



Avaliação da citotoxicidade e caracterização do perfil fitoquímico de *Rhizophora mangle* L. Do mangue brasileiro

  <https://doi.org/10.56238/ciesaudesv1-044>

Jéssica Guido de Araújo Sá

Doutoranda em Cirurgia, Universidade Federal de Pernambuco

E-mail: jessica.araujo@ufpe.br

Wesley Ferreira de Moraes Brandão

Mestrando em Morfotecnologia, Universidade Federal de Pernambuco

E-mail: wesley.brandao@ufpe.br

Marllon Alex Nascimento Santana

Doutor em Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco

E-mail: marllon_gb@hotmail.com

Luzia Abílio da Silva

Doutoranda em Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco

E-mail: luzia.abilio@hotmail.com

Eduarda Santos de Santana

Doutoranda em Inovação Terapêutica, Universidade Federal de Pernambuco

E-mail: eduardabio14@gmail.com

Eliete Cavalcanti da Silva

Doutora em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, Universidade Federal da Paraíba

E-mail: eliete.silva@ufpe.br

Eliane Alves Bandeira de Carvalho

Mestre em Bioquímica e Fisiologia, Universidade Federal de Pernambuco

E-mail: elicarvalho2000@gmail.com

Jeymesson Raphael Cardoso Vieira

Doutor em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco

E-mail: jeymesson.vieira@ufpe.br

RESUMO

Relevância Etnofarmacológica: *Rhizophora mangle* L., conhecida como mangue vermelho, possui vários usos na medicina popular. É uma das plantas mais frequentes nos manguezais, inclusive no mangue brasileiro. Objetivo do estudo: A fim de avaliar a toxicidade *in vitro* do extrato de *Rhizophora mangle*, foi realizada a citotoxicidade dos extratos aquosos das folhas, caule e raiz, como também a caracterização do perfil fitoquímico. Materiais e Métodos: A citotoxicidade foi realizada através do método colorimétrico de brometo com 1×10^4 células/mL HeLa submetidas às concentrações de 100, 10, 1, 0,1, 0,01, 0,0001, 0,00001 $\mu\text{g/mL}$ do extrato aquoso das folhas, caule e raiz da *R. mangle*, diluídos com Dimetilsufóxido a 0,1%. O perfil fitoquímico foi realizado através da Cromatografia em Camada Delgada para pesquisa de triterpenos, taninos, flavonóides, cumarinas, alcalóides e saponinas. Resultados: Houve proliferação de células HeLa em todos os extratos aquosos de folha, caule e raiz da *R. mangle*. As concentrações dos extratos aquosos de folha de 100, 10, 1, 0,1, 0,01 e 0,001 $\mu\text{g/mL}$, do caule de 100, 10, 1, 0,1, 0,01 e 0,001 $\mu\text{g/mL}$ e raiz 100 $\mu\text{g/mL}$ apresentaram diferenças estatísticas quando comparadas ao controle. O perfil fitoquímico revelou presença de taninos e flavonóides nos extratos das folhas; taninos, flavonóides, triterpenos e saponinas no do caule, e na raiz revelou presença de taninos e triterpenos. Conclusão: Os extratos aquosos da folha, caule e raiz da *R. mangle* L. apresentaram efeito proliferação em células HeLa; e na caracterização do perfil fitoquímico, os taninos estiveram presentes nos extratos das três porções da planta do mangue brasileiro o que sugere efeito mitogênico deste composto.

Palavras-Chave: *Rhizophora* Mangle, Citotoxicidade, Fitoquímica, Mangue vermelho.

1 INTRODUÇÃO

A medicina tradicional tem sido usada há milhares de anos, e é uma parte importante e muitas vezes subestimada dos serviços de saúde.(WHO, 2013). Na Ásia e na América Latina, as populações continuam a prática da medicina tradicional como resultado de circunstâncias históricas e crenças

culturais. Na África, é utilizada por até 80% da população para atender as necessidades de saúde. Já na China, é responsável por cerca de 40% dos cuidados de saúde. (WHO, 2002).

Houve um aumento considerável, nos países desenvolvidos e em desenvolvimento, do interesse pela medicina tradicional, e particularmente, em medicamentos fitoterápicos. Tem havido um rápido crescimento do mercado internacional em relação às plantas medicinais com retornos econômicos significativos. (WHO, 2003)

As plantas medicinais estão presentes em diversos biomas, inclusive no mangue. O mangue é um ecossistema de transição, de áreas costeiras e estuários dos rios, extremamente adverso por possuir alta salinidade e baixa oferta de oxigênio nos solos lamacentos, além de estar susceptível às variações diárias da maré e do pH do solo, alta temperatura e umidade. (Revathi et al., 2013). Para prosperar nestes ambientes hostis, alterações nos seus processos fisiológicos ocorreram, resultando na síntese de novos compostos químicos. (Bandaranayake, 1998, Edreva et al., 2008; Reyes and Cisneros-Zevallos, 2003).

De acordo com o Manual Técnico de Vegetação Brasileira (2012), a vegetação especializada no manguezal brasileiro mais frequentemente encontrada é a *Rhizophora mangle* L., também conhecida como mangue vermelho, é amplamente distribuída ao longo das costas tropicais e subtropicais da América Central e do Sul, Flórida, África Ocidental e nas ilhas de Fidji, Tonga e Nova Caledônia. (Silva, et al., 2005; Chapman, 1970).

Na medicina tradicional, *Rhizophora mangle* tem sido utilizada para tratamento contra úlceras gástricas (Berenguer et al., 2006, De-Faria et al., 2012, Perera et al., 2010, , Roig, 1974), efeito antidiarréico (Wendel et al., 2013), ação antibacteriana (Melchor et al., 2001), atividade antioxidante (Sánchez et al., 2006) e anti-inflamatória (Marrero et al., 2006), e também na cicatrização de feridas cutâneas (Fernandez et al., 2002).

Diante do exposto, este estudo teve por objetivo a avaliação da citotoxicidade dos extratos aquosos das folha, caule e raiz, além da caracterização do perfil fitoquímico de *Rhizophora mangle* L. através da determinação dos seus compostos secundários.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 MATERIAL VEGETAL

A *Rhizophora mangle* L., também conhecida no Brasil como mangue vermelho, teve seu nome oficial verificado *no site* www.theplantist.org em 05 de fevereiro de 2015. O vegetal estava na fase adulta durante a coleta, no período da floração. Folha, caule e raiz foram coletadas no mês de outubro de 2014, no mangue do município de Itamaracá, distrito de Vila Velha, Estado de Pernambuco – Brasil com 7° 40' de latitude sul e 34° 50' longitude oeste. (Barros *et al.*, 2000).

Uma exsicata foi identificada pela bióloga Marlene Barbosa e encontra-se no Herbário da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) sob número UFP. 69.655. A coleta foi autorizada pelo Companhia Pernambucana de Controle da Poluição Ambiental e de Administração de Recursos Hídricos sob autorização CA DRFB N° 120/2014.

2.2 PREPARAÇÃO DO EXTRATO

O extrato foi preparado por trituração de 500g das folhas frescas, 500g de caule e 500g de raiz e foram submetidos à infusão com água destilada em 2 x 200mL a 40° C por 10 minutos, sendo filtrado. Em seguida, o solvente foi removido em liofilizador L101 da marca Liobras (McCloud et al., 1988; Leite, 2003). Após a liofilização, os extratos aquosos das folhas, caule e raiz renderam, respectivamente, 1,76%, 2,74%, e 2,54%. E os resíduos secos foram armazenados a 5°C e utilizados para citotoxicidade e para realização do perfil fitoquímico.

2.3 CARACTERIZAÇÃO DO PERFIL FITOQUÍMICO

Os extratos da folha fresca, caule e raiz foram submetidos à técnica de Cromatografia em Camada Delgada (CCD), empregando-se sistemas de desenvolvimento e reveladores adequados (Markhan, 1982; Harbone, 1984) para a identificação dos compostos secundários a fim de se avaliar a presença ou ausência de cumarinas, flavonóides, triterpenos e taninos (Tabela 1).

Tabela 1- Metabólitos e materiais utilizados para perfil fitoquímico do extrato de *R. mangle* L

METABÓLITOS	PADRÕES	REVELADORES	FASE MÓVEL	PROPORÇÃO
Cumarinas	Ácido cumárico	KOH 10 % – ETOH	Tolueno + Éter	50:50
Flavonóides	Quercetina	NEU	Acetato de Etila + Ácido Fórmico + Ácido Acético glacial + Água	100:11:11:26
Triterpenos	Lupeol	Lieberman – Burchard	Tolueno + Clorofórmio + Etanol	40:40:10
Taninos	Ácido Tânico	Cloreto férrico 1%	Clorofórmio + Metanol + Água	65:30:5
Alcalóides	Escopolamina	Dragendoff	Tolueno+ Acetato de Etila+ Dietilamina	70: 20: 10

Fonte: (Wagner et al, 1996; Da Silva et al., 2010).

A identificação de triterpenos, flavonóides e cumarinas foram realizadas na presença de luz ultravioleta. O teste de identificação de alcalóides foi realizado de acordo com Honda et al. (2000) e saponinas por Da Silva et al. (2010).

2.4 AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE DOS EXTRATOS

A avaliação da atividade citotóxica dos extratos aquosos da folha, caule e raiz ocorreu através do método colorimétrico de brometo (3- [4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólio) (MTT) (Cingi et al., 1991; Mosmann, 1983). Suspensões de 1×10^4 células/mL de células tumorais de origem epitelial (HeLa) foram cultivadas em placa de 96 poços.

Decorridas 24h de incubação a 37 °C em estufa (HF 212 UV marca Ultrasafe), com atmosfera úmida enriquecida com 5 % de CO₂ e umidade de 95%; as células foram tratadas com diluições seriadas (100, 10, 1, 0.1, 0.01, 0.001, 0.0001 e 0.00001 µg/mL) e colocadas nos poços com as células HeLa. Cada concentração foi testada em quadruplicata. Dimetilsulfóxido (DMSO) a 0,1% foi utilizado como controle. Após 72 horas, 25 µl de MTT e 5 mg/mL de solução tampão de fosfato salino (PBS) foram adicionados aos poços e as placas foram incubadas durante 3 h. A densidade óptica foi medida a 585 nm com leitor ELX 800.

2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram analisados através de medidas de estatística descritiva: média, mediana e desvio padrão. E inferencialmente pelo teste de Kruskal-Wallis com $p < 0,05$. A análise estatística foi realizada usando SPSS (*Statistical Package for Social Sciences*) versão 21.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O presente estudo, através da avaliação da citotoxicidade, evidenciou a proliferação in vitro de células HeLa em todas as diluições dos extratos aquosos das três porções da *R. mangle* L., contudo as concentrações dos extratos aquosos de folha de 100, 10, 1, 0.1, 0,01 e 0,001 µg/mL, do caule de 100, 10, 1, 0.1, 0.01 e 0.001 µg/mL e raiz 100 µg/mL apresentaram diferenças estatísticas quando comparadas ao controle. (Tabela 2)

A Tabela 2 expressa também os resultados da comparação entre os extratos das diferentes partes da planta numa mesma concentração com relação a proliferação celular. Nas concentrações de 10 e 0,01 µg/mL, o extrato do caule apresentou maior proliferação celular estatisticamente significativa quando comparada aos extratos da folha e raiz. Na concentração de 0,0001 µg/mL, o extrato da folha apresentou maior crescimento celular com relação aos extratos do caule e da raiz. Vale ressaltar

também que a raiz nas concentrações de 1 e 0,1 e 0,001 µg/mL apresentou menor proliferação celular em relação aos extratos do caule e da folha.

Tabela 2- Avaliação da citotoxicidade de extratos aquosos da folha, caule e raiz da *R. mangle* em células HeLa.

Grupo	Média + DP (Mediana): n = 4			
· DMSO	0,66 ± 0,18 (0,59) ^(a)			
Concentração µg/mL	Local			Valor de p
	Folha (n=4)	Caule (n=4)	Raiz (n=4)	
	Média + DP (Mediana)	Média + DP (Mediana)	Média + DP (Mediana)	
· C100	1,34 ± 0,50 (1,51) ^(A, b)	1,54 ± 0,08 (1,56) ^(A, b)	1,10 ± 0,09 (1,09) ^(A, b)	p ⁽¹⁾ = 0,104
· C10	1,30 ± 0,12 (1,33) ^(▼,A, b)	1,47 ± 0,07 (1,50) ^(•, A, b)	0,74 ± 0,21 (0,75) ^(■,BCD, a)	p ⁽¹⁾ = 0,001*
· C1	1,25 ± 0,04 (1,25) ^(•,A, b)	1,20 ± 0,09 (1,17) ^(•,B,b)	0,71 ± 0,07 (0,74) ^(▼,BC, a)	p ⁽¹⁾ = 0,005*
· C0,1	1,11 ± 0,18 (1,19) ^(•▼,AB, b)	1,46 ± 0,29 (1,43) ^(•,A, b)	0,90 ± 0,09 (0,89) ^(▼,AD, a)	p ⁽¹⁾ = 0,030*
· C0,01	1,10 ± 0,09 (1,10) ^(▼,AB, b)	1,44 ± 0,17 (1,37) ^(•,A, b)	0,75 ± 0,14 (0,69) ^(■,BC, a)	p ⁽¹⁾ < 0,001*
· C0,001	1,10 ± 0,09 (1,11) ^(•,AB, b)	1,08 ± 0,12 (1,08) ^(•,B, b)	0,72 ± 0,10 (0,72) ^(▼,BC, a)	p ⁽¹⁾ = 0,0014*
· C0,0001	0,98 ± 0,09 (0,96) ^(▼,B, a)	0,90 ± 0,03 (0,89) ^(•,C, a)	0,73 ± 0,07 (0,72) ^(■,BC, a)	p ⁽¹⁾ = 0,001*
· C0,00001	0,91 ± 0,11 (0,87) ^(B,a)	0,91 ± 0,13 (0,89) ^(C, a)	0,80 ± 0,10 (0,82) ^(BCD, a)	p ⁽¹⁾ = 0,370
Valor de p	p ⁽²⁾ = 0,023*	p ⁽²⁾ = 0,001*	p ⁽²⁾ = 0,034*	

(*): Diferença significativa a 5%.

(1): Através do teste de Kruskal-Wallis para comparações entre as partes das plantas em cada concentração com comparações do referido teste.

(2): Através do teste Kruskal-Wallis com comparações entre as concentrações em cada local da planta analisada através do referido teste.

Obs. Se os símbolos entre parêntesis são distintos se comprova diferença significativa entre os locais da planta correspondentes.

Obs. Se as letras maiúsculas entre parêntesis são distintas se comprova diferença significativa entre as concentrações correspondentes em cada local analisado.

Obs. Se as letras minúsculas entre parêntesis não são iguais aos das letras do grupo DMSO se comprova diferença significativa com as concentrações respectivas.

Estudos sobre a citotoxicidade *in vitro* dos extratos da folha, caule e raiz de *Rhizophora mangle* encontrada no mangue brasileiro não foram reportados em publicações anteriores. Mena-Rejon et al (2009) realizou com estudo extrato metanólico das folha, caule e raiz de *R. mangle* da Península de Yucatan no México e de forma contrária revelou atividade citotóxica dos extratos em células HeLa, sugerindo que tal capacidade tenha sido causada pelos compostos secundários da planta.

O mesmo estudo não evidenciou citotoxicidade para células de linhagem epitelial de rim canino Madin-Darby (MDCK), contudo não foi realizada a caracterização do perfil fitoquímico da planta para correlacionar com o resultado obtido.

Sabe-se que os compostos secundários são diretamente influenciados pelo solo, temperatura, salinidade, poluição ambiental, e que a depender dos fatores fenotípicos uma mesma planta poderá ter funções diferentes em locais diferentes. (Edreva et al., 2008; Silva et al., 2010). Além disso, a utilização de solventes orgânicos ou inorgânicos extraem metabólitos com diferentes polaridades a partir de plantas medicinais, configurando diferentes atividades biológicas. (Tan et al., 2011)

Perera et al. (2008) avaliaram a toxicidade aguda e subaguda através da ingestão do extrato aquoso do caule de *R. mangle* L. pela mucosa oral de ratos e não evidenciaram toxicidade com dose única de 2000mg/Kg de massa corpórea de extrato nem toxicidade subaguda com a oferta de 500mg/Kg/dia do mesmo extrato por 14 dias em fígado, coração e rins.

Estudos de de-Faria et al. (2012) avaliaram os mecanismos associados ao efeito anti-úlceras gástricas através do extrato de caule da *Rhizophora mangle* L. não identificando toxicidade aguda ao fornecer 5g/Kg de peso, por via oral, ao ratos, nem nos 14 dias seguintes.

Perera et al. (2010) estudaram os efeitos farmacológicos da *R. mangle* L. para atividades anti-úlceras com extrato aquoso. Neste estudo avaliaram a toxicidade medular do extrato aquoso liofilizado do caule da *R. mangle* L. e não evidenciaram toxicidade medular demonstrando segurança de tal extrato.

Nossos resultados *in vitro* com os extratos aquosos da *R. mangle* L. acrescentam-se aos estudos toxicológicos realizados *in vivo* encontrados na literatura contribuindo para utilização no futuro do extrato na medicina convencional. (Perera et al, 2008; Perera et al, 2010; de-Faria et al., 2012)

A identificação qualitativa dos compostos secundários, nos extratos aquosos das folhas, caule e raiz da *R. mangle* L., evidenciou a presença de taninos nos três extratos. Em contra partida, os alcalóides e cumarinas foram ausentes. Na folha, houve também a presença de flavonóides, e ausência de triterpenos. E na raiz, os triterpenos estavam presentes, porém com ausência de flavonóides e saponinas. (Tabela 3)

Tabela 3- Perfil fitoquímico qualitativo dos extratos aquosos das folhas, caule e raiz da *R. mangle* L.

Compostos secundários	Folha	Caule	Raiz
Flavonóides	+	+	-
Taninos	+	+	+
Alcalóides	-	-	-
Triterpenos	-	+	+
Saponinas	-	+	-
Cumarina	-	-	-

+: presente -: ausente.

O perfil fitoquímico dos extratos do caule da *R. mangle* L. realizado em alguns estudos (Melchor et al., 2001; Bandaranayake, 2002; Marrero et al., 2006; Berenguer et al., 2006; De-Faria et al., 2012) revelam a presença de taninos.

O tanino faz parte dos compostos fenólicos que são importantes para o vegetal exercer proteção antimicrobiana, e contra herbívoros fornecendo maior resistência contra possíveis ameaças. (Harborne et al., 1991). Sua presença no extrato reforça a capacidade antimicrobiana (Melchor et al., 2001), além de funções antioxidante (Sánchez et al., 2006) e hemostática (Roig, 1988).

Alguns grupos de taninos agem sobre o metabolismo do ácido araquidônico em leucócitos com papéis importantes contra as inflamações (Okuda, 2005) e são utilizados em tratamentos que promovem a cicatrização de feridas (Fernandez et al., 2002; De-Faria et al., 2012). Diante do exposto, sugerimos que a presença de tanino tenha papel importante na proliferação celular pelas suas características anti-oxidantes e anti-inflamatórias.

Sánchez et al (1998) caracterizaram a composição química de forma qualitativa da *R. mangle* L. do mangue de Cuba, e destacaram a presença de polifenóis (54,78%), representados em sua maioria por taninos poliméricos (80%) e taninos hidrolisáveis (20%), destacando-se a presença nestes últimos de epicatequina, catequina, ácido clorogênico, ácido gálico e ácido elágico. Os outros componentes incluem carboidratos (17,5%), ácidos graxos (4%), fitoesteróides (0,0285%) e compostos voláteis ou semivoláteis (0,0205%).

Os flavonóides podem influenciar as funções de células ligadas a processos inflamatórios, agindo sobre as enzimas e vias envolvidas em processos anti-inflamatórios como, por exemplo, prostaglandina PGE₂, o TNF α (Middleton et al., 2000), em proteínas inflamatórias de macrófagos, e a COX-2mRNA (Talhok et al., 2007). Os flavonóides podem agir de forma sinérgica com os taninos na regulação da regeneração tecidual (Ofori-Kwakye et al., 2011).

Estudos de extratos de caule de *Rhizophora racemosa*, de raiz de *Rhizophora apiculata* e *R. mucronata* mostraram a presença de terpenóides e saponinas (Ukoima et al , 2005; Ravikumar et al, 2011; Mathew et al 2012), e Hulchings et al. (1996) relataram que saponinas e terpenóides são usados em indústrias farmacêuticas como agentes antimicrobianos, antifúngicos, anti-inflamatório e anti-

oxidante. A saponina possui atividades antifúngica e espermicida apresentada por uma variedade de plantas (Lacaille-Dubois & Wagner, 1996) já que age nos lipídios da membrana celular. A presença de saponinas no extrato do caule da *R. mangle* L. reforça a ação antibacteriana desta planta.

William (1999) isolou e caracterizou o taraxerol e cinnamoylepeol, dois triterpenóides a partir de folhas e caule de *R. mangle* L. Estes triterpenos são importantes na proteção das folhas contra herbívoros de *R. mangle* da Jamaica. A presença de triterpenos possui adjuvância com os efeitos gastroprotetor (Pertino, et al. 2007) e anti-inflamatório (Medeiros, et al. 2007).

4 CONCLUSÃO

A partir dos experimentos realizados no âmbito deste estudo, o extrato aquoso de folha, caule e raiz da *R. mangle* L. estimulou a proliferação de células HeLa, demonstrando efeito mitogênico. Este achado pode ser correlacionado a presença de taninos nestes extratos, e está de acordo com o uso tradicional do extrato de *R. mangle* L. para o tratamento de cicatrização de feridas.

REFERÊNCIAS

- Bandaranayake, w.m., 1998. Traditional and medicinal uses of mangroves. *Mangroves and salt marshes*. 2 (3): 133–48.
- Bandaranayake, w.m., 2002. Bioactivities, bioactive compounds and chemical constituents of mangrove plants. *Wetlands ecology and management*, 10:421–52.
- Barros, h.m., eskinnazi-leça, e., macedo, s.j., lima, t., 2000. Gerenciamento participativo de estuários e manguezais. Recife: ed. Universitária da ufpe, p. 240.
- Berenguer, b., sanchez, l.m., quilez, a., lopez-barreiro, m., haro, o., galvez, j., martin, m.j., 2006. Protective and antioxidant effects of *rhizophora mangle* l. Against nsaid-induced gastric ulcers. *Journal of ethnopharmacology* 103: 194–200.
- Chapman, v.j., 1970. Mangrove phytosociology. *Tropical ecology*. 11: 1–19.
- Cingi, m. R., de angelis, i., fortunati, e. E., reggiani, d., bianchi, v., tiozzo, r., zucco, f., f., 1991. Toxicology in vitro. 5:119-125.
- Da silva, n.l.a., miranda, f.a.a., da conceição, g.m., 2010. Triagem fitoquímica de plantas de cerrado, da área de proteção ambiental municipal do inhamum, caxias, maranhão. *Scientia plena*, 6 suppl 2: 1-17.
- De-faria, f. M., almeida, a.c.a., ferreira, a.l., dunderb, r. J., takayama, c., silva, m.s., silva, m. A., vilegasc, w., rozzad, a. L., pellizzond, c. H., tomæ, w., souza-brito, a.r.m., 2012. Mechanisms of action underlying the gastric antiulcer activity of the *rhizophora mangle* l. *Journal of ethnopharmacology*. 139: 234–243.
- Edreva, a., velikova, v., tsonev, t., dagnon, s., gurel, a., aktas, l., gesheval, e., 2008. Stress-protective role of secondary metabolites: diversity of functions and mechanisms. *Gen appl plant physiol*. 34 (1-2): 67-78.
- Fernandez, o., capdevila, j.z., dalla, g., melchor, g., 2002. Efficacy of *rhizophora mangle* aqueous bark extract in the healing of open surgical wounds. *Fitoterapia*. 73: 564–568.
- Harborne, j.b., 1984. *Phytochemical methods: a guide to modern techniques of plant analysis*. Chapman and hall, london.
- Harborne, j.b., palo, r.t., robbins, c.t., 1991. *Plant defenses against mammalian herbivore*. London: crc. Cap. 4. 61-4.
- Honda nk, garcez ws, garcez fr, conceição ca., 1990. Estudo químico de plantas de mato grosso do sul i: triagem fitoquímica. Campo grande (ms): eufms.
- Hulchings, a., scot, a.h., lewis, g., cunningham, a.b., 1996. *Zulu medicinal plants. An inventory* university of natal press. Pietermaritzberg. 53-54.
- Lacaille-dubois, m.a.; wagner, h., 1996. A review of the biological and pharmacological activities of saponins. *Phytomedicine*, v.2, p. 363-386.

Leite, s.p. *indigofera suffruticosa* mill: ensaio fitoquímico e ações biológicas biológicas. Universidade federal da paraíba, João Pessoa, 2003.

Manual técnico de vegetação brasileira, 2012. Instituto brasileiro de geografia e estatística – IBGE, 1 edição Brasil. 1-271.

Markhan, k.r., 1982. Techniques of flavonoid identification London:academic press, 52-61.

Marrero, e., Sánchez, j., Armas, e., Escobar, a., Melchor, g., Abad, m. J., Bermejo, p., Villar, a. M., Megías, j., Alcaraz, m. J., 2006. Cox-2 and spla2 inhibitory activity of aqueous extract and polyphenols of *Rhizophora mangle* (red mangrove). *Fitoterapia* 77, 313–315.

Mathew, m., Martin Xavier, k.a., Mathew, s., Asha, k.k., Anandan, r., Kumar, a., 2012. Effect of *Rhizophora* root extracts on wound healing and yeast – induced pyrexia in rats. *Fishery Technology*, 49, 161-166.

McCloud, t., Nemej, j., Muschik, g., Sheffield, h., Quesenberry, p., Suffness, m., 1988. Extraction of bioactive molecules from plants . Proceedings of the international congress on natural products research, Park City, UT, 17–21.

Medeiros, r., Otuki, m. F., Avellar, m. C. W., Calixto, j. B., 2007. Mechanisms underlying the inhibitory actions of the pentacyclic triterpene [α]-amyrin in the mouse skin inflammation induced by phorbol ester 12-o-tetradecanoylphorbol-13-acetate. *European Journal of Pharmacology*, 559(2-3): 227-235.

Melchor, g., Armenteros, m., Fernandez, o., Linares, e., Fragas, i., 2001. Antibacterial activity of *Rhizophora mangle* bark. *Fitoterapia*. 72: 689-691.

Mena-Rejon, g., Caamal-fuentes, e., Cantillo-ciau, z., Cedillo-rivera, r., Flores-guido, j., Moo-puc, r., 2009. *In vitro* cytotoxic activity of nine plants used in Mayan traditional medicine. *Journal of Ethnopharmacology* 30, 462-465.

Middleton, e.j., Kandaswami, c., Theoharides, t.c., 2000. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacological Review*. 52, 673–751.

Mosmann, t., 1983. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods*. 65, 55-63.

Ofori-kwakye, k., Kwabong, a.a., Bayor, m.t., 2011. Wound healing potential of methanol extract of *Spathodea campanulata* stem bark formulated into a topical preparation. *Afr J Tradit Complement Altern Med*, 8 (3), 218-223.

Okuda, t., 2005. Systematics and health effects of chemically distinct tannins in medicinal plants. *Phytochemistry* 66, 2012–2031.

Perera, l.m.s., Chávez, i.f., Dorveny, b. M., Miranda, r.l., 2008. Toxicidad aguda y subaguda oral del extracto acuoso liofilizado de *Rhizophora mangle* l. En ratas. *Rev cubana plant med*. Vol.13, n.3, pp. 1-13.

Perera, l.m.s., escobar, a., souccar, c., remigio, m.a., mancebo, b., 2010. Pharmacological and toxicological evaluation of *rhizophora mangle* l., as a potential antiulcerogenic drug: chemical composition of active extract. Journal of pharmacognosy and phytotherapy. 2 (4): 56-63.

Pertino, m., schmeda-hirschmann, g., rodriguez, j. A., theoduloz, c., 2007. Gastroprotective effect and cytotoxicity of terpenes from the paraguayan crude drug “yagua rova” (*jatropha isabelli*). Journal of ethnopharmacology, 111(3): 553-559.

Ravikumar, s., gnanadesigan, m., 2011. Hepatoprotective and antioxidant properties of *rhizophora mucronata* mangrove plant in ccl4 intoxicated rats. Journal of experimental and clinical medicine. 4(1): 66-72.

Revathi, p., senthinath, t. J., thirumalaikolundusubramanian , p. And prabhu, n., 2013. Medicinal properties of mangrove plants – an overview. International journal of bioassays. 02 (12): 1596-1600.

Reyes, l.f., cisneros-zevallos, l. 2003. Wounding stress increases the phenolic content and antioxidant capacity of purple-flesh potatoes (*solanum tuberosum* l.). J agric food chem. 51 (18): 5296-300.

Roig, j.t., 1974. Plantas medicinales, aromaticas y venenosas de cuba. Editorial revolucion y progreso, la habana, p. 745.

Roig, j.t., 1988. Plantas medicinales, aromaticas y venenosas de cuba. Editorial cientifica y tecnica. La havana-cuba. 164. 606-607.

Sánchez, p.l.m., melchor, g., alvarez, s., bulnes, c.,1998. Chemical and toxicological characterization of one wound healing formulation form *rhizophora mangle* l. Rev. Salud animal. 20: 69-72.

Sánchez, j., melchor, g., martínez, g.,escobar, a., faure, r., 2006. Antioxidant activity of *rhizophora mangle* bark. Fitoterapia. 77: 141–143.

Silva, m.a.b., bernini, e., carmo., t.m.s., 2005. Características estruturais de bosques de mangue do estuário do rio são mateus, es, brasil. Acta bot. Bras. 19(3): 465-471.

Silva, j.m., martins, m.b.g., cavalheiro, a.j., 2010. Anatomical characterization and chemical profiles of *avicennia schaueriana* and *rhizophora mangle* leaves from impacted and not impacted mangroves os são paulo. Journal of botany. 39: 14-33.

Talhok, r.s., karam, c., fostok, s., el-jouni, w., barbour, e.k., 2007. Antiinflammatory bioactivities in plant extracts. Journal of medicinal food. 10, 1-10.

Tan, s.n., yong, j.w.h., teo, c.c., ge, l., chan, y.w., hew, c.s.,2011. Determination of metabolites in *uncaria sinensis* by hplc and gc–ms after green solvent microwave-assisted extraction. Talanta. 83: 891-898.

Ukoima, h.n., ikata, m., pepple, g.a., 2005. Control of lasiodiplodia theobromae (pat) on *rhizophora racemosa* using plants extracts. American journal biotechnology and molecular sciences, 3 (1): 1-7.

Wagner, h., bladt, s., 1996. Plant drugs analysis – a thin layer chromatography atlas. 2 nd ed. Berlin: springer-verlag.

Wendel, g. H., teves, m.r., paredes, j. D., sanchez perera, l.m., pelzer, l. E., 2013.evaluation of the antidiarrheal activity of *rhizophora mangle* l. (rhizophoraceae). Latin american journal of pharmacy. 32 (1): 128-31.

Williams, l.a.d., 1999. *Rhizophora mangle* (rhizophoraceae) triterpenoids with insecticidal activity. Naturwissenschaften, 86, 450–452.

Who, 2002. World health organization. Traditional medicine strategy 2002-2005. 1-59. Geneva, switzerland.

Who, 2003. World health organization. Who guidelines on good agricultural and collection practices (gacp) for medicinal plants. 1-80. Geneva, switzerland.

Who, 2013. World health organization (ed.), who traditional medicine strategy 2014–2023, who press, geneva, switzerland.