



Avaliação da ação antioxidante e citotóxica do extrato etanólico de *Hamelia patens* Jacq. em células NIH 3T3.

Gabriela Rodrigues Oliveira¹, Vinícius Bednarczuk de Oliveira², Regiane Stafim da Cunha³, Edson José Mazarotto⁴, Paulo César Gregório⁴, Giane Favretto²

ARTIGO ORIGINAL

RESUMO

A *Hamelia patens* Jacq (*H. patens*), espécie de planta medicinal pertencente à família Rubiaceae, é conhecida pelo seu crescimento fácil em diversos tipos de solos, suas propriedades curativas para muitas patologias, desde feridas expostas até tumores e diabetes. Por ser uma planta muito versátil, utilizada para diversos fins, já foram realizados muitos testes comprovando sua eficácia em tratamentos importantes, utilizando todas as suas partes, como raiz, folhas e flor. O objetivo deste estudo foi avaliar a capacidade antioxidante in vitro e os efeitos citotóxicos do extrato etanólico de *H. patens* em células NIH/3T3. A análise dos compostos fitoquímicos da planta foi realizada por CLAE (Cromatografia Líquida de Alta Performance). A viabilidade celular foi avaliada pelo ensaio de MTT. A proliferação celular foi realizada com o método de cristal violeta. A atividade antioxidante foi avaliada pelo método de sequestro de radicais livres (DPPH). Os espectros de ultravioleta obtidos por CLAE apresentaram características de flavonoides. A viabilidade celular reduziu significativamente em células tratadas com extrato etanólico de *H. patens* (EEHP) na concentração de 100 µg/mL, 500 µg/mL e 1000 µg/mL. A proliferação celular demonstrou um aumento significativo em células tratadas com 10 µg/mL. Nossos resultados demonstram que o EEHP possui compostos flavônicos, baixa citotoxicidade nas concentrações de 10 µg/mL e 50 µg/mL, e um significativo poder proliferativo, o que sugere ter propriedades cicatrizantes e poder antioxidante. Além disso, nossos resultados contribuem para a pesquisa de novos alvos terapêuticos, e estudos futuros relacionados a esta espécie.

Palavras-chave: *Hamelia* sp., Rubiaceae, Fibroblastos, Toxicidade e Cromatografia.



Evaluation of the antioxidant and cytotoxic action of the ethanolic extract of Hamelia patens Jacq. on NIH 3T3 cells.

ABSTRACT

Hamelia patens Jacq (H. patens), a species of medicinal plant belonging to the Rubiaceae family, is known for its easy growth in different types of soil, its healing properties for many pathologies, from exposed wounds to tumors and diabetes. It is a very versatile plant, used for different purposes, many tests have already been carried out proving its effectiveness in important treatments, using all its parts, such as root, leaves and flower. The objective of this study was to evaluate the *in vitro* antioxidant capacity and cytotoxic effects of *H. patens* ethanolic extract on NIH/3T3 cells. The analysis of the plant's phytochemical compounds was carried out using HPLC (High Performance Liquid Chromatography). Cell viability was assessed by the MTT assay. Cell proliferation was performed using the crystal violet method. Antioxidant activity was evaluated using the free radical scavenging method (DPPH). The ultraviolet spectra obtained by HPLC showed characteristics of flavonoids. Cell viability was significantly reduced in cells treated with ethanolic extract of *H. patens* (EEHP) at concentrations of 100 µg/mL, 500 µg/mL and 1000 µg/mL. Cell proliferation demonstrated a significant increase in cells treated with 10 µg/mL. Our results demonstrate that EEHP has flavonic compounds, low cytotoxicity at concentrations of 10 µg/mL and 50 µg/mL, and a significant proliferative power, which suggests it has healing properties and antioxidant power. Furthermore, our results contribute to the search for new therapeutic targets and future studies related to this species.

Keywords: *Hamelia* sp., Rubiaceae, Fibroblasts, Toxicity and Chromatography.

Instituição afiliada – 1- Centro Universitário Campos de Andrade, 2- Centro Universitário Internacional, 3- Universidade Federal do Paraná, 4- Centro Universitário de Ensino, Ciência e Extensão do Paraná.

Dados da publicação: Artigo recebido em 10 de Setembro e publicado em 20 de Outubro de 2023.

DOI: <https://doi.org/10.36557/2674-8169.2023v5n5p1407-1422>

Autor correspondente: Paulo César Gregório - paulocezargregorio@gmail.com



This work is licensed under a [Creative Commons Attribution 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).



1 INTRODUÇÃO

As plantas são uma fonte importante de produtos naturais biologicamente ativos, produzindo uma grande diversidade de compostos químicos, muitos dos quais se constituem em modelos para síntese de um grande número de fármacos. Estes ativos podem agir no organismo de diferentes maneiras, tais como: diuréticas, calmantes, depurativas, fortificantes, ação coagulante, estimulantes, sudoríferas, hipotensoras, função reguladora intestinal, emolientes e reconstituintes (SIMÕES et al., 2007, SOUSA et al., 2011).

A família Rubiaceae compreende cerca de 620 gêneros e mais de 13.000 espécies. É uma família extremamente grande, com muita diversidade entre seus pertencentes, os quais, na sua maior parte, são alvos de estudos terapêuticos (DO CARMO & SIMÕES, 2017). A *Hamelia patens* Jacq pertence à família Rubiaceae, é conhecida por sua facilidade de crescer em qualquer lugar e se adaptar a diversos tipos de solos (AHMAD et al., 2012). É uma planta muito utilizada na medicina tradicional mexicana, principalmente por possuir propriedades antimicrobianas, analgésicas e anti-inflamatórias (RIOS & AGUILAR-GUADARRAMA, 2006).

A principal função da *H. patens* é a ação anti-inflamatória. Há relatos também de melhoras em casos de diarreia, picada de mosquitos, cólicas menstruais e atividade citotóxica contra linhagem de células tumorais (ABUBACKER et al., 2013). Pesquisas realizadas em vários países têm mostrado que os extratos desta planta possuem propriedades bactericidas e antifúngicas (MARTINEZ & PACHECOII, 2008). Em um teste de comparação entre ação antifúngica de *H. patens* e alguns medicamentos próprios para esse fim, a planta apresentou potencial terapêutico mais eficaz contra *E. floccosum*, *M. canis* e *T. mentagrófitos* (CORNEJO-GARRIDO et al., 2015).

Os extratos aquosos e alcoólicos das folhas são ativos contra *Staphylococcus aureus* e o extrato aquoso da casca é mais ativo contra *Escherichia coli* (LORENZI & MATOS, 2008). Segundo Santos et al. 2023, o extrato alcoólico é eficiente no controle de *E. coli*, *S. aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*. Foi descoberto que tanto a fração hexânica e a fração clorofórmica de *H. patens* inibem o crescimento de *E. coli*, e seu extrato metanólico foi efetivo contra *P. aeruginosa* (CAMPORESE et al., 2003).

Estudos realizados por Menarejon et al. (2009), demonstraram que em testes laboratoriais o extrato da casca da raiz de *H. Patens* obteve maior atividade citotóxica seletiva para lesões do colo uterino, principalmente contra células HeLa, na concentração de 13 g/mL e células SiHa na concentração 22 g/mL, ou seja, o uso da planta para o auxílio em abscessos e feridas uterinas pode agregar positivamente no tratamento. Estes resultados apoiam o uso de plantas medicinais em um conjunto de patologias relacionadas, como tumores, cortes e lesões (MENA-REJON et al., 2009).



Na cidade de El Salvador, o costume é misturar o extrato bruto das folhas de *H. patens* em sabão e vende-se como agente de limpeza para feridas, tendo um alto nível de eficácia. Já em Nova York, a planta é encontrada nos parques e se tornou conhecida por ser um componente dos banhos de ervas, onde tira o inchaço, cura fungos na pele, cicatriza ferida e alivia dores de cabeça (GOMEZ-BELOZ et al., 2003)

Estudos fitoquímicos sobre esta espécie confirmam a presença de alguns alcalóides oxindólicos, um glicosídeo de flavonona, ácido rosmarínico, e flavonóides que estão presentes no extrato metanólico das folhas de *H. Patens*. Esses compostos contribuem para a atividade antibacteriana contra o *S. aureus* (CAMPORESE et al., 2003).

A *H. patens* é rica em fitoquímicos ativos, os quais incluem alcalóides, flavonóides e isopteropodina, descritos como eficazes imunostimulantes. Estes produtos químicos também apresentaram efeito modulador positivo nos neurotransmissores cerebrais 5-HT₂, alvo para drogas usadas no tratamento de depressão, distúrbios alimentares, ansiedade, obesidade e condições de dores crônicas. Cientistas Indianos descobriram uma pequena quantidade de efedrina nas folhas de *H. patens* o qual se trata de um alcalóide estimulante. Nas partes aéreas foram encontrados o ácido rosmarínico, um fitoquímico conhecido por sua propriedade antidepressiva (AHMAD et al., 2012).

Os efeitos toxicológicos apresentados pela espécie são amplamente estudados, e devem ser analisados em termos de propriedades químicas, biológicas e fonológicas, não havendo muitos relatos até os dias atuais. O que sabemos é que *H. patens* apresenta baixa toxicidade e exerce efeitos antinociceptivos (ALONSO-CASTRO et al., 2015).

O presente trabalho visa elucidar os mecanismos citotóxicos e antioxidantes da *H. Patens*, com o intuito de descobrir novos alvos terapêuticos, aumentando assim, a pesquisa relacionada a esta espécie que tem muito a agregar na medicina devido à suas propriedades já estudadas.

2 METODOLOGIA

2.1 Obtenção das Plantas

Foram utilizadas plantas de *H. patens* cedidas gentilmente pelo viveiro de mudas “Cipreste”, localizado no Estado de São Paulo. A secagem foi realizada em temperatura ambiente durante uma semana. Após este período foi levada à estufa a 50 °C por 8 horas para a obtenção de um teor-padrão de umidade de 20%, de acordo com a Farmacopéia Brasileira 5ª edição (“Farmacopeia Brasileira, 5ª edição Parte 1”, 2010).

2.2 Linhagem Celular



Foram utilizadas as linhagens comerciais de células de fibroblastos de camundongo NIH/3T3 (American Type Culture Collection). Estabelecidas a partir de um embrião de camundongo NIH Swiss. As células foram gentilmente cedidas pelo departamento de análises clínicas da Universidade Federal do Paraná.

2.3 Preparo do Extrato Etanólico

O extrato etanólico de *H. patens* (EEHP) foi obtido por maceração completa da planta, triturada em álcool de cereais 99,9% ("Farmacopeia Brasileira, 5ª edição Parte 1", 2010). Em um béquer foram pesados 15 g da planta e deixados durante 7 dias em frasco de vidro âmbar à temperatura ambiente, com agitação esporádica do recipiente. Após este período o extrato foi filtrado com funil e algodão. Aproximadamente 50 mL do extrato foram adicionados em placas de petri e levados a secura. Então foi realizada a diluição do extrato seco em DMSO (Dimetilsulfóxido) nas concentrações 10 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 500 µg/mL e 1000 µg/mL.

2.4 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

O extrato bruto de *Hamelia* foi diluído em metanol (MeOH) a uma concentração de 20 mg/mL e submetidos à análise por CLAE (Merck-Hitachi® –Lachrom Elite) com detector diodo (DAD) em 352 nm, coluna (XTerra®) preparativa de fase reversa RP18 (5 µm, 4,6 x 250 mm), com volume de injeção de 20 µL, fluxo 1,00 mL/min. Como fase móvel foi utilizado o gradiente de concentração o sistema H₂O:H₃PO₄ a 0,1% (A) e MeOH (B) na seguinte programação: 1-25 min, iniciando com 10% de fase B, 25-30min isocrático de 100% de fase B. O metanol utilizado foi grau HPLC (TEDIA®) e a água Milli-Q® (MABRY *et al.*, 1970).

2.5 Cultivo Celular

As células NIH/3T3 foram mantidas em frascos de cultivo contendo meio Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB) (Gibco, Grand Island, EUA) e 10 mg/mL de penicilina/estreptomicina (Gibco, Grand Island, EUA). Os frascos foram mantidos em incubadora à 37 °C com 5% de CO₂, até atingir confluência. O meio foi trocado a cada 4 dias, quando as células foram submetidas à tripsinização. Foram incubadas com 1,5 mL de tripsina 0,25% durante 5 min a 37 °C. Após o desprendimento dos tapetes celulares, as células foram homogeneizadas com DMEM acrescido de 10% de SFB e a suspensão celular obtida foi dividida em várias garrafas para subcultivo (GEORGE *et al.*, 2010).

2.6 Avaliação da Viabilidade Celular



A viabilidade celular foi avaliada através do ensaio colorimétrico do sal brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazólio (MTT), segundo metodologia previamente descrita (MOSMANN, 1983). As células foram cultivadas em placas de 96 poços (10^4 /poço). Após um período de 24 horas de incubação, o meio foi substituído e as células foram tratadas com o extrato etanólico de *H. patens* nas concentrações de 10 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 500 µg/mL e 1000 µg/mL solubilizados em DMSO por período adicional de 24 horas. Posteriormente, o meio foi trocado e adicionado 10 µL/poço da solução de MTT (5 mg/mL em PBS), e a placa foi incubada por 4 horas. Após as 4 horas o meio foi removido e substituído por DMSO, para a dissolução dos cristais de formazam, a leitura da absorbância foi realizada em 570 nm em leitor de microplaca Bio-Rad 680® (Califórnia, EUA). Foram realizados três experimentos em quadruplicatas.

2.7 Determinação de Proliferação Celular pelo Ensaio de Cristal Violeta

As células NIH/3T3 foram cultivadas em placa de 96 poços (10^5 células/poço). Após 24 horas, o meio de cultivo foi substituído por 200 µL de meio contendo diferentes concentrações do extrato etanólico (10 µg/mL e 50 µg/mL), para o controle foram utilizadas células somente com meio de cultivo 10% de SFB. Após o tempo de tratamento, o meio de cultivo foi retirado e os poços foram lavados com 200 µL de PBS à 37 °C. Em seguida foram adicionados 50 µL de paraformaldeído 2% em cada poço e incubado a temperatura ambiente por 30 minutos para a fixação das células. Após a remoção do fixador, foi adicionado 100 µL da solução do corante cristal violeta e incubado por 10 minutos a temperatura ambiente. Passado o tempo, o corante foi removido e cada poço foi lavado com 120 µL de água destilada. Foram então adicionados 100 µL de ácido acético 33% e homogeneizado lentamente até a completa dissolução e feita a leitura da absorbância em leitor de microplaca (Synergy HT Multi-Detection Microplate Reader®) a 570 nm (GILLIES et al., 1986).

2.8 Determinação da atividade antioxidante através do método de sequestro de radicais livres (DPPH)

O potencial de redução do radical DPPH das amostras foi analisado espectrofotometricamente a 518 nm (MENSOR et al., 2001). Foram preparadas cinco soluções metanólicas distintas de cada amostra e interpoladas em gráfico para determinação da equação da reta. Em tubo de ensaio, foram adicionados 5 mg do extrato bruto de *H. patens*, adicionado 2 mL de uma solução metanólica de DPPH na concentração de 0,03 mmol/mL. Para cada amostra foi preparado um branco com 2,5 mL da solução e 1 mL de metanol para cada concentração. Paralelamente foi feito um controle com 2,5 mL de metanol e 1 mL de DPPH. Após 30 minutos de reação, foram realizadas as leituras em espectrofotômetro



correspondente a absorção máxima do radical em estudo. Como padrão foi utilizado a vitamina C.

Os valores de concentração utilizadas para exercer 50% da atividade antioxidante (IC_{50}) foram calculados no gráfico onde a abscissa representa a concentração da amostra e a ordenada é a média da AA% das amostras testadas, cada amostra possui 5 pontos. A equação da reta do gráfico, do tipo $y = ax + b$, serve de base para determinação do valor de IC_{50} .

2.9 Análise Estatística

Os resultados foram expressos em médias \pm erro padrão da média (EPM). Para avaliar o resultado entre os grupos foram realizados os testes *t* de Student ou Anova para dados pareados e Mann-Whitney e Kruskal Wallis para dados não pareados. Os resultados foram considerados significativos quando o valor de $p \leq 0,05$. As análises foram realizadas utilizando SISVAR versão 5.6 build 86 (FERREIRA, 2011).

3 RESULTADOS

3.1 Cromatografia Líquida de alta eficiência (CLAE)

No cromatograma presente na figura 1, observa-se a presença de três picos cromatográficos entre 12,5 e 17,5 minutos. Os espectros de ultravioleta dos picos 1, 2 e 3 apresentam características de flavonoides, possuindo duas bandas de absorção máxima, uma relacionada com os anéis B e C, em 300 a 380 nm (banda I) e a segunda banda relacionada ao anel A, em 230 a 280 nm. Os espectros da classe dos flavonoides variam conforme oxigenação do composto, provocando desvios das bandas de absorção.

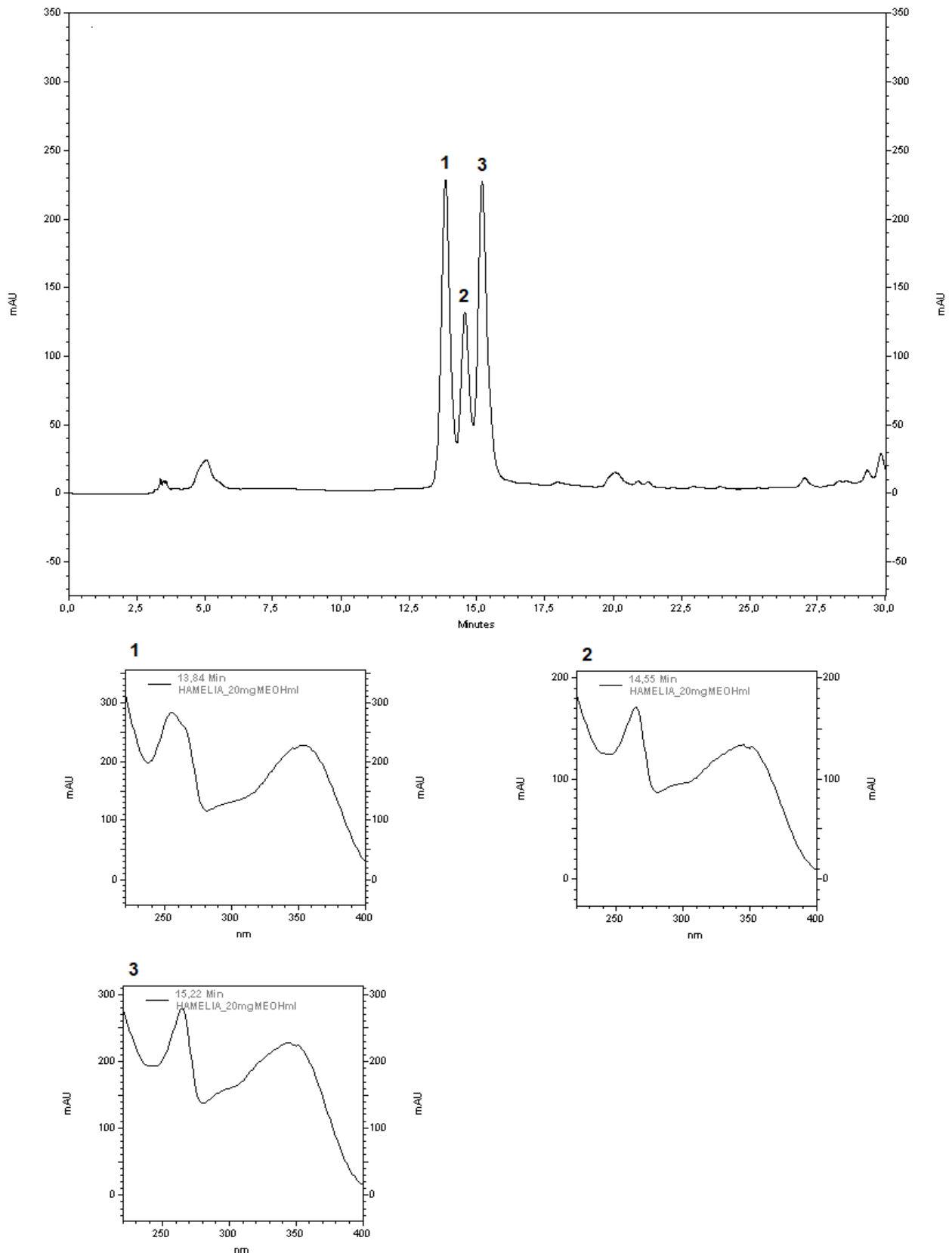


Figura 1 - Representação esquemática dos espectros de UV dos picos 1,2,3 com características de flavonoides.

Nota: (1) Pico com aparecimento em 13,84 min., (2) Pico com aparecimento em 14,55 min., (3) Pico com aparecimento em 15,22 min.

3.2 Viabilidade Celular

A viabilidade celular foi avaliada pelo ensaio colorimétrico MTT, observado na figura 2. Esse ensaio se baseia na capacidade de células viáveis reduzirem o sal de MTT, por meio de uma enzima mitocondrial desidrogenase succínica, em cristais de formazan de cor azul púrpura que se acumula no citoplasma celular. As células foram tratadas com as concentrações de 10 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 500 µg/mL e 1000 µg/mL de EEHP, em células NIH/3T3 após 24h de tratamento. Nas concentrações acima de 50 µg/mL, a viabilidade celular foi inibida de uma forma dose-dependente.

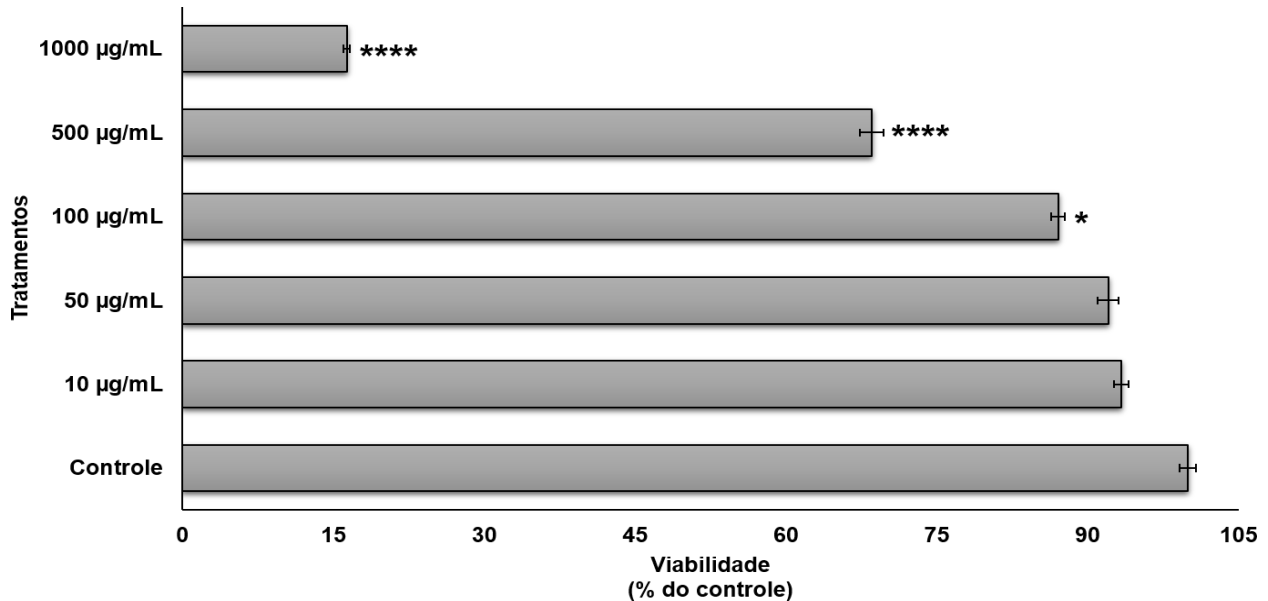


Figura 2 - Viabilidade celular da linhagem NIH/3T3 tratadas com EEHP em diferentes concentrações.

Nota: As células NIH/3T3 foram tratadas com o extrato etanólico da *H. patens* (EEHT) nas concentrações 10 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 500 µg/mL e 1000 µg/mL a 37 °C por 24 horas e tratadas com MTT por 4 horas. O controle (células não tratadas) foi considerado 100%. Os dados foram expressos como média ± EPM de oito repetições. * $p < 0,05$ Controle x EEHP 100 µg/mL, **** $p < 0,001$ Controle x EEHP 500 µg/mL, **** $p < 0,001$ Controle x EEHP 1000 µg/mL.

3.3 Proliferação Celular

A figura 3 apresenta o resultado da exposição da linhagem celular NIH/3T3 ao EEHP, pelo emprego do cristal violeta para determinar o número de células em monocamada. A concentração de 10 µg/mL e 50 µg/mL, em 24 horas de exposição resultaram em aumento estatisticamente significativa da proliferação celular na concentração de 10 µg/mL.

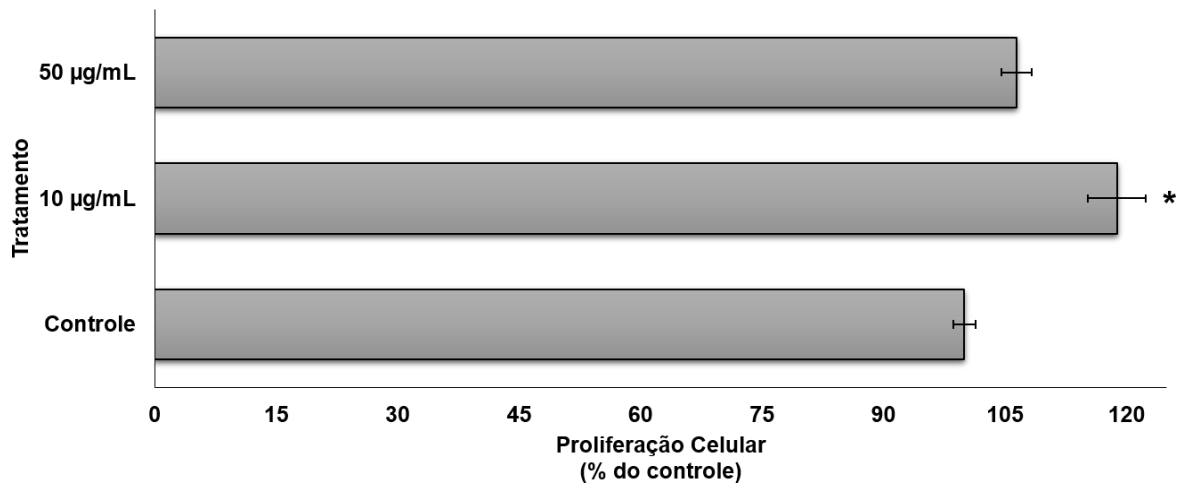


Figura 3 - Proliferação Celular de NIH/3T3 tratadas com o EEHP.

Nota: As células NIH/3T3 foram tratadas com o extrato etanólico de *H. patens* (EEHT) nas concentrações 10 µg/mL e 50 µg/mL pelo tempo de exposição de 24 horas. Estes dados representam o resultado de quatro repetições. O controle (células não tratadas) foi considerado 100%. * $p < 0,05$ Controle x EEHP 10 µg/mL.

3.4 Avaliação da Atividade Antioxidante

Na medida de IC₅₀, que expressa a quantidade de antioxidante necessária para reduzir em 50% a concentração inicial de DPPH, os valores obtidos foram de 45,20 mg/mL com desvio padrão de 0,9965.

4 DISCUSSÃO

A *H. Patens* é muito conhecida por seu uso no tratamento da dor, entretanto seus efeitos toxicológicos e antinociceptivos continuam a ser estudados. Testes de toxicidade geralmente são feitos em plantas medicinais para constatar efeitos farmacológicos, mas sobre a *H. Patens* existem poucos relatos deste teste já realizado (ALONSO-CASTRO et al., 2015). Os resultados do presente estudo demonstraram por CLAE a presença de três picos cromatográficos entre 12,5 e 17,5 minutos com características de flavonoides. Demonstramos que o EEHP possui uma baixa citotoxicidade, podendo ser utilizado em concentrações até 50 µg/mL. Além disso foi demonstrado que na concentração de 10 µg/mL a proliferação celular é significativa, sugerindo que ela pode ter um bom poder cicatrizante. Finalmente, demonstrou-se que o EEHP possui atividade antioxidante com IC₅₀ de 45,20 mg/mL.



Estudos realizados por Ahmad et al., 2012 demonstraram que *H. patens* é rica em fitoquímicos ativos, os quais incluem alcaloides, flavonoides e isopteropodina, descritos como eficazes imunostimulantes. Foi demonstrado anteriormente por Rios & Aguilar-Guadarrama (2006) que a partir de folhas secas de *H. patens* foi possível isolar 10 produtos ativos sendo eles 2 alcaloides, 1 flavona, 2 esteroides, 1 sesquiterpeno e 4 triterpenos. Outra pesquisa desenvolvida por Regivaldo et al., (2004) relatou o isolamento de flavonoides, triterpenos, esteroides e um ácido fenólico a partir do estudo químico das folhas, caule e talos. Esses estudos vêm a corroborar com nossos achados por CLAE onde os espectros de ultravioleta apresentam características de flavonoides.

Os flavonoides representam um dos principais grupos de compostos fenólicos sendo um dos mais diversificados entre os produtos de origem natural, possuem também importantes propriedades farmacológicas com a ação anti-inflamatória e antioxidante (NIE et al., 2016; Dos SANTOS & FARIAS RODRIGUES, 2017). Essas propriedades dos flavonoides justificam a atividade antioxidante e proliferativa encontrada em nosso estudo.

Segundo Alonso-Castro et al., (2015) pesquisas realizadas com o extrato de folhas de *H. Patens* utilizados por via oral em camundongos, não apresentou toxicidade, porém se for administrado intraperitonealmente pode ser considerado moderadamente tóxico (ALONSO-CASTRO et al., 2015). Anteriormente, Hayes et al., (1989), no teste de toxicidade não observou mortalidade na utilização de 5,0 g/kg administrados oralmente em camundongos. Outro estudo realizado por Perez-Meseguer et al., (2016), demonstrou que a linhagem de células Vero tratada com extratos de *H. Patens*, não apresentou citotoxicidade significativa. Em nosso estudo demonstramos que a citotoxicidade começa a ser pronunciada em 100 µg/mL em células NIH/3T3. Doses de até 50 µg/mL não aparentam ser tóxicas, demonstrando ser um extrato em potencial para a atividade cicatrizante da epiderme.

O cenário global está em constante mudança, onde a procura de produtos vegetais não tóxicos tem aumentado diariamente na medicina tradicional (AHMAD et al., 2012). As avaliações de citotoxicidade devem ser feitas por mais de uma metodologia para ser considerado efetivo. Além do método de MTT, foi realizado o método de proliferação celular através do emprego de corante cristal

violeta, onde determina a quantidade de células em diferentes concentrações, analisando através da absorvância se houve ou não crescimento de células, identificando assim a proliferação (GILLIES et al., 1986). Estudos realizados por Gomez-Beloz et al., (2003) demonstraram que a planta possui uma ação cicatrizante em cortes e feridas em relação ao epitélio (GOMEZ-BELOZ et al., 2003), corroborando com nossos achados nos teste de proliferação celular, que foi significativa na diluição mais baixa do extrato.

Os antioxidantes, podem ser classificados como toda e qualquer substância que tenha a capacidade de inibir ou adiar a oxidação, sendo então extremamente procurados e estudados na atualidade (MORAIS et al., 2013). Estudos realizados por Díaz et al., (2016) demonstraram que o EEHP na concentração de 240 mg/mL possui um potencial antioxidante com IC₅₀ de 55,8 mg/mL. Em nosso estudo comprovamos que essa ação antioxidante acontece a partir de 45,2 mg/mL.

Pesquisas desenvolvidas por Surana et al., (2016) mostraram que os extratos de metanol bruto, clorofórmio e éter de petróleo feitos a partir das raízes de *H. Patens* possuem potencial antioxidante *in vitro*, quando comparados com os compostos padrão como o ácido ascórbico. A ação antioxidante da *H. patens* auxilia no rejuvenescimento da epiderme, aumentando a elasticidade comprovando e demonstrando sua eficácia em lesões, cortes, e seu potencial cicatrizante.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Após a realização de todos os ensaios, foi possível evidenciar, que o extrato bruto da *H. patens* possui a presença de característica de flavonoides, metabólitos essenciais anti-inflamatórios, com potencial cicatrizante e antimicrobiano. A toxicidade foi evidenciada somente a partir da concentração de 100 µg/mL, sua proliferação celular é maior pronunciada na concentração de 10 µg/mL. Apresentou ainda potencial antioxidante com IC₅₀ de 45,20 µg/mL comprovando sua eficácia no potencial cicatrizante de cortes e lesões.

Mais estudos devem ser realizados em relação ao seu potencial curativo, uma vez que os efeitos antinociceptivos e tóxicos da planta são pouco estudados. O estudo das propriedades cicatrizantes e o poder antioxidante,



pode contribuir para a pesquisa de novos alvos terapêuticos, aumentando assim, a pesquisa relacionada a esta espécie que tem muito a agregar na medicina devido à suas propriedades já estudadas.

REFERÊNCIAS

Abubacker, M.N., Sathya, C. & Prabakaran, R., 2013. In vitro antifungal potentials of *Hamelia patens* Jacq. (Rubiaceae) aqueous extracts of leaves, flowers and fruits. *Biosciences Biotechnology Research Asia*, 10(2), pp.699–704.

Ahmad, A. et al., 2012. A mini review on chemistry and biology of *Hamelia Patens* (Rubiaceae). *Pharmacognosy Journal*, 4(29), pp.1–4.

Alonso-Castro, A.J. et al., 2015. Toxicity and antinociceptive effects of *Hamelia patens*. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 25(2), pp.170–176.

Camporese, A. et al., 2003. Screening of anti-bacterial activity of medicinal plants from Belize (Central America). *Journal of Ethnopharmacology*, 87(1), pp.103–107.

Do Carmo, J.A.M. & Simões, A.O., 2017. Rubiaceae no Município de Camanducaia, Serra da Mantiqueira, Minas Gerais: Sinópse e chave interativa. *Rodriguesia*, 68(4), pp.1411–1429.

Cornejo-Garrido, J. et al., 2015. In vitro and in vivo antifungal activity, liver profile test, and mutagenic activity of five plants used in traditional Mexican medicine. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 25(1), pp.22–28.

Díaz, R.C.T. et al., 2016. Antioxidant Activity Assessment of Plants Used in Huastec Traditional Medicine , Mexico. , 3(February), pp.488–498.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência e*



Agrotecnologia (UFLA), 35: 1039-1042, 2011.

Gomez-Beloz, A. et al., 2003. Double incision wound healing bioassay using *Hamelia patens* from El Salvador. *Journal of Ethnopharmacology*, 88(2–3), pp.169–173.

Martinez, L. & Pachecoll, B., 2008. Morfometria de fibroblastos e fibrócitos durante o processo cicatricial na pele de coelhos da raça Nova Zelândia Branco tratados com calêndula. *Ciência Rural*, 38(6), pp.1662–1666.

Mena-Rejon, G. et al., 2009. In vitro cytotoxic activity of nine plants used in Mayan traditional medicine. *Journal of Ethnopharmacology*, 121(3), pp.462–465.

Morais, M.L. et al., 2013. Determination of antioxidant potential in vitro of brazilian Cerrado fruits.

Revista Brasileira de Fruticultura, 35(2), pp.355–360.

Nie, D. et al., 2016. Endothelial microparticles carrying hedgehog-interacting protein induce continuous endothelial damage in the pathogenesis of acute graft-versus-host disease. , (32), pp.821–835.

Perez-Meseguer, J. et al., 2016. Antioxidant and hepatoprotective activity of *Hamelia patens* extracts. *Pak J pharm sci.*, pp.343–8.

Regivaldo, R. et al., 2004. Alcalóides oxindólicos isolados das folhas de *Hamelia patens* Resultadose Discussão. , p.3197.

Rios, M.Y. & Aguilar-Guadarrama, A.B., 2006. Alcaloides indólicos, terpenos, esteroides y flavonoides de las hojas de *Hamelia patens* Jacquin (Rubiaceae). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 11(1), pp.1–5.

Dos Santos, D.S. & Farias Rodrigues, M.M., 2017. Atividades farmacológicas dos flavonoides: um estudo de revisão. *Estação Científica (UNIFAP)*, 7(3), p.29.

DOS SANTOS, P.; MAZAROTTO, E. J.; GREGÓRIO, P. C.; FAVRETTO, G.



Análise fitoquímica e avaliação in vitro da ação antimicrobiana do extrato fluido de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) e amélia (*Hamelia patens* Jacq.). *Brazilian Journal of Implantology and Health Sciences*, [S. l.], v. 5, n. 5, p. 884–899, 2023. DOI: 10.36557/2674-8169.2023v5n5p884-899. Disponível em: <https://bjih.s.emnuvens.com.br/bjih/article/view/670>. Acesso em: 16 out. 2023.

Surana, A.R., Kumbhare, M.R. & Wagh, R.D., 2016. Estimation of Total Phenolic and Total Flavonoid Content and Assessment of in vitro Antioxidant Activity of Extracts of *Hamelia patens* Jacq. Stems. *Research Journal of Phytochemistry*, 10(2), pp.67–74. Available at: <http://www.scialert.net/abstract/?doi=rjphyto.2016.67.74>.