



UNIVERSIDADE PARANAENSE – UNIPAR

Recredenciada pela Portaria – MEC n.º 747, de 10/09/2020 – D.O.U. 11/09/2020

Mantenedora: UNIPAR – SOCIEDADE EMPRESARIAL LTDA.

Coordenação de Pós-Graduação *Stricto Sensu* e Pesquisa

Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Aplicada à Agricultura

Juliana Aparecida Mendonça

Atividade farmacológica e caracterização química do extrato das folhas de *Cassia*
fistula

**Umuarama
2025**

Juliana Aparecida Mendonça

Atividade farmacológica e caracterização química do extrato das folhas de *Cassia*
fistula

Dissertação apresentada como parte das exigências para a obtenção do grau de mestre em Biotecnologia Aplicada à Agricultura pela Universidade Paranaense - UNIPAR.

Orientador(a): Zilda Cristiani Gazim

Umuarama
2025

Ficha Catalográfica

M539a Mendonça, Juliana Aparecida.

Atividade farmacológica e caracterização química do extrato das folhas de *Cassia fistula* / Juliana Aparecida Mendonça. – Umuarama : Universidade Paranaense – UNIPAR, 2025.

56 f.

Orientadora: Dr^a. Zilda Cristiani Gazim

Dissertação (Mestrado) – Universidade Paranaense – UNIPAR.

1. Chuva de ouro. 2. Antitumoral. 3. Compostos fenólicos. 4. Fator de proteção solar (FPS). 5. Apigenina. 6. Rutina. I. Universidade Paranaense – UNIPAR. II. Título.

Bibliotecária Responsável Regiane Luiza Campaneli CRB 9/2194

Atividade farmacológica e caracterização química do extrato das folhas de

Cassia fistula

Dissertação aprovada como requisito obrigatório para obtenção do Grau de Mestre no Programa de Pós-graduação em Biotecnologia Aplicada à Agricultura da Universidade Paranaense – UNIPAR, pela seguinte banca examinadora:

Dra. Suelen Ruiz Pereira Herring

Unipar

Dra. Beatriz Cervejeira Bolanho

Uem

Dra. Zilda Cristiani Gazim

Orientadora

Universidade Paranaense – UNIPAR

Umuarama, 19 de Fevereiro de 2025.

AGRADECIMENTOS

Nesses anos de mestrado de muito esforço e estudo quero agradecer a Deus por tudo, me sustentou até aqui.

Obrigada à minha querida orientadora Zilda Cristiani Gazim pela confiança no meu trabalho, pelo respeito, por me ensinar, pela compreensão e pelas sábias orientações.

Agradeço a todos os professores e amigos de turma pela colaboração.

Aos meus colegas de laboratório pela ajuda nos testes realizados.

Aos secretários da Pós Graduação *Stricto Sensu* pela atenção, dedicação e cuidado.

A CAPES pelo apoio financeiro.

Não posso deixar de registrar o nome do meu esposo Maicom Meotti pelo apoio nessa caminhada e das nossas filhas Sophia e Aylla.

A minha amada família, por tudo. Gratidão!

SUMÁRIO

CAPÍTULO I	13
------------	----

Atividade biológica, Química , anti-inflamatória, antiproliferativa, antioxidante e fotoprotetora do extrato bruto de *Cassia fistula* (Fabaceae)

1. INTRODUÇÃO	14
2. METODOLOGIA	16
3. DESENVOLVIMENTO	17
3.1 Família Fabaceae	17
3.2 Sinonímia científica	17
3.3 Distribuição geográfica	19
3.4 Uso na medicina popular	20
3.5 Composição química	21
3.6 Atividade Farmacológica	22
3.6.1 Cancer	22
3.6.2 Antioxidante	23
3.6.3 Proteção Solar	24
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS	24
5. REFERÊNCIAS	25
CAPÍTULO 2	29

Atividade farmacológica e caracterização química do extrato das folhas
de *Cassia fistula*

1. INTRODUÇÃO	32
2. MATERIAL E MÉTODOS	33
2.1 Material Vegetal	33
2.2 Coleta e Preparo do Extrato Bruto das Folhas de <i>Cassia fistula</i>	33
2.3 Identificação Química do Extrato Bruto das Folhas de <i>C. fistula</i> por Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência Acoplada à Espectrometria de Massas de Alta Resolução (UHPLC-MS).	34
2.4 Atividade Antiproliferativa do Extrato Bruto das Folhas de <i>Cassia Fistula</i>	35
2.5 Atividade inibidora da produção de óxido nítrico do Extrato Bruto das Folhas de <i>Cassia fistula</i>	36
2.6 Atividade Antioxidante Celular (AAC)	37
2.7 Determinação do Fator de Proteção Solar (FPS) <i>in vitro</i>	38
2.8 Determinação de Fenóis Totais (FT)	38

2.9 Determinação de Flavonoides Totais	39
2.10 Sequestro do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH)	39
2.11 Poder antioxidante de Redução do Ferro (FRAP)	40
2.12 Análise Estatística	40
3. RESULTADOS	40
3.1 Atividades antiproliferativa e inibidora da produção de óxido nítrico (NO)	40
3.2 Atividades inibidora da produção de óxido nítrico (NO) e antiproliferativa	42
4. DISCUSSÃO	46
4.1 Atividade inibidora da produção de óxido nítrico e antiproliferativa	46
4.2 Atividade antiproliferativa	48
4.3 Atividade Antioxidante	49
4.4 Determinação do teor de flavonoides no extrato bruto de <i>C. fistula</i>	50
4.5 FPS (Fator de Proteção Solar)	51
5. CONCLUSÕES	52
6. AGRADECIMENTOS	53
7. REFERÊNCIAS	53

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGS – adenocarcinoma gástrico
ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CACO-2 – Adenocarcinoma colorretal
CC₅₀ – Concentração citotóxica 50%
CG / EM – Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas.
COX- 2 – Ciclooxigenase
DMEM – meio Dulbecco Modified Eagle’s Medium
DMSO – Dimetilsulfóxido
EB – Extratos brutos
FT – Determinação de Fenóis Totais
GI₅₀ – concentração da amostra que inibiu 50% do crescimento celular
HBSS – Solução de sais balanceados de Hank
IC₅₀ – inibição de 50% da produção de óxido nítrico;
iNOS – Óxido nítrico síntese induzível
IS – Índice de seletividade
LPS – Lipossacarídeos
MCF-7 – Adenocarcinoma de mama
NCI-H460 – Carcinoma pulmonar
OE – Óleo essencial
PBS – Solução tampão Phosphate-buffered saline
RI – índice de retenção
RPMI-1640 – Meio de cultivo Roswell Park Memorial Institute (RPMI) 1640 Medium
SFB – soro fetal
SRB – Sulforhodamina B.
TCA – tumor de córtex adrenal
NF- α – fator de necrose tumoral
TRIS – solução tris (hidroximetil) aminometano
UHPLC/ MS – Cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada a espectrometria de massas
VERO – Célula epitelial do rim de macaco

Juliana Aparecida Mendonça

Atividade farmacológica e caracterização química do extrato das folhas de *Cassia fistula*

Resumo

Cassia fistula, conhecida popularmente como "canafisula", é uma árvore de grande importância ornamental e medicinal, amplamente estudada devido às suas propriedades medicinais e bioativas. Esta dissertação está dividida em dois capítulos. **Capítulo I** refere-se a uma revisão bibliográfica sobre a espécie *C. fistula*, também conhecida como "chuva de ouro"; uma espécie arbórea nativa do Sul da Ásia, e bem aclimatada nos biomas brasileiros. Para a construção desta revisão, utilizou-se descritores específicos utilizando como unitermo principal a espécie estudada *C. fistula*, e a partir desta investigou-se a composição química bem como as atividades farmacológicas. Foram selecionados trabalhos relacionados ao tema, sem distinção de período, priorizando aqueles que abordavam as folhas da planta, com relevância para os aspectos químico e farmacológico da planta. A partir do levantamento, construiu-se um manuscrito de revisão abordando os aspectos históricos, taxonômicos (família Fabaceae, gênero *Cassia*, e a espécie *C. fistula* L.), botânicos, sinonímia científica, localização geográfica e farmacologia da planta, além de suas utilizações na medicina tradicional. A pesquisa também incluiu a composição química e os métodos extrativos dos princípios ativos das plantas. Conclui-se que a revisão realizada sobre *C. fistula* destaca-se pela sua importância tanto no contexto histórico e botânico quanto nos aspectos farmacológicos e químicos, devido à presença de diversos compostos com significativas propriedades terapêuticas. Seus constituintes apresentam uma ampla gama de atividades biológicas, incluindo ação antioxidante, antimicrobiana, antidiabética, antitumoral e antimelásmica. Os estudos analisados demonstram seu potencial terapêutico, especialmente no que se refere às atividades medicinais atribuídas às folhas da planta. Além disso, as informações obtidas reforçam a importância de aprofundar pesquisas sobre os métodos extrativos e a composição química da espécie, contribuindo para a ampliação do conhecimento científico e para o desenvolvimento de possíveis aplicações na medicina moderna. Dessa forma, este trabalho serve como base para futuras investigações, destacando a relevância da *C. fistula* como recurso natural promissor. **Capítulo II**, teve por objetivo caracterizar a composição química e avaliar o potencial terapêutico do extrato bruto das folhas de *Cassia fistula* determinando as atividades antioxidantes, antiproliferativa, inibidora da produção de óxido nítrico e o fator de proteção solar (FPS). O extrato bruto das folhas de *C. fistula* foi obtido por maceração dinâmica com renovação do solvente (álcool etílico 96 GL). A análise química foi realizada por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massa de alta resolução (UHPLC-MS), identificando os compostos fenólicos nicotiflorina, catequina, quercetina 6-C-glucosídeo, astragalina, ácido ferúlico, luteolina, 3-metoxi-quercetina, apigenina e rutina. A inibição da produção de óxido nítrico na concentração que inibiu 50% do crescimento celular (GI_{50}) e a (AAC) foram realizadas em culturas de macrófagos da linhagem RAW 264.7. A concentração do extrato responsável por inibir 50 % da produção de óxido nítrico (IC_{50}) foi 68,0 $\mu\text{g/mL}$. A atividade antioxidante celular (AAC) foi de 50,0 %. A atividade antiproliferativa foi determinada a partir do extrato bruto das folhas de *C. fistula*. em linhagens de células tumorais humanas: AGS

(adenocarcinoma gástrico) resultando em uma inibição da proliferação ($GI_{50} = 15,0 \mu\text{g/mL}$), Caco-2 (adenocarcinoma colorretal) concentração que inibiu 50% do crescimento celular ($GI_{50} = 22,0 \mu\text{g/mL}$), MCF-7 (adenocarcinoma de mama) ($GI_{50} = 84,0 \mu\text{g/mL}$) e NCI-H460 (carcinoma pulmonar) ($GI_{50} = 65,0 \mu\text{g/mL}$). A atividade citotóxica foi avaliada em células não tumorais utilizando células VERO (células epiteliais do rim de macaco), ($GI_{50} = 92,0 \mu\text{g/mL}$). O IS variou de 1,09 a 6,13. A atividade antioxidante foi determinada pelos métodos de sequestro do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH) com $IC_{50} = 1,83 \text{ mg/mL}$ e pelo poder antioxidante de Redução do Ferro (FRAP) resultando em $1,75 \mu\text{M}$ de sulfato ferroso /mg do extrato. Neste estudo também foram quantificados os teores de fenóis totais (FT), flavonoides e determinado o fator de proteção solar (FPS) do extrato bruto das folhas de *C. fistula* nas concentrações de 1,0; 0,75; 0,50 e 0,25 mg/mL. Os teores de fenóis totais (FT) encontrados nas concentrações testadas oscilaram entre 4,25 a 12,13 μg de equivalente de ácido gálico/mg de EB. Os teores de flavonóides encontrados nas concentrações testadas apresentaram uma distribuição consistente 58,80 e 62,68 μg equivalentes à quercetina/mg de EB, demonstrando uma variação significativa. O Fator de Proteção Solar (FPS) variou de 5,25 a 19,99, evidenciando um fator de proteção médio. Os resultados encontrados nesta pesquisa destacam o potencial farmacológico do extrato bruto das folhas de *C. fistula*, confirmando seu uso popular e agregando valor às folhas, que geralmente são descartadas e subutilizadas.

PALAVRAS-CHAVE: Chuva de ouro. Antitumoral. Compostos fenólicos. Fator de Proteção Solar (FPS). Apigenina. Rutina.

Pharmacological Activity and Chemical Characterization of Cassia Fistula Leaf Extract

ABSTRACT: *Cassia fistula*, commonly known as "golden shower," is a tree of great ornamental and medicinal importance, widely studied for its medicinal and bioactive properties. This dissertation is divided into two chapters. **Chapter I** refers to a bibliographic review of the species *C. fistula*, also known as "golden shower," an arboreal species native to South Asia, well acclimatized in Brazilian biomes. For the construction of this review, specific descriptors were used with the main term being the studied species *C. fistula*. From this, its chemical composition and pharmacological activities were investigated. Relevant works were selected without period restrictions, prioritizing those that addressed the plant's leaves, with a focus on its chemical and pharmacological aspects. Based on the survey, a review manuscript was constructed addressing historical, taxonomic (Fabaceae family, *Cassia* genus, and *C. fistula* L. species), botanical, scientific synonymy, geographical location, and pharmacology of the plant, as well as its uses in traditional medicine. The research also included the chemical composition and the extraction methods of the plant's active principles. It is concluded that the review of *C. fistula* highlights its importance in both historical and botanical contexts, as well as in its pharmacological and chemical aspects, due to the presence of various compounds with significant therapeutic properties. Its constituents exhibit a broad range of biological activities, including antioxidant, antimicrobial, antidiabetic, antitumor, and antimelasmic actions. The analyzed studies demonstrate its therapeutic potential, especially concerning the medicinal activities attributed to the plant's leaves. Moreover, the obtained information emphasizes the importance of further research on the extraction methods and chemical composition of the species, contributing to the expansion of scientific knowledge and the development of possible applications in modern medicine. Thus, this work serves as a basis for future investigations, highlighting the relevance of *C. fistula* as a promising natural resource. **Chapter II** aimed to characterize the chemical composition and evaluate the therapeutic potential of the crude extract of *Cassia fistula* leaves, determining antioxidant, antiproliferative, nitric oxide production inhibitory activities, and the sun protection factor (SPF). The crude extract of *C. fistula* leaves was obtained by dynamic maceration with solvent renewal (96% ethanol). Chemical analysis was performed by high-resolution liquid chromatography coupled with mass spectrometry (UHPLC-MS), identifying the phenolic compounds nicotiflorin, catechin, quercetin 6-C-glucoside, astragalol, ferulic acid, luteolin, 3-methoxyquercetin, apigenin, and rutin. The inhibition of nitric oxide production at the concentration that inhibited 50% of cell growth (GI50) and the (AAC) was conducted in RAW 264.7 macrophage cell cultures. The extract concentration responsible for inhibiting 50% of nitric oxide production (IC50) was 68.0 µg/mL. The cellular antioxidant activity (AAC) was 50.0%. The antiproliferative activity was determined from the crude extract of *C. fistula* leaves. AGS (gastric adenocarcinoma) resulting in proliferation inhibition (GI50 = 15.0 µg/mL), Caco-2 (colorectal adenocarcinoma) (GI50 = 22.0 µg/mL), MCF-7 (breast adenocarcinoma) (GI50 = 84.0 µg/mL), and NCI-H460 (lung carcinoma) (GI50 = 65.0 µg/mL). Cytotoxic activity was evaluated in non-tumor cells using VERO cells (monkey kidney epithelial cells), (GI50 = 92.0 µg/mL). The selectivity index (SI) ranged from 1.09 to 6.13. Antioxidant activity was determined by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

radical scavenging method with $IC_{50} = 1.83$ mg/mL and by the Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) assay, resulting in 1.75 μ M of ferrous sulfate/mg of extract. In this study, the total phenolic content (TPC), flavonoids, and the sun protection factor (SPF) of the crude extract of *C. fistula* leaves at concentrations of 1.0, 0.75, 0.50, and 0.25 mg/mL were also quantified. The total phenol content (TPC) found in the tested concentrations ranged from 4.25 to 12.13 μ g of gallic acid equivalents/mg of crude extract (CE). The flavonoid content in the tested concentrations exhibited a consistent distribution, ranging from 58.80 to 62.68 μ g of quercetin equivalents/mg of CE, showing significant variation. The Sun Protection Factor (SPF) ranged from 5.25 to 19.99, indicating a moderate level of protection. The results obtained in this study highlight the pharmacological potential of the crude extract of *C. fistula* leaves, confirming its popular use and adding value to the leaves, which are often discarded and underutilized.

KEYWORDS:Golden shower, Antitumoral, Phenolic compounds, Sun Protection Factor (SPF), Apigenin, Rutin.

Aspectos botânicos, químicos e Farmacológicos da espécie *Cassia fistula* (Fabaceae):

Revisão Bibliográfica

RESUMO:

A família Fabaceae, também conhecida como Caesalpinioideae, é uma das maiores famílias de plantas com flores, com cerca de 700 gêneros e mais de 19.000 espécies. Dentro dessa família, encontra-se a espécie arbórea *Cassia fistula*, uma espécie amplamente estudada devido ao seu valor medicinal e fitoquímico, além de sua presença em diversas regiões tropicais e subtropicais do mundo, incluindo o Brasil. Assim esta pesquisa visou realizar um levantamento bibliográfico utilizando como descritores principais a espécie estudada “*Cassia fistula*”, “Golden Shower” e a partir desta investigou-se a composição química bem como as atividades farmacológicas. Foram selecionados trabalhos relacionados ao tema, sem distinção de período, priorizando aqueles que abordavam as folhas da planta, com relevância para os aspectos químico e farmacológico. A partir do levantamento, construiu-se um manuscrito de revisão abordando os aspectos históricos, taxonômicos, botânicos, sinonímia científica, localização geográfica e farmacologia da planta, além de suas utilizações na medicina tradicional. Outro ponto abordado nesta revisão foram os aspectos químicos e farmacológicos e a utilização na medicina tradicional. Conclui-se que a revisão realizada sobre *Cassia fistula* reforça a importância desta espécie no contexto da família Fabaceae, destacando seu valor medicinal, fitoquímico e sua ampla distribuição em regiões tropicais e subtropicais. Os dados levantados enfatizam a riqueza química e as diversas atividades farmacológicas associadas à planta, com especial atenção às folhas, frequentemente exploradas na medicina tradicional. Este trabalho consolida informações históricas, taxonômicas e farmacológicas, servindo como base para futuras pesquisas que possam aprofundar o conhecimento sobre o potencial terapêutico da espécie e promover sua aplicação na ciência e na medicina moderna.

PALAVRAS-CHAVE: chuva-de-ouro. atividade farmacológica, Caesalpinioideae.

1. INTRODUÇÃO

Cassia fistula, conhecida popularmente como Cássia-imperial ou chuva-de-ouro, é uma espécie arbórea que se destaca por suas flores amarelas, dispostas em inflorescências pendentes, proporcionando uma exibição visual de grande valor ornamental. No Brasil, a época de floração ocorre entre os meses de dezembro e abril, dependendo das condições climáticas regionais (LORENZI, 2002).

Além de sua relevância ornamental, *C. fistula* possui significativa importância cultural e medicinal, sendo amplamente utilizada em práticas fitoterápicas tradicionais em várias partes do mundo. Estudos conduzidos por Sarma, Borah e Das (2015) corroboram a eficácia das diversas partes da planta, como flores, vagens, folhas e casca, no tratamento de uma ampla gama de condições de saúde. Há registros históricos de seu uso para o tratamento de úlceras, erisipelas, vômitos, queixas ginecológicas, febre, inflamações, hanseníase, hemorroidas, doenças do trato respiratório, gonorreia, sífilis e disenteria.

Pesquisas adicionais realizadas por Yadav et al. (2014) indicam que extratos das flores, folhas e vagens de *C. fistula* apresentam compostos bioativos, como flavonoides, taninos e saponinas, que contribuem para suas propriedades medicinais. Tradicionalmente, a casca é utilizada no tratamento de feridas e infecções cutâneas, enquanto as vagens maduras são conhecidas por sua ação laxativa.

Na Índia, a população rural consome a polpa do fruto maduro como purgante e para o tratamento de doenças cardíacas e dores abdominais (Abid; Mahmood, 2019). Dessa forma, esta espécie vegetal tem seu uso tradicional na medicina popular, tanto pela via oral quanto pela via tópica, sendo empregada no tratamento de feridas e queimaduras nas comunidades tribais de vários países (Atarzadeh et al., 2018).

Aabideen et al. (2021) demonstram que *C. fistula* possui diversos metabólitos secundários usados como suplementos dietéticos, medicamentos e outros produtos comerciais de grande importância. Um total de 120 compostos foram isolados e identificados da *C. fistula* L. por métodos de cromatografia, incluindo 39 flavonoides, 19 antraquinonas, 22 cromonas, 3 cumarinas, 10 alcalóides, 11 fenólicos, 4 fitosteróis, 1 triterpeno e 11 hidrocarbonetos de cadeia longa (Aminah et al., 2021). A crescente demanda por produtos baseados em plantas na saúde e beleza, associada à busca por

alternativas naturais a medicamentos sintéticos, fortalece o mercado da *C. fistula* em contextos globais.

Diversas atividades farmacológicas de *C. fistula* foram reportadas na literatura científica a planta, com seu amplo espectro de compostos bioativos, tem mostrado potencial em várias áreas terapêuticas. Algumas das principais atividades farmacológicas relacionadas são atividade antioxidante, antimicrobiana, anti-inflamatória, antiproliferativa. Essas atividades farmacológicas têm sido reportadas com base em evidências experimentais que demonstram o potencial terapêutico de *Cassia fistula*, principalmente por seus compostos fenólicos e flavonoides. No entanto, mais estudos clínicos são necessários para validar essas propriedades e explorar aplicações terapêuticas em larga escala. (Sarma. *et al*, 2015).

O diferencial desta revisão é sua abordagem abrangente e multidimensional sobre *Cassia fistula*, destacando o uso de várias partes da planta, como flores, vagens, casca e frutos. Ela explora tanto o valor tradicional e popular da planta quanto seus aspectos fitoquímicos e farmacológicos. Além disso, a revisão enfoca a rica diversidade de compostos bioativos presentes na planta, incluindo flavonoides e antraquinonas, e a adaptação da espécie em regiões tropicais e subtropicais, com ênfase no Brasil. Esse enfoque holístico, que combina aspectos históricos, culturais e científicos, torna esta revisão única.

O objetivo desta revisão é analisar e sintetizar as informações científicas e tradicionais sobre *Cassia fistula*, com ênfase na composição fitoquímica e nas atividades farmacológicas da planta. A revisão busca explorar o potencial terapêutico dessa espécie, destacando seus compostos bioativos e suas aplicações medicinais nas práticas fitoterápicas. Além disso, visa consolidar o conhecimento sobre as diversas partes da planta e suas propriedades, fornecendo uma base sólida para futuras pesquisas que possam expandir o uso de *Cassia fistula* na medicina moderna.

2. METODOLOGIA

A metodologia utilizada consistiu em realizar uma pesquisa de revisão bibliográfica, descritiva e de abordagem qualitativa na qual se fez uma leitura atenta, interpretativa e sistemática nas produções já desenvolvidas. Para a construção do *corpus* de análise foi utilizado o *site* e banco de dados do *Google acadêmico OnLine* utilizando os unitermos “*C. fistula*”, “Golden Shower” e aspectos farmacológicos de *C. fistula* como descritores de pesquisa. Foram selecionados trabalhos relacionados ao tema, sem distinção de período, que exploraram a funcionalidade dos aspectos químicos e farmacológicos da espécie *C. fistula*. A pesquisa ainda enfatizou o interesse comercial da *C. fistula*, abrangendo suas principais aplicações nas indústrias farmacêutica, cosmética, agroindustrial e alimentícia. No setor medicinal e farmacêutico, foram analisados estudos sobre seus compostos bioativos e potenciais terapêuticos. Já no segmento cosmético e de produtos de higiene, investigaram-se suas propriedades para formulações naturais. Além disso, a revisão abordou o uso da espécie na alimentação e na agroindústria, considerando seu potencial como matéria-prima para novos produtos. Dessa forma, a pesquisa buscou consolidar informações sobre os aspectos químicos, farmacológicos e mercadológicos da *C. fistula*, destacando sua relevância econômica e científica.

3. DESENVOLVIMENTO

3.1 Família Fabaceae

As espécies da família Fabaceae são amplamente distribuídas, ocorrendo de forma natural ou cultivadas em diversas regiões do planeta, com exceção das zonas polares (Usman et al., 2022). A espécie *Cassia fistula*, conhecida no Brasil como chuva-de-ouro, cana imperial ou canafístula verdadeira, pertence ao subgrupo Caesalpinoideae e ao gênero *Cassia* (Rocas, 2002; Orwa et al., 2009).

A família Fabaceae pode ser considerada uma família grande e economicamente vital com espécies que possuem flores. Nesta família há mais de 490 espécies de plantas medicinais, 730 gêneros de plantas com flores e mais de 19.400 espécies (Abdelsalam et al, 2022).

Identificação Taxonômica da Espécie *C. fistula*

- **Reino:** Plantae
- **Divisão:** Angiospermae
- **Classe:** Eudicotiledônea
- **Ordem:** Fabales
- **Família:** Fabaceae
- **Gênero:** *Cassia*
- **Epíteto específico:** *fistula* (Ali, 2014).

3.2 Sinonímia científica e descrição botânica de *Cassia fistula*

Esta espécie apresenta 10 sinônimos científicos, sendo 2 sinônimos homotípicos: *Bactrylobium fistula* (L.) Willd e *Cathartocarpus fistula* (L.) Pers.; e 8 sinônimos heterotípicos, sendo estes: *Cassia bonplandiana* DC; *Cassia excelsa* Kunth; *Cassia fistula* var. *ovata* DC. *Cassia fistuloides* Collad. *Cassia rhombifolia* Roxb.; *Cathartocarpus excelsus* G.Don; *Cathartocarpus fistuloides* (Collad.) G.Don; *Cathartocarpus rhombifolius* (Roxb.) G.Don.

Cassia fistula é uma árvore de tamanho médio e caducifólia, com cerca de 10 metros de altura, tronco cilíndrico e casca lisa (Fig. 1A). Com flores de cor amarelo-ouro, são melíferas podendo ser comestíveis (Fig.1B) e as folhas são

alternadas, compostas, com 30 a 40 cm de comprimento, contendo 4 a 8 pares de folíolos ovais, com 7,5 a 15 cm de comprimento e 2 a 5 cm de largura (Fig.1C). Os frutos são pendentes, cilíndricos, de cor marrom, com septos, medindo de 25 a 50 cm de comprimento e 1,5 a 3 cm de diâmetro, contendo de 25 a 100 sementes (Fig.1D). As sementes são lenticulares, de cor marrom claro e lustrosas (Ali,2014) (Fig.1E). *C. fistula* cresce amplamente em Bangladesh e em muitos outros países asiáticos, sendo utilizada como medicina herbal tradicional na Índia, China, Hong Kong, Filipinas, Malásia, Indonésia e Tailândia.



Figura 1: (A): Exemplar adulto de *Cassia fistula*; (B): Inflorescências; (C): Folhas; (D): Frutos; (E) Sementes. Fonte: A autora.

A literatura indica que, entre os estudos analisados, apenas um artigo foi publicado antes da definição do conceito de Plantas Alimentícias Não Convencionais (PANC). Esse dado ressalta a falta de reconhecimento do potencial alimentício de diversas espécies.

Nos levantamentos etnobotânicos, foram identificadas 104 famílias botânicas, com destaque para Myrtaceae (69 espécies – 11,1%), Fabaceae (65 – 10,5%) e Arecaceae (49 – 8%). Outras famílias relevantes incluem Asteraceae (29 – 4,7%), Passifloraceae (17 – 2,7%), Solanaceae (16 – 2,6%), Annonaceae (15 – 2,4%), Cactaceae (14 – 2,3%), Sapotaceae (13 – 2,1%), Bromeliaceae, Lamiaceae, Malvaceae e Melastomataceae, cada uma com 12 espécies (1,9%). As demais famílias somam, juntas, 283 espécies (46%) classificadas como PANC (Andrade et al., 2023).

Na atividade antimicrobiana testes realizados por Patel *et al.* (2016) mostraram que os extratos metanólicos de folhas de *C. fistula* inibiram o crescimento de

Staphylococcus aureus e *Escherichia coli* com uma zona de inibição de até 18 mm em concentrações de 500 µg/mL. Esses resultados reforçam o potencial da planta para o desenvolvimento de produtos antimicrobianos naturais.

Atividade Citotóxica Boontha *et al.* (2023) relataram uma citotoxicidade superior a 70% contra células cancerígenas MCF-7 (câncer de mama) e AGS (câncer gástrico) em concentrações de 100 µg/mL de extratos de *C. fistula*. Do ponto de vista agrônomo, há escassez de estudos detalhados sobre o cultivo e manejo de *C. fistula*, especialmente no Brasil. A padronização dos métodos de cultivo é crucial para garantir a consistência na produção de compostos bioativos. Irshad *et al.* (2014) sugerem que fatores como tipo de solo e clima podem influenciar a concentração de compostos bioativos, mas ainda faltam pesquisas específicas que quantifiquem essas variáveis.

Do ponto de vista farmacológico, a planta demonstrou ser uma fonte promissora de flavonoides, que possuem propriedades antioxidantes com potencial para mitigar doenças relacionadas ao estresse oxidativo, como câncer e doenças cardiovasculares. No entanto, estudos como os de Gupta *et al.* (2000) destacam que há uma lacuna no entendimento dos mecanismos de ação dos compostos bioativos da planta, especialmente em organismos humanos.

Além disso, Limtrakul *et al.* (2016) identificaram que extratos butanólicos de flores de *Cassia fistula* apresentaram uma capacidade antioxidante de 87% em ensaios de neutralização de radicais livres, tornando-os promissores para a formulação de produtos cosméticos e nutracêuticos. Conclui-se que a *Cassia fistula* apresenta um potencial inexplorado que justifica maior atenção de pesquisadores e produtores. A promoção de estudos multidisciplinares, integrando biologia, química e agronomia, é essencial para consolidar sua relevância científica e comercial.

3.3 Distribuição geográfica

As espécies da família Fabaceae ocorrem naturalmente ou são cultivadas em todo o mundo, exceto nos pólos (Usman *et al.*, 2022). A área de distribuição nativa desta espécie vai do subcontinente indiano até Mianmar. É uma árvore e cresce principalmente no bioma tropical sazonalmente seco. Dentro dessa família, o gênero *Cassia* compreende diversas espécies de plantas floríferas, incluindo a *C. fistula*,

amplamente distribuída em diferentes regiões tropicais. As espécies de fistula são amplamente distribuídas em diferentes regiões, contudo, localizam-se principalmente na Ásia tropical, na América do Norte e na África Oriental (Muhammad *et al*, 2020).

C. fistula também é conhecida como a “Golden-shower” e está distribuída em diversos lugares incluindo Ásia, Ilhas Maurício, África do Sul, México, China, Oeste da Índia, África Oriental e Brasil como uma árvore ornamental, com ramos de flores amarelas. Seu uso e propriedades são reconhecidos pela Farmacopéia Britânica. (Bhalodia *et al*, 2012). No Brasil ocorre em todos os biomas.

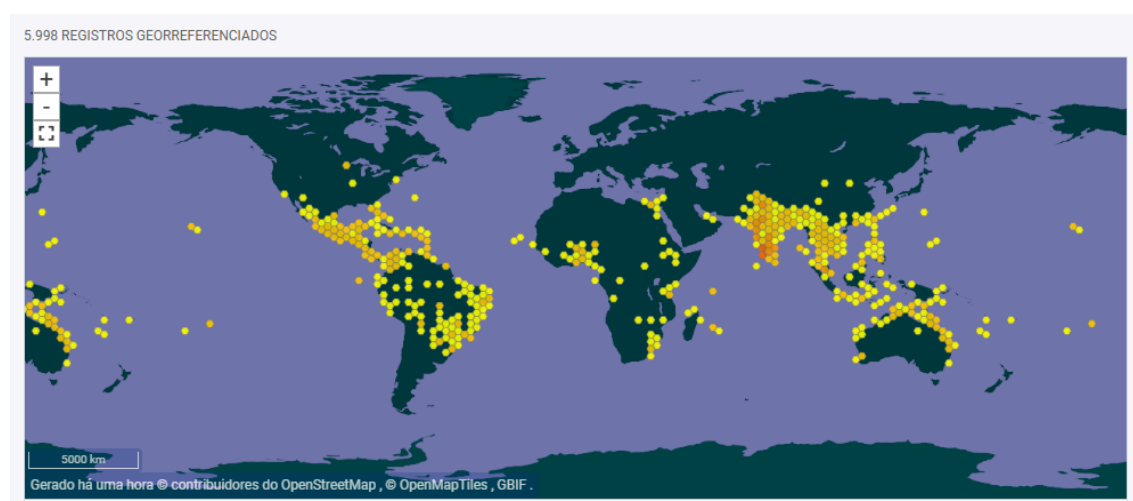


Figura.1 *Cassia fistula* em GBIF Secretariat (2023). GBIF Backbone Taxonomy. Conjunto de dados de lista de verificação <https://doi.org/10.15468/39omei> acessado via GBIF.org em 2024-12-15.

3.4 Uso na medicina popular

Na história da medicina popular, as espécies do gênero *Cassia* são utilizadas como agentes laxantes e purgativos. No sistema de medicina Ayurveda, estas espécies são usadas para curar dores de cabeça e febre (Muhammad *et al.*, 2020). Esta planta medicinal tem sido utilizada na medicina tradicional para o tratamento de doenças de pele, reumatismo, problemas hepáticos, malária, icterícia, anorexia e doenças inflamatórias (Kaur *et al.*, 2020).

As diversas partes da *C. fistula* possuem propriedades terapêuticas específicas. A polpa do fruto é um laxante natural, consumido diretamente ou em líquidos. As flores são comestíveis e usadas na apicultura. A casca e as folhas possuem propriedades anti-inflamatórias e antimicrobianas, são utilizadas em chás e extratos. As sementes são

estudadas por seus compostos bioativos. Cada parte da planta oferece benefícios para uso interno e externo de acordo com Orwa et al. (2009).

3.5 Composição química

A espécie da família Fabaceae utilizada no presente trabalho, emerge como uma fonte promissora de compostos bioativos. Os fitoquímicos desta família têm importância industrial e farmacológica. Esta família é uma grande fonte de metabólitos, tais como, flavonoides, lecitinas, saponinas, alcalóides, carotenoides e ácidos fenólicos e o uso desses compostos fitoquímicos está aumentando ao longo do tempo (USMAN et al., 2022).

Segundo a literatura, cerca de 30 espécies de *fistula* vêm sendo estudadas e relatadas como fontes ricas em derivados fenólicos, antracênicos e antraquinônicos. Estes derivados são descritos como as substâncias responsáveis pela atividade purgativa dos extratos de várias espécies medicinais utilizadas na Índia, Paquistão, Ceilão, Egito e vários outros países, mas que também apresentam atividades antimicrobiana, bactericida, antiulcerogênica e anti-inflamatória (Viegas Junior et al., 2006)

Tabela 1 :Partes da planta,Composição química e método extrativo

Parte da planta	Composição química	Método extrativo
Polpa do Fruto	Antraquinonas, flavonoides, taninos	Infusão, maceração
flores	Flavonóides (quercetina, kaempferol), óleos essenciais	Infusão, maceração
Folhas	Taninos, flavonóides, saponinas, antraquinonas	Decocção, extração com solvente
Casca	Antraquinonas (cássiafistulina), flavonoides, taninos	Decocção, extração com solvente
Semente	Compostos fenólicos, lipídios, proteínas	Extração com solvente

3.6 Atividades Farmacológicas

3.6 .1 Câncer

A incidência global do câncer é uma questão de saúde pública alarmante, com projeção de aproximadamente 704 mil novos casos no Brasil entre 2023 e 2025, conforme estimativas do Instituto Nacional de Câncer (INCA, 2023). Esse cenário evidencia a necessidade de abordagens inovadoras e eficazes para prevenção e tratamento. A inflamação crônica, amplamente reconhecida como um fator de risco significativo, está associada a hábitos como o alto consumo de sódio, tabagismo, obesidade e consumo excessivo de álcool (Karimi et al., 2014; Crouch, 2021). Esses fatores contribuem para o ambiente propício ao desenvolvimento e à progressão de vários tipos de câncer.

Descobertas apontam para o papel de *C. fistula* como uma fonte natural de flavonóides e outros compostos bioativos que podem ser úteis no desenvolvimento de terapias anticâncer inovadoras e menos tóxicas. Estudos prévios sobre os efeitos anticancerígenos de *Cassia fistula* destaca seu potencial em diversas linhas celulares humanas, como MCF-7 (câncer de mama), AGS (câncer gástrico), Caco-2 (câncer colorretal) e NCI-H460 (câncer de pulmão). Extratos de flores, sementes e polpa de

frutos dessa planta demonstraram inibir a proliferação celular, induzir apoptose e reduzir a migração de células cancerosas Boontha *et al.* (2023).

O trabalho de Boontha *et al.* (2023) avaliou os extratos de *Cassia fistula* contra células MCF-7, relatando efeitos citotóxicos significativos e capacidade de suprimir a migração celular. Além disso, pesquisas de Duraipandiyan *et al.* (2012) identificaram a rhein, um composto bioativo da planta, como um inibidor promissor de crescimento tumoral. Outros estudos, como os de Gupta *et al.* (2000), exploraram os efeitos de extratos metanólicos da semente contra carcinomas ascíticos de Ehrlich, destacando seu impacto antitumoral. Entre as abordagens promissoras, os flavonóides têm se destacado devido às suas propriedades anticancerígenas. Compostos como quercetina e rutina demonstram a capacidade de interromper o ciclo celular, induzir apoptose e reduzir processos inflamatórios (Sehitoglu *et al.*, 2014). Os flavonoides destacam-se como uma classe essencial de compostos para investigação no contexto do câncer, devido ao seu potencial bioativo. Pesquisas mostram que compostos encontrados no extrato de *Cassia fistula* têm efeito em células específicas, como AGS, MCF-7, Caco-2 e NCI-H460, sugerindo seu potencial no desenvolvimento de tratamentos mais eficazes e menos prejudiciais à qualidade de vida dos pacientes.

3.6.2 Antioxidante

A atividade antioxidante é um dos principais atributos dos compostos bioativos de *Cassia fistula*, desempenhando um papel crucial na proteção contra danos causados por radicais livres. Esses danos estão frequentemente associados a processos metabólicos e à exposição a fatores ambientais. Antioxidantes, como os compostos fenólicos e flavonoides, são reconhecidos por sua baixa toxicidade e elevada capacidade de neutralizar radicais livres (Kozarski *et al.*, 2015; Vaiserman *et al.*, 2020; Teles *et al.*, 2020; Pazinato *et al.*, 2022; Damião; Gomes; Da Silva, 2023). Além de proteger contra o estresse oxidativo, esses compostos também contribuem para o tratamento de câncer, reduzindo os efeitos colaterais comumente associados às terapias convencionais (Yunes; Chechinel Filho; Pedrosa, 2001; Machado *et al.*, 2008).

3.6.3 Proteção Solar

A exposição solar, integrante fundamental da vida na Terra, abrange diversas faixas de radiação, como ultravioleta (UV), luz visível e infravermelho (IR). A radiação UV, subdividida em UVA, UVB e UVC, constitui aproximadamente 10% da emissão total de luz solar (Ngoc *et al.*, 2019). Reconhecida como um dos principais contribuintes para o desenvolvimento do câncer de pele, a radiação UV provoca danos ao DNA por meio da produção de espécies reativas de oxigênio (Ngoc *et al.*, 2019). Diante desse cenário, a fotoproteção moderna, implementada por protetores solares, destaca-se como estratégia preventiva eficaz (*et al.*, 2021).

A classificação dos protetores solares em UVA, UVB e de amplo espectro evidencia a complexidade na formulação desses produtos (GADGIL *et al.*, 2023). A eficácia desses filtros é quantificada pelos valores do Fator de Proteção Solar (FPS) e Grau de Proteção UVA, categorizados em níveis de proteção variados (SCHALKA; REIS, 2011). Compostos fenólicos, presentes em plantas, destacam-se como agentes de proteção solar, absorvendo um amplo espectro de radiação UV e reduzindo sua penetração na pele (OLIVEIRA *et al.*, 2021). A tendência de utilizar ingredientes naturais na cosmética reflete a busca por produtos sustentáveis e saudáveis.

A busca por alternativas terapêuticas, especialmente aquelas provenientes de fontes naturais, preenche uma lacuna importante na busca por tratamentos mais seguros e eficazes para o câncer. Este estudo objetivou investigar o potencial das atividades antiproliferativa, anti-inflamatória, antioxidante celular e protetora solar do extrato bruto das folhas de *Cassia fistula*. Valorizando um recurso renovável e subutilizado, e no desenvolvimento de produtos terapêuticos e cosméticos inovadores alinhados à demanda por substâncias naturais e sustentáveis.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste artigo foi realizada uma revisão abrangente sobre *Cassia fistula*, destacando seu potencial econômico, terapêutico e biotecnológico, com aplicações promissoras nas indústrias alimentícia, cosmética e farmacêutica. Foram explorados aspectos botânicos, geográficos, químicos, biológicos e farmacológicos das folhas da planta, com ênfase na riqueza e diversidade de seus compostos bioativos. A composição química das folhas de *C. fistula* inclui flavonóides (como quercetina e kaempferol),

taninos e ácidos fenólicos. Há relatos na literatura que extratos etanólicos da planta apresentaram uma atividade antioxidante significativa, com valores de IC₅₀ variando de 25 a 50 µg/mL, dependendo da concentração do extrato. Além disso, a presença de compostos bioativos também é responsável por atividades antimicrobiana e anti-inflamatória.

5-REFERÊNCIAS

AABIDEEN, Z. *et al.* Phytochemical and pharmacological potential of *Cassia fistula*: A comprehensive review. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 270, p. 113774, 2021. DOI: 10.1016/j.jep.2020.113774.

ABDELSALAM, N. R. *et al.* Endorsement and phylogenetic analysis of some Fabaceae plants based on DNA barcoding. **Molecular Biology Reports**, v. 49, n. 6, p. 5645-5657, jun. 2022. DOI: 10.1007/s11033-022-07574-z.

ANDRADE, G. M. M.; MENDONÇA, A. V. R.; SOUZA, M. O. de; BOTEZELLI, L.; CANEDO JUNIOR, E. de O. Plantas alimentícias não convencionais (PANC) nos levantamentos etnobotânicos do Brasil. **Novos Cadernos NAEA**, Belém, v. 26, n. 2, p. 179-224, maio/ago. 2023. ISSN 1516-6481/2179-7536.

ALI, M. A. *Cassia fistula* Linn: A review of phytochemical and pharmacological studies. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 5, n. 6, p. 2125-2130, 2014. DOI: 10.13040/IJPSR.0975-8232.5(6).2125-2130.

AMINAH, N. S. *et al.* Chemical constituents and their biological activities from Taunggyi (Shan state) medicinal plants. **Heliyon**, v. 7, n. 2, fev. 2021. DOI: 10.1016/j.heliyon.2021e06173.

ATARZADEH, D. *et al.* *Cassia fistula*: A review on its traditional uses, chemical composition and pharmacological properties. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 223, p. 195-210, 2018. DOI: 10.1016/j.jep.2018.05.016.

BHALODIA, N. R.; SINGH, S. A.; JOSHI, M. S.; SHAH, R. S. Pharmacological and phytochemical properties of *Cassia fistula*: A review. **Pharmacognosy Reviews**, v. 6, n. 12, p. 141-146, 2012. DOI: 10.4103/0973-7847.96713.

BOONTHA, S. *et al.* Comparison of the potential of extracts from the flower, fruit pulp, and seed of *Cassia fistula* L. on MCF-7 breast cancer cell growth and cell migration. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca**, 2023.

CORRÊA, M. P. *Dicionário de plantas úteis do Brasil e exóticas cultivadas*. Rio de Janeiro: A/IBDF, 1984. v. 1, 747 p.

CROUCH, D. Cancer prevention and the role of chronic inflammation. **Journal of Cancer Research**, v. 31, p. 45-60, 2021.

DAMIÃO, L. F.; GOMES, A. P.; DA SILVA, L. E. Efeito antioxidante de compostos fenólicos em extratos vegetais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 33, n. 2, p. 140-146, 2023. DOI: 10.1002/rbf.2023.

GADGIL, V. R.; DARAK, A.; PATIL, S. J.; CHOPADA, A.; KULKARNI, R. A.; PATIL, S. M.; JOSHI, S. V. Desenvolvimentos recentes na química dos filtros solares e sua fotoestabilização. **Jornal da Sociedade Química Indiana**, v. 100, n. 2, p. 100858, 2023.

IRSHAD, M. *et al.* Phytochemical composition of *Cassia fistula* fruit extracts and its anticancer activity against human cancer cell lines. **Journal of Biologically Active Products from Nature**, v. 4, n. 3, p. 158-170, 2014.

KARIMI, P.; ISLAMI, F.; ANANDASABAPATHY, S.; FREEDMAN, N. D.; KAMANGAR, F. Gastric cancer: descriptive epidemiology, risk factors, screening, and prevention. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.**, v. 23, n. 5, p. 700-713, 2014.

KAUR, S. *et al.* Antioxidant, antiproliferative and apoptosis-inducing efficacy of fractions from *Cassia fistula* L. leaves. **Antioxidants**, v. 9, n. 2, p. 173, 2020. DOI: 10.3390/antiox9020173.

KOZARSKI, M.; KLAUS, A.; JAKOVLJEVIC, D.; TODOROVIC, N.; VUNDUK, J.; PETROVIĆ, P.; VAN GRIENSVEN, L. Antioxidants of edible mushrooms. **Molecules**, v. 20, n. 10, p. 19489-19525, 2015.

LIMTRAKUL, P. *et al.* Anti-aging and tyrosinase inhibition effects of *Cassia fistula* flower butanolic extract. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 16, n. 1, p. 497, 2016.

LORENZI, H. *Árvores Brasileiras: Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas do Brasil*. 4. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002.

MACHADO, H.; NAGEM, T. J.; PETERS, V. M.; FONSECA, C. S.; DE OLIVEIRA, T. T. Flavonóides e seu potencial terapêutico. **Boletim do Centro de Biologia da Reprodução (Descontinuada)**, v. 27, n. 1/2, p. 33-39, 2008.

MACHADO H, NAGEM T. J, PETERS V. M, FONSECA C. S e DE OLIVEIRA T. T. *Flavonóides e seu potencial terapêutico*. Boletim do Centro de Biologia da Reprodução (Descontinuada), 27(1/2): 33-39, 2008.

MOHAMMAD, K. *et al.* The genus *Cassia* L.: Ethnopharmacological and phytochemical overview. **Phytotherapy Research**, dez. 2020. DOI: 10.1002/ptr.6954. Wiley Online Library. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ptr.6954>. Acesso em: 20 ago. 2021.

MUHAMMAD, K. *et al.* The genus *Cassia* L.: Ethnopharmacological and phytochemical overview. **Phytotherapy Research**, dez. 2020. DOI: 10.1002/ptr.6954.

WILEY Online Library. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ptr.6954>. Acesso em: 20 ago. 2021.

NGOC, L. T. N.; TRAN, V. V.; MOON, J. Y.; CHAE, M.; PARK, D.; LEE, Y. C. Recent trends of sunscreen cosmetic: An update review. **Cosmetics**, v. 6, n. 4, p. 64, 2019.

ORWA, C.; MUTUA, A.; KINDT, R.; JAMNADASS, R.; SIMONS, A. *Agroforestry database: a tree reference and selection guide version 4.0*. Giriri: World Agroforestry Center, 2009. Disponível em: <http://www.worldagroforestry.org/af/treedb/>. Acesso em: 25 jun. 2011.

PAZINATTO, B. C.; MARQUES, D. T.; LIMA, C. P. Avaliação da atividade antioxidante e compostos bioativos presentes em extratos de beterraba. **Cad. da Esc. de Saúde**, v. 21, n. 1, p. 44-56, 2022. DOI: 10.25192/issn.1984-7041.v21i16356.

OLIVEIRA, M. B.; VALENTIM, I. B.; SANTOS, T. R.; XAVIER, J. A.; FERRO, J. N.; BARRETO, E. O.; GOULART, M. O. Photoprotective and antiglycation activities of non-toxic *Cocos nucifera* Linn. (Arecaceae) husk fiber ethanol extract and its phenol chemical composition. **Industrial Crops and Products**, v. 162, p. 113246, 2021.

POWO. *Plants of the World Online*. 2024. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. Disponível em: <http://www.plantsoftheworldonline.org/>. Acesso em: 03 mar. 2024.

ROCAS, A. N. *Cassia fistula* L. In: VOZZO, J. A. *Tropical tree seed manual*. Washington: United States Department of Agriculture, 2001.

SARMA, H.; BORAH, R.; DAS, S. Traditional uses of *Cassia fistula* in the treatment of various ailments. **Journal of Medicinal Plants**, v. 5, p. 44-52, 2015.

SCHALKA, S.; REIS, V. M. S. D. Sun protection factor: meaning and controversies. **Anais brasileiros de dermatologia**, v. 86, p. 507-515, 2011.

SEHITOGLU, F.; YILMAZ, O.; CAVALCANTI, R.; WILLIAMS, J.; KESKIN, T. Anticancer effects of flavonoids: Mechanisms involved in their bioactivity and their potential therapeutic applications. **Phytotherapy Research**, v. 28, n. 9, p. 1400-1412, 2014. DOI: 10.1002/ptr.5101.

TEIXEIRA, T. R.; RANGEL, K. C. TAVARES, R. S. N.; KAWAKAMI, C. M.; DOS SANTOS, G. S.; MARIA-ENGLER, S. S.; DEBONSI, H. M. In vitro evaluation of the photoprotective potential of quinolinic alkaloids isolated from the Antarctic marine fungus *Penicillium echinulatum* for topical use. **Marine Biotechnology**, v. 23, p. 357-372, 2021.

TELES, A. M.; EVERTON, G. O.; MOUCHREK, A. N. TELLIS, C. J. M.; DE BARROS BEZERRA, G. F.; DE SOUZA, F. A. NASCIMENTO, M. D. D. S. B. Fenólicos totais e atividade antioxidante do extrato obtido do fungo *Penicillium purpurogenum* advindo de ambiente marinho poluído do Maranhão. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 8, e 576986205, 2020.

USMAN, M. *et al.* Exploring the Phytochemicals and Anti-Cancer Potential of the Members of Fabaceae Family: A Comprehensive Review. **Molecules**, v. 27, n. 12, p. 3863, jun. 2022. DOI: 10.3390/molecules 27123863.

VAISERMAN, A.; KOLIADA, A.; ZAYACHKIVSKA, A.; LUSHCHAK, O. Nanodelivery of natural antioxidants: An anti-aging perspective. **Frontiers in bioengineering and biotechnology**, v. 7, p. 447, 2020.

VIEGAS JUNIOR, C.; AMARAL, F. D.; OLIVEIRA, T. L.; LIMA, L. E. A.; CORREA, L. C. BARBOSA, M. G. Derivados fenólicos e suas propriedades farmacológicas: um estudo sobre compostos naturais com potencial terapêutico. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, n. 3, p. 197-205, 2006. DOI: 10.1590/S0102-695X2006000300004.

YADAV, R.; PANGHAL, M.; SINGH, K.; BALA, S. *Cassia fistula Linn.: A Review on Its Medicinal Properties and Traditional Uses*. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 8, n. 7, p. 252-267, 2014.

YUNES, R. A.; PEDROSA, R. C.; CECHINEL, F. V. Fármacos e fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. **Química Nova**, v. 24, p. 147-152, 2001.

CAPÍTULO 2

Caracterização química e atividade farmacológica do extrato bruto das folhas

de *Cassia fistula*

RESUMO

Cassia fistula (Fabaceae) é uma árvore nativa do Sul da Ásia, amplamente cultivada em regiões tropicais devido ao seu valor ornamental e potencial terapêutico. Popularmente conhecida como chuva-de-ouro, a espécie apresenta folhas com propriedades antioxidantes, antiinflamatórias e antitumorais. Na medicina popular, diferentes partes da planta, incluindo folhas, flores e cascas, são utilizadas no tratamento de constipação, doenças hepáticas e respiratórias. Este estudo tem como objetivo a identificação química e a avaliação das atividades antioxidante, anti-inflamatória e antitumoral do extrato bruto das folhas de *C. fistula*. A metodologia consistiu na coleta das folhas e no preparo do extrato bruto (EB) pela técnica de maceração dinâmica com esgotamento do solvente (álcool etílico 96 GL (m/v)). A análise da composição química foi realizada por cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada à espectrometria de massas de alta resolução (UHPLC-MS). Como atividades biológicas, foram realizados os ensaios inibidores da produção de óxido nítrico (ON) e a atividade antioxidante celular (AAC) em linhagem de macrófagos RAW 264.7 de camundongos. A atividade antiproliferativa foi determinada em linhagens de células tumorais humanas: AGS (adenocarcinoma gástrico), Caco-2 (adenocarcinoma colorretal), MCF-7 (adenocarcinoma de mama) e NCI-H460 (carcinoma pulmonar). A atividade citotóxica foi avaliada em células não tumorais utilizando células VERO (células epiteliais do rim de macaco). A atividade antioxidante foi determinada pelos métodos de sequestro do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH) com $IC_{50} = 1,83$ mg/mL e pelo poder antioxidante de Redução do Ferro (FRAP) resultando em $1,75$ μ M de sulfato ferroso /mg do extrato. Determinados também o teor de fenóis totais (FT), flavonoides e fator de proteção solar (FPS). Através da análise química foram identificados os compostos fenólicos nicotiflorina, catequina, quercetina 6-C-glucosídeo, astragalina, ácido ferúlico, luteolina, 3-metoxi-quercetina, apigenina e rutina. A inibição da produção de óxido nítrico (GI_{50}) e a atividade antioxidante celular (AAC) (%) foram realizadas em culturas de macrófagos da linhagem RAW 264.7. A concentração do extrato responsável por inibir 50% da produção de óxido nítrico (IC_{50}) foi de $68,00$ μ g mL⁻¹. O poder de inibição da oxidação foi de 50,0%. A atividade antiproliferativa foi determinada em linhagens de células tumorais humanas: AGS (adenocarcinoma gástrico) resultando em uma inibição da proliferação ($GI_{50} = 15,0$ μ g/mL), Caco-2 (adenocarcinoma colorretal) ($GI_{50} = 22,0$ μ g/mL), MCF-7 (adenocarcinoma de mama) ($GI_{50} = 84,0$ μ g/mL) e NCI-H460 (carcinoma pulmonar) ($GI_{50} = 65,0$ μ g/mL). O índice de seletividade (IS) variou de 1,09 a 6,13. Os resultados da atividade antioxidante pelo método DPPH resultou em $IC_{50} = 1,83$ mg/mL; pelo método FRAP foi encontrado $1,75$ μ M de sulfato ferroso /mg do extrato. sendo também quantificados o teor de fenóis totais (FT), flavonoides e determinado o fator de proteção solar (FPS) do extrato bruto das folhas de *C. fistula* nas concentrações de 1,0; 0,75; 0,50 e 0,25 mg/mL. O Extrato bruto inibiu 50% do radical DPPH (CI_{50})

do radical Os teores de fenois totais (FT) variaram de 4,25 a 12,13 μg de equivalente de ácido gálico/mg de EB, respectivamente. Os teores de flavonóides encontrados nas concentrações testadas variaram de 58,80 a 62,68 μg equivalentes à quercetina/mg de EB, respectivamente. O Fator de Proteção Solar (FPS) variou de 5,25 a 19,99, respectivamente. Os resultados encontrados nesta pesquisa confirmam o uso popular desta planta, além de agregar valor às folhas que geralmente são descartadas. Neste sentido, este estudo irá trazer novas perspectivas sobre a utilização do extrato das folhas de *C. fistula* com potencial para utilização em diversos setores industriais.

PALAVRAS-CHAVE: Chuva de ouro. Antitumoral. Fabaceae. Fator de Proteção Solar.

CHAPTER 2

Chemical Characterization and Pharmacological Activity of the Crude Extract from *Cassia fistula* Leaves

ABSTRACT: *Cassia fistula* (Fabaceae) is a tree native to South Asia, widely cultivated in tropical regions due to its ornamental value and therapeutic potential. Commonly known as the golden shower tree, this species has leaves with antioxidant, anti-inflammatory, and antitumor properties. In traditional medicine, different parts of the plant, including leaves, flowers, and bark, are used to treat constipation, liver diseases, and respiratory conditions. This study aims to identify the chemical composition and evaluate the antioxidant, anti-inflammatory, and antitumor activities of the crude extract from *C. fistula* leaves. The methodology involved collecting the leaves and preparing the crude extract (CE) using the dynamic maceration technique with solvent exhaustion (96% ethanol v/v). The chemical composition analysis was performed using ultra-high-performance liquid chromatography coupled with high-resolution mass spectrometry (UHPLC-MS). For biological activity assessments, nitric oxide (NO) production inhibition and cellular antioxidant activity (CAA) assays were conducted using RAW 264.7 murine macrophage cell lines. The antiproliferative activity was evaluated in human tumor cell lines: AGS (gastric adenocarcinoma), Caco-2 (colorectal adenocarcinoma), MCF-7 (breast adenocarcinoma), and NCI-H460 (lung carcinoma). The cytotoxic activity was assessed in non-tumor cells using VERO cells (African green monkey kidney epithelial cells). Antioxidant activity was determined using the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging method, with an IC₅₀ of 1,83 mg/mL and by the antioxidant power of Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP), resulting in 1,75 μM ferrous sulfate/mg of extract. The total phenolic content (FT), flavonoids, and sun protection factor (SPF) were also determined. Through chemical analysis, the phenolic compounds identified included nicotiflorin, catechin, quercetin 6-C-glucoside, astragaloside, ferulic acid, luteolin, 3-methoxy-quercetin, apigenin, and rutin. The inhibition of nitric oxide production (GI₅₀) and cellular antioxidant activity (AAC) (%) were assessed in RAW 264.7 macrophage cultures. The extract concentration responsible for inhibiting 50% of nitric oxide production (IC₅₀) was 68,00 μg mL⁻¹. The oxidation inhibition capacity was 50.0%. The antiproliferative activity was evaluated in human tumor cell lines, specifically AGS (gastric adenocarcinoma), resulting in a proliferation inhibition (GI₅₀ = 15,0 μg/mL), Caco-2 (colorectal adenocarcinoma) with a proliferation inhibition (GI₅₀ = 22,0 μg/mL), MCF-7 (breast adenocarcinoma) with a proliferation inhibition (GI₅₀ = 84,0 μg/mL), NCI-H460 (lung carcinoma) with a proliferation inhibition (GI₅₀ = 65,0 μg/mL). The selectivity index (SI) ranged from 1,09 and 6,13. The results of the antioxidant activity using the DPPH method resulted in IC₅₀ = 1,83 mg/mL; The results from the FRAP method showed 1,75 μM of ferrous sulfate/mg of the extract. The total phenolic content (TPC), flavonoids, and sun protection factor (SPF) of the crude extract from *Cassia fistula* leaves at concentrations of 1.0, 0.75, 0.50, and 0.25 mg/mL were also quantified. The crude extract inhibited 50 % the DPPH radical (IC₅₀) and the total phenolic content (TPC) ranged from 4,25 and 12,13 μg gallic acid equivalent/mg of extract (EB), respectively. The flavonoid content found at the tested concentrations ranged from 58,80 and 62,68 μg quercetin equivalents/mg of extract (EB), respectively. The Sun Protection Factor (SPF) ranged from 5,25 and 19,99 mg/mL, respectively. The

results found in this research confirm the popular use of this plant, as well as adding value to the leaves, which are typically discarded. In this regard, this study provides new perspectives on the use of the *Cassia fistula* leaf extract, with potential applications in various industrial sectors.

KEYWORDS: Golden shower. Antitumor. Fabaceae. Sun Protection Factor.

1-INTRODUÇÃO

Cassia fistula L., popularmente conhecida como canafistula ou chuva-de-ouro, é uma planta pertencente à família Fabaceae, amplamente cultivada em regiões tropicais, com destaque para a Índia, onde possui forte presença tanto na cultura ornamental quanto na medicina tradicional. Esta espécie tem sido utilizada para diversos fins terapêuticos, incluindo no tratamento de doenças digestivas, respiratórias e dermatológicas, além de ser apreciada ornamentalmente por uma floração abundante e esteticamente marcante, que confere elevado valor paisagístico em projetos de jardinagem e arborização urbana. (Orwa et al., 2009; Rocas, 2002).

A planta é considerada uma rica fonte de compostos bioativos, com destaque para flavonoides, saponinas, alcalóides, carotenóides e ácidos fenólicos, que são conhecidos por suas diversas propriedades biológicas, como atividades antioxidantes, anti-inflamatórias, antimicrobianas, antitumoral e antidiabéticas (Usman et al., 2022). Tais compostos têm atraído o interesse da indústria farmacêutica e cosmética, especialmente devido ao potencial terapêutico identificado em vários estudos. Dentre os compostos, os derivados fenólicos e antracênicos são os mais estudados, mostrando efeitos benéficos em doenças crônicas, como inflamação, diabetes e câncer (Kaur et al., 2020; Santos et al., 2018).

Estudar *C. fistula* é crucial para estabelecer um vínculo mais robusto entre a medicina tradicional e a farmacologia moderna, possibilitando o desenvolvimento de novos tratamentos para doenças crônicas e estresse oxidativo. A pesquisa sobre seus compostos bioativos pode não apenas validar usos terapêuticos populares, mas também abrir portas para a criação de novos produtos farmacêuticos (Muhammad et al., 2021; Kaur et al., 2020). Embora a planta seja conhecida por seu potencial medicinal, as folhas, ricas em compostos bioativos como flavonoides, saponinas, alcalóides,

carotenóides e ácidos fenólicos, ainda não foram suficientemente estudadas (Orwa et al., 2009; Rocas, 2002; Usman et al., 2022). O objetivo deste estudo é realizar a identificação química e avaliar as propriedades farmacológicas do extrato bruto das folhas de *C. fistula*, com foco nas atividades antioxidante, antiproliferativa, inibidora de produção de óxido nítrico e fator de proteção solar (FPS).

No entanto, apesar de sua ampla aplicação tradicional, as propriedades farmacológicas de *C. fistula* ainda carecem de uma investigação mais aprofundada, especialmente no que se refere aos mecanismos de ação dos compostos bioativos presentes em suas folhas. Embora alguns estudos já tenham destacado suas atividades antioxidantes e anti-inflamatórias, pouco se sabe sobre o potencial antitumoral e suas interações biológicas em nível celular. Isso representa uma lacuna importante na pesquisa, que este estudo busca preencher, com foco na identificação química e na avaliação das propriedades farmacológicas do extrato bruto das folhas de *Cassia fistula*, incluindo suas atividades antioxidante, antiproliferativa, inibidora de produção de óxido nítrico e fator de proteção solar (FPS).

2-MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material Vegetal

As folhas foram coletadas de um exemplar adulto localizado no município de Umuarama-PR, Brasil. Na localidade -23° 45'43.9''S 53°17'26.6''W. As folhas foram coletadas no período de floração desta espécie (dezembro de 2021).

A identificação botânica foi realizada e um exemplar encontra-se depositado no Horto da Universidade Paranaense sob o nº 185. A espécie encontra-se registrada no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SISGEN) sob o número A0F12EC.

2.2 Coleta e Preparo do Extrato Bruto das Folhas de *Cassia fistula*

Para o preparo do extrato bruto, após a coleta das folhas de *Cassia fistula* em dezembro de 2021, as folhas foram inicialmente secas em esteira, à temperatura ambiente (aproximadamente 35°C). Posteriormente, o material foi triturado utilizando

um liquidificador industrial. As folhas trituradas foram peneiradas para obtenção de uma granulometria de 850 µm, usando uma peneira mesh. Em seguida, as folhas pulverizadas foram submetidas ao processo de maceração dinâmica com álcool etílico 96° GL até o esgotamento completo do material vegetal. O extrato obtido foi concentrado utilizando um evaporador rotativo (modelo TE-210), a uma temperatura de 40°C, para obtenção do extrato bruto das folhas de *C. fistula* (Fernandes *et al.*, 2017; Silva *et al.*, 2019).

2.3 Identificação química do extrato bruto das folhas *Cassia fistula* por cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada à espectrometria de massas de alta resolução (UHPLC-MS).

A identificação química do extrato bruto foi realizada em parceria com o laboratório de Química da UEM, Maringá-PR. A análise química foi realizada por cromatografia líquida de ultra eficiência (Shimadzu, Nexera X2) acoplada à espectrometria de massas de alta resolução (QTOF Impact II, Bruker Daltonics Corporation, USA) equipada com uma fonte de ionização por eletropulverização. A tensão capilar foi operada no modo de ionização negativa, definida em 4500 V, e com um potencial de compensação da placa final de -500 V. Os parâmetros do gás seco foram ajustados para 8 L/min a 200 °C com uma pressão de gás de nebulização de 4 bar. A fragmentação, dissociação induzida por colisão (CID) foi realizada usando argônio (Ar) e energia de colisão de 15 a 30 e V. Os dados foram coletados de 50-1300 m/z com uma taxa de aquisição de 5 espectros por segundo, e os íons de interesse foram selecionados por fragmentação automática da varredura por tandem mass spectrometry (MS/MS). A separação cromatográfica foi realizada utilizando uma coluna C18 (75 × 2.0 mm i.d.; 1.6 µm Shim-pack XR-ODS III). A mistura gradiente de solventes A (H₂O) e B (acetonitrila) foi a seguinte: 5% B 0-1 min, 30% B 1-4 min, 95% B 4-8 min, mantida a 95% de B 8-17 min, a 40 °C. A identificação desses compostos foi proposta em uma revisão do gênero *Cassia fistula* além do valor do erro de massa e comparação com bancos de dados como MassBank (<http://www.massbank.jp/>) e Human Metabolome Database (<http://www.hmdb.ca/>).

2.4 Atividade Antiproliferativa do Extrato Bruto das Folhas de *Cassia Fistula*

Para este ensaio, seguiu-se o protocolo de Souza *et al.* (2015), utilizando linhagens de células tumorais humanas: AGS (adenocarcinoma gástrico), Caco-2 (adenocarcinoma colorretal), MCF-7 (adenocarcinoma de mama), NCI-H460 (carcinoma pulmonar). Linhagem celular não tumorais também foram testadas: Vero (rim de macaco verde africano). Todas foram mantidas em meio RPMI-1640 suplementado com 10% de soro fetal bovino, glutamina (2 mM), penicilina (100 U/mL) e estreptomicina (100 µg/mL), com exceção para as células Vero que foram mantidas no meio DMEM médio suplementado com soro fetal bovino (10%), glutamina e antibióticos. Os frascos contendo as culturas de células foram incubados em estufa contendo 5% CO₂ a 37°C em atmosfera úmida.

As células foram utilizadas somente quando apresentaram confluência de 70 a 80%. Uma massa conhecida de cada um dos extratos (8 mg) foi dissolvida em H₂O e DMSO (50:50, 1 mL), a fim de obter as soluções estoque inicial com concentração de 8 mg/mL. A partir desta concentração foram realizadas diluições sucessivas, obtendo as concentrações de extrato bruto que variaram de 0,125 - 8 mg/ mL. Cada uma das concentrações do extrato (10 µL) foram incubadas com a suspensão de células (190 µL) das linhagens testadas em microplacas de 96 poços por 72 horas.

As microplacas foram incubadas a 37°C com 5% CO₂, em atmosfera úmida, após verificar a aderência das células. Todas as linhas celulares foram testadas a uma concentração de 10.000 células/ poço. Após o período de incubação, as células foram ajustadas: O TCA (10% p/ v; 100 µL) foi previamente resfriado e as placas foram incubadas por 1 hora a 4°C, lavadas com água e, após secagem, foi adicionada uma solução SRB (0,057%, m/v; 100 µL), permanecendo a temperatura ambiente por 30 minutos. Para remover o SRB não aderido, as placas foram lavadas três vezes com uma solução de ácido acético (1% v/ v) e colocadas para secar a temperatura 37°. Finalmente, o SRB aderido foi solubilizado com Tris (10 mM, 200 µL) e a absorbância no comprimento de onda de 540 nm foi lida em um leitor de micro placas Biotek ELX800. Os resultados foram expressos em termos de concentração do extrato bruto das folhas de *Cassia fistula* com capacidade de inibir o crescimento celular em 50% - GI₅₀. Como controle positivo foi utilizado a elipticina. Também foi determinado o índice

de seletividade (IS) que consiste na razão entre a concentração citotóxica 50% (CC₅₀) para células VERO e IC₅₀ para as células tumorais utilizadas conforme Equação 1.

$$\text{Equação 1: IS} = \frac{\text{GI}_{50} \text{ da célula não tumoral}}{\text{GI}_{50} \text{ da célula tumoral}}$$

2.5 Atividade inibidora da produção de óxido nítrico do Extrato Bruto das Folhas de *Cassia fistula*

Este ensaio seguiu o protocolo de Souza *et al.* (2015). O extrato bruto foi dissolvido em H₂O e DMSO (50:50, 1 mL), para obter concentração final de 8 mg/mL, a partir da qual foram realizadas diluições sucessivas, obtendo-se as concentrações a serem testadas (0,125 - 8 mg/mL). Macrófagos de camundongo da linhagem celular RAW 264.7, obtido da DSMZ- Leibniz - Institut DSMZ - Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, foram cultivados em meio DMEM, suplementado com soro fetal inativado por calor (SFB) (10%), glutamina e antibióticos, e mantidos incubados a 37°C, com 5% de CO₂ sob atmosfera úmida.

As células foram separadas com um raspador de células. Em cada poço foi adicionada uma alíquota da suspensão de células de macrófagos (300µL) com densidade celular de 5 x 10⁵ células/mL e proporção de células mortas abaixo de 5% de acordo com o teste de exclusão com azul de Tripán. As microplacas foram incubadas por 24 h nas condições previamente indicadas de forma a permitir adequada aderência e multiplicação das células. Após esse período, as células foram tratadas com diferentes concentrações do extrato bruto de *C. fistula* (15 µL, 0,125 – 8 mg/mL) e incubadas por uma hora, sendo a faixa de concentração testada de 6,25 – 400 µg/mL. A estimulação foi realizada com a adição de 30 µL da solução de lipossacarídeo - LPS (1mg/mL) e incubada por mais 24 horas. Dexametasona (50 nM) foi utilizada como controle positivo e as amostras na ausência de LPS foram usadas como um controle negativo.

A quantificação do óxido nítrico foi realizada por meio do kit do sistema de reagentes Griess (soluções de nitrofenamida, etilenodiamina e nitrito) e por meio da curva de calibração do nitrito (nitrito de sódio 100 nM a 1,6 mM) preparada em placa de 96 poços. O óxido nítrico produzido foi lido a uma absorvância a 540 nm (leitor de microplaca ELX800 Biotek, Bio-Tek Instruments, Inc., Winooski, VT, EUA) e por comparação com a linha de calibração padrão.

Os resultados foram calculados através da representação gráfica da porcentagem de inibição da produção de óxido nítrico versus concentração das amostras e expressos em relação à concentração de extratos brutos que causa a inibição de 50% da produção de óxido nítrico - IC₅₀.

2.6 Atividade Antioxidante Celular (AAC)

Para avaliar a atividade antioxidante celular seguiu-se o protocolo estabelecido por de La Fuente *et al.* (2022). O extrato bruto foi dissolvido em H₂O e DMSO (50:50, 1 mL), a fim de se obter uma concentração de 8 mg/mL, a partir da qual foram feitas diluições sucessivas com 2', 7'-diclorohidrofluoresceína (DCFH) preparada com etanol e diluída com HBSS (50 μM), obtendo-se as concentrações a serem testadas (32,5 – 2000 μM).

Para o método da atividade antioxidante celular (CAA), foi utilizada uma cultura de células de macrófagos de camundongo (RAW 264,7). As células foram destacadas da caixa com um raspador de células e uma solução de 70.000 células/ mL foi preparada. Uma alíquota da suspensão de células de macrófagos (300 μL) foi transferida para uma placa de 96 poços de fundo transparente preto (SPL Lifesciences). As placas foram incubadas por 48 horas nas condições mencionadas em estufa com 5% de CO₂ a 37 °C e sob atmosfera úmida, de forma a garantir adequada adesão e multiplicação celular. Após esse período, o meio de crescimento foi descartado e as células foram lavadas com HBSS (2x, 100 μL), tratadas com diferentes concentrações do extrato bruto (200 μL; 32,5 – 2000 μM) e incubadas por 1 hora. A fluorescência foi determinada a 485 nm de excitação e 538 nm de emissão (leitor de microplacas Biotek FLx800) a cada 5 minutos durante 1 hora. Quercetina foi usada como controle positivo, e diclorohidrofluoresceína e meio de cultura DMEM foram usados como controle negativo. Os resultados foram expressos em micromoles de equivalentes de quercetina por grama de extrato (μmol EQ/g de extrato).

2.7 Determinação do Fator de Proteção Solar (FPS) *in vitro*

Para a determinação do fator de proteção solar (FPS) seguiu-se o protocolo descrito por Oliveira *et al.* (2021). O extrato bruto de *C. fistula* foi ressuspensionado em etanol para obtenção das concentrações de 1,0; 0,75; 0,50 e 0,25 mg/mL. A absorvância de cada diluição foi determinada em três repetições nos comprimentos de onda de 290 a 320 nm com incrementos de 5 nm. O etanol foi usado como controle analítico.

O cálculo do valor do FPS é baseado na equação (2).

$$\text{FPS} = \text{CF} \cdot \text{EE}(\lambda) \cdot \text{I}(\lambda) \cdot \text{Abs}(\lambda) \quad (1)$$

Onde:

CF = 10 (fator de correção)

EE(λ) = espectro de efeito eritematoso

I(λ) = espectro de intensidade solar

Abs(λ) = absorvância da amostra no comprimento de onda λ

Os valores de EE(λ) x I(λ) são constantes (Mansur *et al.*, 1986).

2.8 Determinação de Fenóis Totais (FT)

A metodologia constituiu na utilização do protocolo estabelecido por de Sá *et al.* (2012) com modificações. Para preparar a solução de Folin-Ciocalteu (10%) e a solução de carbonato de sódio (7,5%), foi utilizado como veículo água mili-Q. O extrato bruto das folhas de *C. fistula* foi diluído em metanol nas concentrações de 1,0; 0,75; 0,50 e 0,25 mg/mL. A solução reagente foi composta por 2,5 mL da solução de Folin-Ciocalteu, 2,0 mL de solução de Carbonato de sódio, seguido de 0,3 mL das amostras diluídas. A mistura foi deixada em repouso na ausência de luz por 60 minutos e após, a leitura foi realizada em espectrofotômetro FEMTO a 760 nM, em triplicata. A curva de calibração foi obtida fazendo-se uso de sete diluições de ácido gálico (0-100 $\mu\text{g/mL}$). A equação da curva de calibração obtida através de regressão linear está demonstrada na equação abaixo equação 3.

$$A = 0,0196 C - 0,031, R = 0,9997$$

Onde:

A= representa a absorvância medida

C= a concentração de equivalentes de ácido gálico.

Os resultados foram expressos como μg de equivalente de ácido gálico (EAG) por miligramas de amostra

2.9 Determinação de Flavonoides Totais

O teor de flavonoides totais foi determinado pelo método colorimétrico com cloreto de alumínio segundo Alves e Kubota (2013). O extrato bruto das folhas de *C. fistula* foi diluído em etanol: água (80:20 volumes/volumes) para obtenção das concentrações (1,0; 0,75; 0,5 e 0,25 mg/mL). Uma alíquota de 0,5 mL de extrato foi misturada a 0,5 mL de solução de cloreto de alumínio 2% (m/v) em metanol e mantida à temperatura ambiente por 10 minutos. A variação da absorvância foi determinada em 425 nm. A solução de cloreto de alumínio foi usada como controle analítico. A concentração de flavonoides foi calculada de acordo com curva padrão de quercetina (5 – 40 $\mu\text{g/mL}$). Os resultados foram expressos em μg equivalentes de quercetina (EQ) por mg de extrato.

2.10 Sequestro do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH)

Para determinar a capacidade do sequestro de radicais livres de DPPH, foi utilizado a metodologia descrita por (Rufino *et al.*, 2007). Uma alíquota de 10 μL das diferentes concentrações do extrato bruto das folhas de *C. fistula* nas concentrações (1,0; 0,75; 0,5 e 0,25 mg/mL), com 290 μL de solução metanólica de DPPH (60 μM), preparada no momento da atividade. Para o controle negativo foi utilizado 10 μL de metanol na solução de DPPH (60 μM). A mistura foi mantida no escuro à temperatura ambiente por 30 minutos. A redução da absorvância foi medida em 515 nm, em um aparelho SpectraMax Plus³⁸⁴ Microplate Reader. A capacidade antioxidante total dos extratos e frações foi calculada utilizando uma solução padrão de quercetina (60 μM), como referência de 100%. A partir da correlação entre absorvância versus concentração da amostra antioxidante, foi determinada a concentração necessária para reduzir 50% dos radicais livres (EC_{50}).

2.11 Poder antioxidante de Redução do Ferro (FRAP)

Este método foi avaliado conforme descrito por (Rufino et al., 2006). Para preparar o reagente FRAP foram combinados 25 mL de tampão acetato (0,3 M), 2,5 mL de solução aquosa de 2,4,6-Tris (2-piridil)-striaizina (TPTZ - 10 mM), 2,5 mL de solução aquosa de cloreto férrico (20 mM) e 3 mL de água destilada. A solução reagente foi composta por 10 µL do extrato bruto das folhas de *C. fistula* nas concentrações (1,0; 0,75; 0,5 e 0,25 mg/mL), 290 µL do reagente FRAP em cada poço da microplaca. A mistura foi colocada no aparelho Spectra Max Plus³⁸⁴ Microplate Reader e mantida a 37 °C por 30 minutos. A Absorbância foi lida em 595 nm. Usando uma curva padrão de sulfato ferroso (0 – 2000 µM) foi calculada a percentagem de atividade antioxidante. A atividade antioxidante foi expressa em µM sulfato ferroso/mg da amostra.

2.12 Análise Estatística

Todas as análises foram realizadas em triplicatas. Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as diferenças entre médias determinadas pelo teste de Tukey com nível de significância de 5% utilizando o programa Minitab 17.

3.RESULTADOS

3.1 Identificação química do extrato bruto das folhas de *Cassia fistula*.

A identificação química do extrato bruto das folhas de *Cassia fistula* realizada por UHPLC-MS (Ultra High Performance Liquid Chromatography-Mass Spectrometry) revelou uma diversidade significativa de compostos bioativos, incluindo flavonoides, ácidos fenólicos, saponinas e outros compostos com potenciais terapêuticos. Dentre os compostos destacados, estão a quercetina, luteolina, apigenina, p-cumarico, ferúlico, catequina, nicotiflorina, astragalina, quercetina 6-C-glucosídeo, quercetina 3-metoxina e rutina.

A presença de ácidos fenólicos como o p-cumarico e ferúlico é um ponto de comparação relevante, pois esses compostos são frequentemente encontrados em plantas com ação antioxidante, como *Ceratonia siliqua* (alfarroba) e *Acacia catechu* (catechu), sendo reconhecidos por protegerem as células contra danos oxidativos e reduzirem inflamações (Aminah et al., 2021). A diversidade de compostos encontrados

em *Cassia fistula* coloca a planta em um grupo de espécies de grande potencial terapêutico, especialmente para doenças relacionadas ao estresse oxidativo e inflamação.

Além disso, compostos como as saponinas e a nicotiflorina são de interesse devido às suas propriedades antimicrobianas e anti-inflamatórias, que são comparáveis a outras plantas, como *Allium sativum* (alho) e *Glycyrrhiza glabra* (alcaçuz), cujos compostos bioativos possuem funções semelhantes de modulação do sistema imunológico (Alqasoumi et al., 2012).

O extrato foi capaz de inibir 50% dos radicais DPPH, com um IC₅₀ de 1,83 mg/mL nas concentrações que variaram de 1,0 a 0,25 mg/mL de extrato (Tabela 4). A presença de quercetina no extrato de *Cassia fistula* (Tabela 1), conhecida por sua atividade antioxidante, reforça a consistência desses resultados, uma vez que a quercetina é utilizada como controle positivo nos ensaios DPPH. A atividade antioxidante da quercetina se deve à sua capacidade de absorver e neutralizar radicais livres gerados pelo metabolismo celular ou fontes externas (Forni *et al.*, 2019). Essa proteção antioxidante ajuda a prevenir lesões e a manter a integridade celular (Mendes *et al.*, 2021).

Por fim, os testes de atividade inibidora da produção de óxido nítrico indicaram que o extrato apresentou um potencial apenas 10,79 vezes menor que a dexametasona (Tabela 2). Essa atividade pode ser justificada pela presença de ácidos fenólicos e flavonoides, conforme identificado na análise química do extrato (Tabela 1).

Foram encontrados nove flavonoides e dois ácidos fenólicos na composição química do extrato bruto das folhas de *C.fistula*. Esses compostos bioativos destacam-se pela sua potencial atividade farmacológica, contribuindo para os efeitos terapêuticos da planta.

Tabela 1: Composição química do extrato bruto das folhas de *Cassia fistula* por UHPLC-MS.

FLAVONOIDES (9)	ÁCIDOS FENÓLICOS (2)
Nicotiflorina	Ácido p-cumárico
Catequina	Ácido ferúlico
Quercetina 6 -C-glucosideo	
Astragalina	
Luteolina	
Quercetina	
3 metoxi-quercetina	
Apigenina	

3.2 Atividades inibidora da produção de óxido nítrico (NO) e antiproliferativa

A atividade inibidora da produção de óxido nítrico foi avaliada em linhagens de macrófagos RAW 264.7, um indicador clássico de inflamação, indicando EC₅₀ 68 µg/mL (Tabela 2).

O potencial citotóxico do extrato que causou a inibição de 50% do crescimento celular (GI₅₀) em linhagens de células tumorais humanas e não tumorais (VERO) variou

de 15,00 a 84,00 $\mu\text{g/mL}$, evidenciando maior potencial antiproliferativo do extrato frente à célula AGS com 15 $\mu\text{g} / \text{mL}$. O índice de seletividade (IS) variou de 1,09 a 6,13 (Tabela 2).

Tabela 2. Atividade inibidora da produção de óxido nítrico e antiproliferativa do extrato bruto das folhas de *Cassia fistula*

	Amostra	Controle positivo	
Atividade inibidora da produção de			
óxido nítrico	EB	Dexametasona	
(IC ₅₀ $\mu\text{g/mL}$)			
RAW 246.7			
	68,0 \pm 2,0 ^b	6,3 \pm 0,4 ^a	
Atividade antiproliferativa			
(GI₅₀, $\mu\text{g/mL}$)		IS	Elipticina
AGS	15,00 \pm 1,0 ^{bA}	6,13	1,23 \pm 0,03 ^{aB}
CaCo2	22,00 \pm 1,0 ^{bA}	4,18	1,21 \pm 0,02 ^{aB}
MCF-7	84,00 \pm 7,0 ^{bB}	1,09	1,02 \pm 0,02 ^{aA}
NCI-H460	65,00 \pm 4,0 ^{bB}	1,41	1,01 \pm 0,01 ^{aA}
Vero	92,00 \pm 5,0 ^{bB}		1,41 \pm 0,06 ^{aB}

EB: extrato bruto; IS: Índice de seletividade. Os valores representam a média \pm desvio padrão. Diferentes letras maiúsculas em coluna e letras minúsculas em linha indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). EB= extrato bruto de *Cassia fistula*. IS = índice de seletividade (linhagem celular não tumoral GI₅₀ $\mu\text{g mL}^{-1}$ /linhagem celular tumoral GI₅₀ $\mu\text{g mL}^{-1}$). GI₅₀ = concentração que causa 50% de inibição do crescimento. AGS (adenocarcinoma gástrico), Caco-2 (adenocarcinoma colorretal), MCF-7 = adenocarcinoma da mama, NCI-H460 = carcinoma de grandes células do pulmão, VERO (células epiteliais renais extraídas de um macaco verde africano).

Os resultados da atividade antioxidante celular (AAC) foi desenvolvido em culturas de células de macrófagos de camundongo (RAW 264,7), Na concentração de 2000 $\mu\text{g/mL}$, o extrato das folhas de *Cassia fistula* onde demonstrou uma inibição de 50% da oxidação celular, o que indica um efeito antioxidante significativo. Em

comparação, a quercetina, um flavonoide amplamente conhecido por suas propriedades antioxidantes, apresentou uma inibição de 93%.

Esses resultados sugerem que, embora o extrato de *C. fistula* tenha um potencial antioxidante considerável, a quercetina ainda apresenta uma atividade superior na neutralização de radicais livres.

Tabela 3. Atividade Antioxidante celular (AAC) do extrato bruto das folhas de *Cassia fistula*.

Amostra	Conc. máx. testada ($\mu\text{g/mL}$)	% inibição
EB	2000	50%
Quercetina	2000	93%

EB: Extrato bruto

O extrato das folhas de *Cassia fistula* demonstrou um poder redutor de ferro, com uma capacidade de 1,74 μM de sulfato ferroso por mg de extrato. Este valor foi 5,25 vezes menor que o controle positivo, Trolox, que apresentou 9,175 μM de sulfato ferroso por mg de extrato.

Essa atividade redutora é atribuída à presença de compostos bioativos, como flavonoides e ácidos fenólicos, que são conhecidos por suas propriedades antioxidantes e capacidade de reduzir íons metálicos, como o ferro. Segundo Rufino et al. (2006), esses compostos fenólicos, presentes em várias plantas, contribuem para a neutralização de radicais livres e protegem as células contra danos oxidativos, reforçando o potencial antioxidante do extrato de *Cassia fistula*.

Além de avaliar o potencial antioxidante utilizando culturas de células, o extrato também foi avaliado através dos métodos colorimétricos DPPH e FRAP cujos resultados encontram-se discriminados na Tabela 4.

Tabela 4. Atividade antioxidante, avaliada pela eliminação de 50% do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH•) e pelo poder de redução do ferro (FRAP) do extrato bruto das folhas de *Cassia fistula*.

Amostras mg/mL	DPPH• IC₅₀ (mg/mL)	FRAP (μM sulfato ferroso /mg de extrato)
Extrato	1,830 \pm 0,039 ^B	1,748 \pm 0,005 ^B
folhas		
Quercetina	0,010 \pm 0,001 ^A	-
Trolox	-	9,175 \pm 0,001 ^A

Os valores são a média \pm desvio padrão de ensaios em triplicado. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as diferenças entre as médias foram avaliadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Valores na mesma coluna seguidos de letras diferentes são significativamente diferentes ($p \leq 0,05$). Quercetina (0,0103 mg/mL) e Trolox (9,175 mg/mL) foram utilizados como controles positivos nos ensaios DPPH• e FRAP, respectivamente. Abreviaturas: IC₅₀: metade da concentração inibitória máxima; DPPH•: 2,2-difenil-1-picrilhidrazil; FRAP: poder antioxidante redutor férrico.

Os teores de fenóis totais no extrato bruto das folhas de *C.fistula* variaram de 4,25 a 12,13 μ g de equivalente de ácido gálico por mg de extrato, refletindo a presença de compostos fenólicos com potencial antioxidante significativo.

Os flavonoides apresentaram valores entre 58,80 e 62,68 μ g de equivalente de ácido gálico por mg de EB, o que pode estar diretamente relacionado à presença de quercetina no extrato das folhas de *C. fistula*. A quercetina é um flavonoide amplamente reconhecido por suas propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e fotoprotetoras.

Em relação à fotoproteção, o EB de *C. fistula* demonstrou um fator de proteção solar (FPS) médio nas concentrações testadas, com valores de 19,99 e 15,47. Já nas concentrações mais baixas (0,50 e 0,25 mg/mL), a proteção foi classificada como baixa, com FPS de 5,25 e 10,62, respectivamente. Esses resultados indicam que a atividade fotoprotetora do extrato pode estar associada à presença de compostos bioativos, como flavonoides e ácidos fenólicos, que atuam na absorção da radiação ultravioleta e na neutralização de radicais livres.

Na **Tabela 5** encontra-se discriminado os teores de fenóis totais, de flavonoides e a determinação do fator de proteção solar (FPS).

Tabela 5. Determinação de fenóis totais, flavonoides e fator de proteção solar do extrato bruto das folhas *Cassia fistula*.

Amostras mg/mL	Fenóis totais (μg GAE/mg)	Flavonoides (μg GAE/mg)	Fator de proteção solar (FPS)
0,25	$4,25 \pm 1,51^{\text{C}}$	$58,80 \pm 5,05^{\text{A}}$	$5,25 \pm 0,30^{\text{D}}$
0,50	$5,66 \pm 0,91^{\text{BC}}$	$60,06 \pm 4,15^{\text{A}}$	$10,62 \pm 0,11^{\text{C}}$
0,75	$8,43 \pm 0,21^{\text{B}}$	$61,90 \pm 3,66^{\text{A}}$	$15,47 \pm 0,57^{\text{B}}$
1,00	$12,13 \pm 0,98^{\text{A}}$	$62,68 \pm 6,61^{\text{A}}$	$19,99 \pm 1,29^{\text{A}}$

Os valores são a média \pm desvio padrão de ensaios em triplicado. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as diferenças entre as médias foram avaliadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Valores na mesma coluna seguidos de letras diferentes são significativamente diferentes ($p \leq 0,05$). GAE: equivalentes de ácido gálico;

4.DISSCUSSÃO

4.1 Atividade inibidora da produção de óxido nítrico

A análise química do extrato bruto das folhas de *Cassia fistula* confirma sua rica variedade de compostos bioativos, muitos dos quais são compartilhados com outras plantas medicinais amplamente estudadas, apontando para seu potencial terapêutico, mas também ressaltando a necessidade de mais estudos sobre seus mecanismos de ação.

Esses compostos são conhecidos por suas propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, anticancerígenas e antimicrobianas, contribuindo para o valor terapêutico do extrato.

A comparação com outras espécies vegetais é importante para entender a relevância farmacológica de *Cassia fistula*. Por exemplo, os flavonoides como a quercetina, rutina, e luteolina são amplamente encontrados em outras plantas como

Camellia sinensis (chá verde), *Vaccinium myrtillus* (mirtilo) e *Acacia catechu*, que também possuem propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias reconhecidas (Muhammad et al., 2021; Kaur et al., 2020). Da mesma forma, compostos como catequinas, presentes também em *Camellia sinensis*, estão associados a benefícios para a saúde cardiovascular e têm demonstrado capacidade de modular processos celulares relacionados ao estresse oxidativo e inflamação (Bhalodia et al., 2012).

O poder que alguns compostos fenólicos possuem em inibir as vias de ciclooxigenase (COX) e lipoxigenase, as quais desempenham um papel importante como mediadores inflamatórios (dos Santos; Rodrigues, 2017). Estudos indicam que a rutina identificada no extrato de *C. fistula* (Tabela 1) pode atuar inibindo as enzimas envolvidas na síntese de mediadores inflamatórios, como as cicloxigenases (COX) e as lipoxigenases (LOX), além de modular a expressão de citocinas pró-inflamatórias.

Essas ações podem ser uma explicação para o efeito anti-inflamatório encontrado no extrato das folhas de *Cassia fistula* mencionado no estudo de Monteiro et al. (2023). Ainda segundo este autor a inibição da peroxidação lipídica e a modulação do sistema antioxidante também contribuem para o controle da inflamação, uma vez que a inflamação crônica é frequentemente associada a um aumento no estresse oxidativo.

A quercetina apresenta significativa ação anti-inflamatória, que pode ser atribuída à inibição das enzimas fosfolipase A2 (PLA2), lipo-oxigenase, ciclo-oxigenase e inibição da produção de óxido nítrico, através da modulação da enzima óxido nítrico sintase induzível (iNOS) (Coutinho et al., 2009). A inibição da produção de óxido nítrico (NO) encontrada no presente estudo reforça a hipótese de que o extrato de *C. fistula* atua como modulador de processos inflamatórios, em consonância com estudos que associam flavonoides e ácidos fenólicos a propriedades anti-inflamatórias (Aminah et al., 2021).

4.2 Atividade antiproliferativa

Os resultados encontrados para a atividade antiproliferativa, (Tabela 2) indicaram que o extrato de *C. fistula* inibiu a proliferação das linhagens tumorais testadas, indicando maior atividade para as células AGS (15,00 µg/mL), seguido da linhagem CaCo2 (22,00 µg/mL). Estes resultados podem estar associados a presença dos flavonoides identificados (Tabela 1), com destaque para a rutina, quercetina apontadas no estudo de Monteiro *et al.* (2023) em que a rutina tem demonstrado efeitos benéficos na prevenção e no tratamento do câncer. Estudos destacam suas propriedades antimetastáticas, ou seja, sua capacidade de reduzir a disseminação de células cancerígenas para outras partes do corpo (Patel, 2019). A rutina ajuda na prevenção do câncer, incluindo a modulação da proliferação celular e indução da morte celular programada (Chen *et al.*, 2017). Além disso, é considerada um potente agente antioxidante e antitumoral, com efeito antiproliferativo, citoprotetor e induzindo a apoptose em diferentes linhagens celulares cancerígenas (Geçotek *et al.*, 2019). Esses efeitos podem ser potencializados quando a rutina é utilizada em combinação com outros tratamentos (Satari *et al.*, 2021).

A quercetina têm se mostrado importantes fontes para o desenvolvimento de produtos farmacêuticos fitoterápicos com potencial anticâncer (Baghel *et al.*, 2009). Esses compostos polifenólicos oferecem um potencial promissor na abordagem terapêutica contra o câncer, atuando tanto na prevenção quanto no tratamento da doença (Ganesh Purgar *et al.*, 2017).

A atividade biológica dos bioativos, deve-se ser complementada com a investigação da citotoxicidade dos bioativos extraído das plantas, de forma a garantir a segurança na aplicação em produtos. Neste sentido, os valores referência para avaliar o grau de citotoxicidade em células VERO indicam que a substância é considerada citotóxica com $CC_{50} < 100$ µg/mL, citotoxicidade moderada CC_{50} entre 100 a 200 µg/mL e não citotóxico $CC_{50} > 200$ µg/mL (Sarmiento, 2016). Neste sentido, o extrato bruto de *C. fistula* pode ser considerado tóxico, visto que a ação sobre as células VERO indicaram ($CC_{50} = 92.00$ µg/mL) (Tabela 2).

De forma a corroborar com a citotoxicidade encontrada, foi determinado o índice de seletividade (IS), que consiste em um parâmetro para avaliar se há diferença na

nocividade entre linhagens de células normais e células tumorais. A literatura diverge quanto ao valor do IS para que as moléculas bioativas possam ser consideradas citotóxicas. Domingos, (2024) consideram que para haver baixa citotoxicidade o índice de seletividade (IS) adequado deve ser maior que 10, sendo reconhecidos como promissores e seguros, com possibilidade de ausência de toxicidade. Suffness e Pezzuto (1991) atribuem significativo um valor de IS maior ou igual a 2,0 e Almeida et al. (2014) um valor de IS maior que 1,0. Neste sentido, os resultados para o extrato de *C. fistula* indicaram IS que variou de 1,09 a 6,13 (Tabela 2) indicando haver seletividade do extrato para as células alvo. Entretanto, ao avaliar a citotoxicidade frente às células VERO, podemos considerar que o extrato apresenta toxicidade. Esse resultado apresenta vantagens e desvantagens dependendo do objetivo da aplicação do extrato.

4.3 Atividade antioxidante

A avaliação da resposta antioxidante do extrato das folhas de *Cassia fistula* pelos métodos DPPH e FRAP revelou uma expressiva capacidade de inibição dos radicais livres. A quercetina, presente no extrato, desempenha o papel de quelante de ferro, contribuindo para a redução do ferro (FRAP) de 1,75 μM de sulfato ferroso/mg de extrato (Tabela 4), sendo considerado somente 5,25 vezes menos ativo que o controle positivo trolox, que apresentou 9,175 μM de sulfato ferroso/mg de extrato. De acordo com Rufino *et al.* (2006), o método FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) tem uma alta correlação com compostos fenólicos devido à sua base química, que mede a capacidade dos antioxidantes presentes no extrato de reduzir o íon férrico (Fe^{3+}) ao íon ferroso (Fe^{2+}). Isso ocorre porque muitos compostos fenólicos possuem estruturas químicas com grupos hidroxila (-OH) capazes de doar elétrons, promovendo essa redução, o que justifica os resultados obtidos, considerando a presença desses compostos no extrato das folhas de *Cassia fistula* (Tabela 1).

Segundo Dos Santos e Rodrigues (2017), os flavonoides apresentam atividade antioxidante devido à sua capacidade de quelar metais, neutralizar espécies oxidantes, como o ânion superóxido (O_2^-), e atuar como varredores de radicais livres, incluindo os radicais hidroxila e peróxido. Além disso, esses compostos demonstram sinergismo com

outros antioxidantes, como quercetina, luteolina, apigenina, rutina, astragalina e nicotiflorina, potencializando sua ação protetora contra o estresse oxidativo.

O mecanismo de ação dos compostos fenólicos está relacionado não apenas à sua capacidade de neutralizar radicais livres, mas também à modulação enzimática. Esses compostos podem inibir enzimas pró-oxidantes, como ciclo-oxigenase (COX), lipoxigenase (LOX), NADPH oxidase, xantina-oxidase e fosfolipase, reduzindo processos inflamatórios e o dano celular oxidativo. Além disso, favorecem a ativação de enzimas antioxidantes, como catalase e superóxido dismutase, reforçando os mecanismos endógenos de defesa contra o estresse oxidativo.

4.4 Teor de Fenóis totais e flavonoides no extrato bruto de *C. fistula*

O teor de fenóis totais foi menor, estando em conformidade com a composição química onde foram identificados dois ácidos fenólicos, (Ácido ferulico e *p*-cumarico), e por não haver sido realizada a quantificação dos compostos fenólicos, sugere-se que a quantidade destes estejam baixas no extrato bruto das folhas de *C. fistula*.

O teor de flavonoides determinado variou de 62,68 a 58,80 µg GAE/mg de extrato (Tabela 5), o que pode ser relacionado à presença de quercetina nas folhas de *C. fistula*. Nos vegetais, os flavonóides desempenham várias funções, incluindo proteção contra raios ultravioleta, insetos e fungos. Além disso, apresentam diversas atividades farmacológicas, como antioxidante, antitumoral, anti-inflamatória, antiviral e reguladora hormonal (Dos Santos; Rodrigues, 2017).

A quercetina, um flavonoide presente no extrato, já foi associada a diversas atividades biológicas, como antioxidante (Mendes et al., 2021), antimutagênica, inibidora da permeabilidade da membrana, inibidora de NADPH oxidase e de CYP1B1 (Monção, 2019). O efeito fotoquimioprotetor da quercetina na pele contra alterações moleculares induzidas por raios ultravioletas também foi documentado por Vicentini (2009). Além disso, a quercetina é um dos flavonoides mais abundantes na dieta humana, presente em frutas, chás e vegetais, e exerce diversas atividades no corpo humano, incluindo efeitos antitumorais, antibacterianos, antifúngicos, cardiovasculares, hepáticos e renais (Simões et al., 2016). Também se destaca como um potencial medicamento natural para o tratamento da dislipidemia (De Moura; De Araujo; Sousa, 2020).

Ao relacionar o potencial antioxidante encontrado com a estrutura química dos flavonóides, é possível observar que esses compostos possuem dois anéis aromáticos ligados por três átomos de carbono em uma estrutura heterocíclica oxigenada, o que os torna ideais para a neutralização de radicais livres (Wolfe; Liu, 2008).

4.5 FPS (Fator de Proteção Solar)

A eficácia fotoprotetora de um composto ou filtro solar é determinada pelos valores do fator de proteção solar (FPS) e do grau de proteção UVA. O EB de *C.fistula* nas concentrações testadas (1,0 a de 0,25mg/mL) apresentou um fator de proteção solar (FPS) variando de 19,99 a 5,25, respectivamente (Tabela 5)

Segundo Schalka; Reis (2011), valores de FPS na faixa de 6-10; 15-25; 30-50 e 50+, correspondem a proteção baixa, média, alta e muito alta, respectivamente. O EB na concentração de 1,0 mg/mL mostrou proteção média 19,99 enquanto que as concentrações de 0,75 e 0,50 mg/mL mostraram proteção baixa 15,47 e 10,62, e a concentração de 0,25 mg/mL mostrou-se com baixa proteção 5,25 respectivamente. Pode-se concluir que nas concentrações utilizadas, o EB apresentou resultado superior ao valor mínimo de FPS = 6 (seis), estabelecido pela ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária na resolução técnico científico acerca de formulações de protetores solares (Anvisa, 2022), indicando desta forma que o EB de *C.fistula* tem potencial fotoprotetor.

A relação entre os compostos bioativos presentes em *Cassia fistula* e o fator de proteção solar (FPS) da planta está diretamente associada às propriedades fotoprotetoras desses compostos. Flavonoides, ácidos fenólicos, catequinas e saponinas possuem a capacidade de proteger a pele contra os danos causados pela radiação ultravioleta (UV). Compostos como flavonoides (quercetina, luteolina, apigenina, entre outros) e ácidos fenólicos (*p*-cumarico e ferúlico) podem absorver ou filtrar a radiação UV, impedindo que ela penetre profundamente na pele. Isso reduz a incidência de danos celulares causados pela radiação UVB, que é a principal responsável pelas queimaduras solares. De acordo com Schalka e Reis (2011), a proteção proporcionada pelos filtros solares pode ser quantificada através do FPS, que indica a capacidade de proteger a pele contra os danos causados pela radiação UV.

A exposição aos raios UV promove a formação de radicais livres, que podem causar danos às células da pele, acelerando o envelhecimento e aumentando o risco de câncer de pele. O extrato de *Cassia fistula* contém compostos antioxidantes, como catequina e quercetina, que ajudam a neutralizar esses radicais livres, protegendo as células contra o estresse oxidativo. Segundo Pérez-González et al. (2014), flavonoides e compostos fenólicos possuem uma capacidade comprovada de neutralizar radicais livres e minimizar os danos celulares causados pela exposição à radiação UV.

Além do efeito antioxidante, a exposição solar também pode desencadear processos inflamatórios na pele, contribuindo para o envelhecimento precoce e aumentando a predisposição ao câncer de pele. Compostos como luteolina e apigenina demonstram efeitos anti-inflamatórios, auxiliando na redução da inflamação induzida pela radiação UV e promovendo a regeneração da pele. Farrukh et al. (2020) ressalta que diversos compostos vegetais com propriedades anti-inflamatórias são eficazes na atenuação dos danos gerados pela radiação solar.

O extrato de *Cassia fistula* também pode modular a resposta imunológica da pele após a exposição ao sol, graças à presença de flavonoides e saponinas, que contribuem para a defesa contra os efeitos nocivos da radiação UV. Conforme descrito por Rufino et al. (2006), os compostos fenólicos presentes nas plantas desempenham um papel essencial na regulação da resposta imunológica e na proteção celular contra os danos solares.

5. CONCLUSÕES

O extrato bruto das folhas de *Cassia fistula* demonstrou um conjunto significativo de atividades farmacológicas, incluindo efeitos anti-inflamatórios, antioxidantes, antiproliferativos e fotoprotetores. A identificação de compostos bioativos como quercetina, catequina e rutina reforça o potencial terapêutico da planta, especialmente no tratamento de inflamações, câncer e doenças relacionadas ao estresse oxidativo. Embora o extrato apresente um perfil de baixa citotoxicidade em células não tumorais, com um valor de CC_{50} que sugere um grau de toxicidade moderado, é necessário cautela em seu uso terapêutico. A avaliação da citotoxicidade em modelos

celulares mais amplos e estudos adicionais sobre os mecanismos de ação da planta são essenciais para confirmar sua segurança e eficácia.

Com base nos resultados, *Cassia fistula* apresenta grande potencial para o desenvolvimento de produtos inovadores e sustentáveis nas indústrias farmacêutica, cosmética e nutracêutica, desde que seu perfil de toxicidade seja cuidadosamente monitorado e validado em estudos clínicos mais aprofundados.

6. AGRADECIMENTOS

A autora agradece à Universidade Paranaense - UNIPAR, Centro Universitário de Maringá - UNICESUMAR, ao Centro de Investigação de Montanha (CIMO), Instituto Politécnico de Bragança, Portugal, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) e ao CNPq pelo financiamento desta pesquisa.

7. REFERÊNCIAS

ALMEIDA, T. L. D.; MONTEIRO, J. A.; LOPES, G. K.; CHIAVELLI, L. U.; SANTIN, S. M. D. O.; SILVA, C. C.; POMINI, A. M. Estudo químico e atividades antiproliferativa, tripanocida e leishmanicida de *Maxillaria picta*. **Química Nova**, v. 37, p. 1151-1157, 2014.

ALVES, C. Q. et al. Métodos para determinação de atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos. **Química Nova**, v. 33, p. 2202-2210, 2010.

ALVES, E.; KUBOTA, E. H. Conteúdo de fenólicos, flavonoides totais e atividade antioxidante de amostras de própolis comerciais. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 34, n. 1, 2013.

ALVES, R. E. et al. Atividade antioxidante e composição fitoquímica de extratos vegetais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 4, p. 527-535, 2010. DOI: 10.1590/S0102-695X2010000400007.

ALQASOUMI, S. I.; EL-RESOL, M. A.; NASSAR, H. S. *Biological activities and medicinal uses of saponins*. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 20, n. 3, p. 171-179, 2012.

AMINAH, A. A.; ZOHDI, M. S.; MOHD, N. M. *Flavonoids and phenolic acids in medicinal plants of the Fabaceae family: Bioactivity and potential therapeutic applications*. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 15, n. 8, p. 295-309, 2021.

ARAÚJO, J. R. et al. Chemopreventive effect of dietary polyphenols in colorectal cancer cell lines. **Nutrition research**, v. 31, n. 2, p. 77-87, 2011.

BAGHEL, S. S.; SHRIVASTAVA, N.; BAGHEL, R. S. A review of quercetin: antioxidant and anticancer properties. *Canadian Journal of Plant Science*, 2009.

BARROS, L.; CALHELHA, R. C.FERREIRA, I. C. HELENO, S. A.; PINELA, J.; BERRADA, H.; CALEJA, C.; BARBA, F. J. Nutritional and bioactive oils from salmon (*Salmo salar*) side streams obtained by Soxhlet and optimized microwave-assisted extraction. **Food Chemistry**, v. 386, p. 132778, 2022.

CASTRO, A. J. et al. Rutin exerts antitumor effects on nude mice bearing SW480 tumor. **Archives of medical research**, v. 44, n. 5, p. 346-351, 2013.

CHEN, Y. F.; ZHANG, D. D.; HU, D. B.; LI, X. N.; LUO, J. F.; DUAN, X. Y.; WANG, Y. H. Alkaloids and flavonoids exert protective effects against UVB-induced damage in a 3D skin model using human keratinocytes. **Results in Chemistry**, v. 4, p. 100298, 2022. DOI: 10.1016/j.rechem.2022.100298.

COUTINHO, M. A., Muzitano, M. F., & Costa, S. S. (2009). Flavonoides: Potenciais agentes terapêuticos para o processo inflamatório. *Revista Virtual de Química*, 1(3), 241-256.

CRISTINA, D. et al. Cytotoxic effect of rutin on hepatic carcinoma cells. **International Journal of Cancer**, v. 128, p. 703-712, 2011. DOI: 10.1002/ijc.26115.

DE LA FUENTE, B.; PINELA, J.; MANDIM, F.; HELENO, S. A.; FERREIRA, I. C.; BARBA, F. J.; BERRADA, H.; CALEJA, C.; BARROS, L. Nutritional and bioactive oils from salmon (*Salmo salar*) side streams obtained by Soxhlet and optimized microwave-assisted extraction. **Food Chemistry**, v. 386, p. 132778, 2022.

DE MOURA, M. C. L.; DE ARAÚJO, V., V. L. L.; DE SOUSA, J. A. Análise farmacocinética, toxicológica e farmacodinâmica in silico do flavonoide quercetina isolado das sementes de *Bixa orellana* L. Pesquisa, **Sociedade e Desenvolvimento**, v. 9, n. 3, p. e170932242, 2020.

DE SÁ, P. G. S.; GUIMARÃES, A. L.; OLIVEIRA, A. P. SIQUEIRA FILHO, J. A.; FONTANA, A. P.; DAMASCENO, P. K. F.; ALMEIDA, J. R. G. S. Fenóis totais, flavonoides totais e atividade antioxidante de *Selaginella convoluta* (Arn.) Spring (Selaginellaceae). **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 33, n. 4, p. 561-566, 2012.

DOMINGOS, Giovana Mesquita Oliveira de Castro. **Avaliação dos mecanismo de ação antiviral da silimarina contra o vírus Mayaro em células Vero**. 2024.

DOS SANTOS, D. S.; RODRIGUES, M. F. F. Atividades farmacológicas dos flavonoides: um estudo de revisão. **Estação Científica (UNIFAP)**, v. 7, n. 3, p. 29-35, 2017.

FARRUKH, M. A.; RIAZ, M.; ALI, M. Antioxidant and photoprotective properties of natural flavonoids and phenolic compounds. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 105, p. 115-125, 2020. DOI: 10.1016/j.jphotobiol.2020.01.001.

- FERNANDES, T. S. et al. Análise fitoquímica da casca de *Helietta apiculata* Benth e atividades antimicrobianas. **Fitoquímica**, v. 141, p. 131-139, 2017.
- FORNI, C.; FACCHIANO, F.; BARTOLI, M.; PIERETTI, S.; FACCHIANO, A.; D'ARCANGELO, D.; JADEJA, R. N. Beneficial role of phytochemicals on oxidative stress and age-related diseases. **BioMed Research International**, 2019.
- GANESH, P. A.; SALUJA, A. K. The pharmacological potential of rutin. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 25, n. 2, p. 149–164, 2017. DOI: 10.1016/j.jsps.2016.04.025.
- GEGOTEK, A.; AMBROŻEWICZ, E.; JASTRZĄB, A.; JAROCKA, I.; K., E. Rutin and ascorbic acid cooperation in antioxidant and antiapoptotic effect on human skin keratinocytes and fibroblasts exposed to UVA and UVB radiation. **Archives of Dermatological Research**, v. 311, n. 3, p. 203-219, 2019.
- KAUR, S. et al. Antioxidant, antiproliferative and apoptosis-inducing efficacy of fractions from *Cassia fistula* L. leaves. **Antioxidants**, v. 9, n. 2, p. 173, 2020. DOI: 10.3390/antiox9020173.
- LIN, Jing-Pin et al. Rutin inhibits human leukemia tumor growth in a murine xenograft model in vivo. **Environmental toxicology**, v. 27, n. 8, p. 480-484, 2012.
- MANSUR, J. S.; BREDER, M. N. R.; MANSUR, M. C. D. A.; AZULAY, R. D. Determinação do fator de proteção solar por espectrofotometria. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 121, 1986.
- MARTÍNEZ, J. A. et al. Reduction in pulmonary metastasis through the use of rutin. **Phytomedicine**, v. 12, n. 1, p. 73-81, 2005. DOI: 10.1016/j.phymed.2003.11.006.
- MENDES, F. E. T.; MIRANDA, G. M.; CAMILO, H. K. V. S.; DA SILVA, L. R. BITU, V. D. C. N.; DE SOUZA, C. E. S. Avaliação da atividade antimicrobiana, antioxidante e citoprotetora da quercetina contra a ação tóxica do cloreto de bário. **Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento**, v. 10, n. 6, p. e12610615632-e12610615632, 2021.
- MONÇÃO, N. B. N.; ARAÚJO, B. Q.; CITÓ, A. M. G. L. Exploring the Chemistry of Natural Products and Biological Properties. **Revista Virtual em Química**, v. 11, n. 3, 2019.
- MUHAMMAD, K. et al. The genus *Cassia* L.: Ethnopharmacological and phytochemical overview. **Phytotherapy Research**, dez. 2020. DOI: 10.1002/ptr.6954. Wiley Online Library. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ptr.6954>. Acesso em: 20 ago. 2021.
- NIKOLIĆ, M.; GLAMOČLIJA, J.; FERREIRA, I. C. CALHELHA, R. C.; FERNANDES, Â.; MARKOVIĆ, T.; GIWELI, A.; SOKOVIĆ, M. Chemical composition, antimicrobial, antioxidant and antitumor activity of *Thymus serpyllum* L., *Thymus algeriensis* Boiss. and *Reut* and *Thymus vulgaris* L. essential oils. **Industrial Crops and Products**, v. 52, p. 183-190, 2014. DOI: 10.1016/j.indcrop.2013.10.006.
- OLIVEIRA, M. B.; VALENTIM, I. B.; SANTOS, T. R.; XAVIER, J. A.; FERRO, J. N.; BARRETO, E. O.; GOULART, M. O. Photoprotective and antiglycation activities of non-toxic *Cocos nucifera* Linn. (Arecaceae) husk fiber ethanol extract and its phenol chemical composition. **Industrial Crops and Products**, v. 162, p. 113246, 2021.

PATEL, K.; PATE, D. K. The beneficial role of rutin, a naturally occurring flavonoid in health promotion and disease prevention: A systematic review and update. In: Bioactive food as dietary interventions for arthritis and related inflammatory diseases, p. 457-479, 2019.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; DE BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G. JIMÉNEZ, J. P.; CALIXTO, F. D. S. Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. **Comunicado Técnico Embrapa**, n. 127, p. 1-4, 2007.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; DE BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G. JIMÉNEZ, J. P.; CALIXTO, F. D. S. Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pelo método de redução do ferro (FRAP). **Comunicado Técnico Embrapa**, n. 127, p. 1-4, 2006. ISSN 1679-6535.

SARMENTO, R. M. Avaliação da capacidade antioxidante, proteção da indução de apoptose e fragmentação de DNA de *Annona glabra*. Dissertação (Mestrado) – **Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Pará**, Belém, p. 98, 2016.

SATARI, A.; GHASEMI, S.; HABTEMARIAM, S.; ASGHARIAN, S.; LORIGOOINI, Z. Rutin: A flavonoid as an effective sensitizer for anticancer therapy; insights into multifaceted mechanisms and applicability for combination therapy. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, 2021.

SCHALKA, S.; REIS, V. M. S. D. Sun protection factor: meaning and controversies. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, v. 86, p. 507-515, 2011.

SIMÕES, C. M. O. SCHENKEL, E. P.; DE MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. Artmed Editora, 2016.

SOUZA, A. H.; CORRÊA, R. C.; BARROS, L.; CALHELHA, R. C.; SANTOS-BUELGA, C.; PERALTA, R. M.; et al. Phytochemicals and bioactive properties of *Ilex paraguariensis*: An in-vitro comparative study between the whole plant, leaves and stems. **International Food Research Journal**, v. 78, p. 286-294, 2015.

SUFFNESS, M.; PEZZUTO, J. M. **Assays related to cancer drug discovery**. Dey, PM, Harborne, JB *Methods in Plant Biochemistry*, vol. 6, 1991.

VICENTINI, F. Efeito fotoquimioprotetor de quercetina incorporada em microemulsão contra os danos na pele causados pela radiação ultravioleta. 173 f. Tese (Doutorado) – **Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto**, Universidade de São Paulo, 2009.

WOLFE, K. L.; LIU, R. H. Structure–activity relationships of flavonoids in the cellular antioxidant activity assay. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 18, p. 8404-8411, 2008.

USMAN, M. et al. Exploring the phytochemicals and anti-cancer potential of the members of Fabaceae family: **A comprehensive review**. **Molecules**, v. 27, n. 12, p. 3863, jun. 2022. DOI: 10.3390/molecules27123863.

SANTOS, R. F. et al. *Cassia fistula*: Propriedades farmacológicas e potenciais terapêuticos. **Journal of Medicinal Plants Studies**, v. 6, n. 5, p. 215-222, 2018. DOI: 10.22271/jmp.2018.6.5.13.

TREASE, G. E.; EVANS, W. C. **Pharmacognosy**. 13. ed. London: Bailliere Tindall, 1985.

WALLIS, T. E. **Textbook of Pharmacognosy**. 5. ed. London: J & A Churchill Ltd, 1985.