



# **AVALIAÇÃO DO POTENCIAL CITOPROTETOR CONTRA O EFEITO TÓXICO DO CLORETO DE MERCÚRIO E ANTIOXIDANTE DE *Lygodiumvenustum* SW (LYGODIACEAE)**

## **POTENTIAL ASSESSMENT cytoprotective AGAINST TOXIC EFFECT OF CHLORIDE OF MERCURY AND *Lygodium* ANTIOXIDANT *venustum* SW (LYGODIACEAE)**

FIGUEIREDO<sup>abc</sup>, Fernando Gomes; LIMA<sup>b</sup>, Luciene Ferreira; MORAIS-BRAGA<sup>b</sup>, Maria Flaviana Bezerra; FIGUEIREDO<sup>c</sup>, Jakson Gomes; PINTO<sup>c</sup>, Natália Bitu; MATIAS<sup>a</sup>, Edinaldo Fagner Ferreira; MENEZES<sup>b</sup>, Irwin Rose Alencar; ALMEIDA<sup>a</sup>, Ray Silva; CUNHA<sup>b</sup>, Francisco Assis Bezerra da; COUTINHO<sup>b</sup>, Henrique Douglas Melo

Centro Universitário Leão Sampaio – UNILEÃO<sup>a</sup>; Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular - URCA<sup>b</sup>;  
Faculdade de Medicina Estácio de Juazeiro do Norte - FMJ<sup>c</sup>.

Recebido em: 01/08/2015; Aceito: 05/04/2016; Publicado: 22/04/2016

### **Resumo**

O mercúrio é um metal com elevado potencial tóxico por sua capacidade de bioacumulação e biomagnificação na cadeia trófica. No organismo, o mercúrio é altamente reativo, podendo induzir modificações estruturais e funcionais no organismo. Este trabalho teve como objetivo investigar as possíveis interações entre extrato etanólico e frações de *Lygodiumvenustum* SW combinados ao cloreto de mercúrio frente à linhagem *Candida krusei* 02. Os polifenóis e flavonoides presentes no extrato e frações foram quantificados em mg equivalentes de ácido gálico/g de amostra e mg equivalentes de quercetina/g de amostra, respectivamente. O método de FRAP, *in vitro*, demonstrou a atividade antioxidante das amostras. Foi avaliada a atividade antifúngica dos produtos naturais, determinando a Concentração Inibitória Mínima (CIM) pelo método da microdiluição e ensaios para verificar a possível ação citoprotetora através da combinação entre as amostras e o cloreto de mercúrio, utilizando o extrato e as frações em uma concentração sub-inibitória. Os resultados obtidos neste trabalho indicam que o extrato etanólico e as frações de *L. venustum* são uma fonte alternativa de produtos naturais com ação antioxidante, no entanto, não foi capaz de reverter a citotoxicidade desencadeada pelo cloreto de mercúrio.

**Palavras-chave:** *Lygodiumvenustum*, Mercúrio, Atividade antioxidante, Citoproteção.

### **Abstract**

Mercury is a metal with high toxic potential for its bioaccumulation potential and biomagnification in the food chain. In the body, the mercury is highly reactive and may induce structural and functional changes in the organism. This study aimed to investigate the possible interactions between ethanol extract and *Lygodiumvenustum* SW fractions. combined to the front of mercury chloride at 02. The strain *Candida krusei* flavonoids and polyphenols present in the extract and fractions were quantified in equivalent mg gallic acid / g of sample mg, and quercetin equivalents / g sample, respectively. The FRAP method of *in vitro* antioxidant activity demonstrated from the samples. The antifungal activity of natural products was evaluated by determining the minimum inhibitory concentration (MIC) by microdilution method and tests to check the possible cytoprotective



Revista

**INTERFACES**

SAÚDE, HUMANAS E TECNOLOGIA

Vol. 3(9), pp. 44-49, **22 de Abril**, 2016

DOI: XXXXXXXXXXXXXXXX

ISSN 2317-434X

Copyright © 2015

<http://www.interfaces.leaosampaio.edu.br>



action through a combination of samples and the mercury chloride, using the extract and the fractions in a sub-inhibitory concentration. The results of this study indicate that the ethanol extract and the fractions of *L. venustum* are an alternative source of natural products with antioxidant action, however, was not able to reverse the cytotoxicity triggered by mercuric chloride.

**Keywords:** *Lygodium venustum*, Mercury, antioxidant activity, Cytoprotection.

## INTRODUÇÃO

O cloreto de mercúrio ( $\text{HgCl}_2$ ), bastante solúvel em solventes orgânicos e possui grande lipossolubilidade quando comparado com a forma inorgânica divalente ( $\text{Hg}^{+2}$ ) o que facilita a sua permeabilidade pelas membranas biológicas (Ishikawa *et al.*, 2007). Após sua oxidação no organismo o metal oxidado possui grande afinidade por grupos sulfidrilas de proteínas e, em menor grau, por grupos fosforilas, carboxílicos, aminas e amidas, induzindo alterações biomoleculares que resultam nos efeitos por grupos fosforilas, carboxílicos, aminas e amidas. Nas células, o mercúrio é um potente desnaturador de proteínas e inibidor de aminoácidos, interferindo nas funções metabólicas celulares. Ele causa também sérios danos à membrana celular ao interferir em suas funções e no transporte através da membrana, especialmente nos neurotransmissores cerebrais (Vassalo *et al.*, 1996; Souza e Barbosa, 2000).

Estudos citogenéticos já realizados em pessoas contaminadas por Hg, em níveis considerados toleráveis pela Organização Mundial de Saúde (OMS), revelaram aumento significativo de quebras cromatídicas, com a possível interferência nos mecanismos de reparo do DNA. Este efeito pode resultar em quebras cromossômicas e em morte celular, o que justificaria o quadro progressivo de deterioração mental nos indivíduos mais altamente contaminados. Os efeitos sobre a saúde humana, relacionados com a bioacumulação, a transformação e o transporte mundial do mercúrio inorgânico, se devem quase exclusivamente à conversão dos compostos de mercúrio em metilmercúrio ( $\text{CH}_3\text{Hg}$ ) (Malm, 1998; Vassalo *et al.*, 1996).

Neste contexto existem espécimes de plantas que possuem estratégias para gerir as altas

concentrações de metais e metalóides na rizosfera podem ser divididos em dois grupos: as plantas que utilizam mecanismos de exclusão, limitando a absorção e / ou de transporte para as partes aéreas, e para o desenvolvimento de mecanismos de imobilização internos, ou compartimentalização desintoxicação via produção de compostos que promovem ligações estáveis com metais e metalóides (Dias *et al.* 2010).

Pteridófitos constituem um grupo de vegetais com uma grande riqueza de espécies e este fato tem contribuído para que o homem se utilize, de variadas maneiras, de seus potenciais quer sejam econômicos, alimentícios ou medicinais (Morais-Braga *et al.*, 2012<sup>a</sup> LIVRO).

No grupo das plantas vasculares, a samambaia lianescente *Lygodium venustum*, têm sido tradicionalmente utilizada como um fitoterápico. Algumas atividades farmacológicas foram realizadas, atividade antibacteriana (Alanis *et al.*, 2005, Moraes-Braga *et al.*, 2012b) e ainda antifúngica, moduladora da ação de drogas (Morais-Braga *et al.* 2012b, 2012c, 2013) e efeito antioxidante (Morais-Braga *et al.*, 2012a). Seu efeito no tratamento de distúrbios gastrointestinais (Calzada *et al.*, 2010) já foi investigado. Atividades anti-diarréica (Velázquez *et al.*, 2006), anti-peristáltica (Calzada *et al.*, 2010), tricomonocida (Calzada *et al.* 2007), leishmanocida, tripanocida (Morais-Braga *et al.*, 2013). Suas partes aéreas são utilizadas sob a forma de chá ou tópica, no tratamento de infecções e dermatoses (Duke, 2008).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial citoprotetor a partir das dosagens de fenóis totais e flavonóides além de avaliar a atividade antioxidante de *Lygodium venustum* SW (extrato etanólico e frações) quanto a seu potencial antitóxico ao cloreto de mercúrio frente à *Candida krusei* 02.

depositados no Herbário Caririense Dádano de Andrade- Lima, da Universidade Regional do Cariri - URCA, sob o número 5569.

A preparação de extrato de etanol (EELV) e das frações diclorometano, acetato de etila e metanólica (DFLV, EAFLV e MFLV) de *L. venustum* foram recolhidas 211,18g folhas, secou-se e guardou à temperatura ambiente. Este material foi pulverizado e extraiu-se por maceração com 1L de etanol a 95% do solvente à temperatura ambiente. A mistura foi deixada em repouso durante 72 horas à temperatura ambiente. O extrato foi filtrado e concentrado sob vácuo num evaporador rotativo a 60 ° C e 760 mm/Hg de pressão e temperatura,

## MATERIAIS E MÉTODO

### Material vegetal

Folhas de *L. venustum* foram coletadas na cidade de Crato, Ceara', Brasil, em maio de 2010 entre as 09:30 e 10:30 horas da manhã em uma área de encosta da Chapada do Araripe, com aproximadamente 700 m de altitude entre as Coordenadas Geográficas como 24M 0451385 UTM 9195214; 24M 0451927 UTM 9195554; 24M 0452231 UTM 9194998 e 0452240 UTM 24M 9194784. A planta foi identificada pelo Dr. Antonio Álamo Feitosa Saraiva e espécimes voucher foram

respectivamente (Brasileiro *et al.*, 2006), obtendo-se 12,42 g de extrato de etanol. O fracionamento foi realizado usando o extrato de etanol, resultando em frações utilizadas nos ensaios (diclorometano, acetato de etilo e metanol para produzir 0,39 g, 0,52 g e 3,0g, respectivamente). O extrato e as frações foram diluídos para 10 mg/mL de DMSO, antes dos ensaios.

### Ensaio FRAP

Um método modificado de deformação (Smith *et al.*, 1992), foi aprovado para o ensaio de FRAP. As soluções de estoque de 300 mM de tampão incluídos acetato, pH 3,6, 10 mM TPTZ (2, 4, 6-tripiridyl-S-triazina) em solução mM HCl 40 e 20 mM FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O. A solução de trabalho de foi preparado misturando 25 mL de tampão acetato, e 2,5 mL TPTZ 2,5 mL de FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O. A temperatura da solução foi elevada para 37 °C antes de usar. As amostras (0,15 mL) foram feitas reagir com 2,85 mL de solução de FRAP durante 30 min na condição de escuro. Leituras do produto colorido (tripiridyltriazine complexo ferroso) foram tomadas a 593 nm. A curva padrão era linear entre 200 e 1000 µM de FeSO<sub>4</sub>. Os resultados estão expressos em mg de sulfato ferroso equivalentes / g de Amostra. Os resultados estão expressos em µM (Fe (II) / g de Matéria Seca e em comparação com um ácido ascórbico (Kumaret *et al.*, 2013).

### Estimativa de fenóis totais

A quantidade de fenóis totais; realizada em triplicata, foi determinada adicionando-se 200mL de cada amostra (800 a 100 mg/mL de Água) a 1 mL de reagente de Folin-Ciocalteu (10% v / v) sendo agitada por 1 minuto. Em seguida, acrescentou-se 800mL de carbonato de sódio 7,5%, sendo uma amostra homogeneizada por 30s. Após uma hora foi medida a absorvância em espectrofotômetro com comprimento de onda de 765nm. O branco foi determinado com todos os reagentes, porem o extrato foi substituído por água destilada. Uma média das três leituras foi usada para determinar os fenóis totais; expressos como mg equivalentes de ácido gálico/g de extrato, interpolando este valor na curva de calibração construída com os padrões de ácido gálico. A curva de calibração de ácido gálico foi determinada utilizando diferentes concentrações (300 a 5 mg/mL).

### Estimativa de flavonóides totais

Foram preparadas soluções do extrato e frações (800 a 100 mg/mL) e utilizado 1 mL destas, adicionando-se 1 mL cloreto de Alumínio (AlCl<sub>3</sub>) com contração de 2% peso/volume. No tubo foi determinado como branco, o volume adicionado o de cloreto de Alumínio foi substituído por água destilada. Após 30 minutos de incubação uma temperatura ambiente, a absorvância foi medida nenhum filtro de 415nm. O teste foi feito em triplicata, resultando na utilização da média determinação da quantidade de flavonóides totais e expresso em mg de quercetina equivalentes/g de extrato. A curva de calibração da quercetina foi determinada utilizando diferentes concentrações (200 a 0,78 mg/mL) diluída em etanol 80%.

### Drogas

A gentamicina, a amicacina, a neomicina foram obtidos da Sigma Chemical Corp., St. Louis, MO, EUA. Todas as drogas foram dissolvidas em água esterilizada antes da utilização.

### Meios de Cultura

Eram utilizados os seguintes Meios de cultura: *Heart Infusion Agar* - HIA (. Difco Laboratories Ltda), *Caldo Brain Heart Infusion* - BHI (Acumedia Fabricantes Inc.), M9 TRIS.

### Antifúngica de materiais

A linhagem fúngica utilizada foi *Candida krusei* (CK LMBM 02), foi mantida em (HIA, Difco Laboratories Ltda.). Antes do ensaio, as estirpes foram cultivadas durante 18 h a 37 ° C em caldo (BHI, Difco Laboratories Ltda.).

### A atividade antifúngica e modulação de cloreto de mercúrio atividade tóxica

A concentração fungicida mínima (MFC) foi determinada num ensaio de microdiluição (NCCLS, 2003; CLSI, 2002) utilizando um inóculo de 100 µL de cada linhagem, suspensas em BHI até uma concentração final de 10<sup>5</sup> UFC/mL em placas de microtitulação de 96 poços, utilizando-se diluições em série dupla. Cada poço recebeu 100µL de cada solução de extrato. As concentrações finais dos extratos variaram 512-8 µg/mL. CFMs foram registradas como as concentrações mais baixas necessárias para inibir o crescimento.

A concentração fungicida mínima (MFC) para o cloreto de mercúrio foi determinada em meio M9 Tris pelo ensaio de microdiluição utilizando suspensões de  $10^5$  UFC/mL, de acordo com a escala de McFarland e uma gama de concentrações de droga 500-0,24  $\mu$ molar (NCCLS, 2003). CFM foi definida como a menor concentração em que foi observado nenhum crescimento. Para a avaliação dos extratos como moduladores de resistência ao metal, aCIM do metalfoi determinada na presença ou na ausência do extrato (EELV) e as frações (DFLV, EAFLV, MFLV) em concentrações sub-inibitórias (128 $\mu$ g/mL) e as placas foram incubadas durante 24 h a 37 ° C. Lendo replantação foi realizada utilizando placas de microdiluição para estas placas de petri com HIA, que foram incubadas durante 24 h a 37 ° C e em seguida observados resultados CFM. Cada ensaio antibacteriano para determinação CFM foi realizada em triplicado.

### Análise Estatística

A análise estatística foi realizada através do software GraphPad®Software, San-Diego, Califórnia, EUA. Todos os ensaios químicos foram

realizados em triplicata e os dados foram expressos em média  $\pm$  desvio padrão. Uma análise de variância (ANOVA) para comparação de médias, e interdiferenças significativas foi calculada de acordo com o teste de Tukey. O valor médio para a diluição mínima ativa, no teste de atividade antimicrobiana, foi calculado a partir dos triplicados. Parcelas de regressão linear foram geradas e correlações entre as atividades antioxidantes FRAP, de fenóis totais e flavonóides foram computados como coeficiente de correlação de Pearson (r) utilizado durante este trabalho para avaliar e correlacionar os resultados entre eles. Foram considerados estatisticamente significativos quando apresentado  $p > 0,05$ .

### RESULTADOS E DISCUSSÕES

O conteúdo fenólico total e de flavonóides do extrato etanólico de *L. venustum* de suas frações estão representadas na Tabela 1. Sendo a concentração mais representativa a EAFLV para ambos os compostos que são metabolitos secundários de origem vegetais reconhecidos pelo seu potencial antioxidante (Kumaret al., 2013).

**Tabela 1** - O teor de fenóis totais e flavonóides do extrato e frações de *Lygodiumvenustum*.

Nº	Amostras	Conteúdo de fenóis totais (mg equivalentes de ácido gálico/ g de amostra) ( $\pm$ SEM)	Conteúdo de flavonóides (mg equivalentes de quercetina/ g de amostra) ( $\pm$ SEM)
1.	EELV	37.10 $\pm$ 0.08	16.29 $\pm$ 0.02
2.	DFLV	17.77 $\pm$ 0.07	10.80 $\pm$ 0.09
3.	EAFLV	68.43 $\pm$ 0.04	40.20 $\pm$ 0.04
4.	MFLV	51.97 $\pm$ 0.05	10.25 $\pm$ 0.07

EELV – Extrato Etanólico de *Lygodiumvenustum*; DFLV – Fração Diclorometano de *Lygodiumvenustum*; EAFLV – Fração de Acetato de Etila de *Lygodiumvenustum*; MFLV – Fração Metanólica de *Lygodiumvenustum*; \* Todos os valores são expressos como média  $\pm$  SEM de três determinações.

Em análise fitoquímica realizada em estudos anteriores foi constatado que *L. venustum* apresenta em sua composição constituintes químicos da classe dos flavonóides, taninos e alcalóides, entre outros (Morais-Braga et al., 2012b). A realização de um *screening* por compostos fenólicos e flavonóides (Morais-Braga et al., 2012a) revelou a presença de ácidos fenólicos como os ácidos gálico (0,17%), clorogênico (0,51%) e cafeico (0,29%) e dos flavonóides rutina (0,32%) e quercetina (0,60%) e dessa forma, evidenciou-se que os constituintes majoritários da samambaia são, portanto, a quercetina e o ácido clorogênico.

A capacidade de redução de um composto pode servir como um indicador significativo da sua potencial atividade antioxidante (Kumaret al., 2013). A Tabela 2 descreve os valores do FRAP para o extrato etanólico *Lygodiumvenustum* e suas respectivas frações demonstrando a capacidade redutora em mg por g de FeSO<sub>4</sub>. Estes dados corroboram com resultados prévios (Morais-Braga et al., 2012d) demonstraram que extrato e frações de *Lygodiumvenustum* possuem um significativo potencial antioxidante.

**Tabela 2** - FRAP ensaio do extrato etanólico e frações de *Lygodiumvenustum*.

Nº	Amostras	Atividade redutora (mg equivalentes de FeSO <sub>4</sub> /g de amostras) (± SEM)
1.	EELV	<b>1,13</b> ± 0.04
2.	DFLV	<b>0,66</b> ± 0.02
3.	EAFLV	<b>1,59</b> ± 0.03
4.	MFLV	<b>1,52</b> ± 0.02

\* Todos os valores são expressos como média ± SEM de três determinações

Resultados obtidos neste estudo para a atividade antioxidante, demonstram que a EAFLV apresentou o melhor resultado, apresentando uma equivalência de 68.43mg de FeSO<sub>4</sub> por grama de extrato, destacando-se na capacidade de reduzir Fe<sup>+3</sup> a Fe<sup>+2</sup>, fato este que pode ser justificado pela retenção de compostos fenólicos e flavonóides pela fração de acetato de etila que podem contribuir diretamente para a atividade antioxidante (Morais-Braga *et al.*, 2012a). Estes resultados se contrapõem aos obtidos por Morais-Braga *et al.*, (2012a), que indicou uma melhor atividade antioxidante do extrato etanólico pelo método fotolorimétrico do 2,2-difenil,1- picrihidrazila (DPPH), divergência de resultado que pode estar relacionado com a diferença da técnica empregada.

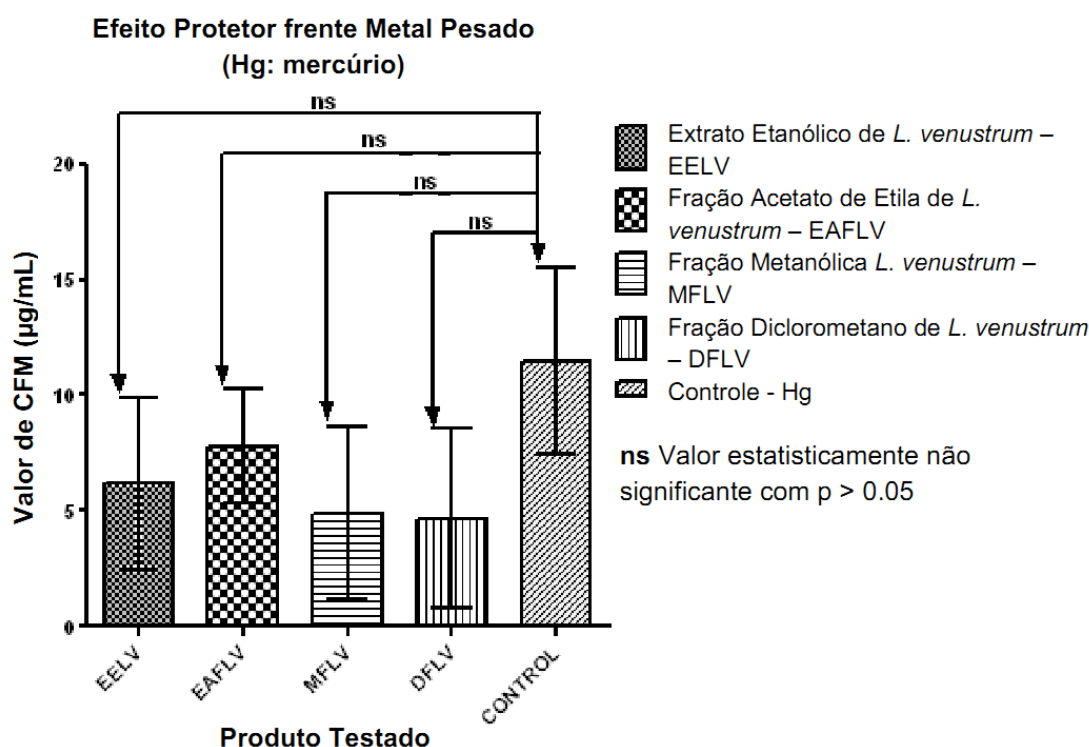
As Concentrações Fungicidas Mínimas (CFM) das amostras, testadas frente à linhagem *Candidakrusei*02 comparativamente apresentaram o mesmo resultado revelando CFM  $\geq 1024 \mu\text{g/mL}$ , não demonstrando atividade clínica relevante de acordo com os limites estabelecidos pelo protocolo (Houghton *et al.*, 2007). Um ensaio piloto utilizando apenas o DMSO foi realizado, mas nenhuma atividade antibacteriana ou moduladora foi verificada, indicando não apresentar toxicidade para as cepas ensaiadas. Resultados estes que corroboram com os de Morais- Braga *et al.*, (2012c) que avaliou ainda a atividade moduladora frente a fungos do gênero *Candida* demonstrando que nenhuma alteração do CFM foi verificada quando as frações foram associadas aos antifúngicos.

Em outros estudos a atividade antibacteriana dos extratos metanólico e aquoso de *L. venustum* foram ensaiados frente a linhagens de *E. coli* (Alanis *et al.*, 2005), porém os extratos não foram considerados eficientes inibidores do crescimento bacteriano, uma vez que apresentaram percentuais de inibição abaixo de 50%, além disso, a atividade do extrato foi apresentada diante de uma concentração considerada muito elevada para aplicação clínica (Houghton *et al.*, 2007).

Segundo Morais- Braga *et al.*, (2012c) seus resultados indicaram diferença de susceptibilidade entre as bactérias Gram-positiva *S. aureus* e Gram-negativa *E. coli*, em relação às frações testadas. Podendo ser em decorrência a membrana externa das bactérias Gram-negativas que apresentam uma barreira resistente à penetração de vários agentes microbianos e estas possuem também um espaço periplasmático com enzimas capazes de inativar alguns antibióticos (Vermelho *et al.*, 2007), podendo esta ser a explicação pela diferença na vulnerabilidade dos microrganismos.

A figura 1 representa os resultados da avaliação da atividade moduladora da toxicidade do cloreto de mercúrio quanto à combinação com o EELV e suas respectivas frações. Os resultados demonstraram que as combinações das amostras com o cloreto de mercúrio, não demonstraram atividade citoprotetora com significância de  $p > 0.05$ .

**Figura 1** - Gráfico demonstrativo da atividade moduladora da toxicidade do cloreto de mercúrio frente à *C. krusei* 02 na presença e na ausência do extrato etanólico de *Lygodiumvenustum* e suas frações.



## CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste trabalho indicam que o extrato etanólico e as frações de *Lygodiumvenustum* são uma fonte alternativa de produtos naturais com atividade antioxidante, uma vez que possuem metabolitos secundários como os fenóis totais e flavonóides que possui reconhecida atividade antioxidante. No entanto os produtos

naturais não foram capazes de reverter à toxicidade causada pelo cloreto de mercúrio frente a linhagens de *C. krusei* 02.

## AGRADECIMENTOS

Ao CNPq e Funcap pelo apoio financeiro e a Universidade Regional do Cariri pela disponibilização de materiais e espaço físico.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alanis AD, Calzada F, Cervantes JA, Ceballos GM. Antibacterial properties of some plants used in Mexican traditional medicine for the treatment of gastrointestinal disorders. **J Ethnopharmacol.** v.100, p. 153 – 157, 2005.

Brasileiro BG, Pizziolo VR, Raslan DS, JAMAL C M, SILVEIRA D: Antimicrobial and cytotoxic activities screening of some Brazilian medicinal plants used in overnador Valadares district. **Braz. J. Pharm.** v. 42, p.195-202, 2006.

Calzada F, Arista R, Pérez H. Effect of plants used in Mexico to treat gastrointestinal disorders on charcoal - gum acacia - induced hyperperistalsis in rats. **J Ethnopharmacol.** v.128, p.49 - 51, 2010.

Calzada F, Lilian YM, Contreras AT. Effect of Mexican medicinal plant used to treat trichomoniasis on *Trichomonas vaginalis* trophozoites. **J Ethnopharmacol**, v.113, p 248 - 251.2007.

Dias LE, Melo RF, Mello JWVM, Oliveira JAO, Daniels WL: Growth of seedlings of pigeon pea (*Cajanuscajan*(l.) millsp), wand riverhemp (*Sesbaniavirgata*(cav.) pers.), and lead tree (*Leucaenaleucocephala* (lam.) de wit) in an arsenic-contaminated soil. **Rev. Bras. Ciênc. Solo**, v. 34,p.975-983,2010.

Duke JA. 2008. **Duke's Handbook of Medicinal Plants of Latin America**. CRC Press Taylor & Francis group, New York, USA.

- Houghton PJ, Howes MJ, Lee CC, Steventon G: Uses and abuses of *in vitro* tests in ethnopharmacology: Visualizing an elephant. **J. Ethnopharmacol**, v.110, p.391-400, 2007.
- Ishikawa NM, Ranzani-Paiva MJT, Lombardi JV: Acute Toxicity of Mercury (HgCl<sub>2</sub>) to Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. **B. Inst. Pesca**, v.33, p. 99-104, 2007.
- Kumar S, Pooja M, Harika K, Haswitha E, Nagabhushanamma G, Vidyavathi N. In-vitro antioxidant activities, total phenolics and flavonoid contents of whole plant of *hemidesmus indicus* (linn.). **Asian J Pharm Clin Res**, v.6, 249-251, 2013.
- Malm, O. Gold mining as a source of mercury exposure in the Brazilian Amazon. *Environmental Research*, seção A, v. 77, p. 73-78, 1998.
- Morais-Braga, M.F.B. **Prospecção Química do Extrato Etanólico das Folhas de *Lygodium venustum* (lygodiaceae) e Avaliação das Bioatividades Antioxidante, Antieipimastigota, Antipromastigota, Citotóxica e Antimicrobiana de Extrato e Frações (*in vitro*)**. dissertação (mestrado)- programa de pós – graduação em Bioprospecção Molecular da Universidade Regional do Cariri – 2012d.
- Morais-Braga MF, Souza TM, Santos KK, Andrade JC, Guedes GM, Tintino SR, SOBRAL-SOUZA CE, Costa JGM, Menezes IRA, Saraiva AAF, Coutinho HDM. Antimicrobial and Modulatory Activity of Ethanol Extract of the Leaves from *Lygodium venustum* SW. **American Fern Journal**, v.102, p. 154-160, 2012b.
- Morais-Brag, MFB, Souza TM, Santos KKA, Guedes GMM, Andrade JC, Tintino SR, Sobral-Souza CE, Costa JGM, Saraiva AAF, Coutinho HDM. Phenolic Compounds and Interaction between Aminoglycosides and Natural Products of *Lygodium venustum* SW against Multiresistant Bacteria. **Chemotherapy**, v.58, p. 337-340, 2012c.
- Morais-Braga MFB, Souza TM, Santos KKA, Guedes GMM, Andrade JC, Tintino SR, Costa JGM, Menezes IRA, Saraiva AAF, Coutinho HDM. Atividade antibacteriana, antifúngica e moduladora da atividade antimicrobiana de frações obtidas de *Lygodium venustum* SW. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**, v.12, p. 38-43, 2013.
- Morais-Braga MFB, Souza TM, Menezes IR, A, Costa JGM, Rocha JBT, Saraiva RA, Bueno PND, Athayde M.L, Boligon AA, Saraiva AAF, Coutinho HDM. Pteridophytes: Ethnobotany and Pharmacologic Bioactivities. In: Gonçalves, R.E.; Pinto, M.C. (Editors). **Natural products structure, bioactivity and applications**. New York: Nova Science Publishers. Cap. 1, p.1-33, 2012a.
- Smith C, Halliwell B, Aruoma OI: Protection by albumin against the pro-oxidation actions of phenolic dietary components. **Food Chem Toxicol**, v.30, p.483-489, 1992.
- Souza JR, Barbosa AC. Contaminação por mercúrio e o caso da Amazônia. **Química Nova na Escola**. n. 12, 2000.
- Vassalo D V, Massaroni L, Oliveira EM, Rossoni LV, Amaral SMC, Vassalo PF. Ações tóxicas e agudas do mercúrio sobre o aparelho cardiovascular. Centro Biomédico da UFGS, Vitória e Hospital Universitário da UFSM, Santa Maria RS, Vitória ES. **Arq. Bras. Cardiologia**, v. 67, p. 54-61. 1996.