

ANÁLISES POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA ACOPLADA A DETECTOR DE ULTRAVIOLETA DE ARRANJO DE DIODOS (CLAE-UV-DAD) DE EXTRATOS DE *MACHAERIUM ACUTIFOLIUM* VOGEL E O SEU POTENCIAL ANTIOXIDANTE

*Charlyana de Carvalho Bento¹, Marcelo José Pena Ferreira²,
Gabriel Teles de Proença³, Luciana Sayuri Tahira⁴,
Ângela Lúcia Bagnatori Sartori⁵, Miriam Sannomiya⁶*

¹Programa de Pós-graduação em Sustentabilidade, Escola de Artes, Ciências e Humanidades – Universidade de São Paulo (EACH-USP). Contato: charlyana.bento@usp.br

²Programa de Pós-graduação em Botânica – Departamento de Botânica, Instituto de Biociências – Universidade de São Paulo (IB-USP). Contato: marcelopena@ib.usp.br

³Graduando em Licenciatura em Ciências da Natureza – Universidade de São Paulo (EACH-USP). Contato: gabrielteles@usp.br

⁴Programa de Pós-graduação em Sustentabilidade, Escola de Artes, Ciências e Humanidades – Universidade de São Paulo (EACH-USP). Contato: lucysayuri@usp.br

⁵Instituto de Biociências de Campo Grande – Universidade Federal do Mato Grosso do Sul (UFMS). Contato: albsartori@gmail.com

⁶Programa de Pós-graduação em Sustentabilidade, Escola de Artes, Ciências e Humanidades – Universidade de São Paulo (EACH-USP). Contato: miriamsan@usp.br

Resumo: Algumas espécies pertencentes ao gênero *Machaerium* (Fabaceae) são de uso etnofarmacológico, como é o caso de *Machaerium acutifolium* Vogel. Esta planta é utilizada na medicina popular no tratamento de dor e inflamações. Muitas espécies de plantas medicinais, se empregadas e extraídas indiscriminadamente, podem ser levadas à extinção, assim como o registro de todo seu potencial biológico, causando um dano irreversível à nossa biodiversidade. Neste sentido, é de grande importância o estudo de plantas medicinais brasileiras, a fim de preservar, valorizar o conhecimento popular e a flora de nosso país, e também para o desenvolvimento de novos fitoterápicos para o tratamento de diversas moléstias. Assim, o presente trabalho envolve o estudo químico dos extratos hidroetanólicos das folhas e galhos de *M. acutifolium* por CLAE-UV-DAD, o doseamento do teor de fenólicos totais, flavonoides e taninos hidrolisáveis, bem como a avaliação do potencial antioxidante destes. As análises em cromatografia em camada delgada, junto com padrões de algumas classes de metabólitos secundários, permitiram identificar a presença de flavonoides, saponinas e açúcares nos dois extratos estudados. O perfil químico por CLAE-UV-DAD indica uma maior diversidade de flavonoides no extrato das folhas do que nos extratos dos galhos desta espécie. O maior potencial antioxidante do extrato das folhas em comparação com o dos galhos possivelmente está relacionado com o maior teor de flavonoides totais e taninos hidrolisáveis observado. Assim, o extrato das folhas pode ter um maior potencial biológico que o extrato dos galhos.

Palavras-chave: *Machaerium acutifolium*, flavonoides, atividade antioxidante.

ANALYSIS BY HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY ACCOUPLED TO ULTRAVIOLET DETECTOR WITH DIODE ARRANGE (HPLC-UV-DAD) OF *MACHAERIUM ACUTIFOLIUM* VOGEL EXTRACTS AND THEIR ANTIOXIDANT POTENTIAL

Abstract: Some species belonging to the genus *Machaerium* (Fabaceae) are of ethnopharmacological use, as is the case of *Machaerium acutifolium* Vogel. This plant is employed in folk medicine to treat pain and inflammation. Many species

of medicinal plants, if used and extracted indiscriminately, can lead to the extinction of many species of plants and their biological potential, causing irreparable damage to our Biodiversity. Thus, the present work involves the chemical study by HPLC-UV-DAD of the hydroethanolic extracts of *M. acutifolium* leaves and branches, determination of the content of total phenolics, flavonoids and hydrolysable tannins and evaluation of their antioxidant potential. According to the analyses in thin layer chromatography together with standards some classes of secondary metabolites, it was possible to identify the presence of flavonoids, saponins and sugars in the two extracts studied. The chemical profile by HPLC-UV-DAD of the extracts indicates a greater diversity of flavonoids in the leaf extract than in the branches of this species. The higher antioxidant potential of the leaf extract when compared to the branch extract is possibly related to the higher content of total flavonoids and hydrolysable tannins observed. Thus, the leaf extract may have a greater biological potential than the branch extract.

Keywords: *Machaerium acutifolium*, flavonoids, antioxidant activity

1. INTRODUÇÃO

Em Fabaceae, estão descritos cerca de 770 gêneros com mais de 20 mil espécies amplamente distribuídas nas regiões temperadas e tropicais (AZANI *et al.*, 2017). Espécies pertencentes a esta família são ricas em flavonoides, alcaloides, terpenos e saponinas (BIRJATINDER; JOGA; SINGH, 2014), cujas classes de produtos naturais apresentam interessantes atividades farmacológica e terapêutica (OBISTIOIU *et al.*, 2021; AYE *et al.*, 2019). De acordo com a literatura, algumas espécies de *Machaerium* (Fabaceae) são de uso etnofarmacológico (AMEN *et al.*, 2015), como é o caso de *Machaerium acutifolium* Vogel, cuja ocorrência se dá da região amazônica até São Paulo e Mato Grosso do Sul. Popularmente conhecida como coração-de-negro, os tubérculos de sua raiz e as cascas internas dos caules costumam ser empregados no tratamento de dor e inflamações internas e externas dos órgãos (MACEDO *et al.*, 2018). Trata-se de uma espécie amplamente utilizada em paisagismo e na recuperação de áreas degradadas (POLIDO; SARTORI, 2007). De acordo com a literatura, espécies pertencentes a este gênero produzem principalmente flavonoides (SEO *et al.*, 2001; RIBEIRO *et al.*, 2016; MELO *et al.*, 2020; LOPES *et al.*, 2020; SANNOMIYA *et al.*, 2020; BENTO *et al.*, 2020).

Espécies de *Machaerium* têm sido amplamente estudadas em relação às atividades biológicas de extratos e substâncias. O extrato etanólico das raízes de *M. aristulatum* e suas isoflavonas apresentam atividade anti-giardial (ELSOHLY; JOSHI; NIMROD, 1999). *M. cuspidatum* pode atuar na prevenção e tratamento

de câncer de pulmão, colorretal e de fígado (KIM *et al.*, 2016). O extrato éter de petróleo das sementes de *M. biovulatum* apresenta habilidade de prevenir o efeito citopático do vírus HIV-1 (ANIMASHAUN *et al.*, 1993). O extrato hidroetanólico das folhas de *M. eriocarpum* e a isovitexina nele presente apresenta atividade alelopática (BENTO *et al.*, 2020). De acordo com Muhammad e colaboradores (2003), Machaeridiol B isolado do extrato hidroetanólico das cascas do caule de *M. multiflorum* apresenta ação antiparasitária frente a *Plasmodium falciparum* e *Leishmania donovani*. Além disso, Machaeriol C apresenta atividade antimicrobiana *in vitro* frente a *Staphylococcus aureus* e *S. aureus* resistente. Os análogos 5,6-*seco*-Machaeridiol A e Machaeridiol B atuam como promissores antibacterianos para *S. aureus* e *S. aureus* resistente e antifúngicos contra *Candida albicans*. Tanto o extrato hidroetanólico das folhas de *M. eriocarpum* como a flavona C-glicosilada, isovitexina isolada dele demonstram atividade antimicrobiana frente a *Helicobacter pylori* e *Candida albicans* (SANNOMIYA *et al.*, 2020). Melo e colaboradores (2020) descrevem a atividade larvicida do extrato acetato de etila do tronco de *M. acutifolium* frente a *Aedes aegypti* com LC_{50} 205 mg L⁻¹. Estes dados denotam o potencial dos extratos de espécies pertencentes a este gênero para as diferentes atividades biológicas.

De acordo com a literatura, existem poucos dados sobre o estudo químico das folhas de *M. acutifolium*. Segundo Carvalho e colaboradores (2019), o estudo químico do extrato das folhas desta mesma espécie por Espectrometria de Massas acoplada a um íon trap com interface de Ionização por Electrospray e inserção direta da amostra (FIA-ESI-IT-MS) permitiu a detecção de flavonóis e isoflavonoides (CARVALHO *et al.*, 2019). No entanto, não existem relatos do estudo químico de galhos desta espécie até o dado momento. Muitas espécies de plantas medicinais brasileiras estão ameaçadas de extinção devido à comercialização, extrativismo excessivo, avanço do desmatamento e queimadas da vegetação nativa, de modo que perdas irreparáveis de nossa biodiversidade são observadas. Outros prejuízos estão diretamente associados a essas perdas, como a perda do registro da composição química e do potencial biológico de uma porção importante da nossa flora. Assim, o presente trabalho tem como objetivo realizar o estudo químico dos extratos hidroetanólico das folhas e galhos de *M. acutifolium* por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a detector de ultravioleta de arranjo de diodos (CLAE-UV-DAD); analisar o doseamento de compostos fenólicos, flavonoides e taninos hidrolisáveis nos extratos; e avaliar o potencial antioxidante dos extratos, a fim de preservar o conhecimento popular e contribuir para o estudo da flora brasileira.

2. METODOLOGIA

2.1 Coleta e preparo do material vegetal

A coleta dos galhos e folhas de *Machaerium acutifolium* Vogel foi realizada nas proximidades do Instituto de Química da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, nas seguintes coordenadas geográficas: 20° 30'18" S e 54°37'2" W. A coleta e identificação da planta foi realizada pela taxonomista professora doutora Ângela Lúcia Bagnatori Sartori. A exsicata se encontra depositada no Herbário CGMS/UFMS, com a identificação CGMS 78108. O material vegetal acessado encontra-se registrado junto ao Sisgen sob o protocolo AAC0301.

Os galhos e folhas foram separados e secos em estufa de ventilação a 40 °C. Após pulverização, o pó de cada órgão vegetal foi separadamente submetido ao processo de extração por percolação exaustiva, empregando-se etanol 70% (MIGLIATO *et al.*, 2011). Após eliminação do solvente em rotaevaporador a pressão reduzida, foram obtidos os extratos das folhas (Macf; 106,0 g) e dos galhos (Macg; 48,0 g).

2.2 Análises dos extratos

As análises por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a um detector de ultravioleta de arranjo de diodos (CLAE-UV-DAD) foram desenvolvidas em um cromatógrafo Agilent 1260 equipado com célula de fluxo de 60 mm, com velocidade de detecção em 80 Hz e detector por arranjo de fotodiodos de varredura de espectro no ultravioleta e visível (faixa entre 200 nm e 600 nm). Para as análises em escala analítica, foi empregada como fase estacionária uma coluna Zorbax Eclipse Plus de fase reversa C₁₈ (150 × 4,6 mm) e 3,5 µm de diâmetro de partícula mantida a 45°C, com um fluxo de fase móvel de 1,0 mL.min⁻¹ e 3 µL de volume de injeção de amostras, preparadas na concentração de 1 mg. mL⁻¹. Os comprimentos de onda utilizados para registro dos cromatogramas foram a 254, 280, 325 e 352 nm. O sistema de eluição em modo gradiente foi constituído por água acidificada com 0,1% de ácido acético (eluente A; Synth) e acetonitrila (eluente B; Merck) na seguinte programação: 0 a 6 min, 10% B; de 6 a 7 min, 10% a 15% B; de 7 a 22 min, 15% B; de 22 a 23 min, 15% a 20% B; de 23 a 33 min, 20% B; de 33 a 34 min, 20% a 25% B; de 34 a 44 min, 25% B; de 44 a 54 min, 25% a 50% B; de 54 a 60 min, 50% a 100% B; de 60 a 65 min, 100% B.

2.3 Avaliação da atividade antirradicalar

As atividades antirradicalares foram realizadas com o radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH). A solução de DPPH foi preparada a partir de 3,5 a 3,9 mg de DPPH em 50 mL de metanol. A concentração exata da solução de DPPH foi determinada pela absorbância máxima e 515 nm considerando $\epsilon_{\text{DPPH}} = 1,25 \cdot 10^4 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. A solução do antirradical Trolox, utilizado como padrão, foi preparada com 1,25 mg em 2,5 mL de metanol, os extratos foram preparados com 2,0 mg em 1,0 mL de metanol. As soluções preparadas permaneceram por 5 minutos no sonicador para total solubilização.

As análises foram realizadas em microplacas para absorbância com caminho ótico de 5 mm e com volume total de 220 μL . As leituras foram realizadas em 515 nm após 30 minutos de reação para o Trolox e 50 minutos para os extratos (OLIVEIRA *et al.*, 2014; TAMAYOSE *et al.*, 2019).

A porcentagem de atividade antirradicalar foi calculada a partir da equação 1, em que o controle negativo foi preparado com 200 μL de DPPH e 20 μL de metanol, o branco foi preparado com 20 μL da amostra e 200 μL de metanol e a amostra foi preparada com 200 μL de DPPH e 20 μL de amostra. A concentração inibitória a 50% (CI_{50}) de cada extrato foi obtida a partir da equação da reta do gráfico de concentração pelo percentual de atividade antirradicalar.

$$\text{AA}\% = 100 - \left\{ \left[(\text{ABS}_{\text{AMOSTRA}} - \text{ABS}_{\text{BRANCO}}) \times 100 \right] / \text{ABS}_{\text{NEGATIVO}} \right\} \quad (1)$$

2.4 Doseamento dos fenóis totais

A determinação de fenóis totais foi realizada utilizando o método de Folin-Ciocalteu. A curva padrão de ácido gálico foi construída a partir de 8 diluições nas concentrações de 87,5 mg L⁻¹ a 700 mg L⁻¹ a partir de uma solução estoque de 875 mg L⁻¹. Os extratos foram preparados na concentração de 1mg mL⁻¹.

Para o doseamento dos fenóis totais foram adicionados em microtubos 1.560 μL de água Milli-Q, 40 μL da amostra, 100 μL do reagente Folin-Ciocalteu e 300 μL de uma solução saturada de carbonato de sódio. Após 2 horas de reação, alíquotas de 200 μL de cada microtubo foram adicionadas em uma placa de 96 poços para a realização da leitura em 760 nm. Os valores das absorbâncias das amostras foram extrapolados na curva padrão de ácido gálico, obtendo-se os valores em massa equivalentes ao ácido gálico (EAG).

2.5 Doseamento dos flavonoides totais

A determinação dos flavonoides totais foi realizada utilizando a reação com cloreto de alumínio. Para tanto, foi empregada uma solução de concentração 50 mg mL^{-1} de cloreto de alumínio. A curva padrão de rutina foi construída a partir de 10 diluições nas concentrações de $3,0 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ a $60 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ a partir de uma solução estoque de $0,1 \text{ mg mL}^{-1}$. Os extratos foram preparados na concentração de 1 mg mL^{-1} .

Para o doseamento dos flavonoides totais foram adicionados em microtubos $0,5 \text{ mL}$ da amostra e $0,5 \text{ mL}$ da solução de cloreto de alumínio. Após 15 min de reação, alíquotas de $200 \text{ } \mu\text{L}$ de cada microtubo foram adicionadas em uma placa de 96 poços para a realização da leitura em 420 nm . Os valores das absorbâncias das amostras foram extrapolados na curva padrão de rutina, obtendo-se os valores em massa equivalentes a rutina.

2.6 Doseamento dos taninos hidrolisáveis

A determinação dos taninos hidrolisáveis foi realizada utilizando a reação com iodato de potássio, conforme procedimento descrito em literatura (SAFFARZADEH-MATIN; KHOSROWSHAHI, 2017).

As leituras dos ensaios antirradicalar, fenóis totais e flavonoides totais foram realizadas em um espectrofotômetro para microplacas (Elisa) da Synergy™ H1. Todos os ensaios foram realizados em triplicata e os resultados tratados e representados com média \pm desvio padrão no programa Origin Pro 8.5.

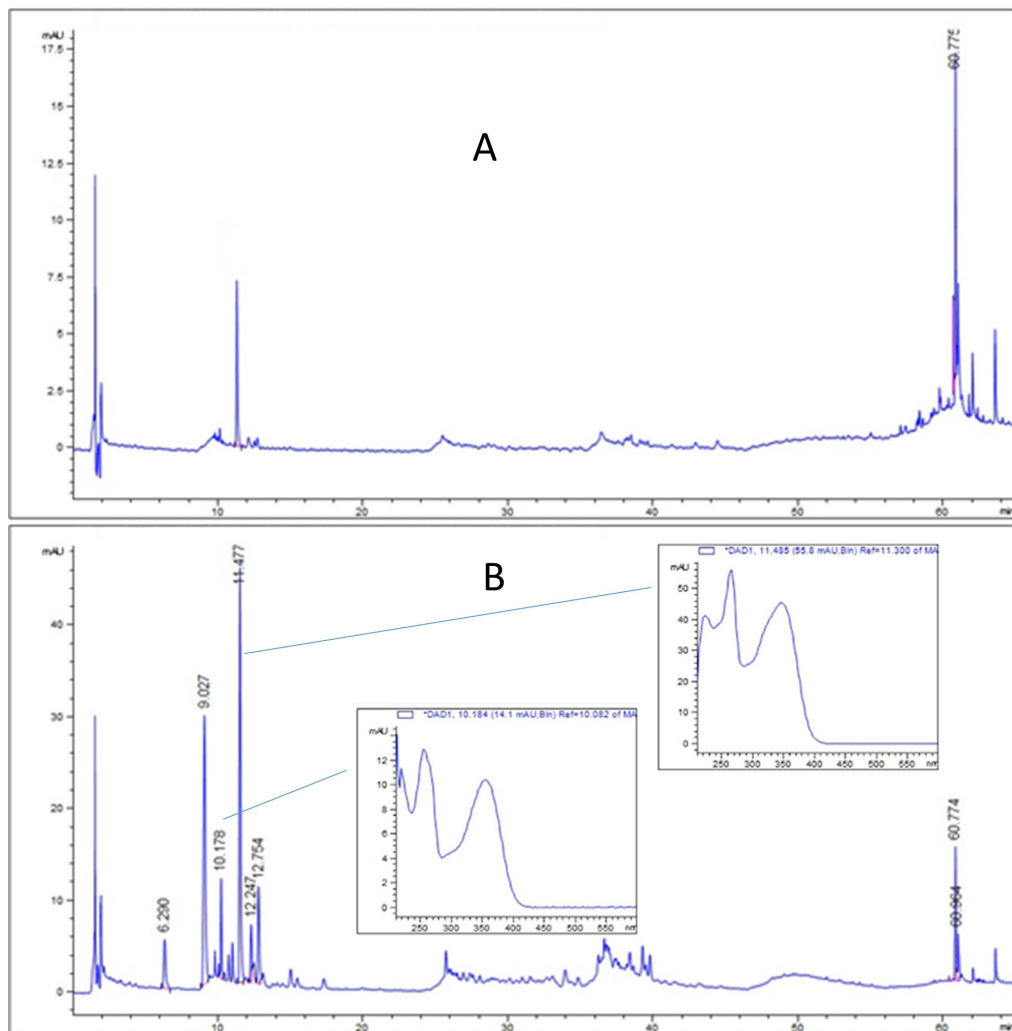
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Uma alíquota do extrato hidroetanólico das folhas de *M. acutifolium* (Macf) e uma alíquota dos galhos (Macg) foram submetidas à análise por cromatografia em camada delgada comparativa (CCDC), a fim de identificar as possíveis classes de metabólitos secundários ali presentes. De acordo com as análises em CCDC, a fase móvel que melhor apresentou a separação dos compostos presentes nos extratos foi com o emprego da mistura de acetato etila/ácido acético/ácido fórmico/água $100:11:11:26$ (v/v). O uso de anisaldeído sulfúrico modificado na revelação das placas cromatográficas auxilia na identificação dos compostos ali presentes, já que, após pulverização e queima do reagente, os compostos são derivatizados e, dependendo da função orgânica presente em cada composto, este pode apresentar uma coloração. Após revelação das placas cromatográficas sob luz ultravioleta nos comprimentos de onda de 254 e 365 nm e revelação com anisaldeído sulfúrico, foi

possível indicar a presença de flavonoides de alta e média polaridade, com Rf de 0,2 e 0,5, por meio de manchas amareladas (MAGOZWI *et al.*, 2021). A presença de manchas de coloração rosa e roxa em anisaldeído sulfúrico modificado, e sem absorção nos dois comprimentos de onda, usando como fase móvel a mistura de acetato etila/ácido acético/ácido fórmico/água 100:11:11:26 (v/v), indica a presença de saponinas (Rfs de 0,1 e 0,25) (STOCHMAL *et al.*, 2008). A presença de uma mancha marrom escura esverdeada em anisaldeído sulfúrico com Rf 0,15 indica a presença de açúcares no extrato dos galhos e das folhas (PAUL *et al.*, 2012). O extrato dos galhos apresenta uma diversidade maior de saponinas do que o extrato das folhas.

Por meio da análise dos extratos Macf e Macg por CLAE-UV-DAD foi possível conferir a diferença dos perfis químicos anteriormente observados nas análises por CCD destes dois extratos. Uma maior diversidade de compostos é visualizada no cromatograma do extrato Macf do que em Macg (Figura 1). No extrato das folhas e dos galhos, o composto de tempo de retenção em 10,178 min apresenta um espectro de absorção no ultravioleta com bandas em 268 e 335 nm (FERREIRA, 2018), permitindo assim visualizar a presença de um pico correspondente ao de uma flavona (Figura 1). De acordo com literatura, em extratos hidroetanólicos de folhas e galhos de *M. eriocarpum* e *M. hirtum* ocorre a presença de flavonas C-glicosiladas derivadas da apigenina (BENTO *et al.*, 2020; RIBEIRO *et al.*, 2016; SANNOMIYA *et al.*, 2020; LOPES *et al.*, 2020). Em contrapartida, os compostos de tempo de retenção em 11,477 min, 12,247 min e 12,757 min apresentam espectros de ultravioletas característicos de flavonóis, mediante a presença das bandas de absorção em 256 e 354 nm (Figura 1) (SANTOS, 2005).

Figura 1 – (A) Perfil cromatográfico do extrato hidroetanólico dos galhos (Macg); (B) perfil cromatográfico do extrato hidroetanólico das folhas (Macf) de *Machaerium acutifolium*



A fim de avaliar a composição química dos extratos em questão, foram realizados ensaios de quantificação do teor de fenólicos totais, flavonoides totais e taninos hidrolisáveis. A presença de uma solução de coloração rosa no ensaio colorimétrico foi indicativa da formação de complexos envolvendo o KIO_3 e galo e elagitaninos presentes nos extratos (MONTEIRO *et al.*, 2005). De acordo com os resultados obtidos (Tabela 1), os extratos de galhos e folhas de *M. acutifolium* apresentam teores de fenólicos totais similares, porém o extrato Macf apresenta maior teor de flavonoides totais e de taninos hidrolisáveis que o extrato Macg, confirmando-se assim os dados obtidos nas análises por CLAE-UV-DAD (Figura 1).

Tabela 1 – Resultados obtidos a partir do doseamento com os extratos de *Machaerium acutifolium*

Amostras	Fenóis totais (mg EAG/g de extrato)	Flavonoides totais (mg Rutina/g de extrato)	Taninos hidrolisáveis (mg AT/g de extrato)
Macg	188 ± 16	6,0 ± 1,6	66,1 ± 7,1
Macf	185 ± 14	78,2 ± 6,9	88,1 ± 12,4

Legenda: Macg = extrato hidroetanólico dos galhos de *Machaerium acutifolium*; Macf = extrato hidroetanólico das folhas de *Machaerium acutifolium*.

De acordo com a literatura, compostos fenólicos, uma classe de metabólitos secundários amplamente distribuídos em todo o reino vegetal, são potentes antioxidantes, capazes de capturar radicais livres e espécies reativas de oxigênio (PRIOR; CAO, 2000). Existem vários estudos em diferentes setores com o intuito de descobrir novas fontes nutricionais, principalmente aquelas que venham a conter compostos fenólicos como taninos e flavonoides, os quais têm grande importância funcional para a saúde humana. Na Tabela 2, os resultados indicam a baixa atividade antioxidante dos extratos testados em relação ao trolox, mas, comparativamente, o extrato das folhas tem maior atividade que o extrato dos galhos. Esta atividade está associada ao maior teor de flavonoides totais e de taninos hidrolisáveis presentes no extrato das folhas.

Tabela 2 – Dados obtidos a partir do ensaio antirradicalar com cada um dos extratos de *M. acutifolium*

Amostras	Antirradicalar CI_{50} (mg.L ⁻¹)
Trolox	9,4 ± 0,2
Macg	121,9 ± 5,8
Macf	91,7 ± 3,7

É sabido que extratos de plantas contém uma enorme diversidade de moléculas orgânicas com estruturas químicas das mais variadas, e que estas estão diretamente relacionadas com as atividades biológicas dos extratos. A presença de compostos fenólicos pode atuar sinergicamente com os flavonoides ou outra classe de metabólitos secundários aumentando assim as atividades como a antioxidantes dos extratos (BIANCHIN *et al.*, 2020).

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

As análises cromatográficas por CCDC possibilitou indicar a presença de flavonoides, saponinas e açúcares nos extratos hidroetanólicos de *M. acutifolium*. De acordo com as análises por CLAE-UV-DAD, tem-se uma maior diversidade de flavonoides derivados de flavona e flavonóis no extrato das folhas do que no dos galhos. Com o doseamento, foi observado um maior teor de flavonoides totais e taninos hidrolisáveis nos extratos das folhas do que em galhos desta espécie. Assim, o extrato das folhas pode apresentar maior potencial biológico em função deste maior teor destas classes de metabólitos secundários, já que estas apresentam inúmeras atividades biológicas reconhecidas. No entanto, estudos farmacológicos para dor e inflamação devem ser considerados para confirmação destas atividades biológicas, e assim preservar o conhecimento popular desta planta medicinal e valorizar a flora brasileira.

REFERÊNCIAS

- AMEN, Y. M. *et al.* The genus *Machaerium* (Fabaceae): taxonomy, phytochemistry, traditional uses and biological activities. **Natural Product Research**, v. 29, n. 15, p. 1388–1405, 2015.
- ANIMASHAUN, T. *et al.* Inhibitory Effects of Novel Mannose-Binding Lectins on HIV-Infectivity and Syncytium Formation. **Antiviral Chemistry and Chemotherapy**, v. 4, n. 3, p. 145–153, 1993.
- AYE, M. *et al.* A Review on the Phytochemistry, Medicinal Properties and Pharmacological Activities of 15 Selected Myanmar Medicinal Plants. **Molecules**, v. 24, n. 2, p. 293, 15 jan. 2019.
- AZANI, N. *et al.* A new subfamily classification of the Leguminosae based on a taxonomically comprehensive phylogeny – The Legume Phylogeny Working Group (LPWG). **Taxon**, v. 66, n. 1, p. 44–77, 22 fev. 2017.
- BENTO, C. C. *et al.* Chemical constituents and allelopathic activity of *Machaerium eriocarpum* Benth. **Natural Product Research**, v. 34, n. 6, p. 884–888, 2020.
- BIANCHIN, M. *et al.* Antioxidant Properties of Lyophilized Rosemary and Sage Extracts and its Effect to Prevent Lipid Oxidation in Poultry Pâtê. **Molecules**, v. 25, p. 5160, 2020.

BIRJATINDER, S.; JOGA, S.; SINGH M. V. Ethnomedicinal, pharmacological properties and Chemistry of Fabaceae Family. **Journal of Medical Pharmaceutical and Allied Sciences**, v. 2, p. 24–28, 2014.

CARVALHO, A. A. *et al.* Identificação de flavonoides das folhas de *machaerium acutifolium* (Papilionoideae-fabaceae) por espectrometria de massas. In: **Ciências Biológicas: Campo Promissor em Pesquisa 2**. [s.l.] Atena Editora, 2019. p. 118–129.

ELSOHLY, H.; JOSHI, A.; NIMROD, A. Antigiardial Isoflavones from *Machaerium aristulatum*. **Planta Medica**, v. 65, n. 05, p. 490–490, 1999.

KIM, B. W. *et al.* Anti-oxidative and Anti-cancer Activities of Methanol Extract of *Machaerium cuspidatum*. **Microbiology and Biotechnology Letters**, v. 44, n. 4, p. 432–441, 2016.

FERREIRA, G. M. **Caracterização fitoquímica de frações enriquecidas com flavonoides e proantocianidinas por CLUE-DAD-ESI/EM de espécies medicinais do gênero *Ouratea*** Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Escola de Farmácia, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2018.

LOPES, J. A. *et al.* *Machaerium hirtum* (Vell.) Stellfeld Alleviates Acute Pain and Inflammation: Potential Mechanisms of Action. **Biomolecules**, v. 10, n. 4, p. 590, 11 abr. 2020. doi.org/10.3390/biom10040590.

MACÊDO, M. J. F. *et al.* Fabaceae medicinal flora with therapeutic potential in Savanna areas in the Chapada do Araripe, Northeastern Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 28, n. 6, p. 738–750, nov. 2018. doi.org/10.1016/j.bjp.2018.06.010.

MAGOZWI, D. K. *et al.* Flavonoids from the Genus Euphorbia: Isolation, Structure, Pharmacological Activities and Structure–Activity Relationships. **Pharmaceuticals**, v. 14, n. 5, p. 428, 2 maio 2021. doi:10.3390/ph14050428

MELO, S. J. *et al.* *Machaerium acutifolium* compounds with larvicidal activity against *Aedes aegypti*. **Pest Management Science**, v. 77, n. 3, p. 1444–1451, 2020. doi.org/10.1002/ps.6163.

MIGLIATO, K. F. *et al.* Planejamento experimental na otimização da extração dos frutos de *Syzygium cumini* (L.) skeels. **Química Nova**, v. 34, n. 4, p. 695–699, 2011.

MONTEIRO, J. M. *et al.* Taninos: uma abordagem da química à ecologia. **Química Nova**, v. 28, n. 5, p. 892–896, out. 2005. doi:10.1590/S0100-40422005000500029.

MUHAMMAD, I. *et al.* Antimicrobial and Antiparasitic (+) - trans-Hexahydrodibenzopyrans and Analogues from *Machaerium multiflorum*. **Journal of Natural Products**, v. 66, n. 6, p. 804–809, 2003.

OBISTIOIU, D. *et al.* Phytochemical Profile and Microbiological Activity of Some Plants Belonging to the Fabaceae Family. **Antibiotics**, v. 10, n. 6, p. 662, 1 jun. 2021. doi.org/10.3390/antibiotics10060662.

OLIVEIRA, S. DE *et al.* Evaluation of antiradical assays used in determining the antioxidant capacity of pure compounds and plant extracts. **Química Nova**, v. 37, n. 3, 2014.

PAUL, M. *et al.* A Thin-layer Chromatography Method for the Identification of Three Different Olibanum Resins (*Boswellia serrata*, *Boswellia papyrifera* and *Boswellia carterii*, respectively, *Boswellia sacra*). **Phytochemical Analysis**, v. 23, n. 2, p. 184–189, mar. 2012.

PLATAFORMA AGENDA 2030. **Plataforma Agenda 2030**. Disponível em: <http://www.agenda2030.org.br/>, acesso em out/2021.

POLIDO, C. DO A.; SARTORI, Â. L. B. O gênero *Machaerium* (Leguminosae-Papilionoideae-Dalbergieae) no Pantanal Brasileiro. **Rodriguésia**, v. 58, n. 2, p. 313–329, abr. 2007.

PRIOR, R. L.; CAO, G. Antioxidant phytochemicals in fruits and vegetables. Diet and health implications. *Horticulture*, **Science**, v. 35, n. 4, p. 588–592, 2000.

RIBEIRO, D. L. *et al.* Chemical and biological characterisation of *Machaerium hirtum* (Vell.) Steffeld: absence of cytotoxicity and mutagenicity and possible chemopreventive potential. **Mutagenesis**, v. 31, n. 2, p. 147–160, mar. 2016. doi.org/10.1093/mutage/gev066.

SAFFARZADEH-MATIN, S.; KHOSROU SHAHI, F. M. Phenolic compounds extraction from Iranian pomegranate (*Punica granatum*) industrial waste applicable to pilot plant scale. **Industrial Crops and Products**, v. 108, p. 583–597, 2017.

SANNOMIYA, M. *et al.* Química e Avaliação das Atividades Anti-Inflamatória, Antiúlcera e Antimicrobiana: *Machaerium eriocarpum* Benth. **Produção e Controle de Produtos Naturais** 2, p. 47–57, 2020.

SANTOS, P. M. L.; SCHRIPSEMA, J.; KUSTER, R. M. Flavonóides O-glicosilados de *Croton campestris* St. Hill. (Euphorbiaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 4, p. 321–325, 2005.

SEO, E.-K. *et al.* Macharistol, a New Cytotoxic Cinnamylphenol from the Stems of *Machaerium aristulatum*. **Journal of Natural Products**, v. 64, n. 11, p. 11, 2001.

SILVA, L. J. da. Controle biológico de *Botrytis cinerea* em pós-colheita de morango (*Fragaria x ananassa*) por linhagem *Streptomyces araujoniae* sp. 2013. 98 f. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Piracicaba, 2013.

STOCHMAL, A.; OLESZEK, W.; KAPUSTA, I. TLC of Triterpenes (Including Saponins). In: M. WAKSMUNDZKA-HAJNOS, J. SHERMA, T. K. (Ed.). **Thin Layer Chromatography in Phytochemistry**. 1. ed. New York: CRC Press, Taylor & Francis Group. p. 519–542, 2008.

TAMAYOSE, C. I. *et al.* Caffeoylquinic acids: separation method, antiradical properties and cytotoxicity. **Chemistry & Biodiversity**, v.16, n. 7, e1900093, 2019.