UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS
Campus de Palmas – TO
Programa de Pós-Graduação Mestrado
Profissional em Ciências da Saúde

FELIPE OLIVEIRA NEVES

ANÁLISE DE RISCO TOXICOLÓGICO DOS EXTRATOS DE FOLHA E RAIZ DE *CLITORIA GUIANENSIS* (AUBL.) BENTH VAR. *GUIANENSIS*: CONTRIBUIÇÕES PARA A MEDICINA TRADICIONAL

PALMAS – TO
2024

FELIPE OLIVEIRA NEVES

ANÁLISE DE RISCO TOXICOLÓGICO DOS EXTRATOS DE FOLHA E RAIZ DE *CLITORIA GUIANENSIS* (AUBL.) BENTH VAR. *GUIANENSIS*: CONTRIBUIÇÕES PARA A MEDICINA TRADICIONAL

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da UFT. Foi avaliada para obtenção de qualificação para defesa de tese de mestrado e aprovada em sua forma final pelo orientador e pela Banca Examinadora.

Orientador: Prof. Dr. Raphael Sanzio Pimenta

Coorientador: Prof. Ms. Magno de Oliveira

PALMAS – TO

2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Tocantins

N518a Neves, Felipe Oliveira.

Análise de risco toxicológico dos extratos de folha e raiz de clitoria guianensis (aubl.) benth var. guianensis: contribuições para a medicina tradicional. / Felipe Oliveira Neves. – Palmas, TO, 2024.

77 f.

Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade Federal do Tocantins – Câmpus Universitário de Palmas - Curso de Pós-Graduação (Mestrado) em Ciências da Saúde, 2024.

Orientador: Prof. Dr. Raphael Sanzio Pimenta

Coorientador: Prof. Ms. Magno de Oliveira

1. Clitoria guianense. 2. Etnobotânica. 3. Atividade Antimicrobiana. 4. Atividade Anti-inflamatória. I. Título

CDD 610

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de qualquer forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado desde que citada a fonte. A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184 do Código Penal.

Elaborado pelo sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFT com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

FELIPE OLIVEIRA NEVES

ANÁLISE DE RISCO TOXICOLÓGICO DOS EXTRATOS DE FOLHA E RAIZ DE *CLITORIA GUIANENSIS* (AUBL.) BENTH VAR. *GUIANENSIS*: CONTRIBUIÇÕES PARA A MEDICINA TRADICIONAL

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da UFT. Foi avaliada para obtenção de qualificação para defesa de tese de mestrado e aprovada em sua forma final pelo orientador e pela Banca Examinadora.

Orientador: Prof. Dr. Raphael Sanzio Pimenta

Coorientador: Prof. Ms. Magno Oliveira

Data de aprovação: 14/10 /2024.

Banca Examinadora

_____

Prof. Dr. Flavio Augusto de Pádua Milagres, UFT

_____

Prof. Dr. Arison José Pereira, UNITINS

_____

Profa. Dra. Karine Queiroz Poletto.

PALMAS – TO

2024

Dedico esta pesquisa aos povos ribeirinhos, quilombolas e indígenas do centro-sul do Estado do Tocantins e do norte do Estado de Goiás, cujos conhecimentos tradicionais e práticas etnobotânicas inspiraram e fundamentaram este estudo. Agradeço profundamente pela generosidade em compartilhar seu saber ancestral, que tem sido essencial para a compreensão e valorização da Clitoria guianensis.

À minha esposa Isabelle e aos meus filhos Pedro Martiniano e João Antônio, pelo apoio incondicional e incentivo constante ao longo de minha trajetória acadêmica, e aos meus amigos e colegas, pela colaboração e encorajamento nos momentos desafiadores.

Por fim, dedico este trabalho ao meu orientador Dr. Raphael Sanzio Pimenta e coorientador Magno de Oliveira e demais professores, cujas orientações e ensinamentos foram imprescindíveis para a realização desta pesquisa. Que este estudo contribua para o avanço científico e para a valorização das práticas tradicionais de nossa região.

Felipe Oliveira Neves.

"Como pode um peixe vivo viver fora da água fria.
Como poderei viver sem a tua companhia. "

Autor Desconhecido.

AGRADECIMENTOS

A realização desta pesquisa não teria sido possível sem a presença de Deus em minha vida, sem o apoio incondicional da minha esposa Isabelle e dos meus dois presentes de Deus, Pedro Martiniano e João Antônio e a colaboração de diversas pessoas e instituições, às quais expresso minha mais profunda gratidão.

Agradeço primeiramente ao meu orientador Dr. Raphael Sanzio Pimenta e Coorientador, Magno de Oliveira, pela paciência e valiosas contribuições ao longo de todo o processo de pesquisa. Suas orientações foram essenciais para a concretização deste trabalho.

Agradeço também à Universidade Federal do Tocantins, e a Pró-reitoria de Pesquisa e Pós-graduação e ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, campus Palmas e campus Gurupi, pelo suporte institucional e pelos recursos disponibilizados, que foram imprescindíveis para a execução desta pesquisa.

A Universidade de Gurupi UNIRG por permitir que eu usufruísse de seu suporte institucional.

Aos meus colegas e amigos, pelo apoio moral e pelas discussões enriquecedoras que contribuíram para o aprimoramento deste estudo.

Felipe Oliveira Neves

RESUMO

Clitoria guianensis (Aubl.) Benth var. *Guianensis* é utilizada com finalidades cicatrizantes, anti-inflamatórias e estimulantes sexuais, conforme indicado por estudos etnobotânicos regionais. Sua utilização predomina no centro-sul do Estado do Tocantins e na região norte do Estado de Goiás. Pertencente ao filo *Tracheophyta*, Classe *Magnoliopsida*, Ordem *Fabales*, Família *Fabaceae*, Gênero *Clitoria*, Espécie *Clitoria guianensis*, é uma planta frequentemente empregada por comunidades ribeirinhas, quilombolas e indígenas, embora sua eficácia, dosagem e potenciais efeitos colaterais careçam de respaldo científico. Os materiais vegetais coletados foram divididos por partes da planta, pesados frescos (278g de raiz e 640g de folhas) e secos (240g de raiz e 630g de folhas), seguidos de moagem em moinho. Foram selecionados 100g de extrato seco de raiz e 100g de folhas para proceder à etapa de Etanolização, utilizando o método de maceração com álcool a 99,5%, sendo 900ml para raiz e 900ml para folha. Realizou-se a rotaevaporação, resultando em 620ml de extrato concentrado de raiz e 725ml de folhas. A etapa seguinte consistiu na liofilização a 40 °C e vácuo de 1.300 mmHg, resultando em pó liofilizado, com 25g para folhas e 7,5g para raiz, para efetuar os testes propostos. Foram realizados testes de Concentração Inibitória Mínima (CIM) com as bactérias *Escherichia coli* (Gram-negativa), *Staphylococcus aureus* (Gram-positiva) e *Candida albicans* (fungo). Os testes de toxicidade foram feitos com broto de alface e com o crustáceo *Artemia* salina, além do teste de fragilidade osmótica com hemácias humanas. Os microrganismos foram cultivados em meios de cultura específicos. Os resultados em relação à CIM sugerem uma não interferência significativa de atividade inibitória contra as bactérias *Escherichia coli, Staphylococcus aureus* e o fungo *Candida albicans*, mesmo em concentrações elevadas dos extratos de folha e raiz. No bioensaio com *Lactuca sativa*, avaliaram-se os potenciais efeitos dos extratos de *Clitoria guianensis* no crescimento e desenvolvimento radicular. Embora os resultados ainda não estejam disponíveis, este método fornece informações valiosas sobre os impactos das substâncias testadas no desenvolvimento das plantas, fundamentais para práticas agrícolas sustentáveis e proteção do meio ambiente e da saúde humana. Em relação ao perfil de toxicidade à *Artemia* salina, os testes demonstraram uma CL50 extremamente alta, sugerindo baixa toxicidade dos extratos diluídos. Quanto à avaliação da fragilidade osmótica, observou-se uma semelhança no padrão de estabilidade das hemácias, mesmo em diferentes concentrações dos extratos. Em suma, este estudo sugere que, apesar do uso tradicional da *Clitoria guianensis* para diversas finalidades terapêuticas, os extratos da planta mostraram pouca atividade antimicrobiana e baixa toxicidade em modelos experimentais. Os resultados indicam a necessidade de pesquisas complementares para esclarecer o potencial terapêutico e os mecanismos de ação da *Clitoria guianensis*, validando suas aplicações tradicionais e promovendo práticas sustentáveis na agricultura e na saúde.

Palavras-chave: *Clitoria guianense,* Etnobotânica, Toxicidade, Atividade Antimicrobiana, Atividade Anti-inflamatória.

ABSTRACT

Clitoria guianensis (Aubl.) Benth var. *guianensis* is used for wound healing, anti-inflammatory, and sexual stimulant purposes, as indicated by regional ethnobotanical studies. Its use predominates in the central-southern region of the State of Tocantins and the northern region of the State of Goiás. Belonging to the phylum *Tracheophyta*, class *Magnoliopsida*, order *Fabales*, family *Fabaceae,* genus *Clitoria,* species *Clitoria guianensis*, it is a plant frequently employed by riverside, quilombola, and indigenous communities, although its efficacy, dosage, and potential side effects lack scientific support. The collected plant materials were divided by plant parts, weighed fresh (278g of root and 640g of leaves) and dry (240g of root and 630g of leaves), followed by grinding in a mill. 100g of dry root extract and 100g of leaves were selected to proceed to the ethanolization stage, using the maceration method with 99.5% alcohol, 900ml for the root and 900ml for the leaf. Rotavaporation was performed, resulting in 620ml of concentrated root extract and 725ml of leaves. The next step consisted of lyophilization at 40°C and a vacuum of 1,300 mmHg, resulting in lyophilized powder, with 25g for leaves and 7.5g for root, to carry out the proposed tests. Minimum Inhibitory Concentration (MIC) tests were carried out with the bacteria *Escherichia coli* (Gram-negative), *Staphylococcus aureus* (Gram-positive), and the fungus *Candida albicans*. Toxicity tests were performed with lettuce sprouts and the crustacean *Artemia salina*, in addition to the osmotic fragility test with human erythrocytes. Microorganisms were cultured in specific media. The MIC results suggest no significant inhibitory activity against the bacteria *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, and the fungus *Candida albicans*, even at high concentrations of leaf and root extracts. In the bioassay with *Lactuca sativa*, the potential effects of *Clitoria guianensis* extracts on root growth and development were evaluated. Although the results are not yet available, this method provides valuable information about the impacts of the tested substances on plant development, fundamental for sustainable agricultural practices and environmental and human health protection. Regarding the toxicity profile to *Artemia* salina, the tests demonstrated an extremely high LC50, suggesting low toxicity of the diluted extracts. Concerning the osmotic fragility evaluation, a similarity in the stability pattern of the erythrocytes was observed, even at different extract concentrations. In summary, this study suggests that, despite the traditional use of *Clitoria guianensis* for various therapeutic purposes, the plant extracts showed little antimicrobial activity and low toxicity in experimental models. The results indicate the need for further research to clarify the therapeutic potential and mechanisms of action of *Clitoria guianensis*, validating its traditional applications and promoting sustainable practices in agriculture and health.

Key-words: *Clitoria guianensis*, Ethnobotany, Toxicity, Antimicrobial Activity, Anti-inflammatory Activity.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Fluxograma de identificação e seleção dos artigos. 42
Figura 2 - Frequência de relatos conforme a seleção sistemática. 46
Figura 3 - Georreferenciamentos das coletas de materiais biológicos da planta. 52
Figura 4 - Crescimento dos MO A- *E.coli*, 2- B- *S.aureus* e C- *C. albicans*. 58
Figura 5 - Observação das colônias celulares nas placas de Petri. 60
Figura 6 - Interpretação das culturas de A- E. *coli* folha e B- E. *coli* raiz.. 64
Figura 7 - Interpretação das culturas de *C. albicans* folha e raiz. 65
Figura 8 - Interpretação das culturas de *A- S. aureus* folha. e *B- S. aureus* raiz. 66
Figura 9 - Experimento com a raiz da alface *Lactuca sativa* 67
Figura 10 - Teste toxicológico utilizando Artemia salina. 70
Figura 11 - Teste de fragilidade osmótica resultados do aparelho. 71
Figura 12 - Interpretação dos Gráficos Teste da fragilidade osmótica folha e raiz. 72

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Termos de Busca 36
Quadro 2 - Strings genérico de busca utilizadas para coleta dos relatos de casos. 36
Quadro 3: Listagem dos artigos incluídos na síntese. 43
Quadro 4: Cálculos de rendimentos relacionados aos extratos de *C. guianensis* 53
Quadro 5: Calculo da Concentração Letal 50% (CL50) do teste com *Artemia salina* 69

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Equipe responsável 33
Tabela 2: Descrição dos Critérios da Pesquisa. 34
Tabela 3: Perguntas de Pesquisa. 34
Tabela 4: Critérios de Inclusão. 38
Tabela 5: Critérios de Exclusão. 38
Tabela 6: Os critérios de qualidade dos estudos recuperados. 39
Tabela 7: Campos de critérios de qualidade. 39
Tabela 8: Campos de critérios de extração. 40

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....16
1.1 Problema de pesquisa 17
1.2 Hipótese.... 17
1.3 Delimitação de Escopo 18
1.4 Justificativa 18
2. OBJETIVOS.....18
2.1 Objetivo Geral 18
2.2 Objetivos Específicos 19
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 19
Contextualização da *Clitoria guianensis* no Brasil 19
Explorando o Potencial de *Clitoria guianensis* 20
Propriedades Medicinais da *Clitoria guianensis* 21
Composição química 21
História de uso medicinal no Brasil.....21
História de uso medicinal de *Clitoria guianensis*.....23
RENISUS — Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde. 24
Formas de preparação e administração.....26
Anti-inflamatório Natural 27
Mecanismos de ação anti-inflamatória 27
Relevância no contexto médico 28
Cicatrização e Regeneração Tecidual 29
Influência da *Clitoria guianensis* na cicatrização.....29
Processos de regeneração tecidual.....30
Estudos Científicos e Evidências Empíricas 30
Estudos *In Vitro* e *In Vivo* 30
Resultados e Conclusões Relevantes para esta Revisão:.....31
METODOLOGIA DA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....32
Protocolo de Revisão Sistemática de Literatura (PRSL).....32
PROTOCOLO PARA REVISÃO SISTEMÁTICA DE LITERATURA-(PRSL).....32
Equipe.....33
ESTRATÉGIA DE BUSCA.....34
Pergunta da Pesquisa ou Questão principal.....34
Bases de Dados e Métodos de pesquisa de fontes 35

Bases de dados científicos em que foram pesquisados 36
Termos de Busca 36
Idiomas 36
Strings genérico de busca 36
Definição de categorias de estudos aceitos na RSLI 38
Extração de informações. 39
Processo de Seleção das Publicações 40
RESULTADOS DA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 41
DISCUSSÃO DA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 47
4. MATERIAL E MÉTODOS 51
4.1 Coleta de materiais 51
4.2 Etanolização e rotaevaporação 54
4.3 Liofilização 54
4.4 Teste de toxicidade em microrganismos (MO) 55
4.4.1 Preparo do meio de cultura para microrganismos 55
4.4.2 Concentração Inibitória Mínima (CIM) 56
4.4.3 Inoculação 57
4.4.4 Interpretação 57
4.4.5 Conservação e validade 57
4.4.6 Preparo do meio de cultura para fungo 57
4.4.7 Preparação do Inóculo e diluição do extrato 59
5. BIOENSAIO COM A RAIZ DA ALFACE *LACTUCA SATIVA* 60
6. TESTE TOXICOLÓGICO UTILIZANDO *ARTEMIA SALINA* 61
7. TESTE DA FRAGILIDADE OSMÓTICA 63
8. RESULTADOS E DISCUSSÕES 64
8.1 Cálculos de rendimentos relacionados aos extratos de *C. guianensis* 64
8.2 Interpretações das culturas (MO) 64
8.3 Condução do bioensaio com a raiz da alface *Lactuca sativa* 67
8.4 Teste toxicológico utilizando *Artemia salina* 69
8.5 Teste da fragilidade osmótica 71
9. CONCLUSÕES 73
10. REFERÊNCIAS 74

1. INTRODUÇÃO.

A espécie vegetal *Clitoria guianensis* (**Aubl.**) **Benth var.** *guianensis*, pertencente ao gênero *Clitoria*, é uma planta nativa do Brasil, caracterizada como uma erva ou subarbusto, cujo substrato é terrícola. Apresenta caules eretos e crescimento reto, com folhas pinadas e folíolos trifoliados. Suas inflorescências são posicionadas axialmente, com flores de cor lilás/roxa e frutos oblongos, possuindo uma distribuição geográfica que abrange diversas regiões brasileiras, desde o Norte até o Sul do país (R. V. Ribeiro et al., 2017; Vila Verde et al., 2003).

Tradicionalmente, a *C. guianensis* tem sido utilizada por comunidades indígenas, ribeirinhas e quilombolas com propósitos terapêuticos, sendo frequentemente consumida na forma de chá, infusão ou decocção. Seu uso é associado a uma variedade de propriedades medicinais, tais como estimulação sexual, efeitos tônicos, energéticos, diuréticos, purgativos, além de sua eficácia no tratamento de condições como cistite, uretrite e propriedades cicatrizantes (R. V. Ribeiro et al., 2017; Vila Verde et al., 2003).

A análise da composição química da planta revela a presença de diversos compostos bioativos, como flavonoides, isoflavonas, alcaloides, saponinas e taninos, os quais contribuem para suas propriedades medicinais, conferindo-lhe atividades antioxidantes, anti-inflamatórias e cicatrizantes, conforme evidenciado por estudos científicos (Soares et al, 2016; Soares et al., 2020, M. M. F. da Cunha, 2022).

Portanto, apesar de possuir uma história substancial em termos de aplicação medicinal na tradição da medicina popular brasileira, *C. guianensis* ainda não foi devidamente respaldada por pesquisas científicas que investiguem a extensão de suas propriedades terapêuticas (M. M. F. da Cunha, 2022; Soares et al., 2020). Não obstante essa lacuna, a convergência entre conhecimentos tradicionais e científicos ressalta a relevância e a plausibilidade do uso dessa planta na prática medicinal, destacando seu potencial significativo no contexto da fitoterapia brasileira (R. V. Ribeiro et al., 2017).

Estudos revelam a presença de compostos bioativos, como isoflavonas, em *C. guianensis*, sugerindo sua possível contribuição para as propriedades medicinais dessa planta (Soares et al., 2020). Sendo reconhecida por suas propriedades antioxidantes, bem como seu potencial para aliviar sintomas respiratórios e sua possível ação diurética (Vila Verde et al., 2003).

Entretanto, é imperativo que o uso de plantas medicinais e fitoterápicos seja realizado com cautela e sob supervisão profissional, devido ao potencial de interações com outros medicamentos ou alimentos, assim como a possibilidade de desencadear reações alérgicas ou

efeitos colaterais indesejados (BRASIL, 2012; Mattos et al., 2018; Novaes, 2013; Práticas Integrativas e Complementares em Saúde, 2022; Vida Saudável 2023 - Práticas Integrativas e Complementares (PIC) | Secretaria de Estado de Saúde de Minas Gerais, [s.d.]; Tesser et al., 2018).

1.1 Problema de pesquisa

A presente pesquisa científica está focada na avaliação do potencial da *Clitoria guianensis* em relação à sua toxicidade, fragilidade osmótica, bem como suas propriedades inibitórias de crescimento para Concentração Inibitória Mínima (MIC ou MO). Este estudo reflete o compromisso em determinar a eficácia desta planta no contexto brasileiro, fornecendo contribuições valiosas para o entendimento e a promoção de seu uso na medicina tradicional e fitoterápica no país. Os estudos em análise visam predominantemente a estabelecer informações pertinentes relacionadas a diversas facetas, tais como doses terapêuticas, toxicidades, interações medicamentosas e potenciais efeitos colaterais de substâncias. Essa abordagem considerará a utilização já estabelecida dessas substâncias na etnobotânica, como ressaltado por Soares et al. (2020). Este enfoque técnico e científico visa aprimorar a compreensão dos efeitos, tanto benéficos quanto adversos, dessas substâncias, proporcionando uma base mais sólida para sua utilização na prática clínica e na pesquisa científica. Ao integrar dados da etnobotânica com a pesquisa farmacológica e toxicológica, é possível ampliar nosso conhecimento sobre essas substâncias e promover uma utilização mais segura e eficaz na área da saúde.

1.2 Hipótese

Após a liofilização dos extratos de folhas e raízes da *Clitoria guianensis*, é possível inferir que a condução de testes técnicos, científicos e acadêmicos permitirá a determinação de doses terapêuticas, tóxicas, efeitos colaterais e atividade inibitória antimicrobiana desses extratos. Supõe-se que o teste de fragilidade osmótica, em específico, revelará a interação dos compostos presentes nos extratos com as membranas celulares, potencialmente fornecendo *insights* sobre possíveis efeitos hemolíticos. Acredita-se que esses estudos fortalecerão as bases científicas da etnobotânica, contribuindo para uma compreensão mais profunda da segurança e eficácia da *C. guianensis* na medicina tradicional e em aplicações terapêuticas contemporâneas.

1.3 Delimitação de Escopo

O estudo conduziu experimentos utilizando os microrganismos *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans*, cultivados em placas de Petri contendo meios de cultura específicos, com o propósito de avaliar suas atividades inibitórias de crescimento. Foram realizados testes de fragilidade osmótica utilizando sangue humano, empregando um espectrofotômetro, e testes de toxicidade utilizando brotos de alface e culturas de *Artemia salina*. Essas investigações inicialmente exploradas apresentam um potencial promissor para futuras pesquisas envolvendo o mesmo vegetal para terapias humanas e animais e levantando dados promissores para a produção de futuros medicamentos.

1.4 Justificativa

Diante da vasta diversidade da flora encontrada no território nacional, é justificável a realização de uma pesquisa voltada para o reconhecimento das propriedades de um desses componentes vegetais, especialmente no caso da *Clitoria guianensis*. A espécie *C. guianensis* é amplamente utilizada na etnobotânica por populações indígenas, quilombolas e ribeirinhas, representando um conhecimento tradicional consolidado ao longo de gerações. Portanto, seu potencial é considerável para iniciar estudos que visem garantir uma base científica sólida para sua utilização. Esse contexto motiva a realização de testes iniciais visando à segurança e eficácia de seu emprego. Assim sendo, o estudo proposto procura principalmente investigar o potencial da *C. guianensis* como agente não tóxico, capaz de exercer ação bacteriostática e bactericida, além de analisar sua possível influência na fragilidade osmótica. Esta pesquisa almeja fornecer contribuições significativas para o entendimento e a promoção do uso racional desta planta medicinal no contexto brasileiro.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Esta pesquisa investiga as propriedades medicinais da *Clitoria guianensis*, com ênfase na sua capacidade inibitória contra *Escherichia coli*, Staphylococcus aureus e *Candida albicans*. Utilizaram-se extratos das raízes e folhas da planta em testes de Concentração Inibitória Mínima (CIM). A toxicidade, avaliada em brotos de alface e na espécie *Artemia salina*, visa confirmar a segurança do uso em concentrações medicinais.

2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar a eficácia da planta *C. guianensis* por meio da realização de testes inibitórios de crescimento, frente aos microrganismos *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans*.
- Investigar a segurança do uso da planta, mediante a execução de testes de toxicidade em broto de alface e *Artemia salina*.
- Analisar sua possível toxicidade em teste de fragilidade osmótica.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Contextualização da *Clitoria guianensis* no Brasil

A *Clitoria guianensis*, comumente denominada Vergateza, figura como uma planta medicinal de expressiva presença no território brasileiro. Pertencente à família Fabaceae, essa espécie endêmica destaca-se por suas notáveis propriedades medicinais, sendo reconhecida, ao longo do tempo, como agente anti-inflamatório, cicatrizante e afrodisíaco. No âmbito científico, a composição química e as atividades biológicas dessa planta ainda não foram completamente exploradas. Recentemente, foram descobertos compostos específicos, com um foco particular na presença de flavonoides, os quais têm despertado considerável interesse. Esses compostos apresentam um potencial antioxidante promissor, como evidenciado por estudos preliminares (C. L. Cunha et al., 2020a).

O estudo conduzido por Cunha et al. (2020) propôs uma análise abrangente da *C. guianensis,* revelando a presença significativa de flavonoides em sua estrutura. Essas substâncias, como indicado pelos resultados, desempenham um papel crucial nas propriedades anti-inflamatórias e cicatrizantes atribuídas à planta (Soares et al., 2020).

Adicionalmente, a *C. guianensis* é empregada na confecção do chá de Vergateza, decocções e garrafadas são preparadas a partir das raízes e infusão das folhas (Vila Verde et al., 2003). Reconhecido por seus efeitos estimulantes sexuais, tônicos e energéticos, o chá de Vergateza emerge como uma alternativa na abordagem ao estresse, além de contribuir para o aprimoramento do desempenho físico e mental (Vila Verde et al., 2003).

A pesquisa científica voltada para a análise do potencial da *C. guianensis* como agente anti-inflamatório e cicatrizante reflete o compromisso em determinar sua eficácia no contexto brasileiro. Estes estudos constituem valiosas contribuições para o entendimento e a promoção do uso dessa planta na medicina tradicional e fitoterápica no Brasil (Soares et al., 2020, 2020).

Em síntese, a *C. guianensis*, apresenta propriedades anti-inflamatórias e cicatrizantes, e emerge como uma entidade relevante no cenário fitoterápico brasileiro, corroborando-se, ademais, como ingrediente fundamental na elaboração do chá de Vergateza, uma infusão que apresenta atributos afrodisíacos e medicinais (C. L. Cunha et al., 2020a; Soares et al., 2020; Vila Verde et al., 2003).

Explorando o Potencial de *Clitoria guianensis*

A pesquisa é justificada pelo estudo da *Clitoria guianensis*, uma planta medicinal identificada no Brasil. Embora haja numerosas atividades etnofarmacológicas associadas a ela, essas alegações carecem de validação em testes laboratoriais ou clínicos. A *C. guianensis* é amplamente utilizada por populações ribeirinhas, comunidades indígenas e quilombolas no bioma do Cerrado no estado do Tocantins, sendo apontada como agente, anti-inflamatório e cicatrizante. A pesquisa visa explorar estudos científicos e evidências disponíveis para determinar a eficácia dessas propriedades medicinais da *C. guianensis* no contexto brasileiro presente na literatura. Além disso, a planta é conhecida por suas propriedades afrodisíacas, sendo utilizada como estimulante sexual, tônico e energético (Soares et al., 2020; Vila Verde et al., 2003).

A *C. guianensis* é uma planta do gênero *Clitoria*, nativa do Brasil, estudos demonstram a presença de compostos bioativos, como isoflavonas, que podem contribuir para suas propriedades medicinais (Soares et al., 2020). A planta é utilizada na forma de chá, infusão ou decocção, sendo conhecida por suas propriedades antioxidantes, potencial para aliviar sintomas respiratórios e possível ação diurética (Vila Verde et al., 2003).

No entanto, é importante ressaltar que mulheres grávidas ou lactantes devem consultar um profissional de saúde antes de usar o chá de Vergateza (Vila Verde et al., 2003).

Certamente, a pesquisa proposta visa aprofundar a compreensão sobre o potencial da *C. guianensis* como agente anti-inflamatório e cicatrizante, buscando contribuir para o conhecimento e o uso racional dessa planta medicinal no contexto brasileiro. Para atingir esse objetivo, será adotado o Protocolo de Revisão Sistemática de Literatura (PRSL), que estabelece a estrutura para a condução de uma revisão abrangente da literatura. O foco principal será identificar as propriedades medicinais do gênero e espécie de *Clitoria guianensis*, com especial atenção para seu potencial anti-inflamatório e cicatrizante. Essa abordagem sistemática permitirá a coleta, análise e síntese de evidências científicas disponíveis, contribuindo assim para o avanço do conhecimento nessa área específica da fitoterapia.

Propriedades Medicinais da *Clitoria guianensis*

Composição química

A composição química da *Clitoria guianensis* inclui diversos compostos bioativos, como flavonoide e isoflavonas (C. L. Cunha et al., 2020a). Estudos demonstram a presença desses compostos na planta, os quais contribuem para suas propriedades medicinais, como atividade antioxidante, anti-inflamatória e cicatrizante (Soares et al., 2020). A presença de flavonoides e isoflavonas em *C. guianensis* é relevante, pois esses compostos são associados a propriedades medicinais, como ação antioxidante e anti-inflamatória (M. M. F. da Cunha, 2022; Jorge & Moraes, 2022; Moraes et al., 2022). Além disso, a planta é conhecida por suas propriedades afrodisíacas, utilizada como estimulante sexual, tônico e energético (Vila Verde et al., 2003). Portanto, a composição química da *C. guianensis* contribui para suas propriedades medicinais e justifica o interesse em explorar seu potencial terapêutico.

História de uso medicinal no Brasil

A história do uso de plantas medicinais no Brasil está intrinsecamente ligada às tradições das comunidades indígenas que habitavam o território antes da chegada dos colonizadores europeus. Além disso, destacam-se as populações tradicionais locais, como os ribeirinhos e os quilombolas, que são descendentes de povos escravizados. Essas comunidades, ao longo do tempo, adquiriram conhecimento tradicional sobre plantas medicinais de maneira empírica, transmitindo esse legado de geração para geração (Fagundes et al., 2017; Oliveira, 2008; G. D. Ribeiro, 2009; Silva, 2007; Vila Verde et al., 2003).

As comunidades indígenas, como detentoras originais desse saber, desenvolveram um vasto conhecimento sobre as propriedades terapêuticas de diversas plantas, utilizando os recursos naturais disponíveis para tratar uma ampla gama de enfermidades. Da mesma forma, os quilombolas, representando populações tradicionais descendentes de povos escravizados, contribuíram significativamente para a preservação e transmissão desse conhecimento ancestral (Fagundes et al., 2017; Oliveira, 2008; G. D. Ribeiro, 2009; Silva, 2007; Vila Verde et al., 2003).

Os ribeirinhos, por sua vez, são comunidades que vivem em áreas próximas a rios e riachos, muitas vezes dependendo diretamente desses recursos hídricos para suas atividades cotidianas. Essas populações ribeirinhas também absorveram o conhecimento tradicional sobre plantas medicinais, adaptando-o ao seu contexto e incorporando-o às práticas de cuidado com

a saúde (Fagundes et al., 2017; Oliveira, 2008; G. D. Ribeiro, 2009; Silva, 2007; Vila Verde et al., 2003).

Esse legado ancestral não apenas moldou a fitoterapia brasileira, mas também influenciou as práticas culturais dessas comunidades, estabelecendo as bases para uma abordagem holística à saúde, onde a conexão entre o ser humano e a natureza desempenha um papel central. (Fagundes et al., 2017; Oliveira, 2008; RIBEIRO, 2010; Silva, 2007; Vila Verde et al., 2003).

Com a colonização, ocorreu um intercâmbio de saberes medicinais entre os povos indígenas e os colonizadores europeus. Muitas plantas nativas passaram a ser registradas nas primeiras farmacopeias brasileiras, incorporando-se gradualmente às práticas terapêuticas da época. O sincretismo entre as tradições indígenas e europeias contribuiu para a diversidade do repertório de plantas medicinais utilizadas no país, marcando uma fase de transição e adaptação no contexto da saúde (Fagundes et al., 2017; Oliveira, 2008; G. D. Ribeiro, 2009; Silva, 2007; Vila Verde et al., 2003).

Ao longo do período colonial, as práticas de cura baseadas em plantas medicinais estiveram intrinsecamente ligadas às tradições indígenas, mas também foram impactadas pela chegada de conhecimentos médicos e farmacêuticos europeus (Agra et al., 2007, 2008; Mattos et al., 2018). No entanto, com a crescente industrialização e a ascensão da medicina ocidental, houve um declínio no uso de plantas medicinais em favor de medicamentos sintéticos. Esse cenário perdurou por grande parte do século XX (Fagundes et al., 2017; Oliveira, 2008; G. D. Ribeiro, 2009; Silva, 2007; Vila Verde et al., 2003).

Nas últimas décadas, assistimos a um ressurgimento do interesse pelas plantas medicinais no Brasil. O reconhecimento da rica biodiversidade local e a redescoberta dos benefícios terapêuticos associados a essas plantas têm impulsionado pesquisas científicas e práticas clínicas (Agra et al., 2007, 2008; Mattos et al., 2018). Atualmente, a fitoterapia é vista como uma prática complementar na área da saúde, integrando abordagens tradicionais e modernas para promover a preservação do conhecimento ancestral e a sustentabilidade ambiental. Esse movimento visa equilibrar as conquistas da medicina contemporânea com o respeito às tradições milenares, valorizando a diversidade e a eficácia das plantas medicinais brasileiras (Fagundes et al., 2017; Oliveira, 2008; G. D. Ribeiro, 2009; Vila Verde et al., 2003).

História de uso medicinal de *Clitoria guianensis*

A história do uso medicinal da *Clitoria guianensis*, popularmente conhecida como Vergateza, remonta às práticas tradicionais da medicina popular brasileira, onde é empregada para uma variedade de finalidades terapêuticas. A planta é frequentemente consumida na forma de chá, infusão ou decocção, destacando-se por suas propriedades medicinais que incluem ação estimulante sexual, efeitos tônicos, energéticos, diuréticos, purgativos, bem como sua eficácia contra condições como cistite, uretrite e propriedades cicatrizantes (R. V. Ribeiro et al., 2017; Vila Verde et al., 2003).

Estudos etnobotânicos revelam que a comunidade de Mossâmedes, localizada em Goiás, utiliza a *C. guianensis* como estimulante sexual e para tratar casos de impotência, evidenciando assim seu papel relevante na medicina popular local (Escher, 2019; Mattos et al., 2018; Vila Verde et al., 2003).

Em um estudo conduzido por Cunha et al., 2020, realizou-se uma análise da composição química da planta, revelando a presença de compostos bioativos como:

1. Biochanina A (7-O-β-D-rutinosídeo):
    a. Isoflavona encontrada em plantas, especialmente em leguminosas como trevo vermelho.
    b. Possui propriedades antioxidantes.
    c. Estudos indicam potenciais efeitos anticancerígenos e anti-inflamatórios.

2. 6-deoxyclitoriacetal 11-O-β-D-glucopyranoside:
    a. Glicosídeo derivado de plantas.
    b. Glicosídeos geralmente apresentam propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias.

3. 186-desoxiclitoriacetal:
    a. Possível derivado de clitoriacetal.
    b. Atividade farmacológica específica depende da estrutura molecular.

4. (2S)-naringenina-6-C-β-D-glicopiranosídeo:

a. Flavonóide encontrado em frutas cítricas.
b. Possui propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias.
c. Estudos relacionam benefícios à saúde cardiovascular.

5. (2R)-naringenina-6-C-β-D-glicopiranosídeo:
   a. Similar à naringenina, mas com configuração molecular diferente.
   b. Potenciais propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias.

6. 4-hidroxi-3-metoxifenil-1-O-β-D-glucopiranosídeo (taquiosídeo):
   a. Glicosídeo contendo grupo fenólico.
   b. Substâncias fenólicas frequentemente têm propriedades antioxidantes.
   c. Potenciais benefícios à saúde.

7. 4-hidroxi-3,5-dimetoxifenil-1-O-β-D-glucopiranosídeo (coaburasida):
   a. Glicosídeo derivado de fenol.
   b. Possíveis atividades antioxidantes e anti-inflamatórias.
   c. Efeito benéfico para a saúde em estudo.

Muitos destes compostos mencionados foram descritos e identificados em diversas leguminosas, conforme registrado na literatura científica. Esses componentes desempenham um papel significativo em estudos que investigam atividades antioxidantes, anti-inflamatórias e cicatrizantes de extratos vegetais, como comprovado por pesquisas científicas (CUNHA, 2022; RAHEJA et al., 2018; SARFRAZ et al., 2020; YU et al., 2019). Essa convergência entre saberes tradicionais e conhecimento científico reforça a importância e validade do uso dessa planta na prática medicinal, destacando seu potencial significativo no cenário da fitoterapia brasileira (R. V. Ribeiro et al., 2017).

RENISUS — Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde.

A Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde (RENISUS) é um instrumento regulatório brasileiro que visa estabelecer parâmetros para o acesso, cultivo, produção e uso de plantas medicinais e fitoterápicos no contexto do Sistema Único de Saúde (SUS). Esse documento representa uma iniciativa estratégica para integrar a

fitoterapia à atenção primária à saúde, reconhecendo o potencial terapêutico das plantas como uma alternativa eficaz e de baixo custo para determinadas condições de saúde (Macedo, 2016; Mattos et al., 2018; *RENISUS*, 2021).

A RENISUS é composta por uma lista de plantas medicinais consideradas de interesse para o SUS, abrangendo espécies com propriedades terapêuticas reconhecidas e respaldadas por evidências científicas. Essa lista com 71 espécies vegetais que servem como referência para profissionais de saúde na prescrição e utilização de fitoterápicos no âmbito da atenção primária. A inclusão de uma planta na RENISUS é baseada em critérios técnicos, que envolvem a comprovação de sua eficácia, segurança e qualidade, assegurando a integridade dos tratamentos fitoterápicos oferecidos à população (Macedo, 2016; Mattos et al., 2018; *RENISUS*, 2021).

A atenção primária à saúde desempenha um papel crucial na implementação da RENISUS, por ser nesse nível que se realiza a promoção, prevenção, tratamento e reabilitação, formando a base do sistema de saúde. Ao incorporar a fitoterapia na atenção primária, busca-se oferecer opções terapêuticas diversificadas e acessíveis, atendendo às necessidades da comunidade. Esse enfoque alinha-se aos princípios da integralidade, equidade e resolutividade preconizados pelo SUS, promovendo uma abordagem holística e culturalmente sensível ao cuidado em saúde (Macedo, 2016; Mattos et al., 2018; *RENISUS*, 2021).

A atualização da lista do RENISUS reflete o compromisso com a incorporação de novas evidências científicas e o acompanhamento da dinâmica das demandas de saúde da população. Além disso, fomenta a pesquisa e a produção nacional de fitoterápicos, contribuindo para a autonomia e sustentabilidade do sistema de saúde brasileiro. Dessa forma, a RENISUS emerge como um importante instrumento normativo, fortalecendo a integração da fitoterapia na atenção primária à saúde e promovendo abordagens terapêuticas mais abrangentes e inclusivas (Macedo, 2016; Mattos et al., 2018; *RENISUS*, 2021).

O Sistema Único de Saúde (SUS) no Brasil adota uma abordagem abrangente para a promoção da saúde, incluindo a incorporação de uma lista diversificada de plantas medicinais em seus protocolos terapêuticos. Essa iniciativa reflete não apenas a rica tradição da fitoterapia na cultura brasileira, mas também a busca por alternativas terapêuticas acessíveis e culturalmente alinhadas com a população. A lista de plantas medicinais do SUS é resultado de uma cuidadosa seleção técnica, envolvendo especialistas em saúde, fitoterapeutas e botânicos, e é constantemente atualizada para refletir os avanços científicos e as práticas tradicionais (Macedo, 2016; *RENISUS*, 2021).

A elaboração da lista segue padrões rigorosos, considerando não apenas a eficácia clínica das plantas, mas também critérios de segurança, potenciais interações medicamentosas

e sustentabilidade ambiental. Essa abordagem garante que as plantas medicinais recomendadas pelo SUS atendam aos altos padrões de qualidade e segurança, proporcionando opções terapêuticas confiáveis para os profissionais de saúde e os pacientes (Mattos et al., 2018; *RENISUS*, 2021).

Além da aplicação prática, a lista de plantas medicinais do SUS impulsiona a pesquisa científica, incentivando estudos sobre os compostos bioativos, mecanismos de ação e potenciais aplicações clínicas de plantas medicinais. Essa integração entre prática clínica e pesquisa contribui para o enriquecimento do conhecimento científico sobre as propriedades terapêuticas de plantas no Brasil, e fortalece a base científica subjacente à fitoterapia (*RENISUS*, 2021).

A inclusão da fitoterapia no SUS reflete uma visão holística da saúde, reconhecendo a importância da diversidade de abordagens terapêuticas diversas. Essa estratégia visa não apenas tratar doenças, mas também promover a prevenção e o bem-estar, alinhando-se aos princípios da integralidade e universalidade que orientam o SUS. A lista de plantas medicinais, portanto, desempenha um papel fundamental na diversificação e enriquecimento do leque terapêutico oferecido pelo sistema de saúde público brasileiro, atendendo às necessidades variadas e específicas da população, abrindo espaço para integração de novas espécies vegetais conforme estudos laboratoriais e clínicos. (Macedo, 2016; Mattos et al., 2018; *RENISUS*, 2021).

Formas de preparação e administração

As formas de preparação e administração de plantas medicinais e fitoterápicos nas Práticas Integrativas e Complementares (PIC) na Atenção Primária à Saúde (APS) brasileira incluem diversas técnicas, como o uso na forma de chás, infusões, tinturas, xaropes, pomadas, entre outras. A fitoterapia é um dos pilares das PIC, e as plantas medicinais e a fitoterapia utilizam os princípios ativos presentes nas diferentes partes das plantas, como folhas, flores, raízes, cascas e sementes, as quais possuem efeitos farmacológicos no organismo, podendo atuar em diversos sistemas e órgãos (BRASIL, 2012; Novaes, 2013; *Práticas Integrativas e Complementares em Saúde*, 2022; Tesser et al., 2018).

No entanto, é fundamental utilizar as plantas medicinais e a fitoterapia com critério e sob orientação profissional, devido ao potencial de interações com outros medicamentos ou alimentos, reações alérgicas ou efeitos colaterais indesejados (BRASIL, 2012; Mattos et al., 2018; Novaes, 2013; *Práticas Integrativas e Complementares em Saúde*, 2022; *Vida Saudável 2023 - Práticas Integrativas e Complementares (PIC) | Secretaria de Estado de Saúde de Minas Gerais*, [s.d.]; Tesser et al., 2018).

A Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) no Sistema Único de Saúde (SUS) contempla diretrizes e estratégias para a inserção das plantas medicinais e da fitoterapia nos cuidados primários em saúde, visando garantir o acesso seguro e o uso racional dessas práticas (Antonio et al., 2013; BRASIL, 2012; Góis et al., 2016; *Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS completa 17 anos*, 2023; *Práticas Integrativas e Complementares em Saúde*, 2022; *Programa Nacional De Plantas Medicinais E Fitoterápicos*, 2009; *Vida Saudável 2023 - Práticas Integrativas e Complementares (PIC) | Secretaria de Estado de Saúde de Minas Gerais*, [s.d.]).

Anti-inflamatório Natural

Mecanismos de ação anti-inflamatória

O processo anti-inflamatório no organismo é caracterizado pela mitigação da resposta inflamatória, resultante do aumento da produção de prostaglandinas, que desempenham o papel de mediadores pró-inflamatórios. Um dos mecanismos primordiais para atingir esse desiderato é a inibição da via da ciclo-oxigenase (COX), que instiga a síntese de prostaglandinas. Este fenômeno inflamatório pode ser definido como um estado no qual o organismo se encontra quando há uma conjunção de alterações fisiológicas, bioquímicas e imunológicas em resposta a estímulos prejudiciais.

Os mecanismos de ação anti-inflamatória aludem aos processos biológicos nos quais agentes, como fármacos ou compostos naturais, exercem efeitos visando a redução da resposta inflamatória. Um desses mecanismos preponderantes consiste na inibição da via da ciclo-oxigenase (COX), responsável pela indução da síntese de prostaglandinas, mediadores pró-inflamatórios. Os fármacos anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs), como exemplificação, atuam mediante a inibição seletiva da COX, diminuindo, assim, a produção de prostaglandinas e, por conseguinte, mitigando a resposta inflamatória associada a fenômenos como dor e edema. Este enfoque terapêutico revela-se essencial para o manejo de condições clínicas onde a inflamação é uma componente relevante (Batlouni, 2010; Mendes et al., 2012).

Outro mecanismo de ação anti-inflamatória envolve a modulação de citocinas pró-inflamatórias, como o fator de necrose tumoral alfa (TNF-alfa) e a interleucina-1 beta (IL-1beta) (Batra et al., 2018; Inácio, 2023). Agentes que inibem a produção ou a ação dessas citocinas têm demonstrado eficácia na atenuação da inflamação. Fármacos biológicos, como os inibidores do TNF, exemplificam essa abordagem ao bloquear especificamente essa via inflamatória.

Além disso, alguns compostos anti-inflamatórios atuam por meio da inibição da fosfolipase A_3, uma enzima envolvida na liberação de ácido araquidônico, precursor das prostaglandinas. Ao bloquear essa etapa, reduz-se a disponibilidade de substrato para a síntese de mediadores pró-inflamatórios (Mendes et al., 2012).

Mecanismos antioxidantes também desempenham um papel importante na ação anti-inflamatória. Substâncias com propriedades antioxidantes, como vitaminas C e E, bem como compostos polifenólicos presentes em plantas, neutralizam radicais livres, reduzindo o estresse oxidativo associado à inflamação crônica (Alves et al., 2010; Batlouni, 2010).

Por fim, a modulação da resposta imune, especialmente a regulação de células inflamatórias, como os macrófagos, é outro mecanismo de ação anti-inflamatória (Batra et al., 2018). Compostos que regulam a ativação e a função dessas células desempenham um papel crucial na modulação da resposta inflamatória, contribuindo para a resolução eficaz do processo inflamatório.

Relevância no contexto médico

A compreensão dos mecanismos de ação anti-inflamatória é de extrema relevância no contexto médico, uma vez que a inflamação está associada a uma variedade de condições patológicas e crônicas. A capacidade de modular esses mecanismos desencadeou avanços significativos no desenvolvimento de terapias eficazes para doenças inflamatórias, como a artrite reumatoide, a doença inflamatória intestinal e condições autoimunes (Batra et al., 2018; Freitas et al., 2019; Inácio, 2023).

No âmbito das doenças crônicas, a inflamação desempenha um papel crucial no desenvolvimento e progressão de condições como a controle de doença cardiovascular, aterosclerose, diabetes tipo 2 e câncer. Compreender os mecanismos moleculares que perpetuam esses estados inflamatórios permite desenvolver intervenções terapêuticas mais direcionadas e eficazes, contribuindo para uma abordagem mais personalizada e preventiva no tratamento dessas enfermidades (Alves et al., 2010; Batlouni, 2010; Batra et al., 2018; Freitas et al., 2019; Inácio, 2023).

Além disso, a relevância dos mecanismos anti-inflamatórios é evidente em situações agudas, como lesões traumáticas ou infecções, onde a resposta inflamatória é uma parte fundamental da defesa do organismo. Agentes que modulam a inflamação, sem suprimir excessivamente a resposta imune, tornam-se ferramentas valiosas para otimizar a cicatrização, reduzir danos teciduais e melhorar o prognóstico clínico (Freitas et al., 2019; Inácio, 2023).

No contexto da medicina preventiva, compreender e aplicar estratégias anti-inflamatórias é fundamental para abordar fatores de risco relacionados à dieta, estilo de vida e envelhecimento que contribuem para a inflamação crônica. Essa abordagem integrada não apenas melhora a qualidade de vida, mas também tem o potencial de prevenir o desenvolvimento de doenças crônicas associadas à inflamação (Alves et al., 2010; Freitas et al., 2019).

Em suma, a compreensão dos mecanismos de ação anti-inflamatória desempenha um papel crucial no avanço da prática médica, influenciando diretamente a abordagem terapêutica e preventiva em uma variedade de condições clínicas. O desenvolvimento contínuo de terapias que visam esses mecanismos promete impactar positivamente a gestão de doenças inflamatórias, proporcionando benefícios significativos aos pacientes e à saúde pública, em geral (Alves et al., 2010; Freitas et al., 2019; Inácio, 2023).

Cicatrização e Regeneração Tecidual

Influência da *Clitoria guianensis* na cicatrização

A influência da *Clitoria guianensis* na cicatrização e regeneração tecidual é objeto de interesse devido à presença de compostos bioativos que podem desempenhar um papel significativo nesses processos. Dentre os compostos identificados nas raízes da *C. guianensis*, destaca-se um isoflavonoide denominado pratensein-7-O-β-D-rutinosídeo [(−)-7-O-α-L-ramnopiranosil(1→6)-β-D-glicopiranosíl-5,3'-dihidroxi-4'-metoxiisoflavona], juntamente com outros compostos conhecidos, como biochanina A-7-O-β-D-rutinosídeo, 6-desoxiclitoriacetal 11-O-β-D-glicopiranosídeo, 6-desoxiclitoriacetal, (2S)-naringenina-6-C-β-D-glicopiranosídeo, (2R)-naringenina-6-C-β-D-glicopiranosídeo, tachiosídeo e koaburídeo (Cunha et al., 2022; Soares et al., 2020).

Esses componentes, que incluem flavonoides, foram identificados em estudos anteriores e demonstraram efetiva inibição do radical DPPH, conforme constatado em outras pesquisas publicadas. A presença desses compostos na *Clitoria guianensis* sugere potenciais propriedades antioxidantes, as quais têm implicações diretas na modulação do processo de cicatrização e regeneração tecidual (C. L. Cunha et al., 2020a; M. M. F. da Cunha, 2022; Moraes et al., 2022; Soares et al., 2020).

Os flavonoides, grupo que inclui o isoflavonoide pratensein-7-O-β-D-rutinosídeo, em particular, são conhecidos por suas propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes. Esses compostos demonstram a capacidade de modular a resposta inflamatória, reduzindo a produção

de mediadores pró-inflamatórios e contribuindo para a regulação do processo de cicatrização (C. L. Cunha et al., 2020b; M. M. F. da Cunha, 2022; Moraes et al., 2022).

Processos de regeneração tecidual

Os compostos identificados na *Clitoria guianensis*, como pratensein-7-O-β-D-rutinosídeo, biochanina A-7-O-β-D-rutinosídeo, 6-desoxiclitoriacetal 11-O-β-D-glicopiranosídeo,6-desoxiclitoriacetal,(2S)-naringenina-6-C-β-D-glicopiranosídeo,(2R)-naringenina-6-C-β-D-glicopiranosídeo, tachiosídeo e koaburídeo, podem influenciar os processos de regeneração por estarem atrelados a uma grande classe de flavonoides. (C. L. Cunha et al., 2020b; M. M. F. da Cunha, 2022; Dornas et al., 2007; Fernandes et al., 2019).

Os isoflavonoides, como pratensein-7-O-β-D-rutinosídeo e biochanina A-7-O-β-D-rutinosídeo, têm potencial atividade cicatrizante e anti-inflamatória, podendo modular a resposta inflamatória e favorecer um ambiente propício para a regeneração tecidual. Os flavonoides, como 6-desoxiclitoriacetal 11-O-β-D-glicopiranosídeo e 6-desoxiclitoriacetal, atrelado aos compostos e notável sua atividade. antioxidante e anti-inflamatória, e podem contribuir para a redução do estresse oxidativo e modular processos inflamatórios, influenciando positivamente a regeneração de tecidos (Fernandes et al., 2019; Soares et al., 2020).

As saponinas, como tachiosídeo e koaburídeo, têm atividade antioxidante e anti-inflamatória, e podem modular a resposta imune e anti-inflamatória, contribuindo para um processo de regeneração mais eficiente (Fernandes et al., 2019). Embora esses compostos apresentem potencial para influenciar os processos de regeneração tecidual, é importante realizar mais pesquisas e estudos clínicos para validar essas hipóteses e compreender completamente os mecanismos envolvidos dos extratos derivados da planta medicinal *Clitoria guianensis*.

Estudos Científicos e Evidências Empíricas

Estudos *In Vitro* e *In Vivo*

Uma análise minuciosa da literatura científica evidenciou uma quantidade significativa de estudos *in vitro* e *in vivo* relacionados ao gênero Clitoria. No entanto, é notável a escassez de estudos específicos sobre a *Clitoria guianensis* e seus compostos bioativos, especialmente em relação às atividades anti-inflamatórias e cicatrizantes. Esses estudos *in vitro*

frequentemente exploram diretamente a influência desses compostos em culturas celulares, enquanto os estudos *in vivo* se dedicam a examinar os efeitos dessas substâncias em organismos completos.

Contudo, é imperativo salientar a carência de estudos específicos dedicados à *C. guianensis*, demandando uma abordagem mais focalizada nas propriedades anti-inflamatórias e cicatrizantes dessa espécie. A escassez de evidências específicas destaca a necessidade premente de pesquisas adicionais para preencher essa lacuna de conhecimento e proporcionar uma compreensão mais abrangente do potencial terapêutico dessa planta no contexto da regeneração tecidual.

Resultados e Conclusões Relevantes para esta Revisão:

Os resultados desta revisão científica têm em vista estabelecer uma sólida fundamentação para considerar a *Clitoria guianensis* como uma planta potencialmente benéfica em contextos de regeneração tecidual. Embora as pesquisas não abordem especificamente o papel da *C. guianensis* na cicatrização, é possível inferir que essas plantas podem ter efeitos semelhantes nos processos de cicatrização e regeneração tecidual devido às suas propriedades anti-inflamatórias e capacidade de modular a resposta imunológica, considerando os fitoquímicos descobertos neste espécime. No entanto, é imperativo realizar pesquisas adicionais para determinar o papel exato das *C. guianensis* nesses processos.

Dessa forma, a presente revisão sistemática atende à demanda por uma compreensão mais abrangente das atividades biológicas da *C. guianensis* por meio de estudos científicos e evidências empíricas, proporcionando um panorama detalhado sobre o potencial terapêutico dessa planta e seus compostos bioativos. Ressalta-se a urgência de conduzir mais estudos abrangendo o espécime em diferentes contextos, incluindo abordagens *In vitro, In vivo* e *in sílico*.

Essa ênfase na diversificação dos métodos de investigação visa aprofundar o conhecimento sobre as propriedades da *C. guianensis*, especialmente no que tange às suas atividades anti-inflamatórias e cicatrizantes. A inclusão de estudos, *In vitro* possibilita uma análise mais detalhada dos mecanismos moleculares subjacentes, enquanto estudos *In vivo* contribuirão para uma compreensão mais integrada dos efeitos em organismos completos. Adicionalmente, a condução de estudos *in sílico*, por meio de modelagem computacional, pode proporcionar *insights* valiosos sobre suas interações ecológicas e o potencial terapêutico em condições do mundo real.

Ao enfatizar a importância da continuidade e expansão dessas investigações, busca-se não apenas preencher lacunas de conhecimento existentes, mas também estabelecer uma base sólida para futuras aplicações clínicas e o desenvolvimento de terapias baseadas em diferentes extratos e compostos identificados na *C. guianensis* tendo em vista aplicações terapêuticas.

METODOLOGIA DA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Este estudo baseou-se no desenvolvimento e organização de protocolos para revisões sistemáticas da literatura científica, conforme descrito a seguir.

Protocolo de Revisão Sistemática de Literatura (PRSL)

O Protocolo de Revisão Sistemática de Literatura (PRSL) estabelece a estrutura para a condução de uma revisão abrangente da literatura com o objetivo de identificar as propriedades medicinais do gênero e espécie de *Clitoria guianensis* no Brasil, com foco no seu potencial anti-inflamatório e cicatrizante.

Os passos seguidos foram a identificação e seleção de bases de dados relevantes, como Pubmed, Jstor, Scielo, Google Acadêmico e Lilacs. Em seguida, foram desenvolvidas estratégias de busca que utilizam termos relacionados as palavras-chave como *Clitoria guianensis* (Aubl.) Benth var. *guianensis*, Anti-inflamatória, Cicatrização, *Clitoria ternata*, Medicinal e Brazil.

Os estudos foram selecionados com base em critérios de inclusão e exclusão predefinidos. Após a seleção, a qualidade dos estudos incluídos será avaliada utilizando ferramentas apropriadas.

Posteriormente, os resultados dos estudos incluídos foram sintetizados e analisados, visando identificar tendências e padrões emergentes. Foram realizadas análises para quantificar a associação entre as variáveis de interesse.

PROTOCOLO PARA REVISÃO SISTEMÁTICA DE LITERATURA-(PRSL)

I. Identificar o Problema que deve ser resolvido com a Revisão
    1. – Identificar palavras-chave
    2. – Consultar base de dados
    3. – Validar dados
    4. – Analisar dados

1. – Critérios de Inclusão
2. – Critérios de Exclusão

II. Apresentação dos Resultados

1. – Estruturar Sistema Gerenciador de Banco de Dados
2. - Planejar representação gráfica dos dados
3. - Plotar Gráficos

III. Conclusões

1. – Discussão dos resultados expressos em Gráficos
2. – Conclusões finais.

Este Protocolo de Revisão Sistemática de Literatura (PRSL) apresenta estrutura para a execução da etapa de revisão da literatura sobre as evidências abrangentes sobre as propriedades medicinais do gênero e espécie de *Clitoria guianensis*: Uma Análise Sistemática de seu Potencial Anti-inflamatório e cicatrizante tendo como base o resultado nas referências cientificas publicadas.

Equipe

Tabela 1: Equipe responsável

NOME	PAPEL	AFILIAÇÃO
Magno De Oliveira	Autor / Método	Universidade Federal do Tocantins-UFT
Felipe Oliveira Neves	Autor/Principal	Universidade Federal do Tocantins-UFT
Isabelle Lorena Alves de Souza Neves	Autora/Revisor	Centro Universitário UnirG
Raphael Sanzio Pimenta	Revisor/Orientador	Universidade Federal do Tocantins-UFT
Susana Cristine Siebeneichler	Autora/Revisora	Universidade Federal do Tocantins-UFT
Cristiano Esswein	Revisor/Tradutor	Bacharel em Comunicação e Midia Digital, Sacramento State University-California-USA
Jakelline Gonçalves de Andrade	Autora/Revisora	Universidade Federal do Tocantins-UFT
Raffael Batista Marques	Autora/Revisor	Universidade Federal do Tocantins-UFT
Juliana Cristina Holzbach	Revisora/Orientadora	Universidade Federal do Tocantins-UFT

NOME	PAPEL	AFILIAÇÃO
Juliana Fonseca Moreira da Silva	Autora/Revisor	Universidade Federal do Tocantins-UFT

Cada membro desempenha um papel específico no projeto, contribuindo com suas habilidades e conhecimentos para alcançar os objetivos propostos. Os autores são responsáveis pela concepção e desenvolvimento do trabalho, enquanto os revisores têm a tarefa de avaliar e aprimorar o conteúdo. Os orientadores fornecem direcionamento e supervisão ao projeto (artigo), garantindo sua qualidade e conformidade com as normas acadêmicas. Além disso, o tradutor tem a função de garantir a acessibilidade do trabalho a uma audiência internacional, se necessário.

ESTRATÉGIA DE BUSCA

Pergunta da Pesquisa ou Questão principal

Exemplo: Quais os artigos publicados que apresentam atividades anti-inflamatórias e cicatrizantes com o espécime *Clitoria guianensis*?

Tabela 2: Descrição dos Critérios da Pesquisa.

CRITÉRIOS	DESCRIÇÃO
Clitoria guianensis	Evidências abrangentes sobre o potencial anti-inflamatório e cicatrizante com o espécime *Clitoria guianensis*.
Intervenção	Leitura e separação de estudos que demonstrem tipo e efetividade de técnicas que comprovem o potencial anti-inflamatório e cicatrizante com o espécime *Clitoria guianensis*.
Controle	Artigos com demonstração de resultado efetivo da atividade anti-inflamatória e cicatrizante do uso de diferentes extratos do espécime *Clitoria guianensis*.
Resultado	Estatística de artigos que podem contribuir ou ser considerados independentes das datas, com efetiva contribuição da aplicabilidade de técnicas tendo como objeto estudos com o espécime *Clitoria guianensis*.
Contexto de Aplicação	Fundamentar o potencial das atividades anti-inflamatórias e cicatrizantes, farmacológico e clínico do espécime *Clitoria guianensis*.

Tabela 3: Perguntas de Pesquisa.

Pergunta	Descrição da Pergunta
P1	Qual espécie foi utilizada?

P2	Qual a técnica?
P3	Teste *In vitro*?
P4	Teste *In vivo*?
P5	Teste *In sílico*?
P6	Quais são as evidências de sucesso e insucesso das técnicas utilizando extratos da planta medicinal *Clitoria guianensis*?

Bases de Dados e Métodos de pesquisa de fontes

As fontes disponíveis na WEB, preferencialmente, em base de dados científicas direcionadas a Ciências da Saúde e Ciência Biológicas, sem exclusão das demais de cunho interdisciplinar.

As bases de dados relacionados aos artigos de controle, obrigatoriamente serão inclusas.

Fontes diferentes da WEB, também poderão ser incluídas desde que atendam aos requisitos para esta Revisão Sistemática.

- O processo pesquisar inicia-se com a definição de palavras-chave;
- O segundo passo consta de Inserção de *String* de palavras-chave em rotinas de busca de cada base de dados;
- Software especialista em Revisão Sistemática será utilizado para armazenamento inicial (População de Artigos);
- O processo de amostragem ocorrerá a partir aplicação de critérios de Inclusão e Exclusão pré-definidos, e também por intermédio de sub-processos de filtragem qualitativa do material constante no repositório da População de Artigos.
- O sub-processo de qualificação de artigos ocorrerá por diferenciação por pesos distintos para artigos que contemplem:

  - Palavras-chave no **Title** (Peso 15)
  - Palavras-chave no **Abstract** (Peso 10)
  - Palavras-chave no item **Key-words** (Peso 5)

- Após a qualificação, a análise dos resumos será realizada verificando-se a relevância do trabalho, selecionando-se para leitura em sua totalidade, aqueles que serão aceitos. Rejeitado-se os demais. Repetindo-se, portanto, a análise de critérios de (I) Inclusão e (E) Exclusão para cada trabalho analisado.

Bases de dados científicos em que foram pesquisados

Pubmed, JSTOR, Scielo, Google Acadêmico e Periódicos da Capes e LILACS

Termos de Busca

Quadro 1 - Termos de Busca

TERMO PRINCIPAL	ALTERNATIVO I	ALTERNATIVO II	ALTERNATIVO III	ALTERNATIVO IV	ALTERNATIVO V
Clitoria	*Clitoria guianensis*	Vergateza	Tradicional	*Clitoria ternatea (L.)*	*Clitoria guianensis (Aubl.)* Benth var.
Farmacologia	Antioxidante	Antidiabético	Anticâncer	Imunomodulador	Redução de lipídios
	Antimicrobiano	Anti-inflamatório	Hepatoprotetor	Gastro protetor	Anti artrite
Testes	*In sílico*	*In vitro*	*In vivo*		

Idiomas

Inglês, espanhol e português

***Strings* genérico de busca**

Quadro 2 - Strings genérico de busca utilizadas para coleta dos relatos de casos.

BASE DE DADOS	*STRING ADAPTADA / UTILIZADA*
PUBMED	("*Clitoria*" OR "*Clitoria ternatea* (L.)" AND "Farmacologia" OR "Antioxidante" OR "Antidiabético" OR "Anticâncer" OR "Imunomodulador" OR "Antimicrobiano" OR "Anti-inflamatório" OR "Hepatoprotetor" OR "Teste" OR "*in-sílico*" OR "*in-vitro*" OR "*in-vivo*" OR "*in-sílico*") **FILTROS** Filters applied: Abstract, Free full text, Full text, from 1905 - 2024. **ARTIGO TOTAL: 10**
JSTOR	("*Clitoria*" OR "*Clitoria guianensis*" OR "*Clitoria ternatea*"OR "*guianensis*") **FILTROS** ACCESS TYPE:

	Everything See all results, including content you cannot download or read online; CONTENT TYPE Academic content: Journals (1.194); DATA:1905-2024; LANGUAGE: English (1.082); Spanish; Castilian (75); Portuguese (37). **ARTIGO TOTAL: 35**
SCIELO	("*Clitoria*" OR "*Clitoria guianensis*") **FILTROS** Filtros selecionados, Coleções: Todos, Periódico: Todos, Idioma: Todos, Ano de publicação: Todos, SciELO Áreas Temáticas: Todos, WoS Áreas Temáticas: Todos, WoS Índice de Citações: Todos, Citáveis e não citáveis: Citável, Tipo de literatura: Todos. **ARTIGO TOTAL: 39**
PERIÓDICOS DA CAPES	(*"Clitoria*" OR "*Clitoria ternatea* (L.)" AND "Farmacologia" OR "Antioxidante" OR "Antidiabético" OR "Anticâncer" OR "Imunomodulador" OR "Antimicrobiano" OR "Anti-inflamatório" OR "Hepatoprotetor" OR "Teste" OR *"in-sílico*" OR *"in-vitro"* OR *"in-vivo*" OR "*in-sílico*") **FILTROS** Artigos; Periódicos revisados por pares; Acesso Aberto; Biological And Medical Sciences; Life Sciences & Biomedicine; Anos: 1905-2024; Inglês, Português, Espanhol. Selecionado os 50 melhores resultado(s) **ARTIGO TOTAL: 50**
GOOGLE ACADÊMICO	("*Clitoria*" OR "*Clitoria ternatea* (L.)" AND "Farmacologia" OR "Antioxidante" OR "Antidiabético" OR "Anticâncer" OR "Imunomodulador" OR "Antimicrobiano" OR "Anti-inflamatório" OR "Hepatoprotetor" OR "Teste" OR "*in-sílico*" OR "*in-vitro*" OR "*in-vivo*" OR "*in-sílico*") **FILTROS** Período específico: 1905-2024. Selecionado os 50 melhores resultado(s) / 5 primeiras páginas do google acadêmico **ARTIGO TOTAL: 50**
LILACS	("*Clitoria*" OR "*Clitoria guianensis*") **FILTROS** Texto completo: Disponível; Base de dados: LILACS; Idioma: Inglês, Português Período específico: 1905-2024. **ARTIGO TOTAL: 22**
Total De Relatos Encontrados Nas Bases De Dados	**206**

Fonte: Autores (2024), *strings* genérico de busca de acordo com cada base de dados.

Critérios de Inclusão

Tabela 4: Critérios de Inclusão.

CRITÉRIO	DESCRIÇÃO DO CRITÉRIO DE INCLUSÃO
CI1	Presença de palavras-chave em Title
CI2	Presença de palavras-chave no Abstract
CI3	Presença de palavras-chave em Keywords
CI4	Identificação no resumo ou conclusões de aplicação com o espécime *Clitoria guianensis*.
CI5	Aplicação de testes *in vitro*
CI6	Aplicação de testes *in vivo*
CI7	Aplicação de testes *in sílico*
CI8	Conclusão de sucesso ou insucesso de aplicação de testes *in vitro, in vivo ou in sílico*

Critérios de Exclusão

Tabela 5: Critérios de Exclusão.

CRITÉRIO	DESCRIÇÃO DO CRITÉRIO DE EXCLUSÃO
CE1	Revisão de literatura
CE2	Revisões bibliográficas descritivas
CE3	Revisões Sistemáticas com ou sem metanálise
CE4	Artigo não apresenta nenhum teste *In sílico, In vitro ou In vivo*
CE5	Artigo sem estudo com um espécime de *Clitoria guianensis*.
CE6	Artigo de estudo sem relação com atividade anti-inflamatória ou cicatrizante
CE7	Artigo de estudo com um espécime de *Clitoria ternatea L.*

Definição de categorias de estudos aceitos na RSLI

Este estudo define as categorias de artigos primários que serão selecionados durante a execução da revisão sistemática:

- **Experimentos**
- **Ensaio Clínico**

- **Relato de Caso**

Com base nas palavras-chave, "*strings*" de busca serão construídas e submetidas nas principais bases. Os artigos encontrados serão listados, terão seus títulos, resumos e palavras-chave lidos para verificação de adequação aos critérios de inclusão e exclusão. Caso atenda aos quesitos do protocolo, o mesmo será selecionado, caso contrário serão excluídos.

Critérios de Qualidade

Tabela 6: Os critérios de qualidade dos estudos recuperados.

CRITÉRIO	DESCRIÇÃO DO CRITÉRIO DE QUALIDADE
CQ1	Presença de palavras-chave em Title (Sim, Não)
CQ2	Presença de palavras-chave no Abstract (Sim, Não)
CQ3	Presença de palavras-chave em Key Words (Sim, Não)
CQ4	Identificação de técnicas em *in sílico* (Sim, Não)
CQ5	Identificação de técnicas em *in vitro* (Sim, Não)
CQ6	Identificação de técnicas em *in vivo* (Sim, Não)

Campos do formulário de qualidade

Tabela 7: Campos de critérios de qualidade.

Campo	Lista para escolha
Presença de palavras-chave em Title	Sim, Não
Presença de palavras-chave no Abstract	Sim, Não
Presença de palavras-chave em Key Words	Sim, Não
Identificação de pelo menos uma das técnicas como *in vivo, in vitro ou in sílico* com espécimes do *Clitoria guianensis*	Sim, Não

Extração de informações.

Uma vez selecionados os estudos primários, começa-se a extração de informações relevantes. Nesta seção do protocolo, com os critérios de qualificação sendo aplicados e

resultados de amostragem ocorrendo através da seleção de artigos conforme as normativas. Segue-se o processo até o objetivo de analisar o resumo e as conclusões de cada estudo.

Sugere-se que uma segunda pessoa ou mesmo o orientador atue nessa fase para um melhor direcionamento da pesquisa. Usando as opções de seleção para extração conforme os tópicos listados a seguir, de modo a qualificar critérios de extração.

Tipo: ***Pick on list*** (Escolha uma, na lista); ***Pick on Many*** (Escolha em vários); **Text** (Campo texto aberto).

Tabela 8: Campos de critérios de extração.

Campo	Tipo	Conteúdo
Palavras-chave presente	*Pick on list*	{Title; Abstract; Key words}
Nome da Técnica Identificada.	*Pick on list*	{*in sílico; in vitro; in vivo*}
Síntese da conclusão, em palavras.	*Pick on list*	{*Clitoria guianensis*}
Identificado estudo com espécime do gênero *Clitoria guianensis.*	*Pick on list*	{Sim, Não}

Processo de Seleção das Publicações

Inicialmente se executam as *Strings* de Busca adaptadas em cada uma das bases de dados. A partir da lista de estudos retornados, serão exportados os resultados em formato *Bibtex*, para componente de importação na ferramenta auxiliar, no caso o Rayyan.ai.

Na etapa de seleção, será executada a análise de cada título de cada um dos estudos, descartando aqueles que claramente não estejam relacionados à estratégia de busca, ou que não preencham os Critérios de Inclusão, Critérios de Qualidade ou estejam relacionados aos Critérios de Exclusão definidos. Estudos excluídos nesta fase são armazenados e não passarão às fases seguintes.

A lista de trabalhos selecionados é submetida à etapa de Extração. Neste segundo passo, são analisados o resumo e as conclusões de cada estudo. A partir desta leitura, são avaliados os critérios de Inclusão, Exclusão e Qualidade novamente. Como resultado se obtém a lista completa dos estudos.

Nesta etapa o pesquisador efetua a leitura por completo os estudos que lhe foram alocados, avalia a qualidade dos estudos e extrai os dados básicos de caracterização do estudo, bem como os dados específicos relacionados às perguntas de pesquisa, atualizando campos de comentário e anexando os arquivos completos do trabalho.

Após finalizada a extração dos dados, os passos seguintes correspondem à análise, interpretação e documentação dos resultados, com a redação de artigo de revisão com apresentação dos resultados, métodos e técnicas, adotadas da Revisão Sistemática da Literatura, que foi aproveitada para produção do artigo científico.

RESULTADOS DA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Para identificação dos artigos acerca do assunto, realizou-se busca nas bases de dados Periódicos da CAPES. Todo o processo de triagem encontra-se no fluxograma da Figura 1.

Os relatos científicos que discutem estudos com o espécime *Clitoria guianensis*, consistiram na busca de termos presentes no Quadro 1, seguindo as *Strings* genéricos de busca do Quadro 2. Dessa forma, durante a busca aplicaram-se os seguintes filtros: filtros aplicados: ano: 1905–2024, disponibilidade: acesso aberto, artigos, assunto: *Clitoria guianensis,* idiomas: português, inglês e espanhol, resultados por ano: 1905–2023.

Após a consulta às bases de dados e aplicação da estratégia de busca, foram identificados estudos repetidos entre as diferentes bases de dados, utilizando-se do software Rayyan.

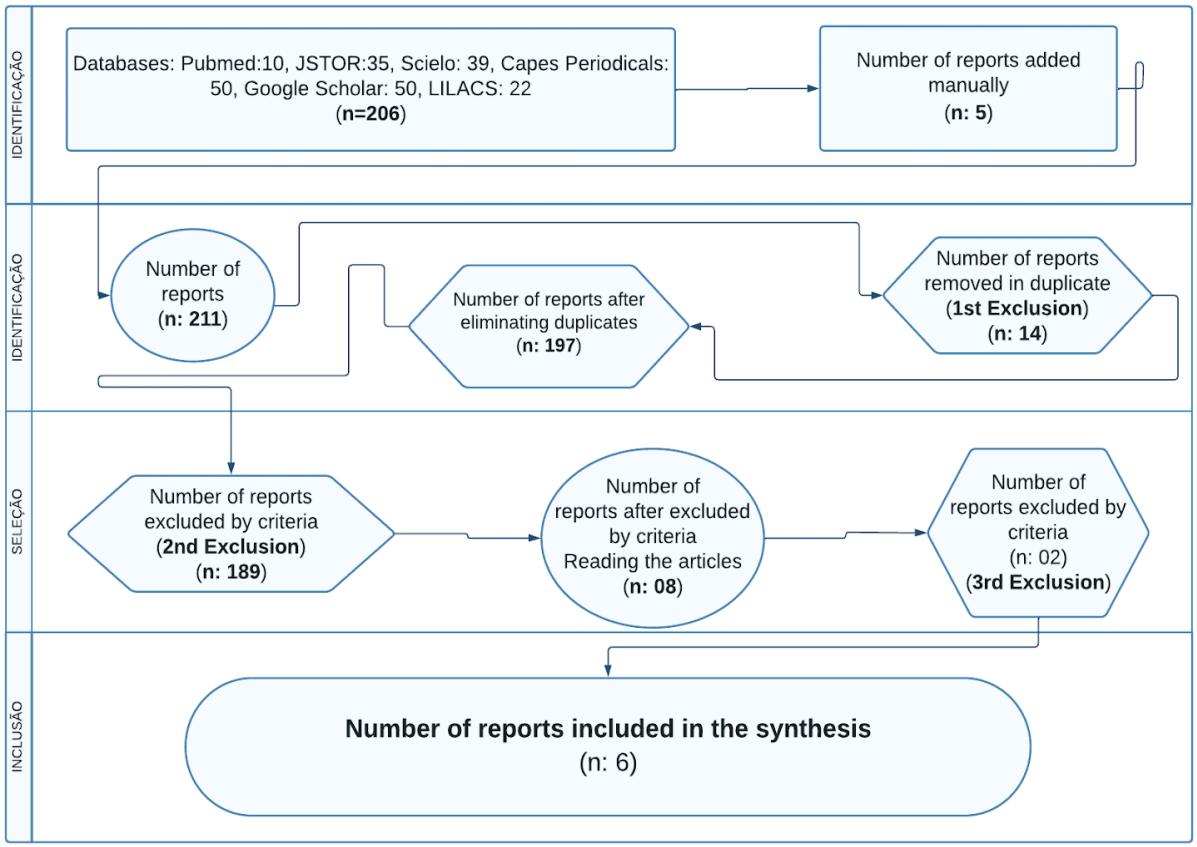
Os critérios de inclusão dos artigos foram: artigos originais e de pesquisa, com ênfase na identificação das propriedades medicinais do gênero e espécie de *C. guianensis* no Brasil, especialmente no que se refere ao seu potencial anti-inflamatório e cicatrizante. Dessa forma, foram consideradas categorias de artigos que englobam experimentos, ensaios clínicos ou relatos de casos, distribuídos em diversas áreas de pesquisa. Essa abordagem ampla permitiu a inclusão de estudos pré-instalados e instalados nos idiomas português, inglês e espanhol, alinhando-se ao escopo específico desta revisão sistemática.

Os artigos excluídos foram agrupados na ordem: repetidos, irrelevantes, revisão, outros formatos de publicação (*edital, short communications, perspectives, letters*) e outros idiomas.

Em primeira análise, pode ser observado no fluxograma da figura 1, um total de 206 registros identificados nos bancos de dados escolhidos anteriormente, em seguida, 5 artigos adicionados manualmente, totalizando 211 relatos. Na (1º Exclusão) foram excluídas 16 duplicatas, restaram 197 relatos no final dessa etapa de identificação. Após a remoção dos artigos repetidos, aplicaram-se os critérios de exclusão, como mostra a Tabela 4. Com a

aplicação dos critérios de exclusão nos 197 relatos restantes, foram excluídos 189 relatos (2º Exclusão), originais de pesquisa, restando 8 artigos originais de pesquisa. Na (3º Exclusão), na leitura dos 6 relatos restantes, foram eliminados 03 relatos, incluído ao final 05 artigos originais na síntese deste trabalho, nos quais, estes artigos relatam em suas pesquisas, o uso do espécime *Clitoria guianensis* (Aubl.) Benth var.

Figura 1 - Fluxograma de identificação e seleção dos artigos.



Fonte: Autores (2024)

O fluxograma delineia o processo de identificação, seleção e inclusão de relatos, apresentando uma visão resumida e organizada. Inicia-se com a identificação nos bancos de dados selecionados, incluindo Pubmed, JSTOR, Scielo, Periódicos da Capes, Google Acadêmico e LILACS, totalizando 206 registros. Em seguida, cinco artigos são adicionados manualmente, totalizando 211 relatos.

Na primeira etapa de exclusão, 14 duplicatas são removidas, resultando em 197 relatos. Posteriormente, são aplicados critérios de exclusão, eliminando 189 relatos na segunda exclusão e chegando a oito relatos. Na terceira exclusão, dois relatos são removidos, deixando seis artigos originais de pesquisa.

Esses seis relatos passam pela leitura e, como nenhum é excluído, todos são incluídos na síntese final. O fluxo conclui com a apresentação de seis artigos originais relacionados à *Clitoria guianensis*. Essa representação visual simplificada proporciona uma compreensão clara e eficiente do processo de triagem e inclusão de relatos na síntese final.

O Quadro 3 desta síntese oferece uma compilação abrangente dos artigos relacionados ao estudo da *C. guianensis*, abordando de maneira específica diversos aspectos relacionados à planta. Destaca-se, entre esses artigos, a pesquisa de Cruz et al., 2023, que se aprofundou na análise dos diastereoisômeros (2S) e (2R)-naringenina-6-C-β-D-glucopiranosídeo, isolados pela primeira vez da *C. guianensis*, utilizando a teoria do funcional de densidade.

O estudo de Boaes et al., 2019, também merece destaque ao investigar a identificação de novos produtos naturais provenientes do cultivo do fungo endofítico *Diaporthe sp*., isolado da *C. guianensis*. Este trabalho evidenciou a interação planta-microrganismo, ressaltando o potencial biotecnológico da espécie. É notável que, mesmo sem um enfoque direto na planta em si, o estudo enfatiza a importância da interação planta-microrganismo na produção de compostos bioativos.

Esses trabalhos contribuem significativamente para o entendimento da *C. guianensis*, oferecendo *insights* valiosos tanto no âmbito da química, com a exploração de compostos específicos, quanto na perspectiva biotecnológica, ao evidenciar a relevância da relação entre a planta e seus microrganismos associados na produção de substâncias bioativas. Essa abordagem integrada demonstra a complexidade e o potencial multifacetado da *C. guianensis* como objeto de estudo científico.

Quadro 3: Listagem dos artigos incluídos na síntese.

N.º	Palavra-chave	País	Base de dados	Especial atenção é dedicada ao exame de seu potencial anti-inflamatório e cicatrizante?	Identificação de pelo menos uma das técnicas como *in vivo, in vitro* ou *in sílico* com espécimes do *Clitoria guianensis*?	Relevância	Referência
				SIM ou NÃO	**SIM ou NÃO**		
1	*Clitoria guianensis*	Brasil	SCIELO	NÃO	SIM	Este estudo constitui o primeiro relato fitoquímico sobre *Clitoria guianensis* (Aubl.) *Benth* var. *guianensis*. A	(C. L. Cunha et al., 2020) CUNHA

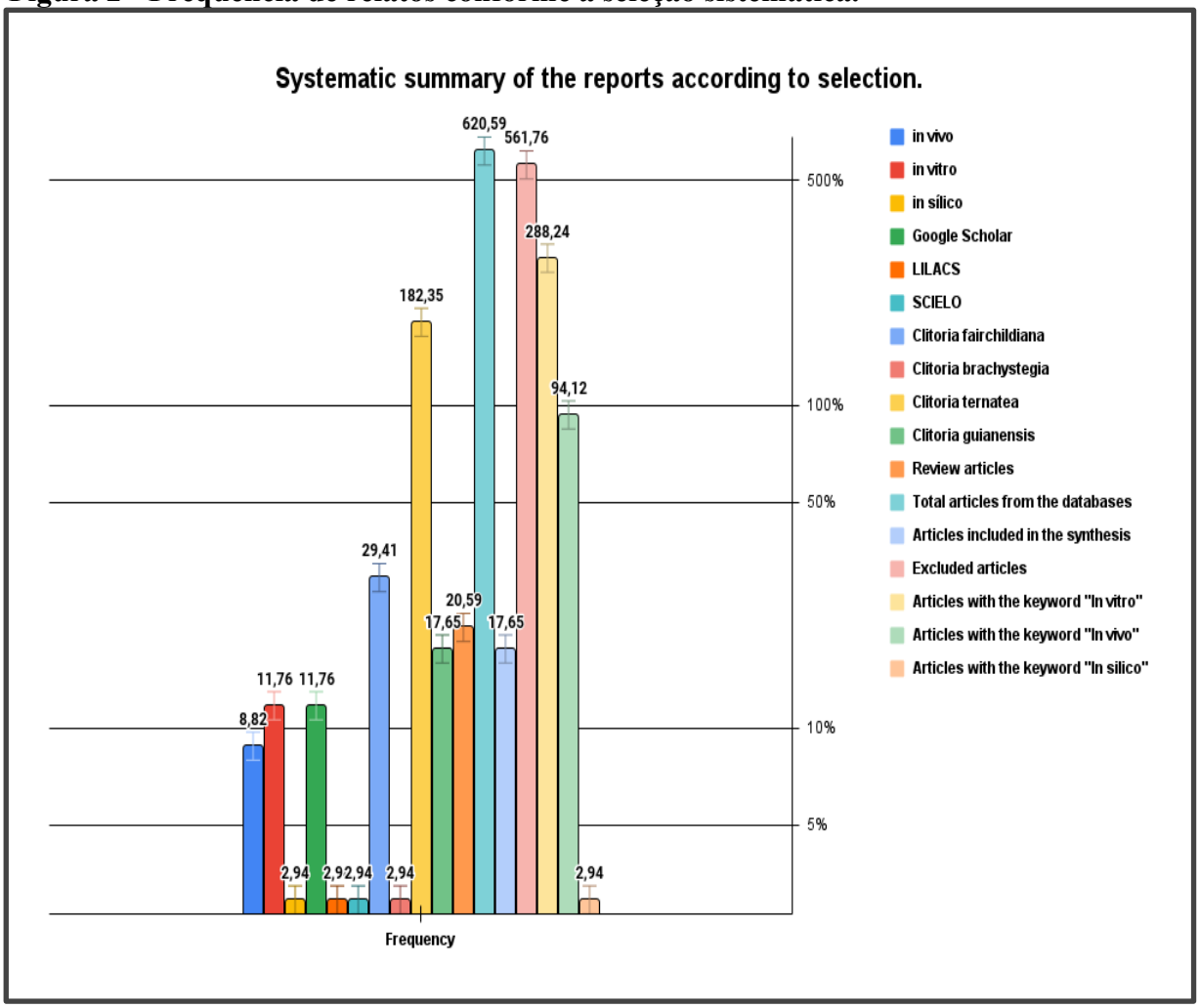
					IN VIVO, IN VITRO	notável toxicidade evidenciada no extrato e frações diante de *Artemia salina* sugere a presença de compostos bioativos de considerável potência. Destaca-se a identificação do inédito composto pratenseína-7-O-β-D-rutinosídeo, juntamente com a já conhecida biochanina A-7-O-β-D-rutinosídeo, marcando a primeira vez que isoflavonas são identificadas no gênero Clitoria. O isolamento dos compostos 1 a 8 contribui de maneira significativa para o entendimento fitoquímico do gênero *Clitoria*, ampliando o conhecimento sobre a quimiodiversidade de produtos naturais originados do bioma Cerrado brasileiro.	
2	*Clitoria guianensis*	Brasil	LILACS	NÃO	SIM *IN VIVO, IN VITRO*	O fracionamento cromatográfico do extrato de acetato de etila (EtOAc) das folhas de *C. guianensis* resultou no isolamento da kaempferitrina, sendo o primeiro relato desse composto no gênero *Clitoria*. As frações de hexano e EtOAc das folhas de *C. guianensis* apresentaram elevada toxicidade, enquanto o extrato bruto de EtOH de *C. guianensis* e evidenciaram toxicidade moderada contra *A. salina*, sugerindo a presença de compostos bioativos.	(De Sousa et al., 2023)
3	*Clitoria guianensis*	Brasil	Google Acadêmico	NÃO	SIM *IN VIVO*	O estudo aborda a *Clitoria guianensis* Benth, planta do Cerrado brasileiro com potencial medicinal. Avaliou-se seu cultivo em viveiros, testando diferentes substratos. Observou-se que em alguns tratamentos, a planta seguiu o ciclo anual, enquanto outros interferiram. Sugere-se o uso de terra de ravina como substrato, mesmo sendo pobre, pois é adaptada, mas ressalta-se que substratos com matéria orgânica não mineralizada interferem no ciclo de crescimento natural da planta.	(MARQUES et al., 2019)
4	*Clitoria guianensis*	Brasil	Google Acadêmico	NÃO	SIM	Este estudo buscou identificar novos produtos naturais por meio do cultivo de microrganismos, utilizando estratégias como OSMAC, sob diferentes condições de fermentação. Três extratos	(Boaes et al., 2019)

					IN VITRO	brutos (A, B e C) do fungo endofítico *Diaporthe* sp., isolado de *Clitoria guianensis*, foram analisados por HPLC-DAD e RMN-1H. Observaram-se diferenças na produção de metabólitos secundários nos diferentes meios de cultura, sendo o extrato C o que apresentou maior diversidade. Todos os extratos brutos demonstraram atividade antioxidante e aleloquímica positiva. Flavonas, flavonóis e xantonas foram identificados em todos os extratos, alcalóides nos extratos A e C, e esteróides e triterpenóides no extrato C. O estudo destaca a vasta capacidade biossintética dos fungos, revelando potenciais novos compostos com propriedades biológicas distintas.	
5	*Clitoria guianensis*	Brasil	Google Acadêmico	NÃO	*IN VITRO*	Raízes e folhas foram extraídas com etanol e particionadas com diferentes solventes. As frações resultantes foram avaliadas quanto à presença de metabólitos secundários, destacando flavonoides, taninos, esteroides e saponinas. Todas as frações das folhas exibiram eficaz inibição do radical DPPH, com a fração de acetato de etila demonstrando a maior atividade antioxidante (IC50 46.3 µg/ml). Essa atividade antioxidante está correlacionada com o teor de flavonoides e taninos na fração.	(Soares et al., 2020)
6	*Clitoria guianensis*	Brasil	Google Acadêmico	*NÃO*	*SIM*	Este estudo abordou os diastereoisômeros (2S) e (2R)-naringenina-6-C-β-D-glucopiranosídeo, isolados pela primeira vez de *Clitoria guianensis*, utilizando a teoria do funcional de densidade. Ambos apresentaram o mesmo gap de energia (166,61 kcal mol−1), com comprimentos de ligação distintos entre o carbono quiral e o grupo fenólico, sendo maior no diastereoisômero S (diferença de 0,0126 Å). O diastereoisômero S mostrou menor tempo de retenção (16,7 min) no HPLC, indicando maior polaridade. Resultados de potencial eletrostático molecular evidenciaram maior densidade eletronegativa global na configuração S, especialmente na molécula de glicose. Índices de reatividade sugeriram que ambos são	(Cruz et al., 2023)
					IN SÍLICO		

						eletrófilos e espécies reativas. A configuração absoluta foi determinada por espectroscopia de dicroísmo circular eletrônico (ECD), com espectros teóricos semelhantes aos experimentais.	

Fonte: Autores (2024)

Figura 2 - Frequência de relatos conforme a seleção sistemática.



Fonte: Autores (2024).

Os artigos selecionados e incluídos na revisão científica sistemática de literatura do presente estudo, conforme demonstrado na Figura 2, apresentam análise dos dados, revelando uma distribuição diversificada de estudos sobre o gênero *Clitoria*, além de estudos com o espécime *C. guianensis*, abrangendo metodologias *in vivo, in vitro* e *in sílico*.

Para os estudos *in vivo*, e De Sousa et al. (2023) contribuem com 8,82% e 2,94% respectivamente, destacando a importância de investigações que envolvam a interação da planta diretamente em organismos vivos. Marques et al. (2019) também explora aspectos *in vivo*, abordando o cultivo da *C. guianensis* em diferentes substratos, proporcionando uma perspectiva prática sobre seu potencial medicinal.

No contexto *in vitro*, Cunha et al. (2020b) e De Sousa et al. (2023) apresentam 11,76% de contribuição cada, enquanto Boaes et al. (2019) e Soares et al. (2020) contribuem com 2,94% cada. Esses estudos fornecem uma compreensão mais detalhada dos efeitos da *C. guianensis* ao nível microbiológico, permitindo avaliações mais controladas e específicas, deixando uma lacuna futura de estudos necessários com células humanas e animais.

As análises *in sílico*, conduzidas por Cruz et al. (2023) e Marques et al. (2019), representam 2,94% e 11,76%, respectivamente. A abordagem *in sílico* é fundamental para compreender as interações moleculares e predizer possíveis efeitos antes da realização de experimentos *in vivo* e *in vitro*.

Ao observar os estudos que fornecem uma perspectiva mais abrangente, destaca-se a relevância das pesquisas *in vitro*, com 288,24%, indicando uma ênfase significativa nessa modalidade. O número expressivo de artigos incluídos na síntese (17,65%) demonstra a crescente importância e a necessidade de mais estudos inéditos com o espécime *C. guianensis* nas investigações científicas.

Em relação às palavras-chave, os resultados indicam uma predominância de estudos *in vitro*, seguidos por pesquisas *in vivo* e *in sílico*. Essa inclinação sugere uma ênfase na exploração dos efeitos da *C. guianensis* em nível celular, especialmente em culturas. Isso ressalta a necessidade futura de investigações *in vivo*, como em culturas de células humanas e animais, e de estudos *in vitro*, abrangendo microbiologia, fungos, bactérias e leveduras. Essa abordagem é crucial para validar e transladar tais descobertas para a prática clínica.

Em suma, a diversidade de abordagens metodológicas reflete a complexidade das propriedades medicinais da *C. guianensis*, proporcionando uma base sólida para futuras investigações e enfatizar a importância de uma abordagem integrada que una dados *in vivo*, *in vitro* e *in sílico*.

DISCUSSÃO DA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O Quadro 3 apresenta uma listagem dos artigos incluídos na síntese para a investigação das propriedades medicinais da *C. guianensis*, com foco na análise sistemática de seu potencial

anti-inflamatório e cicatrizante. O estudo compreendeu a busca em diferentes bases de dados, destacando-se o SCIELO, LILACS e o Google Acadêmico, com especial atenção para a identificação de técnicas como *in vivo, in vitro* ou *in sílico* envolvendo espécimes da *C. guianensis*.

Os artigos selecionados abordam variados aspectos, desde relatos fitoquímicos inéditos até estudos sobre cultivo e toxicidade, proporcionando uma visão abrangente das propriedades medicinais da planta. O primeiro artigo (Cunha et al., 2020b) destaca a notável toxicidade evidenciada no extrato, sugerindo compostos bioativos de considerável potência, além de identificar isoflavonas no gênero *Clitória.* pela primeira vez. O segundo estudo (De Sousa et al., 2023) identifica 25 substâncias, para *Ouratea spectabilis* e Kaempferitrina para *C. guianensis* evidenciando toxicidade moderada contra *Artemia salina*, enquanto o terceiro (Marques et al., 2019) aborda apenas o cultivo da planta em diferentes substratos.

Os demais artigos exploram aspectos *in sílico, in vitro* e *in vivo*. O estudo de Cruz et al. (2023) utiliza a teoria do funcional de densidade para analisar diastereoisômeros, enquanto Boaes et al. (2019) visa identificar novos compostos a partir do cultivo de microrganismos associados à *Clitoria guianensis*, destacando a vasta capacidade biossintética dos fungos. Soares et al. (2020), por sua vez, investiga as propriedades fitoquímicas e antioxidantes, evidenciando a eficácia inibitória do radical DPPH.

Essa análise sistemática proporciona uma visão abrangente e crítica sobre as propriedades medicinais da *C. guianensis*, contribuindo para o entendimento do potencial anti-inflamatório e cicatrizante da planta, bem como para futuras pesquisas nesse contexto.

A análise detalhada dos dados provenientes de estudos sobre as propriedades medicinais da *C. guianensis* revela uma abordagem diversificada e abrangente em relação ao seu potencial da planta como um possível fármaco, tendo em vista os fitoquímicos presentes e suas ações farmacológicas conforme presente na literatura científica. A variedade de metodologias, como *in vivo*, *in vitro* e *in sílico*, destaca a complexidade e amplitude da pesquisa científica envolvendo essa planta.

No âmbito dos estudos *in vivo*, a contribuição significativa de Cruz et al. (2023) e De Sousa et al. (2023) com 8,82% e 2,94%, respectivamente, enfatiza a importância de investigações que abordem diretamente a interação da *C. guianensis* em organismos vivos. O estudo de Marques et al. (2019), que explora o cultivo da planta em diferentes substratos, adiciona uma perspectiva prática valiosa ao contexto *in vivo*.

No âmbito *in vitro*, as pesquisas conduzidas por Cunha et al. (2020b) e De Sousa et al. (2023), com incidência de 11,76% cada, juntamente com os estudos de Boaes et al. (2019) e

Soares et al. (2020), ambos contribuindo com 2,94%, proporcionam uma análise aprofundada dos diversos extratos e órgãos da planta *C. guianensis*. Esses estudos oferecem *insights* sobre os potenciais efeitos da planta, estabelecendo uma base teórica para futuras investigações em células humanas, animais, fungos e bactérias. Essas abordagens proporcionam avaliações mais controladas e específicas, desempenhando papel crucial na compreensão dos benefícios medicinais potenciais da *C. guianensis*.

As análises conduzidas por Marques et al. (2019) destacam a abordagens importantes para compreender as interações, comportamento e reprodução do espécime em cava de vegetação e cultura de células vegetais. Essa metodologia se revela fundamental no planejamento eficiente de estudos futuros.

Cruz et al. (2023) conduziu uma investigação teórica e experimental dos diastereoisômeros de uma substância específica extraída da planta C. guianensis. O objetivo principal foi aprofundar a compreensão das propriedades químicas e estruturais desses compostos, com ênfase na estereoquímica e glicosilação. Este estudo não se concentrou na análise da atividade biológica dos diastereoisômeros, mas sim na análise de sua estrutura molecular e características que podem influenciar aspectos químicos. A abordagem teórica possibilitou uma análise preditiva, enquanto os experimentos proporcionaram dados concretos, resultando em uma compreensão mais abrangente e integrada dos diastereoisômeros em questão.

A importância do trabalho de Cruz et al. (2023) reside na valiosa contribuição para o avanço da pesquisa em fitoquímica, química medicinal e farmacologia, oferecendo *insights* cruciais para a identificação de alvos terapêuticos, desenvolvimento de medicamentos, ou potenciais aplicações na medicina. Além disso, destaca-se que a pesquisa pode ter implicações significativas na valorização e exploração sustentável de recursos naturais, como as propriedades medicinais da C. *guianensis*, embora a atividade biológica específica não tenha sido o foco central do estudo.

Observando os estudos, é evidente a relevância das pesquisas *in vitro*, representando 288,24%, sem estudos com células, sendo apenas um estudo microbiológico com fungo. Isso indica uma ênfase significativa nessa modalidade, refletindo a crescente importância da *Clitoria guianensis* nas investigações científicas para outros testes.

No que diz respeito às palavras-chave, a predominância de estudos *in vitro*, seguidos por *in vivo* e *in sílico*, sugere uma tendência de explorar os efeitos da *C. guianensis* em nível celular, para suprir a necessidade de pesquisas *in vivo,* é destacada para validar e traduzir esses achados para a prática clínica.

Em suma, a diversidade de abordagens metodológicas reflete a complexidade das propriedades medicinais da *C. guianensis*, proporcionando uma base sólida para futuras investigações. Essa abordagem integrada, que une dados in vivo, in vitro e in sílico, é essencial para uma compreensão abrangente do potencial anti-inflamatório e cicatrizante dessa planta na prática clínica.

CONCLUSÃO DA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A presente revisão, explorou e discutiu as evidências abrangentes relacionadas ao potencial anti-inflamatório e cicatrizante das propriedades medicinais da *Clitoria guianensis*, conforme literatura dos compostos identificados em estudos com o espécime e os resultados dos achados.

Identificados e selecionados seis artigos que abordam estudos envolvendo o espécime *C. guianensis*, utilizando a ferramenta Rayyan como suporte metodológico.

Ao recapitular os achados relevantes desta análise sistemática, destaca-se a diversidade de abordagens, desde relatos fitoquímicos até estudos sobre toxicidade, cultivo e análises *in sílico, in vitro* e *in vivo*.

Presença de compostos bioativos nas raízes de *C. guianensis* (Aubl.) Benth var. *guianensis* (Fabaceae) foi investigada, resultando no isolamento de diversos compostos, incluindo a isoflavona chamada pratenseína-7-O-β-D-rutinosídeo, biochanina A-7-O-β-D-rutinosídeo, 6-desoxiclitoriacetal 11-O-β-D-glucopiranosídeo, 6-desoxiclitoriacetal, (2S)-naringenina-6-C-β-D-glicopiranosídeo, (2R)-naringenina-6-C-β-D-glicopiranosídeo, taquiosídeo e coaburasídeo. As estruturas desses compostos foram confirmadas por meio de diversas técnicas analíticas, incluindo rotação específica ([α]D), dicroísmo circular (CD), ultravioleta (UV), infravermelho (IR), ressonância magnética nuclear (RMN) 1D e 2D, e espectrometria de massa (MS).

As implicações práticas para a área clínica revelam a riqueza química e potencial terapêutico da *C. guianensis*, especialmente em atividades antioxidantes e aleloquímicas. A toxicidade moderada evidenciada em alguns estudos sinaliza a necessidade de cautela, enquanto a eficácia inibitória do radical DPPH sugere um possível papel como agente anti-inflamatório.

Para pesquisas futuras, recomenda-se uma investigação mais aprofundada dos compostos identificados, explorando seus mecanismos de ação e possíveis sinergias. A análise crítica ressalta a importância de estudos clínicos que validem achados *in vitro* e *in vivo*, contribuindo para uma tradução eficaz desses resultados para a prática clínica. Dessa forma,

este estudo sistemático estabelece uma base sólida para pesquisas subsequentes sobre o potencial anti-inflamatório e cicatrizante das propriedades medicinais da *C. guianensis*, promovendo avanços significativos na compreensão e aplicação terapêutica dessa planta no contexto da medicina.

4. MATERIAL E MÉTODOS

Partindo do pressuposto de que não existem comprovações científicas quanto à dose eficaz, dose tóxica, efeitos colaterais e interações medicamentosas dos extratos da *Clitoria guianensis*, apesar de seu uso etnobotânico em determinadas populações, os testes realizados podem ser considerados uma contribuição significativa para a ampliação do conhecimento científico. Seus resultados fornecerão dados específicos relacionados à dose terapêutica, dose tóxica, efeitos colaterais e interações medicamentosas, conferindo a esta pesquisa uma metodologia de raciocínio dedutivo.

No contexto da natureza da pesquisa em questão, ela é caracterizada como aplicada, uma vez que tem como objetivo primordial abordar a lacuna de dados científicos, coletando e analisando informações empíricas para gerar resultados de pesquisa substanciais. Seu principal propósito é oferecer uma solução prática para uma problemática identificada.

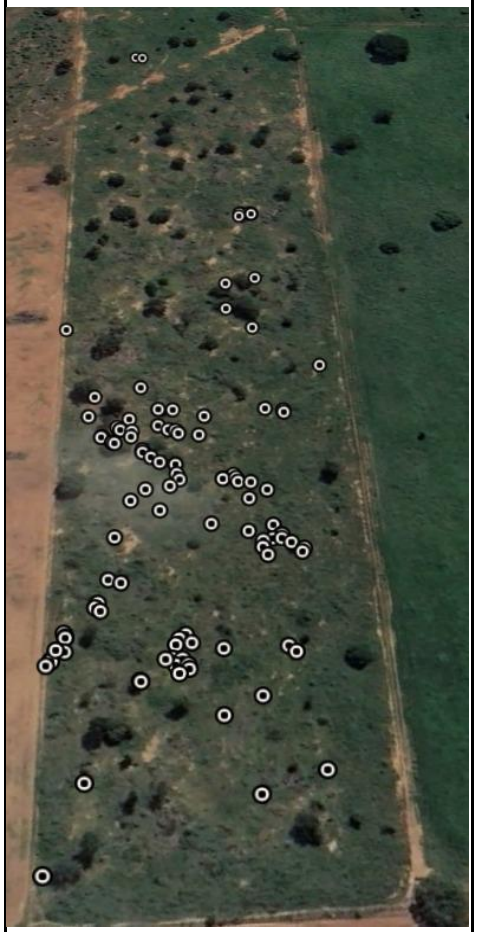
A abordagem adotada para investigar o problema segue uma metodologia quantitativa, utilizando recursos matemáticos, incluindo números e métricas, para orientar todo o processo metodológico da pesquisa.

Devido à natureza da pesquisa, que busca estabelecer conexões entre ideias e fatores identificados visando compreender as relações de causa e efeito de um fenômeno específico, utilizando métodos experimentais, sua abordagem é classificada como explicativa.

4.1 Coleta de materiais

A pesquisa experimental iniciou-se com a seleção da microrregião do município de Gurupi, localizado no Estado do Tocantins, Brasil, como área de estudo devido à presença da planta no local. Para isso, realizou-se inicialmente o georreferenciamento preciso da região destinada à coleta dos materiais para análise, seguindo as coordenadas geográficas específicas (latitude: -11.76671056, longitude: -49.04622093) e as referências visuais apresentadas nas figuras abaixo.

Figura 3 - Georreferenciamentos das coletas de materiais biológicos da planta.

Figura A. Área destinada ao registro da coleta de plantas com altura entre 3 e 5 cm.	**Figura B.** Área destinada ao registro da coleta de plantas com altura entre 5 e 7 cm	**Figura C.** Área destinada ao registro da coleta de plantas com altura entre 7 e 10 cm	**Figura D.** Área destinada ao registro da coleta de plantas com altura entre + de 10 cm sem flores e sementes
			

URL: https://www.google.com/maps/place/-11.766710558529434,-49.04622092843056 **GPS:** Lat Long: -11.76671056 -49.04622093; DMS: 11° 46' 0.16" S | 49° 2' 46.4" W; UTM: 712905.838E 8698502.366N 22L; MGRS: 22LGM 12906 98502; EPSG:4326: -49.04622093 -11.76671056. **Fonte:** Autores (2024).

Foram estabelecidos critérios específicos de catalogação para orientar o manejo extrativo do material, abrangendo tanto as folhas quanto as raízes da planta. Esses critérios foram cuidadosamente elaborados, levando em consideração o período propício de início da estação chuvosa na região de outubro a fevereiro. Tal abordagem baseou-se na adoção da Série de Boas Práticas de Manejo para o Extrativismo Sustentável Orgânico, um conjunto de diretrizes desenvolvidas pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, por meio da Secretaria de Desenvolvimento Agropecuário e Cooperativismo.

Durante o processo, foram rigorosamente observados os seguintes parâmetros: limitação da coleta a até 20% dos indivíduos da espécie *Clitoria guianensis* na área demarcada. Além disso, foram estabelecidos critérios de exclusão, como a não coleta de plantas em fase de floração ou com sementes. Adicionalmente, a coleta foi realizada no período vespertino, após a secagem do orvalho pelo sol, com o intuito de assegurar a preservação adequada do material e a sustentabilidade do ecossistema e coletar em um período no qual os componentes das plantas estão mais ativos.

Os materiais vegetais coletados de 68 espécimes foram meticulosamente separados conforme as partes da planta, sendo posteriormente pesados frescos (278g de raiz e 640g de folhas). Após a secagem individual em estufa, a uma temperatura de 40 graus por 24 horas, os materiais foram novamente pesados (240g de raiz e 630g de folhas) e, em seguida, submetidos à trituração utilizando um moinho com abertura de malha de 16 mesh. Ademais, as informações referentes às latitudes, longitudes, altitudes e estação do ano foram minuciosamente registradas nas exsicatas correspondentes a cada amostra. O cálculo do rendimento dos extratos foi realizado conforme a equação.

Quadro 4: Cálculos de rendimentos relacionados aos extratos de *C. guianensis*

Calculou-se o rendimento total dos extratos, de acordo com a fórmula:				
Re = (Pext /Pfolhas) x 100.				
Re = Rendimento total do extrato (**%**); **Pext** = Peso do extrato seco (**g**); **Pfolhas** = Peso das folhas frescas ou secas (**g**).				
Pext	Peso do extrato seco (g)	**100**	**G**	
Pfolhas	Pfolhas = Peso das folhas frescas ou secas (g)	**3800,00**	**Kg**	
	Formula: (100 / 3800) * (100) = 2,631578947	**x**	**100**	
Calculo com Excel=		2,631578947		
Formula: Re = (Pext /Pfolhas) x (100)				
Onde:				
Re	**Rendimento total do extrato (%) =**		**2,6**	**%**
Calculo da Porcentagem: (%) = (100g / 2,6 g) × 100 = 2,6%				

4.2 Etanolização e rotaevaporação

Raiz:

- - Para a extração, utilizamos 100g da raiz previamente moída, submetidos a um processo de maceração por 72 horas, dividido em ciclos de agitação de 15 minutos, com um intervalo de pausa a cada 6 horas. O solvente empregado, em uma quantidade de 900 ml, foi o álcool 99,5%.
- - Na sequência da maceração, o líquido obtido com filtragem em papel filtro circular de 125 mm; transferiu-se para o rotaevaporador, onde ocorreu a remoção do álcool em um período de 6 horas, a 45ºC, resultando em um volume final de 33 ml de extrato concentrado de raiz.

Folha:

- - Para a extração, utilizamos 100g de folhas moídas, seguindo o mesmo procedimento de maceração utilizado para a raiz (72 horas divididas em ciclos de agitação e pausa), empregando álcool 99,5% como solvente, em uma quantidade de 900 ml.
- - Na etapa seguinte à maceração, o líquido obtido com filtragem resultante transferido para o rotaevaporador, onde o álcool evaporado em um período de 8 horas. O extrato final resultou em 110 ml concentrado de folha.

4.3 Liofilização

No próximo estágio, os 110ml de solução etanolizada concentrada de folhas e 33ml de raiz foram transferidos para béqueres de vidro, os quais foram completamente vedados com papel alumínio para garantir a ausência de luz. Em seguida, os béqueres foram colocados no freezer a -20ºC, por um período de 14 horas, sem ocorrer congelamento. Utilizou-se nitrogênio líquido para o congelamento das amostras. Os extratos congelados foram então transportados em uma caixa térmica contendo nitrogênio líquido até o liofilizador. No liofilizador, os béqueres, previamente vedados com plástico filme e perfurados com pequenos furos, permaneceram por 72 horas a uma temperatura de 42 ºC e um vácuo de -1.298 mmHg, utilizando-se o equipamento da JJ científica. Como resultado desse processo, obteve-se 25g de concentrado liofilizado de folha e 7,5g de raiz.

4.4 Teste de toxicidade em microrganismos (MO)

Após a obtenção das substâncias liofilizadas provenientes das raízes e folhas, procedeu-se à realização da Concentração Inibitória Mínima realizada no laboratório de Microbiologia Geral e Aplicada. Para tal, foram selecionados microrganismos, incluindo uma cepa de bactéria Gram-positiva *Staphylococcus aureus sub sp aureus*, ATCC0614039, uma cepa de bactéria Gram-negativa *Escherichia coli* ATCC25922 e um fungo, Candida *albicans* ATCC10231. Essa escolha visa abranger uma variedade representativa de agentes patogênicos, permitindo uma avaliação abrangente dos efeitos tóxicos dos extratos obtidos.

As bactérias e a levedura estão armazenadas sob congelamento a -80ºC, na coleção de cultura Carlos Augusto Rosa do Laboratório de Microbiologia Geral e Aplicada/UFT. Para a reativação dos microrganismos foram utilizados os meios de cultura Ágar Mueller Hinton para as bactérias *E. coli* e *S. aureus* e para a levedura *C. albicans* o meio de cultura utilizado foi o Caldo nutrientes. Os microrganismos foram repicados nos meios de cultura específicos e incubados por 24 horas a 30º C. A figura 4 demonstra a reativação dos microrganismos nos meios de cultura Ágar Mueller Hinton e Caldo nutrientes para as bactérias e levedura, respectivamente.

Todos os experimentos foram realizados em duplicata com 3 repetições.

4.4.1 Preparo do meio de cultura para microrganismos

Foi utilizado o meio de cultura Ágar Mueller Hinton para *E. coli* e *Staphylococcus aureus*

Princípio:

Ágar padronizado por Kirby e Bauer e pelo NCCLS que oferece condições de crescimento das principais bactérias.

Utilidade:

Meio utilizado para a realização do teste de avaliação da resistência aos antimicrobiano para bactérias não fermentadoras, *Staphylococcus* e *Enterococcus* sp.

Procedimentos:

- Pesar e hidratar o meio conforme instruções do fabricante
- Acertar o pH (7,2 – 7,4)
- Retirar da autoclave e medir novamente o pH

- Distribuir 50 a 60 ml em cada placa de Petri de 150 mm em quintuplicata
- Deixar esfriar em temperatura ambiente
- Embalar as placas de Petri com plástico PVC transparente e guardar em geladeira (4 a 8ºC)

4.4.2 Concentração Inibitória Mínima (CIM)

Os testes de concentração inibitória mínima (minimal inhibitory concentration – MIC) foi realizado pela metodologia padronizada de microdiluição em caldo, em microplacas de 96 cavidades tipo Elisa esterilizada, em triplicata com três repetições. Em cada microplaca foi realizado o teste dos extratos (CLSI, 2018) usando os microrganismos *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Candida albicans.*

Após a reativação e o crescimento dos microrganismos nos meios de cultura específico, selecionou 2 a 3 colônias e acrescentou em tubo de ensaio contendo 2mL de solução salina 0,85% até atingir a turbidez 0,5 da escala McFarland, para as bactérias. Para a levedura ajustou-se a solução até atingir a turbidez 5 da escala de McFarland por comparação com tubo de referência ficando com concentração 10^8. Após a preparação das soluções contendo os microrganismos foi retirado 1mL da suspensão 10^8 e adicionar 9mL de solução salina ficando com a concentração de 10^7.

O extrato liofilizado da folha e da raiz da *Clitoria guianensis* foi diluído em DMSO 10% para a concentração de 6.400 µg/mL.

Após estes procedimentos foram adicionados em cada poço da placa de Elisa 100 µL de caldo Muller Hinton (CMH), para as bactérias e 100 µL de caldo nutriente para a levedura, em seguida foi adicionado 100 µL de extrato nos poços na concentração de 6.400 µg/mL e homogeneizados; desta solução, 100 µL foram retirados e adicionados na cavidade seguinte, e assim sucessivamente, obtendo-se assim uma gama de concentração de extrato de planta (3.200; 1.600; 800; 400; 200; 100 e 50 µg/mL). Posteriormente foi adicionado o controle positivo (C+). Para as bactérias utilizou o Cloranfenicol na concentração 2000 µg/mL e para a levedura a Nistatina na concentração de 10.000 U/mL, posteriormente realizado a diluição seriada como os extratos. O controle negativo (C-) foi utilizado o DMSO 100% e realizado as diluições seriadas. Após, foi adicionado 5 µL de suspensão de bactérias 10^7 UFC/mL em cada poço da placa. As placas foram incubadas a 37 °C por 24 horas (Oliveira et al., 2016).

Terminado o período de incubação foram adicionados em cada poço das placas 30µL de solução aquosa de resazurina a 0,03% (m/v) e reincubadas por 2 a 4 horas ou o tempo necessário para viragem do corante e então realizado a leitura. A presença de cor azul

representava ausência de crescimento (inibição do crescimento) e de cor rosa, presença de crescimento bacteriano (não inibição do crescimento) (Palomino et al., 2002). É considerada como CIM a menor concentração do extrato capaz de inibir o crescimento bacteriano.

- Preparar suspensão de *E. Coli ATCC*25922 na escala 0,5 de Mc Farland
- Preparar suspensão de *Staphylococcus aureus* ATCC0614039 na escala 0,5 de Mc Farland
- Diluir 1:100 (0,1 ml em 9,9 ml de solução fisiológica)
- Semear 0,01 ml de suspensão na placa. Incubar a placa a 35°C por 24 horas

Obs: A aprovação final do meio deve ser feita após testes com antibióticos, uma vez que inúmeras variáveis podem interferir no preparo do meio de cultura

4.4.3 Inoculação

- Preparar uma suspensão de bactéria a ser testada em SF0, 9% ou caldo TSB na escala 0,5 Mc Farland
- Embeber o "swab" na suspensão, comprimi-lo na parede do tubo (para eliminar o excesso) e semear na placa
- Incubar a placa de acordo com as instituições NCCLS para a bactéria a ser testada
- Os testes forma efetuados em triplicatas

4.4.4 Interpretação

- Cor original do meio é amarelo palha
- A zona do diâmetro é particular para cada droga e organismo, sendo comparado com os diâmetros padronizados pelo NCCLS que determina cada microrganismo sendo sensível, intermediário ou resistente

4.4.5 Conservação e validade

- Conservar embalado de 4 a 8 °C por até 3 meses

4.4.6 Preparo do meio de cultura para fungo

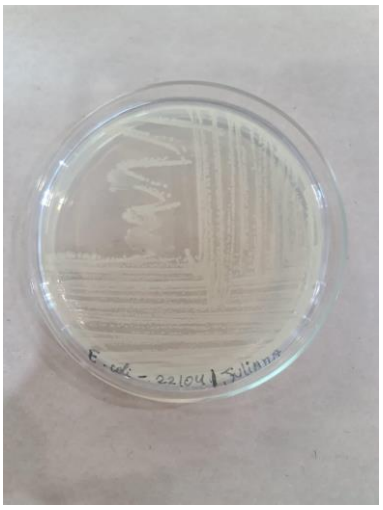
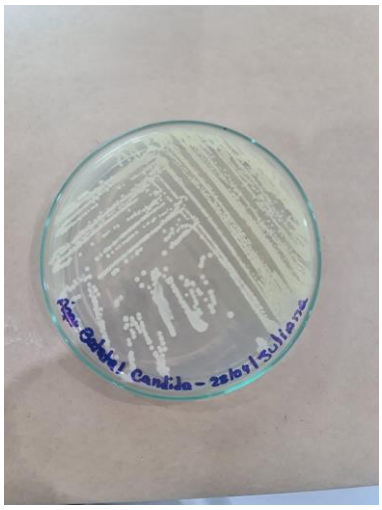
A reativação das linhagens foi realizada utilizando 1 g da amostra, a qual foi diluída em 2 mL de solução salina (0,9%) e homogeneizada por 1 minuto em um vórtex. Em seguida, 100 µL da solução contendo as cepas de *Candida albicans* foram transferidos para placas contendo meio de cultura Caldo Nutriente, as quais foram semeadas utilizando alças de Drigalski. As placas foram incubadas a 30 °C em uma estufa bacteriológica, por 24 e 48 horas.

O preparo do meio de cultura seguiu as instruções do fabricante (Kasvi Prod. e Equip. para Lab.), utilizando uma fração de 65,5 g/L de água destilada. O meio foi esterilizado em autoclave vertical modelo Phoenix Luferco a 120 °C por 15 minutos antes do plaqueamento, vertendo-se o meio em placas de Petri de vidro.

O preparo e semeio das leveduras foram conduzidos por meio de diluição seriada conforme descrito por Moreira et al. (2015) em solução salina (0,9%) até alcançar uma concentração de 1.10^{-5} células/mL. Posteriormente, 0,1 mL das diluições foram plaqueadas por espalhamento na superfície do meio sólido de Caldo nutrientes. As placas foram então incubadas em uma estufa bacteriológica modelo Fanem 502 a 30 °C por 72 horas.

O registro do crescimento foi efetuado através da observação das colônias celulares nas placas de Petri utilizando um estereoscópio com aumentos de 20x e 40x, conforme figura 04. As descrições morfológicas das colônias isoladas de *C. albicans* nas placas de Petri foram realizadas com base em Kurztman et al. (2011). Todos os experimentos foram realizados em triplicata. As análises e leituras das placas e cepas foram iniciadas 72 horas após o crescimento das colônias na estufa.

Figura 4 - Crescimento dos MO **A**- *E.coli*, **2- B**- *S.aureus* **e C-** *C. albicans*.

A- *E.coli 22/04*	***B-*** *S.aureus* 22/04	***C-*** *C.albicans 28/04*
		

Fonte: Autores, 2024.

4.4.7 Preparação do Inóculo e diluição do extrato

1). Retirar alíquota de 100µL da cepa descongelada e colocar com auxílio de pipeta automática na placa contendo MH (bactérias) e Caldo Nutriente (Levedura).

2). Espalhar com alça de drygalski, ou por esgotamento

3). Incubar em estufa por 24 - 48h a 36 °C (bactérias) e 25 °C (Levedura).

4). Diluir o extrato em DMSO10%, deixando na concentração de 6.400 µg/mL

EX: 1.280µg ---------- 1 mL

X µg ---------- 5mL

X=6.400µg = 0,064g

5). Após confirmar crescimento das colônias nas placas, selecionar 2 a 3 colônias e dissolver em tubo de ensaio contendo 2mL de solução salina 0,85% agitar até atingir a turbidez 0,5 da escala McFarland, para as bactérias. Para as leveduras ajustar até atingir a turbidez 5 da escala de McFarland por comparação com tubo de referência ficando com concentração 10^8.

6). Retirar 1mL da suspensão 10^8 e adicionar 9mL de solução salina ficando com a concentração de 10^7.

Os testes de concentração inibitória mínima (minimal inhibitory concentration – MIC) será realizado pela metodologia padronizada de microdiluição em caldo, em microplacas de 96 cavidades tipo Elisa.

1º Passo – Adição do Meio de cultura

Adicionar 100 µL de meio de cultura, caldo Muller Hinton (bactérias) e caldo nutriente (leveduras) em cada poço.

2º Passo – Adição do Extrato

Adicionar 100 µL de extrato nos poços (ex: 6.400 µg/mL) e homogeneizar; desta solução, 100 µL são retirados e adicionados na cavidade seguinte, e assim sucessivamente, e na última cavidade retirar 100 µL e descartar, obtendo-se assim uma gama de concentração de extrato de planta (6.400; 3.200; 1.600; 800; 400; 200; 100; 50 µg/mL).

ATENÇÃO: Os extratos não foram adicionados nos controles positivos; negativos do crescimento microbiano e no controle do meio de cultura.

3º Passo – Adição do controle

1). Positivo – Bactérias - Cloranfenicol: 2000 µg/mL e realizar a diluição seriada como os extratos. (2000; 1000; 500; 250; 125; 62,5, 31,25; 15,625 µL/mL).

- Leveduras - Nistatina: 10.000 U.mL/mL e realizar a diluição seriada como os extratos. (5.000; 2.500; 1.250; 625; 312,5; ; 156,25; 78,125; U.mL/mL).

2). Negativo – DMSO: Puro (100%) e realizar a diluição seriada. (50; 25; 12,5; 6,25; 3,125; 1,56; 0,78, 0,39%).

3). Crescimento do microrganismo – suspensão do inóculo 10^7: bactéria ou levedura.

4). Meio de cultura – somente o meio.

4º Passo – Adição do Inóculo

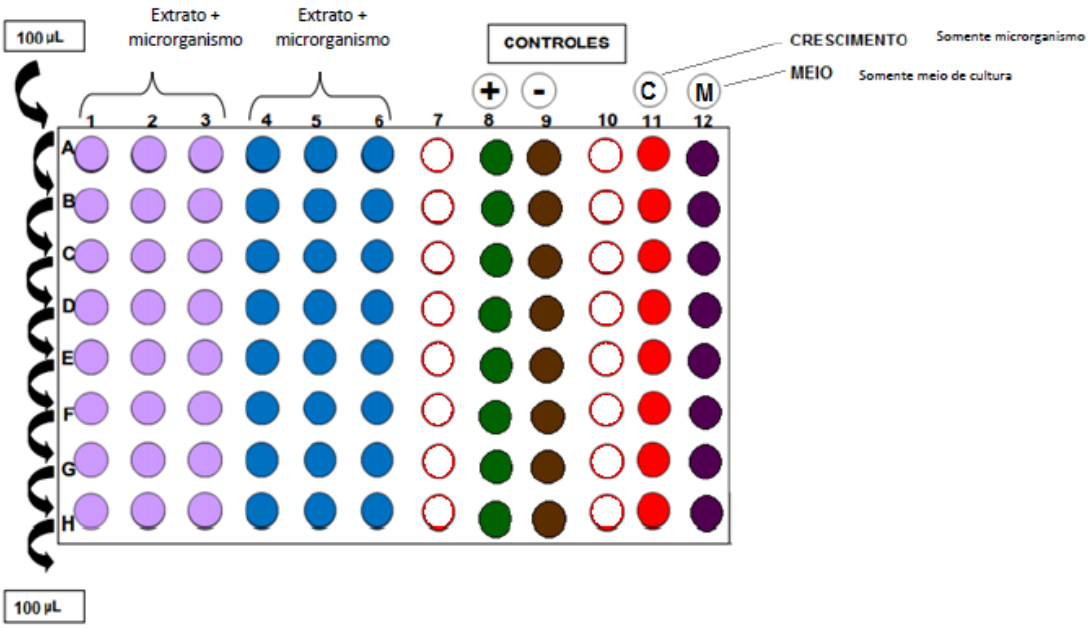
Adicionar 5µL da suspensão 10^7 homogeneizado em cada poço da placa.

obs.: O ideal é usar a suspensão ajustadas em até 15 minutos após a preparação.

5º Passo – Fechar as placas com parafilme com filme plástico e incubar a 36ºC/28°C por 24h, sem agitação. Terminado o período de incubação, adicionar em cada orifício das placas 30µL de solução aquosa de resazurina a 0,03% (100 µg/mL) homogeneizando, após 4h de reincubação, realizar a leitura.

Azul – inibiu **Vermelha** – não inibiu

Figura 5 -Observação das colônias celulares nas placas de Petri.



Fonte: Autores, 2024.

5. Bioensaio com a raiz da alface *Lactuca sativa*

O teste de toxicidade com *Lactuca sativa* foi conduzido com sementes Isla, lote 160918-007 S2, pureza 100% e validade FEV/25; em condições estáticas, seguindo as metodologias descritas por Tam e Tiquia (1994), Dutka (1989) e Andrade (2009), com adaptações apropriadas. Utilizaram-se 36 recipientes de PVC com tampas herméticas, distribuídos em 15 para as diluições de folha, 15 para raiz e 6 como controles, realizando os testes em triplicata.

Cada recipiente foi revestido com uma folha de papel de filtro qualitativo de dimensão uniforme no fundo. Com o auxílio de uma pipeta Pasteur, o papel de filtro foi umedecido com aproximadamente 4 mL da solução-teste, evitando excesso de líquido visível. Em seguida, foram colocadas 10 sementes de alface (*Lactuca sativa*) uniformemente distribuídas em cada recipiente, utilizando-se pinças de laboratório. As sementes de *Lactuca sativa* utilizadas apresentaram um percentual de germinação de 98% (fornecido pelo fabricante).

As soluções liofilizadas foram diluídas nas concentrações de 10 mg/L, 50 mg/L, 100 mg/L, 200 mg/L e 500 mg/L, tanto para raiz quanto para folha. Os discos de papel filtro foram umedecidos com as respectivas soluções diluídas a cada 2 dias.

Após a inoculação das sementes nos recipientes, estes foram mantidos em incubadora a 25 ± 1 °C por 120 horas. As raízes foram contadas e medidas após 48 horas (momento da troca do meio de crescimento) e novamente após 96 horas, utilizando-se uma régua com lente de aumento.

Os dados de número e comprimento das raízes foram utilizados para calcular o Índice Relativo de Crescimento (RGI), proposto por Young et al. (2012), pela seguinte equação:

$$RGI = \frac{RLS}{RLC}$$

Onde RLS é o comprimento de raiz das amostras e RLC é o comprimento de raiz do controle.

Os resultados propostos pela fórmula são descritos e classificados em 3 categorias com base nos efeitos observados a seguir:

- Inibição do crescimento (I): $0 < x > 0,8$
- Nenhum efeito significativo (NES): $0,8 < x > 1,2$
- Estimulação do crescimento de raiz (S): $x > 1,2$

Onde x é o valor obtido pelo RGI.

6. Teste toxicológico utilizando *Artemia salina*

Os testes toxicológicos desempenham um papel crucial na avaliação dos efeitos de substâncias tóxicas nos sistemas biológicos, fornecendo uma análise preliminar de substâncias com potencial atividade biológica e suas possíveis interações com organismos. Um método comumente empregado para avaliar a toxicidade de extratos de plantas é o uso de um indicador de toxicidade, frequentemente o microcrustáceo *Artemia salina Leach*, reconhecido como uma ferramenta fundamental na avaliação preliminar de toxicidade.

Artemia salina Leach, um microcrustáceo pertencente ao filo *Arthropoda*, classe *Crustacea*, subclasse *Branchiopoda*, ordem *Anostrac*a, família *Artemidae* e gênero *Artemia*, habita ambientes de alta salinidade. Este organismo é amplamente reconhecido como uma fonte alimentar valiosa na dieta de peixes e crustáceos, devido ao seu teor nutricional rico em proteínas, vitaminas e minerais. Utilizando o método empregando *Artemia salina*, é possível determinar a Concentração Letal 50% (CL50) de componentes ativos com atividade toxicológica.

O teste de toxicidade utilizando *Artemia salina* é amplamente difundido devido à sua sensibilidade elevada, custo acessível, rapidez e facilidade de manuseio. A letalidade desse organismo é empregada na identificação de respostas biológicas, com a morte ou sobrevivência sendo as variáveis principais ao longo do teste.

Este experimento foi conduzido de acordo com a metodologia adaptada de Mirzaei & Mirzaei (2013), seguindo as diretrizes estabelecidas pela Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OCDE, 2004; ABNT-NBR 16530 de 09/2021). Com o método estatístico ANOVA seguido de teste de Tukey com $p>0,01$. Os ovos de *Artemia salina* (50 mg) foram incubados em 500 mL de solução salina a 38% de cloreto de sódio sob constante oxigenação por 24 horas. Foram preparadas soluções mães de 10 mL com 1% de Dimetilsulfóxido (DMSO) contendo 50 mg de cada extrato. A partir dessas soluções, foram realizadas diluições para obter concentrações de 500 mg/L, 50 mg/L e 10 mg/L. Uma solução controle (branco) contendo apenas 1% de DMSO em solução salina a 38% foi preparada e diluída para obter as mesmas concentrações das soluções dos extratos. Após a eclosão dos ovos, 10 larvas de *Artemia salina* foram adicionadas a cada tubo contendo as diferentes concentrações de extrato ou controle, em triplicata, com um volume final de 10 mL, e deixadas por mais 24 horas. Ao final deste período, o número de sobreviventes foi registrado. A taxa de mortalidade foi calculada com base no número de náuplios mortos, utilizando a seguinte equação:

% mortalidade = (dteste – dcontrole / Acontrole) x 100,

Onde dteste representa o número de náuplios mortos no grupo experimental,

dcontrole representa o número de náuplios mortos no grupo controle

Acontrole representa o número de náuplios vivos no grupo controle.

7. Teste da fragilidade osmótica

A utilização de sangue humano em experimentos realizados no Laboratório de Citotoxicidade e Biocompatibilidade de Superfícies (LACIBS) foram devidamente aprovada pelo Conselho de Ética e Pesquisa, conforme registrado no parecer n.º 066/2013.

O Teste de Fragilidade Osmótica, adaptado de Mayworm et al. (2008), tem como objetivo avaliar o potencial hemolítico do extrato diluído de *Clitoria guianensis*. Amostras de sangue humano (1000 µl) foram misturadas com 1000 µl de cada concentração dos extratos de *C. guianensis* (grupo teste) ou apenas água destilada (grupo controle), ambos contendo solução de NaCl a 0,9% (m/v), e incubadas a 37 °C por 1 hora. Posteriormente, as amostras foram submetidas à centrifugação (Universal 320, Hettich, Tuttlingen, DE-BW, DE) a 1500 rpm por 10 minutos, o sobrenadante foi removido e adicionados 500 µl de NaCl (0,9% m/v). O processo de centrifugação foi repetido por mais duas vezes para remover o excesso de extrato. Em seguida, alíquotas de 50 µl de cada concentração foram adicionadas a tubos contendo 10 mg/L, 50 mg/L, 500 mg/L e 0,9% de NaCl (m/v), respectivamente, e incubadas a 37 °C por 30 minutos. Após incubação, as amostras foram centrifugadas a 2000 rpm por 10 minutos e a absorbância foi medida em um espectrofotômetro (Genesys 10S, Thermo Fischer Scientific, Waltham, MASS, EUA) a 540 nm.

8. RESULTADOS E DISCUSSÕES.

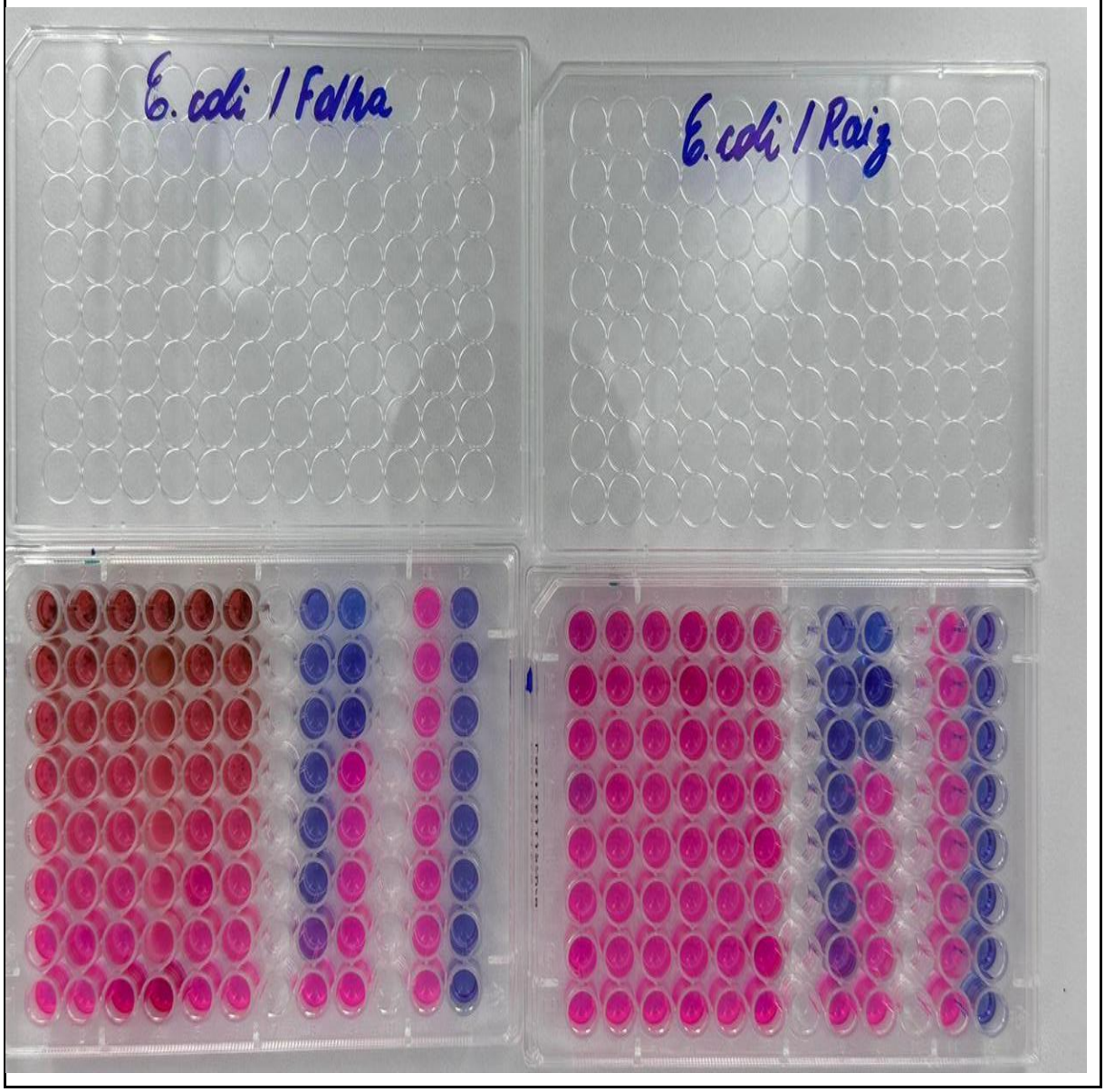
8.1 Cálculos de rendimentos relacionados aos extratos de *C. guianensis*

De acordo com a equação apresentada no Quadro 4 e com os pesos frescos das folhas e raízes, obtivemos os seguintes resultados: 43% para folhas e 42% para raízes, correspondendo aproximadamente a 430 mg/g de extrato de *Clitoria guianensis* para as folhas e 420 mg/g para as raízes.

8.2 Interpretações das culturas (MO)

Figura 6 - Interpretação das culturas de ***A-*** *E. coli* folha e ***B-*** *E. coli* raiz.

A- *E. coli* folha	***B-*** *E. coli* raiz.



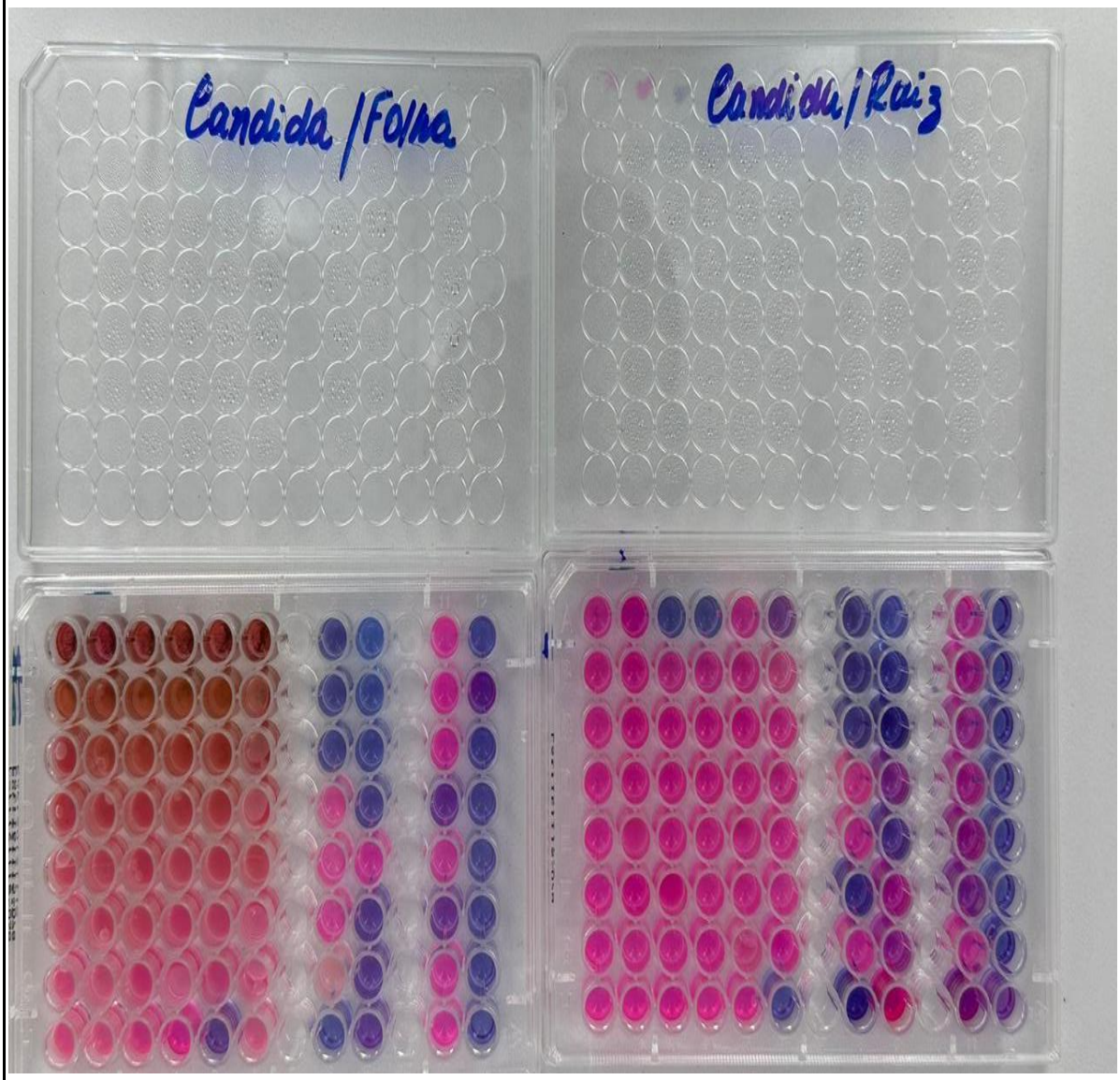
Fonte: Autores (2024) *Escherichia coli* (Gram negativo) *folha* a direita e raiz a esquerda,

Cor: Rosa (sem inibição); Cor: Rôxo (com inibição)

No teste de microrganismos, o resultado mostrou uma ausência de inibição para *E. coli*, uma bactéria gram-negativa, até a última concentração, de 3.200 µg/ml (linha A), já a coluna 8, controle positivo (+), manteve uma inibição até a concentração de 50 µg/ml e a coluna 9, controle negativo (-), até 800 µg/ml e o inóculo (C) e meio de cultura (M) mantiveram o padrão do teste, utilizando extratos da raiz e folha de *Clitoria guianensis*, observado na figura 6.

Figura 7 - Interpretação das culturas de ***A-*** *C. albicans* folha e ***B-*** *C. Albicans* raiz.

A- *C. albicans folha .*	***B*** *C. albicans raiz.*



Fonte: Autores (2024) *Candida albican*s (fungo) folha a direita e raiz a esquerda,
Cor: Rosa (sem inibição); Cor: Rôxo (com inibição)

Figura 8 - Interpretação das culturas de ***A***- *S. aureus* folha. e ***B-*** *S. aureus* raiz.

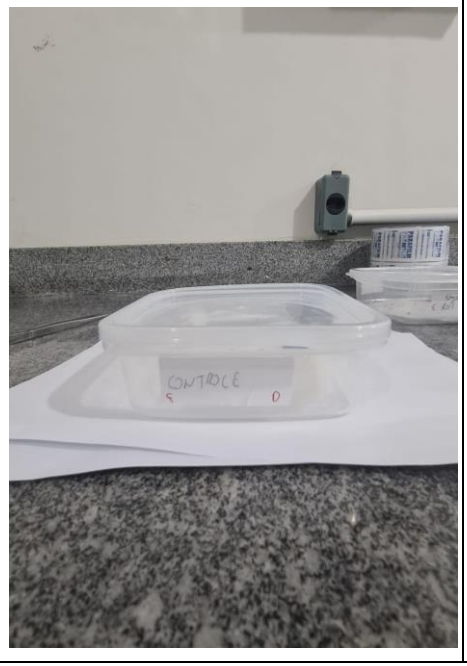
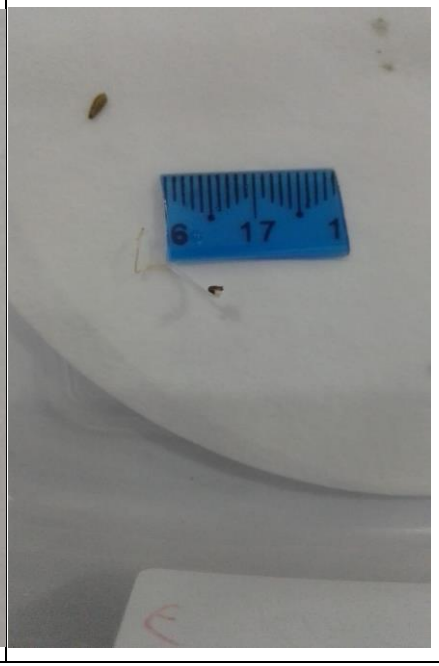
A- *S. aureus* folha.	***B-*** *S. aureus* raiz.

Fonte: Autores (2024), *Staphylococcus aureus (Gram-positiva)* folha a direita e raiz a esquerda, Cor: Rosa Cor rosa (sem inibição); Cor: Rôxo (com inibição)

No teste com *S. aureus,* houve ausência de inibição até a última concentração de 3.200 µg/ml (linha A), enquanto os (+), (C) e (M) se mantiveram dentro dos padrões do teste.

8.3 Condução do bioensaio com a raiz da alface *Lactuca sativa*

Figura 9 - Experimento com a raiz da alface *Lactuca sativa*

A Alface *Lactuca sativa* espaçamento entre sementes	**B** Alface *Lactuca sativa* Identificação dos frascos	**C** Alface *Lactuca sativa* Broto de raiz	**D** Alface *Lactuca sativa* parâmetro de medida
			

Fonte: Autores (2024), teste bioensaio com a raiz da alface *Lactuca sativa*.

O bioensaio com a raiz da alface *Lactuca sativa* é um método utilizado para avaliar os efeitos de substâncias químicas, compostos orgânicos ou extratos naturais no crescimento e desenvolvimento das raízes da alface. Esse tipo de ensaio é comumente realizado em laboratórios de pesquisa agrícola, ambiental ou de toxicologia para determinar o potencial fitotóxico ou benéfico de diferentes produtos.

O procedimento do bioensaio geralmente envolve o cultivo das sementes de alface em bandejas ou recipientes contendo um substrato adequado, como solo ou agar nutritivo. Após a germinação das sementes, as mudas são expostas às substâncias em estudo, que podem ser aplicadas diretamente no substrato ou adicionadas à água de irrigação.

Durante o período de exposição, os pesquisadores monitoram o crescimento das raízes, observando possíveis alterações morfológicas, como comprimento das raízes, número de raízes laterais, ramificação do sistema radicular, entre outros parâmetros. Além disso, também podem ser avaliados aspectos relacionados à saúde das plantas, como viabilidade celular, teor de clorofila e biomassa.

Os resultados do bioensaio com a raiz da alface *Lactuca sativa* fornecem informações importantes sobre os efeitos das substâncias testadas no desenvolvimento das plantas e sua capacidade de germinação e crescimento. Essas informações são fundamentais para orientar práticas agrícolas sustentáveis, identificar potenciais agentes fitotóxicos ou promotores de crescimento e contribuir para a proteção do meio ambiente e da saúde humana.

Contudo, é imperativo destacar a necessidade de estudos complementares para uma avaliação mais aprofundada das propriedades farmacológicas e toxicológicas de *Clitoria guianensis*. Esses estudos adicionais são cruciais para confirmar a segurança e eficácia dos extratos desta planta, antes de considerar sua aplicação em contextos clínicos ou como base para o desenvolvimento de novos medicamentos. Portanto, enquanto os resultados atuais são promissores em termos de segurança, eles também apontam para a complexidade da avaliação de novos compostos bioativos e a importância de uma investigação rigorosa e abrangente.

"Devido ao recente término do teste, ainda estamos em processo de análise dos resultados e, consequentemente, não conseguimos fornecer, a tempo, os resultados finais para uma possível análise discursiva ou interpretação dos mesmos. Pedimos compreensão e paciência enquanto concluímos essa etapa crucial do estudo".

8.4 Teste toxicológico utilizando *Artemia salina*

No teste toxicológico utilizando *Artemia salina*, foram apresentados os resultados obtidos a partir do método utilizado para avaliar a Concentração Letal 50% (CL50) de componentes ativos com atividade toxicológica em *Artemia salina*. A análise concentrou-se na porcentagem de nauplios vivos em diferentes concentrações dos compostos em estudo.

Os resultados foram divididos em duas partes: folha e raiz. Para cada uma delas, foram testadas concentrações variadas dos componentes ativos, começando pelo controle e seguindo com concentrações de 10 mg/L, 50 mg/L e 500 mg/L (PIEDRAS et al., 2006).

Ao analisar os dados, observamos que a média da porcentagem de nauplios vivos variou de acordo com a concentração dos compostos ativos. Tanto para a folha quanto para a raiz, a média foi mais alta no controle e diminuiu à medida que aumentava a concentração dos componentes ativos.

Além disso, foi calculado o desvio padrão (DP) para cada conjunto de dados, fornecendo uma medida da dispersão dos resultados em torno da média. Esses dados são essenciais para avaliar a consistência e a confiabilidade dos resultados obtidos.

Utilizou-se do programa GraphPad Prism 9.0, para calcular o CL50, que representa a concentração do componente ativo necessária para causar a morte de 50% dos náuplios de *Artemia salina*. O valor obtido foi de 4511 mg/L, fornecendo uma estimativa crucial da toxicidade dos compostos em estudo.

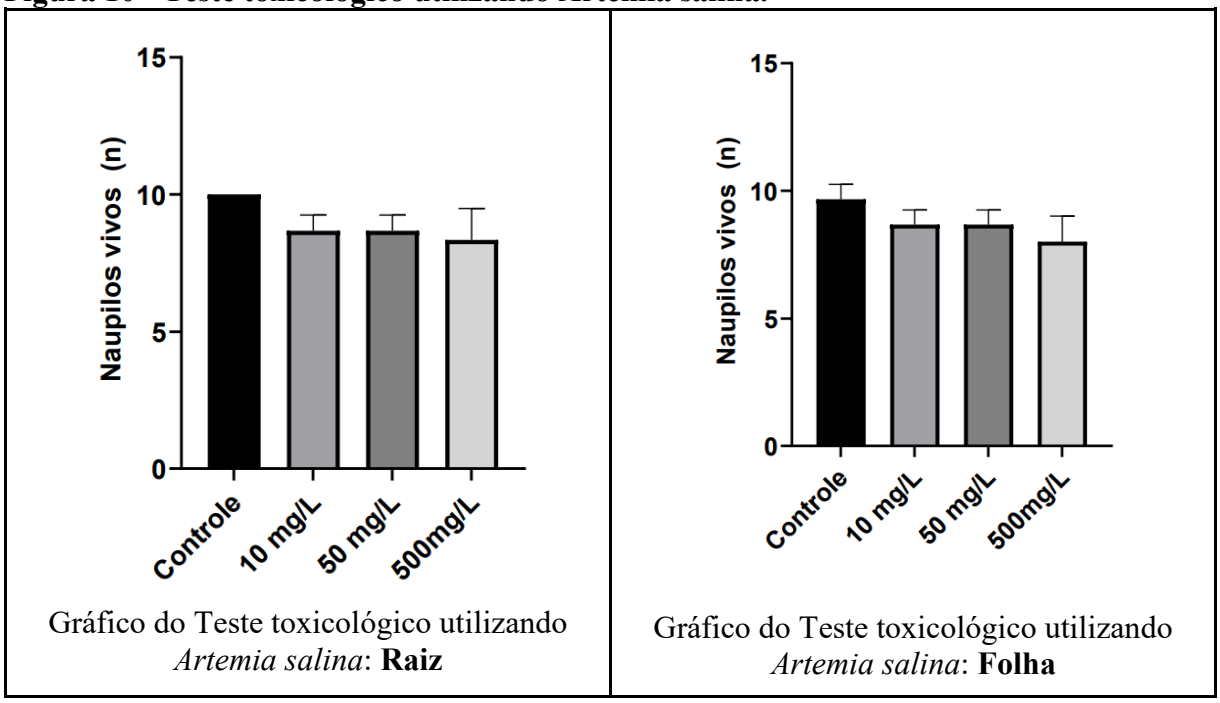
Esses resultados são fundamentais para a avaliação do potencial impacto desses componentes ativos no meio ambiente e na saúde pública, fornecendo informações valiosas para futuras pesquisas e tomadas de decisão em relação ao uso desses compostos.

Quadro 5: Calculo da Concentração Letal 50% (CL50) do teste com *Artemia salina*.

PORCENTAGEM DE NÁUPLIOS VIVOS										
		FOLHA					RAIZ			
		Controle	10 mg/L	50 mg/L	500mg/L		Controle	10 mg/L	50 mg/L	500 mg/L
		9	9	9	9		10	8	9	7
		10	8	8	8		10	9	9	9
		10	9	9	7		10	9	8	9
	Média	9,7	8,7	8,7	8,0	Média	10,0	8,7	8,7	8,3
Resultados	DP	0,6	0,6	0,6	1,0	DP	0,0	0,6	0,6	1,2
Cálculo de CL50, utilizando programa GraphPad Prism 9.0										
	CL50 calculado =	4511 mg/L								

Fonte: Autores (2024).

Figura 10 - Teste toxicológico utilizando Artemia salina.



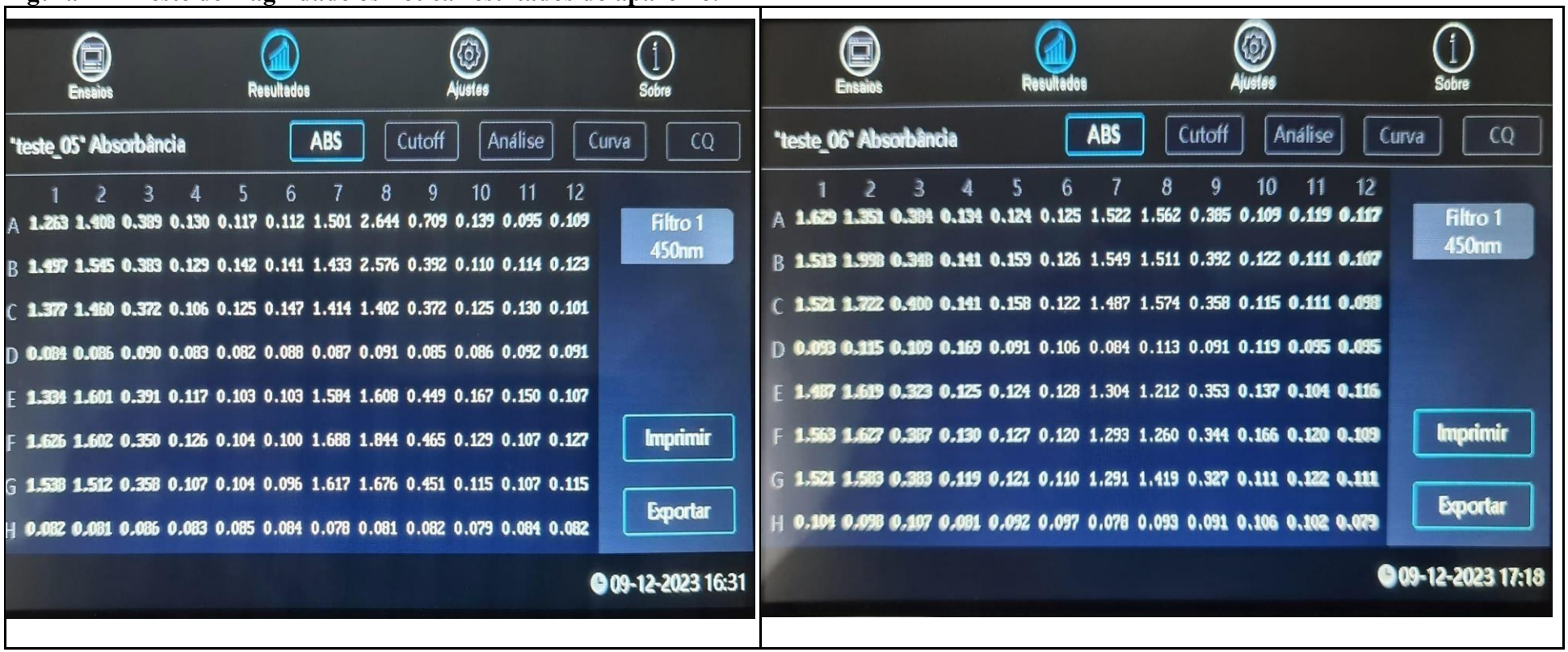
Fonte: Autores (2024), Teste toxicológico utilizando *Artemia salina*

O gráfico de toxicidade em relação à *Artemia salina*, utilizando extratos da raiz e da folha, não revelou evidências estatisticamente significantes de toxicidade. Isso significa que, com base nos dados obtidos, não foi observada uma diferença estatisticamente significativa na resposta da *Artemia salina* à exposição aos extratos da raiz e da folha até a dose testada. Essa análise sugere que os extratos não apresentaram efeitos tóxicos consideráveis sobre esse organismo-modelo, pelo menos nas condições experimentais e concentrações testadas, obtendo uma CL50 de 4.511mg/L.

No entanto, é importante continuar investigando e interpretando os resultados para uma compreensão abrangente do potencial impacto dos extratos sobre a *Artemia salina*, ou entre outros organismos em modelo *in vivo*.

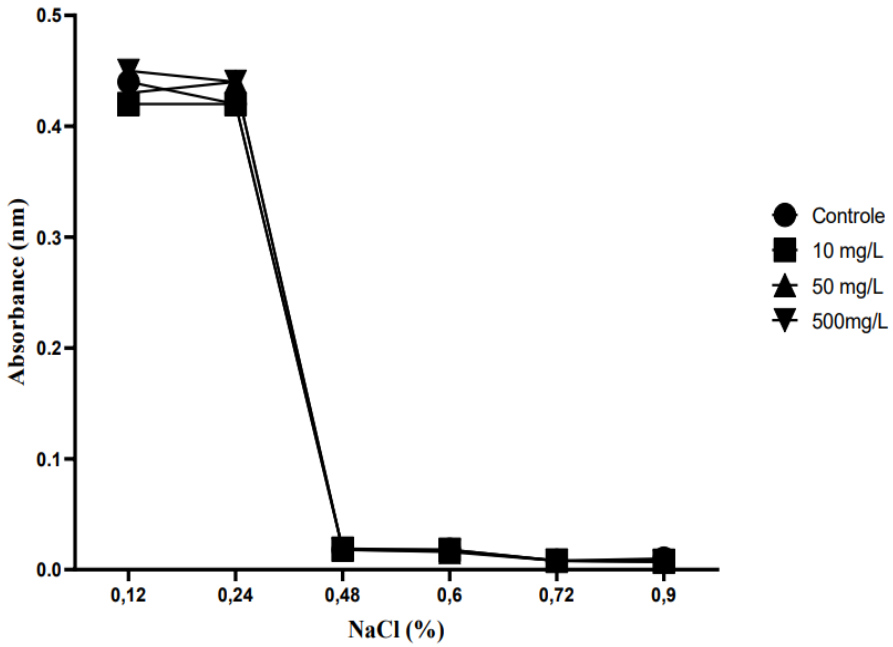
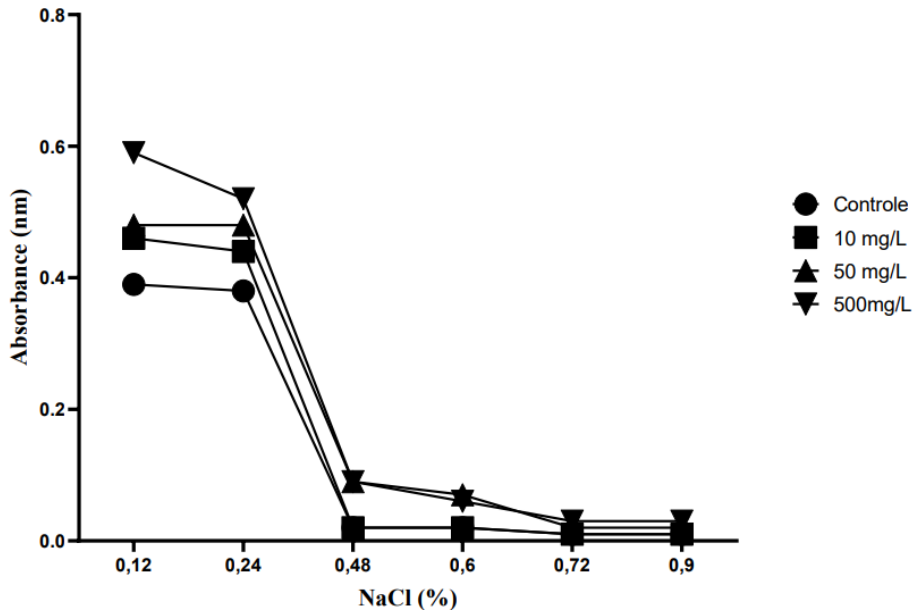
8.5 Teste da fragilidade osmótica

Figura 11 - Teste de fragilidade osmótica resultados do aparelho.



Fonte: Autores (2024), teste da fragilidade osmótica utilizando sangue humano.

Figura 12 - Interpretação dos Gráficos Teste da fragilidade osmótica folha e raiz.

Teste da fragilidade osmótica Gráfico Folha	Teste da fragilidade osmótica Gráfico Raíz
	

Fonte: Autores (2024), teste da fragilidade osmótica utilizando sangue humano.

Ao analisar o gráfico de toxicidade em relação à F.O. (Fragilidade Osmótica), observou-se que não houve diferenças significativas em termos de toxicidade ao comparar o grupo exposto ao extrato da folha com o grupo controle. No entanto, ao examinar o grupo exposto ao extrato da raiz, foram evidenciadas diferenças significativas de toxicidade nas concentrações de 50 mg/L e 500 mg/L quando comparadas ao grupo controle (BAIN, 2009; DA SILVA, 2024; DA SILVA et al., 2015).

Notavelmente, não foram observados sinais de toxicidade no grupo exposto à concentração de 10 mg/L. Esses resultados indicam que o extrato da raiz, em determinadas concentrações, pode ter efeitos adversos na fragilidade osmótica, enquanto o extrato da folha não demonstrou ter um impacto significativo nas condições experimentais testadas.

9. CONCLUSÕES

Em conclusão, os resultados obtidos nesta pesquisa fornecem *insights* valiosos sobre as concentrações inibitórias mínimas e toxicológicas de *Clitoria guianensis*. Os extratos de raiz e folha desta planta não demonstraram atividade inibitória significativa contra as bactérias *Escherichia coli, Staphylococcus aureus*, e o fungo *Candida albicans* em várias concentrações testadas. Adicionalmente, os testes de bioensaio utilizando raízes de *Latuca sativa* continuam em progresso, com análises estatísticas complementares pendentes, o que sugere a necessidade de mais investigações para elucidar completamente o impacto desses extratos.

No que tange ao teste de fragilidade osmótica, observou-se um padrão de segurança consistente, com níveis de hemólise nos limites considerados seguros nas concentrações estudadas, sugerindo uma baixa toxicidade hemolítica dos extratos. Paralelamente, os resultados dos testes de toxicidade com *Artemia salina* reforçam a segurança dos extratos de raiz e folha de *Clitoria guianensis*, apresentando um perfil preliminar que sugere uma toxicidade baixa e, por extensão, um potencial para desenvolvimento seguro em estudos futuros voltados para a microbiota humana.

1. Biochanina A (7-O-β-D-rutinosídeo):
2. 6-deoxyclitoriacetal 11-O-β-D-glucopyranoside:
3. 186-desoxiclitoriacetal:
4. (2S)-naringenina-6-C-β-D-glicopiranosídeo:
5. (2R)-naringenina-6-C-β-D-glicopiranosídeo:
6. 4-hidroxi-3-metoxifenil-1-O-β-D-glucopiranosídeo (taquiosídeo):
7. 4-hidroxi-3,5-dimetoxifenil-1-O-β-D-glucopiranosídeo (coaburasida):

10. REFERÊNCIAS

AGRA, M. de F., FREITAS, P. F. de, & BARBOSA-FILHO, J. M. (2007). Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 17, 114–140. Disponível em: https://www.scielo.br/j/rbfar/a/mK3xKRWQ5tK6WHBKJKGGpxD/?lang=en. Acesso em: 15 set. 2024.

AGRA, M. de F., SILVA, K. N., BASÍLIO, I. J. L. D., FREITAS, P. F. de, & BARBOSA-FILHO, J. M. (2008). Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil. **Revista brasileira de farmacognosia**, 18, 472–508. Disponível em: https://www.scielo.br/j/rbfar/a/fC7snvLkwzzFsMv3mfVRGNc/. Acesso em: 15 set. 2024.

ALVES, C. Q., DAVID, J. M., DAVID, J. P., BAHIA, M. V., & AGUIAR, R. M. (2010). Métodos para determinação de atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos. **Química Nova**, 33, 2202–2210. Disponível em: https://doi.org/10.1590/S0100-40422010001000033. Acesso em: 15 set. 2024.

ANTÔNIO, G. D., TESSER, C. D., & MORETTI-PIRES, R. O. (2013). Contributions of medicinal plants to care and health promotion in primary healthcare. **Interface - Comunicação, Saúde, Educação**, 17, 615–633. Disponível em: https://doi.org/10.1590/S1414-32832013005000014. Acesso em: 15 set. 2024.

BAIN, B. J. (2009). **Células sanguíneas: Um guia prático**. Artmed Editora.

BATLOUNI, M. (2010). Anti-inflamatórios não esteroides: Efeitos cardiovasculares, cérebro-vasculares e renais. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, 94, 556–563. Disponível em: https://doi.org/10.1590/S0066-782X2010000400019. Acesso em: 15 set. 2024.

BATRA, R., SUH, M. K., CARSON, J. S., DALE, M. A., MEISINGER, T. M., FITZGERALD, M., OPPERMAN, P. J., LUO, J., PIPINOS, I. I., XIONG, W., & BAXTER, B. T. (2018). IL-1β (Interleukin-1β) and TNF-α (Tumor Necrosis Factor-α) Impact Abdominal Aortic Aneurysm Formation by Differential Effects on Macrophage Polarization. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, 38(2), 457–463. Disponível em: https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.117.310333. Acesso em: 15 set. 2024.

BOAES, T. da S., de ARRUDA, G. L., FERREIRA, T. DE S., CHAGAS JUNIOR, A. F., & CHAPLA, V. M. (2019). Variation of the metabolic production of the endophytic fungus Diaporthe sp. Of *Clitoria guianensis* Benth using OSMAC. **Periódico Tchê Química**, 16(32), 870–877. Disponível em: https://www.cabdirect.org/globalhealth/abstract/20219942611. Acesso em: 15 set. 2024.

BRASIL, M. (2012). **Práticas integrativas e complementares: Plantas medicinais e fitoterapia na Atenção Básica**. Cad. At. Basica, 31.

CRUZ, Á. B., CIRIBELLI, N. N., CUNHA, C. L., NASCIMENTO, I. R., HOLZBACH, J. C., & PEREIRA, D. H. (2023). Theoretical and experimental study of the diastereoisomers (2S) and (2R)-naringenin-6-C-β-D-glucopyranoside obtained from Clitoria guianensis. **Journal of Molecular Modeling**, 29(3), 77. Disponível em:

https://idp.springer.com/authorize/casa?redirect_uri=https://link.springer.com/article/10.1007/s0089402305482y&casa_token=CtTZFzmap20AAAAA:rHjvpfQGPV3_ML6IrVWvVkkTq9PUIviWZPtIc60QzOWqvzOG8CK2vLzDY2m7QlqiJCg2fSutLXl5O78. Acesso em: 25 set. 2024.

CUNHA, C. L., SIEBENEICHLER, S. C., NASCIMENTO, I. R., & HOLZBACH, J. C. (2020a). A New Isoflavone and Other Constituents from Roots of Clitoria guianensis. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 31, 1753–1757. Disponível em: https://doi.org/10.21577/0103-5053.20200061. Acesso em: 28 set. 2024.

CUNHA, C. L., SIEBENEICHLER, S. C., NASCIMENTO, I. R., & HOLZBACH, J. C. (2020b). A New Isoflavone and Other Constituents from Roots of Clitoria guianensis. **Journal of the Brazilian Chemical Society,** 31, 1753–1757. Disponível em: https://doi.org/10.21577/0103-5053.20200061. Acesso em: 28 set. 2024.

CUNHA, M. M. F. da. (2022). **Avaliação da atividade cicatrizante de flavonoides: uma revisão sistemática**. Disponível em: https://tede.unioeste.br/handle/tede/6479. Acesso em: 28 set. 2024.

DA SILVA, M. de F. **Revisão da técnica da curva de fragilidade osmótica no serviço de hematologia de São José dos Campos**. 2024. Disponível em: http://www.ciencianews.com.br/arquivos/ACET/IMAGENS/bibliotecadigital/hematologia/padronizacoes_hemato/18.pdf. Acesso em: 15 set. 2024.

DA SILVA, P. H., ALVES, H. B., COMAR, S. R., HENNEBERG, R., MERLIN, J. C., & STINGHEN, S. T. (2015). Hematologia laboratorial: Teoria e procedimentos. **Artmed Editora**. Disponível em: https://books.google.com/books?hl=pt-BR&lr=&id=xiNmCgAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=REVIS%C3%83O+DA+T%C3%89CNICA+DA+CURVA+DE+FRAGILIDADE+OSM%C3%93TICA+NO+SERVI%C3%87O+DE+HEMATOLOGIA+DE+S%C3%83O+JOS%C3%89+DOS+CAMPOS+&ots=9B29VOnDzO&sig=fHcyjUGkLRJPDyrckpRVTsOKXi4. Acesso em: 15 set. 2024.

DE SOUSA, F. B. V., CRUZ, Á. B., SOARES, D. F., CUNHA, C. L., & HOLZBACH, J. C. (2023). Chemical constituents and in vivo preliminary evaluation of the toxicological activity of Ouratea spectabilis (OCHNACEAE) and *Clitoria guianensis* (Fabaceae) leaves. **Bioscience Journa**l, 39(e39010), 1981–3163. Disponível em: https://seer.ufu.br/index.php/biosciencejournal/article/download/62323/35500/306117. Acesso em: 15 set. 2024.

DORNAS, W. C., OLIVEIRA, T. T., RODRIGUES-DAS-DORES, R. G., SANTOS, A. F., & NAGEM, T. J. (2007). Flavonóides: Potencial terapêutico no estresse oxidativo. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, 28(3), Artigo 3. Disponível em: https://rcfba.fcfar.unesp.br/index.php/ojs/article/view/500. Acesso em: 15 set. 2024

ESCHER, G. B. (2019). Flores de Centaurea cyanus L. e Clitoria ternatea L. **Caracterização química, estabilidade das antocianinas e propriedades funcionais in vitro**. Disponível em: https://tede2.uepg.br/jspui/handle/prefix/3575. Acesso em: 15 set. 2024.

FAGUNDES, N. C. A., OLIVEIRA, G. L., & SOUZA, B. G. de. (2017). **Etnobotânica de plantas medicinais utilizadas no distrito de Vista Alegre, Claro dos Poções–Minas Gerais**. Disponível em: https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/21120. Acesso em: 15 set. 2024.

FERNANDES, B. F., GONÇALVES, H. R., GUIMARÃES, M. R., ALVES, A. A., & BIESKI, I. G. C. (2019). Estudo etnofarmacológico das plantas medicinais com presença de saponinas e sua import ncia medicinal. **Revista da Saúde da AJES**, 5(9), Artigo 9. Disponível em: https://www.revista.ajes.edu.br/index.php/sajes/article/view/302. Acesso em: 15 set. 2024.

FREITAS, P. R., MENDES, J. W. DA S., DIAS, K. J. DE O., CARVALHO FILHO, M. A. N. DE, ARAÚJO, A. C. J. DE, & RIBEIRO FILHO, J. (2019). **Abordagens terapêuticas nas doenças inflamatórias: Uma revisão**. Disponível em: https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/37034. Acesso em: 15 set. 2024.

GÓIS, L., MARTINS, M., da SILVA, I. M. M., GÓIS, L. M., & de ALMEIDA, S. G. (2016). O programa nacional de plantas medicinais e fitoterápicos e o processo participativo de implantação de hortas medicinais pelos coletivos de mulheres do MST, no sul de Minas Gerais. **Revista Terceiro Incluído**. Disponível em: https://repositorio.ufmg.br/handle/1843/53120. Acesso em: 15 set. 2024.

INÁCIO, D. R. D. (2023). **Terapêutica anti-TNF alfa no tratamento da artrite reumatoide [masterThesis]**. Disponível em: https://sapientia.ualg.pt/handle/10400.1/20074. Acesso em: 15 set. 2024.

JORGE, G. M., & MORAES, G. V. (2022). **Potencial antioxidante dos flavonoides e aplicações terapêuticas**. Disponível em: https://repositorio.animaeducacao.com.br/handle/ANIMA/26368. Acesso em: 15 set. 2024.

MACEDO, J. A. B. (2016). **Plantas medicinais e fitoterápicos na atenção primária à saúde: Contribuição para profissionais prescritores**. Disponível em: https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/17719. Acesso em: 15 set. 2024.

MARQUES, R. B., SIEBENEICHLER, S. C., FERNANDA, M., ROCHA SANTOS, R. A. C. C., DE OLIVEIRA, M., ROSA, L. P., & SILVA, K. D. O. (2019). **Growth and plant development of *Clitoria guianensis* Benth in vase**. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/SusanaSiebeneichler/publication/338233702_GROWTH_AND_PLANT_DEVELOPMENT_OF_Clitoria_guianensis_Benth_IN_VASE/links/5e0a0e16a6fdcc28374ac42a/GROWTH-AND-PLANT-DEVELOPMENT-OF-Clitoria-guianensis-Benth-IN-VASE.pdf. Acesso em: 15 set. 2024.

MATTOS, G., CAMARGO, A., SOUSA, C. A. DE, & ZENI, A. L. B. (2018). Plantas medicinais e fitoterápicos na Atenção Primária em Saúde: Percepção dos profissionais. **Ciência & Saúde Coletiva**, 23, 3735–3744. Disponível em: https://doi.org/10.1590/1413-812320182311.23572016. Acesso em: 15 set. 2024.

MENDES, R. T., STANCZYK, C. P., SORDI, R., OTUKI, M. F., SANTOS, F. A. dos, & FERNANDES, D. (2012). Inibição seletiva da ciclo-oxigenase-2: Riscos e benefícios. **Revista Brasileira de Reumatologia**, 52, 774–782. Disponível em: https://www.scielo.br/j/rbr/a/JJPmzqRJ3ykRpfFChScNrTP/. Acesso em: 15 set. 2024

MONTEIRO, J. M., ALBUQUERQUE, U. P. DE, ARAÚJO, E. DE L., & AMORIM, E. L. C. de. (2005). Taninos: Uma abordagem da química à ecologia. **Química Nova**, 28, 892–896. Disponível em: https://doi.org/10.1590/S0100-40422005000500029. Acesso em: 15 set. 2024.

MORAES, G. V., JORGE, G. M., GONZAGA, R. V., & dos SANTOS, D. A. (2022). Potencial antioxidante dos flavonoides e aplicações terapêuticas. **Research, Society and Development**, 11(14), e238111436225–e238111436225. Disponível em: https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/36225. Acesso em: 15 set. 2024.

NOVAES, A. R. V. de. (2013). **Manual de práticas integrativas e complementares no SUS**. Disponível em: https://saude.es.gov.br/Media/sesa/PIC/SESA_MANUAL%20DE%20PIC_VERSAO%20FINAL.pdf. Acesso em: 15 set. 2024.

OLIVEIRA, M. F. S. de. (2008). **Bebendo na raiz: Um estudo de caso sobre saberes e técnicas medicinais do povo brasileiro**. Disponível em: https://repositorio.unb.br/handle/10482/5285. Acesso em: 15 set. 2024.

PIEDRAS, Sérgio Renato Noguez et al. Concentração letal (CL50) de amônia não ionizada para larvas de pejerrey em exposição aguda. **Scientia Agrícola**, v. 63, p. 184-186, 2006.

PRÁTICAS INTEGRATIVAS E COMPLEMENTARES EM SAÚDE (PICS). (2022). Sec. de Atenção Primária à Saúde. Ministério da Saúde. Disponível em: https://www.gov.br/saude/pt-br/composicao/saps/pics. Acesso em: 15 set. 2024.

RAHEJA, S. et al. Biochanin A: A phytoestrogen with therapeutic potential. **Trends in Food Science & Technology**, v. 79, p. 55–66, 1 set. 2018.

RELAÇÃO NACIONAL DE PLANTAS MEDICINAIS DE INTERESSE AO SISTEMA ÚNICO DE SAÚDE (Renisus). (2021). Governo Federal. Ministério da Saúde. Disponível em: https://www.gov.br/saude/pt-br/composicao/sectics/daf/pnpmf/ppnpmf/renisus. Acesso em: 15 set. 2024.

RIBEIRO, G. D. (2009). **Algumas espécies de plantas úteis reunidas por famílias e suas utilizações**. Embrapa Rondônia.

RIBEIRO, G. D. (2010). **Algumas espécies de plantas reunidas por famílias e suas propriedades**. Disponível em: https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/884520. Acesso em:

RIBEIRO, R. V., BIESKI, I. G. C., BALOGUN, S. O., & MARTINS, D. T. de O. (2017). Ethnobotanical study of medicinal plants used by Ribeirinhos in the North Araguaia microregion, Mato Grosso, Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, 205, 69–102. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.04.023. Acesso em: 15 set. 2024.

SARFRAZ, A. et al. Biochanin A: A novel bioactive multifunctional compound from nature. **Science of The Total Environment**, v. 722, p. 137907, 20 jun. 2020.

SECRETARIA DE ATENÇÃO PRIMÁRIA À SAÚDE. Disponível em: https://aps.saude.gov.br/noticia/21236. Acesso em: 15 set. 2024.

SILVA, C. S. P. da. (2007). **As plantas medicinais no município de Ouro Verde de Goiás, GO, Brasil: Uma abordagem etnobotânica**. Disponível em: http://www.realp.unb.br/jspui/handle/10482/2368. Acesso em: 15 set. 2024.

SOARES, D. F., CUNHA, C. L., DE OLIVEIRA KRAUSER, M., & HOLZBACH, J. C. (2020). Phytochemical screening and antioxidant activity of Clitoria guianensis. **Revista Cereus**, 12(3), 127–134. Disponível em: http://ojs.unirg.edu.br/index.php/1/article/view/3182. Acesso em: 15 set. 2024.

TESSER, C. D., SOUSA, I. M. C. DE, & NASCIMENTO, M. C. do. (2018). Práticas integrativas e complementares na atenção primária à saúde brasileira. **Saúde em debate**, 42, 174–188. Disponível em: https://www.scielo.br/j/sdeb/a/SY9PZWpk4h9tmQkymtvV87S/?lang=pt. Acesso em: 15 set. 2024.

VIDA SAUDÁVEL. **Práticas Integrativas e Complementares (PIC)**. Secretaria de Estado de Saúde de Minas Gerais. ([s.d.]). 2023. Disponível em: https://www.saude.mg.gov.br/pics. Acesso em: 15 set. 2024.

VILA VERDE, G. M., PAULA, J. R. de, & CANEIRO, D. M. (2003). Levantamento etnobotânico das plantas medicinais do cerrado utilizadas pela população de Mossâmedes (GO). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 13, 64–66. Disponível em: https://www.scielo.br/j/rbfar/a/WHqzHPXPqWh3pVVJKC9dK8n/?lang=pt. Acesso em: 15 set. 2024.

YU, C. et al. Perspectives Regarding the Role of Biochanin A in Humans. **Frontiers in Pharmacology**, v. 10, 2019.