

Estudo fitoquímico, físico-químico e bioativo do extrato hidroetanólico floral de *Ouratea lancifolia* R. G. Chacon & K. Yamam. (*Ochnaceae*)

Antonio Carlos Pereira de Menezes Filho^{1*}, Mariana Chaves Santos², Carlos Frederico de Souza Castro³

¹Biólogo, Mestre em Agroquímica pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, Campus Rio Verde, GO, Brasil. ²Química, Mestra em Agroquímica pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, Campus Rio Verde, Goiás, Brasil. ³Docente pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, Campus Rio Verde, GO, Brasil.

*astronomoamadorgoias@gmail.com

Recebido em: 18/09/2020

Aceito em: 10/02/2021

Publicado em: 20/03/2021

RESUMO

A espécie *Ouratea lancifolia* pertencente à Família *Ochnaceae* habitando áreas do domínio Cerrado no Brasil, o Táxon apresenta anualmente inflorescências de coloração amarela com flores aromáticas. As flores de *O. lancifolia* foram coletadas pela manhã. O extrato hidroetanólico 70% foi preparado por maceração. Foram realizadas análises de rendimento, massa seca, teor de umidade, pH, sólidos totais, índice de refração, densidade relativa, flavonoides totais, redução do radical livre DPPH, compostos fenólicos totais, fitoquímica qualitativa, ensaio fotoprotetor, cromatografia em camada delgada e atividade hemolítica sobre eritrócitos humanos. Foram obtidos os seguintes resultados rendimento de 4,55%, massa seca de 18,46%, teor de umidade de 81,54%, pH de 5,33, sólidos totais de 1,03%, índice de refração de 1,3679 n_D , densidade relativa de 0,8416 g mL⁻¹, flavonoides totais de 521,60 mg 100 g⁻¹, atividade antioxidante com CI₅₀ de 5,46 µg mL⁻¹, compostos fenólicos totais de 377,19 mg EAG 100 g⁻¹, várias classes de compostos fitoquímicos positivos, o ensaio fotoprotetor apresentou resultados para absorção em UVA, UVB e UVC, a cromatografia em camada delgada com 22 R_fs para o eluente acetona/clorofórmio e atividade hemolítica entre 71,05% a 11,76% para as concentrações de 1000 a 5 µg mL⁻¹. O extrato floral de *Ouratea lancifolia* apresentou bons resultados físico-químicos e biológico.

Palavras-chave: *Ouratea lancifolia*. Fitoquímica. Família *Ochnaceae*. Gênero *Ouratea*.

Phytochemical, physical-chemical and bioactive study of the floral hydroethanolic extract from *Ouratea lancifolia* R. G. Chacon & K. Yamam. (*Ochnaceae*)

ABSTRACT

The species *Ouratea lancifolia* belonging to the *Ochnaceae* Family inhabiting areas of the Cerrado domain in Brazil, the Taxon presents yellow inflorescences with aromatic flowers annually. The flowers of *O. lancifolia* were collected in the morning. The 70% hydroethanolic extract was prepared by maceration. Analyzes of yield, dry mass, moisture content, pH, total solids, refractive index, relative density, total flavonoids, reduction of free radical DPPH, total phenolic compounds, qualitative phytochemistry, photoprotective assay, thin layer chromatography and activity hemolytic on human erythrocytes. The following results were obtained: yield of 4.55%, dry mass of 18.46%, moisture content of 81.54%, pH of 5.33, total solids of 1.03%, refractive index of 1.6779 n_D , relative density of 0.8416 g

mL⁻¹, total flavonoids of 521.60 mg 100 g⁻¹, antioxidant activity with IC₅₀ of 5.46 µg mL⁻¹, total phenolic compounds of 377.19 mg GAE 100 g⁻¹, several classes of positive phytochemicals, the photoprotective assay showed results for absorption in UVA, UVB and UVC, thin layer chromatography with 22 R_fs for the eluent acetone/chloroform and hemolytic activity between 71.05% to 11.76% for concentrations from 1000 to 5 µg mL⁻¹. The floral extract of *Ouratea lancifolia* showed good physicochemical and biological results.

Keywords: *Ouratea lancifolia*. Phytochemistry. Family *Ochnaceae*. *Ouratea* genus.

INTRODUÇÃO

O domínio Cerrado é o segundo maior ambiente natural, estando atrás apenas do bioma Amazônico. Este domínio apresenta características físicas e biológicas únicas, com inúmeras espécies da flora e fauna, onde muitas das vezes são endêmicas desse ambiente com fortes marcas na paisagem natural brasileira. Este domínio também apresenta faixas naturais nos países vizinhos do Brasil, como Paraguai, Argentina, Bolívia e Venezuela (SILVA; FELFILI, 2010; PIMENTA et al., 2016; BEZERRA et al., 2018; MENEZES FILHO, 2020). Dentre as inúmeras famílias botânicas que são descritas nesse ambiente, podemos citar a *Ochnaceae*.

A família *Ochnaceae* pertencente à ordem *Theales*, é composta por 28 gêneros e mais de 600 espécies distribuídas principalmente em ambientes de clima tropical e subtropical. No Brasil, são descritos 9 gêneros com aproximadamente 105 espécies. São vegetais essencialmente de porte arbóreo e arbustivo (SUZART et al., 2007). O gênero *Ouratea* é composto por aproximadamente 300 espécies amplamente distribuídas na zona tropical, principalmente no Brasil e no continente Africano tropical (FIDELIS et al., 2014). As espécies pertencentes ao gênero *Ouratea*, apresentam porte arbóreo perene, arbustos e subarbustos (CHACON et al., 2011).

O centro de diversidade de *Ochnaceae* é fortemente marcado na região neotropical da bacia amazônica, apresentando alguns gêneros endêmicos deste bioma, no entanto, alguns apresentam distribuição extra-amazônica, encontrados em Florestas Andinas, Cerrado e Mata Atlântica (FRAGA; SAAVEDRA, 2014). O gênero *Ouratea* apresenta folhas notáveis com as nervuras secundárias curvando-se fortemente para cima perto da margem foliar, que geralmente é serrilhada, as pétalas são frequentemente amarelas, o gineceu é pseudo-apocárpico, com estilo ginobásico e um carpóforo geralmente de cor avermelhada, derivado do alargamento da porção basal dos carpelos, este carpóforo apresentando entre 1-10 sementes que geralmente erigem mericarpos enegrecidos, apresentando uma única semente (FRAGA; SAAVEDRA, 2014).

O gênero também é amplamente utilizado na fitomedicina no tratamento de distúrbios gástricos, disenteria, em processos inflamatórios, artrite, como adstringente e na diarreia, alguns povos acreditam que as plantas de *Ouratea* sp. possuem efeitos afrodisíacos (ESTEVAM et al., 2005; CARBONARI et al., 2006; MBING et al., 2006). Estudos mais recentes apresentam resultados satisfatórios a partir dos compostos biflavonoides extraídos e isolados de extratos de várias espécies de *Ouratea*, com excepcional atividade antitumoral, antiviral e antimicrobiana (SUZART et al., 2007).

A espécie *Ouratea lancifolia* é encontrada em áreas de Cerrado com fisionomia sentido restrito, Cerrado ralo, campo sujo, campo Cerrado, em áreas de savana gramíneo-lenhosa, no Centro-Oeste do Brasil. De acordo com Chacon et al. (2011), *O. lancifolia* apresenta na forma de arbustos com 30-45 cm de alt.; ramos marrons ou acinzentados, glabros, folhas totalmente serreadas, com 6,5-12 x 1,3-2,8 cm, coriáceas, brilhantes em ambas as faces, glabras, com nervuras primárias e secundárias proeminentes em ambas as faces, nervuras terciárias horizontais paralelas; flores amarelas, entre 1-3; brácteas 4-5 x 0,8 mm, triangulares, agudas, caducas e aromáticas; sementes com cotilédones oblongos, de tamanhos iguais, com ápice arredondado, sem apêndice laminar.

Ainda pouco se conhece sobre os compostos fitoquímicos, das características físico-químicas e das ações biológicas do gênero *Ouratea*, inclusive para a nova espécie *O. lancifolia*. O estudo teve por objetivo, identificar os constituintes fitoquímicos, as características físico-químicas, e bioativas do extrato hidroetanólico de *Ouratea lancifolia*.

MATERIAL E MÉTODOS

As flores de *O. lancifolia* foram coletadas no domínio Cerrado com fitofisionomia sentido restrito, em uma área de proteção permanente (APP), localizada no município de Rio Verde, Goiás, Brasil, com as seguintes coordenadas (17°47'15.1''S 50°58'00.1''W). Uma exsicata foi identificada, herborizada e depositada no Herbário do Instituto Federal Goiano, Campus Rio Verde, Goiás, Brasil, com o seguinte Voucher HRV 1671.

O extrato floral hidroetanólico 70% (v/v) foi preparado conforme descrito por Sousa et al., (2018). Onde alíquotas contendo 100 g de flores foram pesadas em balança analítica digital (Marte, Mod. W220). Em seguida, foram transferidas para um béquer

contendo 150 mL de solução hidroetanólica 70% (v/v), onde foram processadas com auxílio de um mixer manual (Philco, Mod. 700). Em seguida, a solução foi transferida para um *Erlenmeyer* de 500 mL (Laborglas), onde ficou em descanso, mantido em resfriamento por 48 horas em geladeira a 8 °C.

Após este período, a solução foi filtrada em papel de filtro qualitativo faixa azul (Unifil, C42), e o sobrenadante transferido para um evaporador rotativo à temperatura de 80 °C, com pressão reduzida de -750 mmHg (Fisatom, RBR, Mod. 2953). Em seguida, o extrato foi congelado em refrigerador a -12 °C e transferido para liofilizador (Terroni, Mod. LS 3000) até completa liofilização.

A massa do extrato foi determinada em balança analítica digital, e o rendimento determinado em porcentagem conforme equação [1], descrita por Alves et al. (2011), após processo de liofilização.

$$\text{Red\%} = [(g \text{ extrato seco} \times 100) / g \text{ droga vegetal}] \quad \text{Eq. [1]}$$

Para determinação da massa seca e da umidade, foi utilizada 150 g de flores. A umidade foi determinada gravimetricamente conforme descrito por Franzen et al. (2018), através da diferença de massa em estufa (Thoth, Mod. 510) a 105 °C até massa constante. A massa seca total foi determinada pela diferença do valor de umidade da amostra *in natura*.

O pH foi determinado em pHmetro digital (Lucadena, Mod. 2010-P). Onde, uma alíquota de 50 mL de extrato bruto foi utilizada na determinação do pH. O conteúdo de sólidos totais foi determinado em estufa (Nova Ética, Mod. 400-3ND) a 105 °C por 3 horas. O resíduo após aquecimento foi resfriado até temperatura ambiente em dessecadora com sílica gel. E em seguida, a massa foi determinada em balança analítica digital. O resultado foi expresso em porcentagem (%), conforme descrito por Cala-Calviño et al., (2018).

A determinação do índice de refração foi realizada em refratômetro digital (Hanna Instruments, Mod. HI96800), com faixa entre n_D 1,3330 a 1,5080. Foi utilizado 3 gotas do extrato bruto hidroetanólico para a leitura (CALA-CALVIÑO et al., 2018). A densidade relativa foi determinada em proveta graduada (Vidrolabor) de 10 mL, e o resultado expresso em $g \text{ mL}^{-1}$ 20 °C. Inicialmente, a proveta foi previamente seca e

pesada, e em seguida, acrescida com o extrato bruto, e posteriormente pesada em balança analítica digital, conforme descrito por Domínguez et al., (2019).

O conteúdo de flavonoides totais foi determinado segundo metodologia de Gonçalves et al., (2019). Uma alíquota de 0,5 g de flores foi adicionada em uma solução extratora de etanol (95%) acidificada com ácido clorídrico 1,5 N (85:15) em um balão volumétrico de 25 mL. Após repouso de 24 h. ao abrigo de luz, procedeu-se a filtração e em seguida leitura da absorbância em espectrofotômetro UV-Vis (Belphotonics, Mod. M51) a 734 nm. Para o cálculo do conteúdo de flavonoides totais, utilizou-se a equação [2].

$$\text{Flavonoides exp. mg } 100 \text{ g}^{-1} = (A \times FD/76,6) \quad \text{Eq. [2]}$$

Onde: A = absorbância, FD = fator de diluição e 76,6 = fator de conversão em flavonoides determinados.

A determinação da capacidade antioxidante foi realizada pela redução do radical livre 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH), utilizando metodologia de diluição em microplaca de 96 poços (Videplast). Uma solução 50 mL estoque de DPPH na concentração 0,002% (p/v) foi diluída em etanol (LChemicals, P.A – ACS, grau de pureza 99,5%), e mantida em local escuro e resfriado a 4 °C. As diluições foram preparadas a partir de 1 $\mu\text{g mL}^{-1}$ do extrato hidroetanólico floral nas seguintes concentrações 100; 50; 25; 10; 5 e 1 $\mu\text{g mL}^{-1}$ em etanol, e 400 $\mu\text{L mL}^{-1}$ da solução estoque do radical DPPH.

A microplaca foi mantida em local escuro e resfriado até leitura. Após 60 min. de reação, a placa foi escaneada em espectrofotômetro UV-Vis para microplacas (Polaris, Mod. EE) no comprimento de ondas de 517 nm. Uma curva padrão foi realizada entre as concentrações 20 a 0,25 $\mu\text{g mL}^{-1}$, e como padrão antioxidante o ácido ascórbico (Synth, P.A – ACS, pureza de 99%). O percentual de redução foi calculado conforme equação [3], descrita por Silva et al. (2019).

$$\text{Red\%} = [(Absamostra - Absbranco) * 100 / Abssol. DPPH] \quad \text{Eq. [3]}$$

O cálculo de concentração de inibição (CI_{50} expresso em $\mu\text{g mL}^{-1}$), e a curva padrão, foram determinadas através da linearidade, e equação da reta realizadas no software Excel[®] (versão paga, 2010).

O conteúdo de compostos fenólicos totais foi determinado conforme Menezes Filho et al. (2018). Onde em três tubos de ensaios foram acrescidos 8 mL de água destilada, 0,5 mL do extrato floral, e 0,5 mL de solução aquosa na concentração 1:9 (v/v) de reagente de *Folin-Ciocalteu* (Sigma-Aldrich, P.A – ACS, pureza 99%). Os tubos de ensaios foram homogeneizados em equipamento tipo Vortex (Fanem, Mod. 251) por 1 minuto, e deixado em repouso por mais 5 minutos. Em seguida, foi adicionado 1 mL de solução aquosa saturada de carbonato de sódio anidro (Dinâmica, P.A – ACS, pureza 99%) na concentração 7,5% (m/v), e homogeneizado em seguida por 1 min. em Vortex. A amostra foi mantida em local escuro e em temperatura de 20 °C por 60 min.

Em seguida, foi realizada leitura em espectrofotômetro UV-Vis no comprimento de ondas de 720 nm. Uma curva de calibração foi realizada entre as concentrações 400 e 40 mg mL^{-1} utilizando ácido gálico (Sigma-Aldrich, P.A – AC, pureza 99,9%). Os resultados foram expressos em mg de ácido gálico EAG 100 g^{-1} de extrato seco.

Uma varredura foi realizada na solução de extrato entre os comprimentos de ondas 900 a 400 nm em espectrofotômetro UV-Vis (Belphotonics, Mod. M-51), utilizando cubeta de quartzo de 1,0 cm de caminho óptico. O ensaio fotoprotetor, foi realizado com uma varredura nas regiões ultravioleta A, B e C entre 110 a 400 nm conforme descrito por Violante et al. (2009), utilizando cubeta de quartzo de 1,0 cm de caminho óptico e espectrofotômetro UV-Vis (Belphotonics, Mod. M-51).

A caracterização do extrato hidroetanólico foi realizada por cromatografia em camada delgada (CCD), utilizando placa cromatográfica (DC-Fertigfolien Alugran[®] Xtra SIL G/UV₂₅₄), em tiras com as seguintes dimensões (1 x 10 cm). Foram utilizadas as seguintes fases móveis: acetona/clorofórmio (3:2), acetona/acetato de etila (3:2) e etanol/metanol (2:3), e como reveladores: vanilina sulfúrica conc. 1%, luz ultravioleta nos comprimentos de ondas curto e longo (254 nm e 365 nm), cloreto férrico conc. 10%, ácido crômico conc. 2%, vapor de Iodo (P.A – ACS), solução aquosa de permanganato de potássio conc. 5%, verde de bromocresol conc. 1% e difenilamina ácida conc. 1,5%.

Os açúcares redutores e não redutores, foram determinados utilizando padrões de glicose, frutose, xilose, dextrina e sacarose na conc. 1%, e revelados com solução de difenilamina sulfúrica conc. 1% (m/v) conforme descrito por Silva et al., (2003). O fator de retenção (*R_f*) foi determinado utilizando régua milimétrica, conforme descrito por Alves et al., (2011).

A prospecção fitoquímica foi realizada por meio de testes colorimétricos e de formação de precipitados na identificação dos principais metabólitos secundários, conforme técnicas qualitativas validadas, para glicosídeos cardíacos, glicosídeos cianogenéticos, alcaloides, ácidos orgânicos, açúcares redutores e não redutores, cumarinas, saponinas espumídica e hemolítica, polissacarídeos, fenólicos, taninos, flavonoides, purinas, resinas, catequinas, depsídeos e depsidonas, benzoquinonas, naftoquinonas e fenantraquinonas, dupla olefínicas, antraquinonas, esteróides e triterpenoides, sesquiterpenolactonas, heterosídeos cianogenéticos, proteínas e aminoácidos, leucoantocianidinas, antocianidinas, flavanonas, flavonoles, flavanonas, flavanonoles, xantonas, tempo de oxidação (min.), auronas, chalconas e azulenos, conforme descrito por Sousa et al. (2007), Barbosa et al. (2004), Braga et al., (2019) e Ferrer Hernández et al., (2019).

A composição fitoquímica foi avaliada conforme teste de cruzes (-) negativo, (+) fraco positivo, (++) moderado positivo e (+++) forte positivo (MACEDO et al., 2018). Para determinação de purinas foi realizado dois métodos descritos por Menezes Filho et al., (2018) e Ferrari et al., (2019).

A determinação da atividade hemolítica seguiu conforme descrito por Ramos et al. (2020). Em três tubos Falcon cônicos (Sarstedt) de 50 mL, foram acrescidos com 5 mL de solução fisiológica NaCl concentração 0,9% (Arboreto) e três tubos Falcon cônicos como controle positivo contendo água destilada/deionizada e eritrócitos. O ensaio foi realizado nas seguintes concentrações 50; 100; 150; 250; 500; 750; 1000 µg mL⁻¹ de extrato hidroetanólico floral 70% de *O. lancifolia*.

As amostras foram incubadas em temperatura de 25 °C em banho ultratermostatizado (Solab, Mod. SL 152-I) por 15 mim. Em seguida, as amostras foram centrifugadas (Solab, Mod. SL-700) a 3000 RPM durante 20 minutos. Logo após, o sobrenadante foi analisado em espectrofotômetro UV-Vis no comprimento de ondas em 540 nm em absorbância, utilizando cubeta de quartzo com campo óptico de 1 cm. O percentual hemolítico foi determinado a partir do Abs do controle positivo como 100%.

O percentual hemolítico foi determinado conforme equação [4], proposta por Dacie et al., (1975).

$$\% \text{Hem} = (\text{Ab}_{\text{amostra}}) * 100 / (\text{Ab}_{\text{controle}}) \quad \text{Eq. [4]}$$

Todos os ensaios foram realizados em triplicata, seguida de \pm desvio padrão. A diferença estatística foi determinada através do teste de *Student* ($p \leq 0,05$). O programa estatístico utilizado foi o *PAST 3* (versão livre, 2019).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste estudo, *O. lancifolia* apresentou porte arbustivo entre 35-55 cm de alt., com floração entre os meses de julho a setembro de 2020, em uma área de proteção permanente (APP) no município de Rio Verde, Goiás, Brasil, com fitofisionomia sentido restrito. As flores apresentaram aroma durante a coleta, persistindo mesmo depois de mantidas sobre resfriamento em geladeira por dois dias.

No estudo de Chacon et al. (2011), os pesquisadores descrevem o espécimen *O. lancifolia* apresentando tamanho entre 30-45 cm de alt., com coletas de material vegetal em áreas de campo sujo, campo Cerrado e em savana gramíneo-lenhosa a 800-900 m de altitude nos estados de Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e Minas Gerais, Brasil, com os botões florais apresentam tamanho de 4-5 x 2,5 mm, ovais e lanceoladas, glabras, cedo caducas; com pétalas 7(-9) x 4 mm, obovais ou oboval-orbiculares; as anteras 5-5, 5 mm, transversalmente rugulosas, rugas sem protuberâncias; o gineceu 5-carpelar, ginóforo 0,5-1 mm compr., cilíndrico; apresenta carpelos com 0,5-1 mm, oblongos; estilete 4-5 mm. As flores de *O. lancifolia* se assemelham a *O. floribunda* (A. St. –Hil.) Engl. no tamanho da inflorescência em material examinado em herbários e no campo durante as coletas, onde o mesmo é discutido no estudo de Chacon et al. (2011).

Na Figura 1, está apresentado um indivíduo de *O. lancifolia* em floração no Cerrado, sentido restrito, goiano.

Figura 1 - Indivíduo de *Ouratea lancifolia* em floração no Cerrado sentido restrito, município de Rio Verde, Goiás, Brasil.



Fonte: autores, (2020).

As flores de *O. lancifolia* apresentaram importantes resultados sobre a produção de extrato floral utilizando solução hidroetanólica 70% (v/v). Em um órgão vegetal pode apresentar importantes características biológicas com inúmeras ações farmacológicas, no entanto, caso seja de difícil produção, o extrato apresenta inviabilidade devido ao uso de grandes quantidades de material vegetal, bem como reagentes. Com isso, estudos prévios do comportamento físico-químico sobre rendimento e demais características químicas apresentam importantes dados sobre a viabilização ou não de produção de certo extrato.

No Brasil encontram-se registrados entorno de 512 medicamentos fitoterápicos, onde dos quais cerca de 70% apresentam-se na forma sólida farmacêutica. O rendimento como discutido anteriormente, é de fundamental importância, onde a matéria-prima para estes produtos farmacêuticos, ou de uso agrícola, alimentício, biológico, microbiológico e de biotecnologia, é constituída basicamente pelo extrato seco, incluindo maior estabilidade química, físico-química e microbiológica com maior facilidade de padronização, alta concentração dos ativos e da maior capacidade de transformação (OLIVEIRA; PETROVICK, 2010; OSHIRO et al., 2016).

Com isso, observa-se na Tabela 1, bons resultados com rendimento de extrato com 4%, massa seca de 18%, pH entorno de 5, sólidos totais de 1%, índice de refração de 1,36 n_D e densidade relativa de 0,84 g mL⁻¹. Ainda na Tabela 1, são apresentados os resultados de compostos biologicamente ativos que apresentam atividade anti-inflamatória e antioxidante, com resultados de 521 mg 100 g⁻¹ para flavonoides totais, e em especial para a atividade de redução do radical livre DPPH com concentração de inibição (CI₅₀) de 5 µg mL⁻¹ e de 377 mg EAG 100 g⁻¹ para compostos fenólicos totais.

Na Tabela 1, estão apresentados os resultados dos parâmetros físico-químicos e antioxidantes do extrato floral hidroetanólico 70% de *O. lancifolia*.

Tabela 1 – Parâmetros físico-químicos e antioxidantes do extrato floral hidroetanólico 70% de *Ouratea lancifolia*.

Parâmetros	Resultados
Rendimento de extrato (%)	4,55 ± 0,21
Massa seca total (%)	18,46 ± 0,08
Teor de umidade (Tu%)	81,54 ± 0,11
pH	5,33 ± 0,03
Sólidos totais (St%)	1,03 ± 0,19
Índice de refração (n _D)	1,3679 ± 0,04
Densidade relativa (g mL ⁻¹) 20 °C	0,8416 ± 0,01
Flavonoides totais (mg 100 g ⁻¹)	521, 60 ± 0,17
DPPH (CI ₅₀) µg mL ⁻¹	5,46 ± 0,69
Compostos fenólicos totais (mg EAG 100 g ⁻¹)	377,19 ± 0,92

*Resultados avaliados em triplicata seguido de ± desvio padrão.

Fonte: Autores, 2020.

A varredura por espectrofotometria entre 900 a 400 nm para o extrato floral de *O. lancifolia* apresentaram bandas de absorção em 661,3; 470,9; 445,6 e 421,3 nm, podendo estar envolvidas na absorção de flavonoides, alcaloides, compostos fenólicos e carotenoides, e a fluorescência da clorofila *a* e *b* (DUARTE et al., 2014; QUEIROZ, 2014; BERNARDI et al., 2017; JARAMILLO-SALAZAR et al., 2019).

O ensaio fotoprotetor do extrato floral hidroetanólico 70% de *O. lancifolia*, através da varredura em espectrofotômetro UV-Vis apresentou duas bandas intensas e

estreitas em 210,6; 227,1; 244,3; 300,9 e 391,5 nm correspondente a absorções nas regiões do infravermelho UVC, UVB e UVA, respectivamente.

Conforme Violante et al. (2009), a estrutura química dos formulados fotoprotetores químicos, apresentam atividade de proteção máxima em diferentes regiões do ultravioleta. Onde os que absorvem entre as faixas 100 a 290 nm são chamados de filtros solares UVC, entre 290 a 320 nm são considerados filtros solares UVB, e os que absorvem entre 320 a 400 nm são denominados filtro solares UVA.

Conforme Menezes Filho et al., (2020) e Violante et al. (2009), são inúmeros os trabalhos envolvendo estudos com extratos vegetais em vários órgãos dos vegetais em diferentes famílias botânicas, onde várias classes químicas atribuídas ao metabolismo secundário desses vegetais como flavonoides, taninos, antraquinonas, alcaloides e polifenóis apresentam como moléculas reativas utilizadas em formulados tópicos para uso em fotoprotetores solares. Estes resultados corroboram com os ensaios fitoquímicos preliminares para o extrato floral de *O. lancifolia* observada na (Tabela 2), a seguir.

A prospecção fitoquímica apresentou vários resultados positivos para inúmeras classes de metabólitos secundários, em especial para ácidos orgânicos, açúcares não redutores, fenóis, flavonoides, catequinas, derivados de benzaquinonas, naftaquinonas e fenantraquinonas, flavonóis e dupla olefinas.

Esse padrão fitoquímico é observado em outros extratos produzidos a partir das folhas e caules como observado por Valadares et al. (2003), onde encontraram a presença de flavonoides, polifenóis, triterpenos e esteroides em *Ouratea semiserrata*, *Ouratea spectabilis* e *Ouratea castanaefolia*. Biflavonoides (**85** e **86**) em *Ouratea hexasperma* (BRAZ FILHO, 2010). Isoflavonas: 5,7,4'-triidroxi-3',5'-dimetóxi-isoflavona (**1**), 5,4'-di-idroxi-7,5',3'-trimetóxiisoflavona (**2**), 5,4'-di-idroxi-7,3'-dimetóxi-isoflavona (**3**), aldeídos siríngico (**4**) e ferúlico (**5**), além do triterpeno pentacíclico conhecido como fridolina e a mistura de sistosterol e estigmasterol a partir do extrato diclorometanólico do caule de *Ouratea ferrugínea* (FIDELIS et al., 2010).

Novos flavonóides registrados como 7-*O*- β -*D*-glicopiranosil-6-(3-metilbut-2-enil)-5,4'-diidroxiflavanonol (6- β , β -dimetilalil-7-*O*- β -*D*-glucopiranosil-aromadendrina) e 7-*O*- β -*D*-glicopiranosil-6-(3-metilbut-2-enil)-3,5,4'-triidroxiflavona (6- β , β -dimetilalil-7-*O*- β -*D*-glucopiranosil-caempferol) além de uma mistura de sitosterol e estigmasterol, lupeol, 3-*O*- β -*D*-glicopiranosil-sitosterol e o ácido 2,4-diidroxifenilacético no extrato metanólico dos galhos de *O. hexasperma* por De Carvalho et al., (2008). Cerca de sete

triterpenos (friedelina, 3- β -friedelinol, α -amirina, β -amirina, lupeol, taraxerol e germanicol), quatro esteróides (sitosterol, estigmasterol e os glucosídeos sitosteril 3-*O*- β -*D*-glicopiranosídeo e estigmasteril 3-*O*- β -*D*-glicopiranosídeo), uma isoflavona (5,7,4'-trimetoxiisoflavona), uma flavona (5,4'-di-idroxi-7,3',5'-trimetoxiflavona), quatro biflavonas (amentoflavona, 7,7''-*O*-dimetil-amentoflavona, heveaflavona e tetrametilamentoflavona) a partir dos extratos n-hexânico, diclorometano e metanol das folhas e cascas do caule de *O. castaneifolia* (DO NASCIMENTO et al., 2009).

Várias dessas classes fitoquímicas apresentam papéis importantes principalmente para o vegetal na proteção contra insetos, fitopatógenos, herbívoros e mesmo na modulação da radiação solar, no desenvolvimento pleno do vegetal, bem como são promotores de várias ações biológicas na promoção do tratamento e cura de doenças em humanos e animais como em diversos tipos de cânceres, (JIN et al., 2018; AFAIA; DE ALMEIDA, 2016; MEIRA-NETO; DE ALMEIDA, 2015; KOBAYASHI et al., 2015).

As antocianidinas que são amplamente encontradas no caule e folhas de algumas espécies de *Ouratea*, como *O. castanaefolia* com 2,55% e 1,32%, *O. semiserrata* com 6,49% e 6,63%, e *O. spectabilis* com 8,70% e 9,99%, respectivamente. Ainda neste estudo, os pesquisadores observaram importante atividade de vasodilatação, como observado para *O. castanaefolia* de 34% e para *O. semiserrata* com 66%, estando a classe de antocianinas envolvidas nesta ação *in vitro* por Valadares et al. (2003).

Em especial, os favonóides desempenham inúmeras funções promotoras do bem estar. Essa classe de compostos fenólicos é de grande importância para a ciência, devido a sua amplitude entre os inúmeros grupos de vegetais. Os flavonoides apresentam um núcleo bem característico C6-C3-C6, sendo biosintetizados a partir das vias do ácido chiquímico e do ácido acético, sendo as estruturas básicas de flavonoides a chalcona, flavanona, flavanonol, flavona, flavonol, isoflavona, flavan-3-ol e antocianina (Figura 2) (COUTINHO et al., 2009).

Na Tabela 2, estão apresentados os resultados da análise fitoquímica preliminar do extrato floral hidroetanólico 70% de *O. lancifolia*.

Tabela 2 – Prospecção fitoquímica do extrato floral hidroetanólico 70% de *Ouratea lancifolia*.

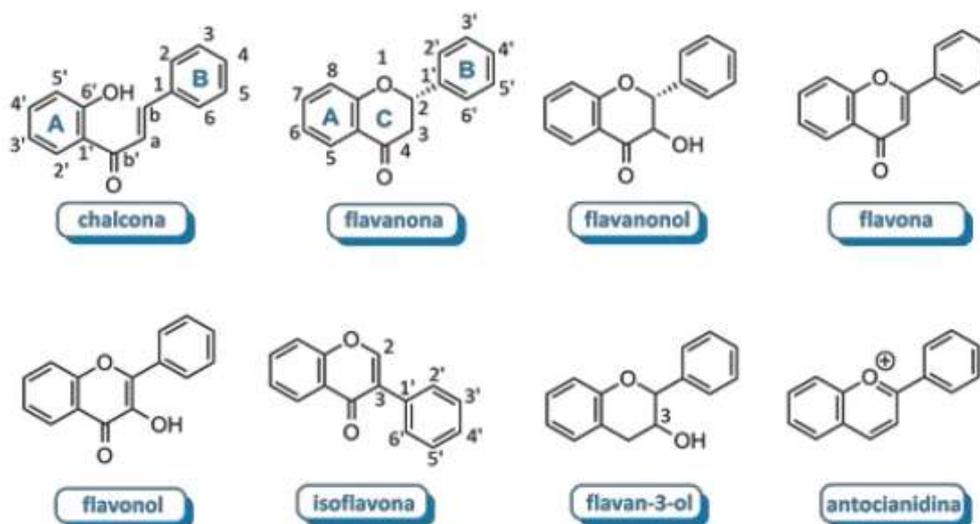
Classes	Resultados
Glicosídeos cardíacos	+
Glicosídeos cianogênicos	-
Alcaloides	++
Ácidos orgânicos	+++
Açúcares redutores	+
Açúcares não redutores	+++
Cumarinas	-
Saponinas espumíferas	-
Saponinas hemolíticas	+++
Polissacáridos	-
Fenóis	+++
Taninos	Verde
Flavonoides	+++
Purinas	-
Resinas	-
Catequinas	+++
Depsídeos e depsidonas	++
Heterosídeos cianogenéticos	-
Benzoquinonas, naftaquinonas e fenantraquinonas	+++
Antraquinonas	++
Esteróides e triterpenóides	-
Sesquiterpenolactonas	-
Proteínas e aminoácidos	-
Antocianidinas	-
Flavonóis	+++
Flavanonas	++
Flavanonóis	++
Dupla olefínicas	+++
Azulenos	-
Resinas	-

(-) negativo, (+) fraco positivo, (++) moderado positivo e (+++) forte positivo. Taninos: verdes condensados ou catéquicos. Fonte: Autores, 2020.

Várias espécies do gênero *Ouratea* são capazes de biossintetizar naturalmente flavonoides e biflavonoides, sendo a família Ochnaceae com a maior diversidade de gêneros representativos de *Ouratea*, *Luxemburgia*, *Ochna* e *Lophira*, as espécies inseridas nesses gêneros são utilizadas ainda como potenciais marcadores taxonômicos (SUZART et al., 2007).

Na Figura 2, estão apresentados os principais flavonoides encontrados nos mais diversificados grupos de vegetais, incluindo *Ouratea*.

Figura 2 – Fórmulas em bastão dos principais flavonoides encontrados nos vegetais.



Fonte: Coutinho et al., (2009).

Observam-se na Tabela 3, a sequência elotrópica com maior número de Rfs 22 para o conjunto de eluidores acetona/clorofórmio, seguido de 20 Rfs acetona/acetato de etila, e para etanol/metanol com 20 Rfs, respectivamente.

Os reveladores empregados: luz UV₂₅₄ nm revela compostos fitoquímicos que absorvem a luz, onde geralmente são substâncias conjugadas e/ou sistemas aromáticos onde foram observados na seguinte ordem 3-4-2 Rfs; para a luz UV₃₆₅ nm, os compostos com fluorescência natural são revelados onde apresentaram para este extrato floral de *O. lancifolia* a seguinte ordem 2-1-2 Rfs; a solução de vanilina sulfúrica é especialmente sensível à presença de álcoois e terpenóides.

O complexo cloreto férrico evidencia a presença de fenóis e compostos enolizáveis; o complexo (iodo) I₂ se liga com estruturas de aminoácidos, indóis, alcalóides, esteróides, purinas e lipídios, onde foi observado o maior número de Rfs separadas nos três conjuntos de eluidores; a solução de permanganato de potássio revela facilmente interagindo com compostos oxidáveis, em olefinas, alcinos e grupos aromáticos; a solução aquosa de verde de bromocresol evidencia compostos da classe de ácidos orgânicos; e para substâncias difíceis de serem observadas nos reveladores anteriores, são observadas com certo grau de facilidade utilizando a solução de ácido crômico (SHERMA; FRIED, 2005; DE MORAIS et al., 2019).

Na Tabela 3, estão apresentados os resultados da cromatografia em camada delgada para o extrato floral hidroetanólico *O. lancifolia* avaliado em três conjuntos de eluentes e em vários reveladores.

Tabela 3 – Resultados da cromatografia em camada delgada CCD para o extrato floral hidroetanólico 70% de *Ouratea lancifolia*.

Eluentes	UV	UV	Vanilina sulfúrica	FeCl ₃	I ₂	KMnO ₄	C ₂₁ H ₁₄ Br ₄ O ₅ S	H ₂ CrO ₄
	254	365						
1	0,72	0,65	0,72*	0,51	0,80	0,75	0,39	0,61*
	0,55	0,44	0,50*	0,46	0,73	0,64		
	0,40		0,43*	0,28	0,66			
			0,28*		0,61			
					0,54			
2	0,70	0,76	0,70	0,40	0,82	-	0,69	0,73*
	0,45		0,47*	0,30	0,75			
	0,34		0,29*		0,60			
	0,30				0,57			
					0,37			
3	0,66	0,77	0,75*	0,56	0,80		0,46	0,82*
	0,53	0,45	0,50*	0,49	0,75	0,75		
				0,41	0,62	0,30		
					0,36			

1 = acetona/clorofórmio. 2 = acetona/acetato de etila. 3 = etanol/metanol. *Aquecimento a 85 °C.

Fonte: Autores, 2020.

O ensaio para açúcares em CCD apresentou resultado positivo para glicose (açúcar redutor) e sacarose (açúcar não redutor) com *R_fs* de 0,44 e 0,32 mm, e para os padrões de glicose e sacarose anidra com *R_fs* de 0,40 e 0,35 mm, respectivamente.

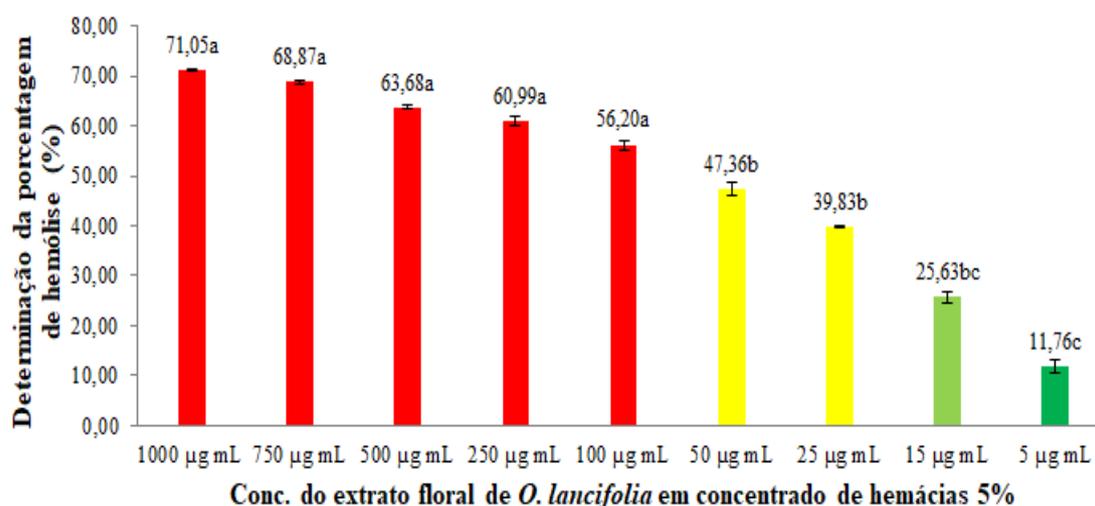
Na Figura 3, pode ser observada importante atividade hemolítica promovida pelo extrato floral hidroetanólico 70% de *O. lancifolia*. O extrato em diferentes concentrações entre 1000 a 5 µg mL⁻¹ apresenta intensa atividade hemolítica sobre o concentrado de eritrócitos humanos na concentração de 5%. Esta atividade hemolítica é considerada alta em todas as concentrações entre 71% a 56%, e intermediária entre 47 a 39%, e baixa entre 25 a 11%.

Devido à falta de dados para comparação entre o gênero *Ouratea*, os resultados deste estudo foram comparados com outros extratos de distintas plantas e seus órgãos vegetais. Nos estudos de Menezes Filho et al. (2020), encontraram atividade hemolítica entre 77,16 a 59,20% nas mesmas concentrações deste estudo para o extrato floral de *Cochlospermum regium*, pertencente a família Bixaceae. Já nos estudos de Sousa et al. (2018), os pesquisadores observaram atividade hemolítica de 63,88% na maior

concentração de $400 \mu\text{g mL}^{-1}$ para o extrato hidroetanólico 70% das cascas do caule de *Ziziphus joazeiro* da família Rhamnaceae. De acordo com Nofiani et al. (2011), e Ramos et al. (2020), em processos hemolíticos acima de 40% são considerados altos e inferior a esse valor, é considerado de baixa atividade hemolítica.

Na Figura 3, estão apresentados os resultados da determinação de porcentagem de hemólise sobre eritrócitos humanos a 5% a partir do extrato floral de *O. lancifolia*.

Figura 3 – Determinação da porcentagem de hemólise sobre eritrócitos humanos a 5% pelo extrato floral hidroetanólico 70% de *Ouratea lancifolia* em diferentes concentrações.



Letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Cores das barras: (vermelho) alta, (amarela) moderada, (verde claro) baixa, e (verde escuro) muito baixa.

Fonte: Autores, 2020.

Conforme Espitia-Baena et al. (2014), a classe de saponinas apresenta atividade hemolítica, onde o mesmo foi observado na prospecção fitoquímica qualitativa (Tab. 2), sendo esse grupo de fitomoléculas responsáveis pela forte atividade de hemólise (Fig. 3). Este efeito hemolítico é considerado tóxico, devendo ser realizados ensaios de citotoxicidade também sobre as interações medicamentosas, sobre possível ação sinérgica ou inibitória (FONTANILLS et al., 2018).

Com tudo, essa classe apresenta ação de inibição em processos inflamatórios e cancerígenos. Além das saponinas, os terpenos também são responsáveis pela ação hemolítica sobre eritrócitos humanos, onde a citotoxicidade ocorre diretamente na membrana provocando deformação, formação de poros e ruptura total do eritrócito, seguido de extravasamento da hemoglobina (RAMOS et al., 2020).

CONCLUSÃO

Este estudo apresentou os primeiros resultados sobre o extrato floral hidroetanólico 70% de *Ouratea lancifolia*, onde foram obtidos bons resultados físico-químicos principalmente para rendimento, de flavonoides e fenólicos totais, e excepcional atividade antioxidante na redução do radical livre DPPH. Além disso, foram observadas várias classes fitoquímicas presentes no órgão floral de *O. lancifolia*, além de importante atividade fotoprotetora para fontes energéticas UVA, UVB e UVC, e para ação hemolítica sobre eritrócitos humanos.

Novos estudos deverão ser realizados na determinação do seu FPS, sobre as moléculas fitoquímicas observadas, bem como seus teores, e na avaliação de outras atividades biológicas como citotoxicidade, da atividade antioxidante utilizando outros modelos de radicais livres, na alelopatia, como inseticida, moluscicida, na conservação de alimentos, na indústria de biotecnologia, na microbiologia, dentre outras.

AGRADECIMENTOS

Ao Instituto Federal Goiano, Campus Rio Verde; a Universidade de Rio Verde, Campus Rio Verde; a Universidade Estadual de Goiás, Campus Santa Helena de Goiás; aos laboratórios de Química Inorgânica e Geral, Materiais e Eletroanalítica, Química Orgânica e Química Tecnológica; aos órgãos de fomento em pesquisa, CAPES, CNPq, FINEP.

REFERÊNCIAS

- AFAIA, D. P. S.; DE ALMEIDA, S. S. M. S. Avaliação fitoquímica, análise citotóxica e antimicrobiana do extrato etanólico das folhas de *Annona muricata* L. (*Annonaceae*). **Biota Amazônia**, v. 6, n. 1, p. 26-30, 2016.
- ALVES, M. M.; PEREIRA, M. A. S.; PEREIRA, O. S.; FRANÇA, S. C.; BERTONI, B. W. Caracterização química de tinturas e extratos secos de plantas medicinais do Cerrado por cromatografia em camada delgada. **Scientia Plena**, v. 7, n. 12, 2011.
- BARBOSA, W. L. R.; QUIGNARD, E.; TAVARES, I. C. C.; PINTO, L. N.; DE OLIVEIRA, F. Q.; DE OLIVEIRA, R. M. Manual para análise fitoquímica e cromatográfica de extratos vegetais. **Revista Científica da UFPA**, v. 4, 2004.
- BERNARDI, F.; NICOLINI, K. P.; NICOLINI, J. Estudo fitoquímico de *Hydrangea* sp. por meio de métodos clássicos de análise por espectroscopia no ultravioleta visível (UV-Vis) e cromatografia em coluna e em papel. **Infarma**, v. 29, n. 1, p. 68-80, 2017.
- BEZERRA, J. W. A.; SILVA, M. A. P.; BATISTA, A. P.; MENDONÇA, M. A. C. A. M.; OLIVEIRA, J. F.; SANTOS, M. A. F.; SILVA, V. B. Biometria e quebra de dormência em *Dimorphandra gardneriana* Tul. (Faveira) (Fabaceae). **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 23, n. 4, 2018.

BRAGA, P. M. S.; BARCELOS, I. B.; CALAZANS, R. S. P.; BULIAN, A. L. S.; GABLER, J. C. R.; SOBRAL, F. O. S.; SALVI, J. O. Análise fitoquímica, toxicidade, potencial antioxidante e atividade antibacteriana da *Ceiba speciosa* (A. ST. –Hil.) Ravenna. **Revista Fitos**, v. 13, n. 1, p. 9-21, 2019.

BRAZ FILHO, R. Contribuição da fitoquímica para o desenvolvimento de um país emergente. **Química Nova**, v. 33, n. 1, p. 229-239, 2010.

CALA-CALVIÑO, L.; CALA, D. J.; FERNÁNDEZ, R. G.; BARRIENTOS, A. B.; SÁNCHEZ-HACHAVARRÍA, M. E.; VADELL, H. C. Estudio farmacognóstico preliminar de la especie *Annona squamosa* L. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 23, n. 2, 2018.

CHACON, R. G.; YAMAMOTO, K.; CAVALCANTI, T. B. *Ouratea lancifolia* R. G. Chacon & K. Yamam. (Ochnaceae), uma nova espécie do Cerrado, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 34, n. 4, p. 603-605, 2011.

CARBONARI, K. A.; FERREIRA, E. A.; REBELLO, J. M.; FELIPE, K. B.; ROSSI, M. H.; FELÍCIO, J. D'ARC.; FILHO, D. W.; YUNES, R. A.; PEDROSA, R. C. Free-radical scavening by *Ouratea parviflora* in experimentally-induced liver injuries. **Journal Redox Report**, v. 11, n. 3, p. 124-130, 2006.

COUTINHO, M. A. S.; MUZITANO, M. F.; COSTA, S. S. Flavonoides: potenciais agentes terapêuticos para o processo inflamatório. **Revista Virtual de Química**, v. 1, n. 3, p. 241-256, 2009.

DACIE, J. V.; LEWIS, S. M.; CATOVSKY, D. **Blood cell cytochemistry and supplementary techniques**. Practical Hematology, Churchill Livingstone, Edinburgh, p. 120-148, 1975.

DE CARVALHO, M. G.; SUZART, L. R.; CAVATTI, L. C.; KAPLAN, M. A. C. New flavonoids and other constituents from *Ouratea hexasperma* (Ochnaceae). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 19, n. 7, p. 1423-1428, 2008.

DE MORAIS, M. C.; KHOURI, A. G.; DA SILVEIRA, A. A.; SOUZA, Á. P. S.; DA COSTA, A. C.; DA CONCEIÇÃO, E. C. Controle de qualidade e perfil cromatográfico por cromatografia em camada delgada das raízes de *Brosimum gaudichaudii* Trécul. (Moraceae) coletadas no Cerrado goiano. **Revista Referências em Saúde da Faculdade Estácio de Sá de Goiás**, v. 2, n. 3, p. 141-146, 2019.

ESTEVAM, C. S.; OLIVEIRA, F. M.; CONSERVA, L. M.; LIMA, L. F. C. O.; BARROS, E. C. P.; BARROS, Á. C. P.; ROCHA, E. M. M.; ANDRADE, E. H. A. Constituintes químicos e avaliação preliminar *in vivo* da atividade antimalárica de *Ouratea nitida* Aubl (Ochnaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 3, p. 195-198, 2005.

ESPITIA-BAENA, J. E.; ROBLEDO-RESTREPO, S. M.; CUADRADO-CANO, B. S.; DURAN-SANDOVAL, H. R.; GÓMEZ-ESTRADA, H. A. Perfil fitoquímico, actividad anti-Leishmania, hemolítica y toxicological de *Cordia dentata* Poir. y *Heliotropium indicum* L. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 19, n. 3, 2014.

FONTANILLS, Y. R.; ÁLVAREZ, L. M. H.; RABELO, J. J.; HERNÁNDEZ, Y. P.; TUNDIDOR, Y. P.; AVIL, A. L. V. Propriedades fitoquímicas y antibacterianas de los extractos de las hojas de *Agave fourcroydes* Lem. (henequén). **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 23, n. 2, 2018.

FRAGA, C. N.; SAAVEDRA, M. M. A new cauliflorous white-flowered species of *Ouratea* (Ochnaceae) from the Brazilian Atlantic Forest. **Phytotaxa**, v. 167, n. 1, p. 119-126, 2014.

DOMÍNGUEZ, O. G. P.; PESANTES, K. E. B.; MARTÍNEZ, M. M.; GAITÉN, Y. G. Estudio químico y evaluación biológica del extracto etanólico de *Allium schoenoprasum* L. Regel & Tiling (Cebollín). **Revista Cubana de Farmacia**, v. 52, p. 1, p. e98, 2019.

DO NASCIMENTO, L. A. S.; GUILHON, G. M. S. P.; ARRUDA, M. S. P.; SANTOS, L. S.; ARRUDA, A. C.; MÜLLER, A. H.; DA SILVA, M. N.; RODRIGUES, S. T.; DE CARVALHO, M. G. Biflavones

and triterpenoids isolated from *Ouratea castaneifolia* (DC.) Engl., *Ochnaceae*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 4, p. 823-827, 2009.

DUARTE, J. L.; MOTA, L. J. T.; DE ALMEIDA, S. S. M. S. Análise fitoquímica das folhas de *Tabebuia serratifolia* (Vahl.) Nicholson (Ipê Amarelo). **Estação Científica**, v. 4, n. 1, p. 33-43, 2014.

FERRARI, A. L. S.; COSTA, K. A.; FERREIRA, V.; BULIAM, A. L.; CALAZANS, R. S. P.; DA SILVA FARIAS, G. D.; SALVI, J. O. Prospecção fitoquímica e toxicidade aguda das flores de *Carnegiea gigantea* (Engelm) Britton & Rose. **South American Journal of Basic Education, Technical and Technological**, v. 6, n. 1, p. 268-281, 2019.

FIDELIS, Q. C.; RIBEIRO, T. A. N.; ARAÚJO, M. F.; DE CARVALHO, M. G. *Ouratea* genus: chemical and pharmacological aspects. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 24, p. 1-19, 2014.

FIDELIS, Q. C.; DE CARVALHO, M. G.; GUILHON, G. M. S. P.; RODRIGUES, S. T. Isoflavonas e outros constituintes isolados do caule de *Ouratea ferruginea* Engl. *Ochnaceae*. In: SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA (SBQ). REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 33. 2010, Aguas de Lindoia. **Anais...**, Aguas de Lindoia: SBQ, 2010.

FRANZEN, F. L.; FRIES, L. L. M.; DE OLIVEIRA, M. S. R.; LIDÓRIO, H. F.; MENEGAES, J. F.; LOPES, S. J. 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.

GONÇALVES, J.; SILVA, G.C.O.; CARLOS, L.A. Compostos bioativos em flores comestíveis. **Perspectivas Online: Biológicas & Saúde**, v. 9, n. 29, p. 11-20, 2019.

FERRER HERNÁNDEZ, A. R.; DUARTE, et al. Estudio de los compuestos esteroidales de las hojas y frutos de *Solanum sisymbriifolium* Lam. (Joá, Juá, Jurubeba), *Solanaceae*. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 24, n. 3, p. e793, 2019.

JARAMILLO-SALAZAR, M. T.; OCAMPO-SERNA, D. M.; CRUZ-NARANJO, B. D.; GALVIS-GARCÍA, J. H. Actividad antibacteriana y antifúngica de los extractos de diferente polaridad de *Anacardium occidentale*. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 24, n. 2, p. e677, 2019.

JIN, Y.; JEONG, K. M.; LEE, J.; ZHAO, J.; CHOI, S-Y.; BAEK, K-S. Development and validation of an analytical method readily applicable for quality control of *Tabebuia impetiginosa* (Taheebo) ethanolic extract. **Journal of AOAC International**, v. 101, n. 3, p. 695-700, 2018.

KOBAYASHI, Y. T. S.; ALMEIDA, V. T.; BANDEIRA, T.; ALCÂNTARA, B. N.; SILVA, A. S. B.; BARBOSA W. L. R.; SILVA, P. B.; MONTEIRO, M. V. B.; ALMEIDA, M. B. Avaliação fitoquímica e potencial cicatrizante do extrato etanólico dos frutos e jucá (*Libidibia ferrea*) em ratos Wistar. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 52, n. 1, p. 34-40, 2015.

MBING, J. N.; ENGUEHARD-GUEIFFIER, C.; ATCHADÉ, A. T.; ALLOUCHI, H.; GANGOUÉ-PIÉBOJI, MBAFOR, J. T.; TIH, R. G.; POTHIER, J.; PEGNYEMB, D. E.; GUEIFFIER, A. Two biflavonoids from *Ouratea nigroviolacea*. **Phytochemistry**, v. 67, n. 24, p. 2666-2670, 2006.

MENEZES FILHO, A. C. P. Uso das técnicas por diafanização e modelagem matemática em 3D como métodos de contribuição e identificação foliar de *Protium ovatum* Engl. **Arquivos Científicos**, v. 3, n. 1, p. 78-87, 2020.

MENEZES FILHO, A. C. P.; OLIVEIRA FILHO, J. G.; CHRISTOFOLI, M.; CASTRO, C. F. S. Atividade antioxidante, conteúdo de fenólicos totais, carotenóides e provitamina A em extratos vegetais do Cerrado goiano. **Uniciências**, v. 22, n. 1, p. 28-32, 2018.

MEIRA-NETO, R. A.; DE ALMEIDA, S. S. M. S. Avaliação fitoquímica, microbiológica e citotóxica das folhas de *Gossypium arboreum* L. (*Malvaceae*). **Biota Amazônia**, v. 5, n. 2, p. 18-22, 2015.

NOFIANI, R.; KURNIADI, R.; ARDININGSIH, P. Antimicrobial, antioxidant, hemolytic activities and toxicity of ethyl acetate extract from an unidentified coral-associated Fungus, *Aspergillus brevipes* RK06. **Indonesian Journal of Cancer Chemoprevention**, v. 2, n. 2, p. 212-216, 2011.

OLIVEIRA, O. W.; PETROVICK, P. R. Secagem por aspersão (spray drying) de extratos vegetais: bases e aplicações. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 4, p. 641-650, 2010.

OSHIRO, M. C.; MIGUEL, M. D.; DIAS, J. F. G.; GOMES, E. C.; MIGUEL, O. G. 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.

PIMENTA, A. B.; SEIXAS, S. R. S.; GREGÓRIO, L. E.; SANTOS, C. F. F. Atividade ansiolítica do extrato bruto de *Kielmeyera rubriflora* Cambess (Pau Santo) em camundongos. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 21, n. 1, 2016.

QUEIROZ, A. M. **Interação nanopartícula-clorofila: uma análise via espectroscopia óptica**. 104 f. 2014. Dissertação (Mestre em Química) - Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, MS, Brasil. 104 f. 2014.

RAMOS, R. M.; FEITOSA, J. M.; LIMA, V. S.; SANTOS, R. C.; DE OLIVEIRA, A. M.; SOARES, L. A. L.; DA SILVA, G. C. Estudo comparativo da composição fitoquímica, citotoxicidade e potencias antioxidante e fotoprotetora da casca e folha de *Erythrina velutina*. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 6, p. 33140-33158, 2020.

SILVA, J. S.; FELFILI, J. M. Contribuição ao conhecimento da flora da reserva biológica do cerrado para o Distrito Federal. **Heringeriana**, v. 4, n. 2, p. 38-55, 2010.

SILVA, N. L.; VIANA, F. C.; ALVES, L. F.; SANTOS, E. C. S.; DE ANDRADE, L. R.; MORAIS, M. G.; DOS SANTOS, A. C.; AMARO, S. H. Avaliação da atividade antioxidante e antibacteriana do extrato da flor de *Hibiscus sabdariffa* e *Hibiscus rosa-sinensis*. **Conexão Ciência**, v. 14, n. 1, p. 14-20, 2019.

SILVA, R. N.; MONTEIRO, V. N.; ALCANFOR, J. D'A. X.; ASSIS, E. M.; ASQUIERI, E. R. Comparação de métodos para a determinação de açúcares redutores e totais em mel. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n. 3, p. 337-341, 2003.

SOUSA, I. J. O.; SILVA, M. C. P.; LEOPOLDINO, G. L.; AGOSTINHO, L. S. Estudo fitoquímico, avaliação da capacidade hemolítica e antimicrobiana de um extrato bruto da casca do caule de *Ziziphus joazeiro* Mart. (*Rhamnaceae*). **Journal of Biology & Pharmacy and Agricultural Management**, v. 14, n. 4, p. 208-225, 2018.

SOUSA, J. P. B.; FURTADO, N. A. J. C.; JORGE, R.; SOARES, A. E. E.; BASTOS, J. K. Perfis físico-químico e cromatográfico de amostras de própolis produzidas nas microrregiões de Franca (SP) e Passos (MG), Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 1, p. 85-93, 2007.

SUZART, L. R.; DANIEL, J. F. S.; CARVALHO, M. G.; KAPLAN, M. A. C. Biodiversidade flavonoídica e aspectos farmacológicos em espécies dos gêneros *Ouratea* e *Luxemburgia* (*Ochnaceae*). **Química Nova**, v. 30, n. 4, p. 984-987, 2007.

SHERMA, J.; FRIED, B. **Handbook of thin-layer chromatography**. 3th. Edition, Revised and Expandend. 2005. p. 1330.

VALADARES, Y. M.; DE OLIVEIRA, A. B.; CÔRTEZ, S. F.; LOMBARDI, J. A.; BRAGA, F. C. Atividade vasodilatadora *in vitro* de espécies de *Ouratea* (*Ochnaceae*) e de frações de *Ouratea semiserrata* (Mart.) Engl. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 39, n. 1, p. 83-91, 2003.

VIOLANTE, I. M. P.; SOUZA, I. M.; VENTURINI, C. L.; RAMALHO, A. F. S.; SANTOS, R. A. N.; FERRARI, M. Avaliação *in vitro* da atividade fotoprotetora de extratos vegetais do Cerrado de Mato Grosso. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 2 A, p. 452-457, 2009.