Reação química competitiva que descreve a formação do complexo ferroína  $(\text{ph})_3\text{Fe}^{+2}$  a partir de  $(\text{Fe}^{+2} - \text{Fe}^{+3})$  / fenantrolina, em presença da fração rica em taninos.



Fonte: Adaptado de (MINNOTI; AUST, 1987).

Desta forma, a atividade antioxidante *in vitro* pode e deve ser avaliada por testes com diferentes mecanismos para permitir assim uma comparação de resultados (KAUR; KAPOOR. 2002; SUN; HO, 2005)

Para maior consistência na pesquisa da compreensão científica da bioatividade do *S. rotundifolium*, testes *ex vivo* e *in vivo* da atividade antioxidante e toxicidade da fração rica em taninos da espécie são necessários, para correlacionar com resultados obtidos em ensaios *in vitro*. Sabendo ainda, que regularmente estudos *ex vivo* e *in vivo* são visados por estudos *in vitro*, nem sempre estudos *in vitro* resultam ser correlacionados congruentemente com seus pares *ex vivo* e *in vivo*.

Esta forma de trabalho, ajudará para interpretações mais apuradas dos resultados na projeção de riscos e benefícios potenciais para os que usam o *S. rotundifolium* com fins medicinais.

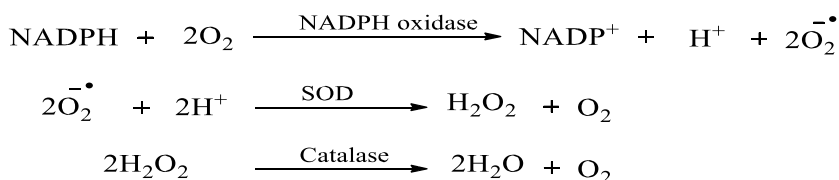
## 2.7 Espécies Reativas de Oxigênio, estresse oxidativo e condições patológicas

Espécies Reativas de Oxigênio (EROs), as quais incluem radicais livres tais como ânion superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ), radical hidroxil ( $HO^{\bullet}$ ) e não-radicais como peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e oxigênio singlete ( $^1O_2$ ) são formas de oxigênio ativadas que exacerbam o dano celular, através de danos oxidativos em macromoléculas como ácidos nucleicos, proteínas, lipídios e carboidratos (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1998; GÜLÇİN *et al.*, 2002a, 2002b, 2006; ROESLER *et al.*, 2007; ABOLAJI *et al.*, 2014).

As mitocôndrias são os componentes celulares mais importantes na produção de  $O_2^{\bullet-}$  e  $H_2O_2$  em mamíferos (CADENAS; DAVIES, 2000). Apesar de  $H_2O_2$  não ser um radical, é um agente oxidante fraco, que atua como subproduto na formação de radicais reativos via oxidação com metais de transição (SOARES, 2013). O  $H_2O_2$  pode atravessar rapidamente as membranas celulares, e uma vez dentro da célula, pode reagir com íons de ferro e cobre gerando o  $HO^{\bullet}$  que é altamente reativo. Além disso, sistemas biológicos que geram  $O_2^{\bullet-}$ , também geram  $H_2O_2$ , como indicado no (Sistema de reações b), através da dismutação de duas moléculas de  $O_2^{\bullet-}$  pela ação da superóxido dismutase (SOD) (HERMES-LIMA *et al.*, 1994; FERREIRA; MUTSABARA, 1997).

Os radicais livres derivados do oxigênio resultam da fagocitose de xenobióticos, como por exemplo, bactérias ou vírus, com consumo de oxigênio que, por sua vez, é convertido em superóxido pela NADPH oxidase, seguindo-se uma nova reação desta vez envolvendo a superoxidase dismutase (SOD), conduzindo a formação de peróxido de hidrogênio, que pela ação da catalase, resulta em moléculas de água, (Sistema de reações b) (HANSON, 2005).

### Sistema de reação b.



O “ataque” de fagócitos e de ROS conduz a alguns danos traduzidos em processos inflamatórios onde o calor, o rubor, o edema e a febre advêm (HANSON, 2005). Muitas vezes ocorre o desequilíbrio entre os processos de formação de espécies reativas de

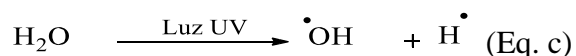


oxigênio e os antioxidantes responsáveis pela sua eliminação e reparação dos danos ocorridos, resultando no estresse oxidativo.

A produção de  $O_2^{\bullet-}$  e  $H_2O_2$  pela cadeia respiratória fornece condições necessárias para a reação química de Fenton levando a formação do radical  $HO^{\bullet}$ , que em sistemas biológicos é o agente mais reativo, reage rápida e inespecificamente com alvos celulares próximos, como as bases purina e pirimidina do DNA, proteínas, carboidratos e lipídios, inclusive ácidos graxos poliinsaturados das membranas celulares, Ferreira; Mutsabara, (1997), o qual remove hidrogênio alílico do ácido graxo insaturado iniciando a oxidação lipídica (ROSSO, 2013; CADENAS; DAVIES, 2000; VALKO *et al.*, 2006).

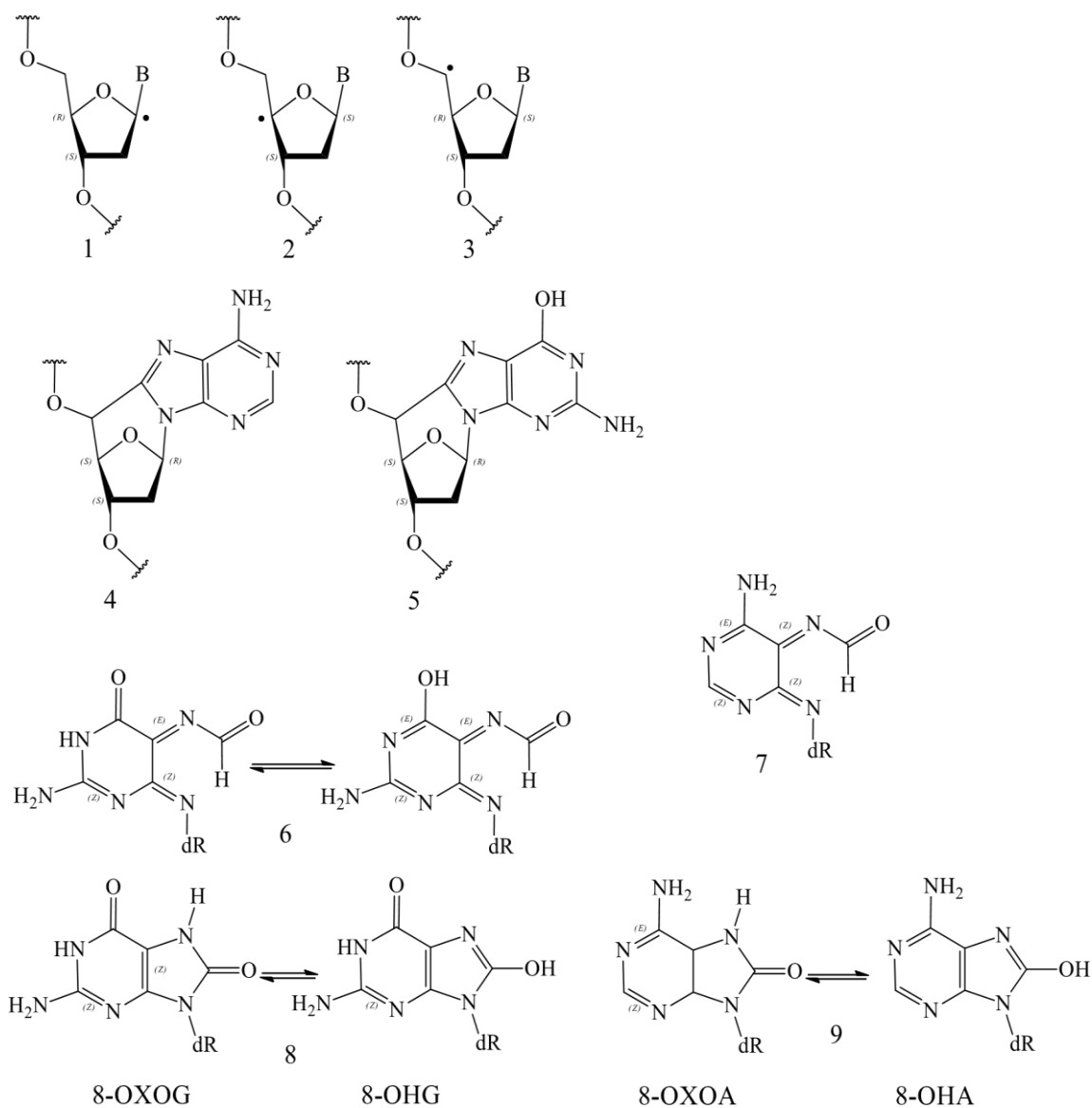
O radical  $HO^{\bullet}$  também é formado no organismo pela quebra de moléculas de água por exposição à radiação ionizante (HALLIWELL *et al.*, 1992) (Reação c). A incidência de radiação no ultravioleta, radiação  $\gamma$  e raios X podem produzir o radical  $HO^{\bullet}$  nas células da pele. O ataque intensivo e frequente deste radical pode originar mutações no DNA e, conseqüentemente, levar ao desenvolvimento de câncer em seres humanos no período de 15 a 20 anos (BARREIROS *et al.*, 2006).

**Reação c:**



O radical  $\cdot OH$ , ataca tanto as bases nitrogenadas quanto a desoxirribose no DNA (Figura 19). O ataque ao açúcar pode ser realizado por abstração de um dos átomos de hidrogênio (1-3) e quase sempre leva à ruptura da cadeia de DNA (HALLIWELL, 1999; CHATGILIALOGLU; O'NEILL, 2001; WISEMAN *et al.*, 1995; CADET *et al.*, 1999). O mecanismo dessa ruptura tem como principais produtos 5'-8-ciclo-2'-desoxiadenosina 8OHdA (4) e 5'-8-ciclo-2'-desoxiguanosina 8OHdG (5). A eletrofilicidade do  $HO^{\bullet}$  possibilita sua interação com as bases nitrogenadas por adição às insaturações em sítios de alta densidade eletrônica. Assim, reage com as bases púricas por adição a C-4 e C-8, e em menor proporção com C-5, e gera 2,6-diamino-4hidroxi-5- formamidopirimidina (FapyG) (6), 4,6-diamino-5-formamidopirimidina (FapyA) (7), 8-oxo-7,8-diidro-2'-desoxiguanosídeo (8-oxoG) (8), (8-oxoA) (9) (BERGER *et al.*, 1999).

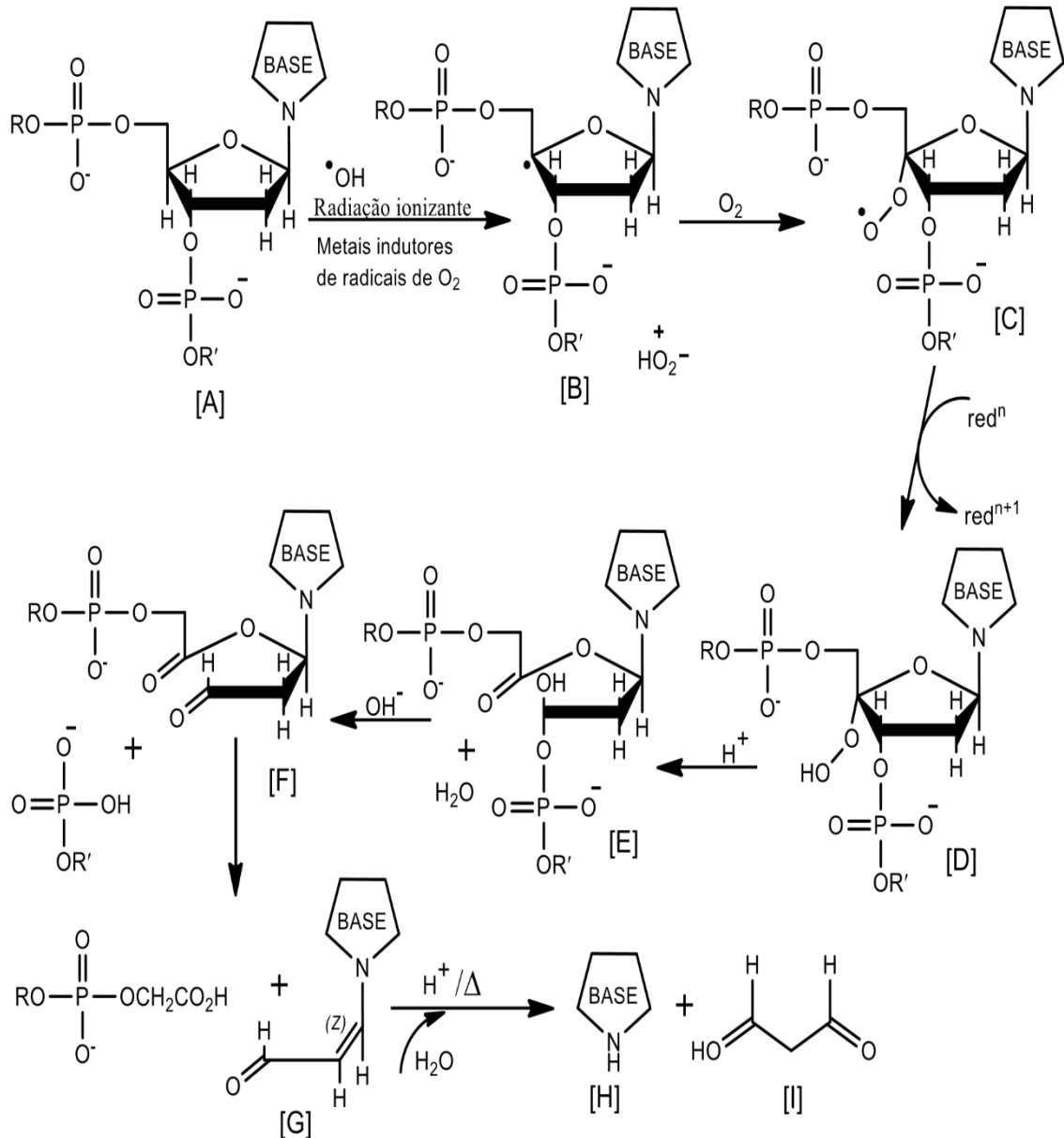
**Figura 19.** Principais produtos da oxidação do DNA por  $\cdot\text{OH}$ .



Fonte: Adaptado de (HALLIWELL, 1999)

Na (Figura 20) um provável mecanismo da formação de MDA pelo ataque à 2-desoxirribose de um desoxirribonucleotídeo de DNA [A] após lesão oxidativa de DNA incitada por radiação ionizante ou geradores de radicais livres de oxigênio. A reação prossegue através de hidroperóxidos intermediário [D] para produzir base propenal [G] que hidrolisa em ácido em base livre [H] e MDA [I]

**Figura 20.** Provável mecanismo para a formação de MDA a partir do componente 2-desoxirribose de um desoxirribonucleotídeo de DNA.



Fonte: Adaptado de (BURGER *et al.*; 1980; GILONI *et al.*, 1981; JANIECK *et al.*, 1985; CHEESEMAN *et al.*, 1988).

Existem evidências de que o estresse oxidativo associado a altas concentrações intercelulares de radicais livres, exerce um papel muito importante em processos de envelhecimento, transformação e morte celular, com consequências diretas em processos patológicos, entre eles, a indução do câncer e a propagação de AIDS em pacientes soropositivos (HIV<sup>+</sup>), bem como na fisiopatologia de doenças crônicas degenerativas,

entre elas, câncer, esclerose múltipla, arteriosclerose, doenças autoimunes, cardiopatias, doenças do pulmão, Parkinson, Alzheimer e intoxicação por xenobióticos entre outras (HALLIWELL *et al.*, 1995; GUERRA, 2001; MELLO *et al.*, 2001; ANDREAS; JULIE, 2005; GELLA; DURANY, 2009; ALIEV *et al.*, 2013).

### 2.7.1 Ferro

O ferro é vital para os organismos vivos por sua participação em múltiplos processos metabólicos essenciais, incluindo o transporte de elétrons e de oxigênio, a síntese de DNA, e como cofator de enzimas e proteínas. Deve ser cuidadosamente regulado para assegurar que sua absorção compense perdas corporais. Ao contrário de outros metais, é altamente conservado pelo organismo. Em indivíduos sem sobrecarga de ferro, o excesso pode ser excretado somente em processos lentos de descamação epitelial, por secreções intestinais e por sangramento menstrual. Em indivíduos normais, a taxa de excreção (ou perda) de ferro é de 1 mg/dia; mulheres no período menstrual apresentam perda adicional de 0,5 a 1 mg/dia (KUSHNER *et al.*, 2001).

Neste aspecto o coração é mais suscetível do que o fígado ao efeito tóxico do ferro devido à sua menor capacidade de síntese de ferritina (GIARDINA; GRADY, 1995). No coração, mesmo pequenas quantidades de ferro livre podem gerar metabólitos tóxicos do oxigênio (OLIVIERI; BRITTENHAM, 1997).

O ferro é armazenado sob a forma de ferritina ou de hemossiderina nas células do sistema mononuclear fagocitário, principalmente no fígado, na medula óssea e no baço, (PIETRANGELO, 2004). Fisiologicamente, o organismo não é capaz de aumentar a excreção de ferro, mesmo quando há sobrecarga dele; portanto, o aumento progressivo do aporte de ferro, por via gastrointestinal ou parenteral, leva impreterivelmente à condição patológica de sobrecarga de ferro (PIETRANGELO, 2004; ANDREWS, 2008; FIX; KOWDLEY, 2008; BRISSOT; BELS, 2006)

No início do século XIX, Trousseau e Troisier descreveram a síndrome clínica caracterizada por cirrose hepática, diabetes *mellitus* e hiperpigmentação da pele, constatando que era causada por acúmulo de ferro em diferentes órgãos; no entanto, somente em 1889 foi denominada, por Von Recklinghausen, de "hemocromatose" (do grego *haima* = sangue e *chromatos* = cor), atualmente conhecida com hemocromatose hereditária (HH) (PIETRANGELO, 2004, BRISSOT; BELS, 2006).

A HH é uma doença autossômica recessiva, caracterizada pelo aumento inapropriado da absorção intestinal de ferro, com conseqüente acúmulo progressivo desse íon em diferentes órgãos e tecidos, especialmente fígado, coração, pâncreas, pele e articulações, podendo ocasionar lesão celular e tecidual, fibrose e insuficiência funcional (FIX; KOWDLEY, 2008, PIETRANGELO, 2009).

Em 2012, se propôs pela primeira vez o conceito de ferroptose, um modo de morte celular dependente de ferro e não apoptótico caracterizado pelo acúmulo de espécies reativas de oxigênio a lipídios (DIXON *et al.*, 2012). Morfologicamente, a ferroptose se manifesta principalmente como encolhimento das mitocôndrias com aumento da densidade da membrana e redução ou desaparecimento das cristas mitocondriais, que é um processo diferente de outros modos de morte celular (DIXON *et al.*, 2012; YANG; STOCKWELL, 2008); YAGODA *et al.*, 2007). Envolve principalmente alterações genéticas na homeostase do ferro e no metabolismo da peroxidação lipídica, intimamente relacionadas aos processos fisiopatológicos de doenças, como tumores, do sistema nervoso, lesão de isquemia-reperfusão, lesão renal e doenças do sangue (LI *et al.*, 2020).

O ferro além de impulsionar a reação de Fenton que culminam com a formação de HO•, na sua forma livre férrica (Fe<sup>+3</sup>), catalisa a reação de produção de EROs através do ciclo de reação de Haber – Weiss (Reações d, e, f), que funciona como uma fonte de oxigênio O<sub>2</sub>. No ciclo Haber – Weiss, o baixo valor da constante de velocidade da reação (e), na atualidade leva a considerar que pelo mecanismo radicalar a principal fonte de O<sub>2</sub> seja a reação (f) (KOPPENOL *et al.*, 1978; BIELSKI; ALLEN, 1977; KWAN; VOELKER, 2002)

<b>Reações d, e, f:</b>	<b>Constante de velocidade L.mol<sup>-1</sup>.s<sup>-1</sup></b>
HO• + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> → H <sub>2</sub> O + HO <sub>2</sub> • (d)	(1,2 – 4,5) x 10 <sup>7</sup>
HO <sub>2</sub> • + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> → O <sub>2</sub> + H <sub>2</sub> O + HO• (e)	0,5
Fe <sup>+3</sup> + HO <sub>2</sub> • → Fe <sup>+2</sup> + O <sub>2</sub> + H <sup>+</sup> (f)	(0,1 – 3,1) x 10 <sup>5</sup>

O Fe<sup>+3</sup> também pode formar HO• na presença de um agente redutor como a glutathiona, ascorbato ou O<sub>2</sub><sup>•-</sup> (MORELLI *et al.*, 2003).

A bioquímica do ferro é estudada em muitos experimentos voltados para danos oxidativos. Apesar do conhecimento que os polifenóis podem se ligar ao ferro, a habilidade de quelação do Fe<sup>+2</sup> pela ação do grupo catecol ou galol é uma importante

ferramenta para elucidar atividades antioxidantes exibida por produtos naturais (PERRON; BRUMAGHIM, 2009).

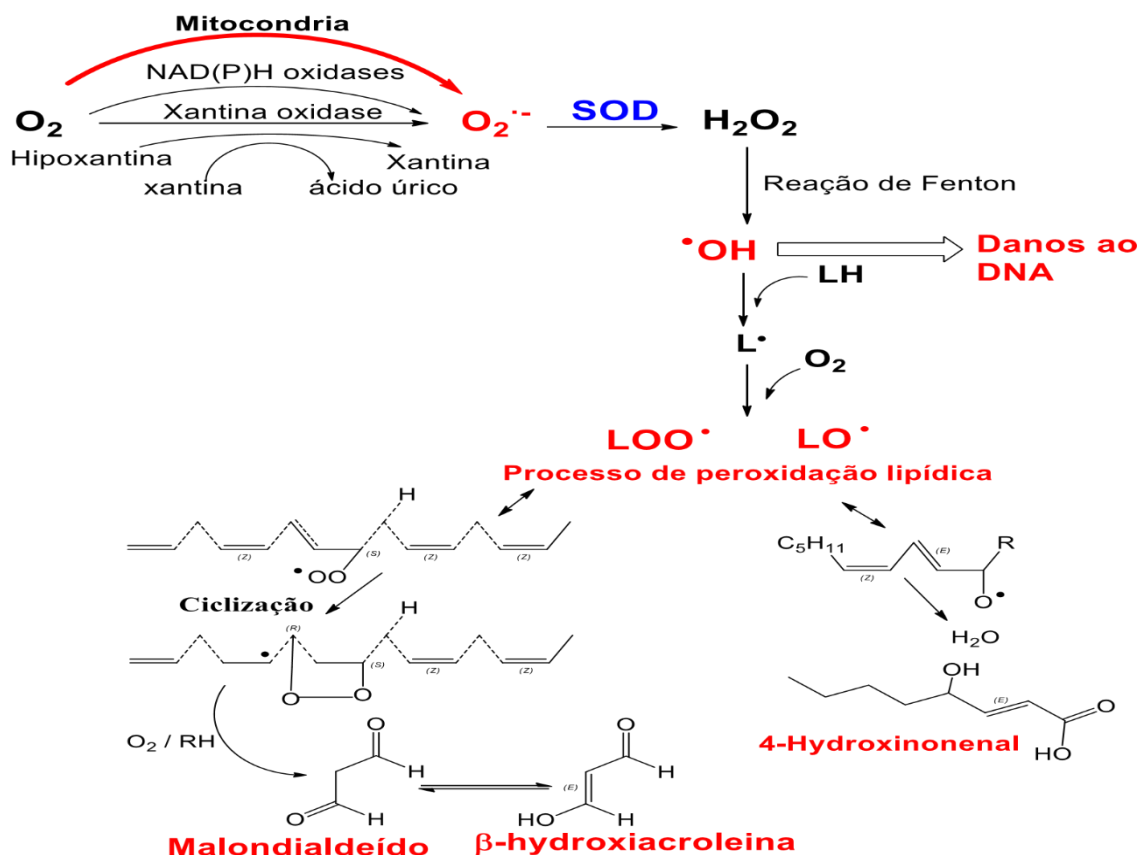
### 2.7.2 Peroxidação lipídica

Os lipídios das membranas celulares são um dos principais alvos das EROs, em especial do  $\bullet\text{OH}$ . A ação inicial sobre o ácido graxo poli-insaturado pela abstração do H, resulta em radical lipídico ( $\text{L}\bullet$ ) o qual sofre oxidação gerando radical peroxil ( $\text{LOO}\bullet$ ) que pode reagir com outros ácidos graxos insaturados, alterando a estrutura e permeabilidade da célula (NIKI, 2014; MADSOOD *et al.*, 2014).

Como nas reações em cadeia são formados os hidroperóxidos lipídicos e outros produtos intermediários entre eles malonildialdeído (MDA), acroleína e 4-hidroxi-nonenal (GROTTO *et al.*, 2009) (Figura 21). Estes intermediários reagem facilmente com proteínas e DNA (STYSKAL *et al.*, 2012). No entanto, compostos polifenólicos como flavonoides e PACs podem inibir a formação dos hidroperóxidos lipídicos (lipoperoxidação), pelo sequestro de radicais peroxil (VALKO, 2006).

O  $\text{O}_2\bullet^-$  é formado pela redução do  $\text{O}_2$  mediado pela NAD(P)H oxidase e xantina oxidase.  $\text{O}_2\bullet^-$  é dismutado pela SOD para formar  $\text{H}_2\text{O}_2$ . O  $\text{Fe}^{+2}$  pode quebrar  $\text{H}_2\text{O}_2$  formando  $\text{HO}\bullet$  (Reação de Fenton). O  $\text{HO}\bullet$  pode abstrair um elétron do ácido graxo poliinsaturado (LH) para resultar em radical lipídico ( $\text{L}\bullet$ ). O  $\text{L}\bullet$  interage com o  $\text{O}_2$  produzindo  $\text{LOO}\bullet$  (radical peroxil). Malondialdeído (MDA),  $\beta$ -hidroxiacroleína e 4-hidroxi-nonenal são produtos intermediários. O MDA pode reagir com as bases citosina, adenina e guanina de DNA (JOMOVA; VALKO, 2011).

**Figura 21.** Processo de lipoperoxidação e formação de EROs.



Fonte: adaptado de (JOMOVA; VALKO, 2011).

## 1.8 Avaliação de toxicidade por modelos alternativos

Registros etnofarmacológicos sugerem que as comunidades locais fazem uso constante de plantas medicinais para tratamento de diversas enfermidades, baseados somente no conhecimento empírico, por acreditarem que estas são isentas de efeitos tóxicos que representem riscos à saúde (TRAESSEL *et al.*, 2017; TOLOUEI *et al.*, 2018). No entanto, muitos metabólitos das plantas são considerados tóxicos por produzirem reações intoxicantes quando entram em contato com o organismo humano, ou animal, e constituem fatores de risco para a homeostase fisiológica e, além disso, podem evoluir para o óbito (CAMPOS *et al.*, 2016).

Por isso, a condução de estudos não clínicos de segurança toxicológica durante o desenvolvimento de drogas sintéticas, naturais ou semissintéticas, são importantes enquanto que tratam de prever os efeitos nocivos que as mesmas poderiam desencadear na exposição humana pelas diversas vias, desde que sejam estudos científica e

técnicamente mais viáveis (CAZARIN *et al.*, 2004; ANVISA 2013). Para cumprimento deste propósito, os modelos animais são os mais utilizados nos estudos toxicológicos e requerido nos processos investigativos. Entretanto, a utilização de animais na pesquisa tem sido razão de diversas discussões em função do grande número necessário e do sofrimento causado, principalmente em relação aos estudos de toxicidade aguda (WHITE, 2001; MEYER, 2003; CAZARIN *et al.*, 2004).

A avaliação dos aspectos toxicológicos das espécies vegetais de uso popular é imprescindível, tendo em vista a ampla distribuição destas nos biomas brasileiros e a tradição do uso popular. Ademais, estudos para garantir a eficácia farmacológica e ausência de toxicidade tornaram-se ferramentas essenciais para definição de estratégias de utilização segura (MENDONÇA *et al.*, 2020).

A realização de estudos não clínicos de segurança é necessária quando formulações com fins medicinais possuem matrizes complexas de compostos químicos, como no caso de produtos naturais com associação de múltiplos metabólitos secundários, cuja segurança não esteja bem estabelecida ou quando o perfil de impurezas da associação é significativamente diferente dos produtos contendo monodrogas (ANVISA, 2013).

Modelos alternativos são efetivamente aplicados em diversas áreas de pesquisa, como em toxicologia e farmacologia, e possuem maior aceitação ética, pois são representados por pequenos animais não-mamíferos como nematódeos (*Caenorhabditis elegans*), crustáceo da ordem anostraca (*Artemia Artemiidae*), peixe-zebra (*Danio rerio*) e moscas (*Drosophila melanogaster*). Estes modelos dispensam aprovação do comitê de ética e podem ser implantados com facilidade em pequenos laboratórios, exigindo pouca estrutura e baixo investimento. Além disso, são eficientes, versáteis e apresentam reprodução rápida, com ampla utilização na condução de ensaios de genotoxicidade (MEYER *et al.*, 1982; GLAVISBLOOM *et al.*, 2012).

### **1.8.1 *Drosophila melanogaster* na avaliação de parâmetros toxicológicos**

Moscas *Drosophila melanogaster* (Figura 22), típico invertebrado da classe dos insetos, conhecida como mosca-da-fruta. Apresenta anatomia complexa, pequeno tamanho de aproximadamente 2,5 mm de comprimento e ciclo de vida curto, com aproximadamente 10 dias de diferença entre a sua forma de ovo à forma fértil. Tem sido usada como um modelo animal alternativo para o estudo de mecanismos envolvidos na patogênese de diversas doenças humanas (BIER, 2005). Além disso, é considerado um



modelo importante para a pesquisa de genes alvos de várias patologias, de acordo com o Centro Europeu para a Validação de Métodos Alternativos (ECVAM) (BENFORD *et al.*, 2000). Além de compartilhar inúmeros genes, a *Drosophila melanogaster* também mostram marcantes similaridades aos de roedores e humanos (RUSTEN *et al.*, 2004). Muitos órgãos que controlam a absorção, armazenamento e metabolismo em humanos estão presentes como complexos celulares em moscas, desempenhando as mesmas funções (SCOTT *et al.*, 2004; ROVENKO *et al.*, 2015).

**Figura 22.** Moscas *Drosophila melanogaster* aumentadas 40X



Fonte: Gerson Javier Torres Salazar, (2021). Registro feito com Sistema microscópico L-2000A BIOLAV com monitor e câmera microprocessadora.

Moscas *D. melanogaster* apresentam sofisticadas respostas imunes inatas, com genes e vias semelhantes às de mamíferos (HOFFMANN, 2003; LEMAITRE 2004). Estas características atribuídas à *D. melanogaster* são predilectas para avaliar genotoxicidade de plantas medicinais. Sendo possível o análise de mutações gênicas, deleção e recombinações frente a exposições a agentes genotóxicos (VOGEL *et al.*, 1999; FRAGIORGE *et al.*, 2008).

Por várias décadas o uso de *Drosophila melanogaster* tem se destacado em avaliações genotóxicas (CASTRO *et al.*, 2008), envelhecimento, (SUN *et al.*, 2010; BOYD *et al.*, 2011; TERÁN *et al.*, 2012; PENG *et al.*, 2012), comportamento e doenças neurológicas (SUDATI *et al.*, 2013; KIM *et al.*, 2011), estresse oxidativo (BOURG, 2001; SOTIBRÁN *et al.*, 2011), possivelmente por causa do sequenciamento do genoma e da similaridade genética comparada aos mamíferos (KIM *et al.*, 2011).

É um modelo pouco dispendioso e de fácil manutenção e reprodução (CASTRO *et al.*, 2008). Na biologia celular e molecular, as moscas são usadas como modelo experimental para análise dos processos que envolvem as doenças humanas uma vez que

177 dos 289 genes relacionados a doenças em humanos, são encontrados na mosca e tem a mesma função que em humanos (RUBIN *et al.*, 2000).

Os fatores antes listados, fazem com que ensaios *in vivo* de suplementação de dieta padrão de carboidrato – proteína – gordura, com a fração tânica de *S. rotundifolium* Mart em diferentes concentrações na alimentação de moscas *D. melanogaster*, sejam propícios para avaliar toxicidade considerando parâmetros como, a taxa de sobrevivência conforme metodologia de Duavy *et al.*, (2019), por conteio do número de moscas vivas e mortas diariamente, e avaliação do desempenho locomotor por meio de ensaios de geotaxia negativa e rastreamento de movimento em campo aberto previamente descrito (FEANY; BENDER, 2000; WHITE *et al.*, 2010; ABOLAJI *et al.*, 2014).

Considerando o exposto, ensaios com moscas *Drosophila melanogaster* que avaliam atividade antioxidante *in vitro*, e toxicidade e comportamento locomotor *in vivo* constituem uma importante ferramenta de pesquisa sobre o estresse oxidativo.

## 1.9 Dimensões sócio-culturais da pesquisa

No decorrer do século XIX, mais especificamente na sua segunda metade, o Ceará, uma modesta província do Império do Brasil, foi palco de uma viagem científica por um grupo formado por científico naturalistas exclusivamente brasileiros que estudaram sua fauna, flora, solo, rios, suas pedras e elementos da cultura material e imaterial da gente do Brasil que seriam transformadas em objeto de experimentos, estudos e relatos científicos, concedendo respaldo ao processo de desenvolvimento e engrandecimento da nação, em dois escritos: *o Diário de Viagem de Francisco Freire Alemão e os Ziguezagues da Seção Geológica da Comissão Científica do Norte* de autoria de Freire Alemão e Capanema (CAVALCANTE, 2012, p. 17).

O primeiro naturalista a estudar a vegetação da Caatinga, nos estados da Bahia, Pernambuco, Piauí, Maranhão, foi o alemão Von Martius que a denominou *Silvae Aestu Aphullae* (“floresta sem folhas durante o estio”). Pela Província do Ceará vários viajantes passaram em comissão, incumbidos de realizar estudos no campo das ciências naturais, destacando-se João da Silva Feijó (G. Gardner) e Antônio Bezerra de Menezes, os quais realizaram coletas de centenas de amostras de plantas e registraram o uso de várias delas como medicinais. A contribuição desses naturalistas para o conhecimento da flora brasileira é incalculável: centenas de novas espécies foram descobertas e inúmeros novos

gêneros foram descritos, com base no material que eles coletaram (LEMOS, 2006; MEDEIROS, 2009; MOREIRA; OLIVEIRA, 2012).

O uso de plantas medicinais, no âmbito da legislação brasileira, baseia-se nos princípios de segurança e eficácia, validados por meio de levantamentos etnofarmacológicos, documentações técnico-científicas ou ensaios clínicos, conforme consta na RDC nº 26/14 –ANVISA (BRASIL, 2014; BOCHNER *et al*, 2012). Por outro lado, lhe é difícil ao poder público reconhecer o uso de plantas medicinais enquanto aspectos de ordem cognitiva, simbólica e institucional próprios à sociedade, caracterizando a medicina tradicional como uma prática ilegal do saber pela ausência de procedimentos científicos (SANTOS, 2005).

Neste aspecto observa-se um crescente interesse de pesquisadores vinculados à área da bioprospecção de produtos naturais e da área etnofarmacológica, que reside no desvelamento promissor de estudos que investigam fitoconstituintes, propriedades farmacológicas e medicinais de plantas reportadas com uso tradicional medicinal. No caso específico da nossa pesquisa com o "barbatimão" *S. rotundifolium*, acreditamos que esta inquietação encontra amparo particularmente, no sentido de subsidiar uma prática medicinal popular de inquestionável e inestimável valor cultural, e de funcionar como base para continuar no desvendamento de novas aplicações fitoterápicas.

Compreende-se que a comunidade científica tem o dever social de contribuir para o desenvolvimento do país e o uso racional dos recursos naturais. Além disso, o fortalecimento das práticas empíricas na Região do Cariri, mais especificamente na Chapada do Araripe, especialmente a medicina popular, precisa de afirmação científica que resulte relevante para o cumprimento de nosso papel como pesquisadores, inserido neste contexto regional.

Por outra parte, para que possamos dizer que uma determinada plantas é oficialmente validada como medicinal, faz-se necessário a realização de ensaios clínicos oficiais, que muitas vezes os pesquisadores não conseguem fazer. Neste cenário de dificuldade de realização de ensaios clínicos para validação medicinal de plantas relatadas como medicinais frente a determinadas condições patológicas, se tornam importantes as pesquisas etnobotânicas e etnofarmacológicas que revelem o uso de plantas durante longo períodos de tempo (as vezes até séculos), sem recorrentes relatos de efeitos tóxicos adversos, que junto a informações químicas e farmacológicas, podem vir a se tornar vias de usos confiáveis na prática medicinal para os povos desprovidos de renda para comprar remédios em redes de farmácias.

Neste aspecto, o presente estudo para compreender as propriedades medicinais do "barbatimão" *S. rotundifolium* Mart., se torna de muita importância para a população brasileira e no especial para a nordestina, visando o cuidado da espécie frente ao crescimento das fronteiras agrícolas, das cidades e povoados, baseado num princípio de que as pessoas protegem aquilo que reconhecem como útil, então se eles conhecem uma planta como sendo útil eles passam a protegê-la, de certa forma passa a ser uma defesa do meio ambiente.

Grande parte da flora brasileira, especialmente das plantas nativas, são desconhecidas do ponto de vista fitoquímico e farmacológico. Muitas espécies são usadas empiricamente, sem respaldo científico quanto à eficácia e segurança, revelando a impotência dos governantes em lidar com esse vasto celeiro de moléculas a serem descobertas (JBRJ, 2017; SIMÕES *et al.*, 2002).

A pesquisa de bioprospecção pela busca de substâncias de alto valor agregado, derivadas de vegetais faz do mercado farmacêutico, cosmético, industrial e de energia um espaço de constantes modificações e reestruturação. Ligado a estes fatores, a biopirataria e a bioprospecção são pautas constantes em fóruns e encontros de órgãos governamentais e não governamentais internacionais, ora sob o aspecto dos direitos das populações tradicionais, ora pela discussão da preservação e uso da biodiversidade (REZENDE; RIBEIRO, 2005).

É de grande importância e interesse terapêutico conhecer os principais grupos de metabólitos secundários no gênero *Stryphnodendron* com seus respectivos métodos de extração, para poder isolar, identificar e dosar os mesmos. Embora uma planta possa conter centenas de metabólitos secundários, apenas os compostos presentes em maior concentração são geralmente isolados e estudados pela fitoquímica clássica. Porém, normalmente, os compostos presentes em menor proporção na planta são os que apresentam melhores efeitos terapêuticos (YUNES; CALIXTO, 2001). No entanto, é válido ressaltar que plantas possuidoras de substâncias em princípio consideradas terapêuticas também podem causar efeitos indesejados ou tóxicos, sendo imprescindível à realização de estudos toxicológicos (ESCOBAR, 2007).

A pesquisa etnofarmacológica, vertente relativamente nova do estudo de plantas medicinais, vem sendo reconhecida como um dos melhores caminhos para a descoberta de novas drogas, orientando os estudos de laboratório no direcionamento de uma determinada ação terapêutica, reduzindo significativamente os investimentos em tempo e dinheiro (ALMEIDA, 2011).

A partir da década de 1990 as pesquisas envolvendo os saberes e as práticas “tradicionais” ganharam novo sentido indo além da simples compilação de plantas e animais, sob a suposição tática de que o sucesso da descoberta de novos fármacos seria maior a partir de pesquisas etnodirigidas, houve um incremento significativo em tais pesquisas (ALBUQUERQUE; HANAZAKI, 2006).

Muitos acreditam que a abordagem mais valiosa para ajudar a identificar espécies que possuam compostos bioativos envolve a etnobiologia. Nessa abordagem, mais especificamente, a etnobotânica, tem sido inestimável para ajudar a identificar espécies úteis no desenvolvimento de novas drogas (PRADO; MURRIETA, 2015).

No contexto econômico, o conhecimento tradicional tem grande significado para as inovações na identificação de novas plantas com atividades farmacológicas, fazendo papel de “filtro” para a inovação tecnológica (REZENDE; RIBEIRO, 2005). Nesse sentido, a etnobotânica vem sendo influenciada pelas necessidades da etnofarmacologia que apesar de não objetivar identificar substâncias químicas com uso farmacológico, mostra potencial de desdobramento, com a indicação de espécimes, partes utilizadas, particularidades do preparo e do uso que subsidiam pesquisa de propriedades bioativas (ALBUQUERQUE; HANAZAKI, 2006).

A etnofarmacologia tem contribuído para que a comunidade científica compreenda o dever social de contribuir para o desenvolvimento do país e o uso racional dos recursos naturais. Ademais, o fortalecimento das práticas empíricas na Região do Cariri, mais especificamente na Chapada do Araripe, aí incluídas a medicina popular, precisa de afirmação científica que resulte relevante para o cumprimento de nosso papel pesquisador, em que se refira de modo especial às universidades inseridas no contexto regional nordestino (URCA, UFRPE, UFPE, UEPB).

Tendo em vista as propriedades atribuídas às espécies vegetais pertencentes ao Gênero *Stryphnodendron*, e considerando que a espécie *S. rotundifolium* tem ampla ocorrência na Chapada do Araripe, tendo-se relatos de uso popular por comunidades tradicionais na região e ainda, sendo a mesma carente de maiores investigações científicas, despertou nosso interesse em avaliar a atividade antioxidante e toxicidade de um extrato rico em compostos fenólicos tânicos dessa espécie.

Considerando a associação entre os compostos tânicos, presentes na espécie *S. rotundifolium* e os relatados efeitos benéficos à saúde (OLIVEIRA, *et al.*, 2011; REBECCA *et al.*, 2002; ALBUQUERQUE *et al.*, 2007); RODRIGUES *et al.*, 2008). Justifica-se extrair, isolar e caracterizar a maior quantidade de compostos tânicos da

planta, e por meio de ensaios antioxidantes *in vitro*, e *in vivo*, descobrir relações entre composição química fenólica, atividade antioxidante e efeitos medicinais, além de avaliar a sua toxicidade em modelos experimentais *in vivo*.

O conhecimento derivado da pesquisa, seria de grande valor científico - social para melhorar na compreensão científica das práticas medicinais do *S. rotundifolium*, no sentido da geração de associações específicas entre as propriedades medicinais da planta e seus constituintes bioativos fenólicos, e se possível, orientar práticas adaptativas e de inovação que contribuam para o incremento do *status* de conhecimento medicinal da espécie e a sua conseqüente conservação, sem dissociação das concepções ancestrais nativas.

A partir do estudo, pretende-se divulgar cientificamente os resultados alcançados assim como os procedimentos e tecnologias usadas para viabilizar alternativa padronizadas de extração e isolamento de compostos tânicos do *S. rotundifolium* e compreender o relatado em torno das propriedades medicinais da espécie conforme aos modelos experimentais utilizados.

Os dados gerados nessa tese propiciarão a escrita e publicação de artigos originais da pesquisa. Espera-se dessa maneira, que os resultados possam satisfazer a uma demanda acadêmica e à sociedade Caririense, ao passo em que não se poderia esquecer o mérito pretendido pelo caráter inovador do estudo, desconhecendo-se a existência de trabalhos abordando perspectivas semelhantes.

## 2 REFERÊNCIAS

- ABDALLA, D. S. P. Antioxidantes: conceitos básicos e perspectivas terapêuticas. *Ars Curandi-Clinica Medica*, v. 26, n. 10, p. 141-64, 1993. Acesso 18 out 2021.
- ABOLAJI, A. O.; KAMDEM, J. P.; LUGOKENSKI T. H.; NASCIMENTO T. K.; WACZUK, E. P.; FAROMBI, E. O.; LORETO, É. L. S.; ROCHA, J. B. T. Involvement of oxidative stress in 4-vinylcyclohexene-induced toxicity in *Drosophila melanogaster*. *Free Radical Biology and Medicine*, v. 71, p. 99–108. 2014. Doi:10.1016/j.freeradbiomed.2014.03.014.
- ALBUQUERQUE, U. P.; HANAZAKI, N. As pesquisas etnorientadas na descoberta de novos fármacos de interesse médico e farmacêutico: fragilidades e perspectivas. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, [supl. 1.], v. 16, p.678-689, 2006. ISSN 0102-695X.
- ALBUQUERQUE, U. P.; MEDEIROS, P. M.; ALMEIDA, A. L. S.; MONTEIRO, J. M.; LINS NETO, E. M.; MELO, J. G.; SANTOS, J. P. Medicinal plants of the caatinga (semi-arid) vegetation of NE Brazil: a quantitative approach. *Journal of Ethnopharmacol.* 114(3), 325-354. 2007. Doi:10.1016/j.jep.2007.08.017.
- ALIEV, G.; OBRENOVICH, M. E.; TABREZ, S.; JABIR, N. R.; REDDY, V. P.; LI, Y.; BURNSTOCK, G.; CACABELOS, R.; KAMAL, M. A. Link between Cancer and Alzheimer Disease via Oxidative Stress Induced by Nitric Oxide-Dependent Mitochondrial DNA Overproliferation and Deletion. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 962984. 2013. Doi:10.1155/962984.
- ALMEIDA, A. C.; ANDRADE, V. A.; FONSECA, F. S. A.; MACÊDO, A. A.; SANTOS, R. L.; COLEN, K. G. F.; MARTINS, E. R.; MACÊDO, N. A. Acute and chronic toxicity and antimicrobial activity of the extract of *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 37(8):840-846. 2017 Doi:10.1590/S0100-736X2017000800010.
- ALMEIDA, M. Z. de. Plantas medicinais: abordagem histórico-contemporânea. In: *Plantas Medicinais* [online]. 3rd ed. Salvador: EDUFBA, 2011, pp. 34-66. ISBN 978-85-232-1216-2. Acesso em SciELO Books <http://books.scielo.org>
- ALVES, P. G. S.; POVH, J. A. Estudo etnobotânico de plantas medicinais na comunidade de Santa Rita, Ituiutaba – MG. *Biotemas*, 26 (3): 231-242, 2013. Doi:10.5007/2175-7925.2013v26n3p231
- ALWYN, H.; GENTRY, ELSA M.; ZARDINI, A. FERNANDES. Tropicos.org. Missouri Botanical Garden. 1985. Acesso em 05 julho 2017 <http://www.tropicos.org/Name/13033233>
- AMORIM, E. L. C.; NASCIMENTO, J. E.; MONTEIRO, J. M.; SOBRINHO, T. J. S. P.; ARAUJO, T. A. S.; ALBUQUERQUE, U. P. Simple and accurate procedure for the determination of Tannin and flavonoid levels and some applications in ethnobotany and ethnopharmacology. *Functional Ecosystems and Communities*, v. 2, n. 1, p. 88-94, 2008. Acesso 05 out, em:

[http://www.globalsciencebooks.info/Online/GSBOnline/images/0812/FEC\\_2\(SI1\)/FEC\\_2\(SI1\)88-94o.pdf](http://www.globalsciencebooks.info/Online/GSBOnline/images/0812/FEC_2(SI1)/FEC_2(SI1)88-94o.pdf)

ANDREAS, H.; JULIE, L. Oxidative stress and inflammation in Parkinson's disease: is there a causal link? *Experimental Neurology*. 2005; 193(2), 279-90. Doi:10.1016/j.expneurol.2005.01.013.

ANDREWS, N. C. Forging a field: the golden age of iron biology. *Blood*. 112(2):219-30. 2008. Doi:10.1182/blood-2007-12-077388.

ANTOLOVICH, M.; PRENZLER, P.; PATSALIDES, E.; Mc DONALD, S.; ROBARDS, K. Methods for testing antioxidant activity. *Analyst* 127: 183-198, 2002. Doi:10.1039/B009171P

ANVISA. Guia para a condução de estudos não clínicos de toxicologia e segurança farmacológica necessários ao desenvolvimento de medicamentos. Gerência de Avaliação de Segurança e Eficácia – GESEF. Brasília, 31 de janeiro de 2013 – Versão 2. Disponível em: <http://antigo.anvisa.gov.br/documents/33836/2492465/Guia+para+a+Condu%C3%A7%C3%A3o+de+Estudos+N%C3%A3o+Cl%C3%ADnicos+de+Toxicologia+e+Seguran%C3%A7a+Farmacol%C3%B3gica+Necess%C3%A1rios+ao+Desenvolvimento+de+Medicamentos+-+Vers%C3%A3o+2/a8cad67c-14c8-4722-bf0f-058a3a284f75>

AQUINO, M. D. A. de; TELES, A. A. B.; HOLANDA, V. N.; MENEZES I. R. A. de; VANDESMET, V. C. S. Evaluation of the Hepatic Activity of the Hydroalcoholic Extract of Bark *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. *Revista Interfaces*. 125; Vol. 5, n 15: 48-54. 2017. Doi:10.16891/2317-434X.v5.e15.a2017pp48-54

ARAÚJO, A.. M. Medicina rústica. 3ª ed. São Paulo: Brasiliense; 1979. Biblioteca virtual em saúde. Sec. Est. Saúde SP, SESSP-ILSLACERVO, Sec. Est. Saúde SP | ID: biblio-1231400. Biblioteca responsável: BR191.1

AUDI, E. A.; TOLEDO, D. P.; PERES, P. G.; KIMURA, E.; PEREIRA, W. K. V.; MELLO, J. C. P.; NAKAMURA, C.; ALVES-DO-PRADO, W.; CUMAN, R. K. N.; BERSANI-AMADO, C. A. Gastric antiulcerogenic effects of *Stryphnodendron adstringens* in rats. *Phytotherapy Research*, v. 13, p. 264-266. 1999. Doi:10.1002/(SICI)1099-1573(199905)13:3<264::AID-PTR443>3.0.CO;2-R

AUGUSTO, O. In: *Radicais Livres: bons, maus e naturais*. 1a ed. Serie Inventando o Futuro. São Paulo: Universidade de São Paulo. 2006. Pp. 120. ISBN: 9788586238505

BABIOR, B. M. Superoxide: a two-edged sword. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 30, 141-55. 1997. Doi:10.1590/s0100-879x1997000200001.

BAKHOUCHE, A.; LOZANO-SÁNCHEZ, J.; BELTRÁN-DEBÓN, R.; JOVEN, J.; SEGURA-CARRETERO, A.; FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ, A. Phenolic characterization and geographical classification of commercial Arbequina extra-virgin olive oils produced in southern Catalonia. *Food Research International*, 50: 401-408, 2013. Doi:10.1016/j.foodres.2012.11.001



- BALDIVIA, D. D. S.; LEITE, D. F.; CASTRO, D. T. H. D.; CAMPOS, J. F.; DOS SANTOS, U. P.; PAREDES-GAMERO, E. J.; CAROLLO, C. A.; SILVA, D. B.; SOUZA, K. DE P.; DOS SANTOS, E. L. Evaluation of *In Vitro* Antioxidant and Anticancer Properties of the Aqueous Extract from the Stem Bark of *Stryphnodendron adstringens*. *International Journal of Molecular Sciences*. 19, 2432. 2018. Doi:10.3390/ijms19082432
- BARREIROS, A. L. B. S.; JORGE, M.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: Relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. *Química Nova*. v. 29, n.1, 113-123, 2006. Doi:10.1590/S0100-40422006000100021
- BFG. Growing knowledge: an overview of Seed Plant diversity in Brazil. *Rodriguésia*, v. 66, n. 4, p.1085-1113. 2015. Doi:10.1590/2175-7860201566411
- BFG. Brazilian Flora 2020: Leveraging the power of a collaborative scientific network. *Taxon*. 2021. Doi:10.1002/tax.12640
- BELTRESCHI, L.; de LIMA, R. B.; da CRUZ, D. D. Traditional botanical knowledge of medicinal plants in a “quilombola” community in the Atlantic Forest of northeastern Brazil. *Environment, Development and Sustainability*, 1-19, 2018. Doi:10.1007/s10668-017-0079-6
- BENFORD, D. J.; HANLEY, B. A.; BOTTRILL, K.; OEHLISCHLAGER, S.; BALLS, M.; BRANCA, F, CASTEGNARO J. J.; DESCOTES, J.; HEMMINIKI, K.; LINDSAY, D.; SCHILTER, B. Biomarkers as predictive tools in toxicity testing: The Report and Recommendations of ECVAM Workshop. *ATLA: Alternatives to Laboratory Animals*. v. 28(1), p. 119-31. 2000. Doi:10.1177/026119290002800104
- BENTON, R. Chemical sensing in *Drosophila*. *Current Opinion in Neurobiology*. V. 18(4), p. 357-363, 2008. Doi:10.1016/j.conb.2008.08.012.
- BENZIE, I.; STRAIN, J. Ferric reducing/antioxidant power assay: Direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. *Methods in enzymology*. Academic press. 299: 15-27, 1999. Doi:10.1016/s0076-6879(99)99005-5
- BERGER, P.; LEITNER, N. K. V.; DORÉ, M.; LEGUBE B. *Water Res.* 33, 433. 1999. BIELSKI, B. H. J.; ALLEN, A. O. Mechanism of the Disproportionation of Superoxide Radicals. *The Journal of Physical Chemistry*, Vol. 81, N 11, 1977. Doi:10.1021/J100526A005.
- BIER, E. *Drosophila* the Golden Bug, Emerges as a Tool for Human Genetics. *Nature Reviews Genetics*, v. 6, n. 1, p. 9-23, 2005. Doi: 10.1038/nrg1503.
- BITU, V. de C. N.; BITU, V. de C. N.; MATIAS, E. F. F.; LIMA, W. P. de; PORTELO, A. da C.; COUTINHO, H. D. M.; MENEZES, I. R. A. de. Ethnopharmacological study of plants sold for therapeutic purposes in public markets in northeast Brazil. *Journal Ethnopharmacol.* v. 172, article 9584, 265-272. 2015. Doi:10.1016/j.jep.2015.06.022

BLADÉ, C.; ARAGONÈS, G.; AROLA-ARNAL, A.; MUGUERZA, B.; BRAVO, F. I.; SALVADÓ, M. J.; AROLA, L.; SUÁREZ, M. Review Article: Proanthocyanidins in health and disease. *International Union of Biochemistry and Molecular Biology*, v. 42, n. 1, 2016, p. 5–12. Doi:10.1002/biof.1249

BOCHNER, R.; FISZON, J. T.; ASSIS, M. A.; AVELAR, K. E. S. Problemas associados ao uso de plantas medicinais comercializadas no Mercado de Madureira, município do Rio de Janeiro, Brasil. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, [s. l.], v. 14, n. 3, p.537-547, 2012. Doi:10.1590/S1516-05722012000300017

BOSSU, C. M.; FERREIRA, E. C.; CHAVES, F. S.; MENEZES, E. A.; NOGUEIRA, A. R. Flow injection System for hydrolyzable tannin determination. *Microchemical Journal*, 84, 88-92, 2006. Doi:10.1016/j.microc.2006.04.022

BOURG, E. Oxidative stress, aging and longevity in *Drosophila melanogaster*. *Federation of European Biochemical Societies – FEBS Letters*. v. 498, p. 183-186, 2001. Doi:10.1016/S0014-5793(01)02457-7

BOYD, O.; WENG, P.; SUN, X.; ALBERICO, T.; LASLO, M.; OBENLAND, D. M.; KERN, B.; ZOU, S. Nectarine promotes longevity in *Drosophila melanogaster*. *Free Radical Biology & Medicine*. v. 50(11), p. 1669-1678, 2011. Doi:10.1016/j.freeradbiomed.2011.03.011

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *Lebensm-Wiss. u.-Technol.*, v. 28(1), p.25-30, 1995. Doi:10.1016/S0023-6438(95)80008-5

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa). Resolução RDC nº 26, de 13 de maio de 2014. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos e o registro e a notificação de produtos tradicionais fitoterápicos. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 14 de maio de 2014. Disponível em: [https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2014/rdc0026\\_13\\_05\\_2014.pdf](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2014/rdc0026_13_05_2014.pdf)

BRAVO, L.; R. MATEOS. Analysis of Flavonoids in Functional Foods and Nutraceuticals. *Functional Foods and Nutraceuticals*, Second Edition. 2008. Doi:10.1201/9781420007152.CH3

BRISSOT, P.; de BELS, F. Current approaches to the management of hemochromatosis. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 36-41. 2006. Doi:10.1182/asheducation-2006.1.36.

BROADHURST, R. B., JONES, W. T. Analysis of condensed tannins using acidified vanillin. *Journal of the Science of Food Agriculture*. 29(9), 788-794, 1978. Doi:10.1002/jsfa.2740290908

BUENDIA, B.; GIL, M. I.; TUDELA, J. A.; GADY, A. L.; MEDINA, J.; SORIA, C. HPLC-MS analysis of proanthocyanidin oligomers and other phenolics in 15 strawberry cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(7), 3916–26, 2010. Doi:10.1021/jf9030597.

BURGER, R. M.; BERKOWITZ, A. R.; PEISACH, J.; HORWITZ, S. B. Origin of malondialdehyde from DNA degraded by Fe(II) bleomycin. *The Journal of biological chemistry*. 255(24):11832-11838; 1980. Doi:10.1016/s0021-9258(19)70209-9

CADENAS, E.; DAVIES, K. J. A. Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging. *Free Radical Biology & Medicine*. v. 29(3-4), p. 222-230, 2000. Doi:10.1016/s0891-5849(00)00317-8.

CADET, J.; DELATOUR, T.; DOUKI, T.; GASPARUTTO, D.; POUGET, J. P.; RAVANAT J. L.; SAUVAIGO, S. Hydroxyl radicals and DNA base damage. *Mutat. Res*. 1999. 8;424(1-2): 9-21. Doi:10.1016/s0027-5107(99)00004-4.

CAMPBELL, M. K., SHAWN O. F. *Biochemistry*. (4th ed.) Singapore: Thomson Asia pte Ltd. 2005.

CAMPOS, S. C.; SILVA, C. G.; CAMPANA, P. V. R.; ALMEIDA, V. L. Toxicidade de espécies vegetais. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*. v.18, n.1, p.373-382, 2016. Doi:10.1590/1983-084X/15\_057

CARVALHO, J. T. G. DE; AGUDELO, JUAN SEBASTIAN H.; BALDIVIA, D. DA S.; CAROLLO, C. A.; SILVA, D. B.; SOUZA, K. DE P.; CÂMARA, N. O. S.; SANTOS, E. L. dos. Hydroethanolic stem bark extracts of *Stryphnodendron adstringens* impair M1 macrophages and promote M2 polarization. *Journal of Ethnopharmacology*. 254. 112684. 2020. Doi:10.1016/j.jep.2020.112684

CASSIDY, A.; KAY, C. *Phytochemicals: Classification and Occurrence*. In *Encyclopedia of Human Nutrition (Third Edition)*. Reference Module in Biomedical Sciences, Pages 39-46. 2013. Doi:10.1016/B978-0-12-375083-9.00226-9

CASTEJON, F. V. *Taninos e saponinas*. Universidade Federal de Goiás. 2011. Disponível em: [https://files.cercomp.ufg.br/weby/up/67/o/semi2011\\_Fernanda\\_Castejon\\_1c.pdf](https://files.cercomp.ufg.br/weby/up/67/o/semi2011_Fernanda_Castejon_1c.pdf)

CASTRO, A. J. S.; GRISOLIA, C. K.; ARAÚJO, B. C.; DIAS, C. D.; DUTRA, E. S.; NEPOMUCENO, J. C. Recombinogenic effects of the aqueous extract of pulp from Pequi fruit (*Caryocar brasiliense*) on somatic cells of *Drosophila melanogaster*. *Genetics and Molecular Research*. v. 7, n. 4, p. 1375-1383, 2008. Doi:10.4238/vol7-4gmr515

CAVALCANTE, F.H.B. “O Brasil e o Ceará”: as notas de viagem de Freire Alemão e Capanema e suas impressões sobre o Ceará (1859-1861). 217 f. Dissertação (Mestrado em História) –Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 2012. Disponível em: <http://www.uece.br/mahis/dmdocuments/FRANCISCA%20HISLLYA%20BANDEIRA%20CAVALCANTE.pdf>

CAZARIN, K. C. C.; CORRÊA, C. L.; ZAMBRONE, F. A. D. Redução, refinamento e substituição do uso de animais em estudos toxicológicos: uma abordagem atual. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*. vol. 40, n. 3, 2004. Doi:10.1590/S1516-93322004000300004

CECÍLIO, B. A.; FARIA, D. B. de; OLIVEIRA, P. de C.; CALDAS, S.; OLIVEIRA, A. D. de; SOBRAL, G. M. E.; DUARTE, R. M. G.; MOREIRA, de S. C. P.; SILVA, G. C.; ALMEIDA, V. L. de. Screening of Brazilian medicinal plants for antiviral activity against rotavírus. *J. of Ethnopharmacology*. 141: 975 – 981. 2012. Doi:10.1016/j.jep.2012.03.031

CHATGILIALOGLU, C.; O'NEILL, P. Free radicals associated with DNA damage. *Exp. Gerontol.* 36(9), 1459-71. 2001. Doi:10.1016/s0531-5565(01)00132-2.

CHAVES, D. A.; LEMES, S. R.; ARAUJO, L. A.; SOUSA, M. A. M.; FREITAS, G. B.; LINO-JUNIOR, R. S.; MRUE, F.; MELO-REIS, P. R. Avaliação da atividade angiogênica da solução aquosa do barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*). *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*. v.18, n.2, p.524-530. 2016. Doi:10.1590/1983-084X/15\_093.

CHEESEMAN, K. H.; BEAVIS, A.; ESTERBAWER, H. Hydroxyl-radical-induced iron-catalysed degradation of 2-deoxyribose. Quantitative determination of malondialdehyde. *Biochemical Journal*. Jun15; 252(3):649-53. 1988. Doi:10.1042/bj2520649

CHOI, J. S.; LEE, H. J.; KANG, S. S. *Alatemin*, *Cassiaside* and *Rubrofusarin gentiobioside*, Radical Scavenging Principles from the Seeds of *Cassipourea* on 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) Radical. *Archives of Pharmacal Research*, 17(6):462-466, 1994. Doi:10.1007/BF02979126.

CHUNG, K.T.; WEI, C.; JOHNSON, M. G. Are tannins a double-edged sword in biology and health? *Trends in Food Science & Technology*. v. 9, p. 168-175, 1998. Doi:10.1016/S0924-2244(98)00028-4

CHUNGLONG, C.; SONG, L.; RONGSU, L.; FENGPING, W.; JUNQPIN LI. Concentration of phenolic compounds of *Populus euphratica* and soil water contents in Ejina oasis, Inner Mongolia, China. *Acta Ecologica Sinica*, 28 (1): 69-75, 2008. Doi:10.1016/S1872-2032(08)60020-7

COELHO, M. J.; ANTONIOLLI, B. A.; NUNES e SILVA, D.; CARVALHO, T. M. M. B.; PONTES, E. R. J. C.; ODASHIRO, A. N. Effects of silver sulfadiazine, ipê roxo (*tabebuia avellanedae*) extract and barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*) extract on cutaneous wound healing in rats. *Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões*. 37(1): 45-51, 2010. Doi:10.1590/s0100-69912010000100010.

CADAHÍA, E.; CONDE, E.; GARCÍA-VALLEJO, M.; FERNÁNDEZ de, S. B. High pressure liquid chromatographic analysis of polyphenols in leaves of *Eucalyptus camaldulensis*, *E. globulus* and *E. rudis*: Proanthocyanidins, ellagitannins and flavonol glycosides. *Phytochemical Analysis*. 8(2), 78-83, 1997. Doi:10.1002/(SICI)1099-1565(199703)8:2<78::AID-PCA335>3.0.CO;2-O

CORDELL G. A.; COLVARD M. D. Natural products and traditional medicine: turning on a paradigm. *Journal of Natural Products*, v. 75, n. 3, p. 514-25. 2012. Doi:10.1021/np200803m

- CORK, S. J.; KROCKENBERGER, K. Methods and pitfalls of extracting condensed tannins and other phenolics from plants - insights from investigations on *eucalyptus* leaves. *Journal of Chemical Ecology*, 17(1):123-134, 1991. Doi:10.1007/BF00994426
- CORRÊA, M. P. Dicionário das plantas uteis do Brasil e das exóticas cultivadas. Rio de Janeiro, Imprensa Nacional. 1926 – 1978. v. 6. Ilustração re-editada em 1984 pelo Ministério da Agricultura. Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal. 4329p.
- COSTA, R. Avaliação do Potencial Antioxidante da Folha de *Cydonia oblonga* Miller. Monografia. Porto, Universidade Fernando Pessoa, 2009. Disponível em: [https://bdigital.ufp.pt/bitstream/10284/1614/2/MONO\\_12272.pdf](https://bdigital.ufp.pt/bitstream/10284/1614/2/MONO_12272.pdf)
- COSTA, J. G. M.; LEITE, G. O.; DUBOIS, A. F.; SEEGER, R. L.; BOLIGON, A. A.; ATHAYDE, M. L.; CAMPOS, A. R.; ROCHA, J. B. T. Antioxidant effect of *Stryphnodendron rotundifolium* Martius extracts from Cariri-Ceará state (Brazil): Potential involvement in its therapeutic use. *Molecules*, 17(1), 934–950, 2012. Doi:10.3390/molecules17010934
- COUTINHO, H. D. M.; MARTINS, G. M. A. B.; MORAIS-BRAGA, M. F. B.; MENEZES, I. R. A.; MACHADO, A. J. T.; FREITAS, M. A.; SANTOS, A. T. L.; COSTA, M. S.; CAMPINA, F. F.; SILVA, A. R. P.; LIMA, L. F.; LEITE, N. F.; TINTINO, S. R. *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. As an Adjuvant for the Plant Germination and Development under Toxic Concentrations of HgCl<sub>2</sub> and AlCl<sub>3</sub>. *Water Air Soil Pollut.* 228:424. 2017. Doi:10.1007/s11270-017-3614-z,
- COWAN, M. M. Plant product as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews* vol. 12, n, 4. 564-582. 1999. Doi:10.1128/CMR.12.4.564
- CUNHA, A. P. Taninos. In farmacognosia e fitoquímica. Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa. p. 292-316. 2005. ISBN: 9789723111422
- CUNHA, A. P. da.; SILVA, A. P. da.; ROQUE, O. R. Plantas e produtos vegetais em Fitoterapia. 4ª ed, revista e actualizada - Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2012. – 729p. ISBN 978-972-39-1435-5.
- D'ARCHIVIO, M.; FILESI, C.; VARI, R.; SCAZZOCCHIO, B.; MASELLA, R. Bioavailability of the Polyphenols: Status and Controversies. *International Journal of Molecular Sciences*, 11(4): p. 1321-42, 2010. Doi:10.3390/ijms11041321
- DAUCHOT, M-DEHON. "Les effets de solvants sur les couches picturales 1. Alcools et acétone", *Bulletin IRPA/KIK*, XIV, pp 89 – 104. 1973.
- DAVID, B.; WOLFENDER, J. L.; DIAS, D. A. The pharmaceutical industry and natural products: historical status and new trends. *Phytochemistry Reviews*, v. 14(2), p. 299-315. 2014. Doi:10.1007/s11101-014-9367-z
- DEMARQUE, D. P.; CALLEJON, D. R.; OLIVEIRA, G. G. de; SILVA, D. B.; CAROLLO, C. A.; LOPES, N. P. The role of tannins as antiulcer agents: a fluorescence - imaging based study. Original Article. *Rev Bras Farmacogn.* v.28 n.4: 425-432. 2018. Doi:10.1016/j.bjp.2018.03.011

DI STASI, L. C. Plantas medicinais: arte e ciência. Um guia de estudo interdisciplinar. Fundação Editora UNESP (FEU), São Paulo, SP, 231p. 1996. ISBN: 9788571391178

DIXON, S. J.; LEMBERG, K. M.; LAMPRECHT, M. R.; SKOUTA, R.; ZAITSEV, E. M.; GLEASON, C. E.; PATEL, D. N.; BAUER, A. J.; CANTLEY, A. M.; YANG, W. S.; MORRISON 3rd, B.; STOCKWELL, B. R. Ferroptosis: an iron-dependent form of nonapoptotic cell death. *Cell*. 149(5):1060-72. 2012. Doi:10.1016/j.cell.2012.03.042.

DUARTE-ALMEIDA, J. M.; SANTOS, R. J.; FENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoléico e método de seqüestro de radicais DPPH. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. v. 26, n. 2, p. 446-452, 2006. Doi:10.1590/S0101-20612006000200031

DUAVY, S. M.; ECKER, A.; SALAZAR, G. T.; LORETO, J.; COSTA, J. G. M.; BARBOSA, N. V. Pequi enriched diets protect *Drosophila melanogaster* against paraquat-induced locomotor deficits and oxidative stress. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*. Vol. 82, №. 11, 664–677. 2019. Doi:10.1080/15287394.2019.1642277.

DURÃO, H. L. G.; COSTA, K. G.; MEDEIROS, M. Etnobotânica de plantas medicinais na comunidade quilombola de Porto Alegre, Cametá, Pará, Brasil. *Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi. Ciências Naturais*. 16(2), 245-258. 2021. Doi:10.46357/bcnaturais.v16i2.191.

DZIKI, D.; ROZILO, R.; GAWLIK-DZIKI, U.; SWIECA, M. Current trends in the enhancement of antioxidant activity of wheat bread by the addition of plant materials rich in phenolic compounds. *Trends in Food Science & Technology*. v. 40(1). p. 48-61. 2014. Doi:10.1016/j.tifs.2014.07.010

EL GHARRAS, H. Polyphenols: food sources, properties and applications - a review. *International Journal of Food Science & Technology*. 44(12): p. 2512-18, 2009. Doi:10.1111/j.1365-2621.2009.02077.x

ESCOBAR, B. T. Avaliação psicofarmacológica de *Ageratum conyzoides* L. Asteraceae. Tese Doutorado (Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde) –Universidade do Extremo Sul-Catarinense, Criciúma. 73p. 2007. Disponível em: <https://livros01.livrosgratis.com.br/cp040687.pdf>

FAGUNDES, N. C. A.; OLIVEIRA, G. L.; SOUZA, B. G. Etnobotânica de plantas medicinais utilizadas no distrito de Vista Alegre, Claro dos Poções – Minas Gerais. *Revista Fitos*, Rio de Janeiro, Vol. 11(1), 1-118. 2017. Doi:10.5935/2446-4775.20170007

FARIA, M. E. 2000. Proantocianidinas do vinho. Universidade do Porto. Disponível em: [https://repositorio-aberto.up.pt/bitstream/10216/54590/5/67635\\_00-29T\\_TL\\_01\\_P.pdf](https://repositorio-aberto.up.pt/bitstream/10216/54590/5/67635_00-29T_TL_01_P.pdf)

FEANY, M. B.; BENDER, W. W. A *Drosophila* model of Parkinson's disease. *Nature*. v. 404(6776). p. 394-8. 2000. Doi:10.1038/35006074.

FELIPE, A. M. M.; RINCÃO, V. P.; BENATI, F. J.; LINHARES, R. E. C.; GALINA, K. J.; TOLEDO, C. E. M. de; LOPES, G. C.; MELLO, J. C. P. de; NOZAWA, C. Antiviral effect of *Guazuma ulmifolia* and *Stryphnodendron adstringens* on poliovirus and bovine herpes virus. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 29(6), 1092–1095, 2006. Doi:10.1248/bpb.29.1092.

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. *Revista da Associação Médica do Brasil*. v. 43, n.1, p. 61-68. 1997. Doi:10.1590/S0104-42301997000100014

FILHO, J. C. C. F.; CUNHA, D. A. da; PEREIRA, I. F.; GONDIM, B. L. C.; VALENÇA, A. M. G. Evaluation of the antibacterial activity of *Hamamelis virginiana* L. and *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. tinctures against oral bacteria. *Rev. Bras. de Ciências da Saúde*. V. 17, Nº 1: 71-78. 2013. Doi:10.4034/RBCS.2013.17.01.09

FILHO, P. R. S.; FERREIRA, L. A.; GOUVÊA, C. M. C. P. Protective action against chemical-induced genotoxicity and free radical scavenging activities of *Stryphnodendron adstringens* ("barbatimão") leaf extracts. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 21(6): 1000-1005, 2011. Doi:10.1590/S0102-695X2011005000176

FIX, O.K.; KOWDLEY, K. V. Hereditary hemochromatosis. *Minerva Medica*. 99(6):605-17. 2008.

FONSECA, M.C.M. Epamig pesquisa, produção de Plantas Medicinais para Aplicação no SUS. Espaço para o produtor, Viçosa, 2012.

FRAGIORGE, E. J. et al. Comparative genotoxicity evaluation of imidazolinone herbicides in somatic cells of *Drosophila melanogaster*. *Food and Chemical Toxicology*, v. 46, n. 1, p. 393– 401, 2008. Doi:10.1016/j.fct.2007.08.022.

FREITAS, A. L. D. de; KAPLUM, V.; ROSSI, D. C. P.; SILVA, L. B. R. da; MELHEM, M. de S. C.; TABORDA, C. P.; MELLO, J. C. P. de; NAKAMURA, C. V.; ISHIDA, K. Proanthocyanidin polymeric tannins from *Stryphnodendron adstringens* are effective against *Candida* spp. isolates and for vaginal candidiasis treatment. *J Ethnopharmacol*. 216: 184–190. 2018. Doi:10.1016/j.jep.2018.01.008

FUNARI, C. S.; FERRO, V. O. Propolis analysis. *Food Science & Technology*, vol. 26, no. 1, pp. 171–178, 2006. Doi:10.1590/S0101-20612006000100028

GADELHA, C. S.; PINTO JUNIOR, V. M.; BEZERRA, K. K. S.; PEREIRA, B. B. M.; MARACAJÁ, P. B. Estudo bibliográfico sobre o uso das plantas medicinais e fitoterápicos no Brasil. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*, Edição especial [s.l.], v. 8, n. 5, p. 208-212, 2013. Disponível em: <https://www.gvaa.com.br/revista/index.php/RVADS/article/download/3577/3199/>

GASPEROTTI, M.; MASUERO, D.; VRHOVSEK, U.; GUELLA, G.; MATTIVI, F. Profiling and Accurate Quantification of *Rubus* Ellagitannins and Ellagic Acid Conjugates Using Direct UPLC-Q-TOF HDMS and HPLC-DAD Analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(8), 4602–4616, 2010. Doi:10.1021/jf904543w

GELLA, A.; DURANY, N. Oxidative stress in Alzheimer disease. *Cell Adh. Migr.*, v. 3(1), p. 88-93, 2009. Doi:10.4161/cam.3.1.7402

GIARDINA, P. J.; GRADY, R. W. Chelation therapy in beta-thalassemia: the benefits and limitations of desferrioxamine. *Seminars in Hematology*. 32(4):304-12. 1995.

GILONI, A.; TAKESHITA, M.; JOHNSON, F.; IDEN, C.; GROLLMAN, A. P. Bleomycin-induced strand-scission of DNA. Mechanisms of deoxyribose cleavage. *Journal of Biological Chemistry*. 256(16), 8608-15; 1981. Doi:10.1016/S0021-9258(19)68888-5

GLAVIS-BLOOM, J.; MUHAMMED, M.; MYLONAKIS, E. Of Model Hosts and Man: Using *Caenorhabditis elegans*, *Drosophila melanogaster* and *Galleria mellonella* as Model Hosts for Infectious Disease Research. E. Mylonakis et al. (eds.), *Recent Advances on Model Hosts, Advances in Experimental Medicine and Biology*, 710, 11-17, 2012. Doi:10.1007/978-1-4419-5638-5\_2.

GOMES, P. W. P.; PAMPLONA, T. C. D. L.; NAVEGANTES-LIMA, K. C.; QUADROS, L. B. G.; OLIVEIRA, A. L. B.; SANTOS, S. M.; SILVA, C. Y. Y.; SILVA, M. J. C.; SOUZA, J. N. S.; QUIRÓS-GUERRERO, L. M.; BOUTIN, J. A.; MONTEIRO, M. C.; SILVA, M. N. DA. Chemical composition and antibacterial action of *Stryphnodendron pulcherrimum* bark extract, “barbatimão” species: Evaluation of its use as a topical agent. *Arabian Journal of Chemistry*. 2021. 14, 103183. Doi:10.1016/j.arabjc.2021.103183

GROTTO, D.; MARIA, L. S.; VALENTINI, J.; PANIZ, C.; SCHMITT, G.; GARCIA, S. C.; POMBLUM, V. J.; ROCHA, J. B. T.; FARINA, M. Importance of the lipid peroxidation biomarkers and methodological aspects for malondialdehyde Quantification. *Quim. Nova*, v. 32, n. 1, p. 169-174. 2009. Doi:10.1590/S0100-40422009000100032

GUERRA, J. I. E. “Oxidative stress, diseases and antioxidant treatment,” *Anales de Medicina Interna*, vol. 18, no. 6, pp. 326– 335, 2001. Disponível em: <https://scielo.isciii.es/pdf/ami/v18n6/revision1.pdf>

GUERRA, P. M.; NODARI, O. R. Biodiversidade: aspectos biológicos, geográficos, legais e éticos. In: SIMÕES, M. O. et al. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 3. ed. Porto Alegre: UFRGS; Florianópolis: UFSC, 2001. p.15

GÜLÇİN, I. Antioxidant activity of caffeic acid (3,4-dihydroxycinnamic acid). *Toxicology*. v, 217(2-3), p. 213-20, 2006. Doi:10.1016/j.tox.2005.09.011.

GÜLÇİN, I.; BÜYÜKOKUROĞLU, M. E.; OKTAY, M.; KÜFREVIÖĞLU, O. I. On the *in vitro* antioxidant properties of melatonin. *Journal of Pineal Research*. v. 33(3), p. 167-71, 2002a. Doi:10.1034/j.1600-079x.2002.20920.x

GÜLÇİN, I.; OKTAY, M.; KÜFREVIÖĞLU, O. I.; ASLAN, A. Determination of antioxidant activity of lichen *Cetraria islandica* (L) Ach. *Journal of Ethnopharmacology*. v. 79(3), p. 325-9, 2002b. Doi:10.1016/s0378-8741(01)00396-8.



GUTTERIDGE J. M. C. Superoxide dismutase inhibits the superoxide driven Fenton reaction at two different levels: Implications for a wider protective role. FEBS Letters. 185(1), 19-23. 1985. Doi:10.1016/0014-5793(85)80732-8

GUTTERIDGE, J. M. Thiobarbituric acid-reactivity following iron-dependent free-radical damage to amino acids and carbohydrates. FEBS Letters, 128 (2):343-6. 1981. Doi: 10.1016/0014-5793(81)80113-5

HALLIWELL, B. Antioxidant defense mechanism: from the beginning to the end (of the beginning). Free Radical Research. v. 31(4), p. 261-72, 1999a. Doi:10.1080/10715769900300841.

HALLIWELL, B. Oxygen and nitrogen are pro-carcinogens. Damage to DNA by reactive oxygen, chlorine and nitrogen species: measurement, mechanism and the effects of nutrition. Mutation Research. 443(1-2), 37-52. 1999b. Doi:10.1016/s1383-5742(99)00009-5.

HALLIWELL, B.; AESCHBACH, R.; LOLIGER, J.; AROUMA, O. I. The characterization of antioxidants. Food and Chemical Toxicology. 33(7), 601. 1995. Doi:10.1016/0278-6915(95)00024-v.

HALLIWELL, B. AND GUTTERIDGE, J.M.C. (1999) Free Radicals in Biology and Medicine. In: HALLIWELL, B. AND GUTTERIDGE, J.M.C., Eds., Free Radicals in Biology and Medicine, 3rd Edition, Oxford University Press, Oxford, 1-25.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C.; CROSS, C. E. Free Radicals, Antioxidants, and Human Disease: Where Are We Now? The Journal of Laboratory and Clinical Medicine, 119, 598-620. 1992.

HAMBURGER, M.; HOSTETTMANN, K., Bioactivity in plants: the link between Phytochemistry and medicine. Phytochemistry, 30(12), 3864-3874, 1991. Doi:10.1016/0031-9422(91)83425-K

HANSON, B. A. Understanding Medicinal Plants, Their Chemistry and Therapeutic Action. (1 st Edition). 330p. 2005. ISBN 9780789015525

HARBORNE, J. B.; BOARDLEY, M.; LINDERT, H. P. Variations in flavonoid patterns within the genus *Chondropetalum* (restionaceae). Phytochemistry. v. 24, Issue 2, p 273-278. 1985. Doi:10.1016/S0031-9422(00)83536-0

HARVEY, A. L.; EDRADA-EBEL, R.; QUINN, R. J. The re-emergence of Natural products for drug discovery in the genomics era. Nature Reviews Drug Discovery, v. 14(2), p. 111-29. 2015. Doi:10.1038/nrd4510

HASLAM, E. Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs: possible models of action. Journal of Natural Products. 59(2), 205-15. 1996. Doi:10.1021/np960040+.

HELDT, H. W. Plant Biochemistry and Molecular Biology, Oxford University Press: Oxford – New York – Tokyo, 1997. ISBN: 0198501803

HENRIQUES, B. O.; CORRÊA, O.; AZEVEDO, E. P. C.; PÁDUA, R. M.; OLIVEIRA, V. L. de; OLIVEIRA, T. H. C.; BOFF, D.; DIAS, A. C. F.; SOUZA, D. G. de; AMARAL, F. A.; TEIXEIRA, M. M.; CASTILHO, R. O.; BRAGA, F. C. *In vitro* TNF- $\alpha$  inhibitory activity of Brazilian plants and anti-inflammatory effect of *Stryphnodendron adstringens* in an acute arthritis model. *Evid. Based Complement. Altern. Med.* 1–15. 2016. Doi:10.1155/2016/9872598

HERMES-LIMA M.; WANG, E. M.; SCHULMAN, H. M.; STOREY, K. B.; PONKA, P. Deoxyribose degradation catalyzed by Fe(III)-EDTA: Kinetic aspects and potential usefulness for submicromolar iron measurements. *Molecular and Cellular Biochemistry.* v. 137, n. 1, p. 65-73, 1994. Doi:10.1007/BF00926041.

HERNANDES, L.; SILVA, P. L. M.; PALAZZO, F.; MELO, P. J. C. Wound-healing evaluation of ointment from *Stryphnodendron adstringens* (barbatimão) in rat skin. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences.* vol. 46, n. 3, 2010. Doi:10.1590/S1984-82502010000300005

HO, C-T.; FERRARO, T.; CHEN, Q.; ROSEN, R. T.; HUANG, M-T. Phytochemicals in Teas and Rosemary and Their Cancer-Preventive Properties. In *Food Phytochemicals for Cancer Prevention II*; HO, C. T.; OSAWA, T.; HUANG, M. T.; HOSEN, R. T., (ed), ACS Symposium Series. American Chemical Society, Washington DC, 1994. Doi:10.1021/bk-1994-0547.ch001

HOFFMANN, J. The immune response of *Drosophila*. *Nature* 426(6962), 33–38, 2003. Doi:10.1038/nature02021.

HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R. L. The chemistry Behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 53(6). 1841 – 1856, 2005. Doi:10.1021/jf030723c

ISHIDA, K.; MELLO, J. C. P.; CORTEZ, D. A. G.; FILHO, B. P. D.; NAKAMURA, T. O.; NAKAMURA, C. V. Influence of tannins from *Stryphnodendron adstringens* on growth and virulence factors of *Candida albicans*. *J. Antimicrob Chemother.* 58: 942–949. 2006. Doi:10.1093/jac/dkl377

ISHIDA, K.; ROZENTAL, S.; MELLO, P. J. C.; NAKAMURA, V. C. Activity of tannins from *Stryphnodendron adstringens* on *Cryptococcus neoformans*: effects on growth, capsule size and pigmentation. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 8:29, 2009. Doi:10.1186/1476-0711-8-29

IZUMI, E.; UEDA-NAKAMURA, T.; DIAS FILHO, B. P.; VEIGA JÚNIOR, V. F.; NAKAMURA, C. V. Natural products and Chagas' disease: a review of plant compounds studied for activity against *Trypanosoma cruzi*. *Natural Product Reports.* 28(4), 809-23, 2011. Doi:10.1039/c0np00069h.

JANIECK, M. F.; HASELTINE, W. A.; HENNER, W. D. Malondialdehyde precursors in gamma-irradiated DNA, deoxynucleotides deoxynucleosides. *Nucleic Acid Research.* 13(24), 9011-9029; 1985. Doi:10.1093/nar/13.24.9011

JBRJ - Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Jabot. Banco de Dados da Flora Brasileira. Disponível em: <http://jabot.jbrj.gov.br>

JIMÉNEZ, N.; ESTEBAN-TORRES, M.; MANCHEÑO, J. M.; DE LAS RIVAS B.; MUÑOZ, R. Tannin Degradation by a Novel Tannase Enzyme Present in Some *Lactobacillus plantarum* Strains. *Applied and Environmental Microbiology*. 80(10), 2991–2997. 2014. Doi:10.1128/AEM.00324-14

JOMOVA, K.; VALKO, M. Advances in metal-induced oxidative stress and human disease. *Toxicology*. v. 283(2-3), p. 65-87, 2011. Doi:10.1016/j.tox.2011.03.001.

JONES, D. H. Phenylalanine ammonia-lyase: Regulation of its induction, and its role in plant development. *Phytochemistry*, v. 23(7), p. 1349 – 1359, 1984. Doi:10.1016/S0031-9422(00)80465-3

JUNIOR, L. C. S. P.; OLIVEIRA, E. C. DE.; RORIG, T. D. V.; ARAÚJO, P. I. P. DE.; SANCHEZ, E. F.; RAFAEL, R.; MELLO, J. C. P. DE.; FULY, A. L. The plant *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville as a neutralizing source against some toxic activities of Bothrops jararacussu snake venom. *Toxicon*. 186. 182–190. 2020. Doi:10.1016/j.toxicon.2020.08.011

KAPLUM, V.; RAMOS, A. C.; CONSOLARO, M. E. L.; FERNANDEZ, M. A.; NAKAMURA, T. U.; FILHO, B. P. D.; SILVA, S. DE O.; DE MELLO, J. C. P.; NAKAMURA, C. V. Proanthocyanidin Polymer-Rich Fraction of *Stryphnodendron adstringens* Promotes *in vitro* and *in vivo* Cancer Cell Death via Oxidative Stress. *Front Pharmacol*. v. 9, Article 694: 1-18. 2018. Doi:10.3389/fphar.2018.00694.

KARALIS, V.; MACHERAS, P.; PEER, A.; SHAH, V. Bioavailability and bioequivalence: focus on physiological factors and variability. *Pharmaceutical Research*, v.25, n.8, p.1956-62, 2008. Doi:10.1007/s11095-008-9645-9.

KARAM, T. K.; DALPOSSO, L. M.; CASA, D. M.; De FREITAS, G. B. L.; Carqueja (*Baccharis trimera*): utilização terapêutica e biossíntese. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v.15, n.2, p.280-286, 2013. Doi:10.1590/S1516-05722013000200017

KAUR, C.; KAPPOR, H. C. Anti-oxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetable. *International Journal of Food Science & Technology*, v.37, n. 2, p. 153-161, 2002. Doi:10.1046/j.1365-2621.2002.00552.x

KHENNOUF, S.; HASSIBA, B.; GHARZOULI, K.; AMIRA, S.; ITO, H.; KIM, T-H.; YOSHIDA, T.; GHARZOULI, A. Effect of Tannins from *Quercus suber* and *Quercus coccifera* Leaves on Ethanol-Induced Gastric Lesions in Mice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51(5):1469-73. 2003. Doi:10.1021/jf020808y

KIM, S-II.; JUNG, Je-W.; AHN, Y-J.; RESTIFO, L. L.; KWON, H-W. *Drosophila* as a model system for studying lifespan and neuroprotective activities of plant-derived compounds. *Journal of Asia-Pacific Entomology*. v. 14, n. 4, p. 509-517, 2011. Doi:10.1016/j.aspen.2011.07.001

- KOPPENOL, W.H.; BUTLER, J.; VAN LEEUWE, J. W. THE HABER-WEISS CYCLE. *Photochemistry and Photobiology*. Vol 28. Pp. 655-660. 1978. Doi:10.1111/j.1751-1097.1978.tb06989.x
- KUSHNER, J. P.; PORTER, J. P.; OLIVIERI, N. F. Secondary iron overload. *The American Society of Hematology Education Program*. (2001)1, p. 47-61. 2001. Doi:10.1182/asheducation-2001.1.47
- KWAN, W. P.; VOELKER, B. M. Decomposition of hydrogen peroxide and organic compounds in the presence of dissolved iron and ferrihydrite. *Environmental Science & Technology*. 36(7), 1467-76. 2002. Doi:10.1021/es011109p.
- LANDETE, J. M. Updated knowledge about polyphenols: functions, bioavailability, metabolism, and health. *Critical reviews in food science and nutrition*, 52(10), 936–48. 2012. Doi:10.1080/10408398.2010.513779
- LATORRE, S.; RAMÍREZ, J.; ARAQUE, C. C. A. Evaluación fisiológica y nutricional del efecto de los taninos en los principales sorgos graníferos (*Sorghum bicolor* L moench) Cultivados en Colombia. Corporación colombiana de investigación agropecuaria. Bucaramanga. 170p, 1998. Disponible em: [https://repository.agrosavia.co/bitstream/handle/20.500.12324/19216/44702\\_59439.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repository.agrosavia.co/bitstream/handle/20.500.12324/19216/44702_59439.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- LEMAITRE, B. The road to toll. *Nature Reviews Immunology*, 4(7), 521–527, 2004. Doi:10.1038/nri1390.
- LEMOS, G. C. S.; FREITAS, F. P.; FREITAS, S. P. Demanda identificada de medicinas ou aromáticos no comércio de Campos dos Boitacazes, RJ. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, Botucatu*, v.8, n. 4, p. 96-99, 2006. Disponible em: [https://www1.ibb.unesp.br/Home/Departamentos/Botanica/RBPM-RevistaBrasileiradePlantasMediciniais/artigo18\\_v8\\_n4\\_p096-099.pdf](https://www1.ibb.unesp.br/Home/Departamentos/Botanica/RBPM-RevistaBrasileiradePlantasMediciniais/artigo18_v8_n4_p096-099.pdf)
- LENNERNÄS, H.; ABRAHAMSSON, B. The use of biopharmaceutic classification of drugs in drug discovery and development: current status and future extension. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, v.57, n.3, p.273-85, 2005. Doi:10.1211/0022357055263.
- LI, J.; CAO, F.; YIN, H-l.; HUANG, Z-j.; LIN, Z-t.; MAO, N.; SUN, B.; WANG, G. Ferroptosis: past, present and future. *Cell Death Dis*. 11(88), 1-15. 2020. Doi:10.1038/s41419-020-2298-2.
- LI, S.; SUI, Y.; XIAO, J.; WU, Q.; HU, B.; XIE, B. Absorption and urinary excretion of A-type procyanidin oligomers from *Litchi chinensis* pericarp in rats by selected ion monitoring liquid chromatography-mass spectrometry. *Food Chemistry*. 138(2-3), 1536–42. 2013. Doi:10.1016/j.foodchem.2012.09.120.
- LIMA, A de. Caracterização química, avaliação da atividade antioxidante *in vitro* e *in vivo*, e identificação dos compostos fenólicos presentes no pequi (*Caryocar brasiliense*, Camb.). 2008. 182p, Tese (Doutorado em Ciências dos alimentos) – Universidade de São Paulo, 2008. Doi:10.11606/T.9.2008.tde-30042008-090010

LIMA, A de.; SILVA, A. M. de O.; TRINDADE, R. A.; TORRES, R. P.; MANCINI-FLIHO, J. Composição química e compostos bioativos presentes na polpa e na amêndoa do pequi (*Caryocar brasiliense*, Camb.). Revista Brasileira de Fruticultura, v. 29, n. 3, 2007. Doi:10.1590/S0100-29452007000300052

LIMA, A. G.; SOUZA, V. C.; PAULA-SOUZA, J.; SCALON, V. R. *Stryphnodendron* in Flora do Brasil 2020. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <https://floradobrasil2020.jbrj.gov.br/FB83743>

LIMA, J. C. S.; MARTINS, D. T. O.; de SOUZA, JR. P. T. Experimental evaluation of stem bark of *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville for anti-inflammatory activity. Phytotherapy Research, v. 12(3), p. 218-220, 1998. Doi:10.1002/(SICI)1099-1573(199805)12:3<218::AID-PTR220>3.0.CO;2-4

LISBOA, M. Dos S.; PINTO, A. S.; BARRETO, P. A.; RAMOS, Y. J.; SILVA, M. Q. O. R.; CAPUTO, M. C.; ALMEIDA, M. Z. de. Estudo etnobotânico em comunidade quilombola Salamina / Putumujú em Maragogipe, Bahia. Revista Fitos, Rio de Janeiro, Vol. 11(1), 1-118, 2017. Doi:10.5935/2446-4775.20170006

LOPES, G. C. Estudo Botânico, físico-químico, químico e biológico de cascas de *Stryphnodendron polyphyllum* Mart. (Leguminosae). Area of biologically active natural products. Dissertation presented in the Graduate Program in pharmaceutical sciences of the State University of Maringá UEM. 2003. Disponível em: <http://livros01.livrosgratis.com.br/cp155442.pdf>

LOPES, G. C.; SANCHES, A. C. C.; NAKAMURA, C. V.; DIAS FILHO, B. P.; HERNANDES, L.; MELLO, J. C. P. Influence of extracts of *Stryphnodendron polyphyllum* Mart. and *Stryphnodendron obovatum* Benth. on the cicatrisation of cutaneous wounds in rats. Journal of Ethnopharmacology. 99, 265–272, 2005. Doi:10.1016/j.jep.2005.02.019

LOPES, G. C.; SANCHES, A. C. C.; TOLEDO, C. E. M.; ISLER, A. C.; MELLO, J. C. P. Determinação quantitativa de taninos em três espécies de *Stryphnodendron* por cromatografia líquida de alta eficiência. Brazilian Journal of Pharmaceutical Science. 45(1), 135–143, 2009. Doi:10.1590/S1984-82502009000100017

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas. Nova Odessa-SP: Instituto Plantarum, 2002. 542 p.

LUCKOW, M. Tribo Mimoseae. In: Lewis G, Schrire B.D., Mackinder B.A. Lock J.M. (Eds) Legumes of the world. Kew: Royal Botanic Gardens, 163-183. 2005.

LUIZ, R. L. F.; VILA, T. V. M.; DE MELLO, J. C. P.; NAKAMURA, C. V.; ROZENTAL, S.; ISHIDA, K. Proanthocyanidins polymeric tannin from *Stryphnodendron adstringens* are active against *Candida albicans* biofilms. BMC Complementary and Alternative Medicine. 15(68): p1-11. 2015. Doi:10.1186/s12906-015-0597-4

LUSHCHAK, V.I. Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stresses and their classifications. *Chemico-Biological Interactions*. 2014; 224:164-75.  
Doi:10.1016/j.cbi.2014.10.016.

MACÊDO, D. G.; MENEZES, I. R. A.; LACERDA, S. R.; SILVA, M. A. P.; RIBEIRO, D. A.; MACÊDO, M. S.; OLIVEIRA, L. G. S.; SARAIVA, M. E.; ALENCAR, S. R.; OLIVEIRA, S. F.; SANTOS, M. O.; ALMEIDA, B. V.; MACEDO, J. G. F.; SOUSA, F. F. S.; SOARES, M. A.; ARAÚJO, T. M. S.; SOUZA, M. M. A. Versatility and consensus of the use of medicinal plants in an area of cerrado in the Chapada do Araripe, Barbalha - CE- Brazil. *Journal of Medicinal Plant Research* . vol. 10, no. 31: 505–514. 2016. Doi:10.5897/JMPR2015.5952

MACEDO, G. F. J.; MENEZES, I. R. A.; RIBEIRO, D. A.; SANTOS, M. de O.; MÂCEDO, D. G.; MACÊDO, M. J. F.; ALMEIDA, B.V.; OLIVEIRA, L. G. S.; LEITE, C. P.; SOUZA, M. M. A. Analysis of the Variability of Therapeutic Indications of Medicinal Species in the Northeast of Brazil: Comparative Study. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. Article ID 6769193, 28 pages. 2018.  
Doi:10.1155/2018/6769193

MACÊDO, M. J. F.; RIBEIRO, D. A.; SANTOS, M. de O.; MACÊDO, D. G. de; MACEDO, J. G. F.; ALMEIDA, B. V. de; SARAIVA, M. E.; LACERDA, M. N. S.; SOUZA, M. M. A. Fabaceae medicinal flora with therapeutic potential in Savanna areas in the Chapada do Araripe, Northeastern Brazil. *Rev Bras Farmacogn*. 28(6): 738-750. 2018. Doi:10.1016/j.bjp.2018.06.010

MAGALHÃES, K. N. Plantas medicinais da caatinga do Nordeste brasileiro: etnofarmacopeia do Professor Francisco José De Abreu Matos. 2019. Tese (Doutorado em Desenvolvimento e Inovação Tecnológica em Medicamentos, 220p) - Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2019. Disponível em:  
[https://repositorio.ufc.br/bitstream/riufc/42962/1/2019\\_tese\\_knmagalhaes.pdf](https://repositorio.ufc.br/bitstream/riufc/42962/1/2019_tese_knmagalhaes.pdf)

MANACH, C.; SCALBERT, A.; MORAND, C.; RÉMÉSY, C.; JIMENEZ, L. Polyphenols: food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition*. V. 79, n. 5, p. 727-47, 2004. Doi:10.1093/ajcn/79.5.727.

MANN, J. *Secondary Metabolism*. Oxford Chemistry Series 33, 2<sup>nd</sup> Edition, 390p, 1987 UK: Oxford University. Press, ISBN-10: 1459801431

MANUELA, Carneiro da Cunha; SÔNIA, Barbosa Magalhães; CRISTINA. Adams. Povos tradicionais e biodiversidade no Brasil [recurso eletrônico]: contribuições dos povos indígenas, quilombolas e comunidades tradicionais para a biodiversidade, políticas e ameaças. Parte II, seção 8: Conhecimentos associados à biodiversidade. Ana Gabriela Morim de Lima, Joana Cabral de Oliveira, Karen Shiratori. São Paulo: Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência – SBPC, 2021. 278 p. ISBN 978-65-89883-07-4. Disponível em: <http://portal.sbpcnet.org.br/livro/povostradicionais8.pdf>

MAQSOOD, S.; BENJAKUL, S.; ABUSHELAIBI, A.; ALAM, A. Phenolic compounds and plant phenolic extracts as natural antioxidants in prevention of lipid

oxidation in seafood: A detailed review. *Comprehensive Review in Food Science and Food Safety*. v. 13(6), p. 1125-1140, 2014. Doi:10.1111/1541-4337.12106

MARCUCCI, M.C.; WOISKY, R.G.; SALATINO, A. Uso do cloreto de alumínio na quantificação de flavonóides em amostras de própolis. 2003. Disponível em: [www.roberg.com.br/PaginaTrabalhoCientifico06.htm](http://www.roberg.com.br/PaginaTrabalhoCientifico06.htm)

MARÍN, L.; MIGUÉLEZ, E. M.; VILLAR, C. J.; LOMBÓ, F. Bioavailability of dietary polyphenols and gut microbiota metabolism: antimicrobial properties. *BioMed Research International*. 1-18. 2015. Doi:10.1155/2015/905215.

MARQUES, V.; FARAH, A. Chlorogenic acids and related compounds in medicinal plants and infusions. *Food Chemistry*. v. 113(4), p. 1370-1376, 2009. Doi:10.1016/j.foodchem.2008.08.086

MARTINS, E. R.; CASTRO, D. M.; CASTELLANI, D. C.; DIAS, J. E. *Plantas Mediciniais*. 1. Ed. Viçosa: UFV, 220p. 2000. ISBN: 85-7269-011-5

MATÉS, J. M.; PERÉZ-GOMEZ, C.; CASTRO, I. N. de. Antioxidant enzymes and human diseases. *Clin Biochem*. 32(8), 595–603, 1999. Doi:10.1016/s0009-9120(99)00075-2.

MATTILA. P.; HELLSTROM, J. Phenolic acids in potatoes, vegetables, and some of their products. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20: 152-160, 2007. Doi:10.1016/j.jfca.2006.05.007

MATOS, F. J. A. *Introdução à fitoquímica experimental*, 3a Edição, Fortaleza: Publisher UFC, Português. 150p, 2009. ISBN: 85-7282-026-4

MATOS, F. J. A. *Plantas Mediciniais: Guia de Seleção e Emprego de Plantas Usadas em Fitoterapia no Nordeste do Brasil*. 2 ed. Fortaleza: Imprensa Universitária. 344p. 2000. ISBN: 85-7485-008-X

MATOS, F. J. A. *Plantas Mediciniais: Guia de Seleção e Emprego de Plantas Usadas em Fitoterapia no Nordeste do Brasil*. Fortaleza: Imprensa Universitária. 394p. 2007. ISBN: 85-7485-008-X

MEDEIROS, M. F. T. *Etnobotânica histórica: princípios e procedimentos*. NUPEEA / Sociedade Brasileira de Etnobiologia e Etnoecologia, Recife. 83p. 2009. ISBN: 9788577166220

MENDONÇA, L. A. B. M.; MATIASD, R.; ZANELLA, D. F. P.; PORTO, K. R. A.; GUILHERMINO, J. F.; MOREIRA, D. L.; ROEL, A. R.; POTT, A.; CARVALHO, C. M. E. Toxicity and phytochemistry of eight species used in the traditional medicine of sul-mato-grossense, Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, 80(3), 574- 581.2020. Doi:10.1590/1519-6984.216406

MATTOS, T. C. G. de. *Mecanismos de ação antioxidante dos ácidos caféico e tânico em sistemas contendo íons ferro*. Dissertação. (Mestrado em Química). Universidade de Brasília. 2009. Disponível em:

[https://repositorio.unb.br/bitstream/10482/4452/1/2009\\_ThiagoCardosoGdeMattos.pdf#page=2&zoom=auto,-107,663](https://repositorio.unb.br/bitstream/10482/4452/1/2009_ThiagoCardosoGdeMattos.pdf#page=2&zoom=auto,-107,663)

MELLO, J. C. P.; PETEREIT, F.; NAHRSTEDT, A. Flavan-3-ols and Prodelphinidins from *Stryphnodendron adstringens*. *Phytochemistry*. Vol. 41, No. 3: 807-813. 1996a. Doi:10.1016/0031-9422(95)00686-9

MELLO, J. C. P.; PETEREIT, F.; NAHRSTEDT, A. Prorobinetinidins from *Stryphnodendron adstringens*. *Phytochemistry*. 42(3): 857-62. 1996b. Doi:10.1016/0031-9422(95)00953-1

MELLO, J. P. C.; SANTOS, S. C. Em Farmacognosia: da planta ao medicamento; SIMÕES, C. M. O.; SCHENCKEL, E. P., orgs.; Ed. UFSC: Porto Alegre; 3ª ed., 2001.

MEYER, O. Testing and assessment strategies, including alternative and new approaches. *Toxicology Letters*, v. 140-141, p. 21-30, 2003. Doi:10.1016/s0378-4274(02)00492-7.

MEYER, B. N.; FERRIGNI, N. R.; JACOBSEN, L. B.; NICHOLS, D. E.; MCLAUGHLI, J. L. Brine Shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Médica*, v.45, p.31-34. 1982. Doi:10.1055/s-2007-971236

MIGUEL, M. D.; MIGUEL, O.G. Desenvolvimento de fitoterápicos. 2a Edição. Editora Tecmedd. 115 p. 2004. ISBN: 9788573630596

MINATEL, D. G.; PEREIRA, A. M. S.; CHIARATTI, T. M.; PASQUALIN, L.; OLIVEIRA, J. C. N.; COUTO, L. B.; LIA, R. C.; CINTRA, J. M.; BEZZON, M. F. A.; FRANCA, S. C. Estudo clínico para validação da eficácia de pomada contendo barbatimão (*Stryphnodendron adstringens* Mart. Coville) na cicatrização de úlceras de decúbito. *Revista Brasileira de Medicina*. 67(7):250-56. 2010.

MINISTÉRIO da SAÚDE e ANVISA. Monografia da espécie *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (Barbatimão). 20K5 (DAF/SCTIE/MS)/2012. Brasília. 2014. Disponível em: <https://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2014/novembro/25/Vers--o-cp-Stryphnodendron.pdf>

MINNOTI, G.; AUST, S. D. An investigation into the mechanism of citrate-Fe<sup>+2</sup>-dependent lipid peroxidation. *Free Radical Biology and Medicine*, 3(6), 379-87, 1987. Doi:10.1016/0891-5849(87)90016-5.

MONTEIRO, J. M.; ALBUQUERQUE, U. P.; NETO, E. M. F. L.; ARAÚJO, E. L.; ALBUQUERQUE, M. M.; AMORIM, E. L. C. The effects of seasonal climate changes in the Caatinga on tannin levels in *Myracrodruon urundeuva* (Engl.) Fr. All. And *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, São Paulo, v. 16, n. 3, p. 338-344, 2006. Doi:10.1590/S0102-695X2006000300010

MONTEIRO, J. M.; ALBUQUERQUE, U. P.; ARAUJO, E. L.; AMORIM, E. L. C. Taninos: uma abordagem da química à ecologia. *Quím. Nova* [online]. v. 28, n.5, pp.892-896. 2005. Doi:10.1590/S0100-40422005000500029



MOORE, P. D. Green policies for defence spending. *Nature*, v. 391, p. 838. 1998.

MOREIRA, P I; OLIVEIRA, A L. A história natural dos sertões do Ceará de Antônio Bezerra em notas de viagem (1889). *In: Anais do III Seminário Internacional História e Historiografia. X Seminário de Pesquisa do Departamento de História -UFC Fortaleza*, 2012. Disponível em:  
[https://repositorio.ufc.br/bitstream/riufc/26065/1/2012\\_eve\\_pimoreiraaloliveira.pdf](https://repositorio.ufc.br/bitstream/riufc/26065/1/2012_eve_pimoreiraaloliveira.pdf)

MOURE, A.; FREIRE, J. M. C.; RUIZ, D. J. F.; DOMINGUEZ, J. M.; SINEIRO, J.; DOMINGUEZ, H.; NÚÑEZ, M. J.; PARAJÓ, J. C. Natural antioxidants from residual sources. *Food Chemistry*, 72(2), 145-71, 2001. Doi:10.1016/S0308-8146(00)00223-5

MUELLER-HARVEY, I. Analysis of hydrolysable tannins. *Animal Feed Science and Technology*, 91(1-2), 3-20, 2001. Doi:10.1016/S0377-8401(01)00227-9

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*, 1054(1-2). 95-111, 2004. Doi:10.1016/j.chroma.2004.08.059

NAIR, V.; TURNER, G.A. The thiobarbituric acid test for lipid peroxidation: Structure of the adduct with malondialdehyde. *Lipids* 1991(0), 804-805, 1984.  
Doi:10.1007/BF02534475

NAKAMURA, Y.; TSUJI, S.; TONOGAI, Y. Method for analysis of tannic acid and its metabolites in biological samples: Application to tannic acid metabolism in the rat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.51, n.1, p.331-339. 2003.  
Doi:10.1021/jf020847%2B.

NASCIMENTO, M. W. A.; VERÍSSIMO, R. C. S. S.; BASTOS, M. L. de A.; BERNARDO, T. H. L. Medicinal plants indications from herbal healers for wound treatment. *Rev. Eletrôn. Enferm.* 18: 1–10. 2016. Doi:10.5216/ree.v18.31143.

NEWMAN, D. J.; CRAGG G. M. Natural products as sources of new drugs from 1981 to 2014. *Journal of Natural Products*, v. 79, n. 3, p. 629-661. 2016.  
Doi:10.1021/acs.jnatprod.5b01055

NIKI, E. Role of vitamin E as a lipid-soluble peroxy radical scavenger: *in vitro* and *in vivo* evidence. *Free Radical Biology and Medicine*. v. 66, p. 3-12, 2014.  
Doi:10.1016/j.freeradbiomed.2013.03.022.

NITURE, S. K.; KHATRI, R.; JAISWAL, A. K. Regulation of Nrf2-an update. *Free Radical biology & Medicine*. v. 66, p. 36-44, 2014.  
Doi:10.1016/j.freeradbiomed.2013.02.008.

NORDBERG, J.; ARNER, E. S. J. Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free Radical Biology & Medicine*. v. 31, n. 11, p. 1287-1312. 2001. Doi:10.1016/s0891-5849(01)00724-9.

NUÑEZ-SÁNCHEZ, M. A.; GARCÍA-VILLALBA, R.; MONEDERO-SAIZ, T.; GARCÍA-TALAVERA, N. V.; GÓMEZ-SÁNCHEZ, M. B.; SÁNCHEZ-ÁLVAREZ,

C. Targeted metabolic profiling of pomegranate polyphenols and urolithins in plasma, urine and colon tissues from colorectal cancer patients. *Molecular Nutrition & Food Research*. 58(6), 1199–211. 2014. Doi:10.1002/mnfr.201300931.

NUUTILA, A. M.; PUUPPONEN-PIMIÄ, R.; AARNI, M.; OKSMAN-CALDENTY, K-M. Comparison of antioxidant activities of onion and garlic extracts by inhibition of lipid peroxidation and radical scavenging activity. *Food Chemistry*, 81: 485-93, 2003. Doi: 10.1016/S0308-814(02)00476-4

OCCHIONI, E. M. L. Considerações taxonômicas no gênero *Stryphnodendron* Mart. (Leguminosae – Mimosoideae) e distribuição geográfica das espécies. *Acta Botanica Brasilica* . 4(2 suppl 1): 153-158. 1990. Doi:10.1590/S0102-33061990000300015

OHKAWA, H.; OHISHI, N.; YAGI, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical biochemistry*; 95:351-358, 1979. Doi:10.1016/0003-2697(79)90738-3.

OKUDA, T.; YOSHIDA, T.; HATANO, T. New Methods of Analyzing Tannins. *Journal of Natural Products*, 52(1), 1–31. 1989. Doi:10.1021/np50061a001

OLIVEIRA, A. C.; VALENTIM, I. B.; GOULART, M. O. F.; SILVA, C. A.; BECHARA, E. J. H.; TREVISAN, M. T. S. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. *Química Nova*. v. 32, n. 3, p. 689-702, 2009. Doi:10.1590/S0100-40422009000300013

OLIVEIRA, D. G. Caracterização sócio demográfica e epidemiológicas da tuberculose: avaliação etnobotânica e da atividade antimicobacteriana das plantas utilizadas por uma comunidade indígena. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista. “Júlio de Mesquita Filho”. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós-Graduação em Análises Clínicas. 2006. Disponível em: <http://hdl.handle.net/11449/100125>

OLIVEIRA, D. R. de; FERREIRA JÚNIOR, W. S.; NILO BITU, V. de C. N.; PINHEIRO, P. G.; MENEZES, C. D. A.; BRITO JUNIOR, F. E. de; ALBUQUERQUE, U. P. de; KERNTOPF, M. R.; COUTINHO, H. D. M.; FACHINETTO, R.; MENEZES, I. R. A. Ethnopharmacological study of *Stryphnodendron rotundifolium* in two communities in the semi-arid region of northeastern Brazil. *Rev. Bras. Farmacogn.* 24(2), 124–132. 2014. Doi:10.1016/j.bjp.2014.03.003

OLIVEIRA, D. R.; BRITO JÚNIOR, F. E.; SAMPAIO, L. A.; TORRES, J. C.; RAMOS, A. G. B.; NUNES, A. A. Ethnopharmacological usage of medicinal plants in genitourinary infections by residents of Chapada do Araripe, Crato, Ceará—Brazil. *Revista Brasileira em Promoção da Saúde*. 25(3), 278–286. 2012. Disponível em: <https://www.redalyc.org/pdf/408/40823864005.pdf>

OLIVEIRA, D. R.; BRITO-JUNIOR, F. E.; BENTO, E. B.; MATIAS, E. F.; SOUSA, A. C. A.; COSTA, J. G.; COUTINHO, H.D.; KERNTOPF, M.R.; MENEZES, I. R. A. Antibacterial and modulatory effect of *Stryphnodendron rotundifolium*. *Pharm. Biol.* 49, 1265-1270. 2011. Doi:10.3109/13880209.2011.589857

OLIVIERI, N. F.; BRITTENHAM, G. M. Iron-chelating therapy and the treatment of thalassemia. *Blood*. 89(3):739-61. 1997. Disponível em:

<https://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.970.2598&rep=rep1&type=pdf>

OU K.; GU L. Absorption and metabolism of proanthocyanidins. *Journal of Functional Foods*. 7: 43–53. 2014. Doi:10.1016/j.jff.2013.08.004

PANDEY, A.; TRIPATHI, S. Concept of standardization, extraction and pre phytochemical screening strategies for herbal drug. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. v.2, n.5, p.115-119. 2014. Disponível em: [https://www.phytojournal.com/vol2Issue5/Issue\\_jan\\_2014/11.pdf](https://www.phytojournal.com/vol2Issue5/Issue_jan_2014/11.pdf)

PASA, M. C.; MARGÔ, D.; GABRIELA, de Á. F.; TAINA, M. B. N.; EDI, L. M. A etnobotânica na comunidade quilombola em Nossa Senhora do Livramento. Mato Grosso, Brasil. *Biodiversidade* - n.14, n. 2. 2-18, 2015.

PELLENZ, N. L.; BARBISAN, F.; AZZOLIN, V. F.; DUARTE, T.; BOLIGNON, A.; MASTELLA, M. H.; TEIXEIRA, C. F.; RIBEIRO, E. E.; DA CRUZ, I. B. M.; DUARTE, M. M. M. F. Analysis of in vitro cyto- and genotoxicity of barbatimão extract on human keratinocytes and fibroblasts. *Biomed Res. Int.* 2018. Doi:10.1155/2018/1942451

PENG, C.; ZUO, Y.; KWAN, K. M.; LIANG, Y.; MA, K. Y.; CHAN, H. Y. E.; HUANG, Y.; YU, H.; CHEN, Z-Y. Blueberry extract prolongs of *Drosophila melanogaster*. *Experimental Gerontology*. v. 47(2), p. 170-8, 2012. Doi:10.1016/j.exger.2011.12.001.

PEREIRA, Z. V.; MUSSURY, R. M.; ALMEIDA, A. B.; SANGALLI, A. 2009. Medicinal plants used by Ponta Porã community, Mato Grosso do Sul State. *Acta Scientiarum*. 31 (3): 293–299. 2009. Doi:10.4025/actascibiolsci.v31i3.3206

PERRON, N. R.; BRUMAGHIM, J. L. A review of the antioxidant mechanisms of polyphenol compounds related to iron binding. *Cell Biochemistry and Biophysics*. v. 53, n. 2, p. 75-100. 2009. Doi:10.1007/s12013-009-9043-x.

PIETRANGELO, A. Hereditary hemochromatosis - a new look at an old disease. *New England Journal of Medicine*. 350(23):2383-97. 2004. Doi:10.1056/NEJMra031573.

PIETRANGELO, A. Inherited metabolic disease of the liver. *Current Opinion in Gastroenterology*. 25(3):209-14. 2009. Doi:10.1097/MOG.0b013e328329e13d.

PINTO, S. C.; BUENO, F. G.; PANIZZON, G. P.; MORAIS, G.; SANTOS, P. V.; BAESSO, M. L.; LEITE-MELLO, E. V.; MELLO, J. C. *Stryphnodendron adstringens*: Clarifying Wound Healing in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Planta Medica*, 81(12-13), 1090–6, 2015. Doi:10.1055/s-0035-1546209.

POLLI, J. R.; YU, L. X.; COOK, J. A.; AMIDON, G. L.; BORCHARDT, R. T.; BURNSIDE, B. A.; BURTON, P. S.; CHEN, M. L.; CONNER, D. P.; FAUSTINO, P. J.; HAWI, A. A.; HUSSAIN, A. S.; JOSHI, H. N.; KWEL, G.; LEE, V. H.; LESKO, L. J.; LIPPER, R. A.; LOPER, A. E.; NERURKAR, S. G.; POLLI, J. W.; SANVORDEKER, D. R.; TANEJA, R.; UPPOOER, R. S.; VATTIKONDA, C. S.;

WILDING, I.; ZHANG, G. Summary workshop report: biopharmaceutics classification system implementation challenges and extension opportunities. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v.93, n.6, p.1375-1381, 2004. Doi:10.1002/jps.20064

PRADO, H. M.; MURRIETA, R. S. S. A Etnoecologia em perspectiva: origens, interfaces e correntes atuais de um campo em ascensão. *Ambiente & Sociedade*, São Paulo v. XVIII, n. 4 n p. 139-160, 2015. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/asoc/a/NmcQMqbZb8dzgYkW4bx5ppn/?lang=pt&format=pdf>

PRIETO, P.; PINEDA, M.; AGUILAR, M. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex. Specific application to the determination of vitamin E. *Analytical Biochemistry*, 269(2): 337-41. 1999. Doi:10.1006/abio.1999.4019.

PRIMO, B. L. Riqueza tanífera de alguns produtos vegetais brasileiros. *Anais da Associação Brasileira de Química*. 4(2): 107-120. 1945.

PRIOR, R. L.; CAO, G. Analysis of botanicals and dietary supplements for antioxidant capacity: A review. *The Journal of AOAC International*, 83(4): 950-6. 2000. Doi:10.1093/JAOAC/83.4.950

PULIDO, R.; BRAVO, L.; SAURA-CALIXTO, F. Antioxidant activity polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant. Power assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(8):3396-402, 2000. Doi:10.1021/jf9913458.

QUEIROZ, C. R. A. A.; MORAIS, S. A. L.; NASCIMENTOS, E. A. Caracterização dos taninos da Aroeira – Preta (*Myracrodruon urundeuva*). *Revista Árvore*. v. 26, n. 4. 2002. Doi:10.1590/S0100-67622002000400011

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine* 26(9-10): 1231-1237, 1999. Doi:10.1016/s0891-5849(98)00315-3.

REBECCA, M. A.; ISHII-IWAMOTO, E. L.; GRESPAN, R.; CUMAN, R. K. N.; CAPARROZ-ASSEF, S. M.; MELLO, J. C. P.; BERSANI-AMADO, C. A. Toxicological studies on *Stryphnodendron adstringens*. *Journal of Ethnopharmacology*. 83(1-2), 101-104, 2002. Doi:10.1016/s0378-8741(02)00219-2.

REICHARDT, C. "Effets de solvants en chimie organique", Flammarion Science, Paris 1971.

REZENDE, A. A. A. Efeito protetor de proantocianidinas de sementes de *Vitis vinifera* L. (*Vitaceae*) contra efeitos genotóxicos do cloridrato de doxorubicina, em células somáticas de *Drosophila melanogaster*. Universidade Federal de Uberlândia. 2008. Disponível em: <https://repositorio.ufu.br/bitstream/123456789/15781/1/Alexandre%20R.pdf>

REZENDE, E. A.; RIBEIRO, M. T. F. Conhecimento tradicional, plantas medicinais e propriedade intelectual: biopirataria ou bioprospecção?. *Revista Brasileira de Plantas*

Medicinais, [s.l.], v. 7, n. 3, p. 37-44, 2005. Disponível em:  
[https://www1.ibb.unesp.br/Home/Departamentos/Botanica/RBPM-RevistaBrasileiradePlantasMedicinais/artigo6\\_v7\\_n3.pdf](https://www1.ibb.unesp.br/Home/Departamentos/Botanica/RBPM-RevistaBrasileiradePlantasMedicinais/artigo6_v7_n3.pdf)

REZENDE, H. A.; COCCO, M. I. M. A utilização da fitoterapia no cotidiano de uma população rural. *Revista da Escola de Enfermagem USP*, v. 36, n. 3, p. 282-288. 2002. Disponível em:  
<https://www.scielo.br/j/reeusp/a/d97pnbWmRCT9Mp9Bj6KKhcB/?lang=pt&format=pdf>

RIBEIRO, D. A.; OLIVEIRA, L. G. S.; MACÊDO, D.G.; MENEZES, I. R. A.; COSTA, J. G. M.; SILVA, M. A. P.; LACERDA, S. R.; SOUZA, M. M. A. Promising medicinal plants for bioprospection in a Cerrado area of Chapada do Araripe, Northeastern Brazil. *Journal of Ethnopharmacology*. 155(3): 1522-1533. 2014. Doi:10.1016/j.jep.2014.07.042

RIBEIRO, T. G.; NASCIMENTO, A. M.; HENRIQUES, B. O.; FUMAGALLI, M. A. C.; FRANCA, J. R.; DUARTE, M. C.; LAGE, P. S.; ANDRADE, P. H. R.; LAGE, D. P.; RODRIGUES, L. B.; COSTA, L. E.; MARTNS, V. T.; FARACO, A. A. G.; COELHO, E. A. F.; CASTILHO, R. O. Antileishmanial activity of standar dized fractions of *Stryphnodendron obovatum* (Barbatimão) extract and constituent compounds. *Journal of Ethnopharmacology*. 165: 238–242. 2015. Doi:10.1016/j.jep.2015.02.047

RIZZINI, C. T.; HERINGER, E. P. As espécies anãs de *Stryphnodendron* Mart. (*Leguminosae-Mimosoideae*). *Revista Brasileira de Biologia*. 47:447-454. 1987.

RODRIGUES, D. F.; MENDES, F. F.; MENEZES, L. B.; CARVALHO, W. L.; SÁ, S.; SILVA, J. A.; SOUZA, L. A.; SILVA, L. A. F. Tratamento de feridas excisionais de coelhos com extrato de barbatimão associado a células mononucleares autólogas da medula óssea. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.69, n.5, p.1243-1250. 2017. Doi:10.1590/1678-4162-9301

RODRIGUES, E. Plants of restricted use indicated by three cultures in Brazil (Caboclo-river dweller, Indian and Quilombola). *Journal of Ethnopharmacology*. 111(2): 295-302, 2007. Doi:10.1016/j.jep.2006.11.017.

RODRIGUES, F. F. G.; CABRAL, B. do S.; COUTINHO, H. D. M.; CARDOSO, A. L. H.; CAMPOS, A. R.; COSTA, J. G. M. da. Antiulcer and antimicrobial activities of *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. *Pharmacognosy Magazine*, v. 4, n. 15, p. 193-196, 2008. Disponível em: [https://www.researchgate.net/profile/Andre-Herzog-2/publication/258125584\\_Antiulcer\\_and\\_Antimicrobial\\_Activities\\_of\\_Stryphnodendron\\_rotundifolium\\_Mart/links/00b49527291cd5758e000000/Antiulcer-and-Antimicrobial-Activities-of-Stryphnodendron-rotundifolium-Mart.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Andre-Herzog-2/publication/258125584_Antiulcer_and_Antimicrobial_Activities_of_Stryphnodendron_rotundifolium_Mart/links/00b49527291cd5758e000000/Antiulcer-and-Antimicrobial-Activities-of-Stryphnodendron-rotundifolium-Mart.pdf)

ROESLER, R.; MALTA, L. G.; CARRASCO, L. C.; HOLANDA, R. B.; SOUSA, C. A. S.; PASTORE, G. Atividade antioxidante de frutas do cerrado. *Food Science and Technology*. v. 27, n. 1, p. 53-60, 2007. Doi:10.1590/S0101-20612007000100010

ROMERO-JIMENEZ, M.; CAMPOS-SANCHEZ, J.; ANALLA, M.; MUÑOS-SERRANO, A.; ALONSO-MORAGA, A. Genotoxicity and anti-genotoxicity of some traditional medicinal herbs. *Mutation Research*. 585(1-2), p. 147-155. 2005. Doi:10.1016/j.mrgentox.2005.05.004.

ROSSO, V. V. de. Bioactivities of brazilian fruit and the antioxidant potential of tropical biomes. *Food and Public Health*. v. 3, n. 1, p. 37-51, 2013. Doi:10.5923/j.fph.20130301.05

ROVENKO, B. M.; PERKHULYN, N. V.; GOSPODARYOV, D. V.; SANZ, A.; LUSHCHAK, O. V.; LUSHCHAK, V. I. High consumption of fructose rather than glucose promotes a diet-induced obese phenotype in *Drosophila melanogaster*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology* v. 180, p. 75-85, 2015. Doi:10.1016/j.cbpa.2014.11.008

RUBIN, G. M.; YANDELL, M. D.; WORTMAN, J. R.; GABOR, G. L.; NELSON, C. R.; HARIHARAN, I. K.; FORTINI, M. E.; LI, P. W.; APWEILER, R.; FLEISCHMANN, W.; CHERRY, J. M.; HENIKOFF, S.; SKUPSKI, M. P.; MISRA, S.; ASHBURNER, M.; BIRNEY, E.; BOGUSKI, M. S.; BRODY, T.; BROKSTEIN, P.; CELNIKER, S. E.; CHERVITZ, S. A.; COATES, D.; CRAVCHIK, A.; GABRIELIAN, A.; GALLE, R. F.; GELBART, W. M.; GEORGE, R. A.; GOLDSTEIN, L. S. B.; GONG, F.; GUAN, P.; HARRIS, N. L.; HAY, B. A.; HOSKINS, R. A.; LI, J.; LI, Z.; HYNES, R. O.; JONES, S. J. M.; KUEHL, P. M.; LEMAITRE, B.; LITTLETON, J. T.; MORRISON, D. K.; MUNGALL, C.; O'FARREL, P. H.; PICKERAL, O. K.; SHUE, C.; VOSSHALL, L. B.; ZHANG, J.; ZHAO, Q.; ZHENG, X. H.; ZHONG, F.; ZHONG, W.; GIBBS, R.; VENTER, J. C.; ADAMS, M. D.; LEWIS, S. Comparative genomics of the eukaryotes. *Science*. v. 287(5461), p. 2204-15, 2000. Doi:10.1126/science.287.5461.2204.

RUSTEN, T. E.; LINDMO, K.; JUHASZ, G.; SASS, M.; SEGLEN, P. O.; BRECH, A.; STENMARK, H.; Programmed autophagy in the *Drosophila* fat body is induced by ecdysone through regulation of the PI3K pathway. *Developmental Cell*. v. 7, n. 2, p. 179-92. 2004. Doi:10.1016/j.devcel.2004.07.005.

SABINO, A. P. L.; EUSTÁQUIO, L. M. S.; MIRANDA, A. C. F.; BIOJONEL, C.; MARIOSA T. N.; GOUVÊA CIBELE MARLI CAÇÃO PAIVA. *Stryphnodendron adstringens* ("Barbatimão") Leaf Fraction: Chemical Characterization, Antioxidant Activity, and Cytotoxicity Towards Human Breast Cancer Cell Lines. *Appl Biochem Biotechnol*. 2017. 1-15. Doi:10.1007/s12010-017-2632-z

SALAZAR, G.J.T.; DIAS, F.J.; RIBEIRO, P.R.V.; DE BRITO, E.S.; CANUTO, K.M.; COUTINHO, H.D.M.; RIBEIRO-FILHO, J.; GALLO, M.; MONTESANO, D.; NAVIGLIO, D.; et al. Antioxidant Activity of *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. Stem Bark Fraction in an Iron Overload Model. *Foods*. 10, 2683. 2021. Doi:10.3390/foods10112683

SANCHES, A. C. C.; LOPES, G. C.; NAKAMURA, C. V.; FILHO, B. P. D.; MELLO, J. C. P. Atividade antioxidante e antifúngica de extratos e taninos condensados de casca *obovatum* Benth. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 41, n. 1, p. 101-107. 2005. Doi:10.1590/S1516-93322005000100012

SÁNCHEZ-MORENO, C.; LARRAURI, J. A.; SAURA-CALIXTO, F. A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 76, p. 270-276, 1998. Doi:10.1002/(SICI)1097-0010(199802)76:2%3C270::AID-JSFA945%3E3.3.CO;2-0

SANTOS, B. de S. Semear outras soluções: os caminhos da biodiversidade e dos conhecimentos rivais. 1ª Ed. Civilização Brasileira. Rio de Janeiro. 506p. 377-421. 2005. ISBN : 9788520006863

SANTOS, E. L. DOS; BALDIVIA, D. DA S.; LEITE, D. F.; CASTRO, D. T. H. De.; CAMPOS, J. F.; OLIVEIRA, C. F. R. DE.; CARVALHO, J. T. G. DE.; SANTOS, U. P. DOS.; SOUZA, K. DE P. Antioxidant and anticancer activities from *Stryphnodendron adstringens*. *Free Radical Biology and Medicine*. V.128, Supplement 1, Pp. S66. 2018. Doi:10.1016/j.freeradbiomed.2018.10.136

SANTOS, M. H. S.; BATISTA, B. L.; DUARTE, S. M. S.; ABREU, C. M. P.; GOUVÊA, C. M. C. P. Influência do processamento e da torrefação sobre a atividade do café (*Coffea arabica*). *Química Nova*. v. 30, n. 3, p. 604-610, 2007. Doi:10.1590/S0100-40422007000300020

SANTOS-BUELGA, C.; SCALBERT, A. Proanthocyanidins and tannin-like compounds - nature, occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 80(7): p. 1094-117. 2000. Doi:10.1002/(SICI)1097-0010(20000515)80:7<1094::AID-JSFA569>3.0.CO;2-1

SARAIVA, M. E.; ULISSES, A. V. R. de A.; RIBEIRO, D. A.; OLIVEIRA, L. G. S. de; MACÊDO, D. G. de; SOUSA, F. F. S.; MENEZES, I. R. A.; SAMPAIO, E. V. S. B.; SOUZA, M. M. A. Plant species as a therapeutic resource in áreas of the savanna in the state of Pernambuco, Northeast Brazil. *J Ethnopharmacol*. 171:141–153. 2015. Doi:10.1016/j.jep.2015.05.034

SAWICKI, E.; STANLEY, T. W.; JOHNSON, H. Comparison of spectrophotometric and spectrofluorometric methods for the determination of malonaldehyde. *Analytical Chemistry*. 35(2), 199-205; 1963. Doi:10.1021/ac60195a026

SCALON, V. R. Revisão taxonômica do gênero *Stryphnodendron* Mart. (Leguminosae - Mimosoideae). Thesis presented to the Institute of Biosciences of the University of São Paulo, to obtain a PhD in Sciences, in the area of Botany. 2007. Disponível em: [http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/41/41132/tde-29012008-113442/publico/Viviane\\_Renata\\_Scalon.pdf](http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/41/41132/tde-29012008-113442/publico/Viviane_Renata_Scalon.pdf)

SCALON, V. R. *Stryphnodendron* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2015. Disponível em: <http://floradobrasil2015.jbrj.gov.br/FB83743>

SCHOFIELD, P.; MBUGUA, D.M.; PELL, A.N. Analysis of condensed tannins: a review. *Animal Feed Science and Technology*, v. 91, p. 21-40, 2001. Doi:10.1016/S0377-8401(01)00228-0

SCOTT, R. C.; SCHULDINER, O.; NEUFELD, T. P. Role and regulation of starvation-induced autophagy in the *Drosophila* fat body. *Developmental Cell*. v. 7(2), p. 167-178, 2004. Doi:10.1016/j.devcel.2004.07.009.

SEIXAS, C. S.; GONÇALVES, L. R.; MORIM, de L, A. G.; ADAMS, C.; OVERBECK, G. E.; AZEVEDO, S. M. F.; CARNEIRO da Cunha, M.; CONFALIONIERI, U. E. C.; ELOY, L.; EMPERAIRE, L.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; QUEROZ, H. L.; LONDE, L. R.; MENEZES, J. A.; De OLIVEIRA, C. C. O. F.; PRADO, R. B.; VIEIRA, S. A.; SARAIVA, A. Contribuições da natureza para a qualidade de vida. In: JOLY, C. A.; SCARANO, F. R.; SEIXAS, C. S.; METZGER, J. P.; OMETTO, J. P.; BUSTAMANTE, M. M. C.; PADGURSCHI, M. C. G.; PIRES, A. P. F.; CASTRO, P. F. D.; GADDA, T.; TOLEDO, P. (ed.). 1º Diagnóstico Brasileiro de Biodiversidade e Serviços Ecossistêmicos. São Carlos: Editora Cubo. p. 35-91. 2019. Disponível em: [https://horizon.documentation.ird.fr/exl-doc/pleins\\_textes/divers21-02/010076752.pdf](https://horizon.documentation.ird.fr/exl-doc/pleins_textes/divers21-02/010076752.pdf)

SEYFERT, W. Beitrage zur Gnetik und Enzimologie der flavonóide. *Biologisches Zentralblatt*, v. 101, p. 1465 -1483, 1982.

SILVA, C. H. T. P. Validação de metodologia analítica para matéria-prima e produto acabado contendo *Stryphnodendron adstringens* (Martius) Coville. [Dissertação]. 2007. Dissertação (Mestrado), p. 75. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2007. Disponível em: [https://repositorio.ufpe.br/bitstream/123456789/3609/1/arquivo6397\\_1.pdf](https://repositorio.ufpe.br/bitstream/123456789/3609/1/arquivo6397_1.pdf)

SILVA, J. D. A.; NASCIMENTO, M. G. P.; GRAZINA L. G.; CASTRO, K. N. C.; MAYO, S. J.; ANDRADE, I. M. Ethnobotanical survey of medicinal plants used by the community of Sobradinho, Luís Correia, Piauí, Brazil. *Journal of Medicinal Plants Research*, [s. l.], v. 9, n. 32, p.872-883, 2015. Doi:10.5897/JMPR2015.5881

SILVA, M. I. G. Utilização de fitoterápicos nas unidades básicas de atenção à saúde da família, no Município de Maracanaú – Ceará. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, Universidade Federal do Ceará. 160 p. 2003. Disponível em: [https://repositorio.ufc.br/bitstream/riufc/4236/1/2003\\_dis\\_migsilva.pdf](https://repositorio.ufc.br/bitstream/riufc/4236/1/2003_dis_migsilva.pdf)

SIMÕES, C. M.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. *Farmacognosia: da Planta ao medicamento*, 2 ed. Florianópolis, SC; Porto Alegre (RS): Ed. da UFSC; Ed. da UFRGS. 1999.

SIMÕES, C. M.; SCHENKEL, E. P. A Pesquisa e a produção brasileira de medicamentos a partir de plantas medicinais: a necessária interação da indústria com a academia. *Revista brasileira de farmacognosia*, [s.l.], v. 12, n. 1, p. 35-40, 2002. Doi:10.1590/S0102-695X2002000100005

SIMÕES, C. M.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. Taninos. In *Farmacognosia - da planta ao medicamento* (5ª edição.). UFRGS editora. 2003.



SIMÓN, B. F.; CADAHÍA, E.; CONDE, E.; GARCÍA-VALLEJO, M. C. Evolution of phenolic compounds of spanish oak wood during natural seasoning. First results. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 47(4), p. 1687 – 94, 1999. Doi:10.1021/jf9805855.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with Phosphomolybdc-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*. 16: 144-58. 1995.

SIQUEIRA, C. F. de Q.; CABRAL, D. L. V.; PEIXOTO SOBRINHO, T. J. S.; AMORIM, E. L. C.; MELO, J. G.; ARAÚJO, T. A. S.; ALBUQUERQUE, U. P. Levels of tannins and flavonoids in medicinal plants: evaluating bioprospecting strategies. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 1–7, 2012. Doi:10.1155/2012/434782.

SMERIGLIO, A.; BARRECA, D.; BELLOCCO, E.; TROMBETTA, D. Proanthocyanidins and hydrolysable tannins: Occurrence, dietary intake and pharmacological effects. *British Journal Pharmacology*. 174(11), 1244–1262. 2017. Doi:10.1111/bph.13630

SOARES, J. de J. Avaliação da atividade antioxidante *in vitro* e *in vivo* de extratos preparados a partir das folhas de *Zyzygium cumini* (L.) Skeels. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) Fundação Universidade Federal do Pampa programa de pós-graduação em bioquímica. Uruguaiana, RS, 2013. Disponível em: <https://cursos.unipampa.edu.br/cursos/ppgbioq/files/2012/04/Avalia%C3%A7%C3%A3o-da-atividade-antioxidante-in-vitro-e-in-vivo-de-l.pdf>

SOARES, S. P.; VINHOLIS, A. H. C.; CASEMIRO, L. A.; SILVA, M. L. A.; CUNHA, W. R.; MARTINS, C. H. G. Atividade antibacteriana do extrato hidroalcoólico bruto de *Stryphnodendron adstringens* sobre microorganismos da cárie dental. *Revista Odontologia e Ciência*, v. 23, n. 2, p. 141-144. 2008.

SOTIBRÁN, A. N. C.; ORDAZ-TÉLLEZ, M. G.; RODRÍGUEZ-ARNAIZ, R. Flavonoids and oxidative stress in *Drosophila melanogaster*. *Mutation Research*. v. 726(1), p. 60-5, 2011. Doi:10.1016/j.mrgentox.2011.08.005.

SOUZA, C.M.P.; BRANDÃO, D.O.; SILVA, M.S.P.; PALMEIRA, A.C.; SIMÕES, M.O.S.; MEDEIROS, A.C.D. Use of medicinal plants with antimicrobial activity by users of the Public Health System in Campina Grande—Paraíba, Brazil. *Rev. Bras. Plantas Med.* 15, 188–193. 2013. Doi:10.1590/S1516-05722013000200004

SOUZA, N. C. de; GOMES, M. N.; MACIEL, R. R. G.; SILVA, R. J. da; TRESCHER, T. F.; GORZA, F. D. S.; PEDRO, G. C.; CORREA, K. C. S.; SOUZA, M. C. R.; SILVA, J. R. Evaluation of the Antimicrobial Activity of *Stryphnodendron barbatiman* against *Citrobacter freundii*. *Mater Sci Appl*. 4: 780-785. 2013. Doi:10.4236/msa.2013.412099

SOUZA, R. K. D.; SILVA, M. A. P.; MENEZES, I. R. A.; RIBEIRO, D. A.; BEZERRA, L. R.; SOUZA, M. M. A. Ethnopharmacology of medicinal plants of

- carrasco, northeastern Brazil. *Journal of Ethnopharmacology*. 157: 99-104. 2014.  
Doi:10.1016/j.jep.2014.09.001
- SOUZA, T. M.; MOREIRA, R. R. D.; PIETRO, R. C. L. R.; ISAAC, V. L. B.  
Avaliação da atividade anti-séptica de extrato seco de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville e de preparação cosmética contendo este extrato. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 17(1): 71-75. 2007b. Doi:10.1590/S0102-695X2007000100015
- SOUZA, T. M.; SEVERI, J. A.; SILVA, V. Y.; SANTOS, E.; PIETRO, R. C.  
Bioprospecção de atividade antioxidante e antimicrobiana da casca de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (Leguminosae-Mimosoidae). *Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences*. 28(2): 221-226. 2007a. Disponível em:  
<https://rcfba.fcfar.unesp.br/7c2cddf6-3943-4d1f-853a-795e3c9a3d26>
- SPROLL, C.; RUGE, W.; ANDLAUER, C.; GODELMANN, R.; LACHENMEIER, D.  
W. HPLC analysis and safety assessment of coumarin in foods. *Food Chemistry*, 109: 462-469, 2008. Doi:10.1016/j.foodchem.2007.12.068
- STALMACH, A.; WILLIAMSON, G.; CROZIER, A. Impact of dose on the bioavailability of coffee chlorogenic acids in humans. *Food and Function* . 5(8): 1727-37. 2014. Doi:10.1039/c4fo00316k.
- STEVENS, J. F.; MIRANDA, C. L.; BUHLER, D. R.; DEINZER, M. L. Chemistry and Biology of Hop Flavonoids. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, v. 56(4), 136-145p, 1998. Doi:10.1094/ASBCJ-56-0136
- STYSKAL, J.; VAN REMMEN, H.; RICHARDSON, A.; SALMON, A. B. Oxidative stress and diabetes: What can we learn about insulin resistance from antioxidant mutant mouse models? *Free Radical Biology and Medicine*, v.52. n. 1, p. 46-58. 2012.  
Doi:10.1016/j.freeradbiomed.2011.10.441.
- SUDATI, J. H.; VIEIRA, F. A.; PAVIN, S. S.; DIAS, G. R. M.; SEEGER, R. L.; GOLOMBIESKI, R.; ATHAYDE, M. L.; SOARES, F. A.; ROCHA, J. B. T.; BARBOSA, N. V.; *Valeriana officinalis* attenuates the rotenone induced toxicity in *Drosophila melanogaster*. *Neurotoxicology*. v. 37, p. 118-126, 2013.  
Doi:10.1016/j.neuro.2013.04.006.
- SUN, T.; HO, C-T. Antioxidant activities of buckwheat extracts. *Food Chemistry*. 90(4): 743-49, 2005. Doi:10.1016/j.foodchem.2004.04.035
- SUN, X.; SEEBERGER, J.; ALBERICO, T.; WANG, C.; WHEELER, C. T.; SCHAUSS, A. G.; ZOU, S. Açai palm fruit (*Euterpe oleracea* Mart.) pulp improves survival of flies on a high fat diet. *Experimental Gerontology*. v. 45(3), p. 243-51, 2010.  
Doi:10.1016/j.exger.2010.01.008.
- TERÁN, R.; BONILLA, E.; MEDINA-LEENDERTZ, S.; MORA, M.; VILLALOBOS, V.; PAZ, M.; ARCAYA, J. L. The life span of *Drosophila melanogaster* is affected by melatonin and thioctic acid. *Investigation Clinica*. v. 53, n. 3, p. 250-261. 2012.  
Disponível em: <http://ve.scielo.org/pdf/ic/v53n3/art04.pdf>

TOLOUEI, S. E. L.; TRAESEL, G.K.; de LIMA, F. F.; de ARAÚJO, F. H. S.; LESCANO, C. H.; CARDOSO, C. A. L.; OESTERREICH, S. A.; VIEIRA M. do C. Cytotoxic, genotoxic and mutagenic evaluation of *Alibertia edulis* (rich.) a. Rich. ex DC: an indigenous species from Brazil. *Drug And Chemical Toxicology*, v. 41, p. 1-8, 2018. Doi:10.1080/01480545.2018.1488862

TRAESEL, G. K.; DE ARAÚJO, F. H. S.; CASTRO, L. H. A.; DE LIMA, F.F.; MENEGATI, S. E. L. T.; JUSTI, P. N.; KASSUYA, C. A. L.; CARDOSO, C. A. L.; ARGANDOÑA, E. J. S.; OESTERREICH, S. A. Safety Assessment of Oil from Pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.): Evaluation of the Potential Genotoxic and Clastogenic Effects. *Journal of Medicinal Food*, 20(8), 804-811. 2017. Doi:10.1089/jmf.2017.0021.

TURSCH, B.; DALOZE, D.; TURSCH, E.; CHIURDOGLU, G. Triterpenes 11. Les sapogénines J et L de *Stryphnodendron coriaceum*. *Bulletin des Sociétés Chimiques Belges*. 75(1-2): 26-28. 1966. Doi:10.1002/bscb.19660750104

TURSCH, B.; TURSCH, E.; HARRISON, I. T.; BRAZÃO, da S. G.; MONTEIRO, H. J.; GILBERT, B.; MORS, W. B.; DJERASSI, C. Terpenoids. LIII. 1ra Demonstration of ring conformational changes in triterpenes of the  $\beta$ -amyrin class isolated from *Stryphnodendron coriaceum*. *Journal of Organic Chemistry*. 28(9): 2390–2394. 1963. Doi:10.1021/jo01044a059

VALKO, M.; RHODES, C. J.; MONCOLA, J.; IZAKOVIC, M.; MAZURA, M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*, v. 160(1), p. 1-140, 2006. Doi:10.1016/j.cbi.2005.12.009.

VAN DEN BERG, R.; HAENEN G. R. M. M.; VAN DEN BERG, H.; BAST, A. Applicability of an improved Trolox equivalent Antioxidant capacity (TEAC) assay for evaluation of antioxidant capacity measurements of mixtures. *Food Chemistry*, v. 66(4), P. 511-517, 1999. Doi:10.1016/s0308-8146(99)00089-8

VANDESMET, V. C. S.; FELIPE, C. F. B.; KERNTOPF, M. R.; ROLÓN, M.; VEJA, C.; CORONEL, C.; BARBOSA, A. G. R.; COUTINHO, H. D. M.; MENEZES, I. R. A. The use of herbs against neglected diseases: Evaluation of in vitro leishmanicidal and trypanocidal activity of *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. *Saudi J. Biol. Sci.* 24: 1136–1141. 2017. Doi:10.1016/j.sjbs.2015.03.001

VASCONCELOS, M. C. A.; RODOVALHO, N. C. M.; POTT, A.; POTT, V. J.; FERREIRA, A. M. T.; ARRUDA, A. L. A.; MARQUES, M. C. S.; CASTILHO, R. O.; BUENO, N. R. Avaliação das atividades biológicas das sementes de *Stryphnodendron obovatum* Benth. (Leguminosae). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 14, n. 1, p. 121-127, 2004. Doi:10.1590/S0102-695X2004000200005

VEIGA JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura. *Química nova*, [s.l.], v. 28, n. 3, p. 519-528, 2005. Doi:10.1590/S0100-40422005000300026

VELDERRAIN-RODRÍGUEZ, G. R.; PALAFOX-CARLOS, H.; WALL-MEDRANO, A.; AYALA-ZAVALA, J. F.; CHEN, C. Y.; ROBLES-SÁNCHEZ, M.

ASTIAZARAN-GARCÍA, H.; ALVAREZ-PARRILLA, E.; G A GONZÁLEZ-AGUILAR, G. A. Phenolic compounds: their journey after intake. *Food and Function* . 5(2): 189–197. 2014. Doi:10.1039/c3fo60361j.

VENNAT, B.; GROSS, D.; POURRAT, H. *Hamamelis virginiana*: identification and assay of proanthocyanidins, phenolic acids and flavonoids in leaf extracts. *Pharmaceutica Acta Helvetiae*, v. 67, n. 1. p. 11-14, 1992. ID: 99012230.

VIEIRA, V. M. de S. F. Etnobotânica de plantas medicinais comercializadas em mercados públicos do Nordeste brasileiro. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) -Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 118p, 2012. Disponível em: [https://repositorio.ufc.br/bitstream/riufc/4282/1/2012\\_dis\\_vmsfvieira.pdf](https://repositorio.ufc.br/bitstream/riufc/4282/1/2012_dis_vmsfvieira.pdf)

VILAR, J. B.; DE OLIVEIRA, M. I. P.; SANTOS, S. C.; CHEN, L. C. Cytotoxic and genotoxic investigation on barbatimão [*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville, 1910] extract. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 46(4), 687–694. 2010. Doi:10.1590/S1984-82502010000400010

VOGEL, E. W.; GRAF, U.; FREI, H. J.; NIVARD, M. M. The results of assays in *Drosophila* as indicators of exposure to carcinogens. *IARC scientific publications*, v. 146, p. 427–470, 1999.

VOLZ, T. J.; CLAUSEN, T. P. Tannins in *puccinellia arctica*: possible deterrents to herbivory by *Canada geese*. *Journal of Chemical Ecology*, v. 27, n. 4, p. 725-32. 2001. Doi:10.1023/a:1010349918664.

WAGNER, H.; WISENAUER, M. Fitofármacos, farmacologia e aplicações clínicas. 2. ed. São Paulo: Pharmabooks. 2006.

WHITE, W. J. The use of laboratory animals in toxicologic research. In: HAYES, A. W. *Principles and methods of toxicology*. 4.ed. London: Taylor & Francis, 2001. cap. 16, p. 773-818.

WHITE, K. E.; HUMPHREY, D. M.; HIRTH, F. The dopaminergic system in the aging brain of *Drosophila*. *Frontiers in Neuroscience*. 2010. v. 4, Article 205, pp 1-12. Doi:10.3389/fnins.2010.0020

WISEMAN, H.; KAUR, H.; HALLIWELL, B. DNA damage and cancer: measurement and mechanism. *Cancer Letters*. 93(1), 113-20. 1995. Doi:10.1016/0304-3835(95)03792-U

WOISKY, R.G.; SALATINO, A. Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. *Journal of Apicultural Research*, v. 37, n. 2, p. 99-105, 1998. Doi:10.1080/00218839.1998.11100961

WOLLENWEBER, E.; JAY, M. Flavones and flavonols. In: HARBORNE, J. B. *The flavonoids: advances in research since 1980*. 1st ed., London. Chapman and Hall, p. 233-302, 1988.

YAGODA, N.; VON RECHENBERG, M.; ZAGANJOR, E.; BAUER, A. J.; YANG, W. S.; FRIDMAN, D. J.; WOLPAW, A. J.; SMUKSTE, I.; PELTIER, J. M.; BONIFACE, J. J.; SMITH, R.; LESSNICK, S. L.; SAHASRABUDHE, S.; STOCKWELL, B. R. RAS-RAF-MEK-dependent oxidative cell death involving voltage-dependent anion channels. *Nature*. 447(7146), 864–868. 2007. Doi:10.1038/nature05859

YANG, W. S.; STOCKWELL, B. R. Synthetic lethal screening identifies compounds activating iron-dependent, nonapoptotic cell death in oncogenic-RAS-harboring cancer cells. *Chemistry & Biology*. 15(3), 234–45. 2008. Doi:10.1016/j.chembiol.2008.02.010.

YOKOSUKA, A.; KAWAKAMI, S.; HARAGUCHI, M.; MIMAKI, Y. Stryphnosides A-F, six new triterpene glycosides from the pericarps of *Stryphnodendron fissuratum*. *Tetrahedron*. 64: 1474 – 1481. 2008. Doi:10.1016/j.tet.2007.11.041

YOKOSUKA, A.; OKABE, G.; TATSUNO, S.; MIMAKI, Y. Stryphnosides G-P, 10 new triterpene glycosides from the pericarps of *Stryphnodendron fissuratum*. *Carbohydr Res*. 434: 18-26. 2016. Doi:10.1016/j.carres.2016.07.019

YUNES, R. A.; CALIXTO, J. B. Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna: métodos de estudo, fitoterápicos e fitofármacos, biotecnologia, patente. Série Didática (Chapecó, Brazil), p. 523, 2001. ISBN: 9788575350027 e 8575350021

ZHANG, L.; WANG, Y.; LI, D.; HO, C. T.; LI, J.; WAN, X. The absorption, distribution, metabolism and excretion of procyanidins. *Food Funct*. 7(3): 1273–81. 2016. Doi:10.1039/c5fo01244a

ZOCOLER, A. M. D. Avaliação da qualidade, fitoquímica e da capacidade antioxidante de extratos das cascas de *Stryphnodendron obovatum* Benth. (Leguminosae). Dissertation. Postgraduate Program in Pharmaceutical Sciences - State University of Maringá. 2005. Disponível em: <http://www.scilo.br/pdf/bjps/v45n3/09.pdf>

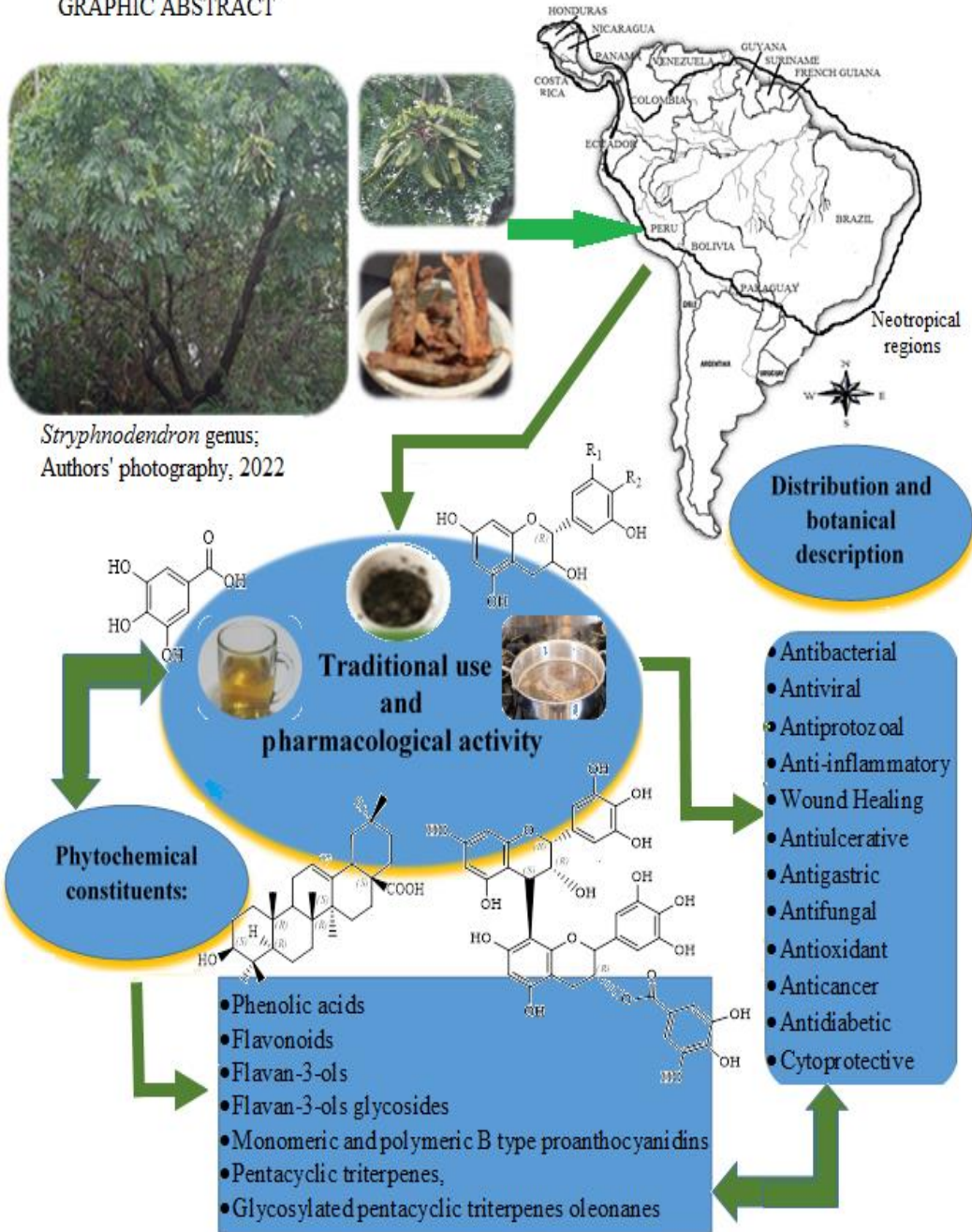
## CAPÍTULO 2:

**ARTIGO 1:** An update on the ethnobotanical, phytochemical, and pharmacological characteristics of the genus *Stryphnodendron*: Submetido na revista **JOURNAL OF ETHNO PHARMACOLOGY**, link das normas da revista [https://www.elsevier.com/wps/find/journaldescription.cws\\_home/506035?generatepdf=true](https://www.elsevier.com/wps/find/journaldescription.cws_home/506035?generatepdf=true)

### Highlights

- Flavan-3-ols and B-type proanthocyanidins are abundant in the genus *Stryphnodendron*;
- Barbatimão is used in Ethnomedicine for its consolidation as wound-healing agents;
- Flavan-3-ols / proanthocyanidins in the barbatimão supports use against snakebites;
- Flavan-3-ols and proanthocyanidins are causes of Barbatimão's medicinal effects;
- Medicinal formulations from barbatimão can helped in the discovery of new drugs;

GRAPHIC ABSTRACT



**An update on the ethnobotanical, phytochemical, and pharmacological characteristics of the genus *Stryphnodendron***

Gerson Javier Torres Salazar\*<sup>1</sup>, Sandra Mara Pimentel Duavy<sup>1</sup>, Henrique Douglas Melo Coutinho<sup>2</sup>, Marta Maria de Almeida Souza<sup>3</sup>, Jaime Ribeiro-Filho<sup>4</sup>, José Galberto Martins da Costa<sup>1,5</sup>.

<sup>1</sup>Postgraduate Program in Ethnobiology and Nature Conservation, Regional University of Cariri, Colonel Antônio Luíz Street, 1161-Pimenta, Crato 63105-010, Brazil; [timotygertor@yahoo.com](mailto:timotygertor@yahoo.com) (G.J.T.S.); [sandra.duavy@urca.br](mailto:sandra.duavy@urca.br) (S.M.P.D.); [galberto.martins@gmail.com](mailto:galberto.martins@gmail.com) (J.G.M.d.C.)

<sup>2</sup> Postgraduate Program in Biological Chemistry, Regional University of Cariri, Coronel Antônio Luíz Street, 1161-Pimenta, Crato 63105-010, Brazil; [hdmcoutinho@gmail.com](mailto:hdmcoutinho@gmail.com) (H.D.M.C)

<sup>3</sup>Department of Biology, Vegetal Ecology Laboratory, Regional University of Cariri, 63105-000 Crato, CE, Brazil; [martaalmeida10@yahoo.com.br](mailto:martaalmeida10@yahoo.com.br) (M.M.A.S.)

<sup>4</sup>Oswaldo Cruz Foundation (FIOCRUZ), Eusébio, CE, 61760-000, Brazil; [jaime.ribeiro@fiocruz.br](mailto:jaime.ribeiro@fiocruz.br) (J.R.F.)

<sup>5</sup>Postgraduate Program in Biological Chemistry, Regional University of Cariri, Coronel Antônio Luíz Street, 1161-Pimenta, Crato 63105-010, Brazil.

\*Corresponding author: Gerson Javier Torres Salazar

ORCID: 0000 - 0003 - 0908 - 0919

Department of Biological Chemistry, Natural Products Research Laboratory, Regional University of Cariri, Av. Coronel. Antônio Luiz, 1161. Pepper, 63105-000 Crato-CE, Brasil. Tel.: (+55) 88-996985037.

E-mail address: [timotygertor@yahoo.com](mailto:timotygertor@yahoo.com)



## ABSTRACT

*Ethnopharmacological relevance:* The genus *Stryphnodendron* (Leguminosae), popularly known in Brazil as "barbatimão", is a significant representant of plant communities, gathering many species that are used in folk medicine due to their pharmacological properties. This work deals with a critical assessment of the state of the art of traditional uses, phytochemistry, pharmacological activities, and toxicological aspects of this genus. *Materials and methods:* The information was collected in scientific databases considering the period between 1985 and 2021. *Results:* The literature lists 53 species for the genus, of which 30 are accepted, 15 are synonyms, 7 are unresolved and 1 misapplied name. The species in this genus are distributed in a fraction of the Neotropical region, with Brazil being the country with the largest number of species, distributed in the Cerrado, Amazon, Caatinga, and Atlantic Forest biomes. Phytochemical studies have reported the occurrence of compound classes such as phenolic acids, flavonoids, flavan-3-ols, flavan-3-ols glycosides, chromones, coumarins, as well as monomeric and polymeric B type proanthocyanidins with C<sub>4</sub>→C<sub>8</sub> and C<sub>4</sub>→C<sub>6</sub> interflavanic bonds, pentacyclic triterpenes, and glycosylated pentacyclic triterpenes oleonanes. *Conclusions:* The presence of these bioactive compounds supports the popular use of *Stryphnodendron* species in the treatment of microbial infections, wound healing, gastric disorders, inflammatory conditions, cancer, diabetes, and snakebites. Moreover, a number of formulations with consolidated antimicrobial and wound healing efficacy have been developed from species of this genus. However, toxicological and pharmacokinetic studies are still needed to confirm the safe use of *Stryphnodendron*-based formulations by humans. Considerar a classificação das doenças

**Keywords:** *Stryphnodendron*, ethnobotany, phytochemistry, bioactivity, toxicity.

**Abbreviations:** HPV: human papilloma virus; HeLa and SiHa: HPV immortalized cervical carcinoma cell lines; C33A: HPV non-immortalized cervical carcinoma cell lines; HPV 18 and HPV 16: high-risk human papillomavirus; SUS: Brazil's unified health system.

## 1. Introduction

The genus *Stryphnodendron* (Leguminosae) is popularly known in Brazil as "casca da virgindade", "casca da juventude", ou "barbatimão", which in the Indigenous Tupi-Guarani language means "the tree that tightens" (Vilar et al., 2010). According to

<http://www.theplantlist.org> of the Royal Botanic Gardens until May 28, 2022, the genus has 53 listed species (including infraspecific names), among which 15 are synonyms, 30 species are accepted, 7 species are classified as unresolved, and 1 misapplied name. On the other hand, the website *tropicos.org* list approximately 30 legitimately recognized species. The listed species are distributed in the South, Central, and Tropical Americas (Scalon, 2007; 2015), most of which are found in Brazil (Luckow, 2005), especially in the Cerrado, Amazon, and Caatinga Biomes but also in the Atlantic Forest (Occhioni, 1990).

In the work entitled "Useful and Exotic Plants Cultivated in Brazil", "barbatimão" is recorded as the common vernacular name of 8 different *stryphnodendron* species, including *Stryphnodendron angustum* Benth., *Stryphnodendron coriaceum* Benth., *Stryphnodendron floribundum* Benth., *Stryphnodendron guianense* (Aubl.) Benth., *Stryphnodendron microstachyum* Poepp., *Stryphnodendron polyphyllum* Mart., *Stryphnodendron rotundifolium* Mart., and *Stryphnodendron barbatiman* Mart. Importantly, some of these species have been used for therapeutic purposes. For example, *Stryphnodendron polyphyllum* bark powder is used to treat nasal and uterine bleeding, as well as in the treatment of leucorrhoeas, whereas *Stryphnodendron barbatiman* Mart. is used as antileucorrhoeic, antidiarrheic, wound healing, and in the treatment of uterine bleeding (Corrêa, 1978).

The dynamics of the use of *stryphnodendron* species in traditional medicine has encouraged relevant ethnobotanical and ethnopharmacological studies in Brazilian communities (Oliveira et al., 2014; Saraiva et al., 2015; Bitu et al., 2015; Macêdo et al., 2016; Fagundes et al., 2017; Beltreschi et al., 2018; Lisboa et al., 2017; Macedo et al., 2018; Macêdo et al., 2018), which in turn has guided the scientific community (from Brazil to a global level) in the characterization of the phytochemical, pharmacological and biological properties of different species of the genus.

Ethnobotanical, ethnopharmacological, and phytochemical studies have contributed significantly to the knowledge about the therapeutic potential of the genus *Stryphnodendron*. A pioneering chemical study revealed that *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville has 22.6% w/w tannins, to which is attributed the economic importance of the genus in Brazil (Primo, 1945). This tannin content also impacts the biological properties reported by many studies, mainly due to their ability to form complexes with metal ions, proteins, and polysaccharides, as well as

to act as antioxidants, and free-radical scavengers. In this context, condensed and hydrolyzable tannins stand out (Haslam, 1996).

As the medicinal effects of *Stryphnodendron* species have been related to their tannin content, phytochemical studies allowed the isolation and identification of several important metabolites and their biological activities (Mello et al., 1999a; 1999b; Lopes, 2003; Costa et al., 2012; Pinto et al., 2015; Ribeiro et al., 2015; Henriques et al., 2016; Demarque et al., 2018; Vandesmet et al., 2017). Among the reported biological properties, most studies have been interested in investigating the antimicrobial properties of these compounds (Ishida et al., 2006; Souza et al., 2007a; 2007b; Oliveira et al., 2011; Filho et al., 2013; Souza et al., 2013a; Almeida et al., 2017). However, their antioxidant (Costa et al., 2012; Zocoler, 2005), antigenotoxic (Filho et al., 2011), and wound healing (Lopes, 2003) activities are also worth mentioning.

To a lesser extent, *Stryphnodendron* species have been investigated as antiviral (Cecílio et al., 2012; Felipe et al., 2006) and antidiabetic (Pinto et al., 2015), as well as in the treatment of arthritis (Henriques et al., 2016). Moreover, there is significant data reporting the development of herbal formulations, as well as the patent applications to the National Institute of Industrial Property (NIIP) and the World Intellectual Property Organization (WIPO) (Ministry of Health and ANVISA, 2014). Toxicological studies, especially clinical trials, have generated, diverse and inconclusive results, pointing to the need for further research establishing the risks associated with the intake of natural products derived from this genus on human health. In this scenario, attention should be given to pharmacological studies presenting inclusive data.

The present review performs a critical evaluation of the state of the art of the ethnobotanical, traditional, pharmacological, toxicological, phytochemical, and biopharmaceutical aspects of the *genus Stryphnodendron*, contributing to the understanding of its therapeutic potential, as well as identifying knowledge gaps in order to guide future research on this gender.

## **2. Materials and methods**

The present review considered research published between 1985 and 2021 and available on scientific databases (Pubmed, ScienceDirect, SciFinder, Lilacs, Scielo, Google Scholar, and Web of Science), including theses, dissertations, and articles published in peer-reviewed journals, as well as data retrieved from the website “<http://www.theplantlist.org>” until May 28, 2022. The search was carried out using the

following terms: "traditional uses", "pharmacology", "phytochemistry", "bioactivity" and "toxicity", "*Stryphnodendron*" and/or "barbatimão". Following data collection, only representative studies of higher education institutions, scientific funding agencies, and accredited journals were considered.

The inclusion of ethnobotanical and ethnopharmacological studies was based on the following criteria: scientific records of traditional knowledge about species of the genus *Stryphnodendron* mentioning specific names of the species, place of study, part of the plant and preparation methods, mode of administration, data collection methodology and specific objectives of the research.

Articles reporting biological and pharmacological activities were included according to the following criteria: studies with appropriate controls (positive and negative), taxonomic validity of the botanical material, specification of the experimental model and its translational relevance, dose, treatment duration, type of extract, the relationship between the research, traditional uses, and other primary pharmacological data.

The studies were selected title and abstract analysis considering the type of study, i.e., whether *in vitro*, *in vivo*, *ex vivo*, experimental, preclinical, clinical, ethnopharmacological, or ethnobotanical. With regard to the language, only articles published in English, Spanish, or Portuguese were included. If the data of interest in the abstract was missing or sufficient, a full-text analysis was carried out. After selection, all articles were obtained for individual reporting and methodological quality evaluation. Articles that did not meet the selection criteria were excluded during the collection of information. Studies of primary sources were prioritized, although studies of secondary sources were not excluded.

### **3. Results and discussion**

#### **3.1 Geographic distribution**

The species in the genus *Stryphnodendron* present a great variety of botanical characteristics, ranging from subshrub and shrubby species with a very branched stem or small (2 to 3 m), medium (6 to 15 m) and large (16 to 45 m) trees with little intraspecific variation (Rizzini and Heringer, 1987). These species are widely distributed in Neotropical regions, predominantly in South America, except *Stryphnodendron excelsum* Harms, which is only found in Central America (Nicaragua, Costa Rica, and Panama). The genus has Nicaragua and Paraná (Brazil), as the northern and southern limits, respectively, being absent in the Andes (Scalon, 2007).

It has been documented that 18 (89%) *Stryphnodendron* taxons are of known occurrence in the Brazilian territory, while the occurrence of *Stryphnodendron excelsum* (occurs exclusively in Central America), *Stryphnodendron levelii* Cowan (Venezuela), *Stryphnodendron moricolor* Barneby & J.W.Grimes (French Guiana), and *Stryphnodendron porcatum* D.A.Neill & Occhioni f. (Ecuador) has not been reported. In general, the geographical distribution patterns of *Stryphnodendron* species can be grouped into Amazonian and extra-Amazonian taxons covering approximately 58% and 42% of the Brazilian territory, respectively, the latter concentrated mainly in areas of cerrado (Scalon, 2007; Occhioni, 1990).

These species are distributed in four major regions as follows: Amazon taxa, Brazilian central taxa, semideciduous forest taxa, and coast forest taxa (Scalon, 2007). However, the occurrence of the genus has been reported in other countries of South and Central Americas such as Bolivia, Colombia, Peru, Suriname, French Guiana, Venezuela, Costa Rica, Nicaragua, and Panama. The total area covered comprises a fraction of the territory of the neotropical region of 20.55 million km<sup>2</sup>, 18 million km<sup>2</sup> of which corresponds to South America, of which about 60% remains poorly explored (WRI, 1994; Ojasti and Dallmeier, 2000). It is worth mentioning that some species, including *Stryphnodendron flammatum* Kleinhoonte, *Stryphnodendron obovatum* Benth., *Stryphnodendron piptadenioides* Martins, and *Stryphnodendron consimile* Martins have been reported unproperly according to the classification system due to lack of access to concise classification information (Scalon, 2007; 2015).

In the traditional medicine of quilombola and indigenous communities of the Neotropical region, several vernacular names of indigenous phonemes of the *genus Stryphnodendron* have been reported due to their therapeutic properties, including *Stryphnodendron microstachyum*, known as “Barasana-ke-re-nee-nee”, “ho-wa-ra”, “Puinave kem”, and “Yukuna Pe-tee-ree” in Colombia; *Stryphnodendron occhionianum* Martins., called “Taxirana” or “Tachi-rama” in northern Brazil; *Stryphnodendron polystachyum* (Miq.) Kleinhoonte known as “Patakou Wana” in Guyana francesa, “Hiakantaballi” in Suriname and “Mure-en Ye'kuana” in Venezuela (Scalon, 2007; 2015; Santana et al., 2016), revealing that such communities were already aware of medicinal uses of species of the *genus Stryphnodendron*. However, the geographic data on the occurrence of the genus in the Neotropical region are still scarce.

### 3.2 Traditional uses and relevance in folk medicine

The folk medicine has been a significant source of medicinal knowledge, which man has used to chose plants, animals, and other elements with therapeutic purposes. Table 1 summarizes relevant findings with regard to the traditional use of *Stryphnodendron* species in Brazil, including the most commonly used species, as well as their parts, forms of preparation, indications and contraindications.

**Table 1.** Traditional Uses of *Stryphnodendron* Species of Medicinal Relevance

Species	Part / Preparation	Medicinal use	Administration / contraindications	Ref.
<i>So</i>	Various parts of plants macerated in alcohol for several days	Treatment of infections	Teas, topical use and baths, generally contraindicated for pregnant women	Luckow, 2005
<i>Sa</i>	Stem peels by Maceration	Healing of ulcerative wounds	Bathing, unreported contraindications	Macedo and Ferreira, 2004
<i>Sa</i>	Peels alcoholic tincture (213.87 g. in 700 ml of handmade alcohol).	Treatment of pulmonary complications and respiratory infections	Oral intake, unreported contraindications	Oliveira, 2006
<i>Sa</i>	Peels: ointments, tinctures, or tea, mixed with coconut oil or vaseline	Stomach pain and infections of the female reproductive tract and skin.	Topical application, seat bath, unreported contraindications.	Kffuri, 2008
<i>Sa</i>	Root, leaf, latex, inner bark of the stem. Preparation method not reported.	Wound healing.	<i>In natura</i> , unreported contraindications.	Massarotto, 2009
<i>Sa</i>	No information	Infections, tumors, wounds healing, secretions, vaginal itching, astringent	Infusions, for external use only, unreported contraindications.	Pereira et al., 2009
<i>Sa</i>	Peels. Preparation method not reported	Inflammation	Tea, unreported contraindications	Sousa et al., 2010
<i>Sa</i>	Stem shell. Preparation method not reported	Gastric ulcer	Oral intake, unreported contraindications.	Pasa, 2011
<i>So</i>	Stem shell. Preparation method not reported	Wound healing	External application, unreported contraindications.	Cunha and Bartolotto, 2011
<i>Sa</i>	No information	Antibacterial, wound healing agent	Tea taken by decoction, contraindicated when associated with some drugs and specific diseases.	Lima et al., 2012
<i>Sr</i>	Barks, roots, leaves prepared by maceration.	Inflammation, vaginal discharge, urinary tract infection, lesions	No information	Oliveira et al., 2012
<i>Sa</i>	Stem bark. Decoction, extract powder	Gastritis	Tea, bath, unreported contraindications	Alves and Povh, 2013
<i>Sa. and Sc</i>	Stem peels. Maceration	Urinary infection	Oral intake, unreported contraindications	Souza et al., 2013a
<i>Sa</i>	Stem prepared by infusion, maceration, or decoction.	Inflammation, skin diseases, cysts, itching.	Infused teas, syrup, and bath. Can be toxic if misused.	Leite and Marinho, 2014

<i>Sr</i>	Stem bark and root. Immersion in water, decoction	Wounds, inflammation, gastritis, vaginal inflammation, pain, gastric ulcer, and infection	Oral intake, topical application, and bath. Ulcer 10-30 days; infection, inflammation, and healing 3-10 days; vaginal infection 7 days; general pain 2-3 days; treatment of rheumatic pain and lung diseases. Oral use is contraindicated for pregnant women and children	Oliveira et al., 2014
<i>Sb</i>	No information.	Inflammation	No information	Flor and Barbosa, 2015
<i>Sa</i>	Infusion of the leaves.	Inflammation, infection	Tea, unreported contraindications	Pasa et al., 2015
<i>Sr</i>	Inner bark of the stem.	Inflammation, vaginal infection, healing, pain, tuberculosis.	Bathing and oral ingestion, unreported contraindications	Saraiva et al., 2015
<i>Sr</i>	Peels. Tinctures, infusions, and macerations.	Diabetes, ulcer, wounds venereal diseases, anthelmintic hemorrhage, hypertension, anemia, cancer, liver disease.	The works report words such as "a spoon", "of sauce" and "a handful" are used when referring to the use but do not express the amounts in kilograms or grams to use. Malaise is reported if the plant is prepared with large amounts of bark	Bitu et al., 2015
<i>Sa</i>	Stem bark and root. Preparation method not reported	Healing of internal and external wounds	Topical use, unreported contraindications	Nascimento et al., 2016
<i>Sb</i>	Barks and inner shells. Infusion	Wound healing	Tea, tincture, bottled (combination of parts of plants crushed in liquid medium) and powder. Contraindications are not reported	Souza and Rodrigues, 2016
<i>Sr</i>	Inner bark of the stem. Macerated in water	Cancer, ulcer, wound, uterine inflammation, blood infections, gastritis, sore throat	Oral intake, unreported contraindications	Macêdo et al., 2016
<i>Sa</i>	Leaf, root, inner bark of the stem. Infusion, decoction, and maceration. Crushed material (plaster)	Healing and healing of wounds, gastritis, clearance, intestinal ulcer, gynecological infection, inflammation.	Tea, topical application, unreported contraindications.	Fagundes et al., 2017
<i>Sa</i>	Inner bark of the stem. Infusion and decoction	Healing and healing of wounds, gastritis, inflammation and toothache	Tea, topical use and mouthwash, undefined contraindications	Lisboa et al., 2017
<i>Sp</i>	Inner bark of the stem. Infusion, decoction	Inflammation, cuts and wounds, bruises.	Tea, "stuffy tea" referring to what is called infusion in the literature, contraindications not reported.	Beltreschi et al., 2018
<i>Sa</i>	Bark and inner shell of the stem. Immersion, decoction, syrup.	Inflammation, Protection of women, Treatment of injuries	Oral intake of mixtures, plant syrups with other components prepared in alcohol and baths, contraindications not reported	Silva et al., 2018
<i>Sr</i>	Stem bark decoction	Inflammation, pain, cancer, wound healing, ulcer, diabetes, gynecological problems, respiratory fatigue, venereal diseases, bleeding	Teas, unreported contraindications	Macedo et al., 2018
<i>Sr</i>	Stem bark. Preparation method not reported	General inflammation, respiratory and gastrointestinal disorders, gynecological inflammation, neoplasia, wound healing and healing, ulcer and blood and vaginal infection	No information	Macêdo et al., 2018

Sa	Bark, decoction	Colic, uterine infection	Tea, unreported contraindications.	Durão et al., 2021
----	-----------------	--------------------------	------------------------------------	--------------------

Sr: *Stryphnodendron rotundifolium*; Sa: *Stryphnodendron adstringens*; Sp.: *Stryphnodendron pulcherrimum* (Willd.) Hochr.; So.: *Stryphnodendron obovatum*; Sb.: *Stryphnodendron barbatiman.*; Sc: *Stryphnodendron coriaceum*.

Studies demonstrating the effectiveness of bark preparations of *Stryphnodendron* species have significantly contributed to the treatment of chronic ophthalmia, scurvy diseases, leucorrhoea, gynecological problems, diarrhea, and inflammatory processes, in addition to being used as antibacterial, antihemorrhagic, antiulcerogenic, antihypertensive, astringent, antiseptic, diuretics, and wound healing. Accordingly, the main methods of preparation include maceration in water or alcohol, decoction, infusion, and alcoholic tinctures, while the most used part is the inner bark of the stem, and to a lesser extent, the roots and leaves (Bitu et al., 2015; Macêdo et al., 2018; Souza et al., 2007a; Souza et al., 2013a; Nascimento et al., 2016; Durão et al., 2021; Macedo and Ferreira, 2004; Cunha and Bartolotto, 2011; Oliveira et al., 2012; Souza and Rodrigues, 2016; Vasconcelos et al., 2004; Silva, 2007; Passaretti et al., 2016).

*Stryphnodendron* species have been mostly used in the treatment of wounds, infections, and inflammations, although their use in the treatment of pain, injury, genitourinary diseases, and gastric ulcers have also been frequently reported. To a lesser extent, some studies highlight the use of these species in the treatment of cancer, respiratory problems, bleeding, and diabetes. The most frequently reported species in the present work was *Stryphnodendron adstringens*, followed by *Stryphnodendron rotundifolium*, while the less reported were *Stryphnodendron obovatum* and *Stryphnodendron barbatiman*. In an ethnopharmacological context, barbatimão is mainly used due to the anti-inflammatory and antimicrobial properties of its bark, being used mostly in the form of teas, as well by topical administration and through seat baths (Oliveira et al., 2014; Bitu et al., 2015; Lisboa et al., 2017; Macedo et al., 2018; Nascimento et al., 2016; Durão et al., 2021).

Ethnobotanical studies reporting contraindications of *Stryphnodendron* species are rare, referring mainly to pregnant women and children (Oliveira et al., 2014; Rodrigues and Carlini, 2003), especially when used in association with psychotropic drugs (Lima et al., 2012), as well as when prepared with large amounts of bark (Bitu et al., 2015; Leite and Marinho, 2014).

The barks of *Stryphnodendron adstringens*, *Stryphnodendron coriaceum*, and *Stryphnodendron polyphyllum*, due to the rich tannin content, have long been used in Brazil to treat clinical conditions such as diarrhea, inflammatory conditions,



hemorrhages, and as antiseptic and healing agents (Mello et al., 1999a; Lopes, 2003; Machado, 2005). The bark of *Stryphnodendron coriaceum* have also been used to treat gonorrhoea, leucorrhoea, injuries, and physical weakness (Albuquerque et al., 2007).

Reports have demonstrated that *Stryphnodendron obovatum* is used to treat skin ulcers, promote wound healing and. Importantly, due to its antiseptic effect, the species is used to inhibit the growth of the protozoan *Leishmania amazonensis*. Regarding the chemical profile, as reported for *Stryphnodendron adstringens*, this species is characterized by the presence of catechin biomarkers including gallic acid, epigallocatechin, epigallocatechin gallate, and gallic acid (Lopes, 2003; Ribeiro et al., 2015; Nascimento et al., 2013; Lopes et al., 2005; Lopes et al., 2009). Other reports also show that the stem bark of *Stryphnodendron adstringens* is traditionally used as an anti-inflammatory and antiseptic agent, contributing to its use in the treatment of diarrhea, leucorrhoea, and in the combat of infections caused by *Trypanosoma* and *Leishmania* species (Nascimento et al., 2013; Luize et al., 2005).

Communities in the Cerrado of Northeastern Brazil have used the bark of *Stryphnodendron rotundifolium* prepared by maceration or decoction and taken by oral ingestion, bathing, or topical administration in the treatment of inflammation, and genital diseases, wounds, cancer, and scars (Ribeiro et al., 2014). The medicinal use of the bark of the stem and the inner bark of the stem is also reported by Souza et al., (2014), for general and uterine inflammation, cancer, respiratory fatigue, bleeding, healing, skin lesions, vaginal and a blood infection, abdominal pain, ulcer, gastritis, sore throat, and infections.

Despite the relevant information reported in Table 1, ethnobotanical and ethnopharmacological research is required to reveal crucial aspects of the use of *Stryphnodendron* species, especially regarding the mass of plant material used in preparations, administered doses, treatment time, and contraindications.

### **3.3 Chemical constituents**

Chromatographic methods are the most used for the isolation and purification of polyphenolic compounds, especially hydrolyzable and condensed tannins (proanthocyanidins, prodelfinidins, prorobinetinidins and profisetidinidins) in extracts and fractions of "barbatimão" (Henriques et al., 2016).

Table 2 compiles studies demonstrating the identification and isolation of secondary metabolites from *Stryphnodendron* species belonging to classes of compounds

such as phenolic acids, flavonoids, flavan-3-ols, flavan 3-ols glycoside, type B proanthocyanidins (PAs) with C<sub>4</sub>→C<sub>8</sub> and C<sub>4</sub>→C<sub>6</sub> bonds, polymeric PAs, pentacyclic triterpenes, and oleananes glycosylated pentacyclic triterpenes, most often related to pharmacological properties and therapeutic uses reported by folk medicine practitioners in traditional communities (Table 1).

**Table 2.** Secondary metabolites in *Stryphnodendron species*

Nº	Species	Compound Name	References
1	<i>Sa</i>	Sucrose	Junior et al., 2020
2	<i>Sa, Sr, Sp, So, Spu</i>	Gallic acid	Mello et al., 1999a; Costa et al., 2012; Pinto et al., 2015; Ribeiro et al., 2015; Henriques et al., 2016; Demarque et al., 2018; Vandesmet et al., 2017; Ishida et al., 2006; Zocoler, 2005; Nascimento et al., 2013; Lopes et al., 2009; Junior et al., 2020; Luiz et al., 2015; Sabino et al., 2017; Freitas et al., 2018; Baldivia et al., 2018; Pellenz et al., 2018; Carvalho et al., 2020; Gomes et al., 2021; Salazar et al., 2021; Junior et al., 2020
3	<i>Sa</i>	Protocatechuic acid	Junior et al., 2020
4	<i>Sr, Sa</i>	Routine	Costa et al., 2012; Vandesmet et al., 2017
5	<i>Sr, Sa</i>	Caffeic Acid	Costa et al., 2012; Vandesmet et al., 2017; Pellenz et al., 2018
6	<i>Sa, Sr, So, Spu</i>	Catechin	Costa et al., 2012; Ribeiro et al., 2015; Demarque et al., 2018; Vandesmet et al., 2017; Ishida et al., 2006; Felipe et al., 2006; Nascimento et al., 2013; Pellenz et al., 2018; Gomes et al., 2021
7	<i>Sr, Sa</i>	Kaempferol	Vandesmet et al., 2017; Junior et al., 2020
8	<i>Sa, Sr, Sp, So</i>	Gallocatechin	Mello et al., 1999a; Lopes, 2003; Pinto et al., 2015; Ribeiro et al., 2015; Henriques et al., 2016; Demarque et al., 2018, Zocoler, 2005; Felipe et al., 2006; Machado, 2005; Nascimento et al., 2013; Lopes et al., 2009; Carvalho et al., 2020; Santos et al., 1987; Sanches et al., 2002; Toledo, 2002; Lopes et al., 2003; Leite, M. 2014; Sanches et al., 2005
9	<i>Sa, Sr, Sp, So</i>	Epigallocatechin	Mello et al., 1999a; Lopes, 2003; Pinto et al., 2015; Ribeiro et al., 2015; Henriques et al., 2016; Demarque et al., 2018; Felipe et al., 2006; Machado, 2005; Nascimento et al., 2013; Lopes et al., 2009; Junior et al., 2020; Baldivia et al., 2018; Carvalho et al., 2020; Salazar et al., 2021; Santos et al., 1987; Sanches et al., 2002; Toledo, 2002; Lopes et al., 2003; Leite, M. 2014; Sanches et al., 2005
10	<i>Sa, Sr, So</i>	3-O-gallate Epigallocatechin	Mello et al., 1999a; Pinto et al., 2015; Ribeiro et al., 2015; Henriques et al., 2016; Machado, 2005; Souza et al., 2014; Junior et al., 2020; Pellenz et al., 2018; Carvalho et al., 2020; Leite, M. 2014
11	<i>Sa, Sp</i>	4'-O-methyl-gallocatechin	Mello et al., 1999a; Henriques et al., 2016; Zocoler, 2005; Machado, 2005; Lopes et al., 2009; Junior et al., 2020; Toledo, 2002
12	<i>Sa</i>	Epigallocatechin 3-O-(3,5-dimethyl)-gallate	Mello et al., 1999a; Lopes et al., 2009; Junior et al., 2020
13	<i>Sa</i>	Epigallocatechin 3-O-(3-methoxy-4-hydroxy)-benzoate	Mello et al., 1999a; Lopes et al., 2009
14	<i>Sa, Sp, So</i>	Epigallocatechin-(4 $\beta$ →8)-gallocatechin	Mello et al., 1999a; Lopes, 2003; Lopes et al., 2009; Lopes et al., 2003; Sanches et al., 2005

15	<i>Sa</i>	Epigallocatechin-(4 $\beta$ →8)-epigallocatechin	Mello et al., 1999a; Henriques et al., 2016; Zocoler, 2005; Baldivia et al., 2018; Salazar et al., 2021
16	<i>Sa, Sr.</i>	Epigallocatechin-(4 $\beta$ →8)-epigallocatechin 3-O-gallate	Mello et al., 1999a; Pinto et al., 2015; Henriques et al., 2016; Junior et al., 2020; Salazar et al., 2021; Leite, M. 2014
17	<i>Sa</i>	Epigallocatechin-(4 $\beta$ →8)-epigallocatechin 3-O-p-hydroxybenzoate	Mello et al., 1999a; Lopes et al., 2009, Junior et al., 2020; Leite, M. 2014
18	<i>Sa</i>	Myricitrin	Junior et al., 2020;
19	<i>Sa</i>	Epigallocatechin-O-vanillate	Junior et al., 2020
20	<i>Sa</i>	Epigallocatechin -3-O-gallate-(4 $\beta$ →8)-epigallocatechin	Mello et al., 1999a; Henriques et al., 2016;
21	<i>Sa, Sr.</i>	Epigallocatechin - (4 $\beta$ →6)-epigallocatechin	Mello et al., 1999a; Pinto et al., 2015; Baldivia et al., 2018; Salazar et al., 2021
22	<i>Sa</i>	Gallocatechin-(4 $\alpha$ →8)-epigallocatechin 3-O-gallate	Mello et al., 1999a;
23	<i>Sa</i>	Gallocatechin-(4 $\alpha$ →8)-epigallocatechin 3-O-p-hydroxybenzoate	Mello et al., 1999a; Lopes et al., 2009
24	<i>Sa</i>	Quercetin	Pellenz et al., 2018; Pereira et al., 2002
25	<i>Sa</i>	Quercetin-hexoside	Junior et al., 2020
26	<i>Sa</i>	4'-O-methyl-gallocatechin- (4 $\alpha$ →8) -gallocatechin	Lopes et al., 2009; Leite, M. 2014; Mello et al., 1999
27	<i>Sa</i>	Myricetin	Junior et al., 2020
28	<i>Sa</i>	Methoxyapigenin	Junior et al., 2020
29	<i>Sa</i>	Phloretin-glucoside	Junior et al., 2020
30	<i>Sa</i>	Naringenin	Junior et al., 2020
31	<i>Sa</i>	Dimethoxy-trihydroxyflavone	Junior et al., 2020
32	<i>Sa</i>	Dihydroxycoumarin	Junior et al., 2020
33	<i>Sa</i>	Robinetinidol - (4 $\beta$ → 8) - epigallocatechin	Mello et al., 1999b
34	<i>Sa</i>	Robinetinidol - (4 $\alpha$ → 8) - gallocatechin	Mello et al., 1999b; Zocoler, 2005
35	<i>Sa</i>	Robinetinidol - (4 $\alpha$ → 8) - epigallocatechin	Mello et al., 1999b; Pinto et al., 2015
36	<i>Sa</i>	Robinetinidol - (4 $\beta$ → 8) - gallocatechin	Mello et al., 1999b
37	<i>Sa</i>	Robinetinidol - (4 $\beta$ → 8) - epigallocatechin-3-O-gallate	Mello et al., 1999b
38	<i>Sa</i>	Robinetinidol - (4 $\alpha$ → 6) - gallocatechin	Mello et al., 1999b
39	<i>Sa</i>	Robinetinidol - (4 $\alpha$ → 6) - epigallocatechin	Mello et al., 1999b
40	<i>Sa</i>	Robinetinidol - (4 $\alpha$ → 8) - epigallocatechin-3-O-gallate	Mello et al., 1999b
41	<i>Sa</i>	4'-O-methyl - robinethinidol - (4 $\alpha$ →8) -4'-O-methyl-epigallocatechin	Lopes et al., 2009; Toledo, 2002
42	<i>Sa</i>	4'-O-methyl - robinethinidol - (4 $\alpha$ →8) -4'-O-methyl-gallocatechin	Lopes et al., 2009; Toledo, 2002
43	<i>Sp</i>	4'-O- methyl-robinethinidol- (4 $\beta$ →6)-4'-O-methyl gallocatechin	Lopes, 2003; Lopes et al., 2009; Lopes et al., 2003
44	<i>Sp</i>	Fisetinidol- (4 $\alpha$ →8)-gallocatechin	Lopes, 2003; Machado, 2005; Lopes et al., 2009; Lopes et al., 2003
45	<i>Sp</i>	Fisetinidol- (4 $\beta$ →8)-gallocatechin	Lopes, 2003; Lopes et al., 2009; Lopes et al., 2003
46	<i>Sa</i>	4'-O-methyl-epigallocatechin	Pinto et al., 2015; Leite, M. 2014
47	<i>Sa</i>	Epigallocatechin-3-O-gallate-(4 $\beta$ →8)-gallocatechin	Leite, M. 2014
48	<i>Sa</i>	Gallocatechin-(4 $\alpha$ →8)-epigallocatechin	Leite, M. 2014

49	<i>Sa</i>	Epicatechin	Felipe et al., 2006
50	<i>Sa</i>	(-) - Epicatechin - 3- O - gallate	Sabino et al., 2017
51	<i>Sa</i>	Epicatechin (4 $\beta$ →8) - catechin	Sabino et al., 2017
52	<i>Sa</i>	Epigallocatechin 3-O-methyl - gallate	Pinto et al., 2015
53	<i>Sa</i>	4'-O-methyl-epigallocatechin- 3-O-gallate	Henriques et al., 2016
54	<i>Sa</i>	4'-O-methyl-epigallocatechin 3-O-gallate - epigallocatechin 3-O-gallate	Henriques et al., 2016; Salazar et al., 2021
55	<i>Sa</i>	Gallocatechin- (4 $\beta$ →8)-epigallocatechin-3-O-gallate	Mello et al., 1999a
56	<i>Sa</i>	4'-O-methyl-epigallocatechin-epigallocatechin	Henriques et al., 2016; Salazar et al., 2021
57	<i>Sa</i>	4'-O-methyl-epigallocatechin-4'-O-methyl-epigallocatechin	Pinto et al., 2015
58	<i>Sa</i>	Robinetinidol	Pinto et al., 2015
59	<i>Sa</i>	Robinetinidol-4'-O-methyl-epigallocatechin	Mello et al., 1999b; Pinto et al., 2015; Salazar et al., 2021
60	<i>So, Spu</i>	p-hydroxybenzoic acid	Zocoler, 2005; Gomes et al., 2021
61	<i>Spu</i>	3,4-Hihydroxyphenyl glycol	Gomes et al., 2021
62	<i>Spu</i>	Gentisic acid	Gomes et al., 2021
63	<i>Spu</i>	Benzoic acid	Gomes et al., 2021
64	<i>Spu</i>	Syringic acid	Gomes et al., 2021
65	<i>Sa</i>	Polymeric ion 2114 Da of molecular weight with 6 monomers of flavan-3-ols and one galloyl group consisting of prodelphinidins and prorobinetinidin with configuration 2,3-cis and 2,3-trans	Ishida et al., 2006; Luiz et al., 2015; Freitas et al., 2018
66	<i>Sa, Sr</i>	Epigallocatechin (4→8)-epigallocatechin (4→8)-epigallocatechin	Baldivia et al., 2018; Salazar et al., 2021
67	<i>Spu</i>	Epicatechin - epicatechin - epigallocatechin	Gomes et al., 2021
68	<i>Sr</i>	Epigallocatechin (4→8)-epigallocatechin (4→8)-epigallocatechin-3-O-gallate	Salazar et al., 2021
69	<i>Sa, Sr</i>	C-hexosyl-O-pentosyl-5,7- dihydroxychromone isomer	Baldivia et al., 2018; Carvalho et al., 2020; Salazar et al., 2021
70	<i>Sa</i>	Oleanolic acid	Pereira et al., 2002
71	<i>Sa</i>	$\beta$ -Sitosterol	Pereira et al., 2002
72	<i>Sa, Sf</i>	$\beta$ -Amyrin	Pereira et al., 2002; Rocha et al., 2013
73	<i>Sf</i>	3 $\beta$ -[(O- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl-(1→4)-O- $\beta$ -D-xylopyranosyl-(1→2)- $\beta$ -D-glucopyranosyl) oxy]-2 $\alpha$ -hydroxyolean-12-en-28-oic acid $\alpha$ -rhamnopyranosyl ester	Yokosuka et al., 2008; Xun et al., 2011
74	<i>Sf</i>	3 $\beta$ -[(O- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl-(1→4)-O- $\beta$ -D-xylopyranosyl-(1→2)-O-[ $\beta$ -D-xylopyranosyl-(1→4)- $\beta$ -D-glucopyranosyl]oxy]-2 $\alpha$ -hydroxyolean-12-en-28-oic acid $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl	Yokosuka et al., 2008
75	<i>Sf</i>	3 $\beta$ -[(O- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl-(1→4)-O-[ $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1→2)-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1→3)]-O- $\beta$ -D-xylopyranosyl-(1→2)-O-[ $\beta$ -D-xylopyranosyl-(1→4)]- $\beta$ -D-glucopyranosyl]oxy]-2 $\alpha$ -hydroxyolean-12-en-28-oic acid $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl ester	Yokosuka et al., 2008
76	<i>Sf</i>	3 $\beta$ -[(O- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl-(1→4)-O- [ $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1→2)-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1→3)-O- $\beta$ -D-xylopyranosyl-(1→2)-O-[ $\beta$ -D-xylopyranosyl-(1→4)]- $\beta$ -D-glucopyranosyl) oxy] olean-12-en-28-oic acid $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl ester	Yokosuka et al., 2008
77	<i>Sf</i>	3 $\beta$ -[(O- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl-(1→4)-O-[ $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1→2)-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1→3)]-O- $\beta$ -D-xylopyranosyl-(1→2)-O-[ $\beta$ -D-xylopyranosyl-(1→4)]- $\beta$ -D-glucopyranosyl]oxy]-2 $\alpha$ ,21 $\beta$ -dihydroxyolean-12-en-28-oic acid	Yokosuka et al., 2008

78	<i>Sf</i>	3β-[(O-α-L-arabinopyranosyl-(1→4)-O-[α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-O-β-D-glucopyranosyl-(1→3)]-O-β-D-xylopyranosyl-(1→2)-O-[β-D-xylopyranosyl-(1→4)]-β-D-glucopyranosyl)oxy]-21 β-hydroxyolean-12-en-28-oic acid	Yokosuka et al., 2008
79	<i>Sf</i>	2 α.21 β-dihydroxy-3β-[(O-β-D-xylopyranosyl-(1→4)-β-D-glucopyranosyl)oxy]olean-12-en-28-oic acid	Yokosuka et al., 2016
80	<i>Sf</i>	2 α-hydroxy-21β-[(α-L-rhamnopyranosyl)oxy]-3β-[(O-β-D-xylopyranosyl-(1→4)-β-D-glucopyranosyl)oxy]olean-12-en-28-oic acid	Yokosuka et al., 2016
81	<i>Sf</i>	2 α.21 β-dihydroxy-3β-[(O-α-L-arabinopyranosyl-(1→4)-O-β-D-xylopyranosyl-(1→2)-O-[β-D-xylopyranosyl-(1→4)-β-D-glucopyranosyl)oxy]olean-12-en-28-oic acid	Yokosuka et al., 2016
82	<i>Sf</i>	2 α.21 β-dihydroxy-3β-[(O-α-L-arabinopyranosyl-(1→4)-O-[β-D-glucopyranosyl-(1→3)-O-β-D-xylopyranosyl-(1→2)-O-[β-D-xylopyranosyl-(1→4)-β-D-glucopyranosyl)oxy]olean-12-en-28-oic acid	Yokosuka et al., 2016
83	<i>Sf</i>	3β-[(O-α-L-arabinopyranosyl-(1→4)-O-[α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-O-β-D-glucopyranosyl-(1→3)]-O-β-D-xylopyranosyl-(1→2)-O-[β-D-xylopyranosyl-(1→4)-β-D-glucopyranosyl)oxy]-2 α-hydroxy-21β-[(α-L-rhamnopyranosyl)oxy]olean-12-en-28-oic acid	Yokosuka et al., 2016
84	<i>Sf</i>	2 α.21 β-dihydroxy-3β-[(O-β-D-xylopyranosyl-(1→4))-β-D-glucopyranosyl]oxy]olean-12-en-28-oic acid γ-lactone	Yokosuka et al., 2016
85	<i>Sf</i>	3β-[(O-β-D-glucopyranosyl-(1→3)-O-[α-L-arabinopyranosyl-(1→4)-O-β-D-xylopyranosyl-(1→2)-O-[β-D-xylopyranosyl-(1→4)-β-D-glucopyranosyl)oxy]-2 α.21 β-dihydroxyolean-12-en-28-oic acid γ-lactone	Yokosuka et al., 2016
86	<i>Sf</i>	2 α.21 β-dihydroxy-3β-[(O-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-O-β-D-glucopyranosyl-(1→3)-O-[α-L-arabinopyranosyl-(1→4)]-O-β-D-xylopyranosyl-(1→2)-O-[β-D-xylopyranosyl-(1→4)-β-D-glucopyranosyl)oxy]olean-12-en-28-oic acid γ-lactone	Yokosuka et al., 2016
87	<i>Sf</i>	11 α.12 α-epoxy-2 α.13,21 β-trihydroxy-3 β-[(O-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-O-β-D-glucopyranosyl-(1→3)-O-[α-L-arabinopyranosyl-(1→4)-O-β-D-xylopyranosyl-(1→2)-O-[β-D-xylopyranosyl-(1→4)]-β-D-glucopyranosyl)oxy]oleanan-28-oic acid	Yokosuka et al., 2016
88	<i>Sf</i>	2 α.21 β-dihydroxy-3β-[(O-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-O-β-D-glucopyranosyl-(1→3)-O-[α-L-arabinopyranosyl-(1→4)(1→4)(1→4)](1→4)]-O-β-D-xylopyranosyl-(1→2)-O-[β-D-xylopyranosyl-(1→4)]-β-D-glucopyranosyl)oxy]-11-oxoolean-12-en-28-oic acid	Yokosuka et al., 2016

*Sr*: *Stryphnodendron rotundifolium*; *Sa*: *Stryphnodendron adstringens*; *Sp*: *Stryphnodendron polyphyllum*; *Sf*: *Stryphnodendron fissuratum* Martins; *So*: *Stryphnodendron obovatum*; *Spu*: *Stryphnodendron pulcherrimum*; More information about each metabolite identified can be found in the original referenced articles.

Among the constituents reported for the genus, the most common are gallic acid (2), epigallocatechin (9), galocatechin (8), epigallocatechin 3-O-gallate (10), catechin (6), 4'-O-methyl-galocatechin (11), epigallocatechin(4 $\beta$ →8)-epigallocatechin-3-O-gallate (16), epigallocatechin–(4 $\beta$ →8)-epigallocatechin (15), epigallocatechin–(4 $\beta$ →8)-galocatechin (14). The Identified PAs have bioactive due to their interactions with carbohydrates, proteins, enzymes, and metal ions playing key physiological roles in the living organisms (Junior et al., 2020; Sabino et al., 2017; Gomes et al., 2021; Salazar et al., 2021; Baurin et al., 2002; Souza, 2011; Souza et al., 2012a; Souza et al., 2012b; Coutinho et al., 2017). Accordingly, several biological activities have been reported for the listed phytoconstituents, including antioxidant (Costa et al., 2012; Zocoler, 2005), antiulcerogenic (Demarque et al., 2018), anti-inflammatory (Henriques et al., 2016); antibacterial (Lopes, 2003; Ribeiro et al., 2015); antifungal (Luiz et al., 2015; Freitas et al., 2018; Sanches et al., 2005); antiviral (Felipe et al., 2006); wound healing (Pinto et al., 2015), and anti-protozoal (Ribeiro et al., 2015; Vandesmet et al., 2017). Findings strongly support the evidence demonstrating the therapeutic properties of the genus.

In this context, *Stryphnodendron adstringens*, proved to be a common target of several studies addressing the ethnopharmacological use and biological properties of its genus. Consequently, this species has been included in the National List of Medicinal Plants of Interest of the SUS (RENISUS) (Brazil, 1999), corroborating the evidence that its phytochemicals could serve as prototypes of new drugs (Leite, M. 2014).

Pentacyclic triterpenes such as oleanoic acid (*Stryphnodendron adstringens*) and pentacyclic triterpene oleonane glycosides such as  $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl 3 $\beta$ -O-[ $\alpha$ -L-arabinopyranosyl-(1→4)- $\beta$ -D-xylopyranosyl-(1→2)- $\beta$ -D-glucopyranosyl]-2 $\alpha$ -hydroxyolean-12-en-28-oate (*Stryphnodendron fissuratum*), which have lower identification frequency in the genus *Stryphnodendron* were reported in studies by (Pereira et al., 2002; Xun et al., 2011), and more recently by (Yokosuka et al., 2008; Yokosuka et al., 2016). It was demonstrated that *Stryphnodendron fissuratum* triterpenes exhibited weak cytotoxicity against the promyelocytic leukemia cell line LH-60. Although weak cytotoxicity against LH-60 is reported, the findings indicate that modifications in the molecular structures of these compounds may significantly improve their anticancer properties.

According to the studies cited in Table 2, structural characteristics of secondary metabolites listed include phenolic structures with alicyclic rings, aromatic rings with various patterns of polyhydroxylation and alteration systems of unsaturation, which

polymerize to form polymeric phenolic structures (mainly PAs) which is further related to the pharmacological properties of the genus.

Phenolic acids, flavan-3-ols, flavonoids, type B polymeric PA with C<sub>4</sub>→C<sub>8</sub> and C<sub>4</sub>→C<sub>6</sub> interflavanic bonds, pentacyclic triterpenes and pentacyclic triterpene glycosides were evidenced. Considerable attention has been given to PAs and its monomers due to potential beneficial effects on human health, including immunomodulatory, anti-inflammatory, anticancer, antioxidant/free radical-scavenging, cardioprotective, antithrombotic, and antidiabetic properties (Souza et al., 2012a; Souza et al., 2012b; Smeriglio et al., 2014; Sieniawska, 2015; Bertoia et al., 2015; Bladé et al., 2016).

### **3.4 Pharmacological activities and correlations with medicinal uses**

Chemical pharmacology investigation has demonstrated that the biological activities of *Stryphnodendron*-derived extracts and formulations are due, at least partially, to their tannin content, which can range from 20% to 50%. Table 3 summarizes some of these bioactivities, including genotoxicity, antibacterial, antifungal, antiviral, antioxidant, antimutagenic, anti-enzymatic, cytotoxicity, toxicity teratogenicity, antitumor, healing, antiprotozoal, and anti-inflammatory. These studies establish possible correlations between the secondary metabolites, their bioactivities, and potential therapeutic uses of the species in folk medicine.



**Table 3. Biological properties *Stryphnodendron* species**

Species / objective / study type	Preparation of plant material / Secondary metabolites (SM)	Potential use and precautions	Ref.
<i>Sa</i> / Determine the toxicity and verify its effect on rat pregnancy / <i>Clinical - experimental</i>	Extracting seeds into water: ethanol (2:1; v/v) at room temperature for 48h / N. id. SM.	Abortive effects related to the consumption of high concentrations	Burger et al., 1999
<i>Sp</i> / Evaluate the antimicrobial, antioxidant, and healing effect / <i>In vitro, in vivo, and ex vivo activities</i>	Dried macerated barks in acetone-water (7:3; v/v), and partition water: EtOAc (1: 1; v/v) / 8, 9, 14, 43, 44, 45	Effective in treating inflammatory, infectious conditions, and lesions	Lopes, 2003
<i>So</i> / Evaluate the antioxidant and antifungal activity / <i>In vitro</i>	Acetone extract: water (7:3; v/v) of stem bark, and water partition: EtOAc (1:1; v/v), generated aqueous fraction and organic fraction, treated with EtOH-water (1:1; v/v) and EtOH 100 % / 8, 9, 14	Use as antimicrobial and antioxidant	Sanches et al., 2005
<i>Sa</i> / Investigate the antiviral activity against bovine herpes virus species - 1 (BHV-1) and polio - 1 (P-1) / <i>In vitro</i>	Acetone: water (7:3; v/v) extract of the bark, partitioned in water: EtOAc, the fractions EtOAcF and AqF / 6, 8, 9, 49	Use in the treatment of herpes virus and poliomyelitis.	Felipe et al., 2006
<i>Sa</i> / Evaluate the growth, putative virulence factors and ultrastructure of <i>C. albicans</i> isolates and analyze the influence on yeast phagocytosis by macrophage / <i>In vitro</i>	The stem bark dried and ground in acetone: water (7:3; v/v) to obtain F <sub>1</sub> . F <sub>1</sub> ; water: EtOAc (1:1; v/v) generated the aqueous fraction F <sub>2</sub> and fraction EtOAc F <sub>3</sub> . F <sub>2</sub> in Sephadex LH-20, 50, 70 and 90% ethanol and 70% acetone, generated F <sub>2.1</sub> , F <sub>2.2</sub> , F <sub>2.3</sub> , F <sub>2.4</sub> / 65	Use in the treatment of candidiasis, and development of new antifungal agents	Ishida et al., 2006
<i>Sa</i> / Evaluate the antimicrobial and antioxidant activities / <i>In vitro</i>	Dried and sprayed shells percolated in 50% and 70% ethanol, acetone: water (7:3; v/v) and chloroform / N. id. SM.	Use as an antimicrobial in folk medicine	Souza et al., 2007a
<i>Sa</i> / Determine the bactericidal action against <i>staphylococcus aureus</i> , <i>staphylococcus epidermidis</i> , <i>Escherichia coli</i> , and antiseptic activity of a liquid soap developed / <i>In vitro</i>	Dry and sprayed bark of the stem, percolated with 50% ethanol, obtaining a dry extract (DE) that was incorporated into the preparation of a liquid soap / N. id. SM.	Antiseptic action against bacteria by the use of soaps formulated with the species	Souza et al., 2007a
<i>Sa</i> / Assess potentials cytotoxic, mutagenic and genotoxic / <i>In vitro</i>	Ethanol extract (EE) obtained by decoction of the peel. Lyophilized aqueous extract (EA) obtained from EE / N. id. SM.	The use for medicinal purposes is recommended as it has no mutagenic effect.	Vilar et al., 2010
<i>Sa</i> / Determine the antimicrobial action against pathogens associated with bovine mastitis / <i>In vitro</i>	Shell in water - methanol (1:1 v/v), rotavaporation and lyophilization until you get the aqueous fraction AF / N. id. SM.	Use of the species in the treatment of mastitis by pathogens.	Bardal, 2011
<i>Sa</i> / Determine the antigenotoxic activity in the induction of cyclophosphamide genotoxicity (CP) and antioxidant potential / <i>In vitro - ex vivo</i>	Decoction of dry leaves and ground in deionized water (AE). Acetone: water (7:3; v/v) and partition with EtOAc, for a water fraction (AF). AE macerated in 70% (v/v) ethanol (EE) / N. id. SM.	It relates the cellular proliferative effect of extracts and their protective effect against carcinogenic agents.	Filho et al., 2011
<i>Sr</i> / Determine modulating and antimicrobial activity / <i>In vitro use</i>	Dry stem hydroethanolic extract (HEE), diluted in DMSO, followed by dilution in water / N. id. SM.	Promising modulation of the action of antibacterial agents.	Oliveira et al., 2011
<i>Sa</i> / Evaluating inhibitory activity against $\alpha$ -amylase, $\alpha$ -glycosidase and tyrosinase / <i>In vitro</i>	The stem bark extracted with ethanol and used at the concentration of 1mg / mL / N. id. SM.	Use to treat diabetes by inhibiting enzymes associated with its pathogenesis	Souza, 2011
<i>Sr</i> / Evaluate the antioxidant activity / <i>In vitro and ex vivo</i>	Leaf and bark extract by infusion in hot water and ethanol-water (1:1; v/v) / 2, 4, 5, 6	Popular use against inflammatory pathologies associated with oxidative stress.	Costa et al., 2012

<b>Sa</b> / Investigate antiviral activity against ape rotavirus SA-11 / <i>In vitro</i>	Dried leaves ground and percolated in 95° GL ethanol, dried to powder extract, which was dissolved in DMSO / N. id. SM.	Other forms of preparations may have possible use in the treatment of rotavirus diseases.	Cecílio et al., 2012
<b>Sf</b> / Evaluate the reproductive effects of experimental intoxication in guinea pigs / Clinical - experimental	Fruits were packed in fabric bags and kept refrigerated for later use in the experiment / 72	Abortive effects resulting from the consumption of the fruits. Should not be ingested by pregnant women	Rocha et al., 2013
<b>Sr</b> / Evaluate the antibacterial activity / <i>In vitro</i>	Hydroalcoholic tincture of Flora Vita Handling Pharmacy CNPJ 24.11.045/0001-30 / N. id. SM.	Use in the healing of oral pathologies.	Filho et al., 2013
<b>Sb</b> / Investigate the interaction and inactivation of <i>Citrobacter freundii</i> / <i>in vitro</i> bacteria	Fresh and dried shells macerated in 96% ethanol and decocted in purified water / N. id. SM.	Possible therapeutic uses of the species against <i>C. freundii</i> .	Souza et al., 2013b
<b>Sa</b> / Determine the toxicological profile for information on toxicity at therapeutic doses / <i>In vitro</i> and <i>in vivo</i>	Bark of the stem dried and ground in acetone-water (7:3; v/v), obtaining F <sub>1</sub> extract. F <sub>1</sub> in water: EtOAc (1:1; v/v), to get fraction F <sub>2</sub> rich in proanthocyanidin / N. id. SM.	Establishes the limits of toxicity in the therapeutic use of the species with regard to the obtention of formulations	Costa et al., 2013
<b>Sa</b> / Identify the phytochemical profile and evaluate its healing effects in diabetic rats and / <i>In vivo</i> and <i>ex vivo</i>	The dry ground shell was extracted with acetone: water (7:3; v/v), yielding raw extract / 2, 8, 9, 10, 16, 21, 35, 46, 52, 57, 58, 59	Use in wound healing treatment in diabetics.	Pinto et al., 2015
<b>Sa</b> / Demonstrate the efficacy of the extract against biofilms of <i>C. albicans</i> / <i>In vitro</i>	Dried and ground stem shells were used to obtain fraction F <sub>2</sub> and subfraction F <sub>2.4</sub> (Ishida et al., 2006) / F <sub>2.4</sub> consisted of (2 and 65)	Potential source of new agents for the treatment of candidiasis associated with biofilm production.	Luiz et al., 2015
<b>So</b> / Evaluate the antileishmanial and antioxidant activity / <i>In vitro</i> .	Ethanol extract (96%) of dry bark of the ground stem. EE in EtOAc: butanol: 2-propanol: water (3.5: 0.5: 1.0: 4.5; v/v/v/v), to get the OF and AF/2, 6, 8, 9, 10	Use of extracts of the species in the treatment of diseases caused by <i>L. Amazonensis</i> .	Ribeiro et al., 2015
<b>Sa</b> / Investigate the effects on the formation of blood vessels of the corioalantoid membrane (CAMs) in chicken egg embryo ( <i>Gallus domesticus</i> , Rhoss strain) / <i>In vivo</i>	Peel crushed in one liter of water, obtaining an aqueous solution ( <i>s.a</i> ) / N. id. SM.	Angiogenic activity	Chaves et al., 2016
<b>Sa</b> / Investigate the effect on the production of tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ) in THP-1 cells, and anti-arthritis activity in a lipopolysaccharide (LPS) model / <i>In vitro</i>	Ethanollic (EE) and aqueous (EA) extract of stem and leaf bark. EE (ethanol / i-propanol / n-butanol) (42:12:6; v/v/v/), to obtain organic fraction OF and aqueous AF / 2, (8 - 11), 15, 16, 20, 53, 54, 56	Use of the species in the treatment of inflammatory diseases and arthritis, pointing out it as potential source of bioactive compounds	Henriques et al., 2016
<b>Sr</b> / Evaluate the cytoprotective effect of hydroalcoholic extract against Hg <sup>+2</sup> and Al <sup>+3</sup> metals in a plant model / <i>In vitro</i>	Dried shells extracted with cold water: ethanol (1:1; v/v) / N. id. SM.	Use to treat plants with diseases due to excess heavy metals Al <sup>+3</sup> and Hg <sup>+2</sup> , and possible use in humans.	Coutinho et al., 2017
<b>Sa</b> / Evaluate the healing effect in rabbits as well as in autologous bone marrow mononuclear cells BMMNCs treated with the extract / <i>In vivo</i> and <i>in vitro</i>	Glycolic extract from the stem bark 10% (B) / N. id. SM.	Use in skin wound healing therapies as well as in BMMNC combined therapies.	Rodrigues et al., 2017
<b>Sa</b> / Assesses the antimicrobial activity and acute and chronic toxicity / <i>In vitro</i> , <i>in vivo</i> , <i>ex vivo</i>	Stem bark extracted in ethanol for eight days in the ratio (1:2 w/v), following filtration and drying / N. id. SM.	Proven toxicity of highly concentrated medicinal preparations of the plant.	Almeida et al., 2017

<b>Sa</b> / Investigate the phytochemical composition, antioxidant, and cytotoxic activities in cell lines of human breast adenocarcinoma, MCF-7 and MDA-MB-435 / <i>In vitro</i>	Acetone: water (7:3; v/v) of dry leaves, and partition into water: AcEt (1: 1; v/v), lyophilized aqueous fraction (AF). Two grams of FA in 10% methanol and applied in Sephadex LH-20 / 2, 50, 51	Promising role of the fraction as a chemopreventive agent for the development of antineoplastic drugs	Sabino et al., 2017
<b>Sr</b> / Evaluate hepatic toxicity / <i>In vivo and in vitro</i>	The bark of the stem dries in water: ethanol (1: 1; v/v), to obtain the hydroethanolic extract HEE / N. id. SM.	Damage by oral intake of high concentrations of alcoholic formulations, guide by medicinal use	Aquino et al., 2017
<b>Sr</b> / Evaluate the trypanocidal and leishmanicidal activity / <i>In vitro</i>	Extract water: ethanol (1: 1; v/v) dry shell (HEE), in phosphate-buffered saline solution, pH 7.2 / 2, 4, 5, 6, 7	Alternative treatment for patients with diseases caused by <i>T. cruzi</i> , <i>L. brasiliensis</i> and <i>L. Infantum</i> .	Vandesmet et al., 2017
<b>Sa</b> / Evaluate the effect on cell viability, DNA damage and apoptosis induction in keratinocytes and fibroblasts / <i>In vitro</i>	Hydroethanolic extract obtained from the stem bark (70% ethanol) / 2, 5, 6, 10, 24	Alternative treatment of diseases associated to cellular oxidative stress and DNA attack	Pellenz et al., 2018
<b>Sa</b> / Investigate the pro-oxidant properties, anticancer activity, and mechanism of action in cervical cancer and solid tumor cell lines / <i>In vitro and in vivo</i>	Dried and ground stem shells in acetone: water (7:3; v/v) to obtain raw extract (EC). Fraction F <sub>2</sub> rich in proanthocyanidins obtained by partitioning EC into water: EtOAc (1:1; v/v) / N. id. SM.	Proposal for the use of tannin-rich extracts of the species in cancer treatment.	Kaplum et al., 2018
<b>Sa</b> / Evaluate the antifungal activity against planktonic yeasts and formulate a gel for the treatment of vaginal candidiasis caused by <i>C. albicans</i> and <i>C. glabrata</i> / <i>In vitro and in vivo</i>	Fraction F <sub>2</sub> and subfraction F <sub>2.4</sub> according to (Ishida et al., 2006) / 2, 65	Use of gel formulations containing different extract concentrations in the treatment of <i>Candida non albicans</i> CNA infectious diseases	Freitas et al., 2018
<b>Sa</b> / Evaluate the antioxidant activity, anticancer effects against melanoma cells B16F10Nex-2 / <i>in vitro</i>	Aqueous extraction of the bark of the stem (SBSA) / N. id. SM.	Alternative for treatment or prevention of diseases related to oxidative stress and tumor cell proliferation	Santos et al., 2018
<b>Sa</b> / Evaluate antioxidant activity and anticancer effects, and characterize the mechanisms of cell death against murine melanoma cells B16F10Nex-2 / <i>In vitro and in vivo</i>	Aqueous extract of fresh stem peels / 2, 9, 15, 21, 66, 69	Alternative approach in the treatment of some types of cancer	Baldivia et al., 2018
<b>Srv</b> / Describe the epidemiological, clinical, and pathological characteristics associated with an outbreak of spontaneous intoxication with the species in cattle / <i>Clinical - histopathological</i>	Barks and fruits mixed with pasture / N. id. SM.	Ingestion of remedies made with large amounts of peels and fruits together with seeds can induce severe damage to liver, kidneys and intestines	Santos et al., 2020
<b>Sa</b> / Evaluate the effects on macrophage activation and differentiation / <i>in vitro</i>	Dry bark of the macerated stem in 70% ethanol for 21 days, to obtain hydroethanolic extract (HESA) / 2, 8, 9, 10, 69	Perspectives on use in the activation and function of macrophages, and treatment of situations related to macrophage dysregulation as inflammatory disorders	Carvalho et al., 2020
<b>Sa</b> / Investigate the ability to inhibit some toxic actions of the snake venom of <i>Bothrops jararacussu</i> / <i>in vitro and in vivo</i>	Barks in acetone: water (7:3; v/v), to obtain crude extract (EC). 50g EC/500mL water, partition in AcEt, generating AcEt fraction (EAF) and aqueous (AQF). 1.5g AQF 100mL water, Sephadex® LH-20, dioxan-water (7:3), subfractions p1, p2, p3 and p4 / (1-3), 7, (9 -12), (16-19), 25, (27-32)	May be a promising natural agent for protection against poisoning or reduce the toxic effects of snake venom	Junior et al., 2020
<b>Sf</b> / Describe clinical, biochemical, macroscopic, and microscopic findings of spontaneous poisoning in cattle, and experimental intoxication in sheep / <i>Clinical - experimental</i>	Fruit peel, seeds, whole fruits / N. id. SM.	Ingestion of medicines made with large amounts of whole fruits can induce severe kidney damage and extrarenal uremia	Guizelini et al., 2021

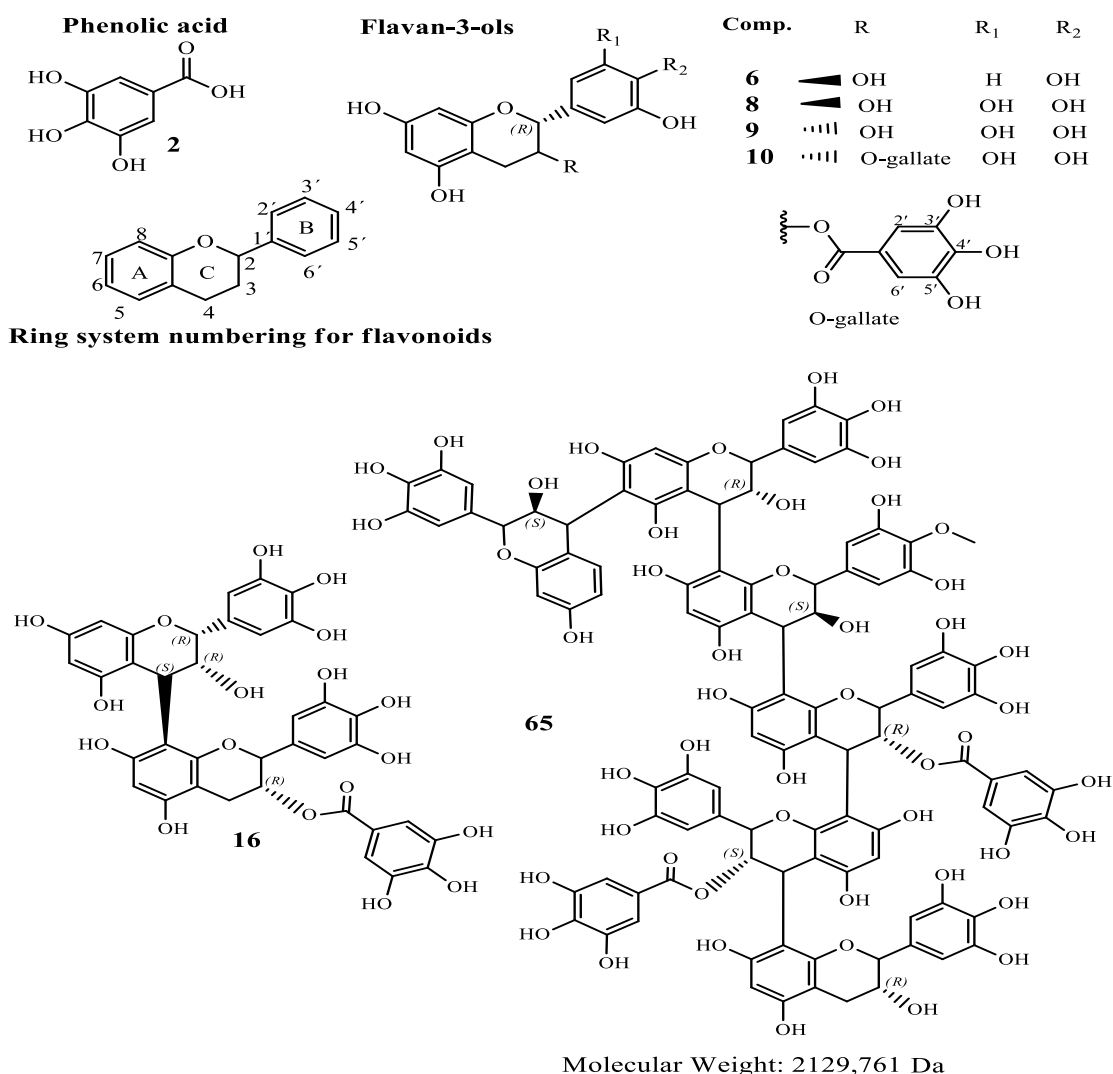
<b><i>Spu</i></b> / Investigate the antibacterial and cytotoxic activities, dermaltoxicity / <i>In vitro</i> and <i>in vivo</i>	Barks of the stem ground macerated in ethanol, to obtain the ethanol extract (SPEE). SPPE mixed with base ointment, to get ointment 20% SPEE (SPEEO) / 2, 6, 60-64, 67	Potential use in new therapeutic alternatives against skin infection by <i>S. aureus</i> , which is a highly resistant bacterium	Gomes et al., 2021
<b><i>Sr</i></b> / Evaluate the performance, digestibility and carcass characteristics of lambs fed diets containing bark and extract of the species / <i>Clinical - experimental</i>	Ground dry shell (CBS) and ethanol extract: water (50:50; v/v) of bark (EHB) mixed with diet based on soybean meal, corn, oat hay, and protein supplement / N. id. SM.	The use of barbatimão extracts in the diet of confined lambs did not affect the productive performance and metabolic parameters	Barbosa, 2021
<b><i>Sr</i></b> / Investigate the protective effect of keto-aqueous extract in iron overload conditions / <i>In vitro</i>	Acetone extract: water (7:3; v/v) of dry stem shells / 2, 9, 15, 16, 21, 54, 56, 59, 66, 68, 69	Potential use to treat pathological conditions due to Fe <sup>+2</sup> overload disorders	Salazar et al., 2021

*Sr*: *Stryphnodendron rotundifolium*; *Sa*: *Stryphnodendron adstringens*; *Sb*: *Stryphnodendron barbatiman*; *Sp*: *Stryphnodendron polyphyllum*; *Sf*: *Stryphnodendron fissuratum*; *So*: *Stryphnodendron obovatum*; *Sc*: *Stryphnodendron coriaceum*; *Srv*: *Stryphnodendron rotundifolium* f. *retusa* Chodat & Hassl.; *Spu*: *Stryphnodendron pulcherrimum*; EC: crude extract; EtOAc: ethyl acetate; SM: secondary metabolite numbering reported in the table 2; N. id. SM: Unidentified secondary metabolites; Ref.: Reference.

Due to the polarity and stability of the tannic compounds present in the genus *Stryphnodendron* extracts, polar systems using ethanol (1:1 and 7:3; v/v) and acetone: water (7:3; v/v) (Costa et al., 2012; Ishida et al., 2006; Sabino et al., 2017; Pellenz et al., 2018; Salazar et al., 2021; Coutinho et al., 2017; Barbosa, 2021), are the most commonly used in the extraction protocols. Accordingly, the partitions were regularly made with water: ethyl acetate, and submitted to CC using Sephadex® LH-20, to obtain enriched fractions (Mello et al., 1999a; Ishida et al., 2006; Filho et al., 2011; Sabino et al., 2017; Junior et al., 2020; Toledo, 2002; Mello et al., 1999), which were subsequently processed by HPLC and UPLC in the reversal and normal phases for isolation and purification of phytoconstituents, following by the identification of pure and acetyl forms by coupling with EI-MS, ESI-MS, ESI-MS/MS, <sup>1</sup>H-NMR and <sup>13</sup>C-NMR, MALDI-TOF systems (Mello et al., 1999a; Henriques et al., 2016; Demarque et al., 2018; Ishida et al., 2006). Other partitions include those performed with EtOAc: butanol: 2-propanol: water; 3.5: 0.5: 1.0: 4.5 (v/v/v/v) (Ribeiro et al., 2015) and (Ethanol: i-propanol: n-propanol; 42: 12: 6 (v/v/v) (Henriques et al., 2016).

The ethnopharmacological aspects of the present research have indicated that the bark of barbatimão is commonly used in the treatment of wounds, gastric ulcers, and infectious and inflammatory diseases have been proven. The activity of bark extract in the treatment of diseases such as cancer, hematoma, pain, diabetes, and genitourinary and skin diseases have also been described. Other activities which have not been reported by ethnopharmacological research including antiprotozoal, antiviral, anti-toxic, and iron-overload protective were also analyzed by experimental studies. It is noteworthy mentioning that the vast majority of these studies were performed using *in vitro* and *in vivo* models instead of clinical-experimental and clinical research, which may impact the correspondence between the ethnopharmacological indications and the experimental observation.

Regarding these activities, isolated compounds that could be associated with the corresponding activity (Table 3), include gallic acid (2), gallocatechin (8), epigallocatechin (9), catechin (6), epigallocatechin 3-O-gallate (10), Epigallocatechin-(4β→8)-epigallocatechin 3- O-gallate (16), proanthocyanidin polymeric ion of 2114 Da (65). Their molecular structures are presented in Figure 1. The structures of compounds with less significant bioactive associations are shown in **supplemental material 1**.



**Figure 1.** Representative bioactive phytoconstituents of the genus *Stryphnodendron*

Correlations between the relevant traditional uses (table 1), secondary metabolites constituents (Table 2), and biological activities (table 3) of *Stryphnodendron* species support the evidence that some species of this genus could be used in the treatment and prevention of cancer (Bitu et al., 2015; Macêdo et al., 2016; Macedo et al., 2018; Macêdo et al., 2018; Ribeiro et al., 2014; Souza et al., 2014), since type B polymeric PAs were found to present anticarcinogenic, antitumor, and genoprotective effects (Filho et al., 2011; Sabino et al., 2017; Baldivia et al., 2018; Pellenz et al., 2018; Kaplum et al., 2018; Santos et al., 2018).

In this context, a study concluded that hydroalcoholic extracts from the bark of the stem of *Stryphnodendron adstringens* in the concentrations found in Brazilian

commercial formulations, characterized by the presence of gallic acid (2), caffeic acid (5), catechin (6), epigallocatechin 3-O-gallate (10), and quercetin (24), have genoprotective action against DNA fragmentation, in addition to preventing cytotoxic events in keratinocyte (HaCaT) and human fibroblast (HFF-1) cell lines, by inducing dysregulation of pro-apoptotic molecules such as BAX, caspase 3, and caspase 8, as well as by upregulating the anti-apoptotic protein Bcl-2 (Pellenz et al., 2018). Accordingly, a proanthocyanidin-rich fraction obtained by partitioning water: EtOAc (1:1; v/v) acetone: water (7:3; v/v) *Stryphnodendron adstringens* stem shell extract, caused reduced cell viability and migration in HeLa (HPV18) and SiHa (HPV16) cervical cancer cells, in addition to inducing apoptotic mitochondrial damage and oxidative stress, cell membrane rupture in C33A cells, HeLa and SiHa, which is associated with apoptosis / late necrosis signaling and reduction in volume and weight of Ehrlich solid tumor (EST), indicating that this species has the potential to be used in the chemotherapy for cancer treatment (Kaplum et al., 2018).

Previous research has demonstrated that patients with wounds caused by involuntary physical trauma and treated topically with Fitoscar® ointment twice a day reported complete healing in approximately 3.6 months, suggesting that the healing effect is mainly due to high levels of epigallocatechin gallate (EGCG) molecules and acid in the chemical matrix of the species (Pellenz et al., 2019). It has been postulated that the bioactivities presented by the genus are associated with the considerable content of phytoconstituents such as PAs. However, regarding the anticancer activity, the investigation of PAs in the prevention and treatment of cancer is still in the early stages, and therefore, further research is required to address this issue in a clinical experimental context since currently, clinical evidence is available only for the antioxidant activity.

#### **3.4.1 Wound healing activity**

The investigation of the healing and antioxidant activities of *Stryphnodendron polyphyllum* and *Stryphnodendron obovatum* has demonstrated the effectiveness of ointments containing 2.5% of the raw extracts or EtOAc fraction obtained from the raw extract of stem bark in skin wounds of *Wistar* rats, which was associated with the growth of epidermal cells in the skin. However, the wound healing potential of *Stryphnodendron polyphyllum* was significantly higher than that observed for *Stryphnodendron obovatum*,

although the former presented lower tannin content (Lopes et al., 2005). On the other hand, barks of *Stryphnodendron polyphyllum* macerated in acetone-water (7:3; v/v), and partitioned in water: EtOAc (1: 1; v/v), revealed the presence of galliccatechin (8), epigalliccatechin (9), epigalliccatechin-(4 $\beta$ →8)-galliccatechin (14), 4'-O-methyl-robinetinidol- (4 $\beta$ →6)-4'-O-methyl galliccatechin (43), fisetinidol- (4 $\alpha$ →8)-galliccatechin (44), and fisetinidol- (4 $\beta$ →8)-galliccatechin (45), which may contribute the observed effect by favoring the tissue repair due to their antiseptic, astringent and anti-inflammatory actions (Lopes, 2003). These results are corroborated by the evidence that an ointment formulated with 1% of the EtOAc fraction of *Stryphnodendron adstringens* stem bark presented healing effects in *Wistar* rats. Following 4, 7, and 10 days of treatment, the proliferation of keratinocytes was stimulated, possibly due to the action of PAs in the epidermis (Hernandes et al., 2010). Another study using *Rattus norvegicus albinus* demonstrated that the topical application of an ointment containing 10% of the aqueous extract of the *Stryphnodendron adstringens* bark induced complete epithelialization of the wounds after 14 days of treatment, which was associated with increased fibroblast proliferation and collagen production (Coelho et al., 2010). These findings are corroborated by the observation that the same species can stimulate angiogenesis in the chorioallantoic membrane (CAMs) of chicken embryos (*Gallus domesticus*, Rhoss strain) since re-vascularization is an important event in wound healing (Chaves et al., 2016).

A gel formulation containing 1% acetone: water (7:3; v/v) *Stryphnodendron adstringens* bark extract, characterized by the presence of PAs, was able to stimulate cell migration and proliferation of keratinocytes, in addition to causing the substitution of type III collagen fibers by type I collagen fibers in diabetic *Rattus norvegicus* wounds (Pinto et al., 2015). Similar results in the initial and the remodeling phase of healing were observed in a study investigating the effects of a 10% glycolic extract of the stem bark (Rodrigues et al., 2017). It is hypothesized that the content of phenolic acids and monomeric and dimeric PAs in the extract may be responsible for the reepithelialization effects in injured tissues (Table 3).

*Wistar* rats treated with an EtOAc fraction obtained from acetone: water (7:3 v/v) *Stryphnodendron obovatum* stem bark extract presented epidermal proliferation in the wounds after 4 days of treatment, while the *Stryphnodendron polyphyllum* fraction



treatment resulted in epidermal proliferation after 4 and 7 days. Importantly, significant differences in the tannic content of these species are observed, being 19% w/w in *Stryphnodendron obovatum* and 12% w/p in *Stryphnodendron polyphyllum*, mainly prodelfinidins in both (Lopes et al., 2005; Lopes et al., 2003; Sanches et al., 2005). Another study reported that a 3% solution of *Stryphnodendron adstringens* ameliorated the wound lesions from grade I to II in a period of three to six weeks, and to grade III between 10 and 18 weeks of treatment (Minatel et al., 2010).

While ethnopharmacological research on the healing activity of *Stryphnodendron* species usually describes the concentration of the extracts, the concentration of tannins in these extracts is less reported. This approach can generate conflicting results as some studies point to gader as a potentiator of the healing process (Coelho et al., 2010; Minatel et al., 2010), while in other studies this activity is not observed (Hernandes et al., 2010). Therefore, the concentration of tannins in the extracts should be considered when evaluating the outcomes of studies addressing the healing potential of species of this genus (Rodrigues et al., 2017).

### **3.4.2 Anti-inflammatory and Antinociceptive activities**

The acetone fraction of *Stryphnodendron adstringens* was tested in acute and chronic inflammation models in rats, demonstrating effectiveness in reducing carrageenan and dextran-induced paw edema, in addition to inhibiting exudation and leukocyte migration in the pleural cavity of rats (Lima et al., 1998). In another study, the treatment of edema in rats with 1% *S. adstringens* extract for 3, 7, and 10 days revealed promising results in comparison with 0.12% chlorhexidine (Coutinho et al., 2004).

A study evaluating the effects of ethanol: water (7:3; v/v) *Stryphnodendron adstringens* stem bark extract macrophage activation and differentiation demonstrated that the species can modulate the functional polarization of macrophages into an M2 profile by suppressing co-stimulatory molecules in M1 macrophages, which may be attributed to constituents such as gallic acid (2), gallo catechin (8), epigallocatechin (9) and epigallocatechin 3-O-gallate (10), suggesting that this species may be potentially used in the management of inflammatory disorders (Carvalho et al., 2020).

Henriques e colleagues (2016), investigated *in vitro* the anti-inflammatory activity of the organic and aqueous fractions of the ethanol / i-propanol / n-butanol partition

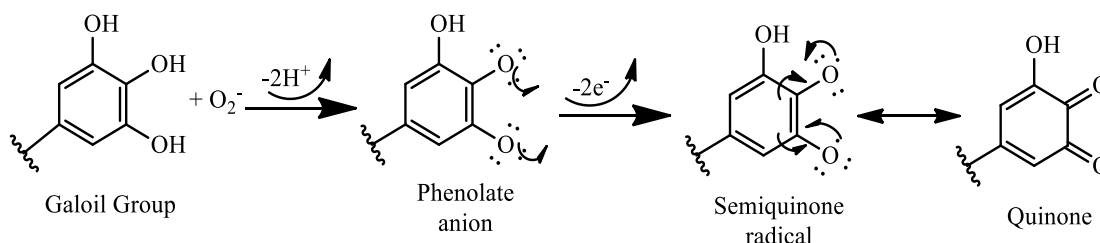
derived from ethanolic extracts obtained from the barks and leaves of *Stryphnodendron adstringens*. It was demonstrated that the fractions inhibited the production of TNF- $\alpha$  by LPS-stimulated THP-1 cells, in addition to reducing cell migration and neutrophil accumulation in periarticular tissue in an arthritis model, indicating that the anti-inflammatory activity of the specie may be related to the presence of secondary metabolites such as fatty acids and monomeric and dimeric prodelphinidins (table 3). Accordingly, the aqueous and ethyl acetate fractions of the acetone extract obtained from *Stryphnodendron adstringens* demonstrated antinociceptive effects in acetic acid and formalin murine models of pain, which might involve inflammatory mechanisms. It was verified that the aqueous fraction contained elevated concentrations of hexameric polymer proanthocyanidins of high molecular weight, while the dimers were found in the ethyl acetate fraction, indicating that the peripheral antinociceptive effects of *Stryphnodendron adstringens* is, at least partially, due to the presence of condensed tannin polymers (Melo et al., 2007).

### 3.4.3 Antioxidant and anticancer activities

A DPPH $\bullet$  free radical-scavenging activity was demonstrated by several fractions of the *Stryphnodendron obovatum* aqueous extract, which revealed the presence of gallicocatechin (8), epigallocatechin (9), and epigallocatechin-(4 $\beta$ →8)-gallicocatechin (14) (Sanches et al., 2005). In subsequent research, the antioxidant activity of the ethanol/water extract (1:1; v/v) and aqueous infusion obtained from the bark of the *Stryphnodendron rotundifolium* demonstrated a strong scavenging activity, in addition to inhibiting Fe $^{+2}$ -induced lipid peroxidation, while the leaf extract showed weaker scavenging activity. As, the concentrations of gallic acid (2), rutin (4), caffeic acid (5), and catechin (6) in the bark extract were higher than those of leaf extract, it is assumed that these constituents may be responsible for this *in vitro* pharmacological activity (Costa et al., 2012). In addition, extracts and fractions presenting high proanthocyanidin concentrations also show potent DPPH-scavenging activity, supporting the ethnopharmacological evidence that these species are used as anticancer agents. However, this observation remains to be experimentally demonstrated (Lopes et al., 2005).

Aqueous fractions (FA) of the water: AcEt (1: 1; v/v) and acetone: water (7:3; v/v) extracts obtained from the leaves of *Stryphnodendron adstringens*, showed significant concentrations of gallic acid (2), epicatechin gallate (50) and the procyanidin B1 dimer epicatechin-(4 $\beta$ →8)-catechin (51), which have demonstrated strong antioxidant activity by means of iron reduction, inhibition of protein oxidation, and elimination of DPPH radical. In addition, these compounds have presented cytotoxicity in MCF-7 and MDA-MB-435 cells through induction of apoptosis and autophagy (Sabino et al., 2017). Together, this evidence may be associated with chemoprotective and anticarcinogenic potentials.

The oxidation of epigallocatechin 3-O-gallate by O<sub>2</sub><sup>-</sup> radicals was observed in the galloyl group, which dissociates to form the phenolate anion, undergoing oxidation by losing 2 electrons, generating the respective semiquinone radical, which further stabilizes by electronic resonance to form stable ortho-quinone (Fig. 2). This mechanism allows epigallocatechin 3-O-gallate to modulate ROS production and further exert anti-carcinogenic effects (Min and Kwon, 2014).



**Figure 2. Mechanism of ROS production inhibition by quinone formation.**

An aqueous extract obtained from the stem bark of *Stryphnodendron adstringens*, characterized by the elevated concentration of phenolic compounds promoted apoptotic cell death in murine melanoma cells (B16F10Nex-2) increasing the production of ROS, in addition to inducing dysfunction in the mitochondrial membrane potential and activation of caspase-3, indicating an antitumor activity associated with oxidative balance interference (Baldivia et al., 2018; Santos et al., 2018).

The acetone: water (7:3; v/v) extract of *Stryphnodendron rotundifolium* dried stem bark also exhibited strong antioxidant activity associated with Fe<sup>+3</sup> reduction mechanisms and inhibition of oxidative degradation of 2-deoxyribose and Fe<sup>+2</sup> chelation, possibly due

to the presence of gallic acid (2), epigallocatechin (9), epigallocatechin-(4 $\beta$ →8)-epigallocatechin dimeric PAs (15), epigallocatechin-(4 $\beta$ →8)-epigallocatechin 3-O-gallate (16), epigallocatechin-(4 $\beta$ →6)-epigallocatechin (21), 4'-O-methyl-epigallocatechin 3-O-gallate - epigallocatechin 3-O-gallate (54), galocatechin- (4 $\beta$ →8)-epigallocatechin-3-O- gallate (55), 4'-O-methyl-epigallocatechin-epigallocatechin (56), robinetinidol-4'-O-methyl-epigallocatechin (59), epigallocatechin-(4→8)-epigallocatechin (4→8)-epigallocatechin (66), besides presenting low toxicity (Salazar et al., 2021).

#### 3.4.4 Antiulcer properties

A study conducted by Favaretto et al., (1985), described the use of the aqueous extract of *Stryphnodendron obovatum* (10g of bark/1L H<sub>2</sub>O) in experimentally induced gastric ulcers in rats, observing accelerated healing of gastric lesions. In another study, the MALDI-TOF-MS technique was used to characterize the tannins present in the subfractions of EtOAc fraction of the acetone: water (7:3 v/v) extract of *Stryphnodendron rotundifolium*, to prove its gastroprotective effects as coating agents. The procyanidins were quantified using galocatechin, catechin, and gallic acid as patterns, and the total tannin content was quantified according to Brazilian Pharmacopoeia, (2010), revealing tannin concentrations around 291 mg/g of crude extract (EC), in addition to presenting 2 mg catechin/g EC, 10 mg epigallocatechin/g EC and 8 mg of gallic acid/g EC. A stable gastroprotective barrier formed by tannins (PAs) was observed in Wistar rats, which were not removed even after washing with PBS, remaining attached to the parietal cells. These results indicate that tannins (PAs) of *Stryphnodendron rotundifolium* are effective as gastric protector agents (Demarque et al., 2018), supporting the evidence shown in ethnopharmacological studies reporting the use of this genus in the treatment of gastritis and gastric ulcer (Oliveira et al., 2014; Macêdo et al., 2016; Fagundes et al., 2017; 13. Lisboa et al., 2017; Pasa, 2011; Alves and Povh, 2013).

According to the results of Demarque et al., (2018), the hydrolyzable tannins present in *Stryphnodendron rotundifolium* may also be an option for the treatment of gastric diseases, as they present a significant antibacterial activity against *Helicobacter pylori*, an important causative agent of peptic ulcers (Funatogawa et al., 2004; Harsha et al., 2017).

### 3.4.5 Activities of *Stryphnodendron* species against fungi and bacteria

The use of the genus *Stryphnodendron* for the treatment of infections in folk medicine is well-recognized, being scientifically demonstrated through studies with bacteria (especially Gram-positive strains) and pathogenic yeasts that are commonly associated with infections in the skin, upper respiratory tract, genitourinary tract, and other body regions, as reported in the studies described in Table 3.

In this context, extracts obtained from the stem bark of *Stryphnodendron adstringens* showed significant antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, and *Escherichia coli*, which was attributed to high levels of tannins (Souza et al., 2007a; Souza et al., 2007b). Besides, the ethanol: water (5/5; v/v) extract was incorporated into the preparation of a liquid soap, exhibiting antiseptic activity against *S. aureus*, *S. epidermidis*, and *E. coli* (Souza et al., 2007b). On the other hand, the water: methanol (1:1 v/v) extract of *S. adstringens* stem bark significantly inhibited the growth of *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *C. albicans*, exhibiting short-term microbiostatic action (Bardal, 2011). Moreover, the dried hydroethanolic extract of *Stryphnodendron rotundifolium* exhibited synergistic antibiotic activity against *E. coli* and *Staphylococcus aureus*, with tannins being the main antimicrobial constituents (Oliveira et al., 2011).

An ointment prepared using a 20% ethanolic extract *Stryphnodendron pulcherrimum* stem bark exhibited strong antibacterial action against *S. aureus*. A chemical analysis revealed the presence of phenolic acids, catechin (6), and epicatechin – epicatechin – epigallocatechin (67) as possible bioactive principles (Gomes et al., 2021). However, an ethanolic maceration of the stem bark of *Stryphnodendron adstringens* (1:2 w/v, for eight days) revealed a moderate antibacterial activity against *E. coli* and *Staphylococcus aureus* (Almeida et al., 2017). The investigation of a *Stryphnodendron barbatiman* extract obtained from the maceration of the bark in 96% ethanol against the Gram-negative bacterium *Citrobacter freundii*, demonstrated the inhibition of bacterial adhesion, generating cellular damage due to interactions with the cell wall, which was associated with the high tannin content of the extract (Souza et al., 2013b). On the other hand, the hydroalcoholic tincture of *Stryphnodendron rotundifolium*, tested against Gram-positive bacterial strains colonizing dental surfaces including *Streptococcus*

*mutans*, *Streptococcus oralis*, and *Streptococcus salivarius*, showed results that limit its use in clinical studies (Filho et al., 2013).

Consistent evidence has attributed the antimicrobial properties of *Stryphnodendron* to the content and diversity of high-molecular-weight condensed tannins (PAs), mainly due to their action on the cell membranes of pathogenic bacteria and yeasts, as well as due to their antibiotic-enhancing activities (Lopes, 2003; Souza et al., 2007a; Oliveira et al., 2011; Luiz et al., 2015; Freitas et al., 2018; Sanches et al., 2005).

The bioguided fractionation of stem bark extracts obtained from *Stryphnodendron adstringens* following the inhibition *C. albicans* and *C. parapsilosis in vitro*, yielded a subfraction F<sub>2.4</sub> of the water: EtOAc (1:1; v/v) partition of acetone: water (7:3; v/v) extract obtained from the stem shells, whose chemical analysis revealed the presence of 2114 Da polymeric ion with six units of flavan-3-ol and two galloyl groups. This subfraction presented an antifungal activity characterized by inhibition of cell surface hydrophobicity, loss of cell wall integrity, and decrease in virulence factors associated with cytotoxicity, having the 2114 Da condensed tannin (65) and gallic acid (2) as probable active compounds (Ishida et al., 2006). Similar activity has been reported for the polymer-rich subfraction against *C. tropicalis* (Morey et al., 2016). In addition, the subfraction inhibited the metabolic activity of sessile cells and the infection mediated by plankton cell dissemination of *C. albicans* (Luiz et al., 2015).

A subfraction of *Stryphnodendron adstringens* characterized as a polymer of PAs (hexameric compound) (Ishida et al., 2006) was evaluated against opportunistic strains of *Cryptococcus neoformans* yeast, presenting minimum inhibition concentrations (MICs) of 2.5 and 5 µg/mL for non-capsular and capsular strains, respectively. The subfraction was found to induce changes in the size and morphology of both cells and capsules, in addition to inducing cell wall rupture, reduction of the cytoplasmic volume, increase in mitochondrial volume and number of cytoplasmic vacuoles, and reduction of fungal cell pigmentation (Ishida et al., 2009), supporting the folkloric use of the species for the treatment of itching, frieze, and dermatitis as mentioned in Table 1.

According to Ishida, et al., (2006), *Stryphnodendron adstringens* was more effective against *Candida non-albicans* (CNA), species such as *C. guilliermondii* and *C. glabrata* (MIC ≤ 0.48 - 3, 91 µg/mL) than *C. albicans* isolates (MIC ≤ 0.48-31.25 µg/

mL), showing fungistatic activity against *C. albicans* and clinical isolates of CNA (Muñoz et al., 1991). The same subfractions were used in the formulation of a gel for the treatment of vaginal candidiasis caused by *C. albicans* and *C. glabrata*, providing effective control of the dissemination and reinfection by *Candida* strains, which indicates that the topical treatment with PAs isolated from this species may be an alternative to control vaginal infections by *C. albicans* and CNA presenting resistance to conventional antifungals (Freitas et al., 2018). On the other hand, the acetone: water (7:3; v/v) extract of *S. obovatum* stem bark, as well as the aqueous and organic fractions of the water: EtOAc (1:1; v/v) partitions exhibited moderate antifungal activity against *Candida albicans* and *Candida parapsilosis*, which was associated to the presence of high-molecular-weight phenolic compounds (Sanches et al., 2005).

It has been strongly indicated that the antimicrobial activities of the genus *Stryphnodendron* may be due to their tannin content. According to Scalbert, (1991), the action of these compounds involves three main mechanisms: 1) the inhibition of microorganism enzymes (correlating with the interaction of proteins) (Junior et al., 2020; Souza et al., 2012a; Souza et al., 2012b); 2) deprivation of microorganisms from nutrients such as metals (by complexation with hydroxyl groups of tannin) (Salazar et al., 2021; Coutinho et al., 2017); and 3) inhibition of oxidative phosphorylation (due to the antioxidant property) (Costa et al., 2012; 25; Sabino et al., 2017; Baldivia et al., 2018).

#### **3.4.6 Anti-enzymatic activity**

Studies have shown that the ethanolic extract of *Stryphnodendron adstringens* inhibits tyrosinase, a key enzyme in melanin production (Souza et al., 2012a), in addition to inhibiting enzymes  $\alpha$ -amylase and  $\beta$ -glucosidase, resulting probably from the interaction between PAs and these proteins (Souza et al., 2012b). Additionally, the stem bark extract of *Stryphnodendron adstringens* inhibited (at the concentration of 1 mg/mL) the enzymatic activity of  $\alpha$ -amylase,  $\alpha$ -glucosidase, and tyrosinase, which was related to the presence of flavonoids and PAs (Souza, 2011). Noteworthy, such enzymatic inhibition may provide a significant contribution to the development of new drugs for the treatment of diabetes mellitus, as they allow the reduction of postprandial glycemic (Perfetti et al., 1998; Inducchi, 2002). However, *in vivo* studies have shown that only high doses of these compounds have inhibitory effects, which may involve adaptation mechanisms such as

induction of bile acid secretion and increase in proline-rich salivary proteins (Brandão et al., 2014).

A study by Baurin et al., (2002), evaluated the antityrosinase activity of *Stryphnodendron barbatiman*, demonstrating a 90% inhibition *in vitro*, stimulating the development of *in vivo* and clinical studies, and corroborating the traditional use of the genus *Stryphnodendron* in the treatment of diabetes mellitus. Accordingly, *in vitro* and animal studies have investigated the roles of proanthocyanidin-rich plant extracts in the treatment of diabetes, diabetic complications, and other metabolic diseases such as obesity (Bertoia et al., 2015; Bladé et al., 2016; Gonzalez-Abuin et al., 2015).

Currently, data on antidiabetic activity of the genus are in an early stage and therefore more comprehensive research is required to improve knowledge and ensure the proper use of extracts in phytotherapy.

### 3.4.7 Other pharmacological properties

Studies have demonstrated the antiparasitic activity of the genus *Stryphnodendron*. Fractions obtained from the *Stryphnodendron adtringens* bark inhibited the growth of promastigote forms of *Leishmania (L.) amazonensis* by 80% at the concentration of 100 µg/mL (Toledo, 2002). Water: ethanol (1: 1; v/v) extract of *Stryphnodendron rotundifolium* bark (at 1000 µg/mL) characterized by the presence of gallic acid (2), rutin (4), caffeic acid (5), catechin (6), and kaempferol (7), showed a promising antiparasitic activity against promastigotes of *L. infantum* (45% inhibition) and *L. brasiliensis* (56.38% inhibition), and *Trypanosoma cruzi* epimastigotes (82.31% inhibition). However, its cytotoxicity against murine fibroblasts J774 suggested limited systemic use (Vandesmet et al., 2017).

The ethanolic extract *Stryphnodendron obovatum* bark, as well as the aqueous and organic fractions of the EtOAc: butanol: 2-propanol: water (v/v/v/v) partition, were characterized by the presence of gallic acid (2), catechin (6), gallic acid (8), epigallocatechin (9), and epigallocatechin-3-O-gallate (10). These natural products strongly inhibited promastigote forms of *L. amazonensis* in the absence of significant cytotoxicity to human red blood cells (Ribeiro et al., 2015). While this finding supports the traditional use of the genus in the treatment of protozoan-related diseases, further



studies are needed to better characterize the potential of extracts, fractions, and phytoconstituents of this genus in antiprotozoal drug development.

Reports have indicated infusions, macerations, and decoctions of the *Stryphnodendron rotundifolium* stem bark for the treatment of venereal diseases (Bitu et al., 2015; Macedo et al., 2018) of both viral and bacterial etiology. Accordingly, the antiviral activity of acetone: water (7:3; v/v) extract of the bark of *S. adstringens*, and the aqueous fractions and EtOAc of the partition (water: EtOAc, 1:1 v/v) was investigated against the bovine herpesvirus - 1 (BHV-1) and poliomyelitis - 1 (P-1) in human larynx carcinoma (HEp-2)-infected cells. It was verified that the treatments blocked the synthesis of viral antigens and inhibited viral replication in infected cell cultures. Phytochemical analysis revealed the presence of catechin (6), gallic acid (2), epigallocatechin (9), and epicatechin (49) (Felipe et al., 2006). On the other hand, a study with an ethanolic extract of the same species, characterized by the presence of tannins, flavonoids, terpenes, coumarins, and saponins, showed no significant inhibition of the ape rotavirus (SA-11) in rhesus monkey kidney cell culture (MA-104) at the concentration of 50 µg/mL (Cecílio et al., 2012).

Acetone: water (7:3; v/v) extract of *Stryphnodendron adstringens* bark was found to inhibit the toxic effects of *Bothrops jararacussu* venom, which was associated with the activity of phenolic constituents such as gallic acid (2), protocatechuic acid (3), epigallocatechin (9), epigallocatechin 3-O-gallate (10), 4'-O-methyl-gallocatechin (11), epigallocatechin 3-O-(3, 5-dimethyl)-gallate (12), epigallocatechin-(4β→8)-epigallocatechin 3-O-gallate (16), epigallocatechin-(4β→8)-epigallocatechin 3-O-p-hydroxybenzoate (17), Epigallocatechin-O-vanillate (19), flavonoids myricitrin (18), quercetin-hexoside (25), myricetin (27), methoxyapigenin (28), dimethoxy-trihydroxyflavone (31), naringenin (30), phloretin-glucoside (29), and dihydroxycoumarin (32), which have the ability to melt metals and interact with proteins or enzymatic sites, to promote precipitation, and inhibiting the toxic manifestations of snake venom poisoning (Junior et al., 2020).

Nevertheless, research on antiparasitic, antiviral, and antiophidic activities should receive more attention and continuity in both experimental and clinical models to confirm the promising results reported here.

### 3.5 Pharmacokinetics of *Stryphnodendron*-derived PAs

Data on bioavailability and clinical pharmacokinetics of PAs indicate that their absorption appears to be inversely correlated with the degree of polymerization (Smeriglio et al., 2017), especially with regard to the absorption of these molecules through the intestinal barrier and their metabolism by the intestinal microbiota. Among the PAs, the relatively small compounds, including dimeric and trimeric PAs, can be more easily absorbed and digested in comparison with high-molecular-weight PAs, as the latter can complex proteins, starches, and digestive enzymes (Zhang et al., 2016).

*In vitro* and *in vivo* studies have revealed oligomeric PA derivatives are absorbed in the small intestine, indicating that the molecules found in biological fluids are different from those ingested. Although small amounts of PA monomers and dimers were found in the plasma of human subjects, methylated and glucoside derivatives appear to be the main metabolites. Furthermore, PAs are catabolized by the intestinal microflora of the colon into simpler metabolites, such as phenyl valerolactone, phenylacetic acids, phenylpropionate, and phenylbutyric acid, which remain in the colonic lumen, where they can neutralize the effects of pro-oxidant agents (Zhang et al., 2016; Marín et al., 2015).

*In vivo* research has indicated that PA oligomers (OPAs) are hydrolyzed to epicatechin in the small intestine of rats (Zhang et al., 2016). However, procyanidins were administered to rats both p.o and i.v., revealing traces of procyanidin dimers and trimers in the urine (Li et al., 2013). These results suggest that trimers and dimers of PAs can be absorbed *in vivo*, in part due to the similarity of the permeability coefficient to that of mannitol and the limited bioavailability of polymers in the intestinal lumen (Ou and Gu, 2014). Absorption across the intestinal barrier is likely limited to low polymerization PAs and their derived metabolites are absorbed by the colon (Stalmach et al., 2014). Thus, it is hypothesized that *Stryphnodendron*-derived natural products exert their biological effects not only by forming complex non-absorbable structures of high molar mass that can produce local effects in the gastrointestinal tract but also as dimers and trimers of absorbable tannins that produce systemic effects (Ou and Gu, 2014; Velderrain-Rodríguez et al., 2014; Jiménez et al., 2014; Nuñez-Sánchez et al., 2014).

In addition to the pharmacological effects that PAs exert locally in the intestine (Velderrain-Rodríguez et al., 2014), understanding absorption, bioavailability, metabolism, and distribution is crucial to determine their systemic therapeutic effects, as

well as the potential interactions and adverse effects resulting from the co-administration with other drugs. Furthermore, the search for suitable biomarkers may significantly contribute to further research on the bioavailability and pharmacokinetics of PAs and other types of phytoconstituents in the genus. In this context, while polymeric PAs, especially polyhydroxylated B-type dimeric proanthocyanidins, are commonly reported, no studies on their absorption, bioavailability, and metabolism are available.

### 3.6 Cytotoxicity and Toxicity

Research targeting the bioactive properties of the genus considered in the present review has also carried out a toxicological investigation to guide the safe use of their species in medicinal preparations. In this context, acetone: water (7:3, v/v) extract from the *Stryphnodendron adstringens* bark caused no significant hemolysis of sheep erythrocytes at the concentration of 100 µg/mL (Luize et al., 2005). Fractions of the same extract also presented a low 50% cytotoxic concentration (CC<sub>50</sub>) in Vero cells (125 – 165) µg/mL and J774G8 macrophages and (70 – 160) µg/mL. In addition, no hemolytic effect on red blood cells (RBCs) was observed at concentrations below 1000 µg/mL (Ishida et al., 2006).

The ethanolic extract of the stem bark of *Stryphnodendron obovatum* and the organic and aqueous fractions (EtOAc: butanol: 2-propanol: water), showed high CC<sub>50</sub> (100 – 140 µg/mL) against murine macrophages and did not cause lysis of human red blood cells, indicating toxicological safety for use in mammalian cells (Ribeiro et al., 2015). However, another study found that water: ethanol (1:1; v/v) extract of *Stryphnodendron rotundifolium* bark showed CC<sub>50</sub> high cytotoxicity against J774 cells (190.24 µg/mL), indicating limitation for its systemic use (Vandesmet et al., 2017).

The cytotoxic, mutagenic, and genotoxic potentials *Stryphnodendron adstringens* extracts were evaluated against *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli* strains. While no significant mutagenic activity was observed genotoxic effects were demonstrated, alerting to the need to better investigate the safety of the medicinal use of this specie (Vilar et al., 2010). On the other hand, extracts and fractions obtained from the leaves of this species were found to increase the ratio of total polychromatic erythrocytes (PCE) / normochromic erythrocytes (NCE), in rat bone marrow cells, in

addition to exhibiting antigenotoxic and antimutagenic activity associated with reduced DNA damage (Filho et al., 2011).

The toxicity of polymeric PA-rich fraction obtained from the crude extract of *Stryphnodendron adstringens* was analyzed in Wistar rats, revealing an estimated median lethal dose (LD<sub>50</sub>) of 3.015 mg/kg in a 14-day treatment protocol. In addition, showed no signs of genotoxicity, demonstrating a protective effect against the cytotoxic action of the carcinogenic agent cyclophosphamide, and low cytotoxicity against *Artemia salina* (Costa et al., 2010).

The acute toxicity evaluation of the hydroalcoholic extract from the leaves of *Stryphnodendron adstringens* administered intraperitoneally in Swiss mice for 14 days found an LD<sub>50</sub> of 250 µg/mL/kg body weight (Almeida et al., 2010). The chronic toxicity evaluation (for 90 days) following the treatment with 200 mg/kg of the PAs-rich subfraction obtained from the water: EtOAc (1:1; v/v) partition of acetone: water (7:3; v/v) stem bark extract of the same species showed low oral toxicity without severe signs in hematological, biochemical, and histopathological parameters. However, it is important to emphasize that the indiscriminate use of the species without considering possible toxicity can lead to significant health risks (Almeida et al., 2017; Costa et al., 2013). On the other hand, the acetone: water (7:3; v/v) extract administered orally in mice obtained an LD<sub>50</sub> of 2699 mg/Kg. In addition, the administration of the extract at 800 mg/Kg or 1,600 mg/Kg for 30 days showed toxic effects such as weight loss, thymus involution, and increased levels of glucose and AST/TGO in the blood (Rebecca et al., 2002). Accordingly, water: ethanol (2:1; v/v) extract of *Stryphnodendron adstringens* seeds showed abortive effect in rats, possibly due to the elevated tannin content (Burger et al., 1999). In opposition, a methanol extract: water (7:3; v/v) showed no acute toxicity or changes in biochemical parameters of liver and kidney functions, nor alteration sums in erythrocyte and leukocyte count in rats or rabbits (Trolezi et al., 2017).

The ethanol extract of stem bark of *Stryphnodendron pulcherrimum* (Willd.) Hochr (SPEE), characterized by the presence of gallic acid (1), catechin (6), p-hydroxybenzoic acid (60), 3,4-Hydroxyphenyl glycol (61), gentisic acid (62), benzoic acid (63), syringic acid (64), and epicatechin – epicatechin – epigallocatechin (67), was incorporated into a 20% ointment causing no significant changes in hematological and

biochemical parameters, suggesting a wide safety margin for therapeutic doses (Gomes et al., 2021).

The *in vitro* treatment of RAW 264.7 macrophages with propylen glycol extract of *Stryphnodendron barbatiman* at 50 mg/mL presented 86% cell viability. However, the extract stimulated the secretion of IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  compared to the unstimulated cells, which indicates inflammation-associated toxicity (Oliveira et al., 2013). Accordingly, studies demonstrated that *Stryphnodendron barbatiman* bean ingestion by the cattle induced clinical signs of intoxication with progressive anorexia, salivation, dehydration, motor impairment, anemia, and photosensitizing lesions in animals (Pereira et al., 1989). Moreover, liver lesions have also been described in ruminants after the ingestion of *Stryphnodendron fissuratum* crumpled beans (Ferreira et al., 2009; Aguiar-Filho et al., 2013).

In fact, reports of folk medicine indicate that the ingestion of beans from this genus can induce fatal poisoning in ruminants. In this context, spontaneous poisoning in cattle, and experimental poisoning in sheep by ingestion of fruit peel, seeds, and whole fruits of *Stryphnodendron fissuratum* resulted in acute renal failure along with extrarenal uremic lesions, which were related to the content of tannins, saponins, and triterpenoids (Guizelini et al., 2021). Additionally, a study by Rocha et al., (2013), evaluating reproductive aspects of experimental intoxication in guinea pigs (*Cavia porcellus*), through the ingestion of *Stryphnodendron fissuratum* fruits, revealed abortive and teratogenic effects that can be caused by the presence of saponins such as  $\beta$ -Amirin (72). Accordingly, during an outbreak of spontaneous poisoning of cattle by ingestion of ripe barks and fruits of *Stryphnodendron rotundifolium f. retusa* Chodat & Hassl, it was observed the occurrence of vacuolar degeneration and necrosis in the liver and kidney and vacuolar degeneration in the rumen, omasum, reticulum, and intestine (Santos et al., 2020).

The oral administration of *Stryphnodendron rotundifolium* stem bark extract (400 mg/Kg) to *Wistar* female rats generated an increase in aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), alkaline phosphatase (ALP), and gamma glutamyltranspeptidase (Gamma-GT), indicating liver injury with consequent damage to liver function, indicating that the inadequate use of this species may result in significant toxicity (Aquino et al., 2017). On the other hand, the extract of *Stryphnodendron*

*rotundifolium* shells, mixed with a diet based on soybean meal, corn, oat hay, and protein supplementation, was found to reduce ruminal proteolysis, improving the protein content of the duodenum without causing liver damage, which may involve the interaction of saponins and tannins with rumen-associated microorganisms (Barbosa, 2021).

A study by Salazar et al., (2021), found that acetone: water (7:3; v/v) extract obtained from the stem bark of *Stryphnodendron rotundifolium* showed low toxicity (<10%) in the *Artemia salina* assay at the concentration of 250 µg/mL. Of note, the extract was characterized by the prevalence of constituents such as gallic acid (2), monomeric, dimeric, and trimeric PAs with gallate substitutions, and C-hexosyl-O-pentosyl-5,7-dihydroxychromone Isomer. The water: ethanol (1:1; v/v) bark extract also exhibited cytoprotective effects in plants exposed to Al<sup>+3</sup> and Hg<sup>+2</sup> toxic conditions (Coutinho et al., 2017).

In the above-mentioned studies, different results are reported with regard to the cytotoxic and toxic effects of fruits and extracts of the genus, which may be explained in terms of concentrations, preparations, species, secondary metabolites profile, and other variables that differ along with the studies. Anyway, an effort should be made to develop a toxicological evaluation aimed to establish the safety conditions associated with the use of *Stryphnodendron* species in both ethnopharmacological and drug development contexts.

### **3.7 Drug preparations and official herbal records**

The National Health Surveillance Agency of Brazil (ANVISA), reports *Stryphnodendron adstringens* as a medicinal plant used in the obtention of industrialized plant medicines. In this context, the decoction of its bark is used as a healing and antiseptic agent of topical use in the skin and oral and genital mucosas. The species is also reported in several editions (1<sup>st</sup>, 2<sup>nd</sup>, 4<sup>th</sup>, and 5<sup>th</sup>) of the Brazilian pharmacopoeia (Brazilian Pharmacopoeia, 2010; Brazil, 1929; 1959; 1976). *Stryphnodendron adstringens* is found in the National List of Medicinal Plants of Interest to SUS (Brazil's unified health system)-RENISUS (Ministry of Health and ANVISA, 2014; Brazil, 2009a; 2009b; Brazil, 2010; Carvalho, et al., 2008; Pereira, 2013).

A 5-year study in a Brazilian pharmaceutical company, which aimed to develop herbal medicines based on national and international studies, developed several herbal

drugs, including an ointment with standard extract of *Stryphnodendron adstringens* bark, indicated for healing of grade I and II lesions. It was found that ointments presenting extract concentrations between 3 and 6% w/w improved the healing process in rodents, which led to a patent application by the State University of São Paulo (USP, Ribeirão Preto) (Oliveira, 2003), leading to the development of the Fitoscar® ointment. The development of this herbal medicine involved a clinical study with 27 patients of different age groups, showing significant healing efficacy for level I and II ulcers (Minatel et al., 2010; UNAERP, 2004; Marques and Souza, 2012). Fitoscar® was registered in December 2007 with ANVISA under registration Number 101180605, valid until 12/2017, under the custody of Apsen pharmaceutical S/A (CNPJ 62.462.015 / 0001-29). Fitoscar is presented as a topical ointment containing 60 mg of 50% dry extract of *Stryphnodendron adstringens* per gram of ointment, corresponding to 30 mg of total phenols and 27 mg of total tannins per gram (Ministry of Health and ANVISA, 2014).

According to the Industrial Property Magazine (RPI) № 2033, a Fitoscar product was registered on 09/18/2007 (registration number 900504579) as an ointment for medical purposes, medical adhesives for healing purposes and medicine for human use (skincare pharmaceuticals) (RPI, 2009). Considering that, *Stryphnodendron adstringens* belongs to RENISUS and is already used in the preparation of industrialized herbal medicines it is expected that this and other species of the genus can be used in the preparation of other therapeutic products.

*Stryphnodendron adstringens* appears as a medicinal plant in the 5th edition of the Brazilian Pharmacopoeia. The herbal medicine obtained from dried stem bark contains 8% of total tannins, of which at least 0.2 mg/g corresponds to gallic acid and 0.3 mg/g corresponds to gallic acid (Brazilian Pharmacopoeia, 2010). Although it appears in the Brazilian Pharmacopoeia Phytotherapeutic Registry (RFFB), the considerable absence of records of *Stryphnodendron adstringens* and other species of the genus makes it difficult to standardize and validate quality control tests for its therapeutic products (Pereira, 2013).

A survey on the knowledge of Primary Health Care (BHC) professionals in the municipalities of Bueno Brandão, Inconfidentes, Jacutinga and Monte Sião, in the south of Minas Gerais (Brazil), revealed that *Stryphnodendron adstringens* is prepared by decoction in a proportion of 3g (1 tablespoon) to 1L of water. The product is applied in

the form of compresses to the injured area 2 to 3 times a day. The topical use in adults and children is indicated for the healing of lesions on the skin, oral and genital mucosa and as an antiseptic, although the use in lesions with an intense inflammatory process is not recommended (Bueno et al., 2016).

The literature presents a medicinal formulation of a cream prepared from 10 mL of *Stryphnodendron adstringens* glycolic extract, 5 mL of sunflower oil, and 100 g of base cream, which was indicated for external use in wound healing (Bueno et al., 2016). However, the study does not report the proportions of bark and propylene glycol solution used in the extraction, which makes it impossible to determine the concentration of the plant drug in the formulation.

Other formulations released by the Ministry of Health of Brazil include i.) 10% *Stryphnodendron adstringens* cream in sunflower oil (60g), indicated for wounds in the granulation phase and abrasions, applied to the injured site 2 to 3 times a day. It is warned that the use in the elderly may cause the appearance of fibrin; ii) 5% calendula cream with 5% *Stryphnodendron adstringens* (30 and 60 g), indicated for wound healing in mild inflammatory process and initial granulation phase, stage II decubitus ulcer, and hyperkeratosis wounds, applied to the affected site 2 to 3 times a day (Bueno et al., 2016). In line with previous information on the development of new formulations, it is expected that the number of herbal medicines of the genus registered with regulatory agencies for the intellectual and industrial property will increase.

#### **4. Conclusion**

The genus *Stryphnodendron* has inestimable importance in folk medicine due to its consolidated use in wound healing, microbial infections, inflammation, and gastric disorders. However, there is little consideration regarding its contraindications and dosages used in medicinal preparations.

The medicinal properties reported by ethnopharmacological research have been confirmed by experimental studies, correlating the biological effects with the presence and content of phenolic secondary metabolites, especially proanthocyanidins (PAs) and terpenoid compounds. Such correlation has guided the development of medicinal formulations from the stem bark by the general population and helped in the discovery of new drugs.



While medicinal formulations obtained from *Stryphnodendron* species have exhibited promising bioactive properties, controversial results are reported with regard to their toxicity. In addition, little information on absorption, bioavailability, action on target cells and organs, and metabolism of main bioactive compounds is available.

As currently there is not enough scientific data on dosage correlations and pharmacological and toxicological parameters, this information should be completed through studies on the mechanisms of action in experimental models, as well as on the establishment of tolerance and microbial transformation, to guarantee the necessary security in the development of natural remedies and justify their pharmacological use.

**Authors' contributions:** Writing – Original Draft Preparation, Visualization, Investigation, Methodology and Visualization **Gerson Javier Torres Salazar** (G.J.T.S.); Writing – Review & Editing **Jaime Ribeiro-Filho** (J.R.F), Investigation **Sandra Mara Pimentel Duavy** (S.M.P.D.) and **Marta Maria de Almeida Souza** (M.M.A.S.); Review & Editing, **Irwin Rose Alencar Menezes** (I.R.A.M); Supervision, **José Galberto Martins da Costa** (J.G.M.d.C).

**Funding:** Supported by the Brazilian Agency of Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES).

**Institutional Review Board Statement:** Not applicable.

**Informed Consent Statement:** Not applicable

**Data Availability Statement:** Available data are presented in the manuscript.

**Conflicts of interest:** None to declare, our study has no conflicts interest.

**Consent for publication:** All authors are according to this submission.

## References

- Aguiar-Filho, C. R.; Albuquerque, R. F.; Rocha, B. P.; Colodel, E. M.; Lemos, R. A.; Riet-Correa, F.; Evêncio-Neto, J.; Mendonça, F. S. 2013. Avaliação da toxicidade das favas de *Stryphnodendron fissuratum* (Mimosoideae) em vacas gestantes. *Pesq. Vet. Bras.* 33(5):607-612.
- Albuquerque, U. P.; De Medeiros, P. M.; de Almeida, A. L.; Monteiro, J. M.; Neto, E. M.; de Melo, J. G.; Dos Santos, J. P. 2007. Medicinal plants of the caatinga (semi-arid) vegetation of NE Brazil: a quantitative approach. *J. Ethnopharmacol.* 114(3): 325-354.
- Almeida, A. C.; Andrade, V. A.; Fonseca, F. S. A.; Macêdo, A. A.; Santos, R. L.; Colen, K. G. F.; Martins, E. R.; Macêdo, N. A. 2017. Acute and chronic toxicity and antimicrobial activity of the extract of *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville. *Pesquisa Veterinária Brasileira.* 37(8):840-846. doi: 10.1590/S0100-736X2017000800010

- Almeida, A. C.; Sobrino, E. M.; de Pinho, L.; Souza, S. P. N.; Martins, E. R.; Duarte, E. R.; Santos, H. O.; Brandi, I. V.; Cangussu, A. S.; Costa, R. J. P. 2010. Acute toxicity of leaf hidroalcoholic extracts of *Lippia sidoides*, *Myracrodruon urundeuva*, *Stryphnodendron adstringens* and of *Caryocar brasiliense* by intraperitoneal route. *Cienc. Rural*. 40 (1): 200-203. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782009005000230>
- Alves, P. G. S.; Povh, J. A. 2013. Estudo etnobotânico de plantas medicinais na comunidade de Santa Rita, Ituiutaba – MG. *Biotemas*. 26 (3): 231-242.
- Aquino, M. D. A.; Teles, A. A. B.; Holanda, V. N.; Menezes I. R. A. Vandesmet, V.C.S. 2017. Evaluation of the Hepatic Activity of the Hydroalcolic Extract of Bark *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. *Rev. Interfaces*. 125; Vol. 5, n 15: 48-54. <https://doi.org/10.16891/2317-434X.v5.e15.a2017pp48-54>
- Baldivia, D. D. S.; Leite, D. F.; Castro, D. T. H. D.; Campos, J. F.; dos Santos, U. P.; Paredes-Gamero, E. J.; Carollo, C. A.; Silva, D. B.; Souza, K. de P.; dos Santos, E. L. 2018. Evaluation of *In Vitro* Antioxidant and Anticancer Properties of the Aqueous Extract from the Stem Bark of *Stryphnodendron adstringens*. *Int. J. Mol. Sci.* 19, 2432. Doi:10.3390/ijms19082432
- Barbosa, C. R. 2021. Uso do barbatimão (*Stryphnodendron rotundifolium*) como aditivo na alimentação de cordeiros em confinamento. Dissertação – Mestrado em Zootecnia – Faculdade de Ciências Agrárias – Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados-MS, 111p Available in: <https://repositorio.ufgd.edu.br/jspui/bitstream/prefix/4587/1/CristianeRebou%c3%a7asBarbosa.pdf>
- Bardal, D. 2011. Atividade antimicrobiana de barbatimão *Stryphnodendron adstringens* (Martius) Coville em agentes causadores da mastite. Dissertation (Master in Agricultural Sciences, area of concentration in Agroecology - Universidade Federal de Minas Gerais, Montes Claros, MG: ICA/UFMG. Available in: <http://www.bibliotecadigital.ufmg.br/dspace/bitstream/handle/1843/NCAP-8SDNVD/diegobardal.pdf?sequence=1>
- Baurin, N.; Arnoult, E.; Scior, T.; Bernard, P. 2002. Preliminary screening of some tropical plants for anti-tyrosinase activity. *J. Ethnopharmacol.* v. 82, n.2-3: 155-8
- Beltreschi, L.; Lima, R. B.; Cruz, D. D. 2018. Traditional botanical knowledge of medicinal plants in a “quilombola” community in the Atlantic Forest of northeastern Brazil. *Environ Dev Sustain.* 1-19. <https://doi.org/10.1007/s10668-017-0079-6>
- Bertoia, M. L.; Rimm, E. B.; Mukamal, K. J.; Hu, F. B.; Willett, W. C.; Cassidy, A. 2015. Dietary flavonoid intake and weight maintenance: three prospective cohorts of 124,086 US men and women followed for up to 24 years. *Br Med J.* 352: i17.
- Bitu, Vanessa de C. N.; Bitu, Valdeneide, de C. N.; Matias, E. F. F.; de Lima, W. P.; Portelo A. da C.; Coutinho, H. D. M.; de Menezes, I. R. A. 2015. Ethnopharmacological study of plants sold for therapeutic purposes in public markets in northeast Brazil. *J Ethnopharmacol.* v. 172, article 9584, 265-272. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2015.06.022>
- Bladé, C.; Aragonès, G.; Arola-Arnal, A.; Mugarza, B.; Bravo, F. I.; Salvadó, M. J. 2016. Proanthocyanidins in health and disease. *Biofactors.* 42: 5–12.
- Brandão, E.; Soares, S.; Mateus, N.; de Freitas, V. 2014. *In vivo* interactions between procyanidins and human saliva proteins: effect of repeated exposures to procyanidins solution. *J Agric Food Chem.* 62: 9562–9568.

- Brazil. 1929. Departamento de Saúde Pública. Farmacopéia Brasileira (FB) 1a edição. Brasília: ANVISA. Available in: [http://www.anvisa.gov.br/hotsite/farmacopeiabrasileira/publicacoes/1\\_edicao.pdf](http://www.anvisa.gov.br/hotsite/farmacopeiabrasileira/publicacoes/1_edicao.pdf)
- Brazil. 1959. Serviço Nacional de Fiscalização da Medicina e da Farmácia. Farmacopéia Brasileira (FB) 2a edição. ANVISA. Available in: [http://www.anvisa.gov.br/hotsite/farmacopeiabrasileira/publicacoes/2\\_edicao.pdf](http://www.anvisa.gov.br/hotsite/farmacopeiabrasileira/publicacoes/2_edicao.pdf)
- Brazil. 1976. Ministério da Saúde. Farmacopéia Brasileira (FB) 3a edição. ANVISA. Available in: [http://www.anvisa.gov.br/hotsite/farmacopeiabrasileira/publicacoes/3\\_edicao.pdf](http://www.anvisa.gov.br/hotsite/farmacopeiabrasileira/publicacoes/3_edicao.pdf)
- Brazil. 1999. Lei Nº 9.782. Define o Sistema Nacional de Vigilância Sanitária, cria a Agência Nacional de Vigilância Sanitária, e dá outras providências. Brasília: Câmara dos Deputados. Available in: [http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/388704/lei\\_9782\\_99.pdf/92a497c2-9d19-4ce0-8eaa-624b8d6bd245](http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/388704/lei_9782_99.pdf/92a497c2-9d19-4ce0-8eaa-624b8d6bd245)
- Brazil. 2009a. Ministério da Saúde. Secretária de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos em Saúde. Departamento de Assistência Farmacêutica. Brasília: (DF). Available in: <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/RENISUS.pdf>
- Brazil. 2009b. Ministério da Saúde. Portal do Ministério da Saúde. Relação Nacional de Plantas de Interesse ao SUS (RENISUS). Brasília: MS. Available in: [http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/RENISUS\\_2010.pdf](http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/RENISUS_2010.pdf).
- Brazil. RDC Nº. 10. 2010. Dispõe sobre a notificação de drogas vegetais junto à Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e dá outras providências. Brasília. ANVISA. Available in: [http://189.28.128.100/dab/docs/legislacao/resolucao10\\_09\\_03\\_10.pdf](http://189.28.128.100/dab/docs/legislacao/resolucao10_09_03_10.pdf)
- Brazilian Pharmacopoeia. 2010. 5ª ed., volume 2. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Fundação Oswaldo Cruz. Ministério da Saúde, Brasília, DF. ISBN 978-85-88233-41-6. Available in: [http://www.agricultura.gov.br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/legislacao-1/biblioteca-de-normas-vinhos-e-bebidas/farmacopeia\\_volume-2\\_2010\\_monografias.pdf](http://www.agricultura.gov.br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/legislacao-1/biblioteca-de-normas-vinhos-e-bebidas/farmacopeia_volume-2_2010_monografias.pdf)
- Bueno, A. M. J.; Martínez, B. B.; Bueno, J. C. 2016. Manual de plantas medicinais e fitoterápicos utilizados na cicatrização de feridas. Universidade do Vale do Sapucaí – (Univás). Mestrado profissional em Ciências Aplicadas á saúde. Pouso Alegre – MG. 136p. Available in: <http://www.univas.edu.br/mpcas/egresso/publicacao/2016102022681842740937.pdf>
- Burger, M. E.; Ahjert, N.; Baldisserotto, B.; Langeloh, A.; Schirmer, B.; Foletto, R. 1999. Analysis of the abortive and/or infertilizing activity of *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville. Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci. 36: 296-299.
- Carvalho, A. C. B.; Balbino, E. E.; Maciel, A.; Perfeito, J. P. S. 2008. Situação do registro de medicamentos fitoterápicos no Brasil. Rev. Bras. Farmacogn. 18(2): 314-319. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-695X2008000200028>.
- Carvalho, J. T. G. de; Agudelo, Juan Sebastian H.; Baldivia, D. Da S.; Carollo, C. A.; Silva, D. B.; Souza, K. de P.; Câmara, N. O. S.; Santos, E. L. dos. 2020. Hydroethanolic stem bark extracts of *Stryphnodendron adstringens* impair M1 macrophages and promote M2 polarization. Journal of Ethnopharmacology. 254. 112684. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.112684>
- Cecílio, A. B.; de Faria, D. B.; Oliveira, P. de C.; Caldas, S.; de Oliveira, D. A.; Sobral, M. E. G.; Duarte, M. G. R.; Moreira, C. P. de S.; Silva, C. G.; de Almeida, V. L. 2012.

- Screening of Brazilian medicinal plants for antiviral activity against rotavírus. J. of Ethnopharmacology. 141: 975 – 981. doi:10.1016/j.jep.2012.03.031
- Chaves, D. A.; Lemes, S. R.; Araujo, L. A.; Sousa, M. A. M.; Freitas, G. B.; Lino-Junior, R. S.; Mrue, F.; Melo-Reis, P. R. 2016. Avaliação da atividade angiogênica da solução aquosa do barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*). Rev. Bras. Pl. Med. Campinas, v.18, n.2, p.524-530. doi: 10.1590/1983-084X/15\_093. Available in: <http://www.scielo.br/pdf/rbpm/v18n2/1516-0572-rbpm-18-2-0524.pdf>
- Coelho, J. M.; Antonelli, A. B.; Silva, D. N.; Carvalho, T. M. M. B.; Pontes, E. R. J. C.; Odashiro, A. N. 2010. Effects of silver sulfadiazine, ipê roxo (*Tabebuia avellanedae*) extract and Barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*) extracts on cutaneous wound healing in rats. Rev. Col. Bras. Cir. 37(1): 45-51.
- Corrêa, M. P. 1978. Dicionário das plantas uteis do Brasil e das exóticas cultivadas. Ministério da Agricultura. Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal. Rio de Janeiro, Imprensa Nacional. 1926 – 1978. Volume I.
- Costa, M. A.; de Mello, J. C. P.; Kaneshima, E. M.; Nakamura, T. U.; Filho, B. P. D.; Audi, E. A.; Nakamura, C. V. 2013. Acute and Chronic Toxicity of an Aqueous Fraction of the stem bark of *Stryphnodendron adstringens* (Barbatimão) in Rodents. Evid. Based Complement. Alternat. Med. 1-9. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/841580>
- Costa, M. A.; Ishida, K.; Kaplum, V.; Koslyk, E.; de Mello, J. C. P.; Nakamura, T. U.; Filho, B. P. D.; Nakamura, C. V. 2010. Safety evaluation of proanthocyanidin polymer-rich fraction obtained from stem bark of *Stryphnodendron adstringens* (Barbatimão) for use as a pharmacological agent. Reg. Toxicol. Pharmacol. 58: 330-335. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2010.07.006>
- Costa, M. J. G., Leite, G. de O., Dubois, A. F., Seeger, R. L., Boligon, A. A., Athayde, M. L., Campos, A. R., da Rocha, J. B. T. 2012. Antioxidant effect of *Stryphnodendron rotundifolium* Martius extracts from Cariri-Ceará state (Brazil): potential involvement in its therapeutic use. Molecules. 17: 934–950. doi: 10.3390/molecules17010934
- Coutinho, H. D. M.; Martins, G. M. A. B.; Morais-Braga, M. F. B.; Menezes, I. R. A.; Machado, A. J. T.; Freitas, M. A.; Santos, A. T. L.; Costa, M. S.; Campina, F. F.; Silva, A. R. P.; Lima, L. F.; Leite, N. F.; Tintino, S. R. 2017. *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. As an Adjuvant for the Plant Germination and Development under Toxic Concentrations of HgCl<sub>2</sub> and AlCl<sub>3</sub>. Water Air Soil Pollut. 228:424. <https://doi.org/10.1007/s11270-017-3614-z>
- Coutinho, H.; Pinto, D. S.; Ribeiro, J. E. G.; Friedman, H. 2004. Ação antiedematosa do *Stryphnodendron barbadetiman* (barbatimão) a 1 por cento em comparação com a clorhexidina a 0,12 por cento. Rev. Odonto Ciência. 19 (45): 201–206.
- Cunha S. A. & Bartolotto I. M. 2011. Etnobotânica de Plantas Medicinais no Assentamento Monjolinho, município de Anastácio, Mato Grosso do Sul, Brasil. Acta Botanica Brasilica. 25(3): 685-698. <https://doi.org/10.1590/S0102-33062011000300022>
- Demarque, D. P.; Callejon, D. R.; de Oliveira, G. G.; Silva, D. B.; Carollo, C. A.; Lopes, N. P. 2018. The role of tannins as antiulcer agents: a fluorescence-imaging based study. Original Article. Rev Bras Farmacogn. v. 28 n.4: 425-432 <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2018.03.011>
- Durão, H. L. G., Costa, K. G., & Medeiros, M. 2021. Etnobotânica de plantas medicinais na comunidade quilombola de Porto Alegre, Cametá, Pará, Brasil. Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi. Ciências Naturais. 16(2), 245-258. <http://doi.org/10.46357/bcnaturais.v16i2.191>.

- Fagundes, N. C. A.; Oliveira, G. L.; Souza, B. G. 2017. Etnobotânica de plantas medicinais utilizadas no distrito de Vista Alegre, Claro dos Poções – Minas Gerais. *Revista Fitos*. Vol. 11(1): 1-118. Doi 10.5935/2446-4775.20170007
- Favaretto, A. L. V.; Contrera, M. G. D.; Petenusci, S. O.; Silva, N. C.; Lopes, R. A.; Satake, T. 1985. Ação cicatrizante do Extrato Aquoso de Casca de Barbatimão *Stryphnodendron obovatum* Benth em úlceras por contenção em ratos. *Rev Esc Farm Odont Alfenas* 8:7-12.
- Felipe, A. M. M.; Rincão, V. P.; Benati, F. J.; Linhares, R. E. C.; Galina, K. J.; de Toledo, C. E. M.; Lopes, G. C.; de Mello, J. C. P.; Nozawa, C. 2006. Antiviral effect of *Guazuma ulmifolia* and *Stryphnodendron adstringens* on poliovirus and bovine herpesvirus. *Biol. Pharm. Bull.* 29: 1092–1095.
- Ferreira, E. V.; Boabaid, F. M.; Arruda, L. P.; Lemos, R. A. A.; Souza, M. A.; Nakazato, L.; Colodel, E.M. 2009. Intoxicação por *Stryphnodendron fissuratum* (Mimosoideae) em bovinos. *Pesq. Vet. Bras.* 29(11): 951-957. Available in: <http://www.scielo.br/pdf/pvb/v29n11/a15v2911.pdf>
- Filho, J. C. C. F.; da Cunha, D. A.; Pereira, I. F.; Gondim, B. L. C.; Valença, A. M. G. 2013. Evaluation of the antibacterial activity of *Hamamelis virginiana* L. and *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. tinctures against oral bacteria. *Rev. Bras. de Ciências da Saúde*. V. 17, Nº 1: 71-78. doi:10.4034/RBCS.2013.17.01.09
- Filho, P. R. dos S.; Ferreira, L. A.; Gouvêa, C. M. C. P. 2011. Protective action against chemical-induced genotoxicity and free radical scavenging activities of *Stryphnodendron adstringens* ("barbatimão") leaf extracts. *Rev. Bras. Farmacogn.* 21(6): 1000-1005. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-695X2011005000176>
- Flor, A. S. S. O. Barbosa, W. L. R. 2015. Sabedoria popular no uso de plantas medicinais pelos moradores do bairro do sossego no distrito de Marudá – PA. *Rev. Bras. Pl. Med.* v.17, n.4, supl. I: 757-768.
- Freitas, A. L. D. de; Kaplum, V.; Rossi, D. C. P.; da Silva, L. B. R.; Melhem, M. de S. C.; Taborda, C. P.; de Mello, J. C. P.; Nakamura, C. V.; Ishida, K. 2018. Proanthocyanidin polymeric tannins from *Stryphnodendron adstringens* are effective against *Candida* spp. isolates and for vaginal candidiasis treatment. *J Ethnopharmacol.* 216: 184–190. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2018.01.008>
- Funatogawa, K.; Hayashi, S.; Shimomura, H.; Yoshida, T.; Hatano, T.; Ito, H.; Hirai, Y. 2004. Antibacterial activity of hydrolyzable tannins derived from medicinal plants against *Helicobacter pylori*. *Microbiol. Immunol.* 48: 251–261.
- Gomes, P. W. P.; Pamplona, T. C. D. L.; Navegantes-Lima, K. C.; Quadros, L. B. G.; Oliveira, A. L. B.; Santos, S. M.; Silva, C. Y. Y.; Silva, M. J. C.; Souza, J. N. S.; Quirós-Guerrero, L. M.; Boutin, J. A.; Monteiro, M. C.; Silva, M. N. da. 2021. Chemical composition and antibacterial action of *Stryphnodendron pulcherrimum* bark extract, “barbatimão” species: Evaluation of its use as a topical agent. *Arabian Journal of Chemistry*. 14, 103183. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2021.103183>
- Gonzalez-Abuin, N.; Pinent, M.; Casanova-Martí, A.; Arola, L.; Blay, M.; Ardevol, A. 2015. Procyanidins and their healthy protective effects against type 2 diabetes. *Curr Med Chem.* 22: 39–50.
- Guizelini, C. C.; Pupin, R. C.; Arredondo, J. A. C.; Robalinho, L. L.; Bernardo, R. N.; Silva, W. J.; Franco, G. L. F.; Lemos, R. A.A. 2021. Clinical and anatomopathological aspects of *Stryphnodendron fissuratum* poisoning in cattle and sheep. *Toxicon.* 194. 11-16. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2021.01.016>

- Harsha, C.; Banik, K.; Bordoloi, D.; Kunnumakkara, A. B. 2017. Antiulcer properties of fruits and vegetables: a mechanism based perspective. *Food Chem. Toxicol.* 108: 104–119. doi: 10.1016/j.fct.2017.07.023
- Haslam, E. 1996. Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs: possible models of action. *J. Nat. Prod.* 59: 205-215.
- Henriques, B. O.; Corrêa, O.; Azevedo, E. P. C.; Pádua, R. M.; de Oliveira, V. L.; Oliveira, T. H. C.; Boff, D.; Dias, A. C. F.; de Souza, D. G.; Amaral, F. A.; Teixeira, M. M.; Castilho, R. O.; Braga, F. C. 2016. *In vitro* TNF- $\alpha$  inhibitory activity of Brazilian plants and anti-inflammatory effect of *Stryphnodendron adstringens* in an acute arthritis model. *Evid. Based Complement. Altern. Med.* 1–15. <http://dx.doi.org/10.1155/2016/9872598>
- Hernandes, L.; Pereira, L. M. da S.; Palazzo, F.; de Mello, J. C. P. 2010. Wound-healing evaluation of ointment from *Stryphnodendron adstringens* (barbatimão) em rat skin. *Braz. J. Pharm. Sci.* 46(3): 431-436.
- Inducchi, S. E. 2002. Oral antihyperglycemic therapy: for type 2 diabetes: Scientific review. *Jama.* 287(3): 360-72.
- Ishida, K.; de Mello, J. C. P.; Cortez, D. A. G.; Filho, B. P. D.; Nakamura, T. O., Nakamura, C. V. 2006. Influence of tannins from *Stryphnodendron adstringens* on growth and virulence factors of *Candida albicans*. *J. Antimicrob Chemother.* 58: 942–949. 2006. doi:10.1093/jac/dkl377
- Ishida, K.; Rozental, S.; de Mello, J. C. P.; Nakamura, C. V. 2009. Activity of tannins from *Stryphnodendron adstringens* on *Cryptococcus neoformans*: effects on growth, capsule size and pigmentation. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 8 (29): 1-10. doi:10.1186/1476-0711-8-29
- Jiménez, N.; Esteban-Torres, M.; Mancheño, J. M.; de las Rivas B.; Muñoz, R. 2014. Tannin Degradation by a Novel Tannase Enzyme Present in Some *Lactobacillus plantarum* Strains. *Appl Environ Microbiol.* 80: 2991–2997.
- Junior, L. C. S. P.; Oliveira, E. C. de.; Rorig, T. D. V.; Araújo, P. I. P. de.; Sanchez, E. F.; Rafael, R.; Mello, J. C. P. de.; Fuly, A. L. 2020. The plant *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville as a neutralizing source against some toxic activities of *Bothrops jararacussu* snake venom. *Toxicon.* 186. 182–190. doi.org/10.1016/j.toxicon.2020.08.011
- Kaplum, V.; Ramos, A. C.; Consolaro, M. E. L.; Fernandez, M. A.; Nakamura, T. U.; Filho, B. P. D.; Silva, S. de O.; de Mello, J. C. P.; Nakamura, C.V. 2018. Proanthocyanidin Polymer-Rich Fraction of *Stryphnodendron adstringens* Promotes *in vitro* and *in vivo* Cancer Cell Death via Oxidative Stress. *Front Pharmacol.* V. 9, Article 694: 1-18. doi: 10.3389/fphar.2018.00694.
- Kffuri, C. W. 2008. Etnobotânica de plantas medicinais no município de Senador Firmino (Minas Gerais). Dissertation presented to the Federal University of Viçosa, to obtain the title of Magister Scientiae. Available in: <http://www.locus.ufv.br/bitstream/handle/123456789/4488/texto%20completo.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Leite, I. A.; Marinho, M. das G. V. 2014. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais em comunidade indígena no município de Baía da traição-PB. *Biodiversidade.* v.13, n1: pág. 82. Available in: <http://www.periodicoscientificos.ufmt.br/ojs/index.php/biodiversidade/article/download/1542/1212>

- Leite, M. A. 2014. Isolamento e identificação estrutural de polifenóis em *Stryphnodendron adstringens* (Barbatimão). Dissertation presented to obtain the Master of Pharmaceutical Sciences degree at the State University of Maringá, Paraná, Brazil. Health Sciences Center. Available in: <http://sites.uem.br/palafito/trabalhos/trabalhos/maisa-almeida-leite>
- Li, S.; Sui, Y.; Xiao, J.; Wu, Q.; Hu, B.; Xie, B. 2013. Absorption and urinary excretion of A-type procyanidin oligomers from *Litchi chinensis* pericarp in rats by selected ion monitoring liquid chromatography-mass spectrometry. *Food Chem.* 138: 1536–1542.
- Lima, J. C. S.; Martins, D. T. O.; Souza, P. T. J. 1998. Experimental evaluation of stem bark of *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville for anti-inflammatory activity. *Phytother. Res.* 12: 218-220.
- Lima, S. C.; Arruda, G. O.; Renovato, R. D.; Alvarenga, M. R. 2012. Representations and uses of medicinal plants in elderly men. *Rev. Lat. Am. Enferm.* 20 (4): 778–786. doi:10.1590/S0104-11692012000400019
- Lisboa, M. dos S.; Pinto, A.S.; Barreto, P. A.; Ramos, Y. J.; Silva, M. Q. O. R.; Caputo, M. C.; de Almeida, M. Z. 2017. Estudo etnobotânico em comunidade quilombola Salamina / Putumujú em Maragogipe, Bahia. *Revista Fitos.* V. 11(1): 1-118. Doi 10.5935/2446-4775.20170006
- Lopes, G. C. 2003. Estudo Botânico, físico-químico, químico e biológico de cascas de *Stryphnodendron polyphyllum* Mart. (Leguminosae). Area of biologically active natural products. Dissertation presented in the Graduate Program in pharmaceutical sciences of the State University of Maringá UEM. Available in: <http://livros01.livrosgratis.com.br/cp155442.pdf>
- Lopes, G. C.; Machado, F. A. V.; Toledo, C. E. M.; Sakuragi, C. M.; de Mello, J. C. P. 2009. Chemotaxonomic significance of 5-deoxyproanthocyanidins in *Stryphnodendron* species. *Biochem. Syst. Ecol.* 36: 925-931. doi:10.1016/j.bse.2008.10.004
- Lopes, G. C.; Nakamura, C. V.; Dias-Filho, B. P.; de Mello, J. C. P. 2003. Estudos físico-químico, químico e biológico de cascas e extratos de *Stryphnodendron polyphyllum* Mart. (Leguminosae). *Braz J Pharmacogn.* 13: 24–27.
- Lopes, G. C.; Sanches, A. C. C.; Nakamura, C. V.; Filho, B. P. D.; Hernandez, L.; de Mello, J. C. P. 2005. Influence of extracts of *Stryphnodendron polyphyllum* Mart. and *Stryphnodendron obovatum* Benth. on the cicatrization of cutaneous wounds in rats. *J. Ethnopharmacol.* 99: 265-272.
- Luckow, M. 2005. Tribo Mimoseae. In: Lewis G, Schrire B.D., Mackinder B.A. Lock J.M. (Eds) *Legumes of the world*. Kew: Royal Botanic Gardens. 163-183.
- Luiz, R. L. F.; Vila, T. V. M.; de Mello, J. C. P.; Nakamura, C. V.; Rozental, S.; Ishida, K. 2015. Proanthocyanidins polymeric tannin from *Stryphnodendron adstringens* are active against *Candida albicans* biofilms. *BMC Complementary and Alternative Medicine.* 15(68): p1-11. Doi 10.1186/s12906-015-0597-4
- Luize, P. S.; Tiunan, T. S.; Morello, L. G.; Maza, P. K.; Nakamura, T. U.; Filho, B. P. D.; Cortez, D. A. G.; de Mello, J. C. P.; Nakamura, C. V. 2005. Effects of medicinal plant extracts on growth of *Leishmania* (L.) *amazonensis* and *Trypanosoma cruzi*. *Braz. J. Pharm. Sci.* v. 41, n. 1. Pp. 85–94 Available in: <https://cyberleninka.org/article/n/721656.pdf>
- Macêdo, D. G.; de Menezes, I. R. A.; Lacerda, S. R.; de Silva, M. A. P.; Ribeiro, D. A.; Macêdo, M. S.; Oliveira, L. G. S.; Saraiva, M. E.; Alencar, S. R.; Oliveira, S. F.; Santos, M. O.; de Almeida, B. V.; Macedo, J. G. F.; Sousa, F. F. S.; Soares, M. A.; de Araújo, T.

- M. S.; Souza, M. M. A. 2016. Versatility and consensus of the use of medicinal plants in an area of cerrado in the Chapada do Araripe, Barbalha - CE- Brazil. *J. Med. Plant Res.* v. 10, n. 31: 505–514. Doi: 10.5897/JMPR2015.5952
- Macedo, J. G. F.; de Menezes, I. R. A.; Ribeiro, D. A.; Santos, M. de O.; de Macêdo, D. G.; Macedo, M. J. F.; Almeida, B. V.; de Oliveira, L. G. S.; Leite, C. P.; Souza, M. M. de A. 2018. Analysis of the variability of therapeutic indications of medicinal species in the northeast of Brazil: comparative study. *Evid Based Complement Alternat Med.* Article ID 6769193: 28 pages. <https://doi.org/10.1155/2018/6769193>
- Macêdo, M. J. F.; Ribeiro, D. A.; Santos, M. de O.; de Macêdo, D. G.; Macedo, J. G. F.; de Almeida, B. V.; Saraiva, M. E.; de Lacerda, M. N. S.; Souza, M. M. de A. 2018. Fabaceae medicinal flora with therapeutic potential in Savanna areas in the Chapada do Araripe, Northeastern Brazil. *Rev Bras Farmacogn.* 28(6): 738-750. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2018.06.010>
- Macedo, M.; Ferreira, A. R. 2004. Plantas medicinais usadas para tratamentos dermatológicos, em comunidades da Bacia do Alto Paraguai, Mato Grosso. *Rev. Bras. Farmacogn.* 14, 40–44. Doi: 10.1590/S0102-695X2004000300016
- Machado, F. A. V. 2005. Estudo fitoquímico e avaliação da capacidade antioxidante de extratos das cascas de *Stryphnodendron polyphyllum* Mart., Leguminosae, Barbatimão. Dissertation to the postgraduate Program in pharmaceutical sciences, research and development of drugs and medicines. UNESP. Available in: <http://sites.uem.br/palafito/trabalhos/trabalhos/fatima-aparecida-vieira-machado>
- Marín, L.; Miguélez, E. M.; Villar, C. J.; Lombó, F. 2015. Bioavailability of dietary polyphenols and gut microbiota metabolism: antimicrobial properties. *Biomed Res Int.* 905215.
- Marques, L. C.; Souza, C. M. 2012. Pesquisa e Desenvolvimento de Fitoterápicos: Relatos de Experiência em Indústria Farmacêutica Nacional. *Revista Fitos.* v 7. n 1: 50-66 Available in: <http://revistafitos.far.fiocruz.br/index.php/revista-fitos/article/download/137/135>
- Massarotto, N. P. 2009. Diversidade e uso de plantas medicinais por comunidades quilombolas Kalunga e urbanas, no nordeste do Estado de Goiás, Brasil. Master Thesis in Forest Sciences. Post Graduate Department in Forest Sciences, University of Brasilia, Brasilia. DF. 130p. Available in: [http://repositorio.unb.br/bitstream/10482/4049/1/2009\\_NataliaPradoMassartto.pdf](http://repositorio.unb.br/bitstream/10482/4049/1/2009_NataliaPradoMassartto.pdf)
- Mello, J. C. P.; Petereit, F.; Nahrstedt, A. 1999. A dimeric prodelphinidins from *Stryphnodendron adstringens*. *Phytochemistry.* 51: 1105-1107.
- Mello, J. C. P.; Petereit, F.; Nahrstedt, A. 1999a. Flavan-3-ols and Prodelphinidins from *Stryphnodendron adstringens*. *Phytochemistry.* Vol. 41, No. 3: 807-813.
- Mello, J. C. P.; Petereit, F.; Nahrstedt, A. 1999b. Prorobinetinidins from *Stryphnodendron adstringens*. *Phytochemistry.* 42(3): 857-862.
- Melo, J.O.; Endo, T.H.; Bersani-Amado, L.E.; Svidzinski, A.E.; Baroni, S.; Mello, J.C.P.; Bersani-Amado, C.A. 2007. Effect of *Stryphnodendron adstringens* (barbatimão) bark on animal models of nociception. *Rev. Bras. Cienc. Farm.* v. 43, n. 3, 465–469. <https://doi.org/10.1590/S1516-93322007000300015>
- Min, K.J.; Kwon, T.K. 2014. Anticancer effects and molecular mechanisms of epigallocatechin-3-gallate. *Integr. Med. Res.* 3, 16–24.
- Minatel, D. G.; Pereira, A. M. S.; Chiaratti, T. M.; Pasqualin, L.; Oliveira, J. C. N.; Couto, L. B.; Lia, R. C.; Cintra, J. M.; Bezzon, M. F. A.; Franca, S. C. 2010. Estudo clínico para



validação da eficácia de pomada contendo barbatimão (*Stryphnodendron adstringens* Mart. Coville) na cicatrização de úlceras de decúbito. Rev Bras Med. 67(7):250-56.

Ministry of Health and ANVISA. 2014. Monografia da espécie *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (Barbatimão). 20K5 (DAF/SCTIE/MS)/2012. Brasília. Available in: <https://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2014/novembro/25/Vers--o-cp-Stryphnodendron.pdf>

Morey, A.T.; Souza, F.C.; Santos, J.P.; Pereira, C.A.; Cardoso, J.D.; Almeida, R.S.; Costa, M.A.; Mello, J.C.P.; Nakamura, C.V.; Pinge-Filho, P.; et al. 2016. Antifungal Activity of Condensed Tannins from *Stryphnodendron adstringens*: Effect on *Candida tropicalis* Growth and Adhesion Properties. Curr. Pharm. Biotechnol. 17, 365–375.

Muñoz, J. E.; Rossi, D. C. P.; Ishida, K.; Spadari, C. C.; Melhem, M. S. C.; Garcia, D. M.; Caires, A. C. F.; Taborda, C. P.; Rodrigues, E. G. 1991. Antifungal activity of the biphosphinic cyclopalladate C7a against *Candida albicans* yeast forms *in vitro* and *in vivo*. Front. Microbiol. 3(8): 771. doi: 10.3389/fmicb.2017.00771

Nascimento, A. M.; Guedes, P. T.; Castilho, R. O.; Vianna-Soares, C. D. 2013. *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (Fabaceae) proanthocyanidins quantitation by RP-HPLC. Braz. J. Pharm. Sci. v 49, n 3: 549–558. Available in: <http://www.scielo.br/pdf/bjps/v49n3/v49n3a16.pdf>

Nascimento, M. W. A.; Veríssimo, R. C. S. S.; Bastos, M. L. de A.; Bernardo, T. H. L. 2016. Medicinal plants indications from herbal healers for wound treatment. Rev. Eletrôn. Enferm. 18: 1–10. <http://dx.doi.org/10.5216/ree.v18.31143>.

Nuñez-Sánchez, M. A.; García-Villalba, R.; Monedero-Saiz, T.; García-Talavera, N. V.; Gómez-Sánchez, M. B.; Sánchez-Álvarez, C. 2014. Targeted metabolic profiling of pomegranate polyphenols and urolithins in plasma, urine and colon tissues from colorectal cancer patients. Mol Nutr Food Res. 58: 1199–1211.

Occhioni, E. M. L. 1990. Considerações taxonômicas no gênero *Stryphnodendron* Mart. (Leguminosae – Mimosoideae) e distribuição geográfica das espécies. Acta Bot. Bras. 4(2): 153-158.

Ojasti, J.; Dallmeier, F. 2000. Manejo de fauna Silvestre Neotropical. SI/MAB. Serie # 5. Smithsonian Institution / MAB Biodiversidad Program. Washington D.C. Chapter 2: La fauna Neotropical y su entorno.

Oliveira, D. G. 2006. Caracterização sócio-demográficas e epidemiológicas da tuberculose: avaliação etnobotânica e da atividade antimicobacteriana das plantas utilizadas por uma comunidade indígena. Doctoral Thesis - Paulista State University. “Júlio de Mesquita Filho”. Faculty of Pharmaceutical Sciences. Postgraduate Program in Clinical Analysis. Available in: <http://hdl.handle.net/11449/100125>

Oliveira, D. R. de; Ferreira-Junior, W. S.; Bitu, V. de C. N.; Pinheiro, P. G.; Menezes, C. D. A.; Brito-Junior, F. E.; Albuquerque, U. P.; Kerntopf, M. R.; Cotinho, H. D. M.; Fachineto, R.; de Menezes, I. R. A. 2014. Ethnopharmacological study of *Stryphnodendron rotundifolium* in two communities in the semi-arid region of northeastern Brazil. Rev Bras Farmacogn. 24: 124-132. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjp.2014.03.003>

Oliveira, D. R.; Brito-Junior, F. E.; Bento, E. B.; Matias, E. F. F.; Sousa, A. C. A.; Costa, J. G. M.; Coutinho, H. D. M.; Kerntopf, M. R.; de Menezes, I. R. A. 2011. Antibacterial and modulatory effect of *Stryphnodendron rotundifolium*. Pharm. Biol. 49(12): 1265–1270. <http://dx.doi.org/10.3109/13880209.2011.589857>

- Oliveira, D.R.; Brito Júnior, F.E.; Sampaio, L.A.; Torres, J.C.; Ramos, A.G.B.; Nunes, A.A. 2012. Ethnopharmacological usage of medicinal plants in genitourinary infections by residents of Chapada do Araripe, Crato, Ceará—Brazil. *Rev. Bras. Promoç. Saúde*. 25, 278–286.
- Oliveira, E. E. 2003. Formulação de Medicamento Natural (Composição para uso tópico contendo extrato de planta do gênero *Stryphnodendron*; seu processo de preparação e sua aplicação). PI0300440-6, depositada em 25/02/2003, no INPI.
- Oliveira, J. R.; Castro, V. C.; Vilela, P. G. F.; Camargo, S. E. A.; Carvalho, A. T.; Jorge, A. O. C.; Oliveira, L. D. 2013. Cytotoxicity of Brazilian plant extracts against oral microorganisms of interest to dentistry. *BMC Complement. Altern. Med.* 13(1): 208.
- Ou K.; Gu L. 2014. Absorption and metabolism of proanthocyanidins. *J Funct Foods*. 7: 43–53. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2013.08.004>
- Pasa, M. C. 2011. Saber local e medicina popular: A etnobotânica em Cuiabá, Mato Grosso, Brasil. *Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi. Ciências Hum.* 6(1): 179-96.
- Pasa, M. C.; David, M. de; Fiebig, G. de Á.; Nardez, T. M. B., Maziero, E. L. 2015. A etnobotânica na comunidade quilombola em Nossa Senhora do Livramento. Mato Grosso, Brasil. *Biodiversidade*. v.14, n2: Pag. 2-18. Available in: <http://periodicoscientificos.ufmt.br/ojs/index.php/biodiversidade/article/download/2889/2013>
- Passaretti, T.; Guarnieri, A. P.; Filipini, R.; Alves, B. C. A.; Fonseca, F. L. A. 2016. Effective use of barbatimã (*Stryphnodendron barbatiman*) in the healing process of lesions: A literature review. *Arquivos Brasileiros da Ciências da Saúde*. 41(1):51-54. doi: <http://dx.doi.org/10.7322/abcshs.v41i1.846>
- Pellenz, N. L.; Barbisan, F.; Azzolin, V. F.; Duarte, T.; Bolognon, A.; Mastella, M. H.; Teixeira, C. F.; Ribeiro, E. E.; da Cruz, I. B. M.; Duarte, M. M. M. F. 2018. Analysis of *in vitro* cyto- and genotoxicity of barbatimão extract on human keratinocytes and fibroblasts. *Biomed Res. Int.* ID 1942451. <https://doi.org/10.1155/2018/1942451>
- Pellenz, N. L.; Barbisan, F.; Azzolin, V. F.; Marques, L. P. S.; Mastella, M. H.; Teixeira, C. F.; Ribeiro, E. E.; da Cruz, I. B. M. 2019. Healing activity of *Stryphnodendron adstringens* (Mart.), a Brazilian tannin-rich species: A review of the literature and a case series. *Wound Medicine*. (26) 100163. <https://doi.org/10.1016/j.wndm.2019.100163>
- Pereira, C. A.; Santos, H. L.; Pessoa, J. M. 1989. Intoxicação experimental de bovinos pela fava do barbatimão (*Stryphnodendron barbatiman* Martius). *I Sinais Clínicos. Arq. Bras. Med. Vet. Zotec. Belo Horizonte*. v.41, n.5: 389-403.
- Pereira, M. N. S.; Andrade, A. C. U.; Piló-Veloso, D. 2002. Isolamento e identificação de metabólitos secundários das folhas de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville. In: *Symposium of Medicinal Plants of Brazil*. 17. Abstracts. Cuiabá: UFMT. QI.017.
- Pereira, S. S. T. C. 2013. Medicamentos fitoterápicos e drogas vegetais industrializados e oficializados pelo Ministério da Saúde no Brasil: Regulamentação sanitária, abrangência e qualidade dos estudos pré-clínicos e clínicos. Thesis presented to the Sergio Arouca National School of Public Health to obtain the title of Doctor of Science in Public Health. Concentration Area: Toxicology and Health. Oswaldo Cruz Foundation. Rio de Janeiro. 344p. Available in: <https://www.arca.fiocruz.br/bitstream/icict/14273/1/495.pdf>
- Pereira, Z. V.; Mussury, R. M.; Almeida, A. B.; Sangalli, A. 2009. Medicinal plants used by Ponta Porã community, Mato Grosso do Sul State. *Acta Sci.* 31 (3): 293–299. DOI: 10.4025/actascibiolsci.v31i3.3206

- Perfetti, R.; Barnett, P. S.; Mathur, R.; Egan, J. M. 1998. Novel therapeutic strategies for the treatment of type 2 diabetes. *Diabetes Metab Res Rev.* 14(3): 207-25. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-0895\(1998090\)14:3<207::AID-DMR214>3.0.CO;2-J](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-0895(1998090)14:3<207::AID-DMR214>3.0.CO;2-J)
- Pinto, S. C.; Bueno, F. G.; Panizzon, G. P.; Morais, G.; dos Santos, P. V. P.; Baesso, M. L.; Leite-Mello, E. V. de S.; de Mello, J. C. P. 2015. *Stryphnodendron adstringens*: Clarifying Wound Healing in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Planta Med.* 81: 1090–1096. DOI <http://dx.doi.org/10.1055/s-0035-1546209>
- Primo, B. L. 1945. Riqueza tanífera de alguns produtos vegetais brasileiros. *Na. Assoc. Quim. Bras.* 4(2): 107-120.
- Rebecca, M. A.; Ishii-Iwamoto, E. L.; Grespan, R.; Cuman, R. K.; Caparroz-Assef, S. M.; de Mello, J. C. P.; Bersani-Amado, C. A. 2002. Toxicological studies on *Stryphnodendron adstringens*. *J. of Ethnopharmacol.* 83: 101-104.
- Revista da Propriedade Industrial (RPI) Nº 2033. 2009. Seção II. Instituto Nacional da Propriedade Industrial. Comissão de Cadastramento de Agentes da Propriedade Industrial. Portaria INPI/PR 045. Available in: <http://revistas.inpi.gov.br/pdf/marcas2033.pdf>
- Ribeiro, D. A.; de Oliveira, L. G. S.; de Macêdo, D. G.; de Menezes, I. R. A.; da Costa, J. G. M.; da Silva, M. A. P.; Lacerda, S. R.; Souza, M. M. de A. 2014. Promising medicinal plants for bioprospection in a Cerrado area of Chapada do Araripe, Northeastern Brazil. *Journal of Ethnopharmacology.* 155(3): 1522-1533. Doi: 10.1016/j.jep.2014.07.042
- Ribeiro, T. G.; Nascimento, A. M.; Henriques, B. O.; Fumagalli, M. A. C.; Franca, J. R.; Duarte, M. C.; Lage, P. S.; Andrade, P. H. R.; Lage, D. P.; Rodrigues, L. B.; Costa, L. E.; Martns, V. T.; Faraco, A. A. G.; Coelho, E. A. F.; Castilho, R. O. 2015. Antileishmanial activity of standar dized fractions of *Stryphnodendron obovatum* (Barbatimão) extract and constituent compounds. *J Ethnopharmacol.* 165: 238–242. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2015.02.047>
- Rizzini, C. T.; Heringer, E. P. 1987. As espécies anãs de *Stryphnodendron* Mart. (Leguminosae-Mimosoideae). *Revista Brasil. Biol.* 47:447-454.
- Rocha, B. P.; Andrade, M. L. da R.; Macedo, J. S.; Melo, R. T. de M.; Mendça, F. de S. 2013. Aspectos reprodutivos da intoxicação experimental por *Stryphnodendron fissuratum* em cobaias (*Cavia porcellus*). XIII Jornada de ensino, pesquisa e extensão – JEPEX – UFRPE. Recife, 09 - 13 de dezembro. Available in: <http://www.eventosufrpe.com.br/2013/cd/resumos/R0557-2.pdf>
- Rodrigues, D. F.; Mendes, F. F.; Menezes, L. B.; Carvalho, W. L.; Sá, S.; Silva, J. A.; Souza, L. A.; Silva, L. A. F. 2017. Tratamento de feridas excisionais de coelhos com extrato de barbatimão associado a células mononucleares autólogas da medula óssea. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* v.69, n.5:1243-1250. <http://dx.doi.org/10.1590/1678-4162-9301>
- Rodrigues, E.; Carlini, E. L. de A. 2003. Levantamento etnofarmacológico realizado entre um grupo de quilombolas do Brasil. *Arquivos Brasileiros de Fitomedicina Científica.* v.1, n.2: 80-87. Available in: [https://www.researchgate.net/profile/Eliana\\_Rodrigues4/publication/267416881\\_Levantamento\\_etnofarmacologico\\_realizado\\_entre\\_um\\_grupo\\_de\\_quilombolas\\_do\\_Brasil/link/s/56dd5a6808aef38babcbf407/Levantamento-etnofarmacologico-realizado-entre-um-grupo-de-quilombolas-do-Brasil.pdf?origin=publication\\_detail](https://www.researchgate.net/profile/Eliana_Rodrigues4/publication/267416881_Levantamento_etnofarmacologico_realizado_entre_um_grupo_de_quilombolas_do_Brasil/link/s/56dd5a6808aef38babcbf407/Levantamento-etnofarmacologico-realizado-entre-um-grupo-de-quilombolas-do-Brasil.pdf?origin=publication_detail)
- Sabino, A. P. L.; Eustáquio, L. M. S.; Miranda, A. C. F.; Biojonel, C.; Mariosa T. N.; Gouvêa Cibele Marli Cação Paiva. 2017. *Stryphnodendron adstringens* ("Barbatimão")

- Leaf Fraction: Chemical Characterization, Antioxidant Activity, and Cytotoxicity Towards Human Breast Cancer Cell Lines. *Appl Biochem Biotechnol.* 1-15. <https://doi.org/10.1007/s12010-017-2632-z>
- Salazar, G.J.T.; Dias, F.J.; Ribeiro, P.R.V.; de Brito, E.S.; Canuto, K.M.; Coutinho, H.D.M.; Ribeiro-Filho, J.; Gallo, M.; Montesano, D.; Naviglio, D.; Zengin, G.; Martins da Costa, J. G. 2021. Antioxidant Activity of *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. Stem Bark Fraction in an Iron Overload Model. *Foods.* 10, 2683. <https://doi.org/10.3390/foods10112683>
- Sanches, A. C. C.; Mundo, S. R.; Silva, P. E. R.; Nakamura, T. U.; Filho, B. P. D.; Nakamura, C. V.; de Mello, J. C. P. 2002. Pharmacognostic study and antibacterial activity of the stem bark extract *Stryphnodendron obovatum* Benth, Leguminosae. 50th Annual Congress of the Society for Medicinal Plant Research. Barcelona-Espanha., v.2, supl. I: p.301. Available in: [https://www.fitoterapia.net/php/descargar\\_documento.php?id=4759&doc\\_r=sn&num\\_volumen=7&secc\\_volumen=5952](https://www.fitoterapia.net/php/descargar_documento.php?id=4759&doc_r=sn&num_volumen=7&secc_volumen=5952)
- Sanches, A. C. C.; Lopes, G. C.; Nakamura, C. V.; Filho, B. P. D.; de Mello, J. C. P. 2005. Antioxidant and antifungal activities of extracts and condensed tannins from *Stryphnodendron obovatum* Benth. *Rer. Bras. de Ciências Farmacêuticas.* 41(1): 101-107.
- Santana, B. F. de; Voeks, R. A.; Funch, L. S. 2016. Ethnomedicinal survey of a maroon community in Brazil's Atlantic tropical forest. *Journal of ethnopharmacology.* 181: 37-49. doi: 10.1016/j.jep.2016.01.014.
- Santos, C. A. M.; Torres, K. R.; Leonart, R. 1987. Plantas medicinais (Herbarium, Flora et Scientia). *Scientia et Labor.* Curitiba. p. 39.
- Santos, E. L. dos; Baldivia, D. da S.; Leite, D. F.; Castro, D. T. H. de; Campos, J. F.; Oliveira, C. F. R. de; Carvalho, J. T. G. de.; Santos, U. P. dos.; Souza, K. de P. 2018. Antioxidant and anticancer activities from *Stryphnodendron adstringens*. *Free Radical Biology and Medicine.* V.128, Supplement 1, Pp. S66. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2018.10.136>
- Santos, I. R.; Lima, J. C.; Oliveira, F. H.; Ferreira, H. H.; Ramos, M. V.V.; Santos, A. S. 2020. Spontaneous poisoning by *Stryphnodendron rotundifolium* var. *villosum* in cattle. *Brazilian Journal of Veterinary Research.* 40(6):438-442. doi: 10.1590/1678-5150-PVB-6535
- Saraiva, M. E.; Ulisses, A. V. R. de A., Ribeiro, D. A.; de Oliveira, L. G. S.; de Macêdo, D. G.; de Sousa, F. de F. S.; de Menezes, I. R. A.; Sampaio, E. V. de S. B., Souza, M. M. de A. 2015. Plant species as a therapeutic resource in áreas of the savanna in the state of Pernambuco, Northeast Brazil. *J Ethnopharmacol.* 171:141–153. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2015.05.034>
- Scalbert, A. 1991. Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry.* 30, 3875–3883.
- Scalon, V. R. 2007. Revisão taxonômica do gênero *Stryphnodendron* Mart. (Leguminosae - Mimosoideae). Thesis presented to the Institute of Biosciences of the University of São Paulo, to obtain a PhD in Sciences, in the area of Botany. Available in: [http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/41/41132/tde-29012008-113442/publico/Viviane\\_Renata\\_Scalon.pdf](http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/41/41132/tde-29012008-113442/publico/Viviane_Renata_Scalon.pdf)
- Scalon, V. R. 2015. *Stryphnodendron* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. *Jardim Botânico do Rio de Janeiro.* Available in: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB19133>.

- Sieniawska E. 2015. Activities of Tannins - From *In vitro* Studies to Clinical Trials. *Nat Prod Commun.* 10: 1877–1884.
- Silva, C. H. 2007. Validação de metodologia analítica para matéria-prima e produto acabado contendo *Stryphnodendron adstringens* (Martius) Coville. [Dissertation]. 75p. Available in: [https://repositorio.ufpe.br/bitstream/123456789/3609/1/arquivo6397\\_1.pdf](https://repositorio.ufpe.br/bitstream/123456789/3609/1/arquivo6397_1.pdf)
- Silva, S.; Souza, R. S.; Belarmino, K. J. de A.; Ferreira, E. da C.; Alves, C. A. B.; de Lucena, R. F. P.; Bonifácio, K. M. 2018. Plantas e animais medicinais da Paraíba: um olhar da etnobiologia e etnoecologia. Chapter 16: Etnobotânica de plantas medicinais na comunidade rural da Palmeira no município de Cuitegí-PB. 328-373. Editora IESP. ISBN: 978-85-5597-054-2. Available in: <https://www.iesp.edu.br/sistema/uploads/arquivos/publicacoes/plantas-e-animais-medicinais-da-paraiba-visoes-da-etnobiologia-e-etnoecologia.pdf>
- Smeriglio, A.; Barreca, D.; Bellocco, E.; Trombetta, D. 2017. Proanthocyanidins and hydrolysable tannins: occurrence, dietary intake and pharmacological effects. *Br. J. Pharmacol.* 174: 1244–1262. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/bph.v174.11/issuetoc>
- Smeriglio, A.; Monteleone, D.; Trombetta, D. 2014. Health effects of *Vaccinium myrtillus* L.: evaluation of efficacy and technological strategies for preservation of active ingredients. *Mini Rev Med Chem.* 14: 567–584.
- Sousa, M. J. M.; Moral, F. F.; Nascimento, G. N. L.; Soares, N. P.; Ferreira, T. A. A. 2010. Medicinal plants used by Itamaraty community nearby Anápolis, Goiás state, Brazil. *Acta Sci. Health Sci.* 32 (2): 177–184. doi:10.4025/actascihealthsci.v32i2.8155
- Souza, C.M.P.; Brandão, D.O.; Silva, M.S.P.; Palmeira, A.C.; Simões, M.O.S.; Medeiros, A.C.D. 2013a. Use of medicinal plants with antimicrobial activity by users of the Public Health System in Campina Grande—Paraíba, Brazil. *Rev. Bras. Plantas Med.* 15, 188–193. Doi: 10.1590/S1516-05722013000200004
- Souza, D.R.; Rodrigues, E.C.A.M.S. 2016. Medicinal plants: Traditional healers' indications for the treatment of wounds. *Rev. Bras. Promoç. Saúde.* 29, 197–203.
- Souza, N. C.; Gomes, M. N.; Maciel, R. R. G.; da Silva, R. J.; Trescher, T. F.; Gorza, F. D. S.; Pedro, G. C.; Correa, K. C. S.; Souza, M. C. R.; Silva, J. R. 2013b. Evaluation of the Antimicrobial Activity of *Stryphnodendron barbatiman* against *Citrobacter freundii*. *Mater Sci Appl.* 4: 780-785. <http://dx.doi.org/10.4236/msa.2013.412099>
- Souza, P. M. 2011. Atividade de inibição enzimática por espécies vegetais do Bioma Cerrado. Dissertação de mestre em Ciências da Saúde pelo Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde da Universidade de Brasília. P. 1-90. Available in: [http://repositorio.unb.br/bitstream/10482/9355/1/2011\\_PaulaMonteirodeSouza.pdf](http://repositorio.unb.br/bitstream/10482/9355/1/2011_PaulaMonteirodeSouza.pdf)
- Souza, P. M.; Elias, S. T.; Simeoni, L. A.; Paula, J. E.; Gomes, S. M.; Guerra, E. N. S.; Fonseca, Y. M.; Silva, E. C.; Silveira, D.; Magalhães, P. O. 2012a. Plants from Brazilian Cerrado with potente tyrosinase inhibitory activity. *PloS ONE.* 7 (11): 1-7. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0048589>
- Souza, P. M.; Sales, P. M.; Simeoni, L. A.; Silva, E. C.; Silveira, D.; Magalhães, P. O. 2012b. Inhibitory activity of  $\alpha$ -amilase and  $\beta$ -glucosidase by plants from the Brazilian Cerrado. *Planta Med.* 78(4): 393-399. doi: 10.1055/s-0031-1280404
- Souza, R. K. D.; da Silva, M. A. P.; de Menezes, I. R. A.; Ribeiro, D. A.; Bezerra, L. R.; Souza, M. M. de A. 2014. Ethnopharmacology of medicinal plants of carrasco, northeastern Brazil. *Journal of Ethnopharmacology.* 157: 99-104. Doi: 10.1016/j.jep.2014.09.001

- Souza, T. M.; Moreira, R. R. D.; Pietro, R. C. L. R.; Isaac, V. L. B. 2007b. Avaliação da atividade anti-séptica de extrato seco de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville e de preparação cosmética contendo este extrato. *Rev Bras Farmacogn.* 17(1): 71-75. ISSN 0102-695X
- Souza, T. M.; Severi, J. A.; Silva, V. Y.; Santos, E.; Pietro, R. C. 2007a. Bioprospecção de atividade antioxidante e antimicrobiana da casca de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (Leguminosae-Mimosoidae). *J. Bas. Appl. Pharm. Sci.* 28(2): 221–226. ISSN 1808-4532
- Stalmach, A.; Williamson, G.; Crozier, A. 2014. Impact of dose on the bioavailability of coffee chlorogenic acids in humans. *Food Funct.* 5: 1727–1737.
- Toledo, C. E. M. 2002. Estudos anatômico, químico e biológico das cascas de extratos de *Stryphnodendron adstringens* Martius Coville, Leguminosae. Dissertation. Araraquara: Post-Graduate Course in Pharmaceutical Sciences of UNESP. 134p. Available in: <http://sites.uem.br/palafito/trabalhos/trabalhos/cleyton-eduardo-mendes-de-toledo>
- Trolezi, R.; Azanha, J.M.; Paschoal, N.R.; Chechi, J.L.; Dias Silva, M.J.; Fabris, V.E.; Vilegas, W.; Kaneno, R.; Fernandes Junior, A.; Bosco, S.M. 2017. *Stryphnodendron adstringens* and purified tannin on *Pythium insidiosum*: *In vitro* and *in vivo* studies. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.* 16;7. DOI 10.1186/s12941-017-0183-3.
- UNAERP. 2004. Ambulatório de escaras. Estudo clínico da utilização do barbatimão (*Stryphnodendron polyphyllum* e *Stryphnodendron adstringens*) na cicatrização de úlceras isquêmicas. Ribeirão Preto. Available in: [http://www.repositorio.ufc.br/bitstream/riufc/5741/1/2012\\_art\\_aalopes.pdf](http://www.repositorio.ufc.br/bitstream/riufc/5741/1/2012_art_aalopes.pdf)
- Vandesmet, V. C. S.; Felipe, C. F. B.; Kerntopf, M. R.; Rolón, M.; Veja, C.; Coronel, C.; Barbosa, A. G. R.; Coutinho, H. D. M.; de Menezes, I. R. A. 2017. The use of herbs against neglected diseases: Evaluation of *in vitro* leishmanicidal and trypanocidal activity of *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. *Saudi J. Biol. Sci.* 4: 1136–1141. <http://dx.doi.org/10.1016/j.sjbs.2015.03.001>
- Vasconcelos, M.; Rodovalho, N.; Pott, A.; Pott, V.; Ferreira, A.; Arruda, A.; Marques, M.; Castilho, R.; Bueno, N. 2004. Evaluation of biological activities of the seeds of *Stryphnodendron obovatum* Benth. (Leguminosae). *Braz J Pharmacogn.* 14: 121–127.
- Velderrain-Rodríguez, G. R.; Palafox-Carlos, H.; Wall-Medrano, A.; Ayala-Zavala, J. F.; Chen, C. Y.; Robles-Sánchez, M. 2014. Phenolic compounds: their journey after intake. *Food Funct.* 5: 189–197.
- Vilar, J. B.; de Oliveira, M. I. P.; Santos, S. C.; Chen, L. C. 2010. Cytotoxic and genotoxic investigation on barbatimão [*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville, 1910] extract. *Braz. J. Pharm. Sci.* 46: 687–694.
- WRI (World Resources Institute). 1994. World resources 1994-1995. Oxford University Press, New York & Oxford. 400 pp.
- Xun Lv; Shouyi Yu; Jing Wang; Yuguo Du. 2011. Synthesis of stryphnoside A, a triterpene saponin isolated from the pericarps of *Stryphnodendron fissuratum*. *Carbohydr. Res.* 346: 1786–1791. doi:10.1016/j.carres.2011.06.006
- Yokosuka, A.; Kawakami, S.; Haraguchi, M.; Mimaki, Y. 2008. Stryphnosides A-F, six new triterpene glycosides from the pericarps of *Stryphnodendron fissuratum*. *Tetrahedron.* 64: 1474 – 1481. doi:10.1016/j.tet.2007.11.041
- Yokosuka, A.; Okabe, G.; Tatsuno, S.; Mimaki, Y. 2016. Stryphnosides G-P, 10 new triterpene glycosides from the pericarps of *Stryphnodendron fissuratum*. *Carbohydr Res.* 434: 18-26. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carres.2016.07.019>

Zhang, L.; Wang, Y.; Li, D.; Ho, C. T.; Li, J.; Wan, X. 2016. The absorption, distribution, metabolism and excretion of procyanidins. *Food Funct.* 7: 1273–1281.

Zocoler, A. M. D. 2005. Avaliação da qualidade, fitoquímica e da capacidade antioxidante de extratos das cascas de *Stryphnodendron obovatum* Benth. (Leguminosae). Dissertation. Postgraduate Program in Pharmaceutical Sciences - **State University of Maringá**. Available in: <http://www.scilo.br/pdf/bjps/v45n3/09.pdf>

## CAPÍTULO 3:

### ARTIGO 2: Antioxidant Activity of *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. Stem Bark Fraction in an Iron Overload Model. Publicado na revista *FOODS*



Article

## Antioxidant Activity of *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. Stem Bark Fraction in an Iron Overload Model

Gerson Javier Torres Salazar <sup>1</sup>, Francisco Junio Dias <sup>1</sup>, Paulo Riceli Vasconcelos Ribeiro <sup>2</sup>, Edy Sousa de Brito <sup>2</sup>, Kirley Marques Canuto <sup>2</sup>, Henrique Douglas Melo Coutinho <sup>3</sup>, Jaime Ribeiro-Filho <sup>4</sup>, Monica Gallo <sup>5,\*</sup>, Domenico Montesano <sup>6</sup>, Daniele Naviglio <sup>7,\*</sup>, Gokhan Zengin <sup>8</sup> and José Galberto Martins da Costa <sup>1,3</sup>

- <sup>1</sup> Postgraduate Program in Ethnobiology and Nature Conservation, Regional University of Cariri, Coronel Antônio Luiz Street, 1161-Pimenta, Crato 63105-010, Brazil; tinsotygartor@yahoo.com (G.J.T.S.); junordias199@gmail.com (F.J.D.); galberto.martins@gmail.com (J.G.M.d.C.)
- <sup>2</sup> Multi-User Laboratory of Natural Products Chemistry, Embrapa Tropical Agroindustry, Sara Mesquita, no 2.270, Neighborhood Planalto do Pici, Fortaleza 60511-110, Brazil; pauloriceli85@gmail.com (P.R.V.R.); edybrito@embrapa.br (E.S.d.B.); kirley.canuto@embrapa.br (K.M.C.)
- <sup>3</sup> Postgraduate Program in Biological Chemistry, Regional University of Cariri, Coronel Antônio Luiz Street, 1161-Pimenta, Crato 63105-010, Brazil; hdmscoutinho@gmail.com
- <sup>4</sup> Laboratory of Investigation in Genetics and Translational Hematology, Gonçalo Moniz Institute (IGM), Oswaldo Cruz Foundation (FIOCRUZ), Waldemar Falcão Street, 121, Cardeal, Salvador 40296-710, Brazil; jaimebrilho@gmail.com
- <sup>5</sup> Department of Molecular Medicine and Medical Biotechnology, University of Naples Federico II, Via Pansini 5, 80131 Naples, Italy
- <sup>6</sup> Department of Pharmacy, University of Naples Federico II, Via D. Montesano 49, 80131 Naples, Italy; domenico.montesano@unina.it
- <sup>7</sup> Department of Chemical Sciences, University of Naples Federico II, Via Cintia, 4, 80126 Naples, Italy
- <sup>8</sup> Department of Biology, Science Faculty, Selçuk University, Campus, 42130 Konya, Turkey; gokharzengin@selcuk.edu.tr
- \* Correspondence: mongallo@unina.it (M.G.); naviglio@unina.it (D.N.)

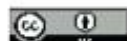


Citation: Salazar, G.J.T.; Dias, F.J.; Ribeiro, P.R.V.; de Brito, E.S.; Canuto, K.M.; Coutinho, H.D.M.; Ribeiro-Filho, J.; Gallo, M.; Montesano, D.; Naviglio, D.; et al. Antioxidant Activity of *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. Stem Bark Fraction in an Iron Overload Model. *Foods* 2021, 10, 2683. <https://doi.org/10.3390/foods10112683>

Academic Editor: Saini Ramosh Kumar

Received: 1 October 2021  
Accepted: 1 November 2021  
Published: 3 November 2021

**Publisher's Note:** MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright © 2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

**Abstract:** *Stryphnodendron rotundifolium* Mart., popularly known as “barbatimão”, is a plant species traditionally used by topical and oral routes for the treatment of infectious and inflammatory diseases. Considering the well-described antioxidant properties of this species, this study investigated the protective effects of its keto-aqueous extract using an in vitro model of iron overload. Phenolic compounds were quantified and identified by Ultra-Performance Liquid Chromatography coupled with quadrupole Time-Of-Flight Electrospray Ionization Mass Spectrometry (UPLC-ESI-qTOF-MS/MS) in positive and negative ions mode analysis. Antioxidant activity was analyzed following the iron-chelating-reducing capacity and deoxyribose degradation (2-DR) protection methods. The analysis identified condensed tannins (54.8 mg catechin/g dry fraction (DF)), polyphenols (25 mg gallic acid/g DF), and hydrolyzable tannins (28.8 mg tannic acid/g DF). Among the constituents, prodelphinidin, procyanidin, and procorbinetinidine were isolated and identified. The extract significantly protected 2-DR degradation induced by Fe<sup>2+</sup> (72% protection) or •OH (43% protection). The ortho-phenanthroline test revealed Fe<sup>2+</sup>-chelating and Fe<sup>3+</sup>-reducing activities of 93% and 84%, respectively. A preliminary toxicological analysis using *Artemia salina* revealed mortality below 10%, at a concentration of 0.25 mg/mL, indicating low toxicity under the present experimental conditions. In conclusion, the findings of the present study indicate that *Stryphnodendron rotundifolium* is a source of antioxidant compounds with the potential to be used in drug development in the context of iron overload disorders, which remains to be further investigated in vivo.

**Keywords:** antioxidant activity; free radicals; iron overload; *Stryphnodendron rotundifolium*; tannins; UPLC-ESI-qTOF-MS/MS



## Antioxidant Activity of *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. Stem Bark Fraction in an Iron Overload Model

Gerson Javier Torres Salazar <sup>1</sup>, Francisco Junio Dias <sup>1</sup>, Paulo Riceli Vasconcelos Ribeiro <sup>2</sup>, Edy Sousa de Brito <sup>2</sup>, Kirley Marques Canuto <sup>2</sup>, Henrique Douglas Melo Coutinho <sup>3</sup>, Jaime Ribeiro-Filho <sup>4</sup>, Monica Gallo <sup>5,\*</sup>, Domenico Montesano <sup>6</sup>, Daniele Naviglio <sup>7,\*</sup>, Gokhan Zengin <sup>8</sup> and José Galberto Martins da Costa <sup>1,3</sup>

**Citation:** Salazar, G.J.T.; Dias, F.J.; Ribeiro, P.R.V.; de Brito, E.; Canuto, K.M.; Coutinho, H.D.M.; Ribeiro-Filho, J.; Gallo, M.; Montesano, D.; Naviglio, D.; et al. Antioxidant activity of *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. stem bark fraction in an iron overload model. *Foods* **2021**, *10*, x. <https://doi.org/10.3390/xxxxx>  
Academic Editor(s): Saini Ramesh Kumar

Received: 1 October 2021

Accepted: 1 November 2021

Published: date

**Publisher's Note:** MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2021 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

<sup>1</sup>Postgraduate Program in Ethnobiology and Nature Conservation, Regional University of Cariri, Coronel Antônio Luíz Street, 1161-Pimenta, Crato 63105-010, Ceará Brazil; [timotygerator@yahoo.com](mailto:timotygerator@yahoo.com) (G.J.T.S.); [junordias195@gmail.com](mailto:junordias195@gmail.com) (F.J.D.); [galberto.martins@gmail.com](mailto:galberto.martins@gmail.com) (J.G.M.d.C.)

<sup>2</sup>Multi-user Laboratory of Natural Products Chemistry, Embrapa Tropical Agroindustry, Sara Mesquita, no 2.270, Neighborhood Planalto do Pici, Fortaleza 60511-110, Ceará, Brazil; [pauloriceli85@gmail.com](mailto:pauloriceli85@gmail.com) (P.R.V.R.); [edy.brito@embrapa.br](mailto:edy.brito@embrapa.br) (E.S.d.B.); [kirley.canuto@embrapa.br](mailto:kirley.canuto@embrapa.br) (K.M.C.)

<sup>3</sup>Postgraduate Program in Biological Chemistry, Regional University of Cariri, Coronel Antônio Luíz Street, 1161-Pimenta, Crato 63105-010, Ceará, Brazil, [hdmcoutinho@gmail.com](mailto:hdmcoutinho@gmail.com) (H.D.M.C.); [galberto.martins@gmail.com](mailto:galberto.martins@gmail.com) (J.G.M.C.)

<sup>4</sup>Laboratory of investigation in Genetics and Translational Hematology, Gonçalo Moniz Institute (IGM), Oswaldo Cruz Foundation (FIOCRUZ), Waldemar Falcão Street, 121, Candeal 40296-710, Salvador, Bahia, Brazil; [jaimeribeirofilho@gmail.com](mailto:jaimeribeirofilho@gmail.com)

<sup>5</sup>Department of Molecular Medicine and Medical Biotechnology, University of Naples Federico II, via Pansini 5, 80131 Naples, Italy; [mongallo@unina.it](mailto:mongallo@unina.it)

<sup>6</sup>Department of Pharmacy, University of Naples Federico II, Via D. Montesano 49, 80131 Naples, Italy; [domenico.montesano@unina.it](mailto:domenico.montesano@unina.it)

<sup>7</sup>Department of Chemical Sciences, University of Naples Federico II, via Cintia, 4, 80126 Naples, Italy; [naviglio@unina.it](mailto:naviglio@unina.it)

<sup>8</sup>Department of Biology, Science Faculty, Selcuk University, Campus, 42130 Konya, Turkey; [gokhanzengin@selcuk.edu.tr](mailto:gokhanzengin@selcuk.edu.tr)

\*Correspondence: [mongallo@unina.it](mailto:mongallo@unina.it) (M.G.); [naviglio@unina.it](mailto:naviglio@unina.it) (D.N.)

**Abstract:** *Stryphnodendron rotundifolium* Mart., popularly known as “barbatimão”, is a plant species traditionally used by topical and oral routes for the treatment of infectious and inflammatory diseases. Considering the well-described antioxidant properties of this species, this study investigated the protective effects of its keto-aqueous extract using an *in vitro* model of iron overload. Phenolic compounds were quantified and identified by Ultra-Performance Liquid Chromatography coupled with quadrupole Time-Of-Flight Electrospray Ionization Mass Spectrometry (UPLC–ESI-qTOF-MS/MS) in positive and negative ions mode analysis. Antioxidant activity was analyzed following the iron-chelating–reducing capacity and deoxyribose degradation (2-DR) protection methods. The analysis identified condensed tannins (54.8 mg catechin/g dry fraction (DF)), polyphenols (25 mg gallic acid/g DF), and hydrolyzable tannins (28.8 mg tannic acid/g DF). Among the constituents, prodelphinidin, procyanidin, and prorobinetidine were isolated and identified. The extract significantly protected 2-DR degradation induced by Fe<sup>2+</sup> (72% protection) or •OH (43% protection). The *ortho*-phenanthroline test revealed Fe<sup>2+</sup>-chelating and Fe<sup>3+</sup>-reducing activities of 93% and 84%, respectively. A preliminary toxicological analysis using *Artemia salina* revealed mortality below 10%, at a concentration of 0.25 mg/mL, indicating low toxicity under the present experimental conditions. In conclusion, the findings of the present study indicate that *Stryphnodendron rotundifolium* is a source of antioxidant compounds

with the potential to be used in drug development in the context of iron overload disorders, which remains to be further investigated *in vivo*.

**Keywords:** antioxidant activity; free radicals; iron overload; *Stryphnodendron rotundifolium*; tannins; UPLC–ESI–qTOF–MS/MS

---

## 1. Introduction

*Stryphnodendron rotundifolium* Mart. is a plant species endemic to the Chapada do Araripe, Brazil, popularly known as “barbatimão”. The stem bark of this plant is widely used in traditional medicine in the preparation of tinctures, syrups, and teas for the treatment of wounds, ulcers, gastritis, inflammation, and vaginal infections [1, 2].

The tannin composition in the bark of *Stryphnodendron* species ranges from 20% to 50% and is potentially responsible for its antioxidant properties [3]. In this context, previous studies have shown that alcoholic extracts obtained from the bark and leaves of *S. rotundifolium* exhibited free radical-scavenging activity and inhibited Fe<sup>2+</sup>-induced lipid peroxidation in brain homogenates of *Wistar* rats [4]. Accordingly, consistent evidence has demonstrated that phenolic compounds, including flavonoids and tannins, are crucially responsible for the antioxidant activity of plant-derived natural products [5–7].

Iron accumulation results in tissue damage by promoting the generation of reactive oxygen species (ROS), leading to the oxidation of vital molecules such as proteins, lipids, and DNA. The main clinical conditions associated with iron overload are hereditary hemochromatosis and secondary hemochromatosis. These diseases are characterized by excessive absorption of the mineral by intestinal cells, causing iron overload and tissue accumulation, which leads to organ damage, especially in the liver. Secondary hemochromatosis is commonly related to recurrent transfusion of red blood cells. In this case, iron overload is managed mainly with chelating agents [8–10]. Iron excess may also occur due to iron inhalation in mining and steel welding [11] and associated with transferrin deficiency [12].

With regard to iron homeostasis, the cellular mechanisms responsible for the excretion of this mineral are less developed and effective than those that regulate its absorption and distribution, which can lead to its accumulation in several iron-carrying cells [13,14].

Previous research has demonstrated that many chronic diseases result from an imbalance between ROS generation and the antioxidant mechanisms in the host cells, highlighting the importance of discovering new antioxidant products [15,16]. In addition, consistent evidence has indicated that iron overload contributes to the development of several chronic/degenerative diseases, especially cardiovascular diseases, mainly by inducing oxidative stress mechanisms, highlighting the therapeutic potential of iron-chelating agents. Therefore, the development of *in vitro* and *in vivo* assays, capable of accurately evaluating the antioxidant activity and toxicity of plant extracts, represents a significant preliminary step in the search for natural products capable of controlling iron overload disorders [17,18].

The present study reports the extraction and chemical characterization of the tannin-rich fraction of *S. rotundifolium* Mart. (TFSR). The *in vitro* antioxidant activity of this fraction was investigated under iron and free-radical overload conditions, and its cytotoxicity was assessed using an *Artemia salina* model.

## 2. Materials and Methods

### 2.1. Botanical Material and Extraction Procedure

*Stryphnodendron rotundifolium* stem bark samples were collected in the Araripe National Forest, in the municipality of Crato, Ceará, Brazil (coordinates: 07°81' S, 039°28' W). Dr. Maria Arlene Pessoa identified the species, and a voucher specimen was prepared and registered at the Herbarium of the Regional University of Cariri (registry number: 14,074).

A total of 2100 g of freshly collected barks were dried, crushed, and subjected to fat removal with hexane. Then, hexane was removed from the solid material at 70 °C. Following this process, the material was subjected to exhaustive maceration using a 7:3 acetone–water mixture for 72 h at room temperature, to avoid interactions between tannins and vegetable proteins, favoring the obtainment of more stable tannins. This procedure was repeated three times as previously described [19,20]. The resulting solution was subjected to exhaustive removal of acetone in a rotary evaporator (at 65 °C and pressure), reducing the volume to one-third of the initial extractive mixture, after which it was concentrated in a water bath at 70 °C for 24 h. The acetone-free concentrated liquid was frozen and subjected to lyophilization, after which the tannic fraction was obtained as an amorphous solid.

## 2.2. Phytochemical Prospecting

Phytochemical analysis was carried out to determine the qualitative composition of secondary metabolites. The presence of phenols, tannins, flavonoids, and alkaloids was analyzed according to a previously described method [21]. According to this method, colorimetric changes or precipitate formation in the fraction solution after the addition of specific reagents are indicative of the presence of the corresponding class of secondary metabolites. The screening of phenolic compounds was performed using FeCl<sub>3</sub>, 1% methanolic solution, and 1 N HCl, 10% (w/v) NaOH, while the screening of alkaloids was performed using 5% (v/v) acetic acid, 10% (v/v) NH<sub>4</sub>OH, chloroform p.a., and Dragendorff's reagent.

## 2.3. Quantification of Phenolic Compounds

### 2.3.1. Total Phenolic Content

The total content of phenolic compounds was determined using a method developed by [22]. A total of 200 µL of the fraction aqueous solution (0.1 µg/mL) was added with 600 µL of ethanol (70% v/v) and 400 µL of the Folin–Ciocâlteu reagent (10% v/v), and the solution was vigorously shaken. After 5 min, the solution was added with Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (2800 µL, 7.5% m/v) and incubated for 20 min at 45 °C in the absence of light. The absorbance was measured at 735 nm using the UV/Vis spectrophotometer (T80 PG Instruments LTD, Wibtoft, Leicestershire, United Kingdom). Gallic acid (GA) was used as a positive control, and the phenolic content was determined by linear regression using calibration curve (5.0–0.5 µg/mL), performed in triplicate, and the results expressed in mg GA/g dry fraction (DF) (linear equation ( $y = 0.1351x + 0.0727$ ,  $R^2 = 0.9971$ )).

### 2.3.2. Determination of Total Condensed Tannins

The content of condensed tannins was determined using the vanillin assay, as described by [23], with modifications. An aliquot of 0.5 mL of the fraction diluted in water (0.5 mg/mL) was added with 3 mL of vanillin (4% v/v in methanol) followed by the addition of hydrochloric acid (1.5 mL). The mixture was shaken and kept at 20 °C for 15 min in the absence of light. The absorbance of the mixture was measured at 500 nm and compared with a calibration curve (40–5 µg/mL) of a catechin aqueous solution. The content was calculated by linear regression of the calibration curve (linear equation ( $y = 0.0176x + 0.1464$ ,  $R^2 = 0.9843$ )) in triplicate, and the results were expressed in mg cat/g DF.

### 2.3.3. Quantification of Total Hydrolyzable Tannins

Hydrolyzable tannins were detected according to the method proposed by [24], with modifications. A sample (0.20 g) of the fraction was extracted with 50 mL of methanol (80%)

and then centrifuged at 493× g for 10 min. After centrifugation, 2 mL of the fraction was diluted with distilled water and mixed with 5 mL of a KIO<sub>3</sub> solution (2.5% *m/v*) in water. The resulting solution was heated to 30 °C for 7 min °C, and, after cooling, the absorbance was read at 550 nm. The content was calculated by linear regression through a calibration curve (linear equation ( $y = 1.9636x + 0.0724$ ,  $R^2 = 0.9818$ ) of tannic acid (tac) (0.4–0.1 mg/mL) in triplicate, and the results were expressed in mg tac/g DF.

#### 2.4. UPLC–ESI–qTOF–MS/MS

These analyses were performed using an Acquity UPLC (Waters Corporation, Milford, MA, USA) system coupled to a Xevo qTOF mass spectrometer (Q-TOF, Waters). Separations were performed on a C18 column (Waters Acquity® UPLC C18; 150 mm × 2.1 mm, 1.7 μm). For metabolic fingerprinting, a 2 μL aliquot of the fraction was subjected to UPLC analysis using an exploratory gradient with a mobile phase comprising deionized water (A) and acetonitrile (B), both containing formic acid 0.1% *v/v*. The sample was subjected to the exploratory gradient as follows: 2–95% for 15 min, at a flow rate of 500 μL·min<sup>-1</sup>. Ionization was performed with electrospray ionization (ESI) source in negative and positive ion modes, in the range of 110–1200 Da. The optimized instrumental parameters were as follows: capillary voltage of –2800 V, cone voltage of –40 V, source temperature of 120 °C, desolvation temperature of 330 °C, flow cone gas of 20 L·h<sup>-1</sup>, desolvation gas flow at 600 L·h<sup>-1</sup>, and microchannel plate (MCP) detector voltage of –1900 V. The mode of acquisition was MS/MS, and the system was controlled using MassLynx 4.1 software (Waters Corporation, Milford, MA, USA).

#### 2.5. In Vitro Antioxidant Activity Analysis

##### 2.5.1. Fe<sup>2+</sup>-Chelating Activity and Fe<sup>3+</sup>-Reducing Power as a Function of Time

In these experiments, the protective activity of the fraction was evaluated in reactive mixtures containing Fe<sup>2+</sup> at the concentration of 100 μM, which is equivalent to 5.58 μg/mL. Since normal iron concentration in the blood ranges from 0.65 μg/mL to 1.7 μg/mL and the maximum concentration of iron transported by transferrin (tf) in blood is in the range of 2.5 μg/mL to 4.5 μg/mL [25–28], the protocol follow was used as an *in vitro* model of Fe<sup>2+</sup> overload.

The Fe<sup>2+</sup>-chelating and Fe<sup>3+</sup>-reducing capacity of the fraction were evaluated through the *o*-phenanthroline (*o*-phe) assay, as described by the method of [29], with some modifications. Samples were separately added with Fe<sup>2+</sup> and Fe<sup>3+</sup> through the addition of FeSO<sub>4</sub> and FeCl<sub>3</sub> (1 mM), respectively, in a dark and refrigerated environment. Then, aliquots of 40 μL were extracted at times 0.5, 2.5, 5, 10, 20, 30, 45, 60, 75, and 90 min and reacted with *o*-phe (300 μM) in H<sub>2</sub>O milli-Q and Tris-HCl (0.1 M, pH 7.4). At the end of this procedure, the samples were obtained at final concentrations of 0.2, 0.1, and 0.05 mg/mL, and Fe<sup>2+</sup> and Fe<sup>3+</sup> were obtained both at 100 μM. The readings were carried out at 510 nm. Experimental controls were obtained by replacing aliquots of the samples with milli-Q water. To evaluate the stability of the chelates, ascorbic acid (at the final concentration of 0.005 M) was added to each reacting system (at the timepoint of 90 min), and the readings were performed 15 min later. The results are representative of three independent experiments ( $n = 3$ ) performed in duplicate.

The Fe<sup>2+</sup>-chelating activity (FCA) and Fe<sup>3+</sup>-reducing power (FRP) were expressed as a percentage of the control, as represented by the Equations (1) and (2), respectively.

$$\text{FCA}(\%)_{t_{\text{minutes}}} = \frac{(\text{Abs}_{\text{control-Fe}^{2+}} - (\text{Abs}_{\text{fraction-Fe}^{2+}} - \text{Abs}_{\text{fraction-blank-Fe}^{2+}})) \times 100}{\text{Abs}_{\text{control-Fe}^{2+}}} \quad (1)$$

$$\text{FRP}(\%)_{t_{\text{minutes}}} = \frac{(\text{Abs}_{\text{fraction-Fe}^{3+}} - \text{Abs}_{\text{fraction-blank-Fe}^{3+}}) - \text{Abs}_{\text{control-Fe}^{3+}}}{\text{Abs}_{\text{control-Fe}^{2+}}} \times 100 \quad (2)$$

where  $Abs_{Control-Fe^{2+}}$  is the absorbance of *o*-phe +  $Fe^{2+}$ ,  $Abs_{Fraction-Fe^{2+}}$  is the absorbance of fraction + *o*-phe +  $Fe^{2+}$ ,  $Abs_{Fraction-blank-Fe^{2+}}$  is the absorbance of fraction +  $Fe^{2+}$ ,  $Abs_{Control-Fe^{3+}}$  is the absorbance of *o*-phe +  $Fe^{3+}$ ,  $Abs_{Fraction-Fe^{3+}}$  is the absorbance of fraction + *o*-phe +  $Fe^{3+}$ , and  $Abs_{Fraction-blank-Fe^{3+}}$  is the absorbance of fraction +  $Fe^{3+}$ .

### 2.5.2. Deoxyribose Oxidative Degradation Assay

The  $\cdot OH$  radical-scavenging activity was investigated according to the ability of the fraction to inhibit the degradation of 2-deoxyribose (2-DR) *in vitro*, following the method used by [30], with adaptations. Briefly, 1.5 mM 2-DR was incubated with 50 mM potassium phosphate buffer (pH 7.4) at room temperature for 20 min in the following pro-oxidant systems: (i) 0.05 mM  $FeSO_4$  and (ii) 0.5 mM  $H_2O_2$  + 0.05 mM  $FeSO_4$  (Fenton reaction); then, it was incubated at 37 °C for 60 min, in the absence or presence of the variable concentrations of the fractions (0.2, 0.1, and 0.075 mg/mL). Following this step, 750  $\mu L$  of Trichloroacetic Acid (TCA) (2.8%) and 750  $\mu L$  of Thiobarbituric Acid (TBA) (0.8%) were added to all samples, before incubating for 20 min at 100 °C. The readings were carried out at 532 nm, and the results are expressed as a percentage of inhibition of 2-DR degradation relative to the negative controls according to Equation (3).

$$Inhibition(\%) = \frac{[(Abs_{control} - (Abs_{fraction} - Abs_{blank}))] \times 100\%}{Abs_{control}} \quad (1)$$

where  $Abs_{Control}$  is the Absorbance of 2-DR + pro-oxidant,  $Abs_{Fraction}$  is the absorbance of 2-DR + pro-oxidant + fraction, and  $Abs_{Blank}$  is the absorbance of pro-oxidant + fraction.

Of note, the Fenton reaction was performed with 50  $\mu M$   $Fe^{2+}$ , which is equivalent to 2.79  $\mu g/mL$ . The results are representative of four independent experiments ( $n = 4$ ) performed in duplicate.

### 2.5.3. Analysis of the Mechanism Underlying the Inhibition of 2-DR Degradation

An assay based on the variation of the 2-DR concentration (1.5 mM, 1.75 mM, and 2.0 mM) was used to determine the antioxidant mechanism of the fraction ( $Fe^{2+}$  chelating or  $\cdot OH$  scavenging). The oxidative degradation of 2-DR was obtained via the reaction of 0.5 mM  $H_2O_2$  with 0.05 mM  $FeSO_4$ , which results in the generation of the  $\cdot OH$  radical. The tests were performed three ( $n = 3$ ) times in duplicate for each concentration of 2-DR (1.5 mM, 1.75, mM, and 2.0 mM). The results were expressed as a percentage inhibition of 2-DR degradation according to Equations (4) [31].

$$Inhibition(\%) = \frac{[(Abs_{(H_2O_2+Fe^{2+})control} - (Abs_{fraction} - Abs_{blank}))] \times 100\%}{Abs_{(H_2O_2+Fe^{2+})control}} \quad (2)$$

where  $Abs_{(H_2O_2 + Fe^{2+})Control}$  is the absorbance of 2-DR + ( $H_2O_2 + Fe^{2+}$ ),  $Abs_{Fraction}$  is the absorbance of 2-DR + ( $H_2O_2 + Fe^{2+}$ ) + fraction, and  $Abs_{Blank}$  is the absorbance of ( $H_2O_2 + Fe^{2+}$ ) + fraction.

### 2.6. In Vivo Toxicity Analysis

Saline solution (36.2 g/L, pH 7.0–9.0) was prepared by adding 72.4 g of sea salt in 2 L of distilled water. A total of 200 mg of *Artemia Salina* eggs were placed to hatch in 400 mL of saline solution for 24 h under continuous aeration and exposure to light. To determine the *in vivo* toxicity of the fraction, 10 larvae were placed in 10 mL of a solution containing the fraction at increasing concentrations (0.001 to 0.250 mg/mL). The mortality was analyzed 24 h after treatments. The tests were performed in triplicate [32].

### 2.7. Statistical Analysis

The data of the antioxidant and toxicity assays, as well as those of chemical quantification, were expressed as the means  $\pm$  Standard Error of Mean (SEM) of at least three experiments. The antioxidant assays were analyzed by one-way analysis of variance (ANOVA), followed by Tukey's post hoc test for multiple comparisons of data with normal distribution and similar standard deviation, using GraphPad Prism version 6.0. The UPLC/MS data were expressed as the means  $\pm$  SEM of three determinations and analyzed by ANOVA followed by Tukey's test. Statistical significance was considered when  $p < 0.05$ .

### 3. Results and Discussion

The tannin-rich fraction from *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. (TFSR) was obtained as a reddish solid, characteristic of proanthocyanidins. The acetone–water (7:3) extraction presented a yield of 38.8%. The phytochemical characterization demonstrated the presence of secondary metabolites such as polyphenols, flavonoids, leucoanthocyanidins, aurones, chalcones, catechins, and hydrolyzable and condensed tannins. In particular, the UPLC–ESI–qTOF-MS/MS profile revealed the presence of type B proanthocyanidins, including prodelfinidins (monomers, dimers, and trimers), procyanidins, and prorobinetidins previously reported in other species of the same genus [5,33,34].

The concentration of total phenols was determined in  $25.02 \pm 0.67$  mg gallic acid/g DF. The quantification of condensed tannins was  $54.83 \pm 2.30$  mg catechin equivalent/g DF, corresponding to the main type of component in the sample. In addition, the concentration of hydrolyzable tannins was  $28.84 \pm 2.21$  mg tannic acid/g DF, confirming this class of components as the second most abundant in the sample. In fact, extractive mixtures containing acetone favor the extraction of condensed tannins formed by monomeric units of the catechin type flavan-3-ols, to the detriment of hydrolyzable tannins [19].

The chemical constituents of the TFSR were identified using the UPLC–ESI–qTOF-MS/MS technique, by interpreting their MS and MS/MS spectra, determined by QTOF-MS and compared with the literature data and the open-access mass spectrum database SciFinder. The chromatogram and phenolic profile are shown in Figure 1 and Table 1, respectively.

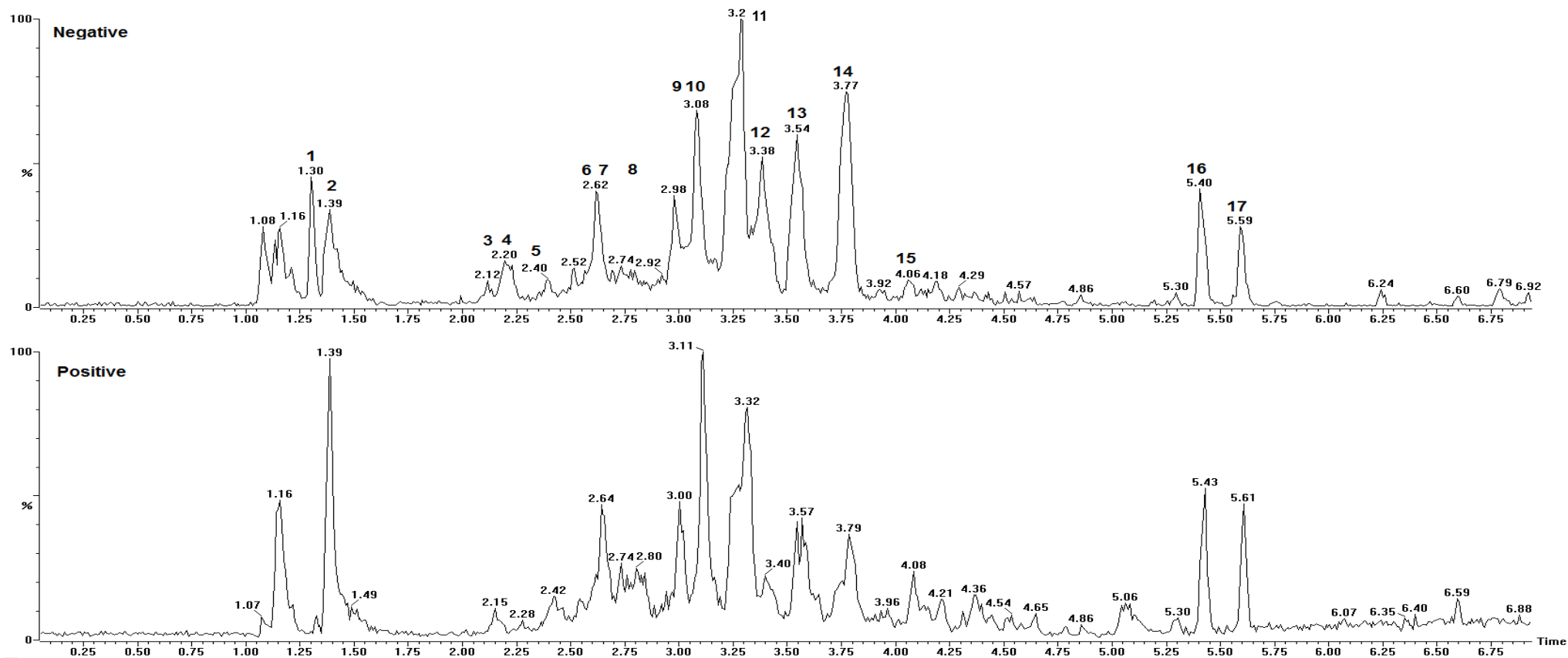


Figure 1. Chromatogram: assignment of peaks to the metabolites in the acetone–water fraction from the stem bark of *S. rotundifolium* Mart. using Ultra-Performance Liquid Chromatography coupled with a quadrupole-Time Of Flight, with Electrospray Ionization Mass Spectrometry (UPLC–ESI–qTOF–MS/MS) in the negative and positive modes. The monitored ions correspond to the most abundant protonated and deprotonated molecules, using a restricted window of 0.0001  $m/z$  units centered on each selected ion. Peak 2: 4'-O-methyl-epigallocatechin (4→8) epigallocatechin; peak 3: epigallocatechin (4β→8) epigallocatechin; peak 4: gallic acid; peak 5: epigallocatechin (4→8) epigallocatechin (4→8) epigallocatechin; peak 6: 4'-O-methyl-epigallocatechin-3-O-gallate (4→6) epigallocatechin 3-O-gallate; peak 7: epigallocatechin (4β→6) epigallocatechin; peak 8: epigallocatechin (4→8) epigallocatechin (4→8) epigallocatechin-3-O-gallate; peak 9: epigallocatechin; peak 10: epigallocatechin (4→8) epigallocatechin-3-O-gallate/epigallocatechin-3-O-gallate (4→8) epigallocatechin; peak 11: robinetinidol-4'-O-methyl (4→8) epigallocatechin; peak 12: C-hexosyl-O-pentosyl-5,7-dihydroxychromone isomer; peak 13: procyanidin prodelphinidin type B.

**Table 1.** Identification of TFSR phenolic compounds using UPLC–ESI-qTOF-MS/MS in the negative and positive modes.

Peak No.	Rt (min)	[M + H] <sup>+</sup> Obs	[M – H] <sup>-</sup> Obs	Empirical Formula [M – H] <sup>-</sup>	ion Products (MS/MS)	Empirical Formula [M + H] <sup>+</sup>	Empirical Formula M/MM (g·mol <sup>-1</sup> )	Δ <sup>1</sup> (Error)	Structure Name	Ref.
1	1.30	383.1159	no <sup>2</sup>	-	203.0517	C <sub>21</sub> H <sub>19</sub> O <sub>7</sub>		-2.3	Unknown	-
2	1.39	625.5280	623.1370	C <sub>31</sub> H <sub>27</sub> O <sub>14</sub>	125.0226, 169.0148, 305.0661	C <sub>31</sub> H <sub>29</sub> O <sub>14</sub>	C <sub>31</sub> H <sub>28</sub> O <sub>14</sub> /624.5603	3.7	4'-O-methyl-epigallocatechin (4→8) epigallocatechin	[33]
3	2.15	611.1428	609.1245	C <sub>30</sub> H <sub>25</sub> O <sub>14</sub>	425.0808, 299.0632, 287.0573, 263.0517, 179.0361	C <sub>30</sub> H <sub>27</sub> O <sub>14</sub>	C <sub>30</sub> H <sub>26</sub> O <sub>14</sub> /610.494	4.4	Epigallocatechin (4β→8) epigallocatechin	[5,33–35]
4	2.20	171.0300	169.0138	C <sub>7</sub> H <sub>5</sub> O <sub>5</sub>	-	C <sub>7</sub> H <sub>7</sub> O <sub>5</sub>	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>5</sub> /170.113	4.1	Gallic acid <sup>3</sup>	[5,35,36]
5	2.42	915.2008	913.1827	C <sub>45</sub> H <sub>37</sub> O <sub>21</sub>	611.1431, 425.0869, 287.0597, 263.0562, 179.0362	C <sub>45</sub> H <sub>39</sub> O <sub>21</sub>	C <sub>45</sub> H <sub>38</sub> O <sub>21</sub> /914.733	2.6	Epigallocatechin (4→8) epigallocatechin	[5]
6	2.62	929.7240	927.2041	C <sub>45</sub> H <sub>35</sub> O <sub>22</sub>	761.1112, 423.0788, 305.0630, 125.0252	-	C <sub>45</sub> H <sub>36</sub> O <sub>22</sub> /928.311	0.2	4'-O-methyl-epigallocatechin-3-O-gallate (4→6) epigallocatechin 3-O-gallate	[33]
7	2.64	611.1406	609.1224	C <sub>30</sub> H <sub>25</sub> O <sub>14</sub>	425.0943, 287.0575, 263.0571, 179.0337	C <sub>30</sub> H <sub>27</sub> O <sub>14</sub>	C <sub>30</sub> H <sub>26</sub> O <sub>14</sub> /610.494	0.8	Epigallocatechin (4β→6) epigallocatechin	[5,34,35]
8	2.80	1067.2070	1065.1937	C <sub>52</sub> H <sub>41</sub> O <sub>25</sub>	915.2032, 611.1549, 425.0953, 287.0670, 263.0620, 179.0453	C <sub>52</sub> H <sub>43</sub> O <sub>25</sub>	C <sub>52</sub> H <sub>42</sub> O <sub>25</sub> /1066.831	-2.2	Epigallocatechin (4→8) epigallocatechin (4→8) epigallocatechin-3-O-gallate	[7]
9	3.00	307.0824	305.0664	C <sub>15</sub> H <sub>13</sub> O <sub>7</sub>	195.0573, 177.0488, 163.0406	C <sub>15</sub> H <sub>15</sub> O <sub>7</sub>	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> O <sub>7</sub> /306.255	2.0	Epigallocatechin	[5,33,35]

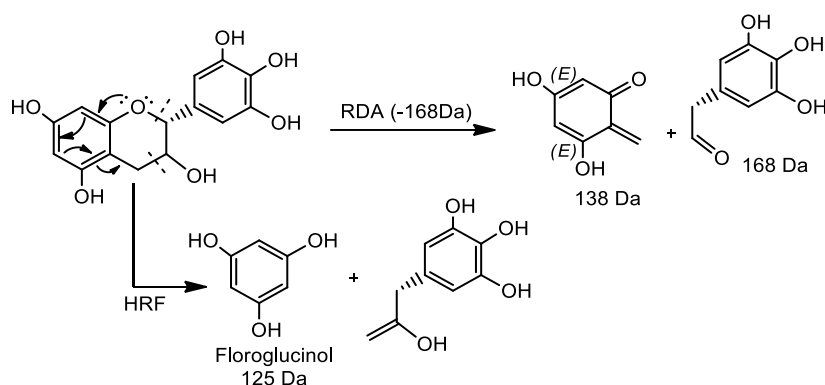


10	3.08	763.1538	761.1367	C <sub>37</sub> H <sub>29</sub> O <sub>18</sub>	593.1270, 485.1284, 319.0786, 305.0662, 125.0253	C <sub>37</sub> H <sub>31</sub> O <sub>18</sub>	C <sub>37</sub> H <sub>30</sub> O <sub>18</sub> /762.6221	1.7	Epigallocatechin (4→8) epigallocatechin-3-O- gallate/Epigallocatechin-3-O-gallate (4→8) epigallocatechin	[7,33–35]
11	3.28	609.5290	607.1412	C <sub>31</sub> H <sub>27</sub> O <sub>13</sub>	485.1264, 319.0786, 287.0568	C <sub>31</sub> H <sub>29</sub> O <sub>13</sub>	C <sub>31</sub> H <sub>28</sub> O <sub>13</sub> /608.5451	1.4	Robinetinidol-4'-O-methyl (4→8) epigallocatechin	[34,35]
12	3.32	487.1447	485.1295	C <sub>21</sub> H <sub>25</sub> O <sub>13</sub>	355.1012, 319.0728, 289.0634, 259.0592	C <sub>21</sub> H <sub>27</sub> O <sub>13</sub>	C <sub>21</sub> H <sub>26</sub> O <sub>13</sub> / 486.405	-1.0	C-hexosyl-O-pentosyl-5,7- dihydroxychromone isomer	[5]
13	3.57	595.1460	593.1277	C <sub>30</sub> H <sub>25</sub> O <sub>13</sub>	427.0926, 307.0875, 289.0704	C <sub>30</sub> H <sub>27</sub> O <sub>13</sub>	C <sub>30</sub> H <sub>26</sub> O <sub>13</sub> /594.495	1.3	Procyanidin prodelphinidin type B	[5]
14	3.79	623.1767	no <sup>2</sup>	-	423.1066, 287.0533	C <sub>32</sub> H <sub>31</sub> O <sub>13</sub>	-	0.3	Unknown	-
15	4.08	623.1779	no <sup>2</sup>	-	423.1018, 287.0552	C <sub>32</sub> H <sub>31</sub> O <sub>13</sub>	-	2.2	Unknown	-
16	5.43	677.2097	no <sup>2</sup>	-	545.1690, 367.1169, 235.0579, 191.0706	C <sub>32</sub> H <sub>37</sub> O <sub>16</sub>	-	2.2	Unknown	[5]
17	5.60	707.2196	no <sup>2</sup>	-	575.1804, 367.0898, 236.0611, 221.0834	C <sub>33</sub> H <sub>39</sub> O <sub>17</sub>	-	1.3	Unknown	

Rt min: retention time of the eluted compounds under the experimental conditions described in the UPLC–MS section; [M – H]<sup>-</sup>: exact mass value of the deprotonated molecule; [M + H]<sup>+</sup>: exact mass value of the protonated molecule; M: exact mass value of the neutral molecule; MM: molar mass; (MS/MS): *m/z* mass–charge ratio of the major ions produced by the fragmentation of deprotonated molecules. Δ<sup>1</sup> mass error (ppm) in parts per million; ppm = 10<sup>6</sup> × (accurate mass exact); 1 – positive mode; 2 – non-observed; 3 – compared to the standard. The signals detected in the present analysis were numbered following the elution order (retention time).

A total of 17 peaks were identified, revealing the presence of compounds belonging to corresponding to two main classes of metabolites: phenolic acids and tannins. The compounds were eluted in a noticeably short period of time (6.9 min). Together, the retention time and the number of peaks observed in the present analysis indicate that UPLC is an efficient separation technique.

According to our analysis, peaks 4 and 9 exhibited protonated ions in  $m/z$  171.0300 and 307.0824, respectively, which is compatible with the corresponding molecular formulas  $C_7H_6O_5$  and  $C_{15}H_{14}O_7$ , as their fragmentation profiles are compatible with the reported for *S. adstringens* [5,33,35]. The fragmentation pattern is compatible with the mechanistic pathway of retro-Diels–Alder (RDA) reactions and the different heterocyclic cleavage of the C ring (HRF—heterocyclic fission) (Figure 2). In addition, the occurrence of dehydration was crucial for the identification of peak 9 epigallocatechin (EGC) [37].



**Figure 2.** Mechanistic pathways of RDA reactions and heterocyclic cleavage of the Heterocyclic Fission (HRF) C ring.

The protonated ions at  $m/z$  625.5280 (peak 2), 611.1428 (peak 3), 929.7240 (peak 6), 611.1406 (peak 7), 763.1538 (peak 10), 609.5290 (peak 11), and 595.1460 (peak 13), corresponding respectively to  $C_{31}H_{28}O_{14}$ ,  $C_{30}H_{26}O_{14}$ ,  $C_{45}H_{36}O_{22}$ ,  $C_{30}H_{68}O_{14}$ ,  $C_{37}H_{30}O_{18}$ ,  $C_{31}H_{28}O_{13}$ , and  $C_{30}H_{26}O_{13}$ , were characterized as type B dimeric proanthocyanidins and type B dimeric proanthocyanidins with 3-*O*-galloyl in epigallocatechin (EGC) subunits.

The spectral analysis of peaks 2, 3–8, 10, 11, and 13 revealed fragmentation ions at  $m/z$  319, 307, 305, 289, and 287, produced from the generation of quinone and quinone methide with losses of (110, 125, 181, 318)  $u$ , 289  $u$ , (319, 457, 471, 153)  $u$ , 289  $u$ , (305, 609, 761)  $u$ , and  $H_2O$  molecules, consistent with prodelphinidin (PDE), procyanidin (PCY), and prorobinetinidine (PRO). Thus, the common losses due to RDA reactions of 168 and 152 Da, as well as the heterocyclic cleavage reactions of the C HRF 125 Da ring (floroglucinol), suggest the presence of PDE, PRO, and PCY.

Pseudomolecular ion products at  $m/z$  425  $[M + H^+ - 168 - H_2O]^+$ ,  $[M + 2H^+ - 305 - 168 - H_2O]^+$ ,  $[M + 2H^+ - 457 - 168 - H_2O]^+$  resulting from RDA reactions and excisions of 305 EGC and 457 gallate epigallocatechin (EGCG) were observed for peaks 3, 5, 7, and 8. An ion at  $m/z$  427  $[M + H^+ - 168]^+$  was observed for metabolite 13. The ions at  $m/z$  485  $[M + H^+ - 153 - 125]^+$  and  $[M + 2H^+ - 125]^+$  resulted from the excisions of the galloyl (153 Da) and floroglucinol (125 Da) groups, respectively, corresponding to peaks 10 and 11. Of note, six possible isomers were proposed for peak 10. The ion at  $m/z$  423  $[M + 2H^+ - 169 - 168 - 170]^+$  was associated with peak 6, such that the 169 Da fragment was associated with the loss of an *O*-gallate group, in which the 168 Da fragment corresponds to the loss of the 4-*O*-methyl-3,5-di-hydroxyl-benzaldehyde portion through heterocyclic cleavage of the C ring. The 170 Da fragment was associated with the loss of a gallic acid unit. Together, these findings suggest the presence of dimeric/trimeric PDE, in addition to PCY and dimeric PRO in the phenolic fraction under investigation, whose spectral profiles are compatible with the literature data [5,7,33–35].

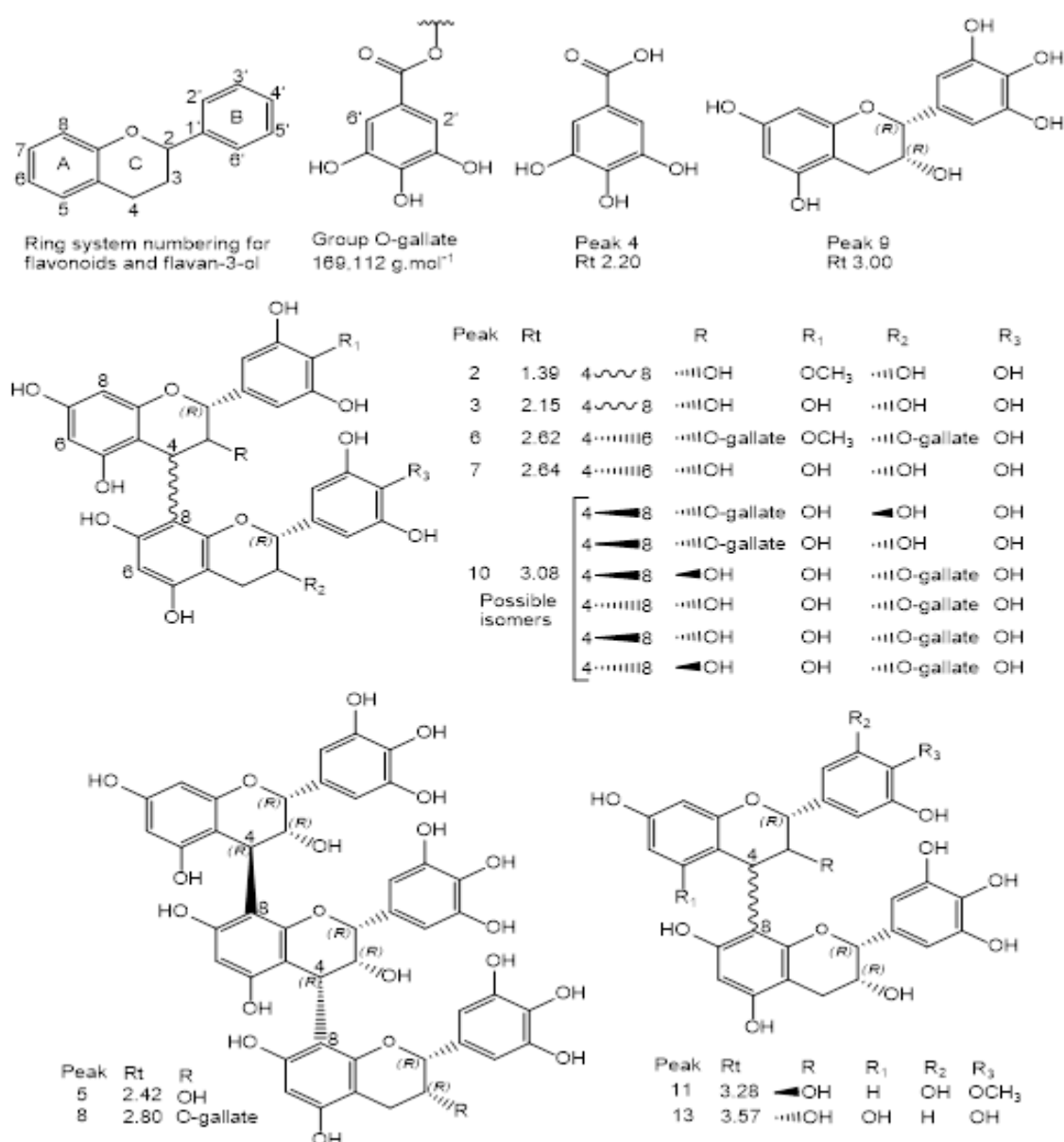
The type B prodelphinidin trimer shown in peak 5 was identified as three EGC units exhibiting the protonated ion at  $m/z$  915.2008, which corresponds to  $C_{45}H_{38}O_{21}$ , as also reported in *S. adstringens* [5]. On the other hand, the type B prodelphinidin trimer in peak 8, consisting of two

units of EGC and one EGCG unit that exhibited the protonated ion at  $m/z$  1066.2070, corresponds to  $C_{42}H_{42}O_{25}$ , as previously reported in *Myrica yubra* Sieb & Zucc [7]. Of note, proanthocyanidin ions larger than trimers were not identified, since these experiments were recorded in a 110–1200 Da  $m/z$  window.

The characteristic of peak 12 is compatible with the structure of chromonic compounds [38]. Accordingly, its protonated ion presented a precise mass loss at  $m/z$  487.1447, corresponding to  $C_{21}H_{26}O_{13}$ . The fragmentation of ions at  $m/z$  487 produced an ion at  $m/z$  355  $[M + H - 132]^+$  suggesting an *O*-pentosyl substitute in the structure, at  $m/z$  319  $[M + H - 168]^+$ . Thus, peak 12 was identified as *C*-hexosyl *O*-pentosyl 5, 7-dihydroxychromone, and its spectral data are comparable to the data reported in the literature [5].

In synthesis, the UPLC–MS analysis showed the predominance of type-B proanthocyanidins (PA) with  $C_4 \rightarrow C_8$  and  $C_4 \rightarrow C_6$  interflavanic bonds in the tannin-rich fraction of *S. rotundifolium*.

The molecular structures of compounds (Figure 3) were designed using the Chem Draw Ultra 12.0.2.1076.lnk program (Licensed to Mulder X-Filer 875-317589-4732. 1986–2010 CambridgeSol).



**Figure 3.** Molecular structures of the metabolites identified in the tannic fraction of *Stryphnodendron rotundifolium* Mart., (TFSF).

The findings of the present study indicate that the phenolic composition of *S. rotundifolium* is characterized by a remarkable presence of type B proanthocyanidins, a group of compounds with demonstrated antioxidant activity, which may, therefore, play important roles in health maintenance and minimization of disease onset and progression [2,39].

The Fe<sup>2+</sup>-chelating activity and Fe<sup>3+</sup>-reducing power of TFSR, as a function of time and concentration, were analyzed using the *o*-phe assay. As shown in Table 2, the fraction was effective in chelating Fe<sup>2+</sup> at all concentrations and timepoints evaluated in this study. At the highest concentration (0.200 mg/mL), the activity varied over time (0.5 to 90 min), reaching an average Fe<sup>2+</sup>-chelating rate of 93%. For the lowest concentration (0.05 mg/mL), an average value of 77% was found. The fraction, at the concentrations analyzed, reached maximum activity at 45 min. Importantly, there was no significant difference in the chelating activity at different timepoints when considering the same concentration. However, a significant difference was observed between the Fe<sup>2+</sup>-chelating activity of the concentrations 0.200 mg/mL and 0.050 mg/mL. The results also indicate the chelating activity of the fraction is not concentration-dependent.

The rapid decrease in the absorbance of the Fe<sup>2+</sup>/*o*-phe/TFSR system compared to the control (*o*-phe/Fe<sup>2+</sup>/H<sub>2</sub>O) indicates that the formation of chelates with Fe<sup>2+</sup> is kinetically favored. The addition of ascorbic acid 90 min after the beginning of the reaction caused insignificant variation in the absorbance of the sample, revealing the generation of chelates with higher thermodynamic stability than the ferrioxalate (ph)<sub>3</sub>Fe<sup>2+</sup>.

**Table 2.** Fe<sup>2+</sup>-chelating activity of TFSR

[TFSR] mg/mL	(%)Fe <sup>2+</sup> -Chelating Activity/Time (min)										Asc. ac.
	0.5	2.5	5	10	20	30	45	60	75	90	
0.200	87.88 ± 2.40	93.61 ± 1.78	93.29 ± 1.93	92.32 ± 1.75	95.37 ± 2.96	93.37 ± 3.29	97.82 ± 0.91	95.24 ± 2.69	93.15 ± 3.37	91.86 ± 3.08	91.94 ± 5.04
0.100	86.77 ± 4.25	84.55 ± 2.87	83.62 ± 2.62	85.77 ± 2.81	85.81 ± 1.77	84.44 ± 4.32	93.68 ± 3.47	86.32 ± 4.11	82.66# ± 4.58	79.50# ± 2.65	77.92# ± 5.24
0.050	76.50# ± 3.50	80.92# ± 3.39	75.52# ± 5.88	75.90# ± 4.84	80.17# ± 6.11	77.49# ± 3.73	83.23# ± 2.19	76.14# ± 3.42	71.70# ± 4.28	70.85# ± 3.02	67.95# ± 3.29

These values are expressed as the means ± SEM (*n* = 4) and analyzed by one-way ANOVA followed by Tukey's multiple comparison test, with a simple pooled variance: Significant difference (*p* < 0.05) at different timepoints and concentrations of tannic fraction of *Stryphnodendron rotundifolium* Mart., (TFSR). Ascorbic acid (Asc. ac.). \* Significant difference between the values of equal concentration. # Significant difference between the values of different concentrations at equal timepoints.

A study by [36] reported that the Fe<sup>2+</sup> chelating potential of the TFSR was positively correlated with the number of catechol groups in the phenolic structures. Therefore, the abundance of highly hydroxylated proanthocyanidins with catechol and galloyl groups in the tannin-rich fraction under study offer several chelation sites, contributing to its significant Fe<sup>2+</sup>-chelating activity.

Regarding the Fe<sup>2+</sup>-chelating activity of *S. rotundifolium*, this work demonstrated that its tannin-rich fraction showed a potent effect, with fast reaction kinetics. The reaction profile indicates that the chelates formed between the fraction constituents and Fe<sup>2+</sup> are thermodynamically more stable than the ferrioxalate of high crystal field stabilization energy (CFSE) [40]. Consequently, the authors of this work believe that the significant chelating activity of the fraction is related to synergistic effects due to the presence of prodelfinidins, prorobinetidine, and procyanidin with many catechol and galloyl groups. The potent iron-chelating activity exhibited by *S. rotundifolium* indicates that this species has the potential to be used to minimize oxidative effects of iron overload eating conditions that play important pathological functions, including a wide variety of disorders such as tumors, nervous system diseases, ischemia/reperfusion injury, kidney injury, and blood diseases [41].

As for the Fe<sup>3+</sup>-reducing power, at the highest concentration analyzed (0.200 mg/mL), the fraction effectively reduced Fe<sup>3+</sup> to Fe<sup>2+</sup> from the first timepoint of analysis (Table 3), exhibiting strong reducing activity with an average of 84% (from 0.5 to 90 min) and the peak effect reached at 45 minutes, revealing the typical electron transfer characteristic of phenolic compounds [42].

Nevertheless, in this assay, the maximum activity of the fraction from 0.20 to 0.05 mg/mL was reached at 105 min. The rapid decrease in the absorbance of the systems ( $\text{Fe}^{3+}/o\text{-phe}/\text{TFSR}$ ) in relation to the control ( $o\text{-phe}/\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}$ ), suggests that the reducing reaction from  $\text{Fe}^{3+}$  to  $\text{Fe}^{2+}$  is kinetically favored in the presence of the constituents of the fraction. The addition of ascorbic acid 90 min after the beginning of the reaction caused a decrease in the absorbance of the system ( $\text{Fe}^{3+}/o\text{-phe}/\text{TFSR}$ ), revealing that the  $\text{Fe}^{2+}$  fraction was subtracted from the ferriox chelate by the action of the TFSR, reducing the absorbance of ferriox. As observed in the iron-chelating activity experiment, no significant difference was observed with regard to the reducing activity when different timepoints at the same concentration were compared. However, there was a significant difference in  $\text{Fe}^{3+}$ -reducing activity between the concentration of 0.200 mg/mL and the others (0.100 mg/mL and 0.050 mg/mL). The results obtained in this experiment indicate that the reducing activity responses mediated by the extract do not occur in a concentration-dependent manner.

**Table 3.** TFSR  $\text{Fe}^{3+}$ -reducing activity.

[TFSR] mg/mL	(% $\text{Fe}^{3+}$ -Reducing Activity/Time (min))										Asc. ac.
	0.5	2.5	5	10	20	30	45	60	75	90	105
0.200	81.43 ± 2.62	79.65 ± 4.14	87.38 ± 1.62	82.24 ± 4.80	82.84 ± 5.10	81.24 ± 4.52	87.26 ± 3.78	86.15 ± 2.87	86.35 ± 3.15	85.44 ± 4.44	90.19 ± 3.99
0.100	64.70# ± 2.09	64.18# ± 5.40	70.34# ± 4.84	66.10# ± 2.53	65.01# ± 3.32	62.91# ± 4.19	70.31# ± 5.17	68.58# ± 3.39	69.80# ± 3;06	71.66# ± 4.49	77.69#* ± 3.82
0.050	61.80# ± 2.04	62.09# ± 5.53	71.83# ± 2.39	63.67# ± 4.80	65.28# ± 4.47	63.39# ± 3.20	66.65# ± 5.06	63.84# ± 3.59	63.85# ± 2.01	64.88# ± 4.03	69.01# ± 2.79

These values are expressed as the means ± SEM ( $n = 4$ ) and analyzed by one-way ANOVA followed by Tukey's multiple comparison test, with a simple pooled variance: Significant difference ( $p < 0.05$ ) at different timepoints and concentrations of TFSR. \* Significant difference between the values of equal concentration. # Significant difference between the values of different concentration at equal timepoints.

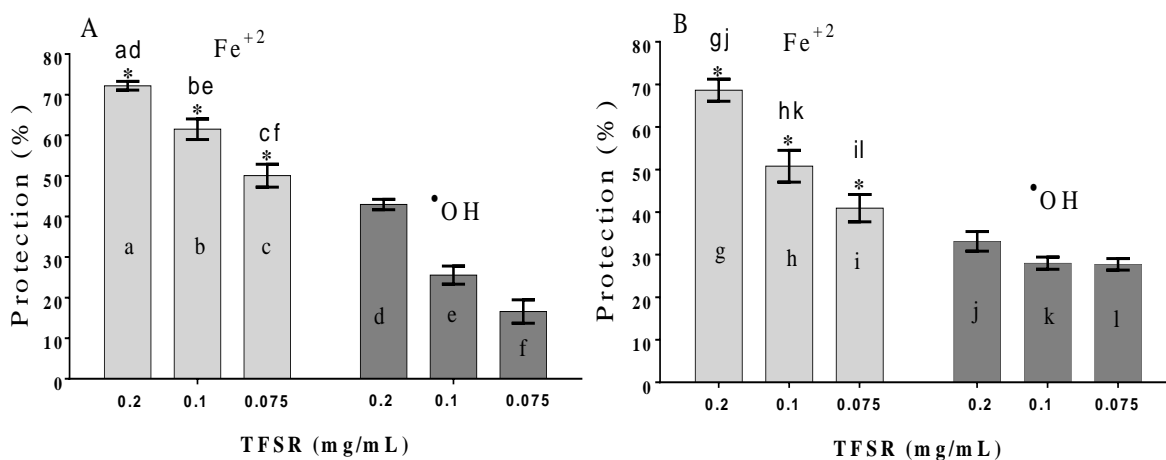
The  $\cdot\text{OH}$  radical-scavenging activity was evaluated using the 2-deoxyribose (2-DR) oxidative degradation method, by quantifying its main subproduct, malondialdehyde (MDA). The antioxidant activity was expressed as the percent protection of 2-DR degradation.

The hydroxyl radical ( $\cdot\text{OH}$ ) is a highly reactive free radical capable of triggering damage to several cellular structures. *In vivo*, this radical can be generated in the presence of superoxide radicals and transition cations, such as iron and copper, through the Haber–Weiss reaction [43]. In the experimental conditions of this study, the  $\cdot\text{OH}$  radical was generated *in vitro* through the Fenton reaction.

Figures 4A,B show the protection level exerted by the fraction when the treatment was performed previously (PT) or simultaneously (ST) to the addition of either of the prooxidant systems:  $\text{Fe}^{2+}$  (light-gray bars) and Fenton reaction/ $\cdot\text{OH}$  (dark-gray bars). In both treatment conditions, the fraction showed a strong protective activity against the oxidative action of  $\text{Fe}^{2+}$  and a moderate activity against the action of the  $\cdot\text{OH}$  radicals generated in the Fenton reaction. For the first condition, the fraction presented  $\text{IC}_{50}$  values of 0.0576 and 0.100 mg/mL for PT and ST, respectively. For the second condition, these values were respectively 0.225 and 0.596 mg/mL. However, considering the distinct pro-oxidant systems, no significant difference in the protective activity of the fraction against 2-DR degradation for a given concentration was observed, indicating that the antioxidant activity was not influenced by the time of treatment.

At the concentration of 0.2 mg/mL, the TFSR prevented 2-DR degradation by the pro-oxidant  $\text{Fe}^{2+}$  with protection levels of 72.2% and 68.6% for PT (Figure 4A) and ST (Figure 4B), respectively. However, the difference between these treatment conditions was not significant. The 2-DR degradation triggered by the  $\cdot\text{OH}$  radical generated in the Fenton reaction was inhibited by TFSR (0.2 mg/mL) in both PT (Figure 4A) and ST (Figure 4B) conditions, with protection levels of 42.9% and 33.1%. Again, the difference between these treatment conditions was not significant.

Considering the two different oxidant systems, it can be observed that TFSR protective activity against the pro-oxidant condition  $\text{Fe}^{2+}$  was significantly higher than observed against  $\bullet\text{OH}$  radical produced in the Fenton reaction, as shown in Figure 4.



**Figure 4.** Percentage (%) protection of 2-DR degradation *in vitro*. The antioxidant activity of the tannin-rich fraction of *S. rotundifolium* (TFSR) was evaluated previously (A) or simultaneously (B) to the addition of  $\text{Fe}^{2+}$  (50  $\mu\text{M}$ , light bars) or the Fenton reaction reagents (50  $\mu\text{M}$   $\text{Fe}^{2+}$  + 0.5 mM  $\text{H}_2\text{O}_2$ , dark bars). These values were expressed as the means  $\pm$  SEM ( $n = 4$ ) and analyzed by one-way ANOVA followed by Tukey's multiple comparison test, with a simple pooled variance. \* Significant difference ( $p < 0.05$ ) at equal concentrations. a, b, c, d, e, f, g, h, i, j, k, and l, represent the concentrations of TFSR in the different pro-oxidant systems.

The remarkable  $\bullet\text{OH}$ -scavenging activity of the fraction can be attributed to the presence of hydrolyzable tannins, especially type B proanthocyanidins (dimers and trimers) with catechol and pyrogallol groups. These compounds have been recognized as excellent natural antioxidants and, as such, have the potential to be investigated in pharmacological research in several disease models [44]. Studies have indicated that the mechanism underlying the antioxidant activity of these compounds involves the donation of hydrogen and electrons responsible for the inhibition of free radicals [5,7].

To elucidate the mechanism via which the fraction protects 2-DR from degradation in the presence of the Fenton reaction, we evaluated the protective effect of different concentrations of the fraction (0.2, 0.1, and 0.075 mg/mL) using varying concentrations of 2-DR (1.5, 1.75 and 2.0 mM) and a fixed concentration of the reacting system (50  $\mu\text{M}$   $\text{Fe}^{2+}$  + 0.5 mM  $\text{H}_2\text{O}_2$ ).

The protection levels exerted by different concentrations of TFSR against 2-DR degradation did not vary significantly following the increasing 2-DR concentrations (1.5, 1.75, and 2.0 mM) (Table 4), suggesting that the constituents of the fraction act predominantly as iron-chelating antioxidants, inhibiting the generation  $\bullet\text{OH}$  radicals.

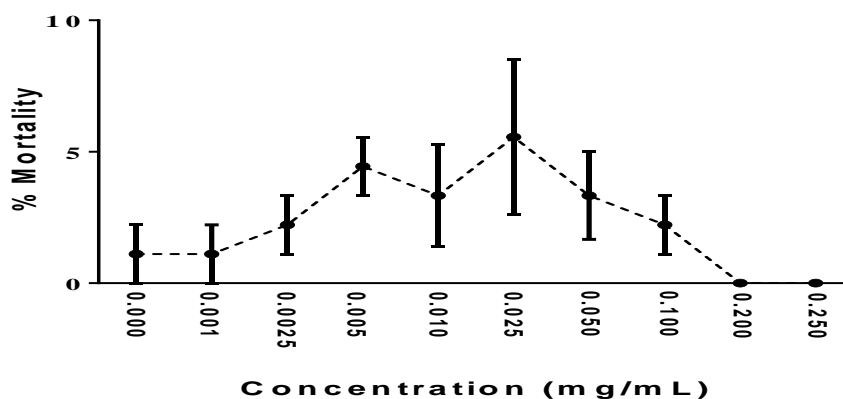
**Table 4.** 2-DR degradation.

[2-DR] mM	TFSR Protective Activity (%) $\pm$ SEM		
	0.20 mg/mL	0.10 mg/mL	0.075 mg/mL
1.50	27.22 $\pm$ 1.67	21.40 $\pm$ 1.95	17.37 $\pm$ 1.80
1.75	25.57 $\pm$ 1.87	21.09 $\pm$ 3.12	16.32 $\pm$ 1.90
2.00	24.53 $\pm$ 1.11	19.74 $\pm$ 0.49	15.46 $\pm$ 3.95
Statistical Comparison	NS	NS	NS

These values are expressed as the means  $\pm$  SEM ( $n = 3$ ) and analyzed by one-way ANOVA followed by multiple comparisons. Significant difference ( $p < 0.05$ ) at equal concentrations of TFSR. <sup>NS</sup> No significant difference between the values.

The findings of the present research indicate that the protective mechanism of TFSR occurred mainly via chelation of Fe<sup>2+</sup> ions (as show in Table 4) and, to a lesser extent, via •OH radical scavenging. Importantly, this mechanism can prevent Fe<sup>2+</sup> from participating in reactions that generate free radicals such as H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and •OH, which could have beneficial roles in inhibiting oxidative stress. Nevertheless, a secondary antioxidant mechanism via •OH scavenging could contribute to the occurrence of synergistic antioxidant effects.

The preliminary toxicological analysis using *A. salina* showed that, in the range of concentrations evaluated (0.001 to 0.25 mg/mL), mortality below 10% was observed, with no statistical difference between the rates of mortality induced by each of the tested concentrations, indicating that the fraction has low *in vivo* toxicity under the experimental conditions adopted in the present study (Figure 5).



**Figure 5.** *Artemia salina* toxicity of the acetone–water fraction obtained from the stem bark of *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. Mortality was analyzed 24 h after the addition of different fraction concentrations. These values are expressed as the means ± SEM ( $n = 3$ ), with a 95% confidence interval and analyzed by nonlinear regression of the transformed curves using one-way ANOVA followed by Bonferroni correction and Tukey's multiple comparison test, with a simple pooled variance # Significant difference between concentrations. GraphPad Prism 6.0 was used.

The results demonstrated by this preliminary toxicological evaluation suggest that the fraction can be tested in a higher concentration range, both in pharmacological and in toxicological studies, since no evident toxicity was observed at the highest tested concentration (0.25 mg/mL). However, additional studies using cell cultures and animal models are fundamental to bring relevant information regarding its *in vivo* safety, especially with regard to the risks associated with the ingestion of tannins.

It is hypothesized that the antioxidant effects demonstrated by the fraction are explained, at least partially, by the presence of constituents carrying pyrogallol groups containing hydroxyls capable of promoting both Fe<sup>3+</sup> reduction and Fe<sup>2+</sup> chelation, in addition to potentially acting as electron and hydrogen donors and, as such, acting as free-radical scavengers. The presence of galloyl portions, as well as the stabilization of phenoxyl radicals by resonance, contributes significantly to the antioxidant capacity of phenolic compounds [45]. In addition, the existence of significant amounts of galloyl portions in polyphenols favors the stabilization of phenoxyl free radicals (semiquinones), contributing to their iron-chelating and radical-scavenging activities [46].

In this context, the proanthocyanidins identified in the tannin-rich fraction present characteristics that favor their antioxidant action. In addition, these compounds can be easily absorbed by the gastrointestinal tract, which is a desirable characteristic for substances used in the development of oral drugs. Notwithstanding, proanthocyanidins with higher polymerization rates have low permeability coefficients in the human organism, impairing their oral absorption [47].

Despite the strong influence of pyrogallol and phenolic hydroxyl groups on TFSR antioxidant activity, the three-dimensional arrangement of the structure and possibly steric effect

might contribute to the pharmacological effects of the fraction components. Thus, among the proanthocyanidins identified, we believe that dimers and trimers mostly contribute to the antioxidant activity demonstrated through 2-DR degradation protection.

Iron is a mineral with several physiological functions, found both in free form and in the composition of proteins such as hemoglobin, myoglobin, cytochromes, and several enzymes [48]. However, due its deleterious effects, the cells store free iron at low levels.

While little amounts of this mineral are commonly stored by macrophages, excess free iron reaches the circulation and deposits in hepatocytes and parenchymal cells. Iron accumulation triggers oxidative stress by mechanisms that involve the Fenton and Haber–Weiss reactions. In this phenomenon, free iron acts as a catalyst for oxidative reactions stimulating the synthesis of superoxide and hydroxyl radicals [49].

Recent research has demonstrated that many of the deleterious effects of iron occur due to ferroptosis, an iron-dependent type of cell death characterized by the accumulation of lipid ROS that play important roles in a wide variety of systemic diseases, such as nervous system diseases, heart diseases, liver diseases, gastrointestinal diseases, lung diseases, kidney diseases, and pancreatic diseases [42]. Hence, the importance of demonstrating the expressive ability of TFSSR to acting as iron-chelating–reducing *in vitro* raises the hypothesis that this natural product may present promising results *in vivo*, which will be further investigated.

In fact, evidence suggests that substances capable of forming complexes with iron, thus promoting its excretion, may have applications in the treatment of several conditions [50], highlighting the therapeutic potential of *S. rotundifolium*, which proved to be a source of tannic compounds with Fe<sup>2+</sup>-chelating and •OH-scavenging activities. This hypothesis is supported by studies demonstrating that extracts with high concentrations of phenolic compounds inhibited lipid peroxidation in human erythrocytes by decreasing the production of malondialdehyde, a subproduct of 2-DR degradation [51].

In recent years, considerable interest has arisen regarding the beneficial effects of proanthocyanidins (PAs) and their monomers on human health. Studies have shown that these substances have numerous pharmacological activities, including antioxidant, anti-inflammatory, and anticancer properties [5,39,52]. Therefore, the polymeric proanthocyanidins identified in *S. rotundifolium* could have beneficial effects in metabolic disorders, preventing the onset of diseases whose etiology is associated with iron overload and oxidative stress [53].

#### 4. Conclusions

The results of the present study demonstrated that the tannin-rich fraction of *S. rotundifolium* is a natural product with significant *in vitro* antioxidant activity, which may be directly related to the high content of prodelfinidins, prorobinetidines, and highly hydroxylated procyanidins with great capacity to donate electrons, as well as to chelate iron ions.

The potent Fe<sup>2+</sup>-chelating activity demonstrated by the tannin-rich fraction of *S. rotundifolium* and the significant and constant protective activity observed in the 2-DR + Fe<sup>2+</sup> system indicate that the antioxidant mechanisms of this fraction are mainly via an iron-chelating action and, to a lesser extent, an •OH radical-scavenging action, at concentrations that do not cause significant toxicity *in vivo* in the *Artemia salina* model.

In conclusion, the tannic fraction of *S. rotundifolium* Mart. has potent antioxidant and iron-chelating activities, which indicates that it is a source of antioxidant compounds with the potential to be used in drug development in the context of iron overload disorders, which remains to be further investigated *in vivo*.

**Author Contributions:** Conceptualization, J.G.M.D.C. and G.J.T.S.; methodology, F.J.D., G.J.T.S., J.G.M.D.C., and H.D.M.C.; software, P.R.V.R., E.S.D.B., and K.M.C.; validation, G.J.T.S., P.R.V.R., E.S.D.B., and K.M.C.; formal analysis, J.G.M.D.C. and G.J.T.S. ; investigation, J.G.M.D.C., H.D.M.C., and G.J.T.S.; resources, J.G.M.D.C., H.D.M.C., and G.J.T.S.; data curation, P.R.V.R., E.S.D.B., and K.M.C.; writing—original draft preparation, J.G.M.D.C. and G.J.T.S.; writing—review and editing, J.R.-F., M.G., D.M., D.N., and G.Z.; visualization, J.R.-F., M.G., D.M., D.N., and G.Z.; supervision, J.G.M.D.C.; project administration, J.G.M.D.C. All authors read and agreed to the published version of the manuscript.



**Funding:** This research received no external funding.

**Institutional Review Board Statement:** Not applicable

**Informed Consent Statement:** Not applicable

**Data Availability Statement:** Not applicable.

**Acknowledgments:** This work was carried out by the Department of Biological Chemistry/Research in Natural Products of the Regional University of Cariri (URCA) with the support of the Brazilian Agency for the Coordination of Improvement of Higher Education Personnel (CAPES) and the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq).

**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflicts of interest.

## References

1. Ferreira Macedo, J.G.; Menezes, I.R.A.D.; Alves Ribeiro, D.; de Oliveira Santos, M.; Gonçalves de Mâcedo, D.; Ferreira Macedo, M.J.; Vilar de Almeida, B.; Souza de Oliveira, L.G.; Pereira Leite, C.; de Almeida Souza, M.M. Analysis of the variability of therapeutic indications of medicinal species in the Northeast of Brazil: Comparative study. *Evid.-Based Complementary Altern. Med.* **2018**, *2018*, 6769193.
2. Ribeiro, D.A.; de Oliveira, L.G.S.; de Macêdo, D.G.; de Menezes, I.R.A.; da Costa, J.G.M.; da Silva, M.A.P.; Lacerda, S.R.; de Almeida Souza, M.M. Promising medicinal plants for bioprospection in a Cerrado area of Chapada do Araripe, Northeastern Brazil. *J. Ethnopharmacol.* **2014**, *155*, 1522–1533.
3. Corrêa, M. *Dicionário de Plantas Úteis do Brasil e Das Exóticas e Cultivadas*; Imprensa Nacional: Rio de Janeiro, Brazil, 1978.
4. Costa, J.G.M.D.; Leite, G.D.O.; Dubois, A.F.; Seeger, R.L.; Boligon, A.A.; Athayde, M.L.; Campos, A.R.; Rocha, J.B.T.D. Antioxidant effect of *Stryphnodendron rotundifolium* Martius extracts from Cariri-Ceará state (Brazil): Potential involvement in its therapeutic use. *Molecules* **2012**, *17*, 934–950.
5. Baldivia, D.D.S.; Leite, D.F.; Castro, D.T.H.D.; Campos, J.F.; Santos, U.P.D.; Paredes-Gamero, E.J.; Carollo, C.A.; Silva, D.B.; de Picoli Souza, K.; Dos Santos, E.L. Evaluation of *In Vitro* Antioxidant and Anticancer Properties of the Aqueous Extract from the Stem Bark of *Stryphnodendron adstringens*. *Int. J. Mol. Sci.* **2018**, *19*, 2432.
6. da Silveira, G.D.; Motta, M.J.; Müller, L.S.; Lameira, O.; Athayde, M.L.; Piana, M.; Rosa, M.B. d.; Viana, C.; de Carvalho, L.M. Determination of phenolic antioxidants in Amazonian medicinal plants by HPLC with pulsed amperometric detection. *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.* **2015**, *38*, 1259–1266.
7. Fu, Y.; Qiao, L.; Cao, Y.; Zhou, X.; Liu, Y.; Ye, X. Structural elucidation and antioxidant activities of proanthocyanidins from Chinese bayberry (*Myrica rubra* Sieb. et Zucc.) leaves. *PLoS ONE* **2014**, *9*, e96162.
8. Kushner, J.P.; Porter, J.P.; Olivieri, N.F. Secondary iron overload. *Hematol. Am Soc Hematol. Educ Program.* **2001**, 47–61. doi: 10.1182/asheducation-2001.1.47.
9. Phatak, P.; Brissot, P.; Wurster, M.; Adams, P.C.; Bonkovsky, H.L.; Gross, J.; Malferttheiner, P.; McLaren, G.D.; Niederau, C.; Piperno, A.; et al. A phase 1/2, dose-escalation trial of deferasirox for the treatment of iron overload in HFE-related hereditary hemochromatosis. *Hepatology.* **2010**, *52*, 1671–779.
10. Nardi, G.; Cadiz, C.; Lachman, J.; Cornelio, C. Advances in hereditary hemochromatosis. *Acta Gastroenterol. Latinoam.* **2003**, *33*, 103–107. PMID. 14708503.
11. Crawford, R.D. Proposed role for a combination of citric acid and ascorbic acid in the production of dietary iron overload: A fundamental cause of disease. *Biochem. Mol. Med.* **1995**, *54*, 1–11.
12. Weinberg, E.D. Cellular iron metabolism in health and disease. *Drug Metab Rev.* **1990**, *22*, 531–579.
13. Beaumont; Vailont, Iron homeostasis. In *Disorders of Iron Homeostasis, Erythrocytes, Erythropoiesis*; Beaumont, C., Beris, P., Beuzard, Y., Brugnara, C., Eds.; Forum Service Editore: Genova, Italy, 2006; pp. 393–406.
14. Donovan, A.; Roy, C.N.; Andrews, N.C. The ins and outs of iron homeostasis. *Physiology* **2006**, *21*, 115–123.
15. Anderson, R.L.; Wolf, W.J. Compositional changes in trypsin inhibitors, phytic acid, saponins and isoflavones related to soybean processing. *J. Nutr.* **1995**, *125* (Suppl. 3), 581S–588S.
16. Awika, J.M.; Rooney, L.W.; Wu, X.; Prior, R.L.; Cisneros-Zevallos, L. Screening methods to measure antioxidant activity of sorghum (*Sorghum bicolor*) and sorghum products. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 6657–6662.
17. Kaur, C.; Kapoor, H.C. Anti-oxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables. *Int. J. Food Sci. Technol.* **2002**, *37*, 153–161.
18. Sun, T.; Ho, C.-T. Antioxidant activities of buckwheat extracts. *Food Chem.* **2005**, *90*, 743–749.
19. Cadahía, E.; Conde, E.; García-Vallejo, M.; Fernández de Simón, B. High pressure liquid chromatographic analysis of polyphenols in leaves of *Eucalyptus camaldulensis*, *E. globulus* and *E. rudis*: Proanthocyanidins, ellagitannins and flavonol glycosides. *Phytochem. Anal.* **1997**, *8*, 78–83.
20. Cork, S.J.; Krockenberger, A.K. Methods and pitfalls of extracting condensed tannins and other phenolics from plants: Insights from investigations on *Eucalyptus* leaves. *J. Chem. Ecol.* **1991**, *17*, 123–134.
21. Matos, F. *Introduction to Experimental Phytochemical*; Editions UFC: Fortaleza, Brazil, 1997.
22. Nuutila, A.M.; Puupponen-Pimiä, R.; Aarni, M.; Oksman-Caldentey, K.-M. Comparison of antioxidant activities of onion and garlic extracts by inhibition of lipid peroxidation and radical scavenging activity. *Food Chem.* **2003**, *81*, 485–493.
23. Broadhurst, R.B.; Jones, W.T. Analysis of condensed tannins using acidified vanillin. *J. Sci. Food Agric.* **1978**, *29*, 788–794.

24. Bossu, C.M.; Ferreira, E.C.; Chaves, F.S.; Menezes, E.A.; Nogueira, A.R.A. Flow injection system for hydrolysable tannin determination. *Microchem. J.* **2006**, *84*, 88–92.
25. Andrews, N.C. Disorders of iron metabolism. *N. Eng. J. Med.* **1999**, *341*, 1986–95.
26. Burtis, C.A.; Ashwood, E.R.; Bruns, D.E. (Eds.) *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostic*; 4th ed.; Elsevier & Saunders: St. Louis, MI, USA, 2006; pp. 797–835.
27. Worwood, M. The laboratory assessment of iron states—An update. *Clin Chim Acta* **1997**, *259*, 3–23.
28. Zhang, D.J.; Elswick, R.K.; Miller, W.G.; Bailey, J.L. Effect of serum-clot contact time on clinical chemistry laboratory results. *Clin. Chem.* **1998**, *44*, 1325–1333.
29. Minotti, G.; Aust, S.D. An investigation into the mechanism of citrate  $Fe^{2+}$ -dependent lipid peroxidation. *Free. Radic. Biol. Med.* **1987**, *3*, 379–387.
30. Gutteridge, J.M. Thiobarbituric acid-reactivity following iron-dependent free-radical damage to amino acids and carbohydrates. *Febs Lett.* **1981**, *128*, 343–346.
31. Torres Salazar, G.J.; Duavy, S.M.; Adefegha, S.A.; Boligon, A.A.; Morel, A.F.; da Rocha, J.B.; Barbosa, N.B.; Ecker, A. Comparative antioxidant potential of aqueous and acetone/water extracts of grains and brans of *Graniferous sorghum* [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] hybrid guanipa 71 *in vitro*. *Int. J. Pharm. Sci. Res.* **2018**, *9*, 932–944.
32. McLaughlin, J. Brine shrimp: A convenient general bioassay for active constituents. *Planta Med.* **1982**, *45*, 31–32.
33. Henriques, B.O.; Corrêa, O.; Azevedo, E.P.C.; Pádua, R.M.; Oliveira, V.L.S.D.; Oliveira, T.H.C.; Boff, D.; Dias, A.C.F.; Souza, D.G.D.; Amaral, F.A. *In vitro* TNF-inhibitory activity of Brazilian plants and anti-inflammatory effect of *Stryphnodendron adstringens* in an acute arthritis model. *Evid. Based Complementary Altern. Med.* **2016**, *2016*, 9872598.
34. de Mello, J.P.; Petereit, F.; Nahrstedt, A. Flavan-3-ols and prodelphinidins from *Stryphnodendron adstringens*. *Phytochemistry* **1996**, *41*, 807–813.
35. Pinto, S.C.G.; Bueno, F.G.; Panizzon, G.P.; Morais, G.; Dos Santos, P.V.P.; Baesso, M.L.; de Souza Leite-Mello, E.V.; de Mello, J.C.P. *Stryphnodendron adstringens*: Clarifying wound healing in streptozotocin-induced diabetic rats. *Planta Med.* **2015**, *81*, 1090–1096.
36. Demarque, D.P.; Callejon, D.R.; Oliveira, G.G. d.; Silva, D.B.; Carollo, C.A.; Lopes, N.P. The role of tannins as antiulcer agents: A fluorescence-imaging based study. *Rev. Bras. Farmacogn.* **2018**, *28*, 425–432.
37. Li, H.-J.; Deinzer, M.L. Tandem mass spectrometry for sequencing proanthocyanidins. *Anal. Chem.* **2007**, *79*, 1739–1748.
38. Robeson, D.J.; Ingham, J.L., & Harborne, J.B. Identification of two chromone phytoalexins in the sweet pea, *Lathyrus odoratus*. *Phytochemistry* **1980**, *19*, 2171–2173.
39. Bladé, C.; Aragonès, G.; Arola-Arnal, A.; Muguera, B.; Bravo, F.I.; Salvadó, M.J.; Arola, L.; Suárez, M. Proanthocyanidins in health and disease. *Biofactors* **2016**, *42*, 5–12.
40. Shriver, D. F.; Atkins, P. W. In: *Inorganic chemistry*; 3rd ed.; Porto Alegre, RS: Bookman, 2003.
41. Li, J.; Cao, F.; Yin, H.-L.; Huang, Z.-J.; Lin, Z.-T.; Mao, N.; Sun, B.; Wang, G. Ferroptosis: Past, present and future. *Cell Death Dis.* **2020**, *11*, 1–13.
42. Leopoldini, M.; Marino, T.; Russo, N.; Toscano, M. Antioxidant properties of phenolic compounds: H-atom versus electron transfer mechanism. *J. Phys. Chem. A* **2004**, *108*, 4916–4922.
43. Castro, L.; Freeman, B.A. Reactive oxygen species in human health and disease. *Nutr. (Burbank Los Angeles Cty. Calif.)* **2001**, *17*, 161–165.
44. Macáková, K.; Kolečkář, V.; Cahlíková, L.; Chlebek, J.; Hošťálková, A.; Kuča, K.; Jun, D.; Opletal, L. Tannins and their influence on health. In *Recent Advances in Medicinal Chemistry*; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 2014; pp. 159–208. Doi: 10.1016/B978-0-12-803961-8.50006-3
45. Zhao, X.; Sun, H.; Hou, A.; Zhao, Q.; Wei, T.; Xin, W. Antioxidant properties of two gallotannins isolated from the leaves of *Pistacia weinmannifolia*. *Biochim. Biophys. Acta* **2005**, *1725*, 103–110, doi:10.1016/j.bbagen.2005.04.015.
46. Guo, Q.; Zhao, B.; Shen, S.; Hou, J.; Hu, J.; Xin, W. ESR study on the structure–antioxidant activity relationship of tea catechins and their epimers. *Biochim. Biophys. Acta (BBA)-Gen. Subj.* **1999**, *1427*, 13–23.
47. Ou, K.; Gu, L. Absorption and metabolism of proanthocyanidins. *J. Funct. Foods* **2014**, *7*, 43–53.
48. Manjunatha, H.; Srinivasan, K. Protective effect of dietary curcumin and capsaicin on induced oxidation of low-density lipoprotein, iron-induced hepatotoxicity and carrageenan-induced inflammation in experimental rats. *FEBS J.* **2006**, *273*, 4528–4537.
49. Santos, P.C.; Caçado, R.D.; Terada, C.T.; Guerra-Shinohara, E.M. Alterações moleculares associadas à hemocromatose hereditária. *Rev. Bras. Hematol. Hemoter.* **2009**, *31*, 192–202.
50. Birch, N.; Wang, X.; Chong, H.-S. Iron chelators as therapeutic iron depletion agents. *Expert Opin. Ther. Pat.* **2006**, *16*, 1533–1556.
51. Lopes, R.H.O.; Macorini, L.F.B.; Antunes, K.Á.; Espindola, P.P.D.T.; Alfredo, T.M.; Rocha, P.D.S.D.; Pereira, Z.V.; Santos, E.L. D.; de Picoli Souza, K. Antioxidant and hypolipidemic activity of the hydroethanolic extract of *Curatella americana* L. leaves. *Oxidative Med. Cell. Longev.* **2016**, *2016*, 9681425.
52. Kaplum, V.; Ramos, A.C.; Consolaro, M.E.; Fernandez, M.A.; Ueda-Nakamura, T.; Dias-Filho, B.P.; Silva, S.D.O.; de Mello, J.C.; Nakamura, C.V. Proanthocyanidin polymer-rich fraction of *Stryphnodendron adstringens* promotes *in vitro* and *in vivo* cancer cell death via oxidative stress. *Front. Pharmacol.* **2018**, *9*, 694.
53. Smeriglio, A.; Barreca, D.; Bellocchio, E.; Trombetta, D. Proanthocyanidins and hydrolysable tannins: Occurrence, dietary intake and pharmacological effects. *Br. J. Pharmacol.* **2017**, *174*, 1244–1262.

## CAPÍTULO 4:

**ARTIGO 3:** Advances in Evaluation of Antioxidant and Toxicological Properties of *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. in *Drosophila melanogaster* Model.  
Publicado na revista **FOODS**



Article

### Advances in Evaluation of Antioxidant and Toxicological Properties of *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. in *Drosophila melanogaster* Model

Gerson Javier Torres Salazar <sup>1</sup>, Assis Ecker <sup>2</sup>, Stephen Adeniyi Adefegha <sup>2,3</sup> and José Galberto Martins da Costa <sup>1,4,\*</sup>

- <sup>1</sup> Postgraduate Program in Ethnobiology and Nature Conservation, Regional University of Cariri, Coronel Antônio Luiz Street, 1161-Pimenta, Crato 63105-010, CE, Brazil; timotygerior@yahoo.com
- <sup>2</sup> Postgraduate Program in Toxicological Biochemistry, Department of Biochemistry and Molecular Biology, Center of Natural and Exact Sciences, Federal University of Santa Maria, Santa Maria 97105-900, RS, Brazil; assisecker@hotmail.com (A.E.); saadefegha@futa.edu.ng (S.A.A.)
- <sup>3</sup> Functional Foods, Nutraceuticals and Phytochemistry Laboratory, Department of Biochemistry, Federal University of Technology, Akure 340001, Nigeria
- <sup>4</sup> Postgraduate Program in Biological Chemistry, Regional University of Cariri, Coronel Antônio Luiz Street, 1161-Pimenta, Crato 63105-010, CE, Brazil
- \* Correspondence: galberto.martins@gmail.com; Tel: +55-88-99698-5037

**Abstract:** This study investigated the flavonoid content, antioxidant activity, and toxicological properties of the acetone-water fraction of stem bark of *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. (TFSR). The total flavonoid content and antioxidant activity were determined, as typified by DPPH<sup>•</sup> and ABTS<sup>•+</sup> radical scavenging abilities, Fe<sup>3+</sup> reducing antioxidant power (FRAP), relative antioxidant capacity (RAC), and the inhibition of thiobarbituric acid reactive species (TBARs) in *Drosophila melanogaster* tissue. Toxicity and locomotor functions were evaluated in adult *D. melanogaster* flies through aging and survival assays, startle-induced negative geotaxis, and centrophobic responses with video-assisted open field motion tracking. The flavonoid content of dry TFSR (DF) was 3.36 mg quercetin/g. Furthermore, the significant antioxidant activity of TFSR was revealed through scavenging 95.3% of the ABTS<sup>•+</sup> radical and 82.4% of the DPPH<sup>•</sup> radical, as well reducing 74.7% of Fe<sup>3+</sup> in the FRAP assay and 80% Mo<sup>6+</sup> in the RAC assay. TFSR conferred 70.25% protection against lipid peroxidation in *Drosophila* tissue. Survival rates ranged from 84.65 to 103.98% in comparison to the non-supplemented control and no evident deterioration of locomotor functions and centrophobia responses was observed. These results revealed that TFSR has potent antioxidant activity and low toxicity in vivo, profiling TFSR as a promising natural product in the treatment/management of iron overload and associated conditions.

**Keywords:** *Stryphnodendron rotundifolium* Mart.; antioxidant activity; iron overload protection



Citation: Salazar, G.J.T.; Ecker, A.; Adefegha, S.A.; da Costa, J.G.M. Advances in Evaluation of Antioxidant and Toxicological Properties of *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. in *Drosophila melanogaster* Model. *Foods* 2022, *11*, 2236. <https://doi.org/10.3390/foods11152236>

Academic Editor: Ana Teresa Sanchez-Silva

Received: 20 June 2022

Accepted: 19 July 2022

Published: 27 July 2022

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

#### 1. Introduction

*Stryphnodendron rotundifolium* Mart, popularly known as “Barbatimão”, is widely used in Brazilian traditional medicine for the treatment of wounds, ulcers, gastritis, inflammation, and vaginal infections. The stem bark parts are mainly used for the preparation of teas, topic solutions and sitz baths, and decoction. They can also be prepared by infusion in water. The reports of dosages in the preparation of medicinal plants are scarce, and there is uncertainty in the dosage that can be administered in vivo [1–6].

Many studies have demonstrated that a variety of chronic diseases result from an imbalance between the generation of reactive oxygen species (ROS) and antioxidant mechanisms in host cells, providing evidence for the therapeutic potential of antioxidant compounds [7]. Previous studies have attributed the antioxidant activity of *S. rotundifolium* Mart, to the presence of a matrix of phytochemicals capable of inhibiting the generation of

# Advances in Evaluation of Antioxidant and Toxicological Properties of *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. in *Drosophila melanogaster* Model

Gerson Javier Torres Salazar <sup>1</sup>, Assis Ecker <sup>2</sup>, Stephen Adeniyi Adefegha <sup>2,3</sup> and José Galberto Martins da Costa <sup>1,4\*</sup>

<sup>1</sup> Postgraduate Program in Ethnobiology and Nature Conservation, Regional University of Cariri, Coronel Antônio Luiz Street, 1161-Pimenta, Crato 63105-010, CE, Brazil; timotygertor@yahoo.com

<sup>2</sup> Postgraduate Program in Toxicological Biochemistry, Department of Biochemistry and Molecular Biology, Center of Natural and Exact Sciences, Federal University of Santa Maria, Santa Maria 97105-900, RS, Brazil; assisecker@hotmail.com (A.E.); saadefegha@futa.edu.ng (S.A.A.)

<sup>3</sup> Functional Foods, Nutraceuticals and Phytomedicine Laboratory, Department of Biochemistry, Federal University of Technology, Akure, PMB 704, Nigeria

<sup>4</sup> Postgraduate Program in Biological Chemistry, Regional University of Cariri, Coronel Antônio Luiz Street, 1161-Pimenta, Crato 63105-010, CE, Brazil;

\* Correspondence: galberto.martins@gmail.com, Tel.: +55-88-99698-5037

**Citation:** Salazar, G.J.T.; Ecker, A.; Adefegha, S.A.; da Costa, J.G.M. Advances in Evaluation of Antioxidant and Toxicological Properties of *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. in *Drosophila melanogaster* Model. *Foods* **2022**, *11*, 2236. <https://doi.org/10.3390/foods11152236>

Academic Editor(s): Ana Teresa Sanches-Silva

Received: 20 June 2022

Accepted: 19 July 2022

Published: date

**Publisher's Note:** MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



**Copyright:** © 2022 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

**Abstract:** This study investigated the flavonoid content, antioxidant activity, and toxicological properties of the acetone–water fraction of stem bark of *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. (TFSR). The total flavonoid content and antioxidant activity were determined, as typified by DPPH• and ABTS•<sup>+</sup> radical scavenging abilities, Fe<sup>3+</sup> reducing antioxidant power (FRAP), relative antioxidant capacity (RAC), and the inhibition of thiobarbituric acid reactive species (TBARs) in *Drosophila melanogaster* tissue. Toxicity and locomotor functions were evaluated in adult *D. melanogaster* flies through aging and survival assays, startle-induced negative geotaxis, and centrophobic responses with video-assisted open field motion tracking. The flavonoid content of dry TFSR (DF) was 3.36 mg quercetin/g. Furthermore, the significant antioxidant activity of TFSR was revealed through scavenging 95.3% of the ABTS•<sup>+</sup> radical and 82.4% of the DPPH• radical, as well reducing 74.7% of Fe<sup>3+</sup> in the FRAP assay and 80% Mo<sup>6+</sup> in the RAC assay. TFSR conferred 70.25% protection against lipid peroxidation in *Drosophila* tissue. Survival rates ranged from 84.65 to 103.98% in comparison to the non-supplemented control and no evident deterioration of locomotor functions and centrophobia responses was observed. These results revealed that TFSR has potent antioxidant activity and low toxicity *in vivo*, profiling TFSR as a promising natural product in the treatment/management of iron overload and associated conditions.

**Keywords:** *Stryphnodendron rotundifolium* Mart.; antioxidant activity; iron overload protection

## 1. Introduction

*Stryphnodendron rotundifolium* Mart, popularly known as “Barbatimão”, is widely used in Brazilian traditional medicine for the treatment of wounds, ulcers, gastritis, inflammation, and vaginal infections. The stem bark parts are mainly used for the preparation of teas, topic solutions and sitz baths, and decoction.

They can also be prepared by infusion in water. The reports of dosages in the preparation of medicinal plants are scarce, and there is uncertainty in the dosage that can be administered in vivo [1– 6].

Many studies have demonstrated that a variety of chronic diseases result from an imbalance between the generation of reactive oxygen species (ROS) and antioxidant mechanisms in host cells, providing evidence for the therapeutic potential of antioxidant compounds [7]. Previous studies have attributed the antioxidant activity of *S. rotundifolium* Mart, to the presence of a matrix of phytochemicals capable of inhibiting the generation of (ROS) and chelating Fe<sup>2+</sup> overload [8,9]. It is consistently evident that phenolic compounds, including flavonoids and tannins, are crucially responsible for the antioxidant activity of natural products derived from this species [8,9].

Regarding the toxicity of extracts from these species, previous reports have shown controversial results. Oral administration of the water:ethanol extract (1:1; *v/v*) of *S. rotundifolium* stem bark at a dose of 400 mg/kg in *Wistar* rats caused progressive damage to liver function [10]. On the contrary, it was shown that dry ground husks and the ethanol:water extract (1:1; *v/v*) of husks mixed with a diet based on soybean bran, corn, oat hay, and protein supplement did not cause liver damage in confined lambs [11]. The acetone:water extract (7:3; *v/v*) of the dried stem bark of *S. rotundifolium* 250 µg/mL showed low toxicity (<10%) in the *Artemia Salina* assay [9]. Gallic acid, monomeric PAs, dimeric and trimeric compounds with gallate substitutions, and C-hexosyl-O-pentosyl-5,7-dihydroxychromone isomer were identified in the extract [9]. In addition, the water:ethanol extract (1:1; *v/v*) of bark exhibited a cytoprotective effect on plants against Al<sup>3+</sup> and Hg<sup>2+</sup> [12].

These divergent views may be due to errors in the standardization of appropriate concentrations from medicinal preparations and detailed characterization of the main secondary metabolites that contribute to biological activities with minimal toxicity. Therefore, the evaluation of both the toxicological effects and antioxidant activities of the stem bark of the species is highly desirable to ensure its safe usage. The present study was a breakthrough in the investigation of *in vitro* antioxidant activity and *in vivo* toxicity at therapeutic concentrations of the tannin-rich fraction of *S. rotundifolium* (TFSR), using *Drosophila melanogaster* as an experimental model.

## 2. Materials and Methods

### 2.1. Botanical Material and Extraction Procedure

*Stryphnodendron rotundifolium* Mart. stem bark samples were collected in the Araripe National Forest in the municipality of Crato, Ceará, Brazil (coordinates: 07°81' S, 039°28' W). Dr. Maria Arlene Pessoa identified the species, and a voucher specimen was prepared and registered at the Herbarium of the Regional University of Cariri (registry number: 14,074). The tannin-rich fraction of the stem bark of *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. was obtained according to the method described by [9]. Freshly collected barks were dried, crushed, and subjected to fat removal with hexane for 24 h. Then, hexane was removed from the solid material at 70 °C. Following this process, the material was subjected to exhaustive maceration using a 7:3 acetone-water mixture for 72 h at room temperature to avoid interactions between phenolics and vegetable proteins, favoring the obtainment of more stable phenolic compounds. This procedure was repeated three times as previously described. The resulting solution was subjected to the exhaustive removal of acetone at 65 °C and reduced pressure, until the volume was reduced to one-third of the initial extractive mixture, after which it was concentrated in a water bath at 70 °C for 24 h. The acetone-free concentrated liquid was frozen and subjected to lyophilization, after which the tannic fraction was obtained as an amorphous solid.

## 2.2. Total Flavonoid Content

The total flavonoid content was determined according to the method proposed by [13]. A stock solution was prepared using 0.025 g of extract in 10 mL of methanol (70% *v/v*). An aliquot of 2 mL of this solution was added to 1 mL of AlCl<sub>3</sub> (15% *v/v*) and the volume was adjusted to 10 mL using methanol (70% *v/v*). After 30 min, the absorbance was read at 425 nm. The flavonoid content was calculated by linear regression using the quercetin calibration curve (0.001 - 0.012 mg/mL). The experiments were performed in triplicate and the results were expressed in mg of quercetin (Q)/g dry fraction (DF).

## 2.3. Stock of Flies

*Wild-type D. melanogaster* (Canton-S strain) was obtained from the National Species Stock Center, OH, USA, grown in flasks measuring 6.5 × 6.5 × 7.0 cm (approximate volume of 300 mL) and kept in a humidified incubator (60%) with controlled temperature at 24 °C and a 12 h on/off light cycle. The standard fly colony was maintained on a diet containing a mixture of 75% corn flour, 10% sugar, 6% soy flour, 2.5% wheat germ, 5% powdered milk, and 1.5% salt. A pinch of lyophilized yeast and 0.08% of methyl paraben (p-hydroxybenzoate) were added to prevent fungal growth.

### Whole Fly Homogenate Preparation

Briefly, ice-anesthetized flies were separated and manually homogenized in 50 mM Tris-HCl buffer pH 7.0, at 0.04605 g (approx. 76 flies) / 500 μL; the homogenate was centrifuged at 564 × *g* for 10 min at 4 °C. After centrifugation, the supernatant (S<sub>i</sub>) was kept at 4 °C on ice until assays.

## 2.4. Analysis of In Vitro Antioxidant Activity

### 2.4.1. ABTS<sup>•+</sup> Free Radical Capture

The ABTS<sup>•+</sup> scavenging activity of the fraction was analyzed using the methodology described by [14] with adaptations. An aqueous solution (7 mM) of 2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) was mixed with 2.45 mM potassium persulfate and kept at room temperature in the dark for 16 h to generate ABTS<sup>•+</sup> free radicals. Afterwards, the solution was diluted with 150 mM phosphate buffer (pH 7.3) to adjust the absorbance between (0.700 ± 0.020 - 0.800 ± 0.020) and read at 734 nm at 30 °C. Samples (30 μL) of TFSR or quercetin (Q)/rutin (Rut) standard solutions at concentrations in the range (0.5 - 5.0) μg/mL were added to 2970 μL of ABTS<sup>•+</sup> solution and 5 min later the absorbance was measured at 734 nm. The extent of discoloration was expressed as percentage (%) of inhibition of the ABTS<sup>•+</sup> radical according to Equation (1):

$$\text{Inhibition(\%)} = \frac{[(\text{AbsControl} - (\text{AbsSample} - \text{AbsBlank})) \times 100\%]}{\text{AbsControl}} \quad (3)$$

where Abs<sub>Control</sub> is the absorbance of the ABTS<sup>•+</sup> radical solution, Abs<sub>Sample</sub> is the absorbance of the ABTS<sup>•+</sup> radical solution after 5 min of the addition of the fraction or the positive control patterns (quercetin or rutin) at the different concentrations, and Abs<sub>Blank</sub> is the absorbance of the sample, quercetin, or rutin without ABTS<sup>•+</sup> radical solution

#### 2.4.2. Iron-Reducing Antioxidant Power (FRAP)

The FRAP method was used to evaluate the ability of the extract to reduce Fe<sup>3+</sup>, as previously described by [15,16]. Briefly, 300 µL of TFSR (0.25 to 5.0 µg/mL) was mixed with 3975 µL of FRAP reagent containing 0.3 M acetate buffer pH 3.6, (10 mM 2,4,6-Tripyridyls-triazine TPTZ in HCl 40 mM) and 20 mM FeCl<sub>3</sub> at 10:1:1 (v/v/v ratio) with 225 mL of methanol. After a 4 min incubation at room temperature and protected from light, the absorbance was measured at 595 nm. Reduction curves in the range (0.25 - 3.0) µg/mL of gallic acid (GA), quercetin (Q), and catechin (Cat) standards were also developed.

#### 2.4.3. DPPH · Assay

The 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH<sup>·</sup>) scavenging activity was determined according to the protocol described by [17] with slight modifications. A total of 20 µL of the fraction or ascorbic acid (AA, control) in concentrations ranging from 0.001 to 0.25 mg/mL were resuspended in 80 µL of 95% ethanol and 100 µL of 0.3 mM DPPH<sup>·</sup> solution in ethanol. Readings were taken at 518 nm after a 30 min incubation at room temperature and in the absence of light. The DPPH<sup>·</sup> free radical inhibiting capacity of the fraction was expressed as a percentage of the inhibition caused by the control (100 µL of 0.3 mM ethanolic DPPH<sup>·</sup> and 100 µL of 95% ethanol) and calculated using the following Equation (2):

$$\text{DPPH inhibition (\%)} = \frac{[\text{Abs}_{\text{Control}} - (\text{Abs}_{\text{Fraction}} - \text{Abs}_{\text{Blank}})] \times 100\%}{\text{Abs}_{\text{Control}}} \quad (4)$$

where Abs<sub>Control</sub> corresponds to the absorbance of the DPPH<sup>·</sup> solution + ethanol, Abs<sub>Fraction</sub> is the absorbance of the fraction + DPPH<sup>·</sup>, and Abs<sub>Blank</sub> corresponds to the absorbance of the fraction + ethanol.

#### 2.4.4. Relative Antioxidant Capacity (RAC)

To assess the relative antioxidant capacity, 100 µL of varying concentrations of TFSR (0.001 - 0.025 mg/mL) were added to 1000 µL of 10.8 mM ammonium molybdate (reagent solution), 1000 µL of 75.6 mM sodium phosphate buffer (pH 7.4), 700 µL of 1.62 M sulfuric acid, and 200 µL of milli-Q water. Each sample was incubated in a water bath at 95 °C for 90 min. After cooling to room temperature, readings were taken at 695 nm. Rutin (0.075 mg/mL), catechin (0.020 mg/mL), and ascorbic acid (0.020 mg/mL) were used as standards. The relative antioxidant activity (3) was calculated by Equation (3), as shown below [18].

$$\text{RAC (\%)} = \frac{[(\text{Abs}_{\text{Fraction}} - \text{Abs}_{\text{Fraction blank}}) \times 100\%]}{(\text{Abs}_{\text{Control}} - \text{Abs}_{\text{Control blank}})} \quad (3)$$

Abs<sub>Fraction</sub> = absorbance of the fraction + reagent solution, Abs<sub>Fraction blank</sub> = absorbance of the fraction, Abs<sub>Control</sub> = absorbance of the standard + reagent solution, Abs<sub>Control blank</sub> = absorbance of the standard.

#### 2.4.5. Inhibition of Lipid Peroxidation

The inhibition of lipid peroxidation was evaluated by measuring the levels of thiobarbituric acid reactive substances (TBARs) of the fraction, as described by [19] with modifications. Briefly, 150 µL of different concentrations of TFSR and positive controls catechin, quercetin, and ascorbic acid were pre-incubated at 37 °C for 1 h with a mix containing (S<sub>1</sub>) (320 µL), 50 mM phosphate buffer pH 7.4 (450 µL), 500 µM EDTA disodium

salt (120  $\mu\text{L}$ ), 8.1% w/v sodium dodecyl sulfate SDS (200  $\mu\text{L}$ ), 60  $\mu\text{L}$  of deionized water and 200  $\mu\text{L}$   $\text{Fe}^{2+}$  (final concentration of 55  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) to induce peroxidation. Afterwards, 0.8% TBA (750  $\mu\text{L}$ ) and 2.8% TCA (750  $\mu\text{L}$ ) were added and incubated for 2 h at 100  $^{\circ}\text{C}$ . After this phase, the samples were cooled to room temperature, centrifuged at 2422 RCF, and the absorbance was measured at 532 nm. The inhibition of peroxidation was calculated by Equation (4).

$$\text{Inhibition of peroxidation (\%)} = \frac{[(\text{Abs}_{\text{Control}} - (\text{Abs}_{\text{Fraction}} - \text{Abs}_{\text{Blank}}))] \times 100\%}{\text{Abs}_{\text{Control}}} \quad (4)$$

$\text{Abs}_{\text{Control}}$  = absorbance ( $\text{S}_1 + \text{Fe}^{2+}$ ),  $\text{Abs}_{\text{Fraction}}$  = absorbance ( $\text{S}_1 + \text{Fe}^{2+} + \text{fraction}$ ) and  $\text{Abs}_{\text{Blank}}$  = absorbance ( $\text{Fe}^{2+} + \text{fraction}$ ).

## 2.5. In Vivo Toxicity Assays

### 2.5.1. Aging and Survival Assays

*Drosophila melanogaster* flies (1-2 days old) of both sex were randomly separated and treated on standard food of the lyophilized yeast-free colony supplemented with TFSR at [2.000, 1.000, 0.500, 0.250, 0.200, 0.100, 0.050, and 0.000 (control)] mg/g diet.

Survival rate was assessed according to [20], transferring flies to fresh food media every 24 h and recording the mortality. Individual flies were censored from the results if they escaped during tipping on transfer or if they died from a cause unrelated to age or getting stuck in food. This process was followed until reaching the time when each concentration killed 50% of each population of flies ( $\text{LD}_{50}$ ) and followed until the majority of flies died. Approximately 300 flies per group were included in the survival experiments. The total number of flies represents the sum of three independent experiments (approximately 100 flies for each treatment repetition). The  $\text{LD}_{50}$  of each concentration of TFSR was determined.

### 2.5.2. Startle-Induced Negative Geotaxis

After reaching the  $\text{LD}_{50}$  of each supplemented concentration of TFSR, the locomotor performance of the flies was evaluated by the negative geotaxis test at 25  $^{\circ}\text{C}$  according to [21-23]. Thus,  $3 \times (10-15)$  surviving flies were separated under brief ice anesthesia (4 min) and then transferred to glass columns in an upright position (length: 30 cm, diameter: 1.5 cm) and capped with cotton. After 15 min of recovery from the cold exposure, the flies were gently tapped at the bottom of the column and the number of flies able to climb to the top of 30 cm was recorded  $n_{\text{top}}$ . Flies that reached the top of the column and those that remained on the bottom  $n_{\text{bottom}}$  were counted separately after 60 s. Assays were repeated three times at 5 min intervals. The scores are the average of the number of flies on top ( $n_{\text{top}}$ ) and on the bottom ( $n_{\text{bottom}}$ ), expressed as percentages of the total number of flies ( $n_{\text{total}}$ ). For each experiment, a performance index (PI) was calculated, defined as  $1/2 [(n_{\text{total}} + n_{\text{top}} - n_{\text{bottom}})/n_{\text{total}}]$  [24]. If all flies climb to the top of the tube, the score is 1, and if no flies climb, the score is 0. Results are shown as the mean  $\pm$  SEM of scores obtained in three independent experiments ( $n = 3$ ) in triplicate.

### 2.5.3. Video-Assisted Open Field Motion Tracking

After reaching the  $\text{LD}_{50}$  of each supplemented concentration of TFSR, the open field motion tracking assay was performed as described by [22] with some modifications. The fly tracking space was confined by lids of Petri dishes (15 cm diameter  $\times$  1.5 cm tall), so that



the flies could walk and breathe freely and normally. The plates were supported on surfaces with graph paper at a controlled room temperature of 25 °C. A portable HD digital camera with a resolution of 1080 pixels was positioned 15 cm above the Petri dishes and connected to an HP Pavilion TouchSmart 11 Notebook PC for video processing. A concentric frame of 9 × 9 cm (81 cm<sup>2</sup>) was delimited on the graph paper. After reaching the LD<sub>50</sub> of each TFSR concentration, groups of 15 - 20 flies in triplicates were chilled on ice for 3 - 4 min before being placed in the center of the cubic concentric frame in the space confined by the plates of Petri and moved under the camera to record 5 min long tracking videos.

The movement exploration of each group of flies was calculated by dividing the plate into 150 × 150 lines, equivalent to approximately 17,671 boxes ( $\pi \times (75 \text{ mm})^2$ ). It was calculated the (%) of flies that were 75% away from the center of the plate within 10 min. Mean walking activity scores for each treatment group were determined for three independent experiments ( $n = 3$ ) and expressed as (%) centrophobia  $\pm$  mean standard deviation.

Centrophobia was represented as the amount of time that each fly remained in a region 75% from the center of the plate. Smaller time values indicate that the fly is more centrophobic. In the case of the 15 cm plate, this is an area of 132.53 cm<sup>2</sup> ( $r = 6.495$ ) in a total area of 176.7 cm<sup>2</sup>. The XY coordinates were zeroed to the center of the plate and converted to polar coordinates to use the radial coordinate as a measure of distance from the center. The percentage of time in the central region was calculated as the time that the flies spent in the area below 75% of the center divided by the total time (10 min).

## 2.6. Statistical Analysis

The results obtained on the antioxidant properties and toxicity effect assays were expressed as the means  $\pm$  standard error of mean (SEM) of at least three experiments and analyzed with a one-way ANOVA followed by Tukey's post hoc test for multiple comparisons of data with normal distribution and similar standard deviation using the GraphPad Prism software version 6.0. Statistical significance was considered when  $p < 0.05$ .

## 3. Results and Discussion

### 3.1. Total Flavonoid Content and In Vitro Antioxidant Activity ABTS<sup>+</sup>, FRAP, DPPH<sup>·</sup>, RAC

The concentration of flavonoids was  $3.36 \pm 0.09$  mg quercetin/g dry TFSR (DF). Taking into account the report from the previous work conducted by our research group [9], on the same fraction (TFSR) we were able to quantify condensed tannins ( $54.83 \pm 2.30$  mg catechin equivalent/g DF) and hydrolysable tannins ( $28.84 \pm 2.21$  mg tannic acid equivalent/g DF) with a predominance of flavan-3-ol and type B proanthocyanidins (PAs) with C<sub>4</sub>→C<sub>8</sub> and C<sub>4</sub>→C<sub>6</sub> interflavanic bonds with a high degree of hydroxylation, some of these compounds including 4'-O-methyl-epigallocatechin-(4→8)-epigallocatechin, epigallocatechin-(4 $\beta$ →8)-epigallocatechin, epigallocatechin-(4→8)-epigallocatechin-(4→8)-epigallocatechin, 4'-O-methyl-epigallocatechin-3-O-gallate-(4→6)-epigallocatechin-3-O-gallate, epigallocatechin-(4→8)-epigallocatechin-(4→8)-epigallocatechin-3-O-gallate, epigallocatechin-(4→8)-epigallocatechin-3-O-gallate, and robinetinidol-4'-O-methyl-(4→8)-epigallocatechin. Flavonoids were identified as the compounds with the least concentration in TFSR.

Therefore, the presence of flavonoids may have exerted a minor influence on the considerable antioxidant activity of TFSR through reducing and anti-radical action. Results on the in vitro antioxidant capacity assessed by the ABTS<sup>+</sup> radical scavenging ability assay, the reducing action of Fe<sup>3+</sup> in the FRAP assay, and the DPPH<sup>·</sup> radical scavenging ability are presented in Table 1. TFSR scavenged ABTS<sup>+</sup> radical in a dose-dependent manner ( $R^2 = 0.98$ ), exhibiting better radical scavenging ability than the standard compound rutin (Table 1). TFSR reached a maximum scavenging ability of  $95.3 \pm 0.6\%$  at a concentration

of 5.0 µg/mL. However, it was less potent than the standard quercetin, recognized as the flavonoid with the highest ROS scavenging activity in vitro [25].

**Table 1.** Reducing and anti-radical activity of the acetone–water fraction from the stem bark of *Stryphnodendron rotundifolium* Mart (TFSR)

	ABTS <sup>•+</sup>	FRAP	DPPH <sup>•</sup>	ABTS <sup>•+</sup>	FRAP	DPPH <sup>•</sup>
	(IC <sub>50</sub> ± SEM) µg/mL			(Max. Act. ± SEM)%		
TFSR	0.74 ± 0.12	3.27 ± 0.13	8.65 ± 1.10	95.30 ± 0.60	74.7 ± 0.2 (5.0 µg/mL)	82.4 ± 3.2
Quercetin	0.47 ± 0.03	0.90 ± 0.04	-	99.73 ± 0.03	75.6 ± 0.1 (1.5 µg/mL)	-
Rutin	1.68 ± 0.27	-	-	80.41 ± 0.05	-	-
Gallic acid	-	1.02 ± 0.14	-	-	93.0 ± 0.1 (1.75 µg/mL)	-
Catechin	-	1.62 ± 0.10	-	-	87.5 ± 0.1 (2.75 µg/mL)	-
Ascorbic acid	-	-	1.95 ± 0.07	-	-	82.2 ± 3.2

IC<sub>50</sub>, concentration value at which 50% of the activity evaluated is reached; Max. Act., maximum activity expressed in percentage. The values are expressed as means ± (S.E.M) of three different experiments (n = 3). Max. Act. in the ABTS assay is considered for 5.0 µg/mL and at 250 µg/mL for the DPPH assay. “-” indicates that the substance was not evaluated for the assay.

Based on the extract concentration that caused 50% inhibition (IC<sub>50</sub>), TFSR showed potent DPPH<sup>•</sup> radical scavenging activity (IC<sub>50</sub> = 8.65 ± 1.10 µg/mL) with a maximum inhibition (82.4 ± 3.2%), observed at a concentration of 250 µg/mL, similar to the ascorbic acid standard (Table 1). As shown in a previous study [8], the hydroalcoholic and aqueous extracts of the bark of *S. rotundifolium* Mart, had the IC<sub>50</sub> values of 5.4 and 12.0 µg/mL respectively. In this study, a similar trend was observed for TFSR as well. However, the extracts showed weak Fe<sup>2+</sup> chelating activity. Furthermore, the fraction showed a concentration-dependent Fe<sup>3+</sup> reducing ability in the [Fe(III)(TPTZ)<sub>2</sub>]<sup>3+</sup> complex (R<sup>2</sup> 0.98), reaching a maximum value of 74.7 ± 0.2% at a concentration of 5.0 µg/mL, in comparison to the standard substances gallic acid, quercetin, and catechin (Table 1). These results may be due to the lower steric impediment between the standard molecules and the three-dimensional arrangement of the [Fe(III)(TPTZ)<sub>2</sub>]<sup>3+</sup> complex in relation to the set of larger molecules of flavan-3-ol and polymeric proanthocyanidins (PAs) predominant in TFSR. This may have led to a lower ability to influence Fe<sup>3+</sup> and consequently exert a greater reducing effect.

The fraction exhibited RAC values ranging from 71.62 to 80.62% in relation to the 100% activity of the ascorbic acid, rutin, and catechin standards and IC<sub>50</sub> values between 0.0111 to 0.01296 mg/mL (Table 2). These RAC results, together with the Fe<sup>3+</sup> reducing ability of TFSR in the FRAP assay, indicate that *S. rotundifolium* is a species with potente antioxidant agents capable of reducing metal ions. Evidence has shown that flavan-3-ol with catechol or pyrogallol groups at the B ring, in the presence of π-conjugated structures allow for electronic shift and provide a greater capacity to reduce metal ions and scavenge DPPH<sup>•</sup> radicals that can be stabilized by resonance to generate semiquinones and quinones through electron donation and proton release [26–29]. Thus, the extracts inhibited DPPH<sup>•</sup> and ABTS<sup>•+</sup> radicals as well as reduced Mo<sup>6+</sup> and Fe<sup>3+</sup> ions due to the release of protons and electrons by polymeric PAs and flavan-3-ol present in TFSR, as reported in a previous study carried out by our research group [9]. These biological effects could also be attributed to the presence of prodelfinidins, procyanidin, and prorobinetidine, which have been previously identified [9].

**Table 2.** Relative Antioxidant Capacity (RAC).

	TFSR <sub>AA</sub>	TFSR <sub>Rutin</sub>	TFSR <sub>Catechin</sub>
IC <sub>50</sub> (mg/mL)	0.0111 ± 0.0014	0.01201 ± 0.0013	0.01296 ± 0.0014
Maximum activity (%)	80.62 ± 2.63	76.40 ± 2.42	71.62 ± 2.81

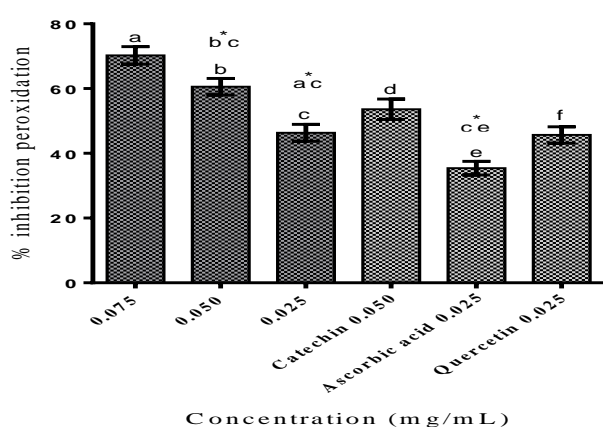
TFSR<sub>AA</sub>, TFSR<sub>Rutin</sub>, and TFSR<sub>Catechin</sub> represent the RAC of the TFSR relative to the maximum activity of ascorbic acid, rutin, and catechin, respectively. The values are expressed as means ± (S.E.M) of three different experiments (n = 3)

The remarkable ABTS<sup>•+</sup> and DPPH<sup>•</sup> sequestering activity of the fraction is associated with the presence of hydrolysable tannins and mainly B-type proanthocyanidins (PAs) (dimers and

trimers) which contain catechol and pyrogallol groups in their structures. These compounds have been recognized as excellent natural antioxidants and, as such, can contribute to the prevention of various diseases including cancer, diabetes, obesity, and neurodegenerative diseases [30]. Recent studies indicate that the mechanisms underlying the antioxidant activity of these types of compounds of the genus *Stryphnodendron* involve the donation of hydrogen and electrons responsible for the inhibition of free radicals and reduction of metal ions [9,31]. Furthermore, evidence indicates that the higher the degree of hydroxylation, the stronger the antioxidant power of these compounds [32]. The optimization of antioxidant activity is also justified by the presence of o-hydroxyl groups, which may increase the degree of galloylation. The DPPH<sup>•</sup> scavenging activity of proanthocyanin polymers has been shown to increase from monomers to tetramers, although in procyanidins with a high molecular weight, tetramer activity may be impaired due to steric hindrance. A similar phenomenon can occur when galloyl groups bind to each other, preventing the reaction with free radicals or metal ions such as Mo<sup>6+</sup>, Fe<sup>3+</sup>, and Fe<sup>2+</sup> [33].

### Lipid Peroxidation Inhibition

the ability to protect against in vitro membrane lipid peroxidation of *Drosophila melanogaster* homogenate, TFSR notably protected against peroxidation with IC<sub>50</sub> of 29.76 ± 5.71 µg/mL and maximum inhibition activity of 70.25 ± 4.59% at 0.075 mg/mL. At a concentration of 0.050 mg/mL, TFSR exhibited inhibition of 60.58 ± 4.74%, statistically similar to the catechin control (53.62 ± 6.17%), whereas at a concentration of 0.025 mg/mL, it inhibited peroxidation at 46.35 ± 4.76%, statistically similar to the quercetin control (45.67 ± 4.19%) but significantly higher than the ascorbic acid control (35.40 ± 4.30%) ( $p < 0.05$ ) (Figure 1).



**Figure 1.** Inhibition of lipid peroxidation in homogenate of whole *Drosophila melanogaster* flies exposed to Fe<sup>2+</sup> overload and treated with TFSR at different concentrations. The values are expressed as means ± S.E.M ( $n = 3$ ) as calculated by one-way ANOVA followed by Tukey's multiple comparisons test with a single pooled variance ( $p < 0.05$ ; 95% confidence interval). Bars with letters a, b, and c represent TFSR concentrations, and d, e, and f represent catechin, ascorbic acid, and quercetin concentrations, respectively. "\*" indicate significant differences between TFSR concentrations and control substances.

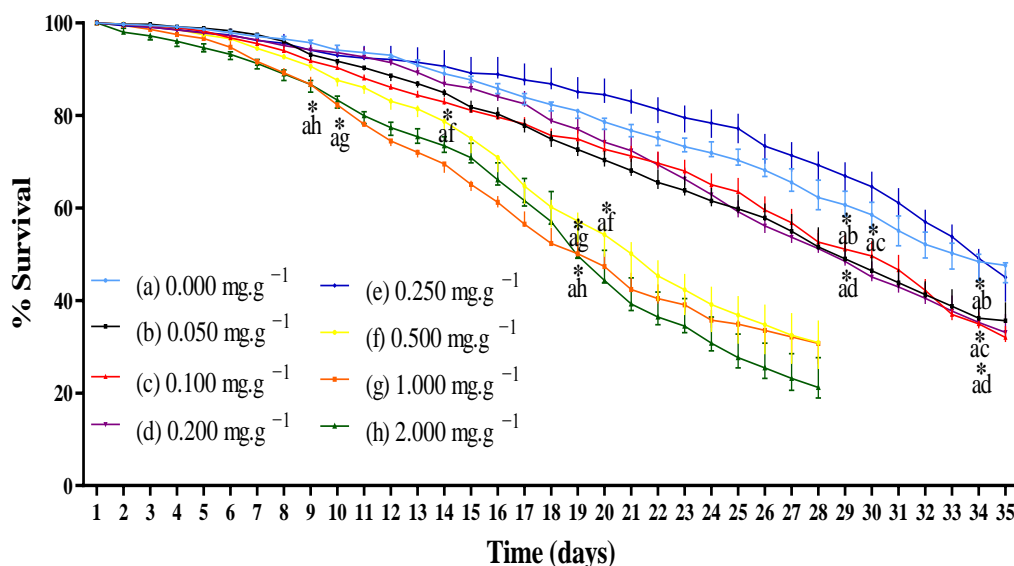
The inhibition of lipid peroxidation induced by Fe<sup>2+</sup> overload (55 µg/mL) in *Drosophila melanogaster* homogenate at all concentrations of TFSR tested and Fe<sup>2+</sup> chelating ability of TFSR may contribute towards the reduction in Fe overload. However, the observed ability of TFSR to scavenge DPPH<sup>•</sup> and ABTS<sup>•+</sup> radicals also supports the hypothesis that there is a contribution of scavenging lipoperoxyl radical (LOO<sup>•</sup>) commonly found in biological substrates and less reactive than the HO<sup>•</sup> radical [34]. TFSR inhibits oxidative degradation in *Drosophila melanogaster* tissue exposed to Fe<sup>2+</sup> overload, mainly due to the chelating action of the proanthocyanidin constituents

of TFSR. Therefore, TFSR could be suggested for the development of bioproducts that help to combat oxidative damage mediated by iron overload. The significant free radical scavenging activity, metal ion reduction, and inhibition of lipid peroxidation by TFSR is related to synergistic effects of the present prodelphinidins, prorobinetidins, and procyanidins, according to previous identifications of our research group [9], indicating that *S. rotundifolium* Mart. possesses the potential to be used in the development of target drugs for the treatment of diseases associated with Fe overload and oxidative stress-mediated diseases. High concentrations of Fe<sup>2+</sup> play an important pathophysiological role, which include a wide variety of clinical disorders such as secondary hemosiderosis related to the recurrent transfusion of packed red blood cells that lead to iron overload, thalassemia, sickle cell anemia, refractory aplastic anemia, myelodysplastic syndromes, pure erythroid series aplasia, and acute leukemias [35 - 37].

### 3.2. Toxicity and Locomotor Functions

#### 3.2.1. Survival Rate

*D. melanogaster* is considered an organism that grows synchronously, and putative antioxidant molecules affect survival rate and/or locomotor activity [38]. Toxicity through the aging and survival assay of *D. melanogaster* flies supplemented with TFSR revealed that the fraction did not show any toxicity against *D. melanogaster* in the range of 0.050 - 0.250 mg/mL when compared to the control for the first 28 days of supplementation. It was only from days 29 and 30 that TFSR (0.050, 0.100 and 0.200 mg/mL) exhibited significantly higher toxicity than the control. The toxicity of TFSR was significantly higher when compared to the control on days 9 and 10 at 1.000 and 2.000 mg/mL, respectively. However, the toxicity of the 0.500 mg/mL supplementation was significantly higher than the control on day 14 (Figure 2)



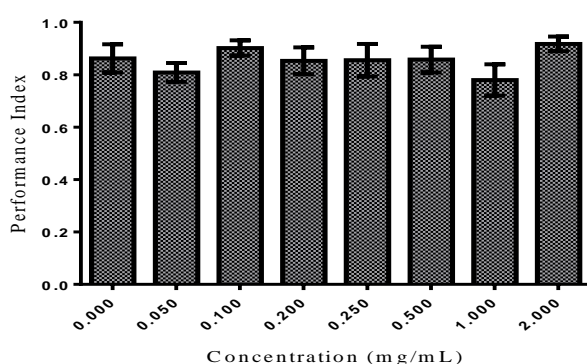
**Figure 2.** Survival curve of *Drosophila melanogaster* flies exposed to TFSR in different concentrations. The values are expressed as means  $\pm$  S.E.M ( $n = 3$ ) as calculated by one-way ANOVA followed by Tukey's multiple comparisons test, with a single pooled variance ( $p < 0.05$ ; 95% confidence interval). Letters a, b, c, d, e, f, g, and h represent concentrations of TFSR and (\*) asterisks indicate significant differences between concentrations in the same timepoint (day).

Toxicity (<10%) of 250  $\mu$ g/mL TFSR in *Artemia salina* has already been reported [9]. Due to the low toxicity of TFSR in the range of 0.050 - 0.250 mg/mL, it can be inferred that

TFSR may represent a potentially safe therapeutic agent that can either be used by oral ingestion or in the form of a possible standardized bio-product.

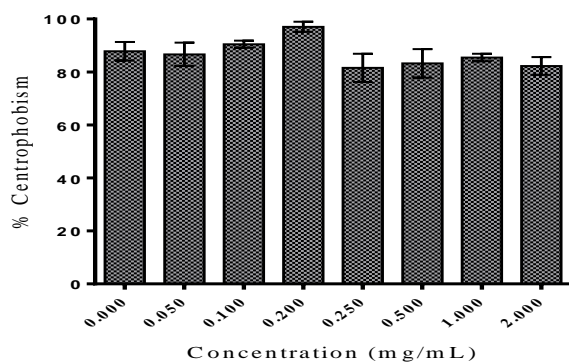
### 3.2.2. Locomotor Functions

The locomotor function evaluated by the negative geotaxis induced by startle assay in *D. melanogaster* supplemented with TFSR 50.00 - 2000.00  $\mu$ g/mL for up to 19 - 35 days was not significantly affected when compared to the control (Figure 3). *D. melanogaster* shows age-related decline in startle-induced locomotion and negative geotaxis [22,39,40]. As observed in figure 3, it was observed that the performance index, a measure of the adhesion capacity and speed in the climbing of the flies, was in the range of 0.78 - 0.92 with no significant difference in relation to the control (0.86). This indicates that the concentration of the TFSR fraction administered to *D. melanogaster* did not significantly alter the locomotor parameter of *D. melanogaster*.



**Figure 3.** Performance index of the *Drosophila melanogaster* in the geotaxis negative assays. The values are expressed as means  $\pm$  S.E.M ( $n = 3$ ) as calculated by one-way ANOVA followed by Tukey' s multiple comparisons test with a single pooled variance ( $p < 0.05$ ). No significant differences between concentrations.

Genetic tools combined with behavioral analyzes have allowed for the investigation of brain structures involved in locomotor activity in vertebrates and invertebrates. In *Drosophila melanogaster*, complex integrated behaviors depend on locomotion for their execution. In this case, video tracking allows for the study of several parameters of locomotor activity, revealing that *Drosophila melanogaster* presents centrophobism and/or thigmotaxis, a behavior related to the spatial orientation of avoiding central zones and staying in the periphery. This behavior is impaired when adenosine monophosphate transduction pathways (cAMP) are disturbed and implicated in olfactory learning and memory within mushroom bodies (MBs) [41,42]. The video assisted open-field motion tracking revealed that centrophobia was not significantly diminished in *Drosophila melanogaster* supplemented with TFSR (2000.00 - 50.00  $\mu$ g/mL) as demonstrated in figure 4, indicating rates of centrophobia in the range of 81 - 97% for all concentrations without significant differences when compared to the control values (88%). In all concentrations, constant, harmonic and tremor-free flight and locomotion movement were observed.



**Figure 4.** Percentage (%) of centrophobism of the *Drosophila melanogaster* in the open field test. The values are expressed as means  $\pm$  S.E.M ( $n = 3$ ) as calculated by one-way ANOVA followed by Tukey's multiple comparisons test with a single pooled variance ( $p < 0.05$ ). No significant differences between concentrations.

The antioxidant effects demonstrated by the fraction may be attributed at least partially to the presence of constituents with pyrogallol groups containing hydroxyls that are capable of promoting both  $\text{Fe}^{3+}$  reduction and  $\text{Fe}^{2+}$  chelation, in addition to potentially acting as electron and hydrogen donors. According to [43], the presence of galloyl moieties as well as the stabilization of phenoxyl radicals by resonance, contribute significantly to the antioxidant capacity of phenolic compounds. The PAs found in TFSR have been well known to enhance antioxidant action. Furthermore, these compounds, when present in low degrees of polymerization, can be easily absorbed in the gastrointestinal tract, which is a desirable feature for substances used in the development of oral drugs [44]. Despite the strong influence of pyrogallol and phenolic hydroxyl groups on the expressive antioxidant activity of TFSR, it is possible that three-dimensional arrangements of larger PAs generate spatial impediments in the action of radical scavenging and metal ion chelation. Thus, both the dimers and trimers of PAs presents in TFSR may have worked synergistically or additively and contribute towards the antioxidant activity of the fraction.

Iron has a unique ability to alter its redox balance in response to ligands, crucial to many cellular processes. For this reason, cells maintain the concentration of free iron at the minimum level necessary to avoid its toxic effects [45]. Evidence suggests that substances capable of forming complexes with iron and promoting its excretion may have applications in the treatment of various pathological conditions [46,47]. For iron overload in blood fluids, Deferasirox (DFX), an oral iron chelator, was developed. Its main use is to reduce chronic iron overload in patients receiving long-term blood transfusions for conditions such as beta-thalassemia and other chronic anemias. However, renal failure and cytopenias have been reported in patients receiving DFX oral suspension tablets [48]. DFX treatments have shown feasibility and efficacy in patients with thalassemia intermedia [49], myelofibrosis (MF), myelodysplastic syndrome (MDS) [50-52], and myeloproliferative neoplasms in fibrotic phase (MPN) [53]. Due to reports of serious adverse reactions, DFX was discontinued in 2020; however, it is available as a generic drug [54]. Studies have shown that extracts with high concentrations of phenolic compounds inhibit lipid peroxidation in human erythrocytes by decreasing the production of malondialdehyde (MDA) [55,56]. Therefore, the fraction rich in polyhydroxylated proanthocyanidins (PAs) obtained from *S. rotundifolium* Mart. (TFSR) may represent a source of potent inhibition of lipid peroxidation, metal ion reducer, antiradical and chelator of  $\text{Fe}^{2+}$  in overload. Through oral ingestion mixed with meals, it could help to inhibit the initiation and propagation of reactions of free radical formation and the consequent production of malondialdehyde (MDA) in pathological conditions characterized by  $\text{Fe}^{2+}$  overload. However, further studies are required on TFSR in experimental clinical models to validate the results obtained *in vitro*.

#### 4. Conclusions

The present study demonstrated that TFSR, composed mainly of high hydroxylated proanthocyanidins (PAs) and a low flavonoid content, exerted antioxidative capacity through its ability to scavenge free radicals, reduce and chelate metal ions, and contribute to the inhibition of lipid peroxidation under Fe<sup>+2</sup> overload conditions at concentrations that do not cause significant toxicity in terms of survival time nor changes in locomotor functions in adult *Drosophila melanogaster*. Furthermore, TFSR exhibited potent antioxidant activity with low toxicity in vivo and, as such, possesses the potential to be used in the development of bioproducts by oral ingestion with therapeutic purposes for the treatment of Fe overload and oxidative stress mediated diseases. Further studies are required using different in vivo and clinical models to validate the results from this study and other studies on the plant.

**Author Contributions:** Writing—original draft preparation, conceptualization, investigation, methodology, visualization, formal analysis, G.J.T.S.; software and validation, A.E.; writing review and editing, S.A.A.; conceptualization, project administration, writing—review and editing, J.G.M.d.C. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** This work was supported by the Brazilian Agency for the Coordination of Improvement of Higher Education Personnel (CAPES) 88881.131160/2016-01, march 2017 to march 2021 and the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq).

**Institutional Review Board Statement:** Not applicable.

**Informed Consent Statement:** Not applicable.

**Data Availability Statement:** The data used to support the findings of this study can be made available by the corresponding author upon request.

**Acknowledgments:** This work was carried out by the Department of Biological Chemistry / Research in Natural Products of the Regional University of Cariri (URCA).

**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflict of interest

#### References

1. Oliveira, D.R.; Washington, S.F.J.; Bitu, V.C.N.; Pinheiro, P.G.; Menezes, C.D.A.; Brito, J.F.E.; Albuquerque, U.P.; Kerntopf, M.R.; Coutinho, H.D.M.; Fachinnetto, R.; et al. Ethnopharmacological study of *Stryphnodendron rotundifolium* in two communities in the semi arid region of northeastern Brazil. *Rev. Bras. Farmacogn.* **2014**, *24*, 124–132. [[CrossRef](#)]
2. de Carvalho Nilo Bitu, V.; de Carvalho Nilo Bitu, V.; Matias, E.F.F.; de Lima, W.P.; Portelo, A.d.C.; Coutinho, H.D.M.; de Menezes, I.R.A. Ethnopharmacological study of plants sold for therapeutic purposes in public markets in northeast Brazil. *J. Ethnopharmacol.* **2015**, *172*, 265–272. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
3. Macêdo, D.G.; de Menezes, I.R.A.; Lacerda, S.R.; de Silva, M.A.P.; Ribeiro, D.A.; Macêdo, M.S.; Oliveira, L.G.S.; Saraiva, M.E.; Alencar, S.R.; Oliveira, S.F.; et al. Versatility and consensus of the use of medicinal plants in an area of cerrado in the Chapada do Araripe, Barbalha—CE-Brazil. *J. Med. Plants Res.* **2016**, *10*, 505–514. [[CrossRef](#)]
4. Macedo, J.G.F.; de Menezes, I.R.A.; Ribeiro, D.A.; de Oliveira Santos, M.; de Macêdo, D.G.; Macedo, M.J.F.; Almeida, B.V.; de Oliveira, L.G.S.; Leite, C.P.; de Almeida Souza, M. Analysis of the variability of therapeutic indications of medicinal species in the northeast of Brazil: Comparative study. *Evid. Based Complement. Altern. Med.* **2018**, *2018*, 6769193. [[CrossRef](#)]

5. Macêdo, M.J.F.; Ribeiro, D.A.; Santos, M.O.; Macêdo, D.G.; Macedo, J.G.F.; Almeida, B.V.; Saraiva, M.E.; Lacerda, M.N.S.; Souza, M.M.A. Fabaceae medicinal flora with therapeutic potential in Savanna areas in the Chapada do Araripe, Northeastern Brazil. *Rev. Bras. Farmacogn.* **2018**, *28*, 738-750. [CrossRef]
6. Durão, H.L.G.; Costa, K.G.; Medeiros, M. Etnobotânica de plantas medicinais na comunidade quilombola de Porto Alegre, Cametá, Pará, Brasil. *Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi. Ciências Nat.* **2021**, *16*, 245-258. [CrossRef]
7. Awika, J.M.; Rooney, L.W.; Wu, X.; Ronald, L.; Cisneros-Zevallos, L. Screening methods to measure antioxidant activity of sorghum (*Sorghum bicolor*) and sorghum products. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 6657-6662. [CrossRef]
8. Costa, J.G.M.; Leite, G.O.; Dubois, A.F.; Seeger, R.P.; Boligon, A.A.; Athayde, M.L.; Campos, A.R.; Rocha, J.B.T. Antioxidant effect of *Stryphnodendron rotundifolium* Martius extracts from Cariri-Ceará state (Brazil): Potential involvement in its therapeutic use. *Molecules* **2012**, *17*, 934. [CrossRef]
9. Salazar, G.J.T.; Dias, F.J.; Ribeiro, P.R.V.; de Brito, E.S.; Canuto, K.M.; Coutinho, H.D.M.; Ribeiro-Filho, J.; Gallo, M.; Montesano, D.; Naviglio, D.; et al. Antioxidant Activity of *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. Stem Bark Fraction in an Iron Overload Model. *Foods* **2021**, *10*, 2683. [CrossRef]
10. Aquino, M.D.A.; Teles, A.A.B.; Holanda, V.N.; Menezes, I.R.A.; Vandesmet, V.C.S. Evaluation of the Hepatic Activity of the Hydroalcolic Extract of Bark *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. *Rev. Interfaces* **2017**, *5*, 48-54. [CrossRef]
11. Barbosa, C.R. Uso do Barbatimão (*Stryphnodendron rotundifolium*) como Aditivo na Alimentação de Cordeiros em Confinamento. Master's Thesis in Animal Science, Federal University of Grande Dourados, Faculty of Agrarian Sciences, Dourados, Brazil, 2021; p. 111. Available online: <https://repositorio.ufgd.edu.br/jspui/bitstream/prefix/4587/1/CristianeRebou%c3%a7asBarbosa.pdf> (accessed on 25 April 2022).
12. Coutinho, H.D.M.; Martins, G.M.A.B.; Morais-Braga, M.F.B.; Menezes, I.R.A.; Machado, A.J.T.; Freitas, M.A.; Santos, A.T.L.; Costa, M.S.; Campina, F.F.; Silva, A.R.P.; et al. *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. As an Adjuvant for the Plant Germination and Development under Toxic Concentrations of HgCl<sub>2</sub> and AlCl<sub>3</sub>. *Water Air Soil Pollut.* **2017**, *228*, 424. [CrossRef]
13. Funari, C.S.; Ferro, V.O. Análise de própolis. *Food Sci. Technol.* **2006**, *26*, 171-178. Available online: <https://www.scielo.br/j/cta/a/YRSX8qYyTD3dcgjnDyq6VwK/?format=pdf&lang=pt> (accessed on 21 October 2021). [CrossRef]
14. Re, R.; Pellegrini, N.; Proteggente, A.; Pannala, A.; Yang, M.; Rice-Evans, C. Antioxidant activity applying in the improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol. Med.* **1999**, *26*, 1231-1237. [CrossRef]
15. Benzie, I.; Strain, J. Ferric reducing/antioxidant power assay: Direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. In *Methods in Enzymology*; Academic Press: Cambridge, MA, USA, 1999; Volume 299, pp. 15-27. [CrossRef]
16. Antolovich, M.; Prenzler, P.; Patsalides, E.; Mc Donald, S.; Robards, K. Methods for testing antioxidant activity. *Analyst* **2002**, *127*, 183-198. [CrossRef]
17. Choi, J.; Hee, J.L.; Sam, S.K. Alateamin, Cassiaside and Rubrofusarin gentiobioside, Radical Scavenging Principles from the Seeds of Cassia tora on 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) Radical. *Arch. Pharmacol Res.* **1994**, *17*, 462-466. [CrossRef]
18. Prieto, P.; Pineda, M.; Aguilar, M. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex. Specific application to the determination of vitamin E. *Anal. Biochem.* **1999**, *269*, 337-341. [CrossRef]



19. Ohkawa, H.; Ohishi, N.; Yagi, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.* **1979**, *95*, 351-358. [[CrossRef](#)]
20. Duavy, S.M.; Ecker, A.; Salazar, G.T.; Loreto, J.; Costa, J.G.M.; Barbosa, N.V. Pequi enriched diets protect *Drosophila melanogaster* against paraquat-induced locomotor deficits and oxidative stress. *J. Toxicol. Environ. Health* **2019**, *82*, 664-677. [[CrossRef](#)]
21. Feany, M.B.; Bender, W.W. A *Drosophila* model of Parkinson's disease. *Nature* **2000**, *404*, 394-398. [[CrossRef](#)]
22. White, K.E.; Humphrey, D.M.; Hirth, F. The dopaminergic system in the aging brain of *Drosophila*. *Front. Neurosci.* **2010**, *4*, 205. [[CrossRef](#)]
23. Abolaji, A.O.; Kamdem, J.P.; Lugokenski, T.H.; Nascimento, T.K.; Waczuk, E.P.; Farombi, E.O.; Loreto, É.L.S.; Rocha, J.B.T. Involvement of oxidative stress in 4-vinylcyclohexene-induced toxicity in *Drosophila melanogaster*. *Free Radic. Biol. Med.* **2014**, *71*, 99-108. [[CrossRef](#)]
24. Coulom, H.; Birman, S. Chronic exposure to rotenone models sporadic Parkinson's disease in *Drosophila melanogaster*. *J. Neurosci.* **2004**, *24*, 10993-10998. [[CrossRef](#)]
25. Heijnen, C.G.; Haenen, G.R.; Oostveen, R.M.; Stalpers, E.M.; Bast, A. Protection of flavonoids against lipid peroxidation: The structure activity relationship revisited. *Free Rad. Res.* **2002**, *36*, 575-581. [[CrossRef](#)]
26. Rice-Evans, C.; Miller, N.J.; Paganga, G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radic. Biol. Med.* **1996**, *20*, 933-956. [[CrossRef](#)]
27. Rice-Evans, C.A.; Miller, N.J.; Paganga, G. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends Plant Sci.* **1997**, *2*, 152-159. [[CrossRef](#)]
28. Lopes, G.K.; Schulman, H.M.; Hermes-Lima, M. Polyphenol tannic acid inhibits hydroxyl radical formation from Fenton reaction by complexing ferrous ions. *Biochim. Biophys. Acta Gen. Subj.* **1999**, *1472*, 142-152. [[CrossRef](#)]
29. Pannala, A.S.; Chan, T.S.; O'Brien, P.J.; Rice-Evans, C.A. Flavonoid B-Ring chemistry and antioxidant activity: Fast Reaction Kinetics. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2001**, *282*, 1161-1168. [[CrossRef](#)]
30. Macáková, K.; Kolečkář, V.; Cahlíková, L.; Chlebek, J.; Hošťálková, A.; Kuřca, K.; Jun, D.; Opletal, L. Chapter 6: Tannins and their Influence on Health. In *Recent Advances in Medicinal Chemistry*, 1st ed.; Choudhary, M.I., Perry, G., Rahman, A., Eds.; Elsevier: San Antonio, TX, USA; Bentham Science Publishers: Soest, The Netherlands, 2014; Volume 1, pp. 159-208. [[CrossRef](#)]
31. Baldivia, D.D.S.; Leite, D.F.; Castro, D.T.H.; Campos, J.F.; Santos, U.P.D.; Paredes-Gamero, E.J.; Carollo, C.A.; Silva, D.B.; Picoli, S.K.; Santos, E.L. Evaluation of In vitro Antioxidant and Anticancer Properties of the Aqueous Extract from the Stem Bark of *Stryphnodendron adstringens*. *Int. J. Mol. Sci.* **2018**, *19*, 2432. [[CrossRef](#)]
32. Zocoler, D.A.M.; Sanches, C.A.C.; Albrecht, I.; Mello, P.J.C. Antioxidant capacity of extracts and isolated compounds from *Stryphnodendron obovatum* Benth. *Braz. J. Pharm. Sci.* **2009**, *45*, 443-452. [[CrossRef](#)]
33. Lu, Y.; Yeap, F.L. Antioxidant and radical scavenging activities of polyphenols from apple pomace. *Food Chem.* **2000**, *68*, 81-85. [[CrossRef](#)]
34. Halliwell, B.; Aeschbach, R.; Loliger, J.; Arouma, O.I. The characterization of antioxidants. *Food Chem. Toxicol.* **1995**, *33*, 601-617. [[CrossRef](#)]
35. Olivieri, N.F. The beta-thalassemias. *N. Engl. J. Med.* **1999**, *341*, 99-109. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
36. Steensma, D.P.; Tefferi, A. The myelodysplastic syndrome(s): A perspective and review highlighting current controversies. *Leuk. Res.* **2003**, *27*, 95-120. [[CrossRef](#)]
37. Costa, A.F.; Faulhaber, G.A.M.; Krug, B.C.; Gonçalves, C.B.T.; Amaral, K.M.; Schneiders, R.E.; Xavier, L.C.; Mosca, M. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas: Sobrecarga de Ferro. Portaria SAS/MS No. 1324. Brazil documentos. 2013. Available online:

[https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/sas/2013/prt1324\\_25\\_11\\_2013.html](https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/sas/2013/prt1324_25_11_2013.html) (accessed on 22 April 2022).

38. Nichols, C.D. *Drosophila melanogaster* neurobiology, neuropharmacology, and how the fly can inform central nervous system drug discovery. *Pharmacol. Ther.* **2006**, *112*, 677-700. [CrossRef]
39. Fernández, J.R.; Grant, M.D.; Tulli, N.M.; Karkowski, L.M.; McClearn, G.E. Differences in locomotor activity across the lifespan of *Drosophila melanogaster*. *Exp. Gerontol.* **1999**, *34*, 621-631. [CrossRef]
40. Gargano, J.W.; Martin, I.; Bhandari, P.; Grotewiel, M.S. Rapid iterative negative geotaxis (RING): A new method for assessing age-related locomotor decline in *Drosophila*. *Exp. Gerontol.* **2005**, *40*, 386-395. [CrossRef]
41. Besson, M.; Martin, J.-R. Centrophobism/thigmotaxis, a new role for the mushroom bodies in *Drosophila*. *J. Neurobiol.* **2004**, *62*, 386-396. [CrossRef]
42. Lebreton, S.; Martin, J.R. Mutations affecting the cAMP transduction pathway disrupt the centrophobism behavior. *J. Neurogenet.* **2009**, *23*, 225-234. [CrossRef]
43. Zhao, X.; Sun, H.; Hou, A.; Zhao, Q.; Wei, T.; Xin, W. Antioxidant properties of two gallotannins isolated from the leaves of *Pistacia weinmannifolia*. *Biochim. Biophys. Acta* **2005**, *1725*, 103-110. [CrossRef]
44. Ou, K.; Gu, L. Absorption and metabolism of proanthocyanidins. *J. Funct. Foods* **2014**, *7*, 43-53. [CrossRef]
45. Kruszewski, M. Labile iron pool: The main determinant of cellular response to oxidative stress. *Mutat. Res. Mol. Mech. Mutagen.* **2003**, *531*, 81-92. [CrossRef]
46. Liu, Z.D.; Hider, R.C. Design of iron chelators with therapeutic application. *Coord. Chem. Rev.* **2002**, *232*, 151-171. [CrossRef]
47. Birch, N.; Wang, X.; Chong, H.S. Iron chelators as therapeutic iron depletion agents. *Expert Opin. Ther. Patents* **2006**, *16*, 1533-1556. [CrossRef]
48. Choudhry, V.P.; Naithani, R. Current status of iron overload and chelation with deferasirox. *Indian J. Pediatr.* **2007**, *8*, 759-764. [CrossRef]
49. Vassilis, L.; Helen, B.; Efstathios, G.; Antonis, K. Deferasirox administration for the treatment of non-transfusional iron overload in patients with thalassaemia intermedia. *Br. J. Haematol.* **2010**, *151*, 504-508. [CrossRef]
50. Santini, V.; Alessandrino, P.E.; Angelucci, E.; Barosi, G.; Billio, A.; Di Maio, M.; Finelli, C.; Locatelli, F.; Marchetti, M.; Morra, E.; et al. Clinical Management of Myelodysplastic Syndromes: Update of SIE, SIES, GITMO Practice Guidelines. *Leuk. Res.* **2010**, *34*, 1576-1588. [CrossRef]
51. Musto, P.; Maurillo, L.; Simeon, V.; Poloni, A.; Finelli, C.; Balleari, E.; Ricco, A.; Rivellini, F.; Cortelezzi, A.; Tarantini, G.; et al. Iron-Chelating Therapy with Deferasirox in Transfusion Dependent, Higher Risk Myelodysplastic Syndromes: A Retrospective, Multicenter Study. *Br. J. Haematol.* **2017**, *177*, 741-750. [CrossRef]
52. Palumbo, G.A.; Galimberti, S.; Barcellini, W.; Cilloni, D.; Di Renzo, N.; Elli, E.M.; Finelli, C.; Maurillo, L.; Ricco, A.; Musto, P.; et al. From Biology to Clinical Practice: Iron Chelation Therapy with Deferasirox. *Front. Oncol.* **2021**, *11*, 752192. [CrossRef]
53. Di Veroli, A.; Campagna, A.; De Muro, M.; Trawinska, M.M.; Leonetti, C.S.; Petriccione, L.; Romano, A.; D'Addosio, A.; Cenfra, A.; Montanaro, M.; et al. Deferasirox in the treatment of iron overload during myeloproliferative neoplasms in fibrotic phase: Does ferritin decrement matter? *Leuk. Res.* **2018**, *76*, 65-69. [CrossRef]
54. Current and Resolved Drug Shortages and Discontinuations Reported to FDA, and Drugs@FDA: FDA-Approved Drugs. Available online: [www.accessdata.fda.gov](http://www.accessdata.fda.gov) (accessed on 25 May 2021).

55. de Toledo Espindola, P.P.; dos Santos da Rocha, P.; Carollo, C.A.; Schmitz, W.O.; Pereira, Z.V.; do Carmo Vieira, M.; Santos, E.L.; de Picoli Souza, K. Antioxidant and antihyperlipidemic effects of *Campomanesia adamantium* O. Berg root. *Oxidative Med. Cell. Longev.* **2016**, 2016, 7910340. [[CrossRef](#)]
56. Lopes, R.H.; Macorini, L.F.; Antunes, K.Á.; Espindola, P.T.; Alfredo, T.M.; da Rocha, P.S.; Pereira, Z.V.; Santos, E.L.; Souza, K.P. Antioxidant and hypolipidemic activity of the hydroethanolic extract of *Curatella americana* l. leaves. *Oxidative Med. Cell. Longev.* **2016**, 2016, 9681425. [[CrossRef](#)]

## CAPÍTULO 5: CONSIDERAÇÕES FINAIS

### 5.1 PRINCIPAIS CONCLUSÕES

A espécie *Stryphnodendron rotundifolium* Mart., tem sido usada na medicina popular devido ao seu uso consolidado na cura de feridas, infecções microbianas e inflamações. No entanto, há pouca consideração sobre suas contraindicações e dosagens utilizadas em preparações medicinais, possivelmente pelo pensamento de que os remédios naturais não representam riscos à saúde, desde que sejam usados tal como os prescritores as indicam.

Os resultados do presente estudo demonstraram que as cascas do caule do *S. rotundifolium* Mart., possui na sua constituição química, alto teor de compostos fenólicos de natureza tânica, tais como prodelphinidinas, prorobinetidinas e procianidinas altamente hidroxiladas, em menor concentração, de flavonóides, que podem ser extraídos com mistura de solventes acetona – água, na relação (7:3 v/v), e exibir forte atividade antioxidante reduzindo íons metálicos, inibindo radicais livres por doação de elétrons, especialmente, quelando expressivamente íons  $Fe^{+2}$  em situações de sobrecarga de ferro.

Na medicina popular as cascas do caule do *S. rotundifolium* Mart., são preparadas por maceração ou decocção em água, sem remoção previa de gorduras nem uso de acetona como solvente auxiliar de extração de substâncias ativas. No entanto, ao fazer a comparação entre os preparos do material vegetal por maceração ou decocção em água, praticado na medicina popular, e o procedimento onde previamente se eliminam as gorduras e após se realiza a extração com acetona: água (7:3; v/v). Podemos afirmar que as três formas de obtenção das formulações medicinais, são ricas em compostos polares fenólicos, especialmente taninos condensados (PACs).

No entanto, entre estes modos de preparos existem algumas diferenças, que poderiam afetar rendimento de extração, estabilidade e/ou modificar efeitos dos metabolitos secundários extraídos. Na decocção com água o efeito do aumento da temperatura pode além de extrair os compostos fenólicos, arrastar compostos de natureza menos polares e oleosa como compostos terpenóides e ácidos graxos, que podem modificar o efeito medicinal em relação a outras formas de preparo. Na maceração com água os compostos fenólicos são extraídos juntos a outros tipos de macromoléculas como proteínas e açúcares, reduzindo conseqüentemente o rendimento, qualidade, estabilidade e efeito dos fenólicos extraído.

Entretanto, quando no preparo do material vegetal são realizados prévios procedimentos de desengorduramento, é garantida a ausência de metabólitos secundários de baixa polaridade como compostos terpenóides, ácidos graxos hidróxi ou epóxi unidos por ligações ésteres. Assim, o material vegetal resultante pode ser submetido a extração com água e solvente acetona, que melhora o poder de penetração nas cascas do caule e ao mesmo tempo inibe as interações dos compostos fenólicos com macromoléculas, tais como carboidratos e proteínas, aumentando dessa forma o rendimento de extração e a estabilidade dos fenólicos extraídos. Isso permite obter um produto isento de compostos indesejados que interajam negativamente no efeito medicinal, e ao mesmo tempo mais duradouro, e com efeito medicinal diferenciado.

Isto em maneira alguma quer significar que as práticas da medicina popular estejam erradas ou descompassadas com a atualidade, nem muito menos um convite para usar este tipo de solvente nos preparos medicinais do *S. rotundifolium* na medicina popular, uma vez que nesse âmbito não se dispõem dos meios para processar e manusear tais solvente. O almejado, é mais um intento de contribuir de forma inovadora e adaptativa para a compreensão e aplicação dos novos conhecimentos sobre o "barbatimão" *S. rotundifolium* no auxílio do bem-estar humano, e não humano, dito de uma outra forma, nossa contribuição advém do que já como conhecimentos temos recebido da medicina popular.

O extrato acetona: água (7:3 v/v) das cascas do caule do *S. rotundifolium* Mart., possui potente atividade antioxidante quelante de  $Fe^{+2}$ , em concentrações terapêuticas, que o indica como uma fonte de compostos antioxidantes com potencial para ser utilizada no desenvolvimento de bioprodutos com fins terapêuticos para o tratamento de condições patológicas de estresse oxidativo por contextos de sobrecarga de ferro. As concentrações terapêuticas do extrato exibiram resultados preliminares indicando baixa toxicidade em *Artemia salina* e moscas *Drosophila melanogaster* adultas, sem alterações visíveis de funções locomotoras neste último modelo. Estudos ainda precisam ser desenvolvidos em outros modelos *in vitro*, *in vivo* e *clínicos*.

## 5.2 CONTRIBUIÇÕES TEÓRICAS E/OU METODOLÓGICAS DA TESE

Este estudo proporcionou um aumento do conhecimento científico sobre as propriedades bioativas (antioxidantes e toxicidade) da espécie *S. rotundifolium* Mart., com a indicação do promissor potencial controlador do nível de  $Fe^{+2}$  por ação quelante,

em distúrbios de desbalanço de ferro por excesso, além de estabelecer perfil de toxicidade de um extrato acetona: água (7:3 v/v), em termos de limites de concentrações (mg/mL) e tempos de usos sistemáticos por ingestão oral para as condições patológicas na qual a espécie é usada, segundo os achados da nossa pesquisa (Artigos 2: Antioxidant Activity of *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. Stem Bark Fraction in an Iron Overload Model., e artigo 3: Advances in Evaluation of Antioxidant and Toxicological Properties of *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. in *Drosophila melanogaster* Model.).

### 5.3 PRINCIPAIS LIMITAÇÕES DO ESTUDO

Uns dos fatores mais limitantes no desenvolvimento deste trabalho, foram os efeitos do distanciamento social e limitação de acesso aos diversos cenários de pesquisa, que a pandemia do novo coronavírus Sars-Cov. Considerando que o ritmo na realização dos trabalhos laboratoriais ficou mais lento e com maiores dificuldades de execução. Especialmente a sequência dos ensaios *in vitro* e *in vivo* no laboratório foram realizados com maiores intervalos de tempo para evitar situações de lotação que poderiam favorecer a disseminação do vírus.

### 5.4 PROPOSTAS DE INVESTIGAÇÕES FUTURAS

A partir dos resultados obtidos poderemos dar continuidade as pesquisas que visem os seguintes objetivos:

1. Estudo cromatográfico - espectrométrico de isolamento e identificação de metabólitos secundários tânicos da fração acetona:água (7:3) da casca do caule do *S. rotundifolium* Mart.,
2. Estudos de absorção, biodisponibilidade e metabolismo das proantocianidinas poliméricas (PACs) do *S. rotundifolium* Mart.,
3. Estudo comparativo de toxicidade e de atividade antioxidante por ação quelante em condições de sobrecarga de íons de ferro em modelo experimentais *in vitro*, *ex vivo* e *in vivo*, com a droga comercial Deferasirox, quelante oral para reduzir a sobrecarga crônica de ferro em fluidos sanguíneos

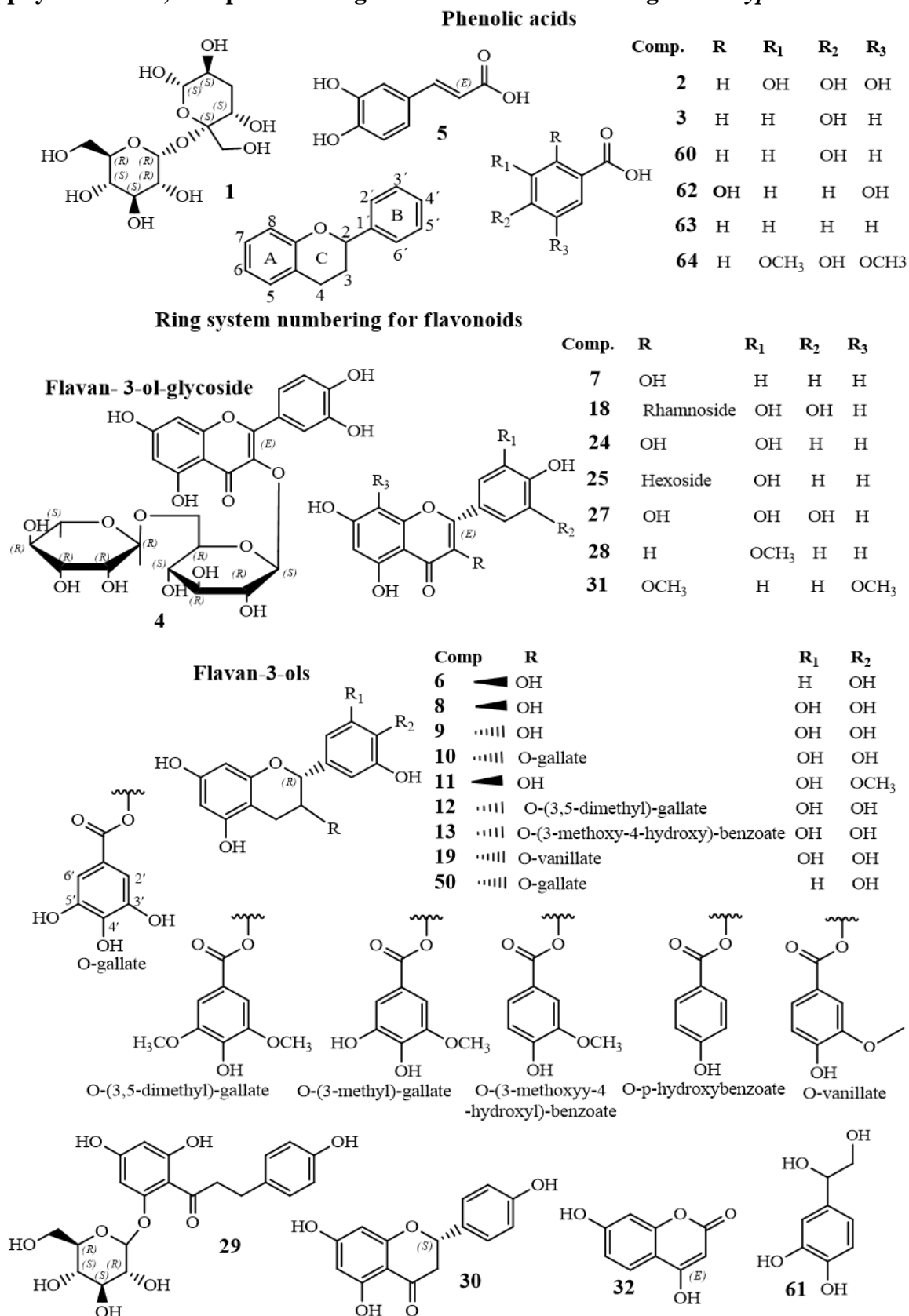
de pacientes que recebem transfusões de sangue de longo prazo para doenças como beta- talassemia e outras anemias crônicas.

## 5.5 ORÇAMENTO

Este estudo foi financiado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – (CAPES) por meio de Bolsa de 2.200 R\$ por 48 meses (R\$ 105.600,00), para doutorado na instituição UNIVERSIDADE REGIONAL DO CARIRI (URCA), Brasil, pelo Programa Estudantes Convênio de Pós-Graduação 88881.131160/2016-01, para o estudante Gerson Javier Torres Salazar, orientado pelo professor Dr. José Galberto Martins da Costa. As despesas para amostragem (coleta e preparo de material vegetal em exsiccatas), incluindo a compra de material de papelaria e campo, documentação fotográfica, combustível para transporte ao campo e alimentação para a equipe de coleta. Foram gastos cerca de R\$ 2081,750 em 2 dias de coleta, que representa em média um custo de R\$ 1040,75 reais por dia. Incluindo o valor de uma bolsa de IC por um período de 365 dias (fevereiro 2019 – janeiro 2019, 532 horas / laboratório), de valor total R\$ 5400,00 e investimento diário de R\$ 40,60. Com esse investimento diário se auxiliou na realização de uma fração dos ensaios laboratoriais de atividade antioxidante e toxicidade. Para o processo de obtenção do extrato e realização dos ensaios foram gastos por conceito de reagentes, solventes, vidraria, instrumentos, aparelhos e consumíveis, um total aproximado de R\$ 190.419,92 e investimento mensal R\$ 3967,08. Os custos acima não incluem despesas com taxonomistas, técnicos e auxiliares que voluntariamente colaboraram na execução dos ensaios realizados. Três (3) coletas de material vegetal foram realizadas, uma (1) triagem de identificação taxonômica, uma (1) triagem de identificação de fitoconstituintes, três (3) análises cromatográficas – espectrométrico de identificação de metabólitos secundários, 13 ensaios laboratoriais entre quantificações de famílias de fenólicos e atividade antioxidante e 4 de toxicidade foram executados. O valor de R\$ 3967,08 por mês é menor do que o real, uma vez que não foram incluídas despesas com taxonomistas e de triagem do material analisado em laboratório.

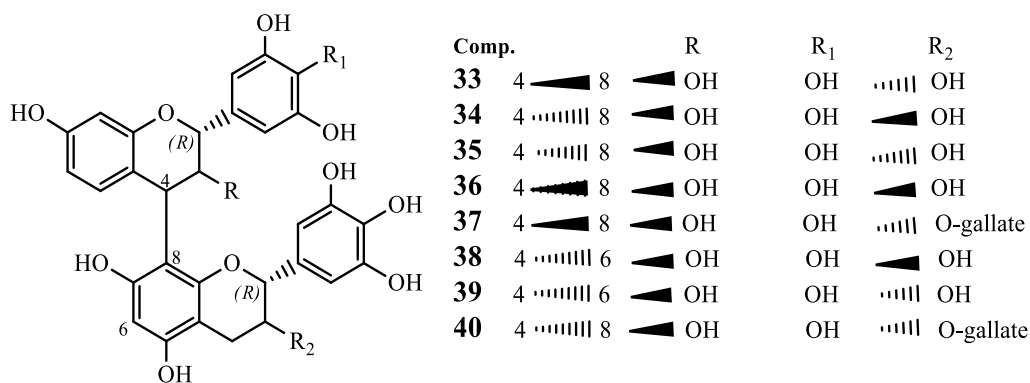
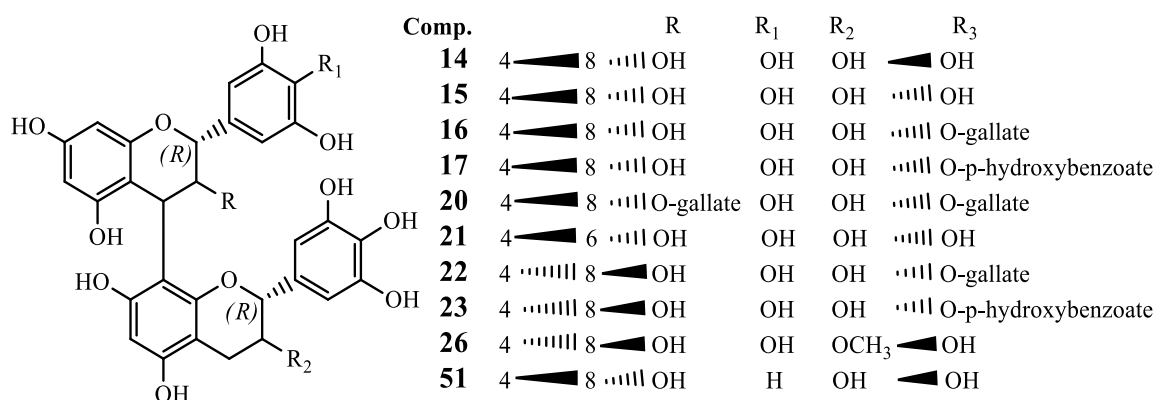
**ANEXOS:**

**Figura 23.** Material suplementar do artigo: **An update on the ethnobotanical, phytochemical, and pharmacological characteristics of the genus *Stryphnodendron***

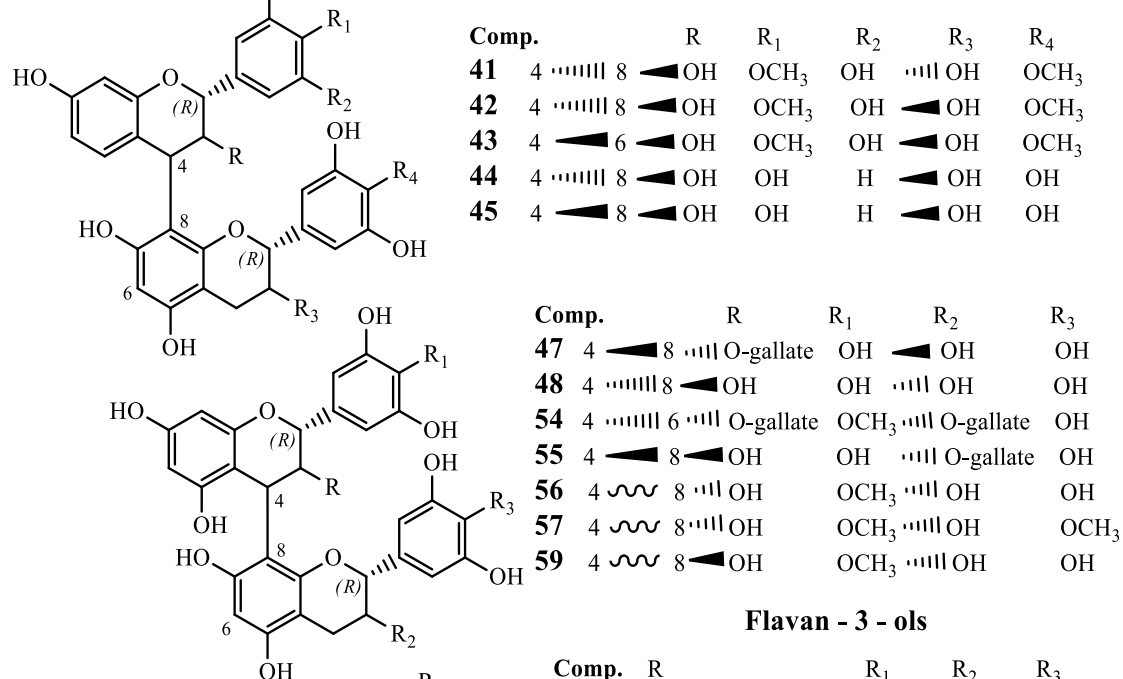




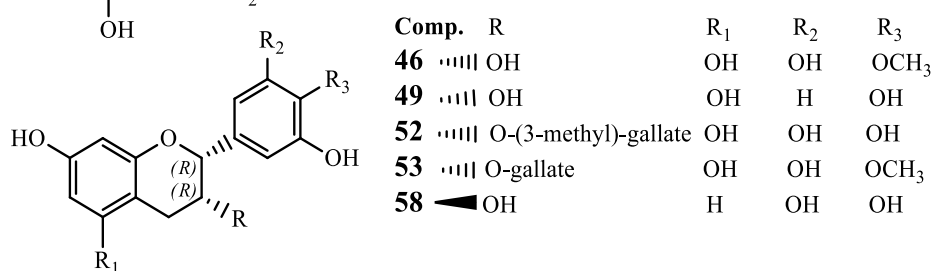
### B - Type proanthocyanidins with C<sub>4</sub> → C<sub>8</sub> and C<sub>4</sub> → C<sub>6</sub> bond



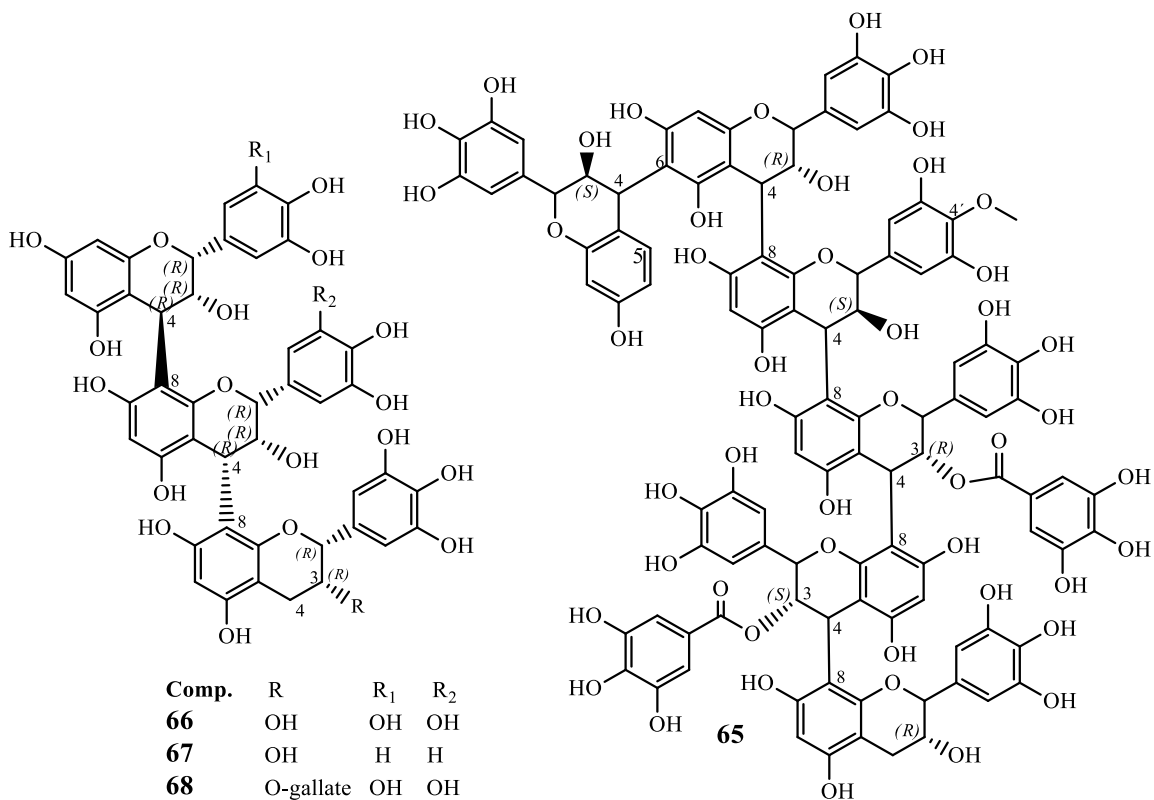
### B - Type proanthocyanidins with C<sub>4</sub> → C<sub>8</sub> and C<sub>4</sub> → C<sub>6</sub> bond



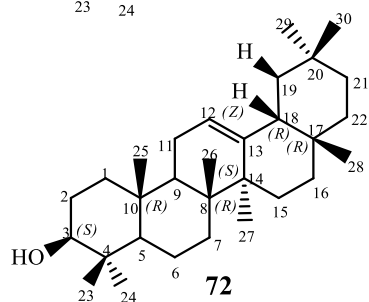
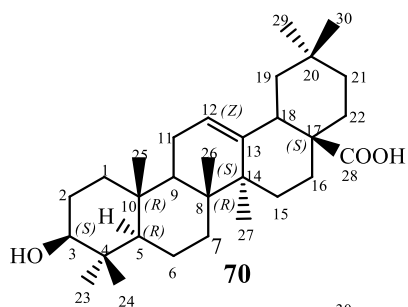
### Flavan - 3 - ols



### Polimeric proanthocianidins

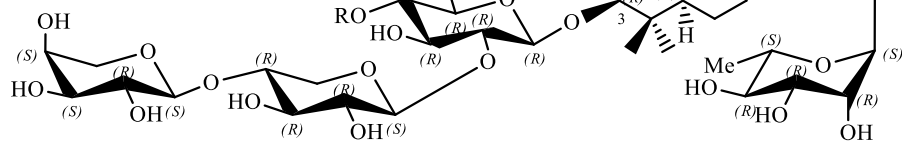


### Pentacyclic triterpenes oleonane

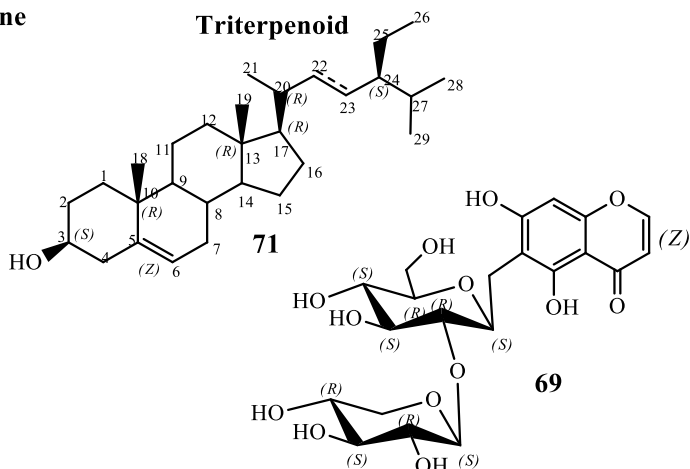


Comp.

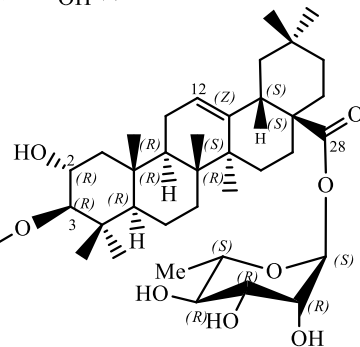
**73** H  
**74** Xyl



### Triterpenoid

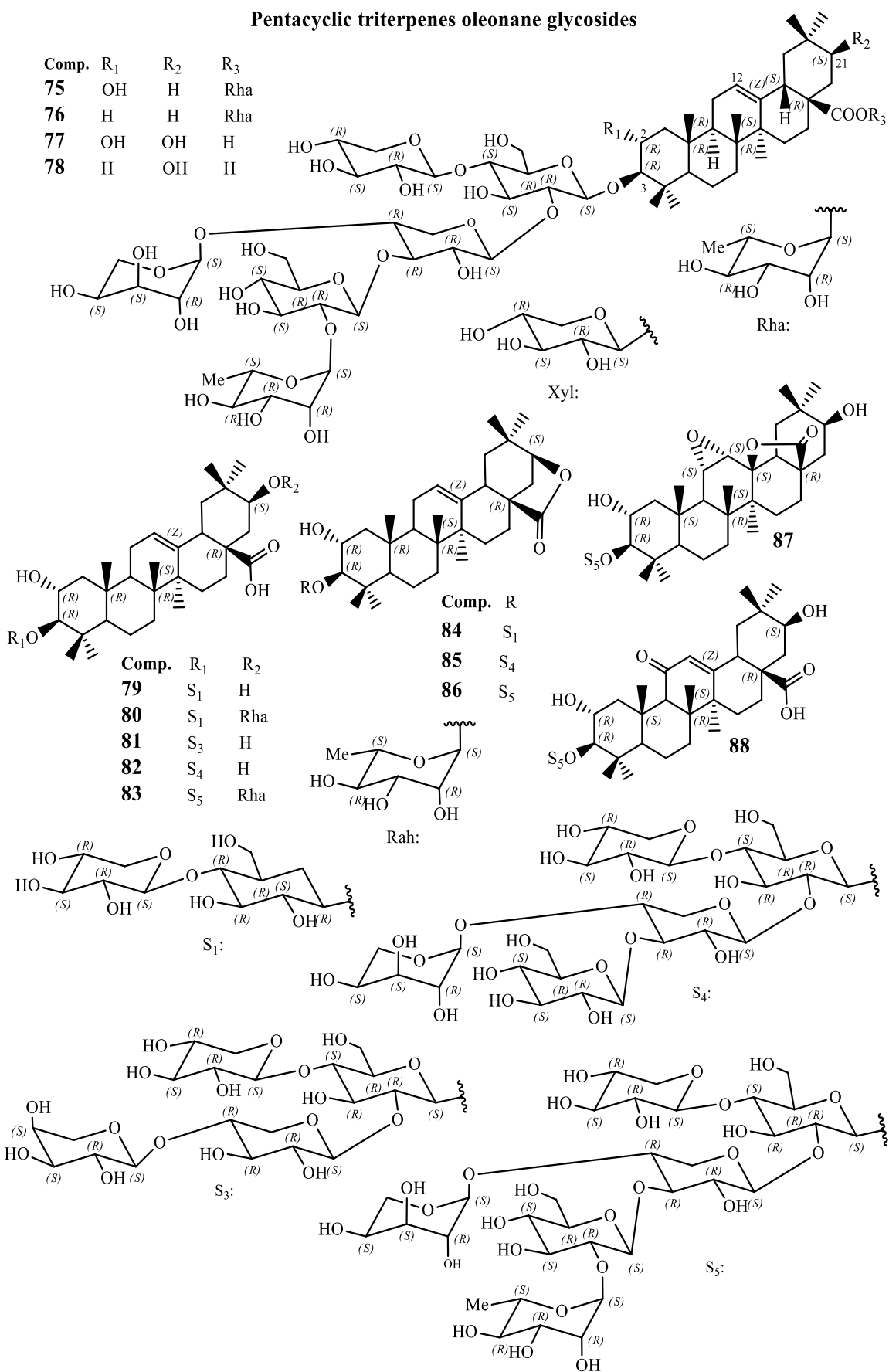


### Pentacyclic triterpenes oleonane glycosides




### Pentacyclic triterpenes oleonane glycosides

Comp.	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
75	OH	H	Rha
76	H	H	Rha
77	OH	OH	H
78	H	OH	H



Fonte: Estruturas desenhadas pelo autor (Gerson Javier Torres Salazar, 2022)

**Figura 24.** Comprovante do SISGEN

  
**Ministério do Meio Ambiente**  
**CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO**  
SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO

**Comprovante de Cadastro de Acesso**  
Cadastro nº A9536D5

A atividade de acesso ao Patrimônio Genético, nos termos abaixo resumida, foi cadastrada no SisGen, em atendimento ao previsto na Lei nº 13.123/2015 e seus regulamentos.

Número do cadastro:	<b>A9536D5</b>
Usuário:	<b>José Galberto Martins da Costa Costa</b>
CPF/CNPJ:	<b>221.096.763-53</b>
Objeto do Acesso:	<b>Patrimônio Genético</b>
Finalidade do Acesso:	<b>Pesquisa</b>

**Espécie**

**STRYPHNOENDRON ROTUNDIFOLIUM**

Título da Atividade:	<b>IDENTIFICAÇÃO DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS TÂNICOS E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DAS CASCAS DO CAULE DE STRYPHNOENDRON ROTUNDIFOLIUM MART. COMO BASE PARA A ELUCIDAÇÃO DA SUA BIOATIVIDADE NA MEDICINAL POPULAR</b>
----------------------	--

**Equipe**

<b>José Galberto Martins da Costa Costa</b>	<b>URCA</b>
<b>Gerson Javier Torres Salazar</b>	<b>Universidade Federal Rural de Pernambuco</b>


Data do Cadastro:	<b>19/11/2020 20:28:27</b>
Situação do Cadastro:	<b>Concluído</b>

Conselho de Gestão do Patrimônio Genético  
Situação cadastral conforme consulta ao SisGen em 20:28 de 19/11/2020.



SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO  
DO PATRIMÔNIO GENÉTICO  
E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL  
ASSOCIADO - **SISGEN**

**Figura 25.** Comprovante do MMA, ICMBio, SISBIO



Ministério do Meio Ambiente - MMA  
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio  
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

**Extrato da solicitação Nº 59759 em PDF - Gerado em: 21/07/2017 as 17:07:42 horas**

**Dados básicos da Solicitação**

Nº da solicitação: 59759	Situação atual: Submetidas para análise	Data da situação atual: 21/07/2017
Tipo da solicitação: Autorização para atividades com finalidade científica		
Título do Projeto: METABÓLITOS SECUNDÁRIOS FENÓLICOS-TÂNICOS DA CASCA DO CAULE DA ESPÉCIE STRYPHNOENDRON ROTUNDFOLIUM MART. E ESTUDO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE. COMO		

**Dados do pesquisador**

Nome: José Galberto Martins da Costa	Nacionalidade: Brasileira	CPF: 22105676353	E-mail: galberto@urca.br	Identidade: 11042360 SSP CE
Endereço: Rua Carolino Sucupira 716				
Bairro: Pimenta	CEP: 63105-010	Município: CRATO	UF: CE	Fone: (0xx88) 8632-2750
Profissão: Químico		Nível escolar: Doutorado		

**Dados do vínculo institucional**

Instituição: Universidade Regional do Cariri	CNPJ: 06.740.864/0001-26
Tipo de vínculo: Servidor público	
Email: urca@urca.br	
Fone: (0xx88) 3102-1212	

**Membros da equipe**

Nome do pesquisador	CPF	Nacionalidade	Função
Gerson Javier Torres Salazar	86905457000	Brasileira	Doutorando

**Atividades da solicitação**

Descrição das atividades/substrato	Tipo do item
Coleta/transporte de material botânico, fúngico ou microbiológico	Atividades
Pesquisa em unidade de conservação federal	Atividades