



**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO PIAUÍ
CAMPUS PARNAÍBA
LICENCIATURA EM QUÍMICA**

CECÍLIA SÁVIA OLIVEIRA AGUIAR

**ESTUDO FITOQUÍMICO, AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE, TEOR
DE FLAVONOIDES E TOXICIDADE DE *Xylosma benthamii***

**PARNAÍBA
2022**

CECÍLIA SÁVIA OLIVEIRA AGUIAR

ESTUDO FITOQUÍMICO, AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE, TEOR DE
FLAVONOIDES E TOXICIDADE DE *Xylosma benthamii*

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como exigência parcial para obtenção do diploma do Curso de Licenciatura em Química do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí. *Campus Parnaíba*.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Buana Carvalho de Almeida
Coorientador: Prof. Dr. Bartholomeu Araújo B. Filho

PARNAÍBA
2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD

Aguiar, Cecília Sávia Oliveira

A282e Estudo fitoquímico, avaliação do potencial antioxidante, teor de flavonoides e toxicidade de *Xylosma benthamii* / Cecília Sávia Oliveira Aguiar. - 2022.
74 f.: il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Química) - Instituto Federal do Piauí, Campus Parnaíba, 2022.

Orientadora : Profa. Dra. Buana Carvalho de Almeida.

Coorientador : Prof. Dr. Bartholomeu Araújo B. Filho.

1. Química . 2. Análise fitoquímica . 3. *Xylosma benthamii* (Espécie). 4. Toxicidade. I.Título.

CDD - 540

Elaborado por Micheline Angélica Aragão Gouveia CRB 3/1244

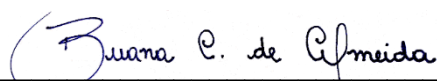
CECÍLIA SÁVIA OLIVEIRA AGUIAR

ESTUDO FITOQUÍMICO, AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE, TEOR DE FLAVONOIDES E TOXICIDADE DE *Xylosma benthamii*

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como exigência parcial para obtenção do diploma do Curso de Licenciatura em Química do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí. *Campus Parnaíba*.

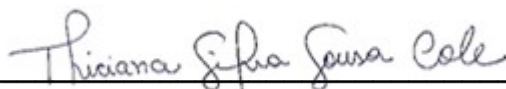
Aprovada em: 10 / 02 / 2022 .

BANCA EXAMINADORA

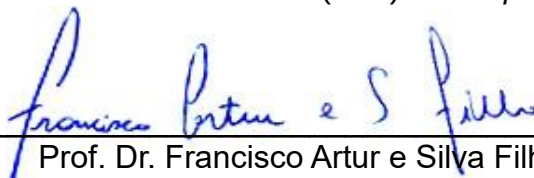


Prof^a. Dr^a. Buana Carvalho de Almeida
(Orientadora)

Instituto Federal do Piauí (IFPI) – *Campus Parnaíba*



Prof^a. Dr^a. Thiciane Silva Sousa Cole
Instituto Federal do Piauí (IFPI) – *Campus Cocal*



Prof. Dr. Francisco Artur e Silva Filho
Universidade Estadual do Piauí (UESPI) – *Campus Alexandre Alves Oliveira*

Aos pais, amigos, familiares e docentes.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por me dar sabedoria para enfrentar todos os desafios e dificuldades ao longo desses quatro anos de curso.

Aos meus pais, Domingos Sávio Aguiar Silva e Maria Santinolia de Oliveira, por sempre estarem ao meu lado incentivando, aconselhando, ajudando financeiramente, acreditando e torcendo pelo meu sucesso.

E também, aos meus irmãos José de Calazans Da Silva Neto e Paulo Augusto Oliveira Aguiar, que estiveram ao longo do curso me dando força e motivação para continuar persistindo em meus objetivos.

Ao meu namorado, Diego Conceição Carvalho, por todo o incentivo, cuidado, paciência e por sempre estar ao meu lado me apoiando em todas as minhas decisões. Além do mais, sou muito grata a ele por ter me ajudado durante o período remoto com o desenrolar de vários programas e meios tecnológicos que foram essenciais para a minha formação.

Quero ainda deixar meus sinceros agradecimentos a todos os meus familiares e amigos, que estiveram de forma direta ou indireta, torcendo e me incentivando a não desistir dos meus sonhos.

A todos os professores e servidores do IFPI Campus Parnaíba, em especial, a Prof^a. Dr^a. Márcia Valéria Silva Lima, Prof^a. Dr^a. Maria de Fátima Cardoso Soares, Prof^a. M^a. Vilma Dias de Araújo, Prof^a. Esp. Janete Cezar Ribeiro e as tias do refeitório, pelos ensinamentos e cuidados que foram essenciais para o desenvolvimento de minha personalidade e formação.

Sou extremamente grata à minha orientadora, Prof^a. Dr^a. Buana Carvalho de Almeida e ao meu coorientador, Prof. Dr. Bartholomeu Araujo B. Filho, que não mediram esforços para me buscar e trazer ao laboratório durante a pesquisa. E também a todos os conhecimentos que ambos compartilharam ao longo do curso, em especial, durante o desenvolvimento da pesquisa, que foram fundamentais para a minha aprendizagem. Obrigada também pelos lanches maravilhosos que vocês me patrocinaram.

Agradeço também a minha professora de TCC II, Prof^a. Dr^a. Ana Maria Athayde Uchôa Thomaz, pela paciência, incentivo e orientações, que foram imprescindíveis para o meu crescimento pessoal e o aprimoramento do meu trabalho.

A técnica laboratorial Isabel Pereira, pelo acolhimento no laboratório, paciência e auxílio durante as práticas. Meu muito obrigada!

Aos meus companheiros de curso, Natália Lopes, Leonardo Miranda, Amanda Rocha, Marcelo Oliveira, Allan Henrique, Ana Luiza e Leonardo Veras, por tornarem as minhas tardes mais alegres e desestressantes. Natália, muito obrigada pelos lanches que você nos proporcionou, já sinto falta!

Agradeço também aos meus amigos do curso de Física, especialmente ao meu amigo Winklei, pela ajuda nas disciplinas de cálculo e pelos momentos de diversão.

E não poderia faltar, um agradecimento especial aos meus amigos que o curso me presenteou, Wellington Aguiar, Kamila Lima e Luana Crys, por estarem sempre comigo nos momentos mais frustrantes, nas fofocas de cada dia, nas revisões antes das provas, no empenho nos trabalhos em grupos, nas realizações, nas brigas, na fila do almoço e por fim, nos nossos lanches que sem dúvida era o melhor momento de nossos encontros semanais. Sou imensamente grata por ter conhecido pessoas como vocês e por fazer parte desse quarteto fantástico!

“Ama-se mais o que se conquista com esforço”.
Benjamin Disraeli

RESUMO

O território brasileiro apresenta uma grande biodiversidade vegetal, consequentemente uma vasta diversidade de substâncias ativas com propriedades terapêuticas, que promovem inovações no tratamento de doenças. A espécie *Xylosma benthamii*, a qual é conhecida popularmente como Pustameira, pertencente ao gênero *Xylosma* da família Salicaceae, é bastante utilizada na região do Delta do Parnaíba-PI, para o tratamento de feridas e problemas estomacais. A partir disso, o objetivo do trabalho foi realizar a análise fitoquímica, o potencial antioxidante, teor de flavonoides totais e toxicidade do extrato etanólico das folhas (EEF), caules (EEC) e raízes (EER) de *Xylosma benthamii*. Desse modo, o rendimento do EER, EEC e EEF foram, respectivamente, 13,71%, 6,27% e 25,03%. O perfil cromatográfico por CCD permitiu identificar substâncias da classe dos flavonoides e terpenoides. Os testes fitoquímicos evidenciaram a presença de taninos, flavonois, diidroflavonois, cumarinas, leucoantocianidinas, esteroides, heterosídeos saponínicos e alcaloides. Quanto ao teor de flavonoides totais (FLAT), o EEF apresentou maior teor ($175,22 \pm 0,89$ mg de ER/g EtOH) em comparação aos demais extratos. No teste de toxicidade frente à *Artemia salina* o EER apresentou toxicidade ($DL_{50} = 275,42 \mu\text{g/mL}$). O EEC, apresentou fraca toxidade ($DL_{50} = 951,26 \mu\text{g/mL}$), no entanto, o EEF não apresentou toxicidade ($DL_{50} = 8.755,88 \mu\text{g/mL}$). O EER apresentou percentual de atividade antioxidante (%AA) de $22,6\% \pm 2,44$. Este é o primeiro relato da análise fitoquímica, potencial antioxidante, teor de flavonoides totais e toxicidade para *X. benthamii*, o que colabora para a prospecção químico-toxicológica da espécie.

Palavras-chave: *Xylosma benthamii*. Metabólitos secundários. Toxicidade.

ABSTRACT

The Brazilian territory has a great plant biodiversity, consequently a vast diversity of active substances with therapeutic properties, which promote innovations in the treatment of diseases. The species *Xylosma benthamii*, which is popularly known as Pustameira, belongs to the genus *Xylosma* of the Salicaceae family, is widely used in the Delta do Parnaíba-PI region for the treatment of wounds and stomach problems. From this, the objective of this work was to carry out the phytochemical analysis, antioxidant potential, total flavonoid content and toxicity of the ethanol extract of leaves, stems and roots of *Xylosma benthamii*. Thus, the yield of EER, EEC and EEF of the species, gave respectively 13.71%, 6.27% and 25.03%. The TLC chromatographic profile allowed the identification of substances from the flavonoids and terpenoids class. The phytochemical tests showed the presence of tannins, flavonols, dihydroflavonols, coumarins, leucoanthocyanidins, steroids, saponin heterosides and alkaloids. As for FLAT, it was observed that EEF had a higher content of total flavonoids (175.22 ± 0.89 mg ER/g EtOH) compared to the other extracts. In the toxicity test, the EER showed $LD_{50} = 275.42$ mg/mL, evidencing a toxic character. For the EEC, the $LD_{50} = 951.26$ mg/mL was obtained, conferring a low toxicity. As for the EEF, the $LD_{50} = 8,755.88$ mg/mL, which gives it a non-toxic character. Antioxidant activity was performed only for the EER of *X. benthamii*. From this, it was found that at the concentration of 250 mg/mL, after 30 min the percentage for the extract was $22.6\% \pm 2.44$, which is lower than the positive control of rutin (94.14 ± 0.22) and BHT (89.88 ± 0.83). Making sure that the EER has a weak antioxidant activity, which may be due to the low content of total flavonoids observed in the extract. This is the first report on the phytochemical analysis, antioxidant potential, total flavonoid content and toxicity for *X. benthamii*, which contributes to the chemical-pharmacological prospection of the species.

Keywords: *Xylosma benthamii*. Secondary metabolites. Toxicity.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Unidade de isopreno.	22
Figura 2 - Estrutura base de um composto fenólico.	23
Figura 3 - Estrutura base de um flavonoide.....	23
Figura 4 - Estrutura química da morfina.	24
Figura 5 - Constituintes isolados de espécies do gênero <i>Xylosma</i>	26
Figura 6 - Espécie <i>Xylosma benthamii</i> (Tul.) Triana e Planch.	30
Figura 7 - Local de coleta da espécie via satélite.	40
Figura 8 - Perfil cromatográfico após revelação física (UV λ 365 nm) dos extratos etanólicos de <i>X. benthamii</i> . (A) CCD eluída em CHCl ₃ /MeOH (9:1); (B) CCD eluída em hexano/AcOEt (8:2) e (C) CCD eluída em CHCl ₃ /MeOH/H ₂ O (65:30:5).	42
Figura 9 - Perfil cromatográfico após revelação em Ce(SO ₄) ₂ dos extratos etanólicos de <i>X. benthamii</i> . (A) CCD eluída em CHCl ₃ /MeOH (9:1); (B) CCD eluída em hexano/AcOEt (8:2) e (C) CCD eluída em CHCl ₃ /MeOH/H ₂ O (65:30:5).	43
Figura 10 - Estrutura dos taninos condensados.	45
Figura 11 - Resultado obtido no teste para fenóis e taninos. Em (A) verde menos intenso para EER; (B) verde intenso para EEC e (C) verde intenso para EEF.	46
Figura 12 - Estrutura da quercetina.	47
Figura 13 - Resultado positivo para o teste de flavonóis. Em (A) EER; (B) EEC e (C) EEF.	47
Figura 14 - Resultado do teste confirmatório para leucoantocianidinas. Em (A) EER; (B) EEC e (C) EEF.	48
Figura 15 – Cátion flavílico (AH ⁺).	49
Figura 16 - Resultados obtidos no teste para diidroflavonois. Em (A) EER; (B) EEC e (C) EEF.	50
Figura 17 - Estrutura do lanosterol.	51
Figura 18 - Resultados obtidos no teste para esteroides e triterpenos. Em (A) EER; (B) EEC e (C) EEF.	51
Figura 19 - Resultado do teste para heterosídeos saponínicos. Em (A) EER; (B) EEC e (C) EEF.	52
Figura 20 - Resultado obtido no teste para alcaloides. Em (A) EER; (B) EEC e (C) EEF.	54
Figura 21 - Estrutura química da cumarina.....	55

Figura 22 - Resultado do teste para cumarinas. Em (A) EER; (B) EEC e (C) EEF. .55

Figura 23 - Mecanismos de reação entre o radical DPPH• e um antioxidante.58

LISTA DE TABELAS, QUADROS E GRÁFICOS

Tabela 1 - Rendimento dos extratos de <i>X. benthamii</i>	41
Tabela 2 - Teor de flavonoides totais (FLAT) do EER, EEC e EEF de <i>X. benthamii</i> ..	57
Tabela 3 – Percentual da atividade antioxidante para as distintas concentrações. ..	59
Quadro 1 - Relação das 12 espécies inseridas na RENAME e as respectivas atividades biológicas.	20
Quadro 2 - Classificação taxonômica de Salicaceae.....	24
Quadro 3 - Dados fitoquímicos do EER, EEC, EEF da espécie <i>X. benthamii</i>	44
Gráfico 1 – Percentual de DPPH remanescente em função da concentração.	59

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

OMS	Organização Mundial de Saúde
SUS	Sistema Único de Saúde
PNPIC	Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares
IFPI	Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí
RENISUS	Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS
UBS	Unidade Básica de Saúde
RENAME	Relação Nacional de Medicamentos Essenciais
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
RNA	Ácido Ribonucleico
UFDPAr	Universidade Federal do Delta do Parnaíba
EER	Extrato Etanólico das Raízes
EEC	Extrato Etanólico do Caule
EEF	Extrato Etanólico das Folhas
Eq.	Equação
UV	Ultravioleta
Abs	Absorbância
EtOH	Etanol
MeOH	Metanol
pH	Potencial Hidrogeniônico
DMSO	Dimetil sulfóxido
DPPH	2,2-difenil-1-picril-hidrazil
FLAT	Flavonoides Totais
HDELTA	Herbário Delta do Parnaíba

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
AlCl_3	Cloreto de alumínio
$\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$	Sulfato cério
nm	Nanômetro
°C	Graus Celsius
mg	Miligramas
g	Gramas
FeCl_3	Cloreto de ferro
H_2O	Água
NaOH	Hidróxido de sódio
HCl	Ácido clorídrico
Na_2SO_4	Sulfato de sódio
mL	Mililitros
Mol.L^{-1}	Mol por litro
mg.L^{-1}	Miligramas por litro
$\mu\text{g/mL}$	Microgramas por mililitro
RE/g	Equivalente de Rutina por gramas

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
2.1 IMPLEMENTAÇÃO DA FITOTERAPIA NO SISTEMA ÚNICO DE SAÚDE (SUS)	18
2.2 VANTAGENS DA UTILIZAÇÃO DE PLANTAS MEDICINAIS PARA A FARMACOLOGIA	19
2.3 METABOLISMO VEGETAL	21
2.3.1 Metabolismo primário	21
2.3.2 Metabolismo secundário	22
2.4 ASPECTOS TAXONÔMICOS DA PLANTA	24
2.4.1 Família Salicaceae	24
2.4.2 Gênero <i>Xylosma</i>	25
2.4.3 Espécie <i>Xylosma benthamii</i> (Tul.) Triana & Planch.	30
3 OBJETIVOS	31
3.1 OBJETIVO GERAL	31
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	31
4 METODOLOGIA	32
4.1 TIPO DA PESQUISA	32
4.2 COLETA DA ESPÉCIE	32
4.3 PROCEDIMENTO DA PESQUISA	32
4.3.1 Preparação dos extratos	32
4.3.2 Cromatografia em Camada Delgada (CCD)	33
4.3.3 Testes fitoquímicos para metabólitos secundários	33
4.3.3.1 Preparo das soluções das amostras	33
4.3.3.2 Testes para fenóis e taninos	33
4.3.3.3 Testes para antocianinas, antocianidinas e flavonoides	33
4.3.3.4 Testes para leucoantocianidinas, catequinas e flavonas	34
4.3.3.5 Teste para flavonois, flavanonas, flavononois e xantonas	34
4.3.3.6 Teste confirmatório para leucoantocianidinas	34
4.3.3.7 Teste confirmatório para diidroflavonois – Ensaio de Pacheco	35
4.3.3.8 Teste para esteroides e triterpenos – (Lieberman-Burchard)	35
4.3.3.9 Teste para heterosídeos saponínicos	35
4.3.3.10 Teste para alcaloides	35
4.3.3.11 Teste para alcaloides e cumarinas	36

4.3.4 Teor de flavonoides totais	36
4.3.4.1 Construção da curva de calibração	37
4.3.4.2 Determinação do teor de flavonoides totais (FLAT)	37
4.3.5 Atividade antioxidante pelo método de sequestro de radicais livres (DPPH•)	37
4.3.5.1 Leitura das medidas de absorbância das amostras	38
4.3.6 Atividade farmacológica.....	38
4.3.6.1 Ensaio de toxicidade frente à <i>Artemia salina</i>	38
4.4 TRATAMENTO DOS DADOS.....	39
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	40
5.1 COLETA DA ESPÉCIE	40
5.2 RENDIMENTO DOS EXTRATOS.....	40
5.3 CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA (CCD)	41
5.4 TESTES FITOQUÍMICOS PARA METABÓLITOS SECUNDÁRIOS	43
5.4.1 Taninos.....	44
5.4.2 Flavonois.....	46
5.4.3 Leucoantocianidinas.....	48
5.4.4 Diidroflavonois	49
5.4.5 Esteroides	50
5.4.6 Heterosídeos saponínicos.....	52
5.4.7 Alcaloides	53
5.4.8 Cumarinas.....	54
5.5 AVALIAÇÃO DO TEOR DE FLAVONOIDES TOTAIS (FLAT)	56
5.6 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO DE SEQUESTRO DE RADICAIS LIVRES (DPPH•).....	57
5.7 ENSAIO DE TOXICIDADE FRENTE À <i>Artemia salina</i>	59
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	61
7 PERSPECTIVAS FUTURAS.....	62
REFERÊNCIAS.....	63

1 INTRODUÇÃO

No Brasil, os medicamentos fitoterápicos, os quais são produzidos a partir de material vegetal, e as plantas medicinais, são consolidados como uma alternativa terapêutica para uma parcela da sociedade, onde corriqueiramente são manipulados de forma tradicional e empírica. Neste sentido, Nicácio et al., (2020) ressaltam que aproximadamente 82% da população utiliza destes produtos naturais para cuidados pessoais com a saúde. Porém, a produção e o uso desses fitoterápicos devem estar de acordo com as normas específicas, pois a utilização inadequada acarreta em riscos à saúde, como intoxicação e reações alérgicas (SOUSA; SANTOS; ROCHA, 2019).

Ademais, vale enfatizar que o território brasileiro apresenta uma grande biodiversidade vegetal, consequentemente uma vasta diversidade de substâncias ativas com propriedades terapêuticas, propiciando inovações para indústria farmacêutica e no tratamento de doenças. Sendo assim, Tesser, Sousa e Nascimento (2018), abordam que a Organização Mundial da Saúde (OMS) reconhece e incentiva a promulgação de políticas públicas voltadas a implementação da medicina complementar alternativa nos sistemas nacionais de saúde, objetivando uma melhoria dos serviços com abordagens distintas e inovadoras (RIBEIRO, 2019).

Corroborando com essa perspectiva, Esteves et al., (2020) afirmam que existem outras 19 práticas integrativas distintas da fitoterapia, que foram introduzidas no Sistema Único de Saúde (SUS), para minimizar o uso impróprio de fármacos e suas reações adversas; aprimorar a resolutividade de tratamentos e melhorar a qualidade de vida dos pacientes de acordo com a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC), Portarias GM/MS nº 971 e nº 849/2017 (RIBEIRO, 2018).

Sendo assim, considerando a relevância de estudos na área da Química de Produtos Naturais, Filho (2020) relata que esse âmbito de pesquisa está diretamente relacionado com as propriedades farmacológicas produzidas a partir de substâncias naturais, tais como, fungos, bactérias, animais marinhos e plantas, os quais possuem estruturas químicas divididas em classes de metabólitos primários e secundários, que são imprescindíveis na produção de medicamentos, em especial os fitoterápicos (MATHUR e HOSKINS, 2017).

Neste contexto, Borges e Amorim (2020) reiteram que os metabólitos primários, são constituintes importantes para todos os organismos, pois atuam no

desenvolvimento e crescimento dos mesmos, incluindo os aminoácidos, açúcares, ácidos graxos, proteínas. Já os metabólitos secundários são responsáveis pela evolução dos organismos e interação com os seres vivos, onde são constituídos por variadas estruturas químicas com diferentes potenciais terapêuticos, pertencendo às classes de compostos fenólicos, nitrogenados e terpenos (FILHO, 2020).

Diante disso, a espécie *Xylosma benthamii*, a qual é conhecida popularmente como Pustameira, pertencente ao gênero *Xylosma* da família Salicaceae, é bastante utilizada na região do Delta do Parnaíba-PI para o tratamento de feridas e problemas estomacais. A população defende o uso do chá das raízes, caules e folhas para o tratamento de inflamações, câncer e ferimentos. Sendo assim, o presente estudo visa analisar qualitativamente a presença de metabólitos secundários de *X. benthamii*, bem como avaliar o potencial antioxidante, teor de flavonoides totais e toxicidade da mesma.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 IMPLEMENTAÇÃO DA FITOTERAPIA NO SISTEMA ÚNICO DE SAÚDE (SUS)

Segundo Silva et al. (2017), a fitoterapia é uma alternativa frequente na vida das pessoas, sendo vista como uma ciência preventiva, paliativa e curativa, caracterizada pela utilização de plantas medicinais sem substâncias ativas isoladas. A partir disso, com a visibilidade e a importância dessa modalidade para a indústria farmacológica e economia do país, a OMS decidiu estimular o desenvolvimento de políticas públicas de saúde, com o intuito de implementar essa prática no SUS (NASCIMENTO, 2020).

Sendo assim, no ano de 2005, a OMS publicou o documento Política Nacional de Medicina Tradicional e Regulamentação de Medicamentos Fitoterápicos, que dispõe da situação dessas políticas no mundo, em especial do Brasil, devido à sua enorme biodiversidade (BRASIL, 2014). Ademais, em 2006 foi promulgada a Portaria GM nº 971, onde consolida o sistema público de saúde e a inclusão das plantas medicinais e da fitoterapia, dando aos usuários do SUS o acesso a estes recursos (BRASIL, 2015).

Nesta perspectiva, Oshiro et al., (2016) afirmam que em 2009 houve a criação da Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (RENISUS), onde relaciona uma diversidade de plantas medicinais com propriedades terapêuticas comprovadas cientificamente, com a finalidade de contribuir na elaboração de novos fitoterápicos. Desse modo, o Ministério da Saúde afirmou que a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos já beneficiou cerca de 12 mil pessoas, em 930 municípios e 3.250 Unidades Básicas de Saúde (UBS) (BRASIL, 2015).

Em vista do progresso da implementação de plantas medicinais e programas de fitoterapia no SUS, Costa e Vieira (2020) ressaltam a importância da qualificação de estudantes e profissionais da saúde, para trazer uma maior segurança aos usuários. Corroborando com esta concepção, Valverde, Silva e Almeida (2018) ainda afirmam, que é necessário planejamento, uma gestão participativa e a inclusão da comunidade, com isso, consolidando políticas públicas na área e integrando os saberes populares aos conhecimentos científicos.

Neste caso, é interessante que os profissionais questionem seus pacientes acerca de seus saberes referentes à utilização de uma determinada planta medicinal, visando manter uma prática integrativa do uso dos fitoterápicos, onde o reconhecimento popular na utilização desses medicamentos está diretamente ligado à troca de conhecimentos (ROSA; CÂMARA; BÉRIA, 2011).

Dentro desta perspectiva Bonfante, et al. (2021) afirmam que:

“A interação entre profissionais e comunidade, através de encontros e reuniões proporciona educação em saúde, fortalecendo o aprendizado para a população, estimulando sua autonomia e priorizando assim a redução da medicalização excessiva”

Desse modo, Brasil (2015) destaca que a aproximação da sociedade com a realidade e os proveitos da fitoterapia ofertados na Atenção Básica, possibilita o desenvolvimento significativo de potencialidades de forma multiprofissional.

Portanto, com a criação da política para fitoterapia, o Brasil vem se destacando com estudos acerca dos potenciais terapêuticos de plantas medicinais e na produção de medicamentos fitoterápicos. Dessa forma, propiciando avanços na medicina e na indústria farmacêutica, além de elevar a economia do país (BACK, 2020).

2.2 VANTAGENS DA UTILIZAÇÃO DE PLANTAS MEDICINAIS PARA A FARMACOLOGIA

Em toda a parte do mundo, tem-se o reconhecimento das plantas medicinais, desde as sociedades mais tradicionais até as mais modernas. Sua relevância perpassa por muitas gerações tendo inserção no âmbito agroindustrial, na alimentação, farmacologia e na medicina (NETA et al., 2018).

A partir disso, mesmo diante dos avanços tecnológicos na indústria farmacológica, as plantas medicinais continuam ajudando na cura de diversas patologias, devido à presença de substâncias bioativas (SILVA et al., 2017). Estas substâncias podem ser, por exemplo, taninos, flavonoides e alcaloides. Atuam restaurando a homeostasia do organismo, desempenhando funções cicatrizantes, anti-inflamatórias, analgésicas, bactericidas, dentre outras (OLIVEIRA et al., 2021).

Desse modo, com o reconhecimento científico acerca do potencial das plantas medicinais, e com a comprovação de estudos etnofarmacológicos a respeito da eficácia dessas propriedades, possibilitaram uma maior segurança e confiabilidade dos consumidores, consequentemente aumentando a procura de medicamentos e suplementos produzidos a partir de matéria prima vegetal (MONTEIRO et al., 2015).

Com base nisso, o Ministério da Saúde através da Portaria nº 533, de 28 de março de 2012, incluiu 12 espécies de plantas medicinais (QUADRO 1) na Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (RENAME) e autorizou a industrialização das mesmas, tornando-as mais palatáveis para o consumo dos pacientes e ampliando as ações terapêuticas (RODRIGUES; MOURÃO; GOUVÊA, 2021).

Quadro 1 - Relação das 12 espécies inseridas na RENAME e as respectivas atividades biológicas.

NOME POPULAR	NOME CIENTÍFICO	ATIVIDADE BIOLÓGICA
Espinheira-santa	<i>Maytenus ilicifolia</i>	Antioxidante
Guaco	<i>Mikania glomerata</i>	Anti-inflamatória e antialérgica.
Alcachofra	<i>Cynara scolymus</i>	Anticarcinogênica, antimicrobiana, antifúngica, etc.
Aroeira-vermelha	<i>Schinus terebenthifolius</i>	Antimicrobiana, antioxidante, cicatrizante, etc.
Cáscara-sagrada	<i>Rhamnus purshiana</i>	Laxativa
Garra-do-diabo	<i>Harpagophytum procumbens</i>	Anti-inflamatória
Isoflavona-de-soja	<i>Glycine max</i>	Estrogênica, antifúngica, antitumoral, etc.
Unha-de-gato	<i>Uncaria tomentosa</i>	Antioxidante, diurética, analgésica, anti-inflamatória, etc.
Hortelã-pimenta	<i>Mentha piperita</i>	Antiespasmódico, expectorante.
Babosa	<i>Aloe vera</i>	Antimicrobiana, antioxidante, anti-inflamatória, cicatrizante, etc.
Salgueiro	<i>Salix alba</i>	Anti-inflamatória, analgésica e antitérmica.
Plantago	<i>Plantago ovata</i>	Antioxidante, antimicrobiana, anticâncer, analgésica, etc.

Fonte: Adaptado de Rodrigues; Mourão; Gouvêa (2021).

Dentro desta concepção, estudos apontados por Miranda e Uhlmann (2021) abordam que 50% dos medicamentos aprovados pelo *Food and Drug Administration* (FDA) entre os anos de 1981 e 2006, são originados de produtos naturais. Corroborando com isso, Lima et al., (2016) e Neta et al., (2018) ressaltam que, a comercialização de plantas medicinais é considerável para a economia e faturamento da indústria farmacêutica, pois apresenta um menor custo/benefício, ação biológica

com baixa toxicidade, isto é, menos efeitos colaterais e um baixo custo de produção em comparação com os produtos sintéticos.

2.3 METABOLISMO VEGETAL

O metabolismo consiste no conjunto das transformações das moléculas orgânicas, que são catalisadas por enzimas, ocorrendo regularmente nas células. Neste caso, Champeet et al., (2008) afirmam que a presença dessas enzimas específicas interfere na direção das reações, desse modo, estabelecendo as rotas metabólicas.

Ademais, Almeida (2017) ressalta que o metabolismo fisiológico é essencial para a síntese e degradação de compostos químicos, os quais atuam no desenvolvimento, crescimento e reprodução de várias espécies vegetais. Segundo Paz (2020), esses compostos são transformados, sintetizados e degradados, recebendo o nome de metabólitos, primários ou secundários.

2.3.1 Metabolismo primário

Os metabólitos primários estão presentes em todas as espécies vegetais, onde desempenham papéis fundamentais para a sobrevivência das mesmas, como a respiração, produção de hormônios e os processos fotossintéticos (PAZ, 2020). Além disso, segundo Groenigen et al. (2015), esses metabólitos são descritos por realizarem uma função metabólica direta, onde são inseridos quimicamente nas classes dos lipídios, aminoácidos, ácidos graxos e nucleotídeos, assim como moléculas maiores, que são sintetizadas a partir deles, como proteínas, polissacarídeos, membranas, DNA e RNA, também são intermediárias nas vias anabólicas e catabólicas das plantas. Dentro desta perspectiva, Kabera et al. (2014) enfatizam que os metabólitos primários possuem função plástica, estrutural e de armazenamento de energia, bem como, são os grandes precursores dos metabólitos secundários.

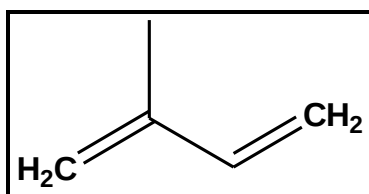
2.3.2 Metabolismo secundário

Os vegetais são capazes de produzir compostos químicos, dentre eles destacam-se os metabólitos secundários que atuam no processo de defesa contra patógenos, herbivoria e na proteção contra raios UV (TAIZ & ZEIGER, 2013). Corroborando com essa afirmação, Costa (2020) ressalta que os metabólitos secundários são necessários para as plantas, pois aumentam a sobrevivência das mesmas em diferentes ecossistemas, por meio do desenvolvimento de diversas atividades biológicas, tais como, antibióticos, antivirais e antifúngicos, além de ter alguns metabólitos que são relevantes na absorção de luz ultravioleta evitando danos às folhas.

Ademais, esses compostos químicos são frequentemente produzidos pelas plantas conforme suas necessidades, que abrangem as condições climáticas, proteção contra predadores e as interações com plantas distintas (SAVITHRAMMA et al., 2011). Porém, para os seres humanos estes constituintes são utilizados na produção de medicamentos, aromatizantes ou corantes. Esses compostos são subdivididos em três grandes classes: terpenoides, compostos fenólicos e alcaloides.

De acordo com Amorim e Borges (2020), os terpenoides ou terpenos são hidrocarbonetos insaturados naturais, representam mais de 55.000 moléculas já caracterizadas. Além do mais, os terpenos são classificados com base em unidades de cinco carbonos (C5), ou seja, unidade de isopreno (FIGURA 1), podendo ser hemiterpenos (C5), monoterpenos (C10), sesquiterpenos (C15), diterpenos (C20), sesterpenos (C25), triterpenos (C30), tetraterpenos (C40) e politerpenos (> C40) (BROCK; DICKSCHAT, 2013).

Figura 1 - Unidade de isopreno.

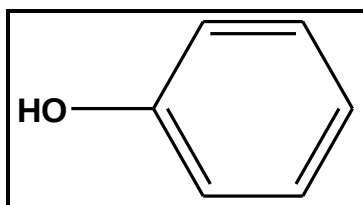


Fonte: Adaptado de Dewick (2009).

Os compostos fenólicos, por sua vez, apresentam em sua estrutura, um anel aromático ligado a uma radical hidroxila (FIGURA 2), concedendo cor, odor e sabor

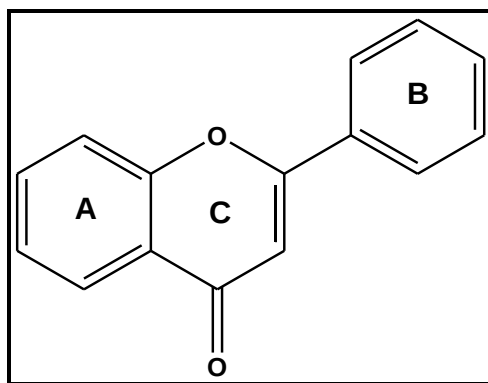
ao vegetal. Sendo assim, De La Rosa et al., (2019) enfatizam que os fenóis vegetais compreendem um grupo heterogêneo com cerca de 10.000 compostos, podendo ser, lignina, flavonoides, taninos e outros compostos mais simples, os quais desempenham função alelopática e de defesa contra patógenos. Para Taiz e Zeiger (2013), os flavonoides representam o maior e o mais importante grupo de compostos fenólicos, com, aproximadamente, 8.000 moléculas distintas. Apresentam, em sua fórmula estrutural, 15 átomos de carbono, constituído por dois anéis benzênicos (A e B), ligados a um anel pirano de três carbonos (C), representado na Figura 3.

Figura 2 - Estrutura base de um composto fenólico.



Fonte: Adaptado de Rocha et al., (2017).

Figura 3 - Estrutura base de um flavonoide.

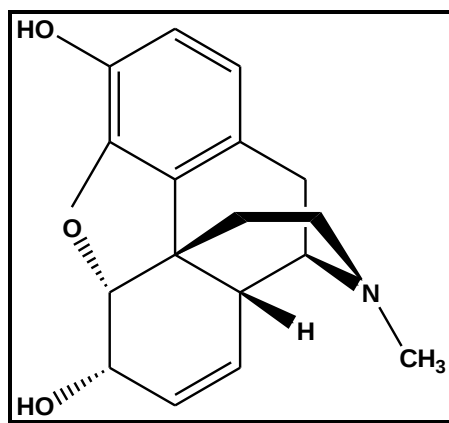


Fonte: Adaptado de Rocha et al., (2017).

Os alcaloides constituem o principal grupo dos compostos nitrogenados, apresentando em sua estrutura anéis heterocíclicos com átomos de nitrogênio, além do mais, podem ser encontrados em cerca de 20% das espécies vegetais de gimnospermas, monocotiledôneas e dicotiledôneas herbáceas (PAGARE et al., 2015). Essas substâncias são responsáveis pelo gosto amargo de determinadas plantas, além disso, apresentam grande potencial farmacológico, pois agem como ativadores da parte central do sistema nervoso, um exemplo é a morfina (FIGURA 4), a qual foi

o primeiro medicamento produzido a partir de um alcaloide extraído da espécie *Papaver somniferum* (AMORIM; BORGES, 2020).

Figura 4 - Estrutura química da morfina.



Fonte: Adaptado de Amorim; Borges (2020).

2.4 ASPECTOS TAXONÔMICOS DA PLANTA

2.4.1 Família Salicaceae

A partir da década de 80, a família concernia à ordem Salicales, sendo posteriormente deslocada para Violales, onde não permaneceu por muito tempo, logo após, foi inserida a ordem Malpighiales (NEPOMUCENO, 2018). Atualmente, a família é classificada conforme o Quadro 2.

Quadro 2 - Classificação taxonômica de Salicaceae.

Salicaceae	
Reino	Plantae
Filo	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordem	Malpighiales
Subfamílias	Salicoideae, Scyphostegioideae, Samydoideae

Fonte: Adaptado de Nepomuceno (2018).

Segundo Chase et al., (2016), a família Salicaceae é constituída por 55 gêneros e 1.010 espécies em todo o mundo, sendo que, no Brasil, esta família é composta por

18 gêneros, contendo 99 espécies, onde 37 são reconhecidas como endêmicas, isto é, ocorrência restringida a uma determinada região ou área (BFG, 2018). Corroborando com isso, Nepomuceno e Alves (2019) relatam em suas pesquisas que na região Nordeste, são encontrados 9 gêneros, contendo 45 espécies, sendo que no bioma Caatinga encontram-se 16 espécies.

Ademais, para Cordeiro, Almeida e Felix (2014), a família Salicaceae é composta por plantas arbóreas, arbustivas e lianas, folhas simples, alternas ou opostas, margem comumente serrada ou inteira com pontuações translúcidas. Também apresenta inflorescência em racemos alongados e bracteados, fascículos ou cimeiras terminais ou axilares. Suas flores são andróginas ou bissexuadas, diclamídeas, monoclamiídeas ou aclamiídeas, actinomorfas com ovário súpero e unilocular. Os frutos são cápsulas ou bagas e as sementes são arredondadas, ovóides a oblongas e ariladas. Além disso, em determinadas espécies é comum a presença de espinhos, como em *Casearia aculeata* Jacq., *C. spinescens* (Sw.) Griseb, *C. oblongifolia* Cambess e *Xylosma* sp.

As plantas pertencentes a esta família apresentam consideráveis potenciais terapêuticos de interesse medicinal e fitoquímico, também são utilizadas na reorganização de áreas degradadas e como recursos nutricionais para a avifauna (TOMAZZI et al., 2014). Confirmando essa perspectiva, Oliveira et al., (2021) enfatizam que a família Salicaceae está se destacando com amplas propriedades medicinais, tais como, antiofídica, antitérmica, antimicrobiana, anestésica, antiprotozoária, antidiarreica, antirreumática, antisséptica, cicatrizante, anti-inflamatória, antioxidante e citotóxica.

2.4.2 Gênero *Xylosma*

O gênero *Xylosma* tem sua designação proveniente do grego *xylon* (madeira, lenho) e *osmen* (odor, aroma, cheiro), com alusão ao cheiro do lenho da planta (PHILLIPSEN; MIGUEL; KALEGARI, 2013). Além do mais, o mesmo localiza-se em áreas tropicais e subtropicais da Austrália, Ásia e América, com cerca de 100 espécies, sendo que no Brasil estão presentes 11 espécies (RAU; BLUM, 2019).

Ademais, Swapana et al., (2017) e Sultana, Ali, Jameel (2018) abordam que são poucos os estudos referentes à composição química do gênero, porém em determinadas espécies, que já foram analisadas, foi possível identificar a presença de

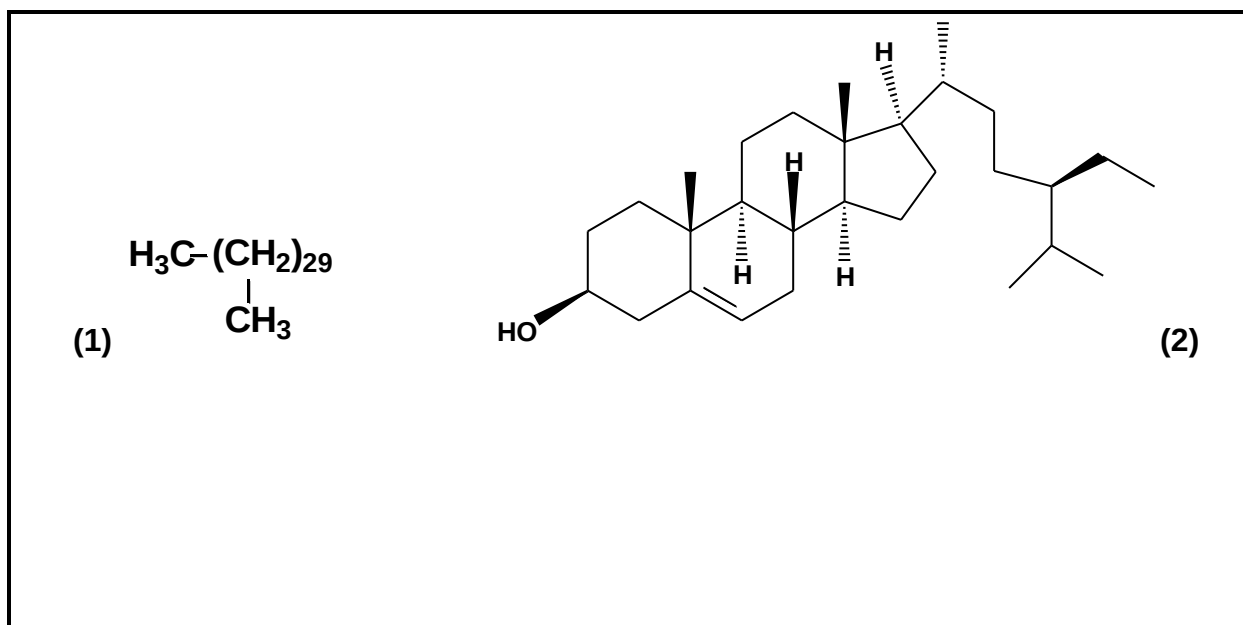
alguns constituintes, tais como, glicosídeos fenólicos, flavonoides e triterpenos (FIGURA 5), visto que, na extração metanólica das folhas de *X. longifolium* foram isolados n-hentriacontano **(1)**, sitosterol **(2)** e os flavonoides kaempferol **(3)**, quercetina-3-ramnosídeo **(4)**, kaempferol-3 β -xylopiranosídeo-4'- α -ramnosídeo **(5)**, kaempferol-3-ramnosídeo **(6)**, quercetina **(7)** (PARVEEN; GHALIB, 2012).

Já na fração hexânica das cascas e raízes de *X. ciliatifolium* e das folhas de *X. flexuosa* foram caracterizados respectivamente o sesquiterpeno ugandensidial **(8)**, triterpeno 3 β -lup-20(29)-en-3-ol **(9)** (PHILLIPSEN; MIGUEL; KALEGARI, 2013).

Segundo Truong et al., (2011) dentre os glicosídeos isolados no gênero *Xylosma*, foi caracterizada a xylosmina **(10)**, do extrato metanólico das partes aéreas de *X. flexuosa*; O xylongosídeo A **(11)**, xylongosídeo B **(12)**, xylosmacina **(13)** e xylosmalosídeo **(14)** decorrente do extrato metanólico de *X. longifolium*.

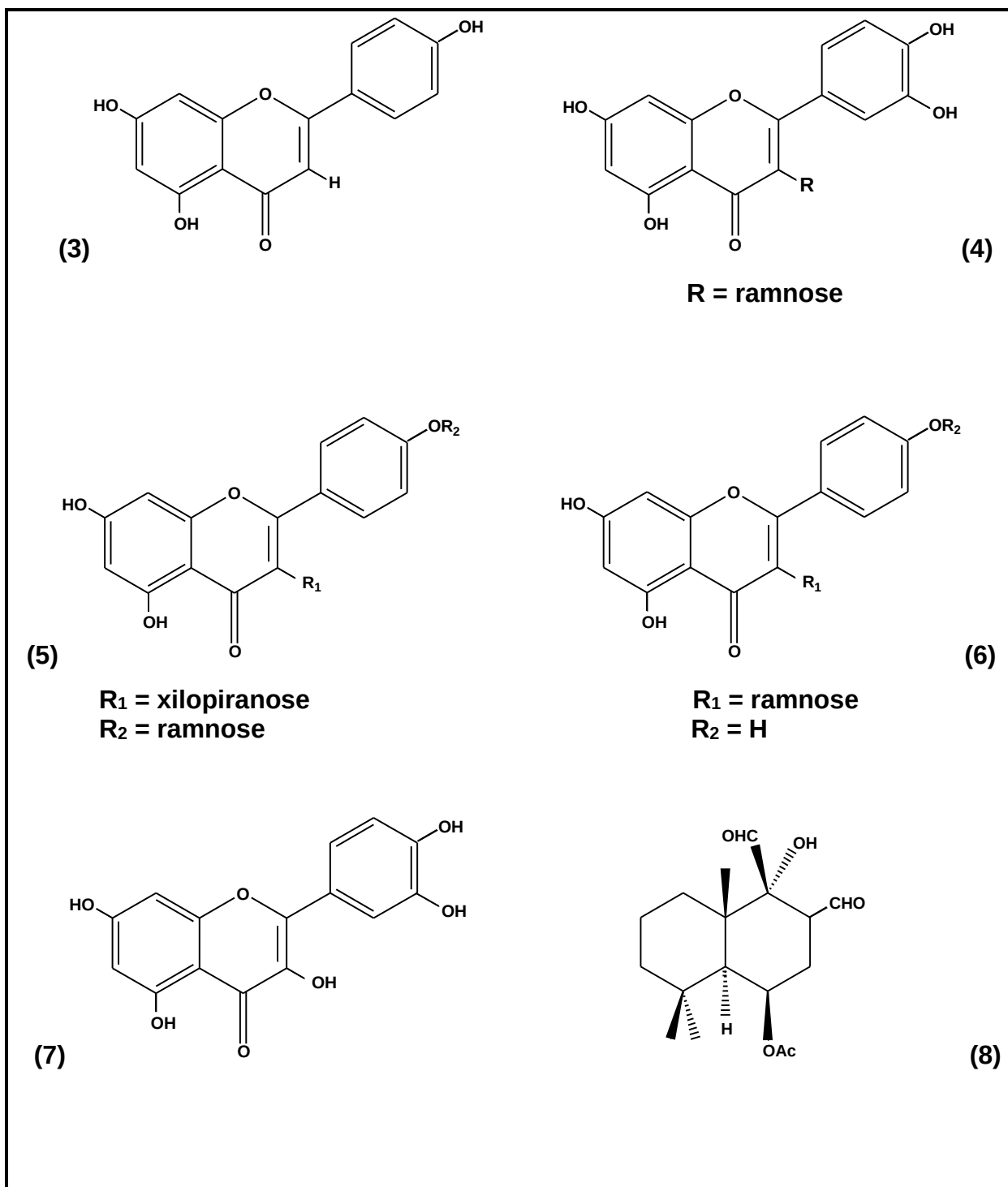
A partir disso, é relatado nos estudos de Devi, Singh e Singh (2013), que as espécies desse gênero apresentam uma variedade de atividades biológicas, tais como, antioxidantes, antibacterianas, narcóticas, sedativas e espasmolíticas, as quais são essenciais para o tratamento de diferentes patologias (RODRIGUES, 2020).

Figura 5 - Constituintes isolados de espécies do gênero *Xylosma*.



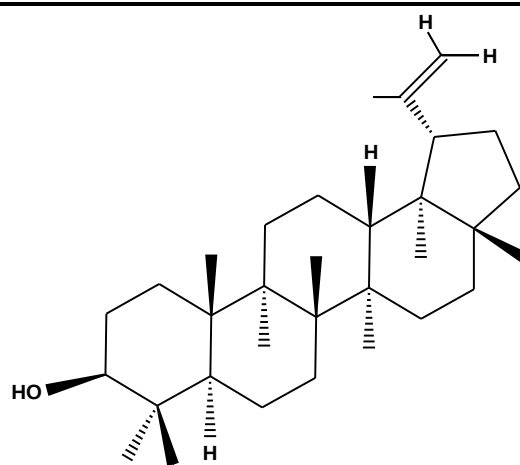
Fonte: Adaptado de Truong et al., (2011) e Rodrigues (2020).

Figura 5 – Continuação.

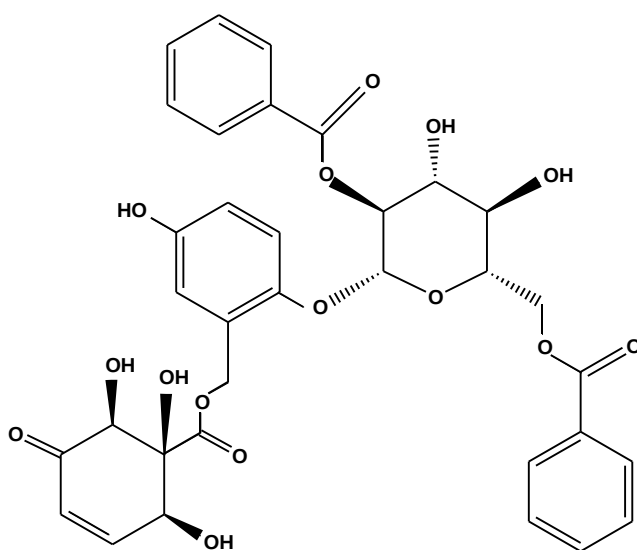


Fonte: Adaptado de Truong et al., (2011) e Rodrigues (2020).

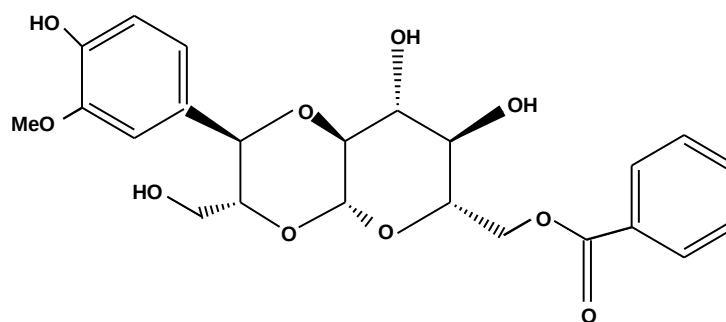
Figura 5 – Continuação.



(9)



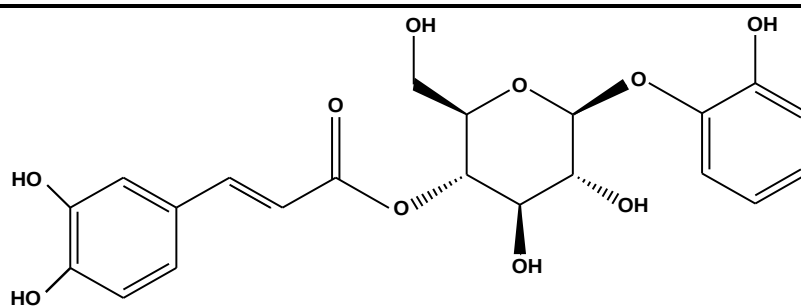
(10)



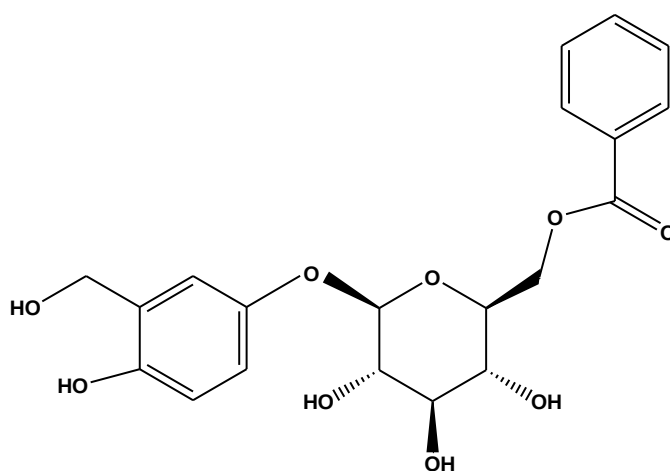
(11)

Fonte: Adaptado de Truong et al., (2011) e Rodrigues (2020).

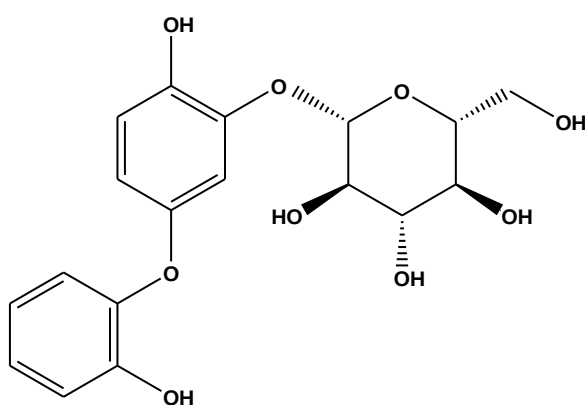
Figura 5 – Continuação.



(12)



(13)



(14)

Fonte: Adaptado de Truong et al., (2011) e Rodrigues (2020).

2.4.3 Espécie *Xylosma benthamii* (Tul.) Triana & Planch

A seguinte espécie pode ser encontrada como arbustos ou árvores com aproximadamente 12 metros, sendo nativa nas regiões Norte (Acre, Amazonas, Pará e Roraima), Centro-Oeste (Mato Grosso do Sul), Sudeste (Minas Gerais) e Nordeste (Bahia e Maranhão). Além disso, *X. benthamii* (FIGURA 6) tem como características específicas o caule com casca lisa, ramos lenticelados, folhas sem estípulas, pecíolos subcilíndricos, ápice curto, lâminas serrilhadas, sem pontos translúcidos e com inflorescência fasciculada. Suas flores podem ser bissexuais ou unissexuais com disco de 8 a 12 lobados. A mesma pode ser encontrada pelos seguintes sinônimos, *Flacourtia nitida*, *Xylosma digyna* e *Xylosma digynum* (FLORA BRASIL, 2020).

Vale ressaltar, que na literatura não existe estudos referente a espécie, com informações acerca de seus constituintes químicos, potencial antioxidante e toxicidade. Com isso, destacando a importância do presente estudo para o conhecimento taxonômico da espécie.

Figura 6 - Espécie *Xylosma benthamii* (Tul.) Triana e Planch.



Fonte: Autoria própria, (2021).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Realizar a análise fitoquímica, o potencial antioxidante, teor de flavonoides totais e toxicidade do extrato etanólico das folhas, caules e raízes de *Xylosma benthamii*.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Coletar o material vegetal no município de Ilha de Canárias – MA;
- Preparar a exsicata da planta e depositar no Herbário da Universidade Federal do Delta do Parnaíba - UFDPAr, a fim de identificar a espécie;
- Efetuar a extração do material vegetal com etanol à temperatura ambiente a fim de obter o extrato etanólico das folhas (EEF), o extrato etanólico dos caules (EEC) e o extrato etanólico das raízes (EER);
- Realizar os testes fitoquímicos para metabólitos secundários utilizando os extratos obtidos;
- Avaliar o potencial antioxidante, teor de flavonoides totais e toxicidade frente à *Artemia salina* dos EEF, EEC e EER de *Xylosma benthamii*.

4 METODOLOGIA

4.1 TIPO DA PESQUISA

O tipo de pesquisa foi de cunho explicativo, pois de acordo com Gil (2017), é a pesquisa que tem o cuidado em identificar os fatores determinantes para a ocorrência de um fenômeno, além de ser a que mais aprofunda o conhecimento da realidade, sendo que nas ciências naturais é especificamente destinada ao método experimental.

4.2 COLETA DA ESPÉCIE

As folhas, caules e raízes de *Xylosma benthamii* foram coletadas no povoado Ilha de Canárias, município de Araisos – Maranhão (coordenadas S 2°45'47,98338"; W 41°50'38,07853"). A exsicata da espécie foi depositada no Herbário da Universidade Federal do Delta do Parnaíba (UFDPa) para identificação e registro inequívocos da espécie.

4.3 PROCEDIMENTO DA PESQUISA

4.3.1 Preparação dos extratos

Após a coleta, as folhas, caules e raízes de *X. benthamii* foram separados, secos à temperatura ambiente, triturados e submetidos à extração com etanol à temperatura ambiente, de forma a obter o extrato etanólico das folhas (EEF), extrato etanólico do caule (EEC) e o extrato etanólico das raízes (EER). Após a extração, o solvente orgânico foi removido com auxílio do evaporador rotativo modelo 801 da FISATOM, no Laboratório de Produtos Naturais do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí – *Campus* Parnaíba, e o rendimento dos extratos foi calculado pela Equação 1.

$$\text{Rendimento (\%)} = (\text{massa do extrato} / \text{massa do material vegetal}) \times 100 \quad \text{Eq. 1}$$

4.3.2 Cromatografia em Camada Delgada (CCD)

Alíquotas dos extratos etanólicos (EEF, EEC e EER) de *X. benthamii* foram dissolvidas em metanol e submetidas ao método cromatográfico em cromatoplasas de alumínio com sílica da Macherey-Nagel (MN) com indicador de fluorescência. Os eluentes clorofórmio/metanol (9:1); hexano/acetato de etila (8:2) e clorofórmio/metanol/água (65:30:5) foram utilizados como fase móvel e as placas, após o processo, foram expostas à luz UV (λ 254 e 365 nm) para observação do aparecimento de fluorescência. Em seguida, as mesmas foram reveladas com solução de $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ (sulfato cério) e aquecidas em placa aquecedora.

4.3.3 Testes fitoquímicos para metabólitos secundários

Os seguintes testes fitoquímicos foram realizados segundo a metodologia de Matos (2009).

4.3.3.1 Preparo das soluções das amostras

Os extratos etanólicos – EEF, EEC e EER (500 mg) foram dissolvidos em 50 mL da mistura EtOH/H₂O (8:2). Cada teste foi realizado para cada extrato individualmente, conforme descrito a seguir.

4.3.3.2 Testes para fenóis e taninos

Em um tubo de ensaio, contendo a solução hidroalcoólica do extrato (3 mL), foram adicionadas três gotas de solução alcoólica de FeCl_3 , após agitação, observou-se a possível alteração na coloração da solução. Uma variação de cor entre o azul e vermelho é indicativo da presença de fenóis, quando o teste branco for negativo. A formação de um precipitado escuro de tonalidade azul indica a presença de taninos pirogálicos (taninos hidrolisáveis) e verde, a presença de taninos flobatênicos (taninos condensados ou catéquicos).

4.3.3.3 Testes para antocianinas, antocianidinas e flavonoides

O teste foi realizado em três tubos de ensaio contendo a solução hidroalcoólica do extrato (3 mL), com controle do pH da solução. Em um tubo de ensaio, a solução foi acidificada com HCl (1 mol.L^{-1}) a pH 3, no outro, alcalinizada com NaOH (10%) a pH 8,5 e no terceiro, a solução foi alcalinizada com NaOH (10%) a pH 11. Uma coloração vermelha em meio ácido, indica a presença de antocianinas e antocianidinas ou de chalconas e auronas. Uma coloração lilás em meio alcalino a pH 8,5, indica a presença de antocianinas e antocianidinas. Uma coloração azul-púrpura em meio alcalino a pH 11, indica a presença de antocianinas e antocianidinas. Neste meio, uma coloração amarela, indica a presença de flavonas, flavonóis e xantonas. A pH 11, uma coloração vermelho-púrpura, indica a presença de chalconas e auronas, enquanto a coloração vermelho-laranja, indica a presença de flavonóis.

4.3.3.4 Testes para leucoantocianidinas, catequinas e flavonas

Em dois tubos de ensaio contendo a solução hidroalcoólica do extrato (3 mL), foi acidificado ao primeiro, HCl (1 mol.L^{-1}) até pH 1-3, e ao segundo foi alcalinizado com NaOH até pH 11. Os tubos foram aquecidos em banho-maria durante 2-3 minutos. O aparecimento ou intensificação da cor indica a presença de constituintes especificados: Em meio ácido, a cor vermelha indica a presença de leucoantocianidinas, a cor pardo-amarelada indica a presença de catequinas (taninos catéquicos); em meio alcalino, a cor vermelho-laranja indica a presença de flavononas.

4.3.3.5 Teste para flavonóis, flavanonas, flavononóis e xantonas

Em um tubo de ensaio contendo a solução hidroalcoólica do extrato (3 mL), foi adicionada uma fita de magnésio e 0,5 mL de HCl concentrado. Após o término da reação, indicado pelo fim da efervescência, observou-se a coloração resultante. O aparecimento ou intensificação da coloração vermelha é indicativo da presença de flavonóis, flavanonas, flavanonóis e/ou xantonas, livres ou seus heterosídeos.

4.3.3.6 Teste confirmatório para leucoantocianidinas

A solução hidroalcoólica do extrato (3 mL) foi colocada em banho-maria até a completa evaporação do solvente, em seguida, foram adicionados 5 mL de álcool

etílico e 3 gotas de HCl concentrado, o material foi transferido para um tubo de ensaio e aquecido em banho-maria até a ebulição. Observou-se o possível desenvolvimento de coloração na amostra aquecida.

4.3.3.7 Teste confirmatório para diidroflavonois – Ensaio de Pacheco

A solução hidroalcoólica (5 mL) dos extratos foi seca em banho-maria. Alguns cristais de acetato de sódio foram adicionados ao resíduo seco, 0,5 mL de anidrido acético e 0,5 mL de HCl concentrado. O possível desenvolvimento de coloração foi observado, após a adição dos reagentes.

4.3.3.8 Teste para esteroides e triterpenos – (Lieberman-Burchard)

Adicionaram-se 10 mL do extrato hidroalcoólico do extrato em um béquer, em seguida, o mesmo foi seco em banho-maria a 60°C, o resíduo seco foi extraído com 2 mL de clorofórmio. A solução clorofórmica foi filtrada, em seguida adicionados alguns cristais de Na_2SO_4 anidro e 1 mL de anidrido acético, e agitou-se cuidadosamente. Após a agitação, foram adicionadas três gotas de HCl concentrado, em seguida, agitou-se suavemente e observou-se o desenvolvimento de cores. A coloração azul seguida de verde permanente é indicativa da presença de esteroides livres. A coloração parda até vermelha é indicativa de triterpenóides pentacíclicos livres.

4.3.3.9 Teste para heterosídeos saponínicos

O resíduo insolúvel em clorofórmio (item anterior) foi redissolvido com 10 mL de água destilada. A solução filtrada foi colocada em um tubo de ensaio, após agitação vigorosa, durante 3 minutos, observou-se a formação de espuma. A espuma persistente e abundante indica a presença de saponinas (heterosídeos saponínicos).

4.3.3.10 Teste para alcaloides

A solução hidroalcoólica (20 mL) foi seca em banho-maria a 70°C. O resíduo foi dissolvido em 1 mL de álcool etílico e acrescido de 20 mL de ácido clorídrico a 0,1

mol.L⁻¹, 1 mL dessa solução foi dissolvida com HCl e transferida para um tubo de ensaio, após a adição de 2 gotas do reagente de Dragendorff (tetraiodeto bismuto de potássio), uma possível formação de precipitado ou turvação das amostras foi observada.

4.3.3.11 Teste para alcaloides e cumarinas

Estes testes seguiram a metodologia adaptada de Kloss et al., (2016), onde primeiramente para o ensaio de alcaloides, preparou-se o reagente de Wagner, com a metodologia de DiVerdi (2019), na qual dissolveu-se 2 g de iodo ressublimado e 6 g de Iodeto de Potássio em 100 mL de água destilada. Para realizar o ensaio utilizaram-se 2,0 mL da solução hidroalcoólica do extrato etanólico, sendo adicionados 2,0 mL de ácido clorídrico (10%), e posterior aquecimento durante 10 minutos. Após o resfriamento, o extrato foi dividido em dois tubos de ensaios e colocaram-se oito gotas, utilizando pipeta de Pasteur, dos seguintes reativos:

Tubo 1 - Reativo de Dragendorff: observou-se a possível formação de precipitado de coloração laranja a vermelho;

Tubo 2 - Reativo de Wagner: observou-se a possível formação de precipitado de coloração alaranjada.

Para o ensaio de detecção de cumarinas, em um béquer adicionaram-se 2,00 mL da solução hidroalcoólica, vedou-se o béquer com papel de filtro impregnado em solução 10% de NaOH e aqueceu-se em banho maria a 100°C por 10 minutos. Removeu-se o papel-filtro e examinou-se sob luz ultravioleta nos comprimentos de onda de 254 e 365 nm. A fluorescência amarela ou verde indica a presença de cumarinas.

4.3.4 Teor de flavonoides totais

O teor de flavonoides totais (FLAT) do EEF, EEC e EER de *X. benthamii* foi determinado por espectrofotometria de absorção molecular utilizando uma solução metanólica de cloreto de alumínio (AlCl₃), segundo a metodologia Pozzi (2007) com modificações.

4.3.4.1 Construção da curva de calibração

Foi preparada uma solução padrão de rutina a 1000 mg.L^{-1} , dissolvendo-se 0,1 g de rutina em 100 mL de metanol/água (7:3). As diluições para a construção da curva de calibração foram realizadas nas concentrações de $2,5\text{-}20 \text{ mg.L}^{-1}$ (2,5; 5; 7,5; 10; 12,5; 15; 17,5; 20 mg.L^{-1}). Após isso, foi preparada uma solução metanólica padrão dissolvendo 1 g de AlCl_3 em 50 mL de metanol.

4.3.4.2 Determinação do teor de flavonoides totais (FLAT)

Inicialmente, a solução-mãe foi preparada dissolvendo 10 mg do extrato etanólico em 10 mL de metanol para obter a concentração de $1000 \text{ }\mu\text{L/mL}$. Em seguida, uma alíquota de $500 \text{ }\mu\text{L}$ desta solução foi transferida para balões volumétricos de 10 mL e acrescido 0,5 mL do reagente de cloreto de alumínio. Posteriormente, foi acertado o volume da solução para 10 mL com metanol. Os testes foram feitos em triplicata e controle negativo constituído por 0,5 mL da solução-mãe e 10 mL de metanol. Após 30 minutos, a absorbância das amostras foi medida em espectrofotômetro a 420 nm. O teor de flavonoides totais (FLAT) foi determinado usando a curva analítica de rutina na faixa de $2,5\text{-}20 \text{ mg.L}^{-1}$, onde os valores foram expressos em miligramas de equivalente de rutina por grama de extrato (mg de ER/g de amostra), a partir da Equação 2.

Determinação do teor de flavonoides totais.

$$A = 0,0027 C - 0,0052$$

Eq. 2

onde:

A = absorbância

C = concentração, com coeficiente de correlação linear $r = 0,9973$

4.3.5 Atividade antioxidante pelo método de sequestro de radicais livres (DPPH•)

A capacidade antioxidante do EER de *X. benthamii* foi determinada pelo ensaio do radical livre DPPH, em que é observado o consumo desse radical pela amostra testada em diferentes concentrações através da medida do decréscimo da absorbância (SOUSA et al., 2007). Estas medidas foram realizadas em espectrofotômetro UV-Vis, no comprimento de onda de 516 nm. A equação da curva

de calibração do DPPH utilizada foi $C = 35,846A - 0,230$, onde C corresponde à concentração de DPPH no meio, A é a absorbância medida no comprimento de onda de 516 nm e o coeficiente de correlação $r = 0,9997$ (SOUSA et al., 2007).

4.3.5.1 Leitura das medidas de absorbância das amostras

Preparou-se uma solução estoque do extrato etanólico das raízes de *X. benthamii* em metanol na concentração de 250 µg/mL. Estas soluções foram diluídas em metanol nas concentrações de 200, 150, 100, 50 e 25 µg/mL. As medidas da absorbância das misturas reacionais (0,3 mL da solução da amostra e 2,7 mL da solução estoque de DPPH) foram feitas a 516 nm, no 1º, 5º, 10º, 20º e 30 minutos. A mistura de metanol (2,7 mL) e solução metanólica da amostra (0,3 mL) foi utilizada como branco (SOUSA et al., 2007). A rutina e o BHT (butil-hidrxil-tolueno) foram utilizados como controles positivos e avaliados nas mesmas concentrações.

O valor da absorbância na concentração de 250 µg/mL no tempo de 30 minutos foi convertido em porcentagem de atividade antioxidante (%AA), de acordo com a Equação 3:

$$\%AA = \{[Ab_{SDPPH} - (Ab_{Samostra} - Ab_{Sbranco})] \times 100\} / Ab_{SDPPH} \quad \text{Eq. 3}$$

Onde Ab_{SDPPH} é a absorbância da solução metanólica de DPPH (2,7 mL a 40 µg/mL acrescida de 0,3 mL de MeOH) e $Ab_{Samostra}$ é a absorbância da mistura reacional (2,7 mL de DPPH + 0,3 mL de amostra). Todas as análises foram realizadas em triplicata (SOUSA et al., 2007). Os valores da média das três repetições ($n=3$) $\pm$ desvio padrão da média foram calculados utilizando o programa Excel.

4.3.6 Atividade farmacológica

4.3.6.1 Ensaio de toxicidade frente à *Artemia salina*

O ensaio de toxicidade frente à *A. salina* foi realizado conforme McLaughlin et al. (1998) com modificações. Foram preparadas soluções estoque em metanol na concentração de 10000 µg/mL do EEF, EEC e EER de *X. benthamii*. A partir da solução estoque alíquotas foram transferidas para tubos de ensaio de 30 mL para

obtenção de soluções nas concentrações finais de 500, 600, 700, 800, 900, 1000 e 10000 µg/mL. Após completa evaporação do metanol à temperatura ambiente, foram adicionadas em cada tubo 0,1 mL de DMSO e 5 mL de água do mar para solubilização das amostras. Em seguida, com o auxílio de uma pipeta de Pasteur, foram transferidas 10 larvas de *A. salina* e o volume final (10 mL) foi completado com água do mar. As larvas ficaram expostas às soluções das amostras por 24 horas.

Os testes foram feitos em triplicata para cada concentração da amostra e controle negativo constituído por 0,1 mL de DMSO, 10 mL de água do mar e as larvas. Após 24 horas de exposição, foi feita a contagem das larvas vivas e mortas em placas de Petri, sendo consideradas vivas todas aquelas que apresentassem qualquer tipo de movimento quando observadas próximas a uma fonte luminosa. Só foram considerados válidos os testes nos quais o controle não apresentou mortalidade. Os resultados foram submetidos a tratamento no *software Excel*, para o cálculo da DL₅₀ (Concentração do extrato que tem 50% de toxicidade), utilizando o método PROBITOS.

4.4 TRATAMENTO DOS DADOS

As análises fitoquímicas foram baseadas nas observações de mudanças de coloração, formação de precipitado, formação de espuma e absorção de fluorescência no UV, em relação a isso, os resultados obtidos foram considerados dados qualitativos. Dessa forma, para aqueles considerados positivos, os dados foram tratados com o símbolo (+), podendo ocorrer sua variação para dois (++) ou três (+++) símbolos, dependendo da intensidade do resultado obtido. O mesmo ocorre para os resultados negativos, que foram tratados com o símbolo (-). Todos os dados obtidos a partir dos testes fitoquímicos foram organizados em uma tabela, a fim de facilitar as devidas discussões. As medidas para a avaliação do potencial antioxidante, teor de flavonoides e toxicidade foram realizadas em triplicata e analisados utilizando *softwares Excel e OriginPro 8*, observando-se os parâmetros estatísticos.

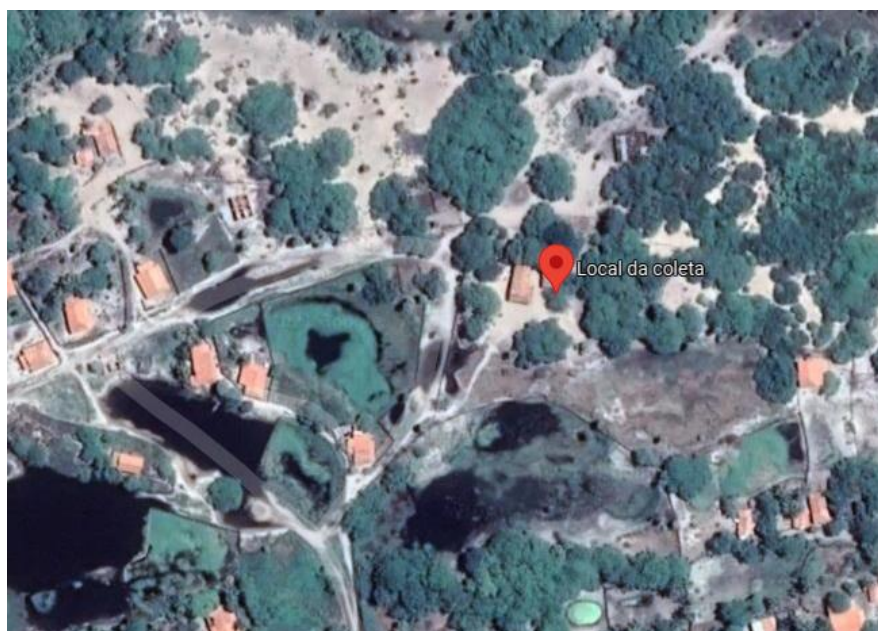
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Esta seção aborda a descrição dos dados, assim como a discussão dos resultados obtidos, conforme a ordem apresentada na metodologia do presente trabalho. Vale ressaltar que todos os resultados obtidos são inéditos para *Xylosma benthamii*.

5.1 COLETA DA ESPÉCIE

O material vegetal de *X. benthamii* foi coletado no povoado Ilha de Canárias, município de Araisos – Maranhão (FIGURA 7). Posteriormente, sua exsicata foi depositada no Herbário Delta do Parnaíba (HDELTA) da Universidade Federal do Delta do Parnaíba (UFDPAr), onde a espécie foi identificada e registrada com número de tombo científico HDELTA 6978.

Figura 7 - Local de coleta da espécie via satélite.



Fonte: Google maps (2021).

5.2 RENDIMENTO DOS EXTRATOS

A partir da massa do material vegetal e das massas dos extratos etanólicos (EER, EEC e EEF) foi possível obter os rendimentos dos extratos de *X. benthamii*, dispostos na Tabela 1.

Tabela 1 - Rendimento dos extratos de *X. benthamii*.

Extratos	Massa do material vegetal	Massa do extrato	Rendimento (%)
EER	369,41 g	50,64 g	13,71%
EEC	473,91 g	29,70 g	6,27%
EEF	266,19 g	66,62 g	25,03%

Fonte: Autoria própria (2021).

Como observado, a massa do caule é superior às demais, porém apresentou o menor rendimento, sendo este de 6,27%. Essa discrepância no valor, se deu por alguns aspectos determinantes, pois de acordo com os estudos de Franzen et al., (2018), o rendimento pode sofrer interferência de inúmeros fatores, tais como, o método de extração, o tempo, o teor de umidade e a temperatura aplicada.

As raízes apresentaram um rendimento de 13,71%, valor este considerado significativo comparado ao do caule. Já as folhas, mesmo contendo menor quantidade em massa, apresentaram o maior rendimento de 25,03%, isso pode ser explicado pela maior quantidade de clorofila presente nas mesmas, a qual é facilmente identificada pela coloração verde intensa. Também é importante considerar que estas distinções no rendimento estão relacionadas aos diferentes compostos presentes em determinadas partes da planta (BORBA et al., 2017).

Além disso, para Mallman (2021), o tipo de solvente utilizado na extração também influencia no rendimento total, devido a sua polaridade e solubilidade. No caso do presente estudo, o solvente empregado foi o etanol, pois tem a capacidade de extrair substâncias de caráter polar, apolar e compostos de polaridade intermediária, além de ser atóxico e biodegradável (TOMAZIN, 2008). Corroborando com isto, Bessa et al., (2020) enfatizam que o etanol é uma excelente alternativa ao processo de extração, pois oferece menos riscos operacionais, sendo ainda proveniente de fontes renováveis.

5.3 CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA (CCD)

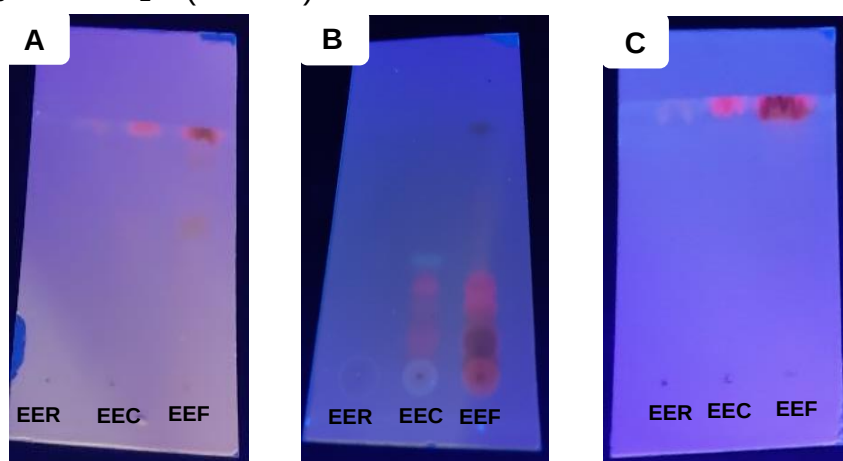
É uma técnica utilizada para análise qualitativa de produtos naturais e derivados, por meio de uma fase estacionária que pode conter óxido de alumínio, sílica ou celulose (TUZIMSKI; SHERMA, 2006). Nela, a amostra será aplicada através de

capilares finos, e transferida para um reservatório contendo a fase móvel, a qual consiste em uma mistura de solventes. Neste caso, Soares (2018) afirma que a fase móvel promove o deslocamento dos compostos pela afinidade com o solvente utilizado.

A partir desta técnica, foi possível identificar, qualitativamente, as classes de metabólitos secundários presentes nos extratos analisados. A fase estacionária utilizada foi sílica gel, pois segundo Soares (2018) propicia uma elevada área superficial, que possibilita uma maior interação com os analitos e a fase estacionária.

Já a fase móvel consistiu em três eluentes, conforme descritos no item 4.3.2. Desse modo, as placas contendo (EER, EEC e EEF), após revelação UV em comprimento de onda de 365 nm, apresentaram fluorescência. Na placa eluída em $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (9:1), foi evidenciada a fluorescência rosa e amarela (FIGURA 8-A); na placa eluída em hexano/ AcOEt (8:2), predominou a coloração rosa e azul (FIGURA 8-B) e na CCD eluída em $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ (65:30:5) a qual apresentou a fase móvel muito polar, houve uma junção de cores, mas aparentemente observou-se uma fluorescência rosa (FIGURA 8-C). De acordo com Kloss et al., (2016) a fluorescência azul indica a presença de cumarinas, e as manchas rosas são características de compostos flavônicos (CHAVES, 1997).

Figura 8 - Perfil cromatográfico após revelação física (UV $\lambda 365$ nm) dos extratos etanólicos de *X. benthamii*. (A) CCD eluída em $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (9:1); (B) CCD eluída em hexano/ AcOEt (8:2) e (C) CCD eluída em $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ (65:30:5).

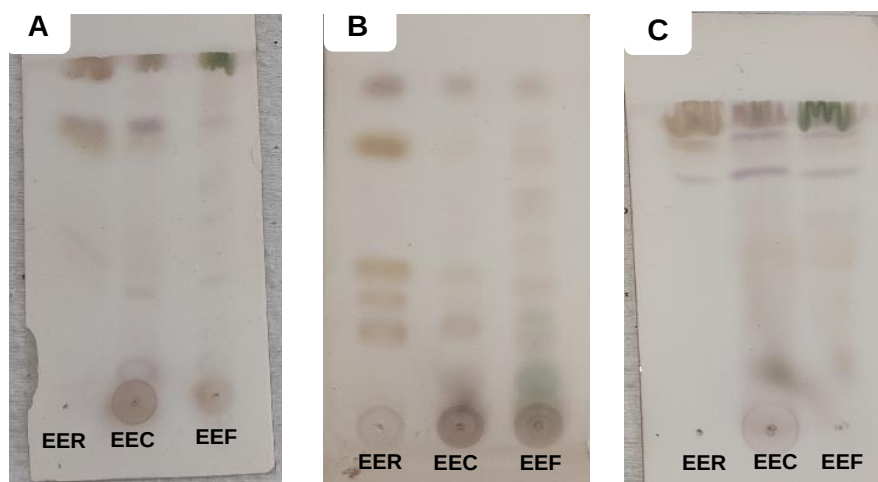


Fonte: Autoria própria (2021).

Ademais, após revelação química com sulfato cérico (FIGURA 9), foi possível observar melhor os compostos presentes na espécie *X. benthamii*. Com base na

análise das cromatoplaças contendo os extratos etanólicos (EER, EEC e EEF) verificou-se a presença de manchas amarelas no EER, roxas no EEC e verdes no EEF, principalmente com o eluente Hex/AcOEt (8:2) que possui média polaridade (FIGURA 9-B). Neste caso, conforme os estudos de Oliveira (2020) essas manchas são características de substâncias da classe dos flavonoides e terpenoides.

Figura 9 - Perfil cromatográfico após revelação em $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ dos extratos etanólicos de *X. benthamii*. (A) CCD eluída em $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (9:1); (B) CCD eluída em hexano/AcOEt (8:2) e (C) CCD eluída em $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ (65:30:5).



Fonte: Autoria própria (2021).

5.4 TESTES FITOQUÍMICOS PARA METABÓLITOS SECUNDÁRIOS

A partir dos extratos hidroalcoólicos das raízes, caule e folhas de *X. benthamii*, foram realizadas as análises qualitativas para as classes de metabólitos secundários, conforme a metodologia de Matos (2009) e de Kloss et al. (2016), totalizando dez testes. Desse modo, no decorrer das análises fitoquímicas, foi observado que os extratos (EER, EEC e EEF) mostraram ser negativos para fenóis, antocianinas, antocianidinas, chalconas, auronas, xantonas, flavanonas, catequinas, triterpenos e flavononois. Por outro lado, todos deram positivos para taninos, flavonois, diidroflavonois e cumarinas.

Os EER e EEC apresentaram leucoantocianidinas e esteroides; já para os EEC e EEF, foi evidente a presença de heterosídeos saponínicos e alcaloides, como demonstrados no Quadro 3.

Quadro 3 - Dados fitoquímicos do EER, EEC, EEF da espécie *X. benthamii*.

METABÓLITOS	RAÍZES	CAULE	FOLHAS
Fenóis	-	-	-
Taninos	+	+++	+++
Antocianinas e antocianidinas ou de chalconas e auronas	-	-	-
Xantonas, flavanonas e flavononois	-	-	-
Flavonois	+++	+++	+++
Leucoantocianidinas	+	+	-
Catequinas	-	-	-
Diidroflavonois	+++	+++	+++
Esteroides	+++	+++	-
Heterosídeos saponínicos	-	+	+++
Alcaloides	-	+	+
Cumarinas	+++	+++	+++

Fonte: Autoria própria (2021).

- (-) ausência do metabólito;
- (+) presença moderada do metabólito;
- (+++) presença abundante do metabólito.

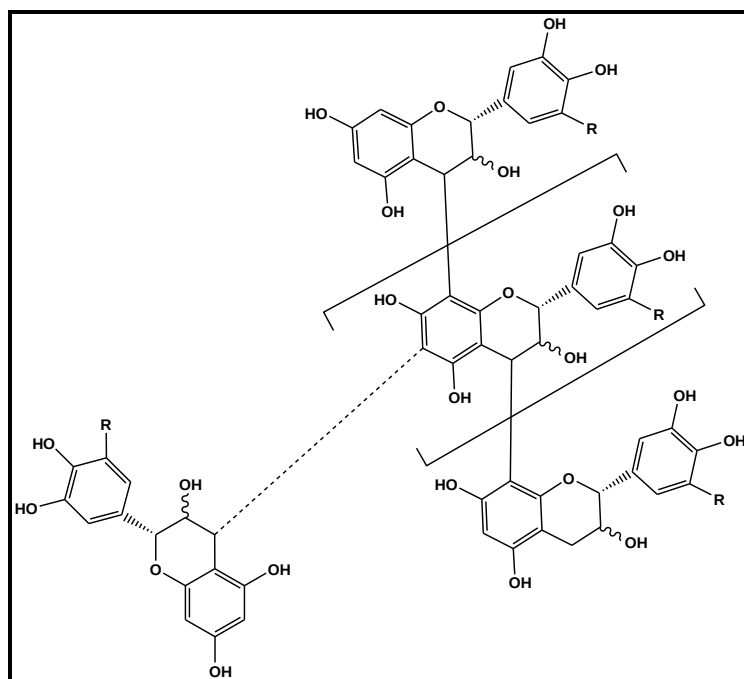
5.4.1 Taninos

Os taninos são polifenóis caracterizados por possuírem a capacidade de se complexar com outras moléculas, como proteínas e polissacarídeos. Para Dewick (2009) esses compostos contribuem para a adstringência de bebidas e alimentos através de interações com proteínas salivares.

Também é abordado nos estudos de Oliveira et al., (2021) que os taninos apresentam propriedades antioxidantes, por meio da formação do complexo tanino/proteína, o qual atua no processo fisiológico da cura de feridas, úlceras e queimaduras. Além disso, é relatado na literatura que pessoas que consomem chás ricos destes compostos, apresentam baixas chances de desenvolver câncer, destacando suas propriedades antitumoral e anticarcinogênica (SILIN, SATYGO e REUTSKAYA, 2017; SOUZA, CALIAI e BIAZII, 2019).

Quanto às suas estruturas químicas presentes em espécies vegetais, estes, são classificados em dois tipos: condensados e hidrolisáveis. Os taninos condensados (FIGURA 10) ou proantocianidinas, são oligômeros compostos por vários monômeros de flavan-3-ol, os quais são utilizados em conformação polimérica (DUVAL; AVÉROUS, 2016). Segundo Ferreira (2021), as moléculas de taninos condensados apresentam mais resistência à degradação microbiana, não são hidrolisáveis e estão relacionadas aos pigmentos flavonoides.

Figura 10 - Estrutura dos taninos condensados.



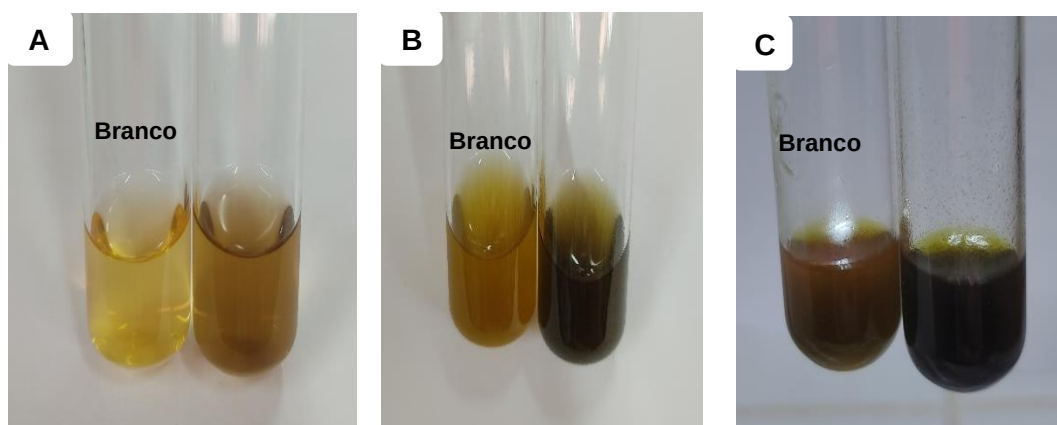
Fonte: Adaptado de Castejon (2011).

Já os taninos hidrolisáveis, possuem ligações que são facilmente rompidas na presença de água, liberando ácido gálico ou elágico, este fato torna-os mais tóxicos quando comparado com os condensados. Estes compostos podem ser encontrados em abundância nas folhas e vagens de plantas dicotiledôneas (FERREIRA, 2021).

Sendo assim, no presente teste, foi observado a mudança na coloração nos extratos (EER, EEC e EEF), sendo um verde menos intenso no EER (FIGURA 11-A) e um verde mais intenso nos demais extratos (FIGURA 11-B e 11-C) indicando a presença de taninos flobatênicos, ou seja, taninos condensados. Isso ocorreu devido a adição do cloreto férrico nas soluções hidroalcoólicas, o qual levou à formação de um complexo, por meio de trocas de ligantes, visto que os taninos quando entram em

contato com sais de metais pesados formam quelatos, dessa forma, as trocas de ligantes causam essa mudança de cor (MARCHINI, 2015).

Figura 11 - Resultado obtido no teste para fenóis e taninos. Em (A) verde menos intenso para EER; (B) verde intenso para EEC e (C) verde intenso para EEF.



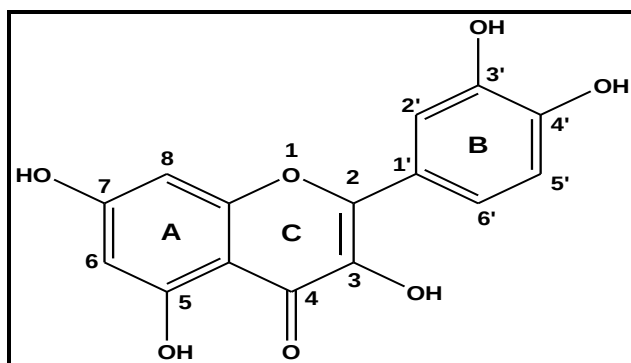
Fonte: Autoria própria (2021).

Segundo Dos Santos, Aguiar e Freitas (2020), a atividade farmacológica dos taninos é proveniente dos seguintes mecanismos: a capacidade de formar complexos com íons metálicos, a formação de complexos com macromoléculas e o potencial de exercer a atividade antioxidante e sequestro de radicais livres.

5.4.2 Flavonóis

Os flavonoides constituem um grande grupo de metabólitos secundários da classe dos polifenóis, apresentam baixo peso molecular e são encontrados em várias espécies vegetais, além disso, podem ser divididos em seis principais classes, dentre elas se destacam os flavonóis, os quais são derivados de diidroflavonois. Estes compostos são caracterizados quimicamente por um esqueleto de 3-hidroxiavona, podendo estar ou não glicosilada (RABELO, 2018). Dentro dessa classe a quercetina (FIGURA 12) é a que prevalece, pois apresenta propriedades antioxidante, osteogênica, antimicrobiana e antiosteoclastogênica (GÓRNIK; BARTOSZEWSKI; KRÓLICEWSKI, 2019).

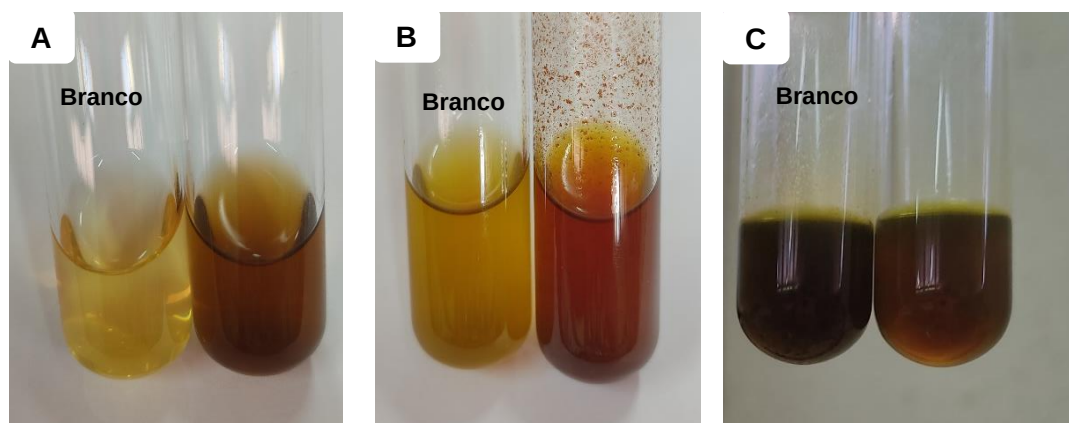
Figura 12 - Estrutura da quercetina.



Fonte: Adaptado de Górniak; Bartoszewski; Króliczewski (2019).

Neste teste, com a solução em meio alcalino a pH 11, ocorreu a mudança na coloração de todos os extratos para vermelho-laranja, indicando a presença de flavonóis, sendo demonstrados na Figura 13. Como observado, o EEF por apresentar uma coloração mais intensa, devido à presença de clorofila, não obteve uma mudança de cor tão evidente.

Figura 13 - Resultado positivo para o teste de flavonóis. Em (A) EER; (B) EEC e (C) EEF.



Fonte: Autoria própria (2021).

O tecido vegetal é constituído por várias espécies químicas, que possuem uma coloração específica, a partir disso Amorim et al., (2015) afirmam que a mudança da cor de uma determinada solução em função da alteração do pH, é associada à modificação dos espectros desses extratos. Para Simões (2007) essa mudança na coloração das soluções é decorrente da reação dos hidróxiflavonoides em meio alcalino, tendo como produto os fenolatos que geralmente são corados e solúveis em água.

Na literatura, Folly (2018) e Salvador (2020) relataram a presença deste composto em folhas de espécies do gênero *Xylosma*, mais precisamente em *X. ciliatifolia* e *X. longifolium*, destacando promissora atividade antioxidante e antimicrobiana.

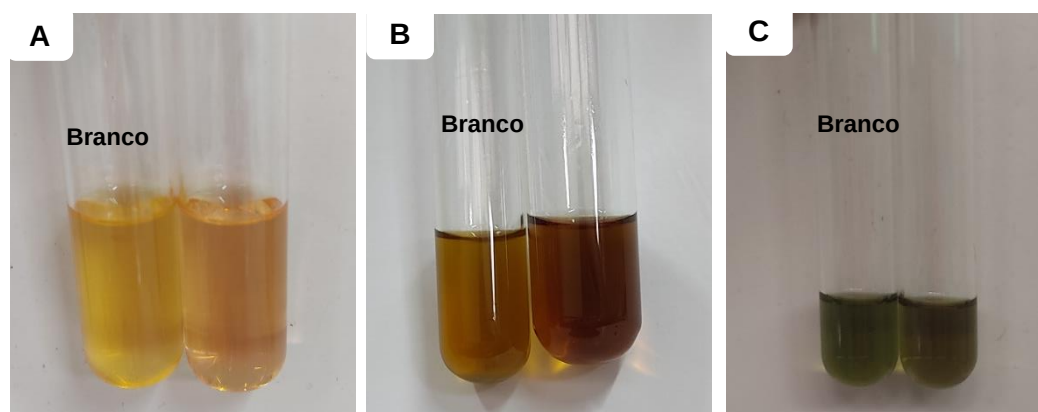
5.4.3 Leucoantocianidinas

As leucoantocianidinas pertencem à família dos polifenois, em especial na classe dos bioflavonoides. A mesma é caracterizada por sua forte atividade oxidante hidrossolúvel, fato este relacionado a eliminação de radicais livres. Dessa forma, é considerada mais forte que a vitamina E (PEREIRA, 2018).

Ademais, Nave (2014) ressalta que o termo leucoantocianidinas foi intitulado por Bate-Smith para nomear os compostos fenólicos que em meio ácido originavam a cianidina e delfinidina. Este constituinte pode ser encontrado em diversas partes das plantas, assim como, frutas e sementes. Também apresentam grandes potenciais terapêuticos, tais como, atividade cardioprotetora, anticâncer, antimicrobiana, antioxidante e antidiabética (GOMES, 2021).

A partir disso, no teste foi confirmado a presença de leucoantocianidinas nos EER e EEC, através da mudança de cor na amostra aquecida (FIGURA 14-A e 14-B). Para o EEF (FIGURA 14-C) não foi observado alteração na cor, indicando resultado negativo para esse composto.

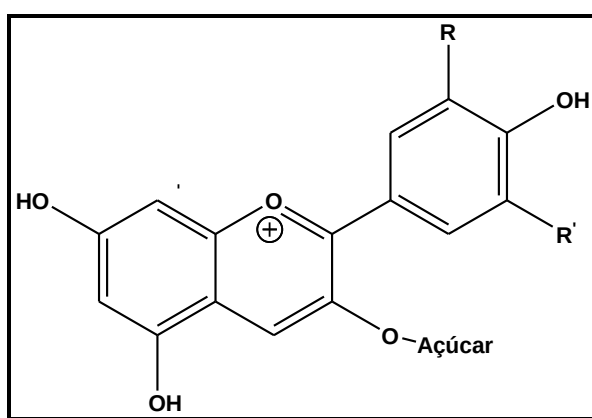
Figura 14 - Resultado do teste confirmatório para leucoantocianidinas. Em (A) EER; (B) EEC e (C) EEF.



Fonte: Autoria própria (2021).

Para os extratos que deram positivo, o tal fato pode ser explicado segundo os estudos de Santos (2018), onde o mesmo relata que as leucoantocianidinas são intermediários na biossíntese de antocianidinas. Desse modo, as antocianinas, que são derivadas das antocianidinas, apresentam diferentes estruturas em determinados pH, sendo assim, em meio ácido, é desenvolvida a coloração avermelhada devido ao predomínio da forma cátion flavílico (AH^+) (FIGURA 15). Vale ressaltar, que os pigmentos ocorrem normalmente em antocianinas (MARÇO, POPPI e SCARMINIO, 2008).

Figura 15 – Cátion flavílico (AH^+).



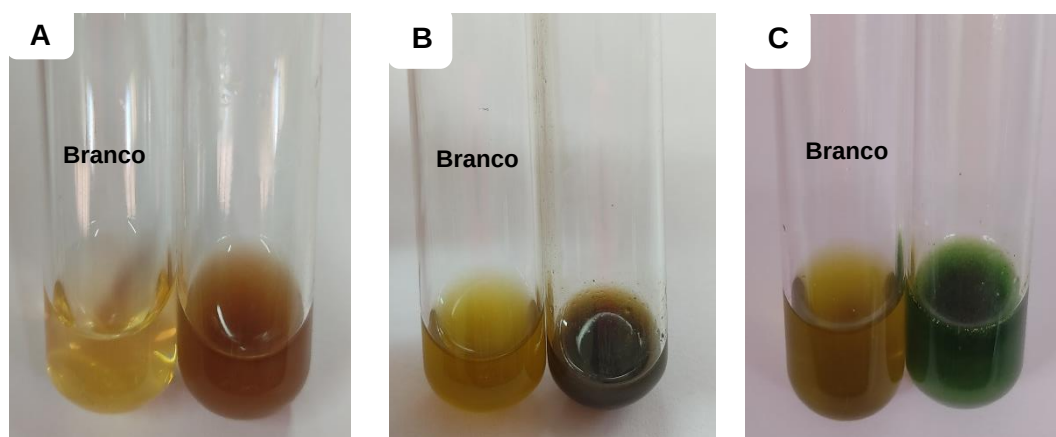
Fonte: Adaptado de Março; Poppi; Scarminio (2008).

5.4.4 Diidroflavonois

Os diidroflavonóis pertencem a classe dos flavonoides, possuindo como estrutura base o grupo 2-fenil-3-hidroxibenzopiran-4-ona. Além disso, estes compostos apresentam dois carbonos assimétricos, resultando em quatro isômeros ópticos. De acordo com Andrade et al., (2005) os diidroflavonois atuam na proteção de plantas contra doenças originadas por microorganismos. Também podem reagir com algumas enzimas e interferir em processos biológicos.

No teste para diidroflavonois, verificou-se alteração na coloração dos extratos (EER, EEC e EEF), onde uma cor marrom foi evidenciada no EER (FIGURA 16-A), marrom escuro para o EEC (FIGURA 16-B) e verde intenso no EEF (FIGURA 16-C), assim determinando o resultado positivo para o metabólito, pois segundo a metodologia de Matos (2009), após a adição dos reagentes, o possível desenvolvimento de coloração é indicativo da presença desse composto.

Figura 16 - Resultados obtidos no teste para diidroflavonois. Em (A) EER; (B) EEC e (C) EEF.



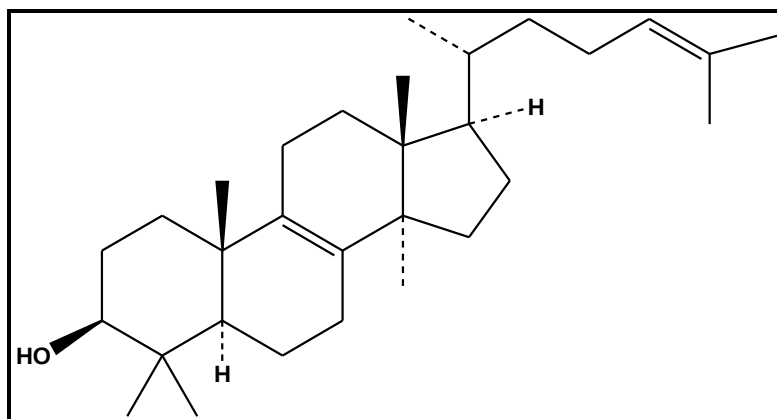
Fonte: Autoria própria (2021).

Segundo os estudos de Oliveira (2015) os diidroflavonois produzem um efeito batocrômico, ou seja, uma alteração na posição da banda espectral, a qual promove essa mudança na cor. Dessa forma, Nunez et al., (2017) e Salvador (2020) destacam em seus estudos a presença de diferentes grupos de flavonoides para as espécies da família Salicaceae, como em *Xylosma longifolium* e *Casearia javitensis*.

5.4.5 Esteroides

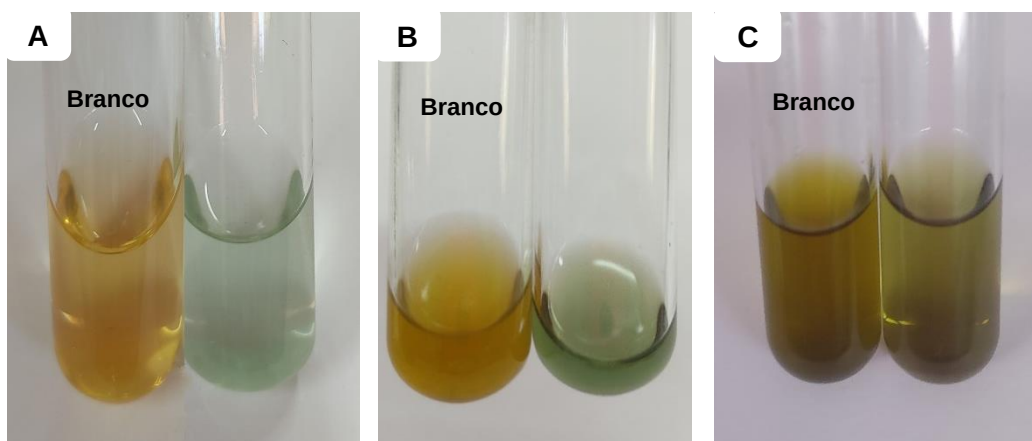
Os esteroides formam uma importante classe de compostos medicinais, à qual pertencem determinadas saponinas, alguns alcaloides e os hormônios (MACEDO, 2017). Além disso, são modificações de triterpenoides, os quais apresentam um sistema de anel tetracíclico de lanosterol (FIGURA 17), podendo ser encontrados nas frações menos polares dos extratos.

Para Dewick (2009), esses compostos possuem uma elevada gama de atividades biológicas, dessa forma, muitos esteroides naturais, sintéticos e semi-sintéticos são utilizados na medicina e farmacologia. Dentre suas propriedades, destaca-se, a inibição do HIV-1, atividade anticancerígena, anti-inflamatória e cardiovasculares, onde atuam na redução de colesterol no sangue.

Figura 17 - Estrutura do lanosterol.

Fonte: Adaptado de Dewick (2009).

No teste para esteroides e triterpenos, como detalhado no item 4.3.3.8, foi evidenciado a mudança na coloração dos EER e EEC, para azul evanescente seguida de verde permanente (FIGURA 18-A e 18-B), confirmando a presença de esteroides livres. Já para o EEF, o teste deu negativo, pois não houve nenhuma alteração característica destes compostos (FIGURA 18-C).

Figura 18 - Resultados obtidos no teste para esteroides e triterpenos. Em (A) EER; (B) EEC e (C) EEF.

Fonte: Autoria própria (2021).

Dessa forma, a mudança na cor dos extratos é decorrente da reação de Lieberman-Burchard, a qual ocorre por meio da desidratação ou desidrogenação do núcleo esteroide, ou seja, perda de água ou hidrogênio ligado ao carbono do núcleo, produzindo duplas ligações. Segundo Souza (2019), a desidratação, seguida da

oxidação do sistema de anéis do ciclopentanoperidrofenantreno, formam os derivados aromáticos, os quais estabelecem a coloração azul seguida de verde.

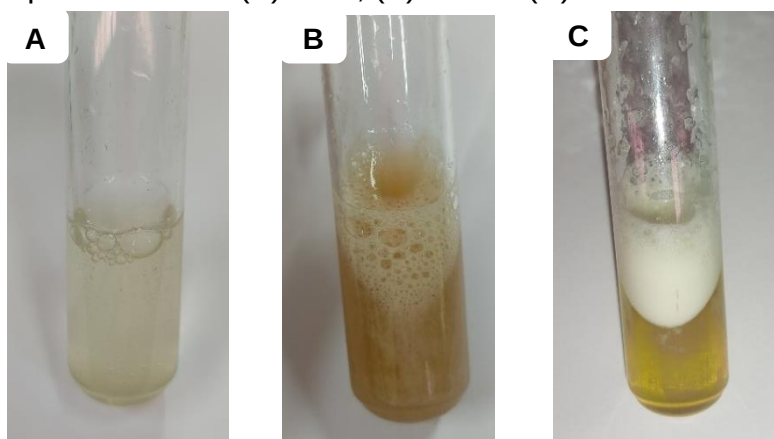
5.4.6 Heterosídeos saponínicos

As saponinas, as quais recebem essa nomenclatura decorrente da sua capacidade de produzir espuma em soluções aquosas, assim como os outros compostos, também são metabólitos secundários produzidos pelas plantas. De acordo com Silva et al., (2017), as saponinas são descritas como glicosídeos de alto peso molecular, contendo uma unidade de açúcar ligada por ligações glicosídicas a uma aglicona ou triterpeno. Tendo em vista o caráter anfifílico e lipofílico, as mesmas podem reduzir a tensão superficial da água e as ações detergentes.

Segundo os estudos de Brito (2018), esses compostos são classificados conforme o número principal da aglicona, e ainda, pelo caráter básico, ácido ou neutro. Muitas atividades biológicas são conferidas as saponinas, tais como, antibacteriana, antifúngica, anti-inflamatória, anticancerígena e antiviral, também são utilizadas como adjuvantes em vacinas (ROBALINO, 2021).

No presente teste, após a adição dos reagentes descritos no item 4.3.3.9, foi observado a formação de espuma nos EEC e EEF, caracterizando a presença de saponinas, como retratados na Figura 19-B e 19-C. Também foi verificado que a formação de espuma no EEC não foi abundante, quando comparado ao EEF, indicando a presença moderada do metabólito. Em relação ao EER, o mesmo deu negativo, pois não apresentou espuma persistente.

Figura 19 - Resultado do teste para heterosídeos saponínicos. Em (A) EER; (B) EEC e (C) EEF.



Fonte: Autoria própria (2021).

A formação de espuma nos extratos é uma característica específica das saponinas, devido à diminuição da tensão superficial da água, em decorrência das diferenças de polaridades de seus constituintes. Para Dos Santos (2011), esses compostos são muito importantes, pois possuem várias aplicações tanto para a medicina como para a indústria farmacêutica, como atividades antiinflamatória, analgésica, expectorante, antioxidante e antifúngica, além de servir como precursores na síntese de compostos esteroidais.

5.4.7 Alcaloides

Os alcaloides constituem a classe mais heterogênea, pois integram precursores de diferentes vias do metabolismo secundário. Segundo Afonso (2021), estes compostos apresentam em sua estrutura um ou mais átomos de azoto o que, usualmente, lhes confere basicidade. Sena, Silva e Marques (2019) afirmam que o azoto normalmente faz parte de um anel heterocíclico, o qual pode ser aromático ou não, sendo na maioria compostos oxigenados.

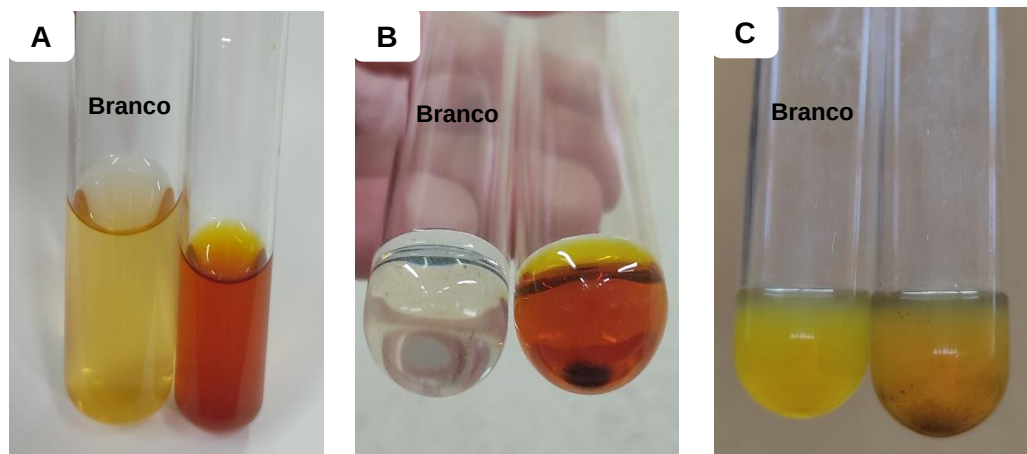
Esses metabólitos podem ser classificados como verdadeiros, pseudoalcaloides e protoalcaloides. Nos alcaloides verdadeiros o átomo de nitrogênio pertence a um heterociclo, cuja biossíntese é proveniente de um aminoácido. Os pseudoalcaloides o átomo de nitrogênio, é decorrente do aminoácido, por reações de transaminação. Já os protoalcaloides são derivados de reações de N-metilação e descarboxilação de aminoácidos (CAVALLIERI, 2019).

Os alcaloides também dispõem de inúmeros potenciais terapêuticos, como, atividade antibacteriana, antifúngica, antitumoral, anticonvulsante, antimutagênica, anticancerígena e anti-inflamatória. Desse modo, Simões et al., (2017) ressalta que esse é o grupo de produtos naturais mais estudados e de maior interesse farmacêutico, devido à sua vasta gama de propriedades.

No teste para alcaloides, o qual foi detalhado nos itens 4.3.3.10 e 4.3.3.11, foram utilizados dois reativos, o de Dragendorff e o de Wagner. A partir disso, foi observado que no teste com o reativo de Wagner, todos os extratos deram negativos. Já para o Dragendorff, foi evidenciado a formação de um leve precipitado avermelhado nos EEC e EEF (FIGURA 20-A e 20-B), indicando a presença moderada do metabólito, pois de acordo com Matos (2009) a formação de precipitado ou

turvação da amostra é característica da existência desse constituinte. Para o EER, o teste deu negativo, pois ao adicionar o reagente de Dragendorff, a solução não apresentou turvação e nem precipitado, conforme demonstrado na Figura 20-C.

Figura 20 - Resultado obtido no teste para alcaloides. Em (A) EER; (B) EEC e (C) EEF.



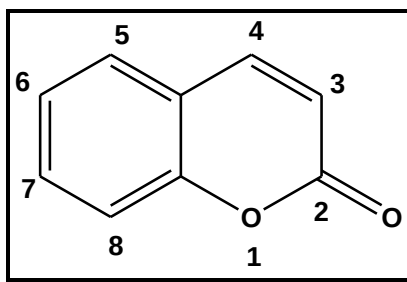
Fonte: Autoria própria (2021).

O reativo de Dragendorff (tetraiodeto bismuto de potássio) é utilizado na identificação de alcaloide, devido ao nitrato de bismuto reagir com iodeto de potássio em meio ácido, formando um sal com cor laranja – $K[BiI_4]$. A partir disso, em meio ácido, as aminas terciárias ficam no seu estado protonado e a adição do reagente leva à formação de um precipitado corado, entre $[BiI_4]^-$ e $[HNR_3]^+$. Neste caso, permitindo constatar a presença do metabólito (RODRIGUES, 2015).

5.4.8 Cumarinas

As cumarinas compreendem uma importante classe de metabólitos secundários, as quais apresentam em sua estrutura química heterocíclicos orgânicos caracterizados como 1,2 benzopirona (FIGURA 21). Podem ser encontradas em diversas partes de plantas, tanto em raízes como em flores e frutos, onde atuam no controle do crescimento, na defesa contra infecções, na respiração e fotossíntese (FRANCO et al., 2021).

Figura 21 - Estrutura química da cumarina.

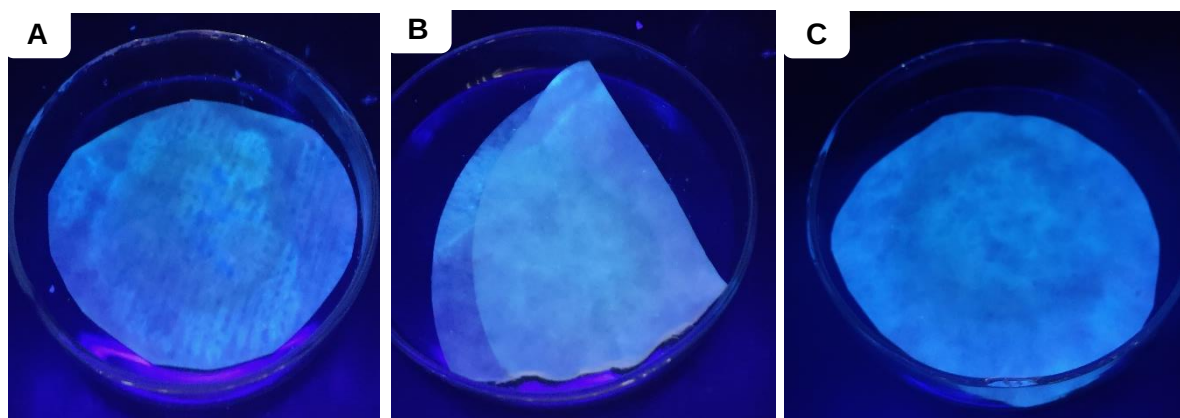


Fonte: Adaptado de Franco et al., (2021).

Ademais, Souza (2005) ressalta que estes metabólitos são identificados principalmente nas folhas, mas também podem ser encontrados em níveis mais altos nas frutas, seguido pelas raízes e caule. As mesmas são importantes para a indústria, pois possuem várias aplicações, como no tratamento de Alzheimer, ação anticoagulante e vasodilatadora, para prevenir doenças tromboembólicas (FRANCO et al., 2021).

No presente teste para detecção de cumarinas, foi visto que os extratos (EER, EEC e EEF) apresentaram fluorescência verde, indicando o resultado positivo para a presença do metabólito, como demonstrado na Figura 22. Verificou-se também que o nível maior de fluorescência foi evidenciado no EER (FIGURA 22-A).

Figura 22 - Resultado do teste para cumarinas. Em (A) EER; (B) EEC e (C) EEF.



Fonte: Autoria própria (2021).

Segundo Franco et al., (2021), a luminescência presente nesses compostos é proveniente da transferência interna de carga do sistema conjugado π - π^* , o qual é rico em elétrons. Já a coloração evidenciada é decorrente da formação de ácido *cis*-*O*-hidroxicinâmico em meio alcalino, que sob radiação ultravioleta resulta no isômero *trans*, o qual possui cor verde (SOUZA, 2019). Sendo assim, estes compostos servem

para um amplo conjunto de aplicações, tais como, sondas de fluorescência, sensores de pH 14, agentes de monitoramento de inibição enzimática, na produção de corantes e como potenciais agentes de biorredução (LI et al., 2014).

5.5 AVALIAÇÃO DO TEOR DE FLAVONOIDES TOTAIS (FLAT)

Os flavonoides são metabólitos secundários da classe dos polifenóis, que possuem um baixo peso molecular e podem ser encontrados em vários vegetais, onde atuam na proteção contra agentes oxidantes e microrganismos (MARCUCCI et al., 2021). Dentro desta perspectiva, Feitosa et al., (2015) afirmam que esses compostos apresentam variadas classes, as quais se diferem no nível de oxidação e substituição do anel central, com isso, resultando em flavanonas, flavonas, flavonóis, chalconas isoflavonas, diidroflavonóis, antocianidinas, dentre outras.

Esses metabólitos desempenham um importante papel na indústria farmacêutica, pois dispõem de uma ampla gama de potenciais terapêuticos, com ação antioxidante, atividade antimicrobiana, antiviral, antitumoral e anti-inflamatória (MARCUCCI et al., 2021; BEZERRA et al., 2018; FEITOSA et al., 2015). Dessa forma, vale enfatizar que a ingestão de alimentos ricos em flavonoides, diminuem consideravelmente os riscos a doenças cardiovasculares.

A partir dos resultados obtidos na avaliação do teor de flavonoides totais, os quais encontram-se dispostos na Tabela 2, foi evidenciado que o EEF apresentou maior teor de flavonoides totais ($175,22 \pm 0,89$ mg de ER/g EtOH) em comparação aos demais extratos. Neste caso, Machado et al., (2008) ressalta que esses compostos podem apresentar concentrações distintas dependendo do órgão vegetal, devido aos fatores abióticos e artificiais, que interferem no metabolismo e na produção destes compostos. Além do mais, foi observado na análise fitoquímica, a presença abundante de flavonóis e diidroflavonóis no extrato etanólico das folhas, confirmando a presença dessa classe de metabólitos nesta parte do vegetal.

Segundo a literatura é comum a presença de flavonoides nas folhas de espécies do gênero *Xylosma*, tendo em vista que vários compostos já foram identificados. Dentre as espécies que possuem estes constituintes, destaca-se *X. longifolium* e *X. ciliatifolia*, (FOLLY, 2018; SALVADOR, 2020).

Tabela 2 - Teor de flavonoides totais (FLAT) do EER, EEC e EEF de *X. benthamii*.

Extrato	FLAT mg de ER/g EtOH
EER	63,92 ± 0,00
EEC	74,44 ± 1,01
EEF	175,22 ± 0,89

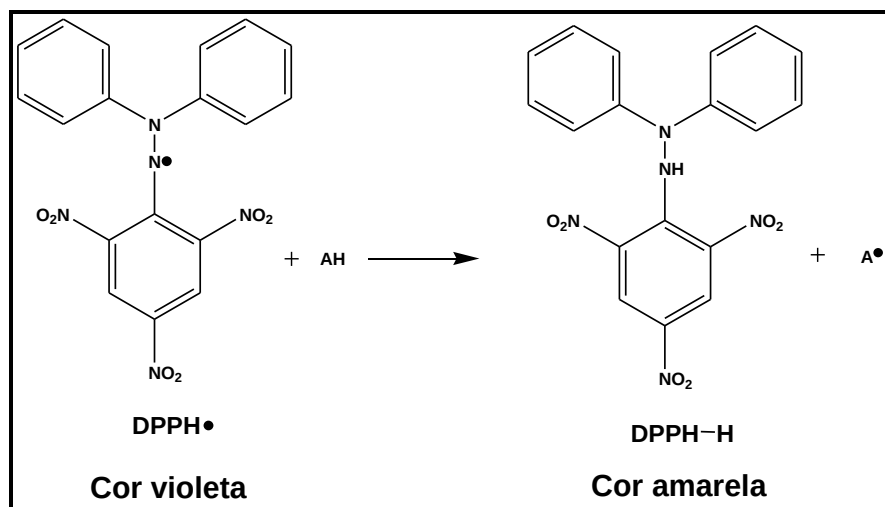
Fonte: Autoria própria (2022).

5.6 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO DE SEQUESTRO DE RADICAIS LIVRES (DPPH•)

As substâncias antioxidantes, são aquelas que atuam no retardamento da velocidade de oxidação através de uma excessiva produção de radicais de oxigênio. Dentro deste contexto, Silva et al., (2018), abordam que a redução da oxidação pode ocorrer por vários mecanismos, tais como, complexação de metais e inibição de radicais livres. Vale ressaltar, que os antioxidantes naturais provenientes de extratos vegetais são de grande importância para a sociedade, pois podem ser utilizados na indústria alimentícia, farmacêutica e farmacológica.

A partir disso, Oliveira (2015) relata que existem inúmeras técnicas utilizadas na determinação de atividade antioxidante, dentre estas, destaca-se o método de sequestros de radicais livres (DPPH), o qual apresenta uma coloração violeta, onde é reduzido, resultando em uma cor amarelada, em decorrência da transferência de elétrons de uma substância antioxidante para um radical livre, como demonstrado no mecanismo da Figura 23.

Figura 23 - Mecanismos de reação entre o radical DPPH• e um antioxidante.



Fonte: Adaptado de Oliveira (2015).

No presente ensaio, a atividade antioxidante foi realizada apenas para o EER de *X. benthamii*, descrito no item 4.3.5. A partir disso, foi observado que quanto maior a concentração da amostra, maior será o percentual de atividade antioxidante (%AA) (TABELA 3). Sendo assim, foi constatado que na concentração de 250 $\mu\text{g/mL}$, após 30 min, o %AA para o EER foi igual a $22,6\% \pm 2,44$, o qual é inferior ao controle positivo de rutina ($94,14 \pm 0,22$) e de BHT ($89,88 \pm 0,83$). Para Haida e colaboradores (2015) o extrato que apresenta um percentual superior a 70% é considerado um forte antioxidante, entre 50% a 70% é moderadamente e abaixo de 50%, é reconhecido como um fraco antioxidante.

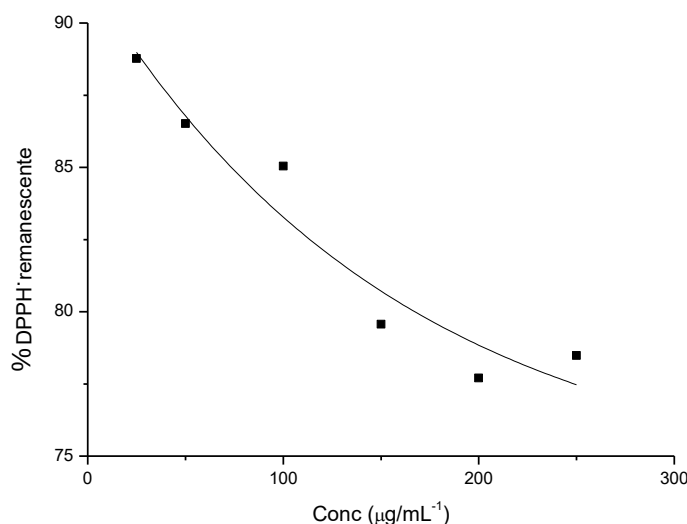
Desse modo, certificando que o EER dispõe de uma fraca atividade antioxidante, que pode ser decorrente do baixo teor de flavonoides totais observado no extrato, pois de acordo com os estudos de Santana et al., (2010), ácidos fenólicos e flavonoides apresentam grandes propriedades antioxidantes, visto que atuam na absorção e neutralização de radicais livres.

Ademais, Vasconcelos et al., (2020) afirmam que a atividade antioxidante é inversamente proporcional ao percentual de DPPH remanescente, que corresponde à concentração de DPPH no meio, após a reação com o extrato. Dessa forma, como o extrato apresentou uma baixa atividade, conseqüentemente o mesmo possui uma elevada quantidade remanescente do DPPH, o qual varia com os diferentes tipos de concentrações, como demonstrado no Gráfico 1.

Tabela 3 – Percentual da atividade antioxidante para as distintas concentrações.

	CONCENTRAÇÃO	DPPH
		% AA $\pm$ DP
EER de <i>X. benthamii</i>	25 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	11,365 $\pm$ 0,7466
	50 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	12,825 $\pm$ 1,1348
	100 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	13,955 $\pm$ 1,3337
	150 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	20,371 $\pm$ 1,2920
	200 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	21,259 $\pm$ 1,6700
	250 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	22,665 $\pm$ 2,4447

Fonte: Autoria própria (2022).

Gráfico 1 – Percentual de DPPH remanescente em função da concentração.

Fonte: Autoria própria (2022).

5.7 ENSAIO DE TOXICIDADE FRENTE À *Artemia salina*

O ensaio de letalidade com o microcrustáceo *Artemia salina*, é um teste biológico muito utilizado por farmacologistas e químicos, tendo em vista sua contribuição na avaliação preliminar da toxicidade de produtos naturais (MELO et al., 2021). Segundo Silva et al., (2015), a aplicação desses microcrustáceos, é devido a sua capacidade de formar cistos dormentes, fornecendo material biológico que pode ser armazenado durante longo período de tempo, além de ser uma espécie de fácil manipulação e de baixo custo.

Ademais, Freitas et al., (2019) relatam que esse método é aplicado no monitoramento da toxicidade por concentração letal média (DL_{50}), desse modo, as substâncias que matam 50% da população da amostra são consideradas tóxicas. A

partir disso, para analisar a toxicidade de um determinado extrato deve-se atentar aos seguintes parâmetros: o extrato é considerado muito tóxico quando a $DL_{50} < 100 \mu\text{g/mL}$, tóxico se a $DL_{50} 100 - 500 \mu\text{g/mL}$, fracamente tóxico se a $DL_{50} 500 - 1000 \mu\text{g/mL}$ e não tóxico se a $DL_{50} > 1000 \mu\text{g/mL}$ (SOUZA, 2019).

Com base nas curvas dose-respostas obtidas na análise de toxicidade, foi possível calcular a DL_{50} dos extratos. Em vista disso, a DL_{50} para o EER foi igual a $275,42 \mu\text{g/mL}$, evidenciando um caráter tóxico. Para o EEC, obteve-se a DL_{50} igual a $951,26 \mu\text{g/mL}$, conferindo uma fraca toxidade. Como afirmam Ancia e Romão (2016), a toxicidade de um extrato é referente a composição química e a ação de substâncias tóxicas. Dessa forma, comparando-se com os resultados fitoquímicos, foi evidente a presença de flavonoides e alcaloides, que segundo a literatura, podem atribuir uma natureza tóxica ao extrato.

Já em relação ao EEF, a DL_{50} foi superior a $1000 \mu\text{g/mL}$, resultando em $8.755,88 \mu\text{g/mL}$, o que lhe concede um caráter não tóxico. É interessante destacar que na literatura os estudos citotóxicos acerca de espécies do gênero *Xylosma* apontaram ausência de toxicidade.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A espécie *X. benthamii* foi coletada na região do Delta do Parnaíba, mais precisamente no povoado Ilha de Canárias, município de Araiões – Maranhão.

A mesma foi identificada e registrada no acervo do Herbário Delta do Parnaíba (HDELTA), com número de tombo científico HDELTA 6978. O rendimento do EER, EEC e EEF da espécie, foram respectivamente 13,71%, 6,27% e 25,03%.

A análise cromatográfica em CCD e os testes fitoquímicos permitiram identificar em ambos os extratos (EER, EEC e EEF) a presença de taninos, flavonóis, diidroflavonóis e cumarinas. O EER e EEC apresentaram leucoantocianidinas e esteroides. Heterosídeos saponínicos e alcaloides foram detectados apenas no EEC e EEF.

O EEF apresentou maior teor de flavonoides totais ($175,22 \pm 0,89$ mg de ER/g EtOH) em comparação aos demais extratos, o EER apresentou o menor teor de flavonoides totais ($63,92 \pm 0,00$ mg de ER/g EtOH) e EEC ($74,44 \pm 1,01$ mg de ER/g EtOH).

O ensaio de toxicidade frente à *Artemia salina*, permitiu calcular a DL_{50} dos extratos. O EER foi considerado tóxico ($DL_{50} = 275,42 \mu\text{g/mL}$). O EEC apresentou fraca toxicidade ($DL_{50} = 951,26 \mu\text{g/mL}$), enquanto o EEF não foi considerado tóxico, ($DL_{50} = 8.755,88 \mu\text{g/mL}$).

Na avaliação do percentual antioxidante para o EER, obteve-se o %AA de $22,6\% \pm 2,44$, na maior concentração, o qual é inferior ao controle positivo de rutina ($94,14 \pm 0,22$) e de BHT ($89,88 \pm 0,83$), o que sugere fraca atividade antioxidante, a qual pode ser decorrente do baixo teor de flavonoides totais observado para o extrato.

Este é o primeiro relato dos metabólitos secundários, bem como do teor de flavonoides totais, potencial antioxidante e toxicidade para a espécie *Xylosma benthamii*, o que colabora para a prospecção químico-toxicológica da espécie. Vale ressaltar, que o presente estudo se torna promissor para o desenvolvimento de um futuro fitoterápico, devido à baixa toxicidade da espécie e a presença de substâncias bioativas.

7 PERSPECTIVAS FUTURAS

Posteriormente, pretende-se complementar ao estudo, com o isolamento e a determinação estrutural dos metabólitos identificados, tal como a realização da avaliação antioxidante para os EEC e EEF da espécie *X. benthamii*.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, D. F. L. S. **Estudo das vias metabólicas das plantas na síntese de pigmentos naturais**. 2017. 61 fl. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2017.
- ANCIA, J. P.; ROMÃO, N. F. Análise da atividade citotóxica e mutagênica do extrato aquoso das partes aéreas de *Uncaria tomentosa* em teste de *Allium cepa*. **South American Journal of Basic Education, Technical and Technological**, v. 3, n. 2, 2016.
- ANDRADE, G. A. et al. **Propriedades herbicidas de metabólitos secundários presentes nos extratos de caule e raiz de *Caryocar brasiliense* (Pequi)**. 2005. 86 fl. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2005.
- AMORIM, V. A.; BORGES, L. P. METABÓLITOS SECUNDÁRIOS DE PLANTAS. V. 11. N. 1. **Revista Agrotecnologia**, UEG Ipameri, 2020.
- AMORIM, F. A. C. et al. Aplicação do Extrato De Amêndoa de Cacau (*Theobroma Cacao*. L) como um Novo Indicador em Titulações Ácido-Base. **Revista Virtual de Química**, v. 7, n. 4, p. 1496-1507, 2015.
- BACK, M. B. **Levantamento de dados sobre a dispensação de fitoterápicos durante a pandemia do Covid-19 na região de abrangência da 13ª Coordenadoria Regional de Saúde**. 2020. 32 fl. Dissertação (Pós-graduação em Práticas Integrativas e Complementares) - Universidade de Santa Cruz do Sul, Santa Cruz do Sul, 2020.
- BESSA, S. N. et al. **Avaliação do rendimento em óleo fixo de sementes de *sacha inchi* (*Plukenetia volubilis* L.) por extração em imersão em etanol**. 2020. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/1123924/1/Artigo-em-congresso-Amazonico.pdf>. Acessado em: 18 out. 2021.
- BEZERRA, J. J. L. et al. Análise da composição fitoquímica e doseamento de flavonoides totais dos extratos hidroalcoólicos de *Cyperus iria* L. e *Cyperus articulatus* L. **Diversitas Journal**, v. 3, n. 2, p. 228-238, 2018.
- BORGES, L. P.; AMORIM, V. A. Metabólitos secundários de plantas secondary plant metabolites. **Revista Agrotecnologia**, Ipameri, v.11, n.1, p.54-67, 09 de mar. 2020.
- BONFANTE, J. W. et al. **PLANTAS MEDICINAIS E FITOTERAPIA NA ATENÇÃO BÁSICA**. 2021. Disponível em: https://doity.com.br/media/doity/submissoes/artigo-a0915cbf37baf9310adb60a3a5ad140b115a928a-arquivo_revisado_segundo_arquivo.pdf. Acessado em: 25 nov. 2021.
- BORBA, E. S. et al. **EXTRAÇÃO E DETERMINAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE ESPÉCIES DE PLANTAS MEDICINAIS**. Araquari-

SC. 2017. 43 fl. Trabalho de Defesa do Projeto de Iniciação Científica Integrada (Curso Técnico em Química) - Instituto Federal Catarinense, Araquari, 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Instrução Normativa n.º 02, de 13 de maio de 2014**. Publica a “Lista de medicamentos fitoterápicos de registro simplificado” e a “Lista de produtos tradicionais fitoterápicos de registro simplificado”. 2014. Disponível em:

http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2014/int0002_13_05_2014.pdf.

Acesso em: 11 jun. 2021.

_____. Ministério da Saúde- Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS: atitude de ampliação de acesso. 2. ed. Brasília, 2015.

BRITO, A. F. S. **Novas saponinas isoladas de Careus jamacaru**. 2018. 110 fl. Dissertação (Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2018.

BROCK, N. L.; DICKSCHAT, J. S. Biosynthesis of Terpenoids. **Natural Products**, p. 2693–2732, 2013.

CASTEJON, F. V. **Taninos e saponinas**. 2011. 29 fl. Seminário (Pós-graduação em Ciência Animal) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2011.

CAVALLIERI, K. et al. **Estudo químico e avaliação biológica dos alcaloides presentes em Erythrina mulungu (Fabaceae)**. 2019. 132 fl. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2019.

COSTA, A. M.; VIEIRA, T. R. **Fitoterapia na atenção básica à saúde**. 2020. 27 fl. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso em Farmácia) - Universidade de Uberaba, Uberaba, 2020.

CORDEIRO, J. M. P.; ALMEIDA, E. M.; FELIX, L. P. ESTUDOS TAXONÔMICOS DA FAMÍLIA SALICACEAE MIRB. NA CAATINGA SUBLITORÂNEA DA PARAÍBA?. **Geoambiente On-Line**, n. 23, 2014.

CHAMPEET, P. C., HARVERY, R. A., FERRIER, D. R. **Bioquímica ilustrada**. 4. ed. Artmed. 533p, 2008.

CHASE, M. W. et al. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 181, n. 1, p. 1-20, 2016.

CZERMAINSKI, S. B. C.; DRESCH, R. R.; SPERRY, Â. Conceitos e referências em plantas medicinais: contribuição à implantação da fitoterapia no SUS. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 4, n. 5, p. 21552-21568, 2021.

COSTA, M. L. A. et al. Efeito da ação parasitária frente ao crescimento e desenvolvimento de espécies vegetais. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 9, p. e947998066-e947998066, 2020.

DE LA ROSA, L. A.; MORENO ESCAMILLA, J. O.; RODRIGOGARCÍA, J.; ALVAREZ-PARRILLA, E. **Phenolic Compounds. Postharvest Physiology and Biochemistry of Fruits and Vegetables**, 1 ed. Elsevier, 2019. 510p

DEVI, W. R.; SINGH, S. B.; SINGH, C. B. Antioxidant and anti-dermatophytic properties leaf and stem bark of *Xylosma longifolium* clos. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, vol. 13, 2013. doi.org/10.1186/1472-6882-13-155.

DEWICK, P. M. **Medicinal natural products: a biosynthetic approach**. John Wiley & Sons, 2009.

DIVERDI, J. A. Preparation of Special Analytical Reagents. Department of Chemistry, College of Natural Sciences, Colorado State University. Disponível em: https://sites.chem.colostate.edu/diverdi/all_courses/CRC%20reference%20data/special%20analytical%20reagents.pdf. Acesso em: 25 abr. 2021.

DOS SANTOS, S. E. L. G; AGUIAR, H. T. V.; FREITAS, R. F. Estudo fitoquímico, atividade antioxidante e tóxica da casca da *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan. **Biodiversidade**, v. 19, n. 2, 2020.

DOS SANTOS, F. M. et al. Otimização das condições de extração de saponinas em *Ampelozizyphus amazonicus* usando planejamento experimental e metodologia de superfície de resposta. **Química Nova**, v. 34, p. 1629-1633, 2011.

DUVAL, A.; AVÉROUS, L. Characterization and Physicochemical Properties of Condensed Tannins from *Acacia catechu*. **J Agric Food Chem**. 2016;64(8):1751–60.

ESTEVES, C. O. et al. Medicamentos fitoterápicos: prevalência, vantagens e desvantagens de uso na prática clínica e perfil e avaliação dos usuários. **Revista de Medicina**, v. 99, n. 5, p. 463-472, 2020.

FEITOSA, I. L. F. et al. **Avaliação in vitro da atividade biológica de *Zornia reticulata* Sm. (FABACEAE)**. 2015. 86 fl. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2015.

FERREIRA, J. C. et al. **Efeito aditivo do tanino na alimentação animal**. 2021. 46 fl. Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado em Zootecnia) - Instituto Federal Goiano, Ceres, 2021.

FILHO, C. J. A. S. **Transformação química de produtos naturais como estratégia de produção de compostos bioativos: triterpeno 3 β , 6 β , 16 β -tri-hidroxilup-20 (29)-eno isolado de *Combretum leprosum***. 2020. 100 fl. Dissertação (Pós-Graduação em Química) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2020.

FOLLY, M. L. C. **Avaliação da atividade antifúngica in vitro das folhas de *Xylosma ciliatifolia* (Clos) Eichler (Salicaceae) frente a linhagens de *Cryptococcus gattii* e *Cryptococcus neoformans***. 2018. 120 fl. Dissertação (Mestrado em Bioquímica e Biologia Molecular) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Governador Valadares, 2018.

FRANCO, D. P. et al. A IMPORTÂNCIA DAS CUMARINAS PARA A QUÍMICA MEDICINAL E O DESENVOLVIMENTO DE COMPOSTOS BIOATIVOS NOS ÚLTIMOS ANOS. **Química Nova**, v. 44, p. 180-197, 2021.

FRANZEN, F. L. et al. Teor e rendimento de extratos de flores obtidos por diferentes métodos e períodos de extração. **Acta Iguazu**, v. 7, n. 1, p. 9-21, 2018.

FREITAS, V. M. et al. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE TOXICA E CITOTÓXICA DE EXTRATOS DA PLANTA *Syzygium malaccense* (L.) Merr. & Perry. **South American Journal of Basic Education, Technical and Technological**, v. 6, n. 1, 2019.

GIL, A. C. **Como elaborar projetos de pesquisa**. 6. ed. São Paulo: Atlas, 2017.

GOMES, J. S. et al. **Desenvolvimento de método eletroanalítico por voltametria de pulso diferencial para determinação de Flavan-3-ol em fitoterápicos**. 2021. 114 fl. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2021.

GÓRNIAK, I.; BARTOSZEWSKI, R.; KRÓLICZEWSKI, J. Comprehensive review of antimicrobial activities of plant flavonoids. **Phytochemistry Reviews**, v. 18, n. 1, p. 241-272, 2019.

GROENIGEN, J. W. V. et. al. **The soil N cycle: new insights and key challenges**. *Soil*, 1, pp. 235-256. 2015.

HAIDA, K. S. et al. Compostos Fenólicos e Atividade Antioxidante de Goiaba (*Psidium guajava* L.) Fresca e Congelada. **Revista Fitos**, v. 9, n. 1, p. 37-44, jun. 2015.

KABERA, J. N. et al. Plant secondary metabolites: biosynthesis, classification, function and pharmacological properties. **J Pharm Pharmacol**, v. 2, n. 7, p. 377-392, 2014.

KLOSS, L. C. et al. IDENTIFICAÇÃO DE CLASSES DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS DO EXTRATO ETANÓLICO DE *Piper umbellatum* L. (PIPERACEAE). **South American Journal of Basic Education, Technical and Technological**, v. 3, n. 2, p. 118-128, 2016. Disponível em: <https://periodicos.ufac.br/index.php/SAJEBTT/article/view/468/622>. Acesso em: 23 jan. 2022.

LI, J. et al. A coumarin-based fluorescent probe for selective and sensitive detection of thiophenols and its application. **Analytical chemistry**, v. 86, n. 6, p. 3037-3042, 2014.

LIMA, I.E.O.; NASCIMENTO, L.A.M.; SILVA, M.S. Comercialização de Plantas Medicinais no Município de Arapiraca-AL. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.18, n.2, p.462-472, 2016.

MACEDO, N. R. **Prospecção fitoquímica da casca de Myracrodruon urundeuva Fr. All.** 2017. 44 fl. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso em Engenharia Florestal) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2017.

MACHADO, H. et al. Flavonóides e seu potencial terapêutico. **Boletim do Centro de Biologia da Reprodução (Descontinuada)**, v. 27, n. 1/2, 2008.

MALLMAN, A. P. et al. Rendimento, caracterização fitoquímica e avaliação de atividade antimicrobiana e antioxidante de extratos de *Ilex brevicuspis* Reissek (Aquifoliaceae) frente a sorotipos de *Salmonella* spp de origem avícola. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 3, p. 29143-29158, 2021.

MARQUETE, R.; TORRES, R. B.; MEDEIROS, E. S. Salicaceae. In: FORZZA, R. C. et al. (org.). **Catálogo de plantas e fungos do Brasil**. vol. 2. Rio de Janeiro: Andrea Jakobsson Estúdio: Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2010. p. 1600-1603.

MARCO, P. H.; POPPI, R. J.; SCARMINIO, I. S. Procedimentos analíticos para identificação de antocianinas presentes em extratos naturais. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 31, n. 5, p. 1218-1223, 2008. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422008000500051&lng=en&nrm=iso. Acesso em: 26 jan. 2022.

MARCUCCI, M. C. et al. Metodologias acessíveis para a quantificação de flavonoides e fenóis totais em própolis. **Rev. Virt. Quím**, v. 13, n. 1, p. 61-73, 2021.

MARCHINI, H. R. **Extração dos taninos da espécie Pinus taeda no município de Curitiba - SC e sua avaliação para aplicação industrial como adesivo modificado.** 2015. 117 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, 2015.

MATHUR, S.; HOSKINS, C. Drug development: Lessons from nature (Review). **Biomedical Reports**, [s.l.], v. 6, n. 6, p. 612-614, 2017.

MATOS, F. J. A. **Introdução à Fitoquímica Experimental**. 3ª ed. Fortaleza: EdiçõesUFC, 2009. 150p.

MCLAUGHLIN, J. L. **In Methods in Plant Biochemistry**. London: Hostettmann K., Academic Press, 1991, p. 1-32.

MELO, A. M. et al. EXTRAÇÃO, IDENTIFICAÇÃO E ESTUDO DO POTENCIAL ANTIMICROBIANO DO ÓLEO ESSENCIAL DE PIMENTA-PRETA (*Piper nigrum* L.), BIOMONITORADO POR *Artemia salina* Leach. **HOLOS**, v. 1, p. 1-16, 2021.

MIRANDA, K. V. L.; UHLMANN, L. A. C. Uso de fitoterápicos na atualidade: uma revisão de literatura. **Revista PubSaúde**. 2021. 6. 160

MONTEIRO, M. H. D. A, et al. Fitoterapia na odontologia: levantamento dos principais produtos de origem vegetal para saúde bucal. **Revista Fitos**, 9(4): 265-68, 2015.

NASCIMENTO, M. A. P. **Interação medicamentosa entre fitoterápicos oferecidos pelo Sistema Único de Saúde e medicamentos convencionais**. 2020. 91 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Escola de Farmácia, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2020.

NAVE, F. J. M. **Caracterização estrutural de novos pigmentos responsáveis pela cor de vinhos do Porto envelhecidos**. 2014. 278 fl. Tese (Doutorado em Química) - Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, Porto, 2014.

NEPOMUCENO, Á.; ALVES, M. Flora da Usina São José, Igarassu, Pernambuco: Salicaceae e Violaceae. **Rodriguésia**, v. 70, 2019.

NEPOMUCENO, F. Á. A. **Salicaceae na Mata Atlântica do Nordeste Oriental**. 2018. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco. 262 fl. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2018.

NETA, O. et al. **As plantas medicinais no contexto agroindustrial**. 2018. 23 fl. Dissertação (Mestrado em Sistemas Agroindustriais) - Universidade Federal de Campina Grande, Pombal, 2018.

NICÁCIO, R. A. R. et al. Potenciais interações entre medicamentos alopáticos e fitoterápicos/plantas medicinais no Município de Rondonópolis–MT. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 19, n. 3, p. 417-422, 2020.

NUNEZ, C. V. et al. **Isolamento de 4-hidroxifenil-6-cafeoil- β -L-glicosídeo e β -sitosterol e avaliação das atividades antibacteriana, antioxidante e tóxica sobre *Artemia salina* de *Casearia javitensis***. 2017. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/bitstream/icict/19258/2/4.pdf>. Acesso em: 29 jan. 2022.

OLIVEIRA, J. S. S. M. **INVESTIGAÇÃO QUÍMICA E POTENCIAL BIOLÓGICO DE *Simaba ferruginea* A. St.-Hil.** 2020. 230 fl. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2020.

OLIVEIRA, J. S. et al. **Avaliação fitoquímica, microbiológica e citotóxica das folhas *Gossypium arboreum* L.** 2021. Disponível em: <https://downloads.editoracientifica.org/articles/210203129.pdf>. Acesso em: 27 jan. 2022.

OLIVEIRA, M. **Estudo fitoquímico e das atividades biológicas de *Temnadenia stellaris* (Lindl.) Miers (Apocynaceae)**. 2015. 131 fl. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2015.

OLIVEIRA, S. M. et al. Potencial antileishmania, antimalárico e antitrypanossoma de espécies de Casearia: Uma revisão integrativa. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 7, p. e34410716743-e34410716743, 2021.

OSHIRO, M. C. et al. A evolução do registro e prescrição de fitoterápicos no Brasil sob a perspectiva legal e sanitária. **Vigilância Sanitária em Debate: Sociedade, Ciência & Tecnologia**, v. 4, n. 4, p. 116-122, 2016.

PARVEEN, M.; GHALIB, R.M. Flavonoids and antimicrobial activity of leaves of *Xylosma longifolium*. **Journal of the Chilean Chemical Society**, vol. 57, nº. 1, p. 989–991, 2012. doi.org/10.4067/S0717-97072012000100007.

PAZ, S. A. Composição de metabólitos primários e perfil de compostos voláteis dos frutos de etnovarietades de gabioba (*Campomanesia xanthocarpa* Berg) com ocorrência na floresta nacional da Região Sul do Brasil. **Embrapa Agroindústria Tropical-Tese/dissertação (ALICE)**, 2020.

PEREIRA, R. F. et al. **Efeitos da leucoantocianidina no tecido hepático de coelhos albinos (*Oryctolagus cuniculus*) submetidos à esteatose hepática não alcoólica experimental**. 2018. 78 fl. Dissertação (Pós-Graduação em Ciências Médicas) - Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2018.

PHILIPPSEN, A.F.; MIGUEL, D.M.; KALEGARI, M. Avaliação da atividade antibacteriana das cascas das raízes de *Xylosma ciliatifolia* (Clos) Eichler (Flacourtiaceae/Salicaceae sensu lato). **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, vol. 18, nº. 2, p. 1–5, 2013.

POZZI, A. C. S. **Desenvolvimento de métodos de análise Espectrofotométrica de flavonóides do “maracujá” (*Passiflora alata* e *Passiflora edulis*)**. 2007. 86 f. Dissertação (Mestrado em Química Analítica). Universidade de São Paulo, São Carlos, 2007.

RABELO, R. L. **Atividade antimicrobiana e antibiofilme de flavonois como agentes para aplicação endodôntica**. 2018. 46 fl. Trabalho de conclusão de curso (Curso em Odontologia) - Faculdade de Odontologia de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2018.

RAU, T. G.; BLUM, C.T. Caracterização dendrológica da família Salicaceae em um remanescente de Floresta Ombrófila Mista. **Acta Biológica Catarinense**, vol. 6, nº. 2, p. 26, 2019.

RIBEIRO, L. H. L. Análise dos programas de plantas medicinais e fitoterápicos no Sistema Único de Saúde (SUS) sob a perspectiva territorial. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 24, p. 1733-1742, 2019.

RIBEIRO, G. L. Vamos falar sobre PICS? [Entrevista concedida a] Lucas Gaspar Ribeiro. **SBMFC**. 2018. Disponível em: <https://www.sbmfc.org.br/noticias/sbmfc-entrevista-lucas-gaspar-ribeiro-vamos-falarsobre-pics/>. Acesso em: 11 jul. 2021.

ROBALINO, M. E. E. **Elaboración de un jabón líquido a base de saponinas de quinua (*Chenopodium quinoa willd*)**. 2021. 61 fl. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso em Bioquímica Farmacêutica) - Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba-Ecuador, 2021.

RODRIGUES, M. **Isolamento e caracterização de metabólitos secundários das folhas de *Xylosma prockia* (Turcz.) Turcz. (Salicaceae) e avaliação da atividade antifúngica in vitro frente a linhagens de *Cryptococcus* spp.** Salvador, 2020. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2019.03114/full>. Acesso em: 31 jan. 2022.

RODRIGUES, L. O.; MOURÃO, S. C.; GOUVÊA, M. M. Produção científica de 2010 a 2018 sobre o controle de qualidade de espécies vegetais incluídas na Relação Nacional de Medicamentos Essenciais. **Vigilância Sanitária em Debate: Sociedade, Ciência & Tecnologia (Health Surveillance under Debate: Society, Science & Technology) – Visa em Debate**, v. 9, n. 2, p. 21-27, 2021.

RODRIGUES, J. **Teste de Dragendorff** – Laboratório Online, nov. 2015. Disponível em: <https://www.fcencias.com/2015/11/05/teste-de-dragendorff-laboratorio-online/>. Acesso em: 28 jan. 2022.

ROCHA, G. et al. **Quantificação de metabólitos primários, secundários e atividade antioxidante em frutos e folhas de *Passiflora tenuifila* Killip e *Passiflora setacea* DC (Passifloraceae)**. 2017. 83 fl. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso em Ciências Biológicas) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2017.

ROSA, C.; CÂMARA, S. G.; BÉRIA, J. U. Representações e intenção de uso da fitoterapia na atenção básica à saúde. **Ciência & saúde coletiva**, v. 16, n. 1, p. 311-318, 2011.

SANTANA, L. D. O. et al. **Determinação do conteúdo de substâncias fenólicas e avaliação da capacidade antioxidante em méis de *Apis mellifera* comercializados no estado do Rio de Janeiro**. 2010. 142 fl. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2010.

SAVITHRAMMA, N. et. al. (2011). Screening of medicinal plants for secondary metabolites. **Middle-East J. Sci. Res.**, 8, pp. 579-584.

Salicaceae in **Flora do Brasil 2020**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://reflora.ibri.gov.br/reflora/floradobrasil/FB24637>>. Acesso em: 18 dez. 2021.

SANTOS, J. V. S. **Avaliação fitoquímica da espécie *Licania tomentosa* (Benth.) Fritsch**. 2018. 53 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Licenciatura

em Química) – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí, Parnaíba, 2018.

SILVA, K. A. et al. Avaliação da Estabilidade de Emulsões Cosméticas Elaboradas com Saponinas de Juá (*Ziziphus joazeiro*) e Sisal (*Agave sisalana*). **Visão Acadêmica**, v. 17, n. 3, 2017.

SILVA, E. M. F. et al. Estudo in vitro do potencial citotóxico da *Annona muricata* L. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, Araraquara, v. 36, n. 2, p. 277-283, 2015.

SILVA, L. A. et al. Atividade antioxidante do óleo essencial de *Myrcia sylvatica* (G. Mey.) DC. por diferentes métodos de análises antioxidantes (ABTS, DPPH, FRAP, β -caroteno/ácido linoleico). **Revista Fitos**, Rio de Janeiro, v. 12, n. 2, p. 117-126, jul. 2018.

SILIN, A. V.; SATYGO, E. A.; REUTSKAYA, K. V. Effectiveness of Paradontax toothpaste in patients undergoing orthodontic treatment. **Stomatologia**, v. 96, n. 4, p. 20-22, 2017.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. Porto Alegre, p 305-316, 2017.

SIMÕES, C. M.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELO, J.C.P. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6ª Ed. Porto Alegre: Ed da UFRGS/ Florianópolis: Ed. Da UFSC, 2007. 1104p.

SOUZA, A. L. C. **ANÁLISE FITOQUÍMICA E ATIVIDADES FARMACOLÓGICAS DA ESPÉCIE *Vachellia farnesiana* (L.) Wight & Arn. [sin. *Acacia farnesiana* (L.) Willd.]**. 2019. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Licenciatura em Química) - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí, Parnaíba, 2019.

SOUSA, C. M. M. et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v. 30, p. 351-355, 2007.

SOUZA, S. M. et al. **Atividade antibacteriana de cumarinas naturais e derivados**. 2005. 94 fl. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.

SOUZA, A. L. T.; CALIAI, J. S.; BIAZIL, K. Efeitos do toque terapêutico na cicatrização da pele. **Revista Enfermagem Brasil**, ed. 1, 2019.

SOUSA, A.; SANTOS, A.; ROCHA, R. Plantas Medicinais em Enfermagem: Os Saberes Populares e o Conhecimento Científico. **Revista Eletrônica Extensão em Debate**, v. 6, n. 1, p. 48-67, 2019.

SULTANA, S.; ALI, M.; JAMEEL, M. Aliphatic Constituents from the Leaves of *Dillenia indica* L., *Halothamus bottae* Jaub. and *Xylosma longifolium* Clos. **Chemistry Research Journal**, vol. 3, nº. 3, p. 109–117, 2018.

SWAPANA, N. et al. A new diphenyl ether glycoside from *Xylosma longifolium* collected from north-east India. **Natural Product Communications**, vol. 12, nº. 8, p. 1273–1275, 2017.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5a ed. Porto Alegre, Artmed. p. 918, 2013.

TESSER, C. D. et al. Práticas Integrativas e Complementares na Atenção Primária à Saúde brasileira. **Saúde em Debate**, v. 42, n. 1, p. 174-188, set. 2018.

TOMAZI, L. B. et al. Estudo etnobotânico das árvores medicinais do Parque Ecológico Municipal José Milanese, Criciúma, Santa Catarina, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 16, p. 450-461, 2014.

TUZIMSKI, T.; SHERMA, J. **Encyclopedia of Analytical Chemistry: Applications, Theory and Instrumentation**, Thin-Layer Chromatography, p. 1-26, 2006.

VALVERDE, N. C., ALMEIDA, M. Z., SILVA, A. Introdução da Fitoterapia no SUS: contribuindo com a Estratégia de saúde da Família na comunidade rural de Palmeiras, Paty do Alferes, Rio de Janeiro: **Revista Fitos**, Rio de Janeiro, 2018; 12(1): 27- 40. 2018.

VASCONCELOS, T. L. C. et al. Prospeção fitoquímica e avaliação das atividades antibacteriana e antirradicalar do extrato etanólico de Sambacaitá (*Hyptis pectinata* L. Poit). **Brazilian Journal of Health Review**, v. 3, n. 6, p. 17134-17144, 2020.