

CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA E AVALIAÇÃO FARMACOLÓGICA DO EXTRATO HIDROETANÓLICO DAS CASCAS DE *ANADENANTHERA COLUBRINA*

Andressa A. B. de Araújo¹;

Universidade de Pernambuco (UPE), Garanhuns, PE.

<http://lattes.cnpq.br/1586702107274392>

Dara Vitória da C. Araújo²;

Universidade de Pernambuco (UPE), Garanhuns, PE.

<http://lattes.cnpq.br/9672703945954004>

Hélder Lucas da S. Santos³;

Universidade de Pernambuco (UPE), Garanhuns, PE.

<http://lattes.cnpq.br/4167015627657898>

Émily Rosane de M. Almeida⁴;

Universidade de Pernambuco (UPE), Garanhuns, PE.

<http://lattes.cnpq.br/3412106485140117>

Juliana de S. Henrique⁵;

Universidade de Pernambuco (UPE), Garanhuns, PE.

<http://lattes.cnpq.br/7397905510445193>

Adeilda F. dos Santos⁶;

Universidade de Pernambuco (UPE), Garanhuns, PE.

<http://lattes.cnpq.br/9682099352457595>

Natália C. de Melo⁷;

Universidade de Pernambuco (UPE), Garanhuns, PE.

<http://lattes.cnpq.br/3732223209732500>

Emilly Beatriz de B. Nascimento⁸;

Universidade de Pernambuco (UPE), Garanhuns, PE.

<http://lattes.cnpq.br/5660929900621164>

Elisangela R. Castanha⁹;

Universidade de Pernambuco (UPE), Garanhuns, PE.

<http://lattes.cnpq.br/9831904836802638>

Ana Carolina de C. Correia¹⁰.

Universidade de Pernambuco (UPE), Garanhuns, PE.

<http://lattes.cnpq.br/0934946620890424>

RESUMO: *Anadenanthera colubrina* Vell. Brenan (Fabaceae), conhecida por angico, é uma espécie nativa do Brasil, amplamente utilizado na medicina popular. Objetivou-se avaliar o perfil químico do extrato hidroetanólico das cascas do caule de *A. colubrina* (Ac-HE), bem como avaliar as atividades antioxidante, antimicrobiana e a citotóxica. O espectro do FTIR-ATR indicou grupos funcionais compatíveis com compostos fenólicos como taninos e flavonoides. A presença de compostos fenólicos e flavonoides foram confirmadas com $337,9 \pm 3,7 \mu\text{g EAG/g}$ e $310,4 \pm 2,1 \mu\text{g EQ/g}$, respectivamente. O Ac-HE teve expressiva atividade antioxidante, $\text{CI}_{50} = 0,114 \pm 0,009 \mu\text{g/mL}$ para o teste do DPPH e $\text{CI}_{50} = 0,411 \pm 0,248 \mu\text{g/mL}$ para o teste do ABTS e demonstrou propriedades antibacterianas frente a cepa de *S. aureus* (ATCC 29213), com CIM de 1 mg/mL e CBM de 2 mg/mL. Por fim, o Ac-HE não interferiu na viabilidade celular de fibroblastos (L929). Em conclusão, esse estudo ressalta a importância de explorar as propriedades bioativas de *A. colubrina* em futuras pesquisas para desenvolvimento farmacêutico, valorizando seu potencial etnomedicinal.

PALAVRAS-CHAVE: Angico. Produtos Naturais. Atividades biológicas.

PHYTOCHEMICAL CHARACTERIZATION AND PHARMACOLOGICAL EVALUATION OF THE HYDROETHANOLIC EXTRACT FROM THE BARK OF ANADENANTHERA COLUBRINA

ABSTRACT: *Anadenanthera colubrina* Vell. Brenan (Fabaceae), commonly known as angico, is a species native to Brazil and widely used in traditional medicine. This study aimed to evaluate the chemical profile of the hydroethanolic extract from the bark of *A. colubrina* (Ac-HE), as well as assess its antioxidant, antimicrobial, and cytotoxic activities. The FTIR-ATR spectrum indicated functional groups compatible with phenolic compounds such as tannins and flavonoids. The presence of phenolic compounds and flavonoids was confirmed with values of $337.9 \pm 3.7 \mu\text{g GAE/g}$ and $310.4 \pm 2.1 \mu\text{g QE/g}$, respectively. Ac-HE exhibited significant antioxidant activity, with an IC_{50} of $0.114 \pm 0.009 \mu\text{g/mL}$ in the DPPH test and an IC_{50} of $0.411 \pm 0.248 \mu\text{g/mL}$ in the ABTS test. It also demonstrated antibacterial properties against the *S. aureus* strain (ATCC 29213), with a MIC of 1 mg/mL and MBC of 2 mg/mL. Lastly, Ac-HE did not affect the viability of fibroblast cells (L929). In conclusion, this study highlights the importance of exploring the bioactive properties of *A. colubrina* in future pharmaceutical research, emphasizing its ethnomedicinal potential.

KEYWORDS: Angico. Natural Products. Biological Activities.

INTRODUÇÃO

A utilização de plantas medicinais é uma prática reconhecida desde a antiguidade, adotada por diversas culturas para tratar e prevenir doenças. O Brasil se destaca nesse contexto, sendo o país com a maior biodiversidade do mundo e uma rica diversidade étnica e cultural. Essa riqueza favorece a fitoterapia como uma alternativa de tratamento eficaz, sustentada pelo conhecimento tradicional e por pesquisas etnofarmacológicas (Gonçalves et al., 2020).

A resistência bacteriana é um dos principais desafios de saúde pública, agravada pela dificuldade em desenvolver novos antibióticos. Nesse cenário, o *Staphylococcus aureus* se destaca por causar infecções de pele, pneumonia e sepse, além de estar frequentemente associado a infecções nosocomiais e comunitárias (Cheung; Bae; Otto, 2021). Embora o tratamento dessas infecções geralmente envolva antibióticos, o uso inadequado vem complicando a prática clínica, já que o *S. aureus* se adapta e altera suas características fisiológicas (Guo et al., 2022). Portanto, é essencial buscar plantas reconhecidas no uso popular que contenham altos teores de compostos fenólicos, associados a importantes atividades biológicas, como potencial antibacteriano, anti-inflamatório e combate ao estresse oxidativo.

Ademais, o acúmulo de radicais livres no organismo está associado ao desenvolvimento de doenças como câncer, aterosclerose, isquemia cerebral e envelhecimento. Os antioxidantes, ao sequestrar esses radicais livres, atuam na prevenção e apresentam elevado potencial terapêutico contra esses problemas, o que tem impulsionado a busca por novos antioxidantes provenientes de plantas utilizadas na medicina tradicional.

Nesse viés, destaca-se a *Anadenanthera colubrina* Vell. Brenan (Fabaceae), conhecida como angico. Essa espécie lenhosa, nativa do Brasil, é típica da Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica (Pareun; Araújo; Drumond, 2018). O angico possui grande valor cultural e medicinal, sendo amplamente utilizado na medicina popular, nas formas de garrafadas, infusões, decocções, xaropes, tinturas e macerações, para tratar problemas respiratórios, dores, cicatrização de feridas, distúrbios digestivos, infecções de pele, condições bucais, estresse e infecções urinárias (Medeiros; Carvalho, 2020).

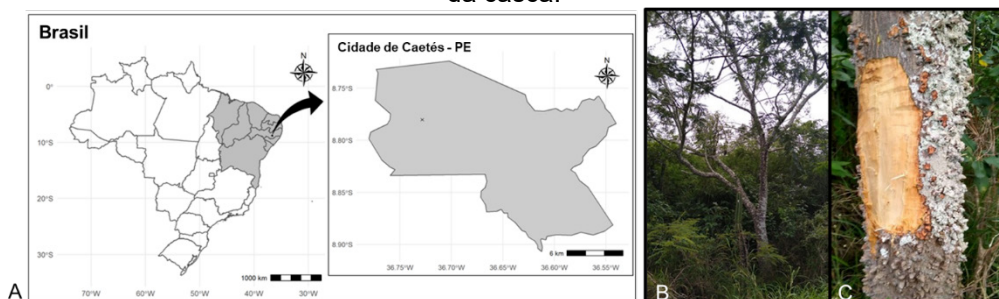
OBJETIVO

Neste estudo, buscou-se avaliar o perfil químico do extrato hidroetanólico das cascas do caule de *Anadenanthera colubrina* (Vell) Brenan, bem como avaliar a atividade sequestradora de radicais livres, atividade antimicrobiana e a citotoxicidade frente à fibroblastos (L929).

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal e procedimento de extração: As cascas do caule de *A. colubrina* foram coletadas na zona rural do município de Caetés, localizado na região agreste do estado de Pernambuco. A coleta do material botânico foi realizada utilizando a técnica de turnê-guiada (Albuquerque et al., 2014), com o auxílio de um especialista que indicou tanto o local quanto a planta a ser coletada. Com o uso do aplicativo SW MAPS® para celular, foi possível obter a localização precisa da árvore, cujas coordenadas geográficas são 8,78028522° de latitude sul e 36,72840443° de longitude oeste, com uma elevação de 813 metros e acurácia de 5 metros (Figura 1). Este estudo foi cadastrado no SISGEN com n° A7A5DA9.

Figura 1: *Anadenanthera colubrina* (Vell) Brenan. (A) Geolocalização da árvore utilizada no estudo; (B) Imagem da árvore inteira; (C) imagem demonstrando o corte na região do caule do angico para a obtenção da casca.

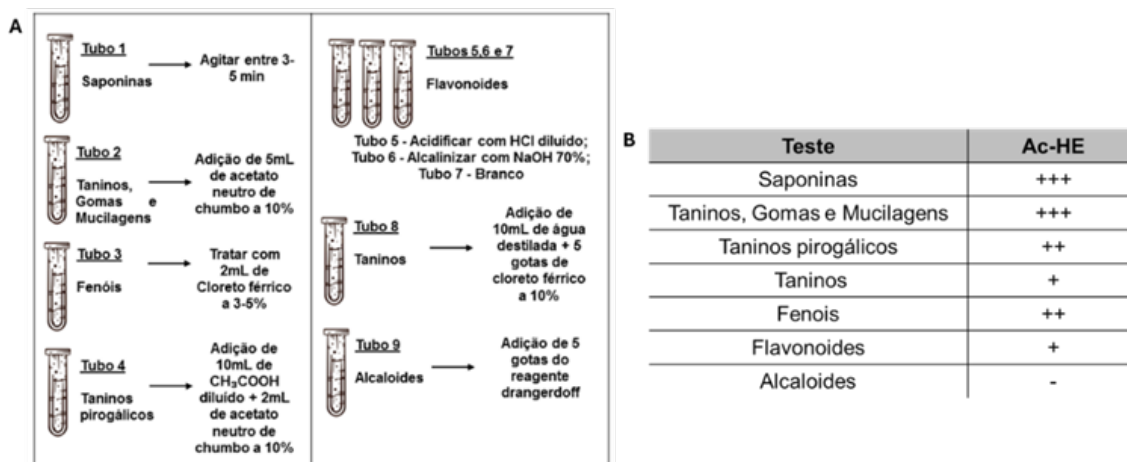


Fonte: Autores, 2024.

As cascas foram lavadas com água ultrapura e levadas para secagem em estufa com ar circulante a 40 °C por 7 dias. Posteriormente, o material foi triturado e pulverizado em moinho de facas mecânico. 20 g do pó das cascas foi transferido para um erlenmeyer, acrescido de 200 mL de etanol:água (50:50 v/v) e levado para o banho ultrassônico por 40 minutos a temperatura ambiente. Em seguida, realizou-se filtrações a vácuo até que o solvente saísse límpido. O filtrado foi rotaevaporado a vácuo (40 °C, 55 RPM) até sua concentração e obtenção do extrato hidroetanólico bruto de *A. colubrina* (Ac-HE). O rendimento final foi de 9,3%.

Análise fitoquímica preliminar: O extrato foi submetido à triagem fitoquímica preliminar (Figura 2A) para detecção das principais classes de metabólitos secundários através de reações químicas que resultam no desenvolvimento de formação de espuma, coloração e/ou precipitado, característico para cada classe de substâncias (Matos, 1997).

Figura 2: Esquema da triagem fitoquímica preliminar (A). Perfil fitoquímico do Ac-HE (B) (+++) Alta intensidade; (++) Média intensidade; (+) Baixa intensidade; (-) Ausente.



Fonte: Autores, 2024.

Análise espectroscópica de refletância total atenuada por infravermelho com transformada de Fourier (FTIR ATR): A técnica utilizada para analisar do Ac-HE no equipamento de FTIR foi a reflectância total atenuada (ATR), na qual o extrato bruto foi posicionado sob o cristal opticamente denso e com alto índice de refração na faixa de 4000–400 cm^{-1} . A informação espectral resultante foi analisada com o gráfico de referência para reconhecer a presença dos grupo funcional.

Determinação do teor de fenólicos totais e flavonoides totais: O teor de compostos fenólicos totais foi determinado pelo método de Folin-Ciocalteu, conforme Sousa et al. (2007), com modificações. Utilizou-se ácido gálico como padrão, a absorbância foi lida a 760 nm. O resultado foi expresso como equivalente de ácido gálico ($\mu\text{g EAG/g}$). A quantificação dos flavonoides totais foi determinada pelo método colorimétrico com cloreto de alumínio, de acordo com Meda et al. (2005). Utilizou-se a quercetina como padrão. A absorbância foi medida a 415 nm, e o teor de flavonoides foi expresso como equivalente de quercetina ($\mu\text{g EQ/g}$). Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

Avaliação do potencial antioxidante: A capacidade antioxidante foi avaliada por meio do método de redução do radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), conforme descrito por Mezza et al. (2018). Em uma microplaca de 96 poços, 270 μL da solução etanólica de DPPH (60 μM) foi misturada com 30 μL do Ac-HE em diferentes concentrações (0,1 $\mu\text{g/mL}$ – 27 $\mu\text{g/mL}$), para o branco utilizou-se o etanol. Após o repouso por 30 minutos, sob abrigo de luz, a absorbância foi medida a 517 nm. Já o ensaio de ABTS, baseado na neutralização do radical ABTS^+ formado pela oxidação do ABTS (ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico)). Primeiramente, o radical cátion ABTS^+ foi gerado misturando-se 2,5 mL da solução de ABTS (7 mM) com 44 μL da solução de persulfato de potássio (140 mM), mantendo a mistura no escuro por 16 horas. Em seguida, a solução de ABTS^+ foi diluída

em etanol até atingir uma absorvância de $0,7 \pm 0,05$ a 734 nm. Em eppendorfs, 900 μL da solução de ABTS foi misturada com 100 μL do Ac-HE em diferentes concentrações (0,1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ – 27 $\mu\text{g}/\text{mL}$), para o branco utilizou-se o etanol. As misturas foram homogeneizadas e submetidas a banho ultrassônico por 6 minutos. Após isso, 300 μL de cada solução foram transferidos para uma placa de 96 poços. A leitura foi realizada no espectrofotômetro UV-Vis a 517 nm (Han; Zhang; Luo, 2011). O Trolox foi utilizado como padrão antioxidante. Todos os experimentos foram realizados em triplicata. A capacidade antioxidante foi calculada usando a fórmula: % de proteção = $[(\text{Abs controle} - \text{Abs da amostra}) / \text{Abs do controle}] \times 100$. A concentração inibitória (CI_{50}) foi expressa em $\mu\text{L}/\text{mL}$, representando a quantidade necessária para reduzir em 50% a concentração inicial da solução de DPPH ou ABTS.

Avaliação do potencial antimicrobiano: O teste da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) foram realizados conforme descrito pelo CLSI (2012). Em uma microplaca de 96 poços, foram distribuídos 180 μL de caldo Müeller-Hinton e 20 μL do Ac-HE diluído em água ultrapura com 10% de DMSO, obtendo-se uma concentração final de 2 a 0,063 mg/mL , por diluição seriada (fator 2X). Em seguida, foram adicionados 10 μL da suspensão bacteriana. Para o teste, foi utilizada a cepa de *S. aureus* ATCC 29213, cujas colônias foram ressuspensas em salina até atingir a turbidez equivalente à escala 0,5 de McFarland. Foram realizados três experimentos independentes, em triplicata. Como controle, foram utilizados poços com: meio, extrato e salina; meio, cefoxitina (4 μg) e salina; meio, cefoxitina (4 μg) e inóculo e apenas meio com inóculo. As microplacas foram incubadas por 24 h à 37 °C e em seguida foi realizada a leitura da densidade óptica a 600 nm dos poços. Após a leitura, foi realizada a adição de 20 μL de resazurina a 0,02% por 2h a 37 °C. Através de leitura visual, a mudança na coloração (azul para rosa) permitiu a determinação da CIM. Para a determinação da CBM, alíquotas de 10 μL de todos os poços com concentrações igual ou superior à CBM foram cultivadas em ágar sangue. A CMB foi definida como a menor concentração do extrato capaz de inibir o crescimento no meio de cultura (sem colônias visíveis).

Cultura de células: A linhagem de fibroblastos murinos L929 foi cultivada em meio *Dulbecco's Modified Eagle Medium* (DMEM), suplementado com 10% de soro fetal bovino, 1% de glutamina e 100 U de penicilina / 10 μg de estreptomicina/mL a 37 °C com 5% de CO_2 . As células foram manuseadas em ambiente estéril de câmara de fluxo laminar vertical e cultivadas em frascos plásticos para cultura (25 cm^2 , volume de 50 mL ou 75 cm^2 , volume de 250 mL).

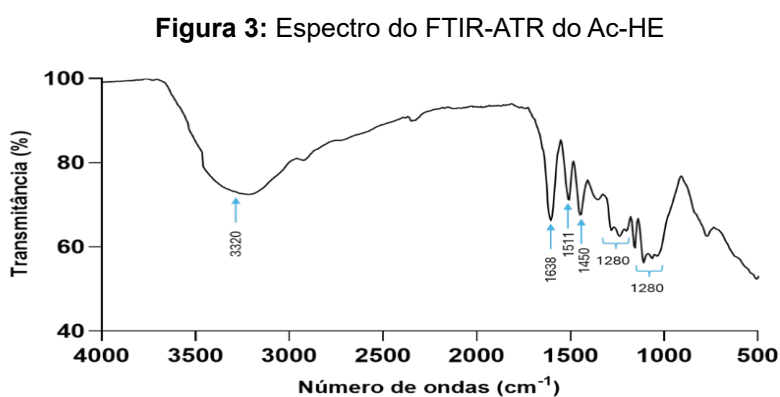
Avaliação do potencial citotóxico: O potencial citotóxico do Ac-HE foi avaliado pelo ensaio MTT (Mosmann, 1983). Os fibroblastos (7×10^3 células/poço) foram cultivados em placas de 96 poços e tratados com DMEM (controle negativo) ou com Ac-HE em diferentes concentrações (1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ – 729 $\mu\text{g}/\text{mL}$) ou com TRITON X-100 (1%) (controle positivo). Após 24 horas de incubação a 37°C em estufa com CO_2 , adicionou-se o MTT (brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difenil tetrazólio) (5 mg/mL) nos poços, as placas foram mantidas em estufa por 4 horas. Em seguida, o sobrenadante foi removido e 100 μL de

dimetilsulfóxido (DMSO) foram adicionados a cada poço, para solubilizar o formazan produzido. A densidade óptica foi medida a 540 nm. A citotoxicidade foi avaliada em triplicata e os valores de absorbância foram expressos como porcentagem de viabilidade celular, utilizando a fórmula: $(\text{Abs células tratadas} / \text{Abs células não tratadas}) \times 100\%$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A triagem fitoquímica tem por objetivo a detecção e prospecção preliminar dos diferentes constituintes químicos de plantas, com base na extração destes com solventes apropriados e na aplicação de testes de formação de espuma, coloração e/ou precipitado (Matos, 1997). Através desta análise, foi possível identificar classes de metabólitos secundários de interesse farmacológico presentes no extrato hidroetanólico bruto de *A. colubrina* (Ac-HE), e os resultados encontram-se dispostos na Figura 2B.

A análise do FTIR (Figura 3) é possível observar que a banda em 3320 cm^{-1} representa grupos hidroxila comuns em compostos fenólicos como taninos e flavonoides, que fazem parte da composição dos extratos de *A. colubrina* (Mota et al., 2017). A banda em 1608 cm^{-1} pode estar associada a ligações duplas de carbono (C=C) e à presença de grupos carbonila (C=O) conjugados a sistemas aromáticos, típicos em flavonoides (Krysa; Szymanska-Chargot; Zdunek, 2022). Os picos em 1511 cm^{-1} e 1450 cm^{-1} são característicos do estiramento C=C em anéis aromáticos, indicando a presença dos compostos fenólicos mencionados por Araújo et al. (2020). As bandas em 1280 cm^{-1} estão associadas ao estiramento (CO) em álcoois e éteres, característico de taninos e flavonoides (Ortuño et al., 2021), enquanto a banda em 1113 cm^{-1} também está relacionada ao estiramento CO em éteres (Omran, 2023). A banda em 773 cm^{-1} é coerente com deformações de ligações fora do plano (CH) em anéis aromáticos.



Fonte: Autores, 2024.

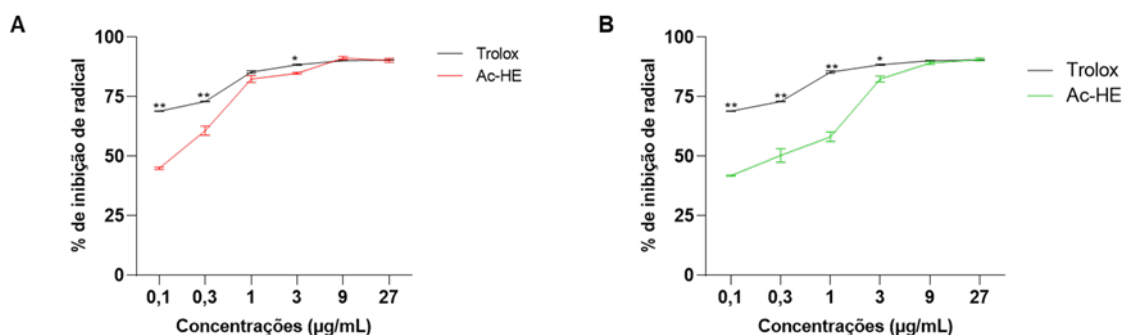
Com relação a determinação dos conteúdos de compostos fenólicos totais e de flavonoides totais, o Ac-HE apresentou $337,9 \pm 3,7 \mu\text{g EAG/g}$ e $310,4 \pm 2,1 \mu\text{g EQ/g}$, respectivamente. Esses achados corroboram com o espectro de FTIR. Ademais, nos estudos de Silva (2020), utilizando o extrato aquoso dos galhos de *A. colubrina*, observou-se um conteúdo de compostos fenólicos totais de $218,22 \pm 0,55 \text{ mg EAG/g}$, e $1,31 \pm 0,04 \text{ mgEQ/g}$, referente ao conteúdo de flavonoides. Nos achados de Sobrinho (2010), ao analisar as frações hidroalcoólica e acetato de etila obtidas da casca do caule de *A. colubrina*, foi possível quantificar $177,85 \pm 0,45 \text{ mg EAG/g}$ e $171,26 \pm 0,02 \text{ mg EAG/g}$, respectivamente, referente ao teores de fenois totais; e $13,48 \pm 0,07 \text{ mg EQ/g}$ e $34,16 \pm 0,12 \text{ mg EQ/g}$, respectivamente, referente ao teor de flavonoides.

A distribuição e concentração de metabólitos variam entre partes da planta, como folhas, flores, frutos e casca, devido a demandas metabólicas e funções ecológicas específicas. No angico, comum em regiões tropicais, a quantidade de compostos fenólicos na casca pode mudar entre períodos seco e chuvoso, dependendo das condições locais. A época de coleta também é crucial, influenciando diretamente o teor de metabólitos, com variações sazonais marcadas (Auad, 2018).

A atividade antioxidante, utilizando o método de captura dos radicais DPPH apresentou uma CI_{50} de $0,114 \pm 0,009 \mu\text{g/mL}$ (Figura 4A). A porcentagem de redução do ABTS (CI_{50}) foi de $0,411 \pm 0,248 \mu\text{g/mL}$ (Figura 4B), confirmando o potencial das amostras na inibição de radicais livres.

Estudos prévios indicam que os valores de IC_{50} para antioxidantes potentes, como flavonoides e taninos presentes em *A. colubrina*, frequentemente variam de forma significativa, dependendo do método de extração e das partes da planta utilizadas (Oliveira et al., 2019). Isso evidencia a eficácia dos compostos fenólicos na neutralização de radicais livres, o que está alinhado com o uso tradicional da planta para fins medicinais.

Figura 4: Atividade antioxidante do Ac-HE



Porcentagem de inibição de radicais pelo método de DPPH (A) e ABTS (B). As barras verticais representam a média e SEM de três experimentos independentes, cada um realizado em Triplicata. ANOVA Two-way, seguida do pós teste de Sidak (Trolox vs. Ac-HE). * $p < 0,05$ e ** $p < 0,0001$.

Fonte: Autores, 2024.

Este fato pode justificar a discrepância nos valores do potencial antioxidante observado neste estudo quando comparado ao trabalho de Silva et al. (2016), com uma CI_{50} de 5,6 $\mu\text{g/mL}$ para o extrato etanólico de *A. colubrina*.

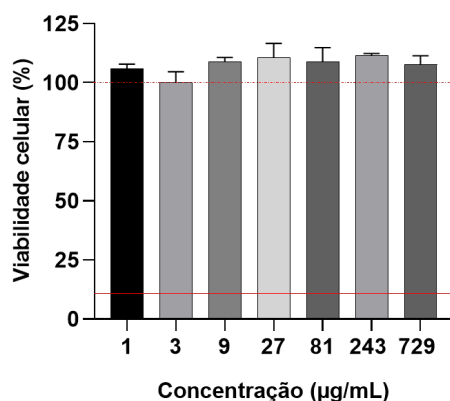
Convém ressaltar que substâncias com núcleo fenólico, como os flavonoides e ácidos fenólicos, destacam-se como excelentes antioxidantes, por atuarem como eficientes sequestradores de espécies reativas de oxigênio (EROs), além de reduzirem e quelarem íons férrico que catalisam a peroxidação lipídica (Nahar; Sarker, 2005). Ademais, presença de taninos, flavonoides e derivados cinâmicos está associada à capacidade de inibição bacteriana (Araújo et al., 2014). Diante disso, investigou-se o potencial antimicrobiano do Ac-HE frente a cepa de *S. aureus*.

A CIM do Ac-HE obtida foi de 1 mg/mL , enquanto a CBM foi de 2 mg/mL . Em condições semelhantes, Colacite (2015), ao utilizar o extrato hidroalcoólico da folha da angico, encontrou uma MIC promissora de 125 $\mu\text{g/ml}$ e CBM de 500 $\mu\text{g/ml}$ contra *S. aureus*.

A citotoxicidade *in vitro* é o primeiro passo para revelar a presença ou ausência de efeito tóxico direto em nível celular. Há vários testes de citotoxicidade, incluindo MTT, XTT, vermelho neutro, difusão em ágar e lactato desidrogenase (Melekoğlu et al., 2020). Existem inúmeras vantagens do ensaio de MTT, a exemplo: facilidade e rapidez de execução, reprodutibilidade dos resultados, além de ser evidenciado uma correlação clínica entre os testes *in vitro* e *in vivo* (Sasaki et al., 2019). No presente estudo, preferimos o teste MTT para avaliar a citotoxicidade em fibroblastos L929, visto que se trata de uma célula abundante nos tecidos conjuntivos.

Os resultados obtidos no ensaio de MTT são apresentados como porcentagem de viabilidade celular em função das concentrações crescentes do Ac-HE. Observou-se que o Ac-HE, em todas as concentrações testadas não interferiu na viabilidade celular (Figura 5). Esses achados estão em concordância com os estudos de Colacite (2015), que avaliou a toxicidade do extrato de *A. colubrina* em eritrócitos, sendo tóxica apenas em altas concentrações (4000 $\mu\text{g/mL}$). É válido salientar que a norma ISO 10993-5:2009 “Avaliação biológica de dispositivos médicos – Teste de citotoxicidade *in vitro*”, a viabilidade celular > 70%, indica que não apresenta citotoxicidade para células L929 nas concentrações testadas.

Figura 5: Viabilidade celular de fibroblastos (L929) após a exposição do Ac-HE por 24 horas.



As linhas pontilhadas vermelha representa o grupo controle, onde as células foram mantidas apenas com o meio de cultura (DMEM), a linha vermelha sólida representa as células na presença do TRITON-X 100 (controle positivo) e as barras verticais representam a média e SEM de três experimentos independentes, cada um realizado em quadruplicata. ANOVA two-way, seguida do pós teste de Dunnet, (Ac-HE vs. Controle negativo).

Fonte: Autores 2024.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O extrato hidroetanólico das cascas de *Anadenanthera colubrina* (Ac-HE) apresentou um perfil fitoquímico rico em fenólicos e flavonoides, demonstrando expressivo potencial antioxidante, o que apoia seu uso tradicional contra o estresse oxidativo. Além disso, o extrato mostrou atividade antimicrobiana relevante contra *Staphylococcus aureus*, sugerindo sua eficácia no combate a infecções bacterianas, além de ser seguro em fibroblastos. O estudo ressalta a importância de explorar suas propriedades bioativas em futuras pesquisas para desenvolvimento farmacêutico.

REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, U. P. et al. **Methods and techniques in Ethnobiology and Ethnoecology**. New York: Springer, 2014.
- ARAÚJO, J. M. et al. Atividade antibacteriana de taninos, flavonoides e derivados cinâmicos. **Rev. Bras. Ciênc. Farm.**, v. 50, n. 4, p. 643-649, 2014.
- ARAÚJO, T. S. L. et al. Biopolymer Extracted from *Anadenanthera colubrina* (Red Angico Gum) Exerts Therapeutic Potential in Mice: Antidiarrheal Activity and Safety Assessment. **Pharmaceuticals**, v. 13, n. 17, 2020.
- AUAD, P. **Composição Química de Taninos Vegetais, Curtimento e Propriedades dos Couros**. Dissertação (mestrado em engenharia química) - Escola de engenharia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2018.

CHEUNG, G. Y. C., BAE, J. S., OTTO, M. Pathogenicity and virulence of *Staphylococcus aureus*, **Virulence**, v. 12, n. 1, p. 547 - 569, 2021.

CLSI. **Clinical Laboratory Standards Institute Methods for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically**. Approved standard M02–A10 Wayne, Pa. Clinical and Laboratory Standards Institute, 2012.

COLACITE, J. Triagem fitoquímica, análise antimicrobiana e citotóxica e dos extratos das plantas: *Schinus terebinthifolia*, *Maytenus ilicifolia* Reissek, *Tabebuia avellanedae*, *Anadenanthera colubrina* (vell.) Brenan. **Saúde e Pesquisa**, v. 8, n. 3, p. 509-516, 2015.

GONÇALVES, R. N. et al. Os marcos legais das políticas públicas de plantas medicinais e fitoterápicos no Brasil. **Revista de APS**, v. 23, n. 3.

GUO, H. et al., Biofilm and Small Colony Variants—An Update on *Staphylococcus aureus* Strategies toward Drug Resistance, **Int. J. Mol. Sci.**, v. 23, n. 3, pag. 1241, 2022.

HAN, L.; ZHANG, HAI-D.; LUO, SHI-S. Optimization of ultrasound-assisted extraction of total phenol from betel nut seed and evaluation of antioxidant activity in vitro. **EJEAFChe.**, v. 10, n. 5, 2011.

KRYSA, M. SZYMAŃSKA-CHARGOT, M.; ZDUNEK, A. FT-IR and FT-Raman fingerprints of flavonoids—A review. **Food Chem.** 2022, 393, 133430.

MATOS, F J A. **Methods and Techniques in Ethnobiology and Ethnoecology**. 2. ed. Fortaleza: Edições UFC, 1997.

MEDA, A. et al. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. **Food Chem.**, v. 91, n. 3, p. 571-577, 2005.

MEDEIROS, P.S.; CARVALHO, M.F. (2020). “Angico: uma revisão sobre seu uso na medicina popular.” **Rev Bras Plantas Med**, 22(4), 231-239.

MELEKOĞLU, A., EKICI, H., ARAT, E., KARAHAN, S. Evaluation of melamine and cyanuric acid cytotoxicity: an in vitro study on L929 fibroblasts and CHO cell line. **Ankara Univ Vet Fak Derg**, 67, 399-406, 2020.

MEZZA, G. N. et al. Antioxidant activity of rosemary essential oil fractions obtained by molecular distillation and their effect on oxidative stability of sunflower oil. **Food Chem.**, 242, p. 9-15, 2017.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. **J. Immunol. Methods**. v. 65, p. 55–63, 1983.

MOTA, G.S. et al. Bark anatomy, chemical composition and ethanol-water extract composition of *Anadenanthera peregrina* and *Anadenanthera colubrina*. **PLoS ONE** 2017, 12, e0189263.

NAHAR, L.; SARKER, S.D. Chenoalbuside: an antioxidant phenolic glycoside from the seeds of *Chenopodium album* L. (Chenopodiaceae). **Rev. Bras. Farmacogn.**, v.15, p.279-

282, 2005.

OLIVEIRA, A.P. et al. Antioxidant potential of *Anadenanthera colubrina* using DPPH and ABTS assays. **Phytother Res**, 2019.

OMRAN, A.M.E. Green route synthesis of silver nanoparticles driven by Cassia fistula flower extract: Characterization, antioxidant, antibacterial, anticancer, and photocatalytic assessment. **Biomass Conv. Bioref** 2023.

ORTUÑO, J. et al., Rapid tannin profiling of tree fodders using untargeted mid-infrared spectroscopy and partial least squares regression. **Plant Methods** 2021, 17, 14.

PAREYN, F.G.C.; ARAÚJO, E.L.; DRUMOND, M.A. *Anadenanthera colubrina*: Angico. In: EMBRAPA (Semiárido). Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro: região Nordeste. Brasília: [s. n.], 2018. cap. 5, p. 740-745.

SASAKI, T. et al. Evaluation of cell viability and metabolic activity of a 3D cultured human epidermal model using a dynamic autoradiographic technique with a PET radiopharmaceutical. **Scientific Reports**, 9(10685), 1-10, 2019.

SILVA, E. K. C. **Avaliação das atividades antimicrobiana, citotóxica e antioxidante de extratos metanólico e aquoso de galhos da *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan**. 2020. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco.

SILVA, M.G. et al. Potential antioxidant activity of *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Benth. and its correlation with total phenolic content. **J. Med. Plant Res.**, v. 10, n. 40, p. 665-671, 2016

SOBRINHO, C.R.W. **Determinação da atividade antimicrobiana e citotóxica de extratos da casca do caule de *Anadenanthera colubrina* (Vell.)**. 2010. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco.

SOUSA, C.M.M. et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007.