



UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
ESCOLA DE FARMÁCIA
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA



LUCAS DUARTE SILVA

**Extratos e frações de *Melaleuca leucadendron* (L.)
L.: composição fitoquímica, atividades biológicas e
aspectos toxicológicos descritos**

Ouro Preto

2022

LUCAS DUARTE SILVA

**Extratos e frações de *Melaleuca leucadendron* (L.)
L.: composição fitoquímica, atividades biológicas e
aspectos toxicológicos descritos**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao curso de Farmácia da
Universidade Federal de Ouro Preto,
como requisito parcial para a
obtenção do título de Bacharel em
Farmácia.

Orientador: Prof. Dr. Orlando David Henrique dos Santos

Coorientador: Dr. Luan Silvestro Bianchini Silva

Unidade: Laboratório de Fitotecnologia – CIPHARMA/UFOP

Ouro Preto

2022

SISBIN - SISTEMA DE BIBLIOTECAS E INFORMAÇÃO

S586e Silva, Lucas Duarte.

Extratos e frações de *Melaleuca leucadendron* (L.) L. [manuscrito]:
composição fitoquímica, atividades biológicas e aspectos toxicológicos
descritos. / Lucas Duarte Silva. - 2022.

75 f.: il.: color., tab.. + Quadro.

Orientador: Prof. Dr. Orlando David Henrique dos Santos.

Coorientador: Dr. Luan Silvestro Bianchini Silva.

Monografia (Bacharelado). Universidade Federal de Ouro Preto. Escola
de Farmácia. Graduação em Farmácia .

1. Química vegetal. 2. Melaleuca. 3. Metabólitos. 4. Toxicidade. I.
Santos, Orlando David Henrique dos. II. Silva, Luan Silvestro Bianchini. III.
Universidade Federal de Ouro Preto. IV. Título.

CDU 615.3

Bibliotecário(a) Responsável: Soraya Fernanda Ferreira e Souza - SIAPE: 1.763.787



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
REITORIA
ESCOLA DE FARMACIA
DEPARTAMENTO DE FARMACIA



FOLHA DE APROVAÇÃO

Lucas Duarte Silva

Farmacêutico

Monografia apresentada ao Curso de Farmácia da Universidade Federal de Ouro Preto como requisito parcial para obtenção do título de Farmacêutico

Aprovada em 21 de junho de 2022

Membros da banca

Prof. Dr. Orlando David Henrique dos Santos - Orientador - Universidade Federal de Ouro Preto
Dr. Luan Silvestro Bianchini Silva - Co-orientador - Laboratórios Teuto
Prof. Dr. Luiz Fernando de Medeiros Teixeira - Universidade Federal de Ouro Preto
Dra. Fernanda Barçante Perasoli - Laboratórios Teuto

Prof. Dr. Orlando David Henrique dos Santos, orientador do trabalho, aprovou a versão final e autorizou seu depósito na Biblioteca Digital de Trabalhos de Conclusão de Curso da UFOP em 23/06/2022



Documento assinado eletronicamente por **Orlando David Henrique dos Santos, PROFESSOR DE MAGISTERIO SUPERIOR**, em 23/06/2022, às 14:28, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.ufop.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0350391** e o código CRC **7E8AF974**.

Referência: Caso responda este documento, indicar expressamente o Processo nº 23109.008279/2022-81

SEI nº 0350391

R. Diogo de Vasconcelos, 122, - Bairro Pilar Ouro Preto/MG, CEP 35400-000
Telefone: (31)3559-1069 - www.ufop.br

Dedico este trabalho à todos os interessados no conhecimento sobre plantas medicinais e fitoterápicos baseado em evidências científicas, e que investem o seu tempo em explorar o mundo das plantas medicinais. Dedico também à Liga Acadêmica de Fitoterapia – LAFITO-UFOP, cujo princípio de criação foi disseminar conhecimentos sobre Fitoterapia para toda a comunidade da UFOP e da região das Vertentes.

RESUMO

Melaleuca leucadendron (L.), conhecida popularmente como “árvore da casca de papel”, “*Cajeput*” ou “*Kayu putih*”, é uma árvore pertencente à família Myrtaceae usada na medicina tradicional em países como Taiwan, Vietnã, Indonésia, Filipinas e Senegal. O seu óleo essencial, já conhecido pelas propriedades repelentes, antimicrobianas e antioxidantes, além de possuir aplicações industriais relevantes como aromatizante de alimentos e na composição de perfumes, já vêm sendo abordados em revisões de literatura que descrevem os componentes bioativos caracterizados e isolados, atividades biológicas e aspectos toxicológicos. Entretanto, ainda não há estudos que se dediquem a reunir as principais descobertas e relevâncias científicas para extratos e frações dessa espécie. Sendo assim, o objetivo deste trabalho é realizar uma revisão de literatura sobre *M. leucadendron*, contemplando a identificação e avaliação de metabólitos secundários, das atividades biológicas e da toxicidade de seus extratos e frações. A partir da revisão, identificaram-se como componentes majoritários dos extratos de *M. leucadendron*, ácido ursólico, ácido betulínico, piceatanol, quercetina, oxiresveratrol, friedelina, entre outros. Também foram identificados componentes bioativos inéditos para a espécie, como as leucadenonas A-D, melaleucadinas A e B, leumelaleucols A-L, além de novos triterpenóides pentacíclicos do tipo lupano, do tipo oleaneno e do tipo ursano. Entre as principais atividades biológicas descritas estão as atividades antioxidante, antimicrobiana, antiviral, antiparasitária, antitumoral, antidiabetes, antiobesidade, inibitória de enzimas microsossomais hepáticas, inseticida e neuroprotetora. Alguns estudos também descrevem a citotoxicidade dos extratos, além da toxicidade *in vivo* e do potencial alergênico dos mesmos. Com base nos dados compilados, destaca-se a importância de novos estudos com os extratos de *M. leucadendron*, em especial estudos *in vivo* e estudos clínicos, para investigar as atividades biológicas já descritas na literatura, além de definir informações acerca da segurança e efetividade do uso dos extratos.

Palavras-chave: *Melaleuca leucadendron*, *Melaleuca leucadendra*, extratos, frações, atividades biológicas, composição fitoquímica.

ABSTRACT

Melaleuca leucadendron (L.), popularly known as “paper bark tree”, “Cajeput” or “Kayu putih”, is a tree belonging to the Myrtaceae family used in traditional medicine in countries such as Taiwan, Vietnam, Indonesia, Philippines and Senegal. Its essential oil, already known for its repellent, antimicrobial and antioxidant properties, in addition to having relevant industrial applications as a food flavoring and in the composition of perfumes, has already been addressed in literature reviews that describe the characterized and isolated bioactive components, biological activities and toxicological aspects. However, there are still no studies dedicated to gathering the main discoveries and scientific relevance for extracts and fractions of this species. Therefore, the objective of this work is to carry out a literature review on *M. leucadendron*, contemplating the identification and evaluation of secondary metabolites, the biological activities and the toxicity of their extracts and fractions. From the review, ursolic acid, betulinic acid, piceatanol, quercetin, oxiresveratrol, friedelin, among others, were identified as the major components of *M. leucadendron* extracts. New bioactive components for the species were also identified, such as leucadenones A-D, melaleucadins A and B, leumelaleucols A-L, in addition to new lupane, oleanene and ursane pentacyclic triterpenoids. Among the main biological activities described are antioxidant, antimicrobial, antiviral, antiparasitic, antitumor, antidiabetes and antiobesity, inhibitory of hepatic microsomal enzymes, insecticidal and neuroprotective activities. Some studies also describe the cytotoxicity of the extracts, in addition to their *in vivo* toxicity and allergenic potential. Based on the compiled data, the importance of new studies with *M. leucadendron* extracts is highlighted, especially *in vivo* studies and clinical studies, to investigate the biological activities already described in the literature, in addition to defining information about safety and effectiveness of the use of extracts.

Keywords: *Melaleuca leucadendron*, *Melaleuca leucadendra*, extracts, fractions, biological activities, phytochemical composition.

LISTA DE ABREVIATURAS

- A5-LOX: araquidonato-5-lipoxigenase
- Amberlite® XAD-4 1%: estireno-divinilbenzeno 1%
- BHT: hidroxitolueno butilado
- BrdU: *O*-5-bromo-2'-desoxiuridina
- BSL: bioensaio de letalidade de artêmia
- CAT: catalase
- CAPES: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
- CC₅₀: concentração inibitória de 50% de células humanas
- CIM: concentração inibitória mínima
- CLAE: cromatografia líquida de alta eficiência
- CL₅₀: concentração letal média
- CL₉₀: concentração letal em 90%
- CMB: concentração mínima bactericida
- CMF: concentração mínima fungicida
- COX-2: ciclo-oxigenase-2
- CYP2D6: enzima do citocromo P450 do tipo 2D6
- CYP3A4: enzima do citocromo P450 do tipo 3A4
- DCFDA: diacetato de 2',7'-diclorofluorescina
- DMSO: dimetilsulfóxido
- DPPH: atividade de eliminação de radicais 1,1-difenil-2-picril-hidrazil
- EDTA-Na₂: etilenodiaminotetracetato dissódico dihidratado
- ELISA: ensaio de imunoabsorção enzimática
- EROs: espécies reativas de oxigênio
- FIC: atividade quelante de íons ferrosos
- FRAP: avaliação do poder antioxidante com redutor férrico
- GPx: glutathiona peroxidase
- GSH: glutathiona
- HaCaT: queratinócitos da pele humana
- HSV-1: vírus herpes-simplex tipo 1
- IC₅₀: concentração do composto que leva a 50% de inibição do alvo avaliado.
- IgE: imunoglobulina E
- IgG: imunoglobulina G

iNOS: óxido nítrico sintase induzível
IκBα: inibidor endógeno kappa B-alfa
L-NMMA: N^G-monometil-L-arginina
LPS: lipopolissacarídeo
MTT: brometo de [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio
NADPH: nicotinamida e adenina dinucleotídeo fosfato
NF-κB: fator nuclear kappa-B
NO: óxido nítrico
ORAC: capacidade de absorção de radicais oxigênio
PGD₂: prostaglandina D₂
PGE₂: prostaglandina E₂
PGI₂: prostaglandina I₂
pNPP: *p*-nitrofenil fosfato
PPARγ: receptores ativadores da proliferação de peroxissomos
ppm: partes por milhão
PTP1B: proteína tirosina fosfatase 1B
SDS-PAGE: eletroforese em gel de poliacrilamida com dodecilsulfato de sódio
SFB: soro fetal bovino
SOD1: superóxido dismutase
TCPTP: proteína tirosina fosfatase de células T
TE/g: equivalentes de Trolox por grama
TEAC: capacidade antioxidante equivalente de Trolox
TNF-α: fator de necrose tumoral-alfa
Trolox: ácido 6-hidroxi-2-5-7-8-tetrametilcroman-2-carboxílico
UVB: ultravioleta B
vs.: *versus*
XAD-PVP: polivinilpirrolidona 1%
XO: xantina oxidase

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Árvore da espécie *M. leucadendron* (A) com detalhe das flores, frutos e folhas do respectivo espécime (B) localizada no Campus Morro do Cruzeiro da Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP).....15

Figura 2 - Fluxograma da pesquisa nas bases de dados sobre os extratos de *M. leucadendron*.....24

LISTA DE TABELAS E QUADROS

Tabela 1 - Componentes bioativos encontrados em extratos de <i>M. leucadendron</i> a partir de triagem fitoquímica	26
Tabela 2 - Conteúdo fenólico total de extratos de <i>M. leucadendron</i> , expressos em miligramas de ácido gálico equivalente (mg GAE/g)	26
Tabela 3 - Teor de flavonoides totais de extratos de <i>M. leucadendron</i> , expressos em miligramas de equivalentes de quercetina (mg QE/g)	27
Tabela 4 - Flavonoides e Taninos isolados pela primeira vez em extratos de <i>M. leucadendron</i>	28
Tabela 5 - Terpenoides e Terpenos isolados pela primeira vez em extratos de <i>M. leucadendron</i>	30
Tabela 6 - Valores de atividade de eliminação de radicais 1,1-difenil-2-picril-hidrazil (DPPH) encontrados em extratos de <i>M. leucadendron</i>	35
Quadro 1 - Estudos excluídos da pesquisa sobre extratos de <i>M. leucadendron</i>	23
Quadro 2 - Resultados de pesquisa selecionados após análise de título e resumo da presença de estudos sobre extratos de <i>M. leucadendron</i>	62

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. REFERENCIAL TEÓRICO	14
2.1. DESCRIÇÃO DA ESPÉCIE E USOS GERAIS DA PLANTA	14
2.2. USOS NA MEDICINA TRADICIONAL	15
2.3. ÓLEOS ESSENCIAIS	16
2.3.1. Composição fitoquímica.....	16
2.3.2. Principais atividades biológicas e aspectos toxicológicos descritos	17
2.4. REVISÕES DE LITERATURA ENVOLVENDO A ESPÉCIE	18
3. JUSTIFICATIVA	19
4. OBJETIVOS	20
4.1. OBJETIVO GERAL	20
4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	20
5. METODOLOGIA	21
5.1. DEFINIÇÃO DA METODOLOGIA DE PESQUISA	21
5.1.1. Metodologia aplicada	21
5.1.2. Bases de dados.....	21
5.1.3. Estratégias de busca.....	21
5.2. CRITÉRIOS DE SELEÇÃO	21
5.2.1. Critérios de inclusão	21
5.2.2. Critérios de exclusão	22
5.3. DELINEAMENTO DA PESQUISA	22
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
6.1. SELEÇÃO DOS ARTIGOS PARA A REVISÃO	23
6.2. COMPOSIÇÃO FITOQUÍMICA	25
6.2.1. Triagem fitoquímica e componentes majoritários	25
6.2.2. Isolamento e caracterização de componentes bioativos	27
6.3. ATIVIDADES BIOLÓGICAS	31
6.3.1. Atividade antioxidante, anti-inflamatória e fotoprotetora	31
6.3.2. Atividade anti-histamínica.....	36
6.3.3. Atividade anti-ulcerogênica.....	37
6.3.4. Atividade antimicrobiana, antiparasitária e antiviral.....	38
6.3.5. Atividade antitumoral	41
6.3.6. Atividade antidiabética e antiobesidade	43
6.3.7. Atividade inibitória de enzimas microssomais hepáticas	45
6.3.8. Atividade inseticida	47
6.3.9. Atividade neuroprotetora	48
6.4. ASPECTOS TOXICOLÓGICOS	49
6.4.1. Toxicidade <i>in vitro</i> dos extratos	49
6.4.2. Toxicidade <i>in vivo</i> dos extratos	51
6.4.3. Atividade alérgica dos extratos.....	51
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	53
8. REFERÊNCIAS	54
APÊNDICE	62
ANEXOS	70

1. INTRODUÇÃO

Plantas medicinais são espécies vegetais, cultivadas ou não, utilizadas com propósitos terapêuticos, podendo estar frescas, onde são coletadas no momento do uso, ou secas, onde passam por secagem e estabilização, equivalendo à droga vegetal (BRANDELLI; MONTEIRO, 2017). O uso de plantas para fins medicinais é realizado desde os tempos remotos, com registros científicos iniciando-se na era paleolítica, onde o pólen de plantas medicinais foi identificado em sítios arqueológicos, e perpassando pelas civilizações pré-cristãs, como as da Índia, China, Grécia antiga, América pré-colombiana e Egito, até chegar aos dias atuais (SAAD *et al.*, 2018).

A atividade medicinal das plantas está relacionada principalmente à presença de metabólitos secundários, que correspondem ao produto das rotas biossintéticas as quais os metabólitos primários vegetais são submetidos. O objetivo da produção de metabólitos secundários em uma planta é o de promover mecanismos de defesa às mesmas em condições ambientais ricas em micro-organismos, insetos e animais, ou em condições de adaptação e regulação. Porém, quando as matérias-primas vegetais são consumidas por outros seres vivos, os metabólitos secundários presentes podem apresentar propriedades terapêuticas e promover o tratamento de doenças (BRANDELLI; MONTEIRO, 2017; SIMÕES *et al.*, 2017).

Entre os metabólitos secundários obtidos das plantas, destacam-se os óleos essenciais, que compõem uma classe de misturas complexas de substâncias voláteis, em geral odoríferas e líquidas, solúveis em solventes orgânicos apolares, e com solubilidade limitada em água (SIMÕES *et al.*, 2017). Os óleos essenciais vêm sendo amplamente utilizados na área da saúde, devido às suas propriedades antimicrobianas naturais, mas também apresentam grande potencial para aplicação na área de alimentos como agentes conservantes e aromatizantes, e na agricultura, como pesticidas naturais (MEHDIZADEH; MOGHADDAM, 2018).

Além dos óleos essenciais, tem-se como derivados vegetais, óleos fixos, extratos, frações, ceras, exsudatos, tinturas, alcoolaturas, entre outros, extraídos da planta *in natura* ou da droga vegetal (BRASIL, 2014). Os extratos são preparações líquidas, semissólidas ou sólidas, obtidas utilizando métodos extrativos e solventes apropriados (BRASIL, 2019). Em geral os extratos costumam ser fracionados, já que podem conter compostos que precisam ser separados a fim de obter frações de compostos bioativos mais puros (JUSTINO *et al.*, 2014). Metabólitos secundários como alcaloides, antraquinonas, flavonoides, saponinas, taninos, entre outros, podem ser obtidos a partir do fracionamento e enriquecimento de extratos

vegetais, sendo estes metabólitos os principais responsáveis pelas atividades biológicas descritas para as plantas medicinais (SIMÕES *et al.*, 2017).

A família Myrtaceae possui pelo menos 133 gêneros e mais de 3.800 espécies identificadas (WILSON *et al.*, 2001). O gênero *Melaleuca* é um dos gêneros pertencentes a família Myrtaceae, sendo este amplamente distribuído de forma natural pela Australásia, Oceania e Sudeste Asiático, apresentando uma rica diversidade de espécies, com mais de 260 plantas já catalogadas, incluindo *Melaleuca leucadendron* (L.) L. (TRAN; DARGUSCH; MOSS, 2013). Conhecida popularmente como “árvore da casca de papel”, “*Cajeput*” ou “*Kayu putih*”, é usada na medicina tradicional em países como Taiwan, Vietnã, Indonésia, Filipinas e Senegal (SHARIFI-RAD *et al.*, 2017).

Alguns óleos essenciais de *M. leucadendron*, como por exemplo aqueles ricos em metil-eugenol ou 1,8-cineol, possuem aplicações industriais relevantes, como aromatizante de alimentos e na composição de perfumes, além de apresentarem propriedades anticonvulsivantes, anestésicas, analgésicas e relaxantes musculares, podendo, no entanto, ser citotóxicos e genotóxicos (BARBOSA *et al.*, 2013). Já extratos e frações de *M. leucadendron* apresentam como principais componentes majoritários, triterpenos e triterpenoides, compostos fenólicos, flavonoides e taninos, os quais apresentam grande potencial farmacológico a partir da comprovação de atividades como: anti-inflamatória (SURH; YUN, 2012), antioxidante (PUJARTI; OHTANI; ICHIURA, 2012; SURH; YUN, 2012), antibacteriana (FARAG *et al.*, 2004), anti-hialuronidase (PUJARTI; OHTANI; ICHIURA, 2012), antiviral (FARAG *et al.*, 2004), antifúngica (FARAG *et al.*, 2004; PUJARTI; OHTANI; ICHIURA, 2012), fotoprotetora tópica (SILVA *et al.*, 2020) e antitumoral (UEDA *et al.*, 2002; ALMOSNID *et al.*, 2018).

Os óleos essenciais de *M. leucadendron* já vêm sendo abordados em revisões de literatura de vários estudos que os caracterizam e que pontuam bem as suas atividades biológicas e potenciais toxicológicos. Entretanto, até outubro de 2020, não haviam estudos que se dedicassem a reunir as principais descobertas e relevâncias científicas para extratos e frações dessa espécie, exceto estudos que abordam de forma pontual tais informações (KONTOGIORGIS; HADJIPAVLOU-LITINA, 2016; SHARIFI-RAD *et al.*, 2017). Por este motivo, estudos de revisão sobre extratos e frações de *M. leucadendron* são necessários e o objetivo deste trabalho foi realizar uma revisão de literatura sobre *M. leucadendron*, contemplando a identificação e avaliação de metabólitos secundários, das atividades biológicas e da toxicidade de seus extratos e frações.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. DESCRIÇÃO DA ESPÉCIE E USOS GERAIS DA PLANTA

Pertence à família Myrtaceae e ao gênero *Melaleuca*, sendo aceitos os nomes científicos *Melaleuca leucadendra* (L.) L. ou *Melaleuca leucadendron* (L.) L., considerados sinônimos homotípicos (BRASIL, [s.d.]). As sinonímias para a espécie são *Myrtus leucadendra* L., *Cajuputi leucadendron* (L.) A. Lyons, *Leptospermum leucodendron* (L.) J.R.Forst. & G.Forst., *Meladendron leucocladum* St.-Lag., entre outros (TROPICOS, c2022). É conhecida popularmente como “árvore da casca de papel”, “*cajeput*”, “*kayu putih*” (SHARIFI-RAD *et al.*, 2017); “*river tea-tree*”, “*weeping tea-tree*” (TROPICOS, c2022); “árvore-do-papel”, “corticeira”, “*cajeput-tree*”, “*cajupúti*”, “árvore-branca”, “árvore-do-óleo-de-cajeput” e “melaleuca” (BRASIL, [s.d.]).

Apresenta-se como uma árvore, cuja altura varia de 15 a 40 metros, com uma copa longa, frequentemente verde, com ramos menores e galhos e folhas geralmente longos, delgados e caídos (Figura 1A), apresentando flores brancas a branco-cremosas (Figura 1B) que nascem em qualquer época do ano, mas principalmente entre os meses de maio a setembro (BLAKE, 1968) (Ver ANEXO C para mais figuras da planta). Todas as espécies do gênero *Melaleuca* possuem em comum a presença de casca espessa em camadas, muitas delas dispostas de forma semelhante a folhas de papel, além de serem muito resistentes a condições extremas, como inundações, secas, condições salinas leves, incêndios, altas concentrações de alumínio, entre outras condições (TRAN; DARGUSCH; MOSS, 2013).

M. leucadendron possui aplicabilidade e/ou é alvo de estudos na produção de biomassa e biocombustíveis (AHMED *et al.* 2013), na silvicultura (HUNTE *et al.*, 2019; MORAKINYO *et al.*, 2017), na ciência de materiais (SUPRIYANTO *et al.*, 2019), na entomologia (DAVIES; GIBLIN-DAVIS, 2004; YE *et al.*, 2007), na produção de produtos repelentes e inseticidas (NOOSIDUM *et al.*, 2008; SONG *et al.*, 2016), na área de alimentos (OSWELL; THIPPAREDDI; PEGG, 2018; TRIPATHI; DUBEY, 2004), e, assim como as outras espécies do gênero *Melaleuca*, como isolante térmico, lenha e material de construção (BRINKMAN; XUAN *et al.*, 1991).



Figura 1 – Árvore da espécie *M. leucadendron* (A) com detalhe das flores, frutos e folhas do respectivo espécime (B) localizada no Campus Morro do Cruzeiro da Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP). Fonte: o autor (2020).

2.2. USOS NA MEDICINA TRADICIONAL

As folhas e/ou cascas de *M. leucadendron* possuem várias aplicações relatadas na medicina tradicional de alguns países, como por exemplo para o tratamento da gota no Vietnã; tratamento de vertigens, dor de dente, reumatismo, obesidade e hiperlipidemia na Indonésia; tratamento da psoríase em países da América do Sul; antimalárico nas Filipinas; tratamento de doenças respiratórias, inflamações e dermatite no Senegal; e tratamento para alívio da dor em Taiwan (SHARIFI-RAD *et al.*, 2017). Uma revisão de literatura sobre intervenções complementares alternativas no tratamento de dermatite atópica identificou o uso de *M. leucadendron* na terapêutica do eczema, cujas propriedades farmacológicas analgésicas, antissépticas, diaforéticas e estimulantes também são relatadas (BIELORY; KANUGA, 2002).

Na Indonésia, *M. leucadendron* pode ser encontrada em medicamentos fitoterápicos denominados *Jamu*, cuja fórmula é composta por plantas medicinais inteiras, fragmentadas ou cortadas, que são selecionadas e misturadas para a obtenção da eficácia terapêutica (WHO, 2017 *apud* SUPARMI *et al.*, 2018). O fitoterápico, que se apresenta sobre a forma de pó, líquido e/ou plantas simples, geralmente é consumido imediatamente após o preparo em água

quente e aplicado para o tratamento de várias condições de saúde, como distúrbios respiratórios, distúrbios musculoesqueléticos e do tecido conjuntivo, doenças metabólicas (em especial Diabetes Mellitus), distúrbios gastrintestinais, distúrbios cardiovasculares, leucorreia e dismenorreia, purificação do leite materno em mulheres puérperas, redução do odor corporal, entre outros (SUPARMI *et al.*, 2018). Na Indonésia também são encontradas outras práticas na Medicina Tradicional que contemplem o uso de *M. leucadendron*, entre elas a *Bakera* e o *Oukup*, sendo que a *Bakera* é aplicada na recuperação de mulheres após o parto, e o *Oukup* é usado para promover relaxamento e melhora da circulação sanguínea e até mesmo auxiliar no tratamento de doenças como reumatismo, colesterol alto, hipertensão, dores de cabeça, derrames, entre outros (SILALAHY *et al.*, 2015; ZUMSTEG; WECKERLE, 2007).

Na China, *M. leucadendron* está entre as 104 espécies mais usadas rotineiramente pelo povo tradicional Yao, sendo estas espécies inclusas entre as 1.392 espécies catalogadas dentro da Medicina Tradicional Chinesa do povo Yao, usadas principalmente para a desintoxicação, tratamento de distúrbios causados pela exposição ao vento e a umidade, além de regulação da circulação sanguínea (JIA; LI, 2005b *apud* ALMOSNID *et al.*, 2018). Almosnid e colaboradores (2018) também citam o uso já conhecido na Medicina Tradicional Chinesa de *M. leucadendron* para o tratamento de congestão nasal, lesões cutâneas purulentas, gota e insônia.

2.3. ÓLEOS ESSENCIAIS

2.3.1. Composição fitoquímica

Os óleos essenciais das folhas de *M. leucadendron* apresentam diferenças qualitativas e quantitativas entre os compostos químicos majoritários presentes, conforme estudos realizados em diferentes regiões de cultivo da espécie, sendo que, no Paquistão, por exemplo, o composto majoritário isolado foi o metil-eugenol (SIDDIQUE *et al.*, 2020). Já em outras regiões, foram identificados como compostos majoritários o 1,8-cineol no Vietnã (CUONG *et al.*, 1994), Senegal (FALL *et al.*, 2017) e Indonésia (PUJIARTI; OHTANI; ICHIURA, 2012); limoneno no Brasil (BAUTISTA-SILVA *et al.*, 2020), e viridiflorol em Cuba (PINO *et al.*, 2002).

Silva e colaboradores (2019) estudaram os óleos essenciais das folhas, caules, flores e frutos de *M. leucadendron* e todos apresentaram como composto majoritário o (E)-nerolidol,

seguido de 1,8-cineol para o óleo das folhas, epi- α -bisabolol para o óleo dos caules e frutos, e espatulenol para o óleo das flores. Os óleos essenciais de folhas, galhos e flores de *M. leucadendron* foram analisados em um outro estudo, onde o composto majoritário também foi o (E)-nerolidol, seguido de β -cariofileno nas folhas, galhos e flores (PADALIA *et al.*, 2015). Por fim, os óleos essenciais de folhas e frutos da planta foram estudados e identificaram o 1,8-cineol como composto majoritário do óleo das folhas e viridiflorol no óleo dos frutos, seguidos de viridiflorol e globulol, respectivamente (PINO *et al.*, 2010).

2.3.2. Principais atividades biológicas e aspectos toxicológicos descritos

Os óleos essenciais de *M. leucadendron* apresentaram ação inseticida e repelente em vários estudos com a planta. Um estudo com o óleo essencial das folhas de *M. leucadendron* foi realizado, onde constataram que o mesmo apresentou propriedades irritantes e repelentes contra *Aedes aegypti*, apesar de não ter causado mortalidade dos insetos (NOOSIDUM *et al.*, 2008). O óleo essencial da folha de *M. leucadendron* foi testado em uma das principais pragas do milho armazenado do Brasil, a espécie *Sitophilus zeamais*, onde identificou-se propriedade inseticida de 92,5% (COITINHO *et al.*, 2011).

Os óleos essenciais das folhas de *M. leucadendron* foram estudados quanto as suas propriedades antibacterianas. O óleo essencial de *M. leucadendron* apresentou excelente atividade antibacteriana contra *Bacillus spizizenii*, moderada atividade contra *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, atividade contra *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella entérica*, *Klebsiella pneumoniae*, bactérias Gram negativas, e atividade apreciável contra *Enterobacter aerogenes*; verificando a sua potência bactericida para potencial uso como conservante de alimentos (SIDDIQUE *et al.*, 2020). Outro estudo analisou a atividade antibacteriana do óleo essencial das folhas de *M. leucadendron* e propôs seu mecanismo de ação, cujos resultados apresentados incluem um amplo espectro de ação específico para cada cepa contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas (BAUTISTA-SILVA *et al.*, 2020).

Os óleos essenciais das folhas de *M. leucadendron* também foram avaliados quanto a sua atividade antifúngica, mostrando que os mesmos foram eficazes contra *Fomitopsis palustris*, *Trametes versicolor*, *Cladosporium cladosporioides* e *Chaetomium globosum* (PUJIARTI; OHTANI; ICHIURA, 2012). Os óleos essenciais das folhas de *M. leucadendron* também apresentaram atividade antifúngica considerável contra vários fungos causadores de bolores de origem alimentar em um estudo realizado com sementes de grão-de-bico, podendo

ser aplicados para proteger tais sementes por até seis meses quando armazenadas em recipiente fechado (PRAKASH *et al.*, 2016).

Estudos sobre a ação antioxidante dos óleos essenciais da espécie também foram conduzidos. Em um estudo com óleos essenciais da folha da espécie, foram demonstrados que eles possuem atividade antioxidante moderada e atividade anti-hialuronidase (PUJIARTI; OHTANI; ICHIURA, 2012). A capacidade antioxidante do óleo essencial de *M. leucadendron* variou conforme localização geográfica, estação de colheita e idade da planta (PINO *et al.*, 2010; SIDDIQUE *et al.*, 2017).

2.4. REVISÕES DE LITERATURA ENVOLVENDO A ESPÉCIE

Barbosa e colaboradores (2013) abordam em sua revisão a composição fitoquímica de óleos essenciais, aplicações medicinais e morfoanatomia foliar das principais espécies do gênero *Melaleuca*, incluindo *M. leucadendron*, destacando as relações entre a composição dos óleos essenciais e importantes atividades biológicas e parâmetros úteis para a certificação dos óleos essenciais. Sharifi-Rad e colaboradores (2017) apresentam também uma revisão de literatura sobre plantas do gênero *Melaleuca*, a qual inclui *M. leucadendron*, detalhando sobre o habitat e cultivo, usos na medicina tradicional, composição química de extratos e óleos essenciais, atividade antimicrobiana e ensaios clínicos registrados para as principais espécies do gênero.

Os óleos essenciais de *M. leucadendron* também são citados em várias revisões de literatura, que abordam temáticas como a atividade antimicrobiana (GAUTAM; SAKLANI; JACHAK, 2007), a atividade biológica (ADORJAN; BUCHBAUER, 2010), a atividade inseticida e repelente (LUPI; HATZ; SCHLAGENHAUF, 2013); a aplicação na indústria alimentícia (OSWELL; THIPPAREDDI; PEGG, 2018); a taxonomia das espécies de *Melaleuca* (BLAKE, 1968); estudos ecológicos (TRAN *et al.*, 2013); os usos na medicina tradicional (GARCÍA-GONZÁLEZ; MORALES, 2005), a composição fitoquímica (BANIK *et al.*, 2020; KONTOGIORGIS; HADJIPAVLOU-LITINA, 2016); a aplicação na silvicultura (SZULECKA; OBIDZINSKI; DERMAWAN, 2016), entre outros.

3. JUSTIFICATIVA

Estudos de revisão são muito importantes, pois permitem fornecer um panorama histórico sobre um tema ou assunto, considerando as publicações realizadas em um campo de pesquisa, além de comparar pesquisas sobre temas semelhantes ou relacionados, apontar a evolução de teorias, indicar procedimentos metodológicos utilizados nas áreas, podendo contribuir no direcionamento, encaminhamento ou mudança de configuração em determinada área do conhecimento (VOSGERAU; ROMANOWSKI, 2014). Revisões da literatura, além de apontarem problemas específicos de uma determinada área, contribuem para a obtenção de uma ideia precisa sobre o estado atual dos conhecimentos acerca de um tema, de forma a compreender as suas lacunas e contribuir na investigação para o desenvolvimento do conhecimento (BENTO, 2012).

Revisões envolvendo *M. leucadendron* com uma abordagem mais completa sobre os seus óleos essenciais podem ser encontradas na literatura, mesmo não sendo estes trabalhos focados na espécie em questão. Porém, até outubro de 2020, não existiam revisões de literatura exclusivas sobre extratos e frações de *M. leucadendron* que contemplem uma compilação de informações sobre os metabólitos secundários isolados e caracterizados, atividades biológicas da planta ou de seus compostos químicos e aspectos toxicológicos. Por isso, faz-se necessário obter tais informações acerca dessa espécie.

4. OBJETIVOS

4.1. OBJETIVO GERAL

Realizar um estudo de revisão narrativa sobre *M. leucadendron*, discutindo as principais atividades biológicas, características fitoquímicas e aspectos toxicológicos descritos para seus extratos e frações.

4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar uma busca a partir de bases de dados de artigos científicos cujas temáticas envolvam extratos e/ou frações de *M. leucadendron*;
- Realizar revisão narrativa da literatura a partir dos artigos científicos selecionados envolvendo extratos e/ou frações de *M. leucadendron*;
- Quantificar os trabalhos realizados com extratos e/ou frações de *M. leucadendron* e comparar o resultado com os trabalhos realizados com o óleo essencial da espécie;
- Identificar e discutir sobre os aspectos fitoquímicos, identificação e isolamento dos principais metabólitos secundários descritos para os extratos e/ou frações da planta;
- Identificar e discutir sobre as atividades biológicas descritas para os extratos, frações e compostos isolados da espécie;
- Identificar e discutir sobre o potencial toxicológico descrito para os extratos, frações e compostos isolados de *M. leucadendron*.

5. METODOLOGIA

5.1. DEFINIÇÃO DA METODOLOGIA DE PESQUISA

5.1.1. Metodologia aplicada

A metodologia aplicada foi a de revisão narrativa da literatura, realizada de forma retrospectiva, buscando-se artigos científicos envolvendo o objeto de estudo.

5.1.2. Bases de dados

Foram acessadas as seguintes bases de dados *on-line*: SciELO, Science Direct, Scopus e PubMed. Tais plataformas englobam uma grande quantidade de trabalhos científicos e podem ser acessadas virtualmente a partir dos Periódicos CAPES, cujo acesso é fornecido gratuitamente pela Universidade Federal de Ouro Preto para a comunidade acadêmica.

5.1.3. Estratégias de busca

A busca dos artigos científicos foi realizada utilizando as palavras-chave: “*Melaleuca leucadendron*” ou “*Melaleuca leucadendra*”, aplicando as aspas como operador Booleano, já que cada palavra-chave se trata de um nome composto e tal operador evita que a base de dados pesquise os termos de cada palavra-chave em separado. O campo de busca utilizado foi o de pesquisa avançada, não se aplicando filtros de seleção para a busca. Cada palavra-chave foi inserida individualmente no campo de busca das bases de dados e foram conferidos individualmente e sucessivamente, título, resumo, metodologia, resultados e discussão de cada resultado de pesquisa apresentado, a fim de identificar entre os trabalhos a presença das seguintes palavras-chaves: “*extrato*”, “*fração*”, “*extract*”, “*fraction*”, “*extracto*”, “*fracción*”, “*Melaleuca leucadendron*” e/ou “*Melaleuca leucadendra*”.

5.2. CRITÉRIOS DE SELEÇÃO

5.2.1. Critérios de inclusão

Após a aplicação das estratégias de busca nas bases de dados e na avaliação de cada resultado de pesquisa, foram selecionados artigos científicos originais na língua espanhola, inglesa ou portuguesa cujas temáticas envolvam extratos e/ou frações de *M. leucadendron*, sem critério de período inicial de publicação e com período final de publicação até outubro de 2020.

5.2.2. Critérios de exclusão

Não foram incluídos os artigos científicos cuja temática envolva o óleo essencial de *M. leucadendron* ou que envolva extratos compostos onde a planta está presente. Além disso, não foram incluídos os artigos científicos que apresentam dados sobre a espécie que não envolviam diretamente extratos e/ou frações. Tais trabalhos foram quantificados apenas para comparação com o objeto de estudo. Também não foram incluídos artigos científicos duplicados, capítulos de livros, revisões, *papers*, entre outros tipos de resultados de pesquisa disponibilizados pelas bases de dados durante a busca.

5.3. DELINEAMENTO DA PESQUISA

Todos os artigos incluídos e selecionados foram lidos individualmente e sucessivamente. Em seguida, foi realizada a separação entre trabalhos envolvendo a obtenção de extratos de *M. leucadendron*, trabalhos envolvendo a obtenção de frações de *M. leucadendron* e, por fim, quais partes da planta foram utilizadas para a extração. Os extratos ou frações de cada estudo foram classificados quanto à descrição da composição fitoquímica, atividades biológicas e aspectos toxicológicos.

Os metabólitos secundários descritos foram classificados de acordo as suas classes, tipo de solvente de extração e parte da planta da qual foram extraídos. As atividades biológicas de extratos, frações e/ou compostos isolados descritos para cada órgão da planta foram investigadas quanto aos tipos de ensaio avaliado (*in vitro*, *in vivo* e/ou *in silico*); quais foram as formas de veiculação do material; a existência de testes e/ou relatos clínicos, uso popular; entre outros. Quanto aos aspectos toxicológicos, foram verificados quais os mecanismos de ação e efeitos nocivos dos extratos, frações e/ou metabólitos descritos sobre os sistemas biológicos avaliados.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1. SELEÇÃO DOS ARTIGOS PARA A REVISÃO

Foram encontrados 918 resultados de pesquisa nas bases de dados analisadas (SciELO, Science Direct, Scopus e PubMed), sendo selecionados 76 resultados com estudos na língua espanhola e inglesa envolvendo extratos e/ou frações de *M. leucadendron*. Destes, 31 eram duplicados e foram excluídos da pesquisa, restando 46 estudos para a leitura (Ver Quadro 2). Dos 46 artigos avaliados, 38 foram selecionados para a construção da revisão de literatura, enquanto os oito artigos restantes foram excluídos da pesquisa (Figura 2). Os artigos excluídos do estudo estão listados no Quadro 1, quanto ao motivo da exclusão.

Quadro 1 – Estudos excluídos da pesquisa sobre extratos de *M. leucadendron*.

Título	Autores	Ano	Motivo da exclusão
Isolation and partial purification of allergenic components of the pollens <i>Paspalum notatum</i> and <i>Melaleuca leucadendron</i>	Hunter, S. L. <i>et al.</i>	1996	Paper acadêmico
Composition and antitermite activities of essential oils from <i>Melaleuca</i> species	Sakasegawa, M; Hori, K; Yatagai, M.	2003	Extração de óleos essenciais de <i>M. leucadendron</i>
Herbal extracts and compounds active against herpes simplex virus	Thompson, K. D.	2006	Estudo de revisão
Ethnomedicines and ethnomedicinal phytophores against herpesviruses	Chattopadhyay, D.; Khan, M. T. H.	2008	Capítulo de livro
Microarray based IgE detection in poly-sensitized allergic patients with suspected food allergy: an approach in four clinical cases	Vieira, T. <i>et al.</i>	2012	Extrato composto, contendo várias plantas além de <i>M. leucadendron</i> .
Jamu: Indonesian traditional herbal medicine towards rational phytopharmacological use	Elfahmi; Woerdenbag, H. J.; Kayser, O.	2014	Estudo de revisão
Natural occurrence of genotoxic and carcinogenic alkenylbenzenes in Indonesian jamu and evaluation of consumer risks	Suparmi, S. <i>et al.</i>	2018	Extrato composto, contendo várias plantas além de <i>M. leucadendron</i> .

Prise en charge des hypersensibilités retardées aux plantes médicinales: Management of delayed hypersensibilities in medicinal plants	Niang, S. O. <i>et al.</i>	2020	Artigo em Francês
---	----------------------------	------	-------------------

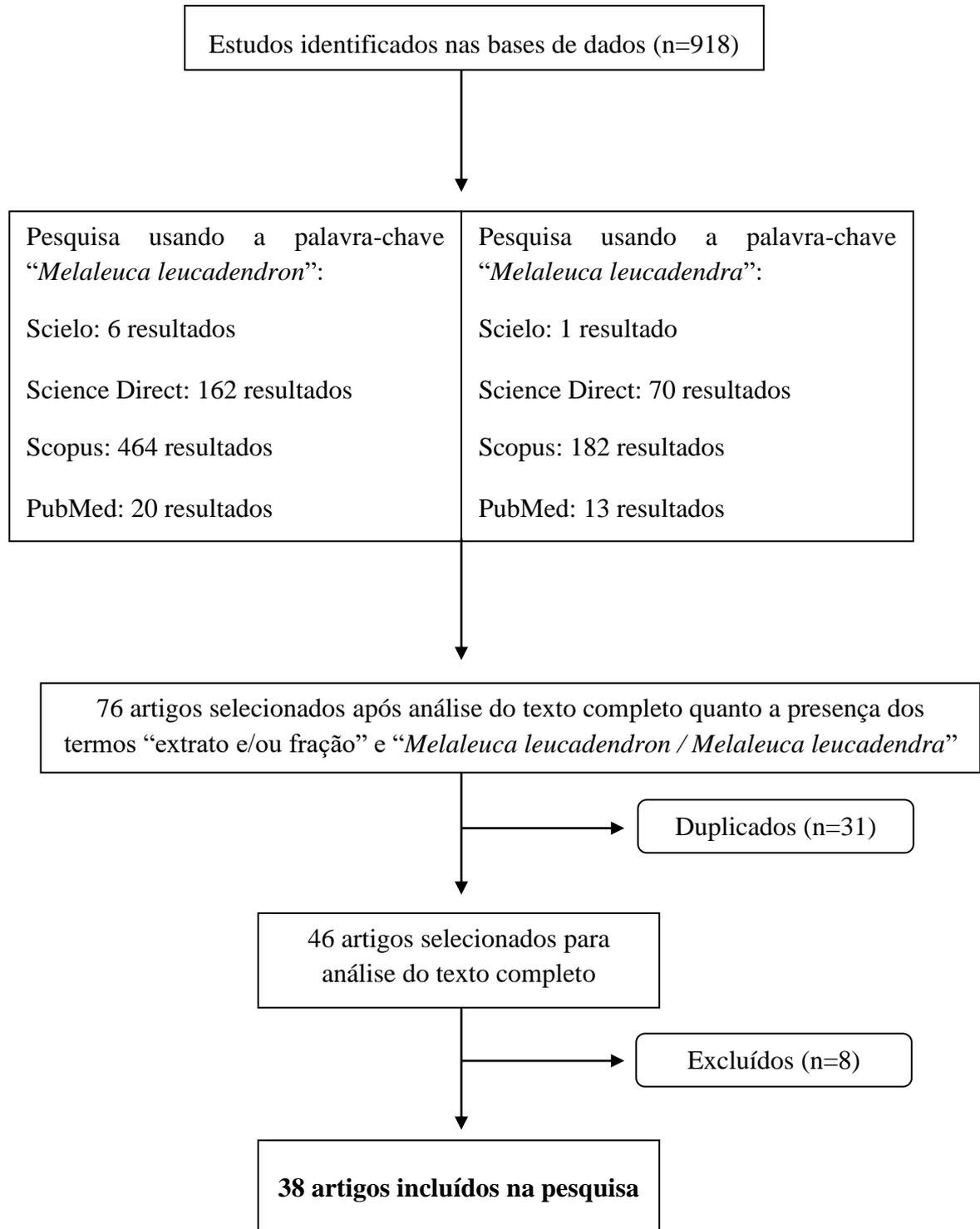


Figura 2 –Fluxograma da pesquisa nas bases de dados sobre os extratos e frações de *M. leucadendron*.

Os 38 artigos incluídos tiveram o seu conteúdo avaliado por completo e foram investigados dados acerca da composição fitoquímica dos extratos/frações estudados, atividades biológicas testadas para os mesmos e/ou aspectos toxicológicos descritos. Os resultados desta avaliação são descritos nos tópicos a seguir.

6.2. COMPOSIÇÃO FITOQUÍMICA

6.2.1. Triagem fitoquímica e componentes majoritários

Os extratos de *M. Leucadendron* apresentam como componentes bioativos, carboidratos, triterpenóides, fitoesteróis, compostos fenólicos, taninos, saponinas, cumarinas e flavonoides (SHAH *et al.*, 2013; SILVA *et al.*, 2020) (Ver Tabela 1). Entre os componentes bioativos majoritários encontrados nos frutos de *M. leucadendron*, destacam-se os triterpenoides ácido betulínico, ácido ursólico e ácido piracrênico, além do sesquiterpeno globulol, isolados a partir de extratos em clorofórmio. O ácido ursólico correspondeu a 5,6% do extrato de clorofórmio. Já extratos metanólicos dos frutos apresentaram como compostos majoritários o flavonoide quercetina e os compostos fenólicos piceatanol, oxiresveratrol, estilbeno escirpusina B e ácido gálico (TSURUGA *et al.*, 1991). Os extratos em éter de petróleo das folhas apresentaram como componentes bioativos, os triterpenoides friedelina, betulina e uvaol, além do fitoesterol β -sitosterol; enquanto os extratos do caule apresentaram os triterpenoides friedelina, taraxerona e betulina, além do fitoesterol β -sitosterol (HUI; LI, 1976). Nos extratos aquosos das folhas também foram encontradas altas concentrações de carboidratos, incluindo frutose, sacarose e glicose, além dos aminoácidos arginina, alanina, glutamato, serina, glutamina, asparagina, histidina, prolina e valina; e dos ácidos orgânicos ácido málico, ácido ascórbico, ácido cítrico e ácido succínico (SAIFUDIN *et al.*, 2016). O ANEXO A traz as estruturas químicas dos componentes majoritários presentes na espécie.

Com base nos estudos avaliados, observa-se que os extratos de *M. leucadendron* são ricos em triterpenoides e triterpenos, flavonoides e compostos fenólicos. Quanto ao conteúdo fenólico total e o teor de flavonoides totais, a tabela 2 e tabela 3 trazem as concentrações encontradas pelos trabalhos avaliados, respectivamente. O extrato etanólico das flores estudado por Silva e colaboradores (2020) apresenta a maior concentração de compostos fenólicos entre os estudos avaliados, enquanto os extratos apresentados por Surh & Yun (2012) apresentam os menores valores. Quanto ao teor de flavonoides totais, apenas dois

estudos exploram tais dados, sendo que Perera e colaboradores (2016) encontraram a maior concentração em extratos das folhas. Entretanto, os dados para conteúdo fenólico total e de flavonoides totais para o último autor citado não apresenta valores de desvio padrão, assim como apresentado pelo restante dos estudos.

Tabela 1 – Componentes bioativos encontrados em extratos de *M. leucadendron* a partir de triagem fitoquímica.

Componente bioativo	Parte da planta	Tipo de solvente de extração
Carboidratos	Folhas, Flores.	Água, etanol, éter de petróleo, clorofórmio, metanol.
Compostos fenólicos	Folhas, Flores.	Água, metanol, etanol.
Cumarinas	Flores.	Etanol.
Flavonoides	Folhas, Flores.	Metanol, etanol.
Saponinas	Folhas, Flores.	Água, metanol, etanol.
Taninos	Folhas, Flores.	Água, metanol, etanol.
Triterpenóides e esteróis	Folhas, Flores.	Clorofórmio, metanol, etanol.

Fonte: SHAH et al. (2013); SILVA et al. (2020).

Tabela 2 – Conteúdo fenólico total de extratos de *M. leucadendron*, expressos em miligramas de ácido gálico equivalente (mg GAE/g).

Parte da planta	Solvente de extração	Conteúdo fenólico total (mg GAE/g)	Referência
Partes secas	Metanol	0,28923 ± 0,00521*	SURH; YUN (2012).
Partes secas	Butanol	0,50843 ± 0,00233*	SURH; YUN (2012).
Partes secas	Clorofórmio	0,10736 ± 0,00188*	SURH; YUN (2012).
Partes secas	Água	0,12272 ± 0,00371*	SURH; YUN (2012).
Frutos	Tetra-hidrofurano	9,28 ± 0,37	FU et al. (2010).
Frutos	Metanol + ácido acético + água	16,4 ± 1,22	FU et al. (2010).
Folhas	Etanol	26,37**	PERERA et al. (2016).
Flores	Etanol	153,8 ± 1,9	SILVA et al. (2020).

* Dados disponibilizados originalmente em µg GAE/g e convertidos para mg GAE/g.

** Não foi indicado o desvio padrão para esse valor.

Tabela 3 – Teor de flavonoides totais de extratos de *M. leucadendron*, expressos em miligramas de equivalentes de quercetina (mg QE/g).

Parte da planta	Solvente de extração	Teor de flavonoides totais (mg QE/g)	Referência
Folhas	Etanol	11,59*	PERERA <i>et al.</i> (2016).
Flores	Etanol	7,53 ± 1,1	SILVA <i>et al.</i> (2020).

*Não foi indicado o desvio padrão para esse valor.

6.2.2. Isolamento e caracterização de componentes bioativos

Dentre os estudos encontrados, alguns isolaram e caracterizaram novos componentes bioativos nos extratos de *M. leucadendron*, além de identificarem a presença de componentes bioativos já conhecidos. O ANEXO B traz as estruturas químicas de todos os componentes bioativos isolados pela primeira vez na espécie. Em um estudo realizado com o extrato etanólico-aquoso, na proporção 3:1, das folhas de *M. leucadendron*, um novo flavonol glicosídeo, a miricetina 3-*O*-β-⁴C₁-galactopiranuronoide, foi identificado, além de quinze compostos fenólicos, entre eles, noreungenina 8-*C*-glucosil, ácido gálico, catequina, ácido cafeico, miricetina 3-*O*-ramnosídeo, metilgalato, ácido elágico 3-monometiléter-4-*O*-glicosídeo, quercetina 3-*O*-glicosídeo, caempferol-3-*O*-glicosídeo, miricetina 3-*O*-glicosídeo, quercetina 3-*O*-ramnosídeo, quercetina 3-rutinosídeo, miricetina 3-rutinosídeo, miricetina e quercetina (HASHIM *et al.*, 2018). Foram isoladas a partir de frações de extratos de acetona das folhas de *M. leucadendron*, quatro novas β-tricetonas flavanonas, denominadas Leucadenonas A-D (LEE, 1999).

Em um trabalho realizado com os frutos secos de *M. leucadendron*, estes foram homogeneizados com acetona-água, na proporção 7:3, e filtrados, de forma a obter um homogenato que, após extraído com metanol e analisado via CLAE, levou a identificação de um novo tanino hidrolisável, caracterizado como 1,2-di-*O*-galoil-3-*O*-digaloil-4,6-*O*-(*S*)-hexahidroxidifenoil-β-D-glicose. Além disso, identificaram-se nas frações analisadas os compostos taninos telimagrandina II; 1,2,3,6-tetra-*O*-galoil-β-D-glicose e penta-*O*-galoil-β-*O*-glicose; e os compostos fenólicos ácido protocatecuico; ácido brevifolincarboxílico; ácido elágico, piceatanol-4'-*O*-β-D-glicopiranosídeo e piceatanol-4'-*O*-(6"-*O*-galoil)-β-D-glicopiranosídeo. O precipitado foi extraído com acetato de etila, álcool etílico e butanol, levando à obtenção dos taninos rugosina D; oenoteína B; grandinina; castalagina; casuarinina;

1,2,3-tri-*O*-galoil- β -D-glicose e 1,2,3,6-tetra-*O*-galoil- β -*O*-glicose (YOSHIDA *et al.*, 1996). Al-Sayed e colaboradores (2020) também identificou a presença de taninos em um experimento realizado com extratos etanólicos das folhas de *M. leucadendron*, onde o mesmo foi liofilizado para ser fracionado em coluna cromatográfica. O extrato foi eluído com água seguida por misturas de água-metanol de polaridades decrescentes, sendo a fração obtida em metanol a 60% selecionada para o isolamento e purificação do elagitanino casuarinina, cuja pureza obtida foi de 85%.

Tabela 4 – Flavonoides e Taninos isolados pela primeira vez em extratos de *M. leucadendron*.

Classificação	Nome do composto	Parte da planta	Referência
Flavonol glicosídeo	miricetina 3- <i>O</i> - β - ⁴ C ₁ -galactopiranuronoide	Folhas	HASHIM <i>et al.</i> (2018).
β-tricetonas flavanonas	Leucadenonas A até D	Folhas	LEE (1999).
Tanino hidrolisável	1,2-di- <i>O</i> -galoil-3- <i>O</i> -digaloil-4,6- <i>O</i> -(S)-hexahidroxidifenoil- β -D-glicose	Frutos	YOSHIDA <i>et al.</i> (1996).

Entre os terpenoides e terpenos encontrados nos extratos de *M. leucadendron* (Tabela 5), destaca-se a presença de triterpenos e triterpenoides já conhecidos e também alguns isolados pela primeira vez na espécie. Lee (1998a) isolou e caracterizou a partir da fração em acetato de etila dos extratos em acetona das folhas de *M. leucadendron*, três novos ésteres triterpenoides pentacíclicos do tipo ursano, denominados ácido 3 β -*cis-p*-cumaroiloxi-2 α -hidroxiursa-12,20(30)-dien-28-óico, ácido *cis*-3 β -*cis-p*-cafeoiloxi-2 α -hidroxiurs-12-en-28-óico e ácido *trans*-3 β -*cis-p*-cafeoiloxi-2 α -hidroxiurs-12-en-28-óico, respectivamente, além de cinco compostos já conhecidos, entre eles, ursoaldeídos triterpenos, ácido ursólico, ácido 2 α -hidroxiursólico, ácido 3 β -*cis-p*-cumaroiloxi-2 α -hidroxiurs-12-en-28-óico e ácido *trans*-3 β -*cis-p*-cumaroiloxi-2 α -hidroxiurs-12-en-28-óico.

O mesmo autor identificou em mais outros dois trabalhos o 28-norlup-20(29)-ene-3 β ,17 β -diol, um novo nortriterpeno do tipo lupano isolado a partir do extrato em clorofórmio das folhas de *M. leucadendron* (LEE, 1998b), e três novos compostos derivados de triterpenos 2 e 3-*O*-metilados do tipo oleaneno, isolados a partir da fração orgânica do extrato em clorofórmio do cerne triturado de *M. leucadendron*, entre eles ácido 23-*trans-p*-cumaroiloxi-2 α ,3 β -di-hidroxioico-12-en-28-óico, ácido 3 β -*trans*-cafeoiloxi-2 α ,23-di-hidroxioleano-12-en-28-óico e seu isômero ácido 3 β -*cis*-cafeoiloxi-2 α ,23-di-hidroxioleano-12-en-28-óico (LEE,

1998c). Além disso, foram encontrados os compostos já conhecidos (2E,6E)-farnesol, fitol, esqualeno, aloaromadendreno, ledeno, palustrol, viridiflorol, ledol, betulinaldeído, ácido betulínico, 3 β -acetil-lup-20(29)-ácido en-28-óico, ácido 3-oxolup-20(29)-en-28-óico, ácido platânico (LEE, 1998b), β -sitosterol, β -sitostenona, 6-hidroxi-4,6-dimetil-3-hepten-2-ona, naftaleno, esqualeno, ácido 2 α 3 β -dihidroxiurs-12-en-28-óico, ácido 3 β -hidroxilup-20(29)-en-27,28-dióico, ácido 2 α ,3 β -dihidroxioleano-12-en-28-óico, ácido 3 β ,23-dihidroxioleano-12-en-28-óico, ácido 2 α ,3 β ,23-trihidroxioleano-12-en-28-óico, ácido 3 β -trans-p-cumaroiloxi-2 α ,23-di-hidroxioleano-12-en-28-óico (LEE, 1998c). Outro trabalho realizado com o cerne triturado de *M. leucadendron* também identificou um novo triterpenoide pentacíclico do tipo oleaneno, o ácido 3 α -hidroxi-13(18)-oleaneno-27,28-dióico, além de três novos triterpenoides pentacíclicos variados, entre eles, eufa-7,24-dieno-3 β ,22 β -diol; 20-taraxasteno-3 α ,28-diol; 3 α ,27-dihidroxi-28,20 β -taraxastanolida, todos extraídos a partir da fração solúvel em clorofórmio do extrato em acetona (LEE; CHANG, 1999).

Além dos triterpenos e triterpenoides, também foram identificados outros tipos de terpenos e terpenoides, como o álcool sesquiterpeno (E,S) nerolidol, isolado a partir da fração solúvel em hexano do extrato etanólico das folhas de *M. leucadendron* (DOSKOTCH *et al.*, 1980); os terpenos benzílicos do tipo floroglucinol leumelaleucols A-L, que são híbridos do composto 5-metoxi-4-metil-benzil-floroglucinol-terpenoide isolados a partir do extrato em diclorometano dos frutos de *M. leucadendron* (WU *et al.*, 2020), e as melaleucadinas A e B, isoladas a partir de extratos etanólicos de ramos e folhas de *M. leucadendron* (XIE *et al.*, 2019); e os triterpenóides taraxastenona e acetato de *epi*-taraxeril, isolados a partir de extratos em éter de petróleo das folhas e ramos (HUI; LI, 1976).

Tabela 5 – Terpenoides e Terpenos isolados pela primeira vez em extratos de *M. leucadendron*.

Classificação	Nome do composto isolado	Parte da planta	Referência
Lupano-nortriterpenos	28-norlup-20(29)-ene-3 β ,17 β -diol	Folhas	LEE (1998b).
Floroglucinol-terpenos benzílicos	Leumelaleucols A até L	Frutos	WU <i>et al.</i> (2020).
Floroglucinol-terpenos benzílicos	Melaleucadinas A e B	Folhas e ramos	XIE <i>et al.</i> (2019).
Oleaneno-triterpenoides pentacíclicos	Ácido 3 α -hidroxi-13(18)-oleaneno-27,28-dióico	Cerne	LEE; CHANG (1999).
Oleaneno-triterpenoides pentacíclicos	Ácido 23-trans-p-cumaroiloxi-2 α ,3 β -di-hidroxióico-12-en-28-óico	Cerne	LEE (1998c).
Oleaneno-triterpenoides pentacíclicos	Ácido 3 β -trans-cafeoiloxi-2 α ,23-di-hidroxioleano-12-en-28-óico	Cerne	LEE (1998c).
Oleaneno-triterpenoides pentacíclicos	Ácido 3 β -cis-cafeoiloxi-2 α ,23-di-hidroxioleano-12-en-28-óico	Cerne	LEE (1998c).
Ursano-triterpenóides pentacíclicos	3 β -cis-p-cumaroiloxi-2 α -hidroxiursa-12,20(30)-dien-28-óico	Folhas	LEE (1998a).
Ursano-triterpenóides pentacíclicos	Ácido cis-3 β -cis-p-cafeoiloxi-2 α -hidroxiurs-12-en-28-óico	Folhas	LEE (1998a).
Ursano-triterpenóides pentacíclicos	Ácido trans-3 β -cis-p-cafeoiloxi-2 α -hidroxiurs-12-en-28-óico	Folhas	LEE (1998a).
Outros triterpenoides pentacíclicos	Eufa-7,24-dieno-3 β ,22 β -diol	Cerne	LEE; CHANG (1999).
Outros triterpenoides pentacíclicos	20-taraxasteno-3 α ,28-diol	Cerne	LEE; CHANG (1999).
Outros triterpenoides pentacíclicos	3 α ,27-dihidroxi-28,20 β -taraxastanolida	Cerne	LEE; CHANG (1999).
Outros triterpenoides pentacíclicos	Acetato de <i>Epi</i> -taraxeril	Folhas e ramos	HUI; LI (1976).
Outros triterpenoides pentacíclicos	Taraxastenona	Folhas e ramos	HUI; LI (1976).

6.3. ATIVIDADES BIOLÓGICAS

6.3.1. Atividade antioxidante, anti-inflamatória e fotoprotetora

Assim como os óleos essenciais, os extratos de *M. leucadendron* também apresentam atividade antioxidante e, entre os estudos analisados, foi a atividade mais avaliada pelos autores. Fu e colaboradores (2010) testaram a atividade antioxidante dos extratos em tetra-hidrofurano e em mistura metanol-ácido acético-água 50:3,7:46,3 (v/v) de 56 frutos consumidos no Sul da China, entre eles os de *M. leucadendron*, a partir de ensaios de FRAP e de TEAC. O valor de FRAP para o extrato em tetra-hidrofurano foi de $146,0 \pm 5,38 \mu\text{mol Fe (II)/g}$, enquanto que para a mistura metanol-ácido acético-água, o valor foi de $68,1 \pm 3,48 \mu\text{mol Fe (II)/g}$. O extrato em tetra-hidrofurano de *M. leucadendron* foi considerado um dos oito extratos com melhor atividade antioxidante baseada no FRAP. O valor de TEAC para o extrato em tetra-hidrofurano foi de $323,0 \pm 2,17 \mu\text{mol Trolox/g}$ e para a mistura metanol-ácido acético-água foi de $138,0 \pm 4,71 \mu\text{mol Trolox/g}$, sendo a atividade antioxidante baseada no TEAC de ambos os extratos consideradas uma das maiores entre os oito frutos com maior valor de TEAC (FU *et al.*, 2010).

Um estudo avaliou a capacidade antioxidante, a partir de ensaio DPPH, do extrato das folhas de dez espécies de plantas da família Myrtaceae, entre elas *M. leucadendron*, usando ácido ascórbico como substância padrão. As folhas de *M. leucadendron* foram extraídas com *n*-hexano, acetato de etila e metanol. Os valores de IC₅₀ obtidos para *M. leucadendron* foram de $22,46 \pm 0,69 \mu\text{g/mL}$ para o extrato metanólico, $69,04 \pm 1,64 \mu\text{g/mL}$ para o extrato em acetato de etila, e $289,53 \pm 3,70 \mu\text{g/mL}$ para o extrato em *n*-hexano, enquanto que para o ácido ascórbico, os valores de IC₅₀ obtidos foram de $3,94 \pm 0,09 \mu\text{g/mL}$ em extrato metanólico, $100,47 \pm 1,34 \mu\text{g/mL}$ em extrato em acetato de etila, e $693,30 \pm 21,06 \mu\text{g/mL}$ em extrato em *n*-hexano (RAMADHANIA *et al.*, 2017).

Hashim e colaboradores (2018) avaliaram a capacidade antioxidante do extrato etanólico das folhas de *M. leucadendron* e do composto flavonoide isolado a partir do mesmo, denominado miricetina 3-*O*-β-⁴C₁-galactopiranuronoide, por meio de ensaio de ORAC, além do ensaio de DPPH, cujos controles positivos usados foram, respectivamente, ácido ascórbico e Trolox. Para a atividade DPPH os valores de IC₅₀ obtidos foram de $7,32 \pm 2,71 \mu\text{g/mL}$ para o extrato e $5,21 \pm 0,87 \mu\text{g/mL}$ para o composto isolado, enquanto que para o ácido ascórbico o valor de IC₅₀ obtido foi de $1,8 \pm 1,41 \mu\text{g/mL}$. Para o ensaio de ORAC, os valores de IC₅₀

obtidos foram de $8,25 \pm 3,22 \mu\text{g/ml}$ para o extrato e $4,56 \pm 0,82 \mu\text{g/mL}$ para o composto isolado, enquanto que para o Trolox o valor de IC_{50} obtido foi de $27,0 \pm 13,41 \mu\text{g/mL}$.

Em um estudo realizado com o extrato etanólico das flores de *M. leucadendron*, um ensaio *in vitro* com células HaCaT foi executado para a avaliação da atividade antioxidante e fotoprotetora do extrato. Em relação à atividade antioxidante, o ensaio DPPH, selecionado para a análise, apresentou IC_{50} de $3,47 \pm 0,1 \mu\text{g/mL}$, atividade esta considerada como potente pelos autores. Já a atividade fotoprotetora foi avaliada a partir de alguns fatores envolvidos no estresse oxidativo celular e molecular induzido pela radiação UVB em HaCaT, entre eles a atividade da CAT, os níveis de GSH e EROs, e a expressão de proteínas de sinalização relacionadas às EROs, entre elas a SOD1, GPx, CAT e COX-2 (SILVA *et al.*, 2020). Quanto a avaliação da atividade das SOD1, GPx e CAT, uma análise de *Western Blot* revelou alteração de expressão destas proteínas em HaCaT, após tratamento com o extrato e irradiação com radiação UVB, com aumento de todas as enzimas antioxidantes em comparação ao grupo controle ($1,13 \pm 0,08 \mu\text{g/mL}$ de SOD1 *vs.* $0,87 \pm 0,05 \mu\text{g/mL}$ do controle; $0,87 \pm 0,06 \mu\text{g/mL}$ de GPx *vs.* $0,42 \pm 0,04 \mu\text{g/mL}$ do controle; $0,55 \pm 0,03 \mu\text{g/mL}$ de CAT *vs.* $0,15 \pm 0,02 \mu\text{g/mL}$ do controle) (SILVA *et al.*, 2020).

Após testes de citotoxicidade para o extrato e definição de faixa de concentração para os ensaios entre $3,9 \mu\text{g/mL}$ a $15 \mu\text{g/mL}$, Silva e colaboradores (2020) verificaram que a expressão de proteínas SOD1 na concentração de extrato de $7,5 \mu\text{g/mL}$ foi a menor, alcançando $0,78 \pm 0,11 \mu\text{g/mL}$ contra $1,13 \pm 0,08 \mu\text{g/mL}$ do grupo irradiado com radiação UVB. Assim como para proteínas GPx a expressão foi menor na concentração de extrato de $3,9 \mu\text{g/mL}$, alcançando $0,37 \pm 0,06 \mu\text{g/mL}$ contra $0,87 \pm 0,06$ do grupo irradiado com radiação UVB. Quanto às proteínas CAT, sua expressão aumentou após exposição aos extratos, sendo maior com o extrato a $15 \mu\text{g/mL}$, onde apresentou concentrações de $1,02 \pm 0,06 \mu\text{g/mL}$ *vs.* $0,55 \pm 0,03 \mu\text{g/mL}$ do grupo irradiado com radiação UVB. Em relação às proteínas COX-2, houve aumento em até três vezes dos seus níveis, 24 horas após a exposição à irradiação com radiação UVB, enquanto que este aumento foi suprimido na presença do extrato nas concentrações de $7,5 \mu\text{g/mL}$ e $15 \mu\text{g/mL}$.

Silva e colaboradores (2020) também realizaram a investigação das EROs, a partir de ensaio com sonda contendo DCFDA, onde observou-se aumento em oito vezes nos níveis de EROs intracelular de HaCaT após irradiação com radiação UVB comparado ao controle, enquanto que em HaCaT contendo extrato houve prevenção do aumento dos níveis de EROs intracelular induzidas por radiação UVB. Em relação à atividade da CAT, esta foi depletada pela irradiação com radiação UVB, enquanto seus níveis aumentaram na presença do extrato.

Em relação aos níveis de GSH, estes foram praticamente iguais ao grupo controle na presença do extrato na concentração de 3,9 µg/mL, ou seja, atingiu valores semelhantes aos basais, onde não há exposição à irradiação com radiação UVB. Portanto, em baixas concentrações o extrato etanólico das flores de *M. leucadendron* apresentou uma grande propriedade fotoprotetora para prevenir danos induzidos pela radiação ultravioleta aos queratinócitos.

Em outro estudo, a capacidade antioxidante e anti-inflamatória dos extratos de dez plantas medicinais do Sri Lanka foram avaliadas. Entre as plantas analisadas está *M. leucadendron*, cuja extração foi realizada a partir do pó das folhas com etanol. Quanto à atividade antioxidante, esta foi avaliada a partir de testes DPPH, FRAP, ORAC e um teste não citado em outros trabalhos, denominado FIC. Para a atividade DPPH o valor de IC₅₀ obtido foi de 145,0 ± 3,2 µg/mL, enquanto o controle positivo trolox apresentou valor de IC₅₀ igual a 5,29 ± 0,09 µg/mL. Para a atividade FRAP o valor obtido foi de 280,3 ± 5,9 mg TE/g. Para a atividade ORAC o valor obtido foi de 412,7 ± 84,0 mg TE/g. E, por fim, para a atividade FIC o valor de IC₅₀ obtido foi de 9,15 ± 0,31 µg/mL, enquanto o controle positivo EDTA-Na₂ o valor de IC₅₀ obtido foi de 13,07 ± 0,64 µg/mL (PERERA *et al.*, 2016).

Em relação à atividade anti-inflamatória, Perera e colaboradores (2016) realizaram ensaios *in vitro* em macrófagos RAW 264.7 ativados por LPS, onde foram realizados testes de inibição das enzimas A5-LOX, hialuronidase e XO, além de inibição da produção de NO. Para a atividade anti-A5-LOX o valor de IC₅₀ obtido foi de 48,71 ± 1,15 µg/mL, enquanto o controle com baicaleína apresentou IC₅₀ de 76 ± 0,15 µg/mL. Em relação à atividade anti-hialuronidase ocorreu inibição de 55,77% com o extrato à 500 µg/mL, enquanto o controle ácido tânico apresentou 90,28% de inibição enzimática. Para a atividade anti-XO, o extrato inibiu 8,40% a 250 µg/mL enquanto o controle alopurinol inibiu 99,87%. Por fim, em relação a atividade anti-NO, esta foi igual a 5,14 ± 0,20 % com extrato à 500 µg/mL, enquanto o padrão de referência L-NMMA apresentou 97,10 ± 0,56% de inibição do NO.

Já Surh & Yun (2012) avaliaram a atividade antioxidante e anti-inflamatória do espécime isoladamente, a partir de extratos metanólicos de partes secas de *M. Leucadendron* e de frações do extrato em clorofórmio, butanol e água. A capacidade antioxidante foi avaliada a partir de testes de eliminação de DPPH, cujos valores de IC₅₀ foram 5,1 µg/mL para o extrato metanólico, 55,7 µg/mL para a fração do extrato metanólico em clorofórmio, 4,8 µg/mL para a fração do extrato metanólico em butanol, 60,0 µg/mL para a fração do extrato metanólico em água, 3,9 µg/mL para α-tocoferol) e 2,3 µg/mL para BHT. Como testes complementares, foram realizados o teste de atividade de eliminação de radicais ânion superóxido e o teste de atividade na oxidação do ácido linoléico, tendo como controles

positivos o α -tocoferol e o BHT. Os valores de IC_{50} encontrados para a atividade de eliminação de radicais ânion superóxido foram de 14,5 $\mu\text{g/mL}$ (extrato metanólico), 50,3 $\mu\text{g/mL}$ (fração do extrato metanólico em clorofórmio), 10,1 $\mu\text{g/mL}$ (fração do extrato metanólico em butanol), 51,0 $\mu\text{g/mL}$ (fração do extrato metanólico em água), 5,7 $\mu\text{g/mL}$ (α -tocoferol) e 4,2 $\mu\text{g/mL}$ (BHT). Já os valores de IC_{50} encontrados para a atividade na oxidação do ácido linoléico foram de 6,2 $\mu\text{g/mL}$ (extrato metanólico), 18,1 $\mu\text{g/mL}$ (fração do extrato metanólico em clorofórmio), 3,2 $\mu\text{g/mL}$ (fração do extrato metanólico em butanol), 20,4 $\mu\text{g/mL}$ (fração do extrato metanólico em água), 3,7 $\mu\text{g/mL}$ (α -tocoferol) e 2,88 $\mu\text{g/mL}$ (BHT).

Para a avaliação da atividade anti-inflamatória, também foram aplicados ensaios *in vitro* com macrófagos RAW 264.7 ativados por LPS, porém para a investigação dos efeitos do extrato nas produções de NO e PGE_2 , inibição das proteínas COX-2 e iNOS induzidas por LPS, além da inibição da fosforilação e degradação de proteínas I κ B α do NF- κ B. A fração butanólica do extrato a 0,01 $\mu\text{g/mL}$ associada ao LPS inibiu em 66,1% a produção de NO, enquanto o LPS isolado aumentou em 7,6 vezes a sua produção em comparação ao controle. A fração butanólica a 0,01 $\mu\text{g/mL}$ associada ao LPS inibiu 60,3% a produção de PGE_2 , enquanto o LPS isolado aumentou em 15 vezes a sua produção em comparação ao controle. Além disso, causou a inibição dependente da dose da expressão de COX-2 e iNOS, sugerindo que a atividade supressora na produção de PGE_2 e NO pode bloquear a expressão gênica e proteica de iNOS e COX-2. Em um ensaio de determinação de níveis citoplasmáticos das proteínas fosfo-I κ B α e I κ B α , constatou-se que a concentração de fosfo-I κ B α aumentou após o tratamento com LPS, mas diminuiu após o tratamento com o extrato, com bloqueio completo de degradação de I κ B α nas frações butanólicas a 1 $\mu\text{g/mL}$, indicando que o extrato de *M. leucadendron* pode inibir a ativação de NF- κ B por suprimir a fosforilação e degradação de I κ B α em células RAW264.7 induzidas por LPS (SURH; YUN, 2012).

Nguyen e colaboradores (2004) realizaram um estudo com 96 plantas medicinais usadas na medicina tradicional para tratar a Gota e sintomas relacionados, entre elas *M. leucadendron*. Os extratos metanólico e metanol-água (1:1) do tronco e frutos de *M. leucadendron* a 100 mg/mL, 50 mg/mL, 25 mg/mL e 10 mg/mL foram avaliados individualmente quanto à atividade inibitória da XO. Os valores de IC_{50} encontrados foram de 76,7 $\mu\text{g/mL}$ para o extrato metanólico e 78,9 $\mu\text{g/mL}$ para o extrato metanol-água (1:1), enquanto que para a substância referência alopurinol o valor obtido foi de 0,28 $\mu\text{g/mL}$. Os extratos metanólico e metanol-água (1:1) de *M. leucadendron* a 100 mg/mL apresentaram 64,6% e 64,2% de inibição de XO, respectivamente. Entretanto, os extratos da espécie em concentrações inferiores apresentaram atividade inibitória da XO inferior a 50%. A partir dos

resultados encontrados, os autores realizaram uma triagem entre todos os extratos, selecionando aqueles cujo valor de IC₅₀ foi inferior à 20 µg/mL, para o fracionamento guiado por atividade e avaliação da atividade inibitória da XO dos compostos isolados, e os extratos de *M. leucadendron* foram excluídos do estudo a partir de então.

Um estudo realizado com os extratos aquosos à 100 µg/mL de quatro plantas medicinais, entre elas *Combretum micranthum* G. Don, *Euphorbia hirta* L., *Guiera senegalensis* Lain e *M. leucadendron*, avaliou a influência dos mesmos na biossíntese de PGI₂, PGE₂ e PGD₂ em um ensaio *ex vivo* com tiras de estômago de rato, usando indometacina 1 µg/mL como controle. Foram usadas as partes aéreas de *M. leucadendron*. Entretanto, apenas o extrato de *E. hirta* apresentou redução de PGI₂, PGE₂ e PGD₂ marcados com valores próximos ao do controle indometacina, sendo *E. hirta* escolhida, a partir da triagem entre os extratos, para prosseguir nos testes de agregação plaquetária e edema de pata de ratos induzido por carragenina (HIERMANN; BUCAR, 1994).

Tabela 6 – Valores de atividade de eliminação de radicais 1,1-difenil-2-picril-hidrazil (DPPH) encontrados em extratos de *M. leucadendron*.

Valores de IC ₅₀ (µg/mL)	Parte da planta	Tipo de solvente de extração	Referência
5,1*	Partes secas	Metanol	SURH; YUN (2012)
22,46 ± 0,69	Folhas	Metanol	RAMADHANIA <i>et al.</i> (2017)
69,04 ± 1,64	Folhas	Acetato de etila	RAMADHANIA <i>et al.</i> (2017)
289,53 ± 3,70	Folhas	<i>n</i> -hexano	RAMADHANIA <i>et al.</i> (2017)
7,32 ± 2,71	Folhas	Etanol	HASHIM <i>et al.</i> (2018)
145,0 ± 3,2	Folhas	Etanol	PERERA <i>et al.</i> (2016)
3,47 ± 0,1	Flores	Etanol	SILVA <i>et al.</i> (2020)

*Os autores não apresentaram valor de desvio padrão para o estudo.

Entre os estudos avaliados, observa-se que há uma variação considerável entre os valores encontrados para os ensaios de determinação da capacidade antioxidante, em especial os ensaios de determinação de DPPH (Tabela 6), o que demonstra que o solvente de extração, a parte da planta utilizada, a metodologia aplicada pelos autores e até mesmo características de cultivo podem influenciar nos resultados de capacidade antioxidante, como já é observado para os óleos essenciais da espécie (PINO *et al.*, 2010; SIDDIQUE *et al.*, 2017).

Outro ponto importante a se destacar é a correlação entre a capacidade antioxidante e os compostos bioativos encontrados na espécie, que foi realizada por Hashim e colaboradores

(2018), a qual identificou uma capacidade antioxidante significativa de um flavonol glicosídeo isolado a partir do extrato estudado, demonstrando o que já se conhece sobre a capacidade antioxidante de flavonoides, assim como de compostos fenólicos. Entretanto, este foi o único estudo a trazer tal correlação, sugerindo uma necessidade de mais estudos que correlacionem outros compostos frequentemente encontrados nos extratos da espécie com a capacidade antioxidante.

O estudo de Perera e colaboradores (2016) foi o único a realizar correlações entre os testes de capacidade antioxidante realizados, demonstrando, por exemplo, que há uma correlação positiva entre a atividade inibitória de NO com o teste FRAP e com a atividade inibitória da XO, e que há uma correlação negativa entre a atividade inibitória de NO e os testes de conteúdo fenólico total, o que pode ser indicativo de envolvimento significativo de antioxidantes não fenólicos inibitórios da xantina oxidase na inibição da produção de NO. Já o estudo de Silva e colaboradores (2020) foi o primeiro a correlacionar a atividade antioxidante dos extratos com a atividade fotoprotetora, demonstrando o potencial dos extratos de *M. leucadendron* em reduzir a exposição à radiação UVB.

Em relação à atividade anti-inflamatória, apesar da provável relação entre a inibição de PGE₂ e a redução na síntese de iNOS e COX-2 apresentada por Suhr & Yun (2012), o estudo de Hiermann & Bucar (1994) já demonstrava que a inibição de PGE₂ ocorria, mas de forma muito menos intensa do que a inibição pela substância controle, portanto mais estudos seriam necessários para investigar esta e outras atividades relacionadas.

6.3.2. Atividade anti-histamínica

Um ensaio *in vitro* realizado com mastócitos de ratos induzidos pelo composto 48/80 e concanavalina A avaliou a atividade anti-histamínica dos extratos em hexano, clorofórmio, acetona e metanol de frutos secos de *M. leucadendron*, assim como das frações em clorofórmio, acetona e metanol obtidas a partir dos extratos mencionados. O extrato a 50 µg/mL com maior potencial inibitório do composto 48/80 foi o extrato em acetona, com 40% de inibição da liberação de histamina após indução, enquanto que o extrato em acetona e clorofórmio a 500 µg/mL inibiu completamente a indução pelo composto 48/80. Em relação à concanavalina A, as porcentagens de inibição foram maiores com extratos na concentração de 500 µg/mL e o extrato em acetona apresentou o maior potencial inibidor, com 95% de inibição da liberação de histamina após indução (TSURUGA *et al.*, 1991).

A partir do fracionamento dos extratos e isolamento de alguns compostos bioativos, Tsuruga e colaboradores (1991) observaram que o ácido ursólico, encontrado em maior concentração no extrato em clorofórmio, inibiu em 95% a liberação de histamina após a indução pelo composto 48/80 na concentração de 1×10^{-3} M. Outro composto com atividade notável é a quercetina, isolada a partir da fração em acetato de etila obtida do extrato metanólico, cuja inibição da liberação de histamina induzida por concanavalina A foi próxima a 100% na concentração de 10^{-4} M. Além da quercetina, foram detectadas atividades inibitórias elevadas da liberação de histamina, induzida tanto por concanavalina A e composto 48/80, também para os estilbenos piceatanol e oxiresveratrol, sendo comparada a de outros flavonoides ativos.

Apesar de ser o único estudo a avaliar a atividade anti-histamínica dos extratos de *M. leucadendron*, este correlaciona a atividade à compostos bioativos majoritários presentes na planta, como o ácido ursólico e a quercetina, demonstrando que triterpenos/triterpenoides e flavonoides, podem influenciar na atividade anti-histamínica da espécie. Entretanto, mais ensaios, tanto *in vitro* quanto *in vivo*, são necessários para avaliar tal atividade.

6.3.3. Atividade anti-ulcerogênica

A atividade do composto casuarinina, previamente isolado do extrato metanólico das folhas de *M. leucadendron*, foi avaliada *in vivo* em ratos machos com ulceração gástrica induzida por etanol 95%, para avaliar a sua atividade gastroprotetora. Os ratos foram divididos em seis grupos, sendo o primeiro aquele sem receber etanol e tratamento (controle normal), o segundo grupo recebendo apenas etanol, o terceiro recebendo etanol e tratamento com omeprazol 20 mg/kg, e do quarto ao sexto os grupos recebendo etanol e tratamento com casuarinina nas concentrações de 25, 50 e 100 mg/kg, respectivamente (AL-SAYED *et al.*, 2020).

A partir dos experimentos realizados, Al-Sayed e colaboradores (2020) notaram a redução da área da úlcera com casuarinina 25, 50 e 100 mg/kg em 45, 78 e 99%, respectivamente, em comparação com o grupo sem tratamento. A casuarinina também aumentou o teor de mucina em 1,8 vezes, reduziu a acidez estomacal em 42%, aumentou os níveis de GSH reduzida em 194%, aumentou os níveis de CAT em 586%, reduziu os níveis de PGE₂ ao seu nível normal, atenuou os níveis de malondialdeído, aumentados por etanol, em 56%, atenuou os níveis de TNF- α em 58% e os níveis de caspase-3 em 87%. Na avaliação histológica, observou-se que a casuarinina exibiu um efeito protetor contra alterações

teciduais em resposta à úlcera induzida por etanol. A casuarinina também suprimiu a imunoe expressão de NF- κ B, COX-2 e óxido nítrico sintase induzível para seus valores normais; e induziu a expressão da proteína de choque térmico-70, atingindo até 4,9 vezes em comparação com o grupo úlcera.

O estudo em questão também é o único a avaliar a atividade anti-ulcerogênica de *M. leucadendron*. Destaca-se que os resultados encontrados são próximos a aqueles encontrados por Surh & Yun (2012) e por Perera e colaboradores (2016), demonstrando possível relação entre a atividade anti-inflamatória e a atividade gastroprotetora. Entretanto, Al-Sayed e colaboradores (2020) já partem para os testes com a fração isolada de casuarinina a partir dos extratos da planta e não avalia o extrato em si, o que seria importante para demonstrar se há outros compostos bioativos presentes que também podem influenciar na atividade descrita.

6.3.4. Atividade antimicrobiana, antiparasitária e antiviral

Em um trabalho realizado a fim de avaliar a atividade antimicrobiana, o extrato etanólico das folhas de *M. leucadendron* foi obtido para o teste em ensaios *in vitro* com o método de difusão em ágar para determinação da CIM, e o método de diluição em meio líquido para determinação da CMB e da CMF. Na avaliação da CIM do extrato em bactérias, obteve-se 0,02 mg/mL para *S. aureus*, 0,05 mg/mL para *Bacillus subtilis*, e 0,5 mg/mL para *P. aeruginosa* e *E. coli*. Para fungos, obteve-se 1,0 mg/mL para *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes* e *M. canis*, 2,16 mg/mL para *Epidermophyton floccosum*, *Aspergillus fumigatus* e *A. niger*, e, por fim, 21,6 mg/mL para *C. albicans*. Já para a CMB do extrato, obteve-se 0,05 mg/mL para *S. aureus* e *B. subtilis*, e 1,0 mg/mL para *P. aeruginosa* e *E. coli*. Por fim, na avaliação da CMF do extrato, obteve-se 2,16 mg/mL para *T. rubrum*, *T. mentagrophytes* e *M. canis*, 21,6 mg/mL para *E. floccosum*, *A. fumigatus* e *A. niger*, e 216 mg/mL para *C. albicans* (PÉREZ *et al.*, 2010).

O perfil antimicrobiano e antiparasitário de três plantas medicinais usadas em Cuba, entre elas *M. leucadendron*, foi avaliado em ensaio *in vitro* com placas de 96 poços contendo os extratos etanólicos das plantas em uma faixa de titulação entre 64 μ g/mL a 0,25 μ g/mL e os controles, médio, não tratado, tratado e referência. Foram testadas as atividades antiprotozoária, sendo que, para *M. leucadendron* o extrato etanólico dos ramos foi o escolhido para este estudo. Entre os protozoários testados, incluem *Trypanosoma b. brucei*, *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania infantum* e *Plasmodium falciparum*. Os valores de IC₅₀ encontrados para as cepas analisadas foram de 4,1 μ g/mL para *T. brucei* vs. 0,033 μ g/mL para

os controles positivos Suramina e Pentamidina; 18,0 µg/mL para *T. cruzi* vs. 0,841 µg/mL para o controle positivo Nifurtimox; > 64 µg/mL para *L. infantum* vs. 0,54 µg/mL para o controle positivo Anfotericina B; e 31,3 µg/mL para *P. falciparum* vs. 0,0165 µg/mL para o controle positivo Artemeter (VALDÉS *et al.*, 2008).

Valdés e colaboradores (2008) também testaram os extratos em bactérias e fungos. Entre as bactérias testadas, incluem *E. coli* e *S. aureus*, cujos valores de IC₅₀ obtidos foram de, respectivamente, > 64 µg/mL (0,527 µg/mL e 0,029 µg/mL para os controles positivos Doxiciclina e Norfloxacino, respectivamente) e 36,0 µg/mL (0,342 µg/mL e 0,0805 µg/mL para os controles positivos Doxiciclina e Rifampicina, respectivamente). Entre os fungos testados, incluem *Microsporium canis* e *Candida albicans*, cujos valores de IC₅₀ obtidos foram de, respectivamente, 13,0 µg/mL (0,161 µg/mL e 0,167 µg/mL para os controles positivos Miconazol e Terbinafina, respectivamente) e > 64 µg/mL (3,5 µg/mL e 0,1627 µg/mL para os controles positivos Miconazol e Flucitosina).

A atividade esquistossomicida de 278 espécies de plantas, entre elas *M. leucadendron*, foi avaliada em testes em meio de cultura especializado contendo *Schistosoma mansoni* Sambon adultos retirados de hamsters infectados. A partir de *M. leucadendron* foram obtidos extratos metanólicos das folhas, galhos e cascas secos, enquanto que para os controles positivo e negativo foram utilizados DMSO e Praziquantel, respectivamente. Entre os extratos com CL₅₀ consideravelmente alta (≤ 15 µg/mL) está o extrato das folhas de *M. leucadendron*, cujo CL₅₀ foi igual a 1,90 µg/mL, e o extrato dos galhos de *M. leucadendron* foi igual a 2,30 µg/mL, enquanto o controle positivo apresentou CL₅₀ de 0,2 µg/mL. Já o valor de CL₉₀ foi de 2,50 µg/mL para o extrato das folhas e 6,20 µg/mL para o extrato dos galhos, em comparação com 0,3 µg/mL do controle positivo (YOUSIF *et al.*, 2012).

O potencial antimalárico de extratos etanólicos das folhas de seis plantas, entre elas *M. leucadendron*, foi avaliado *in vitro* em meios de cultura contendo a cepa F32/Tanzania de *P. falciparum*, presente na forma assexuada em eritrócitos humanos do grupo sanguíneo O⁺. A faixa de titulação do extrato e controles positivos contendo cloroquina na concentração de 10 mg/kg foi de 3,1 a 50 g/mL. Com resultados, o extrato apresentou CIM de 25 µg/mL, enquanto o controle positivo apresentou CIM de 100 ng/mL. Nas concentrações de extrato de *M. leucadendron* entre 25 a 50 µg/mL, a atividade inibitória foi superior à 90% e inferior a 100%, enquanto que na concentração de 100 µg/mL, 100% do crescimento foi inibido (RODRÍGUEZ-PÉREZ *et al.*, 2006).

Rodríguez-Pérez e colaboradores (2006) também realizaram testes com a cepa NK65 de *Plasmodium berghei* em ratas OF1 (albinas suíças) infectadas. A atividade inibitória *in*

vivo foi testada com extratos na concentração de 500, 250 e 100 mg/kg de peso, administrados diariamente por via intraperitoneal nas ratas durante seis dias. Foram usados um controle positivo com cloroquina 10 mg/kg, um controle negativo com etanol 20%, e um controle com ratas não tratadas. Entre os extratos com as maiores atividades *in vivo* contra *P. berghei* está o extrato de *M. leucadendron*, que apresentou redução de 50% do crescimento na dose de 250 mg/kg, sendo considerado também um dos extratos menos tóxicos para as ratas.

A atividade antiviral de extratos aquosos e metanólicos de 30 plantas da medicina tradicional Indonésia, entre elas *M. leucadendron*, foram testadas *in vitro* quanto à sua atividade contra o HSV-1. Destes, os extratos de oito espécies de plantas apresentaram atividade potente na concentração de 100 µg/mL no ensaio de placa com cultura de células Vero infectada com HSV-1. Entre os três principais extratos aquosos com maior percentual de formação de placa, está o extrato aquoso dos frutos de *M. leucadendron*, que apresentou 44,4% de formação de placa. Já para o extrato metanólico dos frutos de *M. leucadendron* não houve determinação da formação de placa (NAWAWI *et al.*, 1999).

Foi realizado também, por Nawawi e colaboradores (1999), um ensaio *in vivo* com camundongos BALB/c com 6 semanas de vida previamente infectados com HSV-1, para avaliar a eficácia terapêutica dos extratos metanólicos de sete das 30 plantas estudadas, entre elas a *M. leucadendron*, antes e três dias após a infecção por HSV-1. O extrato metanólico dos frutos de *M. leucadendron* prolongou significativamente o desenvolvimento de lesões de pele (vesículas na região e lesões zosteriformes leves). Para o extrato a 5g/camundongo, levou-se $5,00 \pm 0,21$ dias para o desenvolvimento de vesículas e $7,50 \pm 0,71$ dias para o desenvolvimento de lesões zosteriformes leves, enquanto que para o controle positivo Aciclovir na concentração de 0,05 mg/camundongo, levou-se $4,72 \pm 0,38$ dias para o desenvolvimento de vesículas na região e $6,30 \pm 1,15$ dias para o desenvolvimento de lesões zosteriformes leves.

A aplicação antimicrobiana dos óleos essenciais de *M. leucadendron* já é conhecida e bastante relevante, já que existem vários estudos realizados e também na medicina tradicional e no uso popular tal aplicação é muito conhecida. A partir dos estudos acima, verifica-se que os extratos da planta também apresentam potencial antimicrobiano contra bactérias e fungos que são relevantes, porém mais ensaios seriam necessários para identificar quais compostos bioativos presentes nos extratos são responsáveis pela atividade analisada, além da realização de testes *in vivo*, que não foram encontrados na literatura.

Já em relação à atividade antiparasitária, quatro doenças parasitárias de relevância, entre elas malária, doença de Chagas, esquistossomose e leishmaniose, foram contempladas

nos estudos, porém só existe um estudo *in vivo* direcionado para a malária. Em relação à atividade antiviral, apesar de existir apenas um único estudo que realiza testes tanto *in vitro* quanto *in vivo*, mais estudos são necessários para avaliar o potencial dos extratos contra o HSV-1 e outros vírus de importância clínica.

6.3.5. Atividade antitumoral

Em um estudo com 75 extratos metanólicos de 47 espécies de plantas, entre eles extratos das folhas, galhos e cascas de *M. leucadendron*, as propriedades antitumorais foram testadas a partir de ensaios *in vitro*. O primeiro deles foi um teste de citotoxicidade em linhagem celular de carcinoma hepatocelular humano do tipo HepG2, avaliada pelo ensaio usando MTT. Os extratos de *M. leucadendron* foram considerados candidatos ideais por possuírem atividade pró-apoptótica e por serem os mais promissores entre os extratos avaliados. Isto porque no teste de citotoxicidade com HepG2, o extrato metanólico das cascas de *M. leucadendron* apresentou 98,47% de citotoxicidade contra a linhagem celular, considerada a mais alta entre os extratos de todas as plantas avaliadas, enquanto que o extrato dos galhos apresentou 96,40% e o extrato das folhas apresentou 91,43% (EL-MANAWATY *et al.*, 2013).

El-manawaty e colaboradores (2013) também testaram os extratos quanto a atividade pró-apoptótica na linhagem celular de carcinoma de cólon humano do tipo HCT-116, medida pelo aumento do biomarcador de apoptose neo-epítipo M30 através de ensaio ELISA sanduíche; bem como o realizam um ensaio BSL. O extrato da casca de *M. leucadendron* induziu o aumento em 2,39 vezes no sinal de fundo apoptótico a 100 ppm de células da linhagem HCT-116, enquanto que o extrato dos galhos induziu tal aumento em 2,04 vezes e o extrato das folhas induziu o aumento em 3,98 vezes. Já o controle positivo cisplatina induziu o aumento em 5,9 vezes. Entretanto, para a avaliação do BSL, observou-se que o extrato da casca de *M. leucadendron* apresentou apenas 4% de letalidade, enquanto o extrato dos galhos apresentou 20% e o extrato das folhas apresentou 40%, sendo tais resultados inferiores ao preconizado para considerar o extrato ativo no teste, que considera, no mínimo, 50% de letalidade para os extratos.

Outro estudo realizado para a avaliação de propriedades antitumorais foi realizado com 16 plantas usadas tradicionalmente pelo povo chinês Yao, entre elas *M. Leucadendron*, onde investigou-se em ensaio *in vitro* o potencial anticancerígeno dos extratos em quatro linhagens de células tumorais humanas, entre elas células de adenocarcinoma de pulmão

(A549), de mama (BT20 e MCF-7) e ósseo (U2OS). O extrato de *M. Leucadendron* foi obtido a partir do tronco seco e moído e extraído com éter de petróleo. Logo em seguida o material não dissolvido foi extraído com acetato de etila, obtendo-se novamente uma porção de material não dissolvido, que foi extraída com etanol. Por fim, o material não dissolvido restante foi então extraído com água. Os extratos em éter de petróleo, acetato de etila, etanol e água foram secos e ressuspensos em uma concentração de 10 mg/mL em DMSO. Em seguida os extratos foram testados em placas de 96 poços contendo as células A549, BT20, MCF-7 e U2OS (ALMOSNID *et al.*, 2018).

Almosnid e colaboradores (2018) observaram que todos os extratos da planta na concentração de 100 µg/mL demonstraram mais de 90% de inibição, com atividades antiproliferativas elevadas contra uma ou mais linhagens de células cancerígenas, sendo que todos apresentaram mais de 90% de inibição da atividade proliferativa da linhagem de células BT20. O extrato em acetato de etila apresentou mais de 90% de inibição da atividade proliferativa em todas as linhagens de células, além de um baixo IC₅₀, variando de 3,1 a 24,0 µg/mL. Para avaliar a capacidade dos extratos em induzir a apoptose em células da linhagem tumoral, foi selecionada a linhagem U2OS, cujos 10 extratos ativos selecionados apresentaram atividade antiproliferativa. A linhagem foi submetida a ensaio de apoptose por 18 horas e foram observados diferentes estágios de apoptose, sendo que o extrato em acetato de etila de *M. leucadendron* apresentou indução tardia de apoptose significativa nas concentrações de 12,5 µg/mL, 25 µg/mL e 50 µg/mL.

Hashim e colaboradores (2018) também realizam um ensaio *in vitro* para a investigação das propriedades antitumorais do extrato em etanol-água (3:1) das folhas de *M. leucadendron*, além de investigar tal atividade a partir do composto isolado a partir do mesmo, denominado miricetina 3-*O*-β-⁴C₁-galactopiranuronoide. Foi realizado um ensaio de vermelho neutro (NRU) em linhagens celulares de carcinoma hepatocelular humano (Huh-7), carcinoma de cólon humano (HCT-116) e adenocarcinoma de mama (MCF-7). Os valores de IC₅₀ encontrados para o extrato foram de 104 ± 3,55 µg/ml para Huh-7; 83,08 ± 0,71 µg/ml para HCT-116 e 102,61 ± 5,91 µg/ml para MCF-7. Para o composto isolado, a IC₅₀ obtida foi de 35,76 ± 2,51 µg/ml para Huh-7; 24,08 ± 1,57 µg/ml para HCT-116 e 31,08 ± 3,83 µg/ml para MCF-7. Houve redução entre 40 a 60% da viabilidade das três linhagens celulares testadas e maiores índices de atividade citotóxica contra HCT-116, tanto para o extrato quanto para o flavonol glicosídeo.

Para a atividade antitumoral, os resultados *in vitro* são promissores, uma vez que mais de 90% de uma ou mais linhagens de células tumorais em todos os estudos encontrados

tiveram a sua viabilidade celular comprometida após exposição aos extratos da espécie. O estudo de Hashim e colaboradores (2018) também permite associar a atividade antitumoral à presença de flavonoides entre os compostos bioativos da planta, já que o composto testado também apresentou atividade citotóxica considerável. Porém, são necessários mais ensaios, principalmente ensaios *in vivo*, para avaliar a atividade citotóxica do extrato tanto para as células tumorais quanto para as células saudáveis. Também são necessários ensaios que identifiquem os compostos bioativos presentes na planta, responsáveis pela atividade antitumoral, a fim de contribuir para a descoberta de novas moléculas que podem ser potenciais candidatas a fármacos antineoplásicos.

6.3.6. Atividade antidiabética e antiobesidade

Os extratos aquosos e metanólicos de 28 plantas usadas na medicina tradicional indonésia, incluindo os frutos de *M. leucadendron*, foram investigados quanto à atividade inibitória da PTP1B. Tais plantas compõem uma formulação utilizada para tratamento de diabetes e/ou obesidade na medicina tradicional indonésia, denominada Jamu. Foi realizado um ensaio em placas de 96 poços contendo cada extrato à 1 mg/mL, pNPP e tampão citrato. A quantidade de *p*-nitrofenol produzida pela PTP1B nos poços foi estimada a partir da medição da absorbância a 405 nm, realizada em um leitor de bioensaios, assim como a medição da absorbância do conteúdo de poços contendo os controles positivos RK-682 e ácido ursólico, e dos poços contendo apenas tampão citrato e pNPP. O extrato aquoso de *M. leucadendron* apresentou $95,6 \pm 3,6\%$ de inibição da PTP1B, com IC_{50} de 2,05 $\mu\text{g/mL}$, e o extrato metanólico apresentou $96,4 \pm 3,3\%$ de inibição da PTP1B, com IC_{50} de 3,37 $\mu\text{g/mL}$. Já o controle positivo RK-682 apresentou $84,0 \pm 1,5\%$ de inibição da PTP1B, com IC_{50} de 2,05 $\mu\text{g/mL}$ (SAIFUDIN; KADOTA; TEZUKA, 2013).

Em outro trabalho, realizado por Saifudin e colaboradores (2016), extratos aquosos de 18 plantas que compõem o Jamu, incluindo as folhas de *M. leucadendron*, foram examinados para avaliar a sua capacidade de inibir *in vitro* a PTP1B, a partir de um ensaio em placas de 96 poços contendo 0,05 mg de PTP1B, 2 mmol/L de pNPP, 50 mmol/L de tampão citrato, os extratos na concentração de 25 $\mu\text{g/mL}$ e os controles positivos RK-682 e ácido ursólico. O conteúdo das placas foi medido em um leitor de bioensaio a 405 nm. A determinação de valores IC_{50} foi realizada para as amostras que possuíam mais de 80% de inibição. O extrato aquoso de *M. leucadendron* obteve 96,0% de inibição da PTP1B, enquanto os controles positivos RK-682 e ácido ursólico apresentaram 98,8% de inibição. A inibição foi dependente

da dose, com valor de IC₅₀ igual a 2,05 µg/mL, enquanto os controles positivos RK-682 e ácido ursólico apresentaram IC₅₀ de 2,05 µg/mL e 9,11 µg/mL, respectivamente.

Seguindo o estudo realizado anteriormente, Saifudin, Kadota & Tezuka (2016) realizaram um ensaio *in vitro* para a avaliação da inibição da PTP1B dos extratos metanólicos dos frutos de *M. leucadendron*. Tais extratos foram submetidos a fracionamento com acetato de etila e diclorometano, sendo que, da fração em acetato de etila foram obtidos 32 subfrações as quais quatro foram selecionadas para o isolamento de ácido ursólico, enquanto que a partir da fração em diclorometano foram obtidos 25 subfrações as quais oito foram selecionadas para o isolamento de ácido betulínico. As subfrações selecionadas foram submetidas ao teste de inibição da PTP1B, seguindo os mesmos critérios metodológicos dos estudos anteriores.

Como resultados da pesquisa, as subfrações correspondentes ao ácido betulínico apresentaram 98,7% de inibição da PTP1B e as subfrações correspondentes ao ácido ursólico apresentaram 97,6% de inibição, enquanto o controle positivo RK-682 apresentou 97,4% de inibição. Quanto aos valores de IC₅₀, as subfrações correspondentes ao ácido betulínico apresentaram concentração igual a 1,5 µg/mL e as subfrações correspondentes ao ácido ursólico apresentaram concentração igual a 2,3 µg/mL, sendo este último superior ao IC₅₀ do controle positivo RK-682, igual a 2,05 µg/mL. As subfrações também foram submetidas a teste *in vitro* de inibição da TCPTP, sendo que as subfrações correspondentes ao ácido betulínico alcançaram IC₅₀ de 2,4 µg/mL e as subfrações correspondentes ao ácido ursólico alcançaram IC₅₀ de 3,1 µg/mL (SAIFUDIN; KADOTA; TEZUKA, 2016).

Em um estudo com 59 plantas usadas na medicina tradicional indonésia que compõem o Jamu, entre elas *M. leucadendron*, foi investigada a capacidade de seus extratos metanólicos em aumentar a sensibilidade à insulina após a sua indução em adipócitos 3T3-L1. Foi realizado um ensaio *in vitro* com pré-adipócitos 3T3-L1 murinos cultivados em placas com 48 poços, a qual 50 µg/mL de cada extrato foi adicionado no oitavo dia após a incubação, usando como substância referência o fármaco rosiglitazona µ1 M, com ação em PPAR γ . A avaliação da estimulação insulínica e a captação de glicose foram realizadas no décimo segundo dia, seguido pelo ensaio de fluorescência enzimática. O extrato metanólico dos frutos *M. leucadendron* apresentou apenas 46,7 ± 6,7% de aumento na atividade de captação de glicose, enquanto a substância referência rosiglitazona apresentou 178% de aumento na atividade de captação de glicose. Devido a atividade ter sido inferior à 50%, o extrato de *M. leucadendron* não foi selecionado para o teste de supressão lipídica e para o ensaio de citotoxicidade, de acordo com a metodologia de triagem definida (LAHRITA; KATO; KAWABATA, 2015).

Saifudin, Kadota & Tezuka (2013) já haviam reforçado que a inibição da PTP1B pode contribuir no tratamento e/ou prevenção de Diabetes Mellitus tipo II e/ou obesidade, já que a sua presença está relacionada com inibição da sinalização de insulina. Com base nos estudos apresentados, existe um potencial dos extratos de *M. leucadendron* em inibir a atividade da PTP1B. Tal atividade foi comprovada *in vitro* e também foi associada à presença dos triterpenoides ácido betulínico e ácido ursólico, sendo que o potencial antidiabético e anti-obesidade dos extratos pode estar associado à esta atividade.

Apesar de o potencial antiobesidade estar relacionado à supressão da produção de lipídios após o aumento da captação de glicose em adipócitos 3T3-L1, o estudo de Lahrita; Kato & Kawabata (2015) demonstra que tal atividade para os extratos de *M. leucadendron* parece não ser relevante, já que o aumento na captação de glicose foi inferior a 50%. Porém, como a *M. leucadendron* compõe o fitoterápico Jamu e este é conhecidamente usado como agente antidiabético e antiobesidade na Medicina Tradicional Indonésia, faz-se importante realizar mais investigações que correlacionem a presença do extrato da espécie às atividades antidiabética e antiobesidade. Isto porque tanto o Diabetes Mellitus quanto a obesidade são consideradas doenças crônicas de importância mundial e a descoberta de novos tratamentos é importante para o manejo de tais doenças.

6.3.7. Atividade inibitória de enzimas microsossomais hepáticas

Um estudo *in vitro* realizado com 30 amostras de plantas medicinais indonésias investigou a capacidade dos extratos em inibir o metabolismo pelas enzimas do citocromo humano P450, CYP3A4 e CYP2D6. Foram obtidos extratos aquosos de todas as amostras, entre elas as folhas de *M. leucadendron*, que, em seguida, foram submetidas a fracionamento com metanol e testadas em microsossomas de fígado humano. Frações com inibição enzimática maior ou igual a 70% foram fracionadas em etanol para a avaliação dos valores de IC₅₀, onde microsossomas de fígado humano foram pré-incubadas por para avaliar atividade de CYP3A4 e CYP2D6, usando cetoconazol e quinidina como controles positivos, respectivamente. Após as reações, as amostras foram submetidas a um ensaio radiométrico para a detecção do percentual de inibição enzimática. As frações em metanol de *M. leucadendron* apresentaram atividade inibitória superior a 50% sobre o metabolismo mediado pelas enzimas, mas, porém, esta foi inferior a 70%, com 69% sobre a CYP3A4 e 68% sobre a CYP2D6, enquanto a ação do controle positivo cetoconazol sobre a CYP3A4 apresentou 77% de atividade inibitória e o

controle positivo quinidina sobre a CYP2D6 apresentou 88% de atividade inibitória. Portanto os valores de IC₅₀ de *M. leucadendron* não foram investigados neste estudo (USIA *et al.*, 2006).

O extrato metanólico das folhas de *M. leucadendron* foi avaliado *in vitro*, entre trinta amostras de plantas medicinais indonésias, quanto à sua inibição baseada em mecanismos das enzimas do citocromo P450, CYP3A4 e CYP2D6. Foram realizados ensaios de inibição dependente do tempo e dependente de NADPH. Para o ensaio de inibição dependente do tempo, o extrato a 0,5 mg/mL foi testado em microssomas de fígado humano a partir de medição radiométrica, usando como controle positivo, troleandomicina e paroxetina, respectivamente, e como controle negativo, cetoconazol e quinidina, respectivamente. Também foi realizado um teste para investigação adicional com o extrato à 0,025 mg/mL, no tempo de pré-incubação de 0, 10, 20 e 30 minutos para avaliar a relação entre concentração e dependência do tempo (SUBEHAN *et al.*, 2006).

Como resultados, Subehan e colaboradores (2006) encontraram 92,3% de atividade residual de CYP3A4 após pré-incubação com o extrato de *M. leucadendron*, enquanto o controle positivo troleandomicina apresentou 62,1%. Já para a CYP2D6, o extrato apresentou 49,5% de atividade residual após pré-incubação, enquanto o controle positivo paroxetina apresentou 39,3%. Observou-se que houve mais de 30% de inibição da atividade de CYP2D6 pelo extrato de *M. leucadendron* ao final do teste. No teste de investigação adicional notou-se que o extrato de *M. leucadendron* apresentou forte atividade inibitória em CYP2D6 com atividade residual de 3,3%, e mesmo em 0,05 mg/mL ele demonstrou inibição da enzima de forma dependente do tempo. Para o ensaio de inibição dependente de NADPH, microssomas de fígado humano foram pré-incubadas na presença e ausência de NADPH por 0, 10 e 20 minutos à 37° C, e observou-se que tanto os controles quanto os extratos apresentaram inibição das enzimas dependente de NADPH, exceto os extratos de *M. leucadendron*, que não foi um inibidor baseado em mecanismo de CYP2D6.

A avaliação da atividade inibitória de extratos de plantas medicinais em enzimas do citocromo P450 é muito importante para determinar possíveis interações entre as preparações fitoterápicas da espécie e outros medicamentos convencionais que possam estar sendo usados por uma pessoa em um tratamento. Porém, também são necessários mais testes, tanto *in vitro* quanto *in vivo* para a investigação da atividade inibitória dos extratos de *M. leucadendron* sobre tais enzimas, assim como para identificar quais compostos bioativos são responsáveis por cada ação inibitória.

6.3.8. Atividade inseticida

Em um estudo realizado com o extrato etanólico das folhas de cinco plantas, entre elas *M. leucadendron*, foi avaliado o efeito dissuasor de oviposição em *Conopomorpha sinensis* Bradley, uma praga que causa danos em frutos de *Litchi chinensis* Sonn. e *Euphoria longan* (Lour.) Steud., no Sudeste Asiático e sul da China. Os frutos de *L. chinensis*, previamente cobertos ou não com papel de postura embebido com os extratos, foram expostos à *C. sinensis* adultos, onde foram realizados testes com escolha e testes sem chance de escolha de forma a ver o efeito atrativo ou repelente de cada extrato. O extrato de *M. leucadendron* apresentou dissuasão efetiva de -2,3% no teste com escolha e de 2,7% no teste sem chance de escolha, considerados um dos menores entre os extratos avaliados. Além disso, o índice de oviposição para o extrato nos testes com escolha foi de 0,0, considerando um índice onde atividades de oviposição $\geq 0,3$ são consideradas atrativas, enquanto em um índice $\leq -0,3$ as atividades de oviposição são consideradas impeditivas (YAO *et al.*, 2019).

O efeito dos extratos na fecundidade e fertilidade e a atividade ovicida também foram avaliadas por Yao e colaboradores (2019). Na avaliação da fecundidade e fertilidade, os frutos cobertos com papel de oviposição embebido com os extratos e os frutos sem o tratamento foram expostos a *C. sinensis*, para avaliar a postura de ovos em cada um. Houve a postura de 12,9 ovos diários por fêmea, enquanto o grupo controle apresentou a postura de 13,2 ovos diários por fêmea, ou seja, o nível de redução de postura foi pequeno em relação aos outros extratos testados. Por fim, para a investigação da atividade ovicida, a eclodibilidade dos ovos de *C. sinensis* foi avaliada após tratamento com os extratos nas concentrações de 0,1 g/mL e 0,01 g/mL, observando-se que, com o extrato de *M. leucadendron*, a eclodibilidade dos ovos não apresentou efeitos significativos em comparação com o grupo controle, já que a porcentagem de eclosão de ovos na concentração de 0,1 g/mL foi de 87,9%, enquanto para o grupo controle foi de 89,8%; e na concentração de 0,01 g/mL foi de 89,1%, enquanto para o grupo controle foi de 91,8%.

Em outro estudo que avaliou o potencial inseticida dos extratos de *M. leucadendron*, o extrato etanólico das folhas foi submetido a fracionamento com hexano para a obtenção do composto (E,S)-nerolidol, que por sua vez foi testado como inibidor de alimentação das larvas de *Lymantria dispar* L., conhecida como mariposa-cigana. Foi usado na dieta das larvas uma concentração de 3,75 mg/mL do composto isolado, e também de álcoois derivados do nerolidol, entre eles, o farnesol e o geraniol. (E,S)-nerolidol obtido do extrato de *M. leucadendron* apresentou resposta de 72%, enquanto o nerolidol utilizado comercialmente

apresentou resposta de 51%. Já o composto farnesol, um isômero alílico de nerolidol, apresentou resposta de 56%; e o geraniol, um análogo monoterpeneo do farnesol, apresentou resposta de 16%. Ambos apresentaram respostas consideradas mais altas que de (E,S)-nerolidol (DOSKOTCH *et al.*, 1980).

A atividade inseticida dos óleos essenciais também já é relatada na literatura, porém a atividade inseticida dos extratos de *M. leucadendron* não se mostrou tão significativa no estudo de Yao e colaboradores (2019). Já no estudo de Doskotch e colaboradores (1980), tal atividade foi correlacionada à presença de (E,S)-nerolidol, mas a diferença de 20% no valor da resposta alimentar observada entre o composto isolado e o nerolidol comercial não foi considerada significativa, pois esta pode ocorrer entre os testes repetidos. Entretanto, a atividade inseticida encontrada pôde ser correlacionada à presença de um composto bioativo, o que já é considerado positivo. Como foram identificados apenas dois estudos com espécies de pragas diferentes, seriam necessárias mais investigações com tais espécies, assim como outras que podem ser importantes quanto ao seu impacto na agricultura e engenharia florestal.

6.3.9. Atividade neuroprotetora

Um estudo foi conduzido para a avaliação dos efeitos neuroprotetores *in vitro* de compostos melaleucadinas, isoladas a partir de extratos dos ramos e folhas de *M. leucadendron*. Foi realizado um ensaio MTT em placas de 96 poços utilizando células de neurônios dopaminérgicos PC-12 previamente tratadas com corticosterona, considerada como uma neurotoxina, que foram então pré-tratadas com as melaleucadinas A e B à 50 mM durante 24 horas. Após 48 horas, a viabilidade celular foi avaliada, resultando em 93,40% e 99,92% para os compostos melaleucadina A e melaleucadina B, respectivamente (XIE *et al.*, 2019).

Um outro estudo também para a avaliação dos efeitos neuroprotetores *in vitro*, foram testados os compostos leumelaleucols, isolados a partir das frações obtidas de extratos dos frutos de *M. leucadendron*. Foi realizado um ensaio MTT em placas de 96 poços utilizando células de neurônios dopaminérgicos PC-12 previamente tratadas com corticosterona, que foram então pré-tratadas com os leumelaleucols A, B, D, E, F e G nas concentrações de 25 mM e 50 mM durante 24 horas. Os leumelaleucols B, D, E, F e G produziram aumento da sobrevivência das células PC-12, sendo que com os compostos E e G, na concentração de 25

mM, a viabilidade celular foi superior a 65%, com 67,57% e 74,61%, respectivamente, demonstrando efeitos neuroprotetores (WU *et al.*, 2020).

Ambos os estudos correlacionam a atividade neuroprotetora dos extratos de *M. leucadendron* à presença de triterpenóides benzílicos do tipo floroglucinol, porém apresentam apenas ensaios *in vitro* que, apesar de mostrarem resultados promissores, ainda não são suficientes para comprovar a atividade neuroprotetora do extrato em si. Mais avaliações também seriam necessárias, a partir de ensaios *in vivo* e também estudos clínicos que comprovem a relação entre tais compostos e a capacidade neuroprotetora.

6.4. ASPECTOS TOXICOLÓGICOS

6.4.1. Toxicidade *in vitro* dos extratos

Um ensaio *in vitro* em culturas duplicadas de células Vero (células derivadas do rim de um macaco verde africano) foi realizado para avaliar a citotoxicidade do extrato aquoso e do extrato metanólico de 30 plantas medicinais tradicionais coletadas na Indonésia, incluindo os frutos de *M. leucadendron*. Os extratos foram aplicados em placas de plástico de 60 mm na concentração de 100 mg/mL e a citotoxicidade foi avaliada pela extensão da omissão de células da superfície das placas coradas no ensaio de formação de placa (citotoxicidade visível). A citotoxicidade foi determinada comparando a camada de células da amostra com a do controle, sendo classificadas como sem desprendimento de células; coloração espessa da camada celular (menos de 10% de desprendimento celular); 10–50% de desprendimento celular; mais de 50% de desprendimento celular; e descolamento celular completo. O extrato aquoso de *M. leucadendron* não apresentou citotoxicidade na cultura de células avaliada, já que não houve desprendimento de células, enquanto que o extrato metanólico apresentou forte atividade citotóxica, com descolamento completo das células da superfície da placa (NAWAWI *et al.*, 1999).

Foi avaliada em um ensaio *in vitro* a atividade citotóxica do extrato etanólico de três plantas medicinais cultivadas em Cuba, entre elas *M. leucadendron*, em fibroblastos de pulmão fetal humano, denominadas MRC-5. Foi definido como critério de não-citotoxicidade, a $CC_{50} \geq 16 \mu\text{g/mL}$, sendo que o extrato de *M. leucadendron* apresentou CC_{50} igual a $20 \mu\text{g/mL}$, considerado então como relativamente não tóxico (VALDÉS *et al.*, 2008). Um ensaio de viabilidade celular usando MTT foi realizado com a fração em n-butanol do extrato metanólico de partes secas de *M. leucadendron* em macrófagos RAW264.7 estimulados por

LPS. Observou-se que a fração butanólica do extrato não exibiu citotoxicidade em concentrações inferiores a 1 µg/mL em comparação com um controle tratado com LPS (SURH; YUN, 2012). Já Perera e colaboradores (2016) realizaram um ensaio de viabilidade celular com MTT em macrófagos RAW264.7 estimulados por LPS, que foram tratados com o extrato etanólico das folhas de *M. leucadendron* e a viabilidade celular após o tratamento com o extrato foi de $97,27 \pm 0,72$ %, considerada alta.

A citotoxicidade do extrato etanólico das flores de *M. leucadendron* foi avaliada a partir de ensaio de resazurina e ensaio com BrdU em queratinócitos da pele humana. No ensaio de resazurina, houve redução de cerca de 20% da viabilidade celular na concentração acima de 75 µg/mL de extrato, além de elevado valor de IC₅₀, $243,5 \pm 8,87$ µg/mL, aumentando a densidade celular em baixas doses, numa concentração entre 4,7 e 9,4 µg/mL. No ensaio com BrdU, concentrações do extrato entre 0 a 60 µg/mL foram testadas por 24h e a proliferação celular foi medida, usando 10% de SFB como controle positivo. Houve atividade proliferativa no controle positivo, entretanto nenhum dos grupos contendo os extratos houve atividade proliferativa (SILVA *et al.*, 2020).

Foi avaliada a citotoxicidade de 16 plantas medicinais usadas na medicina tradicional chinesa, entre elas *M. leucadendron*, em duas linhagens de células humanas normais, entre elas, células epiteliais do pulmão periférico humano (HPL1A) e células endoteliais da veia umbilical humana (HUVEC). Foram preparados extratos em éter de petróleo do tronco de *M. leucadendron*, que em seguida foi submetido a fracionamento levando a obtenção das frações em acetato de etila, etanol e água. Em todas as preparações a citotoxicidade contra HPL1A e HUVEC foi considerada alta, variando entre 94,8 a 100%. Em relação aos valores de IC₅₀, o extrato em éter de petróleo apresentou $3,3 \pm 1,0$ µg/mL para HPL1A e $10,7 \pm 1,5$ µg/mL para HUVEC; a fração em acetato de etila apresentou $6,4 \pm 1,5$ µg/mL para HPL1A e $16,7 \pm 0,6$ µg/mL para HUVEC; a fração em etanol apresentou $7,4 \pm 1,8$ µg/mL para HPL1A e $40,0 \pm 3,3$ µg/mL para HUVEC; e a fração em água apresentou $16,9 \pm 3,0$ µg/mL para HPL1A e $20,7 \pm 3,5$ µg/mL para HUVEC (ALMOSNID *et al.*, 2018).

Todos os estudos apresentados reforçam que os extratos de *M. leucadendron* são muito citotóxicos para linhagens celulares saudáveis, o que indica potencial atividade citotóxica em modelos *in vivo* e até mesmo para humanos em estudos clínicos. Entretanto, é importante estudar a citotoxicidade dos extratos tanto em ensaios *in vitro* quanto em ensaios *in vivo* para estabelecer concentrações seguras dos extratos para o uso em diversas situações, antes de partir para ensaios clínicos.

6.4.2. Toxicidade *in vivo* dos extratos

Os extratos etanólicos de 35 plantas medicinais cubanas, entre elas as folhas de *M. leucadendron*, foram testados em larvas do crustáceo *Artemia salina*, para a determinação preliminar da toxicidade. As larvas de *A. salina* foram expostas por 24 horas às concentrações de 1.000 µg/mL, 100 µg/mL, 10 µg/mL e 1 µg/mL dos extratos de cada planta para a determinação da CL₅₀, classificando os extratos como extremamente tóxicos (CL₅₀ < 10 µg/mL), muito tóxicos (CL₅₀ entre 10 e 100 µg/mL), moderadamente tóxicos (CL₅₀ entre 100 e 1.000 µg/mL), e não tóxicos (CL₅₀ > 1.000 µg/mL). O extrato de *M. leucadendron* apresentou CL₅₀ de 7,4 µg/mL, sendo classificado então como extremamente tóxico (VALDÉS *et al.*, 2009).

Apesar de ser um estudo que relaciona o teste de toxicidade com o potencial antiparasitário dos extratos, é importante destacar que, apesar de ser o único estudo que apresenta ensaio de toxicidade *in vivo* até o momento, ele demonstra o elevado grau de toxicidade dos extratos de *M. leucadendron* e já reforça a necessidade de mais estudos para investigar quais são os compostos bioativos responsáveis pela atividade tóxica e quais são os limites seguros para o uso dos extratos de *M. leucadendron*, uma vez que o seu uso é muito difundido em várias regiões do mundo.

6.4.3. Atividade alérgica dos extratos

Os extratos do pólen das flores de três plantas, entre elas *M. leucadendron*, foram analisados quanto à reatividade cruzada antigênica e alérgica. O pólen de *M. leucadendron* foi extraído com tampão de bicarbonato de amônio 0,05M, de pH 7,8; e com o tampão de polímero Amberlite® XAD-4 1% + XAD-PVP, de pH 7,0. Os extratos obtidos foram injetados em coelhos hiperimunes para a obtenção dos anti-soros de coelho, e também foram usados em um teste cutâneo com 55 pacientes alérgicos, nas concentrações de 0,1%, 0,01% e 0,001% (p/v), cujos soros foram coletados para análise em pacientes com reações positivas aos extratos analisados. Os extratos foram, então, submetidos a SDS-PAGE, transferência eletroforética pelo método de Towbin, Eletroblotting e Immunoblotting com tiras de nitrocelulose e avaliação da reatividade cruzada antigênica dos componentes dos pólenes das plantas (SWEENEY *et al.*, 1994).

Sweeney e colaboradores (1994) observaram que os componentes extraídos reagiram com os anti-soros de coelho de todos os extratos testados, sugerindo alto grau de reatividade

cruzada antigênica. Na avaliação da reatividade cruzada alergênica foram identificados sete componentes proteicos do extrato XAD-PVP de *M. leucadendron* capazes de se ligar à IgE humana testada. Na análise com *Western Blot* cada soro dos pacientes avaliados demonstrou um padrão único de ligação à IgE. Mais de 16 componentes de ligação de IgE foram identificados para *M. leucadendron*, sendo que, em pelo menos 60% dos soros individuais, um componente de ligação de IgE de *M. leucadendron* foi detectado. No teste cutâneo observou-se que, dos pacientes alérgicos selecionados aleatoriamente com tampão de bicarbonato de amônio, 42% foram negativos para os três extratos, enquanto 58% reagiram positivamente a pelo menos um dos extratos. Desses pacientes com teste cutâneo positivo, 81% reagiram a todos os três extratos de pólen, 13% foram positivos a dois dos três extratos de pólen e apenas 6% foram positivos a um extrato.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A *M. leucadendron* é uma espécie de grande importância para os países da região do Sudeste Asiático e Oceania, tanto pelas suas aplicações na indústria quanto pelo seu uso na Medicina Tradicional dessas regiões, sendo importante a condução de estudos que possam investigar mais a fundo as suas propriedades farmacológicas e toxicidade. Até então, existem poucos estudos que comprovem, através de evidências científicas, alguns dos principais usos da planta pelos povos tradicionais. São necessários mais estudos *in vitro* para aprofundar as investigações já iniciadas nos estudos apresentados aqui e também estudos *in vivo* que demonstrem em modelos animais como as atividades biológicas já descritas *in vitro* se comportam. Também são necessários estudos etnofarmacológicos e ensaios clínicos, já que nenhum destes foi identificado na literatura, para confirmar se as propriedades farmacológicas descritas corroboram com os principais usos tradicionais da planta e com as atividades biológicas descobertas em testes *in vitro* e *in vivo*, assim como também identificar possíveis novas aplicações. Além disso, os estudos clínicos também são de extrema importância para definir as concentrações de uso seguras do extrato da planta.

O investimento em estudos com plantas medicinais é de extrema importância para o desenvolvimento de nações e também para a humanidade, uma vez que foram através das plantas que a maioria dos fármacos usados atualmente na Medicina Contemporânea foram descobertos, e também foi através das plantas que a Medicina evoluiu ao nível em que está nos dias atuais. O investimento em estudos com planta medicinais faz-se essencial para contribuir para a Fitoterapia Baseada em Evidências Científicas, de forma a respeitar o conhecimento difundido através da Medicina Tradicional e permitir à população a chance de também recorrer às plantas medicinais para o tratamento de suas condições de saúde, com segurança e eficácia. Por fim, destaca-se a importância de investir em novos estudos com os extratos e/ou frações de *M. leucadendron*, em especial, estudos *in vivo* e estudos clínicos que descrevam a sua atividade antioxidante, anti-inflamatória, fotoprotetora, antimicrobiana, antiviral, antiparasitária, antitumoral, antidiabética, antiobesidade, entre outras.

8. REFERÊNCIAS

- ADORJAN, B.; BUCHBAUER, G. Biological properties of essential oils: an updated review. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 25, n. 6, p. 407–426, 2010.
- AHMED, I. N. *et al.* Bioethanol production from pretreated *Melaleuca leucadendron* shedding bark - Simultaneous saccharification and fermentation at high solid loading. **Bioresource Technology**, v. 136, p. 213–221, 2013.
- AL-SAYED, E. *et al.* Protective role of casuarinin from *Melaleuca leucadendra* against ethanol-induced gastric ulcer in rats. **Planta Medica**, v. 86, n. 1, p. 32-44, 2020.
- ALMOSNID, N. M., *et al.* Evaluation of extracts prepared from 16 plants used in Yao ethnomedicine as potential anticancer agents. **Journal of ethnopharmacology**, v. 211, p. 224-234, 2018.
- BANIK, K. *et al.* Piceatannol: A natural stilbene for the prevention and treatment of cancer. **Pharmacological Research**, v. 153, p. 1-13, 2020.
- BARBOSA, L. C. A. *et al.* Chemistry and Biological Activities of Essential Oils from *Melaleuca* L. Species. **Agriculturae Conspectus Scientificus**, v. 78, n. 1, p. 11-23, 2013.
- BAUTISTA-SILVA, J. P. *et al.* *Melaleuca leucadendra* essential oil promotes loss of cell membrane and wall integrity and inhibits bacterial growth: an *in silico* and *in vitro* approach. **Current Microbiology**, v. 77, n. 9, p. 2181–2191, 2020.
- BENTO, A. Como fazer uma revisão da literatura: considerações teóricas e práticas. **Revista JA (Associação Acadêmica Da Universidade Da Madeira)**, v. 65, p. 42–44, 2012.
- BIELORY, L.; KANUGA, M. Complementary and alternative interventions. **Immunology And Allergy Clinics Of North America**, v. 22, n.1, p. 153-173, 2002.
- BLAKE, S. T. A Revision of *Melaleuca leucadendron* and its allies (Myrtaceae). **JSTOR**, n. 1, p. 1–114, 1968.
- BRANDELLI, C. L. C.; MONTEIRO, S. C. **Farmacobotânica: aspectos teóricos e aplicação**. Porto Alegre: Artmed 2017. *E-book*. Disponível em: <<https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788582714416/>>. Acesso em: 06 Set 2020.
- BRASIL. Myrtaceae *in* Flora e Funga do Brasil. **Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB598669>>. Acesso em: 23 Mai 2022
- BRASIL. **Farmacopeia Brasileira**. Volume 1. 6 ed. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: ANVISA, 2019. p. 32.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Instrução Normativa nº 4, de 18 de Junho de 2014. Determina a publicação do guia de orientação para registro de medicamento fitoterápico e registro e notificação de produto tradicional fitoterápico. **Diário Oficial da União**. 20 de Junho de 2014; s. 1, n. 116, p. 86.

- BRINKMAN, W. J.; XUAN, V. T. A. *Melaleuca leucadendron*, a useful and versatile tree for acid sulphate soils and some other poor environments. **International Tree Crops Journal**, v. 6, n. 4, p. 261–274, 1991.
- BROPHY, J. J.; LASSAK, E. V. *Melaleuca leucadendra* L. leaf oil: two phenylpropanoid chemotypes. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 3, n. 1, p. 43–46, 1988.
- CHATTOPADHYAY, D.; KHAN, M. T. H. Ethnomedicines and ethnomedicinal phytophores against herpesviruses. **Biotechnology Annual Review**, v. 14, p. 297–348, 2008.
- COITINHO, R. L. B. C. *et al.* Toxicidade por fumigação, contato e ingestão de óleos essenciais para *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1885 (coleoptera: Curculionidae). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n. 1, p. 172–178, 2011.
- CUONG, N. D. *et al.* Antibacterial properties of vietnamese cajuput oil. **Journal of Essential Oil Research**, v. 6, n. 1, p. 63–67, 1994.
- DAVIES, K. A.; GIBLIN-DAVIS, R. M. The biology and associations of *Fergusobia* (Nematoda) from the *Melaleuca leucadendra*-complex in eastern Australia. **Invertebrate Systematics**, v. 18, n. 3, p. 291–319, 2004.
- DOSKOTCH, R. W. *et al.* Nerolidol: an antifeeding sesquiterpene alcohol for gypsy moth larvae from *Melaleuca leucadendron*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 6, n. 4, p. 845–851, 1980.
- EL-MANAWATY, M. A. *et al.* High-throughput screening of 75 euphorbiaceae and myrtaceae plant extracts for *in-vitro* antitumor and pro-apoptotic activities on human tumor cell lines, and lethality to brine shrimp. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 5, n. 2, p. 178–183, 2013.
- ELFAHMI; WOERDENBAG, H. J.; KAYSER, O. Jamu: Indonesian traditional herbal medicine towards rational phytopharmacological use. **Journal of Herbal Medicine**, v. 4, n. 2, p. 51–73, 2014.
- FALL, R. *et al.* Chemical characterization of essential oil from the leaves of *Callistemon viminialis* (D.R.) and *Melaleuca leucadendron* (Linn.). **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 7, n. 4, p. 347–351, 2017.
- FARAG, R., *et al.* Chemical and biological evaluation of the essential oils of different *Melaleuca* species. **Phytotherapy Research**, v. 18, n. 1, p. 30–35, 2004.
- FU, L. *et al.* Antioxidant capacities and total phenolic contents of 56 wild fruits from South China. **Molecules**, v. 15, n. 12, p. 8602–8617, 2010.
- GARCÍA-GONZÁLEZ, M.; MORALES, C. O. Análisis de la literatura sobre plantas medicinales em Costa Rica (1930–2001). **Lankesteriana**, v. 5, n. 1, p. 3–40, 2005.
- GAUTAM, R.; SAKLANI, A.; JACHAK, S. M. Indian medicinal plants as a source of antimycobacterial agents. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 110, n. 2, p. 200–234, 2007.

HALIQ, R.; RAYUDI, A. F.; SUPRAYITNO, A. The effect of filler composition and shape to sound capability insulation and modulus elasticity natural fiber galam wood (*Melaleuca leucadendra*) - polyester. **IOP Conference Series: Materials Science and Engineering**, v. 494, n. 1, p. 1-5, 2019.

HASHIM, A. N. *et al.* A cytotoxic flavonol glycoside from *Melaleuca leucadendra* leaves extract with immunostimulant activity. **Die Pharmazie: An International Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 73, n. 1, p. 61-64, 2018.

HIERMANN, A; BUCAR, F. Influence of some traditional medicinal plants of Senegal on prostaglandin biosynthesis. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 42, p. 111-116, 1994.

HUI, W.; LI, M. Neutral triterpenoids from *Melaleuca leucadendron*. **Phytochemistry**, v. 15, n. 4, p. 563, 1976.

HUNTE, N. *et al.* Colonial history impacts urban tree species distribution in a tropical city. **Urban Forestry and Urban Greening**, v. 41, p. 313–322, 2019.

HUNTER, S. L. *et al.* Isolation and partial purification of allergenic components of the pollens *Paspalum notatum* and *Melaleuca leucadendron*. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 97, n. 1, p. 231, 1996.

JUSTINO, C. I. L. *et al.* Classical methodologies for preparation of extracts and fractions. In **Analysis of Marine Samples in Search of Bioactive Compounds**. Elsevier B.V., v. 65, cap. 3, p. 35-57, 2014.

KONTOGIORGIS, C.; HADJIPAVLOU-LITINA, D. Nitric oxide synthases and their natural inhibitors. **Current Enzyme Inhibition**, v. 12, p. 3-15, 2016.

LAHRITA, L.; KATO, E.; KAWABATA, J. Uncovering potential of Indonesian medicinal plants on glucose uptake enhancement and lipid suppression in 3T3-L1 adipocytes. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 168, p. 229–236, 2015.

LEE, C. A new norlupene from the leaves of *Melaleuca leucadendron*. **Journal of Natural Products**, v. 61, n. 3, p. 375-376, 1998b.

LEE, C. Leucadenone A-D, the novel class flavanone from the leaves of *Melaleuca leucadendron* L. **Tetrahedron Letters**, v. 40, p. 7255-7259, 1999.

LEE, C. New Triterpenes from the Heartwood of *Melaleuca leucadendron* L. **Journal of the Chinese Chemical Society**, v. 45, n. 2, p. 303-306, 1998c.

LEE, C. Ursane triterpenoids from leaves of *Melaleuca leucadendron*. **Phytochemistry**, v. 38, n. 4, p. 1119-1122, 1998a.

LEE, C.; CHANG, M. Four New Triterpenes from the Heartwood of *Melaleuca leucadendron*. **Journal of Natural Products**, v. 62, n. 7, p. 1003-1005, 1999.

LUPI, E.; HATZ, C.; SCHLAGENHAUF, P. The efficacy of repellents against *Aedes*,

Anopheles, *Culex* and *Ixodes* spp. - a literature review. **Travel Medicine and Infectious Disease**, p. 1-38, 2013.

MANILAL, A. *et al.* *In vitro* antibacterial activity of medicinal plants against biofilm-forming methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: efficacy of *Moringa stenopetala* and *Rosmarinus officinalis* extracts. **Heliyon**, v. 6, n. 1, p. 1-8, 2020.

MEHDIZADEH, L.; MOGHADDAM, M. Essential oils- biological activity and therapeutic potential. **In Therapeutic, Probiotic, and Unconventional Foods**. Elsevier, cap. 10, p. 167-179, 2018.

MORAKINYO, T. E. *et al.* A study on the impact of shadow-cast and tree species on incanyon and neighborhood's thermal comfort. **Building and Environment**, v. 115, p. 1-17, 2017.

NAWAWI, A. *et al.* Inhibitory effects of Indonesian medicinal plants on the infection of Herpes Simplex virus Type 1. **Phytotherapy Research**, v. 13, p. 37-41, 1999.

NGUYEN, M. T. T. *et al.* Xanthine oxidase inhibitory activity of Vietnamese medicinal plants. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 27, n. 9, p. 1414-1421, 2004.

NIANG, S. O. *et al.* Prise en charge des hypersensibilités retardées aux plantes médicinales: Management of delayed hypersensibilities in medicinal plants. **Revue Française d'Allergologie**, v. 60, n. 4, p. 275-276, 2020.

NOOSIDUM, A. *et al.* Excito-repellency properties of essential oils from *Melaleuca leucadendron* L., *Litsea cubeba* (Lour.) Persoon, and *Litsea salicifolia* (Nees) on *Aedes aegypti* (L.) mosquitoes. **Journal of Vector Ecology**, v. 33, n. 2, p. 305-312, 2008.

OSWELL, N. J.; THIPPAREDDI, H.; PEGG, R. B. Practical use of natural antioxidants in meat products in the U.S.: a review. **Meat Science**, v. 145, p. 469-479, 2018.

PADALIA, R. C. *et al.* The essential oil composition of *Melaleuca leucadendra* L. grown in India: A novel source of (E)-nerolidol. **Industrial Crops and Products**, v. 69, p. 224-227, 2015.

PERERA, H. D. S. M. *et al.* *In vitro* anti-inflammatory and anti-oxidant activities of Sri Lankan medicinal plants. **Industrial Crops and Products**, v. 94, p. 610-620, 2016.

PÉREZ, E. G. *et al.* Efecto antimicrobiano de hojas de *Melaleuca leucadendron* L, que crece en la Ciénaga de Zapata. **Revista Médica Electrónica**, v. 32, n. 4, p. 1-7, 2010.

PINO, J. A. *et al.* Chemical composition of cajuput oil (*Melaleuca leucadendra* L.) from Cuba. **Journal of Essential Oil Research**, v. 14, n. 1, p. 10-11, 2002.

PINO, J. A. *et al.* Phytochemical analysis and *in vitro* free-radical-scavenging activities of the essential oils from leaf and fruit of *Melaleuca leucadendra* L. **Chemistry and Biodiversity**, v. 7, n. 9, p. 2281-2288, 2010.

PRAKASH, B. *et al.* Antifungal, antiaflatoxin and antioxidant activity of plant essential oils

and their *in vivo* efficacy in protection of chickpea seeds. **Journal of Food Quality**, v. 39, n. 1, p. 36–44, 2016.

PUJIARTI, R.; OHTANI, Y.; ICHIURA, H. Antioxidant, anti-hyaluronidase and antifungal activities of *Melaleuca leucadendron* Linn. leaf oils. **Journal of Wood Science**, v. 58, n. 5, p. 429–436, 2012.

RAMADHANIA, Z. M. *et al.* Antioxidant activity from ten species of myrtaceae. **Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research**, v. 10, n. 14, p. 5-7, 2017.

RODRÍGUEZ-PÉREZ, M. *et al.* Evaluación de la actividad antimalárica de algunas plantas utilizadas en la medicina tradicional cubana. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 27, n. 3, p. 197-205, 2006.

SAAD, G. A. *et al.* **Fitoterapia contemporânea: tradição e ciência na prática clínica**. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2018. *E-book*. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788527730433/>. Acesso em: 06 Set 2020.

SAIFUDIN, A. *et al.* Potent water extracts of Indonesian medicinal plants against PTP1B. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 6, n. 1, p. 38–43, 2016.

SAIFUDIN, A.; KADOTA, S.; TEZUKA, Y. Protein tyrosine phosphatase 1B inhibitory activity of Indonesian herbal medicines and constituents of *Cinnamomum burmannii* and *Zingiber aromaticum*. **Journal of Natural Medicines**, v. 67, p. 264–270, 2013.

SAIFUDIN, A.; LALLO, S. A.; TEZUKA, Y. The potent inhibitors of protein tyrosine phosphatase 1B from the fruits of *Melaleuca leucadendron*. **Pharmacognosy Research**, v. 8, n. 1, p. 38–41, 2016.

SAKASEGAWA, M; HORI, K; YATAGAI, M. Composition and antitermite activities of essential oils from *Melaleuca* species. **Journal of Wood Science**, v. 49, p. 181-187, 2003.

SHAH, G. *et al.* Pharmacognostic standardization of leaves of *Melaleuca leucadendron*. **Pharmacognosy Journal**, v. 5, p. 143-148, 2013.

SHARIFI-RAD, J. *et al.* Plants of the *Melaleuca* genus as antimicrobial agents: from farm to pharmacy. **Phytotherapy Research**, v. 31, n. 10, p. 1475–1494, 2017.

SIDDIQUE, S. *et al.* Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of essential oils from leaves of three *Melaleuca* species of Pakistani flora. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 13, v. 1, p. 67–74, 2020.

SILALAH, M. *et al.* The local knowledge of medicinal plants trader and diversity of medicinal plants in the Kabanjahe traditional market, North Sumatra, Indonesia. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 175, p. 432–443, 2015.

SILVA, C. J. *et al.* Comparative study of the essential oils of seven *Melaleuca* (Myrtaceae) species grown in Brazil. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 22, p. 474–478, 2007.

SILVA, L. S. B. *et al.* *Melaleuca leucadendron* (L.) L. flower extract exhibits antioxidant and photoprotective activities in human keratinocytes exposed to ultraviolet B radiation. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 159, p. 54-65, 2020.

SILVA, M. M. C. da. *et al.* Insecticidal and acaricidal activity of essential oils rich in (E)-Nerolidol from *Melaleuca leucadendra* occurring in the state of Pernambuco (Brazil) and effects on two important agricultural pests. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 31, n. 4, p. 813–820, 2019.

SIMÕES, C. M. O. *et al.* **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. Porto Alegre: Artmed, 2017. *E-book*. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788582713655/>. Acesso em: 06 Set 2020.

SONG, J. E. *et al.* Acaricidal and insecticidal activities of essential oils against a stored-food mite and stored-grain insects. **Journal of Food Protection**, v. 79, n. 1, p. 174–178, 2016.

SUBEHAN *et al.* Mechanism-based inhibition of CYP3A4 and CYP2D6 by Indonesian medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 105, p. 449–455, 2006.

SURH, J.; YUN, J.-M. Antioxidant and anti-inflammatory activities of butanol extract of *Melaleuca leucadendron* L. **Preventive Nutrition and Food Science**, v. 17, n. 1, p. 22-28, 2012.

SUPARMI, S. *et al.* Natural occurrence of genotoxic and carcinogenic alkenylbenzenes in Indonesian jamu and evaluation of consumer risks. **Food and Chemical Toxicology**, v. 118, p. 53-67, 2018.

SUPRIYANTO, E. *et al.* Simulation of Dye-Sensitized Solar Cells (DSSC) performance for various local natural dye photosensitizers. **IOP Conference Series: Materials Science and Engineering**, v. 515, n. 1, p. 1–11, 2019.

SZULECKA, J.; OBIDZINSKI, K.; DERMAWAN, A. Corporate-society engagement in plantation forestry in Indonesia: evolving approaches and their implications. **Forest Policy and Economics**, v. 62, p. 19–29, 2016.

SWEENEY, M. *et al.* Immunodetection and comparison of melaleuca, bottlebrush, and bahia pollens. **International Archives of Allergy and Immunology**, v. 105, n. 3, p. 289-296, 1994.

TARIQ, S. *et al.* A comprehensive review of the antibacterial, antifungal and antiviral potential of essential oils and their chemical constituents against drug-resistant microbial pathogens. **Microbial Pathogenesis**, v. 134, p. 1-20, 2019.

THOMPSON, K. D. Herbal extracts and compounds active against *Herpes simplex* vírus. **Advances in Phytomedicine**, v. 2, p. 65-86, 2006.

TRAN, D. B. *et al.* An assessment of potential responses of *Melaleuca* genus to global climate change. **Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change**, v. 18, p. 851–867, 2013.

TRIPATHI, P.; DUBEY, N. K. Exploitation of natural products as an alternative strategy to control postharvest fungal rotting of fruit and vegetables. **Postharvest Biology and**

Technology, v. 32, n. 3, p. 235–245, 2004.

TROPICOS.ORG. *Melaleuca leucadendra* (L.) L. **Missouri Botanical Garden**. Disponível em: <<https://tropicos.org/name/22102271>>. Acesso em: 23 Mai 2022.

TSURUGA, T. *et al.* Biologically active constituents of *Melaleuca leucadendron*: inhibitors of induced histamine release from rat mast cells. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 39, n. 12, p. 3276-3278, 1991.

UEDA, J. Y., *et al.* Antiproliferative activity of Vietnamese medicinal plants. **Biological & pharmaceutical bulletin**, v. 25, n. 6, p. 753-760, 2002.

USIA, T. *et al.* CYP3A4 and CYP2D6 inhibitory activities of Indonesian medicinal plants. **Phytochemistry**, v. 13, p. 67–73, 2006.

VALDÉS, A. F. *et al.* Evaluation of toxicity of cuban plant extracts with possible antiparasitic action based on the use of *Artemia salina* larvae. **Revista Cubana de Medicina Tropical**, v. 61, n. 3, p. 254-258, 2009.

VALDÉS, A. F. *et al.* *In vitro* anti-microbial activity of the Cuban medicinal plants *Simarouba glauca* DC, *Melaleuca leucadendron* L and *Artemisia absinthium* L. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 103, n. 6, p. 615-618, 2008.

VIEIRA, T. *et al.* Microarray based IgE detection in poly-sensitized allergic patients with suspected food allergy: an approach in four clinical cases. **Allergologia et Immunopathologia**, v. 40, n. 3, p. 172-180, 2012.

VOSGERAU, D. S. R.; ROMANOWSKI, J. P. Estudos de revisão: implicações conceituais e metodológicas. **Revista Diálogo Educacional**, v. 14, n. 41, p. 165-189, 2014.

WILSON, P. G., *et al.* Myrtaceae revisited: a reassessment of infrafamilial groups. **American Journal of Botany**, v. 88, n. 11, p. 2013–2025, 2001.

WU, L. *et al.* Diverse benzyl phloroglucinol-based meroterpenoids from the fruits of *Melaleuca leucadendron*. **Tetrahedron**, v. 76, n. 28-29, p. 1-8, 2020.

XIE, X. *et al.* Melaleucadines A and B: Two rare benzylic phloroglucinol-terpene hybrids from *Melaleuca Leucadendron*. **Tetrahedron Letters**, v. 60, p. 1011-1013, 2019.

YAO, Q. *et al.* The effects of non-host plant extracts on the oviposition deterrent and ovicidal activity of *Conopomorpha sinensis* Bradley (Lepidoptera: Gracillariidae). **Florida Entomologist**, v. 102, n. 2, p. 298-302, 2019.

YE, W., Molecular phylogenetics and the evolution of host plant associations in the nematode genus *Fergusobia* (Tylenchida: Fergusobiinae). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 45, n. 1, p. 123–141, 2007.

YOSHIDA, T. *et al.* An hydrolysable tannin and accompanying polyphenols from *Melaleuca leucadendron*. **Phytochemistry**, v. 42, n. 4, p. 1171-1173, 1996.

YOUSIF, F. *et al.* Contribution to *in vitro* screening of Egyptian plants for schistosomicidal activity. **Pharmaceutical Biology**, v. 50, n. 6, p. 732–739, 2012.

ZUMSTEG, I. S.; WECKERLE, C. S. Bakera, a herbal steam bath for postnatal care in Minahasa (Indonesia): documentation of the plants used and assessment of the method. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 111, n. 3, p. 641–650, 2007.

APÊNDICE

APÊNDICE ÚNICO – ETAPA DE SELEÇÃO DE ARTIGOS COM ESTUDOS SOBRE EXTRATOS E FRAÇÕES DO ESPÉCIME.

Quadro 2. Resultados de pesquisa selecionados após análise de título e resumo da presença de estudos sobre extratos de *M. leucadendron*.

Nº	Termo de busca utilizado nas bases de dados	Base de dados pesquisada	Autores (ano de publicação)	Título do artigo	Conteúdo analisado a partir dos artigos selecionados com presença dos termos “extrato e/ou fração” e “ <i>Melaleuca leucadendron</i> / <i>Melaleuca leucadendra</i> ”					Data de acesso
					Extrato ou fração?	Parte da planta usada?	Foi avaliada a atividade biológica?	Foi realizada identificação/isolamento dos metabólitos?	Estudos toxicológicos ?	
1	<i>Melaleuca leucadendron</i>	SciELO	Valdés, A. F. <i>et al.</i> (2008)	<i>In vitro</i> anti-microbial activity of the Cuban medicinal plants <i>Simarouba glauca</i> DC, <i>Melaleuca leucadendron</i> L and <i>Artemisia absinthium</i> L	extrato	galhos	X			10/06/2020
2	<i>Melaleuca leucadendron</i>	Science Direct	WU, L. <i>et al.</i> (2020)	Diverse benzyl phloroglucinol-based meroterpenoids from the fruits of <i>Melaleuca leucadendron</i>	frações	frutos	X	X		10/06/2020
3	<i>Melaleuca leucadendron</i>	Science Direct	XIE, X. <i>et al.</i> (2019)	Melaleucadines A and B: Two rare benzylic phloroglucinol-terpene hybrids from <i>Melaleuca leucadendron</i>	frações	galhos e folhas	X	X		10/06/2020
4	<i>Melaleuca leucadendron</i>	Science Direct	Yoshida, T. <i>et al.</i> (1996)	An hydrolysable tannin and accompanying polyphenols from <i>Melaleuca leucadendron</i>	frações	frutos		X		10/06/2020
5	<i>Melaleuca leucadendron</i>	Science Direct	Lee, C. (1998a)	Ursane triterpenoids from leaves of <i>Melaleuca leucadendron</i>	frações	folhas		X		10/06/2020

6	<i>Melaleuca leucadendron</i>	Science Direct	Lee, C. (1999)	Leucadenone A-D, the novel class flavanone from the leaves of <i>Melaleuca leucadendron</i> L	frações	folhas		X		10/06/2020
7	<i>Melaleuca leucadendron</i>	Science Direct	Hui, W; Li, M. (1976)	Neutral triterpenoids from <i>Melaleuca leucadendron</i>	frações	folhas e caule		X		10/06/2020
8	<i>Melaleuca leucadendron</i>	Science Direct	Hunter, S. L. <i>et al.</i> (1996)	Isolation and partial purification of allergenic components of the pollens <i>Paspalum notatum</i> and <i>Melaleuca leucadendron</i>	frações	flores	X	X		10/06/2020
9	<i>Melaleuca leucadendron</i>	Science Direct	Subehan <i>et al.</i> (2006)	Mechanism-based inhibition of CYP3A4 and CYP2D6 by Indonesian medicinal plants	extrato	folhas	X			10/06/2020
10	<i>Melaleuca leucadendron</i>	Science Direct	Hiermann, A.; Bucar, F. (1994)	Influence of some traditional medicinal plants of senegal on prostaglandin biosynthesis	extrato	partes aéreas	X			10/06/2020
11	<i>Melaleuca leucadendron</i>	Science Direct	Saifudin, A. <i>et al.</i> (2016)	Potent water extracts of Indonesian medicinal plants against PTP1B	extrato	folhas	X			10/06/2020
12	<i>Melaleuca leucadendron</i>	Science Direct	Niang, S. O. <i>et al.</i> (2020)	Prise en charge des hypersensibilités retardées aux plantes médicinales Management of delayed hypersensibilities in medicinal plants	extrato	NI			X	10/06/2020
13	<i>Melaleuca leucadendron</i>	Science Direct	Vieira, T. <i>et al.</i> (2012)	Microarray based IgE detection in polysensitized allergic patients with suspected food allergy: an approach in four clinical cases	extrato	NI			X	10/06/2020
14	<i>Melaleuca leucadendron</i>	Science Direct	Chattopadhyay, D.; Khan, M. T. H. (2008)	Ethnomedicines and ethnomedicinal phytophores against herpesviruses	extrato	frutos	X			10/06/2020
15	<i>Melaleuca leucadendron</i>	Science Direct	Thompson, K. D. (2006)	Herbal extracts and compounds active against herpes simplex virus	extrato	frutos	X			10/06/2020
16	<i>Melaleuca leucadendron</i>	Science Direct	Elfahmi <i>et al.</i> (2014)	Jamu: Indonesian traditional herbal medicine towards rational phytopharmacological use	extrato	frutos	X			10/06/2020

17	<i>Melaleuca leucadendron</i>	PubMed	Saifudin, A.; Lallo, S. A.; Tezuka, Y. (2016)	The Potent Inhibitors of Protein Tyrosine Phosphatase 1B from the Fruits of <i>Melaleuca leucadendron</i>	frações	frutos	X	X		10/06/2020
18	<i>Melaleuca leucadendron</i>	PubMed	Surh, J.; Yun, J.	Antioxidant and Anti-inflammatory Activities of Butanol Extract of <i>Melaleuca leucadendron</i> L.	frações	casca e folhas	X	X		10/06/2020
19	<i>Melaleuca leucadendron</i>	PubMed	Lee, C. (1998b)	A New Norlupene from the Leaves of <i>Melaleuca leucadendron</i>	frações	folhas		X		10/06/2020
20	<i>Melaleuca leucadendron</i>	PubMed	Lee, C.; Chang, M. (1999)	Four New Triterpenes from the Heartwood of <i>Melaleuca leucadendron</i>	frações	cerne da madeira		X		10/06/2020
21	<i>Melaleuca leucadendron</i>	PubMed	Valdés, A. F. <i>et al.</i> (2008)	In vitro anti-microbial activity of the Cuban medicinal plants <i>Simarouba glauca</i> DC, <i>Melaleuca leucadendron</i> L and <i>Artemisia absinthium</i> L	extrato	galhos	X			10/06/2020
22	<i>Melaleuca leucadendron</i>	PubMed	Sweeney, M. <i>et al.</i> (1994)	Immunodetection and Comparison of Melaleuca, Bottlebrush, and Bahia Pollens	extrato	flores	X		X	10/06/2020
23	<i>Melaleuca leucadendron</i>	PubMed	Tsuruga, T. <i>et al.</i> (1991)	Biologically Active Constituents of <i>Melaleuca leucadendron</i> : Inhibitors of Induced Histamine Release from Rat Mast Cells	frações	frutos	X	X		10/06/2020
24	<i>Melaleuca leucadendron</i>	PubMed	Hiermann, A.; Bucar, F. (1994)	Influence of some traditional medicinal plants of Senegal on prostaglandin biosynthesis	extrato	partes aéreas	X			10/06/2020
25	<i>Melaleuca leucadendron</i>	PubMed	Yousif, F. <i>et al.</i> (2012)	Contribution to <i>in vitro</i> screening of Egyptian plants for schistosomicidal activity	extrato	casca, folhas e galhos	X			11/06/2020
26	<i>Melaleuca leucadendron</i>	PubMed	Fu, L. <i>et al.</i> (2010)	Antioxidant Capacities and Total Phenolic Contents of 56 Wild Fruits from South China	extrato	frutos		X		11/06/2020
27	<i>Melaleuca leucadendron</i>	PubMed	Nawawi, A. <i>et al.</i> (1999)	Inhibitory Effects of Indonesian Medicinal Plants on the Infection of <i>Herpes simplex</i> Virus Type 1	frações	frutos	X			11/06/2020

28	<i>Melaleuca leucadendron</i>	Scopus	WU, L. <i>et al.</i> (2020)	Diverse benzyl phloroglucinol-based meroterpenoids from the fruits of <i>Melaleuca leucadendron</i>	frações	frutos	X	X		16/06/2020
29	<i>Melaleuca leucadendron</i>	Scopus	Yao, Q. <i>et al.</i> (2019)	The Effects of Non-Host Plant Extracts on the Oviposition Deterrent and Ovicidal Activity of <i>Conopomorpha sinensis</i> Bradley (Lepidoptera: Gracillariidae)	extrato	folhas	X			25/06/2020
30	<i>Melaleuca leucadendron</i>	Scopus	Xie, X. <i>et al.</i> (2019)	Melaleucadines A and B: Two rare benzylic phloroglucinol-terpene hybrids from <i>Melaleuca leucadendron</i>	frações	galhos e folhas	X	X		25/06/2020
31	<i>Melaleuca leucadendron</i>	Scopus	Almosnid, N. M. <i>et al.</i> (2018)	Evaluation of extracts prepared from 16 plants used in Yao ethnomedicine as potential anticancer agents	frações	hastes	X			29/06/2020
32	<i>Melaleuca leucadendron</i>	Scopus	Ramadhania, Z. M., <i>et al.</i> (2017)	Antioxidant activity from ten species of Myrtaceae	extrato	folhas	X			29/06/2020
33	<i>Melaleuca leucadendron</i>	Scopus	Saifudin, A.; Lallo, S. A.; Tezuka, Y. (2016)	The Potent Inhibitors of Protein Tyrosine Phosphatase 1B from the Fruits of <i>Melaleuca leucadendron</i>	frações	frutos	X	X		29/06/2020
34	<i>Melaleuca leucadendron</i>	Scopus	Saifudin, A. <i>et al.</i> (2016)	Potent water extracts of Indonesian medicinal plants against PTP1B	extrato	folhas	X			29/06/2020
35	<i>Melaleuca leucadendron</i>	Scopus	El-Manawaty, M. A. <i>et al.</i> (2013)	High-throughput screening of 75 Euphorbiaceae and Myrtaceae plant extracts for <i>in-vitro</i> antitumor and pro-apoptotic activities on human tumor cell lines, and lethality to brine shrimp	extrato	casca	X			30/06/2020
36	<i>Melaleuca leucadendron</i>	Scopus	Saifudin, A.; Kadota, S.; Tezuka, Y. (2013)	Protein tyrosine phosphatase 1B inhibitory activity of Indonesian herbal medicines and constituents of <i>Cinnamomum burmannii</i> and <i>Zingiber aromaticum</i>	extrato	frutos	X			30/06/2020

37	<i>Melaleuca leucadendron</i>	Scopus	Yousif, F. <i>et al.</i> (2012)	Contribution to in vitro screening of Egyptian plants for schistosomicidal activity	extrato	cascas, folhas e galhos	X			30/06/2020
38	<i>Melaleuca leucadendron</i>	Scopus	Fu, L. <i>et al.</i> (2010)	Antioxidant Capacities and Total Phenolic Contents of 56 Wild Fruits from South China	extrato	frutos		X		30/06/2020
39	<i>Melaleuca leucadendron</i>	Scopus	Valdés, A. F. <i>et al.</i> (2009)	Evaluation of toxicity of cuban plant extracts with possible antiparasitic action based on the use of <i>Artemia salina</i> larvae.	extrato	folhas	X		X	30/06/2020
40	<i>Melaleuca leucadendron</i>	Scopus	Valdés, A. F. <i>et al.</i> (2008)	<i>In vitro</i> anti-microbial activity of the Cuban medicinal plants <i>Simarouba glauca</i> DC, <i>Melaleuca leucadendron</i> L and <i>Artemisia absinthium</i> L	extrato	galhos	X			30/06/2020
41	<i>Melaleuca leucadendron</i>	Scopus	Rodríguez-Pérez, M. <i>et al.</i> (2006)	Evaluación de la actividad antimalárica de algunas plantas utilizadas en la medicina tradicional cubana	extrato	folhas	X			30/06/2020
42	<i>Melaleuca leucadendron</i>	Scopus	Subehan <i>et al.</i> (2006)	Mechanism-based inhibition of CYP3A4 and CYP2D6 by Indonesian medicinal plants	extrato	folhas	X			06/07/2020
43	<i>Melaleuca leucadendron</i>	Scopus	Usia, T. <i>et al.</i> (2006)	CYP3A4 and CYP2D6 inhibitory activities of Indonesian medicinal plants	frações	folhas	X			06/07/2020
44	<i>Melaleuca leucadendron</i>	Scopus	Sakasegawa, M; Hori, K; Yatagai, M. (2003)	Composition and antitermite activities of essential oils from <i>Melaleuca</i> species	extrato	folhas	X			06/07/2020
45	<i>Melaleuca leucadendron</i>	Scopus	Lee, C. (1999)	Leucadenone A-D, the novel class flavanone from the leaves of <i>Melaleuca leucadendron</i> L	frações	folhas		X		06/07/2020
46	<i>Melaleuca leucadendron</i>	Scopus	Lee, C.; Chang, M. (1999)	Four New Triterpenes from the Heartwood of <i>Melaleuca leucadendron</i>	frações	cerne da madeira		X		06/07/2020
47	<i>Melaleuca leucadendron</i>	Scopus	Nawawi, A. <i>et al.</i> (1999)	Inhibitory effects of Indonesian medicinal plants on the infection of herpes simplex virus type 1	frações	frutos	X			06/07/2020

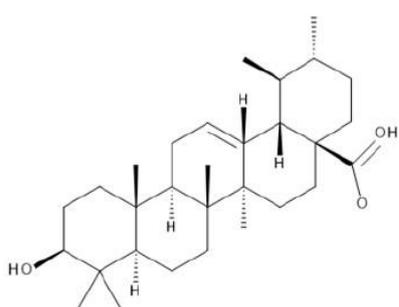
48	<i>Melaleuca leucadendron</i>	Scopus	Lee, C. (1998a)	Ursane triterpenoids from leaves of <i>Melaleuca leucadendron</i>	frações	folhas		X		06/07/2020
49	<i>Melaleuca leucadendron</i>	Scopus	Lee, C. (1998b)	A New Norlupene from the Leaves of <i>Melaleuca leucadendron</i>	frações	folhas		X		06/07/2020
50	<i>Melaleuca leucadendron</i>	Scopus	Lee, C. (1998c)	New Triterpenes from the Heartwood of <i>Melaleuca leucadendron</i> L.	frações	cerne da madeira		X		06/07/2020
51	<i>Melaleuca leucadendron</i>	Scopus	Yoshida, T. <i>et al.</i> (1996)	An hydrolysable tannin and accompanying polyphenols from <i>Melaleuca leucadendron</i>	frações	frutos		X		06/07/2020
52	<i>Melaleuca leucadendron</i>	Scopus	Sweeney, M. <i>et al.</i> (1994)	Immunodetection and Comparison of <i>Melaleuca</i> , <i>Bottlebrush</i> , and <i>Bahia Pollens</i>	extrato	flores	X		X	06/07/2020
53	<i>Melaleuca leucadendron</i>	Scopus	Hiermann, A.; Bucar, F. (1994)	Influence of some traditional medicinal plants of senegal on prostaglandin biosynthesis	extrato	partes aéreas	X			06/07/2020
54	<i>Melaleuca leucadendron</i>	Scopus	Tsuruga, T. <i>et al.</i> (1991)	Biologically Active Constituents of <i>Melaleuca leucadendron</i> : Inhibitors of Induced Histamine Release from Rat Mast Cells	frações	frutos	X	X		06/07/2020
55	<i>Melaleuca leucadendron</i>	Scopus	Doskotch, R. W. <i>et al.</i> (1980)	Nerolidol: An antifeeding sesquiterpene alcohol for gypsy moth larvae from <i>Melaleuca leucadendron</i>	extrato	folhas	X	X		06/07/2020
56	<i>Melaleuca leucadendron</i>	Scopus	Hui, W; Li, M. (1976)	Neutral triterpenoids from <i>Melaleuca leucadendron</i>	extrato	folhas		X		06/07/2020
57	<i>Melaleuca leucadendra</i>	PubMed	Hashim, A. N. <i>et al.</i> (2018)	A cytotoxic flavonol glycoside from <i>Melaleuca leucadendra</i> leaves extract with immunostimulant activity	frações	folhas	X	X		06/07/2020
58	<i>Melaleuca leucadendra</i>	PubMed	Al-Sayed, E. <i>et al.</i> (2020)	Protective Role of Casuarinin From <i>Melaleuca leucadendra</i> Against Ethanol-Induced Gastric Ulcer in Rats	frações	folhas	X			06/07/2020
59	<i>Melaleuca leucadendra</i>	PubMed	Almosnid, N. M. <i>et al.</i> (2018)	Evaluation of extracts prepared from 16 plants used in Yao ethnomedicine as potential anticancer agents	frações	hastes	X			06/07/2020

60	<i>Melaleuca leucadendra</i>	PubMed	Saifudin, A.; Kadota, S.; Tezuka, Y. (2013)	Protein tyrosine phosphatase 1B inhibitory activity of Indonesian herbal medicines and constituents of <i>Cinnamomum burmannii</i> and <i>Zingiber aromaticum</i>	extrato	frutos	X			06/07/2020
61	<i>Melaleuca leucadendra</i>	Science Direct	Almosnid, N. M. <i>et al.</i> (2018)	Evaluation of extracts prepared from 16 plants used in Yao ethnomedicine as potential anticancer agents	frações	hastes	X			08/07/2020
62	<i>Melaleuca leucadendra</i>	Science Direct	Perera, H. D. S. M. <i>et al.</i> (2016)	<i>In vitro</i> anti-inflammatory and anti-oxidant activities of Sri Lankan medicinal plants	extrato	folhas	X			09/07/2020
63	<i>Melaleuca leucadendra</i>	Science Direct	Suparmi, S. <i>et al.</i> (2018)	Natural occurrence of genotoxic and carcinogenic alkenylbenzenes in Indonesian jamu and evaluation of consumer risks	extrato	frutos		X	X	13/07/2020
64	<i>Melaleuca leucadendra</i>	Science Direct	Lahrita, L.; Kato, E.; Kawabata, J. (2015)	Uncovering potential of Indonesian medicinal plants on glucose uptake enhancement and lipid suppression in 3T3-L1 adipocytes	extrato	frutos	X			13/07/2020
65	<i>Melaleuca leucadendra</i>	Scopus	Al-Sayed, E. <i>et al.</i> (2020)	Protective Role of Casuarinin From <i>Melaleuca Leucadendra</i> Against Ethanol-Induced Gastric Ulcer in Rats	frações	folhas	X			20/07/2020
66	<i>Melaleuca leucadendra</i>	Scopus	Wu, L. <i>et al.</i> (2020)	Diverse benzyl phloroglucinol-based meroterpenoids from the fruits of <i>Melaleuca leucadendron</i>	frações	frutos	X	X		20/07/2020
67	<i>Melaleuca leucadendra</i>	Scopus	Almosnid, N. M. <i>et al.</i> (2018)	Evaluation of extracts prepared from 16 plants used in Yao ethnomedicine as potential anticancer agents	frações	hastes	X			20/07/2020
68	<i>Melaleuca leucadendra</i>	Scopus	Hashim, A. N. <i>et al.</i> (2018)	A cytotoxic flavonol glycoside from <i>Melaleuca leucadendra</i> leaves extract with immunostimulant activity	frações	folhas	X	X		20/07/2020

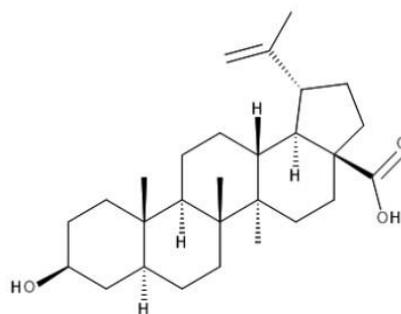
69	<i>Melaleuca leucadendra</i>	Scopus	Ramadhania, Z. M., <i>et al.</i> (2017)	Antioxidant activity from ten species of Myrtaceae	extrato	folhas	X			23/07/2020
70	<i>Melaleuca leucadendra</i>	Scopus	Saifudin, A.; Kadota, S.; Tezuka, Y. (2013)	Protein tyrosine phosphatase 1B inhibitory activity of Indonesian herbal medicines and constituents of <i>Cinnamomum burmannii</i> and <i>Zingiber aromaticum</i>	extrato	frutos	X			23/07/2020
71	<i>Melaleuca leucadendra</i>	Scopus	Nguyen, M.T.T., <i>et al.</i> (2004)	Xanthine Oxidase Inhibitory Activity of Vietnamese Medicinal Plants	extrato	caule e frutos	X			24/07/2020
72	<i>Melaleuca leucadendron</i>	Science Direct	Shah, G. <i>et al.</i> (2013)	Pharmacognostic standardization of leaves of <i>Melaleuca leucadendron</i>	extrato	folhas		X		24/07/2020
73	<i>Melaleuca leucadendron</i>	Scopus	Shah, G. <i>et al.</i> (2013)	Pharmacognostic standardization of leaves of <i>Melaleuca leucadendron</i>	extrato	folhas		X		24/07/2020
74	<i>Melaleuca leucadendron</i>	SciElo	Pérez, E. G., <i>et al.</i> (2010)	Efecto antimicrobiano de hojas de <i>Melaleuca leucadendron</i> L, que crece en la Ciénaga de Zapata	extrato	folhas	X			24/07/2020
75	<i>Melaleuca leucadendron</i>	PubMED	Silva, L. S. B. <i>et al.</i> (2020)	<i>Melaleuca leucadendron</i> (L.) L. flower extract exhibits antioxidant and photoprotective activities in human keratinocytes exposed to ultraviolet B radiation	extrato	flores	X	X		05/08/2020
76	<i>Melaleuca leucadendron</i>	Science Direct	Silva, L. S. B. <i>et al.</i> (2020)	<i>Melaleuca leucadendron</i> (L.) L. flower extract exhibits antioxidant and photoprotective activities in human keratinocytes exposed to ultraviolet B radiation	extrato	flores	X	X		05/08/2020

NI: Não Identificado. As linhas marcadas em cinza e com texto em negrito indicam resultados de pesquisa duplicados.

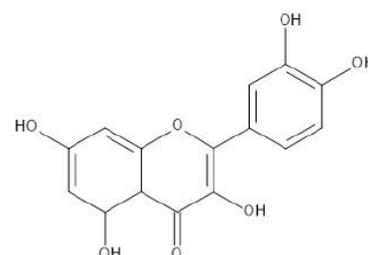
ANEXOS

ANEXO A - ESTRUTURAS QUÍMICAS DOS PRINCIPAIS COMPOSTOS BIOATIVOS MAJORITÁRIOS ENCONTRADOS NOS EXTRATOS DE *M. leucadendron*.

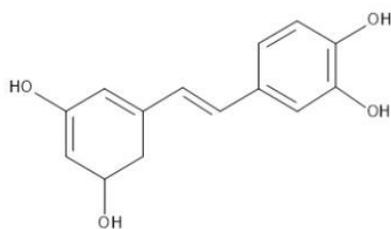
Ácido ursólico



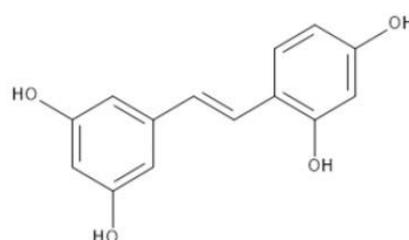
Ácido betulínico



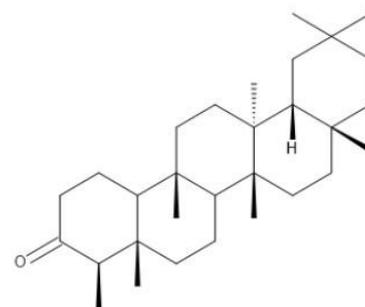
Quercetina



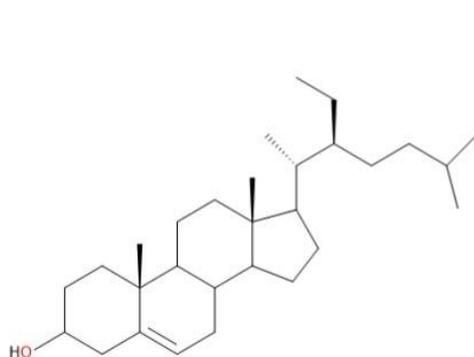
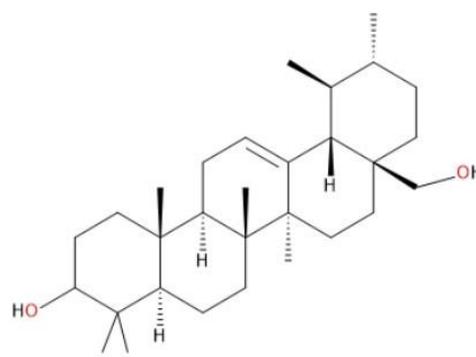
Piceatanol



Oxiresveratrol

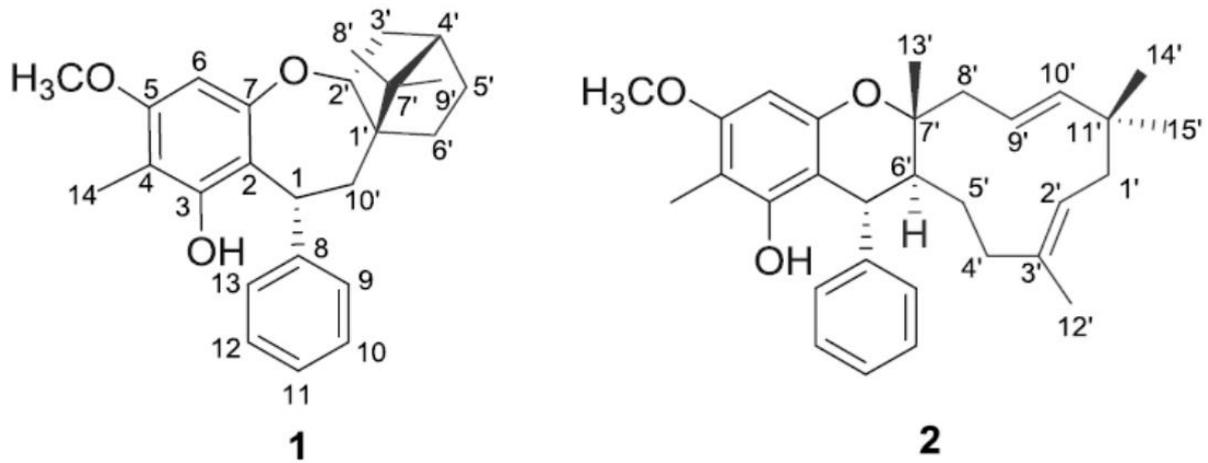


Friedelina

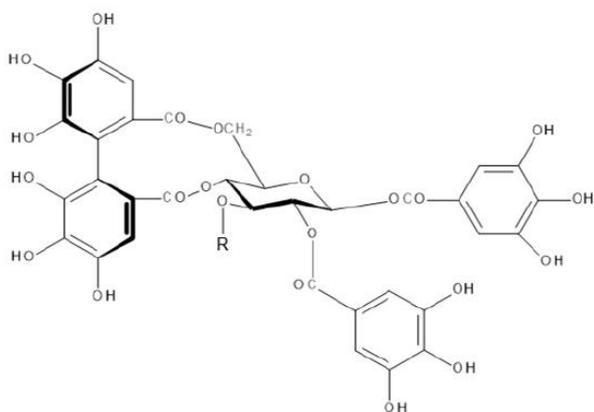
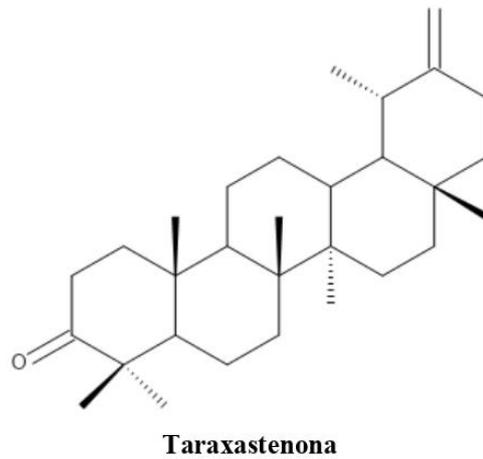
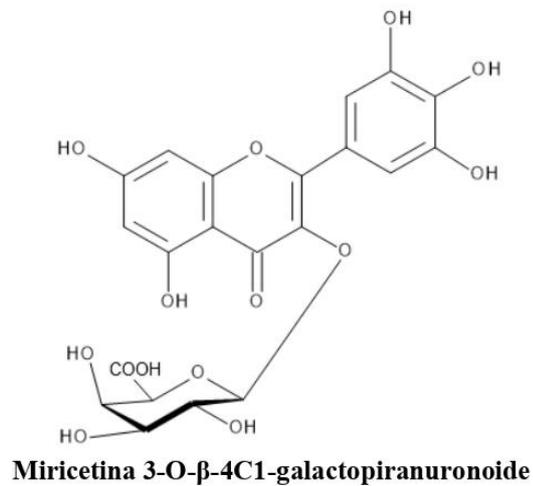
 β -sitosterol

Uvaol

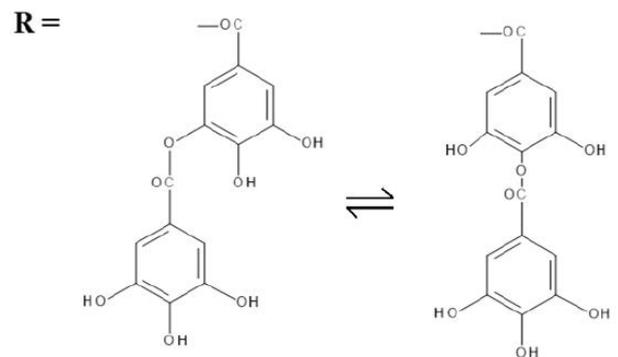
ANEXO B - ESTRUTURAS QUÍMICAS DOS PRINCIPAIS COMPOSTOS BIOATIVOS ENCONTRADOS PELA PRIMEIRA VEZ NOS EXTRATOS DE *M. leucadendron*.

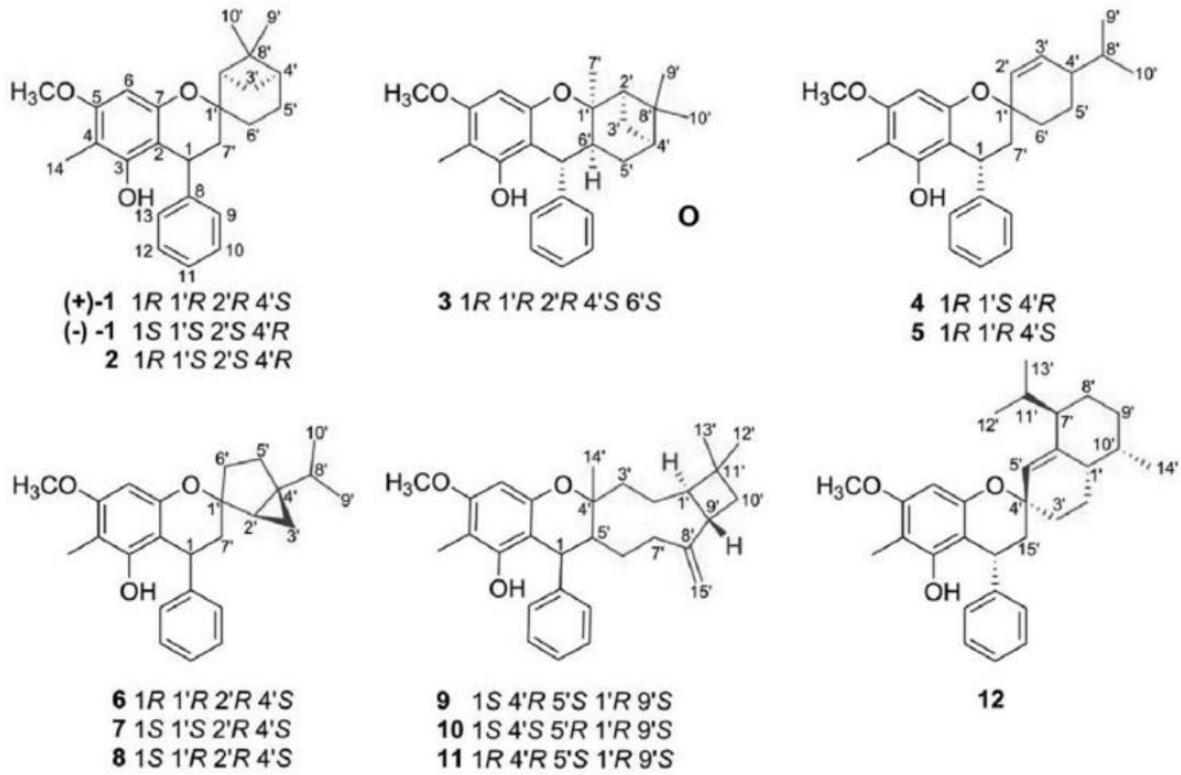


Melaleucadinas A e B (1 e 2). Fonte: Xie *et al.* (2019).

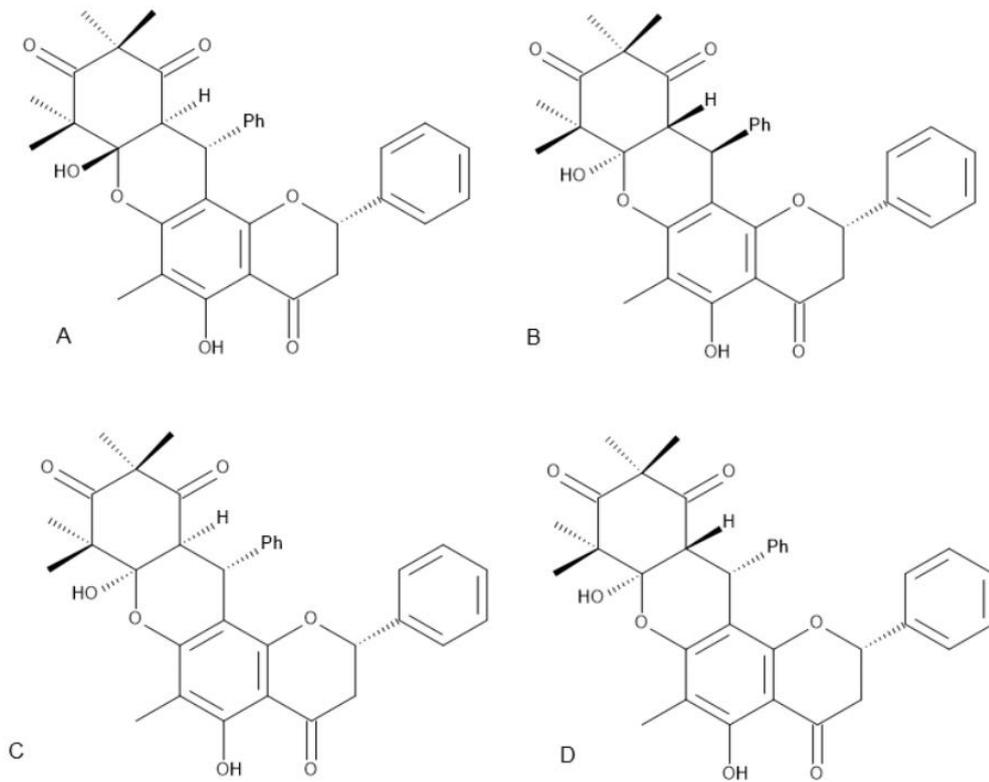


1,2-di-O-galoiil-3-O-digaloiil-4,6-O-(S)-hexahidroxidifenoil-β-D-glicose

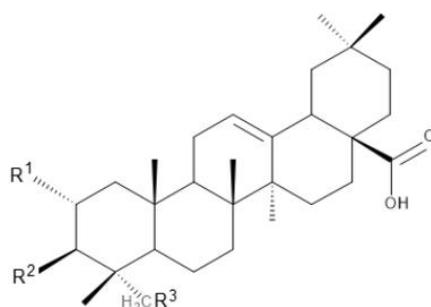




Leumelaleucos A até L (1 até 12). Fonte: Wu *et al.* (2020).



Leucadenonas A até D

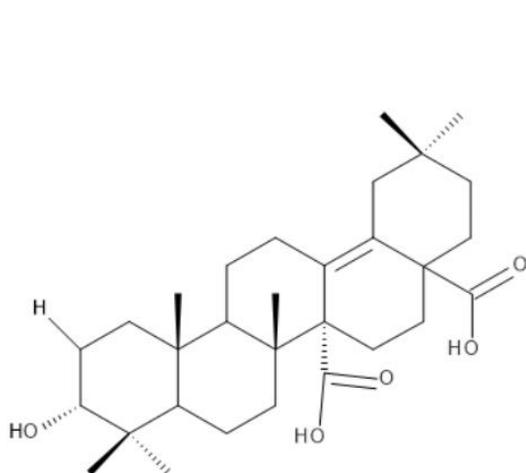


	R ¹	R ²	R ³
1	OH	OH	<i>trans-p</i> -coumaroiloxi
2	OH	<i>trans</i> -cafeoiloxi	OH
3	OH	<i>cis</i> -cafeoiloxi	OH

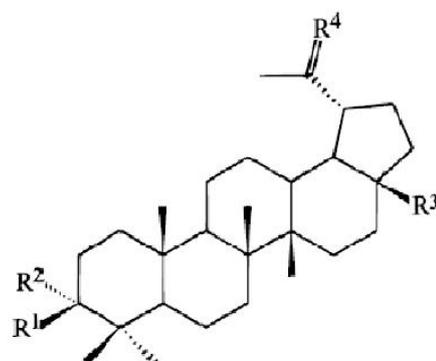
1 - Ácido 23-*trans-p*-coumaroiloxi-2 α ,3 β -di-hidroxiico-12-en-28-óico

2 - Ácido 3 β -*trans*-cafeoiloxi-2 α ,23-di-hidroxioleano-12-en-28-óico

3 - Ácido 3 β -*cis*-cafeoiloxi-2 α ,23-di-hidroxioleano-12-en-28-óico

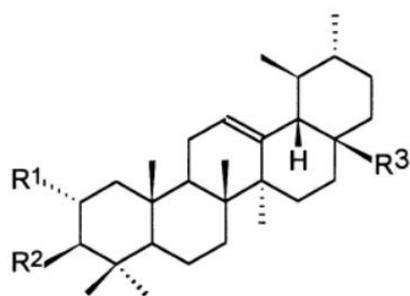


Ácido 3 α -hidroxi-13(18)-oleaneno-27,28-dióico



	R ¹	R ²	R ³	R ⁴
1	OH	H	OH	CH ₂
2	OAc	H	OH	CH ₂
3	OH	H	CHO	CH ₂
4	OH	H	COOH	CH ₂

28-norlup-20(29)-ene-3 β ,17 β -diol

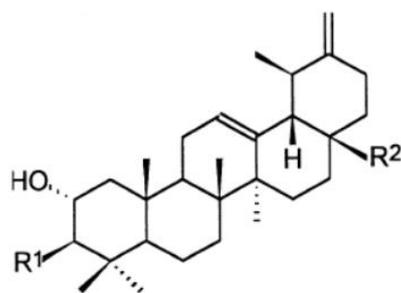


	R ¹	R ²	R ³
1	OH	<i>cis</i> -cafeoiloxi	COOH
2	OH	<i>trans</i> -cafeoiloxi	COOH

1 - Ácido *cis*-3 β -*cis-p*-cafeoiloxi-2 α -hidroxiurs-12-en-28-óico

2 - Ácido *trans*-3 β -*cis-p*-cafeoiloxi-2 α -hidroxiurs-12-en-28-óico

3 - 3 β -*cis-p*-coumaroiloxi-2 α -hidroxiursa-12,20(30)-dien-28-óico



	R ¹	R ²
3	<i>cis-p</i> -coumaroiloxi	COOH

ANEXO C – FOTOS DO ESPÉCIME PRESENTE NA ARBORIZAÇÃO DO CAMPUS MORRO DO CRUZEIRO DA UFOP.



Fonte: o autor (2020).



Fonte: o autor (2020).



Fonte: o autor (2020).



Fonte: o autor (2020).