

Bioprospecção fitoquímica, atividade antioxidante *in vitro* e toxicidade da folha do *Caryocar coriaceum* do cerrado tocantinense

Fernando Mendonça Cardoso¹ , Rachel de Moura Nunes Fernandes² , Maria Angélica Melo Rodrigues³ , Juliane Farinelli Panontin¹ , Elisandra Scapin^{1,2,3*} 

1 Postgraduate Program in Environmental Sciences – CIAMB, Federal University of Tocantins, Campus of Palmas, 77001-090 Palmas, TO, Brazil.

2 Postgraduate Program in Biodiversity and Biotechnology – BIONORTE, Federal University of Tocantins, Campus of Palmas, 77001-090 Palmas, TO, Brazil.

3 Environmental Engineering Course, Chemistry Laboratory, Block II, Federal University of Tocantins, Campus of Palmas, 77001-090 Palmas, TO, Brazil.

*Autor para correspondência: scapin@uft.edu.br

Recebido em 14 de julho de 2021.

Aceito em 07 de novembro de 2021.

Publicado em 11 de novembro de 2021.

Resumo - *Caryocar coriaceum*, espécie típica do cerrado brasileiro, possui funções terapêuticas conhecidas, entretanto, ativos biológicos pouco caracterizados. Este trabalho teve como objetivos determinar o perfil fitoquímico, avaliar o potencial antioxidante e a toxicidade dos extratos das folhas do *C. coriaceum*. Os extratos foram obtidos usando duas metodologias: i) etanol 70% em aparato Soxhlet, originando o extrato bruto hidroetanólico (EBH); ii) extração sequencial, com desengorduramento, seguido da extração com metanol e etanol 70%, originando os extratos sequenciais metanol (ESM) e etanol (ESE). Foi realizada triagem fitoquímica, quantificação de fenóis e flavonoides, determinação da atividade antioxidante e identificação dos compostos por CLAE. A toxicidade foi avaliada pelo método de *A. cepa* em três concentrações. Foram identificados flavonoides, taninos, fitoesteróis/triterpenoides, quinonas e saponinas. O teor majoritário de fenólicos totais foi encontrado no EBH (422,55 mg EAG/g) e o de flavonoides totais no ESM (82,39 mg ER/g). A atividade antioxidante revelou que EBH ($IC_{50}=17,97 \mu\text{g/ml}$) e ESM ($IC_{50}=16,99 \mu\text{g/ml}$) são equivalentes ao padrão rutina ($IC_{50}=15,85 \mu\text{g/ml}$). Foram identificados o ácido gálico, catequina, ácido siríngico, ácido clorogênico, ácido *p*-cumárico, naringina, vitexina, rutina e isoharmetina. EBH e o ESE apresentaram toxicidade a partir de 50 $\mu\text{g/ml}$. Os resultados obtidos sugerem potencial atividade antioxidante da *C. coriaceum*.

Palavras-chave: Caracterização química. Compostos fenólicos. Pequi. Toxicidade.

Phytochemical Bioprospecting, Antioxidative Activity *in vitro* and Toxicity of *Caryocar coriaceum* leaves from the Tocantins Cerrado region

Abstract - *Caryocar coriaceum*, a typical species from the Brazilian Cerrado, with known therapeutic functions, however with poorly characterized biological assets. This work aimed to determine the phytochemical profile, evaluate the antioxidant potential and cytotoxicity of *C. coriaceum* leaf extracts. The extracts were obtained using two methodologies: i) 70% ethanol in a Soxhlet apparatus, giving rise to the crude hydroethanol extract (EBH); ii) sequential extraction, with degreasing, followed by extraction with methanol and 70% ethanol, originating the sequential extracts methanol (ESM) and

ethanol (ESE). Phytochemical screening, quantification of phenols and flavonoids, determination of antioxidant activity and identification of compounds by CLAE was performed. Toxicity was evaluated with the *A. cepa* method at three concentrations. Flavonoids, tannins, phytosterols/triterpenoids, quinones and saponins were identified. The major content of total phenolics was found in EBH (422.55 mg EAG/g) and that of total flavonoids in ESM (82.39 mg ER/g). The antioxidant activity revealed that EBH ($IC_{50}=17.97 \mu\text{g/ml}$) and ESM ($IC_{50}=16.99 \mu\text{g/ml}$) are equivalent to standard rutin ($IC_{50}=15.85 \mu\text{g/ml}$). Gallic acid, catechin, syringic acid, chlorogenic acid, p-coumaric acid, naringin, vitexin, rutin and isoharmetin were identified. EBH and ESS have toxicity from 50 $\mu\text{g/ml}$. The results obtained suggest potential antioxidant activity of *C. coriaceum*.

Keywords: Chemical characterization. Phenolic compounds. Pequi. Toxicity.

Bioprospección fitoquímica, actividad antioxidante *in vitro* y toxicidad foliar de *Caryocar coriaceum* del Cerrado Tocantinense

Resumen - *Caryocar coriaceum*, una especie típica del cerrado brasileño, con funciones terapéuticas conocidas, pero con activos biológicos pobremente caracterizados. Este trabajo tuvo como objetivo determinar el perfil fitoquímico, evaluar el potencial antioxidante y la citotoxicidad de extractos de hojas del *C. coriaceum*. Los extractos se obtuvieron utilizando dos metodologías: i) etanol al 70% en un aparato Soxhlet, originando el extracto crudo de hidroetanólico (EBH); ii) extracción secuencial, con desengrasado, seguido de extracción con metanol y etanol al 70%, originando los extractos secuenciales metanol (ESM) y etanol (ESE). Se realizó el cribado fitoquímico, cuantificación de fenoles y flavonoides, determinación de actividad antioxidante e identificación de compuestos por CLAE. Se evaluó la toxicidad por el método de *A. cepa* a tres concentraciones. Han sido identificados flavonoides, taninos, fitoesteroles/triterpenoides, quinonas y saponinas. El mayor contenido de fenoles totales se encontró en EBH (422,55 mg EAG / g) y el de flavonoides totales en ESM (82,39 mg ER / g). La actividad antioxidante reveló que EBH ($IC_{50}=17,97 \mu\text{g} / \text{ml}$) y ESM ($IC_{50}=16,99 \mu\text{g} / \text{ml}$) son equivalentes a la rutina estándar ($IC_{50}=15,85 \mu\text{g} / \text{ml}$). Se identificaron ácido gálico, catequina, ácido siríngico, ácido clorogénico, ácido p-cumárico, naringina, vitexina, rutina e isoharmetina. EBH y ESS tienen una toxicidad de 50 $\mu\text{g} / \text{ml}$. Los resultados obtenidos sugieren una potencial actividad antioxidante de *C. coriaceum*.

Palabras clave: Caracterización química. Compuestos fenólicos. Pequi. Toxicidad.

Introdução

O bioma Cerrado é conhecido como a savana mais rica do mundo, sendo o segundo maior bioma da América do Sul, ocupando cerca de 22% do território nacional (Fernandes et al. 2016), abrangendo mais de 11.600 espécies vegetais já catalogadas, incluindo uma variedade em plantas com aplicabilidade na medicina (Mamede e Pasa 2019). A rica biodiversidade do cerrado proporciona oportunidades para que a fitoterapia seja fonte abundante de pesquisa no tratamento de enfermidades (Silva et al. 2018). O cerrado tocantinense está localizado na região de Amazônia legal e possui características diferenciadas de temperatura e oferta de água, o que pode alterar a produção de metabólitos secundários (Gobbo-Neto e Lopes 2007).

O uso de plantas medicinais exibe grande significado socioeconômico na qualidade de vida nas comunidades de baixa renda devido, principalmente, aos baixos custos e a facilidade de acesso

(Rodrigues e Carvalho 2001). Entretanto, desafios como desmatamento e queimadas ameaçam áreas de reserva legal, o que compromete a disponibilidade futura, levando à perda da biodiversidade medicinal (Silva et al. 2010).

A espécie *Caryocar coriaceum* Wittm, popularmente conhecida como pequi, é uma dicotiledônea, com 25 espécies catalogadas na Caatinga e no Cerrado brasileiro e pertencente à família *Caryocaraceae*. O pequi apresenta troncos com casca áspera e ramos grossos e tortuosos, podendo atingir até 10 metros de altura. Sua folhagem é pilosa, recoberta com pelos curtos, formadas por três folíolos com as bordas recortadas e nervuras bem marcadas (Alves et al. 2017). Seu fruto é formado por um exocarpo com coloração marrom esverdeada, mesocarpo externo formado por uma polpa branca, mesocarpo interno com coloração amarelo-claro a alaranjado escuro e o endocarpo espinhoso protege a semente (Silva e Medeiros Filho 2006).

Estudos etnofarmacológicos e etnobotânicos evidenciam a real eficácia do *C. coriaceum*. em tratamentos de doenças (Batista et al. 2010). Relatos da medicina popular indicam o uso das folhas do *Caryocar coriaceum* com efeitos hepatoprotetores, devido aos seus altos teores de taninos (Alves et al. 2017), sendo também usadas no tratamento de resfriados, gripes, alterações menstruais (Batista et al. 2010), infecções virais (Araruna et al. 2013), infecções broncopulmonares e em dores osteomusculares (Kerntopf et al. 2013). Batista et al. (2010) menciona que o extrato hidroetanólico das folhas do pequizeiro *C. coriaceum* apresenta comprovada atividade antimicrobiana. Os usos terapêuticos com finalidade antioxidante, podem ser explicados devido à alta incidência de raios solares em seu habitat natural, estimulando a geração de radicais livres (Carvalho et al. 2015).

Apesar de relatos frequentes do uso da planta como uso terapêutico (Saraiva et al. 2018), existem poucos trabalhos científicos que relatam o uso medicinal, a caracterização química de seus princípios ativos e a toxicidade do uso da folha do *C. coriaceum*.

Diante do exposto, esse estudo teve como objetivo a realizar a triagem fitoquímica, determinar o potencial antioxidante *in vitro* e avaliar a citotoxicidade dos extratos da folha do *C. coriaceum*.

Material e métodos

Coleta e tratamentos prévios

A coleta da folha do *Caryocar coriaceum* ocorreu dentro do perímetro urbano da cidade de Palmas - TO, entre as coordenadas 10°11'06" S e 48°21'22" W. As amostras foram tombadas e incorporadas ao acervo do herbário (HUTO) da Universidade Estadual do Tocantins - UNITINS, no município de Palmas, sob o registro 7787 e realizado cadastro no Sistema Nacional de Patrimônio Genético (SisGen), sob o número AC864BD.

Após a coleta, o material vegetal foi seco em estufa a 60 °C pelo período de 48 horas, pulverizado em moinho de facas tipo Willey (Fortinox STAR FT 50) com granulometria abaixo do Mesh 20 e armazenado em recipiente de vidro livre de contaminação, umidade de 60 ± 5% e ao abrigo da luz, até o momento das análises.

Extração

Para a obtenção do extrato utilizou-se o método extrativo à quente em sistema fechado por meio do equipamento Soxhlet por um período de 5h de refluxo. Duas metodologias de extração foram

realizadas. Na primeira foi utilizada a proporção de 5 g do pó da droga vegetal (pó da folha) em 200 mL de Etanol 70%, originando o extrato bruto hidroetanólico (EBH). Utilizando-se a mesma proporção (5g/200 mL) foi realizada a extração sequencial iniciando-se com o solvente hexano, para o desengorduramento da amostra, seguido de metanol e etanol 70%. A amostra passou por um período de 12h de secagem a temperatura ambiente, antes da aplicação do próximo solvente. Esta metodologia originou o extrato sequencial metanol (ESM) e o extrato sequencial etanol (ESE), respectivamente.

Após o término do processo, cada solvente foi removido por evaporação em evaporador rotativo a -600 mmHg e temperatura de 45 °C. Os extratos foram liofilizados no Liofilizador de bancada L101 da LIOTOP e armazenados em frascos estéreis até a análise.

Triagem fitoquímica

Os extratos foram submetidos a testes fitoquímicos preliminares, baseados em reações de precipitação e coloração, com os ensaios específicos para flavonoides, taninos, quinonas, fitoesteróis, saponinas, alcaloides e glicosídeos antraquinônicos, conforme a metodologia proposta por Saraiva et al. (2018), Simões et al. (2017) e Silva e Lima (2016).

Determinação de Fenóis Totais

A quantificação dos compostos fenólicos totais foi realizada pelo método Folin-Ciocalteu, conforme descrito por Amorim et al. (2012) empregando-se ácido gálico como padrão. Soluções metanólicas (0,2 mL) do extrato (1 mg/mL, p/v) ou do padrão (4 a 120 µg/mL, p/v) foram misturadas com solução aquosa do reagente Folin-Ciocalteu (0,5 mL a 10%, v/v), carbonato de sódio (1 mL a 7.5%, p/v) e 8,3 mL de água destilada, cuidadosamente agitados e mantidos por 30 minutos ao abrigo da luz. A absorbância foi medida a 760 nm, em espectrofotômetro UV-VIS HACH DR 5000. O teor de fenólicos totais foi determinado por interpolação da absorbância das amostras contra a curva padrão ($y = 0,0022x + 0,0286$, $R^2 = 0,9689$) construída com diferentes concentrações do padrão de ácido gálico em metanol. O resultado foi expresso em miligramas equivalentes de ácido gálico por grama de extrato liofilizado (mg EAG/g). O ensaio foi realizado em triplicata.

Determinação de Flavonoides

A quantificação de flavonoides totais foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Peixoto-Sobrinho et al. (2008) e modificado por Soares et al. (2017). As reações foram realizadas em triplicata e mediante a mistura de 0,5 mL de soluções metanólicas do extrato (1mg/mL, p/v) ou do padrão (10 a 400 µg/mL, p/v) com uma solução aquosa de ácido acético (0,5 mL a 60%, v/v), solução metanólica de piridina (2 mL a 20%, v/v), cloreto de alumínio (1 mL a 5%, p/v) e água milli-Q (6 mL). Um branco foi construído pela junção de todos os componentes da reação e o extrato ou padrão, substituindo-se o cloreto de alumínio por metanol. O complexo reacional e o branco foram cuidadosamente agitados e mantidos por 30 minutos ao abrigo da luz, e as absorbâncias medidas a 420 nm, em espectrofotômetro conforme análise anterior. Os teores de flavonoides totais foram determinados por interpolação das absorbâncias das amostras (descontando a absorbância do branco) contra uma curva de calibração ($y = 0,0022x - 0,0124$, $R^2 = 0,999$) construída com as diferentes

concentrações do padrão rutina e expressos como miligramas equivalentes de rutina por grama de extrato liofilizado (mg ER/g).

Determinação de Atividade antioxidante

A capacidade antioxidante foi avaliada pelo método baseado na eliminação do radical livre estável 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH), seguindo as descrições de Brand-Williams et al. (1995), tendo como controle positivo o padrão rutina. Em triplicata, 0,5 mL de diferentes concentrações dos extratos ou padrões (10 – 200 µg/mL, p/v) foram adicionados a 3 mL desolução metanólica de DPPH (40 µg/mL, p/v). Um branco foi construído pela substituição do DPPH por metanol no meio reacional. O complexo reacional e o branco foram agitados e mantidos por 30 minutos ao abrigo da luz, e as absorbâncias medidas a 517 nm em espectrofotômetro. A absorbância da solução de DPPH a 40 µg/mL também foi medida e utilizada como controle negativo. A atividade de remoção de radicais livres ou atividade antioxidante foi expressa como a porcentagem de inibição determinada pela equação (1):

$$AA(\%) = \frac{(Ac - (Aa - Ab))}{Ac} \times 100 \quad (1)$$

Onde: AA(%) é a porcentagem de atividade antioxidante; Ac, a absorbância do controle negativo; Aa, a absorbância da amostra; Ab, a absorbância do branco. O valor de IC₅₀ (µg/mL) foi calculado denotando a concentração de uma amostra necessária para diminuir a absorbância em 517 nm em 50%.

Caracterização por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

Os extratos das folhas de *C. coriaceum* foram analisados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) usando um cromatógrafo marca Shimadzu® (Kyoto, Japão) equipado com bomba LC-10AT, desgaseificador DGU-14A, detector UV-VIS SPD-10A, forno de coluna CTO-10A, Injetor manual Rheodyne (circuito 20 µL) e integrador CLASS SLC-10A. Foi usada coluna Phenomenex Luna C18 de 5 µm (250 mm × 4,6 mm) com cartuchos C18 Phenomenex Security Guard de conexão direta (4 × 3,0 mm²) preenchidos com material semelhante ao da coluna principal a 22 °C de temperatura. A detecção UV foi a 280 nm. A resposta do detector foi gravada e integrada usando o software Class-VP. A fase móvel consistiu em 0,1% de ácido fosfórico em água (fase A) e 0,1% de ácido fosfórico em água / acetonitrila / metanol (54: 35: 11 v/v) (fase B) sob o seguinte perfil de gradiente: 0–5 min, 0% B; 5–10 min, 30% B, 10–20 min, 40% B, 20–60 min 40% B, 60–70 min 50% B, 70–90 min 60% B, 90–100 min 80% B, 100–110 min 100% B, com fluxo de 1.0 mL/min. Os compostos foram identificados por comparação entre o tempo de retenção das amostras e padrões autênticos, tais como ácido gálico, catequina, ácido siríngico, ácido clorogênico, ácido *p*-cumárico, naringina, vitexina, rutina e isoharmetina (Sigma®). Os extratos foram dissolvidos no solvente de eluição e os padrões em metanol. Antes da análise, todos os extratos (1 mg / mL) e padrões autênticos (0,18 mg/mL) foram filtrados usando filtros de membrana de polivinilideno difluoreto (PVDF) com 0,22 µm.

Atividade citotóxica

As análises de toxicidade foram conduzidas conforme Meneguetti et al. (2014), com modificações. No experimento foram utilizados exemplares da espécie *Allium cepa*, de tamanho uniforme, de mesma origem, não germinada e saudável, adquiridas no comércio de Palmas - TO. Após a retirada da casca e limpeza do bulbo, os bulbos foram submersos em 50 ml de água mineral durante 48 horas a 25 °C para crescimento das raízes e separação de cebolas saudáveis. Após esse período as cebolas tiveram suas raízes aparadas para, então, serem submersas em 50 ml de extratos aquosos da folha do *C. coriaceum* sob diferentes concentrações das amostras (50, 250, 750 µg/ml), e o grupo controle foi submerso em 50ml de água mineral a 25 °C por cinco dias. Ao findar do período, o número de raízes germinadas de cada cebola foi contado e as três maiores foram medidas com paquímetro digital. As análises foram realizadas em triplicatas.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial, arranjo (4 × 3) com 9 tratamentos: o controle, três concentrações de cada extrato e três repetições por tratamento. O Índice de Crescimento Relativo (ICR) foi determinado através do crescimento radicular do controle e dos extratos segundo Young et al. (2012), obtido pela equação (2):

$$\text{ICR} = \text{RLS} / \text{RLC} \quad (2)$$

Em que RLS é o comprimento da raiz da amostra e RLC é o comprimento da raiz do controle. O efeito do extrato em relação ao controle foi determinado em função do ICR que se subdivide em 3 categorias:

- 1- $\text{ICR} < 0,8$: Inibição do crescimento (I);
- 2- $0,8 \leq \text{ICR} \leq 1,2$: Mesmo efeito controle (MC);
- 3- $\text{ICR} > 1,2$: Estímulo do crescimento (E).

Análise Estatística

Os experimentos realizados em triplicata tiveram os resultados expressos em média ± desvio padrão. Todos os dados de fenóis totais, flavonoides totais e atividade antioxidante foram analisados por meio do programa SISVAR versão 5.6 (Ferreira 2008). O IC_{50} foi determinado a partir do programa GRAPHPAD PRISM 8. Foram utilizados análise de variância (ANOVA) e o teste de Tukey para identificar diferenças significativas entre as médias ($p < 0,05$).

Resultados e discussão

Triagem fitoquímica

A Tabela 1 apresenta os resultados obtidos para os testes indicativos de grupos de metabólitos secundários nos extratos das folhas da *C. coriaceum*.

Tabela 1. Triagem fitoquímica preliminar dos extratos da folha da *C. coriaceum*. (EBH = Extrato Bruto Hidroetanólico; ESM = Extrato Sequencial Metanol; ESE = Extrato Sequencial Etanol). + presença; - ausência

Grupo de metabólito secundário	EBH	ESM	ESE
Flavonoides	+	+	+
Taninos	+	+	+
Fitoesteróis/Triterpenóides	+	+	-
Quinonas	-	-	+
Saponinas	-	+	-
Alcaloides	-	-	-
Glicosídeos Antraquinônicos	-	-	-

Conforme demonstrado na Tabela 1, houve variações em relação à presença de grupos de metabólitos secundários como flavonoides, taninos, fitoesteróis, triterpenóides, quinonas e saponinas, destacando-se o ESM que apresentou resultado positivo na maioria dos testes. A presença de saponinas foi verificada apenas no extrato ESM. Isso pode ter ocorrido porque as saponinas são moléculas anfipáticas, logo possuem afinidade com solventes mais polares e menos polares. Desta forma, após a eliminação de componentes lipossolúveis pelo desengorduramento com hexano, as saponinas foram extraídas pelo solvente metanólico. Em estudo realizado por Kokanova-Nedialkova et al. (2019) os autores prepararam um extrato rico em saponinas extraídas com metanol, o que sugere que o metanol é um bom solvente para extração de saponinas.

Araruna (2014), em estudo fitoquímico com extratos das folhas da *C. coriaceum* também encontrou taninos e flavonoides. Alcaloides e os glicosídeos antraquinônicos não foram detectados, o que era esperado, já que estes metabólitos não estão presentes nesta espécie (Lacerda Neto et al. 2017).

Na região em que o estudo foi realizado, Palmas – TO, é encontrada somente a espécie *C. coriaceum* (Haidar, Dias e Pinto 2013), verificando-se que existem poucas publicações em relação aos estudos fitoquímicos com a espécie, sendo a *Caryocar brasiliense* a espécie que mais se destaca em bancos de dados.

A partir do estudo de extratos das folhas do *C. coriaceum*, Duavy et al. (2012) encontraram taninos e não detectaram a presença de alcaloides. Bezerra et al. (2002) também citaram a presença de flavonoides, saponinas e taninos condensados e hidrolisáveis verificados na prospecção fitoquímica nas folhas de *C. brasiliense*.

Atribuem-se aos flavonoides propriedades antiespasmódica, anti-inflamatória, antialérgica, anti-ulcerogênica e antiviral. Aos taninos faz-se associação com atividade anticarcinogênica, cicatrizante, quelante, efeitos antifúngicos e antimicrobianos, e, devido à sua ação hemostática, podem ser utilizados como antídoto em casos de intoxicações por metais pesados e derivadas de fungos, bactérias e até de animais (Carvalho et al. 2015; Batista 2010).

Os esteroides são propulsores de fármacos como anticoncepcionais, anti-inflamatórios e anabolizantes. As saponinas tem ações farmacológicas como anti-inflamatória, larvicida, hipocolesterolemiantes, expectorante, ventrópica, moluscicida e cicatrizante (Carvalho et al. 2015).

Outro metabólito encontrado foram as quinonas, que possuem características de indução de enzimas de desintoxicação, atividades antioxidante, anti-inflamatória e efeito indutor de citoproteção (Bolton e Dunlap 2017).

Determinação do teor de Fenóis Totais, Flavonoides Totais e Atividade Antioxidante

A Tabela 2 mostra os teores de fenóis totais, flavonoides totais e atividade antioxidante obtidos para os extratos da folha do *C. coriaceum*.

Tabela 2. Quantificação dos teores de fenóis totais, flavonoides totais e atividade antioxidante dos extratos da folha do *C. coriaceum* (EBH = Extrato Bruto Hidroetanólico; ESM = Extrato Sequencial Metanol, ESE = Extrato Sequencial Etanol; RUT = Rutina).

Extrato	Fenóis Totais (mg EAG/g)	Flavonoides Totais (mg ER/g)	DPPH IC ₅₀ (µg/mL)
EBH	422,55 ± 28,23 A	72,91 ± 3,18 B	17,97 ± 2,49 A
ESM	319,52 ± 21,31 B	82,39 ± 2,05 A	16,99 ± 0,66 A
ESE	189,82 ± 11,06 C	35,78 ± 3,53 C	25,32 ± 2,71 B
RUT	-	-	15,85 ± 0,08 A

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$). - não detectado.

Analisando os resultados apresentados na Tabela 2, verifica-se que houve variação significativa ($p < 0,05$) no conteúdo de compostos fenóis totais. No EBH foram encontrados teores majoritários de fenóis totais (422,55 ± 28,23 mg EAG/g) em relação aos teores dos demais extratos (ESM 319,52 ± 21,31 mg EAG/g e ESE 189,82 ± 11,06 mg EAG/g), o que demonstra que a extração não sequenciada com etanol 70% parece ser o melhor método de extração de compostos fenólicos, dentre os métodos testados.

Apesar de haver muitos trabalhos na literatura a respeito do estudo de fenólicos totais do gênero *Caryocar*, ainda é escasso o número estudos em relação ao uso folha, principalmente no que se refere aos estudos com a espécie *C. coriaceum*.

Araruna (2013), verificou a presença de taninos e flavonoides nas folhas do *C. coriaceum* e ressalta que fenóis e flavonoides são encontrados na família *Caryocar*, no qual ambos já foram citados como compostos bioativos para o aumento da atividade antioxidante, evidenciando os achados deste estudo.

A partir dos teores de flavonoides totais encontrados, destaca-se que todos os extratos foram estatisticamente diferentes, tendo o ESM o maior teor (82,39 ± 2,05 mg ER/g), seguido pelo EBH (72,91 ± 3,18 mg ER/g). Lacerda et al. (2017) detectaram para o extrato hidroetanólico (50%) da folha do *C. coriaceum*, 89 mg ER/g de flavonoides totais, valor aproximado aos teores obtidos para os extratos ESM e EBH neste estudo.

Os valores de atividade antioxidante encontrados para os extratos EBH (17,97 ± 2,49 A µg/ml) e ESM (16,99 ± 0,66 µg/ml) são equivalentes à atividade do padrão rutina (IC₅₀ = 15,85 ± 0,08 µg/ml), indicando potente efeito antioxidante destes extratos.

Araruna (2014) relata que é considerado potencial antioxidante $CE_{50} < 500 \mu\text{g/ml}$. E de acordo com seu estudo pode-se verificar que os extratos foliares do *C. coriaceum* ($CE_{50} = 5,02 \pm 4,37 \mu\text{g/ml}$) possuem alto fator antioxidante o que demonstra o potencial antioxidante verificado nesse estudo.

Caracterização por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

O perfil cromatográfico dos extratos da folha do *Caryocar coriaceum* obtido por CLAE é apresentado na Figura 1 e as substâncias detectadas são mostradas na Tabela 3. O tempo de retenção das amostras e os padrões autênticos permitiram a identificação dos compostos fenólicos em todos extratos analisados.

Figura 1. Perfil cromatográfico dos extratos da folha do *C. coriaceum*., extrato bruto hidroetanólico (A), extrato sequencial metanol (B) e extrato sequencial etanol (C) detectados a 280 nm. Pico 1: Ácido gálico (TR: 15,720); Pico 2: Catequina (TR: 21,950); Pico 3: Ácido siríngico (TR: 24,590); Pico 4: Ácido clorogênico (TR: 25,650); Pico 5: Ácido *p*-cumárico (TR: 27,510); Pico 6: Naringina (TR: 31,530); Pico 7: Vitexina (TR: 37,040); Pico 8: Rutina (TR: 42,550); Pico 9: Isoharmetina (TR: 56,350).

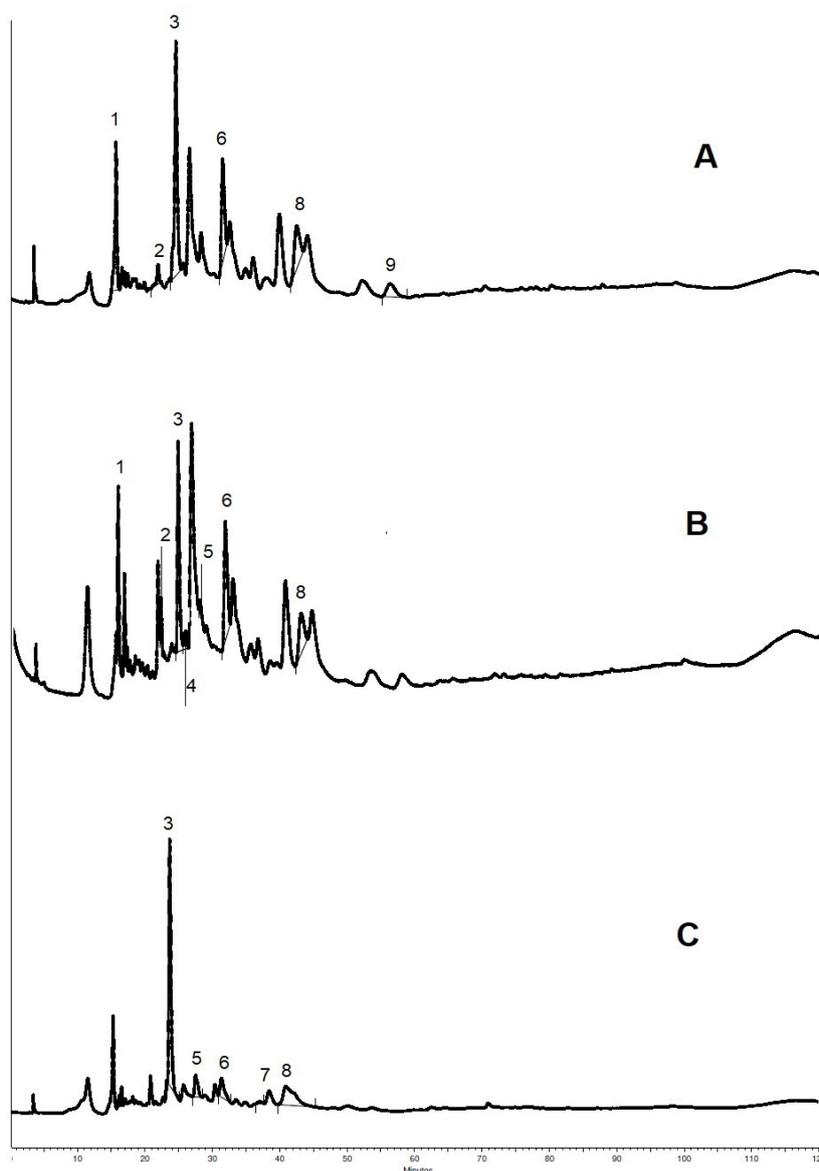


Tabela 3. Compostos fenólicos identificados por CLAE nos EBH, ESM e ESE obtidos a partir da folha do *C. coriaceum*.

Pico	Compostos	Tempo de Retenção (min)		
		EBH	ESM	ESE
1	Ácido gálico	15,720	15,640	-
2	Catequina	21,950	21,990	-
3	Ácido siríngico	24,590	24,530	23,670
4	Ácido clorogênico	-	25,650	-
5	Ácido <i>p</i> -cumárico	-	27,770	27,510
6	Naringina	31,530	31,530	31,360
7	Vitexina	-	-	37,040
8	Rutina	42,550	42,820	40,900
9	Isorhamnetina	56,350	-	-

Na análise por CLAE, foi detectada a presença de ácido gálico, catequina, ácido siríngico, ácido clorogênico, ácido *p*-cumárico, naringina, vitexina, rutina e isorhamnetina na folha do *C. coriaceum*.

O ácido siríngico, naringina e rutina foram detectados em todos os extratos. Através dos cromatogramas do ESM e do ESE observou-se que, o desengorduramento preliminar da amostra, facilitou a extração de alguns compostos, tais como catequina, o ácido clorogênico e o ácido *p*-cumárico.

Duavy et al. (2019) avaliaram o extrato aquoso das folhas do *C. coriaceum* e identificaram os compostos fenólicos: ácido gálico, catequina, rutina e ácido clorogênico. Lacerda Neto et al. (2017) também relataram a presença da rutina e ácido clorogênico no extrato hidroetanólico (50%) da folha do *Caryocar coriaceum*, coletadas no Ceará. Oliveira et al. (2018b) confirmaram em seus estudos que a fração butanólica da folha do *C. brasiliense* apresenta vários compostos fenólicos, dentre eles a vitexina. Ferreira (2019) detectou nos extratos etanólicos (95%) da casca do fruto da espécie *C. brasiliense* o ácido *p*-cumárico.

O ácido gálico apresenta acentuada atividade inibitória, tanto na formação de espécies reativas de oxigênio, como antimicrobiana sobre *H. pylori* (Wolf 2017). É também descrito como agente antifúngico contra *Colletotrichum truncatum*, *Alternaria alternata*, *Fusarium sambucinum*, *Fusarium verticillioides* e *Biomphalaria glabrata* (Ascari et al. 2013).

A catequina é um polifenol com atividade antioxidante, com ação inibitória de enzimas, possuindo também ação antimicrobiana, antiviral e anticarcinogênica (Bae et al. 2020; Schmitz et al. 2009).

O ácido siríngico possui comprovadas atividades antioxidante (Memon et al. 2010), hepatoprotetora (Malhi et al. 2014) e antidepressiva (Dalmagro et al. 2017). Destaca-se também que o ácido siríngico possui elevada ação anti-inflamatória, com elevado potencial de uso no tratamento da Doença de Alzheimer, uma vez que estabiliza o comportamento neurocomportamental as imparidades dos portadores da morbidade (Zhao et al. 2020).

O ácido clorogênico, detectado apenas no ESM, possui efeito vasodilatador, em virtude de sua conversão em ácido ferúlico, que influencia diretamente na produção de óxido nítrico, apresenta assim atividade anti-hipertensiva. O ácido clorogênico associado a outros compostos pode aumentar o potencial antimicrobiano do extrato (Araruna et al. 2013).

Nos ESM e EBH identificou-se o ácido p-cumárico, um ácido fenólico com reconhecida atividade antioxidante, antitumoral, anti-inflamatória e antimicrobiana (Peng et al. 2015; Búfalo et al. 2013; Lou et al. 2012).

O composto naringina é um flavonoide que geralmente está presente em frutas cítricas, dando a característica amarga da fruta, descrição verificada em alguns frutos do gênero *Caryocar*. Possui elevada atividade antioxidante e anti-inflamatória, há linhas de investigações sobre o seu uso no tratamento para obesidade, diabetes, hipertensão e síndrome metabólica (Alam et al. 2014).

A vitexina, detectada apenas no ESE, possui ação antioxidante, anticâncer, antiviral, anti-inflamatório, propriedades anti-hipertensivas e anti-hepatotóxicas, além de inibir as enzimas α -amilase e α -glucosidase (Abu Bakar, et al. 2018; Bahareh et al. 2017; Borghi et al. 2013; Yang et al. 2013).

O composto fenólico, rutina, possui atividade antimicrobiana contra *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Klebsiella pneumoniae*. Possui atividade antioxidante, mais expressamente na ação neuroprotetora, realizada através do controle da enzima acetilcolinesterase (Park 2010). Apresenta também a ação de redução da pressão arterial, de aumentar o colesterol-HDL e atividades antiviral e anticarcinogênica (Pu et al. 2007).

A isorhamnetina, detectada apenas no EBH, apresenta funções biológicas variadas como antioxidação, antinflamação, anti-tumoral, anti-viral, antimicrobiana, proteção cardiovascular, neurodegenerativa, hepatoprotetora e antidiabética (Kandakumar e Manju 2017).

O ácido siríngico, naringina e isoharmetina foram relatados pela primeira vez como constituintes de extratos do gênero *Caryocar*.

Atividade Citotóxica

Os índices de crescimento relativo dos extratos obtidos da folha do *C. coriaceum* estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4. Índice de crescimento relativo dos extratos da folha do *C. coriaceum* obtido pelo método *Allium cepa* frente aos EBH, ESE e ESM nas concentrações de 50, 250 e 750 $\mu\text{g/mL}$.

Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	Índice de Crescimento Relativo		
	EBH	ESM	ESE
50	0,77 (I)	1,27 (E)	0,61 (I)
250	0,94 (MC)	0,73 (I)	0,70 (I)
750	0,65 (I)	0,89 (MC)	0,48 (I)

I - inibição; MC - mesmo controle; E - estímulo

De acordo com a Tabela 4, verificou-se que apenas o ESM, na concentração de 50 µg/mL apresentou estímulo de crescimento.

O extrato EBH apresentou inibição ao crescimento radicular da *A. cepa* nas concentrações de 50 e 750 µg/mL, já na concentração de 250 µg/mL foi determinado que o extrato não interferiu no processo de crescimento, ou seja, esse extrato não apresenta dose-dependência. Em relação ao ESE, há evidências de toxicidade deste extrato, pois houve inibição em todas as concentrações testadas.

Almeida et al. (2010) analisaram a toxicidade pré-clínica (*in vivo*) dos extratos hidroetanólicos (50%) do farelo da casca do *C. brasiliense*, os estudos realizados determinaram para os extratos toxicidade aguda. Estudos genotóxicos (*in vivo*) realizados com extratos hidroetanólicos (50%) da polpa do *Caryocar villosum* tiveram resultados positivos para toxicidade embora não apresentaram a capacidade de atuar como agentes mutagênicos (Almeida et al. 2013), indicando assim baixa correlação com atividades carcinogênicas. Yamaguchi et al. (2017) detectaram alta toxicidade dos extratos hidroetanólicos (80%) da polpa, casca e semente de *C. villosum* frente a cepas tumorais além de alto potencial anti-inflamatório.

Dados referentes a estudos de toxicidade pré-clínica utilizando *Allium cepa* para o *C. coriaceum* não foram encontrados na literatura, sendo esse um dado novo que poderá fornecer subsídio para pesquisas futuras. Porém, são necessários mais testes que afirmem essa propriedade, para que o uso da espécie seja realizado com segurança.

Conclusão

A bioprospecção fitoquímica dos extratos da folha do *C. coriaceum*, do cerrado tocantinense, permitiu a detecção de flavonoides, taninos, quinonas, saponinas e fitoesteróis.

Todos os extratos estudados apresentaram atividade antioxidante significativa, sendo que os extratos EBH e ESM foram equivalentes ao padrão rotina, o que está de acordo com os elevados teores de fenóis totais e flavonoides totais encontrados em ambos os extratos.

A análise por CLAE indicou a presença de ácido gálico, catequina, ácido siríngico, ácido clorogênico, ácido p-cumárico, naringina, vitexina, rutina e isorhamnetina, destacando-se como picos majoritários o ácido siríngico (nos extratos EBH, ESM e ESE), o ácido gálico, a naringina (EBH e ESM) e a rutina (ESE).

Na avaliação da toxicidade, no EBH, na concentração de 250 µg/mL, e no extrato ESM, na concentração de 750 µg/mL, foi constatado crescimento radicular próximos ao do controle. O ESM não demonstrou toxicidade na concentração de 50 µg/mL, apresentando para essa concentração índice de crescimento superior ao do controle, com estímulo de crescimento.

Os metabólitos identificados sugerem potencial atividade antioxidante, hepatoprotetora, anti-inflamatória, antimicrobiana, antitumoral e neuroprotetora da *C. coriaceum*. Entretanto, há necessidade da continuidade das pesquisas com a espécie *C. coriaceum* para a confirmação dos resultados aqui observados e também para o isolamento de princípios ativos.

Participação dos autores: FMC - conceitualização, curadoria de dados, redação do rascunho original, redação, revisão e edição; RMNF - curadoria e validação dos dados, redação do rascunho original; MAMR - curadoria e validação dos dados; redação do rascunho original; JFP - curadoria de dados, análise formal, redação do rascunho original e redação-edição; ES - conceitualização, curadoria de dados, análise formal, aquisição de financiamento, validação, visualização, redação do rascunho original, redação-revisão e edição.

Aprovação ética ou licenças de pesquisa: o Projeto foi cadastro no Sistema Nacional de Patrimônio Genético (SisGen), sob o número AC864BD

Disponibilidade dos dados: Os dados estarão disponíveis no repositório da UFT

Fomento: Não houve fonte de fomento.

Conflito de Interesses: Não há conflito de interesses.

Referências

Abu Bakar AR, Manaharan T, Merican AF, Mohamad SB. 2018. Experimental and computational approaches to reveal the potential of *Ficus deltoidea* leaves extract as α - amylase inhibitor. *Natural Product Research* 32(4):473-473-76. DOI: <https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1312393>.

Alam MA, Subhan N, Rahman MM, Uddin SJ, Reza HM, Sarker SD. 2014. Effect of citrus flavonoids, naringin and naringenin, on metabolic syndrome and their mechanisms of action. *Advances in Nutrition*, 5(4):404-17. DOI: <https://doi.org/10.3945/an.113.005603>.

Almeida MR, Aissa AF, Gomes TDUH, Darin JDC, Chiste RC, Mercadante AZ, Antunes LMG, Bianchi MLP. 2013. In Vivo Genotoxicity and Oxidative Stress Evaluation of an Ethanolic Extract from Piquia' (*Caryocar villosum*) Pulp. *Journal of Medicinal Food* 16 (3); 268–271. DOI: <https://doi.org/10.1089/jmf.2012.0169>.

Alves DR, Alves DE, Morais SM. 2017. Estudo químico e atividade antioxidante de extratos das folhas de *Caryocar coriaceum* Wittm. *Revista Interfaces da Saúde* 4(1):8-14.

Amorim ELC, Castro VTNA, Melo JG, Corrêa AJA, Peixoto-Sobrinho TJS. 2012. Standard operating procedures (SOP) for the spectrophotometric determination of phenolic compounds contained in plant samples. In Akyar, I. (Ed.), *Latest Research into Quality Control*. InTech: 47-66. DOI: <https://dx.doi.org/10.5772/51686>

Araruna MKA, Santos KA, Costa JGM, Coutinho HDM, Boligon AA, Stefanello STD, Athayde ML, Saraiva RAD, Rocha JBT, Kerntopf MR, Menezes IRA. 2013. Phenolic composition and in vitro activity of the Brazilian fruit tree *Caryocar coriaceum* Wittm. *European Journal of Integrative Medicine* 5(5):178-83. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.eujim.2012.11.007>.

Araruna MKA, Saraiva RAD, Nogara PA, Rocha JBT. 2014. Effect of pequi tree *Caryocar coriaceum* Wittm. leaf extracts on different mouse skin inflammation models: inference with their phenolic compound content. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology* 18(23):629-37.

Ascari J, Takahashi JA, Boaventura MAD. 2013. The Phytochemistry and Biological Aspects of Caryocaraceae Family. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais* 15(2):293-308. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1516-05722013000200019>.

Bae J, Kim N, Shin Y, Kim Y. 2020. Activity of catechins and their applications. *Biomedical Dermatology* 4(8). DOI: <https://doi.org/10.1186/s41702-020-0057-8>.

Bahareh AN, Farid H, Mohtaram A, Marjan NA. 2017. Anti-inflammatory effects of quercetin and vitexin on activated human peripheral blood neutrophils. *Jounal Pharmacopuncture* 20:127–131. DOI: <https://dx.doi.org/10.3831%2FKPI.2017.20.017>.

Batista JS, Silva AE, Rodrigues CME, Costa KMFM, Oliveira AF, Paiva ES, Nunes FVA, Olinda RG. 2010. Avaliação da atividade cicatrizante do óleo de pequi (*Caryocar coriaceum* Wittm) em feridas cutâneas produzidas experimentalmente em ratos. *Arquivos do Instituto Biológico* 77(3):441-447.

Bezerra JCB, Silva IA, Ferreira HD, Ferri PH, Santos SC. 2002. Molluscicidal activity against *Biomphalaria glabrata* of Brazilian Cerrado medicinal plants. *Fitoterapi*, 13(5):428-430. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0367-326x\(02\)00121-1](https://doi.org/10.1016/s0367-326x(02)00121-1).

Bolton JL, Dunlap T. 2017. Formation and biological targets of quinones: cytotoxic versus cytoprotective effects. *Chemical Research Toxicology* 30(1):13–37. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.6b00256>.

Borghini SM, Carvalho TT, Staurenghi-Ferrari L, Hohmann MS, Pinge-Filho P, Casagrande R, Verri Jr WA. 2013. Vitexin inhibits inflammatory pain in mice by targeting TRPV1, oxidative stress, and cytokines. *Journal of Natural Products* 16(6):1141-49. DOI: <https://doi.org/10.1021/np400222v>.

Búfalo MC, Ferreira I, Costa G, Francisco V, Liberal J, Cruz MT, Lopes MC, Batista MT, Sforcin JM. 2013. Propolis and its constituent caffeic acid suppress LPS-stimulated pro-inflammatory response by blocking NF- κ B and MAPK activation in macrophages. *Journal of Ethnopharmacology* 49(1): 84-92. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2013.06.004>.

Brand-Willians W, Cuvelier ME, Berset C. 1995. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Science and Technology* 28(1):25-30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)

Carvalho LS, Pereira KF, Araújo EG. 2015. Características botânicas, efeitos terapêuticos e princípios ativos presentes no pequi (*Caryocar brasiliense*). *Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR* 19(2):147-157. DOI: <https://doi.org/10.25110/arqsaude.v19i2.2015.5435>.

Dalmagro AP, Camargo A, Zeni ATB. 2017. *Morus nigra* and its major phenolic, syringic acid, have antidepressant-like and neuroprotective effects in mice. *Metabolic Brain Disease* 32:1963–1973. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11011-017-0089-y>.

Duavy SM, Ecker A, Salazar GT, Loreto J, Costa JGM, Barbosa NV. 2019. Pequi enriched diets protect *Drosophila melanogaster* against paraquat-induced locomotor deficits and oxidative stress. *Journal of Toxicology and Environmental Health* 82(11): 664–677. DOI: <https://doi.org/10.1080/15287394.2019.1642277>.

Fernandes GW, Pedroni F, Sanchez M, Scariot A, Aguiar LMS, Ferreira G, Machado R, Ferreira ME, Diniz S, Pinheiro RT, Costa JAS, Dirzo R, Muniz F. 2016. *Cerrado: em busca de soluções sustentáveis*. Rio de Janeiro: Vozes.

Ferreira DF. 2008. Sisvar: um programa para análises e ensino de estatística. *Revista Symposium* 6:36-41.

Gobbo-Neto L, Lopes NP. 2007. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. *Química Nova* 30(2): 374-381. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000200026>

Haidar RF, Dias RR, Pinto JRR. 2013. Secretaria de Planejamento e da Modernização da Gestão Pública (Seplan). Departamento de Pesquisa e Zoneamento Ecológico-Econômico. Diretoria de Zoneamento Ecológico-Econômico (DZE). Projeto de Desenvolvimento Regional Sustentável. Mapeamento das Regiões Fitoecológicas e Inventário Florestal do Estado do Tocantins. Regiões Fitoecológicas da Faixa Centro. Escala 1:100.000. Palmas: Seplan/DZE.

Kandakumar S, Manju V. 2017. Pharmacological applications of Isorhamnetin: A Short Review. *International Journal of Trend in Scientific Research and Development* 1(4).

Kerntopf MR, Figueiredo PRL, Felipe CFB, Almeida WO, Menezes IRA, Fernandes GP, Lemos ICS. 2013. Óleo de pequi (*Caryocar coriaceum* w.) e a potencial atividade cardioprotetora. *Anhangüera Educacional Ltda* 14(4): 117-125.

Kokanova-Nedialkova Z, Nedialkov P, Kondeva-Burdina M, Simeonova R. 2019. Hepatoprotective activity of a purified methanol extract and saponins from the roots of *Chenopodium bonus-henricus* L. *Zeitschrift Für Naturforschung C* 74(11-12): 329-337. DOI: <http://dx.doi.org/10.1515/znc-2019-0002>.

Lacerda Neto LJ, Ramos AGB, Sales VS, Souza SDG, Santos ATL, Oliveira LR, Kerntopf MR, Albuquerque TR, Coutinho HDM, Quintans-Júnior LJ, Wanderley AG, Menezes IRA. 2017. Gastroprotective and ulcer healing effects of hydroethanolic extract of leaves of *Caryocar coriaceum*: Mechanisms involved in the gastroprotective activity. *Chemico-Biological Interactions* 261:56-62. DOI: <http://dx.doi.org/10.1080/14786419.2017.1312396>.

Lou Z, Wang H, Rao S, Sun J, Ma C, Li J. 2012. p-Coumaric acid kills bacteria through dual damage mechanisms. *Food Control* 25(2):550–554.

Malhi TH, Qadir MI, Khan YH. 2014. Hepatoprotective activity of aqueous methanolic extract of *Morus nigra* against paracetamol induced hepatotoxicity in mice. *Bangladesh Journal of Pharmacology* 9:60-66. DOI: <https://doi.org/10.3329/bjp.v9i1.17337>.

- Mamede JSS, Pasa MC. 2019. Diversidade e uso de plantas do Cerrado na comunidade São Miguel, Várzea Grande, MT, Brasil. *Interações* 20(4):1087-1098. DOI: <https://doi.org/10.20435/inter.v20i4.2064>.
- Memon AA, Memon N, Luthria L, Bhangar MI, Pitafi AA. 2010. Phenolic acids profiling and antioxidant potential of Mulberry (*Morus laevigata* W., *Morus nigra* L., *Morus alba* L.) leaves and fruits grown in Pakistan. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences* 60: 25-32.
- Meneguetti DUO, Lima RA, Silva JB, Silva RP, De Cassia Pagotto R, Facundo VA. 2014. Análise citotóxica e mutagênica do extrato aquoso de *Maytenus guyanensis* klotzsch ex Reissek (celastraceae) chichuá (xixuá) amazônico. *Ciência e Natura* 36 (3): 301-309.
- Park SY. 2010. Potential therapeutic agents against Alzheimer's disease from natural sources. *Archives of Pharmacal Research* 33(10):1589-609. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12272-010-1010-y>.
- Peixoto-Sobrinho TJS, Silva CHTP, Nascimento JE, Monteiro JM, Albuquerque UP, Amorim ELC. 2008. Validação de metodologia espectrofotométrica para quantificação dos flavonoides de *Bauhinia cheilantha* (Bongard) Steudel. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas* 44:683-689. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1516-93322008000400015>.
- Peng W, Wu JG, Jiang Y-B, Liu Y-J, Sun T, Na Wu N, Chun-Jie Wu CJ. 2015. Antitumor activity of 4-O-(2"-O-acetyl-6"-O-p-coumaroyl- β -dglucopyranosyl)-p coumaric acid against lung cancers via mitochondrial-mediated apoptosis. *Chemico-Biological Interactions*. *Chemico-Biological Interactions* 33: 8-13. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2015.03.014>.
- Pu F, Mishima K, Irie K, Motohashi K, Tanaka Y, Orito K, Egawa T, Kitamura Y, Egashira N, Iwasaki K, Fujiwara M. 2007. Neuroprotective effects of quercetin and rutin on spatial memory impairment in an 8-arm radial maze task and neuronal death induced by repeated cerebral ischemia in rats. *Journal of Pharmacological Sciences* 104(4): 329-334. DOI: <https://doi.org/10.1254/jphs.FP0070247>.
- Rodrigues VEG, Carvalho DA. 2001. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais no domínio do cerrado na região do Alto Rio Grande – Minas Gerais. *Ciência e Agrotecnologia* 25(1):102-123.
- Saraiva, LCF, Maia, WMN, Leal FR, Maia Filho ALM, Feitosa CM. 2018. Triagem fitoquímica das folhas de *Moringa oleífera*. *Boletim Informativo Geum* 9(2): 12-19.
- Saraiva RA, Lemos ICS, Figueiredo PRL, Lacerda Neto LJ, Lima CNF, Araruna MKA, Silva RER, Barbosa R, Felipe CFB, Menezes IRA, Kerntopf MR. 2018. *Caryocar coriaceum* Wittm. In: Albuquerque U, Patil U, Máthé Á. (Eds) *Medicinal and Aromatic Plants of South America. Medicinal and Aromatic Plants of the World*, vol 5. Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-94-024-1552-0_13
- Schmitz WO, Cecchini R, Estevão D, Saridakis HO. 2009. Atividade hepatoprotetora do extrato alcoólico da *Camellia sinensis* (L.) Kuntze (chá-verde) em ratos Wistar tratados com dietilnitrosamina. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 19(3). DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2009000500009>.
- Silva AOC, Lima RA. 2016. Identificação das classes de metabólitos secundários no extrato etanólico dos frutos e folhas de *Eugenia uniflora* L. *Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental Santa Maria* 20(1). DOI: <https://doi.org/105902/2236117019537>
- Silva MAP, Medeiros Filho S. 2006. Morfologia de Fruto, Semente e Plântula de Piqui (*Caryocar coriaceum* Wittm). *Revista Ciência Agronômica* 37(3):320-25.
- Silva MP, Ribeiro MS, Soares RK, Vargas AMP, Franco AJ, Diniz RS. 2018. Utilização de fitoterápicos no Sistema Único de Saúde. *Revista Científica Univiçosa* 10(1).
- Silva NLA, Miranda FAAM, Conceição GM. 2010. Triagem fitoquímica de Plantas do Cerrado da Área de Proteção Ambiental Municipal do Inhamum, Caxias, Maranhão. *Scientia Plena* 6(2):1-17.
- Simões CMO, Schenkel, EP, Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR. 2017. *Farmacognosia: do produto natural ao medicamento*. Porto Alegre: Artmed.

Soares IM, Ribeiro MF, Costa OJ, Sousa EE, Aguiar AA, Barbosa RS, Alvim TC, Ascêncio SD, Aguiar RWS. 2017. Application of a degreasing process and sequential ultrasound-assisted extraction to obtain phenolic compounds and elucidate of the potential antioxidant of *Siparuna guianensis* Aublet. *Journal of Medicinal Plant Research* 11(1):357-366. DOI: <https://doi.org/10.5897/JMPR2017.6387>.

Young BJ, Riera NI, Beily ME, Bres PA, Crespo DC, Ronco AE. 2012. Toxicity of the Effluent from an Anaerobic BIOREACTOR Treating Cereal Residues on *Lactuca sativa*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 76: 182-186.

Zhao Y, Dang M, Zhang W, Lei Y, Ramesh T, Veeraraghavan VP, Hou X. 2020. Neuroprotective effects of Syringic acid against aluminium chloride induced oxidative stress mediated neuroinflammation in rat model of Alzheimer's disease. *Journal of Functional Foods* 71(1). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.104009>.



Esta obra está licenciada com uma *Licença Creative Commons Atribuição Não-Comercial 4.0 Internacional*.