

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

ÍNGREDE FERREIRA SILVA

**Prospecção química e avaliação do potencial antimicrobiano e
antidiabético de espécies dos gêneros *Cassia* e *Senna* (Fabaceae) por
CLUE-ESI-EM/EM**

UBERLÂNDIA
2025

ÍNGREDE FERREIRA SILVA

**Prospecção química e avaliação do potencial antimicrobiano e
antidiabético de espécies dos gêneros *Cassia* e *Senna* (Fabaceae) por
CLUE-ESI-EM/EM**

Tese de doutorado apresentada ao curso de Pós-graduação em Química (PPGQUI) da Universidade Federal de Uberlândia como requisito para obtenção do título de doutora em Química.

Área de concentração: Química Orgânica

Linha de Pesquisa: Química de Produtos Naturais

Orientador: Dr. Marcos Pivatto

Co-orientadora: Dr^a: Amanda Danuello Pivatto

**UBERLÂNDIA
2025**

Ficha Catalográfica Online do Sistema de Bibliotecas da UFU
com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

S586
2026 Silva, Ingrede Ferreira, 1993-
Prospecção química e avaliação do potencial antimicrobiano e antidiabético de espécies dos gêneros Cassia e Senna (Fabaceae) por CLUE-ESI-EM/EM [recurso eletrônico] / Ingrede Ferreira Silva. - 2026.

Orientador: Marcos Pivatto.

Coorientadora: Amanda Danuello Pivatto.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Uberlândia, Pós-graduação em Química.

Modo de acesso: Internet.

DOI <http://doi.org/10.14393/ufu.te.2026.358>

Inclui bibliografia.

1. Química. I. Pivatto, Marcos, 1979-, (Orient.). II. Pivatto, Amanda Danuello, 1984-, (Coorient.). III. Universidade Federal de Uberlândia. Pós-graduação em Química. IV. Título.

CDU: 54

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:

Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091

Nelson Marcos Ferreira - CRB6/3074



ATA DE DEFESA - PÓS-GRADUAÇÃO

Programa de Pós-Graduação em:	Química				
Defesa de:	Tese de Doutorado Acadêmico, 178, PPGQUI				
Data:	Vinte e sete de novembro de dois mil e vinte e cinco	Hora de início:	14:00 h	Hora de encerramento:	19:00 h
Matrícula do Discente:	12113QMI004				
Nome do Discente:	Ingrede Ferreira Silva				
Título do Trabalho:	Prospecção química e avaliação do potencial antimicrobiano e antidiabético de espécies dos gêneros Cassia e Senna (Fabaceae) por CLUE-ESI-EM/EM				
Área de concentração:	Química				
Linha de pesquisa:	Química Medicinal, Química de Produtos Naturais e Síntese Orgânica				
Projeto de Pesquisa de vinculação:	Estudo químico e biológico de espécies dos gêneros Senna e Cassia (Fabaceae)				
<u>ODS</u> 3	ODS 3 - Saúde e bem-estar: assegurar uma vida saudável e promover o bem-estar para todos, em todas as idades.				

Reuniu-se, por webconferência, no link: <https://conferenciaweb.rnp.br/sala/marcos-pivatto-2>, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Química, assim composta: Professores Doutores: **Raquel Maria Ferreira de Sousa** da Universidade Federal de Uberlândia; **Aline Coqueiro**, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná; **Vanderlan da Silva Bolzani**, da Universidade Estadual Paulista; **Antônio Eduardo Miller Crotti**, da Universidade de São Paulo e **Marcos Pivatto**, orientador da candidata.

Iniciando os trabalhos o presidente da mesa, **Dr. Marcos Pivatto**, apresentou a Comissão Examinadora e a candidata, agradeceu a presença do público, e concedeu à Discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação da Discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa.

A seguir o senhor(a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos(às) examinadores(as), que passaram a arguir o(a) candidato(a). Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o(a) candidato(a):

Aprovada.

Esta defesa faz parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor.

O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU.



Documento assinado eletronicamente por **Marcos Pivatto, Professor(a) do Magistério Superior**, em 01/12/2025, às 17:22, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Raquel Maria Ferreira de Sousa, Professor(a) do Magistério Superior**, em 02/12/2025, às 07:22, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Antônio Eduardo Miller Crotti, Usuário Externo**, em 02/12/2025, às 08:45, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Vanderlan da Silva Bolzani, Usuário Externo**, em 02/12/2025, às 09:31, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Aline Coqueiro, Usuário Externo**, em 02/12/2025, às 11:45, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **6901652** e o código CRC **2BC3018C**.

AGRADECIMENTOS

Essa pesquisa enfrentou muitos desafios até chegar aqui. E essa caminhada só foi possível graças a pessoas incríveis. Quero agradecer primeiramente à minha família por sempre apoiar minhas decisões e meus sonhos, mesmo que para isso eu tenha que morar a 1100 km de casa! Apesar disso, fui filha, neta, sobrinha, tia e irmã ausente e por isso eu sinto muito. Nunca esquecerei o que fizeram por mim. Agradeço vocês por tudo e dedico este trabalho a minha vó Nala (*in memoriam*). Não nos despedimos vó, mas espero que daí do céu a senhora possa olhar por mim.

Agradeço aos meus amigos Luana, Letícia, Cleber, Igor e Gabriel pelas fofocas e conselhos à distância. Aos amigos e colegas do NPCBio, Gáveni, Isa, Nikolas, Laísa, Paulo entre vários outros que passaram por lá, e aos meus orientadores Marcos Pivatto e Amanda Danuello. Agradeço a todos pela amizade e pela ajuda nos momentos em que nada dava certo! Agradeço também Tiara e Diego, sou grata pela amizade e pelos ensinamentos! Essa tese tem muita contribuição de vocês!

Também sou grata às amigadas que fiz aqui ao longo desses 4 anos. Diandra, Débora, Weida, Diele, Marília, muito obrigada pelo acolhimento! Agradeço em especial, aos amigos do LABIBI, Tarcísio, Matheus, Bruna, Cecília e Júlia. Vocês são muito especiais para mim!

Agradeço aos laboratórios parceiros LEA, LABIBI e LABIFIR que realizaram os ensaios biológicos, contribuindo demais nessa pesquisa. Aos funcionários da estufa da UESC, ao LPPNS e a Will por me ajudarem com a coleta das espécies de *Cassia* e *Senna* na Bahia. Aos técnicos Mário, Magayver, Wilson e Josi pela ajuda nas análises de RMN e CLAE. Por fim, agradeço à UFU, a CAPES e ao INCTBionat por possibilitar a realização dessa pesquisa. Obrigada!

*E lá tem samba, batucada
Tem magia, tem dendê
Tem poesia no dia a dia
Capoeira e maculelê*

*E lá tem gente bonita
Gente que acredita que o Sol sempre há de brilhar
E um suspiro de saudade
Um suspiro de saudade
Um suspiro de saudade solto pelo ar...*

(De onde eu vim, Maria Bethânia)

RESUMO

O Cerrado e a Mata Atlântica são biomas brasileiros ricos em biodiversidade, abrigando uma variedade de espécies de plantas medicinais. Entre elas, as espécies de *Cassia* e *Senna* têm se destacado por suas propriedades medicinais e têm despertado interesse científico devido à presença de metabólitos especiais com potencial biológico. Neste estudo, seis espécies destes gêneros foram coletadas (*Cassia fistula*, *C. grandis*, *C. javanica*, *Senna multijuga*, *S. rugosa* e *S. velutina*), sendo preparados nove extratos de folhas e flores, que foram submetidos à extração líquido-líquido para obter as frações orgânicas. Os EE obtidos foram analisados por CLUE-IES-EM/EM, nos modos negativo e positivo. Nesse processo, foram anotados flavonoides, uma antraquinona e proantocianidinas, juntamente com outras classes de compostos. No ensaio da atividade antibacteriana, utilizando bactérias cariogênicas, os EE demonstraram atividade moderada, com valores de concentração inibitória mínima (CIM) variando de 100 a 400 $\mu\text{g mL}^{-1}$, sendo a exceção o EE das folhas de *S. velutina*, que exibiu CIM de 25 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para *Streptococcus mitis* e 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para *Porphyromonas gingivalis*. No ensaio utilizando bactérias anaeróbias, a fração acetato de etila das flores de *S. velutina* exibiu CIM de 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para *S. mitis*, já no ensaio utilizando bactérias aeróbias, as frações em hexano de *S. rugosa* (flores) e *C. javanica* (folhas e flores) apresentaram atividade antibacteriana com valores de CIM variando entre 6,25 e 25 $\mu\text{g mL}^{-1}$, contra as bactérias *P. gingivalis* e *Actinomyces naeslundii*. No ensaio para avaliação da atividade antifúngica utilizando leveduras do gênero *Candida*, os EE mais promissores foram os das flores de *S. rugosa* e *C. javanica*, bem como das folhas e flores de *S. velutina*, exibindo valores de CIM entre 5,86 e 11,72 $\mu\text{g mL}^{-1}$ contra *C. glabrata*. As frações mais polares das folhas e flores de *S. rugosa* e das flores de *C. javanica* apresentaram CIM entre 2,93 e 23,4 $\mu\text{g mL}^{-1}$ contra *C. albicans* e *C. glabrata*. Um resultado bastante promissor foi obtido da fração em acetato de etila das flores de *S. velutina*, exibindo CIM de 1,46 $\mu\text{g mL}^{-1}$ contra *C. glabrata*. Esta fração foi selecionada para o estudo químico a partir da análise por CLUE-IES-EM/EM, que evidenciou a presença de proantocianidinas, de onde foram isolados os compostos (*ent*)-cassiaflavana-galocatequina (**A**), (*ent*)-cassiaflavana-(*ent*)-cassiaflavana-catequina (**D**), e uma mistura de (*ent*)-cassiaflavana-(4 $\rightarrow$ 8)-(epi)-catequina **B** e **C**. O potencial anti-*Candida* destes compostos foi avaliado frente cepas de *C. albicans*, *C. glabrata* e *C. tropicalis* e apresentaram seletividade frente *C. glabrata* com CIM entre 1,95 e 15,69 $\mu\text{g mL}^{-1}$. *C. javanica*, espécie utilizada na medicina popular no tratamento da diabetes, foi selecionado para estudo químico e antidiabético. A fração em diclorometano das flores de *C. javanica* foi uma das mais ativas no ensaio enzimático frente a α -amilase e α -glicosidade e nos ensaios de anti-glicação. Do estudo químico dessa fração foram isolados canferol (**E**), reina (**F**), elegantina (**G**) e afzelina (**H**), que também foram submetidos aos ensaios de α -glicosidade e anti-glicação. O composto **E** foi um dos mais ativos, principalmente na inibição da α -amilase com IC_{50} $0,04 \pm 0,003 \mu\text{g mL}^{-1}$ (controle positivo triticum, $0,2 \pm 0,00 \mu\text{g mL}^{-1}$). Os resultados dos ensaios biológicos ressaltam a relevância da investigação química e farmacológica das espécies de *Cassia* e *Senna*, que ainda são pouco exploradas quando se trata da investigação dos produtos naturais com potencial antimicrobiano e antidiabético.

Palavras-chave: proantocianidinas, espectrometria de massas, candidíase, diabetes.

ABSTRACT

The Cerrado and the Atlantic Forest are Brazilian biomes rich in biodiversity, harboring a variety of medicinal plant species. Among them, species of *Cassia* and *Senna* have stood out for their medicinal properties and have aroused scientific interest due to the presence of special metabolites with biological potential. In this study, six species of these genera were collected (*C. fistula*, *C. grandis*, *C. javanica*, *S. multijuga*, *S. rugosa*, and *S. velutina*), and nine leaf and flower extracts were prepared and subjected to liquid-liquid extraction to obtain the organic fractions. The obtained extracts were analyzed by UPLC-IES-MS/MS, in negative and positive modes. In this process, flavonoids, an anthraquinone, and proanthocyanidins, along with other classes of compounds, were identified. In the antibacterial activity assay, using cariogenic bacteria, the EE demonstrated moderate activity, with minimum inhibitory concentration (MIC) values ranging from 100 to 400 $\mu\text{g mL}^{-1}$, the exception being the EE from *S. velutina* leaves, which exhibited an MIC of 25 $\mu\text{g mL}^{-1}$ for *Streptococcus mitis* and 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$ for *Porphyromonas gingivalis*. In the assay using anaerobic bacteria, the ethyl acetate fraction of *S. velutina* flowers exhibited a MIC of 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$ against *S. mitis*. In the assay using aerobic bacteria, the hexane fractions of *S. rugosa* (flowers) and *C. javanica* (leaves and flowers) showed antibacterial activity with MIC values ranging from 6.25 to 25 $\mu\text{g mL}^{-1}$ against *P. gingivalis* and *Actinomyces naeslundii*. In the assay to evaluate antifungal activity using yeasts of the genus *Candida*, the most promising EE were those of *S. rugosa* and *C. javanica* flowers, as well as *S. velutina* leaves and flowers, exhibiting MIC values between 5.86 and 11.72 $\mu\text{g mL}^{-1}$ against *C. glabrata*. The most polar fractions of *S. rugosa* leaves and flowers and *C. javanica* flowers showed MICs between 2.93 and 23.4 $\mu\text{g mL}^{-1}$ against *C. albicans* and *C. glabrata*. A very promising result was obtained from the ethyl acetate fraction of *S. velutina* flowers, exhibiting an MIC of 1.46 $\mu\text{g mL}^{-1}$ against *C. glabrata*. This fraction was selected for chemical study based on analysis by UPLC-ESI-MS/MS, which revealed the presence of proanthocyanidins, from which the compounds (*ent*)-cassiaflavan-gallocatechin (**A**), (*ent*)-cassiaflavan-(*ent*)-cassiaflavancatechin (**D**), and a mixture of (*ent*)-cassiaflavan-(4 $\rightarrow$ 8)-(*epi*)-catechin **B** and **C** were isolated. The anti-*Candida* potential of these compounds was evaluated against strains of *C. albicans*, *C. glabrata*, and *C. tropicalis*, and they showed selectivity against *C. glabrata* with MICs between 1.95 and 15.69 $\mu\text{g mL}^{-1}$. *C. javanica*, a species used in folk medicine for the treatment of diabetes, was selected for chemical and antidiabetic study. The dichloromethane fraction of *C. javanica* flowers was one of the most active in the enzymatic assay against α -amylase and α -glucosidase, and in anti-glycation assays. Chemical analysis of this fraction isolated kaempferol (**E**), rhein (**F**), elegentin (**G**), and afzelin (**H**), which were also subjected to α -glucosidase and anti-glycation assays. Compound **E** was one of the most active, particularly in inhibiting α -amylase with an IC_{50} of $0.04 \pm 0.003 \mu\text{g mL}^{-1}$ (positive control triticum, $0.2 \pm 0.00 \mu\text{g mL}^{-1}$). The results of the biological assays highlight the relevance of chemical and pharmacological investigation of *Cassia* and *Senna* species, which are still underexplored when it comes to investigating natural products with antimicrobial and antidiabetic potential.

Keywords: proanthocyanidins, mass spectrometry, candidiasis, diabetes.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Primeiras substâncias que foram isoladas de extratos vegetais no século XIX.	22
Figura 2 – Salicilina extraída de <i>Salix alba</i> e derivados semissintéticos.	23
Figura 3 – Estrutura da brazilina e da braazileína obtidas do pau-brasil.	23
Figura 4 – Alcaloides isolados da flora brasileira que se tornaram fármacos.	24
Figura 5 – Biossíntese de flavonoides a partir do ácido <i>p</i> -cumárico e malonil-CoA.	31
Figura 6 – Formação das principais classes de flavonoides.	32
Figura 7 – Flavonoides e proantocianidinas isolados de <i>Senna</i> e <i>Cassia</i> .	35
Figura 8 – Antraquinonas isoladas de espécies de <i>Cassia</i> e <i>Senna</i> .	37
Figura 9 – Alcaloides isolados de espécies de <i>Cassia</i> e <i>Senna</i> .	39
Figura 10 – Antibióticos e antifúngicos utilizados no tratamento de infecções por microrganismos.	47
Figura 11 – Compostos utilizados no tratamento do diabetes.	52
Figura 12 – Compostos isolados de espécies dos gêneros <i>Cassia</i> e <i>Senna</i> avaliados como potenciais antidiabéticos.	55
Figura 13 – Espécies de <i>Cassia</i> e <i>Senna</i> coletadas.	62
Figura 14 – Fluxograma da extração líquido-líquido dos EE.	62
Figura 15 – Fluxograma do fracionamento por Sephadex LH-20 de FASv-fl.	71
Figura 16 – Fluxograma do fracionamento por Sephadex LH-20 de FASvS2.	71
Figura 17 – Programação de coleta da fração FASvC2-F ₁₇₋₃₁ obtido por CLAE-DAD semipreparativa em 280 nm (A) Cromatograma CLAE-DAD em 280 nm em coluna analítica (B).	73
Figura 18 – Programação de coleta da fração FASvC2-F ₆₁₋₆₈ obtido por CLAE-DAD semipreparativa em 280 nm (A) e Cromatograma CLAE-DAD em 280 nm em coluna analítica (B).	74
Figura 19 – Fluxograma do fracionamento por cromatografia em coluna <i>flash</i> de FDCj-fl.	76
Figura 20 – Fluxograma do fracionamento por cromatografia em coluna <i>flash</i> de FDCjC2.	77

Figura 21 – Fluxograma do fracionamento por cromatografia em coluna <i>flash</i> de FDCjC3.	78
Figura 22 – CCD com reveladores químicos das frações da extração líquido-líquido.	80
Figura 23 – Redução da resazurina para resofurina.	82
Figura 24 – Cromatogramas no modo negativo dos extratos etanólicos de <i>Cassia</i> spp.	92
Figura 25 – Cromatogramas no modo negativo dos extratos etanólicos de <i>Senna</i> spp.	93
Figura 26 – Flavonoides anotados nos extratos etanólicos das flores e folhas de <i>Cassia</i> e <i>Senna</i> spp.	107
Figura 27 – Proantocianidinas anotadas nos extratos etanólicos das flores e folhas de <i>Cassia</i> e <i>Senna</i> spp.	108
Figura 28 – Demais compostos anotados nos extratos etanólicos das flores e folhas de <i>Cassia</i> e <i>Senna</i> spp.	109
Figura 29 – Cromatogramas das frações em AcOEt das folhas e flores de <i>S. velutina</i> .	110
Figura 30 – Compostos anotados nas frações AcOEt das folhas e flores de <i>S. velutina</i> .	113
Figura 31 – (–)-IES-EM do composto 1 (t_R 0,78 min) de FASv-fl.	114
Figura 32 – (–)-IES-EM/EM (30 eV) do composto 1 (t_R 0,78 min) de FASv-fl.	114
Figura 33 – (–)-IES-EM e (–)-IES-EM/EM (10 eV) dos composto 2 (t_R 2,89 min) (A) e 3 (t_R 3,44 min) (B) de FASv-fl e de FASv-fo.	116
Figura 34 – (–)-ESI-MS do composto 4 (t_R 3,53 min) de FASv-fl.	117
Figura 35 – (–)-IES-EM/EM (10 eV) do composto 4 (t_R 3,5 min) de de FASv-fl.	117
Figura 36 – (–)-IES-EM do composto 6 (t_R 3,96 min) de FASv-fl e de FASv-fo.	118
Figura 37 – (–)-IES-EM/EM (10 eV) do composto 6 (t_R 3,9 min) de FASv-fl e de FASv-fo.	118
Figura 38 – (–)-IES-EM e (–)-IES-EM/EM (10 eV) de 7 (t_R 4,09 min) (A) e 8 (t_R 4,15 min) (B) de FASv-fl e de FASv-fo.	119

Figura 39 – Propostas de fragmentações do ácido quínico (1) e dos flavonoides 2–4 e 6–8 , analisado por (–)-IES-EM/EM.	120
Figura 40 – (–)-IES-EM e (–)-IES-EM/EM (10 eV) de 5 (t_R 3,85 min) (A) e 9 (t_R 4,18 min) (B) de FAS ν -fl e FAS ν -fo.	122
Figura 41 – (–)-IES-EM e (–)-IES-EM/EM (10 eV) de 10a (t_R 4,53 min) (A) e 10b (t_R 4,63 min) (B) de FAS ν -fl e FAS ν -fo.	123
Figura 42 – (–)-IES-Em e (–)-IES-EM/EM (10 eV) de 10c (t_R 4.83 min) (A) e 10d (t_R 5.13 min) (B) de FAS ν -fl e FAS ν -fo	124
Figura 43 – (–)-IES-EM e (–)-IES-EM/EM (10 eV) de 10e (t_R 5,22 min) (A) e 11 (t_R 5,35 min) (B) de FAS ν -fo.	125
Figura 44 – Propostas de fragmentações das proantocianidinas dímeras 5 , 9 , 10a–10e e 11 , analisado por (–)-IES-EM/EM.	126
Figura 45 – (–)-IES-EM do composto 12 (t_R 5,50 min) de FAS ν -fo e FAS ν -fl.	127
Figura 46 – (–)-IES-EM/EM (10 eV) do composto 12 (t_R 5,50 min) de FAS ν -fo e FAS ν -fl.	127
Figura 47 – (–)-IES-MS e (–)-IES-EM/EM (10 eV) de 13 (t_R 5,61 min) (A) e 14a (t_R 5,86 min) (B) de FAS ν -fo e e FAS ν -fl.	128
Figura 48 – (–)-IES-EM e (–)-IES-EM/EM (10 eV) de 14b (t_R 5,93 min) (A) e 15 (t_R 6,27 min) (B) de FAS ν -fl.	129
Figura 49 – Propostas de fragmentações das proantocianidinas trímeras 12 , 13 , 14a/14b , e 15 analisado por (–)-IES-EM/EM.	130
Figura 50 – CCD analítica (SiO ₂) do composto A desenvolvido com DCM/MeOH (8,5:1,5) e revelado com vanilina.	132
Figura 51 – Cromatograma CLAE-DAD em coluna analítica do composto A (UV-Vis 280 nm)	132
Figura 52 – (–)-IES-EM em alta resolução do composto A .	133
Figura 53 – (–)-IES-EM/EM do composto A (m/z 545 [M – H] [–]), 15 eV.	133
Figura 54 – Propostas de fragmentações para o composto A analisado por (–)-IES-EM/EM.	134
Figura 54 – CCD analítica (SiO ₂) do composto A desenvolvido com DCM/MeOH (7:3) e revelado com vanilina.	135
Figura 56 – Cromatograma CLAE-DAD em coluna analítica do composto B (UV-Vis 280 nm).	136

Figura 57 – (–)-IES-EM em alta resolução do composto B .	136
Figura 58 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) do composto B .	139
Figura 59 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) do composto B .	140
Figura 60 – DEPT (125 MHz, CD_3OD) do composto B .	141
Figura 61 – Mapa de contorno HSQC do composto B .	142
Figura 62 – Expansão do mapa de contorno HSQC (δ 5,6–8,4) do composto B .	142
Figura 63 – Mapa de contorno HMBC para o composto B .	143
Figura 64 – Expansão do mapa de contorno HMBC (δ 6,1–8,4) do composto B .	143
Figura 65 – Correlações observadas no mapa de contorno HMBC para o composto B .	145
Figura 66 – (–)-IES-EM/EM do composto B (m/z 529 $[\text{M} - \text{H}]^-$), 20 eV.	145
Figura 67 – Propostas de fragmentações para o composto B por IES-(–)-EM/EM.	146
Figura 68 – CCD analítica (SiO_2) do composto C desenvolvido com DCM/MeOH (4:1) e revelado com vanilina.	147
Figura 69 – Cromatograma CLAE-DAD em coluna analítica do composto C (UV-Vis 280 nm).	147
Figura 70 – (–)-IES-EM em alta resolução do composto C .	148
Figura 71 – Espectro de RMN de ^1H (600 MHz, CD_3OD) do composto C .	151
Figura 72 – Espectro de RMN de ^{13}C (150 MHz, CD_3OD) do composto C .	152
Figura 73 – DEPT (125 MHz, CD_3OD) do composto C .	153
Figura 74 – Mapa de contorno HSQC do composto C .	154
Figura 75 – Expansão do mapa de contorno HSQC (δ 5,0–8,0) do composto C .	154
Figura 76 – Expansão do mapa de contorno HSQC (δ 2,8–5,0) do composto C .	155
Figura 77 – Mapa de contorno HMBC para o composto C .	155
Figura 78 – Expansão do mapa de contorno HMBC (δ 6,1–8,4) do composto C .	156
Figura 79 – Expansão do mapa de contorno HMBC (δ 5,6–8,0) do composto C .	156
Figura 80 – Expansão do mapa de contorno HMBC (δ 1,0–2,2) do composto C .	157
Figura 81 – Principais correlações no mapa de contorno HMBC para o composto C majoritário.	157
Figura 82 – (–)-IES-EM/EM do composto C majoritário (m/z 529 $[\text{M} - \text{H}]^-$), 15 eV.	160
Figura 83 – Propostas de fragmentações para o composto C majoritário analisado por (–)-IES-EM/EM.	160

Figura 84 – CCD analítica (SiO ₂) do composto D desenvolvido com DCM/MeOH (9:1) e revelado com vanilina.	161
Figura 85 – Cromatograma CLAE-DAD em coluna analítica do composto D (UV-Vis 280 nm).	162
Figura 86 – (–)-IES-EM em alta resolução do composto D .	162
Figura 87 – (–)-IES-EM/EM do composto D (m/z 769 [M – H] [–]), 25 eV.	163
Figura 88 – Propostas de fragmentações para o composto C analisado por (–)-IES-EM/EM.	163
Figura 89 – CCD analítica (SiO ₂) do composto E desenvolvido com DCM/MeOH (9:1) e revelado com vanilina (a) e em NP/PEG inspecionado sob luz UV a 365 nm (b).	166
Figura 90 – Cromatograma CLAE-DAD em coluna analítica do composto E (UV-Vis 365 nm).	166
Figura 91 – (–)-IES-EM em alta resolução do composto E .	167
Figura 92 – Espectro de RMN de ¹ H (600 MHz, CD ₃ OD) do composto E .	169
Figura 93 – DEPTQ (125 MHz, CD ₃ OD) do composto E .	170
Figura 94 – Mapa de contorno HSQC do composto E .	171
Figura 95 – Expansão do mapa de contorno HSQC (δ 5,6–8,4) do composto E .	171
Figura 96 – Mapa de contorno HMBC para o composto E .	172
Figura 97 – Expansão do mapa de contorno HMBC (δ 6,1–8,4) do composto E .	172
Figura 98 – Correlações no mapa de contorno HMBC para o composto E .	173
Figura 99 – (–)-IES-EM/EM do composto E (m/z 285 [M – H] [–] , energia de colisão 15 eV).	175
Figura 100 – Propostas de fragmentações para o composto E analisado por (–)-IES-EM/EM.	175
Figura 101 – CCD analítica (SiO ₂) do composto F revelado com DCM/MeOH (7:3) e revelado com vanilina.	176
Figura 102 – Cromatograma CLAE-DAD em coluna analítica do composto F (UV-Vis 365 nm).	177
Figura 103 – (–)-IES-EM em alta resolução do composto F .	177
Figura 104 – Espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, acetona- <i>d</i> ₆ e DMSO- <i>d</i> ₆) do composto F .	179

Figura 105 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, acetona- d_6 , DMSO- d_6) do composto F .	180
Figura 106 – DEPT-135 do composto F .	181
Figura 107 – Mapa do contorno HSQC do composto F .	182
Figura 108 – Expansão do mapa de contorno HSQC (δ 7,0–9,0) do composto F .	182
Figura 109 – Mapa de contorno HMBC do composto F .	183
Figura 110 – Expansão do mapa de contorno HMBC (δ 7,3–8,5) do composto F .	183
Figura 111 – Correlações no mapa de contorno HMBC para o composto F .	184
Figura 112 – (–)-IES-EM/EM do composto F (m/z 283 $[\text{M} - \text{H}]^-$, energia de colisão 25 eV).	185
Figura 113 – Propostas de fragmentações para o composto F analisado por (–)-IES-EM/EM.	185
Figura 114 – CCD analítica (SiO_2) do composto G desenvolvido com DCM/MeOH (4:1), inspecionado sob luz UV a 254 nm (a) e revelado com vanilina (b).	186
Figura 115 – Cromatograma CLAE-DAD em coluna analítica do composto G (UV-Vis 365 nm).	187
Figura 116 – (–)-IES-EM em alta resolução do composto G .	187
Figura 117 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) do composto G .	189
Figura 118 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) do composto G .	190
Figura 119 – Espectro de DEPT-135 composto G .	191
Figura 120 – Mapa do contorno HSQC do composto G .	192
Figura 121 – Expansão do mapa de contorno HSQC (δ 4,5–5,4) do composto G .	192
Figura 122 – Expansão do mapa de contorno HSQC (δ 4,8–8,2) do composto G .	192
Figura 123 – Expansão do mapa de contorno HSQC (δ 2,0–4,4) do composto G .	193
Figura 124 – Expansão do mapa de contorno HSQC (δ 2,0–4,4) do composto G .	194
Figura 125 – Mapa de contorno HMBC do composto G .	194
Figura 126 – Expansão do mapa de contorno HMBC (δ 4,8–8,4) do composto G .	195
Figura 127 – Expansão do mapa de contorno HMBC (δ 1,7–4,4) do composto G .	195
Figura 128 – Expansão do mapa de contorno HMBC (δ 3,8–4,2) do composto G .	196
Figura 129 – (–)-IES-EM/EM do Composto G (m/z 433 $[\text{M} - \text{H}]^-$, 15 eV).	198

Figura 130 – Propostas de fragmentações para o composto G analisado por (-)-IES-EM/EM.	198
Figura 131 – CCD analítica (SiO ₂) do composto H desenvolvido com DCM/MeOH (4:1), e revelado com vanilina (à esquerda) e inspecionado sob luz UV a 254 nm (à direita).	199
Figura 132 – Cromatograma CLAE-DAD em coluna analítica do composto H (UV-Vis 365 nm).	200
Figura 133 – (-)-IES-EM em alta resolução do composto H .	200
Figura 134 – Espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, acetona- <i>d</i> ₆) do composto H .	202
Figura 135 – Espectro de RMN de ¹³ C (100 MHz, acetona- <i>d</i> ₆) do composto H .	203
Figura 136 – Espectro de DEPT-135 composto H .	204
Figura 137 – Mapa do contorno HSQC do composto H .	205
Figura 138 – Expansão do mapa de contorno HSQC (δ 5,4–8,2) do composto H .	205
Figura 139 – Expansão do mapa de contorno HSQC (δ 2,5–4,5) do composto H .	206
Figura 140 – Mapa de contorno HMBC do composto H .	206
Figura 141 – Expansão do mapa de contorno HMBC (δ 5,2–8,6) do composto H .	207
Figura 142 – Expansão do mapa de contorno HMBC (δ 2,8–4,6) do composto H .	207
Figura 143 – Expansão do mapa de contorno HMBC (δ 2,8–4,6) do composto H .	208
Figura 144 – (-)-IES-EM/EM do composto H (<i>m/z</i> 431 [M – H] ⁻), 15 eV.	210
Figura 145 – Propostas de fragmentações para o composto H analisado por (-)-IES-EM/EM	210
Figura 146 – Capacidade antioxidante do EE, frações e compostos E–H das flores de <i>C. javanica</i> pelos métodos DPPH e FRAP.	211
Figura 147 – Inibição das enzimas α-glicosidase e α-amilase do extrato, frações e compostos de <i>C. javanica</i> .	213
Figura 148 – Atividade antiglicante do extrato, das frações e dos compostos isolados das flores de <i>C. javanica</i> .	215
Figura 1A - Cromatograma BPI no modo positivo dos EE de <i>Cassia</i> spp.	245
Figura 2A - Cromatograma BPI no modo positivo dos EE de <i>Senna</i> spp.	246

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Espécies de <i>Cassia</i> e <i>Senna</i> utilizadas na medicina popular.	28
Tabela 2 – Potencial antimicrobiano de espécies de <i>Cassia</i> e <i>Senna</i> spp. (levantamento: 2010–2025).	42
Tabela 3 – Espécies coletadas de <i>Cassia</i> e <i>Senna</i> .	61
Tabela 4 – Frações obtidas da extração líquido-líquido dos EE.	63
Tabela 5 – Massa do material seco, EE, frações e rendimento dos extratos das espécies coletadas.	79
Tabela 6 – Triagem fitoquímica dos EE e frações das espécies de <i>Cassia</i> e <i>Senna</i> .	81
Tabela 7 – Atividade antimicrobiana dos extratos etanólicos (EE) das folhas e flores de <i>Cassia</i> e <i>Senna</i> .	83
Tabela 8 – Atividade antimicrobiana das frações das folhas e flores de <i>Cassia</i> e <i>Senna</i> .	84
Tabela 9 – Ensaio de viabilidade celular frente as células HeLa de extratos etanólicos de <i>Cassia</i> e <i>Senna</i> spp.	88
Tabela 10 – Concentração citotóxica (CC ₅₀) e Índice de seletividade (IS) dos EE das flores e folhas de <i>Cassia</i> e <i>Senna</i> spp.	89
Tabela 11 – Concentração citotóxica (CC ₅₀) e índice de Seletividade (IS) das frações em AcOEt de folhas e flores de <i>S. velutina</i> e <i>S. rugosa</i> .	90
Tabela 12 – Anotação dos compostos presentes nos EE de <i>Cassia</i> e <i>Senna</i> spp. por CLUE-IES-EM/EM nos modos negativo e positivo.	96
Tabela 13 – Composição química das frações em AcOEt das folhas (FASv-fo) e flores (FASv-fl) de <i>S. velutina</i> por CLUE-(–)-IES-EM/EM.	111
Tabela 14 – Dados de RMN de ¹ H e ¹³ C (100 e 400 MHz, CD ₃ OD) e correlações observadas nos mapas de contorno HSQC e HMBC do composto B (majoritário).	144
Tabela 15 – Dados de RMN de ¹ H e ¹³ C (600 e 150 MHz, CD ₃ OD) e correlações observadas nos mapas de contorno HSQC e HMBC do composto C (majoritário).	158
Tabela 16 – Atividade anti- <i>Candida</i> dos compostos isolados de <i>S. velutina</i> .	164
Tabela 17 – Dados de RMN de ¹ H e ¹³ C (600 e 125 MHz, CD ₃ OD) e correlações observadas nos mapas de contorno HSQC e HMBC do composto E .	174

Tabela 18 – Dados de RMN de ^1H e ^{13}C (400 e 100 MHz, CD_3COCD_3 e DMSO- d_6) e correlações observadas nos mapas de contorno HSQC e HMBC do composto **F**. 184

Tabela 19 – Dados de RMN de ^1H e ^{13}C (400 e 100 MHz, CD_3COCD) e correlações observadas nos mapas de contorno HSQC e HMBC do composto **G**. 197

Tabela 20 – Dados de RMN de ^1H e ^{13}C (400 e 100 MHz, CD_3COCD_3) e correlações observadas nos mapas de contorno HSQC e HMBC do composto **H**. 209

Tabela 1A – Viabilidade celular das frações de *Cassia* e *Senna* spp. 243

Tabela 2A – Concentração citotóxica (CC_{50}) e índice de seletividade (IS) das frações das folhas e flores de *Cassia* e *Senna* spp 244

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AcOEt – Acetato de etila

ATCC – *American type culture collection*

AGEs – Produtos finais da glicação avançada

BHI – *Brain Heart Infusion*

BSA – Albumina sérica bovina

BuOH – Butanol

CC – Cromatografia em Coluna

CC50 – Concentração em que se tenha 50% de viabilidade celular

CCD – Cromatografia em Camada Delgada

CIM – Concentração Inibitória Mínima

CLAE – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

CLUE-EM – Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência Acoplada a Espectrometria de Massas

CLSI – *Clinical and Laboratory Standards Institute*

DAD – Detector de Arranjo de Diodos

DCM – Diclorometano

DEPT – *Distortionless Enhancement by Polarization Transfer*

DM – Diabetes Mellitus

DM1 – Diabetes Mellitus Tipo 1

DM2 – Diabetes Mellitus Tipo 2

DMSO – Dimetilsulfóxido

EE – Extrato Etanólico

EM – Espectrometria de Massas

EM-IES – Espectrometria de Massas com Ionização por *eletrospray*

EO – Estresse Oxidativo

ERNs – Espécies Reativas de Nitrogênio

EROs – Espécies Reativas de Oxigênio

eq – Equatorial

F.E. – Fase estacionária

F.M. – Fase móvel

GPS – *Global Positioning System*

IDH – Índice de Deficiência de Hidrogênio

IS – Índice de Seletividade

HIV – Vírus da Imunodeficiência Humana

HEX – Hexano

HMBC – *Heteronuclear Multiple Bond Correlation*

HRF – Fissão do anel heterocíclico

HSQC – *Heteronuclear Single Quantum Correlation*

HUFU – Herbário Uberlandense da Universidade Federal de Uberlândia

IC₅₀ – Concentração necessária para inibição de 50% do microorganismo

IES – Ionização por *eletrospray*

LABIBI – Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular

LABIFIR – Laboratório de Imunofisiologia da Reprodução

LEA – Laboratório de Ensaio Antimicrobianos

LPPNS – Laboratório de Pesquisa em Produtos Naturais e Síntese Orgânica

MeOH – Metanol

MTT – Ensaio de redução do brometo de 3-4,5-dimetil-tiazol-2-il-2,5-difeniltetrazólio

NPCBio – Núcleo de Pesquisa em Compostos Bioativos

NP/PEG – Natural product reagent A – difenilborato/polietilenoglicol-4000

P.A. – Para análises

QM – Fissão do tipo Quinona Metídeo

PN – Produtos Naturais

RDA – Retro-Diels-Alder

R_f – Fator de retenção

RMN – Ressonância magnética nuclear

RMN de ^1H – Ressonância magnética nuclear de hidrogênio 1

RMN de ^{13}C – Ressonância magnética nuclear de carbono 13

RPMI – *Roswell park memorial institute*

SUS – Sistema Único de Saúde

t_R – Tempo de retenção

UESC – Universidade Estadual de Santa Cruz

UFU – Universidade Federal de Uberlândia

UTI – Unidade de Terapia Intensiva

UV – Ultravioleta

UV-Vis – Ultravioleta-visível

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	22
2	REFERÊNCIAL TEÓRICO	25
2.1	<i>Cassia</i> e <i>Senna</i> : distribuição e uso na medicina popular	25
2.2	Metabólitos especiais isolados de <i>Cassia</i> e <i>Senna</i> e atividades biológicas	30
2.2.1	Flavonoides e proantocianidinas	30
2.2.2	Antraquinonas	36
2.2.3	Alcaloides	38
2.3	Atividade antimicrobiana e antidiabética de <i>Cassia</i> e <i>Senna</i>	40
2.3.1	Atividades antibacteriana e antifúngica	40
2.3.2	Potencial antidiabético de <i>Cassia</i> e <i>Senna</i>	51
3	OBJETIVOS	56
3.1	Objetivo geral	56
3.2	Objetivos específicos	56
4	METODOLOGIA	57
4.1	Materiais e equipamentos	57
4.1.1	Solventes	57
4.1.2	Reagentes químicos para cromatografia em camada delgada (CCD)	57
4.1.3	Técnicas cromatográficas	58
4.1.3.1	<i>Cromatografia em coluna aberta (CC)</i>	58
4.1.3.2	<i>Cromatografia em camada delgada (CCD)</i>	58
4.1.3.3	<i>Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e cromatografia líquida de ultra eficiência (CLUE)</i>	58
4.1.4	Técnicas espectroscópicas	60
4.2	Procedimentos experimentais	60
4.2.1	Coleta do material vegetal	60
4.2.2	Preparação dos extratos vegetais	61
4.2.3	Extração líquido-líquido dos EE	62
4.2.4	Triagem fitoquímica por CCD	63
4.2.5	Ensaio da atividade antimicrobiana por microdiluição em caldo	63

4.2.5.1	<i>Atividade antibacteriana</i>	63
4.2.5.2	<i>Atividade antifúngica</i>	65
4.2.6	Ensaio da viabilidade celular frente as células HeLa	66
4.2.7	Ensaio de atividade antioxidante	67
4.2.7.1	<i>Sequestro do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH)</i>	67
4.2.7.2	<i>Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP)</i>	68
4.2.8	Ensaio para determinação da atividade antidiabética	68
4.2.8.1	<i>Ensaio de inibição da α-glicosidase</i>	68
4.2.8.2	<i>Ensaio de inibição da α-amilase pancreática</i>	69
4.2.8.3	<i>Ensaio de glico-oxidação</i>	69
4.3	Estudo químico de <i>Cassia</i> e <i>Senna</i>	70
4.3.1	Anotação dos constituintes químicos por Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência acoplada à Espectrometria de Massas sequencial com fonte de ionização por electrospray (CLUE-IES-EM/EM)	70
4.3.2	Estudo químico da fração em acetato de etila das flores de <i>Senna velutina</i> (FASv-fl)	70
4.3.2.1	<i>Isolamento de compostos das frações FASvC1-F₁₇₋₃₁</i>	72
4.3.2.2	<i>Isolamento de compostos das frações FASvC1-F₆₁₋₆₈</i>	73
4.3.3	Estudo químico da fração em diclorometano das flores de <i>C. javanica</i> (FDCj-fl)	74
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES	78
5.1	Preparo dos extratos etanólicos e frações	78
5.2	Triagem fitoquímica dos extratos e frações	79
5.3	Avaliação da atividade antimicrobiana nos EE e frações de <i>Cassia</i> e <i>Senna</i>	82
5.4	Atividade citotóxica de <i>Cassia</i> e <i>Senna</i> frente as células HeLa	86
5.5	Anotação de compostos presentes nos EE de <i>Cassia</i> e <i>Senna</i> por CLUE-IES-EM/EM	91
5.6	Constituintes químicos presentes nas frações ativas de <i>S. velutina</i>	110
5.7	Isolamento de proantocianidinas das flores de <i>S. velutina</i> (FASv-fl) e avaliação da atividade anti- <i>Candida</i>	131
5.7.1	Composto A: (<i>ent</i>)-cassiaflavana-galocatequina	131
5.7.2	Composto B: (<i>ent</i>)-cassiaflavana-(4→8)-catequina	136

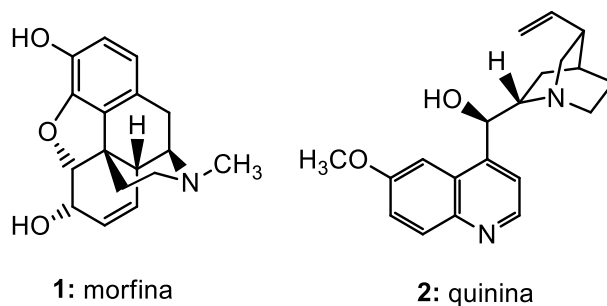
5.7.3	Composto C: (<i>ent</i>)-cassiaflavana-(4→8)-(<i>epi</i>)-catequina	147
5.7.4	Composto D: (<i>ent</i>)-cassiaflavana-(<i>ent</i>)-cassiaflavana-catequina	161
5.7.5	Atividade anti- <i>Candida</i> dos compostos A–D	164
5.8	Estudo químico e antidiabético das flores de <i>C. javanica</i>	166
5.8.1	Isolamento de compostos de FDCj-fl	166
5.8.1.1	Composto E: Canferol (3, 5, 7, 4'-tetrahidroxiflavonol)	167
5.8.1.2	Composto F: Reína, ácido (1,8-diidroxi-antraquinona-3-carboxílico)	176
5.8.1.3	Composto G: engeletina (di-hidrocanferol-ramnosídeo)	186
5.8.1.4	Composto H: Afzelina (canferol-3-O-ramnosídeo)	199
5.8.2	Avaliação do potencial antidiabético das flores de <i>C. javanica</i>	210
5.8.2.1	Avaliação da atividade antioxidante	211
5.8.2.2	Avaliação da inibição das enzimas α -glicosidase e α -amilase	212
5.8.2.3	Avaliação da atividade antiglicante	214
6	CONCLUSÃO	216
	REFERÊNCIAS	217
	APÊNDICE A	243

1 INTRODUÇÃO

A utilização de produtos naturais (PN) com propriedades medicinais é uma prática que remonta à pré-história. Os primeiros registros de uso medicinal de plantas datam de cerca de 60.000 a.C. (Yun *et al.*, 2012). Desde então, várias culturas em todo o mundo têm utilizado os PN para tratar e aliviar sintomas de doenças e assim impulsionado a descoberta de muitos compostos de origem natural que são utilizados na medicina moderna (Yun *et al.*, 2012)

No século XVI, Paracelso deu o primeiro passo para o estudo de compostos naturais bioativos a partir de extratos vegetais (Maciel *et al.*, 2013). Mas foi apenas no século XVIII que as primeiras substâncias de origem vegetal foram identificadas (Figura 1). A morfina (**1**), princípio ativo utilizado até hoje como analgésico, foi isolado do látex extraído da flor da papoula (*Papaver somniferum*). Das cascas da *Cinchona*, árvore utilizada pelos povos originários para o tratamento da febre, foi isolado a quinina (**2**), atualmente conhecida por ser um potente antimalárico e apresentar diversas propriedades farmacológicas (Viegas; Bolzani; Barreiro, 2006).

Figura 1 – Primeiras substâncias que foram isoladas de extratos vegetais no século XIX.



Fonte: autora.

Os salicilatos também marcaram a história do desenvolvimento dos fármacos, com propriedades analgésica e antipirética, sendo a salicilina (**3**), o primeiro dessa classe a ser isolada das cascas do salgueiro branco (*Salix alba*) (Figura 2) (Viegas; Bolzani; Barreiro, 2006). No entanto, coube ao químico alemão Felix Hoffman, em 1897, a síntese que converte o ácido salicílico (**4**) no ácido acetilsalicílico (**5**), um dos analgésicos mais vendidos no mundo (Luz *et al.*, 2019).

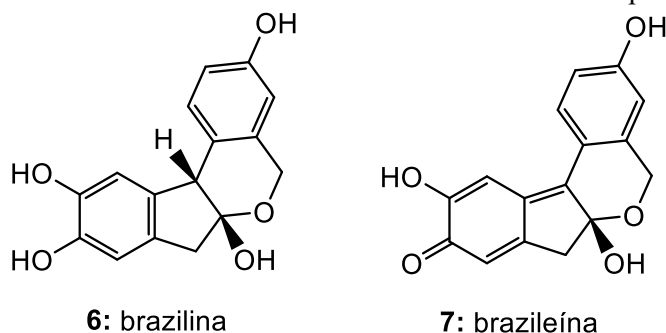
Figura 2 – Salicilina extraída de *Salix alba* e derivados semissintéticos.



Fonte: autora.

Em relação ao Brasil, a história está relacionada principalmente no interesse comercial dos portugueses pelo pau-brasil (*Paubrasilia echinata*, sin. *Caesalpinia echinata*). Da árvore era obtida a brazilina (6), que oxida facilmente a brazileína (7) (Figura 3) um corante vermelho muito utilizado para tingimento de roupas e na escrita (Viegas; Bolzani; Barreiro, 2006).

Figura 3 – Estrutura da brazilina e da brazileína obtidas do pau-brasil.

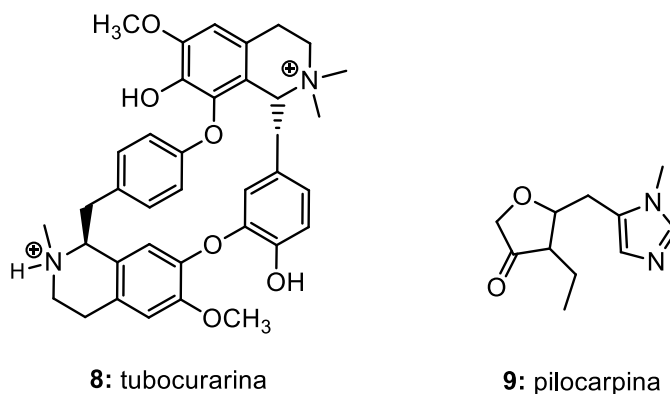


Fonte: autora.

A utilização de PN de origem vegetal com propriedades medicinais é uma prática muito antiga no Brasil, relatada nas tradições dos povos indígenas que sempre fizeram uso das plantas para tratar uma variedade de doenças. Essa prática também se difundiu para outros países através dos colonizadores europeus (Viegas; Bolzani; Barreiro, 2006; Pinto *et al.*, 2002). A partir do século XIX, a Química de PN foi impulsionada no Brasil, com a criação de instituições como a Faculdade de Medicina e a Escola de Farmácia e Odontologia, ambas no Rio de Janeiro (atualmente Universidade Federal do Rio de Janeiro). Vários pesquisadores se destacaram nesta época, dentre eles Otto Gottlieb, Benjamin Gilbert e Walter Mors que fizeram grandes contribuições para a fitoquímica brasileira estudando plantas da Amazônia (Pinto *et al.*, 2002; Valli *et al.*, 2012).

A diversidade de biomas (Amazônia, Cerrado, Caatinga, Mata Atlântica, Pantanal, Pampa e Costeiro-Marinho) (IBGE, 2019) do Brasil é uma rica fonte de biodiversidade. Entretanto, os compostos originados de PN isolados da flora destes biomas, que foram utilizados como modelos para o desenvolvimento de fármacos, ainda é muito pequeno (Bolzani *et al.*, 2012). São exemplos de fármacos inspirados na flora brasileira a tubocurarina (**8**) um alcaloide com potencial anestésico isolado de *Chondodendron tomentosum*, uma das plantas utilizada pelos indígenas da região Amazônica para preparação do curare, que era utilizado nas pontas das flechas na caça de animais. Outro exemplo é o alcaloide pilocarpina (**9**), isolado de *Pilocarpus* sp. que levou ao desenvolvimento do fármaco Salagen® utilizado para tratar a sensação de boca seca de pacientes em tratamento oncológico (Figura 4) (Bolzani *et al.*, 2012).

Figura 4 – Alcaloides isolados da flora brasileira que se tornaram fármacos.



Fonte: autora.

Atualmente, existem diversas espécies de plantas medicinais que ainda são utilizadas como tratamento alternativo no Brasil. O Sistema Único de Saúde (SUS) elaborou em 2009 o programa Relação de Plantas Medicinais de Interesse do SUS (ReniSUS), que inclui espécies como o Barbatimão, Calêndula, Camomila, Espinheira-Santa, entre outras, totalizando setenta e uma espécies, onde vinte e quatro delas apresentam monografias publicadas na Biblioteca Virtual de Saúde (Ministério da Saúde, 2022). Em relação aos fitoterápicos, o SUS oferta à população doze medicamentos fitoterápicos na Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (RENAME) disponibilizando a fórmula farmacêutica do fitoterápico (Ministério da Saúde, 2024).

Plantas dos gêneros *Cassia* e *Senna* são de ocorrência em países da Ásia, da América do norte e América do Sul. No Brasil, ambos os gêneros estão distribuídos de

norte a sul e apresentam diversos relatos de uso na medicina popular como laxante, antidiabético, antimalárico, anti-inflamatório, antibacteriano e antifúngico (Khurm *et al.*, 2020; Oladeji; Adelowo; Oluyori, 2021). Dados da literatura científica revelaram a existência de compostos com ação antioxidante, anti-inflamatória, antiparasitária, antimicrobiana, anticolinesterásica e anticancerígena nessas plantas, evidenciando a relevância científica do estudo destas espécies. Neste contexto, selecionamos três espécies de *Cassia* e três espécies de *Senna* coletadas nas regiões do Cerrado e da Mata Atlântica para realizar uma triagem fitoquímica dessas espécies, com a anotação dos constituintes químicos por CLUE-IES-EM/EM e avaliação antimicrobiana frente a bactérias cariogênicas e leveduras causadoras da candidíase. Além disso, as flores de *C. javanica* também foram avaliadas quanto ao potencial antidiabético. Assim, fica evidente o paradoxo entre a riqueza da flora brasileira e o reduzido número de fármacos e fitoterápicos inspirados em PN no Brasil, o que pode ser um catalisador para impulsionar a continuidade das pesquisas com matrizes vegetais únicas encontradas em nosso país. Assim, este estudo busca contribuir para a valorização de espécies presentes nos biomas brasileiros em especial Cerrado e Mata Atlântica, através do conhecimento químico e biológico de *Cassia* e *Senna*.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 *Cassia* e *Senna*: distribuição e uso na medicina popular

O gênero *Cassia* L. é constituído de aproximadamente 500 espécies distribuídas na Ásia tropical, América do Norte e na África ocidental (Khurm *et al.*, 2021). *Senna* Mill., pertencente a tribo Cassieae e à família Fabaceae juntamente com o gênero *Cassia*, apresentam distribuição Pantropical, sendo constituído por aproximadamente 300 espécies, das quais 200 são encontradas no continente americano. No Brasil, há registro de 80 espécies por todo o território, que podem ser encontradas principalmente na região nordeste do país, onde 50 espécies ocorrem no estado da Bahia, sendo este o estado com o maior número de espécies do gênero (Santos *et al.*, 2020a). As plantas de ambos os gêneros são comumente utilizadas na ornamentação devido à beleza das suas flores amarelas e rosadas (Francisco *et al.*, 2012; Nascimento *et al.*, 2020).

As plantas dos gêneros *Cassia* e *Senna* têm sido utilizadas há séculos na medicina popular por suas propriedades medicinais. *C. fistula*, também conhecida como

"cássia-imperial" ou "chuva-de-ouro", é uma árvore cultivada principalmente na Índia, China e Egito (Viegas *et al.*, 2006) com fins ornamentais, no entanto as folhas e sementes são usadas para tratar constipação, reumatismo, distúrbios hepáticos, icterícia, inflamações e diabetes (Kaur *et al.*, 2019; Kaur *et al.*, 2020). *S. alexandrina*, também conhecida como "sene", é uma planta perene nativa da África e do Oriente Médio (Wang *et al.*, 2020), cujas folhas são usadas, frequentemente na forma de chás e suplementos, para tratar constipação e diabetes (Nayan *et al.*, 2021), entretanto, seu principal uso é como laxante (Boscolo; Galvão, 2019). Outras espécies destes gêneros são conhecidas pelas aplicações na medicina popular como: *C. sieberiana* (tratamento da malária, inflamações, reumatismo, diarreia e também como afrodisíaco) (Abdulrazak *et al.*, 2015); *C. javanica* (diabetes, malária, gastrite, constipação e uso na higiene oral) (Cheng *et al.*, 2006; Mehta *et al.*, 2017; Mohamed, Abdel-Aziz; Hegazi, 2019), *S. occidentalis* (antigripal, febre, purgante e para tratar picada de cobra) (Fagundes; Oliveira; Souza, 2017); e *S. macranthera* (auxilia o sistema circulatório, também é utilizada no tratamento de feridas na pele e flebite) (Neboh; Ufelle, 2015; Boscolo; Galvão, 2019) (Tabela 1).

S. rugosa (G. Don) H.S. Irwin & Barneby (1982) é uma espécie do tipo arbustiva com flores amarelas de ocorrência na Bolívia, no Brasil e no Paraguai. É encontrada em todos as regiões do Brasil, principalmente no bioma Cerrado (Silva; Santos; Souza, 2018). É utilizada na medicina popular como anti-helmíntico e para tratar gripe (Verde; Paula; Caneiro, 2003). *S. velutina* (G. Don) H.S. Irwin & Barneby (1982) é uma espécie do tipo arbustiva com flores amarelas, com ocorrência na Bolívia, Brasil, Guiana, Paraguai e Venezuela. No Brasil, pode ser encontrada na Bahia, Ceará, Distrito Federal, Maranhão, Goiás, Minas Gerais, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Piauí, São Paulo e no Tocantins. É conhecida popularmente como são João, fedegoso e vermelhinho (Silva; Santos; Souza, 2018). No Nordeste, suas cascas são utilizadas no tratamento de dermatites (Agra; Freitas; Barbosa-Filho, 2007).

Espécies de *Cassia* e *Senna* como *C. grandis* (cascas, folhas e a polpa dos frutos), *C. villosa* (cascas), *S. alata* (cascas, raízes e folhas), *S. tora* (folhas), *S. didymobotrya* (vagem, folhas, flores, casca do caule e raiz), *S. occidentalis* (folhas, raízes e sementes) são utilizadas na medicina popular para tratar doenças causadas por microrganismos como micoses (Caceres *et al.*, 1991; Damodaran; Venkataraman, 1994; Jeruto *et al.*, 2016; Sahu *et al.*, 2017). *S. floribunda* é utilizada para tratar infecções fúngicas e dermatites.

C. garrettiana é usada no tratamento de doenças ginecológicas (Zibae *et al.*, 2023). *S. alata*, *C. leiandra*, *S. petersiana*, *S. martiana*, *S. villosa* e *S. singueana* são utilizadas na medicina popular para tratar doenças causadas por fungos (Araújo *et al.*, 2019; Khurm *et al.*, 2020; Volpato *et al.*, 2022; Zibae *et al.*, 2023; Saptarini *et al.*, 2024). *S. alexandrina*, *S. auriculata*, *C. glauca*, *C. grandis* e *C. javanica* são utilizadas na medicina popular para tratar diabetes (Purushotham *et al.*, 2014; Sharma *et al.*, 2014; Prada *et al.*, 2018; Mohamed; Abdel-Aziz; Hegazy, 2019 Boscolo; Galvão 2019; Osman *et al.*, 2020).

Tabela 1 – Espécies de *Cassia* e *Senna* utilizadas na medicina popular.

Espécie	Sinonímia*	Nome popular	Uso na medicina popular	Referências
<i>S. auriculata</i>	<i>C. auriculata</i>	-	Diabetes, úlceras, doenças do fígado e renais, asma, febre, reumatismo, problemas de pele	(Purushotham <i>et al.</i> , 2014)
<i>S. didymobotria</i>	<i>C. didymobotria</i>	-	Malária, diarreia, doenças de pele, vermes	(Nagappan 2012)
<i>C. fistula</i>	-	Chuva-de-ouro	Constipação, reumatismo, distúrbios hepáticos, icterícia e inflamações	Kaur <i>et al.</i> 2019; Kaur <i>et al.</i> , 2020
<i>C. garrattiana</i>	<i>S. garrattiana</i>	-	Doenças ginecológicas	(Zibae <i>et al.</i> , 2023)
<i>C. glauca</i>	<i>S. surattensis</i>	-	Diabetes, gonorreia, hemorragia, laxante, diurético	(Osman <i>et al.</i> , 2020)
<i>C. grandis</i>	<i>C. brasiliana</i>	Cássia-rosa	Diabetes, doenças de pele	(Caceres <i>et al.</i> , 1991; Prada <i>et al.</i> , 2018;
<i>S. italica</i>	<i>C. italica</i>	-	Constipação, infecções de pele, laxante, infecção urinária	(Al-Hadari; Al-Oqail, 2020)
<i>C. javanica</i>	-	Cassia javanesa	Diabetes, febre, gastrite, malária, constipação, higiene oral	(Cheng <i>et al.</i> , 2006; Mehta <i>et al.</i> , 2017; Mohamed; Abdel-Aziz; Hegazy, 2019)
<i>C. leiandra</i>	-	Mari-mari	micoses	(Araújo <i>et al.</i> , 2019)
<i>C. nomame</i>	<i>Chamaecrista nomame</i>	Cassia de espinha de peixe	Diurética, emagrecedor	(Konishi <i>et al.</i> , 2004)
<i>S. obtusifolia</i>	<i>C. obtusifolia</i>	Fedegoso branco	Inflamações nos olhos, laxante	(Kim <i>et al.</i> , 2011)
<i>S. petersiana</i>	<i>C. petersiana</i>	-	antifúngico	(Zibae <i>et al.</i> , 2023)
<i>S. siamea</i>	<i>C. siamea</i>	Cássia-de-sião	Febre, antimalárico	(Oshimi <i>et al.</i> , 2009)
<i>C. sieberiana</i>	-	-	Malária, infecções bacterianas, reumatismo, diarreia, afrodisíaco	(Abdulrazak <i>et al.</i> , 2015)
<i>S. singueana</i>	<i>C. singueana</i>	-	Malária, câncer, dor de estômago, tônico pós-parto, gonorréia, antifúngico	(Jibril <i>et al.</i> , 2018; Zibae <i>et al.</i> , 2023)
<i>S. tora</i>	<i>C. tora</i>	Fedegoso	Pisoares, doenças de pele, diabetes, febre, constipação	(Kumar; Roy, 2018)
<i>S. villosa</i>	<i>C. villosa</i>	-	Micose, doenças de pele, antifúngicos	(Caceres <i>et al.</i> , 1991; Khurm <i>et al.</i> , 2020)

Continua.

Espécie	Sinonímia*	Nome popular	Uso na medicina popular	Referências
<i>S. alata</i>	<i>C. alata</i>	Fedegoso-gigante, mata-pasto	Micose, antimalárico, constipação, dor estomacal, doenças de pele, hérnia, parasitas intestinais e diabetes	(Otto; Ameso; Onegi, 2014; Araújo <i>et al.</i> , 2019)
<i>S. alexandrina</i>	<i>C. alexandrina</i>	Sene	Laxante, emagrecedor, diabetes	(Boscolo; Galvão, 2019)
<i>S. floribunda</i>	-	-	Antifúngico, dermatites	Zibae <i>et al.</i> , 2023
<i>S. macranthera</i>	-	Fedegoso, pau-fava, manduí, manduirana	Sistema circulatório, feridas na pele e flebite	(Boscolo; Galvão, 2019)
<i>S. martiana</i>	-	-	antifúngico	(Volpato <i>et al.</i> , 2022)
<i>S. multijuga</i>	<i>C. multijuga</i>	Cobi, cobi-branco, cobi-preto, pau-cigarra	Infecções na pele, antibiótico e uso oftálmico	(Viegas <i>et al.</i> , 2006)
<i>S. occidentalis</i>	<i>C. occidentalis</i>	Fedegoso, manjerioba	Antigripal, febre, laxante, mordida de cobra	(Fagundes; Oliveira; Souza, 2017)
<i>S. spectabilis</i>	<i>C. spectabilis</i>	Cássia-do-nordeste	Laxante, úlceras	(Oladeji; Adelowo; Oluyori, 2021)
<i>S. rugosa</i>	<i>C. rugosa</i>	Casiruba	Vermífugo, infecções de pele, febre	(Rodrigues; Carvalho, 2001; Oladeji; Adelowo; Oluyori, 2021)
<i>S. uniflora</i>	<i>C. uniflora</i>	Fedegosinho, mata-pasto	Dor de cabeças problemas intestinais	(Fagundes; Oliveira; Souza, 2017)
<i>S. velutina</i>	<i>C. dysophylla</i> , <i>C. velutina</i>	São João, Fedegoso-do-Cerrado	Dermatites	(Agra; Freitas; Barbosa-Filho, 2007; Castro <i>et al.</i> , 2019)

*A sinonímia das espécies foi conferida através do site <http://theplantlist.org>.

2.2 Metabólitos especiais isolados de *Cassia* e *Senna* e atividades biológicas

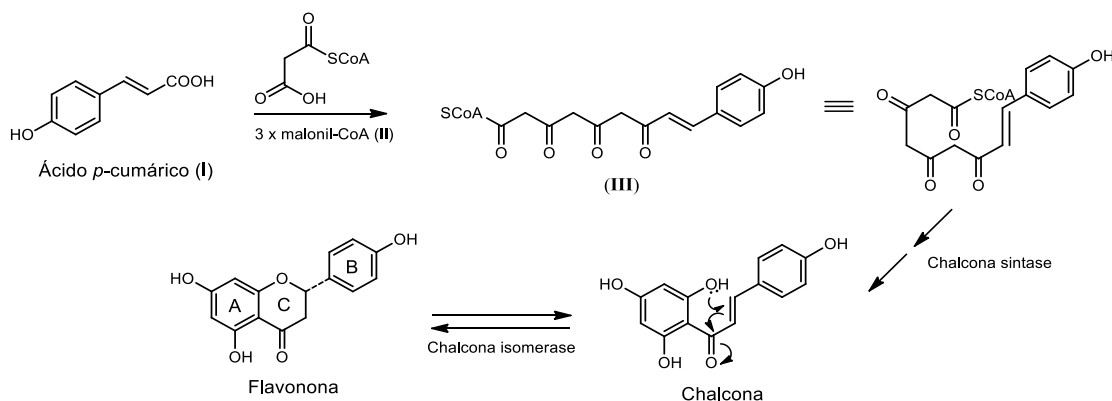
As propriedades medicinais que fazem *Cassia* e *Senna* terem ampla utilização na medicina popular estão relacionadas com a presença de diversas classes de metabólitos especiais, principalmente os flavonoides, antraquinonas e alcaloides (Oladeji; Adelowo; Oluyori, 2021). Nos últimos anos, foram publicadas muitas pesquisas envolvendo o isolamento de constituintes químicos destas plantas e muitas destas substâncias tiveram suas atividades biológicas comprovadas (Viegas *et al.*, 2006; Khurm *et al.*, 2020; Oladeji; Adelowo; Oluyori, 2021).

2.2.1 Flavonoides e proantocianidinas

Dentro deste contexto, os flavonoides são um grupo de compostos químicos amplamente distribuídos em plantas e conhecidos principalmente por suas propriedades antioxidante e anti-inflamatória. Do ponto de vista químico e estrutural, os flavonoides possuem dois anéis benzênicos (anéis A e B) separados por três carbonos, caracterizados pela estrutura C₆–C₃–C₆ (Figura 5). Em relação a vias biossintéticas de flavonoides, o anel A é originado da via do acetato. Já os anéis B e C são originados da via do ácido chiquímico (Santos *et al.*, 2020b; Caleffi *et al.*, 2024).

Por serem sintetizados a partir de duas vias, a biossíntese dos flavonoides é considerada mista. A via do ácido chiquímico leva a formação do aminoácido aromático fenilalanina. A desaminação da fenilalanina forma o ácido cinâmico, que na sequência é hidroxilado na posição *para*, formando o ácido *p*-cumárico (**I**), e a partir dele é formado o tioéster da coenzima A (*p*-cumaroil-CoA). O *p*-cumaroil-CoA é o precursor de muitos fenilpropanoides, como os flavonoides. A via do acetato ocorre pela ação de enzimas poliketídeo sintases (PKS) que utilizam **I** como moléculas iniciadoras. Uma molécula de **I** é unida a três unidades de malonil-CoA (**II**) através de uma reação de condensação, formando um tetracetídeo (**III**), onde sua cadeia lateral sofre uma ciclização do tipo Claisen, seguida de uma reação de enolização, o que possibilita a formação de outro anel aromático (Figura 5) (Dewick 2002; Santos *et al.*, 2020b).

Figura 5 – Biossíntese de flavonoides a partir do ácido *p*-cumárico e malonil-CoA.

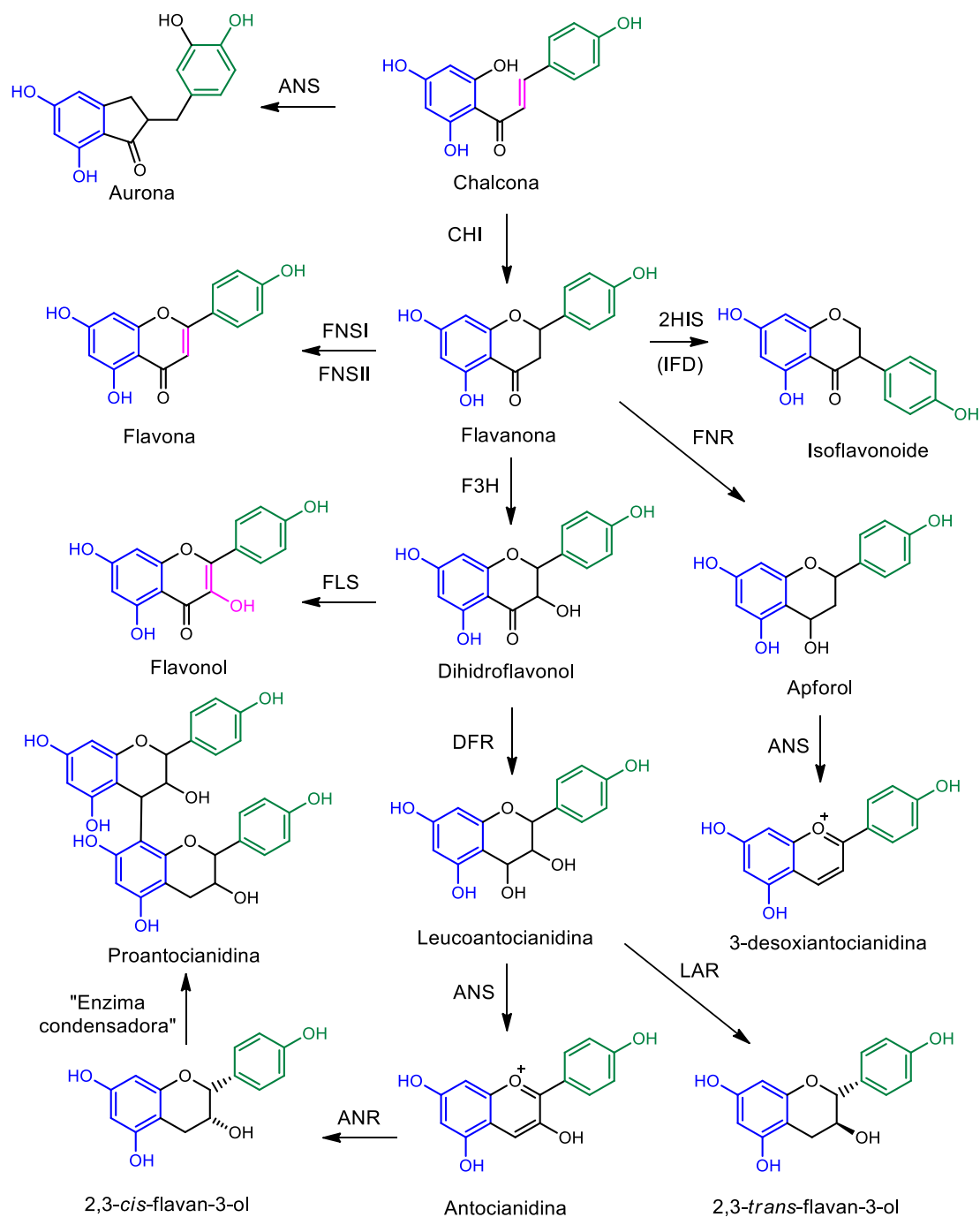


Fonte: adaptado de Santos *et al.* (2020b).

As diferentes estruturas, assim como as classes, dentro do grupo dos flavonoides são distinguidas por diferentes substituintes, grupos funcionais, estereoquímica ou carga no heterocíclico contendo oxigênio (anel C), como as chalconas, flavonas, isoflavonas, flavonóis, flavanonas e antocianinas (Figura 6) (Cseke *et al.*, 2006; Santos *et al.*, 2020b; Caleffi *et al.*, 2024). As proantocianidinas fazem parte de uma classe de derivado dos flavonoides que são comumente encontradas no gênero *Senna* e consideradas marcadores químicos do gênero. Quando unidades de proantocianidinas são condensadas passam a fazer parte da classe dos taninos, que estruturalmente são constituídos por unidades de flavan-3-óis (Castro *et al.*, 2019).

As proantocianidinas compartilham a biossíntese das antocianidinas, através das enzimas leucoantocianidina redutase (LAR), antocianidina sintase (ANS) e da antocianidina redutase (ANR) (Figura 6). Através dessas enzimas são formados os dois blocos de construção mais comuns de proantocianidinas com estereoquímica 2,3-*trans* (catequina) e 2,3-*cis* ((*epi*)-catequina). Entretanto, o processo de polimerização do monômero em proantocianidinas oligoméricas (ligação interflavanil) ainda não está completamente claro, não sendo determinado até o momento qual é a “enzima condensadora” responsável por este processo (Ferreira *et al.*, 2010). Outros monômeros comuns são a afzelequina e galocatequina. As subunidades adjacentes são geralmente conectadas por ligações entre C4–C8 ou C4–C6. Já o grau de polimerização pode variar com a quantidade de monômeros interligados, podendo ser dímeros, trímeros, tetrâmeros e assim por diante (Nie *et al.*, 2023).

Figura 6 – Formação das principais classes de flavonoides.



Adaptado de Santos *et al.* (2020) e Caleffi *et al.* (2024).

Nota: ANS: antocianidina sintase. CHI: chalcona isomerase. 2 HIS: 2-hidroxisoflavona sintase. IFD: isoflavona desidratase. FNSI: flavona sintase I. FNSII: flavona sintase II. ANR: antocianidina reductase. LAR: leucoantocianidina reductase.

As proantocianidinas constituem a segunda classe mais abundante de polifenóis no reino vegetal, seguida por ligninas (Ferreira *et al.*, 2010; Yu *et al.*, 2023). Estão presentes em frutas e suas cascas, folhas e sementes das plantas, cuja função é de inibir o

consumo de seus frutos ainda verdes por animais herbívoros, além de ajudar a planta a resistir a estresses durante seu crescimento, aumentando suas chances de sobrevivência e propagação da espécie (Ferreira *et al.*, 2010; Nie *et al.*, 2023). Nas últimas décadas, estes compostos vêm despertando a atenção para estudos relacionados ao seu isolamento, síntese e caracterização devido as diversas atividades biológicas apresentadas como antioxidante, antiinflamatória, anti-hipertensivo e anticâncer (Nie *et al.*, 2023).

Muitas pesquisas têm sido realizadas envolvendo o isolamento de compostos fenólicos das espécies de *Cassia* e *Senna* (Figura 7), como a (*epi*)-afzelequina (**10**), que foi isolado do extrato metanólico das cascas do caule de *C. sieberiana* (Nvau *et al.*, 2020); a escutelareína-6-metil éter (**11**), a quercetina (**12**) e a rutina (**13**) que foram isoladas do extrato metanólico das partes aéreas de *C. italica* (sin. *S. italica*) (Al-Haidari; Al-Oqail, 2020). Do extrato etanólico das raízes de *S. surattensis* foram isolados os flavonoides (+)-catequina (**14**), canferol (**15**), além de **12** (Dawurung *et al.*, 2021).

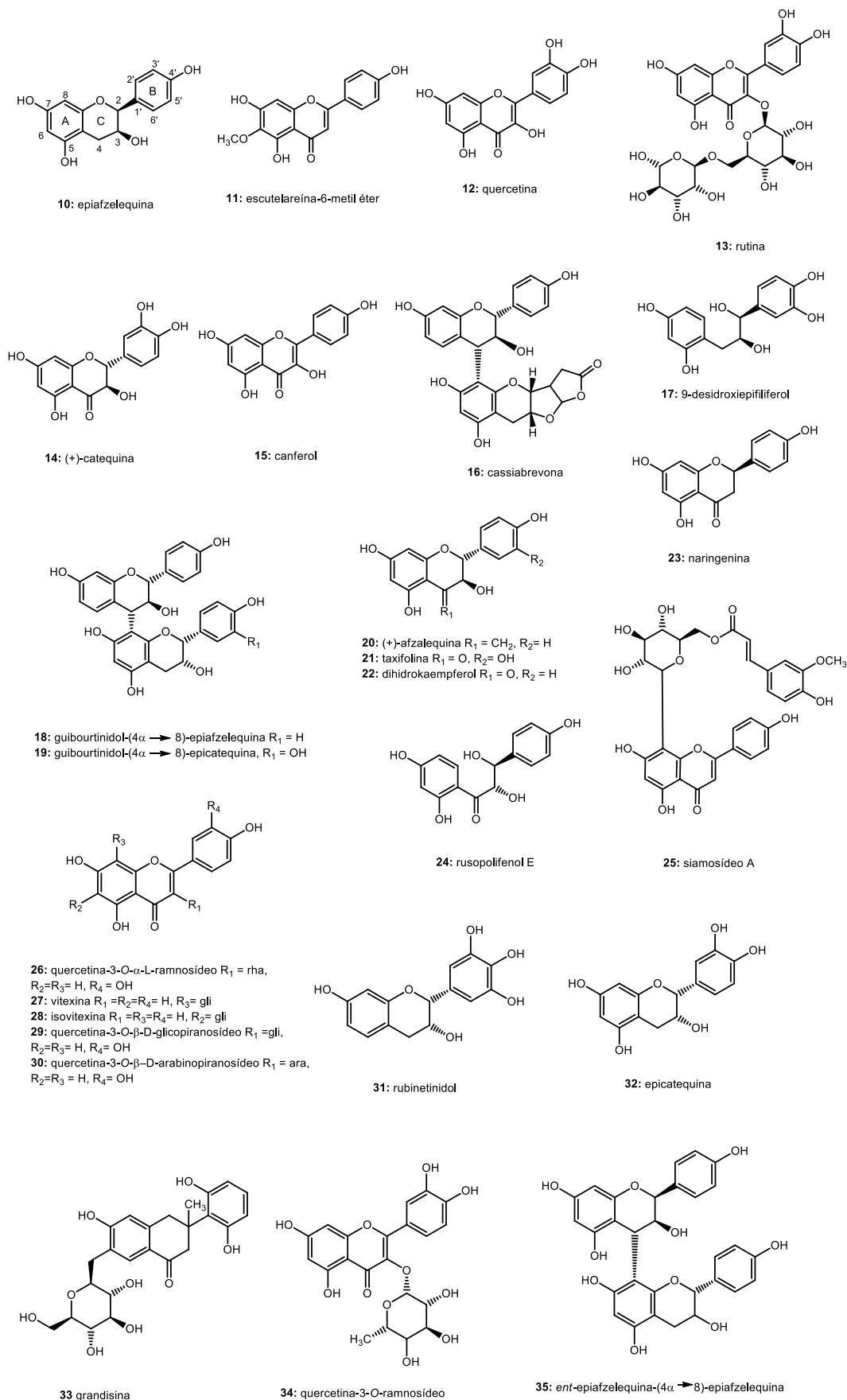
Da fração em acetato de etila, obtida do extrato etanólico das cascas e raízes de *C. abbreviata*, foi isolado pela primeira vez o flavonoide heterodímero cassiabrevona (**16**), juntamente com uma nova chalcona 9-desidroxiepifiliferol (**17**) e as proantocianidinas guibourtinidol-(4 α →8)-(*epi*)-afzelequina (**18**) e guibourtinidol-(4 α →8)-(*epi*)-catequina (**19**), e os flavonoides (+)-afzelequina (**20**), taxifolina (**21**), entre outros (**22–24**) (Figura 7). Dentre estes compostos, **16**, **18** e **21** inibiram a infecção pelo vírus HIV-1 em células MT4, com IC₅₀ de 11,89; 15,00 e 49,04 μ M, respectivamente, quando comparados com os controles positivos enfuvirtida (IC₅₀ 0,0096 μ M) e plerixafor (IC₅₀ 0,075 μ M) (Yang *et al.*, 2021a). Os compostos mais potentes (**16** e **18**) possuem uma unidade da hidroxiflavona guibourtinidol em comum, sugerindo que esse grupo é relevante para a atividade biológica. Já o flavonol **20**, apresentou menor potencial antiviral em relação a **16** e **18**, sendo que estruturalmente é um monômero que apresenta adicionalmente duas hidroxilas ligadas aos C-5 (anel A) e C-5' (anel B) e a uma carbonila no C-4 (Figura 7). No entanto, o composto **19** não apresentou atividade antiviral apesar de possuir uma unidade de guibourtinidol como **16** e **18**, o que indica que a unidade de guibourtinidol sozinha também não é suficiente para o desenvolvimento do potencial antiviral, aliado a isso, a hidroxila que forma o catecol (anel B) também contribui de forma negativa, diminuindo a potência dos compostos **19** e **21** (Figura 7). É importante destacar que estes compostos apresentam estruturas completamente diferentes dos

controles positivos sugerindo que os flavonoides e proantocianidinas têm mecanismo de ação diferente em células de HIV-1 (Yang *et al.*, 2021a).

Do extrato etanólico das folhas e das cascas de *S. siamea*, foi isolada uma nova flavona, o siamosídeo A (**25**), além dos flavonoides **10** e **13** e os glicosídeos **26–32**. O extrato, frações e compostos isolados foram submetidos a ensaios antimicrobianos, onde a aglicona **9** apresentou atividade antifúngica frente a *Candida albicans* (Concentração Inibitória Mínima: 32,0 µg mL⁻¹, ciprofloxacina: 1,8 µg mL⁻¹ (Chedjou *et al.*, 2022).

Do extrato hidrometanólico das folhas de *C. grandis* foram isolados os flavonoides grandisina (**33**) e quercetina-3-*O*-ramnosídeo (**34**) (Figura 7) (Hegazi; Hashim, 2016), e do extrato aquoso das folhas de *C. javanica* foi isolado o dímero *ent*-epiafzelequina-(4α→8)-epiafzelequina (**35**) (Figura 7) (Cheng *et al.*, 2006). Esse composto foi submetido ao ensaio para avaliação da atividade antiviral utilizando o vírus do herpes simples (HSV-2), que causa infecções em humanos de gravidade leve a letal. No ensaio, **35** inibiu modestamente a replicação do HSV-2 em concentrações que apresentaram baixa toxicidade (IC₅₀ de 83,8 ± 10,9 mM) comparado ao controle positivo aciclovir (IC₅₀ 0,8 ± 0,1 mM), Entretanto o estudo demonstrou que **35** não afetou a viabilidade e a proliferação celular nas concentrações antivirais, sendo um potencial candidato para o desenvolvimento de fármacos anti-HSV-2 (Cheng *et al.*, 2006) (Figura 7).

Figura 7 – Flavonoides e proantocianidinas isolados de *Senna* e *Cassia*.



Fonte: a autora.

2.2.2 Antraquinonas

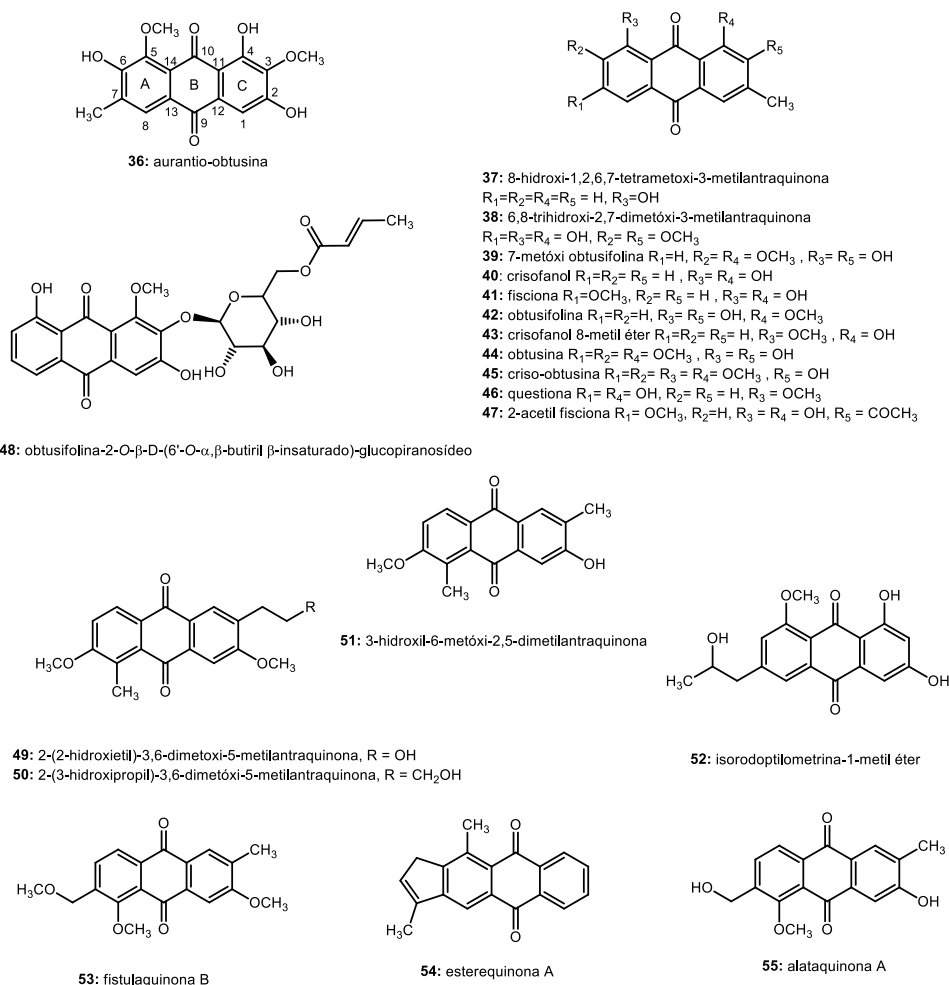
As antraquinonas são uma classe de metabólitos especiais derivados do antraceno, com grupos cetônicos nas posições C9 e C10 (Dewick, 2002), que são compostos fenólicos biossintetizados a partir da via do acetato-malonato, tendo como precursor unidades de acetil-CoA. Moléculas deste precursor se ligam a moléculas de malonil-CoA através da condensação de Claisen, através de enzimas específicas, levando a formação de uma cadeia policetônica que se divide dando origem aos ácidos graxos, caso haja redução total das cetonas ou levando aos compostos fenólicos, como as antraquinonas (Dewick, 2002).

Espécies de *Cassia* e *Senna* comumente consumidas como laxantes na medicina popular são ricas em antraquinonas (Khurm *et al.*, 2020; Oladeji; Adelowo; Oluyori, 2021). Além disso, também é possível encontrar produtos comerciais laxativos, como os medicamentos fitoterápicos Sene Herbarium® (composto por extratos vegetais de *S. alexandrina*) e Tamarine® (composto por extratos vegetais de *S. alexandrina* e *C. fistula*), vendidos em cápsulas (Pinheiro *et al.*, 2018). Após o consumo dessas fontes de antraquinonas, ocorre a liberação destes compostos no intestino grosso e estes atuam sobre a mucosa. O mecanismo de ação das antraquinonas como laxantes ocorre através de uma série de processos que estimulam a capacidade do intestino de se contrair e relaxar de forma coordenada, ajudando a mover o conteúdo intestinal e facilitar a defecação. Também estimulam a secreção de líquidos no intestino, o que facilita a eliminação das fezes (Gorkom *et al.*, 1999; Pinheiro *et al.*, 2018).

Muitas antraquinonas com propriedades bioativas foram isoladas de espécies de *Cassia* e *Senna* (Figura 8) (Khurm *et al.*, 2020; Oladeji; Adelowo; Oluyori, 2021). Das sementes de *C. obtusifolia* (sin. *S. obtusifolia*) foi isolada a aurantio-obtusina (**36**) (Figura 8), que apresentou atividade anti-inflamatória (Hou *et al.*, 2018). Do extrato em éter de petróleo das sementes desta mesma espécie, Luo e colaboradores (2019) isolaram outras doze antraquinonas, incluindo **36**, 8-hidróxi-1,2,6,7-tetrametóxi-3-metilantraquinona (**37**), 6,8-trihidróxi-2,7-dimetóxi-3-metilantraquinona (**38**), 7-metóxi obtusifolina (**39**), crisofanol (**40**), fisciona (**41**), obtusifolina (**42**) e **43–47** (Figura 8) (Luo *et al.*, 2019), sendo que **42** também apresentou potencial anti-inflamatório (Nam *et al.*, 2021). Além da atividade anti-inflamatória, as antraquinonas **36** a **47** também apresentam atividades hepatoprotetora, anti-Alzheimer, anti-Parkinson, antidiabética e anticancerígena (Ali; Park; Chang, 2021).

Uma antraquinona glicosilada inédita foi isolada das sementes de *C. obtusifolia*, denominada obtusifolina-2-O-β-D-(6'-O-α,β-butilil-β-insaturado)-glucopiranosídeo (**48**) (Figura 8) (Pang *et al.*, 2018). Do extrato etanólico dos galhos de *C. auriculata* (sin. *S. auriculata*) foram isoladas três agliconas inéditas 2-(2-hidroxi-etil) 3,6-dimetoxi-5-metilantraquinona (**49**), 2-(3-hidroxi-propil)-3,6-dimetóxi-5 metilantraquinona (**50**), 3-hidroxi-6-metóxi-2,5-dimetilantraquinona (**51**), além de quatro já conhecidas: isorodoptilometrino-1-metil éter (**52**), fistulaquinona (**53**), esterequinona (**54**) e a alataquinona A (**55**) (Figura 8). Os compostos **49**, **50** e **55** apresentaram atividade antibacteriana moderada no ensaio utilizando cepas resistentes de *Staphylococcus aureus*, com CIM de 4,2; 5,0 e 4,7 µg mL⁻¹, respectivamente, pelo método de difusão em agár, utilizando como controle positivo a cefoxitina (CIM 1,0 µg mL⁻¹) (Yang *et al.*, 2021b). Estes resultados demonstram o grande potencial antibacteriano desta classe de compostos (Figura 8).

Figura 8 – Antraquinonas isoladas de espécies de *Cassia* e *Senna*.



Fonte: autora.

2.2.3 Alcaloides

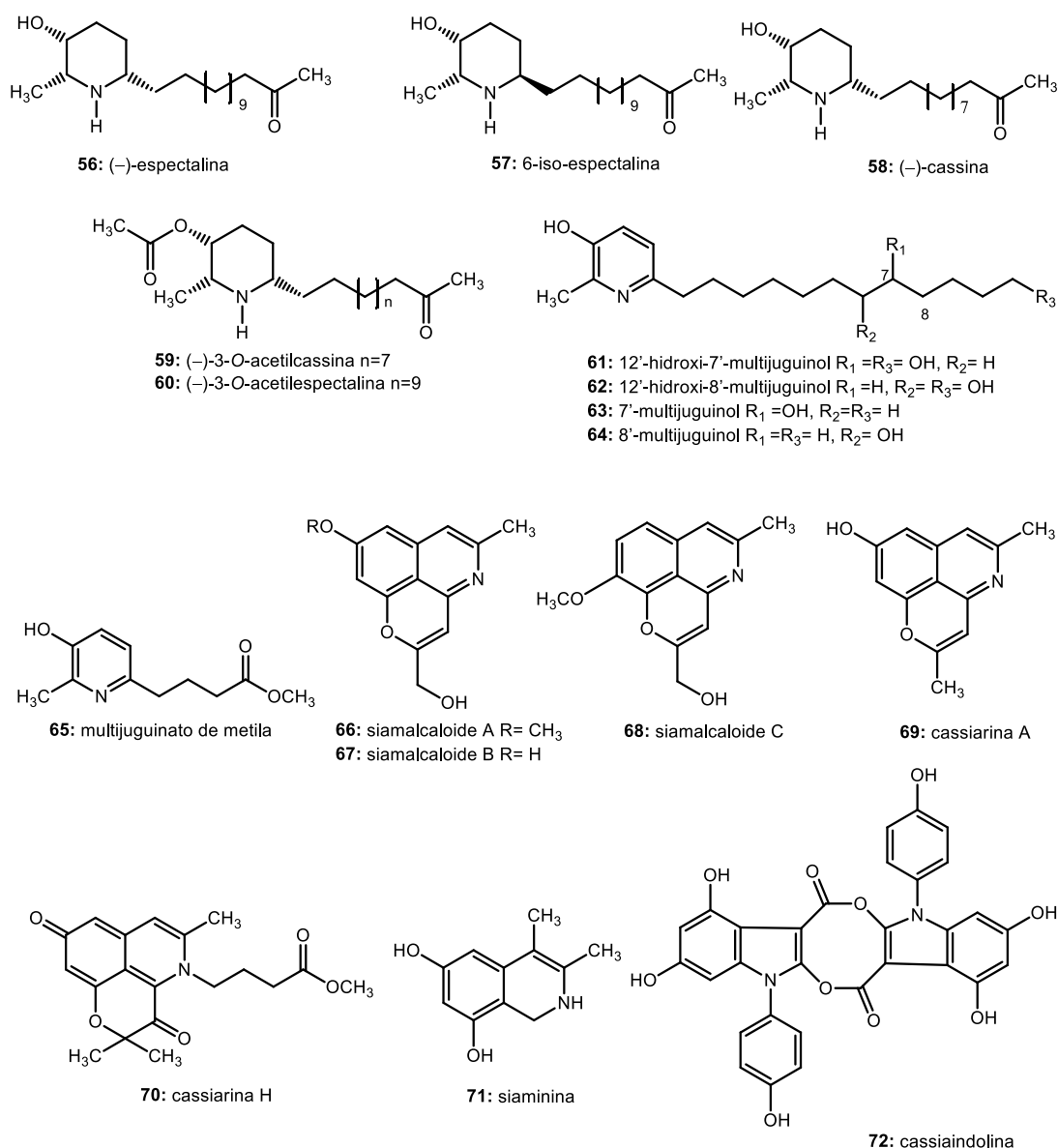
Os alcaloides são definidos como compostos nitrogenados heterocíclicos. Do ponto de vista estrutural, os alcaloides são divididos de acordo com a forma, estrutura e precursores biossintéticos. Existem três tipos principais de alcaloides: alcaloides verdadeiros, protoalcaloides e pseudoalcaloides. Os alcaloides verdadeiros e protoalcaloides são derivados de aminoácidos, enquanto os pseudoalcaloides são assim chamados porque muitas vezes compartilham certas propriedades e atividades biológicas com os alcaloides verdadeiros, mas diferem em termos de origem e biossíntese. Em geral, eles são produtos intermediários do metabolismo primário das plantas ou são formados por rotas biossintéticas distintas (Springob; Kutchan, 2009). Como um ou mais átomos de nitrogênio estão presentes na estrutura de um alcaloide, isso geralmente confere basicidade, facilitando seu isolamento através da extração quimicamente ativa, comumente chamada de extração ácido-base (Dewick, 2002).

Entre os alcaloides piperidínicos, a (–)-espectralina (**56**) (Bolzani; Gunatilaka; Kingston, 1995; Lim *et al.*, 2018) e a 6-iso-espectralina (**57**) (Viegas *et al.*, 2004; Lim *et al.*, 2018) foram isolados de *S. spectabilis*. Os compostos **56** e **57** apresentaram significativa atividade tripanocida contra *Trypanosoma brucei rhodesiense* com IC₅₀ de 0,41 ± 0,01 mM e 0,71 ± 0,01 mM comparados ao controle positivo pentamidina (IC₅₀ 0,54 mg mL⁻¹) (Figura 9) (Lim *et al.*, 2018). Os alcaloides **56**, (–)-cassina (**58**), (–)-3-*O*-acetilcassina (**58**) e (–)-3-*O*-acetilespectralina (**60**), também foram isolados das flores de *S. spectabilis* (Pivatto *et al.*, 2014; Lacerda *et al.*, 2018). Os homólogos **56/58** e **59/60** apresentaram moderada atividade antimalárica (Pivatto *et al.*, 2014) e inibição do vírus Chikungunya (Freitas *et al.*, 2022). Os alcaloides **56** e **58** e derivados semissintéticos (**59** e **60**) foram investigados como possíveis inibidores da enzima acetilcolinesterase (AChE), que desempenha um papel importante na fisiopatologia da doença de Alzheimer (DA), sendo que os metabólitos foram mais ativos que os derivados semissintéticos, apresentando IC₅₀ de 0,52 e 0,29 µg mL⁻¹ respectivamente (Freitas *et al.*, 2018).

A AChE nas fendas sinápticas é responsável pela hidrólise da acetilcolina em colina e acetato, levando a uma diminuição na concentração desse neurotransmissor nesse local específico. Os inibidores da AChE têm o efeito de prolongar a permanência da acetilcolina nas fendas sinápticas, e como resultando desse aumento na concentração do neurotransmissor há diminuição dos sintomas da DA. Estruturalmente, os homólogos **59** e **60** apresentam uma subunidade de acetilcolina internalizada no anel piperidínico, o que

sugere a existência de um ponto de reconhecimento molecular pela AChE, sendo uma possível justificativa para a atividade inibitória dessa enzima (Viegas *et al.*, 2005; Bolzani *et al.*, 2012). Em análises *in silico* através de *docking* molecular indicou que **60** é um potente inibidor da AChE devido às suas interações favoráveis com o sítio periférico aniônico dentro da cavidade catalítica da AChE (Danuello *et al.*, 2012).

Figura 9 – Alcaloides isolados de espécies de *Cassia* e *Senna*.



Fonte: autora.

Visando a descoberta de novos compostos anti-Alzheimer, os alcaloides piridínicos 12'-hidroxi-7'-multijuguinol (**61**), 12'-hidroxi-8'-multijuguinol (**62**), 7'-multijuguinol (**63**), 8'-multijuguinol (**64**) e multijuguinato de metila (**65**), foram

isolados das folhas de *S. multijuga*. Estes alcaloides foram avaliados quanto a atividade inibitória da AChE apresentando valores entre 19 e 52% de inibição em 350 µg no ensaio em microplacas (controle positivo fisostigmina, 94% em 0,1 µg) apresentando baixa atividade inibidora da acetilcolinesterase *in vitro*. Vale ressaltar que além do núcleo piridínico ser mais rígido que o núcleo piperidínico, estes alcaloides apresentam hidroxila ou carbonila no meio da cadeia lateral metilênica em posições diferentes daquelas dos alcaloides piperidínicos que apresentam uma carbonila no final da cadeia. Nos ensaios, foi possível observar que **62** e **64** foram mais potentes que **61** e **63** sugerindo que a hidroxila no C-7 da cadeia lateral pode ser um ponto de interação na AChE (Figura 9) (Francisco *et al.*, 2012).

Além dos alcaloides piperidínicos e piridínicos, outras classes de alcaloides também já foram isoladas em espécies dos gêneros *Cassia* e *Senna* (Figura 9), como os alcaloides tricíclicos siamalcaloide A (**66**), B (**67**) e C (**68**) isolados do extrato hidrometanólico dos galhos de *C. siamea* (sin. *S. siamea*), além dos alcaloides cassiarina A (**69**), cassiarina H (**70**) e siaminina (**71**) (Wu *et al.*, 2016). O composto **68** apresentou atividade antiviral superior ao controle positivo ningnanmicina (inibição de 30,8%) com inibição igual a 34,5%, no ensaio utilizando o vírus do mosaico (Wu *et al.*, 2016). O alcaloide indólico dimérico cassiaindolina (**72**), isolado do extrato etanólico das folhas de *S. alata*, exibiu atividade analgésica de 49,4% na dosagem de 125,0 mg kg⁻¹ e de 57,1% na dosagem de 75 mg kg⁻¹ em camundongos com inflamação induzida por injeção de ácido acético. O controle positivo utilizado foi a indometacina, que inibiu em 46,7% de inflamação na dosagem de 1,42 mg kg⁻¹ (Villaseñor; Sanchez, 2009).

2.3 Atividade antimicrobiana a antidiabética de *Cassia* e *Senna*

2.3.1 Atividades antibacteriana e antifúngica

Os microrganismos são seres vivos que incluem as bactérias, fungos, protozoários e vírus. Estão presentes em toda a natureza, sendo que uma grande parcela é benéfica ou não apresenta efeito sobre seus hospedeiros. No entanto, as espécies patogênicas são muito prejudiciais ao homem, plantas e animais e geram impactos negativos na saúde humana ou para a economia (Sgariglia *et al.*, 2009).

A resistência microbiana é um grave problema de saúde pública e está se tornando cada vez mais comum, juntamente com a ineficácia dos antibióticos e antifúngicos quimicamente sintetizados. Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), a resistência microbiana é uma das principais ameaças a saúde global atualmente, sendo que cerca de 35% das infecções humanas mais comuns já são resistentes aos medicamentos disponíveis (Anvisa, 2022). Essa resistência aos antimicrobianos tem impulsionado a busca por métodos alternativos no tratamento de infecções, como o uso de PN. Entretanto, atualmente são disponíveis apenas onze fármacos antibacterianos de origem natural e setenta e oito derivados de PN. Quanto aos antifúngicos, apenas três são derivados de PN, não havendo registros de fármacos de origem natural para o tratamento de infecções fúngicas. Estes dados mostram que apesar do aumento da resistência antimicrobiana, ainda há escassez de fármacos obtidos e/ou derivados de PN (Newman; Cragg, 2020).

O potencial de espécies de *Senna* e *Cassia* quanto ao tratamento de doenças causadas por microrganismos vem sendo investigado nos últimos anos e em várias partes do mundo, sendo as espécies *C. fistula* e *S. alata* recorrentemente as mais relatadas (Tabela 2). Existem espécies de ambos os gêneros que foram avaliadas frente a diversas bactérias causadoras de infecções como *C. javanica*, *C. sieberiana* e *S. alata* (Narayanan *et al.*, 2011; Ramaraj *et al.*, 2014; Ambadiang *et al.*, 2020; Haleem *et al.*, 2022) que foram avaliadas contra *Enterococcus cloacae*, *Providencia stuartii* e *Proteus* spp. causadoras de infecções urinárias; *C. regenera*, *C. absus* e *C. fistula* foram avaliadas contra bactérias causadoras de infecções gastrointestinais como *Bacillus cerus*, *Shigella dysenteriae* e *Salmonella* spp. (Hossain *et al.*, 2015; Ahmad *et al.*, 2019; Chaerunisaa *et al.*, 2020).

S. obtusifolia, *C. tora* e *S. martiniana* foram avaliadas contra *Staphylococcus* spp., *Klebsiella* spp. e *Pseudomonas aeruginosa*, responsáveis por infecções de pele, pneumonia e meningite, encontradas principalmente em ambientes hospitalares e em pacientes imunossuprimidos. Algumas dessas bactérias são altamente resistentes aos antibióticos como *Klebsiella pneumoniae* e *P. aeruginosa* (Deshpande; Naik, 2016; Sahu; Koley; Sahu, 2017; Volpato *et al.*, 2022) (Tabela 2). Em relação a estudos de atividade antifúngica, *S. alata*, *C. fistula* e *S. didymobotrya* foram avaliadas contra *Tinea imbricata*, *Trichophyton* spp. e *Microsporum* spp., causadores de infecções de pele como dermafíteses e micoses (Timothy *et al.*, 2012; Chewchida *et al.*, 2013; Jeruto *et al.*, 2016; Eusebio-Alpapara *et al.*, 2020) (Tabela 2).

Tabela 2 – Potencial antimicrobiano de espécies de *Cassia* e *Senna* spp. (levantamento: 2010-2025).

Espécie	Parte da planta	Local	Extrato/Fração/Composto	Microorganismo testado	Método	Referência
<i>C. abbreviata</i>	cascas da raíz	Botsuana	Cassinidina A e Cassinidina B	<i>Escherichia coli</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Candida mycoderma</i>	Bioautografia por CCD	(Erasto <i>et al.</i> , 2011)
	cascas do caule	Zambia	Aquoso	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>C. albicans</i>	Difusão em ágar	(Mulubwa; Prakash 2015)
	caule, raíz e folhas	Tanzânia	EtOH	<i>S. aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>E. coli</i>	Difusão em ágar	(Kirabo <i>et al.</i> , 2018)
<i>C. absus</i>	sementes	Paquistão	EtOH/Hex, CHCl ₃ , aquoso	<i>K. pneumoniae</i> , <i>Shigella dysenteriae</i> , <i>Salmonella typhi</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>Corynebacterium striatum</i>	Difusão em ágar e Microdiluição em caldo	(Ahmad <i>et al.</i> , 2019)
<i>C. bakeriana</i>	cascas e folhas	Brasil	EtOH/DCM/Reína	<i>S. mutans</i> , <i>S. mitis</i> , <i>S. sanguinis</i> , <i>S. sobrinus</i> , <i>E. faecalis</i> , <i>A. actinomycetemcomitans</i> , <i>F. nucleatum</i> , <i>B. fragilis</i> , <i>A. naeslundii</i> , <i>P. gingivalis</i> , <i>Prevotella nigrescens</i>	Microdiluição em caldo	(Cunha <i>et al.</i> , 2017)
	folhas e flores	Brasil	EtOH	<i>S. mutans</i> , <i>S. mitis</i> , <i>S. sanguinis</i> , <i>S. actinomycetemcomitans</i> , <i>P. gingivalis</i> , <i>A. naeslundii</i> , <i>C. albicans</i> , <i>C. tropicalis</i> , <i>C. glabrata</i>	Microdiluição em caldo	(Nascimento <i>et al.</i> , 2020)
	folhas	Índia	Éter de petróleo, CHCl ₃ , EtOH, MeOH e aquoso	<i>E. coli</i> , <i>S. typhimurium</i> , <i>S. sonnei</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>B. licheniformis</i> , <i>S. aureus</i> , <i>S. epidermidis</i>	Bioautografia por CCD e difusão em ágar	(Panda <i>et al.</i> , 2011)
<i>C. fistula</i>		Índia	MeOH	<i>C. albicans</i> , <i>C. glabrata</i> , <i>C. tropicalis</i>	Ensaio de microtitulação	(Irshad <i>et al.</i> , 2011)
	polpa do fruto	Índia	hidrometanólico	<i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. aureus</i> , <i>S. pyogenes</i> , <i>C. albicans</i>	Difusão em ágar	(Bhalodia <i>et al.</i> , 2012)
		Tailândia	Decocção (rico em reína)	<i>Trichophyton mentagrophytes</i> , <i>T. rubrum</i> , <i>Microsporum gypseum</i>	Microdiluição em caldo	(Chewchida <i>et al.</i> , 2013)

Continua.

Espécie	Parte da planta	Local	Extrato/Fração/Composto	Microorganismo testado	Método	Referência
<i>C. fistula</i>	folhas, cascas e sementes	Índia	EtOH, éter de petróleo, clorofórmio e aquoso	<i>C. albicans</i> , <i>C. glabrata</i> , <i>C. krusei</i> , <i>C. tropicalis</i> , <i>C. kefir</i> , <i>C. parapsilosis</i>	Difusão em ágar	(Sony <i>et al.</i> , 2017)
	folhas e flores	Brasil	EtOH	<i>S. mutans</i> , <i>S. mitis</i> , <i>S. sanguinis</i> , <i>S. actinomycetemcomitans</i> , <i>P. gingivalis</i> , <i>A. naeslundii</i> , <i>C. albicans</i> , <i>C. tropicalis</i> , <i>C. glabrata</i>	Microdiluição em caldo	(Nascimento <i>et al.</i> , 2020)
	cascas	Indonésia	EtOH/AcOEt	<i>Salmonella typhosa</i> , <i>S. dysenteriae</i>	Microdiluição em caldo e administração oral em ratos (<i>in vivo</i>)	(Chaerunisaa <i>et al.</i> , 2020)
	vagem	Índia	AcOEt/Reína	<i>P. aeruginosa</i> (biofilme)	Ensaio de formação de biofilme	(Peerzada, Kanhed, Desai 2022)
	sementes	Malásia	MeOH/Roseanona	<i>C. albicans</i>	Difusão em disco	(Jothy <i>et al.</i> , 2011)
		Malásia	MeOH	<i>C. albicans</i>	Ensaio de tempo de morte e <i>in vivo</i>	(Jothy <i>et al.</i> , 2012)
<i>C. javanica</i>	sementes	Índia	EtOH, MeOH, CHCl ₃ , acetona	<i>S. epidermidis</i> , <i>E. faecalis</i> , <i>S. aureus</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>K. pneumoneae</i> , <i>E. coli</i> , <i>P. mirabilis</i> , <i>Serratia marcescens</i> , <i>Citrobacter freundii</i> , <i>Citrobacter koseri</i> , <i>Enterobacter cloacae</i>	Difusão em disco	(Narayanan <i>et al.</i> , 2011)
	flores	Egito	Hex	<i>S. mutans</i> , <i>P. gingivalis</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>C. albicans</i>	Microdiluição em caldo	(Mohammed, Abdel-Aziz e Hegazy 2019)
	caule	Paquistão	MeOH/hex, DCM, AcOEt	<i>K. pneumoneae</i> , <i>P. mirabilis</i>	Difusão em poços	(Haleem <i>et al.</i> , 2022)
Continua.						

Espécie	Parte da planta	Local	Extrato/Fração/ Composto	Microorganismo testado	Método	Referência
<i>C. laevigata</i>	folhas	Índia	MeOH	<i>Fusarium oxysporum</i> , <i>A. niger</i>	Difusão em ágar	(Panigrahi <i>et al.</i> , 2014)
<i>C. leiandra</i>	polpa, cascas e sementes	Brasil	Acetona, MeOH/estilbina e engeletina	<i>S. aureus</i> , <i>S. epidermis</i> , <i>S. saprophyticus</i> , <i>E.coli</i> , <i>Klebsiella oxytoca</i> , <i>P. aeruginosa</i>	Microdiluição em caldo	(Souza <i>et al.</i> , 2023)
<i>C. renigera</i>	Frutos	Bangladesh	Éter de petróleo e MeOH	<i>Bacillus megaterium</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>S. aureus</i> , <i>B. cerus</i> , <i>E. coli</i> , <i>S. typhi</i> , <i>S. dysenteriae</i> , <i>P. mirabilis</i>	Difusão em disco	(Hossain <i>et al.</i> , 2015)
<i>C. sieberiana</i>	cascas	Camarões	MeOH/Cassina e espectralina	<i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>Enterobacter aerogenes</i> , <i>Providencia stuartii</i> , <i>P. aeruginosa</i>	Ensaio colorimétrico INT	(Ambadiang <i>et al.</i> , 2020)
<i>C. surattensis</i>	flores	Malásia	MeOH	<i>Aspergillus niger</i>	Ensaio de galactomanana	(Sumathy <i>et al.</i> , 2014)
<i>C. tora</i>	folhas	Índia	MeOH	<i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> , <i>P. aeruginosa</i>	Difusão em poços	(Sahu, Koley e Sahu 2017)
	folhas e caule	Índia	Éter de petróleo	<i>S. aureus</i> resistente à metilicina, <i>B. subtilis</i> , <i>P. aeruginosa</i>	Microdiluição em caldo	(Shukla <i>et al.</i> , 2018)
	galhos	Brasil	MeOH	<i>Cutibacterium acnes</i> , <i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> , <i>S. mutans</i> , <i>C. albicans</i>	Terapia fotodinâmica	(Oliveira <i>et al.</i> , 2023)
<i>S. alata</i>	folhas	Camarões	MeOH/Canferol e emodina	<i>S. typhi</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>E. coli</i>	Microdiluição em caldo	(Fotso <i>et al.</i> , 2021)
		Filipinas	EtOH/AcOEt	<i>Tinea imbricata</i>	Microdiluição em caldo	(Eusebio-Alpapara <i>et al.</i> , 2020)
		Nigéria	EtOH, aquoso	<i>C. albicans</i> , <i>Microsporum canis</i> , <i>T. mentagrophyte</i> , <i>Penicillium notatum</i> , <i>A. niger</i>	“Cup-plate”	(Timothy <i>et al.</i> , 2012)

Continua.

Espécie	Parte da planta	Local	Extrato/Fração/Composto	Microorganismo testado	Método	Referência
<i>S. martiniana</i>	folhas e raízes	Índia	MeOH, AcOEt, Acetona 1:1:1 e aquoso	<i>S. thyphi</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>Proteus vulgaris</i> , <i>K. pneumoniae</i>	Difusão em disco	(Ramaray <i>et al.</i> , 2014)
		Índia	hidrometanólico	<i>E. coli</i> , <i>P. vulgaris</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>S. aureus</i> , <i>S. marcescens</i>	Difusão em ágar	(Nayak, Mukilarasi; Nanda, 2015)
		Uganda	Éter e MeOH	<i>N. gonorrhoeae</i>	Difusão em ágar	(Otto, Ameso; Onegi 2014)
		Brasil	EtOH	<i>S. mutans</i> , <i>S. mitis</i> , <i>S. sanguinis</i> , <i>S. actinomycetemcomitans</i> , <i>P. gingivalis</i> , <i>A. naeslundii</i> , <i>C. albicans</i> , <i>C. tropicalis</i> , <i>C. glabrata</i>	Microdiluição em caldo	(Nascimento <i>et al.</i> , 2020)
	folhas	Brasil	EtOH	<i>S. mutans</i> , <i>E. faecalis</i> , <i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> , <i>A. actinomycetemcomitans</i> , <i>C. albicans</i>	Ensaio colorimétrico XTT	(Volpato <i>et al.</i> , 2022)
	flores	Índia	MeOH	<i>S. aureus</i> , <i>E. faecalis</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>C. albicans</i>	Difusão em poços	(Rahman <i>et al.</i> , 2023)
	Cascas do caule e da raiz, folhas, flores e frutos	Quênia	MeOH	<i>C. albicans</i> , <i>Trychophyton tonsurans</i>	Difusão em poços	(Jeruto <i>et al.</i> , 2016)
<i>S. didymobotrya</i>	Raízes	África do Sul	Acetona e MeOH	<i>C. glabrata</i> , <i>C. krusei</i> , <i>C. parapsilosis</i> , <i>C. tropicalis</i>	Difusão em poços e microdiluição	(Maema <i>et al.</i> , 2019)
<i>S. macranthera</i>	folhas	Brasil	EtOH/AcOEt	<i>C. acnes</i> , <i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> , <i>S. mutans</i> , <i>C. albicans</i>	Terapia fotodinâmica	(Oliveira <i>et al.</i> , 2023)
	folhas e flores	Brasil	EtOH/AcOEt	<i>S. mutans</i> , <i>S. mitis</i> , <i>S. sanguinis</i> , <i>S. actinomycetemcomitans</i> , <i>P. gingivalis</i> , <i>A. naeslundii</i> , <i>C. albicans</i> , <i>C. tropicalis</i> , <i>C. glabrata</i>	Microdiluição em caldo	(Nascimento <i>et al.</i> , 2020)

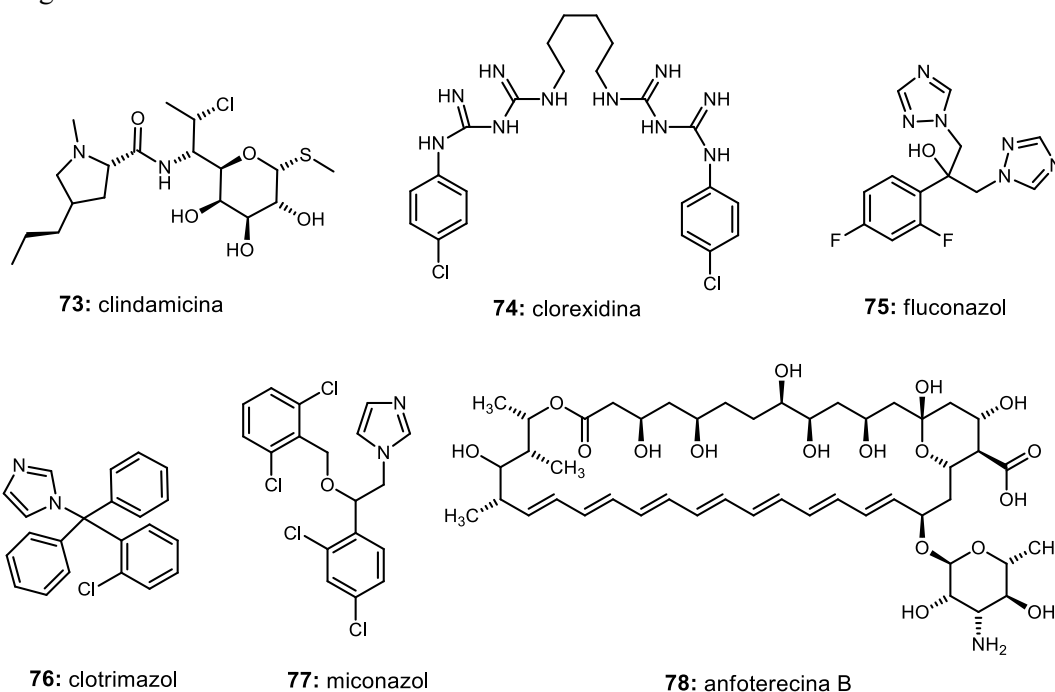
Continua.

Espécie	Parte da planta	Local	Extrato/Fração/ Composto	Microorganismo testado	Método	Referência
<i>S. obtusifolia</i>	folhas e caule	Índia	Éter de petróleo, CHCl ₃ e EtOH	<i>S. aureus</i> , <i>E. faecalis</i> , <i>Klebsiella spp.</i> , <i>E. coli</i> , <i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>C. albicans</i>	Diluição seriada	(Deshponde e Naik 2016)
<i>S. spectabilis</i>	folhas e flores	Brasil	EtOH	<i>S. mutans</i> , <i>S. mitis</i> , <i>S. sanguinis</i> , <i>S. actinomycetemcomitans</i> , <i>P. gingivalis</i> , <i>A. naeslundii</i> , <i>C. albicans</i> , <i>C. tropicalis</i> , <i>C. glabrata</i>	Microdiluição em caldo	(Nascimento <i>et al.</i> , 2020)
	folhas	Malásia	MeOH	<i>C. albicans</i>	Difusão em ágar	(Torey <i>et al.</i> , 2014)
<i>S. splendida</i>	folhas	Brasil	EtOH/AcOEt	<i>C. acnes</i> , <i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> , <i>S. mutans</i> , <i>C. albicans</i>	Terapia fotodinâmica	(Oliveira <i>et al.</i> , 2023)
<i>S. sophera</i>	folhas e caule	Índia	Éter de petróleo, CHCl ₃ e EtOH	<i>S. aureus</i> , <i>E. faecalis</i> , <i>Klebsiella spp.</i> , <i>E. coli</i> , <i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>C. albicans</i>	Diluição seriada	(Deshponde e Naik 2016)

Fonte: a autora.

Entre as doenças causadas por bactérias, a cárie dentária ainda é o principal problema de saúde bucal no Brasil (Côrrea *et al.*, 2020). As bactérias cariogênicas são responsáveis pela desmineralização dos dentes levando a formação da cárie. Dentre as bactérias causadoras de cáries e outras doenças bucais está o *Streptococcus mutans*, que é o principal patógeno cariogênico, com alta capacidade de formar biofilmes. Além da cárie, as bactérias também podem causar outras infecções bucais como gengivite e periodontite, que em casos mais graves podem ser tratadas com o uso de antibióticos como a clindamicina (73) e a clorexidina (74) (Salazar *et al.*, 2009; Côrrea *et al.*, 2020) (Figura 10).

Figura 10 – Antibióticos e antifúngicos utilizados no tratamento de infecções por microrganismos.



Fonte: a autora.

Candida é um gênero de leveduras que compreende cerca de 200 espécies. Se reproduzem por brotamento, formando pseudo-hifas ou hifas nos tecidos. Dentre as *Candidas*, *C. albicans* é uma das espécies mais isoladas em estudos clínicos, sendo responsável por cerca de 95% das infecções por *Candida*, juntamente com *C. glabrata*, *C. tropicalis* e *C. krusei* (Brandão *et al.*, 2021).

As colônias de *Candida* apresentam coloração branca e na forma de placas ou nódulos. São colonizadoras de várias regiões do corpo humano como boca, pele, estômago e genitais. Assim, se houver alguma alteração na microbiota ou se o sistema

imune for comprometido, as espécies de *Candida* podem se tornar patogênicas, causando infecção, a candidíase (Peixoto *et al.*, 2014). Esta infecção pode causar lesões leves, agudas ou crônicas, superficiais ou profundas (Borges *et al.*, 2021). Pessoas com doenças no sistema imunológico (por exemplo: HIV, diabetes ou câncer) são as mais afetadas em relação à candidíase, pois o estado imunológico do hospedeiro pode permitir que as leveduras passem do comensalismo à patogenicidade (Cernáková; Rodrigues, 2020). Sendo uma infecção oportunista, ela pode se manifestar de três formas: mucocutânea, cutânea e disseminada. A candidíase mucocutânea ocorre em regiões úmidas do corpo como boca (orofaríngea, candidíase oral ou “sapinho”), esôfago (esofagite), canal vaginal (vulvovaginal) e glândula peniana (balanite). Pode ser pseudomembranosa (quando há a formação de placas brancas, dor e ardência) e eritematosa (lesões avermelhadas e inflamações). A candidíase cutânea surge em dobras de pele ou debaixo das unhas com o aumento da temperatura e umidade em climas mais quentes. Também pode acometer recém-nascidos devido ao uso de fraldas descartáveis. A candidíase disseminada é rara, ocorrendo em pacientes terminais ou com doenças imunossupressivas, podendo acometer diferentes órgãos e tecidos como os pulmões, meninges, rins, bexiga, articulações, fígado, coração e olhos (Peixoto *et al.*, 2014).

O tratamento da candidíase é feito com antifúngicos como fluconazol (75) clotrimazol (76) miconazol (77) e anfotericina B (78) (Figura 7) (Alves *et al.*, 2014). Estes medicamentos demonstram eficácia contra a candidíase, no entanto, os pacientes relatam com frequência alguns efeitos colaterais, como gosto desagradável e reações gastrointestinais, no tratamento de candidíase oral e alergias no tratamento da candidíase vulvovaginal (Alves *et al.*, 2014). O tratamento da candidíase pode ser desafiador, principalmente em pacientes com HIV ou pacientes internados em unidades de terapia intensiva (UTI), onde a infecção microbiana pode ser fatal. (Peixoto *et al.*, 2014). Além disso, algumas espécies apresentam resistência aos antifúngicos comerciais, como a *C. glabrata* que é resistente a 75, o que dificulta o tratamento da candidíase (Hassan; Chew; Than, 2021).

O uso descontrolado de antibióticos e antifúngicos pode tornar os microrganismos resistentes aos agentes antimicrobianos (Ardila; Granada; Gusmán, 2010). Por isso, vários tratamentos alternativos estão sendo utilizados, incluindo o uso de produtos naturais (Salazar *et al.*, 2009; Côrrea *et al.*, 2020). *Cassia* e *Senna* vem sendo investigadas quanto ao seu potencial antimicrobiano, principalmente contra bactérias cariogênicas. O extrato

etanólico, frações orgânicas e a antraquinona reína, obtidos das cascas e folhas de *C. bakeriana* foram avaliados no ensaio utilizando as bactérias *S. mutans*, *S. mitis*, *S. sanguinis*, *S. sobrinus*, *E. faecalis*, *A. actinomycetemcomitans*, *F. nucleatum*, *B. fragilis*, *A. naeslundii*, *P. gingivalis* e *P. nigrescens*, sendo que a fração diclorometano das cascas apresentou efeito antibacteriano com valores de CIM entre 12,5 e 100 g mL⁻¹, para a maioria dos microrganismos testados, utilizando como controle positivo a clorexidina (73) (CIM 0,92–7,37 g mL⁻¹). Desse estudo foi possível observar que a reína apresentou boa seletividade e alta atividade contra microrganismos anaeróbios, com valores de CIM variando entre 3,12 g mL⁻¹ e 25 g mL⁻¹ (Cunha *et al.*, 2017).

Baseado em relatos do uso de *C. javanica* na higiene oral de cidadãos do Egito, foi feito um estudo para avaliar o potencial desta planta sobre bactérias patogênicas causadoras de cárie. Neste estudo, o extrato em hexano das flores inibiu o crescimento de *S. mutans* em 100%, exibindo valores de CIM de 12,5 e 25 µg mL⁻¹; também houve inibição no crescimento de *L. acidophilus* (CIM 25 µg mL⁻¹), indicando que a espécie apresenta potencial antimicrobiano em concentrações relativamente baixas, quando comparada com o padrão de clorexidina (CIM 1,56–3,13 µg mL⁻¹) (Mohammed; Abdel-Aziz; Hegazy, 2019).

Recentemente em nosso grupo de pesquisa (NPCBio) foi feito um estudo com diferentes espécies de *Sennas* e *Cassias*, onde foi possível observar que potencial antimicrobiano em *S. macranthera*. O extrato etanólico das flores de *S. macranthera* apresentou valores de CIM entre 5,9 e 23,4 µg mL⁻¹ no teste antifúngico e sua fração em acetato de etila, apresentou atividade antifúngica com valores de CIM entre 5,9 e 23,4 µg mL⁻¹, no ensaio utilizando *C. albicans*, *C. glabrata* e *C. tropicalis*, sendo o controle positivo a anfotericina B (77) (CIM 0,1–0,2 µg mL⁻¹). Nesse mesmo estudo, os extratos em etanol de *C. fistula*, *S. macranthera*, *C. bakeriana* e *S. spectabilis* apresentaram moderada atividade antibacteriana contra as bactérias cariogênicas, apresentando CIM entre 200,0–400,0 µg mL⁻¹, quando comparadas com o controle positivo clorexidina (74) (CIM 0,7–1,5 µg mL⁻¹) (Nascimento *et al.*, 2020).

Relatos na literatura também indicam o potencial anti-*Candida* de *C. fistula*, principalmente sobre *C. albicans*. O extrato metanólico da polpa dos frutos desta espécie apresentou valores de CIM de 150, 250 e 100 µg mL⁻¹ no ensaio utilizando *C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. glabrata*, respectivamente, quando comparados com o controle positivo fluconazol (75) (CIM 0,4–16,0 µg mL⁻¹) (Irshad *et al.*, 2011). O estudo do extrato

metanólico das sementes de *C. fistula* levou ao isolamento do composto roseanona, que apresentou inibição de 12 a 20 mm no ensaio contra *C. albicans*, que utilizou diferentes concentrações, sendo o nitrato de miconazol o controle positivo (inibição de 22 mm) (Jothy *et al.*, 2011). Outro estudo avaliou a atividade antifúngica do mesmo extrato, que apresentou inibição completa do crescimento de *C. albicans* na concentração de $6,25 \mu\text{g mL}^{-1}$. Este estudo também indicou que o extrato causa colapso completo da célula da levedura através da ruptura da parede celular na mesma concentração dentro de um período de 36 horas, confirmando o efeito anti-*Candida* do extrato sobre *C. albicans* (Jothy *et al.*, 2011). Um estudo realizado com o extrato etanólico de *S. spectabilis* investigou o mecanismo de ação da atividade antifúngica contra *C. albicans*. Foi observado que as células tratadas com o extrato etanólico dessa espécie tiveram sua morfologia alterada apresentando danos e anormalidades na parede celular do fungo (Torey *et al.*, 2014).

Extratos em éter de petróleo, clorofórmio, etanol e água das folhas, cascas e sementes de *C. fistula* foram avaliados no ensaio antimicrobiano utilizando cepas de *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. tropicalis*, *C. kefyr* e *C. parapsilosis* que são resistentes ao fluconazol (inibição entre 1,8 a 10,2 mm), e que foram isolados de pacientes com HIV, exibindo resultados promissores, sendo o extrato etanólico das sementes o mais ativo com inibição de 23,4 e 23 mm contra *C. krusei* e a *C. parapsilosis*, respectivamente (Sony *et al.*, 2017). Os resultados destas pesquisas corroboram que espécies de *Cassia* e *Senna* são promissoras na busca por novos agentes antimicrobianos.

Dando continuidade às pesquisas com *Cassia* e *Senna*, foram selecionadas seis espécies para investigar seu potencial antimicrobiano contra bactérias cariogênicas e leveduras responsáveis pela candidíase. A atividade citotóxica das espécies também foi avaliada, e os constituintes químicos dos extratos e frações foram anotados através da análise de CLUE-IES-EM/EM, com o objetivo de correlacionar os metabólitos à atividade antimicrobiana. Esse estudo busca contribuir na identificação de novos compostos de *Cassia* e *Senna* com atividade antimicrobiana que possam servir como inspiração para o desenvolvimento de novos fármacos e fitoterápicos.

2.3.2 Potencial antidiabético de *Cassia e Senna*

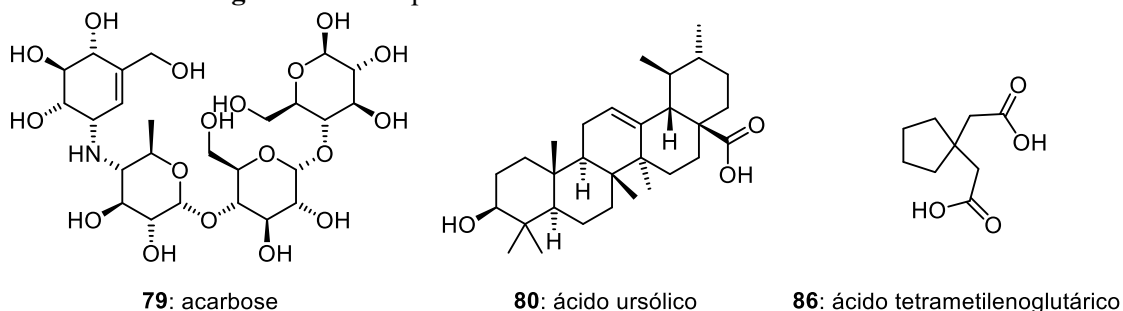
O diabetes mellitus (DM) compreende um grupo de doenças metabólicas com altas taxas de morbidade (Yeung *et al.*, 2020). Segundo a Sociedade Brasileira de Diabetes, o Brasil ocupa o sexto lugar no ranking mundial de diabetes, com aproximadamente 20 milhões de pessoas diagnosticadas (Sociedade Brasileira de Diabetes, 2025). Essa doença é caracterizada por hiperglicemia (níveis elevados de glicose no sangue) resultante da deficiência de secreção de insulina e/ou resistência à insulina que causam o diabetes tipo 1 e 2. O diabetes tipo 1 (DM1) é causado por uma deficiência na produção de insulina no organismo, resultante da destruição das células β pancreáticas, enquanto o diabetes tipo 2 (DM2), mais comum, é causado pela combinação de resistência à ação da insulina e ineficiência na sua secreção (Franco *et al.*, 2020).

A hiperglicemia pode levar a doenças cardíacas, doenças nos rins, nos olhos e em vasos sanguíneos, podendo causar a morte de pessoas diabéticas (Yeung *et al.*, 2020). Fatores genéticos, de sobrepeso, estilo de vida sedentário e idade avançada levam a progressão do DM2. Além disso, o estresse oxidativo (EO) resulta em DM2 mais grave, causando diminuição na secreção de insulina e levando a maiores complicações de saúde (Zhang *et al.*, 2020). O EO é definido como o desequilíbrio na concentração de espécies reativas de oxigênio (EROs), que são caracterizadas por um elétron desemparelhado em um átomo de oxigênio; espécies reativas de nitrogênio (ERN); e radicais livres como oxidantes. Os oxidantes são moléculas instáveis que causam reações de oxidação em outras moléculas, como proteínas, lipídios e DNA, para se estabilizarem. As EROs incluem radicais livres, hidroperóxidos e o radical hidroxila ($\text{HO}\bullet$) (Andrade-Sierra *et al.*, 2022), que são gerados pelos altos níveis de glicose no sangue. O aumento da concentração de EROs ou a diminuição da concentração de compostos antioxidantes endógenos resulta em EO, que é um fator que causa DM, pois induz disfunções das células β , gerando resistência à insulina e todas as complicações associadas que comprometem a saúde do paciente (Zhang *et al.*, 2020; Darenskaya *et al.*, 2021).

Reações de EO também estão associados ao aumento dos produtos finais de glicação avançada (AGEs) intracelulares, que desencadeiam o EO e podem causar doenças cardiovasculares, câncer e DM (Twarda-Clapa *et al.*, 2022). Uma alternativa para o tratamento do DM2 é controlar a entrada de glicose na corrente sanguínea, inibindo as principais enzimas que digerem o amido, como a α -amilase e a α -glicosidase. Portanto, a

acarbose sintética (**79**) é usada para inibir essas enzimas e tratar o DM. No entanto, podem causar efeitos colaterais como diarreia, flatulência, distensão abdominal e pneumatose intestinal cistoide (Zhu *et al.*, 2019). Até o momento, é evidente a escassez de medicamentos para tratar o DM e, portanto, os PN podem ser uma fonte alternativa de tratamento terapêutico. Nesse sentido, as plantas medicinais são amplamente utilizadas para tratar doenças, incluindo o DM, ou como fonte de novas moléculas que podem inspirar o desenvolvimento de novos medicamentos (Yeung *et al.*, 2020).

Figura 11 – Compostos utilizados no tratamento do diabetes.



Fonte: a autora.

Devido aos relatos do uso de *Cassia* e *Senna* na medicina popular, alguns estudos foram realizados para investigar o potencial antidiabético dos constituintes químicos de algumas espécies. Nesse sentido, *S. obtusifolia* foi avaliada quanto ao potencial de inibição da α -glicosidase e tirosina fosfatases 1B (PTP1B). O extrato em MeOH das sementes apresentou atividade inibitória de α -glicosidase e PTP1B de maneira dose-dependente, com valores de IC_{50} de $200,07 \pm 7,90$ e $14,79 \pm 0,31 \mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente, em comparação com os controles positivos **79** ($123,54 \pm 0,29 \mu\text{g mL}^{-1}$) e ácido ursólico (**80**) ($3,37 \pm 0,18 \mu\text{g mL}^{-1}$). O extrato foi submetido a extração líquido-líquido com DCM, AcOEt e BuOH, sendo que a fração AcOEt apresentou a maior atividade inibitória de α -glicosidase e PTP1B, com valores de IC_{50} de $74,50 \pm 4,93$ e $57,90 \pm 0,92 \mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente. Desta fração, foram isoladas antraquinonas e glicosídeos de naftopirona e de naftaleno (Jung; Ali; Choi, 2016). Esses compostos também foram avaliados quanto ao potencial de inibição contra as proteínas PTP1B e α -glicosidase. Dentre eles, as antraquinonas emodina (**81**) e alaternina (**82**) exibiram as maiores atividades inibitórias sobre PTP1B ($3,51 \pm 0,99$ e $1,22 \pm 0,03 \mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente) e α -glicosidase ($1,01 \pm 0,01$ e $0,99 \pm 0,03 \mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente). Este estudo também avaliou os efeitos de **81** e **82** na estimulação da captação de glicose por células HepG2 humanas resistentes à insulina. Ambas as antraquinonas aumentaram

significativamente a captação de glicose induzida pela insulina. No estudo de *docking molecular* de **81** sobre a estrutura tridimensional da PTP1B, os resultados demonstraram que quatro resíduos de PTP1B (Gly183, Arg221, Ile219, Gly220) interagem com três grupos hidroxila de **81** e que a energia de ligação foi negativa ($-6,30$ kcal/mol), indicando que as quatro ligações de hidrogênio estabilizam a forma aberta da enzima e potencializam a ligação do composto no sítio ativo da PTP1B (Jung; Ali; Choi, 2016).

No estudo realizado com as sementes de *S. obtusifolia*, mais especificamente com o extrato em éter de petróleo, foram isoladas quinze antraquinonas entre outros compostos. Estes compostos foram avaliados quanto a inibição da α -glicosidase *in vitro*. Destes, crisofanol (**40**), fisciona (**41**), crisofanol-10-10'-diantrona (**83**), uma diantrona inédita, e toralactona (**84**) exibiram atividade inibitória sobre α -glicosidase com valores de IC_{50} de $50,60 \pm 1,10$, $22,57 \pm 0,07$, $60,09 \pm 1,40$ e $80,01 \pm 2,66$ $\mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente, sendo que todas apresentaram atividades inibitórias da α -glicosidase maiores que o controle positivo acarbose (**79**) (IC_{50} $5,05$ $\mu\text{g mL}^{-1}$) (Luo *et al.*, 2019).

Ainda de *S. obtusifolia* foi feito um estudo com o extrato etanólico das sementes, nas doses de 27, 54 e 81 mg kg^{-1} , que foi administrado por via oral, a ratos com diabetes induzida por uma dieta rica em sacarose e gordura e por estreptozotocina durante 60 dias. Os grupos tratados com o extrato apresentaram efeito antidiabético, além de melhora significativa no peso corporal, controle glicêmico, tolerância oral à glicose e metabolismo lipídico. Na análise por CLAE-UV, o extrato apresentou elevada concentração de antraquinonas e naftopironas, classes de metabólitos frequentemente encontrados em *Sennas* e *Cassias* (Wang *et al.*, 2019). Estes estudos dão suporte ao uso tradicional da espécie no tratamento do diabetes.

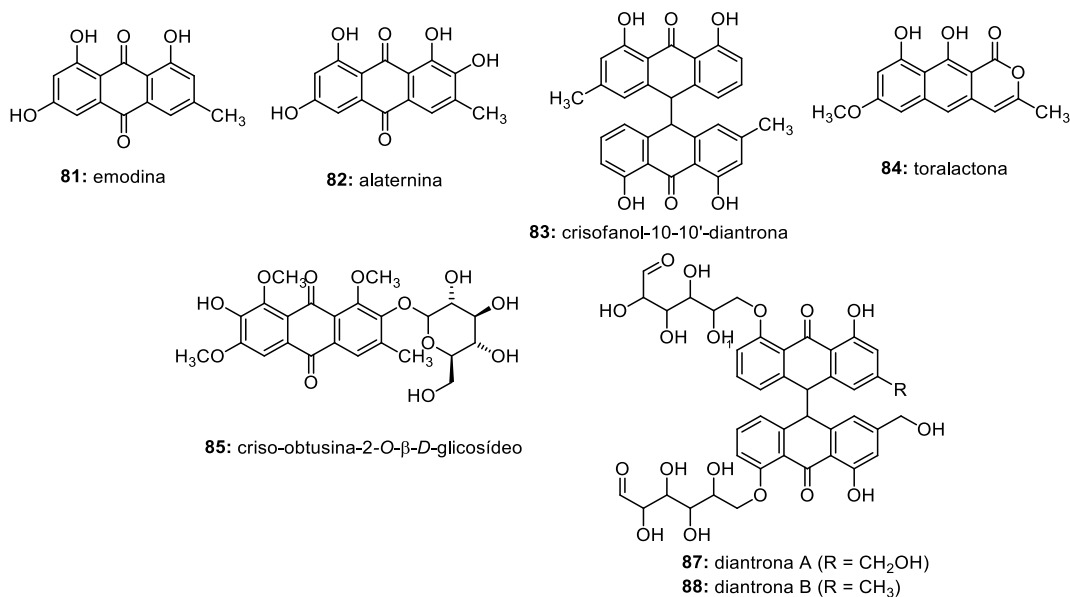
Estudo semelhante ao anterior, porém, realizado com o extrato metanólico do caule de *C. fistula*, utilizando ratos com diabetes induzido por estreptozotocina, permitiu observar significativa redução dos níveis de glicose sanguínea. Do fracionamento bioguiado do extrato foi isolada a (+)-catequina (**14**). Esse flavonoide foi administrado a ratos Wistar machos com diabetes (60 mg kg^{-1} de peso corporal) em diferentes doses (5 , 10 e 20 mg kg^{-1} de peso corporal) por 6 semanas para avaliar seu efeito na glicemia de jejum. Como resultado, **14** restaurou os níveis alterados de glicocinase, glicose-6-fosfatase, glicogênio sintase e glicogênio fosforilase para níveis próximos ao normal evidenciando as atividades hipoglicêmicas, oxidantes de glicose e miméticas de insulina (Daisy *et al.*, 2010).

Do extrato em AcOEt obtido das sementes de *S. tora* foram isoladas antraquinonas que foram avaliadas quanto ao potencial de inibição de produtos finais de AGEs e da aldose redutase. Entre os metabólitos isolados, a obtusifolina (**42**) e **81** exibiram atividade inibitória sobre a formação de AGEs, apresentando valores de IC₅₀ de 28,9 e 118,0 µM, respectivamente, no ensaio utilizando AGEs-albumina sérica bovina (BSA). Estes compostos inibiram a formação de AGEs-BSA de forma mais eficaz do que a aminoguanidina (IC₅₀ 961,0 µM), um inibidor de AGEs utilizado como controle, sendo que os compostos aurantio-obtusina (**36**), **81** e criso-obtusina-2-*O*-β-*D*-glicosídeo (**85**) apresentaram atividade inibitória, sobre a aldose redutase, com valores de IC₅₀ de 13,6, 15,9 e 8,8 µM, respectivamente, quando comparando ao ácido tetrametilenoglutárico (**86**) (IC₅₀ 24,1 µM), que foi o controle positivo utilizado (Jang *et al.*, 2007).

Em *S. auriculata*, que é uma planta medicinal utilizada no tratamento da diabetes na Ásia, foi feito um estudo com o extrato metanólico das flores para avaliar o potencial antidiabético em ratos com diabetes induzida por aloxana. Os ratos tratados com o extrato metanólico apresentaram queda gradual na glicemia e alterações significativas foram observadas no perfil lipídico e nas enzimas metabólicas após o tratamento. O extrato foi submetido ao fracionamento bioguiado, sendo que na fração que produziu a maior diminuição na glicemia e no perfil lipídico, foram isoladas as diantronas A (**87**) e B (**88**), e associadas à atividade antidiabética (Khader *et al.*, 2017).

A análise dos estudos anteriores permite observar uma tendência em espécies dos gêneros *Senna* e *Cassia*, que são frequentemente utilizadas na medicina popular para o tratamento do diabetes, serem ricas em compostos fenólicos como antraquinonas e flavonoides (Figura 12). Os compostos fenólicos são reconhecidos por seu potencial antioxidante, podendo atuar diretamente no EO. Além disso, são conhecidos por serem inibidores naturais da α-amilase e da α-glicosidase (Arulselvan *et al.*, 2016; Zhu *et al.*, 2019).

Figura 12 – Compostos isolados de espécies dos gêneros *Cassia* e *Senna* avaliados como potenciais antidiabéticos.



Fonte: a autora.

Até o momento, é evidente a escassez de medicamentos para tratar DM e, portanto, os PN podem ser uma fonte alternativa de tratamento terapêutico, que podem inspirar o desenvolvimento de novos medicamentos (Yeung *et al.*, 2020). Como parte de nossa pesquisa em espécies dos gêneros *Cassia* e *Senna*, aliada a informação do uso na medicina popular de e *C. javanica* para tratar DM, este trabalho buscou avaliar o potencial antidiabético dessa espécie utilizando ensaios de inibição enzimática e glico-oxidação para avaliar o extrato etanólico, frações e compostos isolados das flores de *C. javanica*.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar as atividades antimicrobiana e citotóxica dos extratos etanólicos das folhas e flores das espécies *C. fistula*, *C. grandis*, e *C. javanica*, *S. multijuga*, *S. rugosa* e *S. velutina* e a atividade antioxidante e antidiabética de *C. javanica*, visando a anotação e o isolamento de metabólitos especiais bioativos através de técnicas cromatográficas.

3.2 Objetivos específicos

- Coletar o material vegetal e preparar os extratos etanólicos;
- Submeter os extratos e frações a uma triagem fitoquímica utilizando a cromatografia em camada delgada e reagentes colorimétricos específicos;
- Avaliar as atividades antimicrobianas e citotóxicas dos extratos, frações e substâncias isoladas;
- Realizar a anotação dos constituintes químicos dos extratos etanólicos por CLUE-IES(-)-EM/EM.
- Realizar o estudo químico da(s) espécie(s) selecionada(s) como promissoras na triagem fitoquímica e nos ensaios biológicos;
- Avaliar a atividade antioxidante das flores de *C. javanica*.
- Avaliar a atividade antidiabética das flores de *C. javanica*.
- Realizar a elucidação estrutural dos compostos isolados através das análises espectroscópicas (Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e ^{13}C , uni- e bi-dimensional) e espectrométrica (espectrometria de massas).

4 METODOLOGIA

4.1 Materiais e equipamentos

4.1.1 Solventes

Os solventes e reagentes utilizados são de grau PA e/ou CLAE. Também foram utilizados solventes grau técnico como hexano (HEX), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanol (EtOH) e metanol (MeOH), que foram purificados por destilação fracionada, quando necessário.

4.1.2 Reagentes químicos para cromatografia em camada delgada (CCD)

As soluções a seguir foram utilizadas como reveladores químicos na triagem fitoquímica das classes de metabólitos especiais presentes nos extratos e frações utilizando o método da cromatografia em camada delgada (CCD) e foram preparadas de acordo com Wagner e Bladt (1996):

- a) Solução ácida de vanilina, preparada a partir de 3,0 g de vanilina dissolvida em solução contendo 135,0 mL de água destilada, 135,0 mL de metanol e 30,0 mL de ácido sulfúrico concentrado.
- b) Solução de KOH 5% em metanol.
- c) Solução de Dragendorff, preparada a partir da dissolução de 0,85 g de nitrato de bismuto em 10,0 mL de ácido acético glacial e adição de 40,0 mL de água destilada sob aquecimento (Solução A). Esta solução foi misturada com a solução B contendo 8,00 g de iodeto de potássio em 30,0 mL da água, na mesma proporção para gerar uma solução estoque. A solução reveladora foi preparada a partir de 1,0 mL da solução estoque, 2,0 mL de ácido acético glacial e 10,0 mL de água destilada.
- d) Solução de iodocloroplatinado, preparado a partir de uma solução aquosa a 5%, de ácido hexacloroplatinico (IV) ($\text{H}_2(\text{PtCl}_6) \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) (solução A). Esta solução foi misturada com uma solução aquosa a 10% de iodeto de potássio (KI) (solução B) e H_2O na proporção de (1:9:10)

e) NP/PEG, preparado a partir da mistura de 10,0 mL de uma solução do ácido β -etilaminodifeilbórico éster (NP) 1% em metanol, com 8,0 mL de uma solução de polietilenoglicol-4000 (PEG) 5% em etanol.

f) Anisaldeído: 1,0 mL de anisaldeído dissolvido em 2,0 mL de H_2SO_4 concentrado e em 100,0 mL de ácido acético glacial.

4.1.3. Técnicas cromatográficas

4.1.3.1 Cromatografia em coluna aberta (CC)

Para as separações cromatográficas em coluna aberta, foram utilizadas as seguintes fases estacionárias:

- ✓ Sílica gel (SiO_2) para cromatografia *flash* (40–63 μm , diâmetro de poro 60 Å) Sigma Aldrich;
- ✓ Sílica gel (SiO_2) para cromatografia (63–200 μm , diâmetro de poro 60 Å) Sigma Aldrich;
- ✓ Resina cromatográfica Sephadex LH-20, da marca GE Healthcare.

4.1.3.2 Cromatografia em camada delgada (CCD)

Os experimentos de CCD foram realizados com placas comerciais de sílica gel 60 (Macherey-Nagel) com 0,20 mm de espessura e indicador de fluorescência (UV 254 nm). Para as revelações nas placas de CCD, foram utilizados câmara de luz ultravioleta nos comprimentos de onda de 254 nm e 356 nm e reveladores químicos citados em 4.1.2.

4.1.3.3 Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e cromatografia líquida de ultra eficiência (CLUE)

As análises de CLAE-DAD foram realizadas no Laboratório de Cromatografia da Rede de Laboratórios Multiusuários (RELAM), IQ-UFU no *Campus* Santa Mônica utilizando o cromatógrafo a líquido de alta eficiência Shimadzu®, modelo LC-6AD, composto pelos seguintes módulos: bombas LC-6AD, degaseificador DGU-20A5R,

forno CTO-20A, coletor de frações FRC-10A, autoinjeter SIL-10AF e detectores de arranjo de diodo (DAD) SPD-M20A e evaporativo por espalhamento de luz (ELSD, do inglês: *evaporative light scattering detector*) LT II, controlados pelo software LC Solutions. As análises foram realizadas com a coluna analítica Phenomenex Luna C18 ($250 \times 4,6$ mm, $5,0 \mu\text{m}$) com forno a uma temperatura de 40°C . As separações por CLAE foram realizadas utilizando a coluna Semipreparativa Phenomenex Luna C18 ($250,0 \times 10,0$ mm, $10,0 \mu\text{m}$). Para análises analíticas, $5,0$ mL de frações ou $1,0$ mg de substância pura foram solubilizadas em $1,0$ mL de MeOH e filtradas em membrana de politetrafluoroetileno (PTFE) com diâmetro de poro $0,45 \mu\text{m}$ da marca Gelman. As análises foram realizadas utilizando como fase móvel água com ácido acético $0,1\%$, (fase móvel A) e metanol com ácido acético $0,1\%$, (fase móvel B). O sistema de gradiente de solventes utilizado foi de 20 – 100% de B (35 min), e em seguida foi mantido 100% de B (10 min). O fluxo utilizado foi de $1,0$ mL/min, temperatura do forno de 40°C e volume amostra injetado de $50 \mu\text{L}$.

As análises por cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas de alta resolução (CLAE-IES-EM/EM e CLUE-IES-EM/EM), foram realizadas com os seguintes equipamentos:

- CLAE-EM (compostos isolados): cromatógrafo da marca Agilent® Infinity 12060, equipado com coluna Zorbax C18 ($100,0 \times 3,0$ mm, $2,7 \mu\text{m}$) acoplado ao espectrômetro de massa do tipo Q-TOF Agilent® 6520B, com ionização por *eletrospray*. Os dados foram adquiridos no modo negativo. Os parâmetros cromatográficos para análise foram: fase móvel A composta por água acidificada com ácido fórmico ($0,1\% \text{ v v}^{-1}$) e fase móvel B metanol com o gradiente iniciando em 10% de B ($0,0$ min), 98% de B ($0,0$ – $15,0$ min); 100% de B ($15,0$ – $17,0$ min), volume de injeção de $0,4 \text{ mL min}^{-1}$. Os parâmetros de ionização foram: pressão do nebulizador de 58 psi, gás secante a 8 L min^{-1} a uma temperatura de 220°C e no capilar foi aplicado uma energia de $4,5 \text{ kVA}$. *Software* utilizado: Agilent MassHunter versão B.07.00. (Laboratório de Nanotecnologia do Instituto de Genética e Bioquímica da UFU, *campus* Umuarama);
- CLUE-EM: cromatógrafo Acquity H-Class, composto por uma bomba quaternária (gerenciador de solvente quaternário), detector de arranjo de diodos (PDA e λ Detector), forno de coluna, injetor automático (Sample Manager - FTN). O espectrômetro de massas utilizado foi um Xevo G2-XS QToF com fonte de ionização por *eletrospray* (IES) e

analisador QToF (quadrupolo *Time-of-Flight*). As separações analíticas por CLUE foram realizadas em uma coluna Acquity CLUE HSS T3 C18 (100,0 × 2,1 mm, 1,8 µm). Um gradiente (10 min) de concentração crescente de acetonitrila em solução aquosa de ácido fórmico a 0,1% (5–100%, vazão de 5,0 µL min⁻¹) foi usado como sistema de solvente. Todos os solventes empregados durante os procedimentos experimentais eram de grau HPLC ou tinham sido previamente destilados. A água foi purificada imediatamente antes do uso em um sistema de osmose reversa com deionizador Quimis. O espectrômetro de massa foi operado nos modos negativo e positivo. O capilar foi aquecido a 120 °C em fluxo de gás nebulizador (N₂) a 8,0 L min⁻¹, sendo aplicado um potencial de 2,5 kV.

4.1.4 Técnicas espectroscópicas

As análises por Ressonância Magnética Nuclear (RMN) unidimensionais (¹H e ¹³C) e bidimensionais HSQC e HMBC foram realizadas utilizando os equipamentos:

- Espectrômetro de ressonância magnética nuclear (RMN) Bruker Ascend™ 400 Avance III HD (9,4 Tesla), operando em frequências de 400 MHz para os núcleos de hidrogênio e 100 MHz para o carbono (RELAM do IQ/UFU, UFU/Uberlândia).
- Espectrômetro de RMN Bruker Ascend™ (14,1 Tesla), operando em frequências de 600 MHz para os núcleos de hidrogênio e 150 MHz para o carbono (Instituto de Química da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho - UNESP).

Todas as amostras foram solubilizadas em solventes deuterados (CD₃OD, CDCl₃, DMSO-*d*₆ e acetona-*d*₆) (Sigma-Aldrich®). Os experimentos foram realizados a 25 °C, utilizando TMS como referência (δ = 0,00 ppm) ou o sinal referente ao solvente residual. As análises e tratamento de espectros foram realizadas utilizando o software TopSpin®.

4.2 Procedimentos experimentais

4.2.1 Coleta do material vegetal

Folhas e flores das espécies selecionadas de *Senna* e *Cassia* foram coletadas em Ilhéus no estado da Bahia em 21 de julho de 2021 e na cidade de Uberlândia em Minas

Gerais, no dia 17 de fevereiro de 2022. Foram identificadas pela botânica Dr^a. Rosana Romero do Instituto de Botânica da UFU, sendo as exsicatas depositadas no Herbário Uberlandense da UFU (HUFU) (Tabela 3).

Tabela 3 – Espécies coletadas de *Cassia* e *Senna*.

Espécies*	Parte da planta	Local	Latitude	Longitude	Exsicata
<i>C. fistula</i>	Folhas	Ilhéus-BA	14°47'49.2''	39°10'22.8''	HUFU 85667
<i>C. grandis</i>	Folhas	Ilhéus-BA	14°47'56.4''	39°10'22.8''	HUFU 84890
<i>C. javanica</i>	Folhas e flores	Ilhéus-BA	14°47'09.6''	39°,13'30.0''	HUFU 85669
<i>S. multijuga</i>	Folhas	Ilhéus-BA	14°47'45.6''	39°10'19.2''	HUFU 85668
<i>S. rugosa</i>	Folhas e flores	Uberlândia-MG	18°58'58.8''	48°17'49.2''	HUFU 81255
<i>S. velutina</i>	Folhas e flores	Uberlândia-MG	18°59'16.8''	48°18'07.2''	HUFU 81254

Fonte: a autora. *as espécies foram cadastradas no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen).

4.2.2 Preparação dos extratos vegetais

As folhas e as flores das espécies vegetais coletadas (Figura 13) foram secas em estufa a 40 °C por quatro dias e trituradas em moinho de facas da marca Marconi[®] MA-680. O material vegetal de cada espécie foi submetido à extração em etanol por maceração com um intervalo de três dias entre as extrações (5×). A proporção utilizada nas extrações foi de 1,0 L de solvente para cada 250,0 g de material vegetal. Em cada extração o extrato foi filtrado e o solvente destilado em rotaevaporador a pressão reduzida, utilizando banho a 40 °C. Este procedimento foi repetido cinco vezes para a obtenção dos extratos etanólicos (EE). Os EE obtidos (9 extratos) foram submetidos a análises por CCD e por CLUE-IES-EM/EM e a testes biológicos como avaliação da citotoxicidade e avaliação da atividade antimicrobiana.

Figura 13 – Espécies de *Cassia* e *Senna* coletadas.

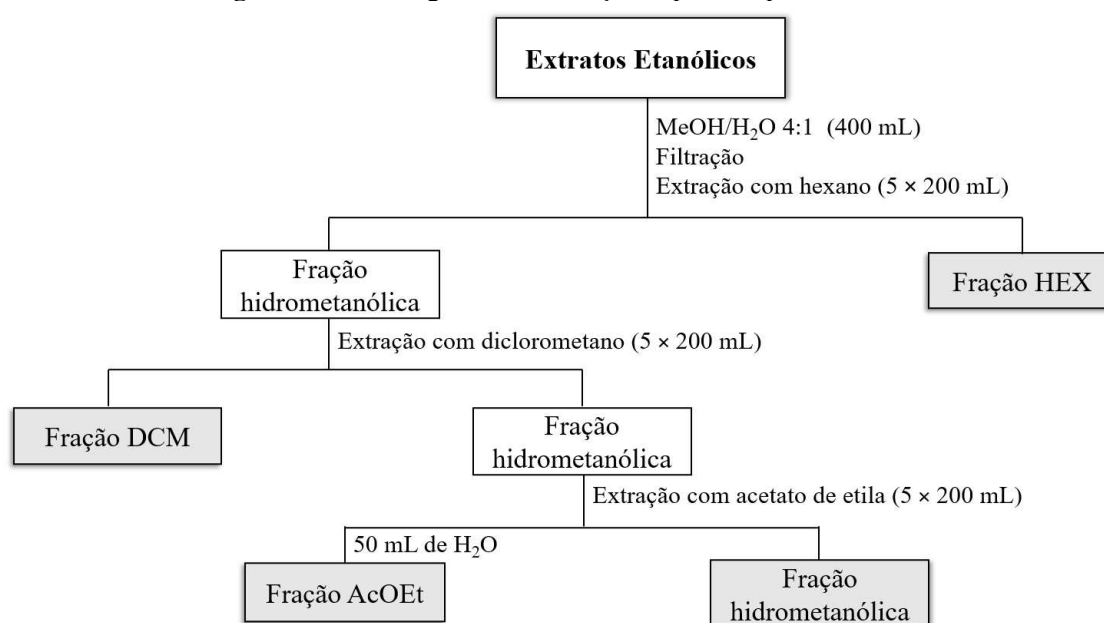


Fonte: a autora.

4.2.3 Extração líquido-líquido dos EE

Para o realizar o estudo químico das espécies, os EE foram submetidos à extração líquido-líquido, que consiste em solubilizar o EE em 400,0 mL de MeOH/H₂O (4:1), filtrar e submeter à extração com solventes de polaridade crescente: hexano (5 × 200 mL), diclorometano (5 × 200,0 mL) e acetato de etila (5 × 200,0 mL) (Figura 14). Em seguida, os solventes foram removidos por destilação em evaporador rotativo sob pressão reduzida, utilizando banho de aquecimento a 40 °C. Após destilação do solvente, as frações foram pesadas (Tabela 4) e submetidas às análises por CCD, CLUE-IES-EM/EM e a ensaios de atividade biológica.

Figura 14 – Fluxograma da extração líquido-líquido dos EE.



Fonte: a autora.

Tabela 4 – Frações obtidas da extração líquido-líquido dos EE.

Espécie e parte da planta (EE)	Massa (g)	Frações (códigos)			
		HEX	DCM	AcOEt	HM
<i>C. fistula</i> folhas (ECf-fo)	10,04	FHCf-fo	FDCf-fo	FACf-fo	FHMCf-fo
<i>C. grandis</i> folhas (ECg-fo)	10,21	FHCg-fo	FDCg-fo	FACg-fo	FHMCg-fo
<i>C. javanica</i> folhas (ECj-fo)	4,22	FHCj-fo	FDCj-fo	FACj-fo	FHMCj-fo
<i>C. javanica</i> flores (ECj-fl)	37,05	FHCj-fl	FDCj-fl	FACj-fl	FHMCj-fl
<i>S. multijuga</i> folhas (ESm-fo)	10,09	FHSm-fo	FDSm-fo	FASm-fo	FHMSm-fo
<i>S. rugosa</i> folhas (ESr-fo)	70,17	FHSr-fo	FDSr-fo	FASr-fo	FHMSr-fo
<i>S. rugosa</i> flores (ESr-fl)	70,10	FHSr-fl	FDSr-fl	FASr-fl	FHMSr-fl
<i>S. velutina</i> folhas (ESv-fo)	70,33	FHSv-fo	FDSv-fo	FASv-fo	FHMSv-fo
<i>S. velutina</i> flores (Esv-fl)	40,08	FHSv-fl	FDSv-fl	FASv-fl	FHMSv-fl

HEX: hexano, DCM: diclorometano, AcOEt: acetato de etila, HM: hidrometanólica. Fonte: a autora.

4.2.4 Triagem fitoquímica por CCD

Os extratos e frações das espécies foram analisados por cromatografia em camada delgada (CCD), para avaliar a natureza dos compostos a serem separados, sendo as revelações realizadas utilizando inspeção em câmara de ultravioleta (UV 254 ou 365 nm) ou nebulização dos reveladores iodocloroplatinato, Dragendorff, anisaldeído, vanilina, NP/PEG, KOH 5%, preparados segundo a literatura especializada (Touchstone; Dobbins, 1978; Wagner; Bladt, 2001).

4.2.5 Ensaio da atividade antimicrobiana por microdiluição em caldo

4.2.5.1 Atividade antibacteriana

O ensaio de atividade antimicrobiana foi realizado pelo Laboratório de Ensaaios Antimicrobiano (LEA), da Universidade Federal de Uberlândia, com a colaboração de Ma. Daniela Silva Gonçalves sob a orientação do prof. Dr. Carlos Henrique Gomes Martins. As atividades antibacteriana e antifúngica foram avaliadas utilizando o método da microdiluição em caldo, seguindo a metodologia descrita por CLSI (do inglês: *Clinical and Laboratory Standards Institute*) para as bactérias anaeróbias, aeróbias e para as leveduras (CLSI, 2007; CLSI, 2017; CLSI, 2018). A atividade antimicrobiana dos

extratos etanólicos e frações das flores e folhas das diferentes espécies de *Cassia* e *Senna*, foi avaliada utilizando cepas dos microrganismos provenientes da *American Type Culture Collection* (ATCC). Todos os ensaios foram realizados em triplicata.

No ensaio antimicrobiano foram utilizadas quatro cepas de bactérias aeróbias: *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), *Streptococcus mitis* (ATCC 49456), *Streptococcus sanguinis* (ATCC 10556), *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (ATCC 43717); e três cepas de bactérias anaeróbias: *Porphyromonas gingivalis* (ATCC 49417), *Fusobacterium nucleatum* (ATCC 10953), *Actinomyces naeshlundii* (ATCC 19039); e três cepas de leveduras: *Candida albicans* (ATCC 90028), *Candida glabrata* (ATCC 2001) e *Candida tropicalis* (ATCC 13803).

No ensaio antibacteriano, 1,0 mg das amostras foram solubilizadas em DMSO para atingir a concentração de 8000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (solução de partida) para as bactérias aeróbias e anaeróbias. Para os microrganismos aeróbicos e anaeróbios, foram adicionados em cada microtubo 125 μL de DMSO (concentração de 8000 $\mu\text{g mL}^{-1}$) e 500 μL de caldo “Brain Heart Infusion” (BHI), resultando em uma solução de concentração 1600 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Para o preparo dos inóculos, as colônias dos microrganismos aeróbicos crescidos em meio ágar BHI já enriquecido com 5% de sangue de carneiro durante 24 h foram transferidas para uma solução salina de 3,0 mL a 0,90%. Já as colônias das bactérias anaeróbias crescidas em ágar Schaedler suplementado com 5% de sangue de carneiro, hemina e menadiona por 72 horas foram transferidas para 3,0 mL de caldo Schaedler suplementado.

Para validar os testes, o controle positivo metronidazol foi avaliado nas concentrações de 0,0115 $\mu\text{g mL}^{-1}$ a 59,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$, utilizando as cepas de referência *Bacteroides fragilis* (ATCC 25285) para bactérias anaeróbias, e clorexidina para as bactérias aeróbias. Os controles de esterilidade dos caldos BHI, Schaedler e RPMI, do inóculo, da esterilidade da clorexidina e do metronidazol, das amostras e do solvente DMSO (5 a 1%), também foram realizados.

Para a determinação da atividade antibacteriana através da Determinação da concentração Inibitória Mínima (CIM), foram utilizadas microplacas com 96 poços. Em cada poço foram adicionados, o caldo BHI ou caldo Schaedler suplementado, as soluções das amostras e o inóculo. O volume final de cada poço foi de 100 e 200 μL para os microrganismos aeróbios e anaeróbios, respectivamente. Através da diluição seriada, as

soluções das amostras foram avaliadas nas concentrações de 400 a 0,195 $\mu\text{g mL}^{-1}$. As placas contendo bactérias aeróbias foram incubadas a 36 °C por 24 h em microaerofilia e aquelas contendo bactérias anaeróbias foram incubadas a 36 °C por 72 h em câmara de anaerobiose. Após os períodos de incubação, foi adicionado 30 μL de solução aquosa de resazurina a 0,02% (m v^{-1}) com leitura imediata do crescimento microbiano. As cores azul e rosa representaram a ausência e a presença de crescimento microbiano, respectivamente.

4.2.5.2 Atividade antifúngica

No ensaio antifúngico, 4,0 mg dos extratos e frações foram solubilizados em DMSO para atingir a concentração de 80000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (solução de partida). Cada microtubo foi adicionado 50 μL de DMSO e 283,3 μL de caldo RPMI, obtendo uma solução de concentração 12000 $\mu\text{g mL}^{-1}$. As leveduras foram cultivadas em placas de petri contendo ágar Sabouraud por 24 h a 37 °C e em seguida, com o auxílio de alça de platina esterilizada, colônias das leveduras foram transferidas para tubos contendo 3,0 mL de solução salina 0,85%. Os inóculos foram ajustados e comparados com a escala de McFarland 0,5 para obter uma concentração celular de $1,5 \times 10^6$ a $5,0 \times 10^6$ UFC mL^{-1} para os fungos.

Para validar os testes, foi utilizado a anfotericina B frente às cepas de referência *Candida krusei* (ATCC 6258) e *C. parapsilosis* (ATCC 22019) nas concentrações de 0,031 a 16,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Os controles de esterilidade dos caldos BHI, Schaedler e RPMI, do inóculo, da esterilidade da clorexidina, metronidazol e anfotericina B, das amostras e do solvente DMSO (5 a 1%), também foram realizados. Os controles de esterilidade do RPMI, do inóculo, anfotericina B, das amostras e do solvente DMSO (5 a 1%), também foram realizados.

Para a determinação da atividade antifúngica através da CIM, foram realizadas diluições seriadas nas microplacas em concentrações de 3000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para 1,46 $\mu\text{g mL}^{-1}$. O caldo RPMI tamponado com Ácido 3-[N-morfolino]-propanosulfônico (MOPS) e pH final de 7,2, foi utilizado como meio de cultura e as microplacas foram incubadas a 37 °C por 24 h. Após o período de incubação, foi adicionado 30 μL de solução aquosa de resazurina a 0,01% (m v^{-1}). As leveduras foram novamente incubadas a 37 °C. Uma primeira leitura foi realizada após 4 horas e uma segunda leitura foi realizada após

24 horas de incubação. As cores azul e rosa representaram a ausência e a presença de crescimento microbiano, respectivamente.

Aos compostos isolados, o ensaio antifúngico foi realizado com 1,5 mg seguindo os procedimentos descritos anteriormente. A CIM foi determinada através de diluições seriadas em concentrações de 0,49 $\mu\text{g mL}^{-1}$ a 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Os resultados obtidos foram comparados ao controle positivo anfotericina B em 0,031 a 16,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$, frente aos controles *C. krusei* (0,25–2,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$) e *C. parapsilosis* (CIM = 0,25–1,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$).

4.2.6 Ensaio da viabilidade celular frente as células HeLa

O ensaio de Viabilidade Celular foi realizado pelo Dr. Marcos Paulo Oliveira com a supervisão da Dr^a. Bellisa Freitas Barbosa do Laboratório de Imunofisiologia da Reprodução, Instituto de Ciências Biomédicas (UFU). Células epiteliais cervicais humanas (linhagem celular HeLa, ATCC, EUA), foram cultivadas em frasco de cultura de 175,0 cm^2 contendo meio Roswell Park Memorial Institute (RPMI)-1640 (Cultilab, Brasil) suplementado com 100,0 U/mL de penicilina e 100,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de estreptomicina (ambos da Sigma-Aldrich[®], EUA) e 5% de soro fetal bovino inativado pelo calor (FBS; Cultilab) (meio completo), em incubadora umidificada a 37 °C e 5% de CO₂ (condições de cultura).

Para avaliar a viabilidade celular frente as células HeLa dos extratos etanólicos e das frações derivadas de *Cassia* e *Senna*, foi realizado o ensaio com reagente Azul de tiazolil Brometo de tetrazólio, MTT (Mosmann, 1983). Para isso, células HeLa em meio completo foram cultivadas em placas de 96 poços (3×10^4 células/100,0 μL /poço) durante a noite (por aproximadamente 18 horas), sob condições de cultura, sendo tratadas, em concentrações crescentes (0,195 a 3200 $\mu\text{g mL}^{-1}$) de extratos e frações. O controle negativo foi o DMSO a 1%. O meio com células não tratadas também foi utilizado como controle e incubado por aproximadamente 24 h sob condições de cultura.

Após o período de incubação os sobrenadantes das placas de cultura foram descartados e as células HeLa foram incubadas com MTT a 0,5 $\mu\text{g mL}^{-1}$ em meio completo por 4 h, sob condições de cultura. Em seguida, os sobrenadantes das placas de cultura foram removidos, e os poços foram incubados com 10% de dodecil sulfato de sódio (SDS) em 50% de dimetilformamida (DMF) (Sigma-Aldrich[®]) para dissolver os cristais de formazan resultantes da conversão do reagente MTT por células viáveis,

otimizada pela incubação das placas em torno de 50 °C por aproximadamente 15 minutos, seguida de agitação. A absorbância das amostras foi medida em espectrofotômetro de microplacas a 570 nm, e os resultados foram expressos como a porcentagem de células viáveis em relação ao controle de células não tratadas (incubadas apenas com meio completo) consideradas 100% viáveis.

A concentração citotóxica de 50% (CC₅₀) para cada extrato ou fração testada foi calculada usando o GraphPad Prism® Versão 10 (GraphPad Software Inc., EUA), e posteriormente usada para o cálculo do índice de seletividade (IS), Equação 1. De acordo com o protocolo 13/2012 do Comitê de Ética da Universidade Federal de Uberlândia, o uso de linhagens celulares adquiridas comercialmente não requer aprovação ética.

$$IS = \log \frac{CC_{50}}{CIM} \quad \text{Equação 1.}$$

4.2.7 Ensaios de atividade antioxidante

Os ensaios de atividade antioxidante do EE, frações (FHCj-fl, FDCj-fl, FACj-fl e FHMCj-fl) e compostos isolados das flores de *C. javanica* foram realizados no Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular (LABIBI) pelo aluno de mestrado Tarcísio Paiva Mendonça sob a coordenação do Dr. Foued Salmen Espíndola.

4.2.7.1 Sequestro do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH)

As amostras e a quercetina (controle positivo) foram incubadas, juntamente com uma solução de DPPH 0,06 mM, a 30 °C por 30 minutos na ausência de luz. A absorbância foi medida a 517 nm e a eliminação do radical DPPH foi calculada usando a seguinte fórmula: DPPH (%) = [(controle A – amostra A)/(controle A – branco A)] × 100, onde o Controle A é a absorbância da solução de DPPH, a amostra A é o valor de absorbância da mistura (DPPH + amostra/controle positivo) e o branco A é o valor de absorbância da amostra.

4.2.7.2 Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP)

O EE, as frações, os compostos isolados e o controle positivo (quercetina) foram incubados com o reagente FRAP: tampão acetato de sódio 300 mM (pH 3,6), 2,4,6-tri(2-piridil)-s-triazina (TPTZ) e cloreto férrico (20 mM), 10:1:1 a 37 °C por 6 min. A absorbância foi medida a 593 nm em espectrofotômetro e a capacidade antioxidante foi quantificada e obtida por meio de uma curva analítica construída com Trolox como padrão ($\mu\text{mol TE g}^{-1}$).

4.2.8 Ensaios para determinação da atividade antidiabética

Os ensaios de inibição enzimática e glico-oxidação para determinar o potencial antidiabético das flores de *C. javanica* foram realizados no Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular (LABIBI) pelo aluno de mestrado Tarcísio Paiva Mendonça sob a coordenação do Dr. Foued Salmen Espíndola.

4.2.8.1 Ensaio de inibição da α -glicosidase

A inibição da atividade da α -glicosidase foi quantificada por meio de um ensaio enzimático que emprega 4-nitrofenil α -D-glucopiranosídeo (p-NPG) como substrato. Uma fração enriquecida em α -glicosidase, isolada de pó cetônico intestinal de ratos (AG-f), foi utilizada para avaliar a atividade enzimática. O EE, as frações e os compostos isolados das flores de *C. javanica* foram pré-incubados com AG-f e glutathione reduzida, um cofator enzimático. A reação enzimática é iniciada pela adição de p-NPG e a taxa de formação do produto colorido monitorada espectrofotometricamente a 405 nm durante 30 minutos a 37 °C (leitura a cada 5 minutos). Acarbose, um inibidor conhecido da α -glicosidase, e DMSO (solvente utilizado na diluição das amostras) foram os controles positivo e negativo, respectivamente. Todos os ensaios foram realizados em duplicata, o resultado é dado em porcentagem de inibição da α -glicosidase, calculado através da Equação 2.

$$\text{Inibição da alfa glicosidade} = \frac{(\text{ASC controle} - \text{ASC amostra})}{\text{ASC controle}} \times 100 \quad \text{Equação 2.}$$

Onde ASC controle é a área sob a curva na ausência das amostras, a ASC amostra é a área sob a curva na presença das amostras.

4.2.8.2 Ensaio de inibição da α -amilase pancreática

A enzima α -amilase pancreática suína foi diluída em 30,0 mg mL⁻¹ de tampão ácido 2-(N-morfolino)etanossulfônico (MES) (pH 6,0) e centrifugada a 12000 xg por 30 min para a coleta do sobrenadante. O extrato, as frações e os compostos isolados das flores de *C. javanica* e o controle positivo triticum, juntamente com a enzima na proporção de 1:60 (v/v), foram incubados a 37 °C por 10 min. Posteriormente, 12,0 mM de 2-cloro-4-nitrofenil-4- β -D-galactopiranosilmaltosídeo (GALG2CNP) foram adicionados para iniciar a reação. Para a leitura cinética das amostras, foi adicionado na placa de 96 poços 8,0 μ L da amostra e 315,0 μ L de GALG2CNP. A leitura foi feita em um espectrofotômetro (Molecular Devices, Menlo Park, CA, EUA) a 405 nm, a 37° por 3 minutos. O álcool etílico foi utilizado como branco (solvente utilizado para diluir as amostras).

4.2.8.3 Ensaio de glico-oxidação

Método de albumina sérica bovina e frutose (BSA/FRU): As amostras foram incubadas com 10,0 mg mL⁻¹ de BSA e 500 mM de frutose (diluída em tampão fosfato 200 mM, pH 7,4, contendo 0,02% de azida sódica) a 37 °C por 72 h ao abrigo da luz. Após a incubação, adicionou-se ácido tricloroacético a 20% (m/v) e a mistura foi centrifugada a 10000 xg por 10 min. Cloridrato de aminoguanidina (NH-G 98%) em 5,0 mM foi utilizado como agente antiglicante. As amostras, 25 μ L de extrato/fração e 12,5 μ L de composto isolado, foram adicionadas a microtubos contendo 50,0 μ L de BSA e 50,0 μ L de frutose. Os microtubos foram incubados em estufa a 37 °C por 3 dias. Ao término da incubação, foi realizado a precipitação ácida com 200,0 μ L da solução adicionado a cada tubo, em duplicata. A leitura da fluorescência dos derivados de reações de oxidação ou glicação foi feita em frutose (360/460 nm), ensaios de glicação (350/400 nm) e vesperlisinas (370/440 nm). Os resultados foram apresentados como porcentagem (%) de inibição, calculada pela seguinte equação: $IG (\%) = [(F_{\text{controle}} - F_{\text{amostra}})/(F_{\text{controle}})] \times 100$, onde F_{controle} é o valor de fluorescência do controle negativo e F_{amostra} é o valor de

fluorescência de cada amostra/controle positivo. Tampão fosfato foi utilizado como controle negativo.

4.3 Estudo químico de *Cassia* e *Senna*

4.3.1 Anotação dos constituintes químicos por Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência acoplada à Espectrometria de Massas sequencial com fonte de ionização por electrospray (CLUE-IES-EM/EM)

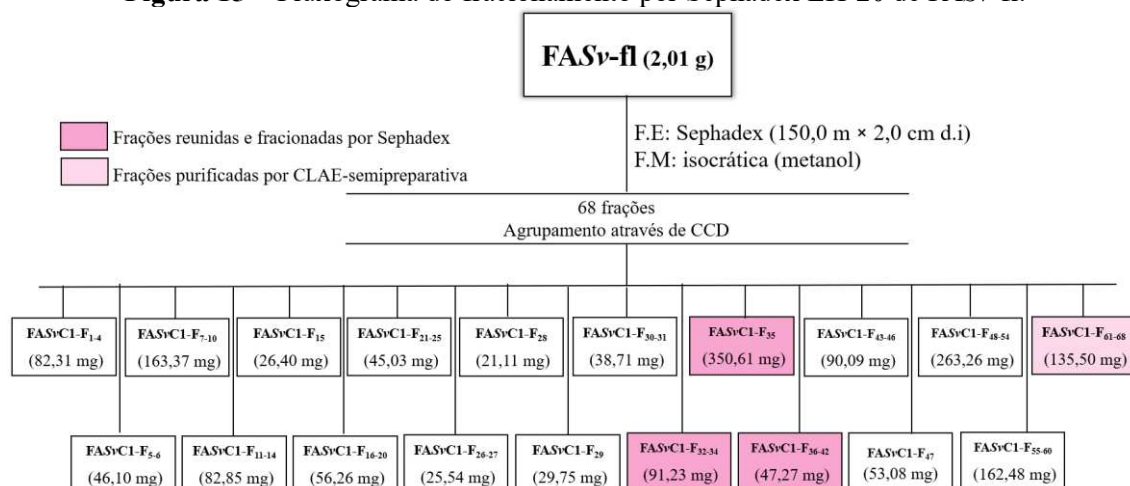
Os extratos e frações foram submetidos à análise por espectrometria de massas EM-IES e sequencial (EM/EM-IES) nos modos negativo e positivo. A partir da interpretação dos espectros de massa e valores da massa de alta resolução e das fragmentações no espectro EM/EM foi possível propor a estrutura dos compostos dos extratos e frações. A fórmula molecular proposta de cada composto foi selecionada de acordo com uma lista sugerida pelo Software MassLynx[®] relacionada com a baixa diferença entre a massa experimental e a massa exata e erro em ppm (≤ 5 ppm). As possíveis estruturas foram propostas comparando os dados com outros trabalhos na literatura. As massas acuradas obtidas dos EM em alta resolução foram comparadas com aquelas obtidas do programa ChemDraw Ultra 12.0 (massas exatas), e erros calculados em ppm através da Equação 3:

$$\text{Erro}_{(\text{ppm})} = \left[\frac{\text{massa experimental} - \text{massa exata}}{\text{massa exata}} \right] \times 10^6 \quad \text{Equação 3}$$

4.3.2 Estudo químico da fração em acetato de etila das flores de *Senna velutina* (FASv-fl)

A fração FASv-fl (2,01 g) foi submetida a separação por coluna cromatográfica utilizando Sephadex LH-20 (150,0 cm $\times$ 2,0 cm d.i) como fase estacionária e eluída em modo isocrático com metanol (Figura 15), resultando em 68 subfrações que foram reagrupadas de acordo com a similaridade dos valores de R_f observados na análise por CCD, utilizando a vanilina como revelador.

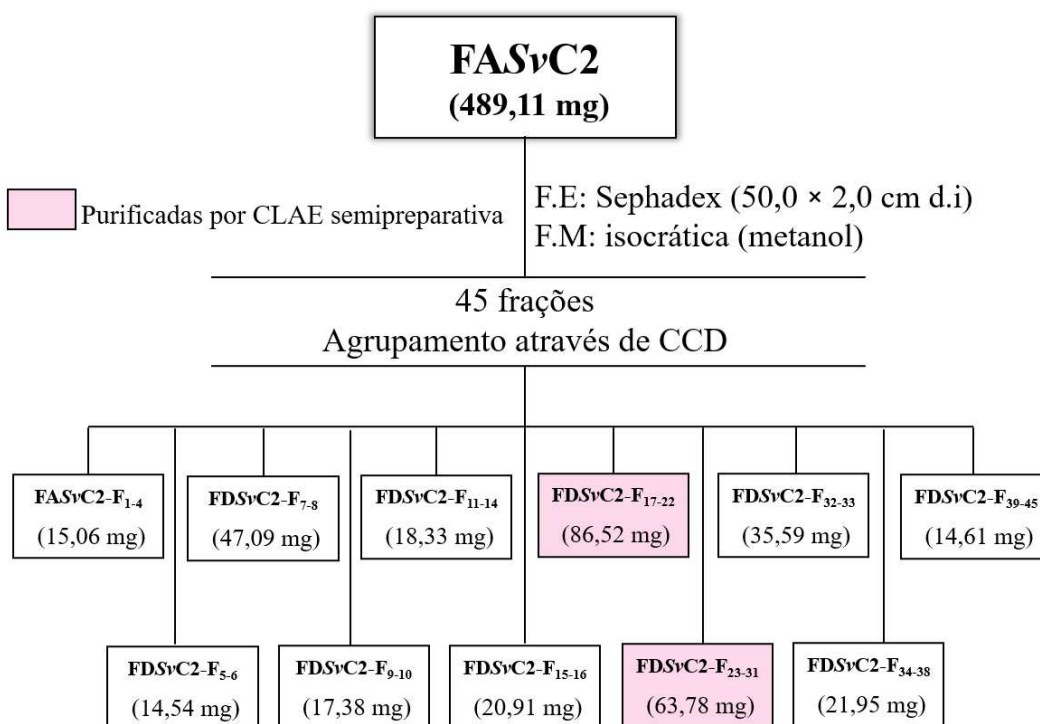
Figura 15 – Fluxograma do fracionamento por Sephadex LH-20 de FASv-fl.



Fonte: a autora

Das 18 subfrações obtidas de FASv-fl, FASvC1-F₃₂₋₃₄ (91,23 mg), FASvC1-F₃₅ (350,61 mg) e FASvC1-F₃₆₋₄₂ (47,27 mg) apresentaram perfil semelhante na CCD, exibindo manchas de coloração rosa após utilizar vanilina como revelador com valores de R_f semelhantes. Estas frações foram reunidas obtendo a massa total de 489,11 mg e fracionadas por Sephadex LH-20 (50,0 cm × 2,0 cm d.i), sendo as subfrações denominadas FASvC2 (Figura 16).

Figura 16 – Fluxograma do fracionamento por Sephadex LH-20 de FASvC2.



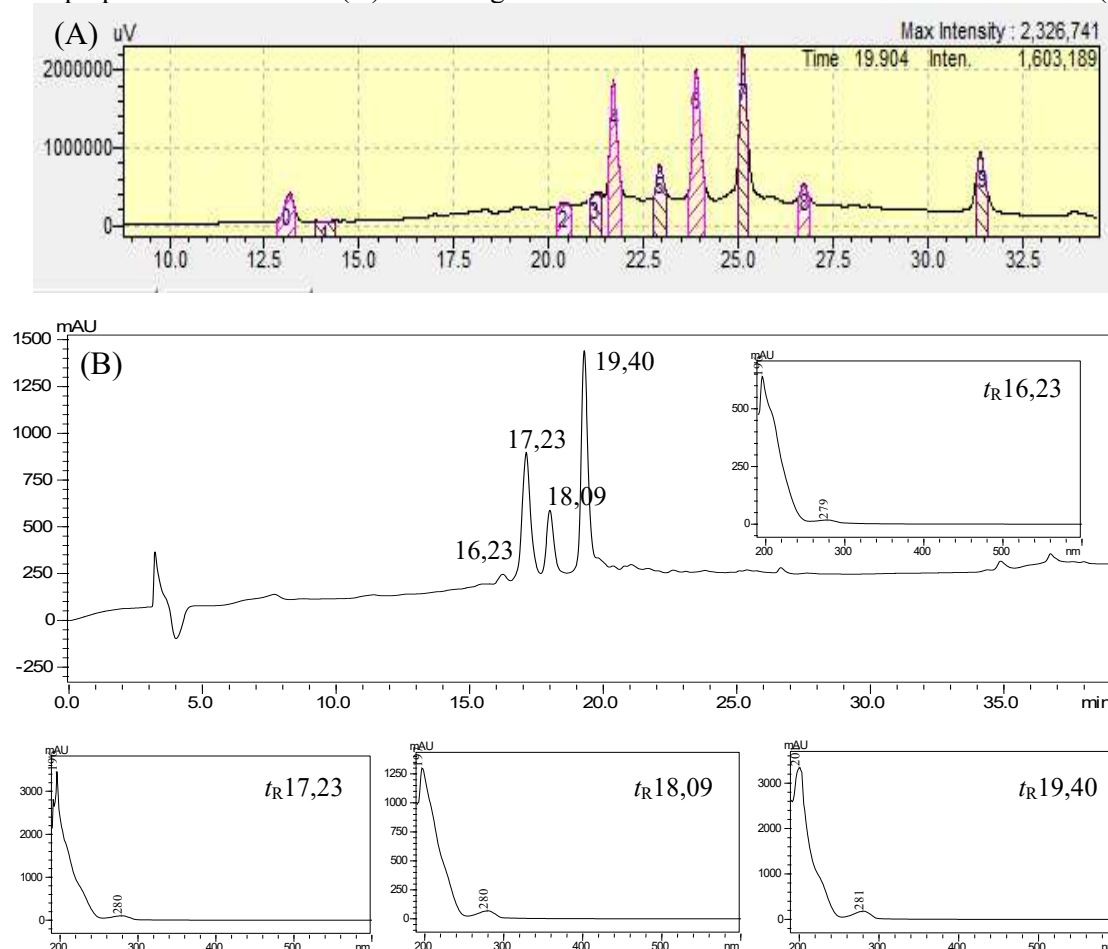
Fonte: a autora.

4.3.2.1 Isolamento de compostos das frações FASvC1-F₁₇₋₃₁

Deste fracionamento, os grupos de maior massa FASvC2-F₁₇₋₂₂ (86,52 mg) e FASvC2-F₂₃₋₃₁ (63,78 mg) foram analisados por CLAE-DAD que indicou o mesmo perfil químico de flavonoides e proantocianidinas. Estas subfrações foram reunidas (150,30 mg) para o isolamento destes compostos por CLAE-semipreparativa. Assim, 100,0 mg da subfração foi solubilizado em metanol grau HPLC e filtrado em filtro de seringa com membrana de politetrafluoetileno (PTFE) 0,45 µm. Para a separação, as condições cromatográficas na coluna semipreparativa foram fase móvel água com ácido acético 0,1%, (fase móvel A) e metanol com ácido acético 0,1%, (fase móvel B). O sistema de gradiente de solventes utilizado foi de 20–100% de B (35 min), e em seguida foi mantido 100% de B (10 min). O fluxo utilizado foi de 2,0 mL/min, temperatura de forno de 40 °C e volume de injeção de 50 µL. O isolamento foi realizado através da coleta automatizada na saída do detector com coletor de frações. A válvula foi programada para coletar cada pico do cromatograma de acordo com o seu tempo de retenção (t_R). Foram coletados os picos 0 a 9 que apresentaram maiores intensidades no cromatograma em 280 nm (Figura 17A).

Após a coleta, todas frações foram submetidas a análise por CLAE-DAD utilizando a coluna analítica, sendo possível analisar que os picos 4 (t_R 17,34 min), 5 (t_R 18,09 min) e 7 (t_R 19,39 min) apresentaram perfil de substância pura e em seus respectivos espectros de UV, todos apresentaram uma banda em 280 nm, característica de proantocianidinas (Figura 17B). Estes compostos foram denominados **A**, **B** e **C** respectivamente.

Figura 17 – Programação de coleta da fração FASvC2-F₁₇₋₃₁ obtido por CLAE-DAD semipreparativa em 280 nm (A) Cromatograma CLAE-DAD em 280 nm em coluna analítica (B).

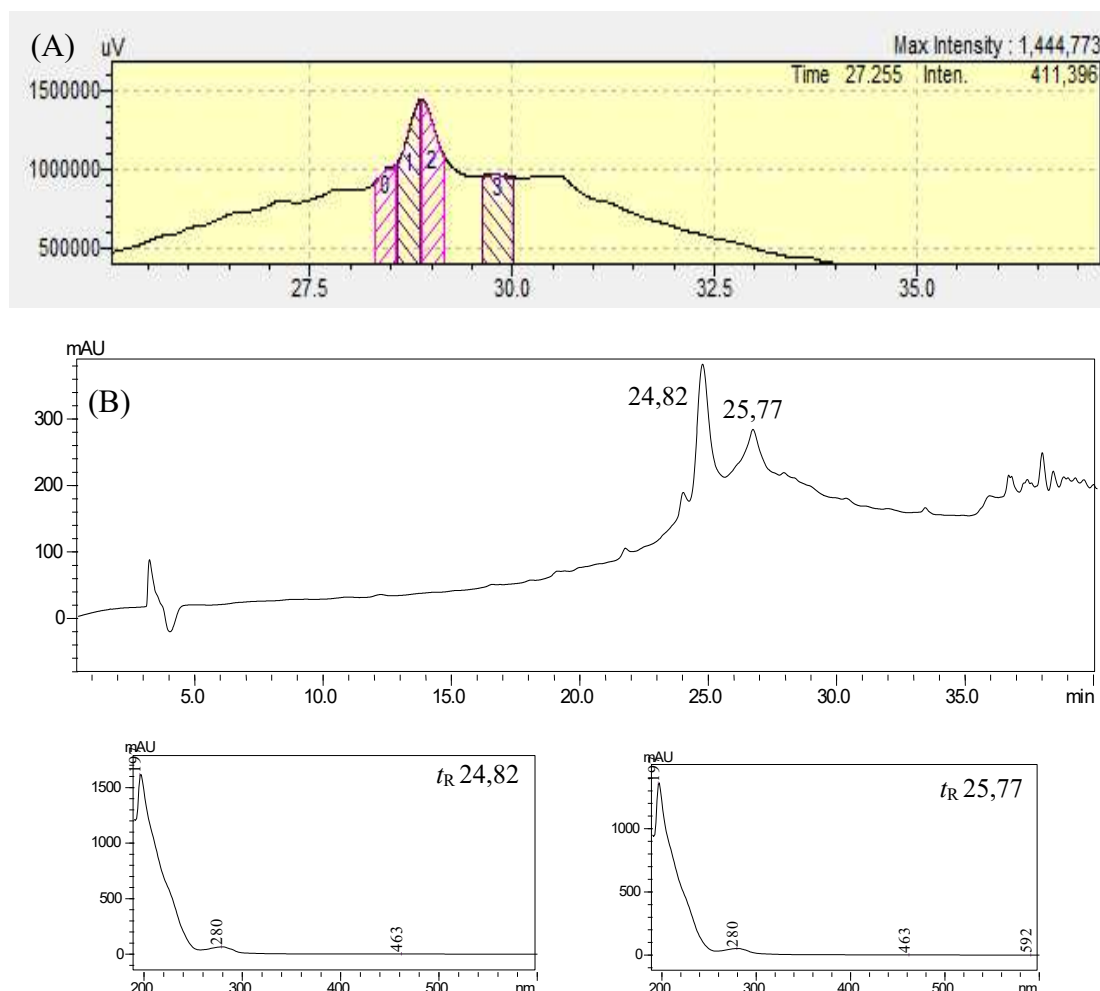


Condições: coluna Semipreparativa Phenomenex Luna C₁₈ (250,0 × 10,0 mm, 10 μm). F.M: água acidificada com ácido acético 0,1%, (fase móvel A) e metanol com ácido acético 0,1%, (fase móvel B). O sistema de gradiente de solventes utilizado foi de 20-100% de B (35 min), e em seguida foi mantido 100% de B (10 min). O fluxo utilizado foi de 2,0 mL/min, temperatura de forno de 40 °C e volume de injeção de 50 μL. Fonte: a autora.

4.3.2.2 Isolamento de compostos das frações FASvC1-F₆₁₋₆₈

A fração FASvC1-F₆₁₋₆₈ (135,50 mg) foi analisada por CLAE-DAD apresentando dois picos no cromatograma com t_R de 24,82 e 25,77 min. O espectro de UV de cada pico apresentou uma banda de 280 nm característica de proantocianidinas. Esta subfração foi submetida a CLAE semipreparativa para o isolamento destes compostos. A válvula foi programada para coletar cada pico do cromatograma de acordo com o seu tempo de retenção (t_R), sendo coletados os picos 0 a 3 que apresentaram maiores intensidades no cromatograma em 280 nm (Figura 18).

Figura 18 – Programação de coleta da fração FASvC2-F₆₁₋₆₈ obtido por CLAE-DAD semipreparativa em 280 nm (A) e Cromatograma CLAE-DAD em 280 nm em coluna analítica (B).



Condições: coluna Semipreparativa Phenomenex Luna C₁₈ (250,0 × 10,0 mm, 10 μm). F.M: água acidificada com ácido acético 0,1%, (fase móvel A) e metanol com ácido acético 0,1%, (fase móvel B). O sistema de gradiente de solventes utilizado foi de 20–100% de B (35 min), e em seguida foi mantido 100% de B (10 min). O fluxo utilizado foi de 2,0 mL/min, temperatura de forno de 40 °C e volume de injeção de 50 μL. Fonte: a autora.

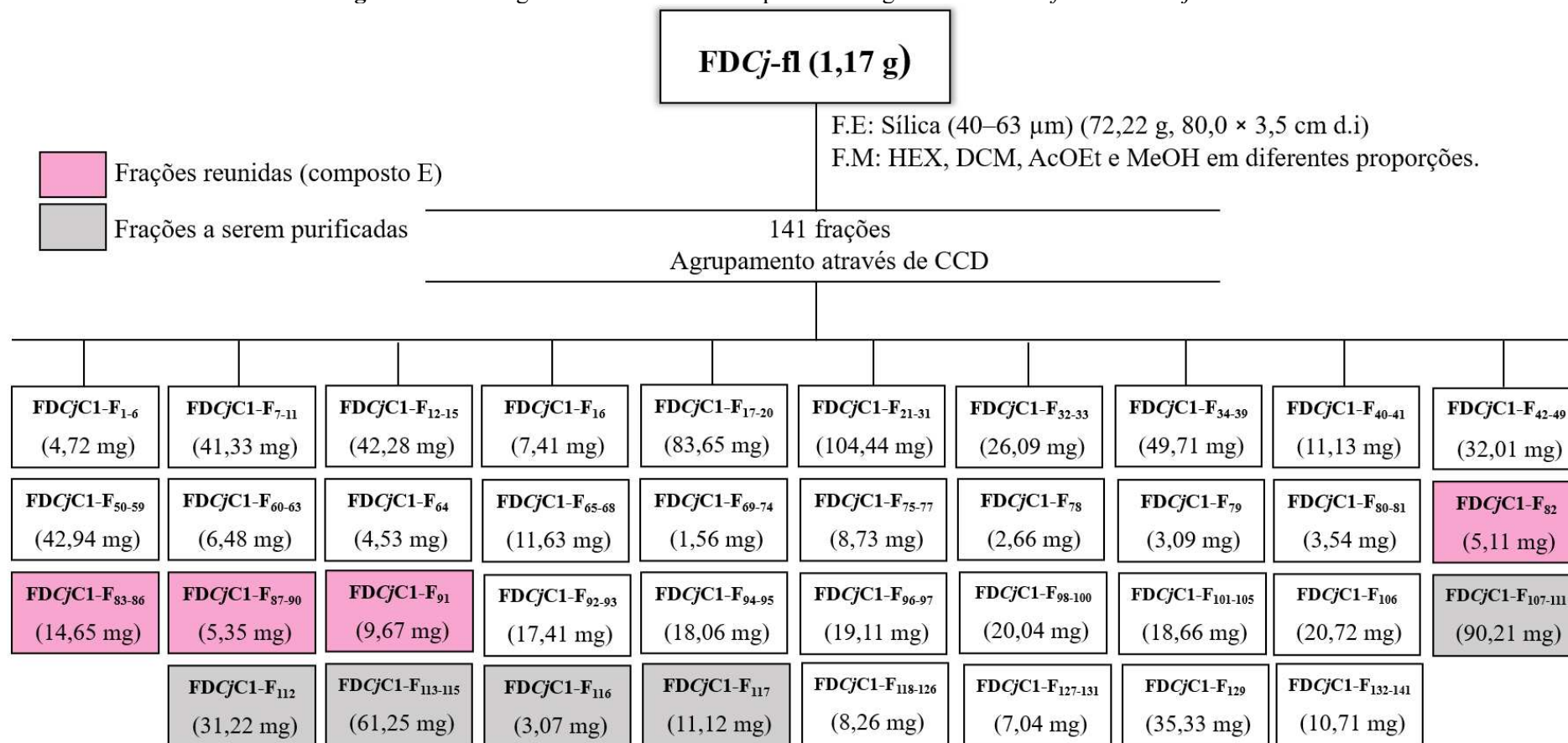
Após a coleta, todas frações foram submetidas a análise por CLAE-DAD utilizando a coluna analítica, onde apenas o pico 2 (t_R 24,63 min) apresentou perfil de substância pura. Este composto ficou denominado composto **D**.

4.3.3 Estudo químico da fração em diclorometano das flores de *C. javanica* (FDCj-fl)

A fração FDCj-fl (1,17 g) foi submetida a CC *flash* (72,22 g, 80,0 × 3,5 cm d.i), utilizando sílica gel (40–63 μm) como fase estacionária e eluída com a fase móvel HEX–DCM (95:5→0:100), DCM–AcOEt (90:10→0:100) e AcOEt–MeOH (95:5→0:100). Foram coletadas 141 frações de 100 mL cada, que foram concentradas através da destilação dos solventes em um rotaevaporador e agrupadas de acordo com o perfil cromatográfico das análises por CCD, tendo como reveladores vanilina e KOH 5%

e inspeção por câmara de UV em 254 nm e 365 nm. Com o agrupamento das frações, foram obtidos 38 subfrações denominadas “FDCjC1” (Figura 19). Em FDCjC1-F₈₀₋₈₁ a FDCjC1-F₉₁ foi notado a presença um sólido de coloração amarela. Na análise por CCD, estes grupos apresentaram uma única mancha de coloração amarela de mesmo R_f com revelação em vanilina e utilizando o NP/PEG e câmara UV em 365 nm, indicando a presença de um flavonoide. Estes grupos foram reunidos e denominado composto **E**.

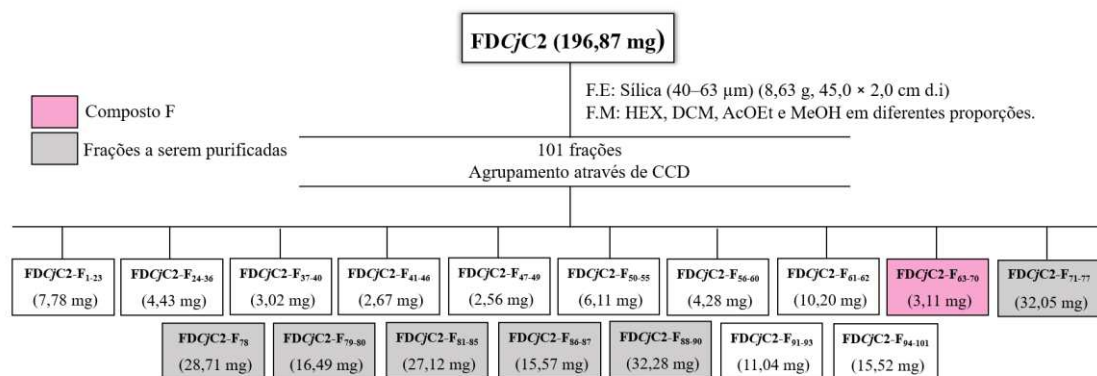
Figura 19 – Fluxograma do fracionamento por cromatografia em coluna *flash* de FDCj-fl.



Fonte: a autora.

FDCjC1-F₁₀₇₋₁₁₁ a FDCjC1-F₁₁₇ apresentaram duas manchas quando reveladas em KOH 5%, de coloração rosa e amarela, indicando a presença de compostos das classes das antraquinonas e de flavonoides, respectivamente. Estes grupos foram reunidos (196,87 mg) e foi realizado uma nova CC *flash* denominada FDCjC2 (8,63 g, 45,0 × 2,0 cm d.i), utilizando sílica (40–63 µm) como fase estacionária e eluída em HEX–DCM (10:90→0:100), DCM–AcOEt (05:95→0:100) e AcOEt–MeOH (10:90→0:100). Foram coletadas 101 frações de 20 mL cada. Estas frações foram agrupadas de acordo com o perfil cromatográfico das análises por CCD, tendo como reveladores vanilina e KOH 5% (Figura 20).

Figura 20 – Fluxograma do fracionamento por cromatografia em coluna *flash* de FDCjC2.

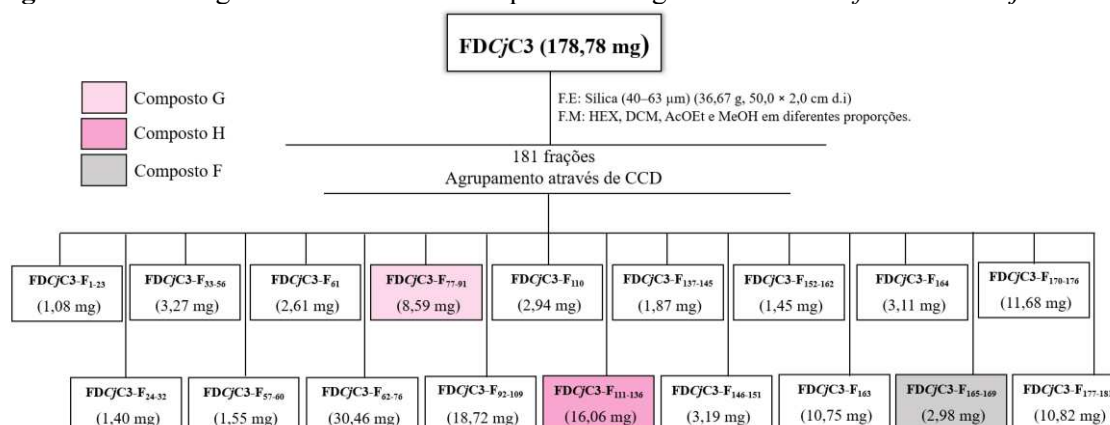


Fonte: a autora.

A subfração FDCjC2-F₆₃₋₇₀ (3,11 mg), um sólido de coloração laranja, apresentando uma única mancha rosa quando revelada KOH 5% na CCD, foi denominada composto **F**, da classe das antraquinonas. Entretanto, as subfrações FDCjC2-F₇₁₋₇₇ a FDCjC2-F₈₈₋₉₀ ainda apresentaram manchas com R_f diferentes quando reveladas em KOH% e vanilina, indicando ser uma mistura do composto **F** com flavonoides. Por esta razão, as subfrações FDCjC2-F₇₁₋₇₇ a FDCjC2-F₈₈₋₉₀ foram reunidas resultando em 178,78 mg e realizada uma terceira CC *flash* denominada FDCjC3 (36,67 g, 50,0 × 2,0 cm d.i) utilizando como F.E. sílica gel (40–63 µm) e F.M: DCM–AcOEt (95:5→0:100) e AcOEt–EtOH (95:5→0:100). Foram coletadas 181 frações de 80 mL cada. Estas frações foram agrupadas de acordo com o perfil cromatográfico das análises por CCD, tendo como reveladores vanilina e KOH 5% (Figura 21). A subfração FDCjC3-F₇₇₋₉₁ (8,51 mg) apresentou uma única mancha amarela ao revelar com vanilina na CCD. Esta substância foi denominada composto **G**. A subfração FDCjC3-F₁₁₁₋₁₃₆ (16,06 mg) também apresentou uma única mancha de cor

amarela na CCD, sendo denominado o composto **H**. Já a subfração FDCjC3-F₁₆₅₋₁₆₉ indicou ser quantidade adicional de **F**, comparando valores de R_f . Os compostos **F-H** isolados de FDCj-fl foram analisados por técnicas espectroscópicas e espectrométricas para a caracterização de suas estruturas.

Figura 21 – Fluxograma do fracionamento por cromatografia em coluna *flash* de FDCjC3.



Fonte: a autora.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Preparo dos extratos etanólicos e frações

O material vegetal das espécies *C. fistula*, *C. grandis*, *C. javanica* e *S. multijuga* foram coletados no sul da Bahia. O bioma predominante na região é a Mata Atlântica. Já o material de vegetal de *S. rugosa* e *S. velutina* foram coletados em Uberlândia, Minas Gerais, no bioma Cerrado. Após a secagem e trituração do material vegetal, os extratos etanólicos foram preparados. Após a rotaevaporação do solvente e secagem dos extratos, as extrações líquido-líquido foram realizadas, obtendo as frações em hexano (HEX), diclorometano (DCM), acetato de etila (AE) e hidrometanólica (HM) (Tabela 5).

Tabela 5 – Massa do material seco, EE, frações e rendimento dos extratos das espécies coletadas.

Espécies	Material vegetal	Material seco (g)	EE (g)	Rendimento (%)	Frações (g)			
					HEX	DCM	AE	HM
<i>C. fistula</i>	Folhas	257,62	32,88	12,76	0,14	0,69	1,88	2,75
<i>C. grandis</i>	Folhas	736,01	127,19	17,28	0,16	0,61	0,85	0,67
<i>C. javanica</i>	Folhas	216,35	53,52	24,73	0,02	0,08	0,35	0,65
	Flores	143,75	43,41	30,19	0,44	1,21	10,50	5,33
<i>S. multijuga</i>	Folhas	297,21	34,01	11,44	0,24	0,48	0,40	3,43
<i>S. rugosa</i>	Folhas	744,30	179,74	24,14	0,49	7,12	16,98	5,14
	Flores	323,97	118,42	36,55	0,53	3,02	44,14	7,96
<i>S. velutina</i>	Folhas	902,22	248,25	27,51	0,61	3,34	38,57	9,53
	Flores	489,60	74,83	15,21	0,33	2,15	24,51	2,13

Fonte: a autora.

5.2 Triagem fitoquímica dos extratos e frações

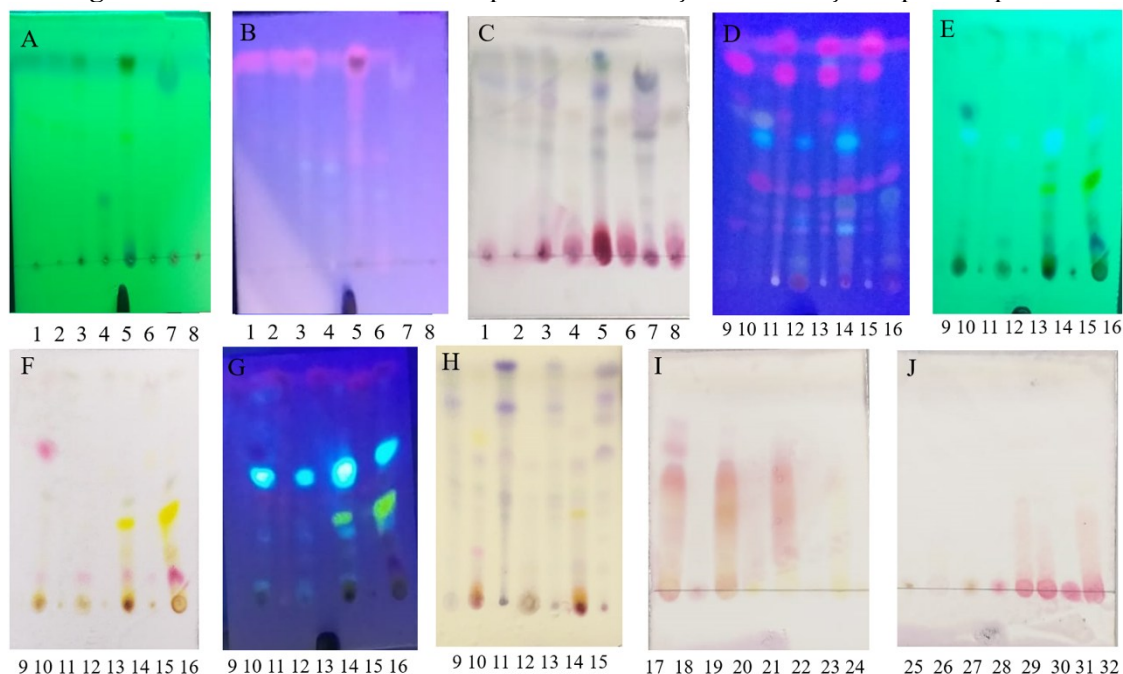
Foi realizado um estudo fitoquímico preliminar com os extratos e frações da obtidas na extração líquido-líquido, a fim de detectar a presença de classes de metabólitos especiais presentes nestas espécies. As plantas podem apresentar metabólitos especiais que são comuns a várias espécies ou apresentar classes de metabólitos especiais que são característicos de determinado grupo botânico. Além disso, a variação destes compostos está relacionada com a influência do clima, com a composição do solo, com o período vegetativo entre outros fatores (Soares *et al.*, 2016).

O método escolhido para a triagem fitoquímica foi através da CCD, utilizando reveladores químicos como a vanilina e o anisaldeído (reveladores universais), NP/PEG (flavonoides), KOH 5% (antraquinonas, cumarinas e antronas), iodocloroplatinado e Dragendorff (alcaloides), além da inspeção na câmara de UV em 254 nm e 365 nm. De acordo com a coloração apresentada com a aplicação dos reveladores nas placas de CCD, os extratos e frações indicaram a presença de diferentes classes de metabólitos especiais (Figura 22).

Todos os extratos indicaram a presença de flavonoides ao serem revelados com NP/PEG e vanilina. Diferente das espécies coletadas no bioma da Mata Atlântica (*S. multijuga*, *C. fistula*, *C. javanica*, *C. grandis*), as espécies *S. rugosa* e *S. velutina* coletadas no Cerrado, indicaram a presença de proantocianidinas nos extratos e frações

ao serem revelados com vanilina, apresentando manchas de coloração rosa, sendo o indicativo de proantocianidinas.

Figura 22 – CCD com reveladores químicos das frações da extração líquido-líquido.



1: FHSr-fo, 2: FDSr-fo, 3: FHSr-fl, 4: FDSr-fl, 5: FHSv-fo, 6: FDSv-fo, 7: FHSv-fl, 8: FDSv-fl, 9: FHCg-fo, 10: FDCg-fo, 11: FHCf-fo, 12: FDCf-fo, 13: FHCj-fo, 14: FDCj-fo, 15: FHCj-fl, 16: FDCj-fl, 17: FASr-fo, 18: FHMSr-fo, 19: FASr-fl, 20: FHMSr-fl, 21: FASv-fo, 22: FHMSv-fo, 23: FASv-fl, 24: FHMSv-fl, 25: FACf-fo, 26: FHMCf-fo, 27: FACg-fo, 28: FHMCg-fo, 29: FACj-fo, 30: FHMCj-fo, 31: FACj-fl, 32: FHMCj-fl. A e E: UV 254 nm; B e D: UV 365 nm; C, H, I e J: vanilina; F: KOH 5% no visível; G: KOH 5% UV 365 nm. Fase móvel: DCM/MeOH 9:1 e DCM/MeOH 7:3. Fonte: a autora.

Nas frações, foram observadas manchas com colorações indicativas de flavonoides, ácidos graxos, cumarinas, compostos fenólicos, antraquinonas e cromonas, corroborando com os diversos estudos envolvendo a triagem fitoquímica nesses gêneros (Rodrigues; Souza; Ferreira, 2009; Macedo; Silva; Silva, 2016; Neves *et al.*, 2022). Entretanto, nenhum EE ou fração da extração líquido-líquido indicou a presença de alcaloides (Tabela 6). Conhecendo as classes de metabólitos especiais presentes nos EE e frações, é esperado que o material vegetal destas espécies apresente atividades biológicas, devido a presença de terpenos, flavonoides, proantocianidinas, cumarinas e antraquinonas que estão associados a diversas propriedades farmacológicas (Bessa *et al.*, 2013).

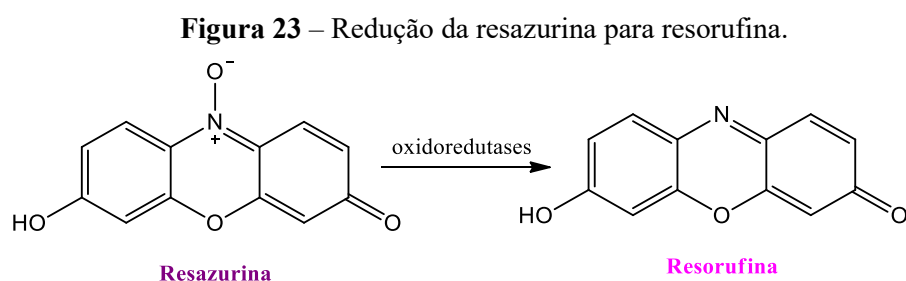
Tabela 6 – Triagem fitoquímica dos EE e frações das espécies de *Cassia* e *Senna*.

Amostras	Antraquinonas		Terpenos, ácidos graxos			
	Flavonoide	Cumarinas	Flavonoides, fenólicos		Alcaloides	
		antronas	Proantocianidinas			
	NP/PEG	KOH 5%	Vanilina	Anisaldeído	IClpt	Dragendorff
ECf-fo	+	+	+	+	–	–
ECg-fo	+	+	+	+	–	–
ECj-fo	+	+	+	+	–	–
ECj-fl	+	+	+	+	–	–
ESm-fo	+	–	+	+	–	–
ESr-fo	+	–	+	+	–	–
ESr-fl	+	+	+	+	–	–
ESv-fo	+	–	+	+	–	–
ESv-fl	+	–	+	+	–	–
FHCf-fo	–	+	+	+	–	–
FDCf-fo	+	+	+	+	–	–
FACf-fo	–	+	+	+	–	–
FHMCf-fo	–	+	+	+	–	–
FHCg-fo	–	+	+	+	–	–
FDCg-fo	+	+	+	+	–	–
FACg-fo	+	–	+	+	–	–
FHMCg-fo	–	–	+	+	–	–
FHCj-fo	–	–	+	+	–	–
FDCj-fo	+	+	+	+	–	–
FACj-fo	–	+	+	+	–	–
FHMCj-fo	–	–	+	+	–	–
FHCj-fl	–	+	+	+	–	–
FDCj-fl	+	+	+	+	–	–
FACj-fl	+	–	+	+	–	–
FHMCj-fl	–	–	+	+	–	–
FHSm-fo	–	–	+	+	–	–
FDSm-fo	+	+	+	+	–	–
FASm-fo	+	+	+	+	–	–
FHMSm-fo	+	+	+	+	–	–
FHSr-fo	–	+	+	+	–	–
FDSr-fo	+	+	+	+	–	–
FASr-fo	+	–	+	+	–	–
FHMSr-fo	+	+	+	+	–	–
FHSr-fl	–	+	+	+	–	–
FDSr-fl	+	+	+	+	–	–
FASr-fl	–	–	+	+	–	–
FHMSr-fl	+	–	+	+	–	–
FHSv-fo	–	–	+	+	–	–
FDSv-fo	+	+	+	+	–	–
FASv-fo	–	–	+	+	–	–
FHMSv-fo	+	+	+	+	–	–
FHSr-fl	–	–	+	+	–	–
FDSr-fl	+	+	+	+	–	–
FASr-fl	–	–	+	+	–	–
FHMSr-fl	+	–	+	+	–	–

Legenda: +: presente, –: ausente. Fonte: a autora.

5.3 Avaliação da atividade antimicrobiana nos EE e frações de *Cassia* e *Senna*

Os extratos e frações das espécies de *Cassia* e *Senna* foram testados frente a bactérias cariogênicas (aeróbias e anaeróbias) e leveduras do gênero *Candida*. Os resultados dos ensaios foram determinados através da Concentração Inibitória Mínima (CIM), obtidos pelo método da microdiluição em caldo. Este método consiste na utilização de um indicador redox como a resazurina, que apresenta coloração roxa e não fluorescente no seu estado oxidado, e apresenta coloração rosa fluorescente na presença de células metabolicamente ativas, pois é reduzida a resorufina (O'brien *et al.*, 2000) (Figura 23).



Fonte: adaptado de O'Brien *et al.*, 2000.

Os valores obtidos para os extratos e frações frente as cepas de bactérias cariogênicas se encontram nas Tabelas 7 e 8, respectivamente. Holetz e colaboradores (2002), estabeleceram critérios para avaliar a atividade antimicrobiana: extratos que apresentem CIM inferior a $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ são considerados tendo boa atividade antimicrobiana. Na faixa de 100 a $500 \mu\text{g mL}^{-1}$, são considerados com atividade antimicrobiana moderada. Concentrações entre 500 e $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$, a atividade antimicrobiana é considerada fraca, e acima de $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$ os extratos são considerados como inativos (Holetz *et al.*, 2002). Ríos e Recio (2005) consideram extratos com CIM abaixo de $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ e compostos isolados com valores abaixo de $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ de grande interesse.

Tabela 7 – Atividade antimicrobiana dos extratos etanólicos (EE) das folhas e flores de *Cassia* e *Senna*.

Microrganismos	CIM (µg mL ⁻¹)									Controle positivo
	Extratos Etanólicos									
	1a	1b	2a	2b	3a	3b	4	5	6	
Bactérias aeróbias										
<i>S. mutans</i> ATCC 25175	400	200	400	400	200	200	400	400	200	0,230
<i>S. smitis</i> ATCC 49456	400	100	>400	400	50	25	>400	400	400	0,922
<i>S. sanguinis</i> ATCC 10556	200	400	400	400	200	200	400	400	400	0,922
<i>A. actinomicetem comitantes</i> ATCC 43717	200	200	200	400	100	100	>400	400	200	3.688
Bactérias anaeróbias										
<i>P. gingivalis</i> ATCC 49417	>400	100	>400	>400	100	50	>400	>400	>400	—
<i>F. nucleatum</i> ATCC 10953	400	200	400	400	400	200	400	400	200	—
<i>A. naeslundii</i> ATCC 19039	100	100	400	>400	400	200	200	>400	>400	—
Leveduras										
<i>C. albicans</i> ATCC 90028	3000	46,87	>3000	1500	46,87	46,87	>3000	23,44	3000	—
<i>C. glabrata</i> ATCC 2001	>3000	5,86	>3000	11,72	5,86	5,86	>3000	>3000	>3000	—
<i>C. tropicalis</i> ATCC 13803	>3000	>3000	>3000	>3000	187,50	187,50	>3000	>3000	>3000	—

Controle positivo de bactérias aeróbicas: clorexidina. O controle do ensaio antibacteriano em bactérias anaeróbicas utilizado foi metronidazol contra as cepas de referência *Bacteroides fragilis* (CIM = $1,47 \mu\text{g mL}^{-1}$). O ensaio antifúngico foi conduzido utilizando anfotericina B como controle positivo contra as cepas *C. krusei* ATCC 6258 (CIM = $1,0 \mu\text{g mL}^{-1}$) e *C. parapsilosis* ATCC 22019 (CIM = $0,5 \mu\text{g mL}^{-1}$) usados como controle para leveduras. 1a: folhas de *S. rugosa*, 1b: flores de *S. rugosa*, 2a: folhas de *C. javanica*, 2b: flores de *C. javanica*, 3a: folhas de *S. velutina*, 3b: flores de *S. velutina*, 4: folhas de *C. fistula*, 5: folhas de *S. multijuga*, 6: folhas de *C. grandis*. Fonte: a autora.

Tabela 8 – Atividade antimicrobiana das frações das folhas e flores de *Cassia* e *Senna*.

Tabela 6 - Atividade antimicrobiana das rações das folhas e flores de <i>Cassia</i> e <i>Senna</i> .													
Microorganismos	CIM ($\mu\text{g mL}^{-1}$)												
	<i>S. multijuga</i> (folhas)				<i>S. rugosa</i> (folhas)				<i>S. rugosa</i> (flores)				
Bactéria aeróbia	FH	FD	FAE	FM	FH	FD	FAE	FM	FH	FD	FAE	FM	C
<i>S. mutans</i>	200	>400	400	400	400	400	400	>400	200	400	400	400	0.2
<i>S. mitis</i>	>400	>400	200	400	>400	200	100	>400	400	400	200	>400	0.9
<i>S. sanguinis</i>	200	400	400	400	200	200	400	>400	100	400	400	>400	0.9
<i>A. actinomycet.</i>	200	>400	400	400	400	200	200	>400	400	400	400	400	3.6
Bactéria Anaeróbica													
<i>P. gingivalis</i>	200	400	>400	>400	>400	100	100	>400	12,5	100	50	>400	–
<i>F. nucleatum</i>	>400	400	400	>400	>400	>400	400	>400	>400	400	>400	>400	–
<i>A. naeslundii</i>	100	100	400	>400	100	400	200	>400	6,25	200	100	200	–
Leveduras													
<i>C. albicans</i>	375	3000	5,86	3000	3000	3000	5,86	3000	750	23,4	11,7	23,4	–
<i>C. glabrata</i>	3000	3000	5,86	3000	3000	3000	5,86	3000	750	11,7	2,93	11,72	–
<i>C. tropicalis</i>	3000	3000	23,44	3000	3000	3000	11,72	3000	750	187,5	23,4	3000	–
<i>S. velutina</i> (folhas)				<i>S. velutina</i> (flores)				<i>C. fistula</i> (folhas)					
Bactéria aeróbia	FH	FD	FAE	FM	FH	FD	FAE	FM	FH	FD	FAE	FM	C
<i>S. mutans</i>	>400	200	200	>400	200	400	400	400	100	>400	>400	>400	0.2
<i>S. mitis</i>	400	100	50	>400	>400	400	200	400	>400	400	>400	>400	0.9
<i>S. sanguinis</i>	200	100	400	400	100	200	400	400	100	200	400	>400	0.9
<i>A. actinomycet.</i>	400	200	100	>400	200	400	200	400	100	400	>400	>400	3.6
Bactéria Anaeróbica													
<i>P. gingivalis</i>	>400	100	>400	400	>400	100	>400	>400	>400	400	400	>400	–
<i>F. nucleatum</i>	>400	>400	400	400	>400	400	>400	>400	>400	400	400	>400	–
<i>A. naeslundii</i>	100	200	200	>400	200	100	100	200	100	100	200	200	–
Leveduras													
<i>C. albicans</i>	1500	46,87	5,86	3000	3000	11,72	5,86	23,44	3000	3000	3000	3000	–
<i>C. glabrata</i>	1500	3000	1,46	3000	3000	2,93	1,46	5,86	3000	3000	3000	3000	–
<i>C. tropicalis</i>	3000	3000	46,87	3000	3000	23,44	11,72	46,87	3000	3000	3000	3000	–
<i>C. grandis</i> (folhas)				<i>C. javanica</i> (folhas)				<i>C. javanica</i> (flores)					
Bactéria aeróbia	FH	FD	FAE	FM	FH	FD	FAE	FM	FH	FD	FAE	FM	C
<i>S. mutans</i>	400	>400	400	400	200	>400	>400	400	200	>400	>400	>400	0.2
<i>S. mitis</i>	400	>400	400	400	>400	>400	>400	>400	>400	400	>400	>400	0.9
<i>S. sanguinis</i>	200	400	400	400	100	200	400	400	100	400	>400	>400	0.9
<i>A. actinomycet.</i>	400	400	200	200	400	400	400	200	200	400	400	>400	3.6
Bactéria Anaeróbica													
<i>P. gingivalis</i>	>400	200	>400	>400	25	100	>400	>400	25	400	>400	>400	–
<i>F. nucleatum</i>	200	100	400	>400	>400	400	>400	>400	>400	100	>400	>400	–
<i>A. naeslundii</i>	100	200	>400	>400	25	200	400	>400	12,5	400	>400	>400	–
Leveduras													
<i>C. albicans</i>	3000	3000	3000	3000	3000	3000	3000	3000	1500	3000	187,5	3000	–
<i>C. glabrata</i>	3000	3000	3000	3000	3000	3000	3000	3000	3000	3000	23,44	23,44	–
<i>C. tropicalis</i>	3000	3000	3000	3000	3000	3000	3000	3000	3000	3000	187,5	3000	–

Controle positivo (C): clorexidina. O controle do ensaio antibacteriano em bactérias anaeróbicas utilizado foi metronidazol contra as cepas de referência *Bacteroides fragilis* (CIM = $1,47 \mu\text{g mL}^{-1}$). O ensaio antifúngico foi conduzido utilizando anfotericina B como controle positivo contra as cepas *C. krusei* ATCC 6258 (CIM = $1,0 \mu\text{g mL}^{-1}$) e *C. parapsilosis* ATCC 22019 (CIM = $0,5 \mu\text{g mL}^{-1}$) usados como controle para leveduras. FH: fração em hexano, FD: fração em diclorometano, FAE: fração em acetato de etila, FM: fração hidrometanólica. Fonte: a autora.

Os valores obtidos na avaliação da atividade antibacteriana contra bactérias aeróbicas mostram que os extratos etanólicos (EE) das flores e folhas de *S. velutina* apresentaram valores de CIM de 25 e $50 \mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente, contra *S. mitis* e $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ contra *A. actinomycetemcomitans*, sendo considerados de boa atividade (Tabela 7). O EE das flores de *S. rugosa* também apresentou valor de CIM de $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ contra *S. mitis*. No ensaio com as frações (Tabela 8), a fração em AcOEt das folhas de *S. velutina* apresentou CIM de $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ contra *S. mitis* e $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ contra *A. actinomycetemcomitans*. A fração DCM das folhas de *S. velutina* apresentou CIM de

100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ contra *S. mitis* e *S. sanguinis*, e a fração em HEX das flores de *S. velutina* exibiu CIM de 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ contra *S. sanguinis*. As frações em HEX das flores de *S. rugosa* e folhas e flores de *C. javanica* apresentaram CIM de 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$, frente a *S. sanguinis*. Os extratos e frações restantes apresentaram valores de CIM acima de 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e foram considerados de atividade antibacteriana moderada a fraca.

No ensaio com as bactérias anaeróbicas, os extratos mais ativos foram o EE das flores de *S. velutina* (CIM = 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$) e das folhas da mesma espécie (CIM = 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$), ambos contra *P. gingivalis*. Os EE das folhas e flores de *S. rugosa* apresentaram CIM de 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ contra *P. gingivalis* e *A. naeslundii*. Em relação às frações, as mais ativas foram a fração em HEX das flores de *S. rugosa* e as frações em HEX das folhas e flores de *C. javanica*, com valores de CIM entre 6,25 e 25 $\mu\text{g mL}^{-1}$ contra *P. gingivalis* e *A. naeslundii*. A fração em AcOEt das flores de *S. rugosa* exibiu valor de CIM de 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$ contra *P. gingivalis*. As frações em DCM das folhas de *S. rugosa*, *C. javanica* e *S. velutina* apresentaram CIM de 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ contra *P. gingivalis*. Já as frações em HEX das folhas de *S. rugosa* e *S. velutina* apresentaram CIM de 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ contra *A. naeslundii* (Tabela 8).

Os resultados de boa atividade antibacteriana nas frações hexânicas contra bactérias anaeróbicas indicam que os compostos menos polares presentes nessas frações podem ser responsáveis pela atividade antibacteriana apresentada. Os demais extratos e frações apresentaram valores de CIM entre 200 a 400 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e foram considerados de atividade moderada (Tabela 8). No ensaio antifúngico, o EE das folhas de *S. rugosa* e das folhas e flores de *S. velutina* (Tabela 7) foram considerados os mais ativos com CIM de 5,86 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para *C. glabrata* e 46,87 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para *C. albicans*. O EE das folhas e flores de *S. velutina* exibiu CIM de 187,50 $\mu\text{g mL}^{-1}$ contra *C. tropicalis*. O EE das flores de *C. javanica* foi ativo apenas contra *C. glabrata* com CIM de 11,72 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e o EE das folhas de *S. multijuga* foi ativo contra *C. albicans* com CIM de 23,44 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

As frações em DCM, AcOEt e hidrometanólica das flores e folhas de *S. velutina* foram ativas contra as três leveduras testadas com valores de CIM entre 1,46 a 46,87 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (Tabela 8). A fração em AcOEt das folhas e flores de *S. rugosa* apresentou valores de CIM de 2,93 $\mu\text{g mL}^{-1}$ a 23,44 $\mu\text{g mL}^{-1}$ contra as três leveduras. A fração hidrometanólica das folhas de *S. rugosa* também apresentou promissora atividade antifúngica com valores de CIM de 5,56 a 23,44 $\mu\text{g mL}^{-1}$, contra *C. albicans* e *C. glabrata*, respectivamente. A fração em AcOEt das folhas de

S. multijuga também foi mais ativo que seu EE, com valores de CIM de 5,86 $\mu\text{g mL}^{-1}$, 5,86 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e 23,44 $\mu\text{g mL}^{-1}$, contra *C. albicans*, *C. glabrata* e *C. tropicalis*, respectivamente. As frações em AcOEt e hidrometanólica das flores de *C. javanica* apresentaram o mesmo valor de CIM de 23,44 $\mu\text{g mL}^{-1}$ contra *C. glabrata*.

Os demais extratos e frações exibiram valores de CIM entre 750–3000 $\mu\text{g mL}^{-1}$, sendo considerados fracamente ativos ou inativos. Esses resultados indicam que essas espécies são promissoras na busca por novos compostos antimicrobianos, especialmente *S. rugosa* e *S. velutina*, que apresentaram valores CIM próximos aos valores exibidos pelos controles positivos testados.

Ainda são escassos os estudos na literatura relacionados as propriedades antimicrobianas de *S. velutina* e *S. rugosa* e de seus constituintes químicos. O extrato etanólico das folhas de *S. rugosa* apresentou atividade antimicrobiana contra as bactérias *Staphylococcus aureus* (CIM 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$) e *Pseudomonas aeruginosa* (CIM 250 $\mu\text{g mL}^{-1}$), e contra as leveduras *C. famata* (CIM 62,5 $\mu\text{g mL}^{-1}$), *C. krusei* (CIM 62,5 $\mu\text{g mL}^{-1}$) e *C. tropicalis* (CIM 125 $\mu\text{g mL}^{-1}$) (Cunha *et al.*, 2020). Este é o primeiro estudo frente a bactérias cariogênicas e leveduras do gênero *Candida* em ambas as espécies.

5.4 Atividade citotóxica de *Cassia* e *Senna* frente as células HeLa

Para determinar se os EE e frações apresentam ou não citotoxicidade, verificamos a viabilidade celular em células HeLa. De acordo com os estudos sobre viabilidade celular, é convencionalmente aceito que substâncias que mantêm a viabilidade de 75% em diante podem ser usadas para muitos tipos de aplicações terapêuticas (López-García *et al.*, 2014; Almeida *et al.*, 2021). A partir dos valores de CC_{50} , o índice de seletividade (IS) foi calculado para todos os extratos e frações. Valores positivos de IS indicam seletividade contra microrganismos, enquanto valores negativos indicam toxicidade contra células HeLa (Case *et al.*, 2006).

Como resultado (Tabela 9), quase todos os EE foram capazes de reduzir a viabilidade celular quando as maiores concentrações foram usadas para tratar as células, variando de 400 a 3200 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (menor que 75%), exceto para o EE das flores de *S. velutina* e para o EE das folhas de *S. rugosa*, quando a viabilidade foi significativamente diminuída para 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (abaixo de 75%), demonstrando maior

potencial citotóxico em comparação aos outros extratos. Dentre os microrganismos avaliados, os EE foram mais seletivos frente *Candida* spp. EE das flores de *S. rugosa* e *C. javanica* exibiram IS de 0,90 e 1,44 frente a *C. albicans* e *C. glabrata*, respectivamente. O EE de *S. multijuga* apresentou IS de 1,06 para *C. albicans*. Os EE das folhas e das flores de *S. velutina* foram seletivos às leveduras testadas com IS entre 0,10 a 1,62 (Tabela 10).

As frações das folhas de *S. multijuga* apresentaram viabilidade celular até 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$. A porcentagem de viabilidade celular foi entre 74,1 e 3,9% nas concentrações de 100 a 3200 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (Tabelas 1A e 2A, Apêndice). A maioria das frações de *C. fistula* exibiram viabilidade celular até 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$. As demais frações apresentaram viabilidade celular de 2,6 a 72,9 % nas concentrações mais altas. Grande parte das frações das flores e das folhas de *C. javanica* apresentaram viabilidade celular até 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$, exibindo valores entre 65,8 a 3,3% de viabilidade celular nas concentrações 100 a 3200 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Os valores de CC_{50} e o IS indicaram que seletividade foi maior frente as leveduras. A fração em AcOEt de *S. multijuga* exibiu índice de seletividade de 0,51, 1,11 e 1,11 para *C. albicans*, *C. glabrata* e *C. tropicalis*, respectivamente. As frações em AcOEt e hidrometanólica das flores de *C. javanica* apresentaram IS de 0,66 e 0,93, respectivamente para *C. albicans*. Esses dados indicam que as frações dessas espécies só apresentaram citotoxicidade frente as células HeLa nas concentrações mais altas (Tabelas 1A e 2A, Apêndice).

Tabela 9 – Ensaio de viabilidade celular frente as células HeLa de extratos etanólicos de *Cassia* e *Senna* spp.

$\mu\text{g mL}^{-1}$	Viabilidade Celular (%)								
	1a	1b	2a	2b	3a	3b	4	5	6
0,195	106,00	94,01	96,26	89,91	88,38	98,04	90,93	95,48	96,78
0,391	104,49	91,73	91,80	84,59	100,02	98,96	89,66	10,13	98,97
0,781	99,88	90,61	98,74	91,11	96,90	97,37	92,62	109,57	92,73
1,563	100,71	95,49	85,57	92,57	97,49	97,28	97,50	116,20	91,38
3,125	97,56	99,66	92,72	89,37	99,56	100,25	80,13	104,68	108,88
6,25	101,60	94,47	113,64	95,21	98,02	101,59	83,28	97,08	109,66
12,5	105,58	95,61	108,98	99,22	100,40	107,22	70,13	95,45	109,62
25	94,04	95,89	94,61	87,82	92,20	87,40	90,46	96,62	97,39
50	97,53	92,88	92,83	81,84	84,12	88,92	84,42	94,45	92,71
100	85,75	85,57	85,41	76,84	79,69	78,17	83,29	101,32	86,37
200	68,64	86,76	80,77	75,10	85,83	71,56	63,39	91,07	83,65
400	57,84	48,12	50,67	44,61	8,57	10,04	26,10	8,52	50,46
800	10,81	4,73	18,49	16,78	8,84	10,14	4,58	3,93	24,06
1600	10,13	4,31	14,43	13,38	8,92	11,79	3,90	4,81	18,95
3200	13,87	6,34	15,80	14,57	–	17,00	4,08	8,47	15,11

Porcentagem de células viáveis nas condições experimentais: Controle (meio de cultura): 100%, DMSO 1% (veículo). 1a: folhas de *S. rugosa*, 1b: flores de *S. rugosa*, 2a: folhas de *C. javanica*, 2b: flores de *C. javanica*, 3a: folhas de *S. velutina*, 3b: flores de *S. velutina*, 4: folhas de *C. fistula*, 5: folhas de *S. multijuga*, 6: folhas de *C. grandis*. Fonte: a autora.

Tabela 10 – Concentração citotóxica (CC₅₀) e Índice de seletividade (IS) dos EE das flores e folhas de *Cassia* e *Senna* spp.

EE	CC ₅₀ µg mL ⁻¹	Microrganismos/IS*									
		A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
1a	359,3	-0,05	-0,05	0,25	0,25	–	-0,05	0,55	-0,92	–	–
1b	374,0	0,27	0,57	-0,03	0,27	0,57	0,27	0,27	0,90	1,80	–
2a	381,8	-0,02	–	-0,02	0,28	–	-0,02	-0,02	–	–	–
2b	324,2	-0,09	-0,09	-0,09	-0,09	–	-0,09	–	-0,66	1,44	–
3a	244,3	0,08	0,69	0,08	0,39	0,39	-0,21	-0,21	0,72	1,62	0,11
3b	238,5	0,07	0,98	0,07	0,38	0,68	0,07	0,07	0,70	1,61	0,10
4	220,5	-0,26	–	-0,26	–	–	-0,26	0,04	–	–	–
5	266,3	-0,17	-0,17	-0,17	-0,17	–	-0,17	–	1,06	–	–
6	406,3	0,30	0,007	0,007	0,20	–	0,30	–	-0,86	–	–

*IS = log [CC₅₀/CIM]. 1a: folhas de *S. rugosa*, 1b: flores de *S. rugosa*, 2a: folhas de *C. javanica*, 2b: flores de *C. javanica*, 3a: folhas de *S. velutina*, 3b: flores de *S. velutina*, 4: folhas de *C. fistula*, 5: folhas de *S. multijuga*, 6: folhas de *C. grandis*. A: *S. mutans*, B: *S. mitis*, C: *S. sanguinis*, D: *A. actinomycetemcomitans*, E: *P. gingivalis*, F: *F. nucleatum*, G: *A. naeslundii*, H: *C. albicans*, I: *C. glabrata*, J: *C. tropicalis*. O IS não foi calculado para valores de CIM inconclusivos. Fonte: a autora.

Quanto as frações das espécies mais ativas no ensaio antimicrobiano, *S. rugosa* e *S. velutina*, as frações em DCM (FDSr-fo), AcOEt (FASr-fo) e hidrometanólica (FHMSr-fo) das folhas de *S. rugosa* e hidrometanólica (FHMSr-fl) das flores de *S. rugosa* reduziram a viabilidade celular quando adicionadas às células HeLa de 400 para 3200 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (abaixo de 75%). As frações das folhas de *S. velutina* (FHSv-fo, FDSv-fl, FASv-fl e FHMSv-fo), das flores (FHSv-fo, FDSv-fl e FHMSv-fo) e das flores de *S. rugosa* (FHSr-fl e FASr-fl) diminuíram a viabilidade quando adicionadas às células HeLa em 200 a 3200 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (abaixo de 75%) (Tabela 2A, Apêndice A). As frações em AcOEt das folhas e flores de *S. velutina* e *S. rugosa* apresentaram resultados promissores no teste antimicrobiano contra leveduras do gênero *Candida*, e exibiram valores positivos de IS (entre 0,72 a 2,26) o que sugere sua seletividade para as espécies de *Candida* testadas, indicando assim que são espécies promissoras para continuidade dos estudos (Tabela 11).

Tabela 11 – Concentração citotóxica (CC₅₀) e índice de seletividade (IS) das frações em AcOEt de folhas e flores de *S. velutina* e *S. rugosa*.

de Tomaz e Flores de <i>S. velutina</i> e <i>S. rugosa</i> .				
Frações	CC ₅₀ µg mL ⁻¹	Microrganismos /SI*		
		<i>C. albicans</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. tropicalis</i>
<i>S. velutina</i>				
FHS _v -fo	284,1	-0,72	-0,72	-0,72
FDS _v -fo	387,6	-0,91	—	—
FAS _v -fo	255,8	1,64	2.26	0,74
FHMS _v -fo	266,9	—	—	—
FHS _v -fl	109,8	-1,43	-1,43	-1,43
FDS _v -fl	166,8	1.15	1,75	0,85
FAS _v -fl	125,4	1,33	1,95	1.03
FHMS _v -fl	147,0	0,80	1,40	0,50
<i>S. rugosa</i>				
FHS _r -fo	106,9	-1,45	—	—
FDS _r -fo	269,0	—	—	—
FAS _r -fo	266,9	1,66	1,66	1,36
FHMS _r -fo	381,4	—	—	—
FHS _r -fl	113,9	-0,82	-0,82	-0,82
FDS _r -fl	136,8	0,76	1.07	-0,13
FAS _r -fl	219,3	1.27	1,87	0,97
FHMS _r -fl	303,8	1.11	1.41	—

*IS = $\log [\text{CC}_{50}/\text{CIM}]$. O IS não foi calculado para valores de CIM inconclusivos. Fonte: a autora.

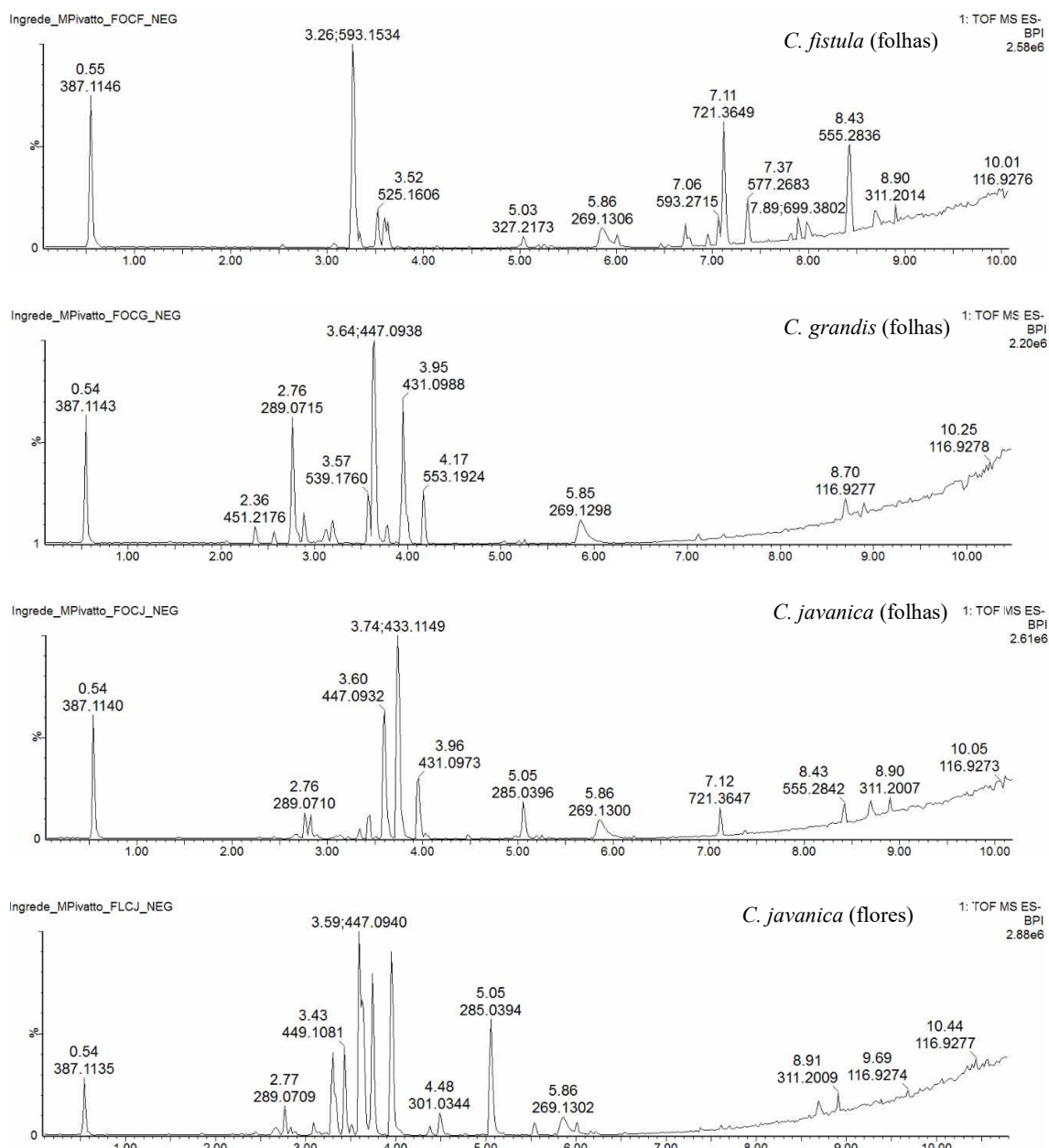
5.5 Anotação de compostos presentes nos EE de *Cassia* e *Senna* por CLUE-IES-EM/EM

Os 9 extratos obtidos das folhas e flores das espécies de *Cassia* e *Senna* foram analisados utilizando a técnica de CLUE acoplada a Espectrometria de Massa por injeção *electrospray* (EM-IES) nos modos positivo e negativo, bem como Espectrometria de Massa em Tandem (EM/EM ou M^2), visando propor a anotação das substâncias presentes em cada extrato. As Figuras 15 a 19 mostram os cromatogramas de cada EE e as Tabelas 6 e 7 listam os compostos anotados em cada EE com seus respectivos tempos de retenção, massas em alta resolução $[M - H]^-$ e $[M + H]^+$, erros em ppm e principais fragmentações.

A CLUE-IES-EM/EM é uma técnica poderosa, de alta sensibilidade e precisão que permite a anotação de compostos orgânicos presentes em amostras complexas (Yin *et al.*, 2019). A CLUE separa os componentes presentes nos extratos, enquanto a EM-IES permite a ionização eficiente desses componentes para análise por espectrometria de massa. A EM/EM fornece informações estruturais adicionais por meio da fragmentação dos íons selecionados (Dias; Melo; Crotti, 2012).

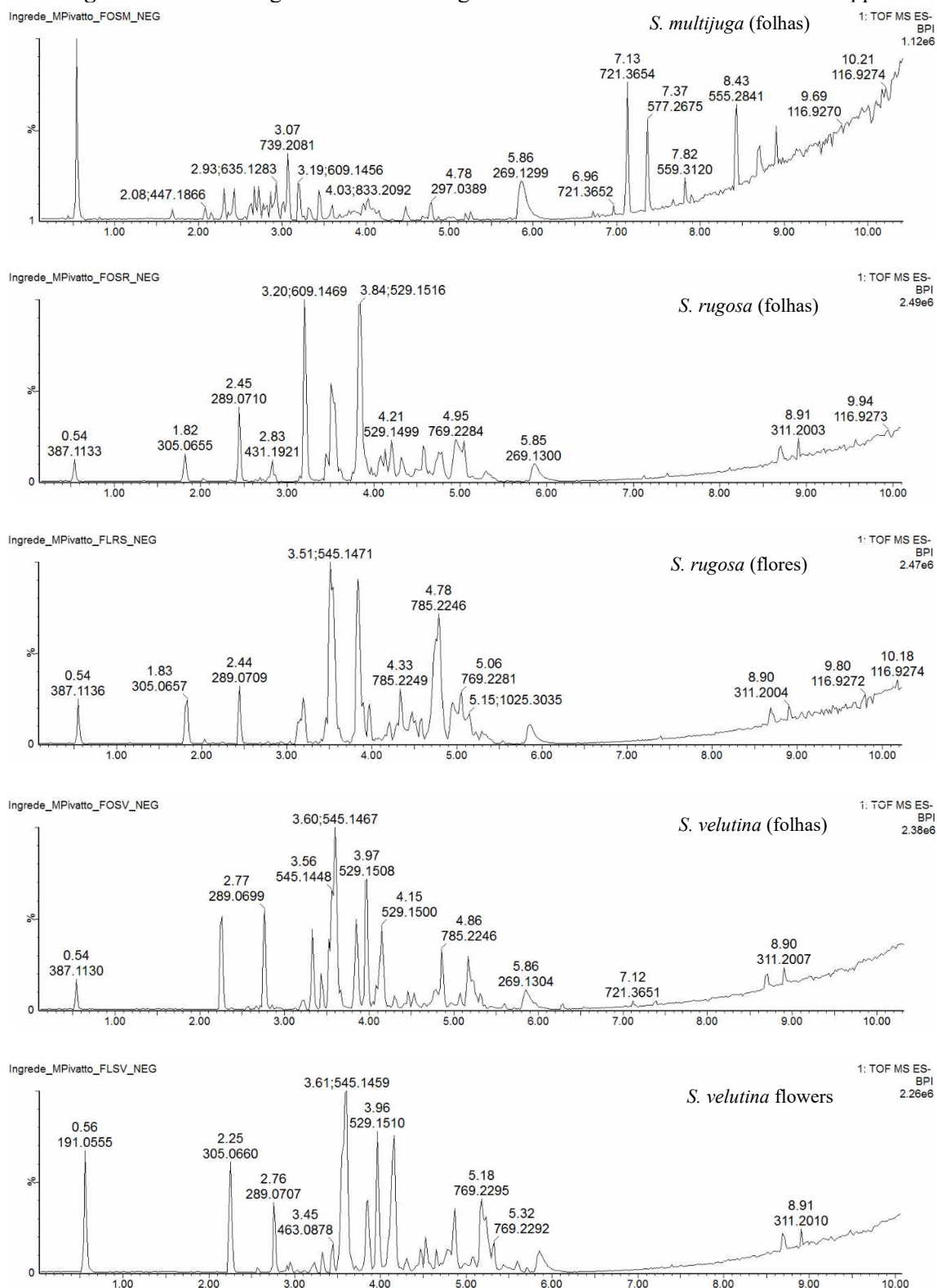
A análise nos modos negativo (Figura 24 e 25) e positivo (Figuras 1A e 2A, Apêndice) permitiu a detecção de íons moleculares e fragmentos característicos de compostos presentes nos EE. A identificação das substâncias foi realizada com base na comparação dos espectros de massas obtidos com a literatura. Os resultados obtidos revelaram uma variedade de classes de metabólitos especiais presentes nos EE de cada espécie (Tabela 12), como flavonoides, ácidos graxos, proantocianidinas, alcaloides, entre outros, sendo os flavonoides e as proantocianidinas compostos majoritários presentes nos EE das folhas e flores das espécies de *S. rugosa* e *S. velutina* (Figuras 26 a 29).

Figura 24 – Cromatogramas no modo negativo dos extratos etanólicos de *Cassia* spp.



Condições: Condições: coluna Acquity UPLC HSS T3 C18 (100,0 mm × 2,1 × 1,8 μm) fase móvel (A) composta por água acidificada com ácido fórmico (0,1% (v.v⁻¹) e fase móvel B acetonitrila e 0.1% de ácido fórmico com gradiente de 5% a 100% de B (14 min). Fonte: a autora.

Figura 25 – Cromatogramas no modo negativo dos extratos etanólicos de *Senna* spp.



Condições: Condições: coluna Acquity UPLC HSS T3 C18 (100,0 mm × 2,1 × 1,8 µm) fase móvel (A) composta por água acidificada com ácido fórmico (0,1% (v.v⁻¹) e fase móvel B acetonitrila e 0.1% de ácido fórmico com gradiente de 5% a 100% de B (14 min). Fonte: a autora.

Entre os flavonoides, canferol m/z 285 $[M - H]^-$ (**37a–37c**) e quercetina m/z 301 $[M - H]^-$ (**38**) e bem como os seus derivados glicosilados quercetina-3-*O*-glicosídeo m/z 463 $[M - H]^-$ (**23a/23b**), canferol-*O*-glicosídeo m/z 447 $[M - H]^-$ (**25a/25b**) e canferol-3-*O*-ramnosídeo m/z 431 $[M - H]^-$ (**31**), respectivamente, foram anotados nas folhas e flores de *C. javanica*. As proantocianidinas dímeras cassiaflavana-galocatequina m/z 545 $[M - H]^-$ (**27a–27f**) e (*ent*)-cassiaflavana-(*epi*)-catequina m/z 529 $[M - H]^-$ (**30a–30g**) e as proantocianidinas trímeras (*ent*)-cassiaflavana(*ent*)-cassiaflavana-(*epi*)-galocatequina m/z 785 $[M - H]^-$ (**36a–36e**) e (*ent*)-cassiaflavana-(*ent*)-cassiaflavana-(*epi*)-catequina m/z 769 $[M - H]^-$ (**39a–39g**) foram anotadas nas folhas e flores de *S. rugosa* e *S. velutina*. A antraquinona réina m/z 283 $[M - H]^-$ (**50**) foi anotada nos EE de *C. fistula* (folhas) e *C. javanica* (flores). Diferentes formas estereoisoméricas podem ter sido anotadas em tempos de retenção diferentes para algumas substâncias (Tabela 12).

Estas classes de metabólitos especiais também foram detectadas na triagem fitoquímica por CCD. Entretanto, no EE das flores de *C. javanica* foram anotados os alcaloides piperidínicos 7-hidroxycassina m/z 314 $[M + H]^+$ (**35**), cassina m/z 298 $[M + H]^+$ (**40**) e prosopina m/z 316 $[M + H]^+$ (**51**), o que não foi detectado durante a triagem fitoquímica nos extratos e frações desta espécie.

Pesquisas envolvendo o uso da CLUE-IES-EM/EM na identificação de compostos foram realizadas no extrato metanólico dos frutos de *C. fistula*, onde foram identificados 31 compostos, entre eles flavonoides, proantocianidinas e antraquinonas (Tan *et al.*, 2018). No extrato etanólico das folhas de *S. velutina*, foram identificados 4 flavonoides e 7 proantocianidinas (Campos *et al.*, 2016). Castro e colaboradores (2019) analisaram o extrato etanólico das raízes de *S. velutina*, e identificaram 11 compostos, majoritariamente flavonoides derivados da catequina e antraquinonas (Castro *et al.*, 2019). Ambas as pesquisas apresentaram perfil químico semelhante ao obtido neste trabalho para a espécie *S. velutina*.

Silva e colaboradores (2019), utilizaram da CLAE-IES-EM/EM para identificar os compostos presentes nos extratos hexânico e etanólico, e em frações das folhas de *C. bakeriana*. Nesta espécie, foi identificado a presença de ácidos fenólicos, flavonoides, ácidos graxos e derivados, antraquinona, esfingolipídeos e proantocianidinas (Silva *et al.*, 2019). Sobeh e colaboradores (2017) identificaram 36 metabólitos especiais nos extratos metanólico das cascas de *S. singueana*, as proantocianidinas foram os compostos majoritários (Sobeh *et al.*, 2017). A análise dos nove EE por CLUE-IES-

EM/EM nesse estudo contribuem para o entendimento da composição química das espécies dos gêneros *Cassia* e *Senna*.

Tabela 12 – Anotação de compostos presentes nos EE de *Cassia* e *Senna* spp. por CLUE-IES-EM/EM nos modos negativo e positivo.

t_R (min)	$[M - H]^-$	Fórmula molecular	Massa exata	Δ (ppm)	Fragmentos EM/EM*	$[M + H]^+$	Compostos anotados	Espécie	Referência
0,54	–	C ₇ H ₇ NO ₂	138,0550	1,44	138	138,0552	ácido 6-metilipicolínico (1)	G	(Suciati <i>et al.</i> , 2023)
0,56	191,0554	C ₇ H ₁₂ O ₆	191,0561	–3,66	173, 137, 127, 109	–	ácido quínico (2)	I	(Nascimento <i>et al.</i> , 2020)
1,69	449,2023	–	–	–	403 , 269, 113	–	n.a	E	–
1,80	305,0657	C ₁₅ H ₁₄ O ₇	305,0667	–3,27	261, 219, 179, 165, 137, 125	–	galocatequina I (3a)	F, G	(Nascimento <i>et al.</i> , 2020)
2,02	353,0872	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	353,0878	–1,69	191 , 179, 135	–	ácido clorogênico (4)	G	(Ng; Lafontaine; Vanier, 2004)
2,05	451,2167	–	–	–	405 , 371, 283, 216, 179, 145	–	n.a	B	–
2,08	447,1866	–	–	–	401 , 239, 191	–	n.a	E	–
2,14	345,1181	–	–	–	299 , 179, 161, 119, 100	–	n.a	E	–
2,24	305,0657	C ₁₅ H ₁₄ O ₇	305,0667	–3,27	261, 219, 179, 125	–	galocatequina II (3b)	H, I	(Nascimento <i>et al.</i> , 2020)
2,30	349,0589	–	–	–	240 , 150	–	n.a	E	–
2,37	451,2178	–	–	–	289 , 179	–	n.a	B	–
2,42	495,1164	–	–	–	387, 180	–	n.a	E	–
2,44	289,0706	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	289,0718	–4,15	245 , 203, 161, 245, 125	291,0863	catequina I (5a)	D, F, G	(Abu-Reidah <i>et al.</i> , 2015a)
2,56	577,1341	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	577,1351	–1,73	451, 425, 381, 339, 289 , 287, 245, 187	–	(<i>epi</i>)-catequina-(<i>epi</i>)-catequina (6)	B, H, I	(Sobeh <i>et al.</i> , 2018)
2,63	387,1647	–	–	–	164, 163	–	n.a	E	–
2,66	447,1501	–	–	–	401 , 269, 161	–	n.a	E	–
2,66	707,1972	–	–	–	525, 435, 289 , 253	–	n.a	D	–
2,71	387,1653	–	–	–	208, 207	–	n.a	E	–
2,77	461,1649	–	–	–	415 , 269, 161	–	n.a	E	–

t_R : tempo de retenção; n.a: não anotado; A: folhas de *C. fistula*, B: folhas de *C. grandis*, C: folhas de *C. javanica*, D: flores de *C. javanica*, E: folhas de *S. multijuga*, F: folhas de *S. rugosa*, G: flores de *S. rugosa*, H: folhas de *S. velutina*, I: flores de *S. velutina*. *Números em negrito indicam o pico base. Continua.

<i>t_R</i> (min)	[M – H] [–]	Fórmula molecular	Massa exata	Δ (ppm)	Fragmentos EM/EM*	[M + H] ⁺	Compostos anotados	Espécie	Referência
2,77	289,0714	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	289,0718	–1,38	227, 221, 203, 187, 179, 165, 151, 137, 125, 109	291,0860	catequina II (5b)	B, C, D, H, I	(Abu-Reidah <i>et al.</i> , 2015a)
2,77	449,1085	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₁	449,1089	–0,89	431, 287 , 269, 259, 178, 151	–	di-hidrocanferol hexosídeo I (7a)	G	(Abu-Reidah <i>et al.</i> , 2015a)
2,82	431,1914	–	–	–	385 , 223, 153	–	n.a	C	–
2,82	363,0737	–	–	–	240, 153	–	n.a	E	–
2,83	405,1396	–	–	–	359 , 245, 190, 161	–	n.a	D	–
2,83	481,1328	–	–	–	348, 294, 273 , 258, 250	–	n.a	G	–
2,85	771,1978	C ₃₃ H ₃₉ O ₂₁	771,2000	–2,85	609 , 463, 301	–	quercetina-3'-O-glicosídeo- 7-O-glicosídeo- oxohexosídeo (8)	H	(Ozarowski <i>et al.</i> , 2018)
2,86	509,1324	–	–	–	449, 180	–	n.a	E	–
2,88	561,1387	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₁	561,1402	–2,67	435, 407, 289 , 271, 245, 179, 125	563,1553	(<i>epi</i>)-afzelequina-(<i>epi</i>)- catequina I (9a)	B, D	(Souza <i>et al.</i> , 2008)
2,90	625,1400	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₇	625,1410	–1,59	463 , 305, 301, 239	–	quercetina-3-sophorosídeo I (10a)	H, I	(Gómez- Romero <i>et al.</i> , 2010)
2,92	635,1283	–	–	–	555 , 435, 255, 231	–	n.a	E	–
2,92	625,1391	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₇	625,1410	–3,03	483, 317, 316 , 257	–	miricetina-3-O-(6-ramnosil)- hexosídeo (11)	G	(Sakna <i>et al.</i> , 2019)
2,93	625,1420	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₇	625,1410	1,59	463 , 307, 301	–	quercetina-3-sophorosídeo II (10b)	I	(Gómez- Romero <i>et al.</i> , 2010)
3,01	479,0816	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₃	479,0831	–3,13	316 , 271	–	miricetina-3-O-glucosídeo (12)	E	(Abu-Reidah <i>et al.</i> , 2015b)
3,03	639,1563	C ₂₈ H ₃₂ O ₁₇	639,1567	–0,62	580, 511, 439, 229, 146	–	isorhamnetina-3- sophorosídeo (13)	G, I	(Gómez- Romero <i>et al.</i> , 2010)

t_R: tempo de retenção; n.a: não anotado; A: folhas de *C. fistula*, B: folhas de *C. grandis*, C: folhas de *C. javanica*, D: flores de *C. javanica*, E: folhas de *S. multijuga*, F: folhas de *S. rugosa*, G: flores de *S. rugosa*, H: folhas de *S. velutina*, I: flores de *S. velutina*. *Números em negrito indicam o pico base. Continua.

<i>t_R</i> (min)	[M – H] [–]	Fórmula molecular	Massa exata	Δ (ppm)	Fragmentos EM/EM*	[M + H] ⁺	Compostos anotados	Espécie	Referência
3,06	609,1450	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	609,1461	–1,80	301, 300 , 148	–	rutina I (14a)	A	(Sakna <i>et al.</i> , 2019)
3,06	739,2081	C ₃₃ H ₄₀ O ₁₉	739,2091	–1,35	575, 284 , 255	–	canferol-3- <i>O</i> -(2,6-diramnosil)-hexosídeo (15)	E	(Sakna <i>et al.</i> , 2019)
3,08	609,1459	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	609,1461	–0,32	517, 284 , 171	–	canferol-3- <i>O</i> -gentiobiosídeo (16)	D	(Nascimento <i>et al.</i> , 2020)
3,10	849,2054	-	-	-	682, 593, 441, 423, 305 , 177 255, 229, 205, 189,	–	n.a	I	-
3,11	273,0760	C ₁₅ H ₁₄ O ₅	273,0757	1,09	187 , 179, 166, 139, 135	–	(<i>epi</i>)-afzelequina I (17a)	B, C	(Silva <i>et al.</i> , 2019)
3,11	-	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₀	547,1610	–2,01	411, 393 , 285, 271, 255, 231, 139	–	(<i>epi</i>)-afzelequina-(<i>epi</i>)-afzelequina I (18a)	B	(Silva <i>et al.</i> , 2019)
3,12	561,1400	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₁	561,1402	–0,35	407, 305 , 255, 221	–	guibourtinidol-galocatequina I (19a)	G	(Nascimento <i>et al.</i> , 2020)
3,12	561,1391	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₁	561,1402	–1,96	409 , 289, 271, 255, 161	–	(<i>epi</i>)-afzelechina-(<i>epi</i>)-catequina II (9b)	H	(Silva <i>et al.</i> , 2019)
3,15	561,1403	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₁	561,1402	0,17	407, 305 , 255, 179	–	guibourtinidol-galocatequina II (19b)	G	(Nascimento <i>et al.</i> , 2020)
3,19	609,1455	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	609,1461	–0,98	562, 302, 300 , 178	611,1618	rutina II (14b)	G, H	(Sakna <i>et al.</i> , 2019)
3,19	479,1187	C ₂₂ H ₂₄ O ₁₂	479,1195	–1,66	438, 391, 299 , 273, 255, 179, 161, 131, 119	–	metil-dihidroquercetina hexósido (20)	B	(Abu-Reidah <i>et al.</i> , 2015b)
3,21	609,1458	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	609,1461	–0,49	302, 300 , 178	–	rutina III (14c)	E, F	(Sakna <i>et al.</i> , 2019)
3,21	561,1389	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₁	561,1402	–2,3	543, 513, 452, 447, 409, 405, 31, 305, 289 , 271, 255, 175	–	(<i>epi</i>)-afzelequina-(<i>epi</i>)-catequina III (9c)	I	(Souza <i>et al.</i> , 2008)
3,24	593,1514	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	593,1512	0,33	429, 285, 284 , 255	–	canferol-3- <i>O</i> -rubinosídeo I (21a)	A	(Sakna <i>et al.</i> , 2019)

t_R: tempo de retenção; n.a: não anotado; A: folhas de *C. fistula*, B: folhas de *C. grandis*, C: folhas de *C. javanica*, D: flores de *C. javanica*, E: folhas de *S. multijuga*, F: folhas de *S. rugosa*, G: flores de *S. rugosa*, H: folhas de *S. velutina*, I: flores de *S. velutina*. *Números em negrito indicam o pico base. Continua.

<i>t_R</i> (min)	[M – H] [–]	Fórmula molecular	Massa exata	Δ (ppm)	Fragmentos EM/EM*	[M + H] ⁺	Compostos anotados	Espécie	Referência
3,26	833,2072	C ₄₅ H ₃₈ O ₁₆	833,2087	–1,80	665, 647, 593, 543, 425, 407, 365, 289 , 239, 177	–	(<i>epi</i>)-afzelequina-(<i>epi</i>)- afzelequina-(<i>epi</i>)catequina I (22a)	G	(Silva <i>et al.</i> , 2019)
3,30	463,0876	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	463,0882	–1,29	301 , 300, 271	–	quercetina-3- <i>O</i> -glicosídeo I (23a)	C, D, G	(Nascimento <i>et al.</i> , 2020)
3,31	473,0749	–	–	–	393, 231 , 187	–	n.a	E	–
3,33	463,0872	–	–	–	445, 235, 145	–	n.a	A	–
3,33	609,1470	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	609,1461	1,47	302, 301 , 300	–	rutina IV (14d)	H, I	(Sakna <i>et al.</i> , 2019)
3,40	833,2083	C ₄₅ H ₃₈ O ₁₆	833,2087	–0,48	665, 365, 305 , 289	–	(<i>epi</i>)-afzelequina-(<i>epi</i>)- afzelequina-(<i>epi</i>)catequina II (22b)	G	(Silva <i>et al.</i> , 2019)
3,42	449,1081	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₁	449,1089	–1,78	303, 285, 151	–	di-hidrocanferol hexosídeo II (7b)	C, D	(Abu-Reidah <i>et al.</i> , 2015a)
3,45	593,1504	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	593,1512	–1,34	285 , 270	595,1659	canferol-3- <i>O</i> -rubinosídeo II (21b)	E, F	(Sakna <i>et al.</i> , 2019)
3,45	545,1445	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₀	545,1453	–1,46	391, 289 , 255, 245	–	guibourtinidol-catequina (24)	G	(Sobeh <i>et al.</i> , 2018)
3,45	463,0870	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	463,0882	–2,59	301 , 300	465, 1048	quercetina-3- <i>O</i> -glucosídeo II (23b)	H, I	(Nascimento <i>et al.</i> , 2020)
3,51	447,0929	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	447,0933	–0,89	327, 285, 284 , 255	–	canferol- <i>O</i> -glicosídeo I (25a)	D	(Abu-Reidah <i>et al.</i> , 2015a)
3,52	525,1606	C ₂₄ H ₃₀ O ₁₃	525,1614	–1,52	479, 231 , 209	–	1-[1,5-dihidroxi-3-metil-8- [3,4,5-triidroxi-6-[(3,4,5- triidoxioxano-2- il)oximetil]oxan-2- il]oxinaftaleno-2-il]etanona (26)	A	(Tan <i>et al.</i> , 2018)

t_R: tempo de retenção; n.a: não anotado; A: folhas de *C. fistula*, B: folhas de *C. grandis*, C: folhas de *C. javanica*, D: flores de *C. javanica*, E: folhas de *S. multijuga*, F: folhas de *S. rugosa*, G: flores de *S. rugosa*, H: folhas de *S. velutina*, I: flores de *S. velutina*. *Números em negrito indicam o pico base. Continua.

<i>t_R</i> (min)	[M – H] [–]	Fórmula molecular	Massa exata	Δ (ppm)	Fragmentos EM/EM*	[M + H] ⁺	Compostos anotados	Espécie	Referência
3,52	593,1506	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	593,1512	–0,67	546, 436, 306, 285, 239	–	canferol-3- <i>O</i> -rubinosídeo III (21c)	H	(Sakna <i>et al.</i> , 2019)
3,53	545,1456	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₀	545,1453	0,55	435, 305 , 239	–	cassiaflavana-galocatequina I (27a)	F, G	(Sobeh <i>et al.</i> , 2018)
3,54	545,1457	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₀	545,1453	0,73	435, 305 , 239, 179	–	cassiaflavana-galocatequina II (27b)	G, H, I	(Sobeh <i>et al.</i> , 2018)
3,57	539,1760	–	–	–	232, 231 , 189	–	n.a	B	–
3,59	545,1467	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₀	545,1453	2,56	435, 421, 305 , 239, 179, 125	–	cassiaflavana-galocatequina III (27c)	H	(Sobeh <i>et al.</i> , 2018)
3,62	545,1452	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₀	545,1453	–0,18	305 , 239, 137	–	cassiaflavana-galocatequina IV (27d)	F	(Sobeh <i>et al.</i> , 2018)
3,63	257,0450	–	–	–	215	–	n.a	A	–
3,64	447,0937	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	447,0933	0,89	302, 300 , 271	–	canferol- <i>O</i> -glicosídeo II (25b)	B, C, D, E	(Abu-Reidah <i>et al.</i> , 2015a)
3,69	505,2281	–	–	–	383, 149	–	n.a	E	–
3,73		C ₁₅ H ₁₄ O ₆	289,0718	–3,45	271, 243, 215 , 195, 153, 149, 121, 107	289,0707	eriodictiol (28)	C, D	(Silva <i>et al.</i> , 2019)
3,75	433,1136	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₀	433,1140	–0,92	287, 269 , 180, 178	–	di-hidrocanferol-3- <i>O</i> - ramnosídeo (29)	C, D	(Silva <i>et al.</i> , 2019)
3,78	417,2120	–	–	–	371 , 284, 161	–	n.a	B	–
3,79	833,2075	C ₄₅ H ₃₈ O ₁₆	833,2087	–1,44	681, 561, 409, 271 , 245	–	(<i>epi</i>)-afzelequina-(<i>epi</i>)- afzelequina-(<i>epi</i>)-catequina III (22c)	E	(Silva <i>et al.</i> , 2019)
3,84	529,1516	C ₃₀ H ₂₆ O ₉	529,1504	2,26	419, 289 , 239, 205	–	(<i>ent</i>)-cassiaflavana-(<i>epi</i>)- catequina I (30a)	F, G, H, I	(Campos <i>et al.</i> , 2016)
3,86	833,2081	C ₄₅ H ₃₈ O ₁₆	833,2087	–0,72	561, 409, 271 , 257, 245	–	(<i>epi</i>)-afzelequina-(<i>epi</i>)- afzelequina-(<i>epi</i>)-catequina IV (22d)	E	(Silva <i>et al.</i> , 2019)
3,87	545,1425	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₀	545,1453	–5,13	419, 273 , 271, 125	–	(<i>epi</i>)-afzelequina-(<i>epi</i>)- afzelequina II (18b)	B	(Silva <i>et al.</i> , 2019)

t_R: tempo de retenção; n.a: não anotado; A: folhas de *C. fistula*, B: folhas de *C. grandis*, C: folhas de *C. javanica*, D: flores de *C. javanica*, E: folhas de *S. multijuga*, F: folhas de *S. rugosa*, G: flores de *S. rugosa*, H: folhas de *S. velutina*, I: flores de *S. velutina*. *Números em negrito indicam o pico base. Continua.

t_R (min)	$[M - H]^-$	Fórmula molecular	Massa exata	Δ (ppm)	Fragmentos EM/EM*	$[M + H]^+$	Compostos anotados	Espécie	Referência
3,89	545,1451	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₀	545,1453	-0,36	435, 305 , 239, 179	—	cassiaflavana-galocatequina V (27e)	G	(Sobeh <i>et al.</i> , 2018)
3,95	529,1508	C ₃₀ H ₂₆ O ₉	529,1504	0,75	419, 289 , 239, 205	—	(<i>ent</i>)-cassiaflavana-(<i>epi</i>)- catequina II (30b)	H, I	(Campos <i>et al.</i> , 2016)
3,96	431,0970	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	431,0984	-3,24	287 , 285 , 284, 255	—	canferol-3- <i>O</i> -ramnosídeo (31)	B, C, D	(Sobeh <i>et al.</i> , 2018)
3,97	435,1288	C ₂₁ H ₂₄ O ₁₀	435,1297	-2,06	273 , 151, 109	—	florizina (32)	E	(Wang <i>et al.</i> , 2017)
3,97	545,1443	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₀	545,1453	-1,83	435, 305 , 239,	—	cassiaflavana-galocatequina VI (27f)	F, G, H	(Sobeh <i>et al.</i> , 2018)
4,02	833,2092	C ₄₅ H ₃₈ O ₁₆	833,2087	0,60	681, 561, 409, 271 , 245	—	(<i>epi</i>)-afzelequina-(<i>epi</i>)- afzelequina-(<i>epi</i>)catequina V (22e)	E	(Silva <i>et al.</i> , 2019)
4,04	801,2191	C ₄₅ H ₃₈ O ₁₄	801,2189	0,24	633, 495, 435, 305 , 255	—	(<i>ent</i>)-cassiaflavana- guibourtinidol-galocatequina I (33a)	G	(Sobeh <i>et al.</i> , 2018)
4,08	833,2090	C ₄₅ H ₃₈ O ₁₆	833,2087	0,36	409, 271 , 257	—	(<i>epi</i>)-afzelequina-(<i>epi</i>)- afzelequina-(<i>epi</i>)catequina VI (22f)	E	(Silva <i>et al.</i> , 2019)
4,08	513,1547	C ₃₀ H ₂₆ O ₈	513,1555	-1,55	403, 273 , 239, 173	—	(<i>ent</i>)-cassiaflavana-(<i>epi</i>)- afzelequina I (34a)	F	(Campos <i>et al.</i> , 2016)
4,13	513,1545	C ₃₀ H ₂₆ O ₈	513,1555	-1,94	403, 273 , 239, 229	—	(<i>ent</i>)-cassiaflavana-(<i>epi</i>)- afzelequina II (34b)	F	(Campos <i>et al.</i> , 2016)
4,15	529,1499	C ₃₀ H ₂₆ O ₉	529,1504	-0,94	377, 289 , 239, 125	—	(<i>ent</i>)-cassiaflavana- (<i>epi</i>)- catequina III (30c)	G, H, I	(Campos <i>et al.</i> , 2016)
4,16	833,2072	C ₄₅ H ₃₈ O ₁₆	833,2087	-1,80	681, 561, 409, 271 , 257, 161	—	(<i>epi</i>)-afzelequina-(<i>epi</i>)- afzelequina-(<i>epi</i>)-catequina VII (22g)	E	(Silva <i>et al.</i> , 2019)
4,18	553,1921	—	—	—	246, 245 , 230	—	n.a	B	—
4,20	529,1498	C ₃₀ H ₂₆ O ₉	529,1504	-1,13	419, 289 , 239, 205	—	(<i>ent</i>)-cassiaflavana-(<i>epi</i>)- catequina IV (30d)	F, G	(Campos <i>et al.</i> , 2016)

t_R : tempo de retenção; n.a: não anotado; A: folhas de *C. fistula*, B: folhas de *C. grandis*, C: folhas de *C. javanica*, D: flores de *C. javanica*, E: folhas de *S. multijuga*, F: folhas de *S. rugosa*, G: flores de *S. rugosa*, H: folhas de *S. velutina*, I: flores de *S. velutina*. *Números em negrito indicam o pico base. Continua.

<i>t_R</i> (min)	[M – H] [–]	Fórmula molecular	Massa exata	Δ (ppm)	Fragmentos EM/EM*	[M + H] ⁺	Compostos anotados	Espécie	Referência
4,22	-	C ₁₈ H ₃₅ NO ₃	314,2684	4,45	296, 278, 250, 120	314,2698	7-hidroxycassina (35)	D	(Pivatto <i>et al.</i> , 2005)
4,27	785,2243	C ₄₅ H ₃₈ O ₁₃	785,2240	0,38	767, 545, 435, 305 , 289, 255	–	cassiaflavana-cassiaflavana- (<i>epi</i>)-galocatequina I (36a)	G, I	(Campos <i>et al.</i> , 2016)
4,31	529,1500	C ₃₀ H ₂₆ O ₉	529,1504	–0,75	419, 289 , 239, 205, 165	–	(<i>ent</i>)-cassiaflavana-(<i>epi</i>)- catequina V (30e)	F	(Campos <i>et al.</i> , 2016)
4,33	785,2248	C ₄₅ H ₃₈ O ₁₃	785,2240	1,01	545, 435, 305 , 289, 239	–	cassiaflavana-cassiaflavana- epigalocatequina II (36b)	G, H	(Campos <i>et al.</i> , 2016)
4,37	493,2280	-	-	-	448, 447 , 315, 161	–	n.a	D	-
4,42	785,2232	C ₄₅ H ₃₈ O ₁₃	785,2240	–1,01	767, 529, 435, 305 , 289, 239	–	cassiaflavana-cassiaflavana- (<i>epi</i>)-galocatequina III (36c)	H	(Campos <i>et al.</i> , 2016)
4,45	801,2191	C ₄₅ H ₃₈ O ₁₄	801,2189	0,24	691, 561, 545, 435, 305 , 255, 239	–	(<i>ent</i>)-cassiaflavana- guibourtinidol-galocatequina II (33b)	G	(Sobeh <i>et al.</i> , 2018)
4,46	529,1498	C ₃₀ H ₂₆ O ₉	529,1504	–1,13	289 , 239, 205	–	(<i>ent</i>)-cassiaflavana-(<i>epi</i>)- catequina VI (30f)	H	(Campos <i>et al.</i> , 2016)
4,47	285,0392	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	285,0405	–4,56	271, 267, 257, 217, 199, 185, 175 , 151, 133	287,0552	canferol I (37a)	E, I	(Tan <i>et al.</i> , 2018)
4,48	301,0344	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	301,0354	–3,32	178, 151 , 107	303,0503	quercetina (38)	D	(Abu-Reidah <i>et al.</i> , 2015a)
4,48	285,0398	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	285,0405	–2,45	256, 175, 151 , 133	287,0553	canferol II (37b)	C	(Tan <i>et al.</i> , 2018)
4,48	769,2294	C ₄₅ H ₃₈ O ₁₂	769,2291	0,39	529, 419, 289 , 239	–	(<i>ent</i>)-cassiaflavana-(<i>ent</i>)- cassiaflavana-(<i>epi</i>)- catequina I (39a)	F	(Campos <i>et al.</i> , 2016)
4,49	–	C ₁₈ H ₃₅ NO ₃	298,2735	2,34	280 , 240, 189	298,2742	cassina (40)	D	(Pivatto <i>et al.</i> , 2005)
4,53	529,1499	C ₃₀ H ₂₆ O ₉	529,1504	–0,94	377, 289, 255, 239 , 137	–	(<i>ent</i>)-cassiaflavana-(<i>epi</i>)- catequina VII (30g)	H, I	(Campos <i>et al.</i> , 2016)

t_R: tempo de retenção; n.a: não anotado; A: folhas de *C. fistula*, B: folhas de *C. grandis*, C: folhas de *C. javanica*, D: flores de *C. javanica*, E: folhas de *S. multijuga*, F: folhas de *S. rugosa*, G: flores de *S. rugosa*, H: folhas de *S. velutina*, I: flores de *S. velutina*. *Números em negrito indicam o pico base. Continua.

<i>t_R</i> (min)	[M – H] [–]	Fórmula molecular	Massa exata	Δ (ppm)	Fragmentos EM/EM*	[M + H] ⁺	Compostos anotados	Espécie	Referência
4,58	769,2296	C ₄₅ H ₃₈ O ₁₂	769,2291	0,65	529, 479, 419, 289 , 239, 205	–	(<i>ent</i>)-cassiaflavana-(<i>ent</i>)- cassiaflavana-(<i>epi</i>)- catequina II (39b)	F, G	(Campos <i>et al.</i> , 2016)
4,63	513,1552	C ₃₀ H ₂₆ O ₈	513,1555	–0,58	365, 273, 255, 239, 215, 137, 125	–	(<i>ent</i>)-cassiaflavana-(<i>epi</i>)- afzelequina III (34c)	H, I	(Campos <i>et al.</i> , 2016)
4,64	769,2292	C ₄₅ H ₃₈ O ₁₂	769,2291	0,13	529, 419, 289 , 21,0439	–	(<i>ent</i>)-cassiaflavana-(<i>ent</i>)- cassiaflavana-(<i>epi</i>)- catequina III (39c)	F	(Campos <i>et al.</i> , 2016)
4,67	273,0757	C ₁₅ H ₁₄ O ₅	273,0757	0,00	228, 211, 151 , 145, 109	–	(<i>epi</i>)-afzelequina II (17b)	E	(Silva <i>et al.</i> , 2019)
4,76	785,2245	C ₄₅ H ₃₈ O ₁₃	785,2240	0,63	546, 545, 435, 305 , 239, 180	–	cassiaflavana-cassiaflavana- (<i>epi</i>)-galocatequina IV (36d)	F, G, H, I	(Campos <i>et al.</i> , 2016)
4,78	297,0389	–	–	–	279 , 159	–	n.a	E	–
4,78	785,2237	C ₄₅ H ₃₈ O ₁₃	785,2240	–0,38	769, 675, 545 , 435, 305, 239	–	cassiaflavana-cassiaflavana- (<i>epi</i>)-galocatequina V (36e)	H	(Campos <i>et al.</i> , 2016)
4,85	785,2245	C ₄₅ H ₃₈ O ₁₃	785,2240	0,63	546, 545, 435, 305 , 289	–	cassiaflavana-cassiaflavana- (<i>epi</i>)-galocatequina VI (36f)	H, I	(Campos <i>et al.</i> , 2016)
4,95	769,2283	C ₄₅ H ₃₈ O ₁₂	769,2291	–1,04	529, 419, 289 , 239, 205	–	(<i>ent</i>)-cassiaflavana-(<i>ent</i>)- cassiaflavana-(<i>epi</i>)- catequina IV (39d)	F, G, H, I	(Campos <i>et al.</i> , 2016)
5,03	327,2173	C ₁₈ H ₃₂ O ₅	327,2177	–1,22	211, 171	–	ácido tri-hidroxi- octadecadienoico (41)	A, E	(Silva <i>et al.</i> , 2019)
5,04	769,2297	C ₄₅ H ₃₈ O ₁₂	769,2291	0,78	659, 529, 419, 289 , 239	–	(<i>ent</i>)-cassiaflavana-(<i>ent</i>)- cassiaflavana-(<i>epi</i>)- catequina V (39e)	G, I	(Campos <i>et al.</i> , 2016)
5,05	285,0396	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	285,0405	–3,15	229, 185, 151	287,0545	canferol III (37c)	C, D	(Tan <i>et al.</i> , 2018)
5,05	769,2281	C ₄₅ H ₃₈ O ₁₂	769,2291	–1,30	659, 529, 419, 289 , 239, 205	–	(<i>ent</i>)-cassiaflavana-(<i>ent</i>)- cassiaflavana-(<i>epi</i>)- catequina VI (39f)	G, H	(Campos <i>et al.</i> , 2016)

t_R: tempo de retenção; n.a: não anotado; A: folhas de *C. fistula*, B: folhas de *C. grandis*, C: folhas de *C. javanica*, D: flores de *C. javanica*, E: folhas de *S. multijuga*, F: folhas de *S. rugosa*, G: flores de *S. rugosa*, H: folhas de *S. velutina*, I: flores de *S. velutina*. *Números em negrito indicam o pico base. Continua.

t_R (min)	$[M - H]^-$	Fórmula molecular	Massa exata	Δ (ppm)	Fragmentos EM/EM*	$[M + H]^+$	Compostos anotados	Espécie	Referência
5,16	769,2291	C ₄₅ H ₃₈ O ₁₂	769,2291	0,00	617, 529 , 365, 289	–	(<i>ent</i>)-cassiaflavana-(<i>ent</i>)- cassiaflavana-(<i>epi</i>)- catequina VII (39g)	H, I	(Campos <i>et al.</i> , 2016)
5,19	242,1763	C ₁₃ H ₂₄ NO ₃	242,1773	–4,12	225 , 181, 150	–	ácido 13-amino-13-oxo- tridecanóico (42)	A, B, E	(Gómez- Romero <i>et al.</i> , 2010)
5,13	1025,3029	C ₆₀ H ₄₉ O ₁₆	1025,3030	–0,9	785, 545, 435, 305 , 239	–	(<i>ent</i>)-cassiaflavana-(<i>ent</i>)- cassiaflavana-(<i>ent</i>)- cassiaflavana-(<i>epi</i>)- galocatequina I (43a)	G	Proposta da autora
5,21	1025,3029	C ₆₀ H ₄₉ O ₁₆	1025,3030	–0,9	1009, 915, 785, 545, 435, 305 , 255	–	(<i>ent</i>)-cassiaflavana-(<i>ent</i>)- cassiaflavana-(<i>ent</i>)- cassiaflavana-(<i>epi</i>)- galocatequina II (43b)	G	Proposta da autora
5,22	227,1283	C ₁₂ H ₂₀ O ₄	227,1289	–2,64	183 , 165	–	ácido traumático (44)	A, B, E	(Silva <i>et al.</i> , 2019)
5,22	769,2294	C ₄₅ H ₃₈ O ₁₂	769,2291	0,39	617, 529, 377, 239, 151	–	cassiaflavana-naringenina- afzelequina I (45a)	H, I	(Campos <i>et al.</i> , 2016)
5,28	1009,3076	C ₆₀ H ₅₀ O ₁₅	1009,3077	–0,09	899, 769, 659, 529, 419 , 289, 239	–	(<i>ent</i>)-cassiaflavana-(<i>ent</i>)- cassiaflavana-(<i>ent</i>)- cassiaflavana-(<i>epi</i>)- catequina I (46a)	G	(Moura <i>et al.</i> , 2020)
5,31	329,2331	C ₁₈ H ₃₄ O ₅	329,2333	–0,60	211, 171, 139	–	ácido hidroxioceta- decanodioico (47)	A	(Silva <i>et al.</i> , 2019)
5,31	769,2286	C ₄₅ H ₃₈ O ₁₂	769,2291	–0,65	617 , 605, 377, 151	–	cassiaflavana-naringenina- afzelequina II (45b)	H, I	(Campos <i>et al.</i> , 2016)
5,44	1009,3076	C ₆₀ H ₅₀ O ₁₅	1009,3077	–0,09	857, 769 , 617, 529, 377, 239, 205	–	(<i>ent</i>)-cassiaflavana-(<i>ent</i>)- cassiaflavana-(<i>ent</i>)- cassiaflavana-(<i>epi</i>)- catequina II (46b)	H, I	(Moura <i>et al.</i> , 2020)

t_R : tempo de retenção; n.a: não anotado; A: folhas de *C. fistula*, B: folhas de *C. grandis*, C: folhas de *C. javanica*, D: flores de *C. javanica*, E: folhas de *S. multijuga*, F: folhas de *S. rugosa*, G: flores de *S. rugosa*, H: folhas de *S. velutina*, I: flores de *S. velutina*. *Números em negrito indicam o pico base. Continua.

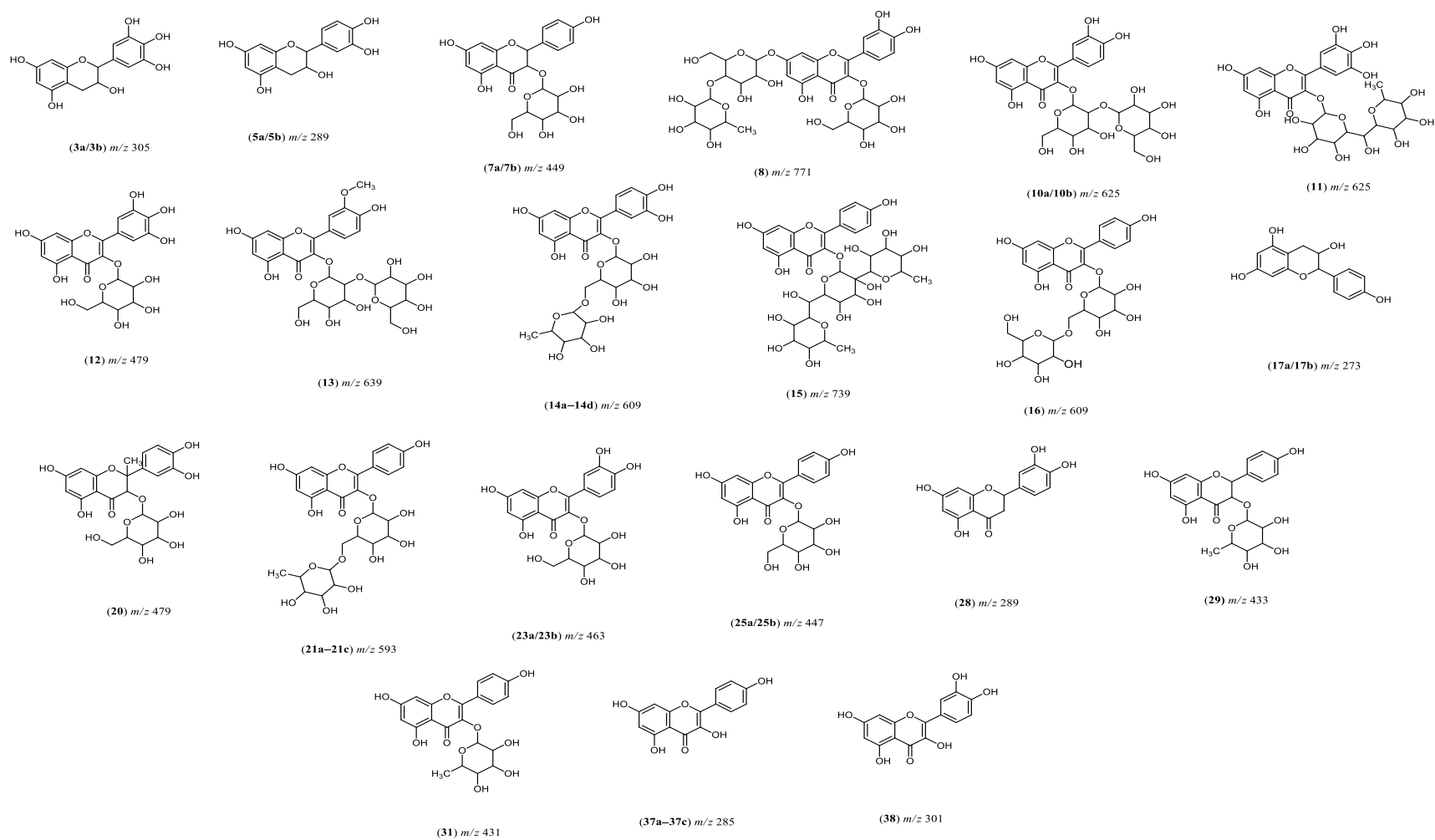
<i>t_R</i> (min)	[M – H] [–]	Fórmula molecular	Massa exata	Δ (ppm)	Fragmentos EM/EM*	[M + H] ⁺	Compostos anotados	Espécie	Referência
5,51	287,2217	C ₁₆ H ₃₁ O ₄	287,2228	–3,82	269	–	ácido dihidroxipalmítico (48)	D, G	(Gómez- Romero <i>et al.</i> , 2010)
5,58	753,2335	C ₄₅ H ₃₈ O ₁₁	753,2341	–0,79	562, 513, 365, 239 , 151	–	(<i>ent</i>)-cassiaflavana-(<i>epi</i>)- fisetinidol-(<i>ent</i>)- cassiaflavana (49)	I	(Moura <i>et al.</i> , 2020)
5,85	269,1306	–	–	–	248	–	n.a	A, B, C, D, E, F, G, H, I	–
6,00	283,0243	C ₁₅ H ₈ O ₆	283,0248	–1,76	257, 239 , 183, 151	–	reína (50)	A, D	(Cunha <i>et al.</i> , 2017)
6,28	580,2910	–	–	–	–	–	n.a	H	–
6,56	–	C ₁₈ H ₃₇ NO ₃	316,2846	1,89	298 , 280, 219	316,2852	prosopina (51)	D	(Nascimento <i>et al.</i> , 2020)
6,56	–	C ₁₈ H ₃₉ NO ₃	318,3003	0,00	300, 282 , 270, 252	318,3003	fitoesfingosina (52)	D	(Silva <i>et al.</i> , 2019)
6,71	883,4183	–	–	–	837, 577, 559 , 397, 179	–	n.a	A	–
6,95	721,3649	–	–	–	675, 415, 397 , 277, 235	–	n.a	A, B, E	–
7,06	593,2715	–	–	–	413, 277	–	n.a	A	–
7,09	721,3651	–	–	–	675, 415, 397 , 277, 235	–	n.a	A, H	–
7,10	–	C ₂₁ H ₃₆ O ₄	353,2697	–1,98	262, 261 , 243, 173, 149, 121, 105	353,2690	monoglicerídeo do ácido linolênico (53)	A, E	(Abu-Reidah <i>et al.</i> , 2015a)
7,11	721,3647	–	–	–	676, 415, 397 , 277, 235, 161	–	n.a	C, E	–
7,36	577,2651	–	–	–	299, 225, 164	–	n.a	A, E	–
7,68	–	C ₃₃ H ₄₅ NO ₄	520,3421	–3,84	502, 337, 184 , 104	520,3401	sespendole (54)	C, I	(Abu-Reidah <i>et al.</i> , 2015a)
7,81	559,3113	–	–	–	513, 277 , 253	–	n.a	A, E	–

t_R: tempo de retenção; n.a: não anotado; A: folhas de *C. fistula*, B: folhas de *C. grandis*, C: folhas de *C. javanica*, D: flores de *C. javanica*, E: folhas de *S. multijuga*, F: folhas de *S. rugosa*, G: flores de *S. rugosa*, H: folhas de *S. velutina*, I: flores de *S. velutina*. *Números em negrito indicam o pico base. Continua.

<i>t_R</i> (min)	[M – H] [–]	Fórmula molecular	Massa exata	Δ (ppm)	Fragmentos EM/EM*	[M + H] ⁺	Compostos anotados	Espécie	Referência
7,88	699,3802	–	–	–	653, 415, 397 , 225	–	n.a	A, E	–
7,99	571,2891	–	–	–	315, 255, 152	–	n.a	A	–

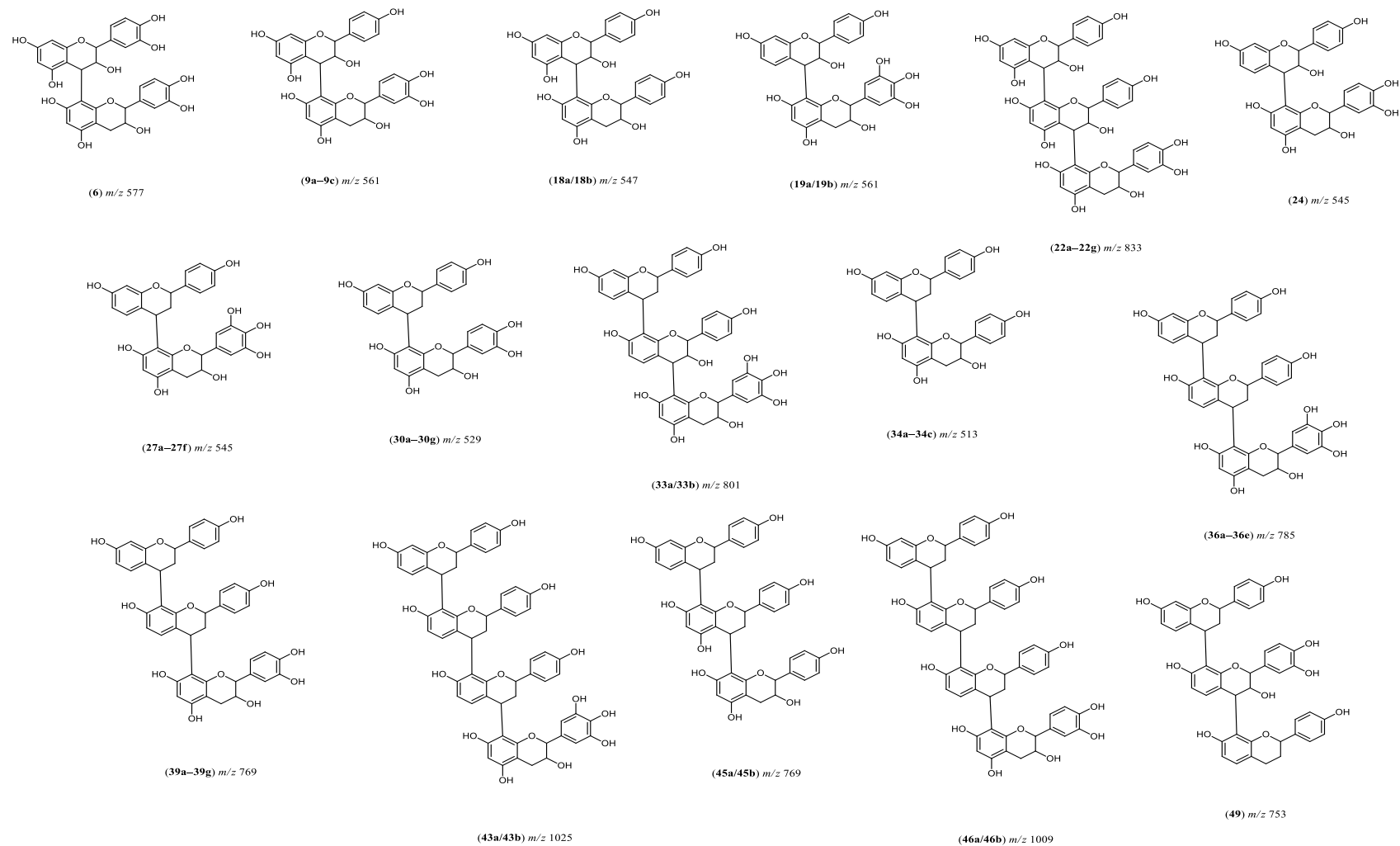
t_R: tempo de retenção; n.a: não anotado; A: folhas de *C. fistula*, B: folhas de *C. grandis*, C: folhas de *C. javanica*, D: flores de *C. javanica*, E: folhas de *S. multijuga*, F: folhas de *S. rugosa*, G: flores de *S. rugosa*, H: folhas de *S. velutina*, I: flores de *S. velutina*. *Números em negrito indicam o pico base. Fonte: a autora.

Figura 26 – Flavonoides anotados nos extratos etanólicos das flores e folhas de *Cassia* e *Senna* spp.



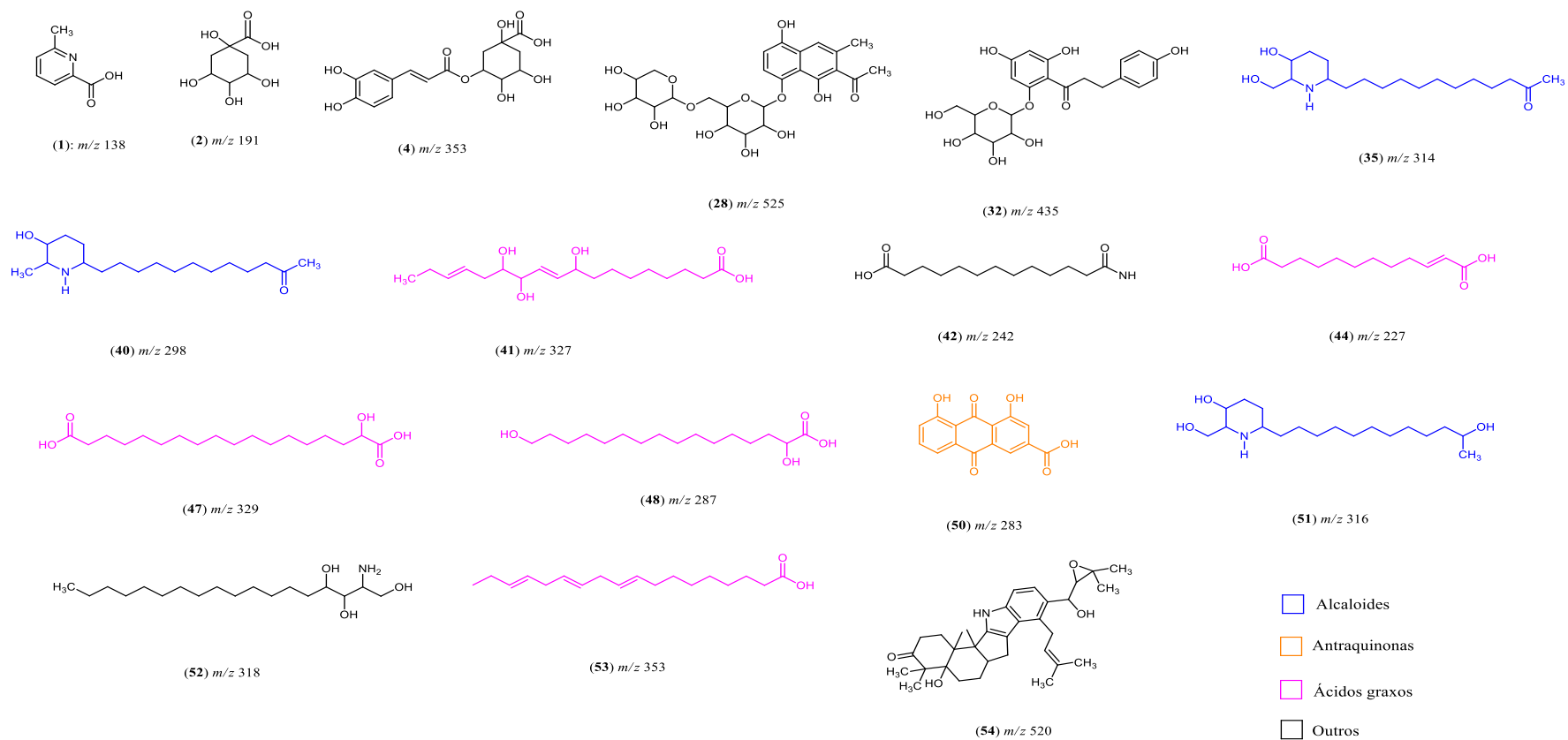
Fonte: a autora.

Figura 27 – Proantocianidinas anotadas nos extratos etanólicos das flores e folhas de *Cassia* e *Senna* spp.



Fonte: a autora.

Figura 28 – Compostos anotados nos extratos etanólicos das flores e folhas de *Cassia* e *Senna* spp.

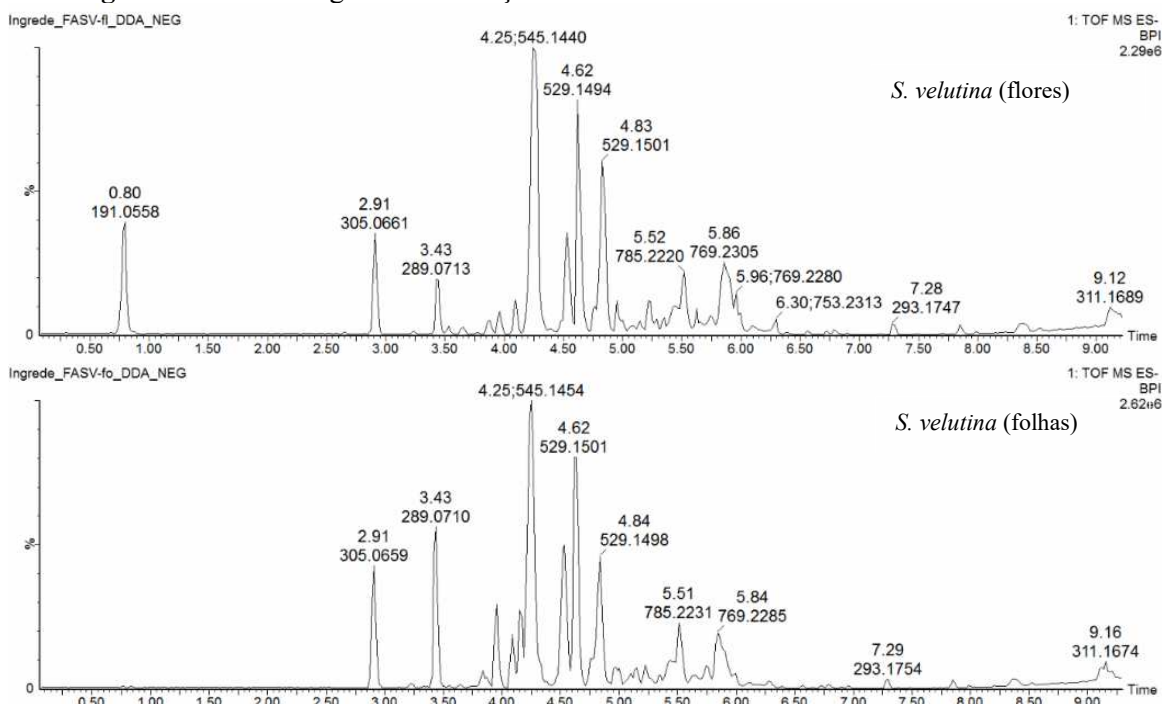


Fonte: a autora.

5.6 Constituintes químicos presentes nas frações ativas de *S. velutina*

As frações em AcOEt das folhas (FASv-fo) e das flores (FASv-fl) de *S. velutina* foram as mais ativas contra *Candida* spp., não apresentando citotoxicidade frente as célula HeLa no ensaio de viabilidade celular nas menores concentrações. Portanto, essas frações foram analisadas por CLUE-IES-EM no modo negativo para obter os cromatogramas BPI (Figura 30), que permitiram a identificação de compostos das classes dos flavonoides e das proantocianidinas. As anotações foram realizadas utilizando massas exatas e fragmentações, comparando os dados com a literatura. A Tabela 13 resume os tempos de retenção (t_R), massas em alta resolução $[M - H]^-$, fórmulas moleculares, erros (ppm) entre valores teóricos e massas acuradas, e os principais fragmentos EM/EM para a anotação dos compostos **1–16**. Picos cromatográficos em diferentes tempos de retenção com espectros de massas semelhantes foram considerados epímeros e diastereômeros (Figura 31).

Figura 29 – Cromatogramas das frações em AcOEt das folhas e flores de *S. velutina*.



Condições: Condições: coluna Acquity UPLC HSS T3 C18 (100,0 mm × 2,1 × 1,8 μ m) fase móvel (A) composta por água acidificada com ácido fórmico (0,1% (v.v⁻¹) e fase móvel B acetonitrila e 0.1% de ácido fórmico com gradiente de 5% a 100% de B (14 min). Fonte: a autora.

Tabela 13 – Composição química das frações em AcOEt das folhas (FASv-fo) e flores (FASv-fl) de *S. velutina* por CLUE-(–)-IES-EM/EM.

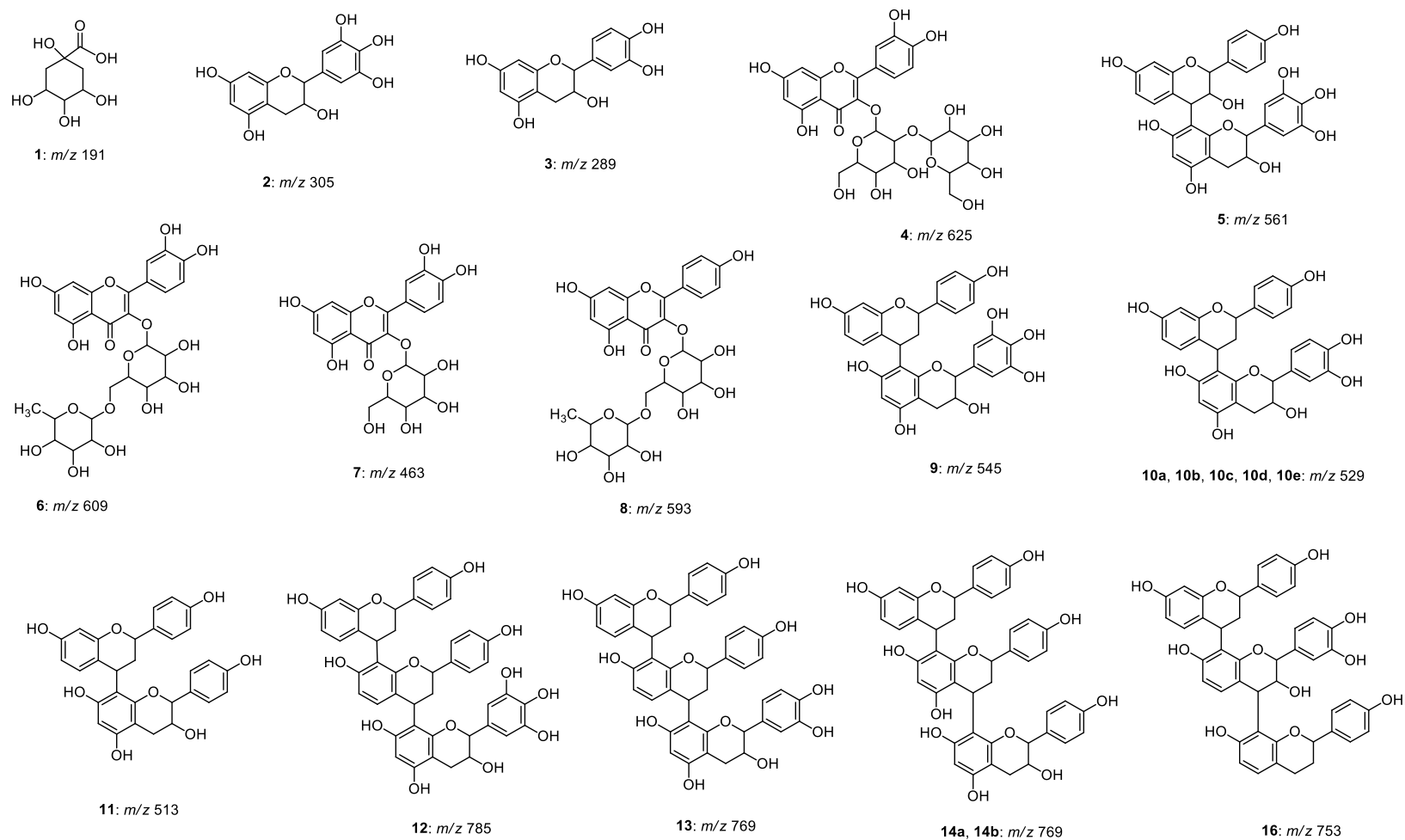
	<i>t_R</i> (min)	[M – H] [–]	Fórmula molecular	[M – H] [–] exact mass	Δ (ppm)	EM/EM Fragmentos ^a	Compostos identificados	FAE	Referência
1	0,78	191,0555	C ₇ H ₁₂ O ₆	191,0561	–3,14	173, 127, 111	ácido quínico	FASv-fl	(Abu-Reidah <i>et al.</i> , 2015)
2	2,89	305,0662	C ₁₅ H ₁₄ O ₇	305,0667	–1,63	261, 219, 179, 167, 137, 125 , 109	galocatequina	FASv-fo e FASv-fl	(Sobeh <i>et al.</i> , 2017; Nascimento <i>et al.</i> , 2020)
3	3,44	289,0718	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	289,0718	0,00	245, 203, 187, 151, 123, 109	catequina	FASv-fo e FASv-fl	(Sobeh <i>et al.</i> , 2017; Nascimento <i>et al.</i> , 2020)
4	3,53	625,1430	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₇	625,1410	3,19	464, 463, 302, 301 , 300, 271	quercetina-3- soforosídeo	FASv-fl	(Gómez-Romero <i>et al.</i> , 2010)
5	3,85	561,1392	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₁	561,1402	–1,78	451, 421, 305 , 255, 221, 145, 125	guibourtinidol- galocatequina	FASv-fl	(Abu-Reidah <i>et al.</i> , 2015)
6	3,96	609,1445	C ₃₃ H ₄₀ O ₂₁	609,1461	–2,62	302, 301 , 300	rutina	FASv-fo e FASv-fl	(Sakna <i>et al.</i> , 2019; Nascimento <i>et al.</i> , 2020)
7	4,09	463,0875	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	463,0882	–1,51	301 , 300, 272, 255, 215, 149	quercetina-3- <i>O</i> - glicosídeo	FASv-fo e FASv-fl	(Sakna <i>et al.</i> , 2019; Nascimento <i>et al.</i> , 2020)
8	4,15	593,1503	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	593,1512	–1,51	284, 285 , 270, 255	canferol-3- <i>O</i> - rubinosídeo	FASv-fo	(Sakna <i>et al.</i> , 2019; Nascimento <i>et al.</i> , 2020)
9	4,18	545,1437	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₀	545,1453	–2,93	435, 421, 306, 305 , 239, 219, 125	cassiaflavana- galocatequina	FASv-fo e FASv-fl	(Campos <i>et al.</i> , 2016; Nascimento <i>et al.</i> , 2020)
10a	4,53	529,1505	C ₃₀ H ₂₆ O ₉	529,1504	0,18	419, 405, 289 , 239, 205, 109	(<i>ent</i>)-cassiaflavana- (<i>epi</i>)-catequina I	FASv-fo e FASv-fl	(Campos <i>et al.</i> , 2016; Nascimento <i>et al.</i> , 2020)
10b	4,63	529,1509	C ₃₀ H ₂₆ O ₉	529,1504	0,94	419, 289 , 239, 203, 109	(<i>ent</i>)-cassiaflavana- (<i>epi</i>)-catequina II	FASv-fo e FASv-fl	(Campos <i>et al.</i> , 2016; Nascimento <i>et al.</i> , 2020)
10c	4,83	529,1501	C ₃₀ H ₂₆ O ₉	529,1504	–0,56	377, 365, 290, 255, 239 , 215, 151	(<i>ent</i>)-cassiaflavana- (<i>epi</i>)-catequina III	FASv-fo e FASv-fl	(Campos <i>et al.</i> , 2016; Nascimento <i>et al.</i> , 2020)

t_R : Tempo de retenção; n.i: não identificado; ^a os números em negrito indicam o pico base. Continua.

	t_R (min)	$[M - H]^-$	Fórmula molecular	$[M - H]^-$ exact mass	Δ (ppm)	EM/EM Fragmentos ^a	Compostos identificados	FAE	Referência
10d	5,13	529,1503	C ₃₀ H ₂₆ O ₉	529,1504	-0,18	289 , 239, 205	(<i>ent</i>)-cassiaflavana- (<i>epi</i>)-catequina IV	FASv-fo	(Campos <i>et al.</i> , 2016; Nascimento <i>et al.</i> , 2020)
10e	5,22	529,1496	C ₃₀ H ₂₆ O ₉	529,1504	-1,51	377, 289, 255, 239 , 137	(<i>ent</i>)-cassiaflavana- (<i>epi</i>)-catequina V	FASv-fo	(Campos <i>et al.</i> , 2016; Nascimento <i>et al.</i> , 2020)
11	5,35	513,1553	C ₃₀ H ₂₆ O ₈	513,1555	-0,38	365, 273, 255, 239, 125	(<i>ent</i>)-cassiaflavana- (<i>epi</i>)-afzelequina	FASv-fo	(Campos <i>et al.</i> , 2016; Nascimento <i>et al.</i> , 2020)
12	5,50	785,2233	C ₄₅ H ₃₈ O ₁₃	785,2240	-0,89	545, 435, 305 , 239, 221	(<i>ent</i>)-cassiaflavana- (<i>ent</i>)-cassiaflavana- (<i>epi</i>)-galocatequina	FASv-fo e FASv-fl	(Campos <i>et al.</i> , 2016; Nascimento <i>et al.</i> , 2020)
13	5,61	769,2279	C ₄₅ H ₃₈ O ₁₂	769,2291	-1,56	659, 529, 419, 289 , 239	(<i>ent</i>)-cassiaflavana- (<i>ent</i>)- cassiaflavana-(<i>epi</i>)- catequina	FASv-fo	(Campos <i>et al.</i> , 2016; Nascimento <i>et al.</i> , 2020)
14a	5,86	769,2304	C ₄₅ H ₃₈ O ₁₂	769,2291	1,69	529, 377, 273, 255, 239 , 151	(<i>ent</i>)-cassiaflavana- naringenina- afzelequina I	FASv-fo e FASv-fl	(Campos <i>et al.</i> , 2016; Nascimento <i>et al.</i> , 2020)
14b	5,93	769,2289	C ₄₅ H ₃₈ O ₁₂	769,2291	-0,26	617, 377, 239 , 151	(<i>ent</i>)-cassiaflavana- naringenina- afzelequina II	FASv-fl	(Campos <i>et al.</i> , 2016; Nascimento <i>et al.</i> , 2020)
16	6,27	753,2331	C ₄₅ H ₃₈ O ₁₁	753,2341	-1,30	643, 513, 403, 289, 267, 239 , 125	(<i>ent</i>)-cassiaflavana- (<i>epi</i>)-fisetinidol- (<i>ent</i>)-cassiaflavana	FASv-fl	(Moura <i>et al.</i> , 2020)
	7,28	293,1747	—	—	—	236, 221 , 220, 205, 148	n.i	FASv-fo e FASv-fl	—
	7,86	194,0818	—	—	—	179, 149, 102	n.i	FASv-fl	—

t_R : Tempo de retenção; n.i: não identificados; ^a os números em negrito indicam o pico base. Fonte: a autora.

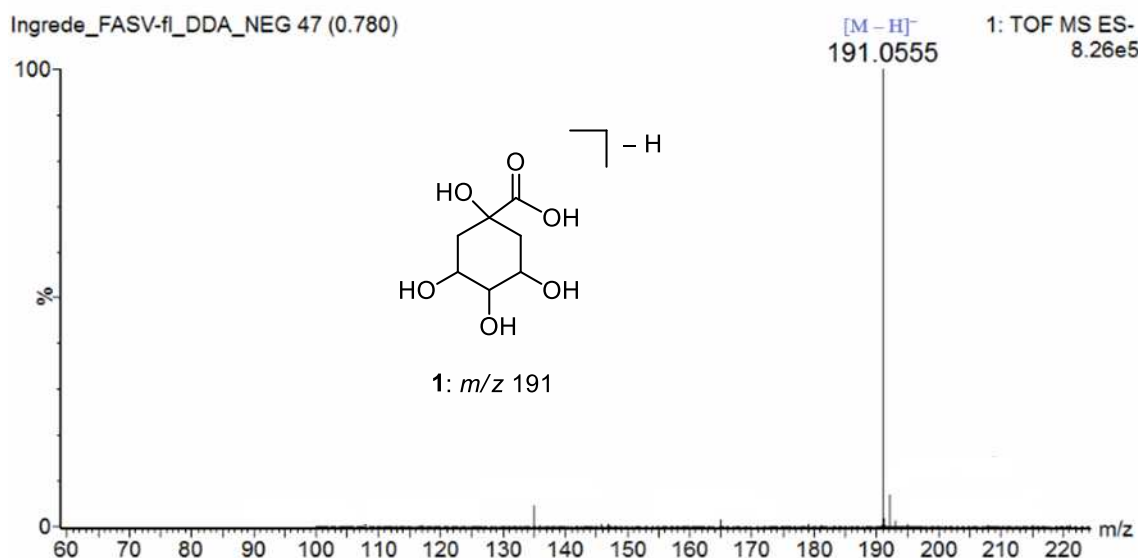
Figura 30 – Compostos anotados nas frações AcOEt das folhas e flores de *S. velutina*.



Fonte: a autora

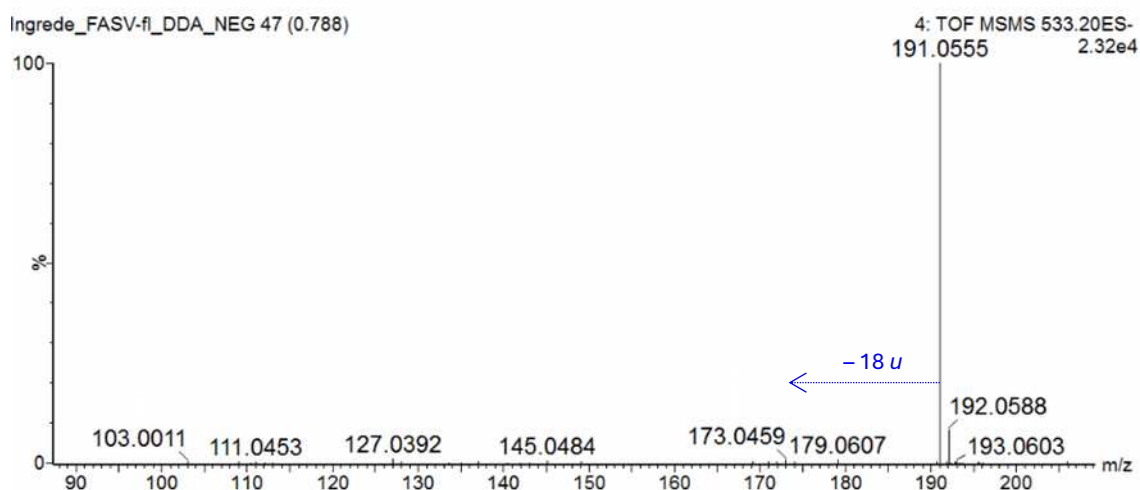
O primeiro composto anotado com t_R 0,78 min, apresentou íon precursor de m/z 191,0555 $[M - H]^-$ e um íon fragmento de m/z 173, (Tabela 13 e Figura 31), que corresponde a eliminação de H_2O (18 u) (Figuras 32 e 39), indicando que este composto é o ácido quínico (**1**), que está em consonância com dados da literatura (Abu-Reidah *et al.*, 2015; Nascimento *et al.*, 2020).

Figura 31 – (–)-IES-EM do composto **1** (t_R 0,78 min) de FASV-fl.



Fonte: a autora.

Figura 32 – (–)-IES-EM/EM (30 eV) do composto **1** (t_R 0,78 min) de FASV-fl.



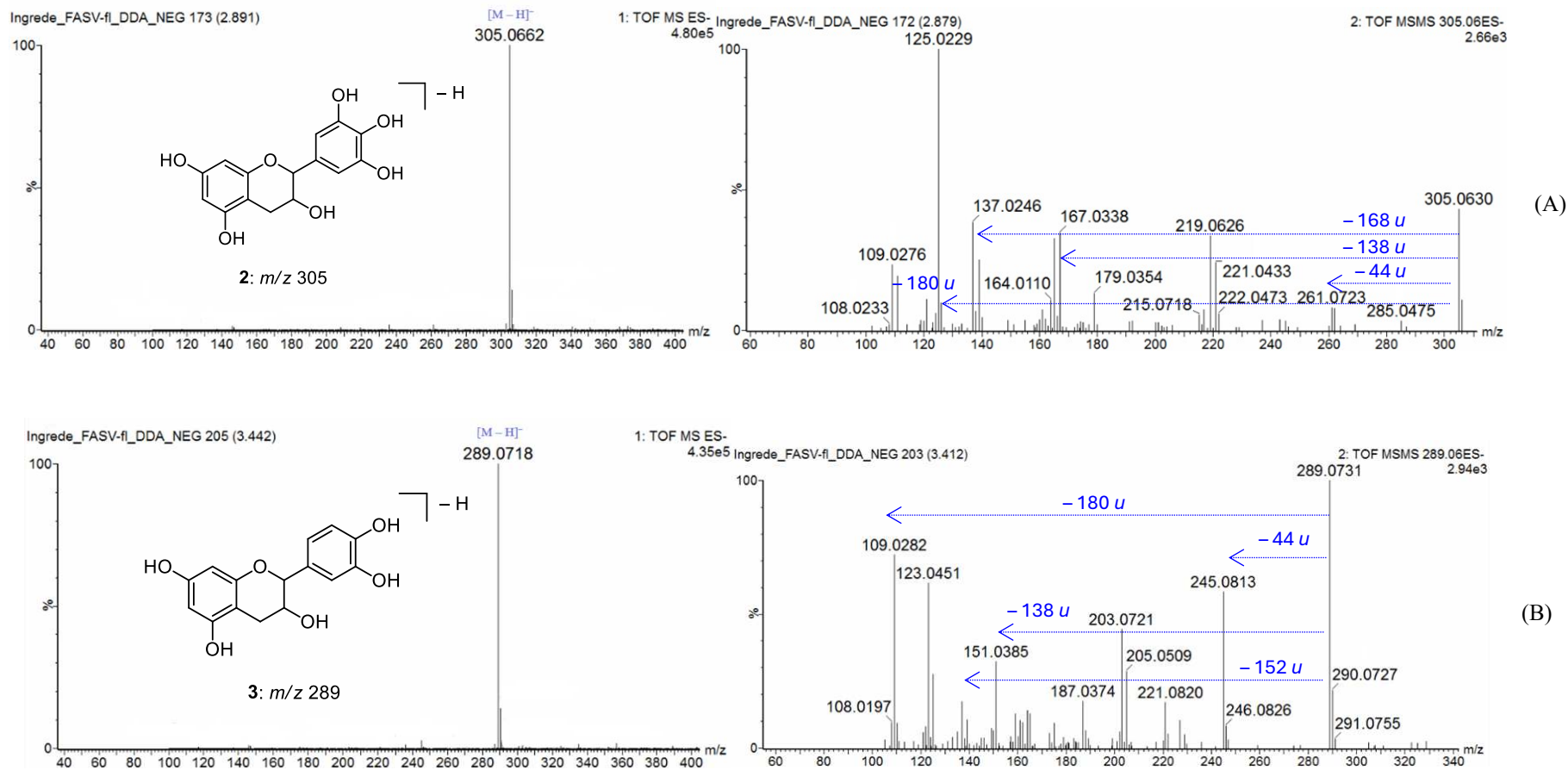
Fonte: a autora.

Os compostos **2** (t_R 2,89 min) e **3** (t_R 3,44 min) apresentaram íons precursores $[M - H]^-$ de m/z 305,0662 e 289,0719/289,0718, respectivamente (Figura 33). Através da EM/EM, foram obtidos os íons fragmentos de m/z 261, 167, 137 e 125 para o composto **2**,

enquanto os íons fragmentos de **3** foram observados em m/z 245, 151, 137 e 109. Os íons fragmentos de m/z 137 (**2** e **3**), 151 (**3**) e 167 (**2**) foram correlacionados com uma clivagem do anel C através de um mecanismo retro-Diels-Alder (RDA), uma reação comum em flavonoides e derivados (Demarque *et al.*, 2016). Os íons fragmentos de m/z 125 (**2**) e 109 (**3**) foram correlacionados com a clivagem heterolítica entre os anéis B e C, indicando que os compostos **2** e **3** são os flavonoides galocatequina e catequina, respectivamente (Figura 39) (Sobeh *et al.*, 2017; Nascimento *et al.*, 2020).

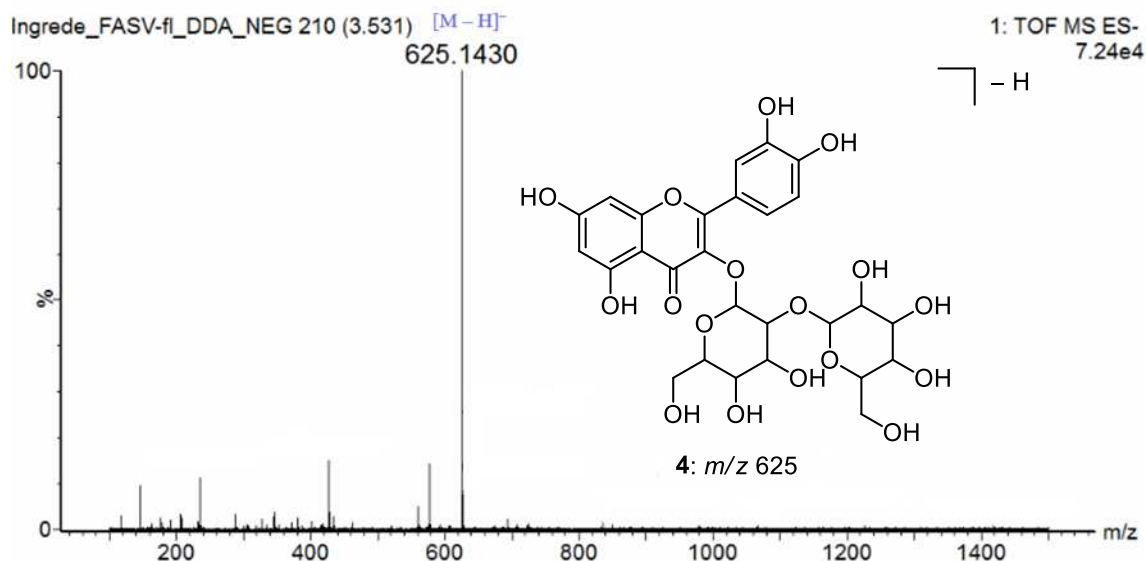
O composto **4** (t_R 3,53 min) apresentou íon precursor de m/z 625,1430 $[M - H]^-$ e íons fragmentos de m/z 463 e 301 (Figura 39), que foram correlacionados à perda dos glicosídeos em C-3 do anel C por clivagem heterolítica. Isso sugere que o composto **4** é a quercetina-3-soforosídeo com dados corroborados com a literatura (Figuras 34, 35 e 39) (Gómez-Romero *et al.*, 2010; Ferreres *et al.*, 2017).

Figura 33 – (–)-IES-EM e (–)-IES-EM/EM (10 eV) dos compostos **2** (t_R 2,89 min) (A) e **3** (t_R 3,44 min) (B) de FASV-fl e de FASV-fo.



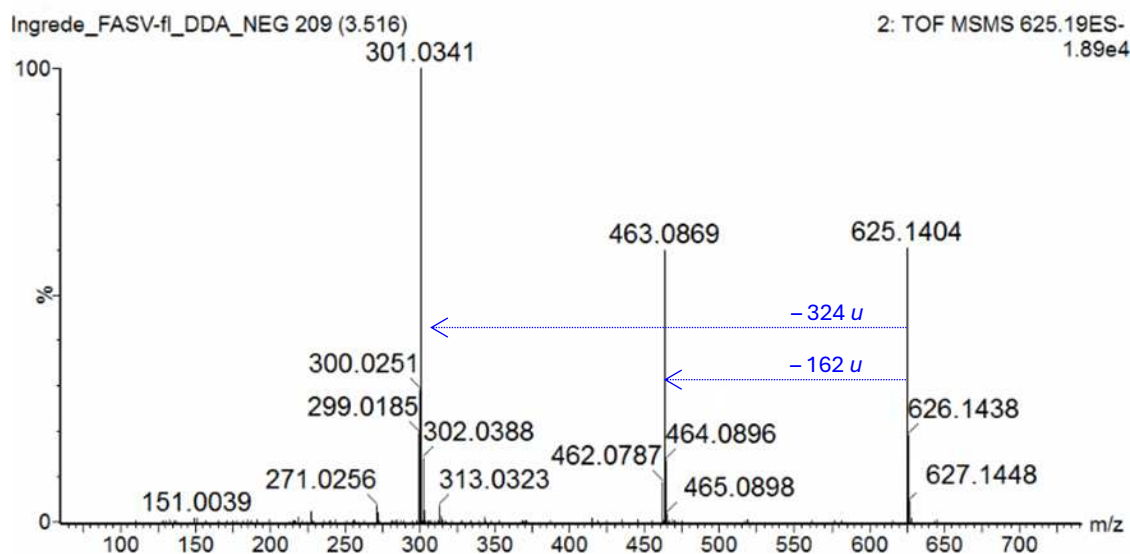
Fonte: a autora.

Figura 34 – (–)-ESI-MS do composto **4** (t_R 3,53 min) de FASv-fl.



Fonte: a autora.

Figura 35 – (–)-IES-EM/EM (10 eV) do composto **4** (t_R 3,5 min) de de FASv-fl.

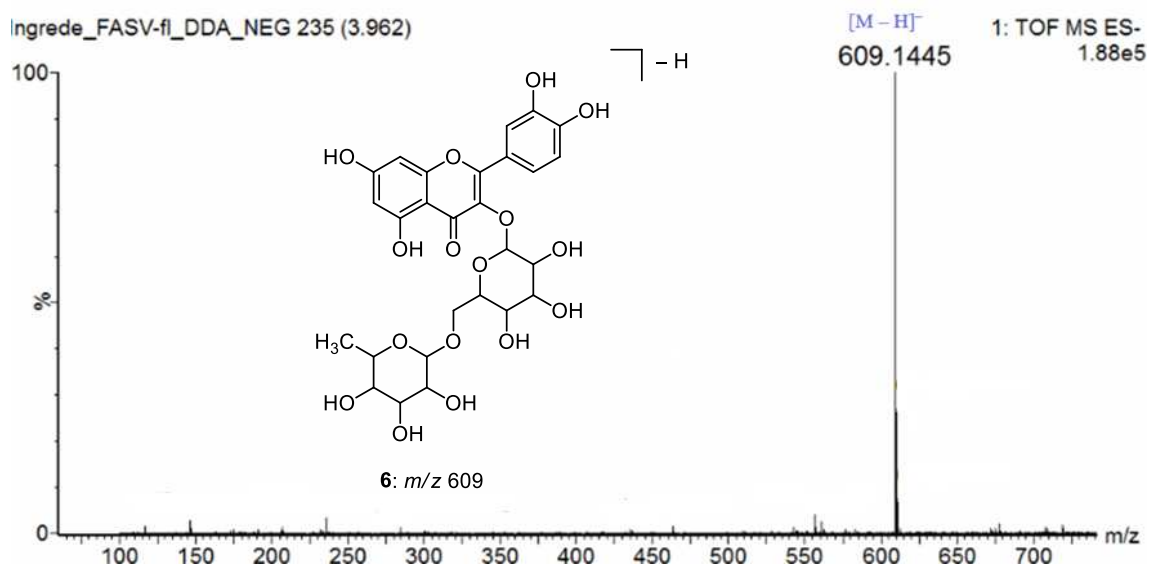


Fonte: a autora.

Os flavonóis glicosilados **6–8** foram identificados em t_R 3,96, 4,09 e 4,15 min, e apresentaram íons precursores $[M-H]^-$ de m/z 609,1445, 463,0875 e 593,1503, respectivamente (Figuras 36, 38 e 40). Nos espectros IES-EM/EM (Figuras 37 e 38), foram observados íons fragmentos relacionados às perdas dos glicosídeos ligados no C-3 do anel C por clivagem heterolítica, que resultaram nos íons aglicona de m/z 301 (**6** e **7**) e 285 (**8**). Além disso, a clivagem homolítica desses íons forneceu os íons fragmentos de m/z 300 (**6** e **7**) e 284 (**8**), indicando que esses compostos são os flavonóis

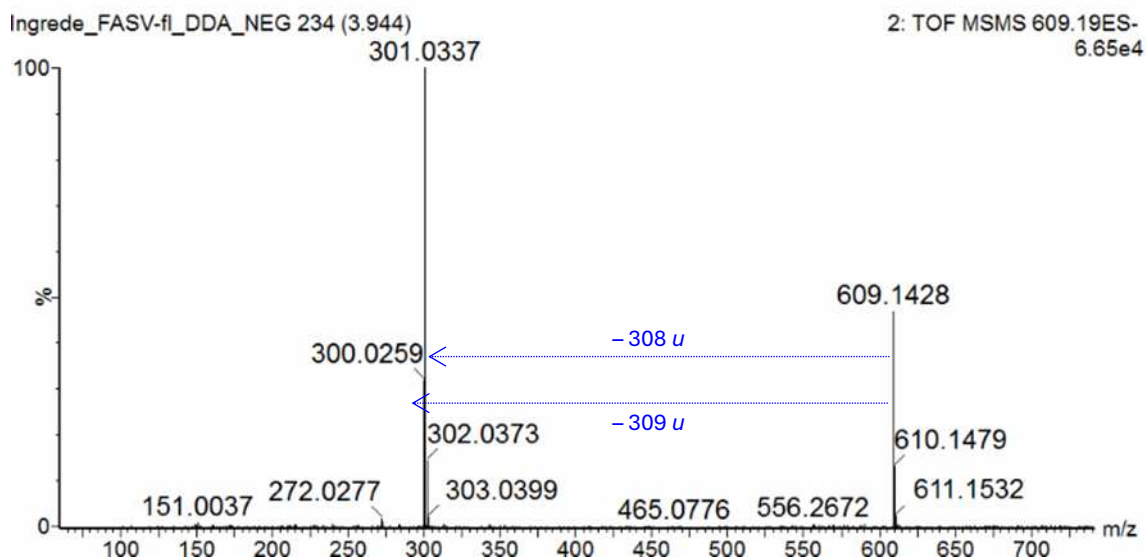
rutina (6), quercetina-3-*O*-glicosídeo (7) e canferol-3-*O*-rubinosídeo (8) (Tabela 13 e Figuras 40 e 41) (Nascimento *et al.*, 2020; Sakna *et al.*, 2019).

Figura 36 – (–)-IES-EM do composto 6 (t_R 3,96 min) de FASv-fl e de FASv-fo.



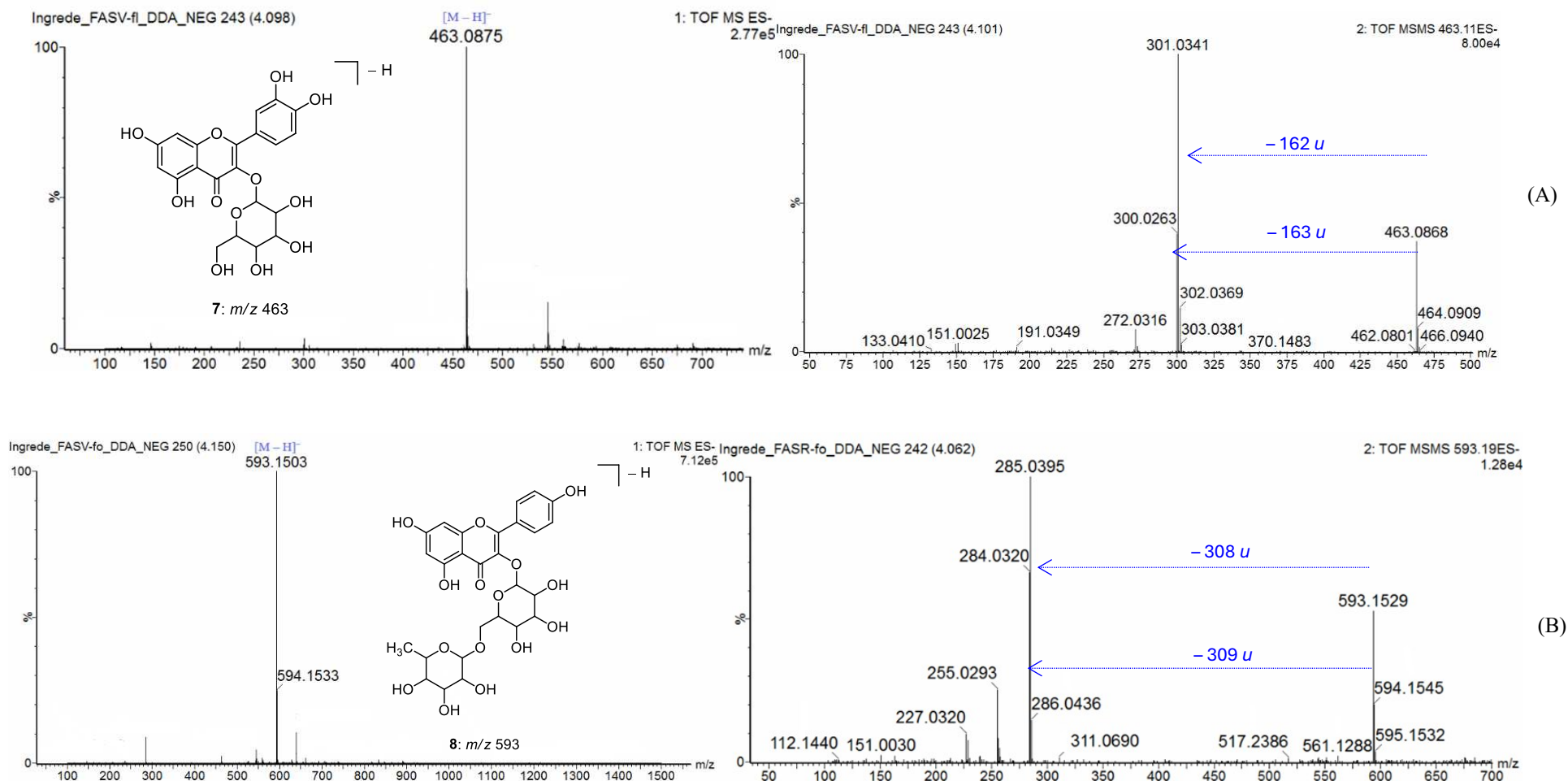
Fonte: a autora.

Figura 37 – (–)-IES-EM/EM (10 eV) do composto 6 (t_R 3,9 min) de FASv-fl e de FASv-fo.



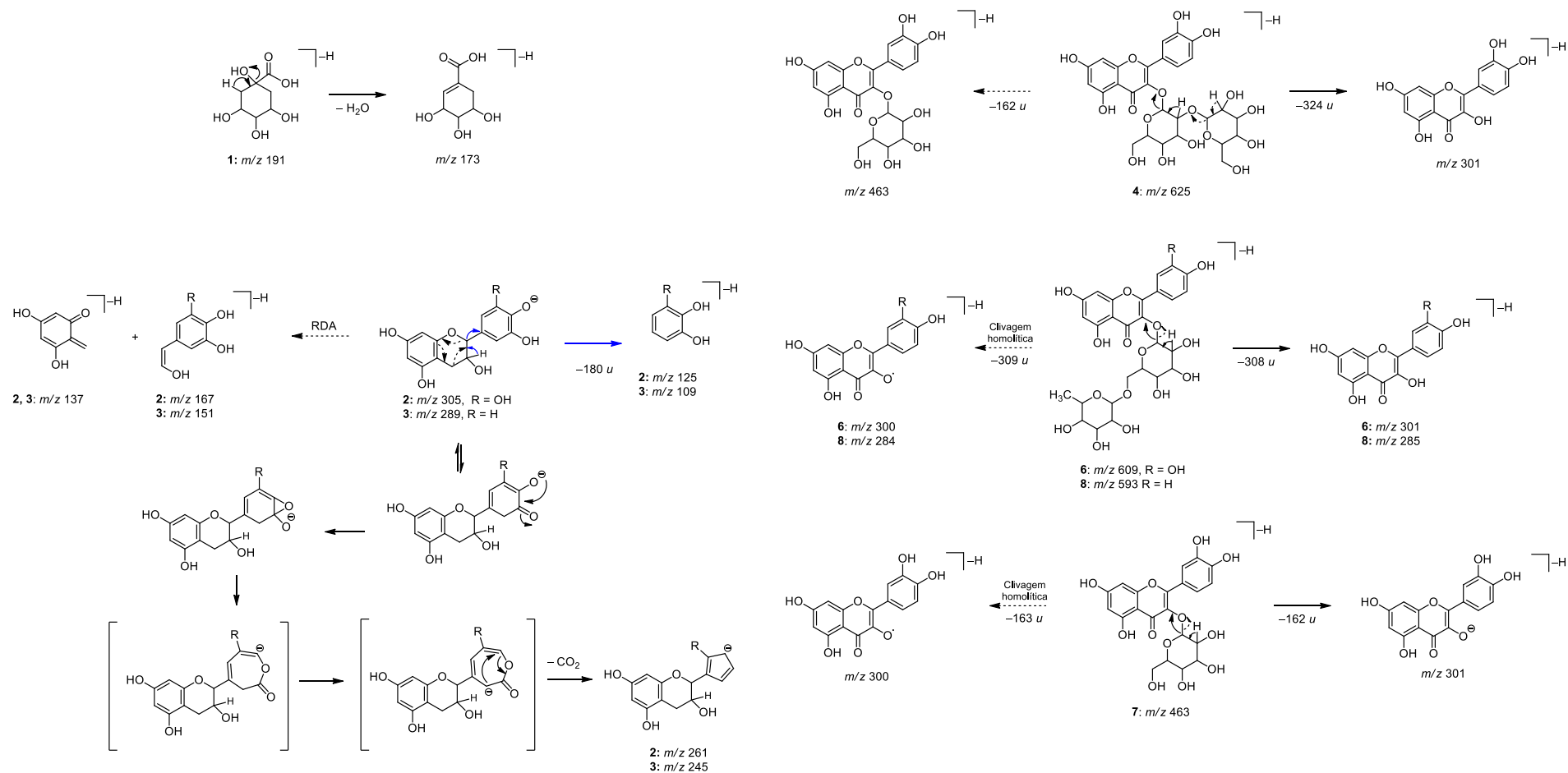
Fonte: a autora.

Figura 38 – (–)-IES-EM e (–)-IES-EM/EM (10 eV) de **7** (t_R 4,09 min) (A) e **8** (t_R 4,15 min) (B) de FASV-fl e de FASV-fo.



Fonte: a autora.

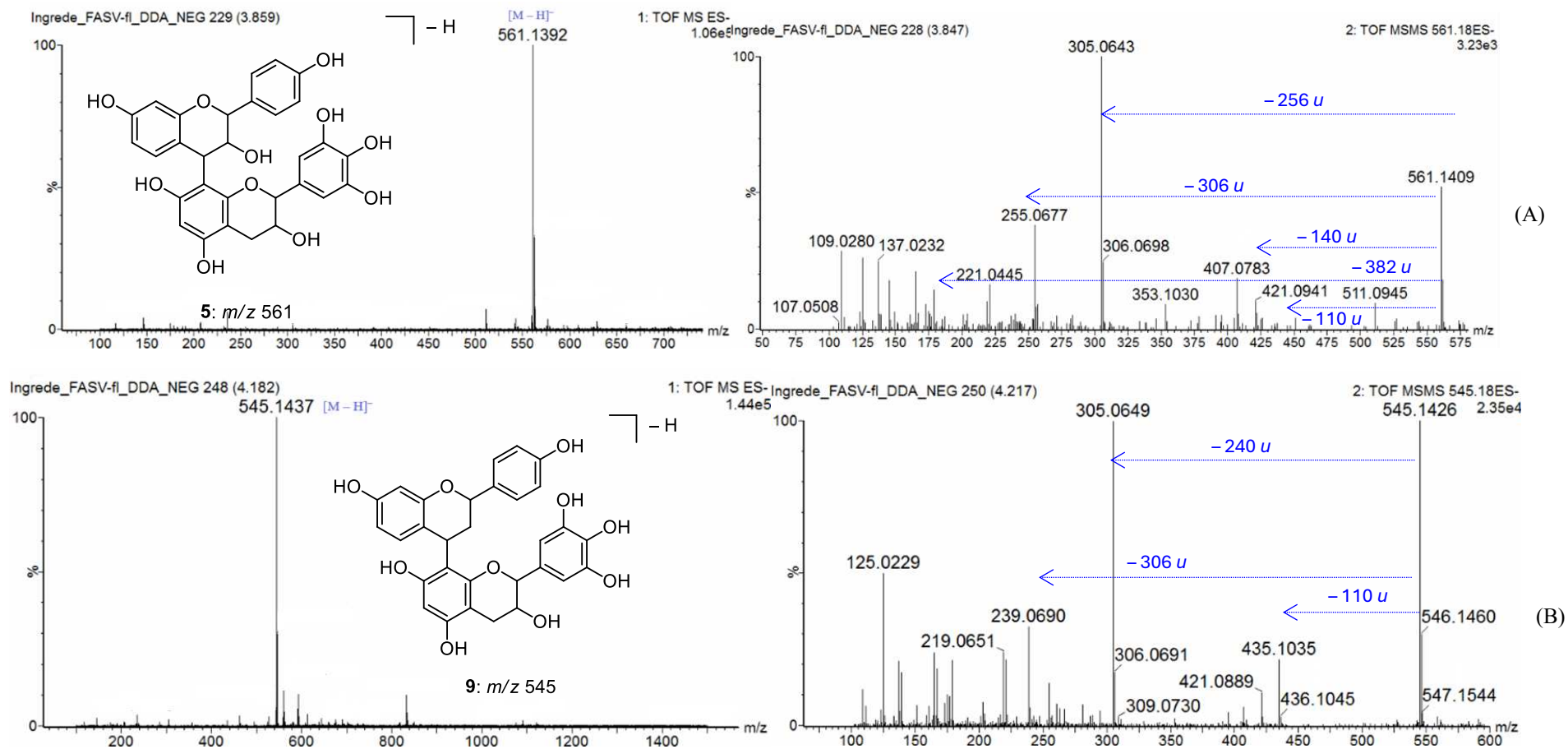
Figura 39 – Propostas de fragmentações do ácido quínico (**1**) e dos flavonoides **2–4** e **6–8**, analisado por (–)-IES-EM/EM.



Fonte: a autora

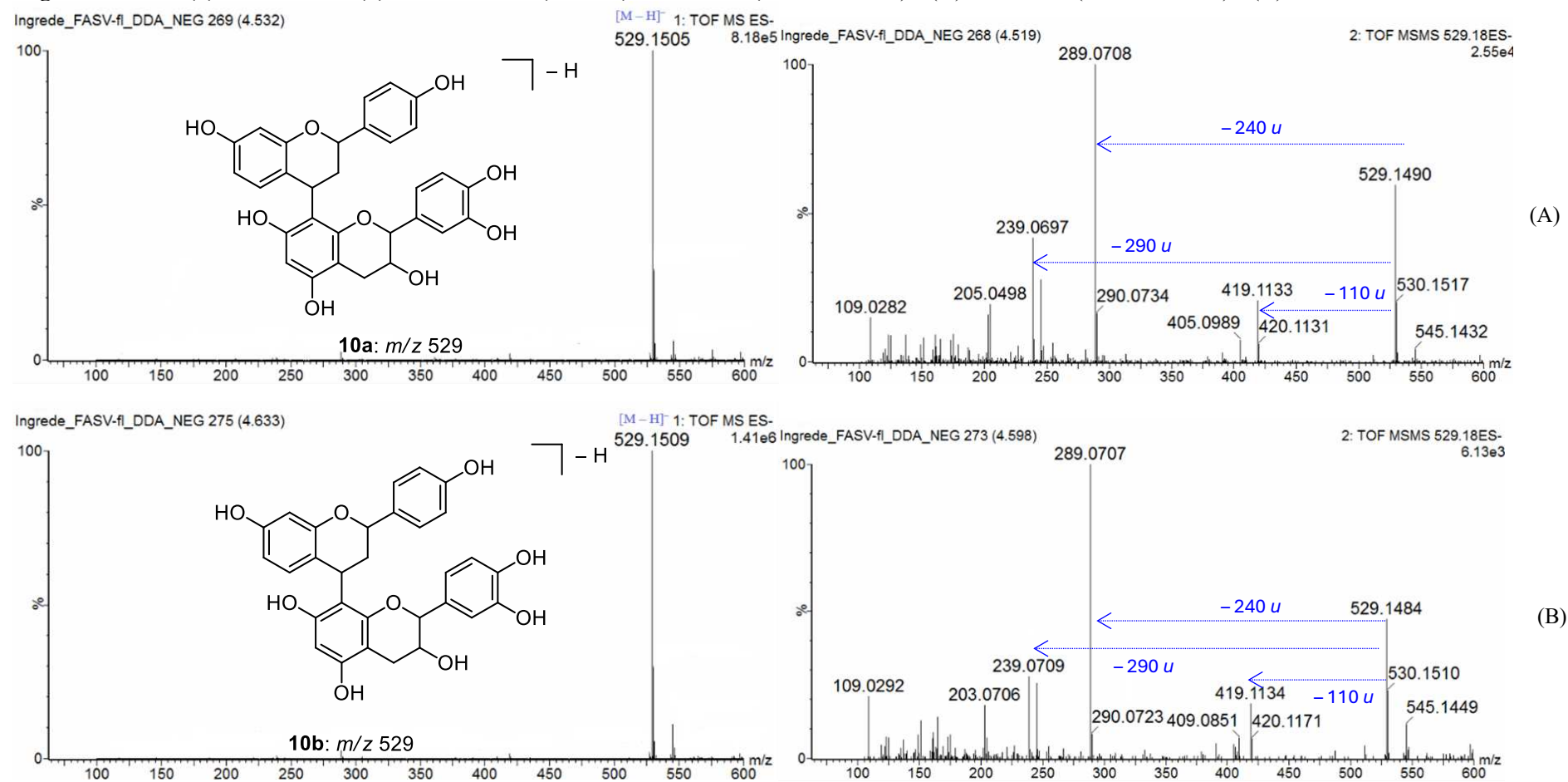
Os íons precursores $[M - H]^-$ de m/z 561,1392 (**5**) (t_R 3,85 min), 545,1440 (**9**) (t_R 4,62 min), 529,1505 (**10a**) (t_R 4,53 min), 529,1509 (**10b**) (t_R 4,63 min), 529,1501 (**10c**) (t_R 4,83 min), 529,1503 (**10d**) (t_R 5,13 min), 529,1496 (**10e**) (t_R 5,22 min), 513,1536 (**11**) (t_R 4,80 min) foram atribuídos a dímeros de proantocianidinas. Na análise dos espectros EM/EM, os principais fragmentos emergiram de uma fissão do tipo quinona metídeo (QM), que quebra a ligação interflavana entre C4–C8, dando origem aos íons monoméricos de m/z 255 (**5**) e 239 (**9**, **10a–10e** e **11**) e os íons da unidade terminal de m/z 305 (**5** e **9**), 289 (**10a–10e**) e 273 (**11**) (Figuras 40–43). Este tipo de fragmento (QM) fornece íons diagnósticos que permitem identificar a sequência de conexão de oligômeros heterogêneos (Gu *et al.*, 2003). Íons fragmentos de m/z 179 (**5**), 125 (**5** e **9**) e 109 (**10a–10e**) foram atribuídos à clivagem heterolítica entre os anéis B e C da unidade terminal da fissão do QM. Além disso, o íon fragmento de m/z 425 (**5**) foi atribuído a uma fissão RDA, e os íons de m/z 451 (**5**), 435 (**9**), 419 (**10a–10c**) e 403 (**11**) foram atribuídos à fissão do anel heterocíclico (HRF) que leva à eliminação do anel A (110 *u*) (Figura 44) (Campos *et al.*, 2026; Sobeh *et al.*, 2018; Nascimento *et al.*, 2020).

Figura 40 – (–)-IES-EM e (–)-IES-EM/EM (10 eV) de **5** (t_R 3,85 min) (A) e **9** (t_R 4,18 min) (B) de FASV-fl e FASV-fo.



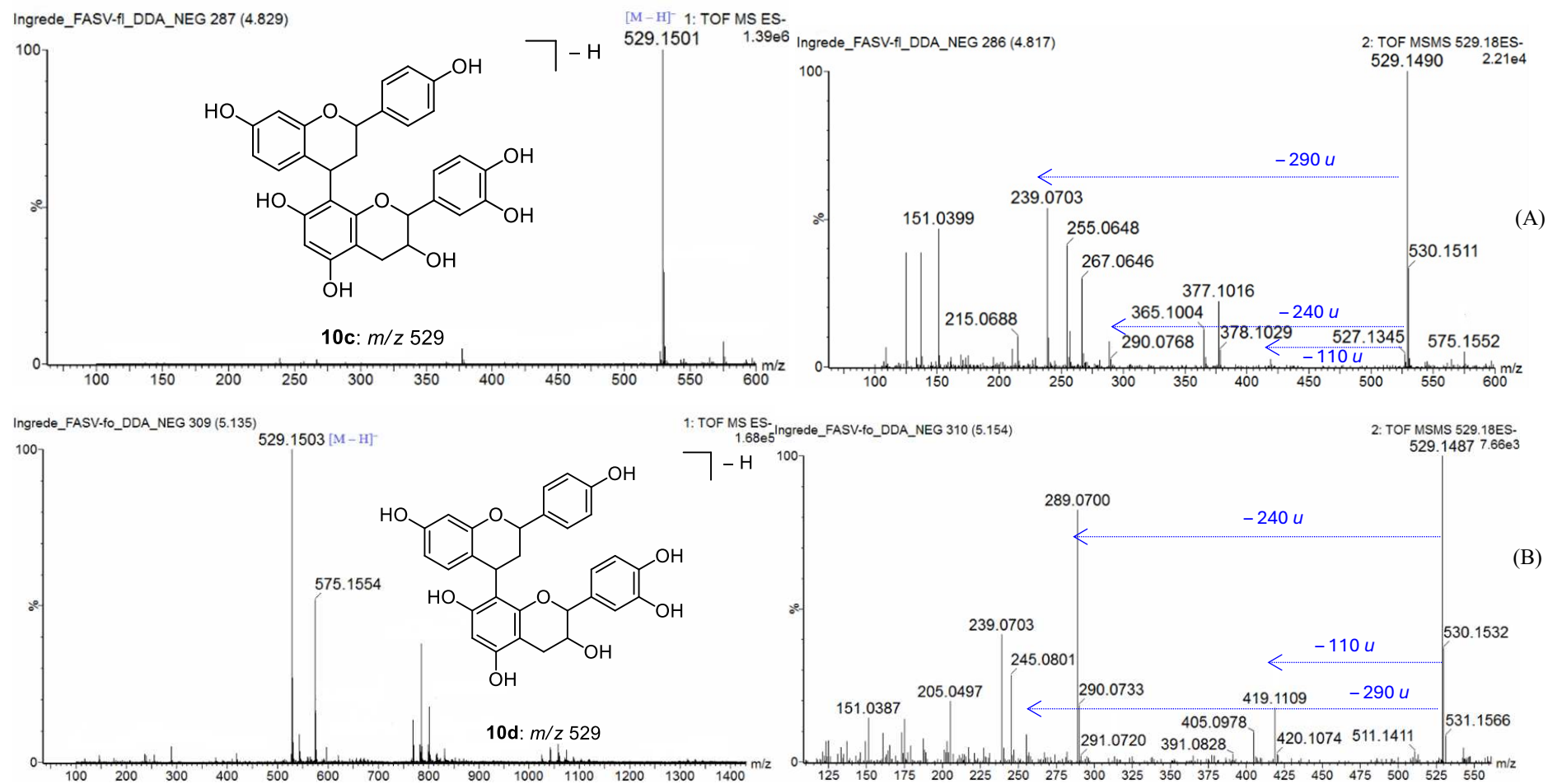
Fonte: a autora.

Figura 41 – (–)-IES-EM e (–)-IES-EM/EM (10 eV) de **10a** (t_R 4,53 min) (A) e **10b** (t_R 4,63 min) (B) de FASv-fl e FASv-fo.



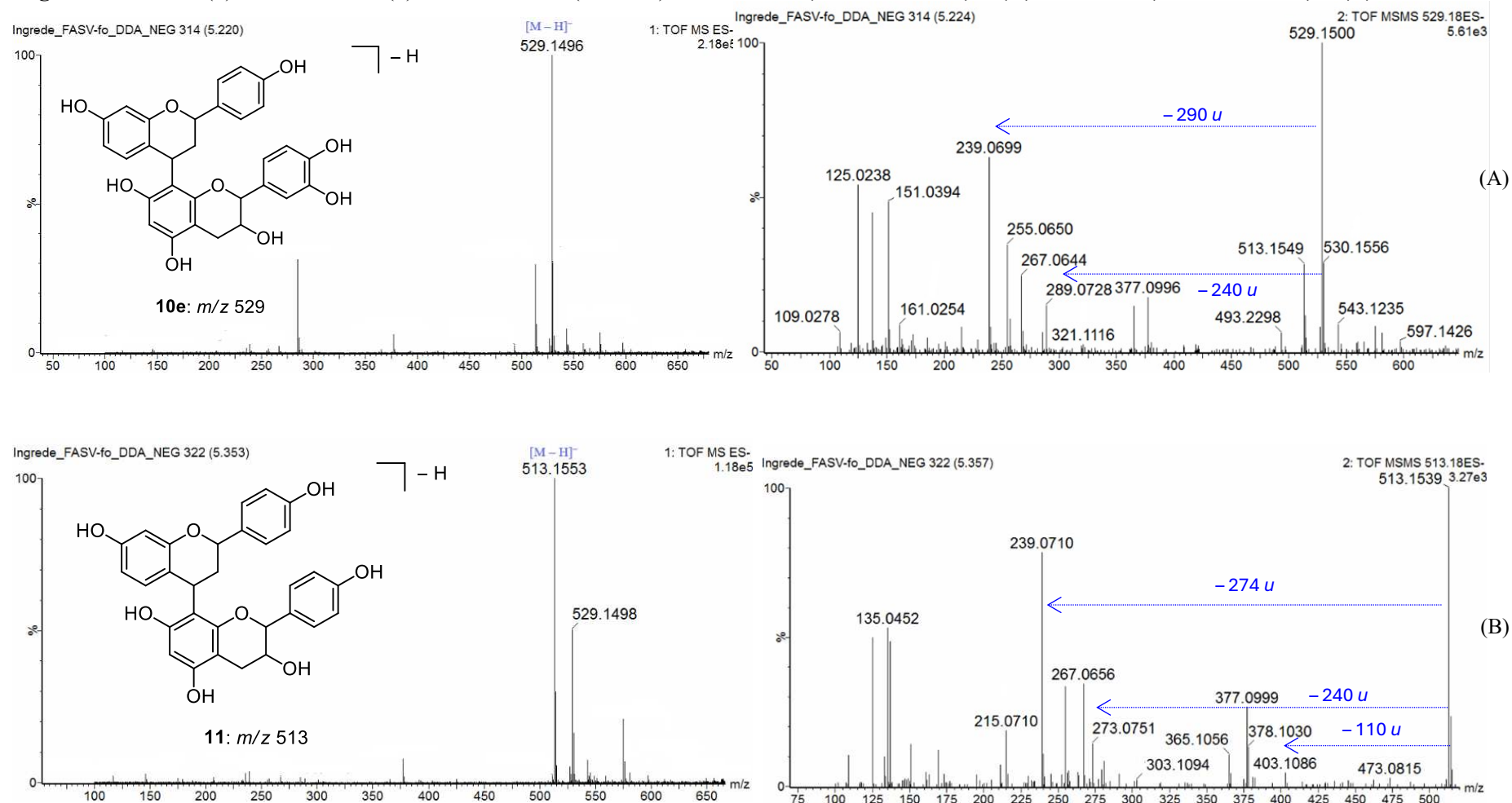
Fonte: a autora.

Figura 42 – (-)-IES-EM e (-)-IES-EM/EM (10 eV) de **10c** (t_R 4,83 min) (A) e **10d** (t_R 5,13 min) (B) de FASv-fl e FASv-fo.



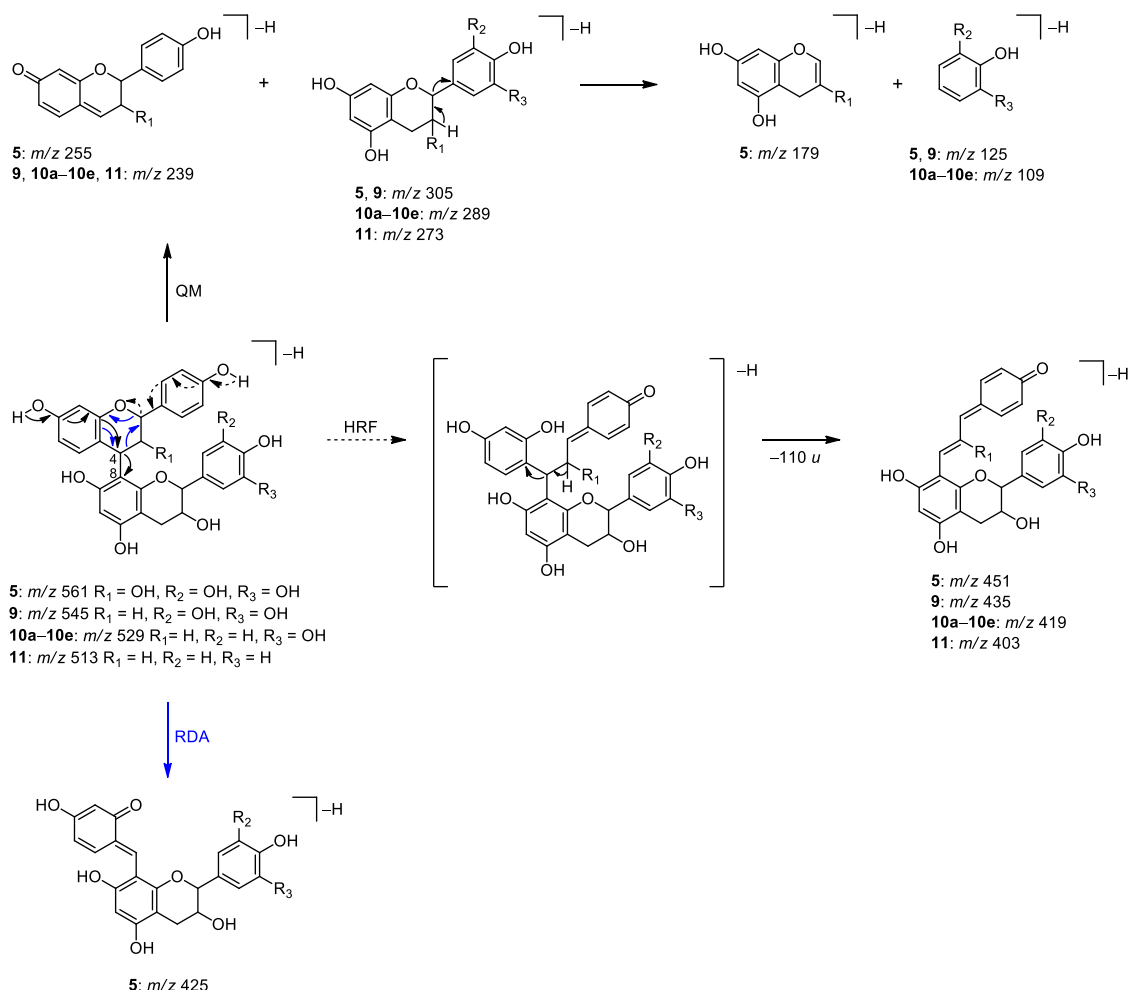
Fonte: a autora.

Figura 43 – (–)-IES-EM e (–)-IES-EM/EM (10 eV) de **10e** (t_R 5,22 min) (A) e **11** (t_R 5,35 min) (B) de FASv-fo.



Fonte: a autora.

Figura 44 – Propostas de fragmentações das proantocianidinas dímeras **5**, **9**, **10a–10e** e **11**, analisado por (–)-IES-EM/EM.

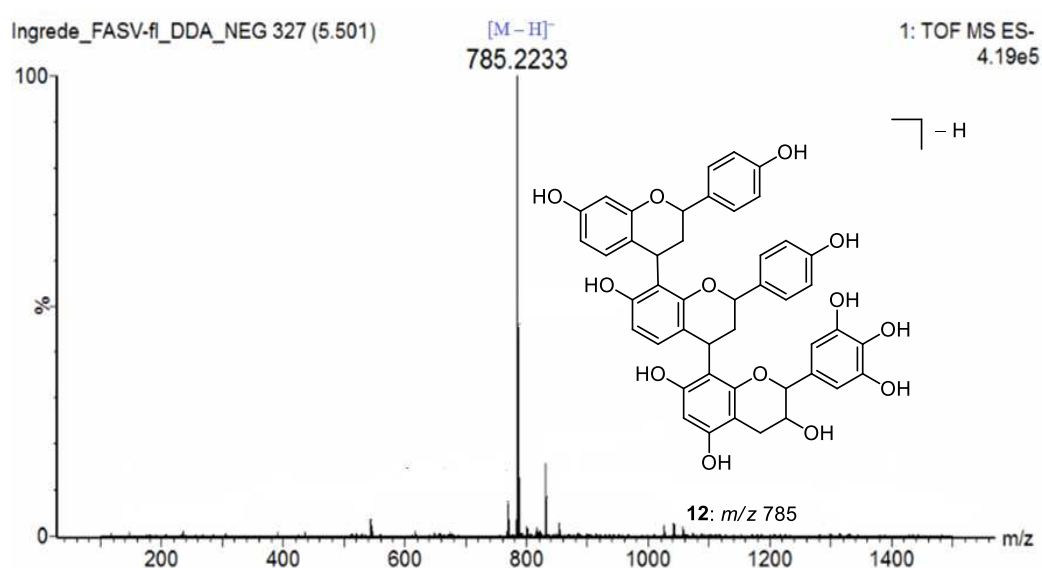


Fonte: a autora

Os íons precursores $[M - H]^-$ de m/z 785,2233 (**12**) (t_R 5,50 min), 769,2279 (**13**) (t_R 5,61 min), 769,2304 (**14a**) (t_R 5,86 min), 769,2289 (**14b**) (t_R 5,93 min) e 753,2331 (**15**) (t_R 6,27 min) foram atribuídos a moléculas desprotonadas de trímeros de proantocianidinas (Figuras 45 a 48). Na análise dos espectros EM/EM, os principais íons fragmentos se originaram da fissão QM (clivagem entre C4–C8), resultando em uma perda do monômero cassiaflavona (240 u), dando origem aos íons fragmentos de m/z 545 (**12**), 529 (**13–14b**) e 513 (**15**), além do íon monômero de m/z 239 (**13–14b** e **15**). Sequencialmente, uma segunda clivagem do tipo QM dos íons anteriores levou aos íons fragmentos de m/z 239 (**12**, **13** e **15**) e 255 (**14a/14b**), e aos íons da unidade terminal de m/z 305 (**12**), 289 (**13**) e 273 (**14a/14b** e **15**), o que mostrou que o primeiro monômero de proantocianidina é a cassiaflavona (240 u). O monômero de extensão para **12** e **13** (m/z 239) e **15** (m/z 255) são cassiaflavona, guibourtinidol e naringenina, respectivamente.

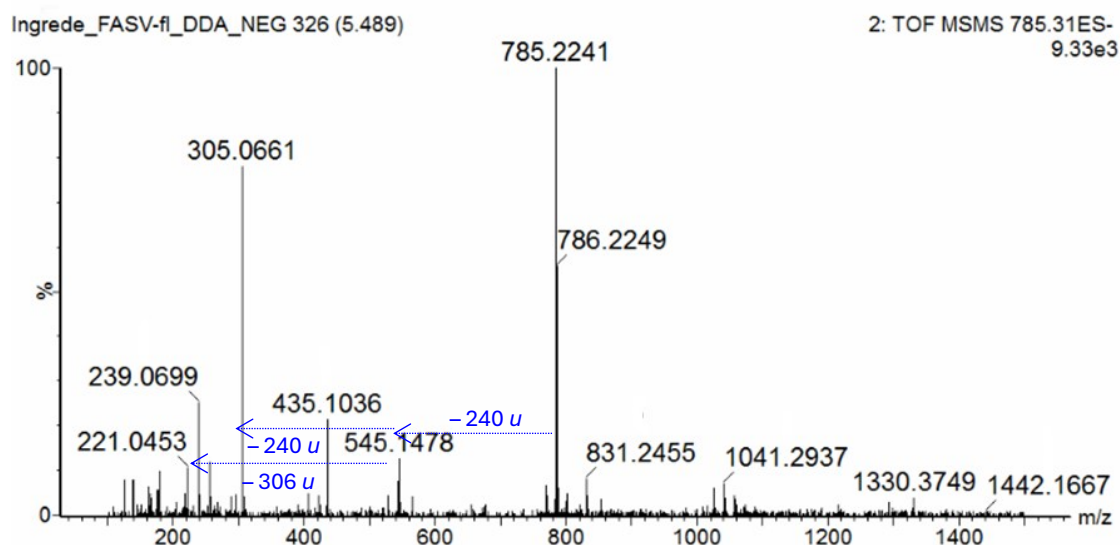
Os monômeros terminais para **12** (m/z 305), **13** (m/z 289), **14a/14b** (m/z 273) e **15** (m/z 239) referem-se à galocatequina, catequina, afzelequina e cassiaflavana, respectivamente. A clivagem por HRF dos mesmos íons intermediários (m/z 545, 561, 529 e 513) forneceram os íons fragmentos de m/z 435 (**12**), 419 (**13**) e 403 (**15**), com a perda do resorcinol (110 u) (Campos *et al.*, 2016; Nascimento *et al.*, 2020). Os fragmentos obtidos através da QM e HRF forneceram informações sobre a identidade e a ordem das conexões monoméricas nos oligômeros (Figura 49) (Tabela 13).

Figura 45 – (–)-IES-EM do composto **12** (t_R 5,50 min) de FASv-fo e FASv-fl.



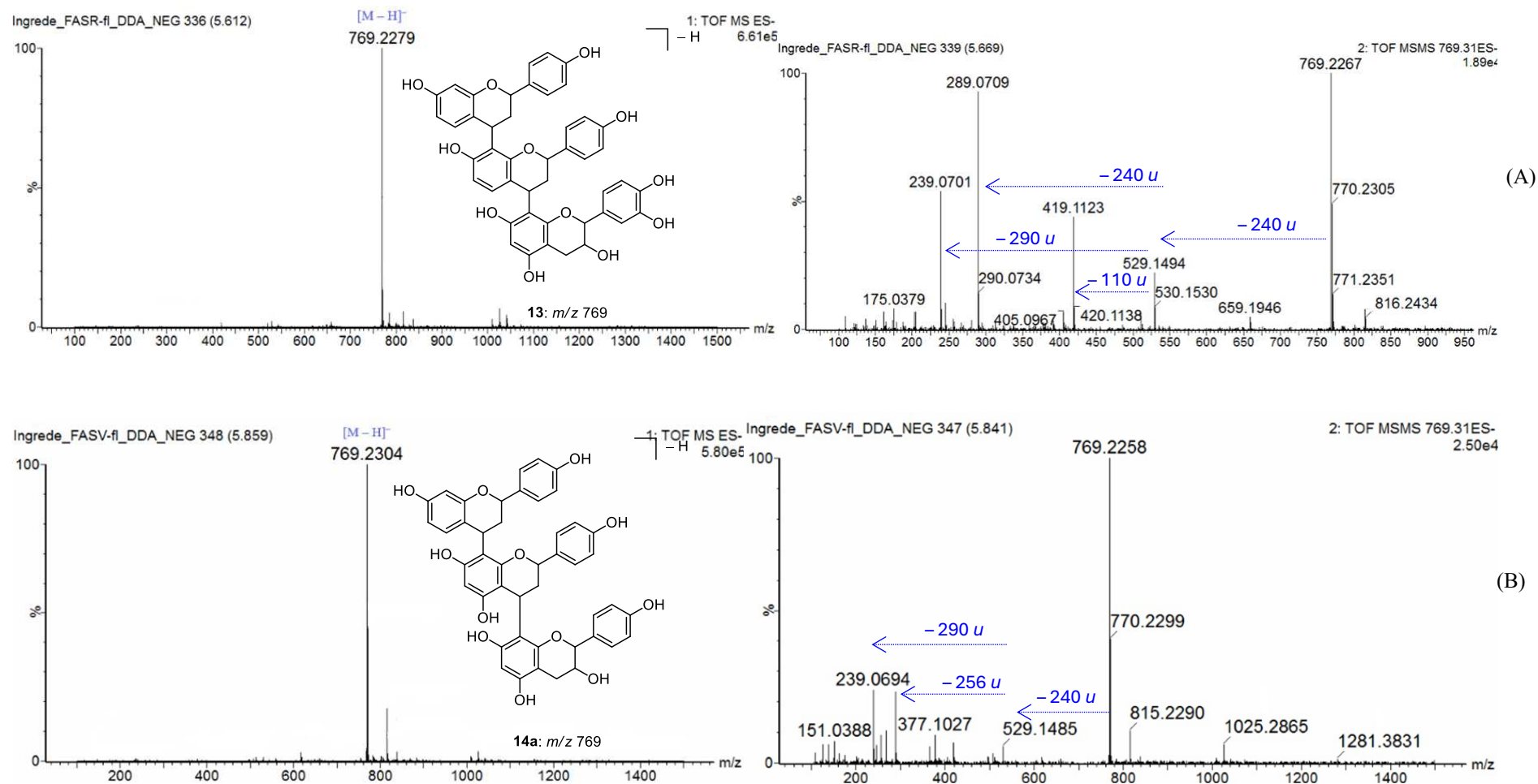
Fonte: a autora.

Figura 46 – (–)-IES-EM/EM (10 eV) do composto **12** (t_R 5,50 min) de FASv-fo e FASv-fl.



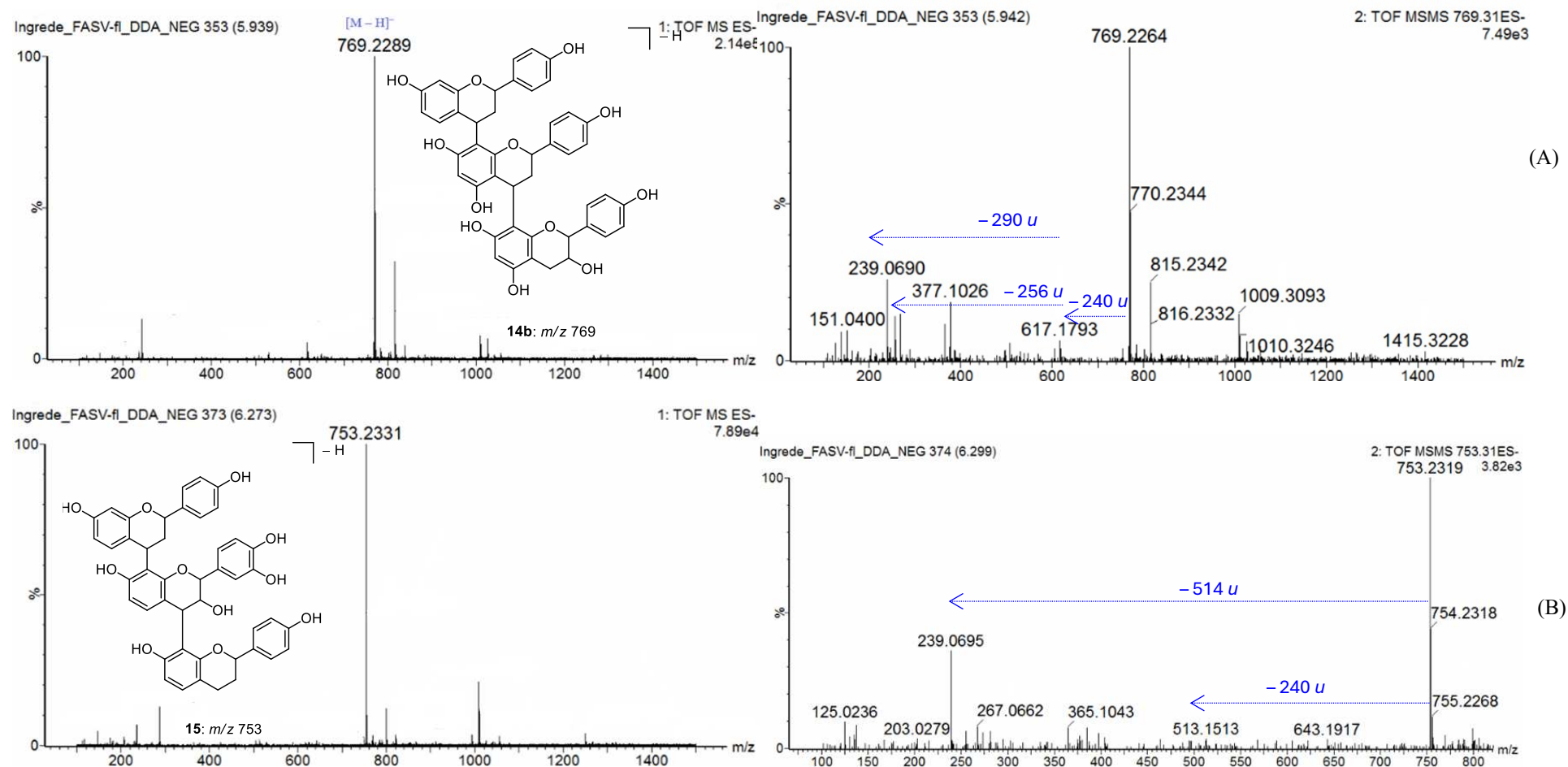
Fonte: a autora.

Figura 47 – (–)-IES-MS e (–)-IES-EM/EM (10 eV) de **13** (t_R 5,61 min) (A) e **14a** (t_R 5,86 min) (B) de FASv-fo e FASv-fl.



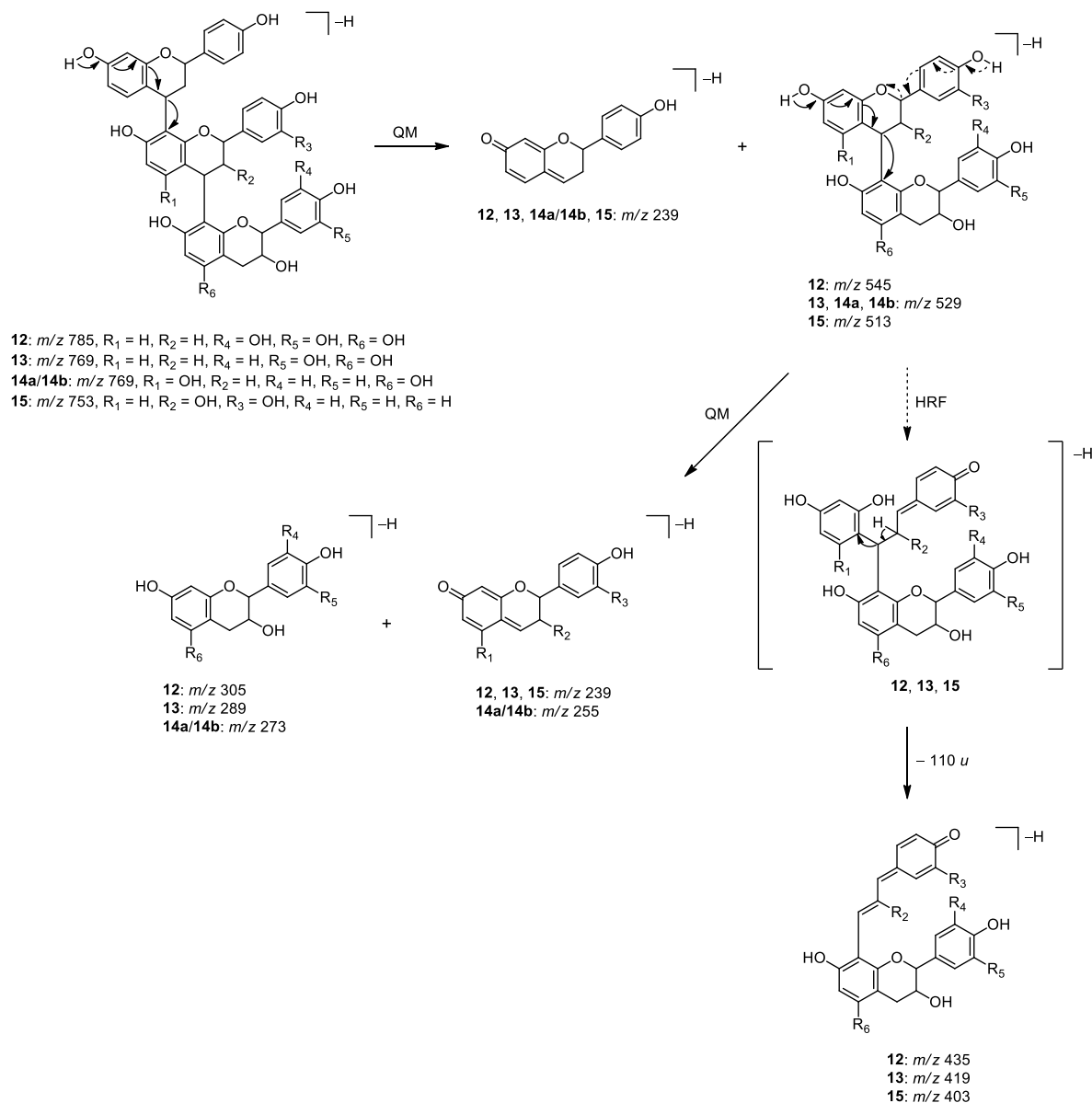
Fonte: a autora.

Figura 48 – (–)-IES-EM e (–)-IES-EM/EM (10 eV) de **14b** (t_R 5,93 min) (A) e **15** (t_R 6,27 min) (B) de FASv-fl.



Fonte: a autora.

Figura 49 – Propostas de fragmentações das proantocianidinas trímeras **12**, **13**, **14a/14b**, e **15** analisado por (–)-IES-EM/EM.



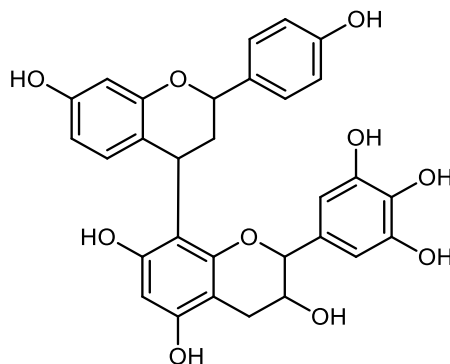
Fonte: a autora

A anotação dos metabólitos especiais presentes nas frações ativas por CLUE-IES-EM/EM possibilitou a compreensão de quais compostos presentes poderiam ser relacionados à atividade antimicrobiana. Os compostos **2**, **3**, **6**, **7**, **9**, **10a** e **12** e **14a**, além de outras formas isoméricas, estão presentes em ambas frações AcOEt das folhas e flores de *S. velutina*, o que pode indicar que a atividade antifúngica está correlacionada com a presença desses compostos. Dímeros e trímeros de proantocianidinas do tipo B, com uma ou mais unidades de cassiaflavona são encontrados principalmente em espécies de *Cassia* e *Senna*, exceto em *Dalbergia monetaria* (Moura *et al.*, 2020). Essa classe de compostos

é considerada um marcador químico dos gêneros *Cassia* e *Senna* (Campos *et al.*, 2016) e já foi isolada das folhas de *C. fistula* (Morimoto *et al.*, 1988), frutos de *C. nomame* (Hatano *et al.*, 1997) e das cascas de *C. petersiana* (Coetzee *et al.*, 2000). Proantocianidinas apresentando o monômero cassiaflavana são raras na natureza (Moura *et al.*, 2022). Para avaliar o potencial antifúngico das proantocianidinas de *S. velutina*, a fração AcOEt das flores (FASv-fl) foi selecionada para o estudo químico.

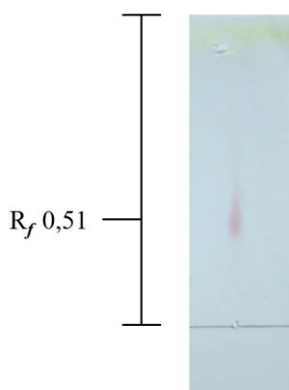
5.7 Isolamento de proantocianidinas das flores de *S. velutina* (FASv-fl) e avaliação da atividade anti-*Candida*

5.7.1 Composto A: (*ent*)-cassiaflavana-galocatequina



O composto **A** (2,52 mg) foi isolado da fração em AcOEt das flores de *S. velutina*, apresentando coloração marrom, sendo amorfo e solúvel em metanol. Inicialmente, uma forte indicação da natureza do composto foi obtida por CCD, onde a mancha rosa característica após revelação com vanilina sugeriu a presença de proantocianidinas com R_f 0,51 (Figura 50).

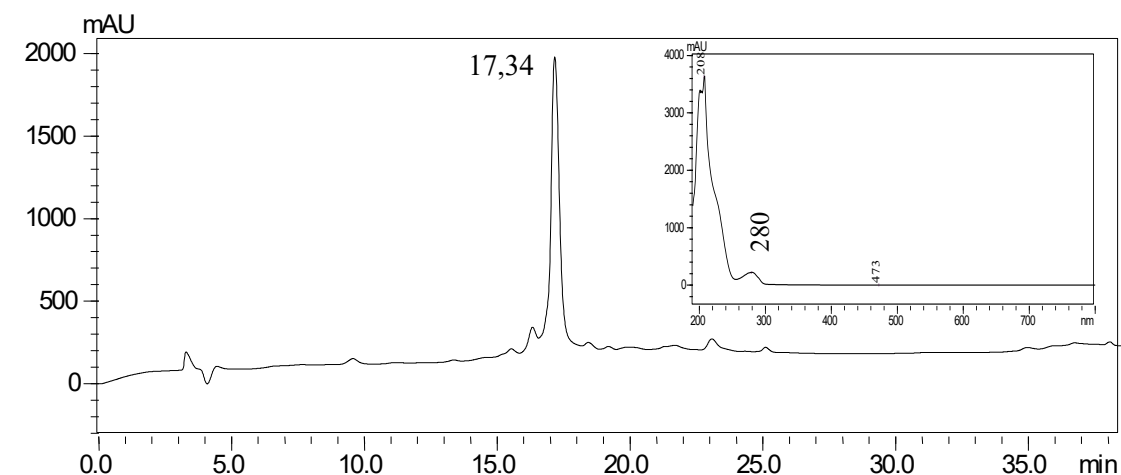
Figura 50 – CCD analítica (SiO₂) do composto **A** desenvolvido com DCM/MeOH (8,5:1,5) e revelado com vanilina.



Fonte: a autora.

A classe química do composto foi corroborada pela análise CLAE-DAD (Figura 51). No cromatograma, foi observado um pico em t_R 17,34 min. No espectro UV-Vis, uma banda de absorção em 280 nm típica de proantocianidinas, que apresenta sistemas aromáticos fenólicos (Guo *et al.*, 2021).

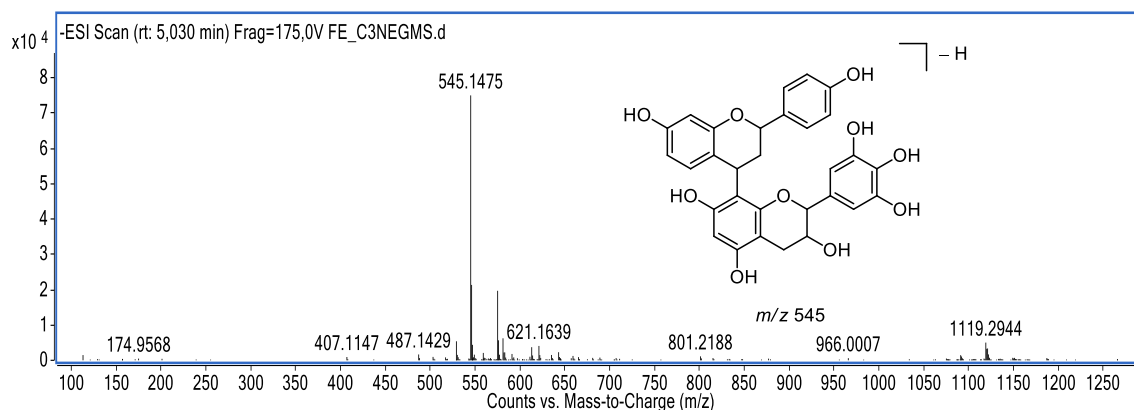
Figura 51 – Cromatograma CLAE-DAD em coluna analítica do composto A (UV-Vis 280 nm).



Condições: Coluna: Phenomenex Lunna C₁₈ (250 mm × 4,6 mm, 5 μm); gradiente (50 min), 20–100% de metanol e ácido acético 0,1%; C = 1,0 mg mL⁻¹, V. inj. = 50 μL, fluxo 1,0 mL/min) e detector DAD. Fonte: a autora.

Na análise do composto **A** por espectrometria de massas em alta resolução no modo negativo foi possível estabelecer a fórmula molecular C₃₀H₂₆O₁₀ com Índice de deficiência de hidrogênio (IDH) igual a 18, compatível com a estrutura de um dímero de flavonoide. O íon obtido para a molécula desprotonada foi de m/z 545,1475 [M – H]⁻ calculado para C₃₀H₂₅O₁₀⁻, 545,1453 (Δ 4,03 ppm) (Figura 52).

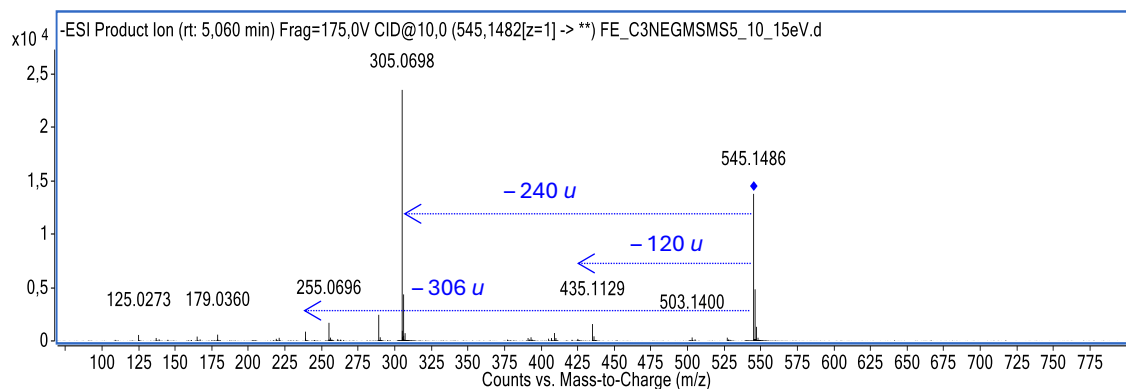
Figura 52 – (–)-IES-EM em alta resolução do composto A.



Fonte: a autora.

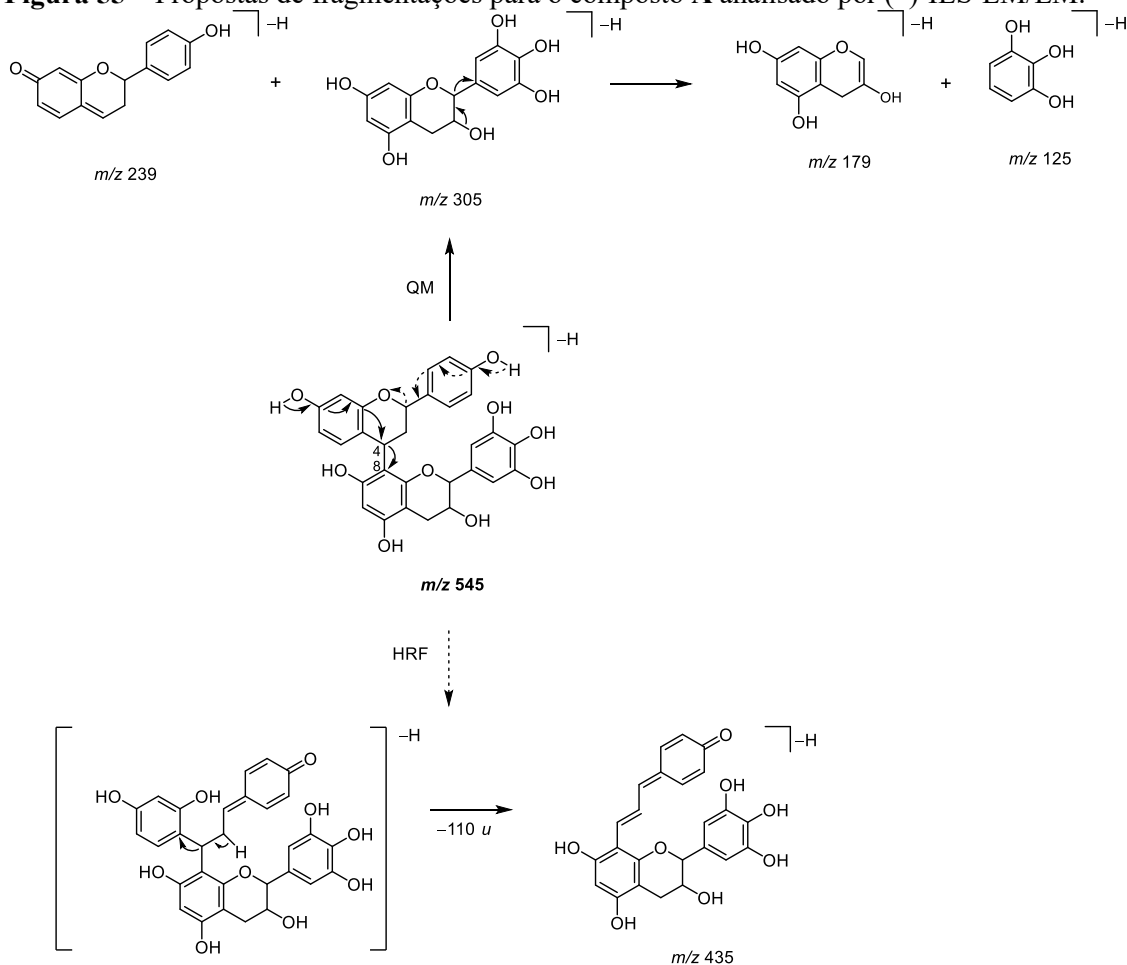
Através da análise por EM sequencial (EM/EM) (Figura 53) foi possível elucidar a conectividade entre as unidades flavânicas. Os principais fragmentos emergiram de uma QM, ocorrendo a clivagem entre C4–C8, dando origem aos íons monoméricos de m/z 255 (**5**) e 239. A fragmentação do íon precursor de m/z 545 $[M - H]^-$ gerou um íon de m/z 435 resultante de HRF. Esse padrão de fragmentação é característico de dímeros de proantocianidinas. Íons fragmentos de m/z 179 e 125 foram obtidos pela clivagem heterolítica entre os anéis B e C da unidade terminal obtida da QM (Figura 54).

Figura 53 – (–)-IES-EM/EM do composto A (m/z 545 $[M - H]^-$), 15 eV.



Fonte: a autora.

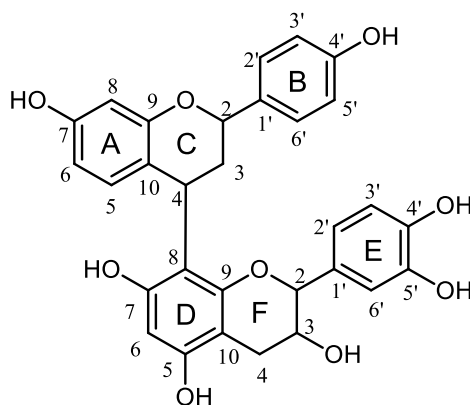
Figura 55 – Propostas de fragmentações para o composto **A** analisado por (-)-IES-EM/EM.



Fonte: a autora.

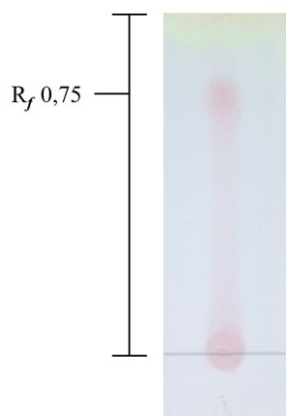
Portanto, a análise conjunta destes dados permitiu caracterizar o composto **A** como a proantocianidina dîmera cassiaflavana-galocatequina, sendo o primeiro isolamento reportado na espécie *S. velutina*. Entretanto análises espectroscópicas como RMN 1D e 2D devem ser realizadas para complementar a caracterização.

5.7.2 Composto **B**: (*ent*)-cassiaflavana)-catequina



O composto **B** (4,52 mg) foi isolado da fração em AcOEt das flores de *S. velutina*, apresentando coloração marrom avermelhado e solúvel em metanol. Ao ser analisado por CCD, utilizando vanilina como revelador, apresentou uma mancha de coloração rosa, característica de proantocianidinas, com R_f 0,75 (Figura 55).

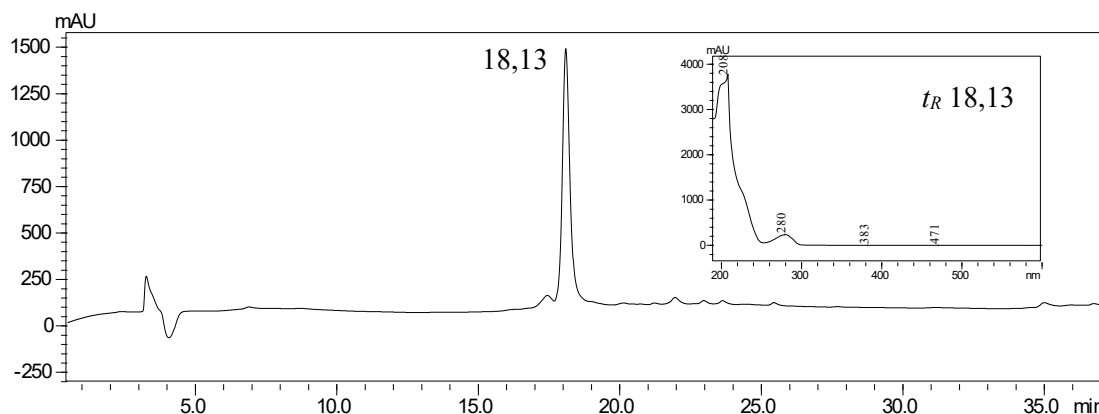
Figura 55 – CCD analítica (SiO_2) do composto **A** desenvolvido com DCM/MeOH (7:3) e revelado com vanilina.



Fonte: a autora.

O composto **B** foi analisado por CLAE-DAD (Figura 56) apresentando um pico no cromatograma em t_R 18,13 min. No espectro UV-Vis, foi observado uma banda de absorção em 280 nm característico de proantocianidinas.

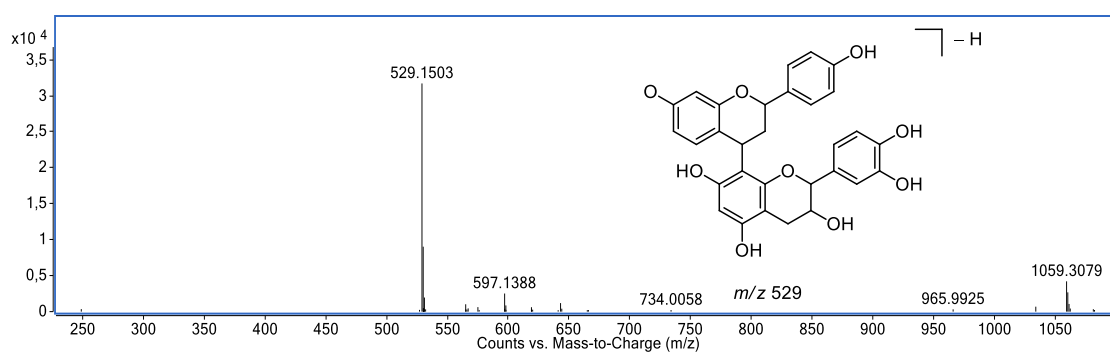
Figura 56 – Cromatograma CLAE-DAD em coluna analítica do composto **B** (UV-Vis 280 nm).



Condições: Coluna: Phenomenex Lunna C₁₈ (250 mm × 4,6 mm, 5 μm); gradiente (50 min), 20–100% de metanol e ácido acético 0,1%; C = 1,0 mg mL⁻¹, V. inj. = 50 μL, fluxo 1,0 mL/min) e detector DAD. Fonte: a autora.

Na análise do composto **B** por EM em alta resolução no modo negativo foi possível estabelecer a fórmula molecular C₃₀H₂₆O₉⁻ com IDH igual a 18. O íon precursor da molécula desprotonada foi observado em m/z 529,1513 [M – H]⁻ calculado para C₃₀H₂₅O₉, 529,1504 (Δ –0,18 ppm). O sinal de m/z 1059,3079 foi correlacionado ao aduto contendo duas moléculas com a perda de um hidrogênio, o que leva a carga negativa [2M – H]⁻ (Figura 57).

Figura 57 – (–)-IES-EM em alta resolução do composto **B**.



Fonte: a autora.

Os dados obtidos condizem com a estrutura de uma proantocianidina dímera. Entretanto, análise de RMN de ¹H e ¹³C (Figuras 59 e 60) mostrou sinais duplicados com pequenas diferenças nos valores de deslocamento químico e sobreposição de sinais, indicando a presença de duas conformações diferentes para o composto **B**, ou seja, uma mistura rotamérica, possivelmente causada pelo atropoisomerismo em torno da ligação interflavanílica, como já visto em outros trabalhos envolvendo a caracterização por RMN de proantocianidinas do Tipo B (Coetzee *et al.*, 2000; Moura *et al.*, 2022).

Atropoisomerismo é um tipo especial de estereoisomerismo em que a rotação em torno de uma ligação simples é dificultada por altas barreiras energéticas (geralmente devido a impedimento estérico), assim diferentes conformações podem ser obtidas e estudadas como isômeros distintos, chamados atropoisômeros. Ao invés de depender de um centro estereogênico (como um carbono assimétrico), a quiralidade axial surge do impedimento da rotação em torno do eixo de ligação (Santos *et al.*, 2007). A integração entre os atropoisômeros foi de 1,2:1,5. Assim, as atribuições de sinais foram realizadas para o composto majoritário (Tabela 14). A integração entre os atropoisômeros foi obtida através dos sinais duplicados no espectro de RMN de ^1H , onde cada conjunto de picos corresponde aos mesmos prótons em ambientes químicos distintos devido ao atropoisomerismo em torno da ligação interflavanílica. Assim, a proporção foi obtida ao medir a área sob os sinais de cada rotâmetro, sendo possível identificar que uma conformação é energeticamente mais favorecida e, portanto, mais populosa em solução, o que justifica a diferença de integração e confirma a coexistência de duas conformações estáveis em equilíbrio dinâmico (Moura *et al.*, 2022).

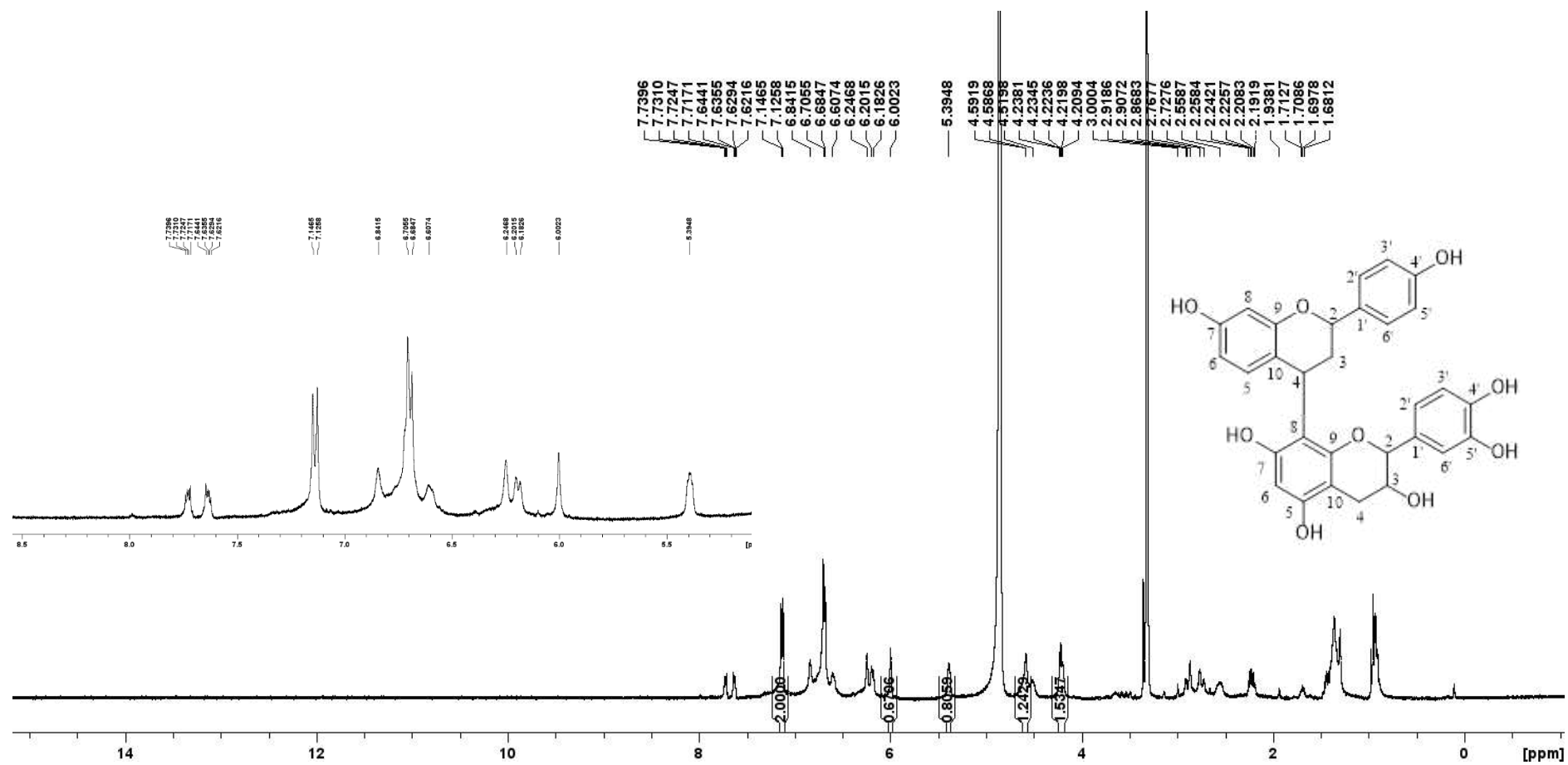
No espectro de RMN de ^1H do composto majoritário (Figura 58), os sinais em δ_{H} 2,20 (1H, m) e em 1,93 (1H, s), foram atribuídos aos hidrogênios H-3 da flavana. O sinal em δ_{H} 4,49 (1H, m) e em 5,39 (1H, s) foram atribuídos ao H-2 do anel C da flavana e do anel F do flavan-3-ol (unidade terminal), respectivamente. O simpleto em δ_{H} 4,51 (1H) foi atribuído ao H-4 do anel C da flavana. Já o sinal em δ_{H} 4,23 (1H, m) foi atribuído ao H-3 do anel F. Não foi possível atribuir a configuração relativa dos centros estereogênicos C2, F2, F3 a partir de valores das constantes de acoplamento devido a sobreposição de sinais. Os sinais em δ_{H} 2,76 (1H, s) e 2,91 (1H, d, $J = 5,57$ Hz) foram atribuídos aos hidrogênios H-4 do anel F da unidade terminal (Hatano *et al.*, 1997).

Na região entre δ_{H} 6,0 a 8,0, característica em compostos aromáticos, apresentou sinais em δ_{H} 7,14 (2H, d, $J = 8,29$) e 6,67 (2H, d, $J = 8,29$), de hidrogênios equivalentes, nas posições H-2'/H-6' e H-3'/H-5' (anel B), respectivamente, acoplados em *orto*. Na unidade terminal, os sinais em δ_{H} 6,68 (1H, s), 6,84 (1H, s) e 6,20 (d, 1H, $J = 8,31$ Hz) foram atribuídos aos hidrogênios H-2', H-3' e H-6' (anel E), respectivamente. Por fim, os sinais em δ_{H} 6,60 (1H, s), 6,64 (1H, d, $J = 1,85$ Hz) e 6,24 (1H, s) foram atribuídos aos H-5, H-6 e H-8 do anel A da flavana, e o simpleto em δ_{H} 6,00 (1H, s) foi atribuído ao H-6 do anel D da unidade terminal.

Nas análises de RMN de ^{13}C e DEPT (Figuras 59 e 60), foi possível atribuir os sinais de carbono não hydrogenados da flavana em δ_{C} 154,91 (C-7, anel A), 154,92 (C-9, anel A), 117,79 (C-10, anel A), 132,75 (C-1', anel B), 155,51 (C-4', anel B) e da unidade terminal flavan-3-ol em δ_{C} 153,91 (C-5, anel D), 153,55 (C-7, anel D), 108,59 (C-8, anel D), 154,63 (C-9, anel D), 99,12 (C-10, anel D), 131,64 (C-1', anel E), 143,75 (C-4', anel E) e 143,55 (C-5', anel E). Os sinais em δ_{C} 77,61 e 74,82 foram atribuídos aos carbonos C-2 dos anéis C e F, respectivamente. Os carbonos metilênicos apresentaram os sinais em δ_{C} 38,25 (C-3, anel C) e 29,68 (C-4, anel F).

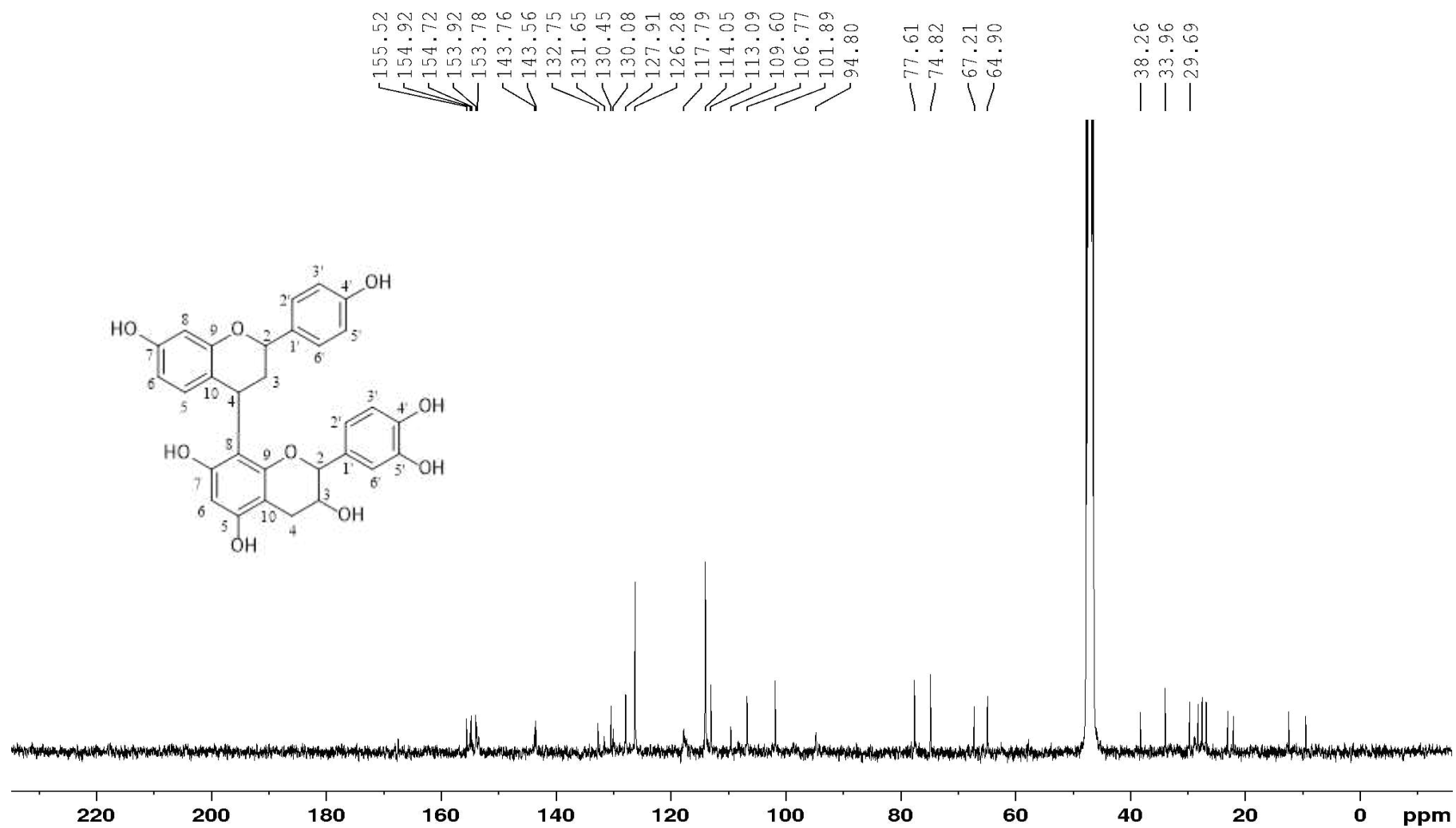
Os mapas de contornos HSQC e HMBC (Figuras 61 a 64) foram indispensáveis na atribuição de deslocamentos químicos devido a sobreposição de sinais e pela presença de sinais relativos ao composto minoritário. Os hidrogênios H-C2'/6' (δ_{H} 7,14, anel B) apresentaram acoplamentos a longa distância com C-2 (δ_{C} 77,61) e C-4 (δ_{C} 33,95, anel C). OH-A5 (δ_{H} 6,60) está acoplado ao carbono vizinho C-7 (δ_{C} 154,91, anel A). Na unidade terminal, foram identificadas acoplamentos a longa distância entre C-2' (δ_{H} 6,68, anel E) e C-6' (δ_{C} 114,31, anel E) e C-1' (δ_{C} 131,64, anel E). Ambos os prótons em H-4 (δ_{H} 2,91 e 2,76, anel F) estão acoplados com C-2 (δ_{C} 74,82, anel F) (Figura 67 e Tabela 14).

Figura 58 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) do composto **B**.



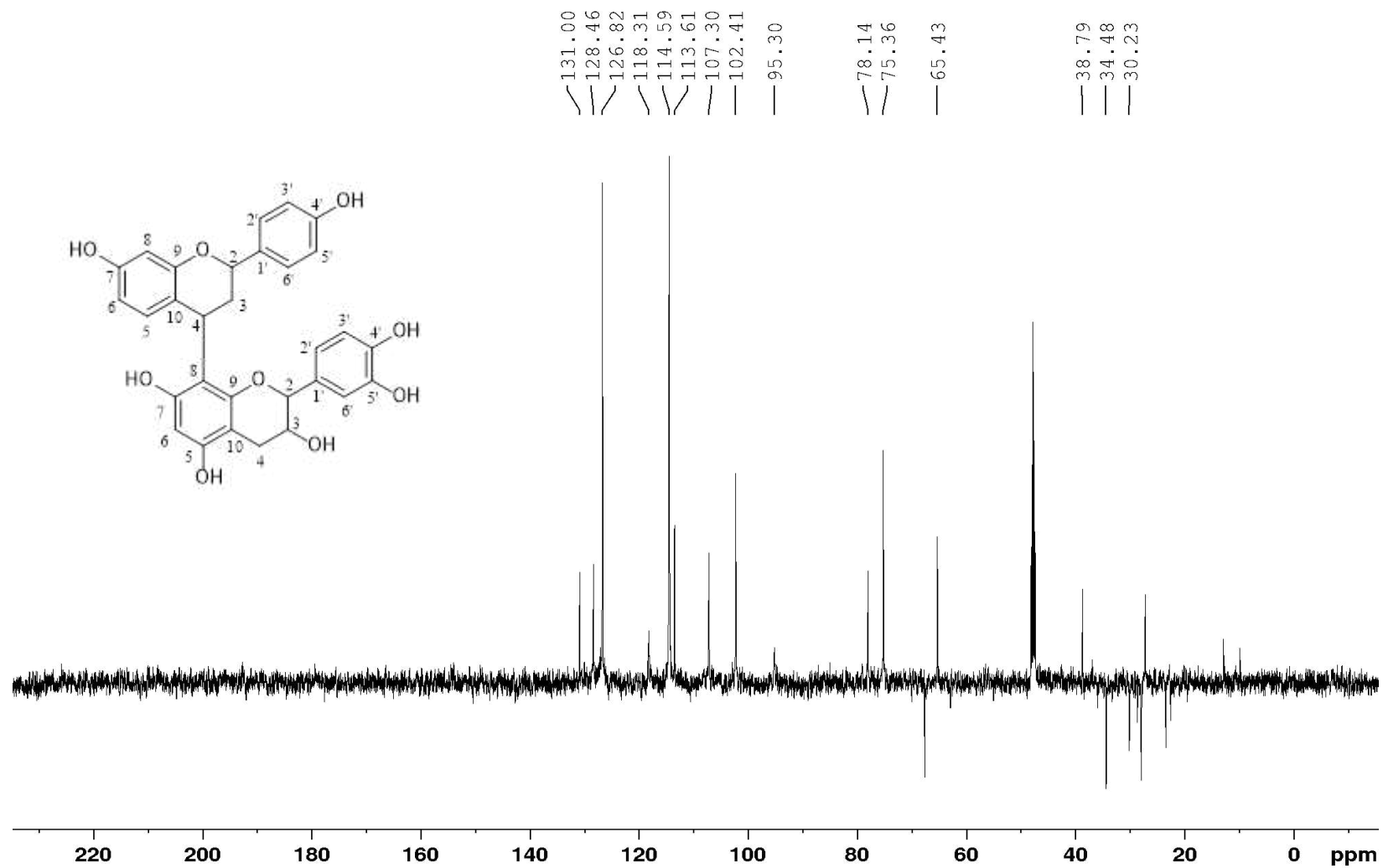
Fonte: a autora

Figura 59 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) do composto **B**.



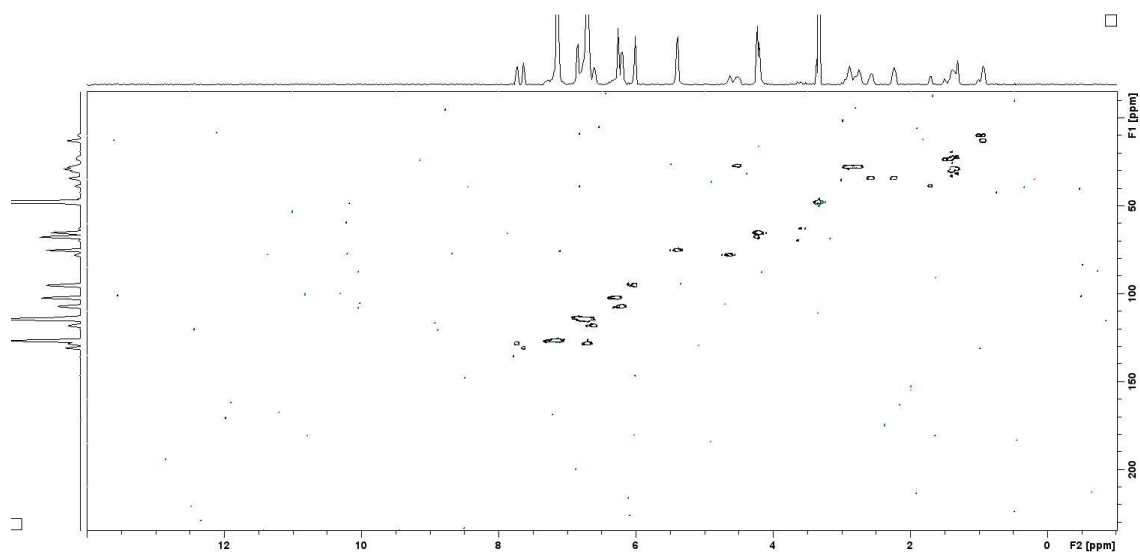
Fonte: a autora

Figura 61 – DEPT (125 MHz, CD₃OD) do composto B.



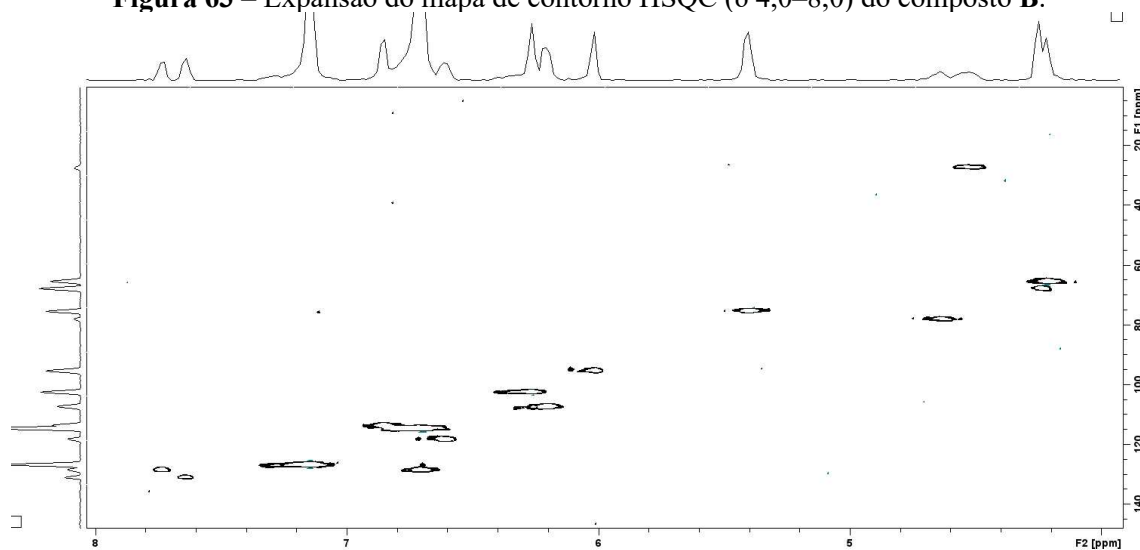
Fonte: a autora

Figura 62 – Mapa de contorno HSQC do composto **B**.



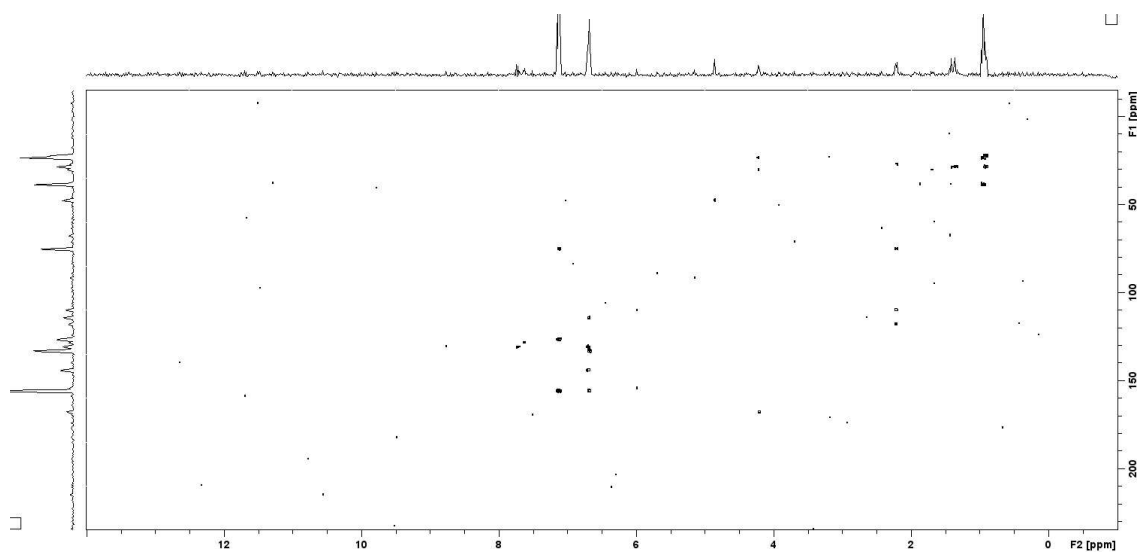
Fonte: a autora

Figura 63 – Expansão do mapa de contorno HSQC (δ 4,0–8,0) do composto **B**.



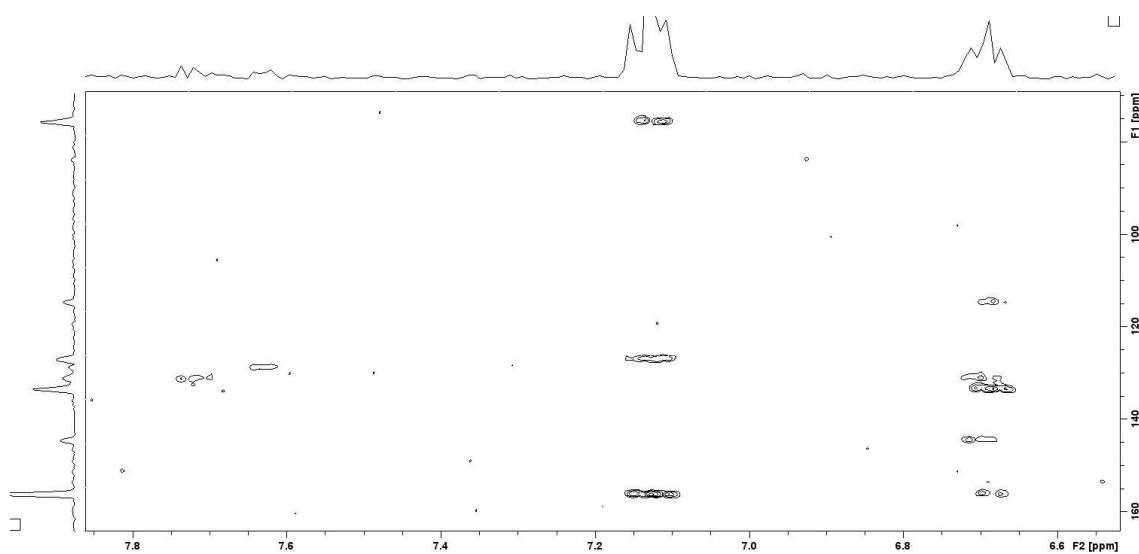
Fonte: a autora

Figura 64 – Mapa de contorno HMBC para o composto **B**.



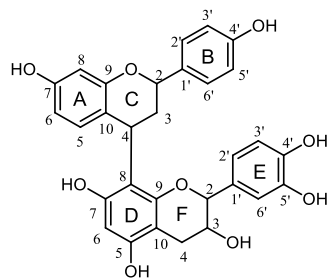
Fonte: a autora

Figura 65 – Expansão do mapa de contorno HMBC (δ 6,6–7,8) do composto **B**.



Fonte: a autora

Tabela 14 – Dados de RMN de ^1H e ^{13}C (400 e 100 MHz, CD_3OD) e correlações observadas nos mapas de contorno HSQC e HMBC do composto **B**.



Nº*	DEPT	$\delta_{\text{C}}^{\text{a}}$ ppm	$\delta_{\text{H}}^{\text{a}}$ ppm, mult. ^b (<i>J</i> em Hz)	HSQC	HMBC	δ_{H} na literatura ^c
2, C	CH	77,61	4,59 (1H, s)	H-2	—	5,29
3, C	CH ₂	38,25	2,20 (1H, m) 1,93 (1H, s)	H-3	—	2,20/2,50
4, C	C	33,95	4,51 (1H, s)	—	—	4,42
5, A	CH	130,07	6,60 (1H, s)	H-5	H-6	6,58
6, A	CH	106,77	6,20 (1H, d, <i>J</i> = 7,58)	H-6	—	6,24
7, A	C	154,91	—	—	—	—
8, A	CH	101,89	6,24 (1H, s)	H-8	—	6,30
9, A	C	154,72	—	—	—	—
10, A	C	120,18	—	—	—	—
1', B	C	132,75	—	—	—	—
2'/6' B	CH	127,91	7,14 (2H, d, <i>J</i> = 8,29)	H-2'/6'	H-2, H-2'/6', H-4'	7,11
3/5' B	CH	114,05	6,70 (2H, d, <i>J</i> = 8,29)	H-3'/5'	H-2'/6', H- 1'	6,71
4', B	C	155,51	—	—	—	—
2, F	CH	74,82	5,39 (1H, s)	H-2	—	4,48
3, F	CH	64,90	4,23 (1H, m)	H-3	—	3,72
4, F	CH	29,68	2,91 (1H, d, <i>J</i> = 5,57 Hz) 2,76 (1H, s)	H-4	H-2	2,52/2,91
5, D	C	153,91	—	—	—	—
6, D	CH	94,79	6,00 (1H, s)	H-6	—	6,07

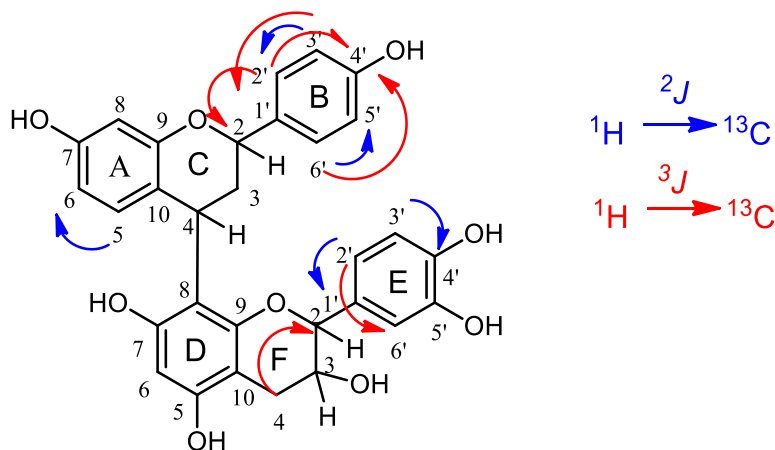
Continua.

Nº	DEPT	δ_C^a ppm	δ_H^a ppm, mult. ^b (J em Hz)	HSQC	HMBC	δ_C na literatura ^c
7, D	C	153,55	—	—	—	17,66
8, D	C	109,59	—	—	—	—
9, D	C	154,63	—	—	—	—
10, D	C	99,12	—	—	—	—
1', E	C	131,64	—	—	—	—
2', E	CH	117,79	6,68 (1H, s)	H-2'	H-6', H-1'	6,73
3', E	CH	113,09	6,84 (1H, s)	—	H-4'	6,50
4', E	C	143,75	—	—	—	—
5', E	C	145,55	—	—	—	—
6', E	CH	114,31	6,62 (1H, s)	—	—	6,58

^aDeslocamentos químicos estabelecidos em relação ao padrão interno TMS (δ TMS = 0,0 ppm).

^bMultiplicidade: s (simpleto), d (dublete), q (quinteto); ^cDados da literatura: experimentos de RMN realizados a 500 MHz para ¹H utilizando acetona-*d*₆ (Hatano *et al.*, 1997). *Nota: os números representam os carbonos e a letra representa o anel ao qual o carbono ou hidrogênio está ligado. Fonte: a autora.

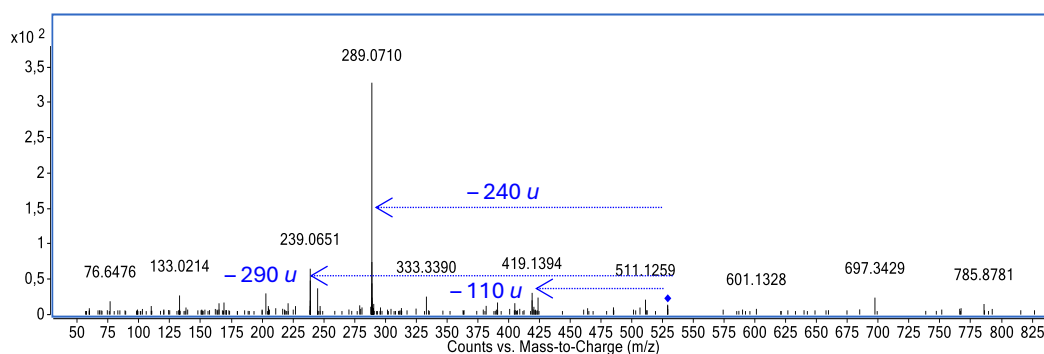
Figura 66 – Correlações observadas no mapa de contorno HMBC para o composto **B**.



Fonte: a autora.

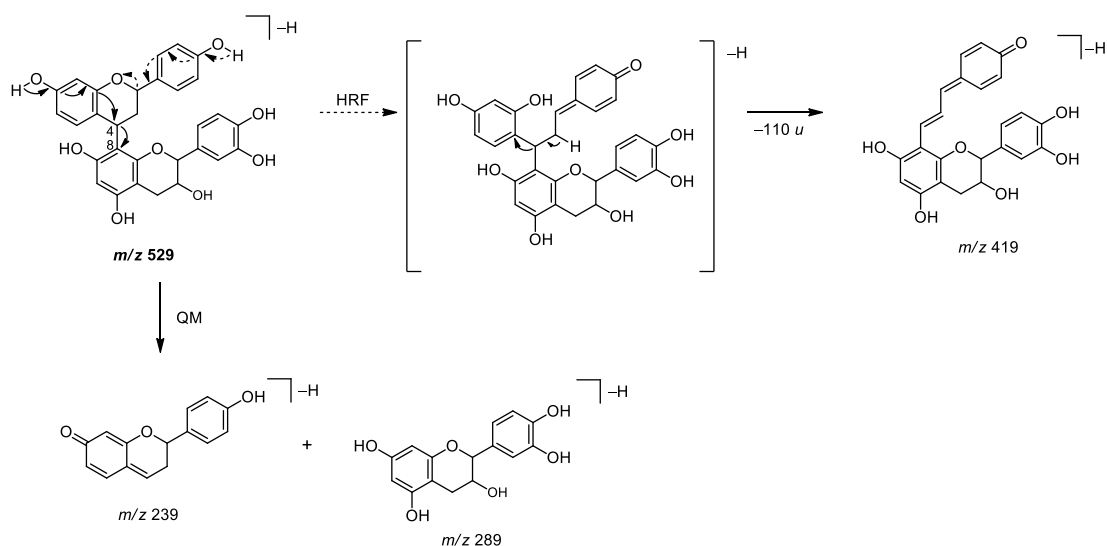
O espectro EM/EM (Figura 67) apresentou um íon fragmento de m/z 419 atribuído a uma clivagem do tipo HRF, que levou à eliminação de 110 *u*. Adicionalmente também foram observados os íons fragmentos de m/z 239 e 289, que foram atribuídos a uma clivagem do tipo QM da ligação interflavona C4–C8 (Figura 68). Através destes dados espectrométricos e de RMN o composto majoritário é um epímero de (*ent*)-cassiaflavona-(4→8)-catequina (Hatano *et al.*, 1997).

Figura 67 – (–)-IES-EM/EM do composto **B** (m/z 529 $[M - H]^-$), 20 eV.



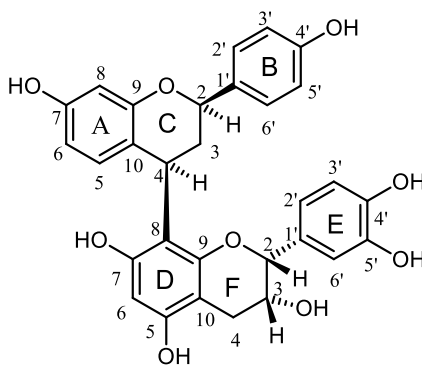
Fonte: a autora.

Figura 68 – Propostas de fragmentações para o composto **B** por IES(–)-EM/EM.



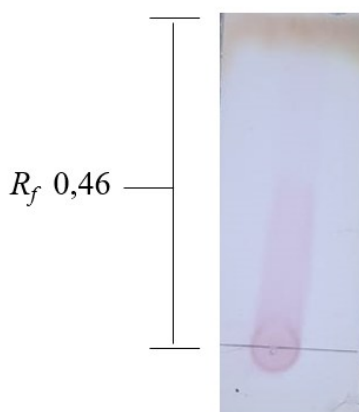
Fonte: a autora.

5.7.3 Composto **C**: (*ent*)-cassiaflavana-(4→8)-(*epi*)-catequina



O composto **C** (11,19 mg) foi isolado da fração em AcOEt das flores de *S. velutina*, apresentando coloração marrom avermelhado e solúvel em metanol, assim como o composto **B**. Ao ser analisado por CCD utilizando vanilina como revelador, apresentou uma mancha de coloração rosa, característica de proantocianidinas, com R_f 0,46 (Figura 69).

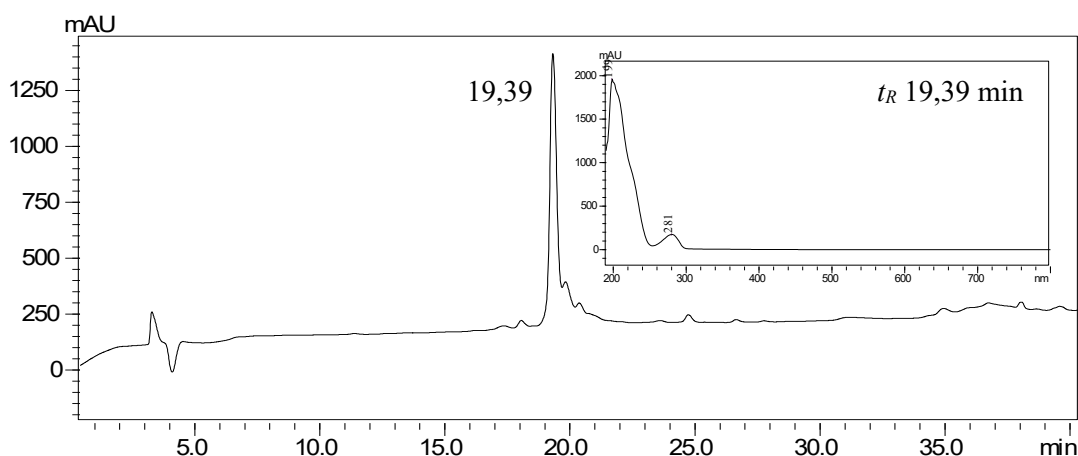
Figura 69 – CCD analítica (SiO_2) do composto **C** desenvolvido com DCM/MeOH (4:1) e revelado com vanilina.



Fonte: a autora.

O composto **C** foi analisado por CLAE-DAD (Figura 70) apresentando um pico no cromatograma em t_R 19,39 min. No espectro UV-Vis, foi observado uma banda de absorção em 280 nm, esperado para proantocianidinas.

Figura 70 – Cromatograma CLAE-DAD em coluna analítica do composto **C** (UV-Vis 280 nm).

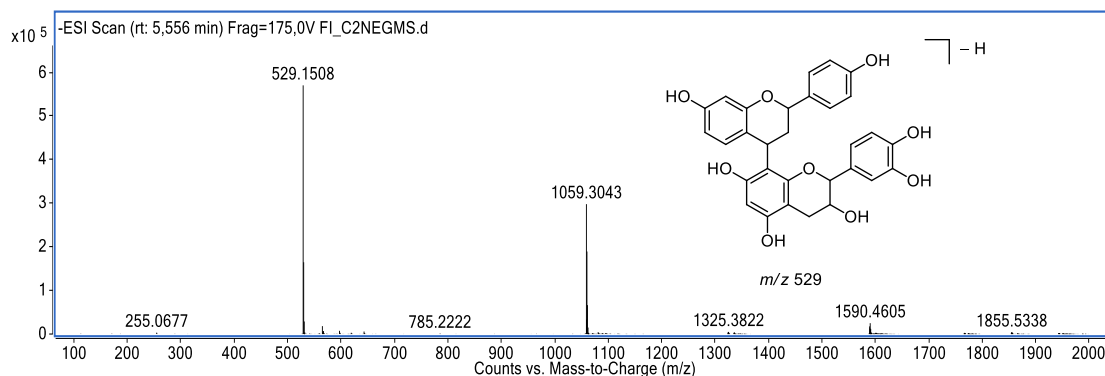


Condições: Coluna: Phenomenex Lunna C_{18} (250 mm $\times$ 4,6 mm, 5 μm); gradiente (50 min), 20–100% de metanol e ácido acético 0,1%; C = 1,0 mg mL^{-1} , V. inj. = 50 μL , fluxo 1,0 mL/min) e detector DAD.

Fonte: a autora.

A análise do composto **C** por EM em alta resolução no modo negativo permitiu estabelecer a fórmula molecular $C_{30}H_{26}O_9$ com IDH igual a 18, sendo este composto um isômero de **B**. O sinal observado no EM para a molécula desprotonada foi de m/z 529,1508 $[M - H]^-$, calculado para $C_{30}H_{25}O_9^-$, 529,1504 (Δ 0,75 ppm). Também foi observado um sinal de m/z 1059,3043, que foi atribuído ao aduto $[2M - H]^-$ (Figura 71).

Figura 71 – (-)-IES-EM em alta resolução do composto **C**.



Fonte: a autora.

A partir dos dados de EM, foi proposta a estrutura do composto **C** como sendo uma proantocianidina dímera em que duas unidades aromáticas estão ligadas por uma ligação C–C que poderia ter livre rotação. A análise do espectro de RMN de 1H (Figura 72) apresentou sinais duplicados com pequenas diferenças nos valores de deslocamentos químicos. Isso sugeriu a presença de atropoisômeros devido a possibilidade de rotação em torno da ligação interflavânica ($C_{4_{anel\ C}}-C_{8_{anel\ D}}$). A integração entre os atropoisômeros foi de 1:1,3. Assim, as atribuições de sinais foram realizadas para o composto majoritário (Tabela 15).

Quanto aos deslocamentos químicos do composto majoritário, o sinal de um duplo duplo em δ_H 2,11 (1H, ddd, $J = 1,81/5,31/12,40$ Hz) e o sinal 1,85 (1H, dd, $J = 3,33$ Hz), foram atribuídos aos hidrogênios H-3 da flavana. Os valores de constante de acoplamento de ambos os hidrogênios indicaram que estão na posição axial e equatorial, respectivamente. O sinal em δ_H 5,0 (1H, m) e em 4,73 (1H, s) foram atribuídos ao H-2 do anel C da flavana e ao H-2 do anel F do flavan-3-ol (unidade terminal) em equatorial, respectivamente (Moura *et al.*, 2022). O dd em δ_H 4,79 (1H) foi atribuído ao H-4 do anel C da flavana. Não foi possível calcular as constantes de acoplamento de H-4 devido a sobreposição de sinais. O sinal em δ_H 4,07 (1H, m, $J = 1,71$ Hz) foi atribuído ao H-3 do anel F na posição axial. Esses dados sugerem que a unidade terminal é a (*epi*)-catequina. Os sinais em δ_H 2,75 (1H, d, $J = 10,50$ Hz) em equatorial e

2,81 (1H, dd, $J = 5,44/10,50$) em axial foram atribuídos aos hidrogênios H-4 no anel F da unidade terminal (Oliveira *et al.*, 2018; Moura *et al.*, 2022).

Na região entre δ_H 6,0 a 8,0 foram atribuídos aos sinais relativos a hidrogênios de anéis aromáticos, como esperado para o composto (Figura 69). Os sinais em δ_H 7,06 (2H, d, $J = 8,30$ Hz) e 6,67 (2H, d, $J = 8,30$ Hz), de hidrogênios equivalentes, sugerem as posições H-2'/H-6' e H-3'/H-5' no anel B da flavana acoplados em *orto*. Os sinais em δ_H 6,14 (1H, dd, $J = 1,85$ Hz), 7,02 (1H, d, $J = 6,07$ Hz) e 6,54 (d, 1H, $J = 1,85$ Hz) foram atribuídos aos hidrogênios H-2', H-3' e H-6' (anel E), respectivamente. Essas atribuições estão de acordo com hidrogênios de anéis aromáticos da unidade terminal da (*epi*)-catequina. Por fim, os sinais em δ_H 6,75 (1H, dd, $J = 1,0/3,11$ Hz), 6,27 (1H, dd, $J = 2,61/8,14$ Hz) e 6,31 (1H, d, $J = 2,46$ Hz) foram atribuídos aos H-5, H-6 e H-8 do anel A da flavana e o simpleto em δ_H 6,02 (1H, s) foi atribuído ao H-6 do anel D da unidade terminal.

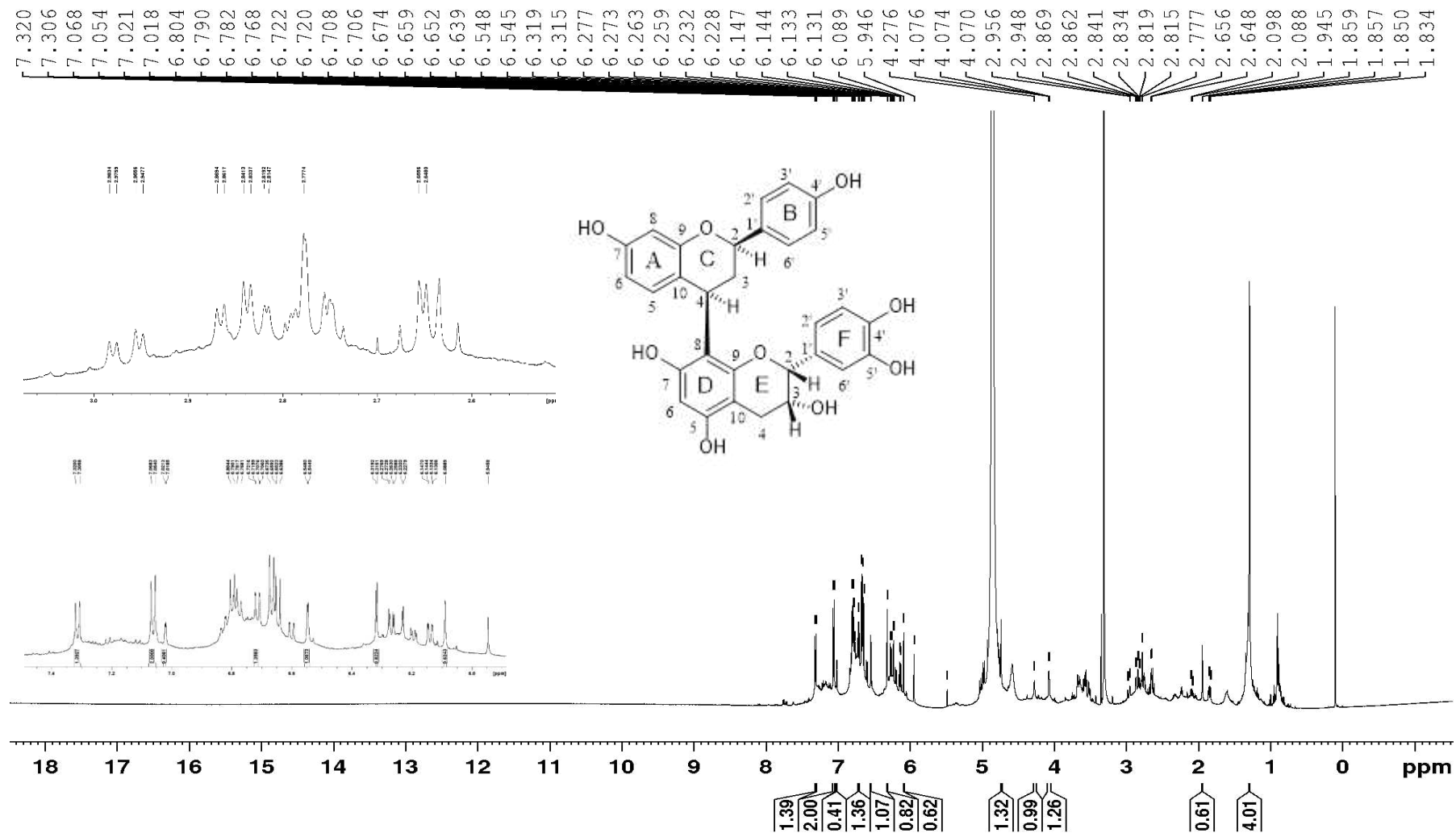
Através dos espectros de RMN de ^{13}C e DEPT (Figuras 73 e 74), foi possível atribuir os sinais de carbono não hydrogenado da flavana em δ_C 157,39 (C-7, anel A), 156,88 (C-9, anel A), 120,26 (C-10, anel A), 134,90 (C-1', anel B), 158,12 (C-4', anel B) e da (*epi*)-catequina em δ_C 156,16 (C-5, D), 155,87 (C-7, anel D), 110,18 (C-8, anel D), 155,62 (C-9, anel D), 100,92 (C-10, anel D), 132,02 (C-1', anel E), 145,85 (C-4', anel E) e 145,56 (C-5', anel E). Os sinais em δ_C 80,67 e 79,42 são referentes aos carbonos C-2 (anel C) e C-2 (anel F), respectivamente. O sinal em δ_C 33,18 foi atribuído ao C-4 do anel C da flavana, e os sinais em δ_C 36,83 e 30,90 foram atribuídos aos carbonos metilênicos de C-3 e C-4 dos anéis C e F, respectivamente.

As atribuições foram confirmadas através das análises dos mapas de contornos HSQC e HMBC (Figuras 75 a 82). No mapa de contorno HMBC foi observada correlação entre o sinal δ_H 5,0 (H-2, anel C) com o sinal δ_C 128,93 (C-2'/C-6', anel B). Também foram observadas correlações entre os hidrogênios δ_H 7,06 (H2'/6', anel B) com δ_C 80,67 (C-2, anel C) e δ_C 33,18 (C-4, anel C), enquanto que o hidrogênio com sinal em δ_H 4,79 (H-4, anel C) apresentou correlações com o carbono com sinal δ_C 120,26 (C-10, anel A). O hidrogênio em δ_H 6,72 (H-5, anel A) também está acoplado ao C-4 do anel C, além de H-7 do anel A (δ_C 157,39). Na unidade terminal, foi observado acoplamentos HMBC entre o hidrogênio com sinal em δ_H 4,73 (H-2, anel F) com o C-1' (δ_C 132,02) C-2' (δ_C 119,90) e C-6' (δ_C 114,27) do anel E. Ambos os prótons H-4 do anel F (δ_H 2,27 e 2,81) acoplam com os carbonos com sinais em δ_C 79,42 (C-2, anel F), F3 (δ_C 67,57), δ_C 156,16

(C-5, anel D) e δ_C 100,92 (C-10, anel D). A ligação interflavânica entre os dois monômeros foi estabelecida a partir da correlação observada no mapa de contorno HMBC entre o hidrogênio com sinal em δ_H 4,79 (H-4, anel C) da cassiaflavana com o carbonos em δ_C 110,18 (C-8, anel D) e δ_C 155,62 (C-9, anel D) da unidade terminal (*epi*)-catequina (Tabela 15).

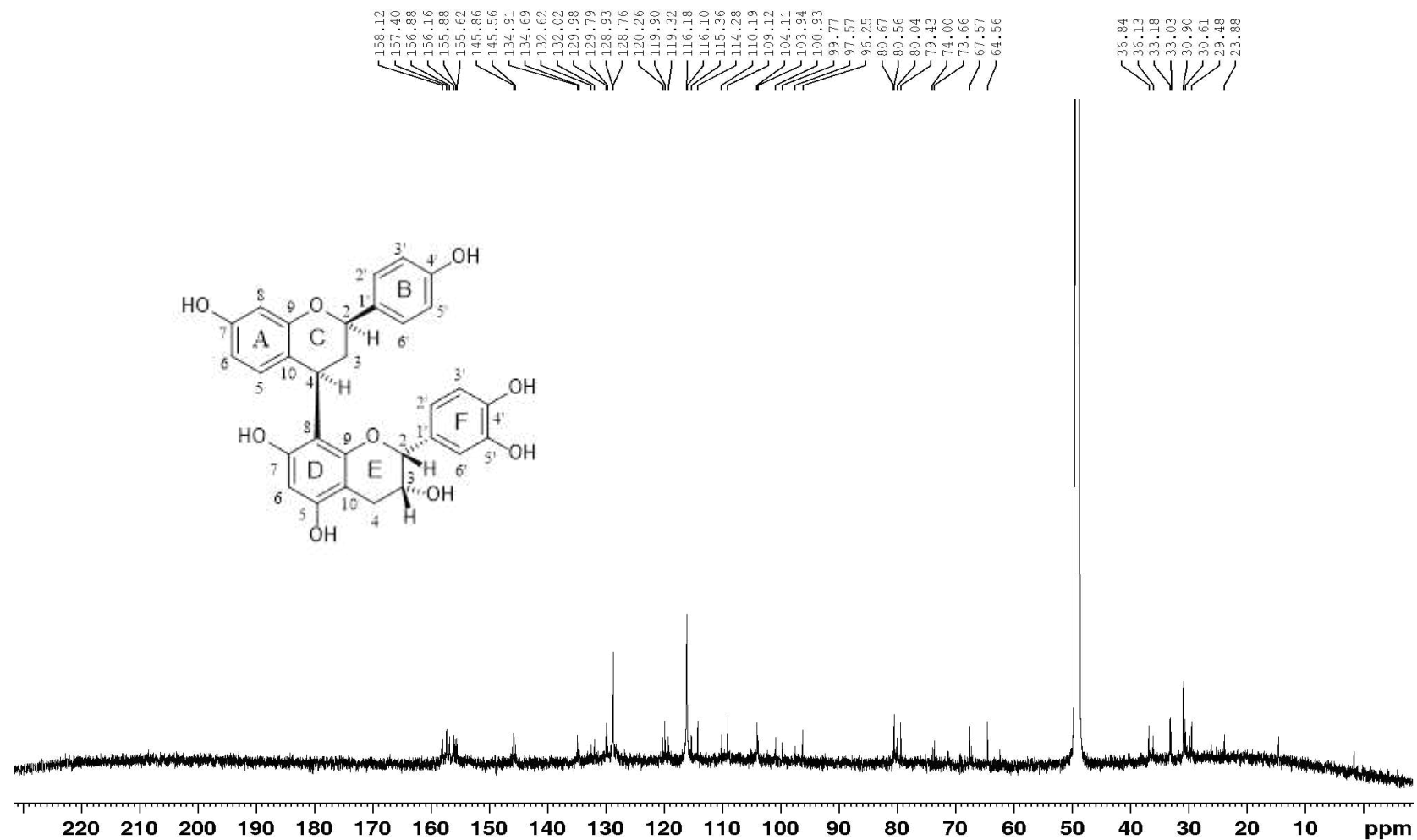
Os resultados de RMN mostraram que os hidrogênios H-2 (anel C), H-4 (anel C) e C-2 (anel F) estão axialmente orientados. Assim, a configuração relativa nos quatro centros estereogênicos pode ser sugerida. No entanto, apenas com os dados de RMN, nem as configurações absolutas nem os atropisômeros puderam ser deduzidos. Interações NOE entre as partes superior e terminal da proantocianidina e cálculos combinados de espectros de dicroísmo circular podem ser utilizados futuramente para determinar tanto a configuração absoluta quanto os atropisômeros de **B** e **C** (Moura *et al.*, 2022).

Figura 72 – Espectro de RMN de ^1H (600 MHz, CD_3OD) do composto **C**.



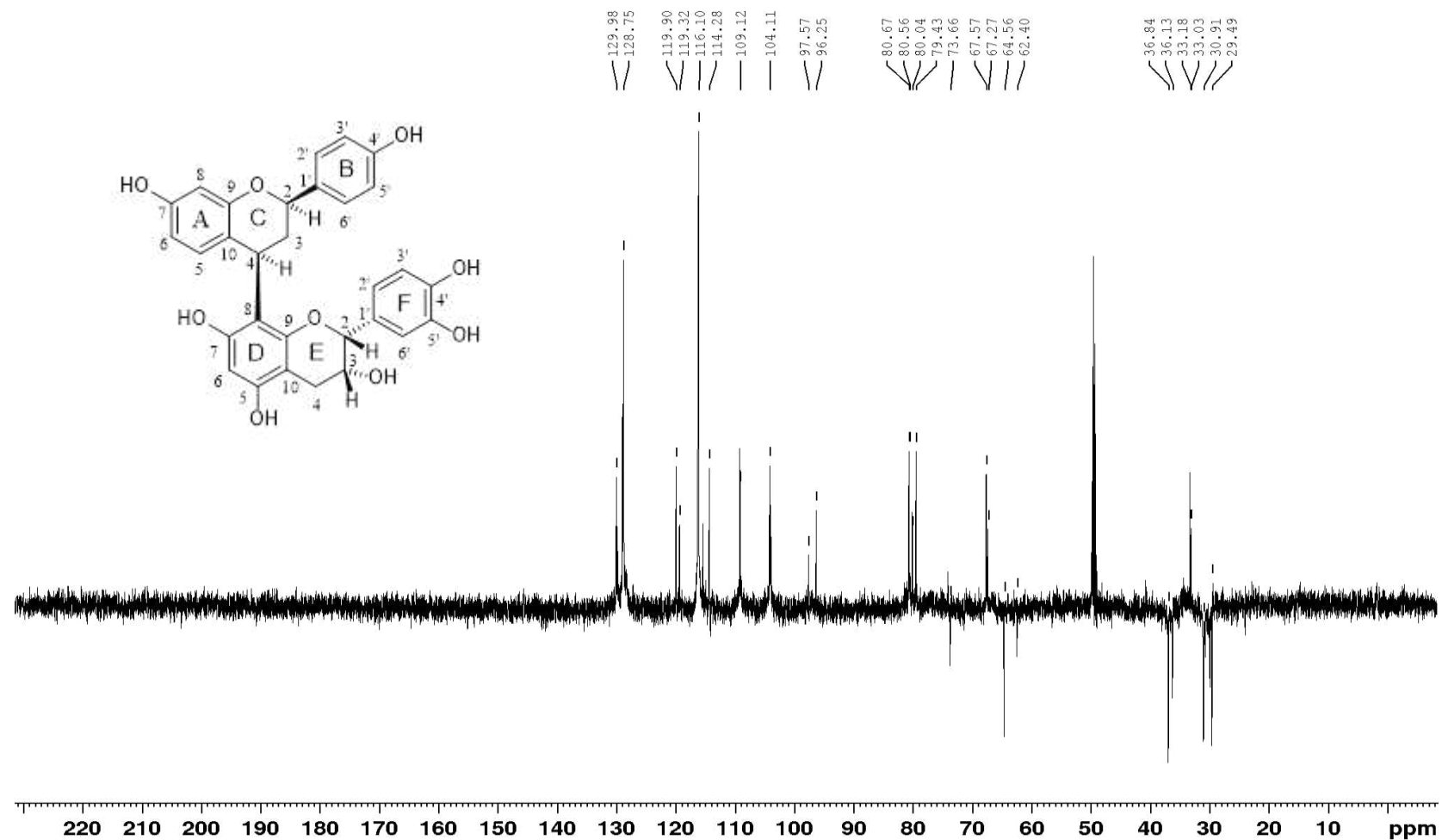
Fonte: a autora.

Figura 73 – Espectro de RMN de ^{13}C (150 MHz, CD_3OD) do composto **C**.



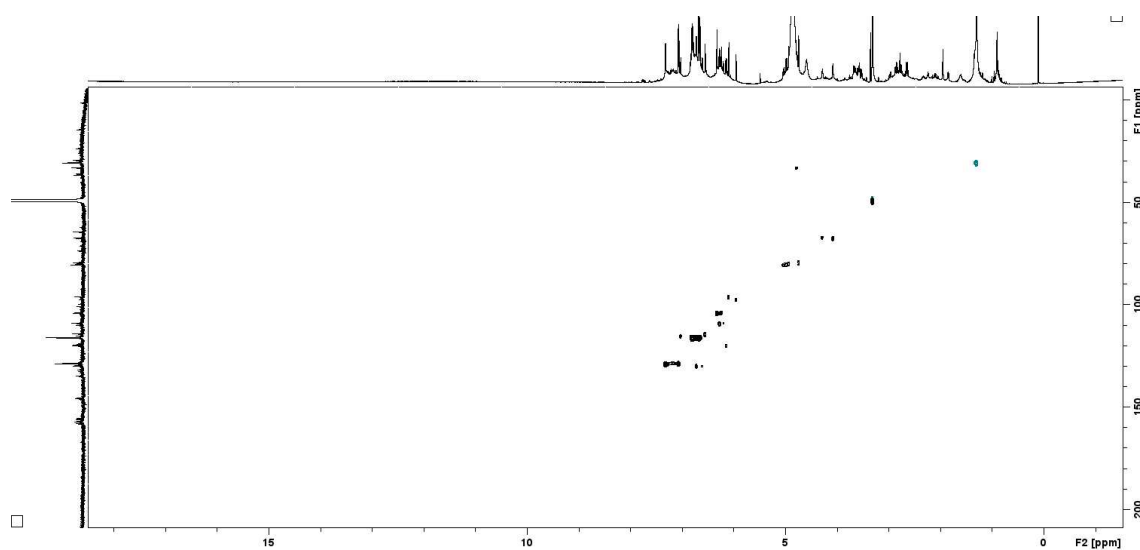
Fonte: a autora.

Figura 74 – DEPT (125 MHz, CD₃OD) do composto C.



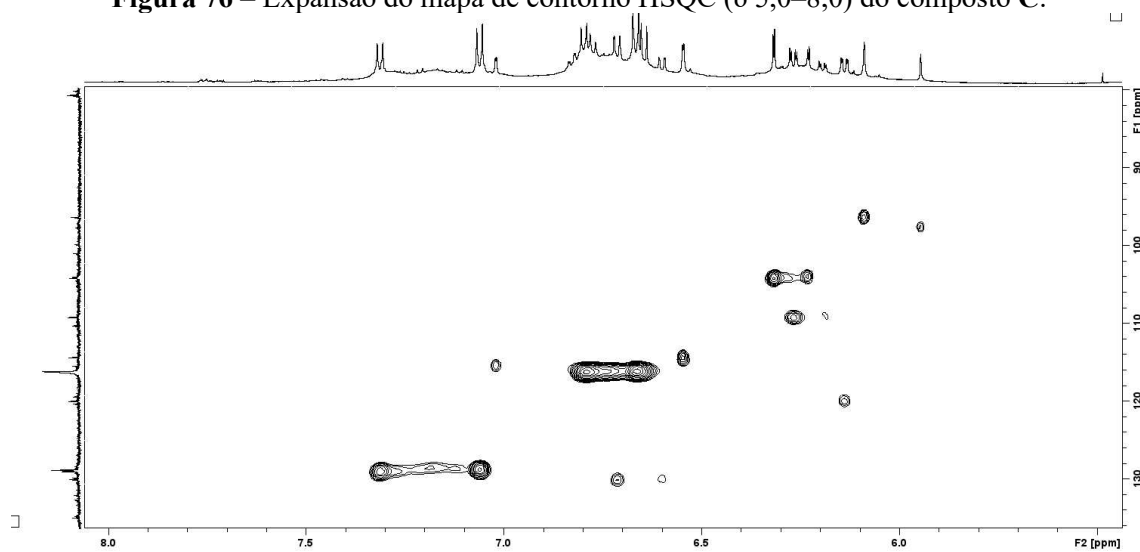
Fonte: a autora.

Figura 75 – Mapa de contorno HSQC do composto C.



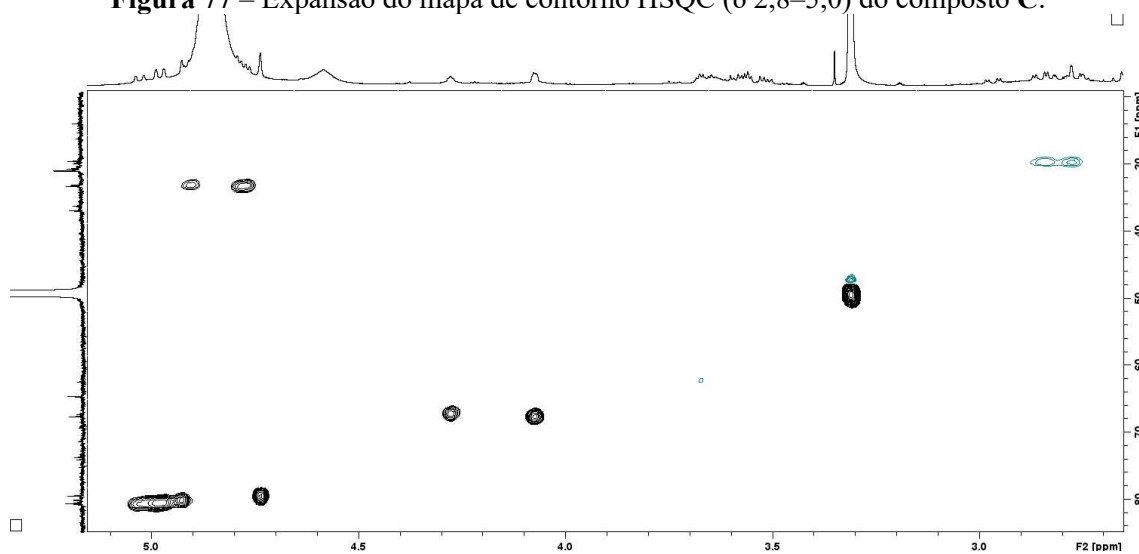
Fonte: a autora.

Figura 76 – Expansão do mapa de contorno HSQC (δ 5,0–8,0) do composto C.



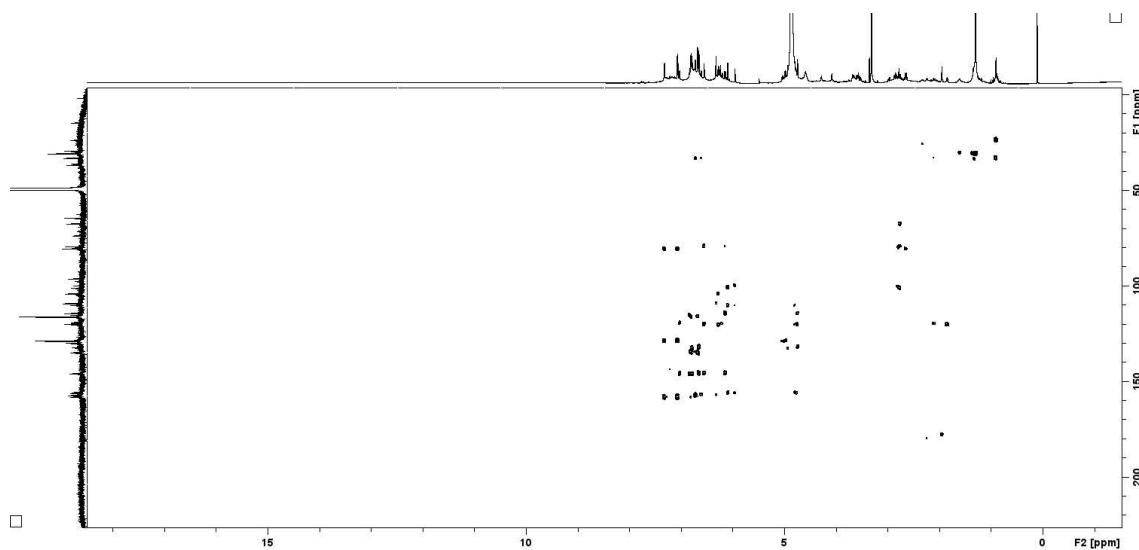
Fonte: a autora.

Figura 77 – Expansão do mapa de contorno HSQC (δ 2,8–5,0) do composto **C**.



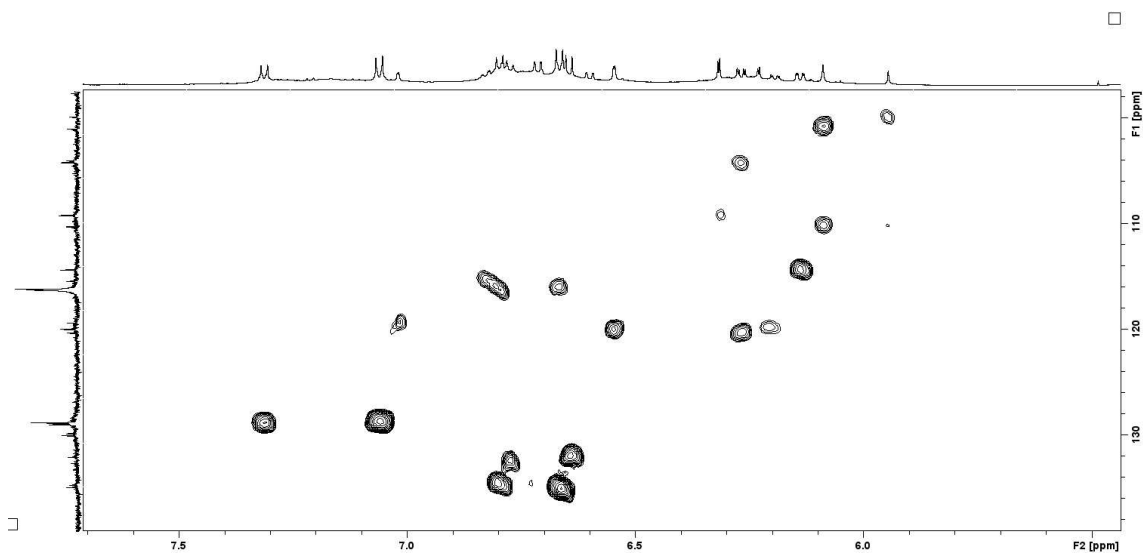
Fonte: a autora.

Figura 78 – Mapa de contorno HMBC para o composto **C**.



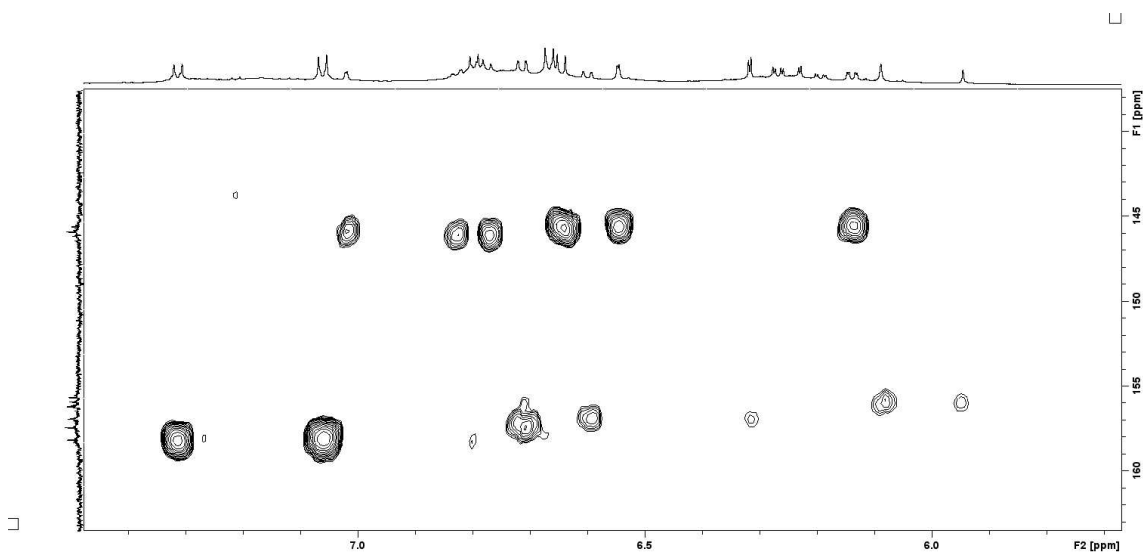
Fonte: a autora.

Figura 79 – Expansão do mapa de contorno HMBC (δ 5,0–7,5) do composto **C**.



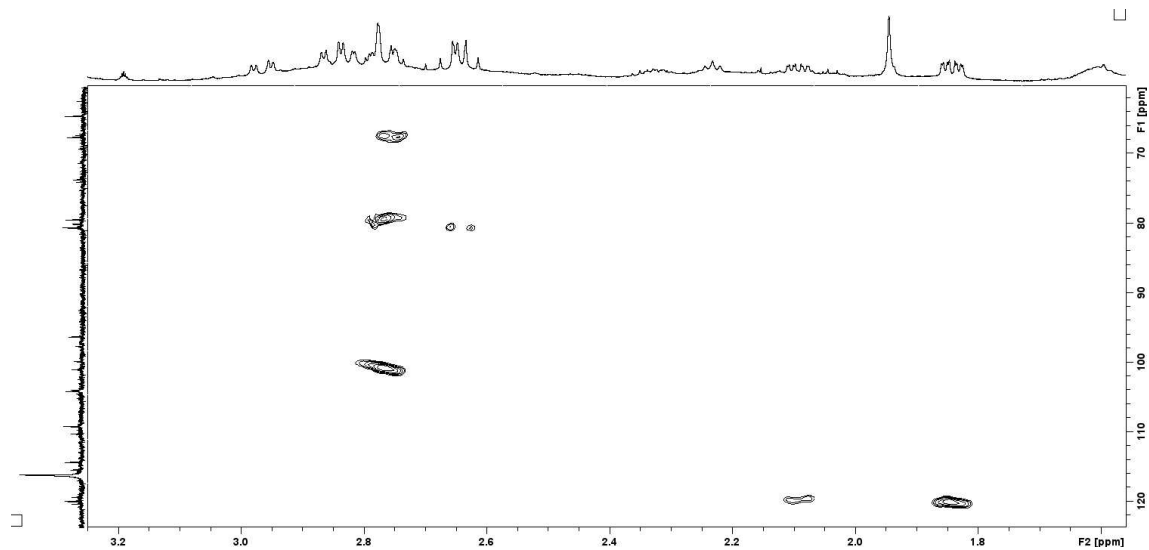
Fonte: a autora.

Figura 80 – Expansão do mapa de contorno HMBC (δ 5,6–8,0) do composto **C**.



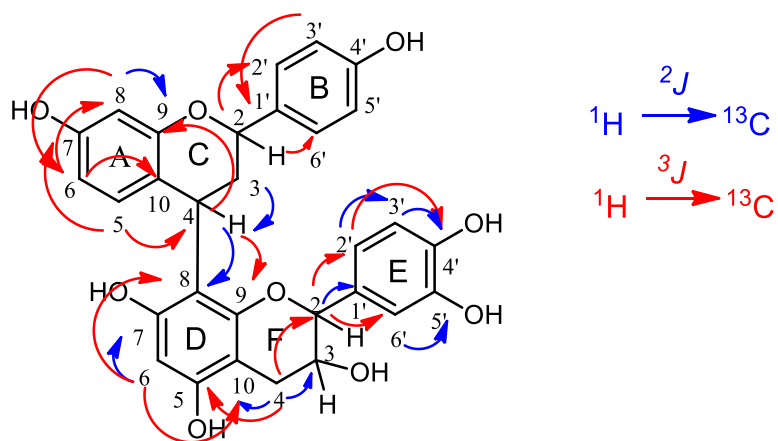
Fonte: a autora.

Figura 81 – Expansão do mapa de contorno HMBC (δ 1,0–2,2) do composto **C**.



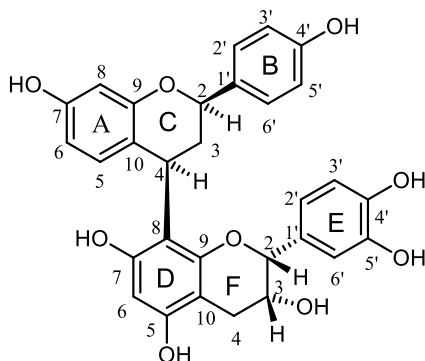
Fonte: a autora.

Figura 82 – Principais correlações no mapa de contorno HMBC para o composto **C**.



Fonte: a autora.

Tabela 15 – Dados de RMN de ^1H e ^{13}C (600/150 MHz, CD_3OD) e correlações observadas nos mapas de contorno HSQC e HMBC do composto **C**.



Nº*	DEPT	$\delta_{\text{C}}^{\text{a}}$ ppm	$\delta_{\text{H}}^{\text{a}}$ ppm, mult. ^b (J em Hz)	HSQC	HMBC	δ_{C} na literatura ^c
2, C	CH	80,67	5,0 (1H, d J = 11,80) ax	H-2	H-2'/6'	80,43
3, C	CH_2	36,83	2,11 (1H, ddd J = 1,81/5,31/12,40 Hz) ax; 1,85 (1H, dd, J = 3,22) eq		H-2'/6', H-4	36,71
4, C	CH	33,18	4,79 (1H, dd, J = 5,01/11,80) ax	H-4	H-9, H-8, H-9	33,05
5, A	CH	129,97	6,75 (1H, dd, J = 1,0/3,11)	H-5	H-4, H-7	129,84
6, A	CH	109,12	6,27 (1H, dd, J = 2,61/8,14)	H-6	H-8, H-10	108,99
7, A	C	157,39	—	—	—	156,75
8, A	CH	104,11	6,31 (1H, d, J = 2,46)	H-8	H-6, H-9	103,97
9, A	C	156,88	—	—	—	157,26
10, A	C	120,26	—	—	—	120,12
1', B	C	134,90	—	—	—	134,77
2'/6', B	CH	128,93	7,06 (2H, d, J = 8,30)	H-2'/6'	H-2, H-2'/6'	128,62
3'/5', B	CH	116,18	6,67 (2H, d, J = 8,30)	H-3'/5'	H-3'/5', H-1', H-2'/6'	115,95
4', B	C	158,12	—	—	—	157,99
2, F	CH	79,42	4,73 (1H, s)	H-2	H-2'/H-6', H-1'	79,30
3, F	CH	67,57	4,07 (1H, m)	H-3	—	67,4
4, F	CH	30,90	2,75 (1H, d, J = 10,73) ax; 2,81 (1H, dd, J = 5,44/10,50) eq	H-4	H-3, H-2, H-10, H-5	29,35

Nº	DEPT	δ_c^a ppm	δ_H^a ppm, mult. ^b (J em Hz)	HSQC	HMBC	δ_c na literatura ^c
5, D	C	156,16	—	—		156,03
6, D	CH	96,24	6,08 (1H, s)	H-6	H-10, H-8, H-7	96,09
7, D	C	155,87	—	—	—	155,74
8, D	C	110,18	—	—	—	110,05
9, D	C	155,62	—	—	—	155,50
10, D	C	100,92	—	—	—	100,78
1', E	C	132,02	—	—	—	131,89
2', E	CH	119,90	6,14 (1H, dd, J = 1,85)	H-2'	H-3', H-4'	119,76
3', E	CH	115,36	7,02 (1H, d, J = 6,07)	H-3'	H-4'	115,72
4', E	C	145,85	—	—	—	145,43
5', E	C	145,56	—	—	—	145,72
6', E	CH	114,27	6,54 (1H, d, J = 1,85)	H-6'	H-2, H-2', H-1', H-5'	114,14

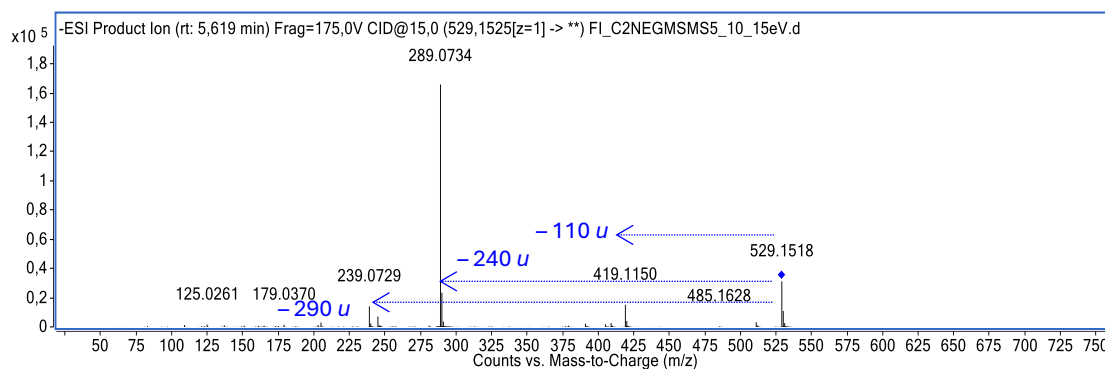
^aDeslocamentos químicos estabelecidos em relação ao padrão interno TMS (δ TMS = 0,0 ppm).

^bMultiplicidade: s (simpleto), d (duplete), dd (duplo duplete), ddd (duplo, duplo, duplete); ^cDados da literatura: experimentos de RMN realizados a 150 MHz para ¹³C utilizando CD₃OD (Moura *et al.*, 2022).

*Nota: os números representam os carbonos e a letra representa o anel ao qual o carbono ou hidrogênio está ligado. Fonte: a autora.

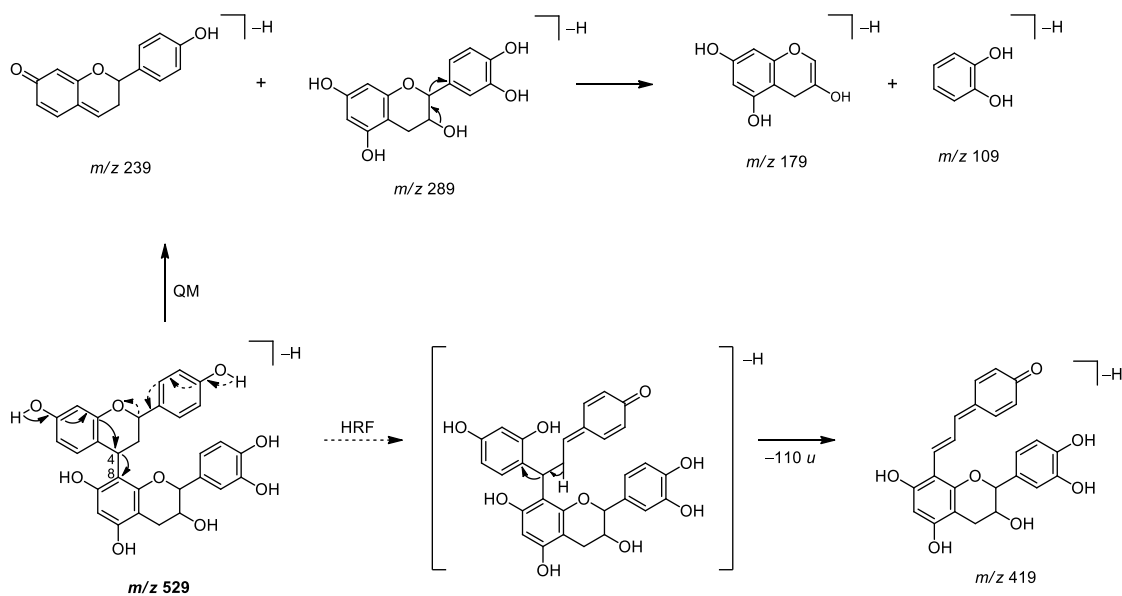
No espectro EM/EM do composto **C** (Figura 83), observa-se íons fragmentos semelhantes aos do composto **B**. O íon fragmento de m/z 419 foi obtido através de uma fragmentação do tipo HRF a partir do íon precursor de m/z 529. O rompimento da ligação interflavona via clivagem do tipo QM entre C4–C8 produziu os íons fragmentos de m/z 239 e 289, correlacionados às unidades extensora e terminal, respectivamente. Íons fragmentos de m/z 179 e 125 foram obtidos através de uma clivagem heterolítica entre os anéis B e C, a partir do íon fragmento de m/z 289 (Figura 84). Através dos valores obtidos por RMN 1D e 2D, análises espectrométricas e comparação com dados da literatura o composto **C** majoritário foi estabelecido como sendo o (*ent*)-cassiaflavona-(4→8)-(epi)-catequina (Moura *et al.*, 2022).

Figura 83 – (–)-IES-EM/EM do composto **C** majoritário (m/z 529 $[M - H]^{-1}$), 15 eV.



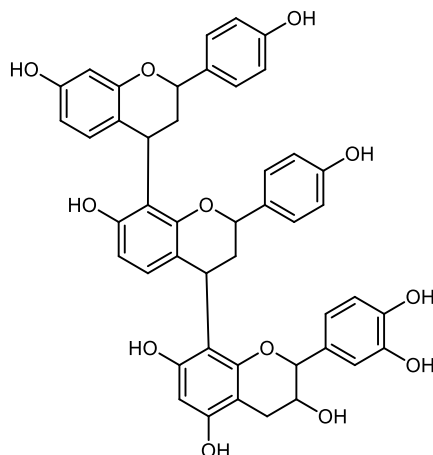
Fonte: a autora.

Figura 84 – Propostas de fragmentações para o composto **C** majoritário analisado por (–)-IES-EM/EM.



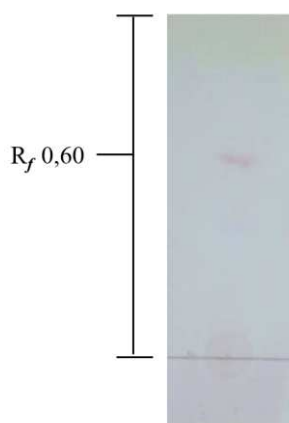
Fonte: a autora.

5.7.4 Composto **D**: (*ent*)-cassiaflavana-(*ent*)-cassiaflavana-catequina



O composto **D** (1,55 mg) isolado da fração em AcOEt das flores de *S. velutina*, foi obtido como um sólido amorfo de cor marrom clara. A natureza do composto foi inicialmente sugerida pela análise em CCD, onde a mancha rosa após revelação com vanilina indicou a presença de um composto da classe das proantocianidinas com R_f 0,60 (Figura 85).

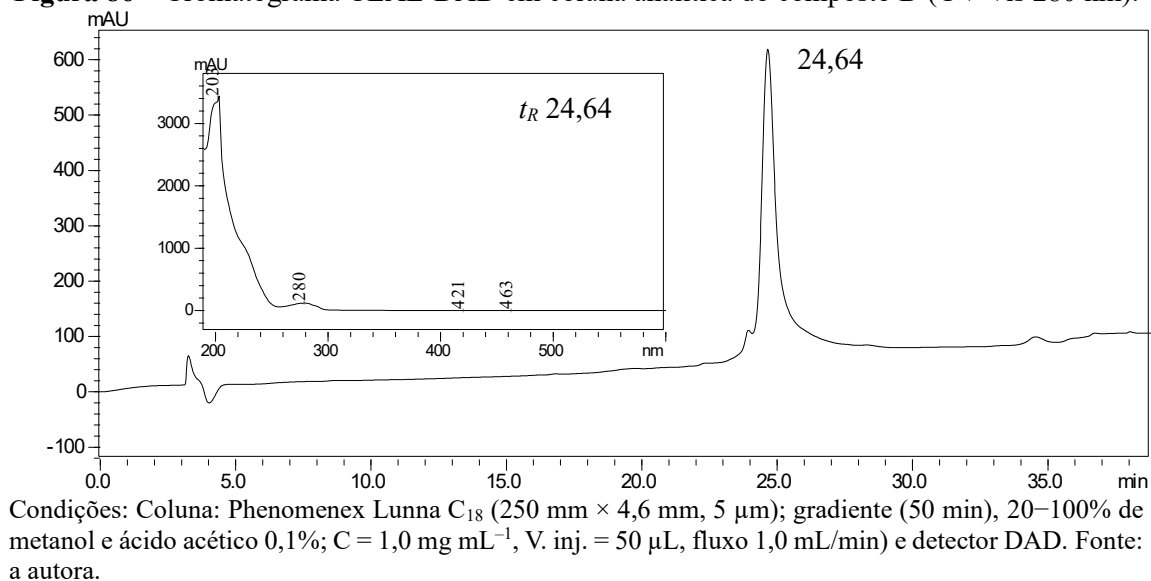
Figura 85 – CCD analítica (SiO_2) do composto **D** desenvolvido com DCM/MeOH (9:1) e revelado com vanilina.



Fonte: a autora.

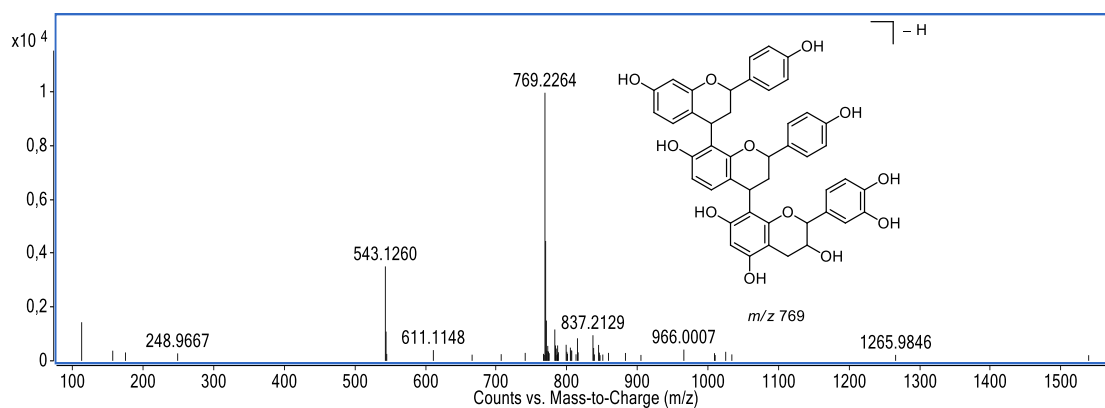
O composto **D** foi analisado por CLAE-DAD e apresentando um pico no cromatograma com t_R 24,64 min. A análise do espectro de UV-Vis permitiu observar uma banda de absorção máxima em 280 nm, atribuída aos anéis aromáticos fenólicos comuns a essa classe de compostos (Figura 86).

Figura 86 – Cromatograma CLAE-DAD em coluna analítica do composto **D** (UV-Vis 280 nm).



A confirmação de sua estrutura e massa molecular foi obtida por espectrometria de massas de alta resolução no modo negativo. O sinal referente a molécula desprotonada foi observado em m/z 769,2264 $[M - H]^-$, calculado para C₄₅H₃₈O₁₂⁻, 769,2291 (Δ -3,51 ppm) (Figura 87), apresentando IDH igual a 27.

Figura 87 – (-)-IES-EM em alta resolução do composto **D**.

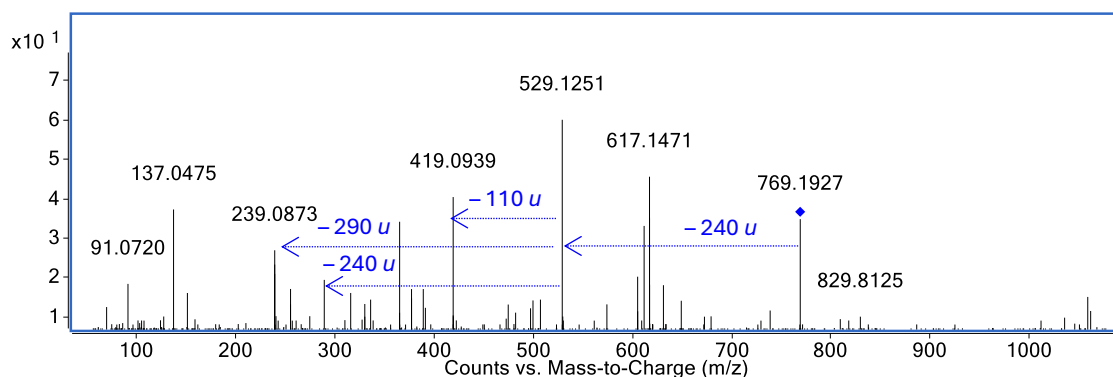


Fonte: a autora.

O perfil de fragmentação obtido por EM/EM (Figura 88) para o íon precursor em m/z 769 sugeriu a sequência das unidades flavânicas. O espectro revelou íons fragmentos característicos que corroboram com a estrutura de uma proantocianidina trímica. O íon de m/z 529, foi gerado pela perda de 240 u. Esta perda de massa corresponde a uma unidade de cassiaflavana, obtida através da clivagem da ligação interflavânica que conecta a unidade terminal superior à unidade extensora central, através de uma QM. Este

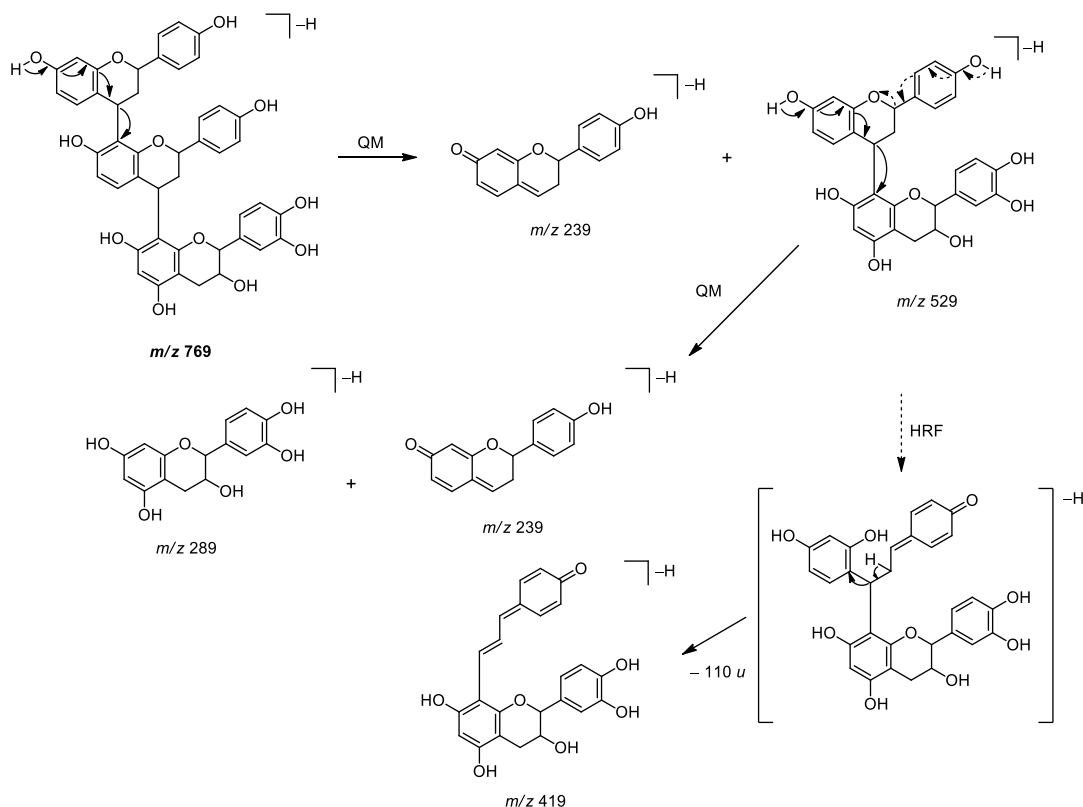
íon dímero remanescente de m/z 529 sofre uma segunda fragmentação do tipo QM. Esta clivagem gera simultaneamente o íon de m/z 289, correspondente à catequina e o íon de m/z 239, correspondente à cassiaflavana. A segunda fragmentação do tipo QM sugere que a unidade extensora central também seja uma cassiaflavana. O íon de m/z 529 também sofre clivagem do tipo HRF, levando ao íon fragmento de m/z 419 (Figura 89).

Figura 88 – (–)-IES-EM/EM do composto **D** (m/z 769 $[M - H]^-$), 25 eV.



Fonte: a autora.

Figura 89 – Propostas de fragmentações para o composto **C** analisado por (–)-IES-EM/EM.



Fonte: a autora.

5.7.5 Atividade anti-*Candida* dos compostos A–D

A fração FASv-fl de *S. velutina* apresentou atividade antifúngica relevante frente às três espécies de *Candida* avaliadas, com valores de CIM de 1,46 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para *C. glabrata*, 5,86 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para *C. albicans* e 11,72 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para *C. tropicalis*. Assim, os compostos isolados **A** e **D** e a mistura de isotropoisômeros em **B** e **C** da FASv-fl de *S. velutina* foram avaliadas quanto a sua atividade anti-*Candida* para determinar se apresentam CIM superior, inferior ou se mantem a atividade apresentada pela fração frente a *C. glabrata*, *C. albicans* e *C. tropicalis* nas concentrações de 0,49 a 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (Tabela 16).

Tabela 16 – Atividade anti-*Candida* dos compostos isolados de *S. velutina*.

Amostras	CIM ($\mu\text{g mL}^{-1}$)		
	<i>C. albicans</i> ATCC 90028	<i>C. glabrata</i> ATCC 2001	<i>C. tropicalis</i> ATCC 13803
Composto A	250,0	7,81	500,0
Composto B	500,0	3,90	1000,0
Composto C	62,5	1,95	125,0
Composto D	250,0	15,62	250,0

O ensaio foi conduzido utilizando anfotericina B como controle positivo (0,031 a 16,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$) contra as cepas *C. krusei* ATCC 6258 (CIM = 0,25–2 $\mu\text{g mL}^{-1}$) e *C. parapsilosis* ATCC 22019 (CIM = 0,25–1,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$) usados como controle para leveduras. Fonte: a autora.

A comparação entre os valores de CIM da fração e dos compostos isolados, a FASv-fl apresenta, de modo geral, atividade anti-*Candida* superior do que os compostos puros, especialmente frente a *C. albicans* e *C. tropicalis*. Isso pode indicar a ocorrência de efeito sinérgico entre os constituintes da fração, efeito amplamente descrito em extratos e frações vegetais, em que a ação combinada de múltiplos metabólitos especiais resulta em uma atividade biológica superior àquela observada para cada substância isoladamente (Casear; Cech, 2019). Além da sinergia, a atividade aumentada da fração pode estar relacionada à presença de compostos minoritários bioativos que foram anotados através da CLUE-(–)-IES-EM/EM mas que não foram isolados.

Por outro lado, frente a *C. glabrata*, o composto **C**, (*ent*)-cassiaflavana-(*epi*)-catequina) (majoritário) apresentou CIM de 1,95 $\mu\text{g mL}^{-1}$, muito próximo do valor obtido para a fração (1,46 $\mu\text{g mL}^{-1}$). As propriedades anti-*Candida* das proantocianidinas devem

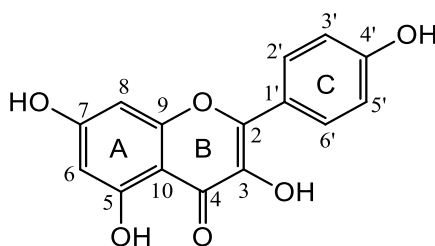
estar relacionadas com a inibição do crescimento da cepa ou por causar morte celular, como foi observado em uma procianidina de *Commiphora leptophloeos* contra cepas de *C. albicans*, que inibiu a formação de biofilme (Dantas-Medeiros *et al.*, 2021). Entretanto, para estabelecer a atividade anti-*Candida* desses compostos, é necessário separar os atropoisômeros e testá-los individualmente. Embora o atropoisomerismo seja um fenômeno comum em PN, é necessário conhecer a bioatividade desses compostos para o planejamento e desenvolvimento de agentes antifúngicos (Fragkiadakis *et al.*, 2024).

5.8 Estudo químico e antidiabético das flores de *C. javanica*

C. javanica é uma espécie arbórea que foi cultivada no Brasil para fins ornamentais, entretanto, é muito utilizada na medicina popular e em países da ásia no tratamento da diabetes. Assim, a fração em diclorometano das flores de *C. javanica* (FDCj-fl) demonstrou ser a mais ativa nos ensaios de inibição das enzimas α -amilase e α -glicosidade e no ensaio de antiglicação, que serão discutidos no item 5.8.2. Por esta razão, a FDCj-fl foi fracionada por cromatografia em coluna, levando ao isolamento dos compostos **E** a **H**.

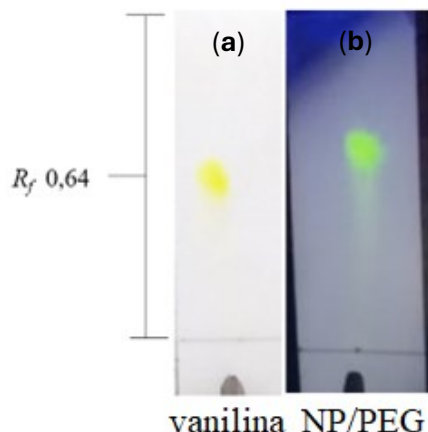
5.8.1 Isolamento de compostos de FDCj-fl

5.8.1.1 Composto **E**: canferol (3,5,7,4'-tetrahidroxiflavonol)



O composto **E** (38,30 mg) foi isolado da fração em diclorometano das flores de *C. javanica* como um sólido amarelo solúvel em metanol. Ao ser analisado por CCD, apresentou uma mancha de cor amarela ao ser inspecionado na câmara de UV em 365 nm. Esta coloração foi intensificada após revelação com NP/PEG, apresentando uma mancha com R_f 0,64. Ao revelar com vanilina, também foi observado uma mancha de coloração amarela de mesmo R_f (Figura 90). A análise por CCD sugeriu que o composto **E** se trata de um flavonoide (Wagner; Bladt, 2001).

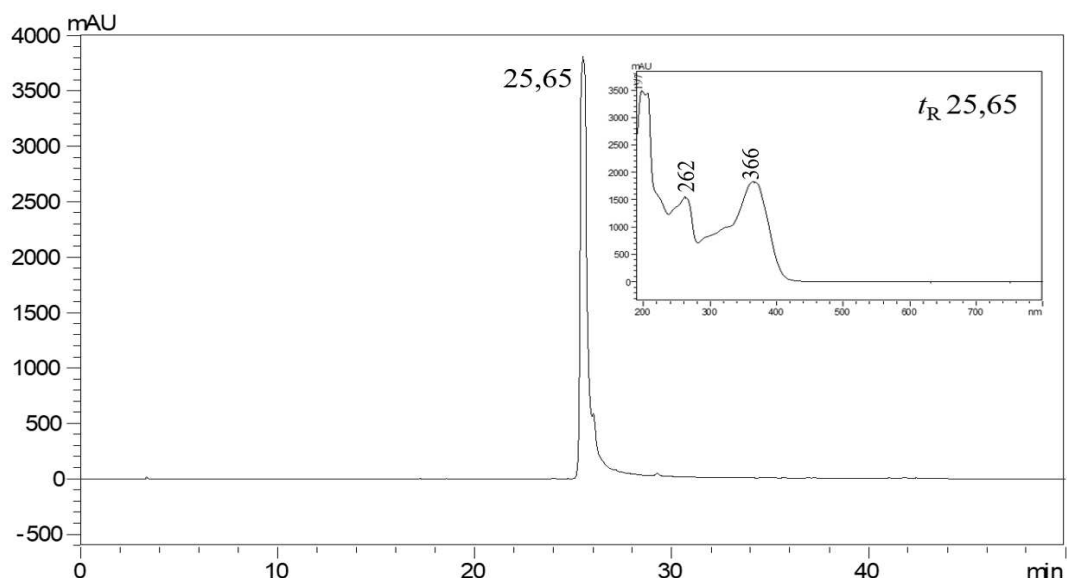
Figura 90 – CCD analítica (SiO₂) do composto **E** desenvolvido com DCM/MeOH (9:1) e revelado com vanilina (a) e em NP/PEG inspecionado sob luz UV a 365 nm (b).



Fonte: a autora

O composto **E** foi analisado por CLAE-DAD (Figura 91), e apresentou um único pico no cromatograma em t_R 25,65 min. No espectro UV-Vis, foi observado duas bandas de absorção em 262 e 366 nm. A banda em 366 nm (banda I) está associada a absorção do sistema benzoil do anel A, e a banda em 262 nm (banda II) relacionada ao sistema cinamoil do anel B em flavonoides, mais especificamente em compostos que contém carbonila no C-4, como em flavonas e flavonóis (Bajracharya; Paudel; Rajendra, 2017)

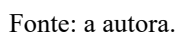
Figura 91 – Cromatograma CLAE-DAD em coluna analítica do composto **E** (UV-Vis 365 nm).



Condições CLAE: Coluna: Phenomenex Lunna C₁₈ (250 mm × 4,6 mm, 5 μm); gradiente (50 min), 5–100% de metanol e ácido acético 0,1%; C = 1,0 mg/mL, V. inj. = 50 μL, fluxo 1,0 mL/min) e detector DAD.

Fonte: a autora.

Figura 92 - (-)-IES-EM em alta resolução do composto E.

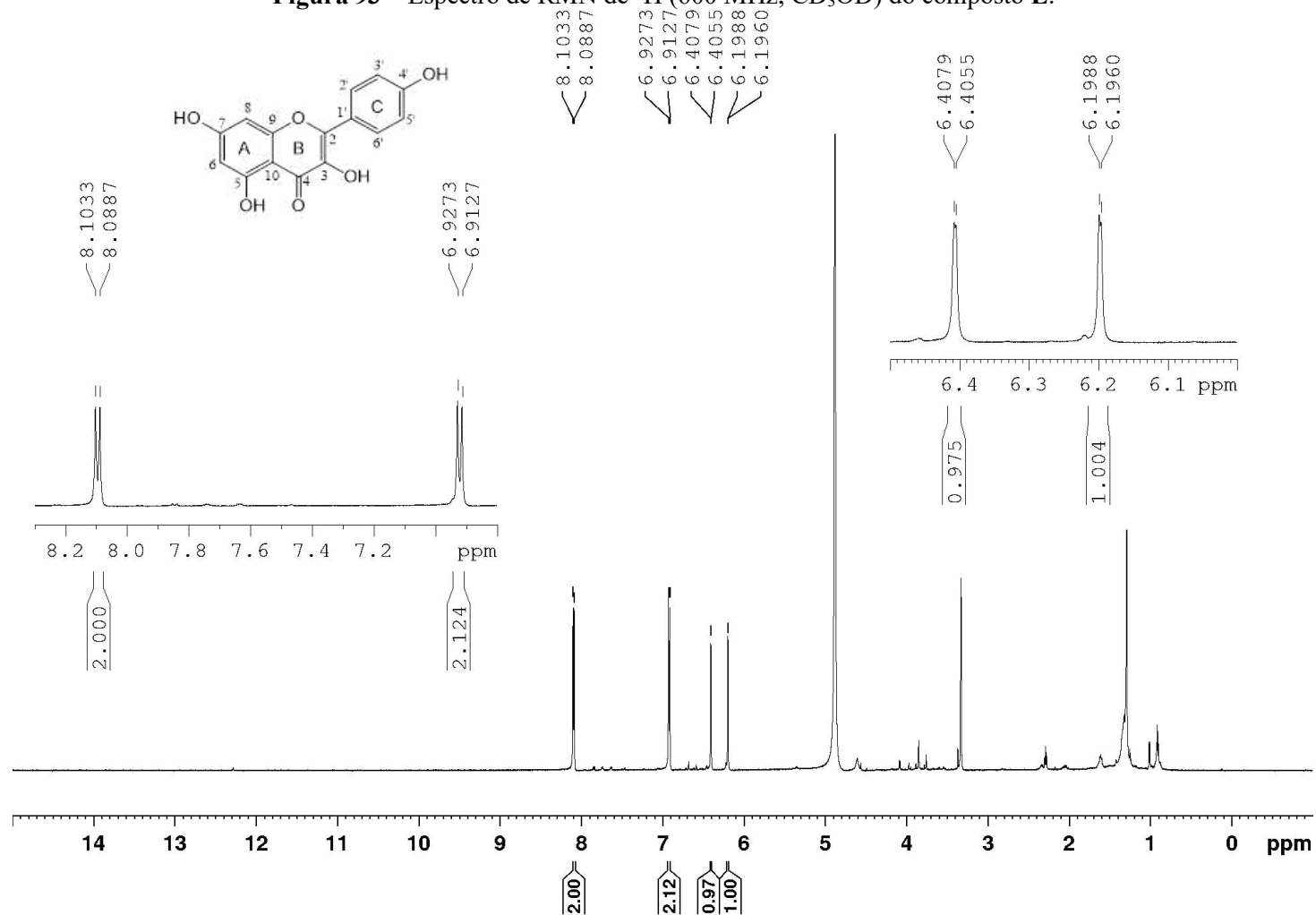


No espectro de DEPTQ (Figura 94), estão presentes 13 sinais relativos a carbonos aromáticos, sendo os sinais em δ_C 114, 90 e δ_C 129,28 mais intensos, sugerindo que são sinais referentes a carbonos equivalentes. Através das correlações observadas no mapa de contorno HSQC (Figura 95 e 96) para o anel A, o sinal em δ_H 6,19 está diretamente ligado ao C-6 em δ_C 97,86 e o sinal δ_H 6,40 está ligado diretamente ao C-8 em δ_C 93,07. No anel B, os sinais referentes aos carbonos equivalentes C-3' e C-5' em δ_C 114,90 e C-2' e C-6'

em δ_C 129,28 estão correlacionados com sinais de hidrogênios em δ_H 6,92 e δ_H 8,10, respectivamente.

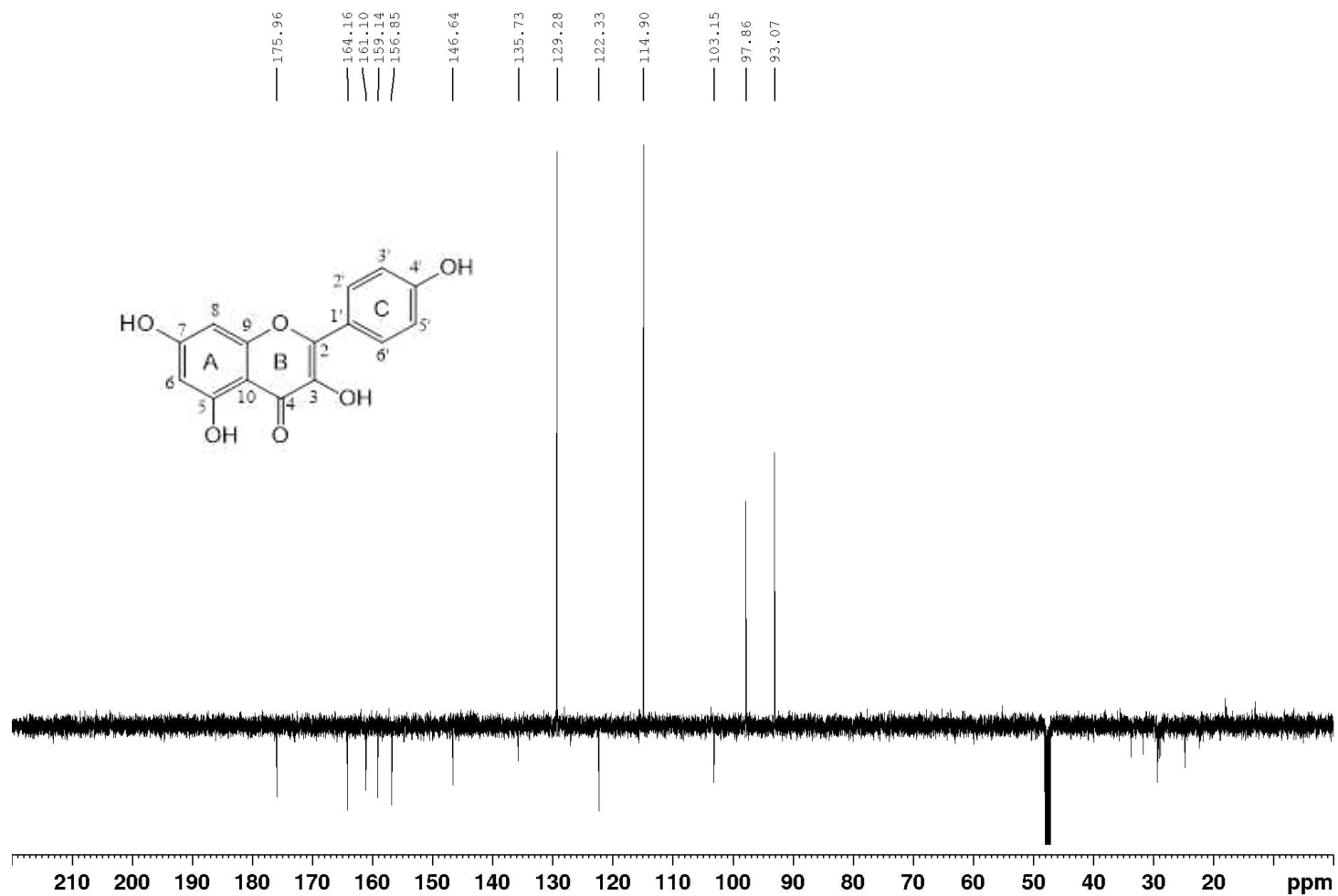
O experimento de HMBC (Figuras 97 e 98) permitiu identificar correlações de acoplamento entre hidrogênios e carbonos separados por duas ou três ligações, auxiliando na confirmação da estrutura do flavonoide e na atribuição inequívoca de seus sinais de RMN. O sinal referente ao hidrogênio em δ_H 6,19 (H-6) acopla com os carbonos C-8 (δ_C 93,07, $^3J_{H\rightarrow C}$), C-10 (δ_C 103,15, $^3J_{H\rightarrow C}$), C-5 (δ_C 161,10, $^2J_{H\rightarrow C}$) e C-7 (δ_C 164,16, $^2J_{H\rightarrow C}$). Esses acoplamentos confirmam a posição do H-6 no anel A, entre os carbonos C-5 e C-7, e sua interação com os carbonos C-8 e C-10. O sinal de hidrogênio em δ_H 6,40 (H-8) acopla com os carbonos C-9 (δ_C 156,85, $^2J_{H\rightarrow C}$) e C-10 (δ_C 103,15, $^3J_{H\rightarrow C}$), reforçando sua posição no anel A. O sinal em δ_H 6,92 (H-3' e H-5' do anel B) acopla com os carbonos C-1' (δ_C 122,33, $^3J_{H\rightarrow C}$), C-4' (δ_C 159,14, $^2J_{H\rightarrow C}$) e com os sinais dos carbonos equivalentes C-3'/C-5' (δ_C 114,90), essas correlações confirmam a simetria do anel B. O sinal em δ_H 8,10 (referente a H-2' e H-6') acopla com os carbonos equivalentes C-3'/C-5' (δ_C 114,90), com o C-2 (δ_C 146,63, $^3J_{H\rightarrow C}$) e o C-4' (δ_C 159,14, $^3J_{H\rightarrow C}$). As principais correlações do mapa de contorno HMBC estão representadas na Figura 99.

Figura 93 – Espectro de RMN de ^1H (600 MHz, CD_3OD) do composto **E**.



Nota: O sinal em δ 3,31 corresponde ao solvente deuterado CD_3OD , e o sinal em δ 5,00 corresponde a água residual do solvente.
 Fonte: a autora.

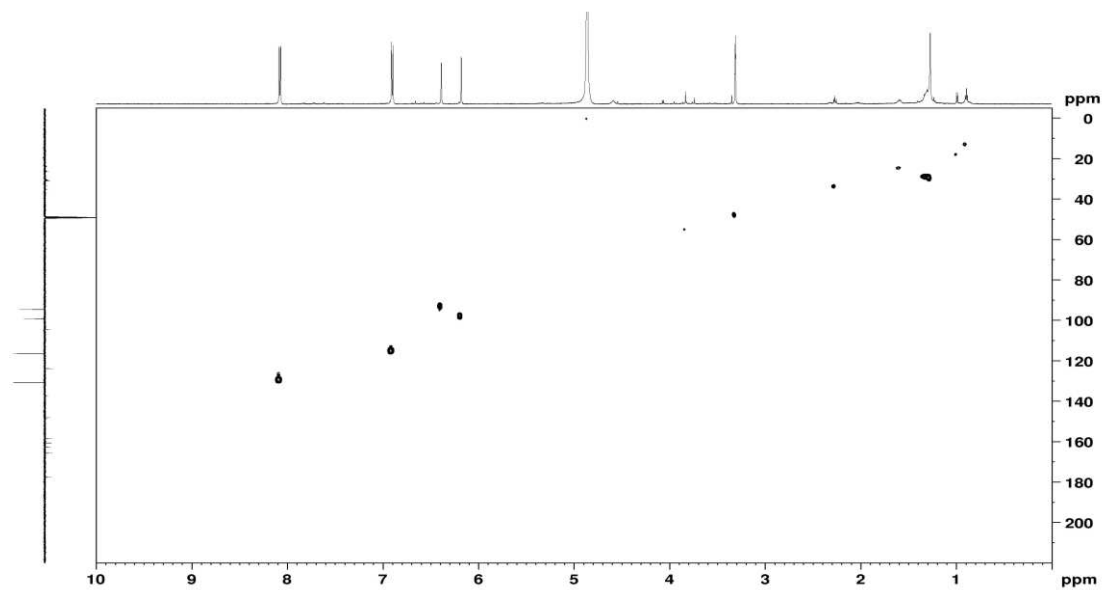
Figura 94 – DEPTQ (125 MHz, CD₃OD) do composto **E**.



Nota: O sinal em δ 49,88 corresponde ao solvente deuterado CD₃OD.

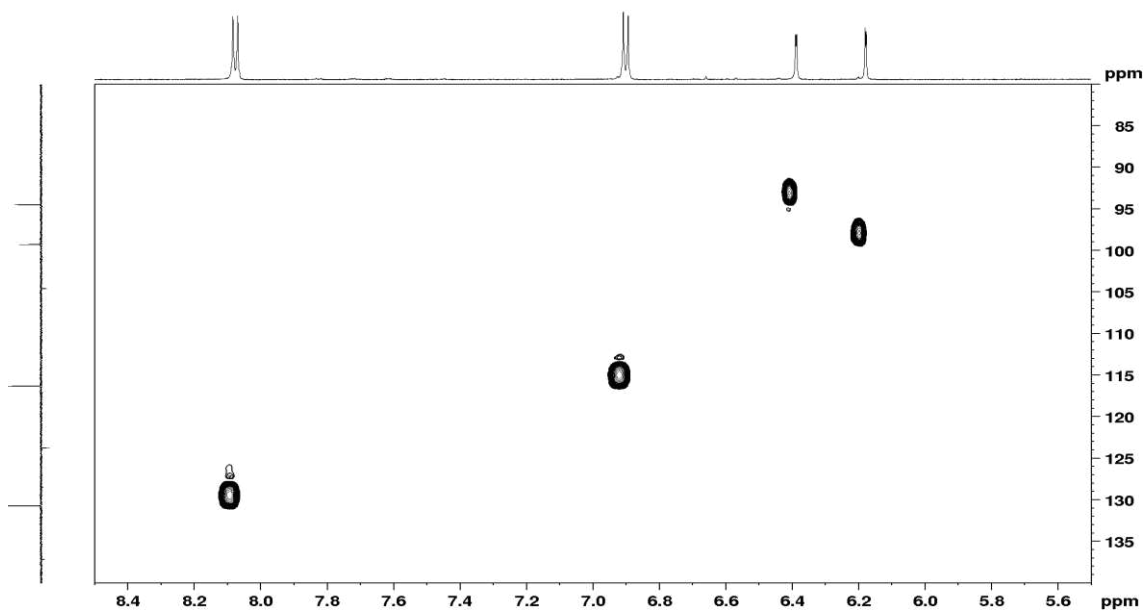
Fonte: a autora.

Figura 95 – Mapa de contorno HSQC do composto E.



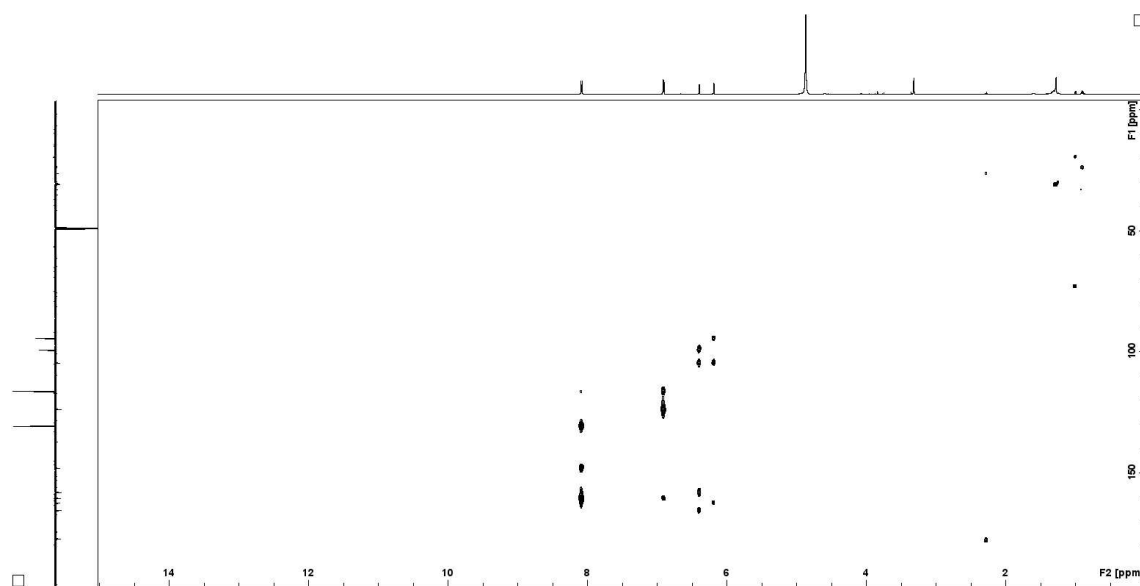
Fonte: a autora.

Figura 96 – Expansão do mapa de contorno HSQC (δ 5,6–8,4) do composto E.



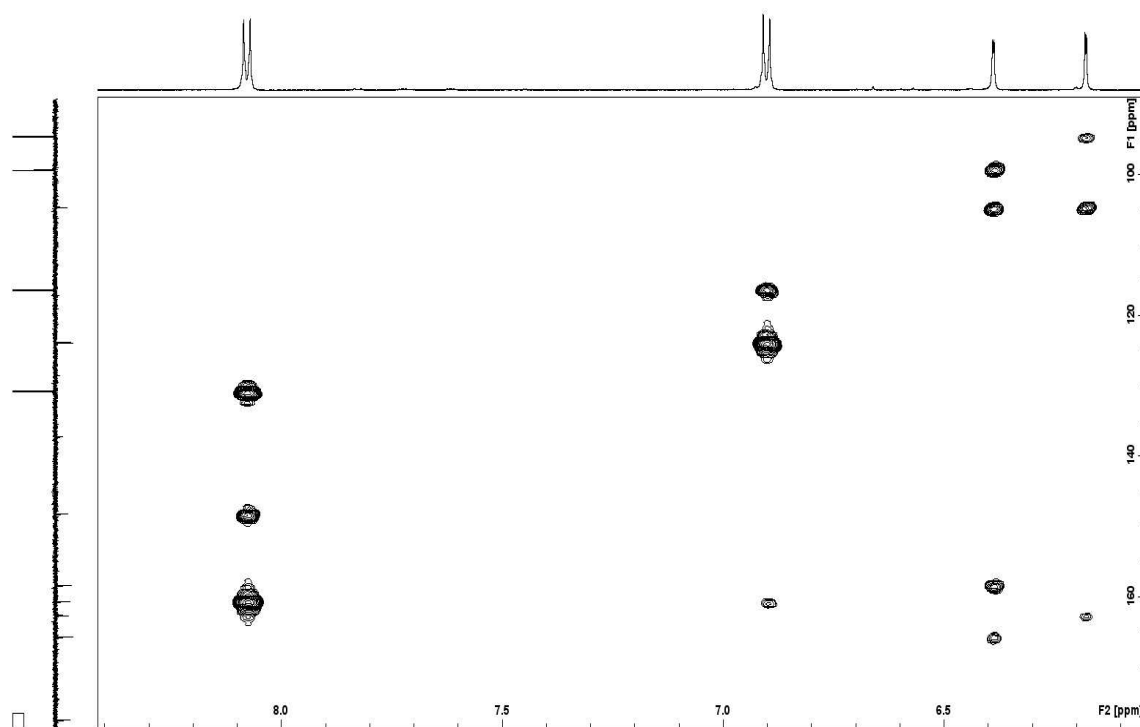
Fonte: a autora.

Figura 97 – Mapa de contorno HMBC para o composto **E**.



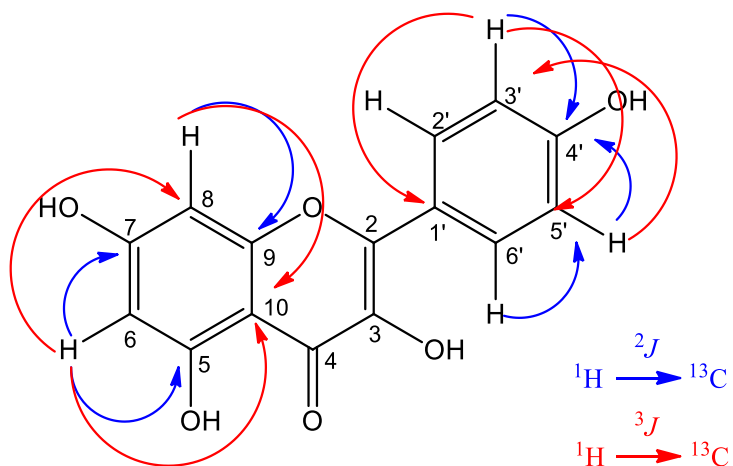
Fonte: a autora.

Figura 98 – Expansão do mapa de contorno HMBC (δ 6,1–8,4) do composto **E**.



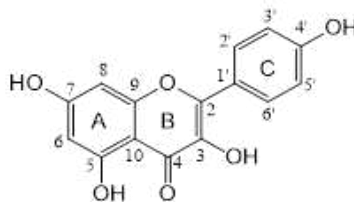
Fonte: a autora.

Figura 99 – Correlações no mapa de contorno HMBC para o composto **E**.



Fonte: a autora.

Tabela 17 – Dados de RMN de ^1H e ^{13}C (600 e 125 MHz, CD_3OD) e correlações observadas nos mapas de contorno HSQC e HMBC do composto **E**.



Posição	DEPTQ	$\delta_{\text{C}}^{\text{a}}$ ppm	$\delta_{\text{H}}^{\text{a}}$ ppm, mult. ^b (J em Hz)	HSQC	HMBC	δ_{C} na literatura ^c
2	C	146,6	—	—	—	147,2
3	C	135,7	—	—	—	136,1
4	C	175,9	—	—	—	176,3
5	C	161,1	—	—	—	161,6
6	CH	97,8	6,19 (1H, d, 2,08)	H-6	H-8, H-10, H-5, H-7	98,6
7	C	164,1	—	—	—	164,3
8	CH	93,0	6,40 (1H, d, 2,08)	H-8	H-6, H-10, H-9	93,9
9	C	156,8	—	—	—	156,6
10	C	103,1	—	—	—	103,5
1'	C	122,3	—	—	—	122,1
2'/6'	CH	129,2	8,10 (2H, d, 8,89)	H-2', H-6'	H-3'/H-5', H-2, H-4'	129,4
3'/5'	CH	114,9	6,92 (2H, d, 8,89)	H-3', H-5'	H-3'/H-5', H-1', H-4'	115,9
4'	C	159,1	—	—	—	159,6

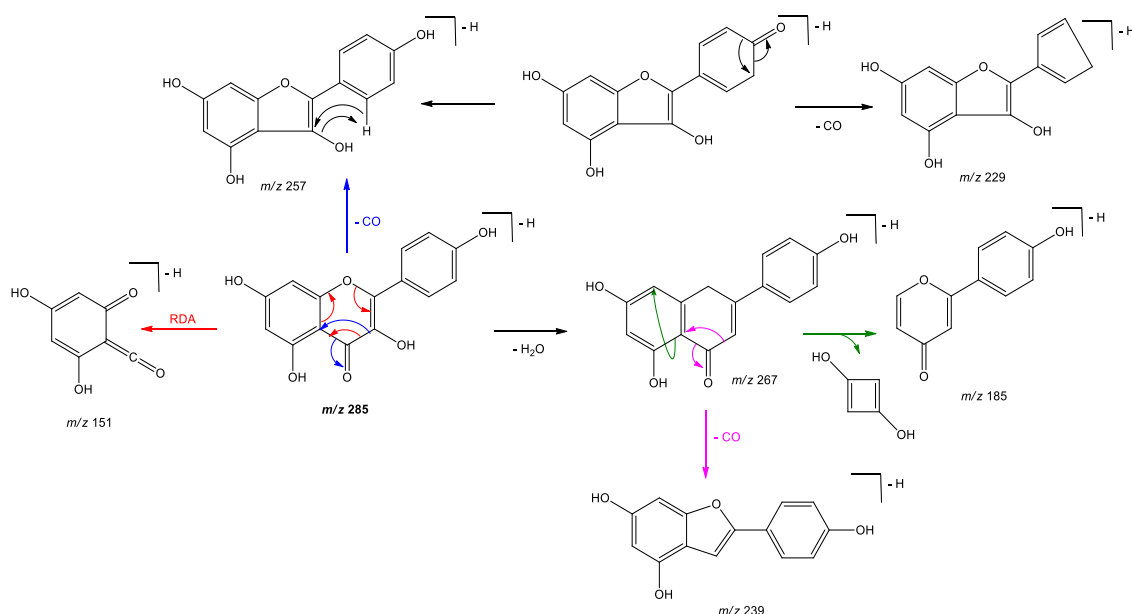
^aDeslocamentos químicos estabelecidos em relação ao padrão interno TMS ($\delta_{\text{TMS}} = 0,0$ ppm).

^bMultiplicidade: d (duplete); ^cDados da literatura: experimentos de RMN realizados a 100 MHz para ^{13}C utilizando $\text{DMSO}-d_6$ (Kharat *et al.*, 2017). Fonte: a autora.

A análise por espectrometria de massas sequencial foi utilizada para confirmar a estrutura do canferol (Figura 100). Quando o sinal de m/z 285 $[\text{M} - \text{H}]^-$ foi submetido a análise por EM/EM o espectro apresentou vários fragmentos com baixa intensidade, sendo os mais importantes para diagnóstico estrutural os íons fragmentos de m/z 257, 151 e 229 (March; Miao, 2004; Li *et al.*, 2022). Para a formação do íon fragmento de m/z 257, foi proposta a eliminação de CO (28 u) através de uma clivagem no anel C. A partir desse íon, uma segunda eliminação de 28 u levou a formação do íon fragmento de m/z 229. A fragmentação do anel C por RDA, deu origem ao íon fragmento de m/z 151 com a eliminação de 134 u (Figura 101).

Chemical structure of 6,7-dihydroxyflavone is shown, with the label m/z 285. The mass spectrum displays relative intensity (%) versus m/z . Key peaks are labeled with their m/z values: 71.2701, 93.0335, 107.0128, 151.0018, 159.0436, 185.0570, 211.0365, 229.0482, 239.0311, 257.0419, 285.0378 (base peak), 286.0408, and 287.0393. Blue arrows indicate fragmentation pathways: $-134 u$ from m/z 285 to 151.0018, and two $-28 u$ steps from m/z 286 to 257.0393.

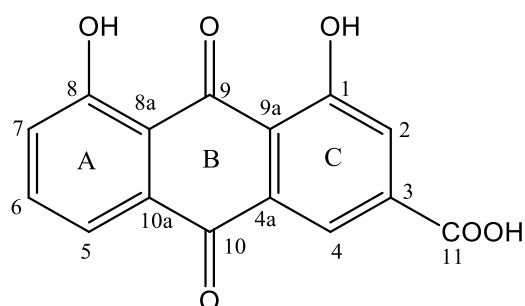
Figura 101 – Propostas de fragmentações para o composto **E** analisado por (-)-IES-EM/EM.



Comparando as informações cromatográficas, espectroscópicas e espectrométricas obtidas da CLAE-DAD, IV, EM-IES, RMN 1D e 2D, e confrontando com informações disponíveis na literatura (Moura; Vilegas; Santos, 2011; Kharat, *et al.*, 2012), foi possível concluir que o composto E trata-se do canferol. Os dados de RMN 1D e 2D deste composto estão descritos na Tabela 17. O canferol é um flavonol conhecido por apresentar inúmeras propriedades farmacológicas, como antitumoral, antimicrobiana, anti-inflamatória, antioxidante, cardioprotetora, neuroprotetora e antidiabética. Alimentos

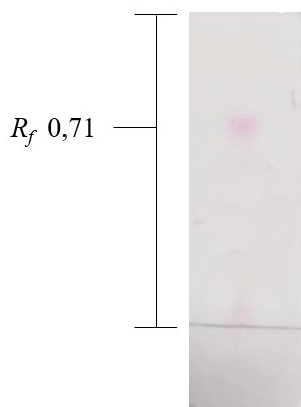
abundantes em canferol têm sido relacionados à prevenção de vários tipos de câncer (Imran *et al.*, 2019). Este composto já foi isolado de várias espécies de *Senna* e *Cassia*: das folhas de *C. angustifolia* (sin. *S. alexandrina*) (Wu *et al.*, 2007), do extrato butanólico das folhas de *C. alata* (sin. *S. alata*) (Hazni *et al.*, 2008), da partição em diclorometano das folhas de *C. bakeriana*, apresentando elevada atividade antioxidante e inibição da α -amilase (Silva *et al.*, 2019) e da *C. occidentalis* (sin. *S. occidentalis*) (Sayed *et al.*, 2023). Apesar de ser um flavonoide comum em diversas espécies de plantas, este é o primeiro relato de isolamento do canferol em *C. javanica*.

5.8.1.2 Composto **F**: *reína, ácido (1,8-diidroxi-antraquinona-3-carboxílico)*



O composto **F** (6,09 mg) foi isolado da fração em diclorometano das flores de *C. javanica* como um sólido de coloração laranja e solúvel em metanol. Ao ser analisado por CCD, apresentou uma mancha de cor rosa no visível ao ser revelado com KOH 5%, apresentando R_f 0,71 (Figura 102). A análise por CCD sugeriu que **F** se trata de uma antraquinona (Wagner; Bladt, 2001).

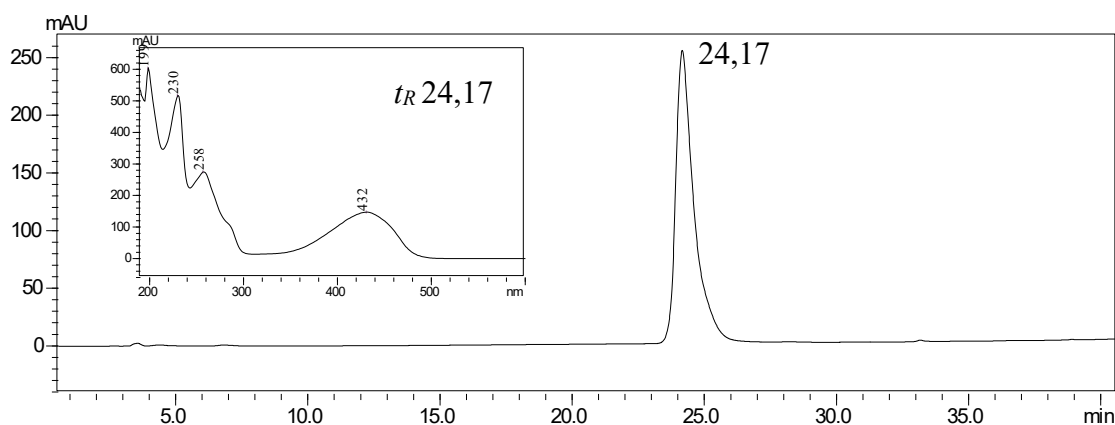
Figura 102 – CCD analítica (SiO_2) do composto **F** desenvolvida com DCM/MeOH (7:3) e revelado com vanilina.



Fonte: a autora.

O composto foi analisado por CLAE-DAD (Figura 103), e apresentou um único pico no cromatograma em t_R 24,17 min. No espectro UV-Vis, apresentou três bandas de absorção em 432, 258 e 230 nm, características de antraquinonas (Anouar *et al.*, 2014).

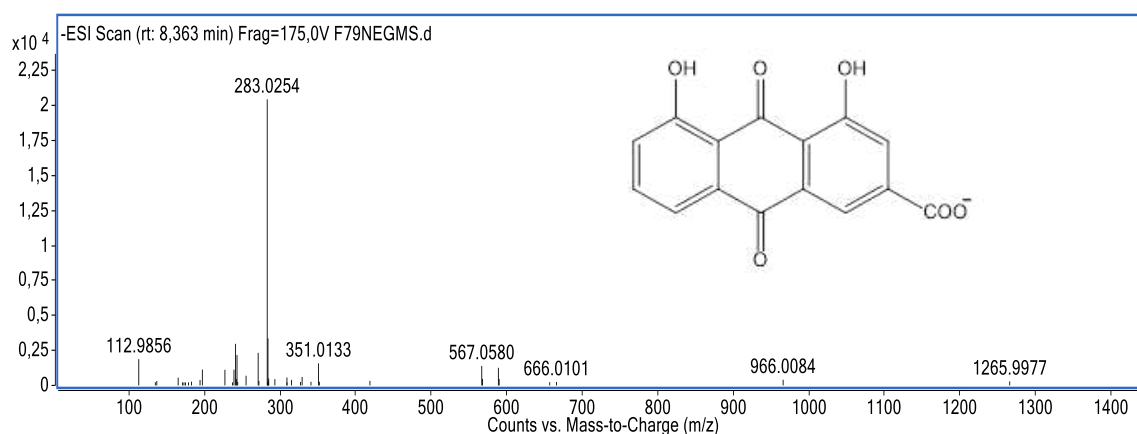
Figura 103 – Cromatograma CLAE-DAD em coluna analítica do composto **F** (UV-Vis 365 nm).



Condições CLAE: Coluna: Phenomenex Lunna C₁₈ (250 mm × 4,6 mm, 5 μm); gradiente (50 min), 35–100% de metanol e ácido acético 0,1%; C = 1,0 mg mL⁻¹, V. inj. = 50 μL, fluxo 1,0 mL min⁻¹) e detector DAD. Fonte: a autora.

Através da análise do composto **F** por EM em alta resolução no modo negativo, foi possível estabelecer a fórmula molecular C₁₅H₈O₆ com IDH igual a 12. O sinal referente a molécula desprotonada foi observado em 283,0254 [M – H]⁻, calculado para C₁₅H₇O₆⁻, 283,0448 (Δ 2,12 ppm) (Figura 104).

Figura 104 – (-)-IES-EM em alta resolução do composto **F**.



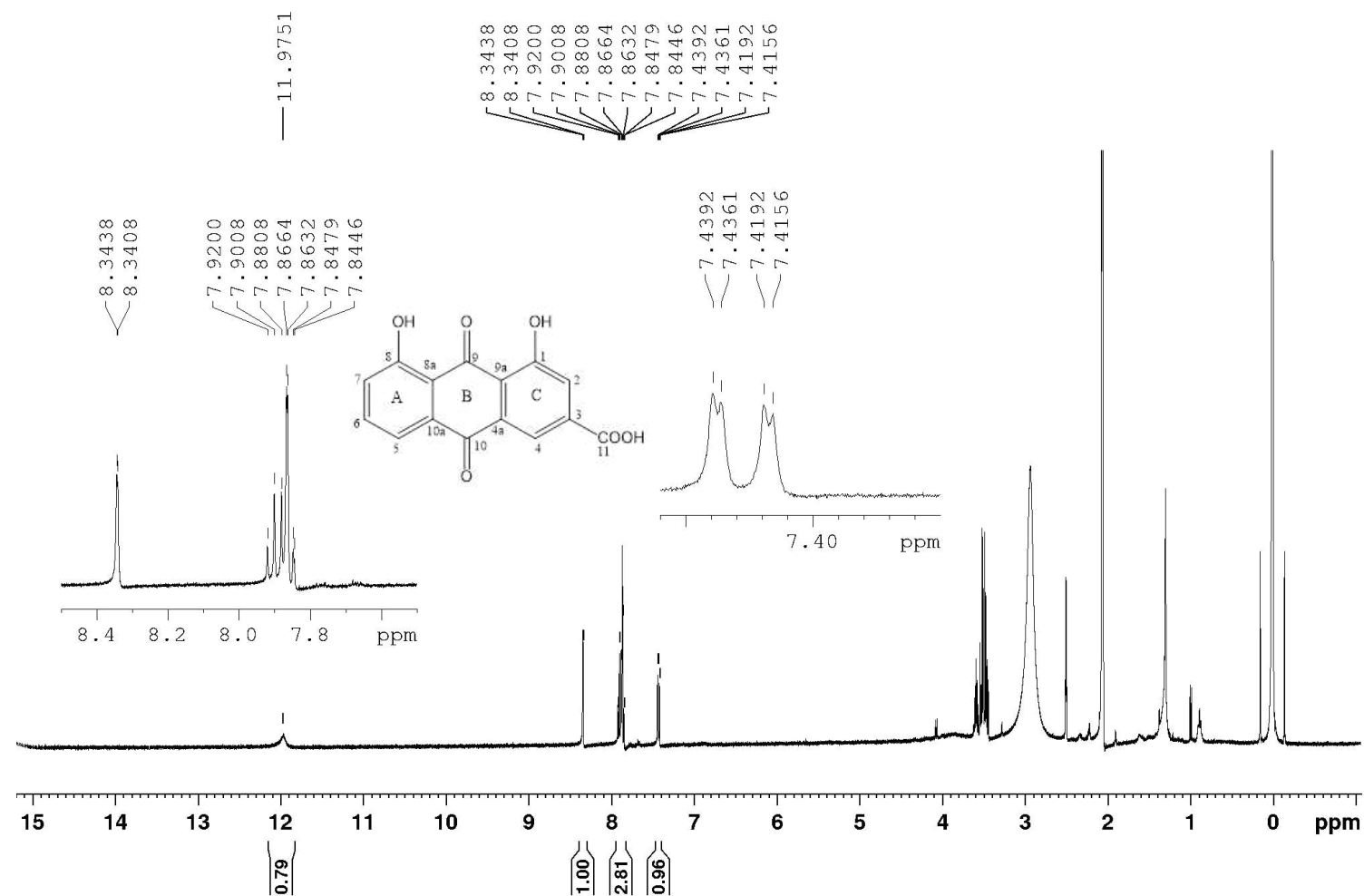
Fonte: a autora.

O análise de RMN de ¹H mostrou sinais com características semelhantes às de uma antraquinona com sinais em δ_H 7,84 (1H, m, H-2) e 8,34 (1H, d, *J* = 1,15 Hz; H-4),

relacionados ao anel C, e sinais em δ_H 7,86 (1H, m, H-5), 7,92 (1H, m, H-6) e 7,43 (1H, dd, $J = 1,14;/8,0$ Hz; H-7), relacionados ao anel A, e um singlete amplo em δ_H 11,97 (3H), correlacionado aos grupos hidroxila em C-1 e C-8, fazendo ligações de hidrogênio intermoleculares com o grupo carbonila (C-9) e para o ácido carboxílico em C-3 (Figura 105). Além disso, os espectros de RMN de ^{13}C e DEPT evidenciou cinco metinas a δ_C 119,5 (C-5), 119,7 (C-4), 124,3 (C-2), 124,9 (C-7) e 137,4 (C-6), três carbonilas a δ_C 165,1 (C-11), 180,5 (C-10) e 192,3 (C-9), dois carbinóis a δ_C 161,6 (C-1) e 161,9 (C-8) e quatro carbonos não hidrogenados a δ_C 115,7 (C-9a), 118,0 (C-8a), 133,2 (C-4a), 133,7 (C-10a) e 138,8 (C-3) (Figuras 106 e 107).

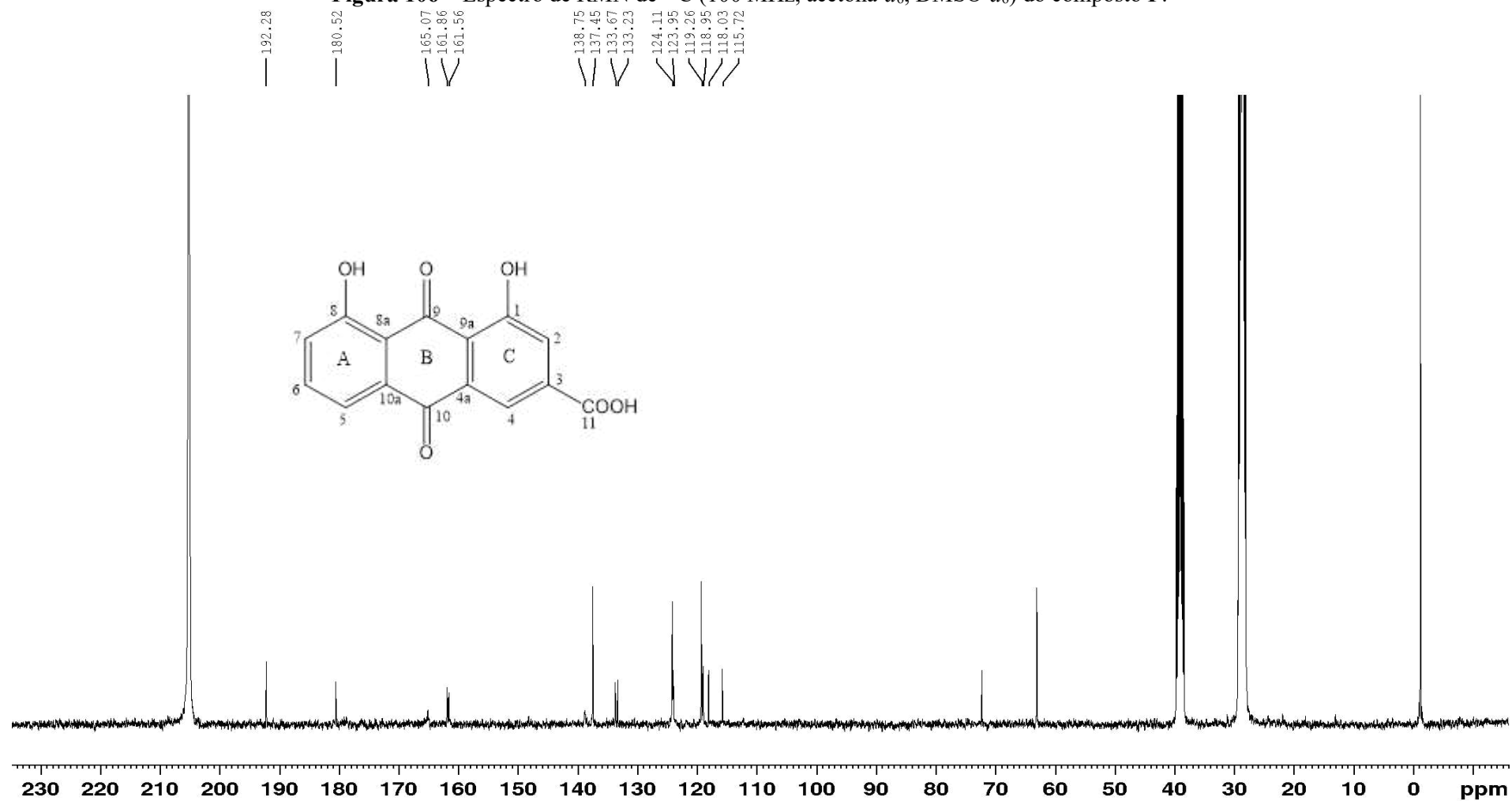
No mapa de contorno HSQC (Figuras 108 e 109), foram observadas correlações entre os sinais δ_H 7,43 e δ_C 124,93 (C-7); δ_H 7,84 e δ_C 124,48 (C-2); δ_H 7,86 e δ_C 119,50 (C-5); δ_H 7,92 e δ_C 137,44 (C-6), indicando que estes hidrogênios estão ligados diretamente aos respectivos carbonos. O mapa de contorno HMBC (Figuras 110 a 111) permitiu validar a estrutura da antraquinona, confirmando a posição do grupo carboxila no C-3 pois H-2 (δ_H 7,84) e H-4 (δ_H 8,43) apresentam acoplamento com C-11 (δ_C 165,07, $^3J_{H \rightarrow C}$), além de elucidar a conectividade entre os três anéis que compõem o sistema cíclico da antraquinona (Tabela 18).

Figura 105 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, acetona- d_6 e DMSO- d_6) do composto **F**.



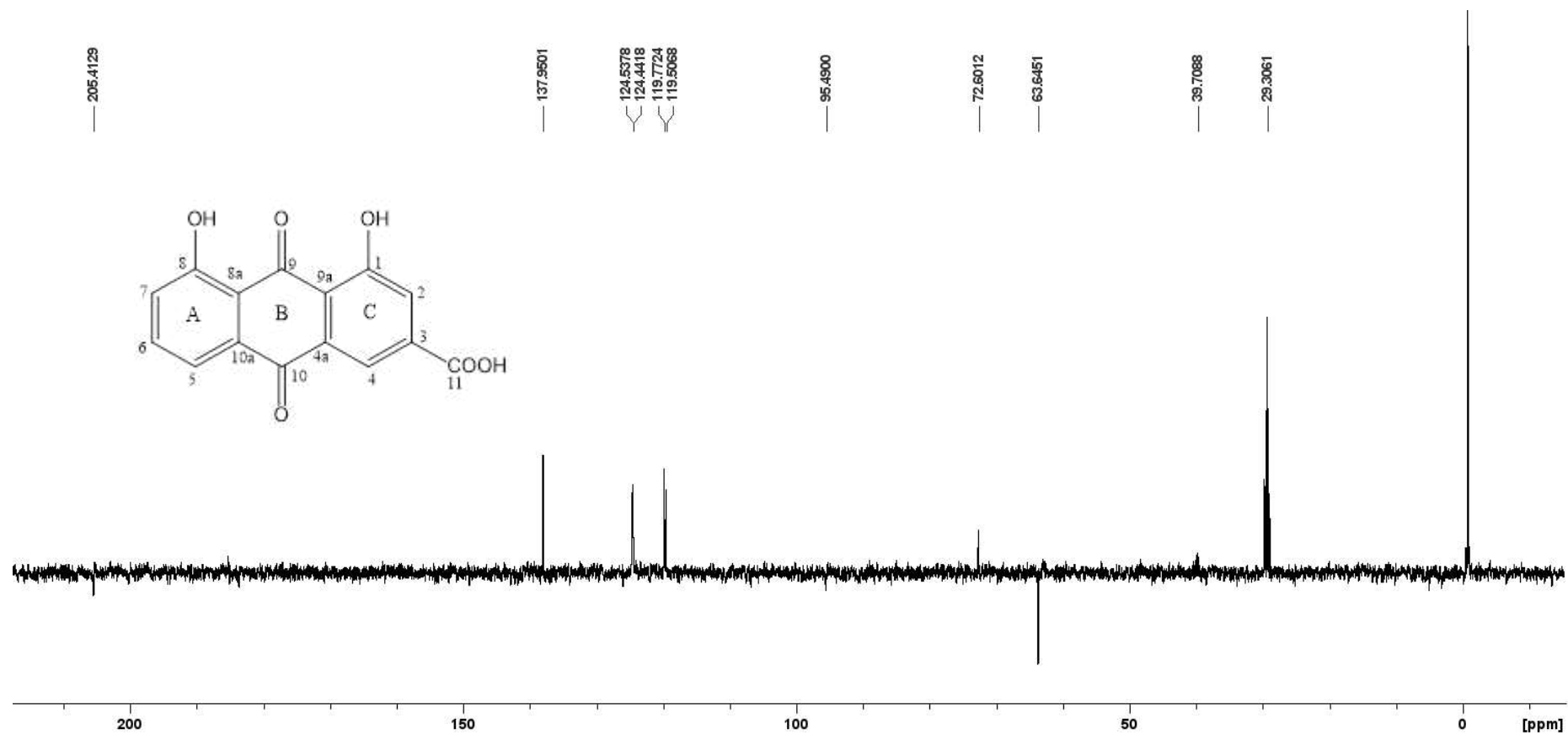
Nota: Os sinais em δ 2,1 é referente ao solvente deuterado acetona- d_6 . O sinal em δ 2,5 é referente ao DMSO- d_6 e o sinal em δ 3,1 foi atribuído a água residual do DMSO- d_6 .
Fonte: a autora.

Figura 106 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, acetona- d_6 , DMSO- d_6) do composto **F**.



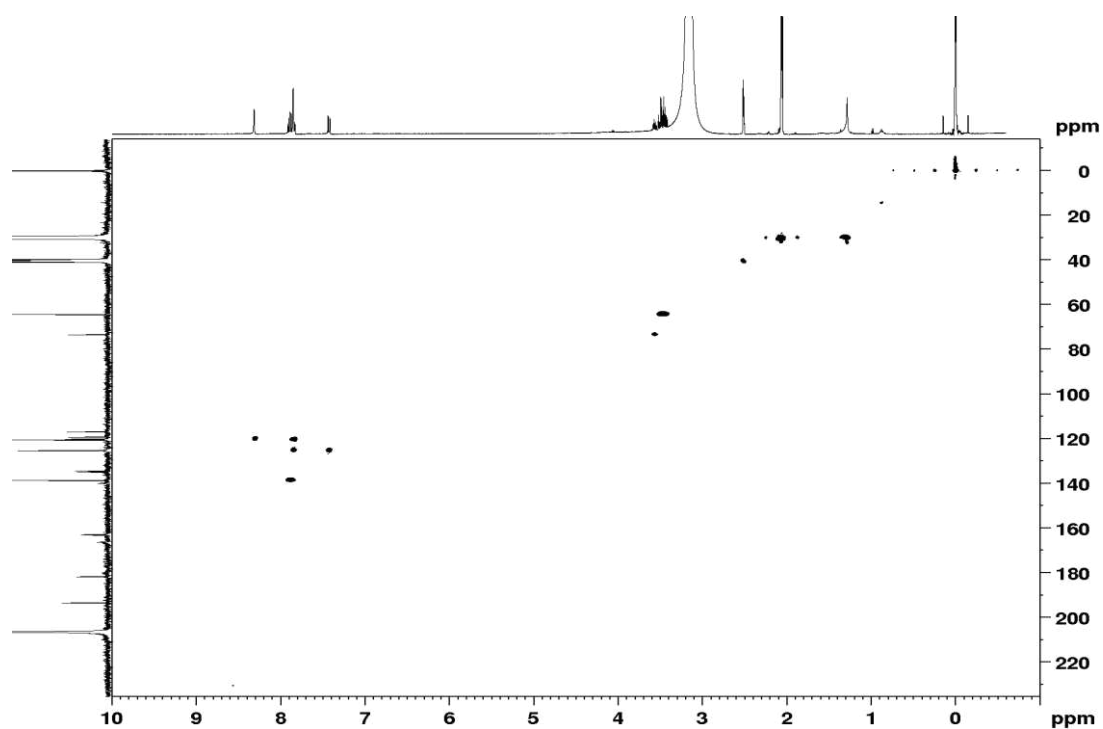
Nota: O sinal em δ 29,80 e em δ 39,02 correspondem aos solventes acetona- d_6 e DMSO- d_6 respectivamente. O sinal em δ 205,4 é referente a carbonila da acetona- d_6 .
 Fonte: a autora.

Figura 107 – DEPT-135 do composto F.



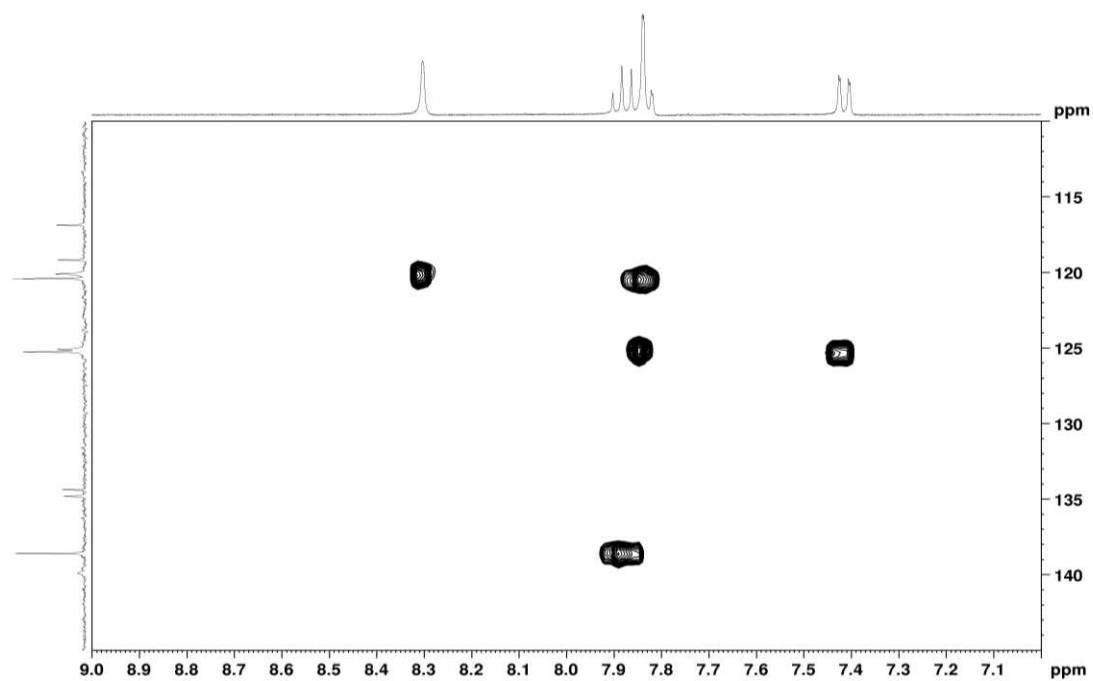
Fonte: a autora.

Figura 108 – Mapa do contorno HSQC do composto **F**.



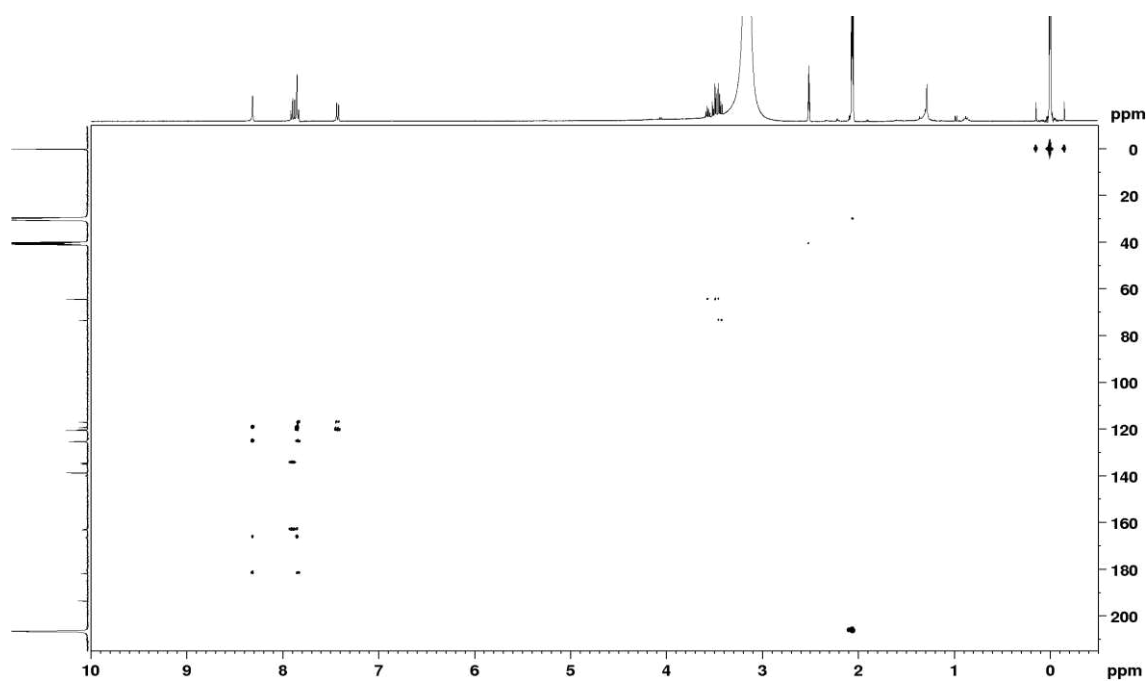
Fonte: a autora.

Figura 109 – Expansão do mapa de contorno HSQC (δ 7,0–9,0) do composto **F**.



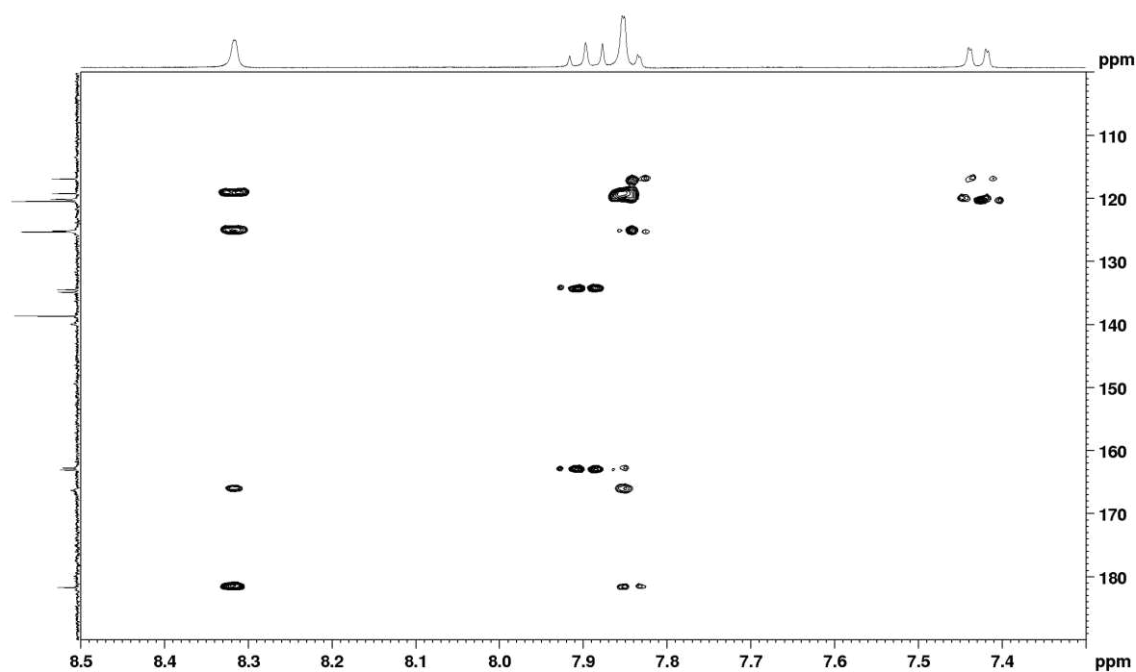
Fonte: a autora.

Figura 110 – Mapa de contorno HMBC do composto **F**.



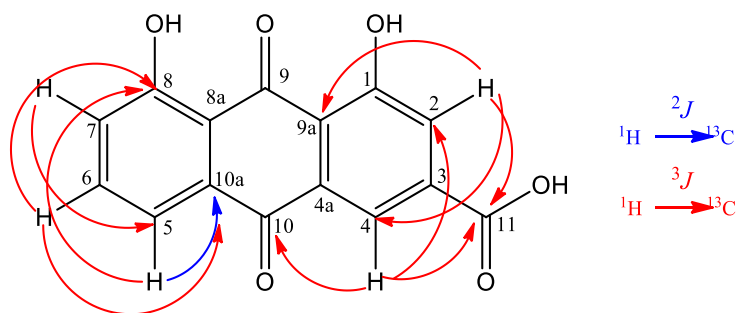
Fonte: a autora.

Figura 111 – Expansão do mapa de contorno HMBC (δ 7,3–8,5) do composto **F**.



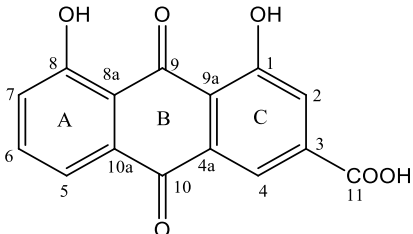
Fonte: a autora.

Figura 112 – Correlações no mapa de contorno HMBC para o composto **F**.



Fonte: a autora.

Tabela 18 – Dados de RMN de ^1H e ^{13}C (400 e 100 MHz, CD_3COCD_3 e $\text{DMSO}-d_6$) e correlações observadas nos mapas de contorno HSQC e HMBC do composto **F**.

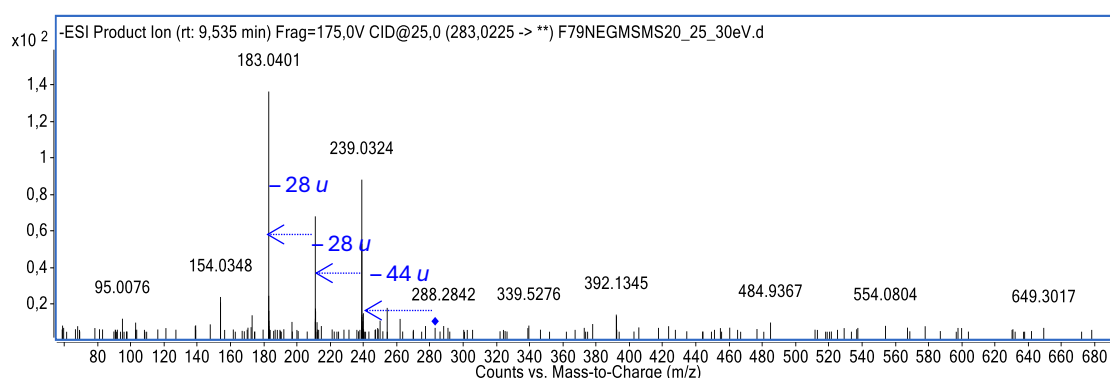
						
Posição	DEPT	$\delta_{\text{C}}^{\text{a}}$ ppm	$\delta_{\text{H}}^{\text{a}}$ ppm, mult. ^b (J em Hz)	HSQC	HMBC	δ_{C} na literatura ^c
1	C	161,56	11,97 (3H, sl)	–	–	161,51
2	CH	124,28	7,84 (1H, m)	H-2	C-2, C-4, C-9a, C-11	124,21
3	C	138,75	–	–	–	138,20
4	CH	119,67	8,34 (1H, d 1,15)	H-4	C-4, C-2, C-10, C-11	119,05
5	CH	119,50	7,86 (1H, m)	H-5	C-10a, C-8	119,48
6	CH	137,44	7,92 (1H, m)	H-6	C-10a, C-8	137,63
7	CH	124,93	7,43 dd (1H, 1,24/8,0)	H-7	C-5	124,64
8	C	161,86	11,97 (3H, sl)	–	–	161,27
9	C	192,28	–	–	–	191,49
8a	C	118,02	–	–	–	118,48
9a	C	115,71	–	–	–	116,33
10	C	180,51	–	–	–	181,25
10a	C	133,66	–	–	–	133,41
4a	C	133,22	–	–	–	133,61
11	C	165,07	11,97 (3H, sl)	–	–	165,52

^aDeslocamentos químicos estabelecidos em relação ao padrão interno TMS ($\delta_{\text{TMS}} = 0,0$ ppm).

^bMultiplicidade: s (simpleto), d (doblete), dd (duplo dublete); ^cDados da literatura: experimentos de RMN realizados a 100 MHz para ^{13}C utilizando $\text{DMSO}-d_6$ (Danielsen *et al.*, 1992). Fonte: a autora.

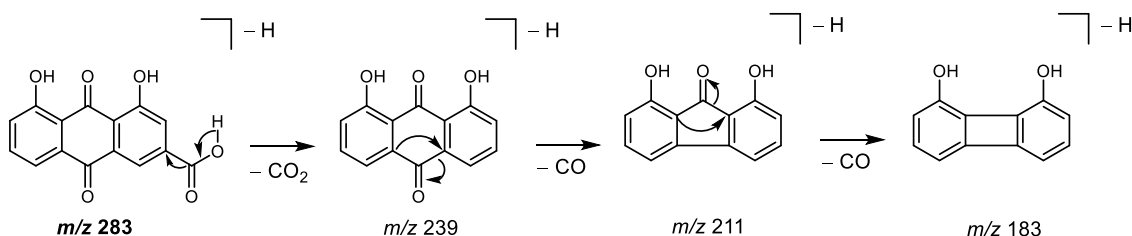
Os valores obtidos na análise de RMN do composto **F** foram comparados com dados da literatura e correspondem à antraquinona réina (Danielsen *et al.*, 1992; Cunha *et al.*, 2017). Sua estrutura foi confirmada através da análise por EM/EM. O espectro EM/EM de m/z 283 $[M - H]^-$ (Figura 113), apresentou o fragmento de m/z 239, formado por uma descarboxilação que levou a eliminação de CO_2 ($-44\ u$). A partir desse fragmento, há duas perdas consecutivas de CO ($-28\ u$) levando a formação dos íons fragmentos de m/z 211 e 183, respectivamente (Figura 114).

Figura 113 – (–)-IES- EM/EM do composto **F** (m/z 283 $[M - H]^-$), 25 eV.



Fonte: a autora.

Figura 114 – Propostas de fragmentações para o composto **F** analisado por (–)-IES- EM/EM.

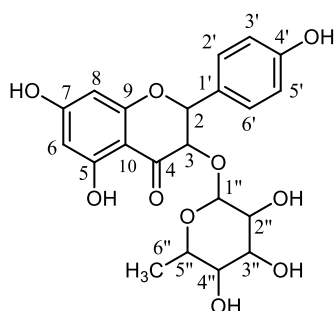


Fonte: adaptado de Prado *et al.* (2024).

A réina é uma antraquinona comum em espécies de *Cassia* e *Senna* ricas em antraquinonas e que são utilizadas como laxante na medicina popular, como a *C. fistula*, *S. alata* e a *C. angustifolia* (Panichayupakaranant *et al.*, 2009; Chewchida; Wuthi-Udomlert; Gritsanapan, 2013). Este composto já foi isolado das folhas de *C. javanica* (Chaudhuri; Chawla, 1987) e em outras espécies de *Cassia*. Foi isolada do extrato etanólico das flores de *C. fistula* apresentando atividade anticâncer frente a linhagem celular de adenocarcinoma de cólon humano e atividade antifúngica (Durainpadiyan; Ignacimuthu, 2011; Durainpadiyan *et al.*, 2012). Foi isolada da *C. tora*, apresentando atividade antibacteriana frente a *S. aureus* com MIC de $32,0\ \mu\text{g mL}^{-1}$ (Hatano *et al.*, 1999)

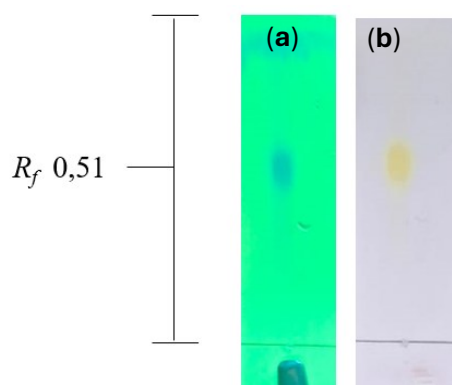
e das cascas de *C. bakeriana*, apresentando também atividade antibacteriana frente a bactérias cariogênicas com valores de CIM entre 3,12 e 25,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (clorexidina 0,92–7,37 $\mu\text{g mL}^{-1}$) (Cunha *et al.*, 2017). Além destas atividades biológicas, a reína também apresenta outras atividades farmacológicas, entre elas hepatoprotetora, nefroprotetora e potencial anti-inflamatório (Zhou *et al.*, 2015).

5.8.1.3 Composto **G**: engeletina (di-hidrocanferol-ramnosídeo)



O composto **G** (5,1 mg) foi isolado da fração diclorometano das flores de *C. javanica* como um sólido branco solúvel em acetona e metanol. Ao ser analisado por CCD, apresentou uma mancha com R_f 0,51 na inspeção por câmara UV 254 nm que ficou amarela após revelação com vanilina (Figura 115).

Figura 115 – CCD analítica (SiO_2) do composto **G** desenvolvido com DCM/MeOH (4:1). Inspeção sob luz UV a 254 nm (a) e revelada com vanilina (b).

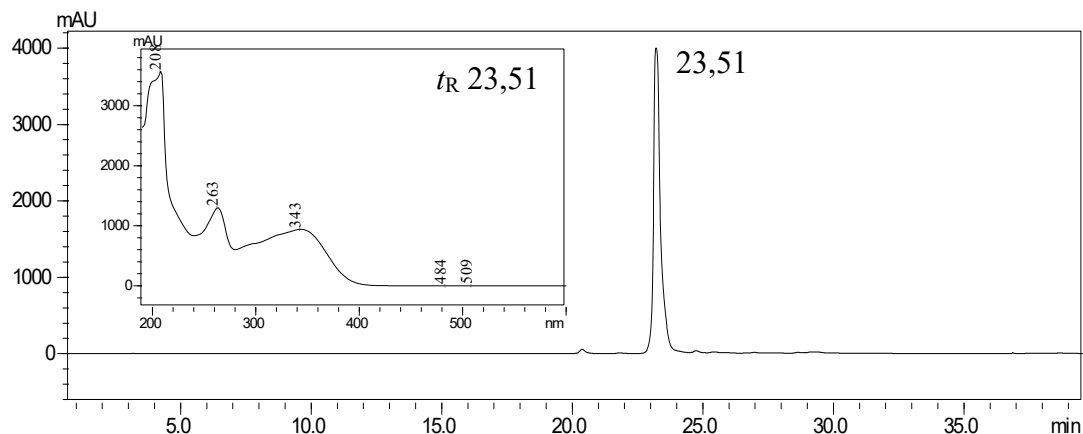


Fonte: a autora.

Na análise por CLAE-DAD, o composto **G** apresentou um único pico no cromatograma em t_R 23,51 min. No espectro UV-Vis, foi observado duas bandas de

absorção em 343 e 263 nm, associadas as bandas I (sistemas cinamoil do anel B) e II (sistema benzoil do anel A) em flavonoides, respectivamente (Figura 116).

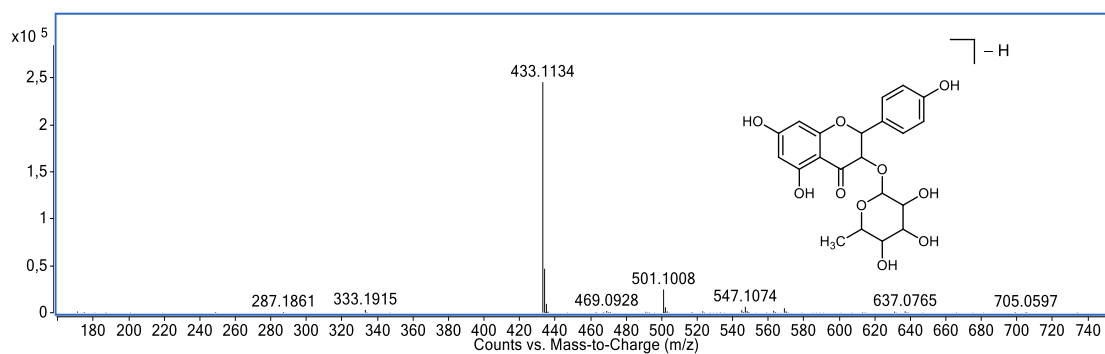
Figura 116 – Cromatograma CLAE-DAD em coluna analítica do composto **G** (UV-Vis 365 nm).



Condições CLAE: Coluna: Phenomenex Lunna C₁₈ (250 mm × 4,6 mm, 5 μm); gradiente (45 min), 20–100% de metanol e ácido acético 0,1%; C = 1,0 mg mL⁻¹, V. inj. = 50 μL, fluxo 1,0 mg mL⁻¹) e detector DAD. Fonte: a autora.

O composto **G** foi analisado por EM em alta resolução no modo negativo, onde a fórmula molecular C₂₁H₂₂O₁₀ foi estabelecida, apresentando IDH igual a 11. O sinal referente a molécula desprotonada foi de *m/z* 433,1134 [M – H]⁻, calculado para C₂₁H₂₁O₁₀⁻, 433,1140 (Δ –1,38 ppm) (Figura 117).

Figura 117 – (–)-IES-EM em alta resolução do composto **G**.



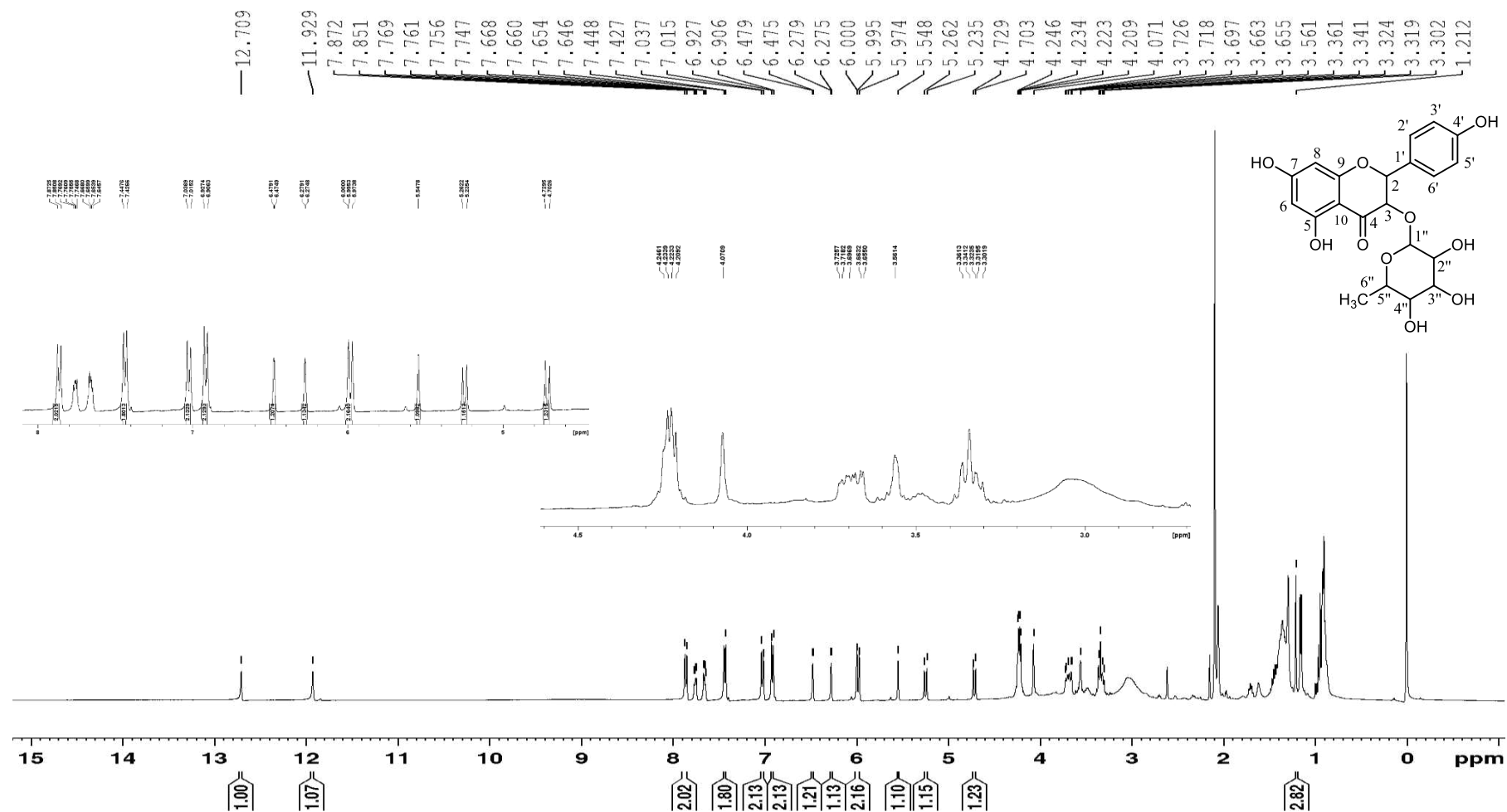
Fonte: a autora.

O espectro de RMN de ¹H composto **G** apresentou semelhança ao espectro de **E**, indicando ser um derivado do canferol. O RMN de ¹H, de ¹³C e DEPT para composto revelaram a presença de dois dupletos em δ_H 5,26 (1H, *J* = 10,9 Hz, H-2) e 4,72(1H, *J* = 10,90 Hz, H-3) e um efeito de blindagem nos carbonos C-2 (δ_C 81,88) e

C-3 (δ_C 76,12), devido à hibridização sp^3 . Além disso, a constante de acoplamento $J = 10,90$ Hz entre H-2 e H-3 indica uma orientação axial-axial, que está relacionada a uma relação *trans* entre esses hidrogênios. Os sinais na região δ_H 3,33–4,09, indicam a presença de açúcar na estrutura. O singlete em δ_H 4,09 foi atribuído a um hidrogênio de carbono anomérico (H-1''). O sinal em singlete δ_H 1,21 (3H, H-6'') sugere a presença de uma ramnose. Os sinais em δ_C 101,28 (C-1''), δ_C 70,75 (C-2''), δ_C 70,81 (C-3''), δ_C 72,09 (C-4'') e δ_C 68,46 (C-5'') e o sinal referente ao carbono metílico δ_C 16,57 (H-6'') foram atribuídos aos carbonos deste açúcar (Figuras 118 a 120).

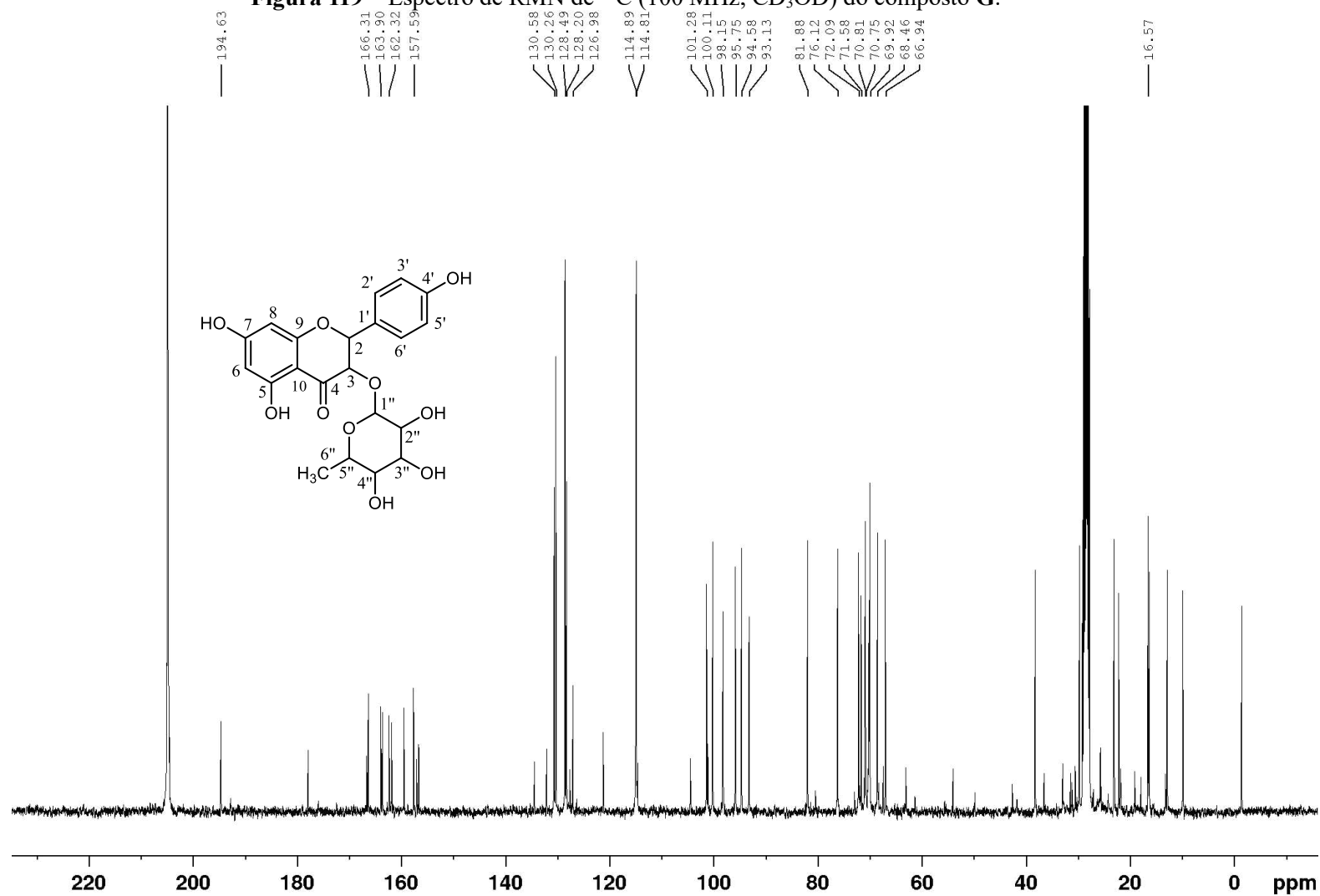
Através dos mapas de contornos HSQC (Figuras 121 a 125) foram feitas atribuições diretas entre os hidrogênios e carbonos do flavononol e através do mapa de contorno HMBC (Figuras 126 a 129), foi possível confirmar a posição do açúcar através do acoplamento em $^3J_{H \rightarrow C}$ entre o hidrogênio H-1'' (δ_H 4,09) e o carbono C-3 (δ_C 76,12). Além disso, o acoplamento em $^2J_{H \rightarrow C}$ entre o H-2 (δ_H 5,26) e o carbono C-3 define a estrutura do flavononol (Huang *et al.*, 2011) (Tabela 19).

Figura 118 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) do composto G.



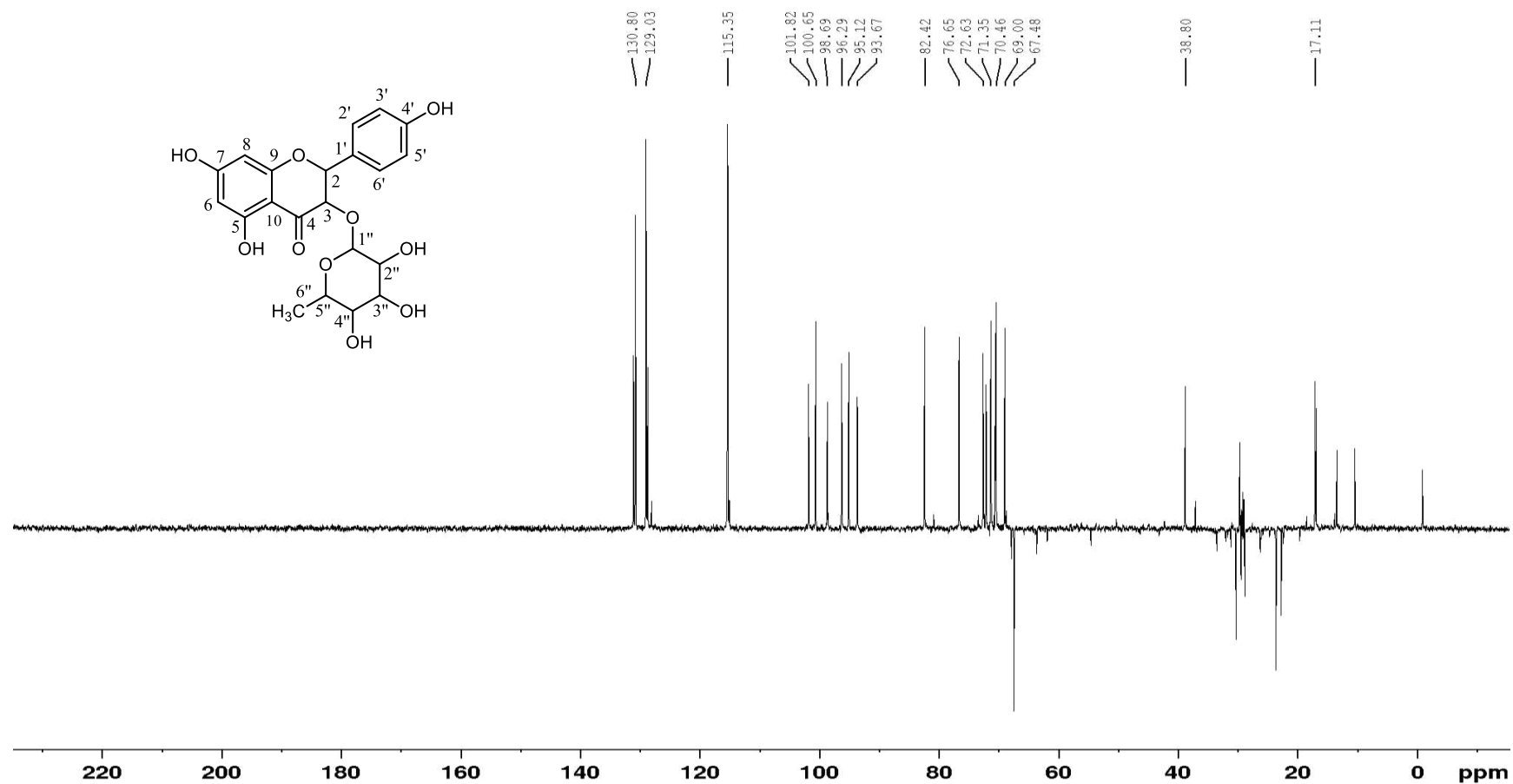
Fonte: a autora.

Figura 119 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) do composto G.



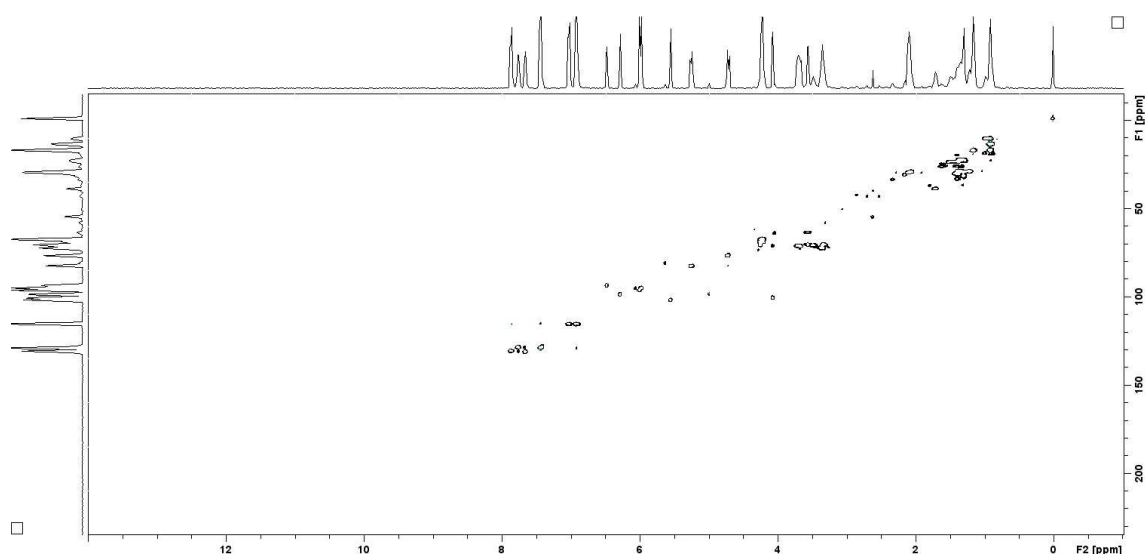
Fonte: a autora.

Figura 120 – Espectro de DEPT-135 composto G.



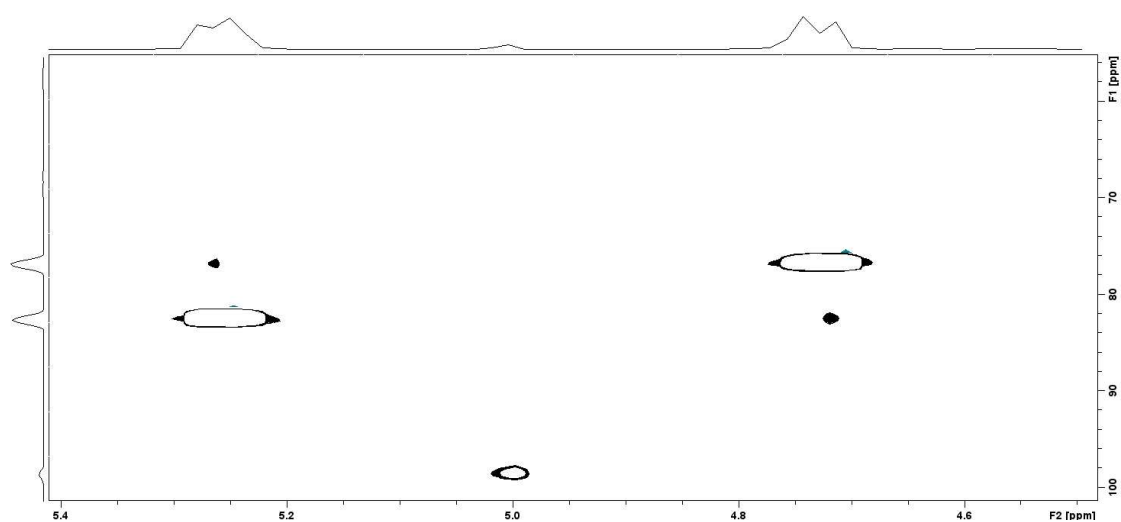
Fonte: a autora.

Figura 121 – Mapa do contorno HSQC do composto **G**.



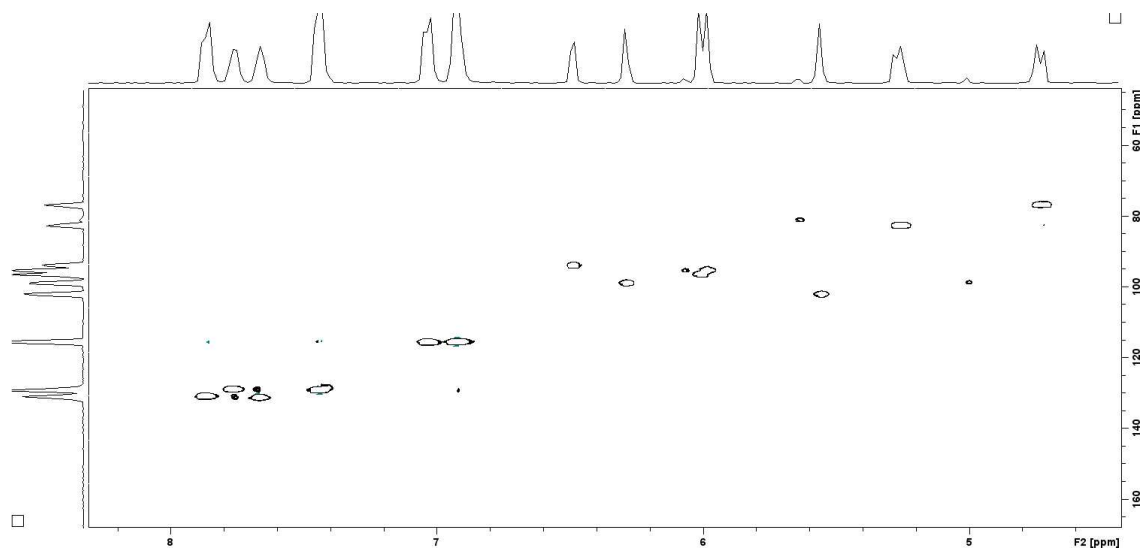
Fonte: a autora.

Figura 122 – Expansão do mapa de contorno HSQC (δ δ 4,5–5,4) do composto **G**.



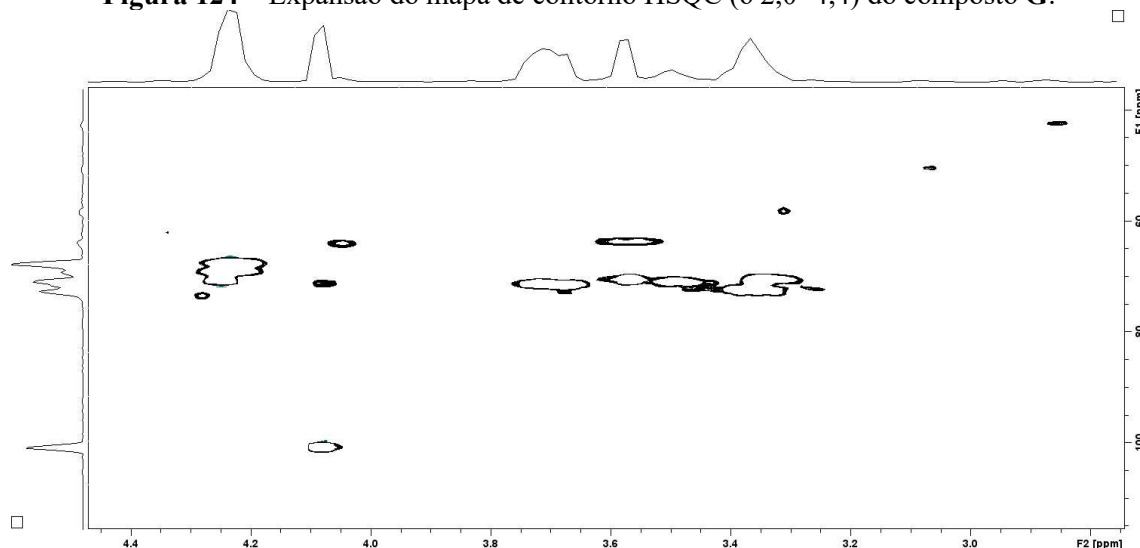
Fonte: a autora.

Figura 123 – Expansão do mapa de contorno HSQC (δ 4,8–8,2) do composto **G**.



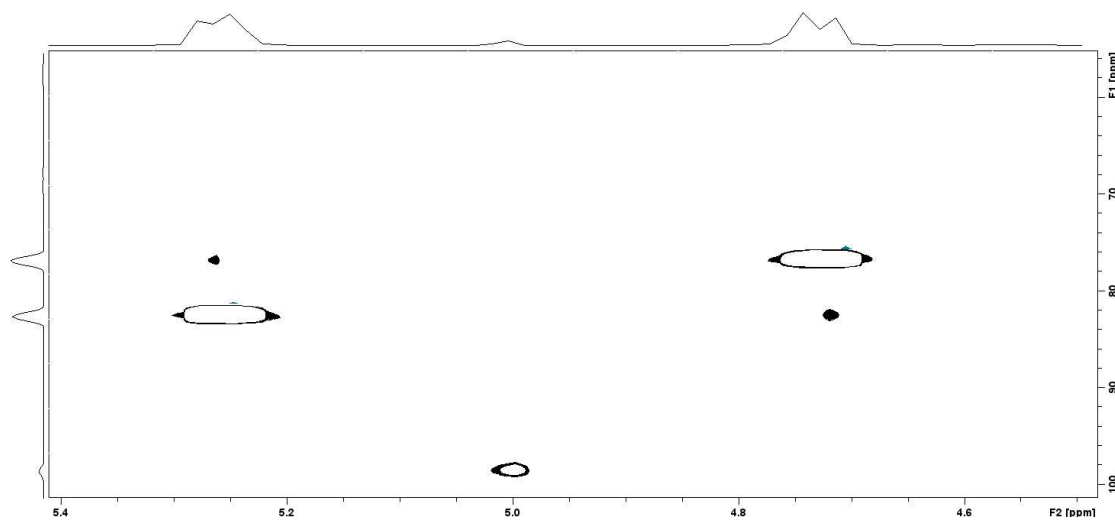
Fonte: a autora.

Figura 124 – Expansão do mapa de contorno HSQC (δ 2,0–4,4) do composto **G**.



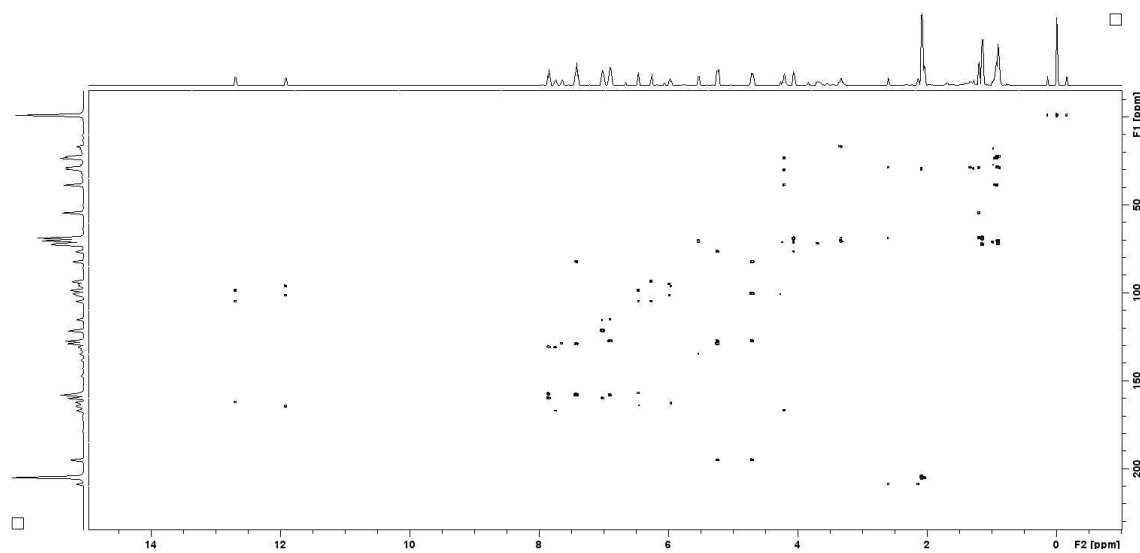
Fonte: a autora.

Figura 125 – Expansão do mapa de contorno HSQC (δ 2,0–4,4) do composto **G**.



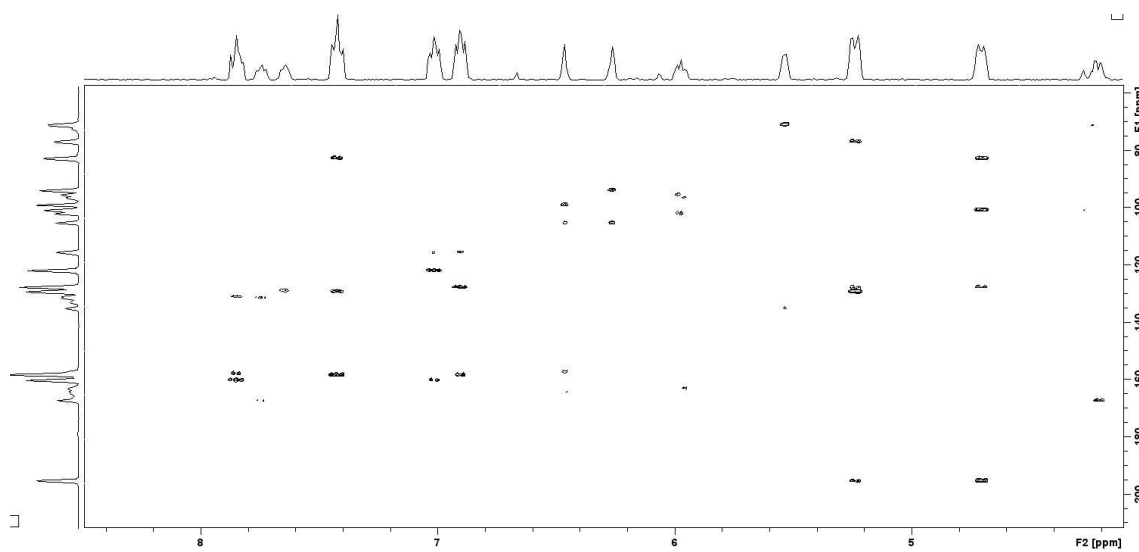
Fonte: a autora.

Figura 126 – Mapa de contorno HMBC do composto **G**.



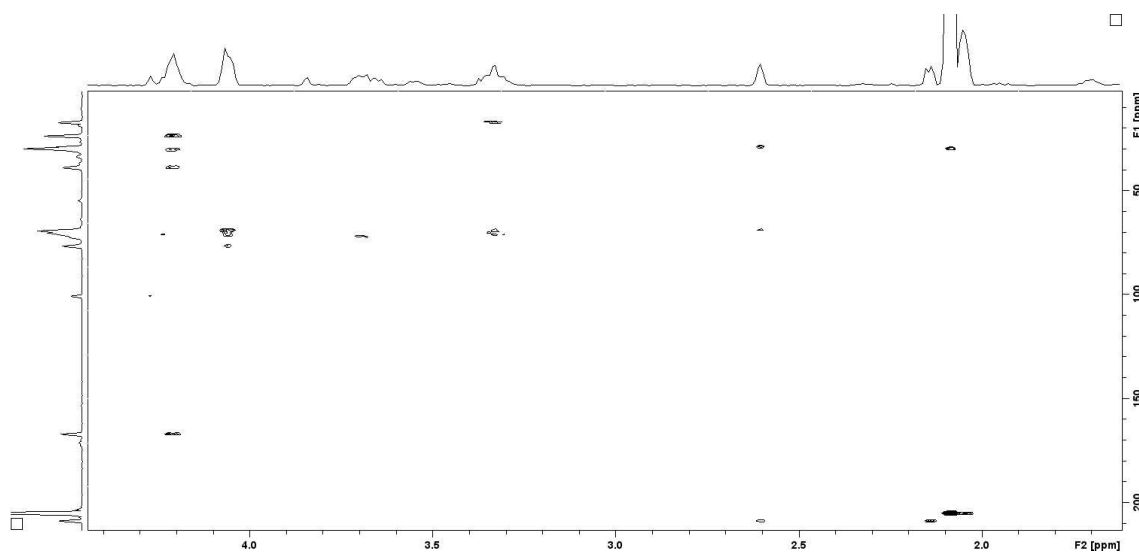
Fonte: a autora.

Figura 127 – Expansão do mapa de contorno HMBC (δ 4,8–8,4) do composto **G**.



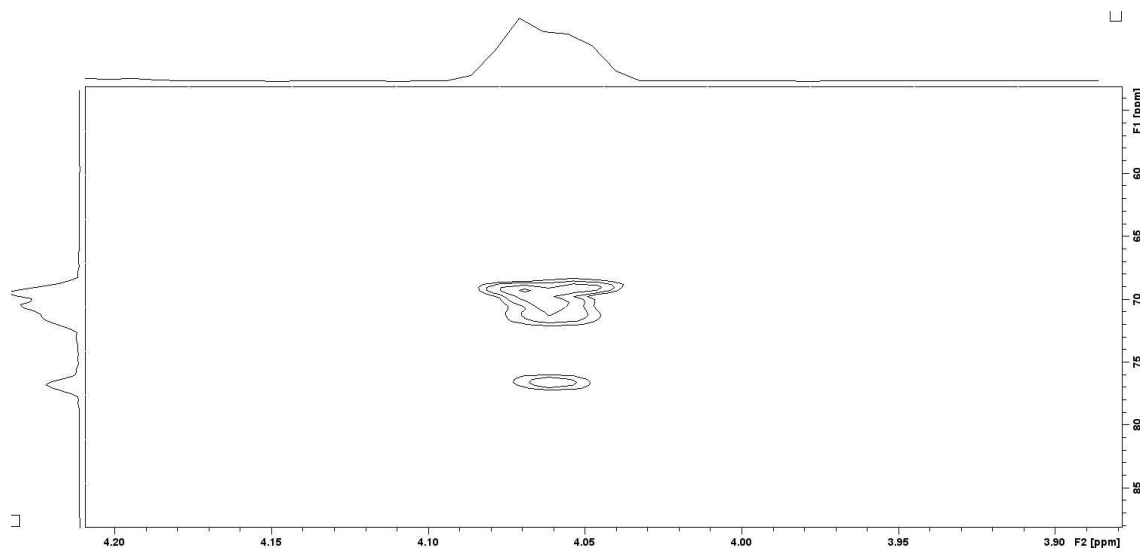
Fonte: a autora.

Figura 128 – Expansão do mapa de contorno HMBC (δ 1,7–4,4) do composto **G**.



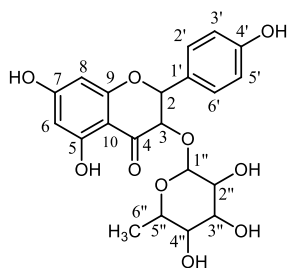
Fonte: a autora.

Figura 129 – Expansão do mapa de contorno HMBC (δ 3,8–4,2) do composto **G**.



Fonte: a autora.

Tabela 19 – Dados de RMN de ^1H e ^{13}C (400 e 100 MHz, CD_3COCD) e correlações observadas nos mapas de contorno HSQC e HMBC do composto **G**.



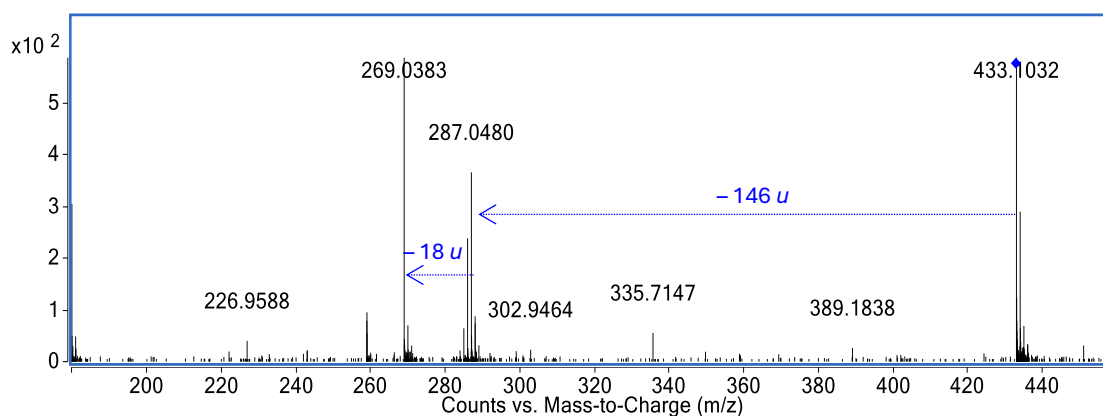
Posição	DEPT	$\delta_{\text{C}}^{\text{a}}$ ppm	$\delta_{\text{H}}^{\text{a}}$ ppm, mult. ^b (<i>J</i> em Hz)	HSQC	HMBC	δ_{C} na literatura ^c
2	CH	81,88	5,26 (1H, d, <i>J</i> = 10,9 Hz)	H-2	C-3, C-2'', C-4	81,44
3	CH	76,12	4,72 (1H, d, <i>J</i> = 10,9 Hz)	H-3	C-2, C-1', C-1'', C-4	75,92
4	C	194,63	—	—	—	194,34
5	C	163,90	—	—	—	163,42
6	CH	95,75	6,26 (1H, s)	H-6	C-8, C-10	96,22
7	C	166,31	—	—	—	167,28
8	CH	94,58	6,0 (1H, s)	—	—	95,25
9	C	162,32	—	—	—	162,16
10	C	100,11	—	—	—	100,71
1'	C	126,97	—	—	—	126,57
2'/6'	CH	130,58	6,90 (2H, d, <i>J</i> = 8,80 Hz)	H-2'	C-1', C-4'	129,02
3'/5'	CH	114,89	7,87 (2H, d, <i>J</i> = 8,80 Hz)	H-3'	C-2', C-4'	115,15
4'	C	157,58	—	—	—	157,92
1''	CH	101,28	4,09 (1H, s)	H-1''	C-2''	100,29
2''	CH	70,75	3,46 (1H, m)	H-2''	—	70,17
3''	CH	70,81	3,69 (1H, m)	H-3''	C-4''	70,30
4''	CH	72,09	3,33 (1H, m)	H-4''	C-6'', C-5''	71,62
5''	CH	68,46	4,24 (1H, m)	H-5''	—	68,77
6''	CH ₃	16,57	1,21 (3H, s)	H-6''	—	17,67
	OH	—	11,93 (s)	H-5	C-6, C-7, C-10	11,77
	OH	—	12,69	H-7	C-8, C-9	—

^aDeslocamentos químicos estabelecidos em relação ao padrão interno TMS (δ TMS = 0,0 ppm).

^bMultiplicidade: s: simpleto, d (dubleto), dd (duplo dubleto), t (triplete); ^cDados da literatura: experimentos de RMN realizados a 125 MHz para ^{13}C utilizando DMSO-*d*₆ (Huang *et al.*, 2011). Fonte: a autora.

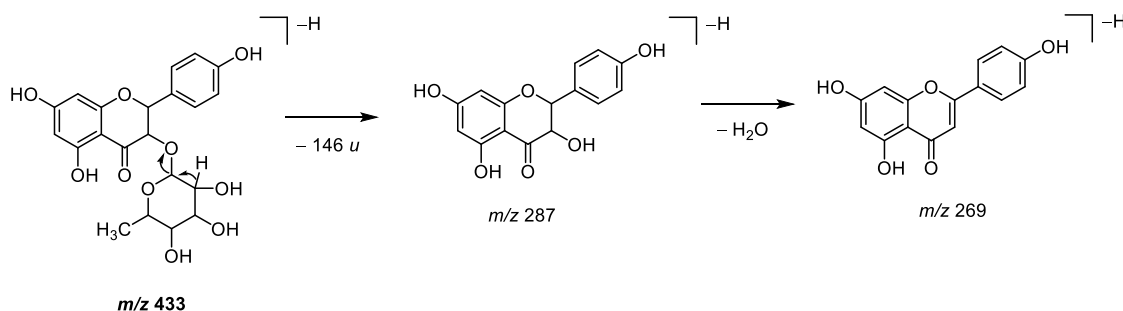
Na análise do espectro EM/EM (Figura 130), o composto **G** apresentou íons fragmentos de *m/z* em 287 e 269. O íon fragmento de *m/z* 339 resultou da eliminação de 146 *u* a partir de *m/z* 433 e o íon fragmento de *m/z* 287 foi produzido a partir da eliminação neutra da ramnose. O íon fragmento de *m/z* 269 foi correlacionado com a perda de uma molécula de H₂O (–18 *u*), a partir do íon da aglicona de *m/z* 287 (Figura 131).

Figura 130 - (-)-IES- EM/EM do composto **G** (m/z 433 $[M - H]^-$), 15 eV.



Fonte: a autora.

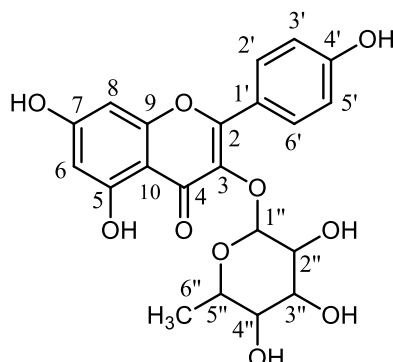
Figura 131 – Propostas de fragmentações para o composto **G** analisado por (-)-IES-EM/EM.



Fonte: a autora.

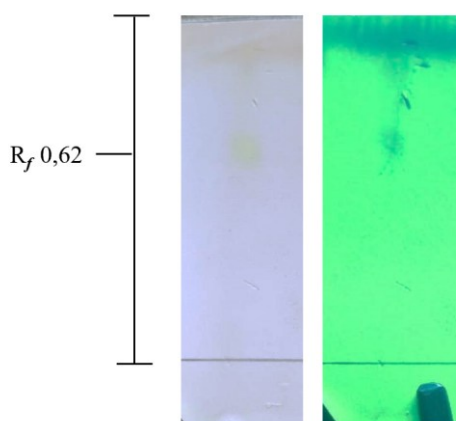
Os dados de obtidos através das análises cromatográficas, espectrométricas e espectroscópicas foram comparados com a literatura sendo semelhantes ao do flavanonol engeletina (di-hidrocanferol-ramnosídeo). Engeletina foi isolada do mari-mari (*C. leiandra*) e já foi isolada anteriormente das flores de *C. javanica* (Tiwari; Yadava, 1971). É um composto que apresenta importantes atividades farmacológicas, entre elas anti-inflamatória, antioxidante, antibacteriana, antitumoral e imunomoduladora. Além disso, a engeletina tem potencial inibidor da aldose redutase retardando o desenvolvimento de diabetes crônico (Zhong *et al.*, 2023).

5.8.1.4 Composto **H**: afzelina (canferol-3-*O*-ramnosídeo)



O composto **H** (16,06 mg), isolado da FDCj-fl como um sólido amarelo solúvel em acetona e metanol. Ao ser analisado por CCD, apresentou uma mancha com R_f 0,62, quando inspecionado em câmara UV 254 nm e cor amarela quando revelado com vanilina (Figura 132).

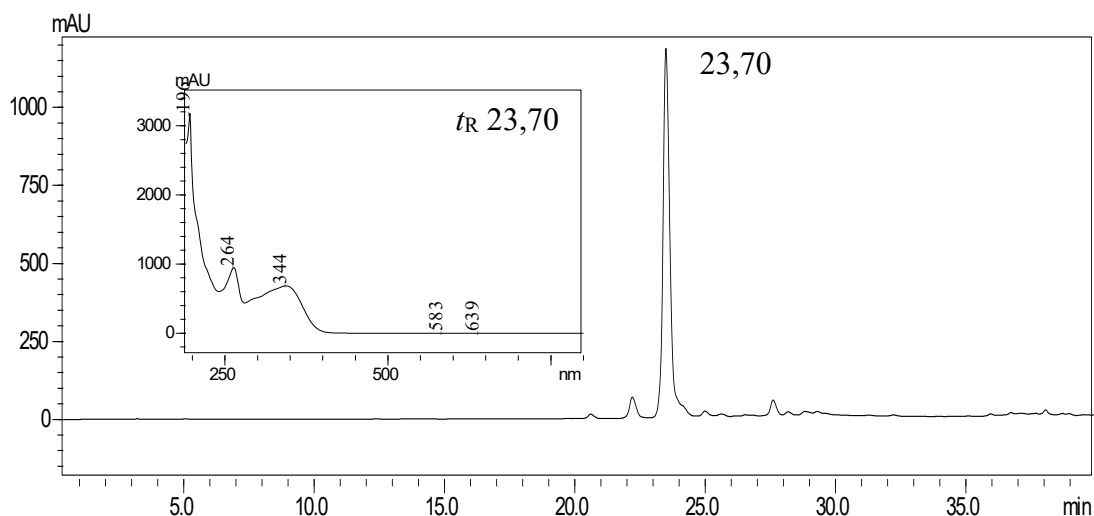
Figura 132 – CCD analítica (SiO_2) do composto **H** desenvolvido com DCM/MeOH (4:1), e revelado com vanilina (à esquerda) e inspecionado sob luz UV a 254 nm (à direita).



Fonte: a autora.

Na análise por CLAE-DAD, o composto apresentou um único pico no cromatograma em t_R 23,70 min. No espectro UV-Vis, foi observado duas bandas de absorção em 344 e 264 nm, associadas às bandas I (sistemas cinamoil do anel B) e II (sistema benzoil do anel A) em flavonoides glicosilados, respectivamente (Figura 133).

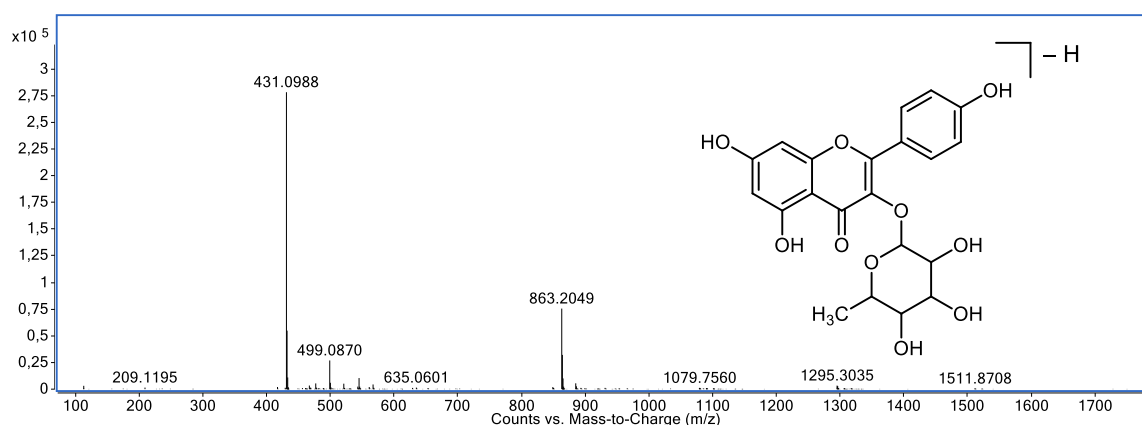
Figura 133 – Cromatograma CLAE-DAD em coluna analítica do composto **H** (UV-Vis 365 nm).



Condições CLAE: Coluna: Phenomenex Lunna C₁₈ (250 mm × 4,6 mm, 5 μm); gradiente (45 min), 20–100% de metanol e ácido acético 0,1%; C = 1,0 mg mL⁻¹, V. inj. = 50 μL, fluxo 1,0 mg mL⁻¹ e detector DAD. Fonte: a autora.

O composto **H** foi analisado por EM em alta resolução no modo negativo, de onde foi estabelecida a fórmula molecular C₂₁H₂₀O₁₀, apresentando IDH igual a 12. O espectro apresentou íon precursor de m/z 431,0988 [M – H]⁻, calculado para C₂₁H₁₉O₁₀⁻, 431,0984 (Δ 0.93 ppm), Figura 134.

Figura 134 – (–)-IES-EM em alta resolução do composto **H**.

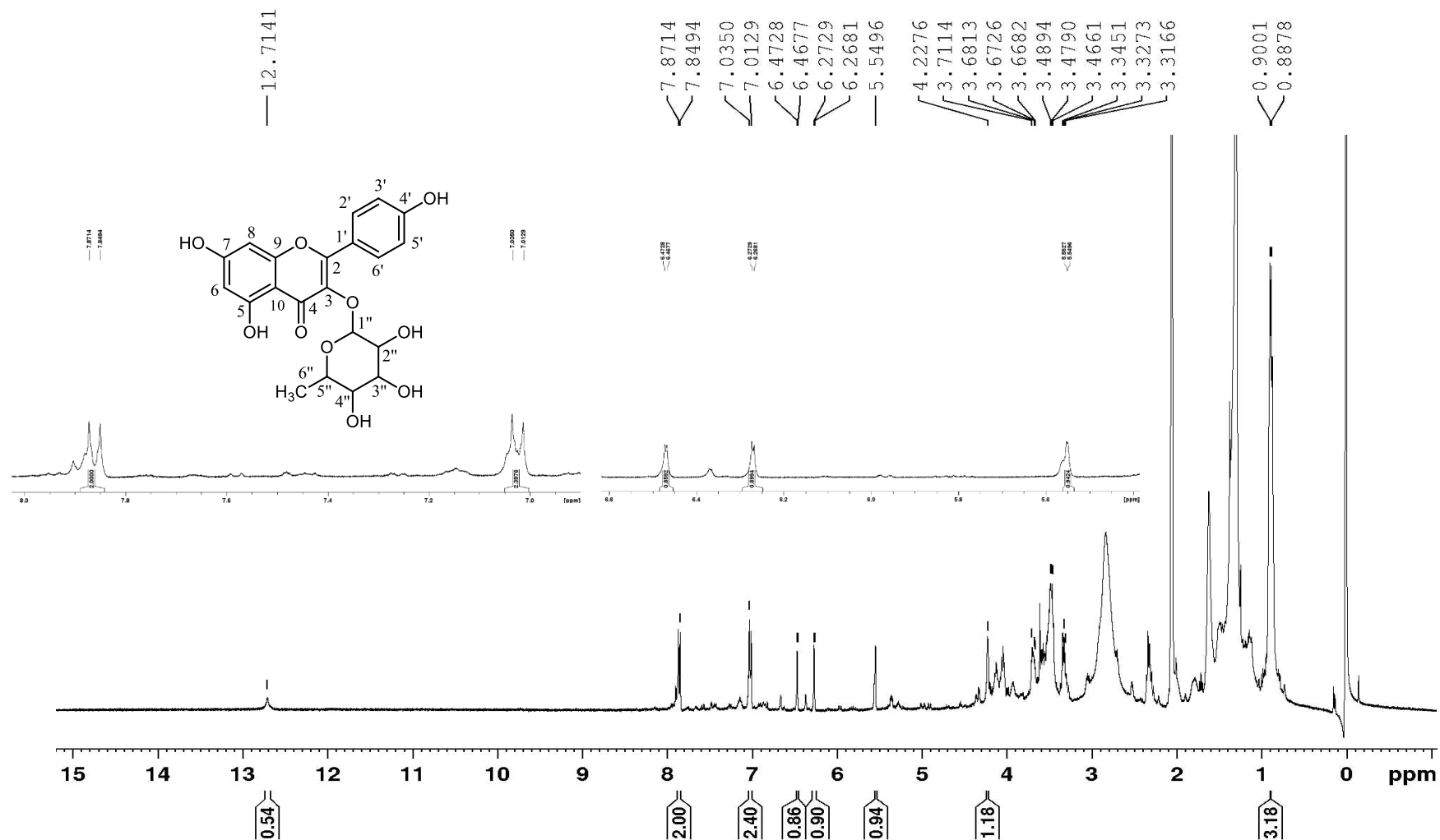


Fonte: a autora.

Os espectros de RMN de ¹H, ¹³C e DEPT-135 (135 a 137) apresentaram sinais semelhantes aos do composto **E**, exceto pela presença dos sinais característicos da ramnose em δ_H 5,54 (1H, s, H-1''), 4,22 (1H, m, H-2''), 3,48 (1H, m, H-3''), 3,71 (1H, m, H-4''), 3,34 (1H, t, H-5''), 0,90 (3H, s, H-6'') e em δ_C 101,8 (C-1''),

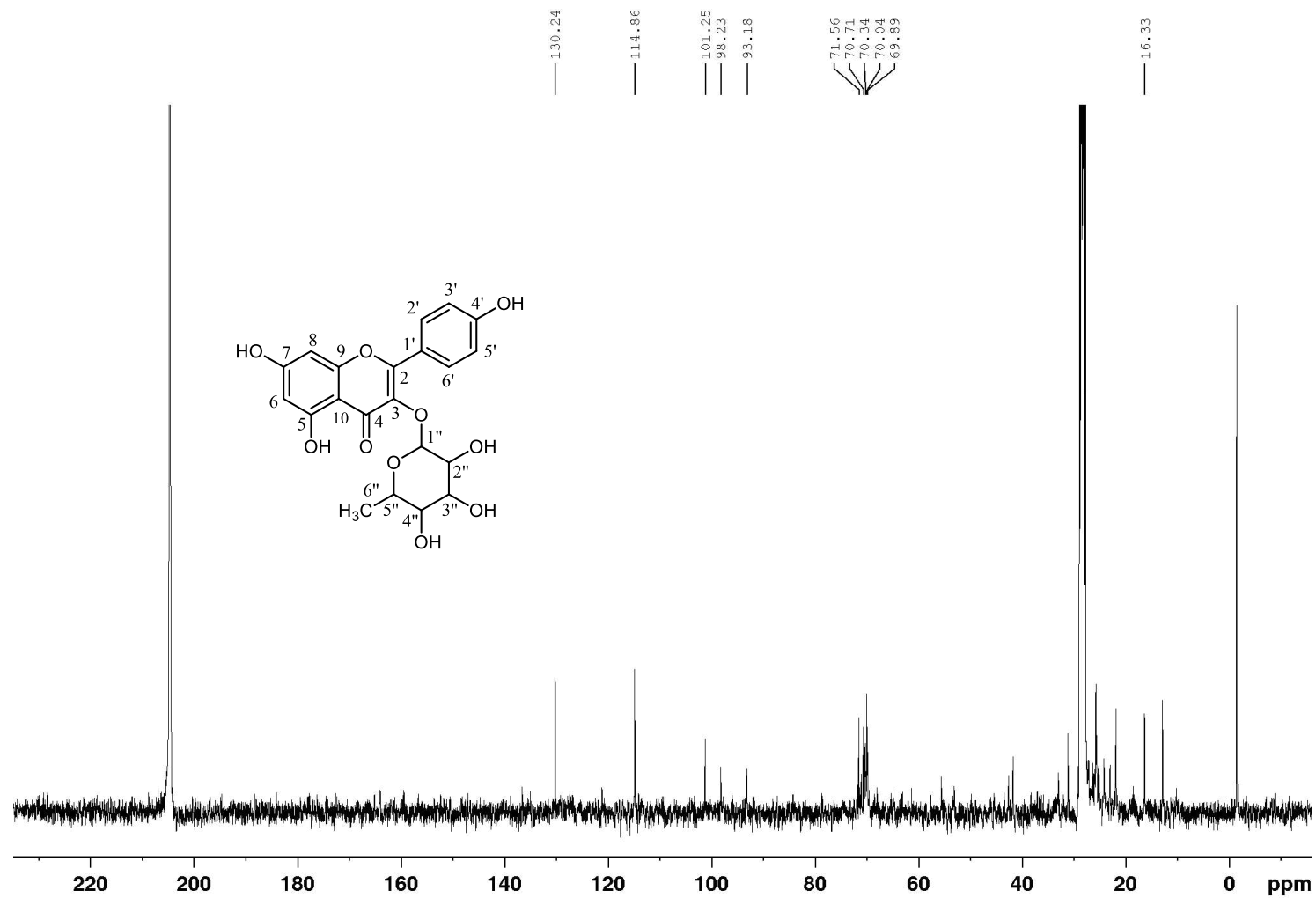
69,9 (C-2''), 70,3 (C-3''), 70,1 (C-4''), 71,6 (C-5'') e 16,3 (C-6''), e difere de **G** pela presença da dupla ligação entre C-2 e C-3. As posições dos hidrogênios foram estabelecidas a partir das correlações observadas no mapa de contorno HSQC (Figuras 138 a 140). O mapa de contorno HMBC confirmou a posição C-3 do anel C através de uma correlação a três ligações observada entre o hidrogênio anomérico da ramnose em δ_H 5,54 (s, 1H, H-1'') com o carbono C-3 da aglicona em δ_C 134,8 (Figuras 141 a 144). Todas essas evidências estão de acordo com o padrão de substituição do anel C e uma ramnose no C-3 (Tabela 20). Portanto, a estrutura de **H** foi estabelecida como sendo o canferol-3-*O*-ramnosídeo, também conhecido como afzelina, isolado anteriormente de *C. bakeriana* (Silva *et al.*, 2019).

Figura 135 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, acetona- d_6) do composto **H**.



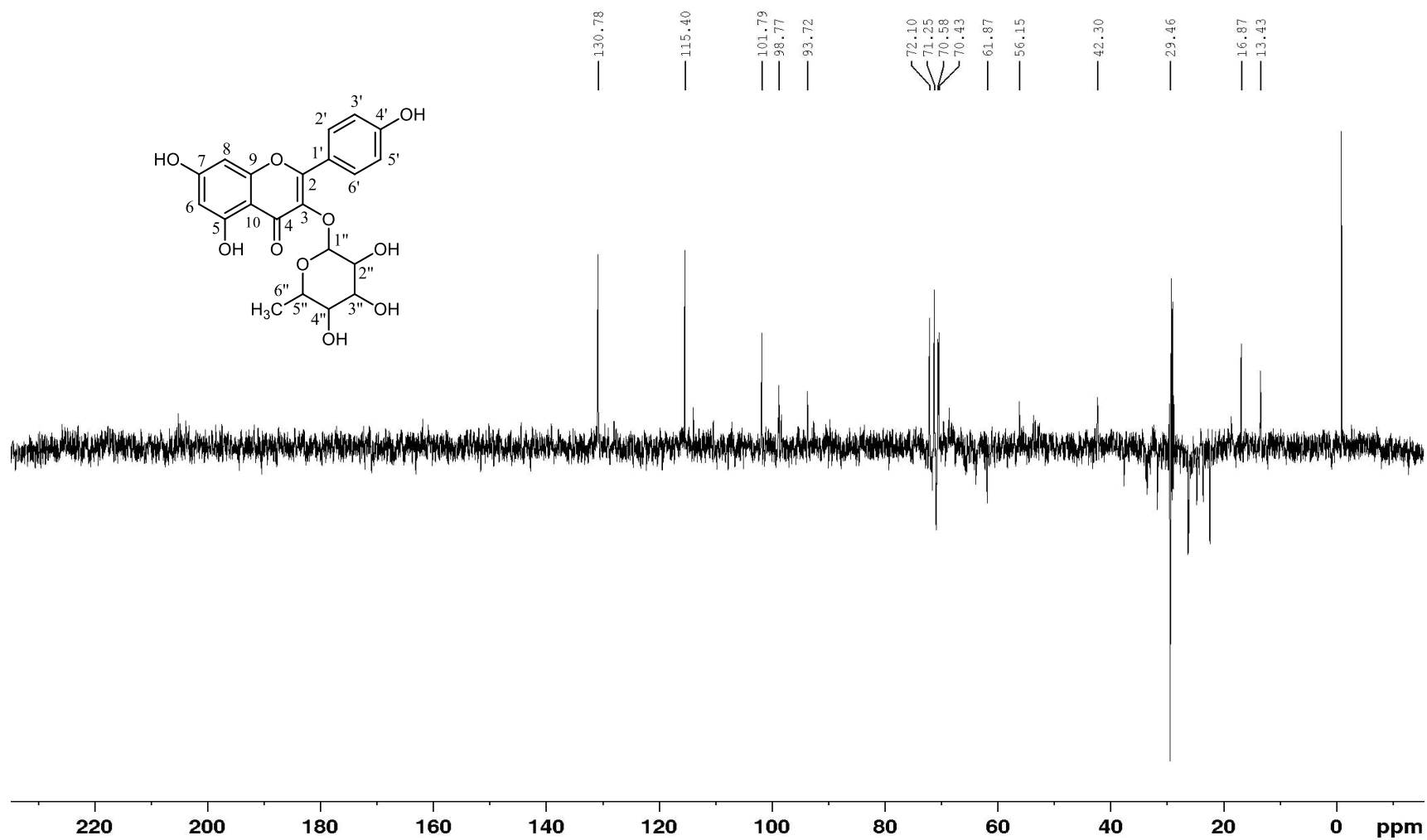
Fonte: a autora.

Figura 136 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, acetona- d_6) do composto **H**.



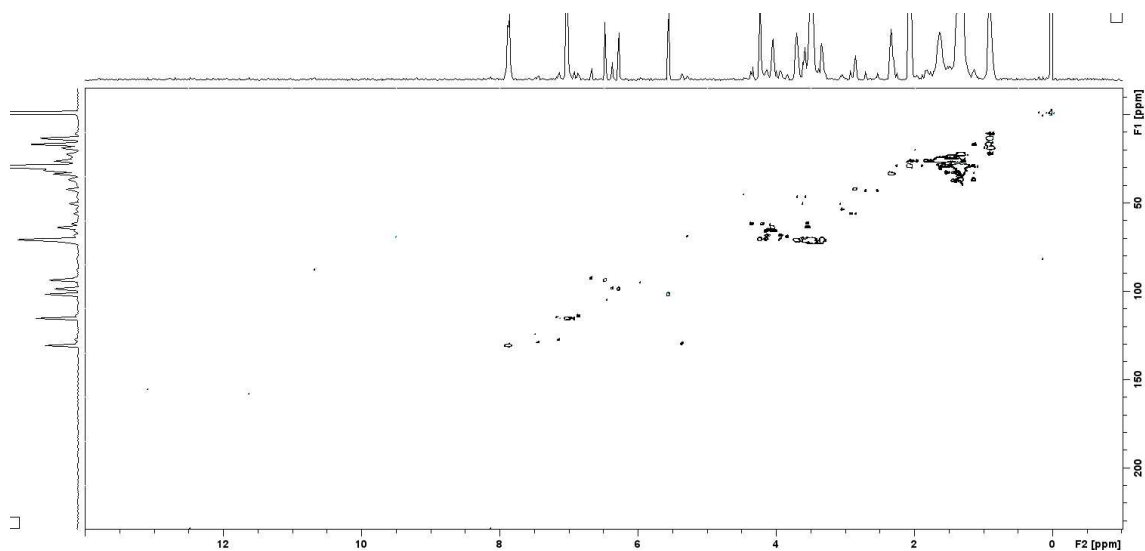
Fonte: a autora.

Figura 137 – Espectro de DEPT-135 composto **H**.



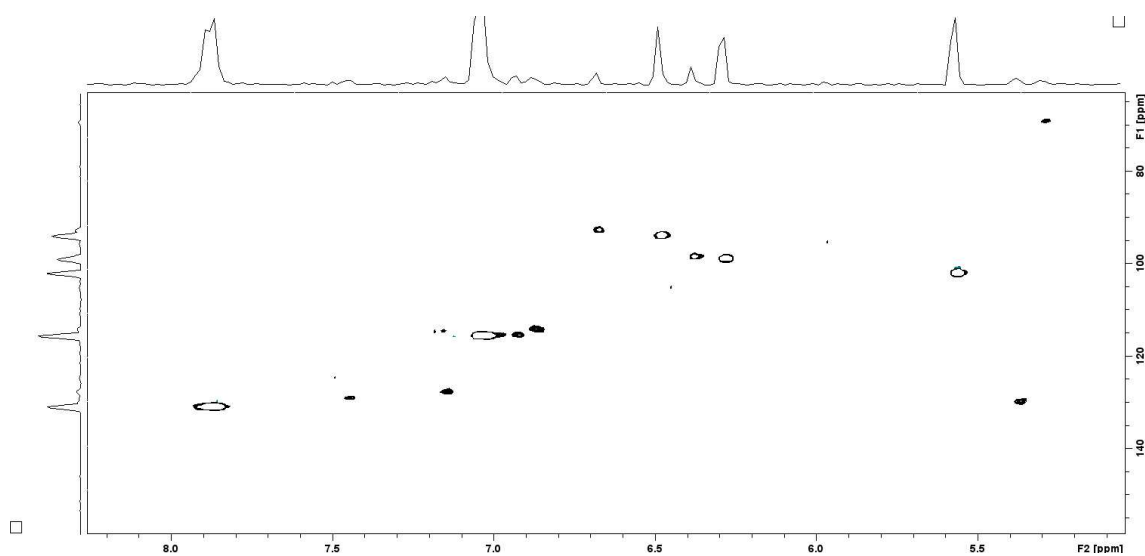
Fonte: a autora.

Figura 138 – Mapa do contorno HSQC do composto **H**.



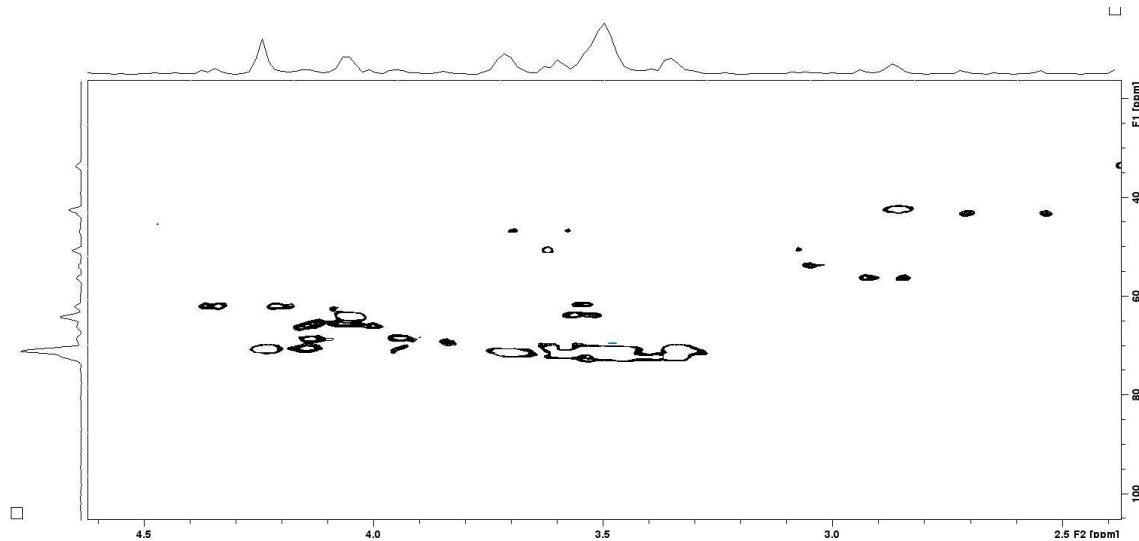
Fonte: a autora.

Figura 139 – Expansão do mapa de contorno HSQC (δ 5,4–8,2) do composto **H**.



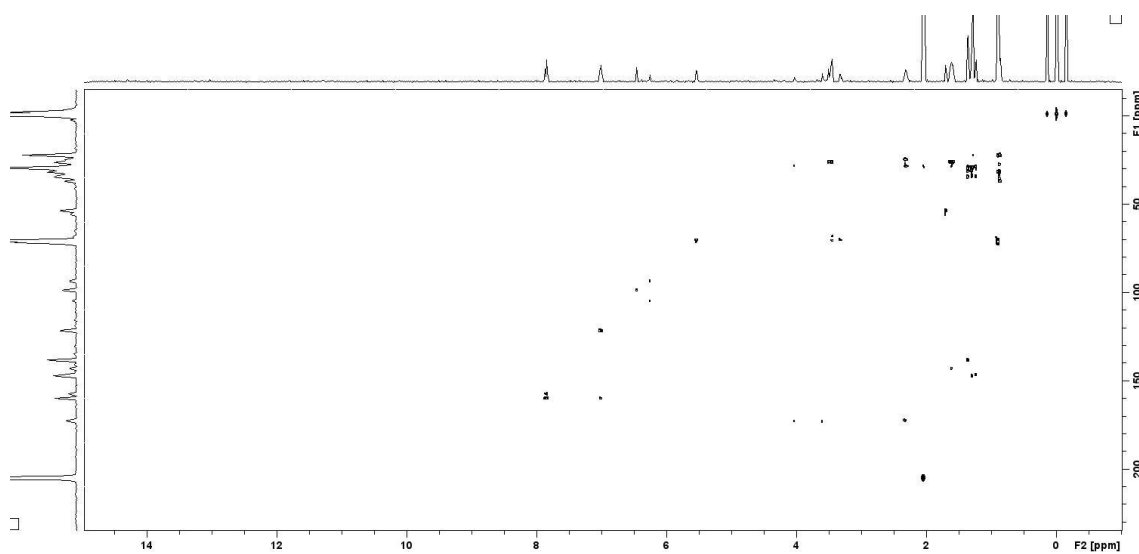
Fonte: a autora.

Figura 140 – Expansão do mapa de contorno HSQC (δ 2,5–4,5) do composto **H**.



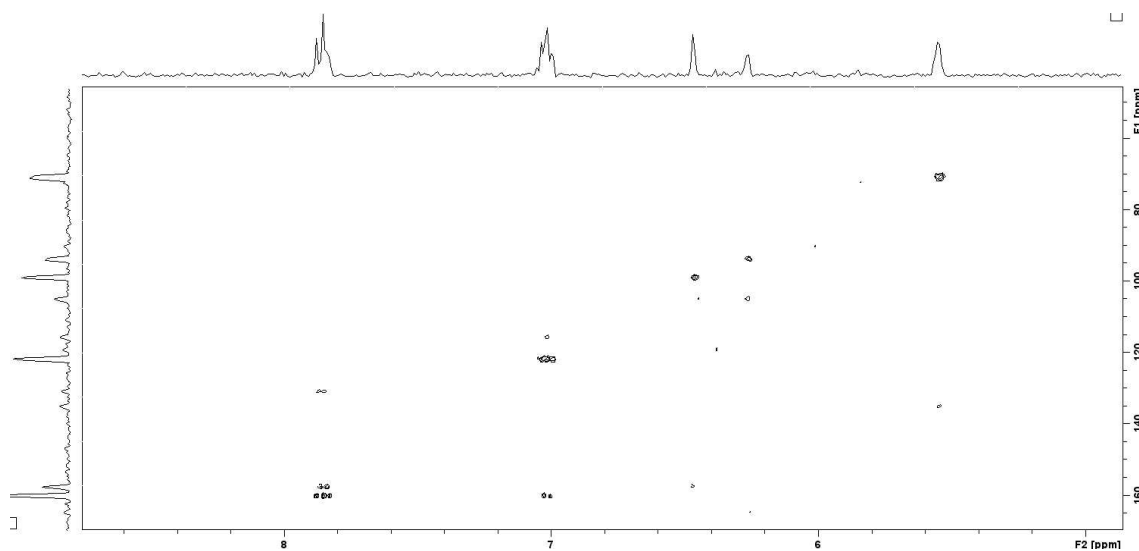
Fonte: a autora.

Figura 141 – Mapa de contorno HMBC do composto **H**.



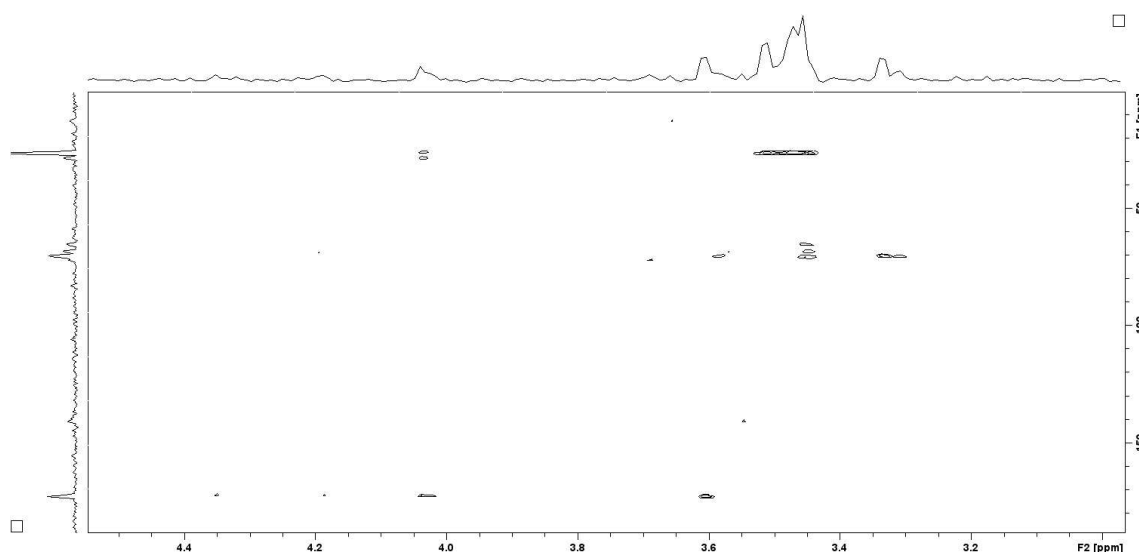
Fonte: a autora.

Figura 142 – Expansão do mapa de contorno HMBC (δ 5,2–8,6) do composto **H**.



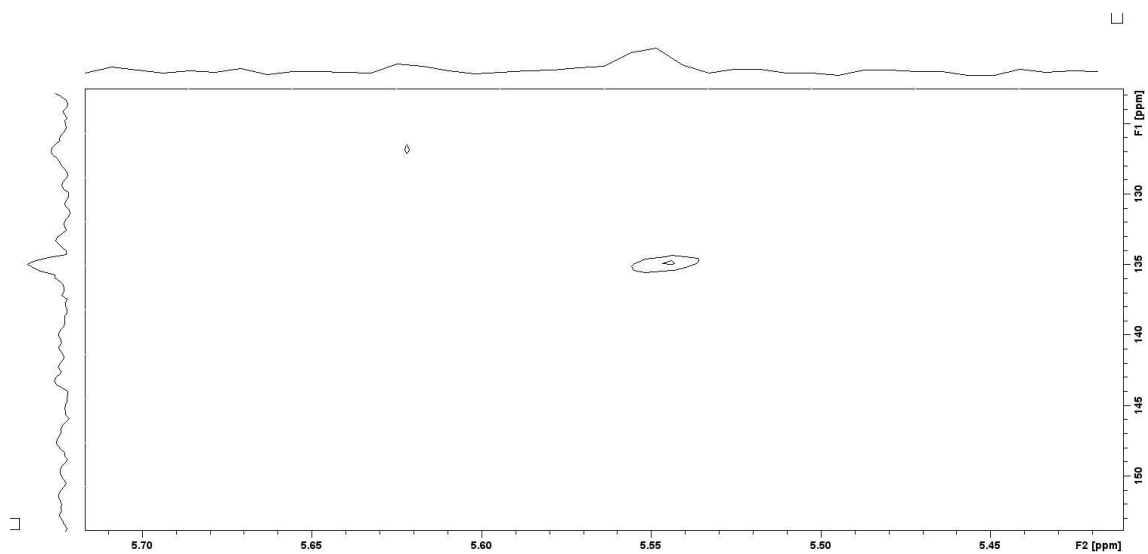
Fonte: a autora.

Figura 143 – Expansão do mapa de contorno HMBC (δ 2,8–4,6) do composto **H**.



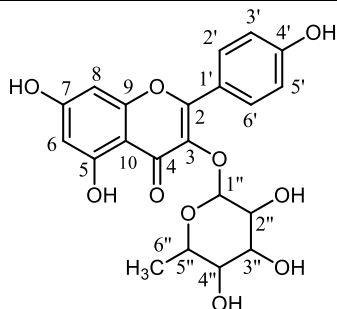
Fonte: a autora.

Figura 144 – Expansão do mapa de contorno HMBC (δ 2,8–4,6) do composto **H**.



Fonte: a autora.

Tabela 20 – Dados de RMN de ^1H e ^{13}C (400 e 100 MHz, CD_3COCD_3) e correlações observadas nos mapas de contorno HSQC e HMBC do composto **H**.



Posição	DEPT	$\delta_{\text{C}}^{\text{a}}$ ppm	$\delta_{\text{H}}^{\text{a}}$ ppm, mult. ^b (J em Hz)	HSQC	HMBC	δ_{C} na literatura ^c
2	C	156,82	—	—	—	158,62
3	C	134,88	—	—	—	136,15
4	C	—	—	—	—	179,35
5	C	—	—	—	—	163,20
6	CH	98,76	6,27 (1H, d, J = 2,10 Hz)	H-6	C-8	100,06
7	C	—	—	—	—	166,60
8	CH	93,60	6,47 (1H, d, J = 2,10 Hz)	H-8	C-6	94,92
9	C	—	—	—	—	159,24
10	C	—	—	—	—	105,73
1'	C	—	—	—	—	122,62
2'/6'	CH	130,77	7,87 (2H, d, J = 8,88 Hz)	H-2'/6'	C-6', C-4'	131,90
3'/5'	CH	115,39	7,03 (2H, d, J = 8,88 Hz)	H-3'/5'	C-1', C-4'	116,50
4'	C	157,40	—	—	—	161,63
1''	CH	101,79	5,54 (1H, m)	H-1''	C-1''	103,50
2''	CH	71,56	4,22 (1H, m)	H-2''	—	72,09
3''	CH	70,33	3,48 (1H, m)	H-3''	C-4'', C-5''	72,04
4''	CH	70,05	3,71 (1H, m)	H-4''	C-3''	73,17
5''	CH	69,89	3,34 (1H, t)	H-5''	C-2'', C-3''	71,92
6''	CH ₃	16,33	0,90 (3H, s)	H-6''	—	17,66
	OH	—	12,71 (s)	—	—	—

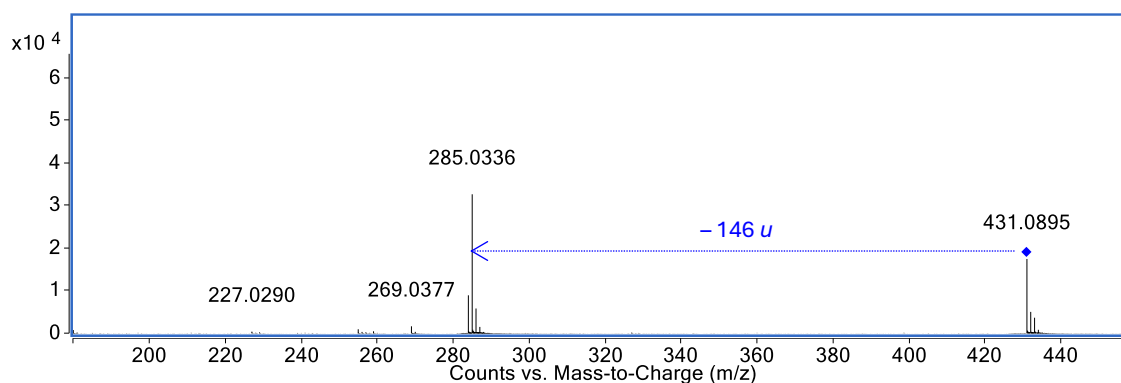
^aDeslocamentos químicos estabelecidos em relação ao padrão interno TMS (δ TMS = 0,0 ppm).

^bMultiplicidade: s (simpleto), d (dubleto), dd (duplo dubleto); ^cDados da literatura: experimentos de RMN realizados a 100 MHz para ^{13}C utilizando CD_3OD (Lee *et al.*, 2014). Fonte: a autora.

No espectro de massas em sequência da afzelina (m/z 431 $[\text{M} - \text{H}]^-$) (Figura 145), o íon fragmento de maior intensidade é de m/z 285, referente a aglicona, que foi obtido a partir da eliminação neutra de uma molécula de ramnose (-146 u), através da

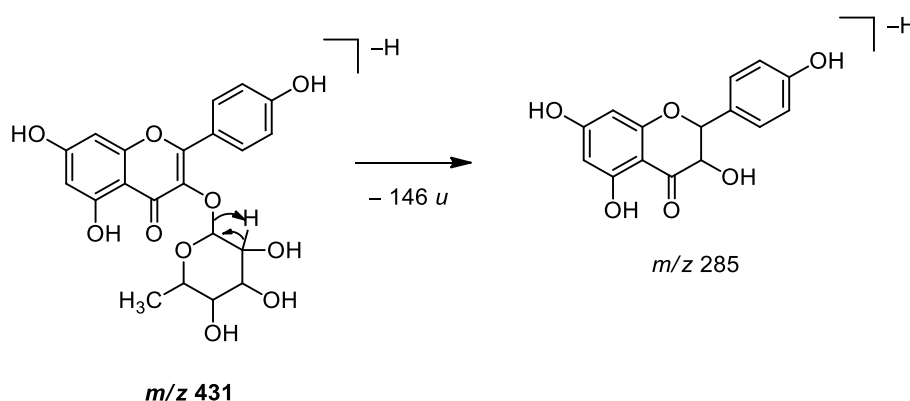
clivagem heterolítica da ligação entre o carbono anomérico C-1'' da ramnose e o oxigênio da aglicona (Figura 146).

Figura 145 – (–)-IES-EM/EM do composto **H** (m/z 431 $[M - H]^-$), 15 eV.



Fonte: a autora.

Figura 146 - Propostas de fragmentações para o composto **H** analisado por (–)-IES-EM/EM



Fonte: a autora.

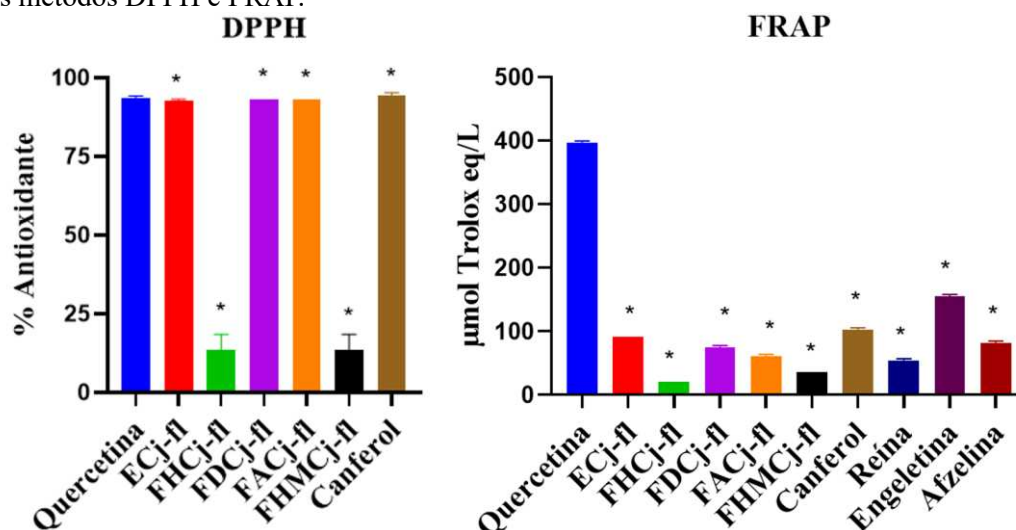
5.8.2 Avaliação do potencial antidiabético das flores de *C. javanica*

Os resultados da atividade antioxidante, inibição das enzimas α -amilase e α -glicosidase e antiglicação para O EE, frações e compostos canferol (**E**), reína (**F**), engeletina (**G**) e afzelina (**H**) de *C. javanica* foram avaliados quanto a sua atividade antioxidante, inibição das enzimas α -amilase e α -glicosidase e antiglicação para determinar o potencial antidiabético da espécie.

5.8.2.1 Avaliação da atividade antioxidante

O potencial antioxidante do extrato (ECj-fl), frações (FHCj-fl, FDCj-fl, FACj-fl e FHMCj-fl) e compostos isolados **E–H** de *C. javanica* foram avaliados por dois métodos diferentes. ECj-fl apresentou $92,5 \pm 0,7\%$ de capacidade antioxidante, comparado ao padrão de quercetina ($94,0 \pm 0,0\%$) pelo método DPPH. Entretanto, sua capacidade antioxidante foi de $91,0 \pm 0,0 \mu\text{mol trolox eq/L}$ pelo método FRAP, comparado à quercetina ($397,3 \pm 2,4 \mu\text{mol trolox eq/L}$). Assim, o ECj-fl foi considerado de baixa capacidade antioxidante por este ensaio. Em relação às frações FDCj-fl e FACj-fl, ambas apresentaram alta capacidade antioxidante pelo método DPPH, exibindo o mesmo valor de $93,0 \pm 0,0\%$. As frações FHCj-fl e FHMCj-fl apresentaram baixa atividade (inibição de $13,50 \pm 4,9\%$ para ambas). Pelo método FRAP, as frações apresentaram baixa capacidade antioxidante em comparação ao padrão de quercetina, exibindo valores de $21,0 \pm 0,0$ a $75,2 \pm 2,4 \mu\text{mol trolox eq/L}$ (Figura 147).

Figura 147 – Capacidade antioxidante do EE, frações e compostos **E–H** das flores de *C. javanica* pelos métodos DPPH e FRAP.



Os compostos reína, engeletina e afzelina não apresentaram atividade antioxidante pelo método DPPH. Os valores marcados com um asterisco (*) indicam diferenças estatisticamente significativas em relação ao controle positivo ($p < 0,05$). Fonte: a autora

Em relação aos compostos isolados, apenas o canferol apresentou capacidade antioxidante pelo método DPPH ($94,5 \pm 0,7\%$). Pelo método FRAP, os compostos apresentaram baixa capacidade antioxidante em comparação ao padrão de quercetina, exibindo valores de $54,2 \pm 2,4$ a $155,8 \pm 2,4 \mu\text{mol Trolox eq/L}$ (Figura 147). O composto engeletina apresentou a maior atividade antioxidante entre todos. A divergência entre os

resultados da atividade antioxidante das amostras testadas pelos métodos DPPH e FRAP é baseada nas diferenças nos mecanismos. O ensaio DPPH detecta as capacidades de transferência de hidrogênio e elétrons e o método FRAP avalia a capacidade de transferência de elétrons (Justino *et al.*, 2019).

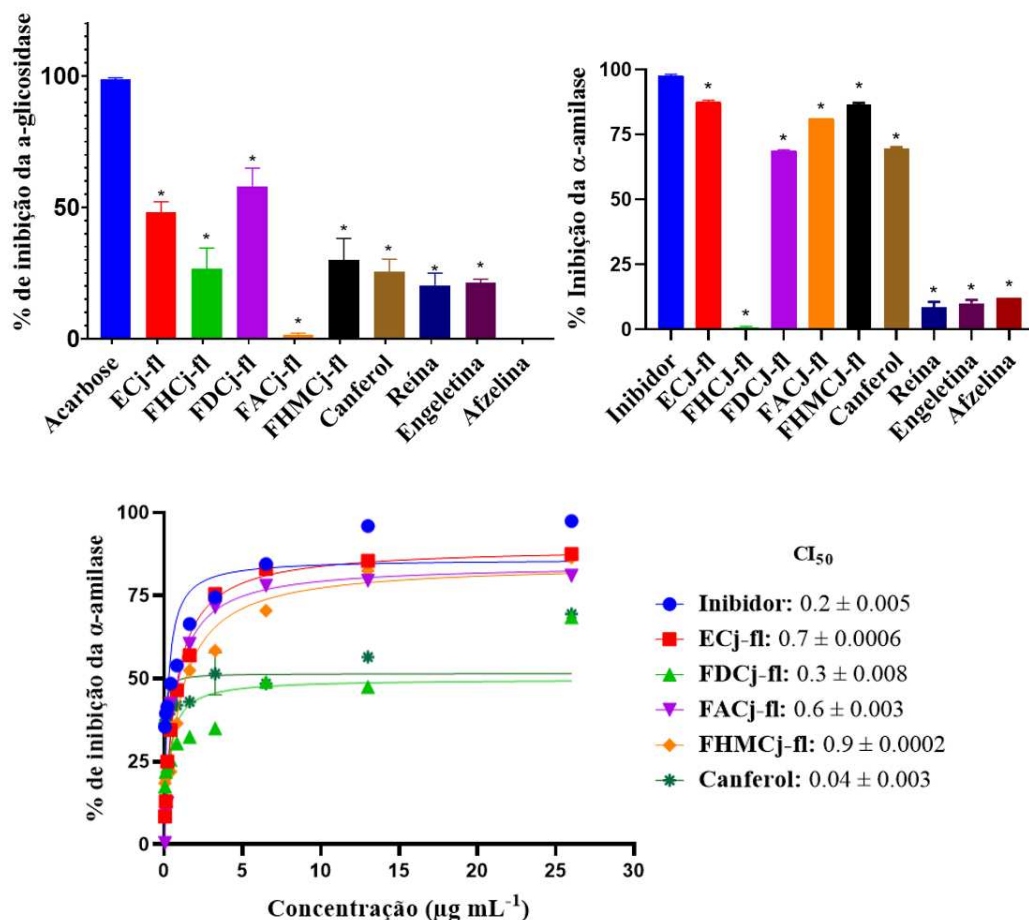
No método DPPH, a réina e demais compostos não apresentaram atividade antioxidante, o canferol foi o único composto ativo pois a unidade de açúcar tem um efeito supressor da atividade. O estresse oxidativo é uma das razões das complicações do diabetes, devido ao acúmulo de glicose e ácidos graxos nos tecidos e nas células pancreáticas, contribuindo com o aumento da produção de EROs. Os compostos antioxidantes como o canferol atuam neutralizando os radicais livres, reduzindo a peroxidação lipídica e protegendo proteínas e DNA contra danos oxidativos (Justino *et al.*, 2019; Silva *et al.*, 2019).

5.8.2.2 Avaliação da inibição das enzimas α -glicosidase e α -amilase

No ensaio de inibição da α -glicosidase, o ECj-fl inibiu em $48,1 \pm 4,0\%$ e a fração FDCj-fl exibiu um valor ligeiramente maior de $58,6 \pm 6,8\%$, indicando que o fracionamento do extrato aumentou a inibição da enzima. Entretanto, a inibição foi considerada mediana em comparação com o controle positivo acarbose ($98,6 \pm 0,6\%$). Os compostos canferol, réina e engeletina isolados de FDCj-fl apresentaram valores de inibição entre $20,3 \pm 4,6$ e $25,6 \pm 4,6\%$ e o composto afzelina não apresentou inibição enzimática. Isso indica que há um possível sinergismo entre esses compostos na fração FDCj-fl, o que aumenta a taxa de inibição enzimática. As demais frações FHCj-fl, FACj-fl e FHMCj-fl apresentaram valores de inibição da α -glicosidase de $33,2 \pm 0,0$, $1,76 \pm 0,3$ e $22,2 \pm 2,6\%$, respectivamente (Figura 148).

No ensaio de inibição da α -amilase, o ECj-fl, frações FDCj-fl, FACj-fl, FHCj-fl e o canferol inibiram a atividade da enzima com valores entre 69 e 88% a $10 \mu\text{g mL}^{-1}$. O ECj-fl apresentou IC_{50} de $0,7 \pm 0,0006 \mu\text{g mL}^{-1}$, e entre as frações, a mais ativa foi FDCj-fl, com IC_{50} de $0,3 \pm 0,008 \mu\text{g mL}^{-1}$, próximo ao valor obtido para o controle positivo triticum ($0,2 \pm 0,00 \mu\text{g mL}^{-1}$). Dos compostos isolados dessa fração, apenas o canferol teve seu IC_{50} calculado (inibição percentual superior a 60%), resultando em um valor de $0,04 \pm 0,003 \mu\text{g mL}^{-1}$, valor bem inferior ao IC_{50} do controle positivo triticum (Figura 148).

Figura 148 - Inibição das enzimas α -glicosidase e α -amilase do extrato etanólico, frações e compostos isolados de *C. javanica*.



Todas as frações foram diluídas em etanol a $5 \mu\text{g mL}^{-1}$ e diluídas em série para cada ensaio. Valores expressos como média $\pm$ erro padrão. Valores marcados com um asterisco (*) indicam diferenças estatisticamente significativas em comparação com o controle positivo ($p < 0,05$). Fonte: a autora

Os resultados dos ensaios enzimáticos indicam que *C. javanica* pode ser uma fonte promissora para o tratamento alternativo de DM2, em especial FDCj-fl e o canferol. As enzimas α -amilase e α -glicosidase estão envolvidas na quebra do amido e dos açúcares da dieta em glicose. O amido representa a principal fonte de energia na dieta humana. Antes de ser absorvido, o amido é hidrolisado sequencialmente pelas α -amilases salivares e pancreáticas na boca e no intestino delgado, respectivamente. Essas enzimas catalisam a hidrólise inicial do amido e de outros polímeros de carboidratos em oligômeros menores, como maltose e maltotriose, por meio da clivagem das ligações 1-4- α -D-glicosídicas (Ning *et al.*, 2019).

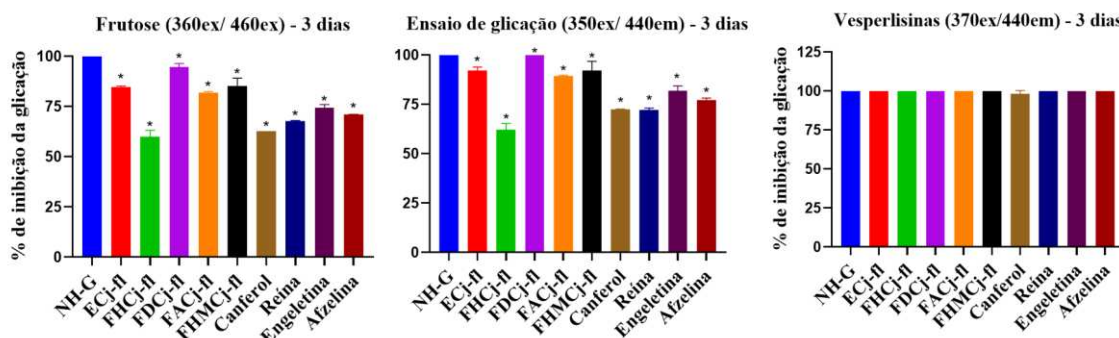
Uma vez que os sacarídeos parcialmente digeridos chegam ao intestino, eles são hidrolisados em oligossacarídeos menores pela amilase pancreática. Os produtos da α -amilase são posteriormente hidrolisados em unidades de glicose por enzimas

comumente conhecidas como α -glicosidases. A glicose é então absorvida da mucosa intestinal para a corrente sanguínea, levando à hiperglicemia pós-prandial (Proença *et al.*, 2021). As estruturas dos flavonoides contêm muitos grupos fenólicos, o que pode ter contribuído para a inibição enzimática, uma vez que a diminuição da atividade enzimática depende do número e da posição dos grupos hidroxila dos compostos fenólicos (Rohn, Rawel e Kroll, 2002; Justino *et al.*, 2016). O canferol tem sido estudado para o tratamento do diabetes, demonstrando vários mecanismos farmacológicos para o tratamento da doença, como efeitos hipoglicemiantes multidirecionais e proteção das células β pancreáticas (Yang *et al.*, 2022).

5.8.2.3 Avaliação da atividade antiglicante

O ECj-fl, frações e compostos isolados de *C. javanica* foram avaliados quanto ao seu efeito de inibição da glicação usando frutose, ensaio de glicação e verperlisinas como agentes glicantes por 3 dias (Figura 149). O controle positivo, aminoguanidina (NH-G), apresentou uma inibição de $100,0 \pm 0,0\%$. Em relação à frutose, o ECj-fl apresentou um valor de inibição superior a 80%. FDCj-fl apresentou o maior efeito inibitório entre as frações, com valor de $94,6 \pm 1,8\%$, seguido por FHMCj-fl ($85,3 \pm 3,8\%$), FACj-fl ($81,9 \pm 0,5\%$) e a fração FHCj-fl ($59,9 \pm 3,2\%$). Os compostos isolados demonstraram atividade ligeiramente menos pronunciada do que FDCj-fl, com valores de inibição entre 60 e 75%. Em relação ao ensaio de glicação, a fração FDCj-fl foi a mais ativa ($100,0 \pm 0,0\%$), superior ao extrato ($92,0 \pm 1,8$) e com inibição igual à NH-G, sendo este valor estatisticamente significativo em comparação ao controle positivo. Todos os compostos isolados desta fração apresentaram valores de inibição entre 72 e 81%. As demais frações apresentaram atividade antiglicação com valores entre 62 e 92%. No ensaio com o agente glicante verperlisinas, todas as amostras apresentaram inibição dos produtos de glicação acima de 98% (Figura 146).

Figura 149 – Atividade antiglicante do extrato, das frações e dos compostos isolados das flores de *C. javanica*.



Os valores marcados com asterisco (*) indicam diferenças estatisticamente significativas em relação ao controle positivo ($p < 0,05$). Fonte: a autora.

A atividade antiglicante do EE, frações e compostos isolados de *C. javanica* foi correlacionada à presença de compostos fenólicos. A maioria dos compostos fenólicos, como flavonoides e antraquinonas, é capaz de inibir o processo de glicação. Estudos envolvendo espécies vegetais e atividade antiglicante indicam uma relação entre a capacidade de inibir a formação de produtos de glicação e a presença dessas classes de compostos em extratos e frações (Khangholi *et al.*, 2016; Silva *et al.*, 2019). Isso sugere que os compostos isolados da fração mais ativa (FDCj-fl) mantêm significativa capacidade antiglicante.

Os resultados obtidos demonstram que *C. javanica* possui significativo potencial antidiabético, evidenciado pela inibição enzimática contra α -amilase e α -glicosidase, bem como pela alta inibição da formação de produtos finais de glicação. Este estudo buscou validar o uso tradicional da espécie no tratamento do diabetes e contribuir para o conhecimento químico e biológico de *C. javanica*.

6 CONCLUSÃO

A triagem fitoquímica por CCD utilizando reveladores químicos nos extratos etanólicos (EE) e frações detectou uma variedade de classes de metabólitos especiais, como flavonoides, proantocianidinas, ácidos graxos, compostos fenólicos e antraquinonas, sendo os EE e frações mais polares das espécies *S. rugosa* e *S. velutina* ricas em flavonoides e proantocianidinas,

Os nove extratos das espécies de *Cassia* e *Senna* foram analisados por CLUE-IES-EM/EM nos modos negativo e positivo na tentativa de identificar os compostos presentes nestas amostras. Foram anotados flavonoides, proantocianidinas e uma antraquinona, entre outras classes de compostos. Flavonoides como (*epi*)-catequina, galocatequina e canferol bem como seus derivados glicosilados foram identificados na maioria dos extratos.

Dentre as seis espécies avaliadas, *S. rugosa* e *S. velutina* foram as mais promissoras no ensaio antifúngico contra leveduras causadoras de candidíase (*C. albicans*, *C. glabrata* e *C. tropicalis*). As frações e acetato de etila das flores e das folhas de *S. velutina* foram as mais ativas, com CIM de $1,46 \mu\text{g mL}^{-1}$ contra *C. glabrata*, valor próximo ao controle positivo anfotericina B (CIM $0,5\text{--}1,0 \mu\text{g mL}^{-1}$). O ensaio citotóxico contra células HeLa indicou que estas frações apresentaram viabilidade celular superior a 75% e foram atóxicas nas menores concentrações ($6,25$ a $0,195 \mu\text{g mL}^{-1}$), com valores de IS positivos, indicando seletividade para os microrganismos. Devido ao menor valor de CIM, a fração em acetato de etila das flores de *S. velutina* (FASv-fl) foi selecionada para o estudo químico. A análise por CLUE-IES-EM/EM dessa fração identificou que esta é rica em proantocianidinas dímeras e trímeras.

O fracionamento de FACj-fl permitiu o isolamento das proantocianidinas (*ent*)-cassiaflavana-galocatequina (**A**), uma mistura de atropoisômeros de (*ent*)-cassiaflavana-(*epi*)-catequina em **B** e **C** e (*ent*)-cassiaflavana-(*ent*)-cassiaflavana-catequina (**D**). No ensaio da atividade anti-*Candida*, realizados com esses compostos, os atropoisômeros em **C** apresentaram o menor valor de CIM frente a *C. glabrata* ($1,95 \mu\text{g mL}^{-1}$). Os resultados obtidos demonstram o potencial antifúngico significativo da FASv-fl, especialmente frente a *C. glabrata*, e indicam que a atividade observada pode decorrer tanto da presença de um composto majoritário em **C** quanto do sinergismo entre os constituintes químicos da fração. Além disso, os resultados obtidos corroboram o uso

tradicional de *Senna* na medicina popular para o tratamento de infecções bacterianas e fúngicas. Este é o primeiro estudo antimicrobiano em *S. velutina* visando o isolamento de compostos bioativos. Esta espécie é promissora e não tóxica para o desenvolvimento de agentes antifúngicos para o tratamento da candidíase, ainda que seus atropoisômeros precisem ser separados e caracterizados de maneira inequívoca para realização de novos ensaios.

C. javanica é uma espécie conhecida pelo uso tradicional no tratamento do diabetes, por esta razão foi avaliada através de ensaios de inibição enzimática de α -amilase e α -glicosidase e antiglicação para determinar o potencial antidiabético da espécie. A fração FDCj-fl de *C. javanica* destacou-se por sua pronunciada atividade, levando ao isolamento de quatro compostos bioativos: canferol (**E**), reína (**F**), engeletina (**G**) e afzelina (**H**), que apresentaram resultados promissores nos ensaios realizados de antiglicação. O canferol foi o composto mais potente ($0,04 \pm 0,003 \mu\text{g mL}^{-1}$) na inibição da α -amilase, apresentando valor de IC_{50} menor que o observado para o controle positivo (triticum, $\text{IC}_{50} 0,2 \pm 0,0 \mu\text{g mL}^{-1}$). Os resultados obtidos reforçam o potencial da planta como fonte de moléculas bioativas e podem inspirar futuras pesquisas visando o desenvolvimento de medicamentos ou fitoterápicos para o controle do diabetes.

REFERÊNCIAS

- ABDULRAZAK, N.; ASIYA, U.I.; USMAN, N. D.; UNATA, I. M.; FARIDA, A. Anti-plasmodial activity of ethanolic extract of root and stem bark of *Cassia sieberiana* DC on mice. **Journal of Intercultural Ethnopharmacology**, v. 2, n. 4, p. 96–101, 2015. DOI: <https://doi.org/10.0.21.79/jice.20141231014333>
- ABU-REIDAH, I. M.; ALI-SHTAYEH, M., JAMOUS, R. M.; ARRÉZ-ROMÁN, D.; SEGURA-CARRETERO, A. Comprehensive metabolite profiling of *Arum palaestinum* (Araceae) leaves by using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Food Research International**, v. 70, p. 74–86, 2015a. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2015.01.023>
- ABU-REIDAH, I. M.; ALI-SHTAYEH, M., JAMOUS, R. M.; ARRÉZ-ROMÁN, D.; SEGURA-CARRETERO, A. HPLC-DAD-ESI-MS/MS screening of bioactive components from *Rhus coriaria* L. (Sumac) fruits. **Food Research**, v. 166, p. 179–191, 2015b. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.06.011>
- Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2021/confira-dados-mundiais-sobre-resistencia-microbiana> 2022 (Acesso: 18 julho. 2023).
- AGRA, M. F.; FREITAS, P. F.; BARBOSA-FILHO, J. M. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 1, p. 114–140, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2007000100021>
- AHMAD, S.; HASSAN, A.; REHMAN, T.; BASIT, A.; TAHIR, A.; ARSHAD M. A. *In vitro* bioactivity of extracts from seeds of *Cassia absus* L. growing in Pakistan. **Journal of Herbal Medicine**, v. 16, p. 1–5, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.hermed.2019.100258>
- AL-HADARI, R. A.; AL-OQAIL, M. M. New benzoic acid derivatives from *Cassia italica* growing in Saudi Arabia and their antioxidant activity. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 28, p. 1112–1117, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2020.07.012>
- ALI, M. Y.; PARK, S.; CHANG, M. Phytochemistry, Ethnopharmacological Uses, Biological Activities, and Therapeutic Applications of *Cassia obtusifolia* L.: A Comprehensive Review. **Molecules**, v. 26, n. 6252, p. 1–24, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules26206252>
- ALMEIDA, M. P. O.; MOTA, C. M.; MINEO, T. W. P.; FERRO, E. A. V.; BARBOSA, B. F.; SILVA, N. M. Heme oxygenase-1 induction in human BeWo trophoblast cells decreases *Toxoplasma gondii* proliferation in association with the upregulation of p38 MAPK phosphorylation and IL-6 production, **Frontiers in Microbiology**, v. 12, p. 1–14, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.659028>

ALVES, C. T.; FERREIRA, I. C. F. R.; BARROS, L.; SILVA, S.; AZEREDO, J.; HENRIQUES, M. Antifungal activity of phenolic compounds identified in flowers from North Eastern Portugal against *Candida* species. **Future Microbiology**, v. 9, n. 2, p. 139–146, 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.2217/FMB.13.14>

AMBADIANG, M. M. M.; ATONTSA, B. C. K.; TANKEO, S. B.; NAYIM, P.; WAMBA, B. E. N.; BITCHANGO, G. T. M.; MPETGA, J. D. S.; PENLAP, V. B.; KUETE, V. Bark extract of *Cassia sieberiana* DC. (Caesalpiniaceae) displayed good antibacterial activity against MDR gram-negative phenotypes in the presence of phenylalanine-arginine β -naphthylamide. **Complementary Medicine and Therapies**, v. 20, n. 342, p. 1–11, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12906-020-03148-3>

ANDRADE-SIERRA, J.; PAZARIN-VILLASEÑOR, L.; YANOWSKY-ESCATELL, F.; DIAZ-DE LA CRUZ, L.; GARCIA-SANCHEZ, A.; CARDONA-MUÑOZ, E.; MUNGUÍA-GALAVIZ, F.; ALBA-RAZO, A.; MIRANDA-DIA, A. The influence of the severity of early chronic kidney disease on oxidative stress in patients with and without type 2 diabetes mellitus. **International Journal of Molecular Science**, v. 23, n. 11196, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms231911196>

ANOUAR, E. H.; OSMAN, C. P.; WEBER, J. F.; ISMAIL, N. H. UV/Visible spectra of a series of natural and synthesised anthraquinones: experimental and quantum chemical approaches. **SpringerPlus**, v. 3, n. 233, p. 1–12, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1186/2193-1801-3-233>

ARAÚJO, N. M. S.; DIAS, L. P.; COSTA, H. P. S.; SOUSA, D. O. B.; VASCONCELOS, I. M.; MORAIS, G. A.; OLIVEIRA, J. T. A. CITI, a Kunitz trypsin inhibitor purified from *Cassia leiandra* Benth. seeds, exerts a candidicidal effect on *Candida albicans* by inducing oxidative stress and necrosis. **BBA- Biomembranes**, v. 1861, p. 1–12, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2019.183032>

ARDILA, C.M.; GRANADA, M. I.; GUZMÁN, I. C. Antibiotic resistance of subgingival species in chronic periodontitis patients. **Journal of Periodontal Research**, v. 45, p. 557–563, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1600-0765.2010.01274.x>

ARULSELVAN, P.; FARD, M. T.; TAN, W. S.; GOTHAI, S.; FAKURAZI, S.; NORHAIZAN, M. E.; KUMAR, S. S. Role of Antioxidants and Natural Products in Inflammation. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, p. 1–15, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1155/2016/5276130>

BAJARACHARYA, G. B.; PAUDEL, M.; RAJENDRA, K. C. Insight into the structure elucidation of flavonoids through UV-Visible spectral analysis of quercetin derivatives using shift reagents. **Journal of Nepal Chemical Society**, v. 37, p. 55–64, 2017. DOI: <https://doi.org/10.3126/jncs.v37i0.32147>

BESSA, N. G. F.; BORGES, J. C. M.; BESERRA, F. P.; CARVALHO, R. H. A.; PEREIRA, M. A. B.; FAGUNDES, R.; CAMPOS, S. L.; RIBEIRO, L. U.; QUIRINO,

M. S.; CHAGAS, A. F. J.; ALVES, A. Prospecção fitoquímica preliminar de plantas nativas do cerrado de uso popular medicinal pela comunidade rural do assentamento vale verde – Tocantins. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, v. 15, n. 4, p. 692–701, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1516-05722013000500010>

BHALODIA, N. R.; NARIYA, P. B.; ACHARYA, R. N.; SHUKLA, V. J. *In vitro* antibacterial and antifungal activities of *Cassia fistula* Linn. fruit pulp extracts. **Pharmacological Research**, v. 33, n. 1, p. 123–129, 2012. DOI: <https://doi.org/10.4103/0974-8520.100329>

BIOMAS. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE, 2019. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/geociencias/informacoes-ambientais/estudos-ambientais/15842-biomas.html>. Acesso em: 28 de jan. de 2023.

BOLZANI, V. S.; VALLI, M.; PIVATTO, M.; VIEGAS, C. J. Natural products from Brazilian biodiversity as a source of new models for medicinal chemistry. **Pure and Applied Chemistry**, v. 84, n. 9, p. 1837–1846, 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.1351/PAC-CON-12-01-11v>

BOLZANI, V. S.; GUNATILAKA, A. A. L.; KINGSTON, D. G. I. Bioactive and other piperidine alkaloids from *Cassia leptophylla*. **Tetrahedron**, v. 51, n. 21, p. 5929–5934, 1995. DOI: [https://doi.org/10.1016/0040-4020\(95\)00254-6](https://doi.org/10.1016/0040-4020(95)00254-6)

BORGES, C. A.; CASTANHEIRA, J. D.; ANDRADE, C. M. O.; MARTINS, L. H.; DIETRICH, L.; VIANNA, J. J. J. Diagnóstico e formas de tratamento da candidíase oral: uma revisão de literatura. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 15, p. 1–9, 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i15.23123>

BOSCOLO, O. H.; GALVÃO, M. N. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais em duas comunidades da região serrana do Rio de Janeiro, Brasil. **Fitos**, v. 13, n. 3, p. 212–231, 2019. DOI: <https://doi.org/10.32712/2446-4775.2019.829>

BRANDÃO, H. N.; MEIRA, I. A.; PIAGGE, C. S. L. D.; COSME-TRINDADE, D. C. C. Fitoterapia no tratamento da candidíase oral: Um protocolo de revisão de escopo. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 7, p. 1–6, 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i7.16653>

CACERES, A.; LOPEZ, B. R.; GIRON, M. A.; LOGEMANN, H. Plants used in Guatemala for the treatment of dermatophytic infections. Screening for antimycotic activity of 44 plant extracts. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 31, p. 263–276, 1991. DOI: [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(91\)90011-2](https://doi.org/10.1016/0378-8741(91)90011-2)

CALEFFI, G. S.; SILVA, A. J. M.; DAHER NETTO, C.; DOMINGOS, J. L. O.; SALUSTIANO, E. J.; COSTA, P. R. R. Flavonoids as Inspiration for the Design and Synthesis of New Antiproliferative, Antiparasitic and Antiviral Compounds: An

Account. **Journal of Brazilian Chemistry Society**, v. 35, n. 10, 2024.

DOI: <https://dx.doi.org/10.21577/0103-5053.20240056>

CAMPOS, J. F.; CASTRO, D. T. H.; DAMIÃO, M. J.; TORQUATO, H. F. V.; PAREDES-GAMERO, E. J.; CAROLLO, C. A.; ESTEVINHO, L. M.; SOUZA, K. P.; SANTOS, E. L. The chemical profile of *Senna velutina* leaves and their antioxidant and cytotoxic effects. **Oxidative Medicine an Cellular Longevity**, v. 2016, p. 1–12, 2016.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1155/2016/8405957>

CAESAR, L. K.; CECHE, N. B. Synergy and antagonism in natural product extracts: when 1 + 1 does not equal 2. **Natural Product Reports**, v. 36, n. 6, p. 869–888, 2019.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1039/c9np00011a>

CASE, R.J., FRANZBLAU, S.G., WANG, Y., CHO, S.H., SOEJARTO, D.D., PAULI, G.F., 2006 Ethnopharmacological evaluation of the informant consensus model on anti-tuberculosis claims among the Manus. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 106, p. 82–89. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.12.005>.

CASTRO, D. T. H.; CAMPOS, J. F.; DAMIÃO, M. J.; TORQUATO, H. F. V.; PAREDES-GAMERO, E. J.; CAROLLO, C. A.; RODRIGUES, E. G.; SOUZA, K. P.; SANTOS, E. L. Ethanolic extract of *Senna velutina* roots: chemical composition, *in vitro* and *in vivo* antitumor effects, and B16F10-Nex2 melanoma cell death mechanisms. **Oxidative Medicine an Cellular Longevity**, v. 2019, p. 1–14, 2019.

DOI: <https://doi.org/10.1155/2019/5719483>

CERNÁKOVÁ, L.; RODRIGUES, C. F. Microbial interactions and immunity response in oral *Candida* species. **Frontiers of Microbiology**, 2020.

DOI: <http://dx.doi.org/10.2217/fmb-2020-0113>

CHAERUNISAA, A. Y.; SUSILAWATI, Y.; MUHAJIMIN, M.; MILANDA, T.; HENDRIANI, R.; SUBARNAS, A. Antibacterial activity and subchronic toxicity of *Cassia fistula* L. barks in rats. **Toxicology Reports**, v. 7, p. 649–657, 2020.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2020.04.013>

CHAUDHURI, K.; CHAWLA, M. Anthraquinones and terpenoids from *Cassia javanica* leaves. **Journal of Natural Products**, v. 50, n. 6, p. 1183–1189, 1987. DOI: <https://doi.org/10.1021/np50054a035>

CHEDJOU, I. N.; NGOUAFONG, F. T.; TCHUENTE, T.; DZOYEM, J. P.; PONOU, B. K.; TEPONNO, R. B.; BARBONI, L.; TAPONDJOU, L. A. Siamoside A: a new C-glycosylated flavone from *Senna siamea* (Lam.) H. S. Irwin & Barneby (Caesalpiniaceae). **Natural Product Research**, 1–9, 2022.

DOI: <https://doi.org/10.1080/14786419.2022.2085699>

CHENG, H.; YANG, C.; LIN, T.; SHIEH, D.; LIN, C.; ent-Epiafzelechin-(4 α →8)-epiafzelechin extracted from *Cassia javanica* inhibits herpes simplex virus type 2

replication. **Journal of Medical Microbiology**, v. 55, p. 201–206, 2006.

DOI: <https://doi.org/10.1099/jmm.0.46110-0>

CHEWCHINDA, WUTHI-UDOMLERT, M.; GRITSANAPAN, W. HPLC quantitative analysis of rhein and antidermatophytic activity of *Cassia fistula* pod pulp extracts of various storage conditions. **BioMed Research International**, v. 2013, p. 1–6, 2013.

DOI: <https://doi.org/10.1155/2013/821295>

CLSI Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow anaerobically. CLSI Document M11-A7. 9. ed. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2007. 39 p.

CLSI. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeast. Ed. 4. CLSI document M27. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2017.

CLSL. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Ed. 11. CLSI Document M7. Wayne, PA: Clinical and Laboratory, 2018.

COETZEE, J., MCITEKA, L., MALAN, E., FERREIRA, D. Structure and synthesis of the first procassinidin dimers based on epicatechin, and gallo and epigallo-catechin.

Phytochemistry, v. 53, p. 785–804, 2000. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)00017-0](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)00017-0).

CÔRREA, L. L.; GUSHI, M. L. R.; FRIAS, A. C.; ANTUNES, J. L. F. Fatores associados à cárie dentária em adolescentes: um estudo transversal, estado de São Paulo, 2015. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 29, n. 5, p. 1–11, 2020.

DOI: <https://doi.org/10.1590/S1679-49742020000500007>

CSEKE, L. J.; KIRAKOSYAN, A.; KAUFMAN, P. B.; WARBER, S. L.; DUKE, J. A.; BRIELMANN, H. L. **Natural Products from Plants.** 2 ed. Boca Raton: CRC Press, 2006.

CUNHA, L. C. S.; MORAIS, S. A. L.; AQUINO, F. J. T.; CHANG, R.; OLIVEIRA, A.; MARTINS, M. M.; MARTINS, C. H.G.; SOUSA, L. C. F.; BARROS, T. T.; SILVA, C. V.; NASCIMENTO, E. A. Bioassay-guided fractionation and antimicrobial and cytotoxic activities of *Cassia bakeriana* extracts. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 27, p. 91–98, 2017.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjp.2016.08.002>

CUNHA, L. F.; COSTA, C.M.; BARROSO, P. R.; KATO, K. C.; OLIVEIRA, F.; MENDONÇA, C. V. F.; GRAEL, C. F. F.; GREGÓRIO, L. E.; CAMPOS, F. F.; OLIVEIRA, P. M.; OLIVEIRA, D. B. Phytochemical screening and biological assays of ethanolic leaf extract of *Senna rugosa*. **Rodriguésia**, v. 71, p. 1–15, 2020.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/2175-7860202071051>

DAISY, P.; BALASUBRAMANIAN, M. K.; RAJALAKSHMI, ELISA, J.; SELVARAJ, E. Insulin mimetic impact of catechin isolated from *Cassia fistula* on the glucose oxidation and molecular mechanisms of glucose uptake on streptozotocin-induced diabetic wistar rats. **Phytomedicine**, n. 17, p. 28–3, 2010.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2009.10.018>

DAMODARAN, S.; VENKATARAMAN, S. A study on the therapeutic efficacy of *Cassia alata*, Linn. leaf extract against *Pityriasis versicolor*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 42, p. 19–23, 1994. DOI: [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(94\)90018-3](https://doi.org/10.1016/0378-8741(94)90018-3)

DANIELSEN, K.; AKSNES, D. W.; FRANCIS, G. W. NMR study of some anthraquinones from rhubarb. **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 30, n. 4, p. 359–360, 1992. DOI: <https://doi.org/10.1002/mrc.1260300414>

DANTAS-MEDEIROS, R.; FURTADO, A. A.; ZANATTA, A. C.; TORRES-RÊGO, M.; LOURENÇO, E. M. G.; ALVES, J. S. F.; GALINARI, É.; ROCHA, H. A. O.; GUERRA, G. C. B.; VILEGAS, W.; ARAÚJO, T. A. S.; FERNANDES-PEDROSA, M. F.; ZUCOLOTTI, S. M. Mass spectrometry characterization of *Commiphora leptophloeos* leaf extract and preclinical evaluation of toxicity and anti-inflammatory potential effect. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 264, p. 1–11, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113229>.

DANUELLO, A.; ROMEIRO, N. C.; GIESEL, G. M.; PIVATTO, M.; VIEGAS, C. F.; VERLI, H.; BARREIRO, E. J.; FRAGA, C.A. M.; CASTRO, N. G.; BOLZANI, V. S. Molecular docking and molecular dynamic studies of semi-synthetic piperidine alkaloids as acetylcholinesterase inhibitors. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 23, n. 1, p. 163–170, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0103-50532012000100023>

DARENSKAYA, M. A.; KOLESNIKOVA, L. I.; KOLESNIKOV, S. I. Oxidative stress: pathogenetic role in diabetes mellitus and its complications and therapeutic approaches to correction. **Bulletin of Experimental Biology and Medicine**, v. 171, n. 2, 2021.

DOI: <https://doi.org/10.1007/s10517-021-05191-7>

DAWURUNG, C. J.; NGUYEN, M. T.; PENGON, J.; DOKLADDA, K., BUNYONG, R. R.; RATTANAJAK, R.; KAMCHONWONGPAINSAN, S., NGUYEN, P. T. M.; PYNE, S.G. Isolation of bioactive compounds from medicinal plants used in traditional medicine: rautandiol B, a potential lead compound against *Plasmodium falciparum*. **BMC Complementary Medicine and Therapies**, v. 21, n. 231, 2021.

DOI: <https://doi.org/10.1186/s12906-021-03406-y>

DE, B. **DADOS EPIDEMIOLÓGICOS Departamento de Saúde Pública**. [s.l: s.n.]. available at: https://diabetes.org.br/wp-content/uploads/2025/02/Dados-Epidemiologicos-SBD_comT1Dindex_2024_pdf.pdf>. Acesso em Março 2025.

DEMARQUE, D. P.; CROTTI, A. E. M.; VESSECCHI, R.; LOPES, J. L. C.; LOPES, N. P. Fragmentation reactions using electrospray ionization mass spectrometry: an important tool for the structural elucidation and characterization of synthetic and natural products. **Natural Product Reports**, v. 33, n. 3, p. 367–524, 2016.

DOI: <https://doi.org/10.1039/c5np00073d>

DESHPANDE, S. R.; NAIK, S. Evaluation of in vitro antimicrobial activity of extracts from *Cassia obtusifolia* L. and *Senna sophora* (L.) Roxb against pathogenic organisms. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v. 6, n. 1, p. 83–85, 2016.

DOI: <https://doi.org/10.7324/JAPS.2016.600114>

DEWICK, P. M. **Medicinal natural products - a biosynthetic approach**. 2 ed. Chichester: John Wiley & Sons Ltd, 2002.

DIAS, H. J.; MELO, I.; CROTTI, A. E. M. Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry as a Tool for the Structural Elucidation and Dereplication of Natural Products: An Overview. In: PRASAIN, J. (coord.). **Tandem Mass Spectrometry**. IntechOpen, 2012.

DURAIPANDIYAN, V.; IGNACIMUTHU, S; PAULRAJ, M. G. Antifeedant and larvicidal activities of rhein isolated from the flowers of *Cassia fistula* L. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 18, p. 129–133, 2011.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2010.12.009>

DURAIPANDIYAN, V.; BASKAR, A.A.; IGNACIMUTHU, S. MUTHUKUMAR, C.; AL-HARBI, N. A. Anticancer activity of rhein isolated from *Cassia fistula* L. flower. **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, p. 517–523, p. 2012.

DOI: [https://doi.org/10.1016/S2222-1808\(12\)60213-8](https://doi.org/10.1016/S2222-1808(12)60213-8)

ERASTO, P.; MAJIND, T. R. A Bioactive proanthocyanidins from the root bark of *Cassia abbreviatta*. **Journal of Biological Chemistry**, v. 5, n. 5, p. 170–2179, 2011.

DOI: <http://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v5i5.36>

EUSEBIO-ALPAPARA, K. M. V.; DOFITAS, B. L.; BALITA-CRISOSTOMO, C. L. A.; TIOLECO-VER, G. M. S.; JANDOC, L. E.; FREZ, M. L. *Senna (Cassia) alata* (Linn.) Roxb. leaf decoction as a treatment for *Tinea imbricata* in an indigenous tribe in Southern Philippines. **Mycoses**, p. 1–9, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1111/myc.13159>

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.

Fitos, v. 11, n. 1, p. 62–80, 2017. DOI: <https://doi.org/0.5935/2446-4775.20170007>

FERREIRA, D.; MARAIS, J. P. J.; COLEMAN, C. M.; SLADE, D. Proanthocyanidins: Chemistry and Biology. In: **Comprehensive Natural Products II**. LIU, H. W.; MANDER, L. (Org.). Elsevier: Oxford, UK, p. 605–661, 2010.

FRAGKIADAKIS, M.; MARIA THOMAIDI, M.; STERGIANNAKOS, T.; CHATZIORFANOU, E.; GAIDATZI, M.; MICHAILEDIS, A. B.; STOUMPOS, C.; NEOCHORITIS, C. G. High rotational barrier atropisomers. **Chemistry-A European Journal**, v. 30, p. 1–10, 2024. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/chem.202401461>

FERRERES, F.; MAGALHÃES, S. C. Q.; GILL-IZQUIERDO, A.; VALENTÃO, P.; CABRITA, A. R. J.; FONSECA, A. J. M.; ANDRADE, P. B. HPLC-DAD-ESI/MSⁿ profiling of phenolic compounds from *Lathyrus cicera* L. seeds. **Food Chemistry**. v. 214, p. 678–685, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.07.129>.

FOTSO, S. C.; TADJONG, A. T.; TSOPGNI, W. D. T.; LENTA, B. N.; NKENFOU, C. N.; WANSI, J. D.; TOZE, F. A. Chemical constituents and antimicrobial activities of some isolated compounds from the Cameroonian species of *Senna alata* (*Cassia alata* L. Roxb synonym, The plant list 2013). (Leguminosae). **Trends Phytochemical Research**, v. 5, n. 1, p. 37–43, 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.30495/tpr.2021.680494>

FRANCISCO, W.; PIVATTO, M.; DANUELLO, A.; REGASINI, L. O.; BACCINI, L. R.; YOUNG, M. C. M.; LOPES, N. P.; LOPES, J. L. C.; BOLZANI, V. S. Pyridine alkaloids from *Senna multijuga* as acetylcholinesterase inhibitors. **Journal of Natural Products**, v. 75, p. 408–413, 2012. DOI: <https://dx.doi.org/10.1021/np200814j>

FRANCO, R. R.; ALVES, V. H. M.; ZABISKY, L. F. R.; JUSTINO, A. B.; MARTINS, M. M.; SARAIVA, A. L.; GOULART, L. R.; ESPINDOLA, F. S. Antidiabetic potential of *Bauhinia forficata* Link leaves: a non-cytotoxic source of lipase and glycoside hydrolases inhibitors and molecules with antioxidant and antiglycation properties. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 123, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.109798>

FREITAS, T. T.; DANUELLO, A.; VIEGAS, C. J.; BOLZANI, V. S.; PIVATTO, M. Mass spectrometry for characterization of homologous piperidine alkaloids and their activity as acetylcholinesterase inhibitors. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 32, n. 15, p. 1303–1310, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1002/rcm.8172>

FREITAS, T. T.; NOVAIS, R. M.; SANTOS, I. A.; MARTINS, D. O. S.; DANUELLO, A.; BOLZANI, V. S.; JARDIM, A. C. G.; PIVATTO, M. In vitro antiviral activity of piperidine alkaloids from *Senna spectabilis* flowers on *Chikungunya* virus infection. **Pharmacological Reports**, v. 74, n. 4, p. 752–758, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1007/s43440-022-00381-0>

GÓMEZ-ROMERO, M.; SEGURA-CARRETERO, A.; GUTIÉRREZ, A. F.; Metabolite profiling and quantification of phenolic compounds in metanol extracts of tomato fruit. **Phytochemistry**, v. 71, p. 1848–1864, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2010.08.002>

GORKOM, B. A. P. V.; VRIES, E. G. E.; KARRENBELD, A.; KLEIBEUKER, H.
Review article: anthranoid laxatives and their potential carcinogenic effects.

Alimentary Pharmacology & Therapeutics, v. 13, p. 443–452, 1999.

DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2036.1999.00468.x>

GOU, B.; LV, K.; HU, Y.; DU, J.; LV, Y. Study on optical properties and biological activity of proanthocyanidins at different pH and alkalinit. **Earth and Environmental Science**, v. 706, p. 1–6, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1088/1755-1315/706/1/012040>

GU, L.; KELM, M.A.; HAMMERSTONE, J.F.; ZHANG, Z.; BEECHER, G.; HOLDEN, J.; HAYTOWITZ, D.; PRIOR, R.L. Liquid chromatographic/electrospray ionization mass spectrometric studies of proanthocyanidins in foods. **Journal of Mass Spectrometry**, v. 38, n. 12, p. 1272–1280, 2003.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/jms.541>

GUPTA, S.; SHARMA, S. B.; SINGH, U. R.; BANSAL, S. K. Salutory effect of *Cassia auriculata* L. leaves on hyperglycemia induced atherosclerotic environment in streptozotocin rats. **Cardiovascular Toxicology**, v. 11, p. 308–315, 2011.

DOI: <https://doi.org/10.1007/s12012-011>

HALEEM, M. A.; UL-AIN, Q.; SAADIQ, M.; IQBAL, M.; GULAB, H.; ALI, S.; KHAN, S. Probing the chemical constituents of *Cassia javanica* and its in vitro analyses as a potent drug. **Royal Society Open Science**, v. 9, n. 211626, p. 1–9, 2022.

DOI: <https://doi.org/10.1098/rsos.211626>

HASSAN, Y.; CHEW, S. Y.; THAN, L. T. *Candida glabrata*: Pathogenicity and Resistance Mechanisms for Adaptation and Survival. **Journal of Fungi**, v. 7, n. 667, p. 1–18, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/jof7080667>

HATANO, T.; YAMASHITA, A.; HASHIMOTO, T.; ITO, H.; KUBO, N.; YOSHIYAMA, M.; SHIMURA, S.; ITOH, Y.; OKUDA, T.; YOSHIDA, T. Flavan dimers with lipase inhibitory activity from *Cassia nomame*. **Phytochemistry**, v. 46, n. 5. 1997. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(97\)00367-1](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(97)00367-1)

HATANO, T.; UEBAYASHI, H.; ITO, H.; SHIOTA, S.; TSUCHIYA, T.; YOSHIDA, T. Phenolic constituents of *Cassia* seeds and antibacterial effect of some naphthalenes and anthraquinones on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 47, n. 8, p. 1121–1127, 1999.

DOI: <https://doi.org/10.1248/cpb.47.1121>

HAZNI, H.; AHMAD, N.; HITOTSUYANAGI, Y.; TAKEYA, K.; CHOO, C. Phytochemical constituents from *Cassia alata* with inhibition against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). **Planta Medica**, v. 14, n. 15, p. 1802–1805, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1055/s-0028-1088340>

HEGAZI, N. M.; HASHIM, A. N. Grandisin, 2-methoxy 6,7,2',6'-tetrahydroxy flavanone 6-O-glucoside, from *Cassia grandis* leaves - antioxidant and cytotoxic activities. **Pharmazie**, v. 71, p. 544–547, 2016.

DOI: <https://doi.org/10.1691/ph.2016.6634>

HOSSAIN, M.; MONDAL, M.; HOSSAIN, P.; UDDIN, S.; UDDIM N.; HASAN, M.; HOSSAIN, S.; ISLAM, M. *In vitro* antioxidant, brine shrimp lethality and antimicrobial activities of methanol and petroleum ether extracts of *Cassia renigera* fruit.

Food Measure, v. 9 p. 68–75, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11694-014-9211-6>

HOLETZ, F. B.; PESSINI, G. L.; SANCHES, N. R.; CORTEZ, A. G.; NAKAMURA, C. V.; DIAS, B. P. F. Screening of some plants used in the brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, n. 7, p. 1027–1031, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1590/s0074-02762002000700017>

HOU, J.; GU, Y.; ZHAO, S.; HOU, M.; WANG, S.; ZHANG, Y.; QIAO, Y.; LI, X. Anti-inflammatory effects of aurantio-obtusin from seed of *Cassia obtusifolia* L. through modulation of the NF-κB pathway. **Molecules**, v. 23, p. 1–15, 2018.

DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules2312309>

HUANG, H.; CHENG, Z.; SHI, H.; XIN, W.; WANG, T. T. Y.; YU, L. Isolation and characterization of two flavonoids, Engeletin and Astilbin, from the leaves of *Engelhardia roxburghiana* and their potential anti-inflammatory properties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, p. 4562–4569, 2011.

DOI: <https://doi.org/10.1021/jf2002969>

IMRAN, M.; SALEHI, B.; SHARIFI-RAD, J.; GONDAL, T. A.; SAEED, F.; IMRAN, A.; SHAHBAZ, M.; FOKOU, P. V. T.; ARSHAD, M. U.; KHAN, H.; GUERREIRO, S. G.; MARTINS, N.; ESTEVINHO, L. M. Kaempferol: a key emphasis to its anticancer Potential. **Molecules**, v. 24, n. 12, p. 2–16, 2019.

DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules24122277>

INCORPORAÇÃO DE FITOTERÁPICOS NO SUS. **Ministério da Saúde**, 2024.

Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/composicao/sectics/plantas-medicinais-e-fitoterapicos/plantas-medicinais-e-fitoterapicos-no-sus/incorporacoes-no-sus>. Acesso em: 05 de mar. de 2025.

IRSHAD, M. D.; SHREAZ, S.; MANZOOR, N.; KHAN, L. A.; RIZVI, M. M.A. Anticandidal activity of *Cassia fistula* and its effect on ergosterol biosynthesis

Pharmaceutical Biology, v. 49, n.7, p. 727–733, 2011.

DOI: <http://dx.doi.org/10.3109/13880209.2010.544318>

JANG, D. S.; LEE, G. Y.; KIM, Y.S.; LEE, Y.; KIM, C.; YOO, J. L.; KIM, J. S.

Anthraquinones from the Seeds of *Cassia tora* with Inhibitory Activity on Protein Glycation and Aldose Reductase. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 30, n. 11, p. 2207–2210, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1248/bpb.30.2207>

- JERUTO, P.; ARAMA, P. F.; ANYANGO, B.; AKENGA, T.; NYUNJA, R.; KHASABULI, D. In vitro antifungal activity of methanolic extracts of different *Senna didymobotrya* (Fresen.) H.S. Irwin & Barneby plant parts. **African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines**, v. 13, n. 6, p. 168–174, 2016. DOI: <https://doi.org/10.21010/ajtcam.v13i6.24>
- JIBRIL, S.; BASAR, N.; SIRAT, H. M.; WAHAB, R. A.; MAHAT, N. A.; NAHAR, L.; SARKER, S. D. Application of Box–Behnken design for ultrasound-assisted extraction and recycling preparative HPLC for isolation of anthraquinones from *Cassia singueana*. **Phytochemical Analysis**, p. 1–9, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1002/pca.2795>
- JOTHY, S. L.; ZAKARIA, Z.; CHEN, Y.; LAU, Y. L.; LATHA, L. Y.; SASIDHARAN, S. Acute oral toxicity of methanolic seed extract of *Cassia fistula* in mice. **Molecules**, v. 16, p. 5268–5282, 2011. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules16065268>
- JUNG, A. H.; ALI, Y. M. D.; CHOI, J. S. Promising Inhibitory Effects of Anthraquinones, Naphthopyrone, and Naphthalene Glycosides, from *Cassia obtusifolia* on α -Glucosidase and Human Protein Tyrosine Phosphatases 1B. **Molecules**, v. 22, n. 28, 2017. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules22010028>
- JUSTINO, A. B.; PEREIRA, M. N.; VILELA, D. D.; PEIXOTO, L. G.; MARTINS, M. M.; TEIXEIRA, R. R.; MIRANDA, N. C.; SILVA, N. M.; SOUSA, R. M. F.; OLIVEIRA, A.; ESPINDOLA, F. S. Peel of araticum fruit (*Annona crassiflora* Mart.) as a source of antioxidante compounds with α -amylase, α -glucosidase and glycation inhibitory activities. **Bioorganic Chemistry**, v. 69, p. 167–182, 2016. DOI: <https://dx.doi.org/10.1016/j.bioorg.2016.11.001>
- JUSTINO, A. B.; FRANCO, R. R.; SILVA, H. C. G.; SARAIVA, A. L.; SOUSA, R. M. F.; ESPINDOLA, F. S. procyanidins of *Annona crassiflora* fruit peel inhibited glycation, lipid peroxidation and protein-bound carbonyls, with protective effects on glycated catalase. **Scientific Reports**, 9, 19183, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-55779-3>
- KAUR, S.; SHARMA, D.; SINGH, A. P.; KAUR, S. Amelioration of hepatic function, oxidative stress, and histopathologic damages by *Cassia fistula* L. fraction in thioacetamide-induced liver toxicity. **Environmental Science and Pollution Research**, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11356-019-06158-y>
- KAUR, S.; KUMAR, A.; THAKUR, S.; KUMAR, K.; SHARMA, R.; SHARMA, A.; SINGH, P.; SHARMA, U.; KUMAR, S.; LANDI, M.; BRESTIC, M.; KAUR, S. Antioxidant, antiproliferative and apoptosis inducing efficacy of fractions from *Cassia fistula* L. leaves. **Antioxidants**, v. 9, n. 173, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox9020173>
- KHADER, S.Z.; AHMED, S. Z.; BALASUBRAMANIAN, S. K.; ARUNACHALAM, T. K.; KANNAPPAN, G.; MAHBOOB, M. R.; PONMURUGAN, P.; RAMESH, K.

Modulatory effect of dianthrone rich alcoholic flower extract of *Cassia auriculata* L. on experimental diabetes. **Integrative Medicine Research**, p. 1–10, 2017.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.imr.2017.01.007>

KHANGHOLI, S. ; MAJID, F. A. ; JABBAR, N. ; FAREDIAH, A. ; AZIZ, R. The mechanisms of inhibition of advanced glycation end products formation through polyphenols in hyperglycemic condition. **Planta Medica**, v. 82, p. 32–45, 2016.

DOI: <https://doi.org/10.1055/s-0035-1558086>

KHARAT, A. R.; KHARAT, K.; JADHAV, M.; MAKHIJA, S. J. Antihyperglycemic, antihyperlipidemic and antioxidative evaluation of compounds from *Senna sophora* (L.) Roxb in streptozotocin-induced diabetic rats. **Natural Product Research**, v. 33, n. 4,

2017. DOI: <https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1399389>

KHURM, M.; WANG, X.; ZHANG.; HUSSAIN, S. N.; QAISAR, M. N.; HAYAT, K.; SAQIB, F.; ZHANG, X.; ZHAN, G.; GUO, Z. The genus *Cassia* L.

Ethnopharmacological and phytochemical overview. **Phytotherapy Research**, v. 35, n. 5, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1002/ptr.6954>

KIM, S.; KIM, K.; KIM, D.; KIM, M.; JEON, Y.; KIM, S.; JUNG, H.; JANG, H.; LEE, B.; CHUNG, W.; HONG, S.; CHUNG, S.; UM, J. The Protective Effect of *Cassia obtusifolia* on DSS-Induced Colitis. **The American Journal of Chinese Medicine**, v. 39, n. 3, p. 567–577, 2011. DOI : <https://doi.org/10.1142/S0192415X11009032>

KIRABO, I.; MABIKI, F. P.; MDEGELA, R. H.; OBBO, C. J. D. *In vitro* antibacterial potential of extracts of *Sterculia africana*, *Acacia sieberiana*, and *Cassia abbreviata* ssp. *abbreviata* used by yellow baboons (*Papio cynocephalus*) for possible self-medication in Mikumi National Park, Tanzania. **International Journal of Zoology**, p. 1–6, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1155/2018/9407962>

KONISHI, T.; NAITOU, K.; KADOWAKI, S.; TAKAHARA, Y.; YAMAMOTO, K. Anti-clastogenic ingredients in *Cassia nomame* extract. **BioFactors**, v. 22, p. 99–102, 2004. DOI: [https://doi.org/0951-6433/04/\\$17.00](https://doi.org/0951-6433/04/$17.00)

KUMAR, V.; ROY, B. K. Population authentication of the traditional medicinal plant *Cassia tora* L. based on ISSR markers and FTIR analysis. **Scientific Reports**, v. 8, n. 10714, p. 1–11, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-29114-1>

LACERDA, R. B. M.; FREITAS, T. R.; MARTINS, M. M.; TEIXEIRA, T. L.; SILVA, C. V.; CANDIDO, P. A. Isolation, leishmanicidal evaluation and molecular docking simulations of piperidine alkaloids from *Senna spectabilis*. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 26, p. 5816–5823, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2018.10.032>

LEE, S. Y.; SO, Y.; SHIN, M. S.; CHO, J. Y.; LEE, J. Antibacterial effects of Afzelin isolated from *Cornus macrophylla* on *Pseudomonas aeruginosa*, a leading cause of

illness in immunocompromised individuals. **Molecules**, v. 19, p. 3173–3180, 2014. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules19033173>

LI, J.; WU, Y.; MA, Y.; BAI, L.; LI, Q.; ZHOU, X.; XU, P.; LI, X.; XUE, M. A UPLC-MS/MS method reveals the pharmacokinetics and metabolismo characteristics of kaempferol in rats under hypoxia. **Drug Metabolism and Pharmacokinetics**, v. 43, p. 1–8, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.dmpk.2021.100440>

LIM, K. T.; AMANAH, A.; CHEAR, N. J.; ZAHARI, Z.; ZAINUDDIN, Z.; ADENAN, M. I. Inhibitory effects of (+)-spectaline and iso-6-spectaline from *Senna spectabilis* on the growth and ultrastructure of human-infective species *Trypanosoma brucei* rhodesiense bloodstream form. **Experimental Parasitology**, v. 184, p. 57–66, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2017.11.007>

LÓPEZ-GARCÍA, J.; LEHOCKÝ, M.; HUMPOLÍCEK, P.; SÁHA, P. HaCaT keratinocytes response on antimicrobial atelocollagen substrates: extent of cytotoxicity, cell viability and proliferation. **Journal of Functional Biomaterials**, v. 5, n. 2, p. 43–57, 2014. DOI: <https://doi.org/10.3390/jfb5020043>

LUO, H.; GUO, R.; YU, X.; ZHANG, X.; LU, Y.; WU, H.; TANG, L.; WANG, Z.; Chemical constituents from the seeds of *Cassia obtusifolia* and their in vitro α -glucosidase inhibitory and antioxidant activities. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 29, p. 1576–1579, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2019.05.002>

LUZ, L. T. S.; GOMES, S. A.; SANDRI, M. C. M.; MELLO, F.; BOLZAN, J. A. Avaliação e otimização das condições de obtenção do ácido acetilsalicílico para fins didáticos. **Educación Química**, v. 30, n. 2, p. 54–69, 2019. DOI: <https://doi.org/10.22201/fq.18708404e.2019.2.67393>

MACEDO, E. M. S.; SILVA, A.; SILVA, M. G. V. Quimiodiversidade e propriedades biofarmacológicas de espécies de *Senna* nativas do Nordeste do Brasil. **Revista Virtual de Química**, v. 8, n. 1, p. 169–195, 2016. DOI: <https://doi.org/10.5935/1984-6835.20160012>

MACIEL, M. A. M.; GOMES, F. E. S.; CÓLUS, I. M. S.; GRYNBERG, N. F., ECHEVARRIA, A. Aspectos sobre produtos naturais na descoberta de novos agentes antitumorais e antimutagênicos. **Revista Fitos Eletrônica**, v. 3, n. 1, p. 38–59, 2013. DOI: <https://doi.org/0.32712/2446-4775.2007.66>

MAEMA, L. P.; POTGIETER, M.; MASEVHE, N. A.; SAMIE, A. Antimicrobial activity of selected plants against fungal species isolated from South African AIDS patients and their antagonococcal activity. **Journal of Complementary and Integrative Medicine**, p. 1–17, 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.1515/jcim-2019-0087>

MARCH, R.; MIAO, X. A fragmentation study of kaempferol using electrospray quadrupole time-of-flight mass spectrometry at high mass resolution. **International**

Journal of Mass Spectrometry, v. 231, p. 157–167, 2004.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijms.2003.10.00>

MEHTA, J. P.; PARMAR, P. H.; VADIA, S. H.; PATEL, M. K.; TRIPATHI, C. B. In-vitro antioxidant and in-vivo anti-inflammatory activities of aerial parts of *Cassia* species. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 10, p. 1654–1662, 2017.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.arabjc.2013.06.010>

MOHAMMED, H. A.; ABDEL-AZIZ, M. M.; HEGAZY, M. M. Anti-Oral Pathogens of *Tecoma stans* (L.) and *Cassia javanica* (L.) Flower Volatile Oils in Comparison with Chlorhexidine in Accordance with Their Folk Medicinal Uses. **Medicina**, v. 55, n. 301, p. 1–10, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/medicina55060301>

MOURA, A. C. S.; VILEGAS, W.; SANTOS, L. C. Identificação de alguns constituintes químicos de *Indigofera hirsuta* LINN. (Fabaceae) por CLAE-IES-EM (TOF) e avaliação da atividade antirradicalar. **Química Nova**, v. 34, n. 7, p. 1136–1140, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422011000700006>

MOURA, P. H. B.; BRANDT, W.; PORZEL, A.; MARTINS, R. C. C.; LEAL, I. C. R.; WESSJOHANN, L. A. Structural elucidation of an atropisomeric entcassiflavan-(4 β →8)-epicatechin isolated from *Dalbergia monetaria* L.f. based on NMR and ECD calculations in comparison to experimental data. **Molecules**, v. 27, n. 2512, 2022.

DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules27082512>

MORIMOTO, S., NONAKA, G., CHEN, R., NISHIOKA Isolation and structures of novel bi and triflavonoids from the leaves of *Cassia fistula* L. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 36, n. 1, p. 39–47, 1988.

DOI: <https://doi.org/10.1248/cpb.36.39>.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of Immunological Methods**, v. 65, n. 1, p. 55–63, 1983. DOI: [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(83\)90303-4](https://doi.org/10.1016/0022-1759(83)90303-4)

MULUBWA, M.; PRAKASH, S. Antimicrobial activity and potency of *Cassia abbreviata* oliv stem bark extracts. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 7, n. 6, p. 426–428, 2015. DOI :

<https://europub.co.uk/articles/-A-578735>

NAGAPPAN, R. Evaluation of aqueous and ethanol extract of bioactive medicinal plant, *Cassia didymobotrya* (Fresenius) Irwin & Barneby against immature stages of filarial vector, *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 2, n. 9, p. 707–711, 2012.

DOI: [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(12\)60214-7](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(12)60214-7)

NAM, J.; SEOL, D.; LEE, C.; WEE, G.; YANG, S.; PAN, C. Obtusifolin, an anthraquinone extracted from *Senna obtusifolia* (L.) H.S.Irwin & Barneby, reduces

inflammation in a mouse osteoarthritis Model. **Pharmaceuticals**, v. 14, n. 249, p. 1–9, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/ph14030249>

NARAYANAN, A. S.; RAJA, S. S. S.; PONMURUGAN, K.; KANDEKAR, S. C.; NATARAJASEENIVASAN, K.; MARIPANDI, A.; MANDEEL, Q. A. Antibacterial activity of selected medicinal plants against multiple antibiotic resistant uropathogens: a study from Kolli Hills, Tamil Nadu, India. **Beneficial Microbes**, v. 2, n. 3, p. 235–243, 2011. DOI: <https://doi.org/10.3920/BM2010.0033>

NASCIMENTO, M. N. G.; MARTINS, M. M.; CUNHA, L. C. S.; SANTOS, P. S.; GOULART, L. R.; SILVA, T. S.; MARTINS, C. H. G.; MORAIS, S. A. L.; PIVATTO, M. Antimicrobial and cytotoxic activities of *Senna* and *Cassia* species (Fabaceae) extracts. **Industrial Crops & Products**, v. 148, p. 1–11, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.112081>

NAYAK, B. K.; MUKILARASI, V.; NANDA, A. Antibacterial activity of leaf extract of *Cassia alata* separated by soxhlet extraction method. **Der Pharmacia Lettre**, v. 7, n. 4, p. 254–257, 2015.

NAYAN, S. I.; CHOWDHURY, F. I.; AKTER, N.; RAHMAN, M. M.; SELIM, S.; SAFFON, N.; KHAN, F.; SUBHAN, N.; HOSSAIN, M.; AHMED, K. S.; HOSSAIN, H.; HAQUE, M. A.; ALAM, M. A. Leaf powder supplementation of *Senna alexandrina* ameliorates oxidative stress, inflammation, and hepatic steatosis in high-fat diet-fed obese rats. **Plos One**, v. 16, n. 4, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0250261>

NEBOH, E. E.; UFELLE, S. A. Myeloprotective activity of crude methanolic leaf extract of *Cassia occidentalis* in cyclophosphamide-induced bone marrow suppression in Wistar rats. **Advanced Biomedical Research**, v.4, n. 5, p. 1–4, 2015. DOI: <https://doi.org/10.4103/2277-9175.148285>

NEVES, A. M.; MORAIS, S. M.; SANTOS, H. S.; FERREIRA, M. M.; CRUZ, R. C. V.; SOUZA, E. B.; ANDRADE, L. B. S.; FONTENELLE, R. O. S. Prospecção química, atividade antioxidante, anticolinesterásica e antifúngica de extratos etanólicos de espécies de *Senna* Mill. (Fabaceae). **Hoehnea**, v. 49, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1590/2236-8906-111/2020>

NEWMANN, D. J.; CRAGG, G. M.; Natural products as sources of new drugs over the nearly four decades from 01/1981 to 09/2019. **Journal of Natural Products**, v. 83, n. 3, p. 770–803. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.9b01285>

NIE, F., LIE, L., CUI, J., ZHAO, Y., ZHANG, D., ZHOU, D., WU, J., LI, B., WANG, T., LI, M., YAN, M. Oligomeric proanthocyanidins: an updated review of their natural sources, synthesis, and potentials. **Antioxidants**, v. 12, n. 1004, p. 1–21. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox12051004>

NG, L.; LAFONTAINE, P.; VANIER, M. Characterization of cigarette tobacco by direct electrospray ionization–ion trap mass spectrometry (ESI-ITMS) analysis of the aqueous extracts a novel and simple approach. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 52, p. 7251–7257, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf040203x>

NING, Z.; ZHAI, L.; HUANG, T.; PENG, J.; HU, D.; XIAO, H.; WEN, B.; LIN, C.; BIAN, Z. Identification of α -glucosidase inhibitors from *Cyclocarya paliurus* tea leaves 2 using UF-UPLC-QTOF-MSMS and molecular docking. **Food & Function**, v. 10, p. 1893–1902, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1039/C8FO01845F>

NVAU, J. B.; AJIBADE, S. O.; GRAY, A. I.; IGOLI, J. O. A novel benzofuro-(2,3-c)-7'-chromene from *Cassia sieberiana*. **Natural Product Research**, v. 35, n. 1, p. 1–7, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1080/14786419.2020.1719483>

O'BRIEN, J.; WILSON, I.; ORTON, T.; POGNAN, F. Investigation of the alamar blue (resazurin) fluorescent dye for the assessment of mammalian cell cytotoxicity. **European Journal of Biochemistry**, v. 267, n. 17, p. 5421–5426, 2000. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1432-1327.2000.01606.x>

OLADEJI, O. S.; ADELOWO, F. E.; OLUYORI, A. P. The genus *Senna* (Fabaceae): A review on its traditional uses, botany, phytochemistry, pharmacology and toxicology. **South African Journal of Botany**, v. 138, p. 1–32, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.11.017>

OLIVEIRA, D. M.; SILVA, T. F. R.; MARTINS, M. M.; MORAIS, S. A. L.; CHANG, R.; AQUINO, F. J. T. SILVA, C. V.; TEIXEIRA, T. L.; MARTINS, C. H. G.; MORAES, T. S.; CUNHA, L. C. S.; PIVATTO, M.; OLIVEIRA, A. Antifungal and cytotoxicity activities of *Banisteriopsis argyrophylla* leaves. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 70, p. 1541–1552, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1111/jphp.12996>

OLIVEIRA, A.; FERRISSE, T. M.; SILVA, M. G. V.; CAVALHEIRO, A. J.; FONTANA, C. R.; BRIGHENTI, F. L. *In vitro* Evaluation of Photodynamic Activity of Plant extracts from *Senna* Species against microorganisms of medical and dental interest. **Pharmaceutics**, v. 15, n. 181, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15010181>

OSMAN, S. M.; AYOUB, N. A.; HAFEZ, S. A.; IBRAHIM, H. A.; EL RAEY, M. A.; EL-EMAM, S. A. A.; SAADELDEEN, A. M. Aldose reductase inhibitor form *Cassia glauca*: A comparative study of cytotoxic activity with Ag nanoparticles (NPs) and molecular docking evaluation. **Plos One**, v. 15, n. 10, p. 1–24, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0240856>

OZAROWSKI, M.; PIASECKA, A.; PASZEL-JAWORSKA, A.; CHAVES, D. S. A.; ROMANIUK, A.; RYBCZYNSKA, M.; GRYSZCZYNSKA, A.; SAWIKOWSKA, A.; KACHLICKI, P.; MIKOLAJCZAK, P. L.; Seremak-Mrozikiewicz, A.; KLEJEWSKI, A.; THIEM, B. Comparison of bioactive compounds content in leaf extracts of

Passiflora incarnata, *P. caerulea* and *P. alata* and *in vitro* cytotoxic potential on leukemia cell lines. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 28, p. 179–191, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2018.01.006>

OTTO, R. B. D.; AMESO, S.; ONEGI, B. Assessment of antibacterial activity of crude leaf and root extracts of *Cassia alata* against *Neisseria gonorrhea*. **African Health Sciences**, v. 14, n. 4, p. 840–848, 2014. DOI: <https://doi.org/10.4314/ahs.v14i4.11>

PANDA, S. K.; PADHI, L. P.; MOHANTY, G. Antibacterial activities and phytochemical analysis of *Cassia fistula* (Linn.) leaf. **Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research**, v. 2, n. 1, p. 62–77, 2011. DOI: <https://doi.org/10.4103/2231-4040.79814>

PANG, X.; WANG, L.; ZHANG, Y.; KANG, L.; YU, H.; FAN, G.; HAN, L. New anthraquinone and eurotinone analogue from the seeds of *Senna obtusifolia* and their inhibitory effects on human organic anion transporters 1 and 3. **Natural Product Research**, v. 33, n. 23, p. 3409–3416, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1480621>

PANICHAYUPAKARANANT, P.; SAKUNPAK, A.; SAKUNPHUEAK, A.; Quantitative HPLC determination and extraction of anthraquinones in *Senna alata* leaves. **Journal of Chromatographic Science**, v. 47, p. 197–200, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1093/chromsci/47.3.197>

PANIGRAHI, G.; MAHESHWARI, R.; VELLAIKUMAR, S.; JAYAPRAKASH, S. P.; KUMARB, S.; PRABAKARAN, J. Preparative thin-layer chromatographic separation followed by identification of antifungal compound in *Cassia laevigata* by RP-HPLC and GC-MS. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 94, p. 308–315, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1002/jsfa.6259>

PEERZADA, Z.; KANHED, A. M.; DESAI, K. B. Effects of active compounds from *Cassia fistula* on quorum sensing mediated virulence and biofilm formation in *Pseudomonas aeruginosa*. **RSC Advances**, v. 12, p. 15196–15214, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1039/d1ra08351a>

PEIXOTO, J. V.; ROCHA, M. G.; NASCIMENTO, R. T. L.; MOREIRA, V. V. Kashiwabara TGB. Candidíase - uma revisão de literatura. **Brasilian Journal of Surgery and Clinical Research**, v. 8, n. 2, p. 75–82, 2014.

PINHEIRO, A. K.; GERON, V. L. M.; TERRA, A. T. J.; NUNES, J. S.; BRONDANI, F. M. M. Constipação intestinal: tratamento com fitoterápicos. **Revista Científica FAEMA**, v. 9, p. 559–564, 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.31072/rcf.v9ied esp.598>

PINTO, A. C.; SILVA, D. H. S.; BOLZANI, V. S.; LOPES, N. P.; EPIFANIO, R. A. Produtos naturais: atualidade, desafios e perspectivas. **Química Nova**, v. 25, n. 1, p. 45–61, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422002000800009>

PIVATTO, M.; CROTTI, A. E. M.; LOPES, N. P.; CASTRO-GAMBOA, I.; REZENDE, A.; VIEGAS, C. J.; YOUNG, M. C. M.; FURLAN, M.; BOLZANI, V. S. Electrospray ionization mass spectrometry screening of piperidine alkaloids from *Senna spectabilis* (Fabaceae) extracts: Fast identification of new constituents and co-metabolites. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 16, n. 6 B, p. 1431–1438, 2005. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-50532005000800023>

PIVATTO, M.; VIEGAS, C.; BOLZANI, V. S.; PIMENTEL, L. S. B.; CASTRO, N. G.; CABRAL, R. F.; COSTA, R. S.; FLOYD, C.; ROCHA, M. S.; YOUNG, M. C. M.; BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M. New selective acetylcholinesterase inhibitors designed from natural piperidine alkaloids. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 13, n. 13, p. 4184–4190, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2005.04.030>

PIVATTO, M.; BACCINI, L. R.; SHARMA, A.; NAKABASHI, M.; DANUELLO, A.; VIEGAS, C. J.; GARCIA, C. R. S.; BOLZANI, V. S. Antimalarial activity of piperidine alkaloids from *Senna spectabilis* and semisynthetic derivatives. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 25, n. 10. 2014. DOI: <https://doi.org/10.5935/0103-5053.20140195>

PROENÇA, C.; RIBEIRO, D.; FREITAS, M.; FERNANDES, E. Flavonoids as potential agents in the management of type 2 diabetes through the modulation of α -amylase and α -glucosidase activity: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 62, p. 3137–3207, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1862755>

PLANTAS MEDICINAIS E FITOTERÁPICOS. **Ministério da Saúde**, 2022.
Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/composicao/sectics/plantas-medicinais-e-fitoterapicos>. Acesso em: 05 de mar. de 2025.

PRADA, A. L.; AMADO, J. R.; KEITA, H.; ZAPATA, E. P.; CARVALHO, H.; LIMA, E. S.; SOUSA, T. P.; CARVALHO, J. C. T. *Cassia grandis* fruit extract reduces the blood glucose level in alloxan induced diabetic rats. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 103, p. 421–428, 2018.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.04.059>

PRADO, D. G.; JUSTINO, A. B.; SILVA, T. C.; MORAIS, S. A. L.; MARTNS, M. M.; SANTOS, P. S.; CUNHA, L. C. S.; SOUSA, R. M. F.; AQUINO, F. J. T.; ESPINDOLA, F. S.; OLIVEIRA, A. Phytochemical profiling by HPLC-ESI-MS/MS and *in vitro* investigation of the antidiabetic activity of *Cassia bakeriana* bark extract and fractions. **Journal of Mass Spectrometry**, v. 59, p. 1–12, 2024.
DOI: <https://doi.org/10.1002/jms.5099>

PURUSHOTHAM, K. N.; ANNEGOWDA, H. V.; SATHISH, N. K.; RAMESH, B.; MANSOR, S. M. Evaluation of phenolic content and antioxidant potency in various parts of *Cassia auriculata* L.: a traditionally valued plant. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v. 17, n. 1, p. 41–48, 2014.
DOI: <https://doi.org/10.3923/pjbs.2014.41.48>

RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA É AMEAÇA GLOBAL, DIZ OMS. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa**, 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2021/confira-dados-mundiais-sobre-resistencia-microbiana> Acesso em: 18, jul. de 2023.

RÍOS, J. L.; RECIO, M. C. Medicinal plants and antimicrobial activity. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 100, n. 1, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.04.025>

RODRIGUES, V. E. G.; CARVALHO, D. A. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais no domínio do Cerrado na região do Alto Rio Grande - Minas Gerais. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 25, n. 1, p. 102–123, 2001.

RODRIGUES, I. M. C.; SOUZA, A. P. S. F.; FERREIRA, F. A.; Estudo fitoquímico de *Senna alata* por duas metodologias. **Planta Daninha**, v. 27, n. 3, p. 507–513, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-83582009000300011>

ROHN, S.; RAWEL, H. M.; KROLL, J. Inhibitory Effects of Plant Phenols on the Activity of Selected Enzymes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 12, p. 3566–3571, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf011714b>

SAHU, J.; KOLEY, K. M.; SAHU, B. D.; Attribution of antibacterial and antioxidant activity of *Cassia tora* extract toward its growth promoting effect in broiler birds. **Veterinary World**, v. 10, n. 2, p. 221–226, 2017. DOI: <https://doi.org/10.14202/vetworld.2017.221-226>

SAKNA, S. T.; MOCAN, A.; SULTANI, H. N.; EL-FIKY, N. M.; WESSJOHANN, L. A.; FARAG, M. A. Metabolites profiling of *Ziziphus* leaf taxa via UHPLC/PDA/ESI-MS in relation to their biological activities. **Food Chemistry**, v. 293, p. 233–246, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.04.097>

SALAZAR, L.A.; MEDINA, F.; DONODO, F.; BARRIENTOS, L.; SANHUEZA, A. Acción Antimicrobiana in vitro de la Miel de Abejas sobre los Microorganismos Cariogénicos Estreptococos del Grupo *mutans*. **International Journal of Morphology**, v. 21, n. 1, p. 77–82, 2009. DOI: <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-95022009000100014>

SANTOS, A. R.; PINHEIRO, A. C.; SODERO, A. C.; CUNHA, A. S.; PADILHA, M. C.; SOUSA, P. M.; FONTES, S. P.; VELOSO, M. P.; FRAGA, C. A. M. Atropoisomerismo: o efeito da quiralidade axial em substâncias bioativas. **Química Nova**, v. 30, n. 1, p. 125–135, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000100024>

SANTOS, T. T.; OLIVEIRA, A. C. S.; QUEIROZ, R. T.; SILVA, J. S. O gênero *Senna* (Leguminosae-Caesalpinioideae) no município de Caetité, Bahia, Brasil. **Rodriguésia**, v. 71, p. 1–17, 2020a. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/2175-7860202071002>

SANTOS, K. P.; FURLAN, C. M. Substâncias fenólicas e seu potencial bioativo. In: SANTOS, D. Y. A. C. (coord.). **Biossíntese, funções e aplicações dos metabólitos secundários de plantas**. Curitiba: Appris, 2020b.

SAPTARINI, N. M.; MUSTARICHIE, R.; HASANUDDIN, S.; CORPUZ, M. J. T. *Cassia alata* L.: A Study of Antifungal Activity against *Malassezia furfur*, Identification of Major Compounds, and Molecular Docking to Lanosterol 14-Alpha Demethylase. **Pharmaceuticals**, v. 17, n. 380, 1–17, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3390/ph17030380>

SAYED, H. M.; RAMADAN, M. A.; SALEM, H. H.; AHMAD, I.; PATEL, H. Phytochemical Investigation, In silico/In vivo Analgesic, and Anti-inflammatory Assessment of the Egyptian *Cassia occidentalis* L. **Steroids**, v. 196, p. 1–12, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2023.109245>

SGARIGLIA, M. A.; SOBERÓN, J. R.; SAMPIETRO, D. A.; QUIROGA, E. N. VATTUONE, M. A. Bioassays on Microorganisms: Antifungal and Antibacterial Activities. In: SAMPIETRO, D. A.; CATALAN, C. A. N.; VATTUONE, M. A. (org.). **Isolation, Identification and Characterization of Allelochemicals/Natural Products**. Science Publishers: New Hampshire, 2009.

SHARMA, A.; AHMAD, S.; HARIKUMAR, S. L. Pharmacognosy, Phytochemistry & Pharmacology of *Cassia Javanica* Linn.: A Review. **International Journal of Pharma Research & Review**, v. 3, n. 4, p. 101–105, 2014.

SHUKLA, S.; HEGDE, S.; KUMAR, A.; CHAUDHARY, G.; TEWARI, S. K.; UPRETI, K.; PAL, M. Fatty acid composition and antibacterial potential of *Cassia tora* (leaves and stem) collected from different geographic areas of India. **Journal of Food and Drug Analysis**, p. 1–5, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfda.2016.12.010>

SILVA, T. C.; JUSTINO, A. B.; PRADO, G. D.; KOCH, G. A.; MARTINS, M. M.; SANTOS, P. S.; MORAIS, S. A. L.; GOULART, L. R.; CUNHA, L. C. S.; SOUSA, R. M. F.; ESPINDOLA, F. S.; OLIVEIRA, A. Chemical composition, antioxidant activity and inhibitory capacity of α -amylase, α -glucosidase, lipase and non-enzymatic glycation, in vitro, of the leaves of *Cassia bakeriana* Craib. **Industrial Crops & Products**, v. 140, p. 1–13, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111641>

SILVA, M. J.; SANTOS, J. P.; SOUZA, A. O. Sinopse taxonômica do gênero *Senna* (Leguminosae, Caesalpinioideae, Cassieae) na Região Centro-Oeste do Brasil. **Rodriguésia**, v. 62, n. 2, 733–763, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1590/2175-7860201869233>

SOARES, N. P.; SANTOS, P. L.; VIEIRA, V. S. Técnicas de prospecção fitoquímica e sua importância para o estudo de biomoléculas derivadas de plantas. **Enciclopédia Biosfera**, v. 13, n. 24, p. 991–1010, 2016. DOI: https://doi.org/10.18677/EnciBio_2016B_094

SOBEH, M.; MAHMOUD, M. F.; HASAN, R. A.; CHENG, H.; EL-SHAZLY, A.; WINK, M. *Senna singueana*: antioxidant, hepatoprotective, antiapoptotic properties and phytochemical profiling of a methanol bark extract. **Molecules**, v. 22, n. 1502, p. 1–15, 2017. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules22091502>

SOBEH, M.; MAHMOUD, M. F.; ABDELFAHATTAH, M. A. O.; CHENG, H.; EL-SHAZLY, A.; WINK, M. A proanthocyanidin-rich extract from *Cassia abbreviata* exhibits antioxidant and hepatoprotective activities *in vivo*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 213, p. 38–47, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.11.007>

SONY, P.; KALYANI, M.; JEYAKUMARI, D.; KANNAN, I.; SUKUMAR, R.G. *In vitro* antifungal activity of *Cassia fistula* extracts against fluconazole resistant strains of *Candida* species from HIV patients. **Journal de Mycologie Médicale**, v. 28, n. 1, p. 193–200, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2017.07.010>

SOUZA, L. M.; CIPRIANI, T. R.; IACOMINI, M.; GORIN, P. A. J.; SASSAKI, G. L. HPLC/ESI-MS and NMR analysis of flavonoids and tannins in bioactive extract from leaves of *Maytenus ilicifolia*. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 47, p. 59–67, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2007.12.008>

SOUZA, M. P.; SÁ, I. S. C.; FREITAS, F. A.; SOUZA, A. D. L.; NUNOMURA, S. M.; MUNIZ, M. P.; PEREIRA, A. P. R.; AUGUSTO, B.O.; GOMES, G. B.; PERDOMO, M. P.; MACEDO, L. R.; WEBER, S. S.; NUNOMURA, C. S. Amazonian fruit mari-mari (*Cassia leiandra* Benth.): identification of flavonoids and antioxidant, antimicrobial and antiproliferative properties. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 34, n. 3, p. 352–332, 2023. DOI: <https://dx.doi.org/10.21577/0103-5053.20220111>

SPRINGOB, K.; KUTCHAN, T. M. Introduction to the different classes of natural products. In: OSBOURN, A. E.; LANZOTTI, V. (coord.). **Plant-derived natural products**. Springer, 2009.

SUCIATI; LAILI, E. R.; EKASARI, W.; KUATMAN; NUENGCHAMNONG, N.; SUPHROM, N. Chemical profiles and *in vitro* cholinesterase inhibitory activities of the flower extracts of *Cassia spectabilis*. **Advances in Pharmacological and Pharmaceutical Sciences**, p. 1–9, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1155/2023/6066601>

SUMATHY, V.; ZAKARIA, Z.; JOTHY, S.; GOTHAI, S.; VIJAYARATHNA, S.; LATHA, L. Y.; CHEN, Y.; SASIDHARAN, S. *In vitro* and *in vivo* antifungal activity of *Cassia surattensis* flower against *Aspergillus niger*. **Microbial Pathogenesis**, v. 77, p. 7–12, 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.micpath.2014.10.004>

TAN, J.; ZHENG, M.; DUAN, Z.; ZENG, Y.; ZHANG, Z.; CUI, Q.; ZHANG, J.; HONG, T.; BAI, J.; DU, S. Chemical Profiling and Screening of the Marker Components in the Fruit of *Cassia fistula* by HPLC and UHPLC/LTQ-Orbitrap MSⁿ

with Chemometrics. **Molecules**, v. 23, n. 1501, p. 1–18, 2018.

DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules2307150110.3390/molecules23071501>

TOREY, A.; VIJAYARATHNA, S.; JOTHY, S. L.; GOTHAI, S.; CHEN, Y.; LATHA, L. Y.; KANWAR, J. R.; DHARMARAJ, S.; SASIDHARAN, S. Exploration of the anticandidal mechanism of *Cassia spectabilis* in debilitating candidiasis. **Journal of Traditional and Complementary Medicine**, p. 1–8, 2014.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jtcme.2014.11.017>

TIWARI, R. D.; YADAVA, P. The flavonoids of *Cassia javanica* flowers.

Phytochemistry, v. 10, p. 2256–2263, 1971. DOI : [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)97242-X](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)97242-X)

TIMOTHY, S. Y.; WAZIS, C. H.; ADATI, R. G.; MASPALMA, I. D. Antifungal Activity of Aqueous and Ethanolic Leaf Extracts of *Cassia alata* Linn. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v. 2, n. 7, p. 182–185, 2012.

DOI: <https://doi.org/10.7324/JAPS.2012.2728>

TOUCHESTONE, J. C.; DOBBINS, M. F. **Practice of Thin Layer Chromatography**. Toronto: John Wiley & Sons, 1978.

TWARDA-CLAPA, A.; OLCZAK, A.; BIALKOWSKA, A.; KOZIOLKIEWICZ, M. Advanced Glycation End-Products (AGEs): Formation, Chemistry, Classification, Receptors, and Diseases Related to AGEs. **Cells**, v. 22, n. 11, p. 1312, 2022.

DOI: <https://doi.org/10.3390/cells1108131>

VALLI, M.; PIVATTO, M.; DANUELLO, A.; CASTRO-GAMBOA, I.; SILVA, D. H. S.; CAVALHEIRO, A. J.; ARAÚJO, A. R.; FURLAN, M.; LOPES, M. N.; BOLZANI, V. S. Tropical biodiversity: has it been a potential source of secondary metabolites useful for medicinal chemistry? **Química Nova**, v. 35, n. 11, p. 2278–2287, 2012.

DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422012001100036>

VERDE, V. G. M.; PAULA, J. R.; CANEIRO, D. M. Levantamento etnobotânico das plantas medicinais do cerrado utilizadas pela população de Mossâmedes (GO). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 13, supl., p. 64–66, 2003.

DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2003000300024>

VIEGAS JÚNIOR, C.; BOLZANI, V. S.; FURLAN, M.; BARREIRO, E. J.; YOUNG, M. C. M.; TOMAZELA, D.; EBERLIN, M. N. Further bioactive piperidine alkaloids from the flowers and green fruits of *Cassia spectabilis*. **Journal of Natural Products**, v. 67, p. 908–910, 2004. <https://doi.org/10.1021/np0303963>

VIEGAS, C. J.; BOLZANI, V. S.; PIMENTEL, L. B.; CASTRO, N. G.; CABRAL, R. F.; COSTA, R. S.; FLOYD, C.; ROCHA, M. S.; YOUNG, M. C. M.; BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M. New selective acetylcholinesterase inhibitors designed from natural

piperidine alkaloids. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 13 p. 4184–4190, 2005.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2005.04.030>

VIEGAS, C.; REZENDE, A.; SILVA, D. H. S.; CASTRO-GAMBÔA, I.; BOLZANI, V. S.; BARREIRO, E. J.; MIRANDA, A. L. P.; ALEXANDRE-MOREIRA, M. S.; YOUNG, M. C. M. Aspectos químicos, biológicos e etnofarmacológicos do gênero *Cassia*. **Química Nova**, v. 29, n. 6, p. 1279–1286, 2006.
<https://doi.org/10.1590/S0100-40422006000600025>

VIEGAS, C. J.; BOLZANI, V.S.; BARREIRO, E. J. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Química Nova**, v. 29, n. 2, p. 326–337, 2006.
DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422006000200025>

VILLASEÑOR, I. M.; SANCHEZ, A. C. Cassiaindoline, a new analgesic and anti-inflammatory alkaloid from *Cassia alata*. **Zeitschrift für Naturforschung C**, v. 64c, p. 335–338, 2009. <https://doi.org/10.1515/znc-2009-5-605>

VOLPATO, L. E.R.; TRIGUEIRO, P. G.; ARANHA, A. M. F. A.; VIOLANTE, I. M. P.; SILVA, R. A.; OLIVEIRA, R. C. Antimicrobial potential from the brazilian Cerrado. **Brazilian Dental Journal**, v. 33, n. 1, p. 64–104, 2022.
DOI: <https://doi.org/10.1590/0103-644020224705>

WAGNER H.; BLADT S. **Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas**, 2nd ed. Berlin: Springer, 2001.

WANG, L.; SANG, M.; LIU, E.; BANAHENE, P. O.; ZHANG, Y.; WANG, T.; HAN, L.; GAO, X. Rapid profiling and pharmacokinetic studies of major compounds in crude extract from *Polygonum multiflorum* by UHPLC-Q-TOF-MS and UPLC-MS/MS. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 140, p. 45–61, 2017.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpba.2017.03.016>

WANG, X.; WANG, T.; PAN, T.; HUANG, M.; REN, W.; XU, G.; AMIN, H.; KASSAB, R. B.; MONEIM, A. E. A. *Senna alexandrina* extract supplementation reverses hepatic oxidative, inflammatory, and apoptotic effects of cadmium chloride administration in rats. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, p. 5981–5992, 2020.
DOI: <https://doi.org/10.1007/s11356-019-07117-3>

WU, H.; HU, W.; LIU, Q.; YU, Z.; ZHAN, J.; YAN, K.; WANG, Y.; ZHOU, K.; DONG, W.; LI, Y.; ZHOU, M.; HU, Q. Three new alkaloids from the twigs of *cassia siamea* and their bioactivities. **Phytochemistry Letters**, v. 15, p. 121–124, 2016.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.phytol.2015.12.009>

WU, Q.; WANG, Z.; FU, M.; TANG, L.; HE, Y.; FANG, J.; GONG, Q. Chemical constituents from leaves of *Cassia angustifolia*. **Journal of Chinese Medicinal Materials**, v. 30, n. 10, 2007. PMID: 18300495.

YANG, X. HE, Z.; ZHENG, Y.; WANG, N.; MULINGE, M.; SCHMIT, J.; STEINMETZ, A.; SEGUIN-DEVAUX, C. Chemical Constituents of *Cassia abbreviata* and Their Anti-HIV-1 Activity. **Molecules**, v. 26, n. 2455, p. 1–8, 2021a. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules26092455>

YANG, F.; MI, Q.; ZHU, Y.; SHI, J.; ZHOU, T.; ZHANG, J.; XIANG, H.; ZENG, W.; YANG, G.; ZHOU, M.; HU, Q.; YIN, G. Three new anthraquinones from the twigs of *Cassia auriculata* Linn. and their antibacterial activity. **Phytochemistry Letters**, v. 44, p. 125–128, 2021b. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2021.06.011>

YANG, Y.; CHEN, Z.; ZHAO, X.; XIE, H.; DU, L.; GAO, H.; XIE, C. Mechanisms of Kaempferol in the treatment of diabetes: A comprehensive and latest review. **Frontiers of Endocrinology**, v. 13, p. 1–15, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.990299>

YEUNG, A. W. K.; TZVETKOV, N. T.; DURAZZO, A.; LUCARINI, M.; SOUTO, E. B.; SANTINI, A.; GAN, R.; JOZWIK, A.; GRZYBEK, W.; HORBANCZUK, J. O.; MOCAN, A.; ECHEVERRIA, J.; WANG, D.; ATANASOV, A. G. Natural products in diabetes research: quantitative literature analysis. **Natural Product Research**, v. 35, n. 24, p. 5813–5827, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1080/14786419.2020.1821019>

YIN, W.; PENGQIAN, W.; HAOTIAN, Y.; FENG, S. UPLC-Q-TOF-MS and UPLC-MS/MS methods for Metabolism profiles and Pharmacokinetics of major compounds in *Xuanmai Ganjie* Granules. **Biomedical Chromatography**, v. 33, n. 3, p. 1–36, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1002/bmc.4449>

YU, K.; SONG, Y.; LIN, J.; DIXON, R. A. The complexities of proanthocyanidin biosynthesis and its regulation in plants. **Plant Communications**, v. 4, n. 100498, p. 1–16, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.xplc.2022.100498>

YUN, B.; YAN, Z.; AMIR, R.; HONG, S.; JIN, Y.; LEE, E.; LOAKE, G. Plant natural products: history, limitations and the potential of cambial meristematic cells. **Biotechnology and Genetic Engineering Reviews**, v. 21, n. 1, p. 47–60, 2012. DOI: <https://doi.org/10.5661/bger-28-47>

ZHANG, P.; LI, T. WU, X.; NICE, E. C.; HUANG, C.; ZHANG, Y. Oxidative stress and diabetes: antioxidative strategies. **Frontiers of Medicine**, v. 14, p. 583–600, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11684-019-0729-1>

ZHONG, X.; HUANG, R.; CHEN, X.; LEI, Y. A Review on the Pharmacological Aspects of Engeletin as Natural Compound. **Drug Design, Development and Therapy**, v. 17, p. 3833–3843, 2023. DOI : <https://doi.org/10.2147/DDDT.S437703>

ZHOU, Y.; XIA, W.; YUE, W.; PENG, C.; RAHMAN, K.; ZHANG, H. Rhein: a review of pharmacological activities. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2015, p. 1–11, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1155/2015/578107>

ZHU, J.; CHEN, C.; ZHANG, B.; HUANG, Q. The inhibitory effects of flavonoids on α -amylase and α -glucosidase. **Food Science and Nutrition**, p. 695–708, 2019.
DOI: <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1548428>

ZIBAEE, E.; JAVADI, B.; SOBHANI, Z.; AKABERI, M.; FARHADI, F.; AMIRI, M. S.; BAHARARA, H.; SAHEBKAR, A.; EMAMI, S. A. *Cassia* species: A review of traditional uses, phytochemistry and pharmacology. **Pharmacological Research - Modern Chinese Medicine**, v. 9, p. 1–65, 2023.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.prmcm.2023.100325>

APÊNDICE A

Tabela 1A – Viabilidade celular das frações de *Cassia* e *Senna* spp.

Concentrações ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Viabilidade Celular (%) - HeLa											
	<i>S. multijuga</i> (folhas)				<i>S. rugosa</i> (folhas)				<i>S. rugosa</i> (flores)			
	FH	FD	FAE	FM	FH	FD	FAE	FM	FH	FD	FAE	FHM
0,195	95,7	99,5	92,0	93,0	97,1	103	104	90,7	93,7	92,6	95,1	91,6
0,391	88,1	98,1	95,1	95,6	97,4	102	104	105	91,5	91,5	97,4	95,6
0,781	99,1	99,8	93,5	111	92,9	110	111	111	91,7	92,4	97,7	97,1
1,563	100	102	86,4	106	94,6	98,4	103	114	92,8	92,5	93,2	94,3
3,125	101	94,8	80,3	98,5	91,2	107	108	111	93,7	88,2	93,2	85,6
6,25	100	95,6	86,1	96,9	88,8	97,7	104	90,7	89,7	87,7	97,2	91,2
12,5	104	100	85,0	99,7	65,9	79,4	78,3	78,6	88,8	90,3	105	92,7
25	81,2	83,9	71,3	85,9	95,9	91,7	86,2	91,7	86,3	87,7	100	94,0
50	73,3	79,3	68,6	79,9	99,4	87,4	95,6	86,2	88,1	80,2	90,1	79,1
100	61,5	55,0	58,4	72,7	74,1	84,6	99,9	100	86,3	71,6	79,9	85,1
200	3,9	22,8	20,9	56,1	6,0	85,8	89,3	103	6,4	34,4	65,4	82,5
400	3,9	4,1	7,4	20,7	5,9	16,5	14,4	32,4	5,9	13,4	10,1	30,1
800	4,3	4,8	8,8	6,1	6,2	10,9	10,6	11,2	6,7	11,4	10,5	12,4
1600	5,1	6,3	17,1	5,0	6,6	11,8	10,6	9,3	7,3	14,4	13,1	9,9
3200	6,9	11,2	27,9	6,0	6,9	14,5	13,6	8,8	7,3	17,1	13,3	11,7
	<i>S. velutina</i> (folhas)				<i>S. velutina</i> (flores)				<i>C. fistula</i> (folhas)			
	FH	FD	FAE	FM	FH	FD	FAE	FM	FH	FD	FAE	FHM
	FH	FD	FAE	FM	FH	FD	FAE	FM	FH	FD	FAE	FHM
0,195	97,9	99,7	92,4	92,9	97,7	115	85,1	90,1	112	91,8	90,2	100
0,391	98,6	91,5	92,3	90,3	94,2	116	83,1	95,8	116	92,3	98,3	110
0,781	95,5	89,5	95,4	92,3	100	109	80,9	99,5	115	96,4	150	116
1,563	99,8	90,5	100	94,7	96,7	112	86,3	99,2	113	98,1	161	132
3,125	87,1	91,6	101	95,2	97,8	106	90,4	96,8	106	104	157	130
6,25	75,7	92,9	100	89,6	103	124	100	92,6	107	106	125	90,3
12,5	61,2	90,2	98,1	79,9	95,5	109	98,9	47,3	96,0	101	123	69,0
25	63,8	93,8	78,5	94,6	91,2	103	95,5	104	76,6	64,4	86,0	76,7
50	99,0	96,1	89,8	88,7	87,3	103	76,9	94,6	72,7	61,1	101	78,1
100	91,6	86,8	86,3	85,9	84,1	79,6	63,7	80,2	66,7	45,7	67,9	58,8
200	66,9	64,5	57,7	74,9	6,2	40,9	35,6	27,5	3,0	20,6	72,9	48,9
400	32,2	58,9	35,6	22,3	6,6	26,6	9,2	8,8	3,2	2,6	28,3	29,9
800	11,9	25,8	15,9	10,3	6,8	17,3	10,7	8,7	3,8	2,7	20,4	18,0
1600	16,0	18,3	12,4	10,4	7,2	21,0	14,5	9,4	4,1	2,9	5,0	6,2
3200	19,4	32,2	12,5	10,3	7,1	27,8	14,9	8,9	4,2	5,8	5,7	3,7
	<i>C. grandis</i> (folhas)				<i>C. javanica</i> (folhas)				<i>C. javanica</i> (flores)			
	FH	FD	FAE	FM	FH	FD	FAE	FM	FH	FD	FAE	FHM
	FH	FD	FAE	FM	FH	FD	FAE	FM	FH	FD	FAE	FHM
0,195	100	85,9	103	99,9	103	86,4	94,1	89,4	80,6	81,8	70,7	90,4
0,391	103	93,9	91,0	91,4	105	85,4	85,5	84,3	74,3	85,2	84,4	90,4
0,781	110	100	79,3	91,1	100	84,3	85,7	81,6	86,7	81,4	77,9	85,6
1,563	115	104	97,9	93,3	103	88,1	81,2	80,6	84,4	84,1	81,5	83,2
3,125	114	98,3	105	82,3	100	99,6	83,0	78,7	86,7	82,8	76,8	85,6
6,25	86,2	84,6	99,8	91,6	95,1	97,5	86,8	72,4	88,8	88,9	86,3	84,2
12,5	87,4	81,9	89,0	108	95,2	99,7	85,7	64,6	90,8	91,8	94,1	81,1
25	77,2	67,3	70,9	75,5	69,2	88,1	66,7	69,6	92,0	84,6	89,6	86,8
50	80,0	57,6	63,8	55,3	82,6	74,8	55,3	56,9	89,4	63,2	73,5	76,3
100	87,4	61,7	49,0	40,8	73,8	48,6	36,7	42,2	88,5	49,2	54,1	65,8
200	9,1	8,6	11,0	11,3	49,2	8,2	8,0	8,6	38,9	4,6	37,9	52,4
400	3,5	4,3	6,0	5,2	3,1	6,6	7,4	7,2	3,7	4,3	4,8	25,2
800	4,9	5,8	7,1	6,4	3,6	8,5	10,1	8,1	3,9	4,9	5,4	25,4
1600	6,1	7,9	9,5	8,5	4,2	13,8	15,8	11,6	4,4	7,0	8,2	5,9
3200	6,3	10,2	10,4	9,6	4,1	20,8	13,4	8,6	5,5	13,3	9,0	5,8

Porcentagem de células viáveis nas condições experimentais: Controle (meio de cultura): 100%, 1% DMSO: 83,23%; 2% DMSO: 85,71% e 32% DMSO: 5,94% (veículo). Fonte: a autora.

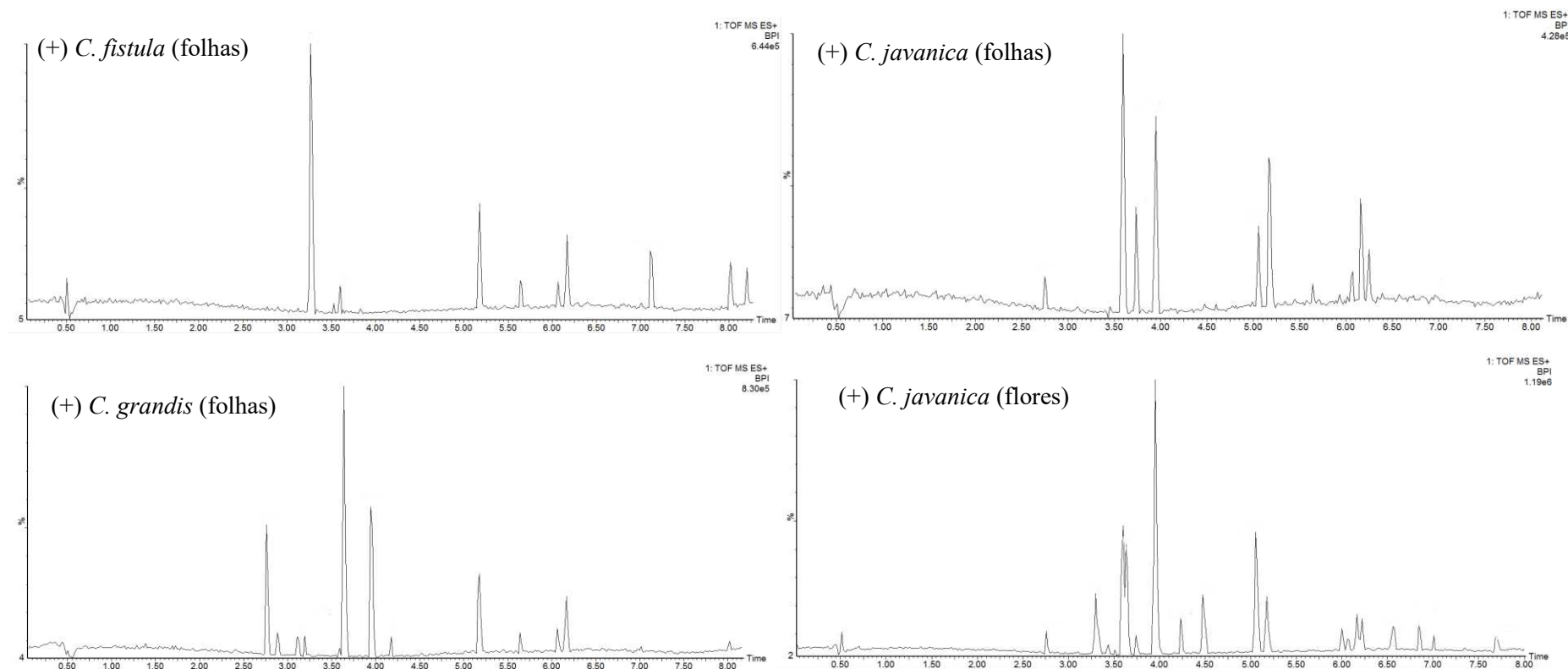
Tabela 2A – Concentração citotóxica (CC₅₀) e índice de seletividade (IS) das frações das folhas e flores de *Cassia* e *Senna* spp.

Frações	CC ₅₀ µg mL ⁻¹	Microrganismos/IS									
		A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
<i>C. fistula</i> (folhas)											
FHCf-fo	95.90	-0.02	–	-0.02	-0.02	–	–	-0.02	–	–	–
FDCf-fo	70.03	–	0.17	-0.45	0.17	0.17	0.17	-0.15	–	–	–
FACf-fo	267.8	–	–	-0.17	–	-0.17	-0.17	0.13	–	–	–
FHMCf-fo	158.00	–	–	–	–	–	–	-0.10	–	–	–
<i>C. grandis</i> (folhas)											
FHCg-fo	132.20	-0.48	-0.48	-0.48	-0.48	–	-0.18	0.12	–	–	–
FDCg-fo	65.07	–	–	-0.79	-0.79	-0.48	-0.18	-0.48	–	–	–
FACg-fo	68.93	-0.76	-0.76	-0.76	-0.46	-0.76	-0.76	-0.76	-1.64	-1.64	-1.64
FHMCg-fo	62.27	-0.81	-0.81	-0.81	-0.50	–	–	–	–	–	–
<i>C. javanica</i> (folhas)											
FHCj-fo	150.60	-0.12	–	0.18	-0.42	0.78	–	0.78	–	–	–
FDCj-fo	84.59	–	–	-0.37	-0.67	-0.07	-0.67	-0.37	–	–	–
FACj-fo	47.12	–	–	-0.93	-0.93	–	–	-0.93	–	–	–
FHMCj-fo	38.03	-1.02	–	-1.02	-0.72	–	–	–	–	–	–
<i>C. javanica</i> (flores)											
FHCj-fl	173.90	-0.06	–	0.24	-0.06	0.84	–	1.14	-0.93	–	–
FDCj-fl	72.12	–	-0.74	-0.74	-0.74	-0.74	-0.14	-0.74	–	–	–
FACj-fl	107.08	–	–	–	-0.57	–	–	–	-0.24	0.66	-0.24
FHMCj-fl	198.80	–	–	–	–	–	–	–	–	0.93	–
<i>S. multijuga</i> (folhas)											
FHSm-fo	94.20	-0.32	–	-0.32	-0.32	-0.32	–	-0.02	-0.60	–	–
FDSm-fo	101.70	–	–	-0.59	–	-0.59	-0.59	0.007	–	–	–
FASm-fo	76.11	-0.72	-0.42	-0.72	-0.72	–	-0.72	-0.72	1.11	1.11	0.51
FHMSm-fo	187.20	-0.33	-0.33	-0.33	-0.33	–	–	–	–	–	–

A: *S. mutans*, B: *S. mitis*, C: *S. sanguinis*, D: *A. actinomycetemcomitans*, E: *P. gingivalis*, F: *F. nucleatum*, G: *A. naeslundii*, H: *C. albicans*, I: *C. glabrata*, J: *C. tropicalis*.

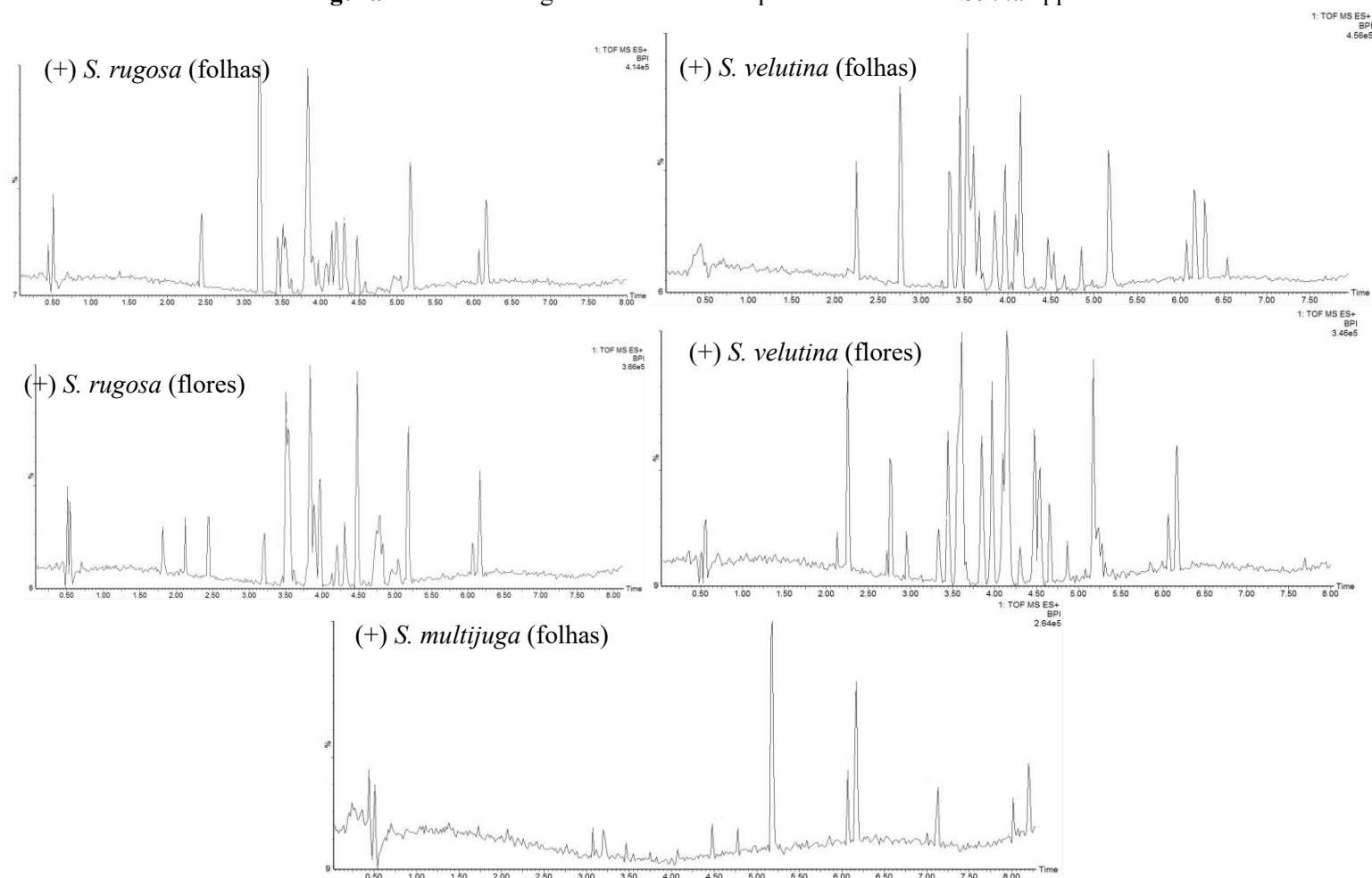
Fonte: a autora.

Figura 1A – Cromatograma BPI no modo positivo dos EE de *Cassia* spp.



Condições: coluna Acquity UPLC HSS T3 C18 (100,0 mm x 2,1 x 1,8 μ m) fase móvel (A) composta por água acidificada com ácido fórmico (0,1% (v.v⁻¹)) e fase móvel B acetonitrila e 0.1% de ácido fórmico com gradiente de 5% a 100% de B (14 min). Fonte: a autora.

Figura 2A – Cromatograma BPI no modo positivo dos EE de *Senna* spp.



Condições: coluna Acquity UPLC HSS T3 C18 (100,0 mm x 2,1 x 1,8 μ m) fase móvel (A) composta por água acidificada com ácido fórmico (0,1% (v.v⁻¹)) e fase móvel B acetonitrila e 0.1% de ácido fórmico com gradiente de 5% a 100% de B (14 min). Fonte: a autora