

EFEITO TÓXICO DO EXTRATO DAS PARTES AÉREAS DA ERVA MATE: ESTUDO *in vitro* COM ERITRÓCITOS PREVIAMENTE EXPOSTOS AO HERBICIDA 2,4D

Jamille Felipi Bonazza¹, Jéssica dos Santos Goulart¹, Thayná Oliveira Dias¹, Caroline Alegransi¹, Gabrielly Machado Ribeiro¹, Erika Emanuele Costa Rodrigues¹ e Roberta Cattaneo¹

1. Universidade de Cruz Alta (UNICRUZ), Laboratório de Plantas Medicinais e Estresse Oxidativo (LamOX), Cruz Alta, RS, Brasil.

RESUMO

Objetivou-se neste estudo avaliar o efeito toxicológico do extrato das partes aéreas da Erva Mate (EM), a partir de testes *in vitro* com eritrócitos humanos previamente expostos ao ácido 2,4 diclorofenoxiacético (2,4-D). Para isto foi realizada análise fitoquímica do extrato da EM e este extrato foi utilizado para realização dos testes *in vitro*, utilizando o extrato nas concentrações de 0,100; 0,250 e 0,500mg/mL em eritrócitos humanos que foram anteriormente expostos ao herbicida 2,4D. Determinações dos níveis das Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS), níveis da Glutathiona Reduzida (GSH) e a atividade da Catalase (CAT) foram realizadas afim de mensurar o funcionamento do sistema antioxidante após as exposições. Apesar de termos encontrado no extrato flavonóides e taninos, em todas as concentrações dele testadas, houve aumento dos níveis de TBARS e da GSH e diminuição da atividade da CAT. Demonstrando um efeito tóxico do extrato hidroetanólico das partes aéreas da EM nas concentrações (0,100; 0,250 e 0,500 mg/mL), frente a eritrócitos previamente expostos ao 2,4-D.

Palavras-chave: Estresse oxidativo, Pesticidas e *Ilex Paraguariensis*.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the toxicological effect of the extract of aerial parts of Erva Mate (EM), from *in vitro* tests with human erythrocytes previously exposed to 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D). For this, a phytochemical analysis of the MS extract was performed and this extract was used to perform the *in vitro* tests, using the extract in concentrations of 0.100; 0.250 and 0.500mg / mL in human erythrocytes that were previously exposed to the 2.4D herbicide. Determinations of the levels of Reactive Substances to Thiobarbituric Acid (TBARS), levels of Reduced Glutathione (GSH) and the activity of Catalase (CAT) were carried out in order to measure the functioning of the antioxidant system after exposures. Although we found flavonoids and tannins in the extract, in all concentrations tested, there was an increase in TBARS and GSH levels and a decrease in CAT activity.

Demonstrating a toxic effect of the hydroethanolic extract of aerial parts of MS in concentrations (0.100; 0.250 and 0.500 mg / mL), against erythrocytes previously exposed to 2,4-D.

Keywords: Oxidative stress, Pesticides and *Ilex Paraguariensis*.

1. INTRODUÇÃO

Os herbicidas são agroquímicos que agem na redução do NADPH e na inibição da fixação de CO₂ promovendo a produção de superóxido. O 2,4-D (ácido 2,4-diclorofenilacético) proporciona a destruição das membranas, dessecando todo o tecido verde que entra em contato (MARTINS, 2013).

O ácido 2,4 – diclorofenoxiacético (2,4-D) possui classificação toxicológica do tipo I, que é de extrema toxicidade, promovendo ativação de genes, modificando os RNA sintetizados, aumentando a atividade polimerase dos RNA e DNA, também interferindo no funcionamento de enzimas respiratórias. Este conjunto de alterações metabólicas provoca a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) (MOSCARDI et al.,2018; DALBO et al., 2019).

As principais vias de intoxicação são a dérmica, oral e ocular é genotóxico, hepatóxico e neurotóxico. Os maiores relatos de intoxicação e óbito do 2,4-D ocorreram intencionalmente devido a ingestão oral. Após absorção, devido à alta hidrossolubilidade, o 2,4-D é distribuído por todo o organismo, não se acumula em nenhum tecido, sendo excretado inalterado na urina e nas fezes tendo uma meia-vida de eliminação estimada entre 10 a 36 horas (CONITEC, 2019; NORTOX, 2019).

A *Ilex Paraguariensis*, conhecida como Erva Mate (EM) é utilizada em preparações farmacêuticas onde está se sendo incorporada em várias farmacopeias devido as propriedades terapêuticas como antirreumática, diurética e anti-inflamatória (SERAFIM et al., 2016). A planta de EM tem propriedades antioxidantes, profiláticas, curativas, fontes de algumas vitaminas, sais minerais, alcaloides e inúmeros nutrientes (CAMBRA, 2017).

Um estudo recente descreveu que a EM possui altas concentrações de minerais, como cálcio, manganês, potássio, alumínio, fosforo e ferro e rico. Também contém vitaminas A, B1, B2, C e D e é rico em proteínas, ácidos fenólicos, aminoácidos essenciais, ácido clorogênico, saponinas e niacina. Um dos mais importantes ingredientes biologicamente ativos presentes na erva-mate são os polifenóis que são antioxidantes hidrofílicos naturais (MIGOTTO, 2015).

A EM traz benefícios para a saúde porque é um estimulante das atividades físicas e mentais, pode atuar nos nervos e nos músculos, eliminando a fadiga, tem um estímulo mais longo que o café e não deixa insônia e irritabilidade, também atua na circulação sanguínea, acelera o ritmo cardíaco, promove a digestão e ótimo diurético natural. Além de desempenhar um papel importante na regeneração celular, também é considerado um medicamento para pele e regula as funções do coração e respiração (REIGOSA; CARDOSO, 2015).

Diante do exposto, este estudo teve como objetivos avaliar os principais fitoquímicos presentes no extrato hidroetanólico das partes aéreas da EM e avaliar o efeito antioxidante deste extrato, em testes *in vitro* com eritrócitos humanos expostos previamente ao herbicida ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D).

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 CARACTERIZAÇÃO DO ESTUDO E ASPECTOS ÉTICOS

É um estudo experimental quantitativo *in vitro*, que integra o projeto matricial intitulado “Estudo do efeito antioxidante de diferentes princípios ativos”, aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Cruz Alta com número de parecer 1.587.863 (Anexo A). Os participantes deste estudo foram consultados sobre a viabilidade de participação na pesquisa, e concordando, receberam o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Anexo II), documento explicativo que descreve os objetivos, metodologias e relevância do estudo, além de assegurar a manutenção dos princípios bioéticos durante todas as etapas executadas. Este termo foi disponibilizado em linguagem clara, e foi assinado em duas (02) vias, ficando uma em posse do participante e outra em poder do pesquisador.

2.2 PREPARO DO EXTRATO HIDROETANÓLICO DAS PARTES AÉREAS DA EM

A EM utilizada para realização deste estudo, é proveniente do município de Cruz alta, noroeste do Rio Grande do Sul. Ela foi coletada e submetida a identificação de espécie pelo Dr. Diego Pascoal Golle, que a identificou como *Ilex paraguariensis*. Após as partes aéreas da EM foram moídas em liquidificador industrial de 1200W, com o objetivo de aumentar a superfície de contato e secas ao sol por uma semana (temperatura de 17-25°C). Para

preparação do extrato hidroetanólico utilizamos a metodologia descrita por Simões *et al* (2010), pesando 10g de partes aéreas secas e trituradas, adicionando 60mL de álcool 70% como solvente (proporção de 1:6). O extrato foi submetido a agitação manual diária durante 14 dias e após foi filtrado no evaporador rotatório.

2.3 CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA DO EXTRATO HIDROETANÓLICO DAS PARTES AÉREAS DA EM

O teor de flavonoides totais foi determinado de acordo com o método descrito por Woisky e Salatino (1998). A amostra foi diluída a uma concentração de 1 mg/mL em metanol e acrescida de 0,5 mL de cloreto de alumínio a 2% e 2,5 mL de metanol. Após 30 minutos as absorvâncias foram lidas em espectrofotômetro no comprimento de onda de 420 nm. Os testes foram realizados em duplicata e para o cálculo do doseamento foi utilizada a curva padrão de quercetina. Os teores de flavonoides foram determinados em miligrama de quercetina por grama de planta seca.

A determinação de taninos condensados foi realizada utilizando o método descrito por Morrison (1995). A amostra foi diluída a uma concentração de 25mg/mL em metanol. Posteriormente foi adicionado 0,1mL da amostra, 0,9mL de metanol seguidos por 2,5mL de uma solução de vanilina (1g vanilina diluída em 100mL de metanol) e 2,5mL de uma solução contendo 8mL de ácido clorídrico concentrado diluído em 100mL de metanol. A solução foi aquecida à 60°C por 10 minutos e as absorvâncias foram determinadas em espectrofotômetro no comprimento de onda de 500nm. As análises foram realizadas em duplicata e o teor de taninos totais será expresso em miligramas equivalentes de catequina por grama de semente, baseados na curva padrão de catequina.

A atividade de remoção do radical DPPH dos extratos foi quantificada após a incubação com o radical DPPH durante 30 minutos (WU, 2012).

2.4 POPULAÇÃO E AMOSTRA

A população do estudo contou com 12 voluntários que se disponibilizaram ao estudo, com critérios de inclusão que foram todos do sexo masculino de 18 a 50 anos, saudáveis sem doenças crônicas ou qualquer outro tipo de comorbidade e sem exposição prévia a agroquímicos que se disponibilizaram a ser voluntários. Os critérios de exclusão foram aqueles que não se encaixaram nos critérios de inclusão.

2.5 COLETA DAS AMOSTRAS

As coletas de sangue dos participantes voluntários foram realizadas nas residências dos mesmos, com o uso de um tubo contendo ácido etilenodiaminotetra-acético (EDTA), onde foram centrifugadas e retirada o plasma. Após a centrifugação, os eritrócitos foram separados e lavados três vezes com solução salina isotônica 0,9% e centrifugados. Após a lavagem final, os eritrócitos foram ressuspensos em solução salina, e em seguida, diluídos até atingirem um hematócrito de 10%, conforme técnica descrita por Catalgol, Ozden e Alpertunga (2007). Em cada grupo foi utilizado 1500 µL de eritrócitos em todos os grupos, as quantidades pipetadas de 2,4-D e do extrato de EM foi de 200 µL. A exposição ao herbicida e os tratamentos ocorreram a 37°C por 1 hora (exposição) e mais 1 hora (tratamento) sobre uma mesa agitadora em velocidade lenta e constante, a fim de toda a mistura tenha ficado em contato direto. Os eritrócitos foram subdivididos em quatro grupos experimentais conforme abaixo:

Grupo 2,4-D: eritrócitos expostos ao 2,4-D (1,1mg/L) (RODRIGUES; ALMEIDA, 2005) e tratados com salina

Grupo 2,4-D + EM 0,125mg/mL: eritrócitos expostos ao 2,4-D (1,1mg/L) (RODRIGUES; ALMEIDA, 2005) e tratados com extrato hidroetanólico das partes aéreas de EM (0,125 mg/mL).

Grupo Extrato 2,4-D + EM 0,250mg/mL: eritrócitos expostos ao 2,4-D (1,1mg/L) (RODRIGUES; ALMEIDA, 2005) e tratados com extrato hidroetanólico das partes aéreas de EM (0,250 mg/mL).

Grupo Extrato 2,4-D + EM 0,500mg/mL: eritrócitos expostos ao 2,4-D (1,1mg/L) (RODRIGUES; ALMEIDA, 2005) e tratados com extrato hidroetanólico das partes aéreas de EM (0,500 mg/mL).

Após a etapa da exposição e do tratamento os eritrócitos foram hemolisados com agitação em vórtex durante 10 segundos e centrifugados durante 15 minutos a 3000 rpm os sobrenadantes foram armazenados em freezer a -20°C para posteriormente serem realizadas as determinações analíticas.

2.6 AVALIAÇÃO DO PERFIL REDOX

2.6.1 Determinação dos níveis de TBARS

Os níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) foram determinados após o procedimento experimental, no sobrenadante dos eritrócitos tratados com a planta conforme protocolo de Stocks e Dormandy (1971). Baseado na mistura reacional contendo TCA a 28% (v/v) e TBA 1%, com aquecimento a 95°C. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro visível em 532nm, comprimento no qual a concentração do produto formado na reação (malondialdeído) pode ser medido. Os resultados foram expressos em nmol/mL.

2.6.2 Determinação dos níveis de Glutathiona Reduzida (GSH)

A glutathiona reduzida (GSH) foi determinada após o procedimento experimental, no sobrenadante dos eritrócitos tratados com a planta, a partir do método descrito por Ellman, (1959), que utiliza o ácido 5',5'-ditio-bis-(2-nitrobenzóico) (DTNB) como reagente principal. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro visível em 412nm e os resultados foram expressos por μmol GSH/mL.

2.6.3 Atividade da enzima Catalase (CAT)

A atividade da CAT foi determinada após o procedimento experimental, no sobrenadante dos eritrócitos tratados com a planta, conforme técnica descrita por Hadwan (2018). A reação ocorrerá entre um reagente contendo cobalto II e TFK e H_2O_2 . A formação do complexo carbonato-cobalto III foi mensurado em 240 nm. A atividade da CAT foi calculada e expressa em U/mL.

2.7 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os resultados das variáveis determinadas neste estudo foram submetidos à análise de distribuição dos dados utilizando os testes: D'Agostino & Pearson omnibus, Shapiro –Wilk e KS. Após os dados que apresentem distribuição normal foram submetidos à Análise de

Variância (ANOVA) de uma via seguido do teste de Tukey's, sendo consideradas significativas diferenças com $p < 0,05$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 ANÁLISE FITOQUÍMICA

A análise fitoquímica preliminar visa caracterizar os componentes químicos presentes nas plantas e seus metabólitos secundários. Esses metabólitos serão usados como marcadores químicos para as espécies e até mesmo para as áreas onde são encontrados. Ao compreender a composição química desses vegetais podem-se delinear mais claramente os melhores métodos de extração e bioensaios que podem ser separados e extraídos princípios ativos para produção de novos fármacos e fitoterápicos (CARVALHO et al., 2014; SILVA et al., 2016).

Em nosso estudo encontramos no extrato hidroetanólico das partes aéreas da EM (Tabela 1): $159,37 \pm 0,05$ mg/mL de Flavonóides, $2,83 \pm 0,01$ mg/mL de Taninos e $15368 \pm 0,02$ μ g de eq. trolox/g extrato, de DPPH (que indica a capacidade antioxidante do extrato).

Tabela 1. Caracterização Fitoquímica do Extrato Hidroetanólico das Partes Aéreas da Erva Mate na concentração 0,500mg/mL.

Flavonoides totais	$159,37 \pm 0,05$ mg/mL
Taninos condensados	$2,83 \pm 0,01$ mg/mL
DPPH (capacidade antioxidante)	$15368 \pm 0,02$ μ g de eq. trolox/g extrato

Fonte: Elaborado pelo autor (2020). Determinações realizadas em triplicatas.

Os taninos são uma espécie de compostos fenólicos, que têm a propriedade de se complexar com íons metálicos e macromoléculas (como proteínas e polissacarídeos). Por isso possuem efeitos antioxidantes. Devido à sua capacidade de precipitar proteínas, são usados como conservantes, adstringentes, antidiarreicos, cicatrizantes. Ele também tem a capacidade de estimular células fagocíticas (BESSA et al., 2013; LUZ et al., 2014).

Os taninos podem ser obtidos em todas as partes da planta, como raízes, caules, folhas e frutos. A presença de taninos está relacionada à proteção das plantas contra pragas. Segundo alguns estudos, os taninos têm ampla função antimicrobiana, além de agir como

antioxidante devido à habilidade de capturar espécies reativas, assim os taninos também podem ser utilizados na indústria farmacêutica para a produção de novos medicamentos (RODRIGUES et al,2015; SILVA, 2015).

Os flavonoides constituem 20-30% da composição de EM, onde são responsáveis pelo gosto adstringente do mate e com isso possuem grandes quantidades de flavonoides, e apresentam atividade anti-inflamatória, antialérgica, antiviral, antiproliferativa, antioxidantes, hepatoprotetoras, antitrombóticas e anticarcinogênicas (SIMÕES et al. 2010; BESSA et al., 2013).

A determinação do efeito de radicais DPPH consiste no mecanismo de ação da técnica baseada na eliminação do radical livre estável 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) provocando a varredura deste radical livre do meio da reação, assim modificando a cor da solução, onde reage com compostos doadores de H⁺, que interrompem as reações oxidativas em cadeia, determinando o potencial antioxidante de compostos fenólicos isolados ou presentes na amostra. A atividade antioxidante do extrato foi medida através da capacidade dos compostos presentes em inibir os radicais DPPH.

Assim, a constituição fitoquímica do extrato de EM encontrada no nosso estudo, pode ser utilizada como fator preventivo para prevenção ou tratamento dos danos gerados por espécies reativas oriundas de fatores externos ou internos do organismo.

3.2 AVALIAÇÃO DO EFEITO REDOX

As espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio fazem parte do processo metabólico e sua produção é contínua. O desequilíbrio entre a formação e a remoção destas espécies, é decorrente da diminuição dos antioxidantes endógenos ou do aumento da geração de espécies oxidantes. Favorecendo o ataque dessas espécies reativas a componentes celulares como os lipídios, promovendo a peroxidação lipídica que provoca dano tecidual (GOMES, 2017).

Os níveis de TBARS pode ser medido pela concentração do malondialdéido (MDA) presente na amostra, já que o MDA é produzido a partir do hidroperóxido de lipídeos através das condições de hidrólise da reação e é um dos vários produtos de baixo peso molecular formado pela decomposição de certos produtos de LPO primária e secundária (GONÇALVES, 2019).

Em nosso estudo encontramos aumento dos níveis de TBARS nos grupos tratados com 2,4-D em todas as concentrações testadas (0,125; 0,250 e 0,500 mg/mL), quando as mesmas foram comparadas ao grupo dos eritrócitos expostos previamente ao 2,4-D (Figura 1). Este aumento da peroxidação causada pelo extrato, mostra uma toxicidade dele, nestas concentrações.

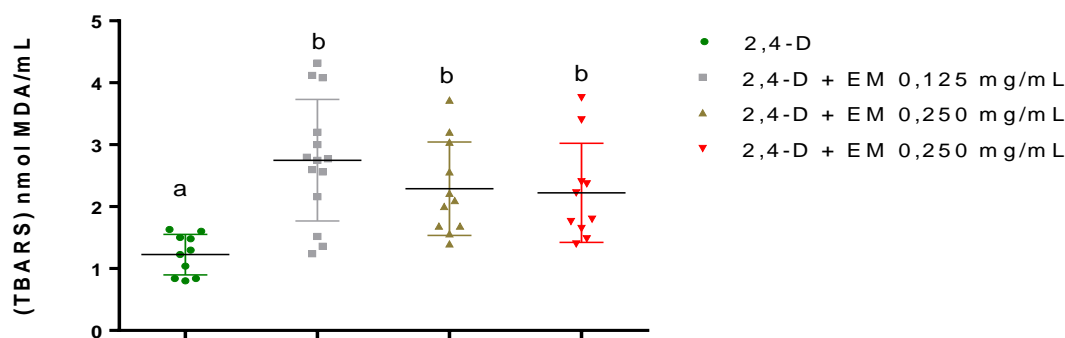


Figura 1. Níveis das Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS) nos grupos estudados.

Fonte: Elaborado pelo autor (2020). Letras distintas representam resultados significativamente diferentes ($p < 0,05$), $n = 12$.

A glutathiona reduzida (GSH) está presente na maioria das células e é o tiol (-SH) mais abundante no meio intracelular. Seu poder redutor é determinado pelo grupo -SH da cisteína. A GSH é considerada uma das substâncias mais importantes no sistema de defesa antioxidante da célula. Atua como carreador e armazenamento da cisteína participam da desintoxicação de agentes químicos e da eliminação de produtos da peroxidação lipídica. Também é necessária para a síntese de DNA, proteínas e algumas prostaglandinas (SOUZA, 2017).

De acordo com a figura 2, em nosso estudo encontramos um aumento dos níveis de GSH em todas as concentrações testadas, indicando a diminuição do uso da GSH como substrato das enzimas: glutathiona peroxidase (GPx) e a glutathiona-S-transferase (GST). Favorecendo assim, a lipoperoxidação já evidenciada neste estudo.

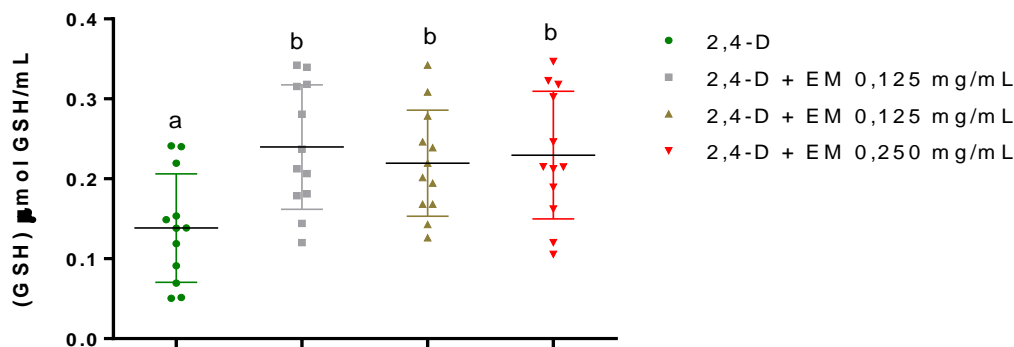


Figura 2. Níveis da Glutaciona Reduzida (GSH) nos grupos estudados

Fonte: Elaborado pelo autor (2020). Letras distintas representam resultados significativamente diferentes ($p < 0,05$), $n = 12$.

Na figura 3 podemos verificar que a atividade da enzima catalase nos eritrocitos tratados com o extrato das partes aéreas da EM diminui significativamente em relação ao grupo só exposto ao 2,4-D. Este resultado demonstra, novamente, o efeito tóxico deste extrato nas concentrações (0,125; 0,250 e 0,500 mg/mL), tendo em vista a importância da catalase na conversão do H_2O_2 em H_2O e O_2 e assim evitando a formação do OH^- que é extremamente reativo às proteínas, aos lipídios e ao DNA (MONTEIRO, 2017).

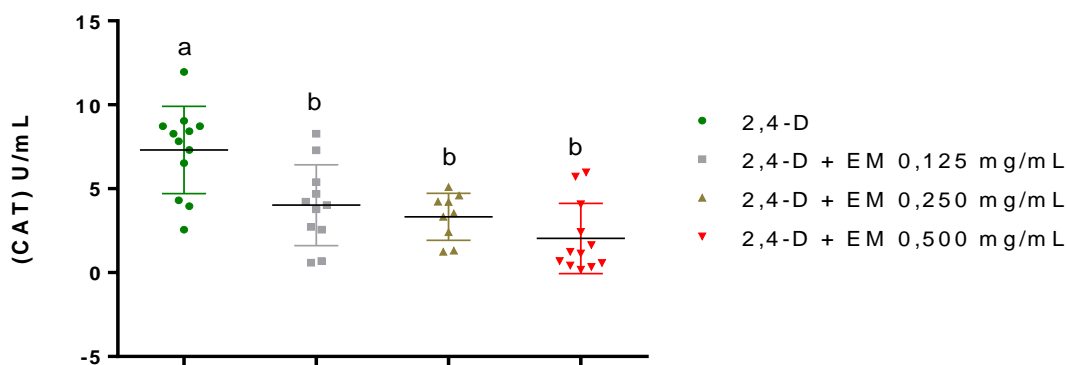


Figura 3- Atividade da Enzima Catalase (CAT) nos grupos estudados.

Fonte: Elaborado pelo autor (2020). Letras distintas representam resultados significativamente diferentes ($p < 0,05$), $n = 12$.

4. CONCLUSÃO

Com base em nosso estudo, podemos dizer que apesar do extrato hidroetanólico das partes aéreas da EM ter em sua constituição taninos e flavonoides, quando realizamos o tratamento de eritrócitos humanos previamente expostos ao herbicida 2,4-D, verificamos que o extrato nas concentrações (0,100; 0,250 e 0,500mg/mL) foram tóxicas. Entretanto, para a confirmação desses resultados se faz necessário o aumento do número das amostras avaliadas.

5. REFERÊNCIAS

BESSA, N.G.F.D.; BORGES, J.C.M.; BESERRA, F.P.; CARVALHO, R.H.A.; PEREIRA, M.A.B.; FAGUNDES, R.; et al. Prospecção fitoquímica preliminar de plantas nativas do cerrado de uso popular medicinal pela comunidade rural do assentamento vale verde – Tocantins. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15 n. 4, p. 692-707, 2013.

CAMPRA, A.F. **Avaliação das atividades antibacteriana e antioxidante de extratos aquosos e hidroalcoólicos de erva-mate (Ilex paraguariensis)**. (TCC) Bacharelado em Química - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, 2017.

CARVALHO, C.A.; SANTANA, G.A.; AMARO, M.O.F.; LIMA, L.M.; PIRES, F.B.; PRÁ, V.D.; et al. Aspectos químicos e atividade antibacteriana de Piptadenia gonoacantha (Fabaceae). **Ciência e Natura**, v. 36, n. 2, p. 732-744, 2014.

CONITEC. **Portaria Nº 16, de 25 de Março de 2019** – Dispõem das Diretrizes Brasileiras para diagnóstico e tratamento das intoxicações por agrotóxicos - Capítulo 4, no âmbito do Sistema Único de Saúde - SUS. Disponível em: <http://conitec.gov.br/images/Protocolos/DiretrizesBrasileiras_Agrotoxico_Cap4.pdf> Acesso em: 08/01/2021.

DALBO, J.; FIGUEIRAS, L.A.; MENDES, A.N. Effects of pesticides on rural workers: haematological parameters and symptomological reports. **Ciência saúde coletiva**, v. 24, n. 7, p. 2569-2582, 2019.

GOMES, B.R.B. **Análise da produção de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio durante a febre e a antipirese em ratos**. (Dissertação) Mestrado em Patologia Molecular - Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília, 2017.

GONÇALVES, P.V. **Avaliação ex vivo da inibição da peroxidação lipídica do estrato córneo promovida por filtros UVB**. (Tese) Mestrado. Universidade de São Paulo, 2019.

LIMA, Pa.C.; SANTOS, M.G.; CALABRESE, K.S.; SILVA, A.A. Avaliação da capacidade leishmanicida de espécies vegetais do Cerrado. **Revista de Patologia Tropical**, v. 44, n. 1, p. 45-55, 2015.

LUZ, H. S.; SANTOS, A.C.G.; LIMA, F.C.; MACHADO, K.R.G. Prospecção fitoquímica de *Himatanthus drasticus* Plumel (Apocynaceae), da mesorregião leste maranhense. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, n. 3, p. 657-662, 2014.

MARTINS, T. Herbicida Paraquat: conceitos, modo da ação e doenças relacionadas. **Semina: Ciências biológicas e da saúde**, v. 34, n. 2, p. 175-186, 2013.

MIGOTTO, D.L. **Desempenho e digestibilidade de nutrientes para frangos de corte alimentados com rações contendo extrato de Erva Mate (*Ilex paraguariensis*)**. (Dissertação) Mestrado em Ciências Animais - Universidade de Brasília, Brasília, 2015.

MORAIS, N.R.L.; OLIVEIRA NETO, F.B.; MELO, A.R.; BERTINI, L.M.; SILVA, F.F.M.; ALVES, L.A. Prospecção fitoquímica e avaliação do potencial antioxidante de *Cnidocolus phyllacanthus* (müll. Arg.) Pax & k.hoffm. Oriundo de apodi – RN. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 18, n. 1, p. 180-185, 2016.

MOSCARDI, A.C.; SOUZA, A.C.Z.; FIGUEIREDO, C.A. Avaliação da toxicidade do 2, 4-d por meio da histopatologia e histoquímica do intestino médio e corpo gorduroso de *Rhinocricuspadbergi* (diplopoda)/Evaluation of 2, 4-d toxicity by means of the histopathology and histochemistry of the midgut and the fat body of *Rhinocricuspadbergi* (diplopoda). **Brazilian Applied Science Review**, v. 2, n. 5, p. 1636-1657, 2018.

NORTOX. Nortox – Bula. Disponível em: <<https://www.nortox.com.br/wp-content/uploads/2017/05/Norton-Bula-VER-12-24.05.2019.pdf>>. Acesso em: 08/01/2021

REIGOSA, G.S.C.M.; CARDOSO, G.C.N. **Estudo da importância socioeconômica da erva-mate para o desenvolvimento regional na região da 26ª sdr.** (Artigo) MBA em Gestão Empresarial - Universidade do Contestado – UnC, Campus Canoinhas, 2015.

RODRIGUES, G. A.; SOUZA, W.C.; GOIDINHO, M.G.C.; FERREIRA, H.D.; VILA VERDE, G.M. Determinação de parâmetros farmacognósticos para as folhas de *Erythroxyllum suberosum* A. St.-Hilaire (*Erythroxyllaceae*) coletadas no município de Goiânia, GO. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 4, p. 1159-1168, 2015.

SERAFIM, R.A. **Efeito da aplicação de extrato de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) assistido por ultrassom na estabilidade oxidativa de linguiça suína.** (Dissertação) Mestrado em Tecnologia de Alimentos - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2016.

SILVA, A.L.L.; ARAUJO, M.G.S.; BASTOS, M.L.A.; BERNARDO, T.H.L.; OLIVEIRA, J.F.S.; SILVA-JUNIOR, E.F.; et al. Avaliação da atividade antibacteriana, citotóxica e antioxidante da espécie vegetal *Opuntia cochenillifera* (L.) Mill. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 18, n. 1, p. 307-315, 2016.

SILVA, S.M.S. **Intoxicações por inibidores da acetilcolinesterase: etiologia, diagnóstico e tratamento.** (Dissertação) Mestrado em Medicina - Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra, Portugal, 2015.

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia da planta ao medicamento.** 6ª ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora UFRS/ UFS. 2010.

SOUZA, L.F. **Modulação redox de peroxirredoxinas e a participação dos sistemas da GSH e da Trx na proteção/função celular.** (Tese) Doutorado em Bioquímica - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2017.