



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

CLÉBER JOSÉ DA SILVA

**CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA E ATIVIDADES BIOLÓGICAS DO
EXTRATO ETANÓLICO DO CERNE DE *Hymenaea stigonocarpa* MART.**

RECIFE

2021

CLÉBER JOSÉ DA SILVA

**CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA E ATIVIDADES BIOLÓGICAS DO EXTRATO
ETANÓLICO DO CERNE DE *Hymenaea stigonocarpa* MART.**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito à obtenção do título de Mestre em Biotecnologia Área de Concentração: Microbiologia, Bioprocessos e Bioprodutos.

Orientadora: Profa. Dra. Jaciana dos Santos Aguiar

Co-orientadora: Profa. Dra. Márcia Silva do Nascimento

RECIFE

2021

Catálogo na Fonte:
Elaine C Barroso, CRB-4/172

Silva, Cleber José da
Caracterização fitoquímica e atividades biológicas do extrato etanólico do cerne de
Hymenaea stagnocarpa Mart / Cleber José da Silva – 2021.

54 f.: il., fig., tab.

Orientadora: Jaciana dos Santos Aguiar
Coorientadora: Márcia Silva do Nascimento
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro
de Biotecnologia. Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Recife,
2021.

Inclui referências e apêndices.

1. Fitoquímicos 2. Madeira 3. Biodegradação I. Aguiar, Jaciana dos
Santos (orient.) II. Nascimento, Márcia Silva do (coorient.) III. Título

581.192

CDD (22.ed)

UFPE/CB-2021-313

CLÉBER JOSÉ DA SILVA

**CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA E ATIVIDADES BIOLÓGICAS DO EXTRATO
ETANÓLICO DO CERNE DE *Hymenaea stigonocarpa* MART.**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito à obtenção do título de Mestre em Biotecnologia Área de Concentração: Microbiologia, Bioprocessos e Bioprodutos.

COMISSÃO EXAMINADORA

Profa. Dra. Jaciana dos Santos Aguiar (Orientadora)
Universidade Federal de Pernambuco

Profa. Dra. Norma Buarque de Gusmão (Examinador interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Profa. Dra. Andrea Lopes Bandeira Delmiro Santana (Examinador externo)
Universidade Federal de Pernambuco

Recife, ____ de _____ de 2021.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ter me dado forças e sabedoria para concluir mais uma etapa.

A minha mãe Rosilene Maria Gomes, por toda oração, amor, carinho e amparo. As minhas orientadoras Dra. Jaciana dos Santos Aguiar e Dra. Márcia Silva do Nascimento, por toda a paciência, incentivo, confiança e apoio. Como também as professoras Dra. Norma Gusmão e Andrea Bandeira por toda parceria. Vocês foram essenciais!

Agradeço aos meus colegas e amigos Felipe Ravelly, Erika de Arruda, Bruno Iraquitã e Iranildo Cruz por toda ajuda e companheirismo durante esta caminhada. Como também a todos os participantes do Laboratório de Cultura de Células (LCC) e Laboratório de Microbiologia Ambiental e Industrial (LAMA).

“Sempre que achamos que conhecemos o futuro, mesmo por um segundo... ele muda. E ficamos com a escolha do que fazer a seguir. Podemos escolher ficar com medo dele. Ficar parado, tremendo, sem se mover. Pensando que o pior vai acontecer. Ou vamos em frente... para o desconhecido. Acreditando que será brilhante.”

Autor desconhecido

RESUMO

O Brasil possui uma flora correspondente a 20 % das plantas superiores e dentre estas árvores destacam-se as madeiras de lei, como as espécies do gênero *Hymenaea*, pertencentes à família *Fabaceae*. As espécies de *Hymenaea* são chamadas de madeiras de lei devido à alta resistência ao ataque de insetos, cupins e microrganismos xilófagos, como fungos. A espécie *Hymenaea stigonocarpa* é muito promissora no que diz respeito à produção de compostos biotecnológicos, devido à sua variada composição de metabólitos secundários. Diante desse fato, esta pesquisa teve como objetivo caracterizar a composição fitoquímica e avaliar as atividades antioxidantes, antifúngica e citotóxica do extrato etanólico do cerne de *Hymenaea stigonocarpa* MART (EECHs). O EECHs foi analisado a fim de identificar o seu rendimento, quantificação do teor de fenóis totais, flavonoides totais e taninos totais, atividade antioxidante através dos métodos DPPH e ABTS, bem como a atividade citotóxica frente as linhagens celulares de fibroblastos murino (L929) e células epiteliais de rim de macaco verde (VERO) e atividade antifúngica para o fungo *Phanerochaete chrysosporium*. Como resultado o EECHs exibiu rendimento de 11,14 % e teor de umidade de 9,31 % \pm 0,45. Para fenóis totais, flavonóides totais e taninos totais o EECHs apresentou resultado de 0,187 \pm 0,001 mg, 36,457 \pm 0,046 μ g / mL e 95,094 \pm 0,073 μ g, respectivamente. As atividades antioxidantes frente aos radicais DPPH e ABTS o EECHs apresentou CE₅₀ de 56,34 μ g / mL e 39,25 μ g / mL. Já para o teste de citotoxicidade, o EECHs não apresentou citotoxicidade frente as linhagens VERO e L929 nas concentrações variando de 3,125 a 50 μ g / mL. Para atividade antifúngica, o EECHs nas concentrações entre 1000 e 100 μ g / mL não foi observado crescimento fúngico, todavia na concentração de 10 μ g / mL foi observado entre o 5º, 10º e 15º dia a porcentagem de índice antifúngico de 33, 15 e 4 %, respectivamente. Com o desenvolvimento desta pesquisa, foi possível observar que a espécie *H. stigonocarpa* apresenta em sua composição flavonoides e taninos com potencial biotecnológico para formulação de produtos com atividades antioxidantes, bem como atividade antifúngica, todavia, é de extrema importância que outros estudos sejam desenvolvidos a fim de contribuir tanto para a redução da biodegradação causada por fungos, quanto para enfatizar a importância da aplicabilidade dos recursos existentes no bioma cerrado.

Palavras chave: Madeira, compostos fenólicos, antioxidante, biodegradação ambiental

ABSTRACT

Brazil has a flora corresponding to 20% of the upper plants and among these trees stand out the hardwoods, such as the species of the genus *Hymenaea*, belonging to the Fabaceae family. *Hymenaea* species are called hardwoods due to their high resistance to attack by insects and xylophagous microorganisms, such as termites and fungi. The species *Hymenaea stigonocarpa* is very promising with regard to the production of biotechnological compounds, due to its varied composition of secondary metabolites. Given this fact, this research aims to characterize the phytochemical composition and identify the biological activities of the ethanolic extract of the heartwood of *Hymenaea stigonocarpa* MART (EECHs). The EECHs were analyzed in order to identify their yield, quantification of the content of total phenols, total flavonoids and total tannins, activity using the DPPH and ABTS methods, as well as evaluation against the cytotoxic activity for the cell line L929 (Fibroblasts) and activity antifungal for the fungus *Phanerochaete chrysosporium*. As a result, the EECHs showed a yield of 11.14% and a moisture content of $9.313\% \pm 0.453$. For total phenols, total flavonoids and total tannins, the EECHs showed a result of 0.187 ± 0.001 mg, 36.457 ± 0.046 $\mu\text{g} / \text{mL}$ and 95.094 ± 0.073 μg , respectively. In view of the antioxidant activities by the DPPH and ABTS methods, the EECHs showed an EC₅₀ of 56.340 $\mu\text{g} / \text{mL}$ and 39.249 $\mu\text{g} / \text{mL}$, as well as showing no cytotoxicity against the VERO and L929 cell line at concentrations of 50 $\mu\text{g} / \text{mL}$. For antifungal activity, EECHs at concentrations between 1000 and 100 $\mu\text{g} / \text{mL}$ no fungal growth was observed, however at the concentration of 10 $\mu\text{g} / \text{mL}$, the percentage of antifungal index of 33, 15 and 4 % was observed between the 5th, 10th and 15th day, respectively. With the development of this research, it was possible to observe that the species *Hymenaea stigonocarpa* has in its composition flavonoids and tannins with biotechnological potential for formulating products with antioxidant activities, as well as antifungal activity, however, it is extremely important that other studies are developed in order to contribute both to reduce the biodegradation caused by fungi, and to emphasize the importance of the applicability of existing resources in the cerrado biome.

Keywords: Wood, phenolic compounds, antioxidant, environmental biodegradation

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Estrutura química da celulose e hemicelulose	16
Figura 2	Estrutura química da lignina	17
Figura 3	Estrutura anatômica da madeira	18
Figura 4	Molécula de DPPH na forma radicalar (A) e na forma reduzida (B)	23
Figura 5	Estabilização do radical ABTS ⁺ por um antioxidante e a formação do ABTS pelo persulfato de potássio.	24
Figura 6	Árvore de Jatobá (<i>Hymenaea stigonocarpa</i>)	25
Figura 7	Estrutura química da astilbina	26
Figura 8	Estruturas químicas dos flavonoides isolados	27
Figura 9	Porcentagem de viabilidade celular das linhagens VERO e L929 submetidas ao tratamento com o extrato etanólico de <i>H. stigonocarpa</i> nas concentrações de 3,125 a 50 µg / mL	41

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** Índice antifúngico (IAF%) da colônia do fungo *Phanerochaete* **39**
crhysosporium exposto ao extrato etanólico de *H. stigonocarpa*

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	12
2	OBJETIVOS.....	14
	2.1 Objetivo geral.....	14
	2.2 Objetivos específicos.....	14
3	REVISÃO DE LITERATURA.....	15
	3.1 Importância da composição química da madeira.....	15
	3.2 Biodegradação como fator de risco para durabilidade da madeira.....	18
	3.3 Resistência natural das madeiras de lei.....	20
	3.4 Correlação entre a atividade antioxidante e atividade antimicrobiana....	21
	3.5 Métodos para avaliação da Atividade antioxidante.....	22
	3.6 Atividades biológicas associadas ao gênero <i>Hymenaea</i>	24
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	28
	4.1 Coleta do material botânico.....	28
	4.2 Obtenção dos extratos de <i>H. stigonocarpa</i>	28
	4.3 Estudo químico.....	29
	4.3.1 Determinação do Teor de Umidade da madeira de <i>H. stigonocarpa</i>	29
	4.3.2 Quantificação de fenóis totais.....	29
	4.3.3 Quantificação de flavonoides totais.....	29
	4.3.4 Quantificação de taninos totais.....	30
	4.3.5 Atividades antioxidantes.....	30
	4.3.5.1 Avaliação da atividade sequestradora do radical DPPH.....	30
	4.3.5.2 Avaliação da atividade sequestradora do cátion radical ABTS ^{·+}	31
	4.4 Atividades biológicas.....	32
	4.4.1 Atividade antifúngica.....	32
	4.4.1.1 Bioensaio da atividade antifúngica do extrato etanólico de <i>H. stigonocarpa</i>	32
	4.4.1.2 Determinação do crescimento micelial.....	32
	4.4.2 Teste de Citotoxicidade.....	33
	4.5 Análise estatística.....	33
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	34
	5.1 Estudo químico.....	34
	5.1.1 Rendimento do processo de obtenção do extrato etanólico de <i>H. stigonocarpa</i>	34
	5.1.2 Determinação do Teor de Umidade do cerne de <i>H. stigonocarpa</i>	34
	5.1.3 Quantificação de Fenóis totais.....	34
	5.1.4 Quantificação de flavonoides totais.....	35

5.1.5	Quantificação de Taninos totais.....	36
5.1.6	Avaliação das atividades antioxidantes.....	37
5.2	Atividades biológicas.....	39
5.2.1	Atividade antifúngica.....	39
5.2.2	Atividade citotóxica.....	40
6	CONCLUSÃO.....	42
	REFERÊNCIAS.....	43
	APÊNDICES.....	49

1 INTRODUÇÃO

É notório o grande interesse das indústrias na descoberta e utilização de produtos naturais. Todavia, existe uma preocupação com a sustentabilidade, o que tem levado vários pesquisadores a estudar métodos alternativos, eficazes e seguros para utilização das plantas (SANTANA et al., 2010).

O Brasil possui uma flora correspondente a 20 % de plantas superiores, e que dentre essas árvores, destacam-se as madeiras-de-lei, assim chamadas devido a sua grande resistência ao ataque de cupins (térmites) e fungos (MARANHÃO et al., 2013; LIMA et al., 2018).

Alguns exemplos de madeira-de-lei, são árvores pertencentes a família Fabaceae. Essa família possui aproximadamente 1263 espécies divididas em cerca de 138 gêneros, conhecidos por possuir plantas com uma alta diversidade de metabólitos secundários (MACÊDO et al., 2015; MACÊDO et al., 2018).

Estudos apontam que as espécies da família Fabacea, são as mais ricas em compostos fenólicos como taninos e flavonoides, com diversas atividades biológicas como ação antioxidante, antifúngica, antibacteriana, antitermítica, anti-inflamatória e antitumoral (OLIVEIRA et al., 2010; DIMECH et al., 2013; MARANHÃO et al., 2013; ORSI; SEITO; STASI, 2014; VERAS et al., 2020).

Na família Fabaceae destaca-se o gênero *Hymenaea* (Jatobá) com suas principais espécies: *Hymenaea courbaril*, *Hymenaea parvifolia*, *Hymenaea palustres*, *Hymenaea stigonocarpa* e *Hymenaea cangaceira*. Essas espécies são bastantes promissoras no que concerne à produção de compostos biotecnológicos, graças a sua variada composição diversificada de metabólitos secundários com diferentes atividades biológicas (SANTANA et al., 2010; VERAS et al., 2020);

O uso das madeiras advindas dessas espécies de plantas, para construções civis, comerciais e tecnológicos está baseada em sua durabilidade e resistência. Essas características estão ligadas aos metabólitos secundários que possuem, todavia, ainda pouco se sabe sobre *H. stigonocarpa* (DIMECH et al., 2013; MARANHÃO et al., 2013; ORSI; SEITO; STASI, 2014).

Portanto, o desenvolvimento desta pesquisa contribui para a disponibilização de informação sobre o potencial de aplicação tecnológica de possíveis substâncias antioxidantes e fungicidas presentes na planta, valorizando a possibilidade de uso dos recursos naturais do bioma cerrado. Essas substâncias poderão ser utilizadas no tratamento de madeiras de baixa durabilidade a fim de imunizá-las contra o ataque de

fungos e evitar gastos desnecessários com a reposição de peças deterioradas, reduzindo desta forma os impactos sobre as florestas remanescentes, subsidiando tanto o desenvolvimento científico quanto tecnológico da região.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Caracterizar a composição fitoquímica e identificar as atividades biológicas do extrato etanólico do cerne de *Hymenaea stigonocarpa* MART.

2.2 Objetivos específicos

- Determinar o rendimento do extrato etanólico do cerne de *H. stigonocarpa* (EECHs);
- Verificar o teor de umidade presente na madeira de *H. stigonocarpa*;
- Quantificar o teor de fenóis totais, flavonoides totais e taninos totais do Extrato Etanólico de *H. stigonocarpa*;
- Avaliar a atividade antioxidante do Extrato Etanólico de *H. stigonocarpa* frente aos radicais DPPH e ABTS;
- Observar a ação antifúngica do Extrato Etanólico de *H. stigonocarpa* frente ao fungo *Phanerochaete chrysosporium*;
- Analisar a citotoxicidade do Extrato Etanólico de *H. stigonocarpa* frente as linhagens de células VERO e L929;

3 REVISÃO DE LITERATURA

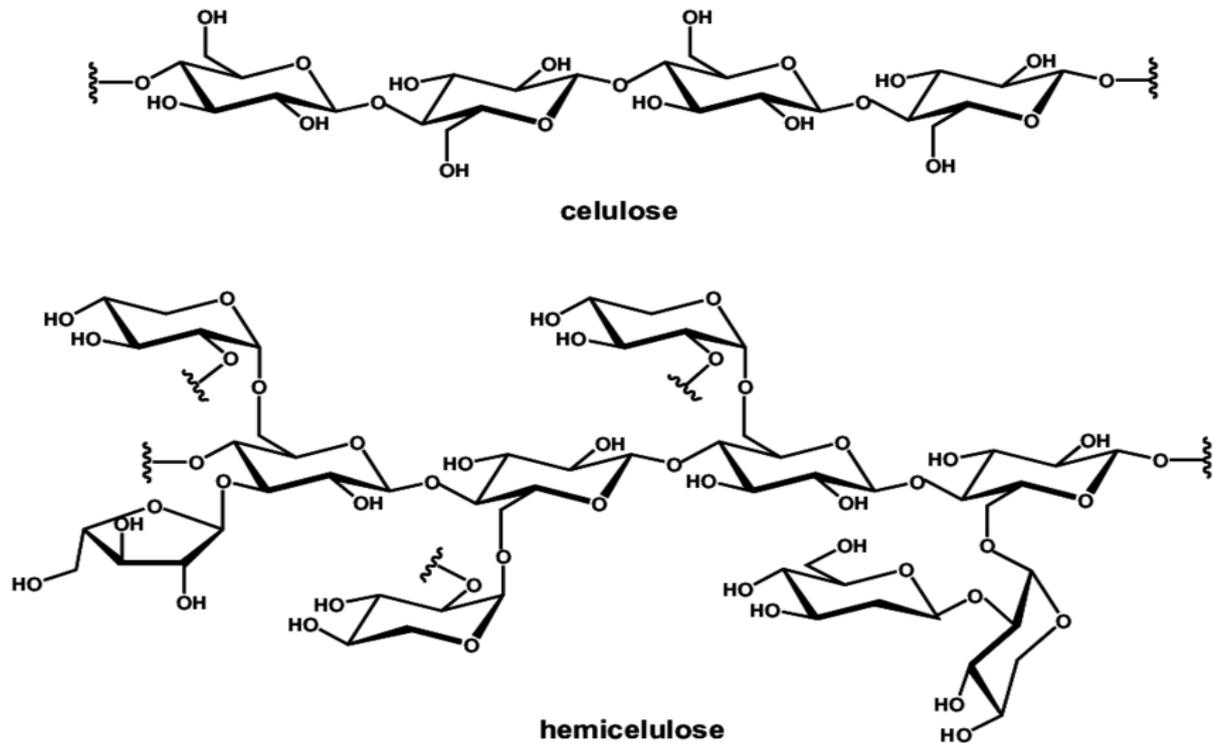
3.1 Importância da composição química da madeira

A madeira é produzida a partir do tecido de plantas lenhosas, e tem em sua composição, fibras e vasos condutores de seiva bruta. A madeira tem por principal finalidade dar sustentação mecânica e transporte de alimentos para toda a planta e se caracteriza por um material orgânico sólido e de composição complexa, predominando fibras de celulose, hemicelulose e lignina (SÁ et al., 2009).

A celulose é o componente mais abundante (cerca de 50 %) que compõe a madeira. É considerado um polímero linear, com regiões amorfas e cristalinas, constituído por moléculas de anidro-glicose, que estão ligadas por ligações β -(1-4) glicosídicas, como apresentado na figura 1. A celulose é composta por subunidades monoméricas de celobiose que se repetem (MASARIN et al., 2011).

A hemicelulose é constituída por cinco açúcares neutros: a glicose, manose, galactose, xilose e arabinose. As cadeias moleculares das hemiceluloses são mais curtas do que as da celulose e podem conter grupos laterais e ramificações. As angiospermas, principalmente as madeiras-de-lei, geralmente, apresentam uma maior quantidade de polioses do que as gimnospermas. As hemiceluloses são polímeros amorfos, constituídos de uma cadeia central na qual se somam cadeias laterais e que atuam como matrizes para a imersão das cadeias de celulose (BRISOLARI, 2008).

Figura 1. Estrutura química da celulose e hemicelulose

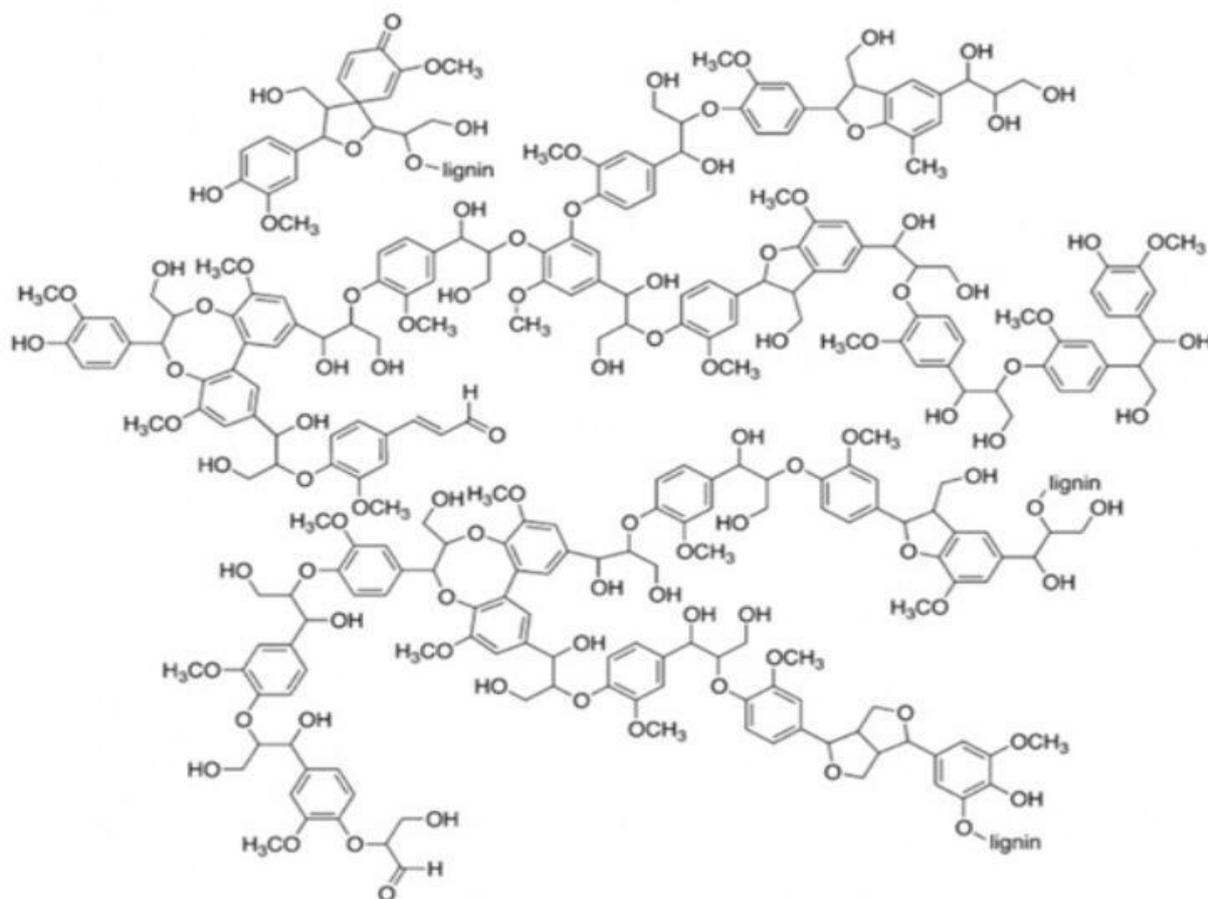


Fonte: DONATE, (2014).

Em relação a lignina (Figura 2), esse componente é o terceiro mais abundante na parede celular vegetal, sendo sintetizada a partir da polimerização dos álcoois hidroxicinâmicos (p-cumarílico, coniferílico e sinapílico) (PALONEN, 2004).

O biopolímero de lignina desempenha várias funções nas plantas, dentre elas suporte estrutural à parede secundária de plantas vasculares conferindo resistência, torna a parede celular vegetal hidrofóbica, o que permite o desenvolvimento eficiente dos tecidos para transporte de água em plantas vasculares, e dar a característica de resistência contra ataques de microrganismos xilófagos. Sua complexidade estrutural apresenta-se como uma barreira à ação das celulasas e hemicelulasas produzidas por fungos lignocelulolíticos (LEE; MOON, 2003).

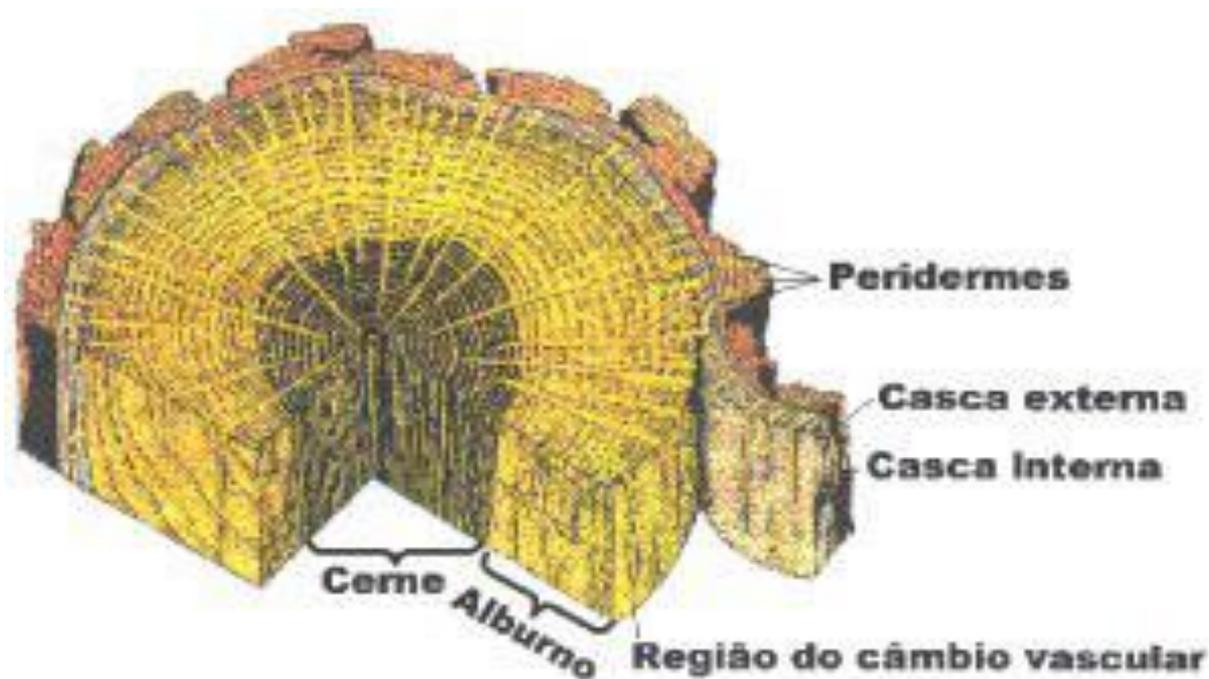
Figura 2. Estrutura química da lignina



Fonte: <https://afinkopolimeros.com.br/lignina-um-biopolimero-subestimado/>

Conhecer a estrutura da madeira é indispensável para sua utilização racional. Como apresenta na figura 3 as regiões do tronco compreendem, na sequência de fora para dentro, o súber ou felema representando a casca externa e o floema. Também pode-se observar na madeira a presença de câmbio e albúrnio, onde nesta região a madeira apresenta cor mais clara, leve e mais suscetível ao ataque de microrganismos. Em seguida também se encontra o cerne e medula. O cerne apresenta maior durabilidade natural comparado ao albúrnio devido a maior presença de metabólitos secundários de caráter tóxico para insetos e microrganismos (FABIYI et al., 2011; CHAOUCH et al., 2010).

Figura 3. Estrutura anatômica da madeira.



Fonte: <https://djalmasantos.wordpress.com/2010/09/26/alburno-e-cerne/amp/>

Segundo Maranhão et al 2013, a madeira apresenta também em sua composição outros componentes, além dos mencionados anteriormente, que correspondem a cerca de 4 a 10 % em compostos de baixa massa molecular, que são chamados de extrativos ou metabólitos secundários (MARANHÃO et al., 2013).

Dentre esses metabólitos destacam-se uma variedade de compostos hidrofílicos como os flavonoides e taninos. A madeira também possui substâncias de caráter lipofílicas como alguns terpenos e terpenoides, triglicerídeos, ácidos graxos, ácidos resínicos de diterpenoides e esteróis (SANTANA et al., 2010).

Os compostos fitoquímicos mencionados acima, são de extrema importância para a madeira. Porém fatores como solo, sazonalidade, dentre outros fatores bióticos e abióticos estão associados ao aumento ou diminuição de síntese destes extrativos (PAES, 2005).

3.2 Biodegradação como fator de risco para durabilidade da madeira

A madeira é um recurso renovável e de alta demanda, principalmente em construções civis, todavia, alguns problemas sérios podem influenciar na durabilidade da mesma. Dentre esses fatores que podem causar deformação de peças de madeira, destacam-se tanto o alto teor de umidade, como o crescimento de

microorganismos degradadores de madeiras (PLASCHKIES et al., 2014; LACERDA; MALAQUIAS; PERON, 2014; SCHMIDT et al., 2020).

Oliveira et al., (2010) relatam que os constituintes químicos da madeira, como lignina e celulose, são os principais alvos para a biodegradação ocasionada por fungos e abordam que uma das principais causas da baixa durabilidade de peças de madeiras está relacionada com o crescimento fúngico.

Os principais fungos degradadores de madeiras encontram-se entre os da família *Basidiomycota*, com aproximadamente 48.405 espécies descritas, especialmente do subfilo *Agaricomycotina*, os quais produzem enzimas lignocelulolíticas como *Fomitopsis cupreorosea*. Os fungos que são capazes de causar biodegradação em madeiras estão divididos em três grupos: fungos da podridão parda, podridão branca e podridão mole (BRISCHKE; HANSKE, 2016).

Os fungos da podridão parda tem por característica peculiar a capacidade de causar uma redução significativa da massa celular, enfraquecendo a estrutura da madeira degradando seletivamente os polissacarídeos, que compõem a parede celular, deixando a lignina intacta (TOMAK et al., 2013).

Estudos apontam que na Europa e EUA, cerca de 73 a 85 % dos casos de decaimento em estruturas de madeira estão relacionados com fungos de podridão parda. Espécies como *Gloeophyllum trabeum* e as do gênero *Scytinostroma* são representantes dessa classe (MONRROY et al., 2011; BECK; THYBRING; THYGESEN, 2018).

Os fungos da podridão branca são responsáveis pela degradação seletiva da lignina e celulose. Esses microrganismos secretam enzimas lignocelulolíticas capazes de polimerizar a lignina e modificar a constituição da lignina monomérica. Dentre as principais enzimas liberadas por esses fungos destacam-se a fenol oxidase, lignina peroxidase, manganese peroxidase e peroxidase versátil (RUDAKIYA; GUPTE, 2017).

Outras enzimas, que também podem ser liberadas por estes fungos são as celulasas e hemicelulasas que compreendem as celobio-hidrolases (CBH), endo-1,4-p-D-glucanases (EG), β -glucosidases (BGL), xilanases, β -glucanases, galactanases e oxidoredutases envolvidas na degradação da lignina (BRISCHKE; HANSKE, 2016; RUDAKIYA; GUPTE, 2017; KHEIRKHAH; HEJAZI; RAHIMI, 2020).

Alguns fungos pertencentes a podridão branca são mencionados em alguns estudos como *Gloeophyllum trabeum*, *Gloeophyllum sepiarium*, *Hyphodontia spathulata*, *Antrodia xantha*, *Serpula lacrymans*, *Antrodia vaillantii*, *Coniophora*

puteana e *Phanerochaete chrysosporium* (IRBE et al., 2014; GAO et al., 2018; SCHMIDT et al., 2020).

Os fungos da podridão mole podem estar envolvidos com a capacidade de degradar a lignina, porém de forma menos agressiva e limitada quando comparado aos fungos da podridão branca (KARUNASEKERA; TERZIEV; DANIEL, 2017).

Os fungos que causam podridão mole são representados principalmente por espécies dos gêneros *Trichoderma*, *Phialophora*, *Paecilomyces*, *Aspergillus*, bem como algumas espécies de *Xylaria* capazes de colonizar troncos, galhos e raízes de árvores. Esses fungos podem decompor a lignocelulose sem atingir mais profundamente o cerne. Esses microrganismos possuem mecanismos de decomposição que se assemelham tanto aos fungos de podridão parda, quando se limitam em degradar carboidratos da parede celular, e aos fungos de podridão branca por possuírem sistemas enzimáticos similares (BRISCHKE; HANSKE, 2016; KARUNASEKERA; TERZIEV; DANIEL, 2017).

3.3 “Resistência natural” das madeiras de lei

O termo “resistência natural” está atrelado com a capacidade das madeiras em resistir a biodegradação. Esta capacidade intrínseca está relacionada aos macrocomponentes, como a lignina, que a madeira possui em sua estrutura, que ajudam na sua robustez frente a agressores físicos e biológicos (OLIVEIRA et al., 2010).

Estudos relatam que a lignina está envolvida com a capacidade de fornecer mais resistência a madeira, ou seja, quanto maior o teor de lignina na madeira, mais resistência terá frente biodegradação (OLIVEIRA et al., 2010; MARANHÃO et al., 2013).

Embora os metabólitos secundários estejam em menor quantidade na constituição química da madeira, eles também são muito importantes para as plantas, pois são os principais envolvidos com os mecanismos de defesas contra o ataque microbiano e insetos (CHAOUCH et al., 2010).

Os compostos fenólicos são a classe de metabólitos secundários mais envolvidos com o processo de defesa das plantas frente ao ataque de fungos e insetos que se alimentam da madeira. Os taninos e flavonoides também estão intimamente relacionados com o desenvolvimento da planta e defesa contra infecções, e possuem forte ação antioxidante e antimicrobiana. A atividade antioxidante promovida pelos compostos fenólicos também está envolvida com a

ação antifúngica, uma vez que compostos antioxidantes podem interferir na ação de enzimas capazes de degradar a madeira (CABRERA; MORRELL, 2012; PLASCHKIES et al., 2014).

3.4 Correlação entre a atividade antioxidante e atividade antimicrobiana

Alguns pesquisadores abordam que plantas que possuem quantidades significativas de compostos fenólicos, apresentam potencial atividade antioxidante, como também atividade antimicrobiana (AADIL et al., 2014; MAHOMOODALLY et al., 2020; MURUGAN et al., 2020).

Dimech et al., (2013), identificaram a presença da astilbina, um flavonoide, nos extratos etanólico e hidroalcolólico e na fração aquosa, feitos a partir da casca do caule de *H. stigonocarpa*. Os autores supracitados, também avaliaram a atividade antibacteriana dos extratos e da fração aquosa frente a cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC 33591). Os resultados para Concentração Inibitória Mínima (MIC) variaram entre 64 e 256 µg / mL. O efeito antiestafilocócico apresentado pelas amostras, estava relacionado a presença de compostos fenólicos com características antioxidantes como a astilbina, segundo os autores.

Frações de acetato de etila e butanol obtidas a partir das folhas de *Ocotea lancifolia*, apresentaram 360 e 405 mg / g (EAG) de fenóis totais e atividade antioxidante com CI_{50} de 0,73 e 0,57 mg / mL. A pesquisa revelou a presença de quercetina-3-O-ramnosídeo e quercetina-3-O-glucosídeo em todas as amostras. Os colaboradores também observaram que a fração de acetato de etila na concentração a 4% foi eficaz para reduzir a ação de *Trametes versicolor* (fungo da podridão branca) e *Gloeophyllum trabeum* (fungo da podridão-marrom), responsáveis por causar biodegradação em peças de madeira (SILVA et al., 2017).

Os autores supracitados acima abordaram que a atividade antifúngica apresentada pela fração de acetato de etila estava correlacionada a presença dos fenóis, que também demonstraram expressiva atividade antioxidante.

Outro estudo também relatou que a ação antioxidante de alguns compostos flavônicos, tem correlação com a diminuição do crescimento de alguns microrganismos, como fungos que causam decaimento das madeiras. A ação antioxidante destes compostos como da astilbina e seus derivados podem interferir diretamente com a ação de enzimas essenciais a estes microrganismos (RUDAKIYA; GUPTE, 2017).

Enzimas como celulases, hemicelulases e algumas oxidoredutases liberadas por alguns fungos como *Phanerochaete chrysosporium*, envolvidas na degradação da celulose e da lignina, podem ser inibidas através de compostos fenólicos, que conseqüentemente podem impedir a digestão fúngica, tornando impossível a sobrevivência dos fungos (KHEIRKHAH; HEJAZI; RAHIMI, 2020).

Do ponto de vista sustentável, Sun et al., (2018) afirmam que é indispensável a exploração de abordagens efetivas para o processamento da madeira com intuito de diminuir a biodegradação e aumentar a vida útil das peças e seu valor comercial.

3.5 Métodos para avaliação da atividade antioxidante

Para avaliação da atividade antioxidante de alguns compostos, existem métodos eficazes relatados na literatura, como o método ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity), ensaio de redução do β -caroteno, o ensaio FRAP (ferric reducing antioxidant power), avaliação da atividade sequestradora do radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) e captura do radical 2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolína-6-ácido sulfônico) (ABTS). Dentre todos, o radical DPPH e o ABTS são os mais utilizados (MELO et al., 2020).

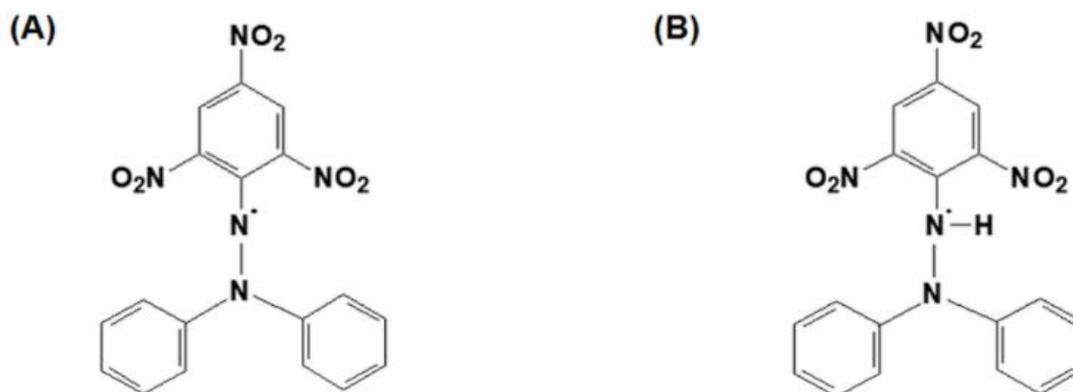
A importância da identificação de compostos com características antioxidantes, traz muitos benefícios, tanto para a saúde humana, quanto para outras aplicabilidades que envolvem a biodegradação e meio ambiente (OLIVEIRA et al., 2010; MARANHÃO et al., 2013; BARBOZA et al., 2018).

Os radicais livres são moléculas instáveis, que possuem elétrons desemparelhados sendo altamente reativos, todavia, o DPPH que também é um radical livre, mas que possui três anéis aromáticos que facilitam o processo de ressonância molecular é considerado uma molécula estável. O radical DPPH apresenta cor violeta tendo absorção na faixa de 515-520nm. A partir do momento que acontece uma redução do DPPH através de doação de hidrogênio de uma molécula antioxidante, a absorvância também é diminuída podendo ser observada no espectrofotômetro (SUCUPIRA et al., 2014; MOURA et al., (2015).

Segundo Barboza et al., (2018) a reação química entre a molécula de DPPH acontece quando um agente antioxidante doa um átomo de hidrogênio para o DPPH. Quando esta ligação acontece o DPPH é reduzido à hidrazina e simultaneamente a coloração violeta perde cor mudando para amarelo pálido de acordo com quantidade de hidrogênios capturados como representando na figura 4.

A análise com o radical DPPH, segundo Alves et al., (2010) e Pires et al., (2017) é um método bastante potente para analisar compostos de natureza hidrofílica, mas não tão eficaz para analisar substâncias de caráter lipofílico, sendo uma limitação do método.

Figura 4. Molécula de DPPH na forma radicalar (A) e na forma reduzida (B)

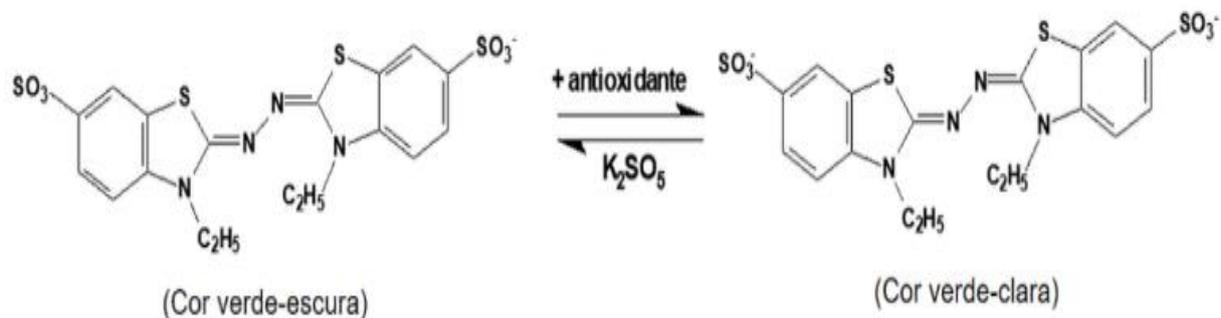


Fonte: <http://www.neplame.univasf.edu.br/atividade-antioxidante.html>

Outro método bastante utilizado para analisar a atividade antioxidante total é através da captura do radical 2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS). Este teste, ao contrário do DPPH, tem a capacidade de avaliar a atividade antioxidante de compostos de natureza lipofílica e hidrofílica, incluindo flavonoides e carotenoides (BARBOZA et al., 2018).

A formação do cátion radical ABTS, é gerada a partir da oxidação com persulfato de potássio que é reduzido na presença de antioxidantes doadores de hidrogênio. Quando o persulfato de potássio captura o cátion ABTS⁺ e o estabiliza à ABTS, é observado uma queda na absorvância, onde esta reação pode ser observada em espectrofotômetro a 734nm. As concentrações dos antioxidantes quanto da duração da reação sobre a inibição do radical (cátion) são levados em consideração na determinação deste teste (RUFINO et al., 2007).

Figura 5. Estabilização do radical ABTS⁺ por um antioxidante e a formação do ABTS pelo persulfato de potássio.



Fonte: <http://www.neplame.univasf.edu.br/atividade-antioxidante.html>

3.6 Atividades biológicas associadas ao gênero *Hymenaea*

Dentre algumas madeiras de lei existentes no Brasil, o gênero *Hymenaea*, pertencente à família *Fabaceae*, conhecido popularmente como Jatobá, vem sendo alvo de muitos estudos científicos, graças a sua variada composição fitoquímica, o que permite o uso desta planta para os mais variados fins (MARANHÃO et al., 2013).

A árvore do Jatobá pode ser encontrada desde o Piauí até o norte do Paraná na floresta semidecídua, em solos de média e alta fertilidade. De maneira geral são árvores de tamanhos variáveis que crescem geralmente de 8 a 15 metros de altura, todavia, podem ultrapassar os 20 metros (ADITYA et al., 2019).

A madeira do jatobá é pesada, com densidade de aproximadamente 0,96 g/cm³, com cerca de 9 % de umidade, alborno espesso, cerne com cores que vão do castanho claro ao avermelhado, superfície pouco lustrosa e pouco áspera com textura média e uniforme (VEGGI et al., 2014; LIMA et al., 2018).

A madeira de jatobá possui uma considerável resistência natural frente ao ataque de fungos e cupins. Dentre as espécies do jatobá, as mais conhecidas são *Hymenaea courbaril* e *Hymenaea stigonocarpa* (Figura 6), todavia, a *Hymenaea cangaceira* (espécie recém descoberta) também vem sendo alvos de estudos científicos (SANTANA et al., 2010; VERAS et al., 2020).

Figura 6. Árvore de Jatobá (*Hymenaea stigonocarpa*)

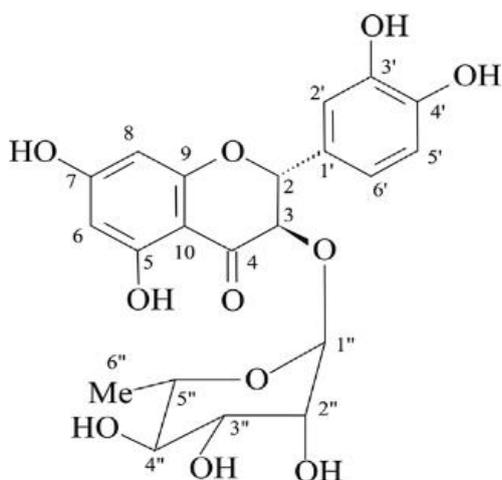


Fonte: <https://www.naturezabela.com.br/2011/06/jatoba-hymenaea-stigonocarpa-mart.html> htm

Dentre as atividades biológicas que foram identificadas em algumas espécies de *Hymenaea*, pode-se destacar atividade antioxidante, antimicrobiana, antidiarreica, gastroprotetora, anti-inflamatória, relaxante muscular, antiviral, antitermítica e larvicida (OLIVEIRA et al., 2010; CECÍLIO et al., 2012; ORSI et al., 2012; BEZERRA et al., 2013; DIMECH et al., 2013; MARANHÃO et al., 2013; ORSI; SEITO; DI STASI, 2014; VEGGI et al., 2014; BEZERRA-SILVA et al., 2015).

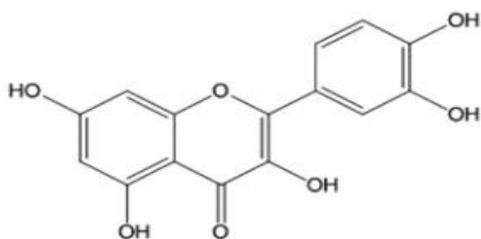
Corroborando com estes achados, Bezerra et al., (2013) isolaram astilbina (Figura 7) no extrato de acetato de etila, obtido a partir da casca do caule de *H. courbaril*. Os autores relataram que este flavonoide apresentou atividade relaxante muscular com cerca de 49,8 %.

Figura 7. Estrutura química da astilbina

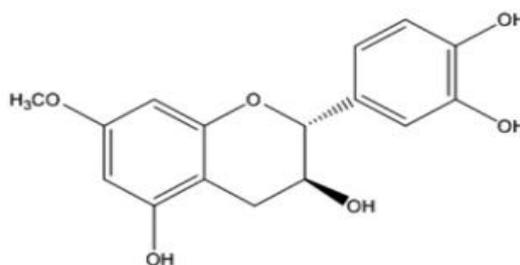


Fonte: BEZERRA et al., (2013)

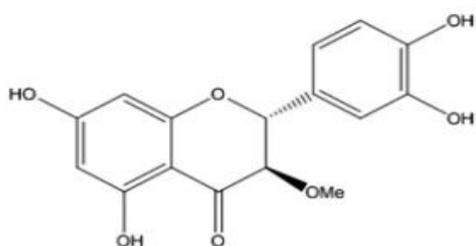
Maranhão et al., (2013) também isolaram quatro flavonoides do extrato de acetato de etila, obtido a partir do cerne de *H. stigonocarpa*. Os flavonoides (Figura 8) quercetina, 7-metoxicatequina, taxifolina e hultenina apresentaram atividade antioxidante com CE_{50} de 30,78, 54,85, 61,65 e 78,80 $\mu\text{g} / \text{mL}$, respectivamente. O extrato de acetato de etila na concentração de 100 mg / mL também apresentou atividade antermítica frente a cupins da espécie *Nasutitermes corniger*.

Figura 8. Estruturas químicas dos flavonoides isolados

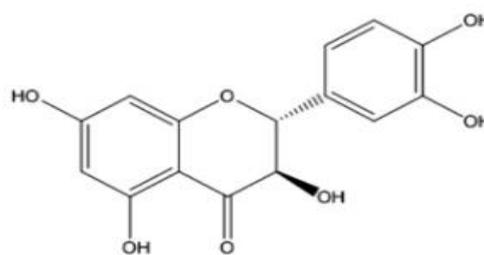
Hultenina (1)



taxifolina (2)



Quercetina (3)



7-metoxicatequina (4)

Fonte: Maranhão et al., 2013

Veras et al., (2020) avaliaram a composição fitoquímica do óleo essencial produzido a partir das folhas de *H. cangaceira* e identificaram cerca de 79,04 % de sesquiterpenos. Dentre eles Cariofileno (23,38 %) Germacreno (14,66 %), α -Guaieno (9,75 %), β -Elemeno (7,05 %), α -Copaeno (6,34 %) e α -Humuleno (4,65 %). Os colaboradores observaram que o óleo essencial de *H. cangaceira* apresentou 75 % de efeito antinociceptivo, atividade antioxidante com CE_{50} de 127,51 $\mu\text{g} / \text{mL}$ e atividade antimicrobiana com CIM variando entre 4 - 1024 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Coleta do material botânico

Hymenaea stigonocarpa Mart. foi coletada no município de Caxias, no estado do Maranhão e identificada pelo professor Gonçalo Moreira Conceição da Universidade Estadual do Maranhão (UEMA) e catalogada no Herbário Professor Aluizio Bittencourt (HABIT) da UEMA sob o nº 055. A parte da planta utilizada nesta pesquisa foi o cerne.

4.2 Obtenção dos extratos de *H. stigonocarpa*

O cerne de *H. stigonocarpa* (200 g), seco em estufa, foi triturado a um pó fino e em seguida submetido a extrações sucessivas com etanol durante 48 h com agitação manual ocasional. Após esse período foi realizada a filtração e o solvente evaporado em rotaevaporador. O resíduo foi submetido por mais duas vezes à extração com o mesmo solvente. Este processo foi repetido três vezes com o etanol (MARANHÃO et al., 2013).

Ao final do processo, os extratos tiveram seus rendimentos calculados a partir da equação:

$$Re = (P_{ext}/P_{mad}) \times 100$$

Onde:

Re = Rendimento total do Extrato

P_{ext} = Peso do extrato

P_{mad} = Peso da madeira

4.3 Estudo químico

4.3.1 Determinação do Teor de Umidade da madeira de *H. stigonocarpa*

Uma grama do pó de *H. stigonocarpa* foi pesado e colocado em estufa a $103 \pm 2^\circ\text{C}$ até massa constante. O teor de umidade foi determinado através da equação abaixo (MARANHÃO et al., 2013):

$$U\% = [(M_i - M_f / M_i) \times 100]$$

Onde:

U% - Teor de umidade da madeira em porcentagem;

M_i – Massa inicial da madeira em grama;

M_f – Massa da madeira seca em estufa a $103 \pm 2^\circ\text{C}$ em grama

4.3.2 Quantificação de fenóis totais

O conteúdo de fenóis totais foi determinado pelo método descrito por Li et al., (2008) com modificações. Para esse teste foi utilizado o extrato etanólico de *H. stigonocarpa* na concentração de 0,5 mg/mL (solução mãe). Uma alíquota de 500 μL da solução mãe foi colocada em um tubo tipo falcon contendo 1000 μL de solução de Folin-Ciocalteu na proporção de 1:10 v/v e protegidos da luz. Em seguida foi adicionado 1,5 mL de Na_2CO_3 na concentração de 7,5 %. Após esse processo, novamente o tubo tipo falcon com a solução foi protegido da luz a 21°C , por 120 min. Posteriormente, realizou-se a leitura no espectrofotômetro a 765 nm. A curva de calibração foi construída semelhante ao descrito acima, porém, com diluições seriadas do ácido gálico (0 – 500 $\mu\text{g} / \text{mL}$). Os fenóis totais foram indicados em equivalente grama de ácido gálico (mg EAG / g de extrato).

4.3.3 Quantificação de flavonoides totais

A mensuração do teor total de flavonoides foi realizada pelo método de Woisky e Salatino, (1998) com algumas modificações. Para esse teste foi utilizado o EECHs na concentração de 1 mg/mL (solução mãe). Em um tubo tipo falcon contendo 1 mL de solução de cloreto de alumínio 3 % (AlCl_3) foi adicionado 1 mL da solução mãe.

Em seguida, a solução foi mantida no escuro a 21°C por 30 minutos, Após este tempo, realizou-se a leitura no espectrofotômetro a 425 nm. A curva de calibração foi construída semelhante ao descrito acima, porém, com diluições seriadas da quercetina (500 µg/mL). Os flavonoides totais foram indicados em equivalente grama de quercetina (mg EQ / g de extrato). Todo o teste foi realizado em triplicata

4.3.4 Quantificação de taninos totais

A estimativa de Taninos Totais foi desenvolvida a partir do método de Azevêdo et al., (2017) com algumas modificações. Os taninos foram determinados pelo método de Folin-Ciocalteu. O volume de 0,1 mL da solução mãe (1mg / mL) do EECHs foi adicionado a um balão volumétrico de 10 mL contendo 7,5 mL de água destilada e 0,5 mL de reagente de Folin-Ciocalteu na proporção de 1:10 v / v . Em seguida, 1 mL de solução de carbonato de sódio a 3,5 % também foi adicionado ao balão. O volume de 10 mL foi completado com adição de água destilada. A mistura foi agitada e mantida à temperatura ambiente durante 30 minutos. Após o tempo de incubação a solução foi levada ao espectrofotômetro e lida a 700 nm. A curva de calibração foi construída semelhante ao descrito acima, porém, com diluições seriadas do Ácido Tânico (0 – 500 µg/mL). Os Taninos totais foram indicados em equivalente grama de Ácido Tânico (mg EAT / g de extrato). Todo o teste foi realizado em triplicata

4.3.5 Atividades antioxidantes

4.3.5.1 Avaliação da atividade sequestradora do radical DPPH

A capacidade antioxidante do extrato etanólico foi investigada através do radical estável DPPH, como descrito por Li et al., (2008). Foi realizada uma diluição em série a partir de 1 mg/mL do EECHs para obter-se as concentrações pré-estabelecidas de 7,8; 15,6; 31,3; 62,5; 125; 250; 500 e 1000 µg/mL. Em cada concentração foram adicionados 0,25 mL da solução DPPH. Posteriormente, a solução foi levada ao espectrofotômetro e a absorbância foi obtida em 517 nm. Como controle negativo foi utilizado uma solução de DPPH com água destilada. Como controle positivo foi utilizado uma solução de DPPH com o padrão Ácido Ascórbico em concentrações de 7,8; 15,6; 31,3; 62,5; 125; 250; 500 e 1000 µg/mL para

construção da curva de calibração. O sequestro dos radicais DPPH foi medido usando a equação: $DPPH (\%) = [(As - Ac) / Ac] \times 100$.

Onde:

As é a absorvância da amostra

Ac é a absorvância de controle.

4.3.5.2 Avaliação da atividade sequestradora do cátion radical ABTS^{•+}

O teste foi realizado de acordo com a metodologia descrita por Mariutti et al., (2008) O cátion radical ABTS^{•+} foi preparado pela mistura de uma solução de ABTS (7 mM) com uma solução de persulfato de potássio (140 mM) ambas em água destilada. A solução foi mantida no escuro à temperatura ambiente durante um período de 12 horas antes do uso. Então a solução do radical ABTS^{•+} foi diluída com etanol (1:100 v/v) até uma absorvância (A) de $0,7 \pm 0,05$ no comprimento de onda de 734 nm. O Extrato Etanólico de *Hymenaea stigonocarpa* foi diluído em concentrações seriadas de 7,8; 15,6; 31,3; 62,5; 125; 250; 500 e 1000µg/mL. Após a diluição, as soluções foram transferidas para tubos de ensaios, em seguida foram adicionados 270µL da solução de ABTS^{•+} e o volume completado para 300 µL com EtOH. O trolox foi utilizado como controle. As soluções foram mantidas sob agitação e após 6 minutos de reação, a absorvância das amostras e do padrão foram medidas em um espectrofotômetro de placa em comprimento de onda de 734nm. A porcentagem de atividade sequestradora (%AS) foi calculada pela equação:

$$\% AS = 100x (ABS_{controle} - ABS_{amostra})/ABS_{controle}$$

Onde:

ABScontrole é a absorvância do controle, contendo apenas a solução alcoólica do radical ABTS^{•+}.

ABSamostra é a absorvância do radical na presença do extrato, frações ou do padrão.

Todas as análises foram realizadas em triplicata e a eficiência antirradicalar foi estabelecida utilizando a análise de regressão linear e os resultados foram expressos através da $CE50 \pm E.P.M.$

4.4 Atividades biológicas

4.4.1 Atividade antifúngica

O fungo *Phanerochaete chrysosporium* da podridão branca foi obtido da Micoteca URM - UFPE. O fungo foi inoculado em meio Saboraund e incubado a 30 °C por 10 dias para crescimento. O meio é composto de 40 g/L de Dextrose, 10 g/L de Peptona, 20 g/L de Ágar, 1L de Água destilada e pH de 5,6, sendo esterilizado em autoclave por 1 hora.

4.4.1.1 Bioensaio da atividade antifúngica do extrato etanólico de *H. stigonocarpa*

O extrato etanólico de *H. stigonocarpa* foi pesado (1000, 100 e 10 mg) e diluído em 10 mL de álcool etílico (10 %), em seguida, cada solução foi homogeneizada em vórtex e adicionada a 290 mL de meio de cultura Saboraud perfazendo as concentrações finais de 1000, 100 e 10 µg / mL e novamente homogeneizada. Da solução meio de cultura e extrato, 20 mL foram vertidos em placa de Petri (9 cm de diâmetro). Após a solidificação do meio de cultivo os pré-inóculos de micélio fúngico foram transferidos para as novas placas e mantidos a 25° C ± 2 durante 16 dias (JESUS et al., 1998).

4.4.1.2 Determinação do crescimento micelial

A determinação do crescimento micelial foi medido em milímetros (mm) com um paquímetro manual no sentido horizontal da colônia nos períodos de incubação. As medidas foram realizadas nos tempos: 0 (será considerado o dia em que os fungos foram transferidos para o meio de cultura com extrato), 5, 10 e 15 dias após a incubação. A partir do valor médio do crescimento micelial radial (mm), foi calculada a área (cm²) da colônia do fungo de três repetições. Com base no valor médio das áreas (cm²) das colônias dos fungos, obtido no décimo sexto dia de incubação, foi

determinado o índice antifúngico (IAF), expresso em porcentagem, usando a fórmula descrita por Jesus et al., 1998: Todo o ensaio foi realizado em triplicata.

$$\text{IAF} = [1 - \{\text{Tratamento/Testemunha}\}] * 100$$

4.4.2 Teste de Citotoxicidade

A atividade citotóxica foi realizada frente a linhagens de células de fibroblastos murino (L929) e células epiteliais de rim de macaco verde (VERO). As células foram cultivadas em garrafas para cultura de células com DMEM suplementado com soro fetal bovino a 10 % (v/v) e antibióticos (penicilina e estreptomicina) a 1 % (p/v). As células foram mantidas em estufa a 37 °C em atmosfera úmida enriquecida com 5 % de CO₂.

O ensaio foi avaliado através do teste de MTT que se baseia na conversão do sal 3-(4,5-dimetil-2-tiazol)-2,5-difenil-2-H-brometo tetrazólio (MTT) em formazan, pela ação da enzima succinildesidrogenase presente na mitocôndria da célula viável (KEESEN et al., 2019).

As células VERO e L929 (10⁵ células/mL) foram plaqueadas em placas de 96 poços e incubadas por 24 h. Em seguida, 10 µL do EECHs dissolvido em DMSO foi adicionado aos poços em concentração final de 50 µg/mL. Após 72 h, foi adicionado 25 µL de MTT (5 mg/mL) e depois de 3 h de incubação, o meio de cultura com o MTT foram aspirados e 100 µL de DMSO foi adicionado a cada poço. A absorbância foi medida em um leitor de microplacas no comprimento de onda de 560 nm.

Os experimentos foram realizados em triplicata e a média da porcentagem de inibição e desvio padrão foram calculados. A diferença entre os valores das médias da viabilidade celular foi avaliada pela Anova one way e pós teste Tukey (p < 0,05) no programa *GraphPad Prism 7.0. demo*.

4.5 Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância e, quando sua interação for significativa, à regressão polinomial e aos testes de comparações múltiplas de Duncan serão realizados. Todos os testes serão considerados significância estatística com p < 0,05.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Estudo químico

5.1.1 Rendimento do processo de obtenção do extrato etanólico de *H. stigonocarpa*

A partir de 200 g do cerne triturado de *H. stigonocarpa* com extrações consecutivas de etanol o rendimento do extrato foi de 11,14 % indicando que a parte da planta utilizada, possui quantidades significativas de compostos fenólicos, corroborando também com os resultados encontrados no estudo de Santana et al., (2010), que também obtiveram extratos orgânicos a partir de 200 g de cerne *H. stigonocarpa* com metanol com 11,9 % de extrativos.

No estudo realizado por Dimech et al., (2013) também observou-se valores semelhantes de rendimento do extrato etanólico obtido a partir da casca do caule de *H. stigonocarpa*, com 11,99 %.

5.1.2 Determinação do teor de umidade do cerne de *H. stigonocarpa*

O teor de umidade do cerne de *H. stigonocarpa* também foi verificado e como resultado, apresentou valores de 9,313 % \pm 0,453. Maranhão et al., (2013) em seu estudo encontraram valores semelhantes para esta espécie. Estes autores, comparam o resultado do teor de umidade das madeiras das espécies *H. stigonocarpa* e *Delonix regia* e encontram resultados 9,60 e 13,0 %, respectivamente.

Veggi et al., (2014) em seu estudo utilizando a madeira de *H. courbaril*, observaram que o teor de umidade apresentado foi de 9,21 %, demonstrando que o gênero *Hymenaea* possui espécies promissoras, pois segundo alguns estudos, madeiras que apresentam teor de umidade abaixo de 20% tem probabilidade de ter vida útil mais longa quando comparadas com aquelas que apresentam alta concentração de água (OLIVEIRA et al., 2010; LIMA et al., 2018).

5.1.3 Quantificação de fenóis totais

O método de Folin-Ciocalteu foi utilizado para avaliar o teor de fenóis totais em 500 μ g de extrato etanólico de *H. stigonocarpa*, através da equação da reta ($y =$

$0,0009x + 0,0006$ e $R^2 = 0,9993$) que foi obtida a partir da curva padrão do ácido gálico e expressa em miligramas de equivalentes de ácido gálico (EAG)/g de extrato

Como resultado, o extrato etanólico de *H. stigonocarpa* apresentou $0,187 \pm 0,001$ mg EAG / g de fenóis totais. Segundo Bezerra-Silva et al., (2015) e Rudakiya, Gupte, (2017) uma planta que possui em sua composição teor significativo de compostos fenólicos, são mais resistentes ao ataque de fungos lignocelulolíticos, uma vez que a atividade antioxidante apresentada por estes compostos, podem inibir a ação das enzimas lacases e peroxidases, produzidas por tais fungos.

No estudo realizado por Oliveira et al., (2010) o extrato etanólico de *H. stigonocarpa* apresentou 0,248 mg EAG / g de fenóis totais. Os autores relataram que a quantidade de fenóis totais encontrados, pode ter sido responsável pela atividade antioxidante apresentada com 91 % de sequestro dos radicais DPPH.

Dimech et al., (2013) também analisaram o teor de fenóis totais presentes no extrato etanólico do caule de *H. stigonocarpa* e como resultado, os autores encontraram 7,26 mg GAE/g de fenóis totais. A diferença de resultados encontrados nos estudos de Dimech et al., (2013) e Oliveira et al., (2010) com o resultado encontrado nesta presente pesquisa pode estar relacionado com a parte da planta utilizada para se obter o extrato, bem como a época a qual a espécie foi coletada, solo, região e idade da planta. Estes fatores podem contribuir tanto para o aumento quanto a diminuição de metabólitos secundários segundo Veggi et al., (2014).

Todavia, vale ressaltar que os resultados encontrados nesta pesquisa, e nos estudos de Oliveira et al., (2010) e Dimech et al., (2013) elencam a grande importância do gênero *Hymenaea* e do bioma cerrado brasileiro, o que torna essas espécies de plantas bastantes promissoras do que concerne a produção de produtos biotecnológicos.

5.1.4 Quantificação de flavonoides totais

Os resultados encontrados foram elaborados a partir da equação da reta ($y = 0,0015x - 0,0186$ e $R^2 = 0,9987$) feita a partir da curva de calibração expressa em micrograma equivalente a Quercetina (EQ). Como resultado o extrato etanólico de *H. stigonocarpa* na concentração de 500 μ g apresentou concentração de $36,457 \pm 0,046$ μ g de flavonoides.

Esta classe de compostos está distribuída amplamente em várias espécies de plantas, principalmente por que estão envolvidos no processo de adaptação e

proteção dos vegetais. Os flavonoides possuem atividades biológicas como ação antioxidante e antifúngica (SANTANA et al., 2010).

Paes, (2005) e Ragon, Nicholas, Schultz (2008) relatam que a presença de flavonoides nas plantas, principalmente os flavonoides metoxilados, favorece o processo de resistência da planta ao ataque de cupins. Os autores também relatam que a ação antioxidante dos compostos flavônicos afastam os térmites das madeiras, uma vez que interferem na digestão da lignocelulose dos cupins.

Um estudo realizado por Maranhão et al., (2013) apresentou no extrato de acetato de etila, obtido a partir do cerne de *H. Stigonocarpa*, quatro tipos de flavonoides: quercetina, 7-metoxicatequina, taxifolina e hultenina. Os flavonoides foram testados isoladamente e apresentaram atividade antioxidante com CE_{50} de 30,78, 54,85, 61,65 e 78,80 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente. Dentre os flavonoides testados, a quercetina também apresentou atividade antitermítica.

Um estudo realizado por Santana et al., (2010) também verificou que o extrato de ciclohexano, obtido a partir do cerne de *H. stigonocarpa*, apresentou atividade antitermítica frente a espécie *Nasutitermes corniger*, induzindo a morte dos cupins em 4 dias ($CL_{50} = 11,9 \text{ mg / mL}$). Os autores associaram a atividade antitermítica principalmente aos flavonoides encontrados em *H. Stigonocarpa*.

Oliveira et al., (2010) também identificaram flavonoides no extrato etanólico de *H. stigonocarpa*. Neste estudo, os autores também verificaram que não houve o crescimento do fungo *Phanerochaete chrysosporium* no cerne da madeira, quando comparado ao grupo controle, evidenciando resistência natural. Este resultado, segundo os autores, estava associado a presença dos flavonoides

5.1.5 Quantificação de Taninos totais

O método de Folin-Ciocalteu também foi utilizado para avaliar quantitativamente o teor de taninos totais em 500 μg de extrato etanólico de *H. stigonocarpa*. Os resultados encontrados foram elaborados a partir da equação reta ($y = 0,0011x + 0,0012$ e $R^2 = 0,9915$) que foi feita a partir da curva de calibração expressa em micrograma equivalente a ácido tânico (EAT). Como resultado, o extrato etanólico de *H. stigonocarpa* apresentou concentração de $95,094 \pm 0,073 \mu\text{g}$ de taninos totais.

Os taninos, assim como os flavonoides, também fazem parte do grupo dos compostos fenólicos, devido a isto, também possuem forte atividade antioxidante. Esta classe de compostos, são conhecidos por sua forte ligação às proteínas e

inibição de enzimas digestivas. Essa ação de complexação com proteínas, é a responsável pelo mecanismo de ação de alguns inseticidas, impedindo a ação de proteínas importantes para funções vitais dos insetos. Os taninos também estão fortemente envolvidos com ação antifúngica e bactericida (DIMECH et al., 2013; VEGGI et al., 2014).

O extrato etanólico produzido a partir da casca do caule de *H. stigonocarpa*, analisada por Dimech et al., (2013) também apresentou taninos em sua composição. Os autores mensuraram 2,76 mg de taninos EAG no extrato etanólico.

Veggi et al., (2014) também relataram em seu estudo que a espécie *H. courbaril* apresentou concentração de 1,8 mg de taninos totais em 100 g de matéria prima. Dentre os taninos, também identificaram a presença de proantocianidinas, evidenciando a diversidade de compostos que fazem parte da composição fitoquímica do gênero *Hymenaea*.

5.1.6 Avaliação das atividades antioxidantes

Para o cálculo de porcentagem de inibição e CE_{50} da atividade antioxidante do extrato etanólico de *H. stigonocarpa* foi construída uma curva de calibração de ácido ascórbico para o DPPH (equação da reta $y = 0,0752x + 47,09$ e $R^2 = 0,9942$) e uma curva analítica do Trolox para o ABTS (equação da reta $y = 0,104x + 48,025$ e $R^2 = 0,9803$).

O extrato etanólico de *H. stigonocarpa* demonstrou atividade antioxidante promissora em ambos os testes. Para o DPPH, o extrato etanólico apresentou porcentagem de inibição de $80,186 \% \pm 0,114$ e CE_{50} de $56,340 \mu\text{g/mL}$. Já para o ABTS, o extrato etanólico apresentou inibição de $87,280 \% \pm 0,548$ e CE_{50} de $39,249 \mu\text{g/mL}$.

Como observado, o teste antioxidante com ABTS, demonstrou melhores resultados quando comparado ao DPPH. Segundo Alves et al., (2010) e Moura et al., (2015) o DPPH é bastante potente para sequestrar radicais hidrofílicos, porém, fraco para radicais lipofílicos, ao contrário do ABTS, que possui afinidade para ambos os radicais o que sugere dizer que a composição fitoquímica presente no extrato etanólico de *H. stigonocarpa* possui compostos com características variadas, todavia, com potencial atividade antioxidante.

Em relação ao DPPH Maranhão et al., (2013) analisaram o extrato de acetato de etila de *H. stigonocarpa* frente a atividade antioxidante. Segundo os autores, o extrato apresentou CE₅₀ de 9,95 µg/mL. Os autores relataram que a expressiva atividade antioxidante apresentada pelo extrato estava relacionada a presença de flavonoides como quercetina, 7-metoxicatequina, taxifolina e hultenina que de formas isoladas também apresentaram CE₅₀ de 30,78, 54,85, 61,65 e 78,80 µg/mL respectivamente.

Ainda sobre o estudo realizado por Maranhão et al (2013), os autores apresentam que o extrato de acetato de etila também foi ativo contra os cupins da espécie *N. corniger*, demonstrando aproximadamente 70 % de morte de todos os térmites. A quercetina isolada a partir deste extrato, também apresentou atividade antitermítica, com 55 % de morte dos cupins em 5 dias. Os autores relataram que a atividade antitermítica apresentada pelo extrato de acetato de etila e pela quercetina, teve correlação com a expressiva atividade antioxidante.

Já nos estudos de Oliveira et al., (2010) o extrato etanólico de *H. stigonocarpa* apresentou atividade antioxidante, com 91% de inibição dos radicais DPPH, apresentando valores aproximados com os achados desta pesquisa que apresentou 80,186% de inibição do DPPH.

Bezerra et al., (2013) também observou potencial antioxidante no extrato etanólico de *H. courbaril* com CE₅₀ de 3,07 µg / mL. A comparação entre as diferentes espécies de *Hymenaea*, demonstra que ambas as espécies possuem atividade antioxidante, bem como potencial biotecnológico para produção de produtos com esta finalidade.

Se tratando do teste antioxidante com o radical ABTS, um extrato etanólico produzido a partir da madeira seca de *Albizia myriophylla*, uma espécie pertencente à família *Fabaceae*, também demonstrou resultados antioxidantes significativos, com CE₅₀ de 57,14 µg / mL. A partir deste extrato, os autores também identificaram cinco compostos, incluindo ácido indenóico, 8-metoxi-7,3,4-trihidroxiflavona, 3,4,7,3-tetrahidroxiflavona, lupeol e estigmasta-5,22-dien-3-ona, β-sitosterol e estigmasterol, o enfatizando a importância das espécies pertencentes a família *Fabaceae* graças a sua variada composição fitoquímica com diversas aplicabilidades (BAKASATAE et al., 2018).

5.2 Atividades biológicas

5.2.1 Atividade antifúngica

Através das análises dos resultados do teste antifúngico, foi possível determinar os índices antifúngicos conforme apresentado na Tabela 1. O extrato etanólico de *H. stigonocarpa* foi avaliado frente ao fungo *Phanerochaete crhysosporium* e como resultado, observou-se que não houve crescimento fúngico nas concentrações de 100 e 1000 µg / mL durante 15 dias de análises. Todavia, foi observado que na concentração de 10 µg / mL no 5º dia o extrato inibiu em 33 % o crescimento fúngico em relação ao controle. Esta inibição foi reduzida ao longo do experimento de forma expressiva, atingindo aproximadamente 15% de inibição no 10º dia, e 4% no 15º dia, em relação ao controle.

Tabela 1: Índice antifúngico (IAF%) da colônia do fungo *Phanerochaete crhysosporium* exposto ao extrato etanólico de *H. stigonocarpa*.

ÍNDICE ANTIFÚNGICO (IAF%)

Fungo	Tempo (dias)	Concentração e % Índice de inibição		
		10 µg / mL	100 µg / mL	1000 µg / mL
<i>Phanerochaete crhysosporium</i>	5 ^o	33 %	0	0
	10 ^o	15 %	0	0
	15 ^o	4 %	0	0

Como observado, o maior índice de inibição do crescimento micelial dos fungos ocorreu nos 5 primeiros dias de exposição ao extrato etanólico de *H. stigonocarpa*, onde se observou a paralização do crescimento fúngico. Nos tempos seguintes os fungos apresentaram taxa de crescimento consideravelmente reduzida.

Vale salientar também que as colônias de fungos que foram tratadas com o extrato etanólico de *H. stigonocarpa*, bem como as colônias controles, apresentaram morfologia diferentes, sugerindo dizer que, além de atividade fungicida o extrato também pode causar mudanças na estrutura fúngica. Essa possível atividade biológica, pode estar atrelada aos compostos fitoquímicos encontrados nesta espécie, como os flavonoides e taninos, como sugere Maranhão et al (2013), que aborda que compostos como quercetina, taxifolina, 7-metoxicaquina e hultenina, presentes no cerne de *H. stigonocarpa* podem ser os principais envolvidos com atividades antioxidantes, antifúngica, antitermítica e larvicida.

Corroborando com estes achados, Oliveira et al., (2010) também observaram que *H. stigonocarpa* apresentou resistência natural a biodegradação causada pelo fungo *P. chrysosporium*. O cerne moído dessa planta quando em contato com o fungo em questão, impediu o crescimento deste microrganismo em sua superfície, deduzindo que os compostos presentes em *H. stigonocarpa* apresentam potencial atividade antifúngica, bem como evidenciam a importância das plantas encontradas no bioma cerrado que podem ser utilizadas para formulação de produtos com características antioxidantes e antifúngicas com aplicabilidades em madeiras de baixas durabilidades, imunizando-as contra o ataque de microrganismo xilófagos.

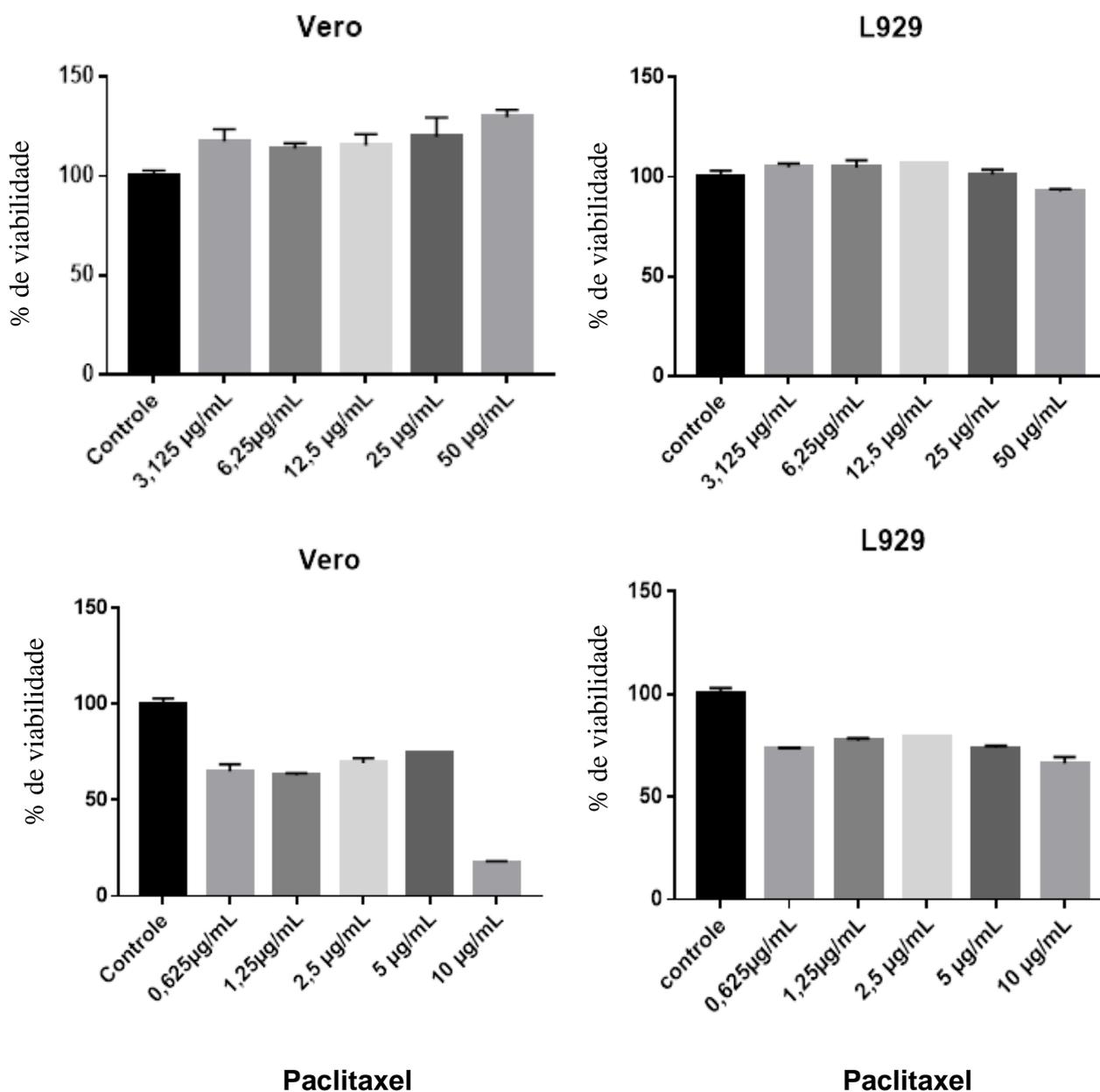
5.2.2 Atividade citotóxica

A análise da citotoxicidade *in vitro* é uma prática comum na avaliação biológica de produtos que são manipulados por humanos, como inseticidas, cupinidas, agrotóxicos, dentre outros, para garantir a segurança tanto para os humanos, quanto para os animais e o meio ambiente. Através da análise inicial da biocompatibilidade de compostos testados (extratos, óleos essenciais, moléculas químicas ou bioprodutos) expostos a uma cultura celular, é possível identificar reações citotoxicidade resultantes e verificar se o produto é seguro ou não (MASSON, LOMBELLO, 2016).

Com base nisto, para a análise de citotoxicidade do extrato etanólico de *H. stigonocarpa*, foram utilizadas duas linhagens de células normais (VERO e L929) que foram submetidas a concentrações seriadas do extrato variando entre 3,125 a 50 µg / mL (figura 9). Como resultado, o extrato etanólico de *H. stigonocarpa*, não apresentou citotoxicidade para as linhagens celulares testadas, quando comparado ao padrão utilizado (paclitaxel). As concentrações do extrato etanólico de *H. stigonocarpa* apresentaram diferenças significativas em relação ao controle para o teste de análise de variância (ANOVA) de uma via seguida pelo teste Tukey, considerando $p < 0,05$.

Vale salientar que as células da linhagem VERO, quando submetidas ao tratamento com o extrato etanólico de *H. stigonocarpa*, exibiram um aumento significativo da sua proliferação quando comparado ao grupo controle.

Figura 9: Porcentagem de viabilidade celular das linhagens VERO e L929 submetidas ao tratamento com o extrato etanólico de *H. stigonocarpa* nas concentrações de 3,125 a 50 µg / mL.



Os resultados encontrados ao longo desta pesquisa demonstram que o extrato etanólico de *H. stigonocarpa* apresenta potencial biotecnológico para formulação de produtos com possíveis atividades antioxidantes e antifúngicas, bem como sugere o uso seguro para utilização pelos humanos, uma que não apresentou citotoxicidade frente a linhagens de células normais.

6 CONCLUSÃO

O extrato testado apresenta potencial biotecnológico para formulação de produtos com finalidades antioxidantes e antifúngicas para o tratamento de madeiras de baixa durabilidade, fato que pode ser relacionado aos taninos e flavonoides encontrados em *H. stigonocarpa*. Todavia os resultados também são promissores no que diz respeito a segurança de sua utilização, uma vez que não apresentou citotoxicidade frente a linhagens de células normais.

Portanto, o presente trabalho apresentou que produtos naturais possuem compostos com capacidade antioxidantes e antimicrobianas, porém, faz-se necessário estudos futuros no intuito de elucidar em maiores detalhes como tais compostos podem afetar a fisiologia, morfologia e o crescimento dos fungos, com destaque as espécies que causam a biodegradação da madeira, dando maior respaldo a outras pesquisas que abordem as espécies de *Hymenaea*, colaborando assim para melhor utilização dos recursos do bioma cerrado brasileiro.

REFERÊNCIAS

- AADIL, K. R. et al. Free radical scavenging activity and reducing power of *Acacia nilotica* wood lignin. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 67, p. 220–227, 2014.
- ADITYA, J. P. et al. Ancient orphan legume horse gram: a potential food and forage crop of future. **Planta**, v. 250, n. 3, p. 891–909, 2019.
- ALVES, C. Q. et al. Métodos para determinação de atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos. **Química Nova**, v. 33, n. 10, p. 2202–2210, 2010.
- AZEVÊDO, T. K. B. DE et al. Teor de Taninos Condensados Presente na Casca de Jurema-Preta (*Mimosa tenuiflora*) em Função das Fenofases. **Floresta e Ambiente**, v. 24, n. 0, 2017.
- BAKASATAE, N. et al. Bioactive components, antioxidant, and anti-inflammatory activities of the wood of *Albizia myriophylla*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 28, n. 4, p. 444–450, 2018.
- BARBOZA, B. R. et al. Phytochemical bioprospecting, antioxidant, antimicrobial and cytotoxicity activities of saline extract from *Tithonia diversifolia* (Hemsl) A. Gray leaves. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 8, n. 5, p. 245–253, 2018.
- BECK, G.; THYBRING, E. E.; THYGESEN, L. G. Brown-rot fungal degradation and de-acetylation of acetylated wood. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 135, n. 1431, p. 62–70, 2018.
- BEZERRA-SILVA, P. C. et al. Extract of *Bowdichia virgilioides* and maackiain as larvicidal agent against *Aedes aegypti* mosquito. **Experimental Parasitology**, v. 153, p. 160–164, 2015.
- BEZERRA, G. P. et al. Phytochemical study guided by the myorelaxant activity of the crude extract, fractions and constituent from stem bark of *Hymenaea courbaril* L. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 149, n. 1, p. 62–69, 2013.
- BONIFACE, P. K.; BAPTISTA FERREIRA, S.; ROLAND KAISER, C. Current state of knowledge on the traditional uses, phytochemistry, and pharmacology of the genus *Hymenaea*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 206, p. 193–223, 2017.
- BRISCHKE, C.; HANSKE, M. Durability of untreated and thermally modified reed (*Phragmites australis*) against brown, white and soft rot causing fungi. **Industrial Crops and Products**, v. 91, p. 49–55, 2016.
- BRISOLARI, A. Estudo da molhabilidade em madeiras tropicais ou de reflorestamento por medidas de ângulo de contato e de permeabilidade [dissertação]. São Carlos: Universidade Federal de São Carlos, Universidade de São Paulo; 2008. 98 p.
- CABRERA, Y.; MORRELL, J. J. Use of totally carbon-based preservatives to improve the performance of naturally durable woods. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 70, p. 27–30, 2012.

- CECÍLIO, A. B. et al. Screening of Brazilian medicinal plants for antiviral activity against rotavirus. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 141, n. 3, p. 975–981, 2012.
- CHAOUCH, M. et al. Use of wood elemental composition to predict heat treatment intensity and decay resistance of different softwood and hardwood species. **Polymer Degradation and Stability**, v. 95, n. 12, p. 2255–2259, 2010.
- DIMECH, G. S. et al. Phytochemical and antibacterial investigations of the extracts and fractions from the stem bark of *Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex Hayne and effect on ultrastructure of *Staphylococcus aureus* induced by hydroalcoholic extract. **The Scientific World Journal**, v. 2013, 2013.
- FABIYI, J. S. et al. Effects of wood species on durability and chemical changes of fungal decayed wood plastic composites. **Composites Part A: Applied Science and Manufacturing**, v. 42, n. 5, p. 501–510, 2011.
- FLORESTAIS, S. D. I.; PODRIDÃO-MOLE, F. C. D. A. Resistência Natural De Nove Madeiras Do Semi-Árido. v. 29, p. 365–371, 2005.
- GAO, J. et al. Effect of thermal modification on the durability and decay patterns of hardwoods and softwoods exposed to soft rot fungi. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 127, n. July 2017, p. 35–45, 2018.
- GARCEZ, F. R. et al. The chemical diversity from the vegetation of Mato Grosso do Sul and its relevance as a source of bioactive molecules. **Revista Virtual de Quimica**, v. 8, n. 1, p. 97–129, 2016.
- IRBE, I. et al. Lignocellulolytic activity of *Coniophora puteana* and *Trametes versicolor* in fermentation of wheat bran and decay of hydrothermally modified hardwoods. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 86, p. 71–78, 2014.
- JESUS, M. A. et al. Durabilidade natural de 46 espécies de madeira amazônica em contato com o solo em ambiente florestal. **Scientia Forestalis/Forest Sciences**, n. 53, p. 81–92, 1998.
- KALALINIA, F.; KARIMI-SANI, I. **Anticancer Properties of Solamargine: A Systematic Review** *Phytotherapy Research*, 2017.
- KARUNASEKERA, H.; TERZIEV, N.; DANIEL, G. Does copper tolerance provide a competitive advantage for degrading copper treated wood by soft rot fungi? **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 117, p. 105–114, 2017.
- KEESEN, T. S. L. et al. Anti-Leishmania and cytotoxic activities of perillaldehyde epoxide synthetic positional isomers. **Natural Product Research**, v. 33, n. 17, p. 2536–2540, 2019.
- KHEIRKHAH, T.; HEJAZI, P.; RAHIMI, A. Effects of utilizing sawdust on non-ligninolytic degradation of high concentration of n-hexadecane by white-rot fungi: Kinetic analysis of solid-phase bioremediation. **Environmental Technology and Innovation**, v. 19, p. 100887, 2020.
- LACERDA, L. P.; MALAQUIAS, G.; PERON, A. P. Antiproliferative action of aqueous

extracts of *Hymenaea stigonocarpa* Mart. (Fabaceae) on the cell cycle of *Allium cepa* L. **Anais da Academia Brasileira de Ciencias**, v. 86, n. 3, p. 1147–1150, 2014.

LEE, K. B.; MOON, S. H. Electroenzymatic oxidation of veratryl alcohol by lignin peroxidase. **Journal of Biotechnology**, v. 102, n. 3, p. 261–268, 2003.

LI, H. BIN et al. Antioxidant properties in vitro and total phenolic contents in methanol extracts from medicinal plants. **LWT - Food Science and Technology**, v. 41, n. 3, p. 385–390, 2008.

LIMA, N. M. et al. Antifungal activity of extracts and phenolic compounds from *Deguelia duckeana*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 28, n. 6, p. 697–702, 2018.

MACÊDO, D. G. et al. Práticas terapêuticas tradicionais: Uso e conhecimento de plantas do cerrado no estado de Pernambuco (Nordeste do Brasil). **Boletim Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromaticas**, v. 14, n. 6, p. 491–508, 2015.

MACÊDO, M. J. F. et al. Fabaceae medicinal flora with therapeutic potential in Savanna areas in the Chapada do Araripe, Northeastern Brazil. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 28, n. 6, p. 738–750, 2018a.

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

MAHOMOODALLY, M. F. et al. Phenolic compounds analysis of three *Euphorbia* species by LC-DAD-MSn and their biological properties. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 189, 2020.

MARANHÃO, C. A. et al. Antitermitic and antioxidant activities of heartwood extracts and main flavonoids of *Hymenaea stigonocarpa* Mart. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 79, p. 9–13, 2013.

MARÍN-OCAMPO, L. et al. Anti-inflammatory activity of triazine derivatives: A systematic review. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 162, p. 435–447, 2019.

MARIUTTI, L. R. B. et al. Free radical scavenging activity of ethanolic extracts from herbs and spices commercialized in Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 51, n. 6, p. 1225–1232, 2008.

MASARIN, F. et al. Chemical composition and enzymatic digestibility of sugarcane clones selected for varied lignin content. **Biotechnology for Biofuels**, v. 4, p. 1–10, 2011.

MELO, C. M. L. et al. Lignin isolated from *Caesalpinia pulcherrima* leaves has antioxidant, antifungal and immunostimulatory activities. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 162, p. 1725–1733, 2020.

MONRROY, M. et al. Structural change in wood by brown rot fungi and effect on

enzymatic hydrolysis. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 49, n. 5, p. 472–477, 2011.

MONTANA, M. et al. Antitumoral activity of quinoxaline derivatives: A systematic review. **European Journal of Medicinal Chemistry** Elsevier Masson SAS, , 2019.

MOURA, F. A. et al. Antioxidant therapy for treatment of inflammatory bowel disease: Does it work? **Redox Biology**, 2015.

MURUGAN, M. et al. Antagonistic and antioxidant potencies of *Centrosema pubescens* benth extracts against nosocomial infection pathogens. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 29, n. July, p. 101776, 2020.

MUTHU, C. et al. Larvicidal activity of pectolinarigenin from *Clerodendrum phlomidis* L. against *Culex quinquefasciatus* Say and *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). **Parasitology Research**, v. 111, n. 3, p. 1059–1065, 2012.

OLIVEIRA, A. C. et al. Vegetals as natural sources of antioxidants. **Quimica Nova**, v. 32, n. 3, p. 689–702, 2009.

OLIVEIRA, F. et al. Influence of the extractive method on the recovery of phenolic compounds in different parts of *Hymenaea martiana* hayne. **Pharmacognosy Research**, v. 8, n. 4, p. 270–275, 2016.

OLIVEIRA, L. S. et al. Natural resistance of five woods to *Phanerochaete chrysosporium* degradation. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 64, n. 8, p. 711–715, 2010.

PALONEN, H. 2004. Role of lignin in the enzymatic hydrolysis of lignocellulose. VTT: Espoo, 80 p

ORSI, P. R.; SEITO, L. N.; DI STASI, L. C. *Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex Hayne: A tropical medicinal plant with intestinal anti-inflammatory activity in TNBS model of intestinal inflammation in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 151, n. 1, p. 380–385, 2014.

PINTO, R. B. et al. On the “Cangaço” route: a new species of *Hymenaea* (Leguminosae) from the Brazilian Caatinga. **Kew Bulletin**, v. 72, n. 3, 2017.

PIRES, J. et al. Ensaio em microplaca do potencial antioxidante através do método de sequestro do radical livre DPPH para extratos de algas. **Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo**, p. 6, 2017.

PLASCHKIES, K. et al. Investigations on natural durability of important European wood species against wood decay fungi. Part 1: Laboratory tests. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 90, p. 52–56, 2014.

PLUEMPANUPAT, S. et al. Laboratory evaluation of *Dalbergia oliveri* (Fabaceae: Fabales) extracts and isolated isoflavonoids on *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) mosquitoes. **Industrial Crops and Products**, v. 44, p. 653–658, 2013.

RAGON, K. W.; NICHOLAS, D. D.; SCHULTZ, T. P. Termite-resistant heartwood: The

- effect of the non-biocidal antioxidant properties of the extractives (Isoptera: Rhinotermitidae). **Sociobiology**, v. 52, n. 1, p. 47–54, 2008.
- RODRIGUES ORSI, P. et al. *Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex Hayne: A Brazilian medicinal plant with gastric and duodenal anti-ulcer and antidiarrheal effects in experimental rodent models. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 143, n. 1, p. 81–90, 2012.
- RUDAKIYA, D. M.; GUPTE, A. Degradation of hardwoods by treatment of white rot fungi and its pyrolysis kinetics studies. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 120, p. 21–35, 2017.
- RUFINO, M. DO S. et al. ISSN 1679-6535 Julho, 2007 Fortaleza, CE. p. 0–3, 2007.
- SÁ, R. A. et al. Antioxidant, Fusarium growth inhibition and *Nasutitermes corniger* repellent activities of secondary metabolites from *Myracrodruon urundeuva* heartwood. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 63, n. 4, p. 470–477, 2009.
- SANTANA, A. L. B. D. et al. Antitermitic activity of extractives from three Brazilian hardwoods against *Nasutitermes corniger*. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 64, n. 1, p. 7–12, 2010.
- SCHMIDT, G. et al. Fungal deterioration of a novel scrimber composite made from industrially heat treated African highland bamboo. **Industrial Crops and Products**, v. 147, n. September 2019, p. 112225, 2020.
- SILVA, P. M. F. DA et al. Anatomical and histochemical characterization of *Dipteryx odorata* and *Taralea oppositifolia*, two native Amazonian species. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 29, n. 4, p. 425–433, 2019.
- SILVA, D. T. et al. Physicochemical characterization of leaf extracts from *Ocotea lancifolia* and its effect against wood-rot fungi. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 117, p. 158–170, 2017.
- SUN, Y. et al. Nutrient-enhanced n-alkanes biodegradation and succession of bacterial communities. **Journal of Oceanology and Limnology**, v. 36, n. 4, p. 1294–1303, 2018.
- TOMAK, E. D. et al. An FT-IR study of the changes in chemical composition of bamboo degraded by brown-rot fungi. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 85, p. 131–138, 2013.
- VEGGI, P. C. et al. Obtaining phenolic compounds from jatoba (*Hymenaea courbaril* L.) bark by supercritical fluid extraction. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 89, p. 68–77, 2014.
- VEGGI, P. et al. Extraction of Polyphenols and Anthocyanins from the Jambul (*Syzygium cumini*) Fruit Peels. **Food and Public Health**, v. 3, n. 3, p. 119–129, 2013.
- VERAS, B. O. et al. Chemical composition and evaluation of the antinociceptive, antioxidant and antimicrobial effects of essential oil from *Hymenaea cangaceira* (Pinto,

Mansano & Azevedo) native to Brazil: A natural medicine. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 247, n. August 2019, p. 112265, 2020.

VIEIRA, L. S.; SOUSA, R. S.; LEMOS, J. R. Plantas medicinais conhecidas por especialistas locais de uma comunidade rural maranhense. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 17, n. 4, p. 1061–1068, 2015.

WOISKY, R. G.; SALATINO, A. Analysis of propolis: Some parameters and procedures for chemical quality control. **Journal of Apicultural Research**, v. 37, n. 2, p. 99–105, 1998.

YENESEW, A. et al. Antiplasmodial and larvicidal flavonoids from *Derris trifoliata*. **Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia**, v. 23, n. 3, p. 409–414, 2009.

APÊNDICES

APÊNDICE A – CURVAS ANALÍTICAS DO ÁCIDO GÁLICO, QUERCETINA E ÁCIDO TÂNICO

Gráfico 1. Curva analítica do Ácido Gálico (0-500µg/mL) para quantificação do teor de fenóis totais em 500mg do extrato etanólico de *H. stigonocarpa*.

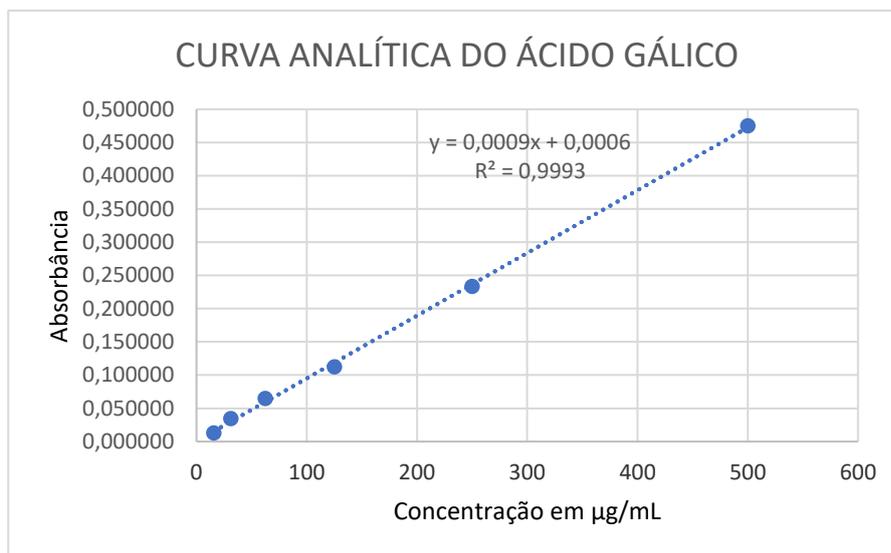


Gráfico 2. Curva analítica da Quercetina (0-500µg/mL) para quantificação do teor de flavonoides totais em 500mg do extrato etanólico de *H. stigonocarpa*.

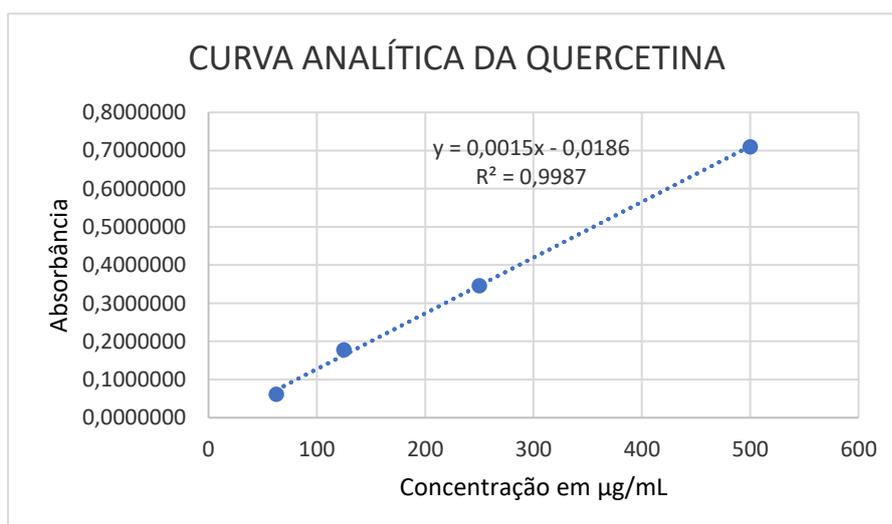


Gráfico 3. Curva analítica do Ácido Tânico em concentrações seriadas (0-500 µg/mL) para quantificação do teor de taninos totais em 500mg do extrato etanólico de *H. stigonocarpa*..

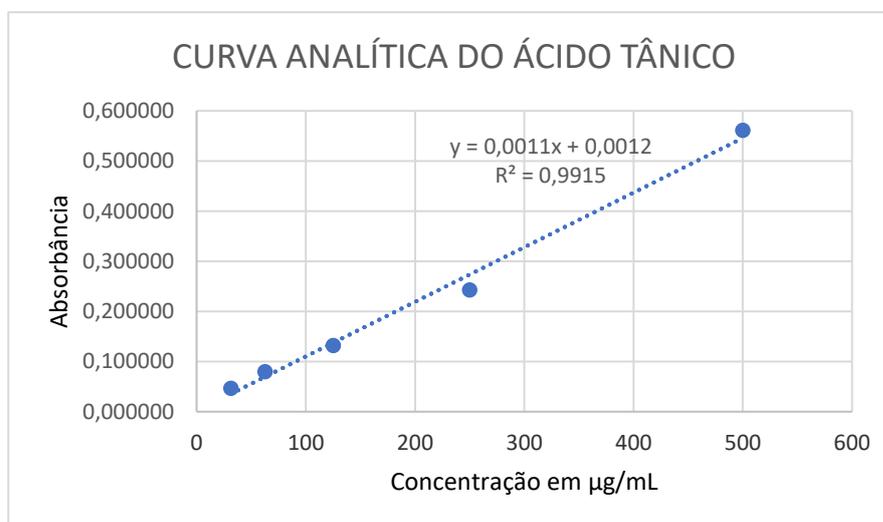
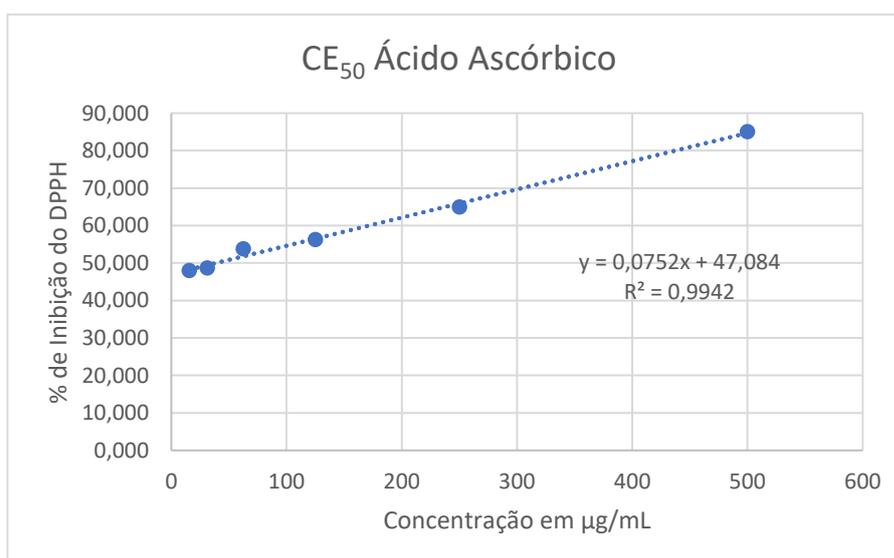


Gráfico 4. Curva analítica do Ácido ascórbico (vitamina C) e do extrato etanólico em concentrações seriadas (0-500 µg/mL) para avaliação da atividade antioxidante verificação da CE₅₀, através do método DPPH.



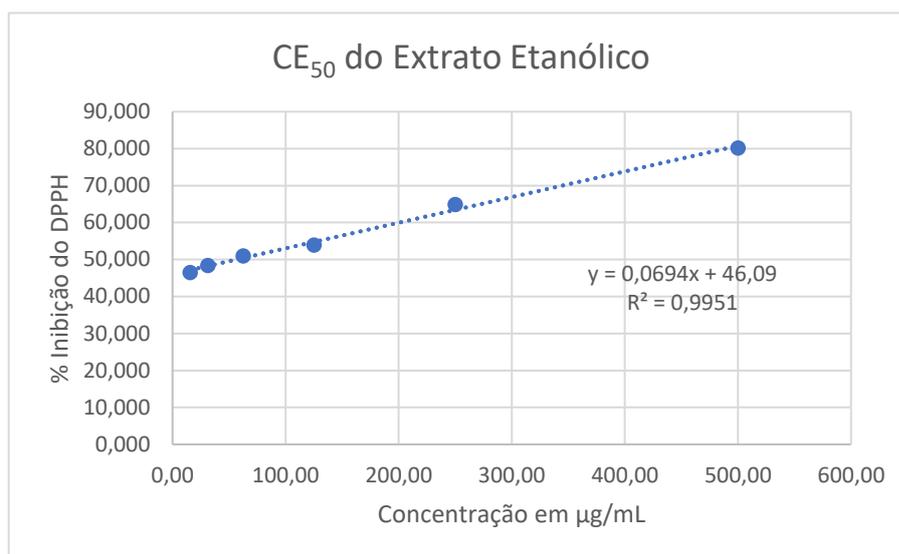
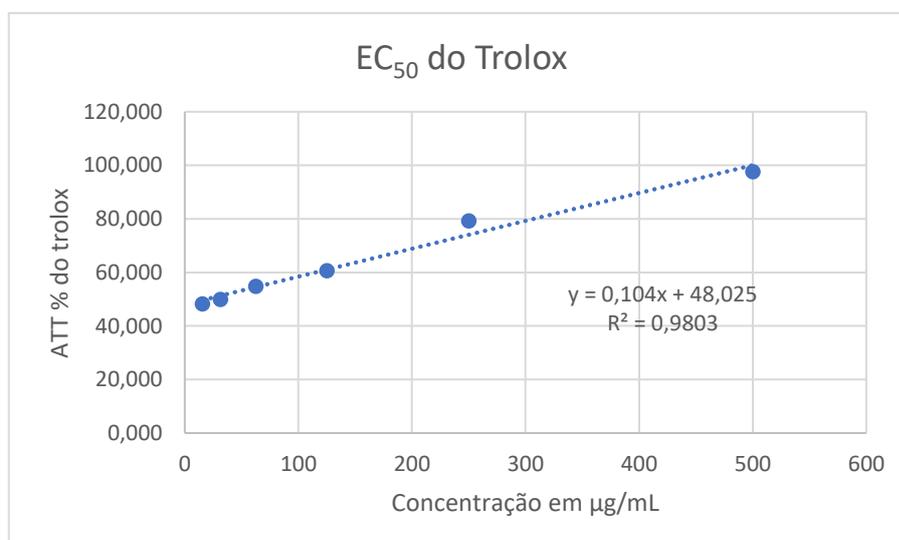
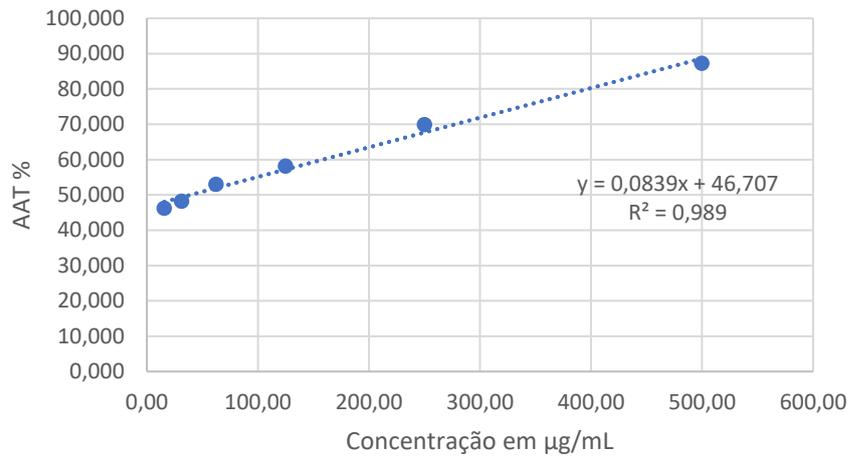


Gráfico 5. Curva analítica do Trolox (vitamina E) e do extrato etanólico em concentrações seriadas (0-500 µg/mL) para avaliação da atividade antioxidante pelo método ABTS.

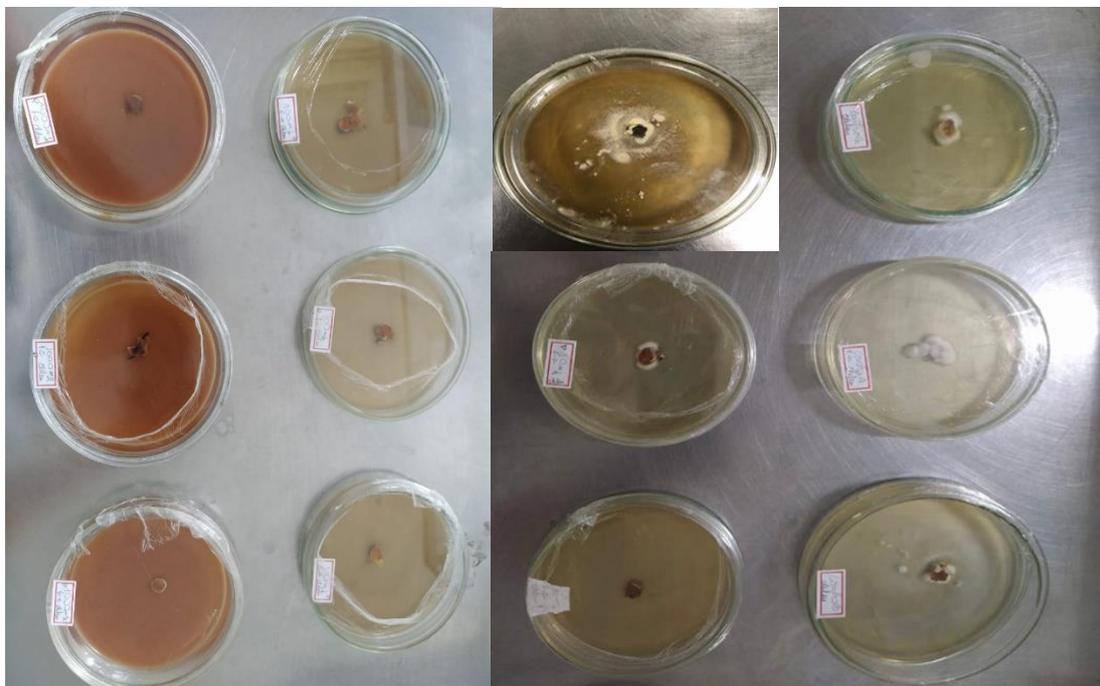


EC₅₀ extrato etanólico



APENDICE B – RESULTADOS DA ANÁLISE ANTIFÚNGICA DO EXTRATO ETANÓLICO DE *Hymenaea stigonocarpa*, FRENTE AO FUNGO *Phanerochaete crhysosporium*

Resultados do índice antifúngico no 5º dia.



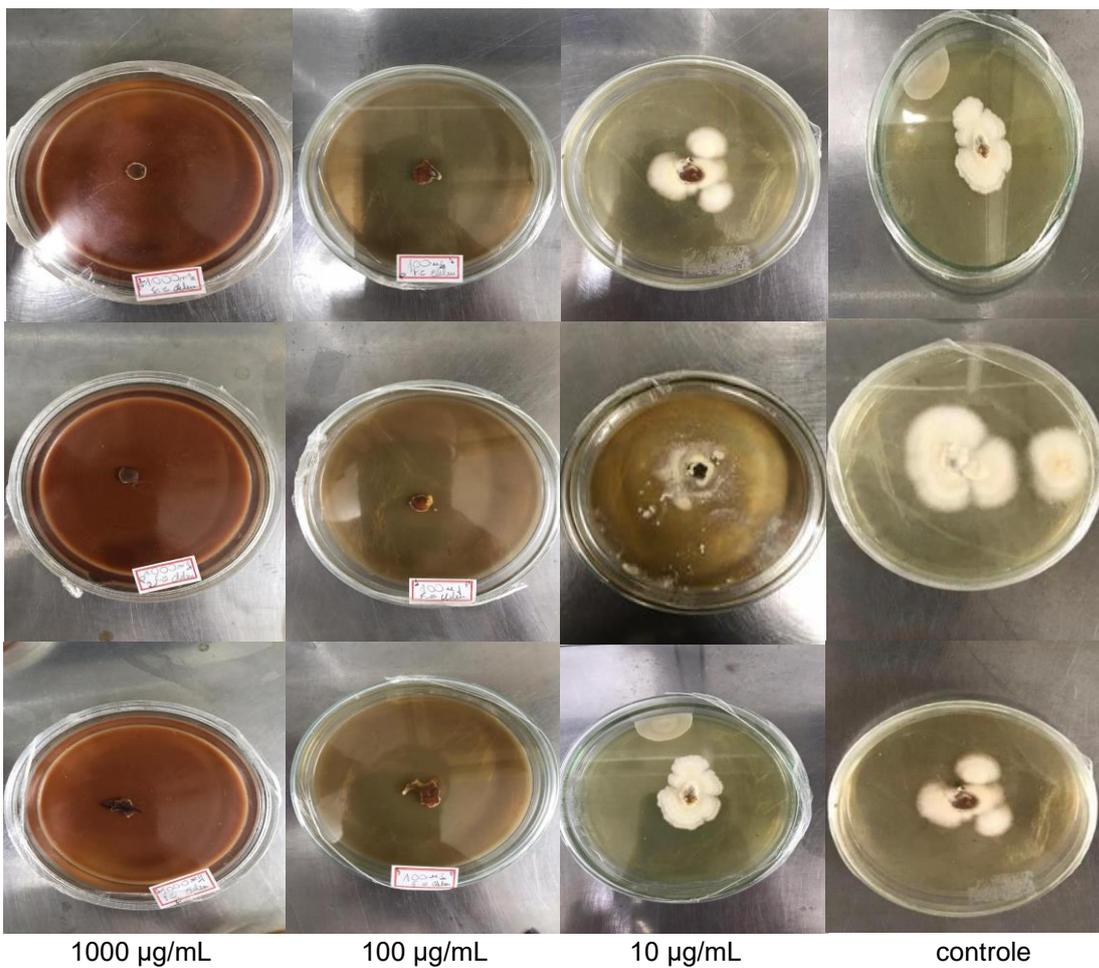
1000 µg/mL

100 µg/mL

10µg/mL

controle

Resultados do índice antifúngico no 10º dia.



Resultados do índice antifúngico no 15º dia.

