

Estudo de Caso: Acesso aberto

**AVALIAÇÕES FÍSICO-QUÍMICAS, FITOQUÍMICAS E BIOATIVAS DO EXTRATO HIDROETANÓLICO FLORAL DE *STYRAX FERRUGINEUS* NEDD & MART. (LARANJINHA-DO-CERRADO)**

Autores: Antonio Carlos Pereira de Menezes Filho^{1,A}, Mariana Chaves Santos¹, Wendel Cruvinel de Sousa¹, Carlos Frederico de Souza Castro¹

¹Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, Campus Rio Verde, Goiás, Brasil.

Informações do Artigo

Palavras chaves: *Styra*, Hemólise, Atividade antioxidante, Prospecção fitoquímica, *Styracaceae*.

Resumo

A espécie *Styrax ferrugineus* é facilmente encontrada em ambiente de Cerrado brasileiro, apresentando belas flores aromáticas. O estudo objetivou-se avaliar as características físico-químicas, fitoquímicas e bioativas do extrato floral hidroetanólico de *S. ferrugineus*. As flores foram coletadas e o extrato hidroetanólico 70% produzido por maceração. Foram realizados os seguintes ensaios para rendimento de extrato (%), massa seca (%), teor de umidade (%), pH, sólidos totais (%), índice de refração n_D , densidade relativa $g\ mL^{-1}$, flavonoides totais $mg\ 100\ g^{-1}$, varredura em UV-Vis entre 900 a 400 nm, fitoquímica qualitativa, cromatografia em camada delgada, atividade antioxidante na redução do DPPH, conteúdo de fenólicos totais, determinação do comprimento de ondas crítico entre 400 a 290 nm e atividade hemolítica (%). O rendimento de extrato foi de 10,43%, massa seca de 18,45%, teor de umidade de 81,55%, pH de 7,22, sólidos totais com 1,96%, índice de refração de 1,3721 n_D , densidade relativa com 0,8406 $g\ mL^{-1}$, flavonoides totais de 186,78 $mg\ 100\ g^{-1}$, o extrato apresentou importantes classes fitoquímicas, vários Rfs pela CCD, atividade antioxidante com CI_{50} de 22,74 $\mu g\ mL^{-1}$, conteúdo de fenólicos totais de 256,31 $mg\ EAG\ 100\ g^{-1}$, extrato com fotoproteção para raios UVB e atividade hemolítica entre 62,07 a 15,40%. O extrato floral hidroetanólico de *S. ferrugineus* apresentou importantes resultados tornando-o um forte candidato para o desenvolvimento de novas pesquisas na identificação dos compostos e para outros ensaios biológicos.

^AAutor correspondente:

Antonio Carlos Pereira de Menezes Filho – E-mail: – astronomoamadorgoias@gmail.com
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3443-4205>

DOI: <https://doi.org/10.31415/bjns.v3i2.108> - Artigo recebido em: 26 de julho 2020 ; aceito em 11 de outubro de 2020 ; publicado em novembro de 2020 no Brazilian Journal of Natural Sciences, ISSN: 2595-0584, Vol. 3, N.3. Online em www.bjns.com.br. Todos os autores contribuíram igualmente com o artigo. Os autores declaram não haver conflito de interesse Este é um artigo de acesso aberto sob a licença CC - BY: <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>

Keywords: *Styrax*, Hemolysis, Antioxidant activity, Phytochemical prospecting, *Styracaceae*.

Abstract

The species *Styrax ferrugineus* is easily found in a Brazilian Cerrado environment, presenting beautiful aromatic flowers. The study aimed to evaluate the physicochemical, phytochemical and bioactive characteristics of the hydroethanolic floral extract of *S. ferrugineus*. The flowers bloom collected and the hydroethanolic extract 70% produced by maceration. The following tests were performed for extract yield (%), dry mass (%), moisture content (%), pH, total solids (%), refractive index n_D , relative density $g\ mL^{-1}$, total flavonoids $mg\ 100\ g^{-1}$, UV-Viz scanning between 900 to 400 nm, qualitative phytochemistry, thin-layer chromatography, antioxidant activity in the reduction of DPPH, total phenolic content, determination of critical wavelengths between 400 to 290 nm and hemolytic activity (%). The extract yield was 10.43%, dry mass 18.45%, moisture content 81.55%, pH 7.22, total solids 1.96%, refractive index 1.3721 n_D , relative density with 0.8406 $g\ mL^{-1}$, total flavonoids of 186.78 $mg\ 100\ g^{-1}$, the extract showed important phytochemical classes, several Rfs by CCD, antioxidant activity with IC_{50} of 22.74 $\mu g\ mL^{-1}$, content of total phenolics of 256.31 $mg\ GAE\ 100\ g^{-1}$, extract with photoprotection for UVB rays and hemolytic activity between 62.07 to 15.40%. The hydroethanolic floral extract of *S. ferrugineus* showed important results, making its a strong candidate for the development of new research in the identification of compounds and for other biological tests.

Introdução

A família *Styracaceae*, é constituída por pequenas árvores e arbustos, nativos de regiões tropicais e subtropicais. O gênero *Styrax* é um dos representantes desta família, sendo composto por 80 espécies, que apresenta característica entre as espécies, produzindo material resinoso, que é secretado naturalmente pelas cascas dos galhos e tronco [1]. A resina apresenta princípios ativos sendo utilizada na medicina tradicional para tratar e curar processos inflamatórios. Além disso, estudos relataram que em diversas espécies da família *Styracaceae* apresentam como fontes expressivas os compostos arilpropanóides e triterpenóides [2]. Outras espécies como *Styrax ramirezii* apresentou em bioensaios importante atividade antioxidante e anti-inflamatória, além disso, foram isolados os seguintes compostos do fruto, egonol e homoeonol [3].

Styrax ferrugineus conhecida por "laranjinho-do-cerrado ou flor de laranjeira-do-cerrado", pertence ao gênero *Styrax*, habitando áreas de Cerrado com fitofisionomia Cerrado ralo, rupestre e ripário, apresentando em geral arbustos de médio porte, sendo endêmica do domínio Cerrado. Esta espécie apresenta floração anual entre os meses de maio a agosto, constituídas de flores aromáticas que assemelham ao aroma característico das flores de laranja (*Citrus* sp.) [4,5].

Existem na literatura trabalhos avaliando o extrato foliar de *S. ferrugineus* com ação antifúngica para cepas de *Candida albicans*, *Cladosporium cladosporioides* e *Staphylococcus aureus* [2]. Os frutos de *S. ferrugineus* foram caracterizados quanto aos compostos onde foram relatados a presença de homoeconol, egonol, demetoxi egonol-2-metilbutanoato, egonol gentiobiosídeo, demetoxi egonol, demetoxi homoeconol e egonol-2-metilbutanoato, ainda neste estudo, ensaios em culturas de células XTT e na avaliação da redução do radical DPPH, o extrato dos frutos apresentou considerável redução, no entanto, não houve eficiência na redução de células cancerígenas em culturas de HeLa, MO59J e MC-7 [6].

Entretanto, ainda pouco se conhece sobre os compostos do metabolismo secundário, e inexistem estudos avaliando o órgão floral de *S. ferrugineus* [6,7,8,9]. Com isso, este estudo teve por objetivo, avaliar o extrato floral hidroetanólico 70% de *S. ferrugineus*, quanto às características físico-químicas, fitoquímicas e bioativas.

Material e Métodos

As flores de *S. ferrugineus* foram coletadas pela manhã entre as 6-9 h em uma área de serra apresentando Cerrado ripário, no município de Rio Verde, Goiás, Brasil com a seguinte coordenada geográfica. A espécie foi identificada por Flávio Matoso, uma excisata foi herborizada e depositada no Herbário do Instituto Federal Goiano, Campus Rio Verde, com o seguinte registro Voucher HRV: 1056.

Produção do extrato hidroetanólico

O extrato bruto hidroetanólico floral foi obtido via turbolise na proporção de 100 g *in natura* de flores para 200 mL de uma solução hidroetanólica 70% (v/v). O extrato permaneceu em frasco âmbar em repouso na geladeira por 72 horas a 4 °C, sem a presença de luz. Após este período, o extrato foi transferido para um frasco *Erlenmeyer* (Laborglas) 500 mL, e submetido a ondas de ultra-som, em banho de ultra-som (Eco-Sonics, Mod. Q3,0/40A), por 30 minutos em local ao abrigo da luz. O extrato foi novamente transferido para o frasco âmbar e armazenado na geladeira a 4 °C por 24 horas. Em seguida, o extrato bruto foi filtrado em papel de filtro qualitativo faixa azul (Unifil C42). O sobrenadante foi concentrado em rotaevaporador rotativo a pressão negativa (Fisatom, Mod. 801), até evaporação completa do álcool etanol. Em seguida, foi congelado a -10 °C e posteriormente liofilizado (Liotop, Mod. L101). O extrato em pó foi armazenado em frasco de vidro cor âmbar, identificado e mantido em geladeira a 4 °C até análises conforme descrito por Oliveira et al. [10].

Análises físico-químicas

O rendimento de extrato seco bruto foi calculado conforme descrito por Alves et al. [11]. Calculado a partir da relação da massa de extrato seco por massa da droga vegetal expresso em percentagem conforme equação 1. $\text{Rend (\%)} = (\text{g Ext Sec} / \text{Drog Veg}) * 100$ Eq.(1) Onde g Ext Sec = (g) do extrato seco, g Drog Veg = (g) droga vegetal.

Para determinação da massa seca e da umidade, foi utilizada 150 g de flores e capítulos florais. A umidade foi determinada gravimetricamente conforme descrito por Franzen et al. [12], através da diferença de massa em estufa com circulação de ar forçada (Thoth, Mod. 510) a 105 °C até massa constante, e a massa seca total foi determinada pela diferença do valor de umidade da amostra integral.

A avaliação organoléptica (cor e aroma) e físico-química para sólidos totais e índice de refração (Hanna Instruments, Mod.

HI96800), foi avaliada conforme descrito por Domínguez et al. [13]. O pH foi determinado através de um pHmetro digital de bancada (Lucadena, Mod. 210-P), com uma alíquota de 50 mL de extrato bruto. A densidade relativa foi determinada utilizando picnômetro de 1 mL, conforme descrito por Alarcón et al. [14]. O resultado foi expresso em g mL^{-1} a 20 °C. O conteúdo de flavonoides totais foi determinado segundo metodologia de Gonçalves et al. [15]. Uma alíquota de 0,5 g de flores foram adicionadas 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 a 734 nm. Para o cálculo do conteúdo de flavonoides totais, utilizou-se a equação 2. $\text{Flavonoides mg } 100 \text{ g}^{-1} = (A \times \text{FD}/76,6)$ Eq. (2) Uma varredura foi realizada entre os comprimentos de ondas 400 a 900 nm em espectrofotômetro UV-Vis (Bel Photonics, Mod. M-51) por absorbância utilizando cubeta de quartzo com campo de 1 cm a partir do extrato bruto 1 mL, afim de descrever as possíveis

classes metabólicas presentes conforme descrito por García et al. [16], e Menezes Filho et al. [17].

Prospecção fitoquímica

Foram realizadas análises colorimétricas e de precipitação para as classes de compostos fenólicos, açúcares redutores, não redutores, taninos, flavonoides, antraquinonas, cumarinas, ácidos orgânicos, catequinas, esteroides e triterpenos, saponinas espumílica e hemolítica, glicosídeos cardiotônicos, duplas olefínicas, benzaquinonas, naftaquinonas e fenantraquinonas, alcaloides e depsídeos e depsidonas conforme descrito por Menezes Filho e Castro [18], glicosídeos cianogênicos, conforme descrito por Rodrigues et al. [19], polissacarídeos, purinas, resinas e sesquiterpenolactonas conforme descrito por Simões e De Almeida [20].

O índice de oxidação foi determinado em segundos (seg.) conforme descrito por Menezes Filho et al. [21]. Em béquer de 100 mL, foi pipetado cerca de 3 mL do extrato metanólico 70% e adicionou-se 48 mL de água destilada, sob agitação constante. Em tubo de ensaio de 25 mL, uma alíquota de 0,5 mL foi diluída, com 0,5 mL de água destilada e 1 mL de uma solução aquosa de ácido sulfúrico 20% (P.A – ACS) (m/v). O tubo de ensaio foi agitado em Vortex por 1 minuto, logo em seguida, o tubo foi mergulhado em um banho de gelo resfriado a -8 °C. Cerca de 50 μL de uma solução aquosa de KMnO_4 (P.A – ACS) 0,1 N (p/v) foi acrescido no tubo e homogeneizado manualmente, e cronometrou-se o tempo até o desaparecimento da cor vermelha contra fundo branco.

Os resultados foram comparados com o grupo controle (branco). Para a intensidade da reação foi utilizado teste de cruces (+) fraco positivo, (++) moderado positivo e (+++) fortemente positivo, e (-) negativo [10]. Para o teste de hemólise em tecido hematopoiético humano a 5%, foi utilizado suspensão de hemácias em solução aquosa salina a 0,85%. As imagens microscópicas foram geradas em microscópio óptico (Global Optics, Mod. NO215B) com objetivas planacromática 4, 10 e 40 X, e câmera acoplada ao microscópio (GX) Full HD 30 FPS. Uma alíquota de 20 $\mu\text{L mL}^{-1}$ foi adicionado a 150 $\mu\text{L mL}^{-1}$ do concentrado de hemácias a 5%. O tempo foi avaliado em 5 e 10 minutos. Como controle negativo foi utilizado solução de hemácias a 5% e solução hidroetanólica 70%. A caracterização do extrato hidroetanólico floral foi realizada por cromatografia em camada delgada (CCD), utilizando placa cromatográfica (DC-Fertigfolien Alugran® Xtra SIL G/UV₂₅₄), em tiras com as seguintes dimensões (2 cm x 10 cm). Foram utilizadas as seguintes fases móveis: acetona, clorofórmio, acetato de etila, e a combinação entre clorofórmio/acetato de etila, e como soluções reveladoras: vanilina sulfúrica, luz ultravioleta comprimento de ondas curto e longo UV (254 nm e 365 nm), cloreto férrico, ácido crômico, vapor de Iodo, solução aquosa de permanganato de potássio, verde de bromocresol e difenilamina ácida. O fator de retenção (R_fs) foi determinado utilizando uma régua milimétrica, conforme descrito por Alves et al. [11]. Os açúcares redutores e não redutores, foram identificados utilizando padrões de glicose, frutose, xilose, dextrina e sacarose a 1% e revelados com solução de difenilamina sulfúrica 1% (m/v) conforme descrito por Silva et al. [22].

Atividade antioxidante na redução do DPPH e determinação dos compostos fenólicos totais

O conteúdo de compostos fenólicos totais foi quantificado através do método colorimétrico utilizando reagente *Folin-Ciocalteu* e espectrofotometria UV-Vis no comprimento de ondas em 725 nm. A extração dos compostos fenólicos foi realizada utilizando uma solução aquosa de etanol 70%. Os resultados foram expressos em mg equivalentes de ácido gálico (EAG) por 100 g^{-1} em base de flores *in natura*, conforme descrito por Gonçalves et al. [15], e Menezes Filho e Castro [18].

Avaliação do comprimento de onda crítico

O extrato hidroetanólico floral foi avaliado a partir da diluição inicial de 50 mg L^{-1} em etanol 99% (LS Chemicals, P.A – ACS, pureza 99,5%). Para varredura, foi utilizado cubeta de quartzo de campo único de 1 cm, e espectrofotômetro UV-Vis (Belphotonics, Mod. M51), entre os comprimentos de ondas de λ 290 a 400 nm, verificando a absorção na região do ultravioleta (UVA e UVB). Como branco instrumental, foi utilizado etanol 99% [23].

Atividade hemolítica

A determinação da atividade hemolítica seguiu conforme descrito por Ramos et al. [24]. Em três tubos Falcon cônicos (Sarstedt) de 50 mL, foram acrescentados com 5 mL de solução fisiológica de NaCl na concentração 0,9% (m/v) (Arboreto) e três tubos Falcon cônicos como controle positivo contendo água destilada e sangue. O ensaio foi realizado nas seguintes concentrações 50; 100; 150; 250; 500; 750; 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de extrato hidroetanólico floral 70% de *S. ferrugineus* em balão volumétrico de 25 mL (Laborglas). As

amostras foram incubadas em temperatura de 25 °C em banho ultratermostatizado (Solab, Mod. SL 152-I) por 15 min. Em seguida, as amostras foram centrifugadas (Solab, Mod. SL-700) a 3000 RPM durante 20 minutos. Em seguida, 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 mm. O percentual hemolítico foi determinado com o Abs do controle positivo como 100%. O percentual hemolítico foi determinado conforme equação 3, proposta por Dacie et al. [25]. %Hem. = $(\text{Abs}_{\text{amostra}}) * 100 / (\text{Abs}_{\text{controle}})$ Eq. (3)

Análise estatística

Todos os ensaios foram realizados em triplicata, seguidos de ± desvio padrão. Para avaliação estatística, foi empregado teste de Tukey para determinação da diferença ($p \leq 0,05$). Foi utilizado o programa estatístico PAST 3 (versão gratuita, junho, 2020, 4.03). Para o teste de porcentagem hemolítica, os dados foram tratados pelo Microsoft Excel (versão paga, 2010). Para a varredura em espectrofotometria, foi utilizado o programa Origin (versão 8, OriginLab).

Resultados e Discussão

A seguir está apresentada a chave de identificação da espécie *S. ferrugineus*, conforme descrito por Loeuille et al. [26].

1. Estames 5; pétalas 2,5-5,6 mm compr.; plantas ginodióicas (mas flores femininas esparsas).
2. Indumento na face abaxial das folhas heterogêneo: pequenos tricomas estrelados formando uma camada alvo-acinzentada e tricomas estrelados maiores normalmente ferrugíneos distribuídos ao longo das nervuras de maior calibre.....3. *S. maninul*
- 2'. Indumento na face abaxial das folhas homogêneo: tricomas estrelados uniformes formando indumento cinéreo a verde-claros, às vezes ferrugíneo *in sicco*.....5. *S. pedicellatus*
- 1'. Estames 10; pétalas 6,5-19 mm compr.; plantas hermafroditas.
3. Cálice castanho a castanho-escuro, esparsamente estrelado-anoso ou pubescente.
4. Pecíolo 3-10 mm compr.; cálice com menos que 5 mm larg., não estriado na parte proximal, com indumento pobre em tricomas ferrugíneos.....6. *S. rotundatus*
- 4'. Pecíolo 12-24 mm compr.; cálice com mais que 5 mm larg., estriado na parte proximal, com indumento rico em tricomas ferrugíneos.....4. *S. martii*
- 3'. Cálice amarelado a esverdeado-cinza tomentoso, às vezes densamente fulvo-estrelado.
5. Indumento da face abaxial das folhas canescente, tricomas estrelados com raios menores que 0,5 mm compr.; nervuras quartenárias não proeminentes e pouco visíveis cobertas pelo indumento; cálice 4,2-4,8 mm compr.; pétalas 1-1,4 mm compr.; planta de borda de mata.....1. *S. camporum*
- 5'. Indumento da face abaxial das folhas castanho, tricomas estrelados com raios maiores que 0,5 mm compr.; nervuras quaternárias proeminentes e, geralmente, não cobertas pelo indumento; cálice 2,7-4,5 mm compr.; pétalas 1,3-1,9 cm compr.; planta de cerrado ou campo rupestre.....2. *S. ferrugineus*

Os resultados apresentados neste estudo são inéditos para a espécie *Styrax ferrugineus* avaliando o extrato hidroetanólico do órgão floral, onde fornecerão dados a partir da pesquisa básica para novos experimentos avaliando esta espécie vegetal tão pouco estudada.

O período de floração para o material coletado neste estudo para a região Sudoeste, município de Rio Verde, Goiás, foi entre maio a julho de 2020 para o domínio Cerrado. Loeuille et al. [26], apresentam para *S. ferrugineus* ampla distribuição nos Cerrados e campos rupestres do Paraná até Espírito do Santo e Minas Gerais, pelo Brasil Central até os territórios da Bolívia e Paraguai. Conforme Saraiva et al. [27], a espécie floresce entre maio e agosto em uma área de Cerrado localizado em Corumbataí, estado de São Paulo, Brasil. No entanto os pesquisadores observaram floração na serra do Cipó nos meses de janeiro a junho. Nos estudos de Silva et al. [28], os pesquisadores avaliaram os frutos de *S. ferrugineus*, com época de coleta no mês de outubro de 2012, em duas áreas nos municípios de Santa Cecília e Patrocínio Paulista, São Paulo, Brasil. Sugerido que, o período de floração antecede os meses de agosto a setembro para áreas de bioma de Mata Atlântica.

Na Figura 1, está apresentado o extrato bruto floral hidroetanólico após filtração de *S. ferrugineus*.



Figura 1. Extrato hidroetanólico bruto das flores de *Styrax ferrugineus*. Fonte: Autores, 2020.

O extrato floral de *S. ferrugineus* apresentou coloração visual esverdeado, cristalino, homogêneo, translúcido e aromático adocicado (Figura 1).

Na **Tabela 1**, estão apresentados os resultados dos ensaios físico-químicos para o extrato das flores de *S. ferrugineus* coletadas em Rio Verde, Goiás, Brasil em 2020.

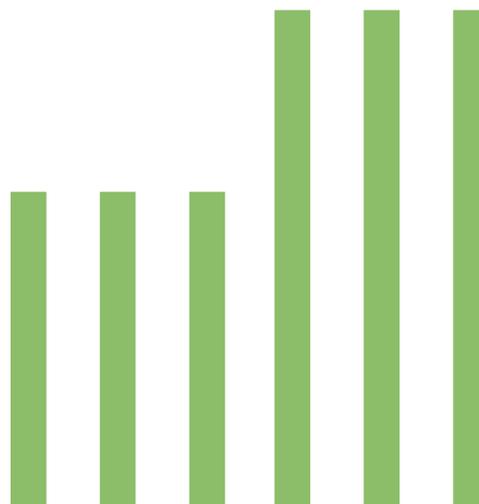


Tabela 1. Parâmetros físico-químicos do extrato hidroetanólico floral de *Styrax ferrugineus*. Fonte: Autores, 2020.

Parâmetros	Resultados*
Rendimento de extrato (%)	10,43 ± 0,18
Massa seca total (%)	18,45 ± 0,19
Teor de umidade (TU%)	81,55 ± 0,16
pH	7,22 ± 0,02
Sólidos totais (ST%)	1,96 ± 0,09
Índice de refração (n_D)	1,3721 ± 0,14
Densidade relativa (g mL ⁻¹) 20 °C	0,8406 ± 0,00
Flavonoides totais (mg 100 g ⁻¹)	186,78 ± 0,21

*Todos os ensaios foram realizados em triplicata seguido de \pm desvio padrão. Fonte: Autores, 2020.

O rendimento de extrato apresentou bom rendimento de 10%, com massa seca de 18% e teor de umidade de 81%. O pH do extrato bruto *in natura* foi de 7,22, com sólidos totais de 1%, índice de refração de 1,37 n_D , densidade relativa de 0,84 g mL⁻¹ e conteúdo de flavonoides totais de 186 mg 100 g⁻¹ para o extrato floral de *S. ferrugineus* (Tabela 1).

Na **Tabela 2**, estão apresentados os resultados das análises das inúmeras classes fitoquímicas a partir do metabolismo secundário do extrato floral de *S. ferrugineus*.

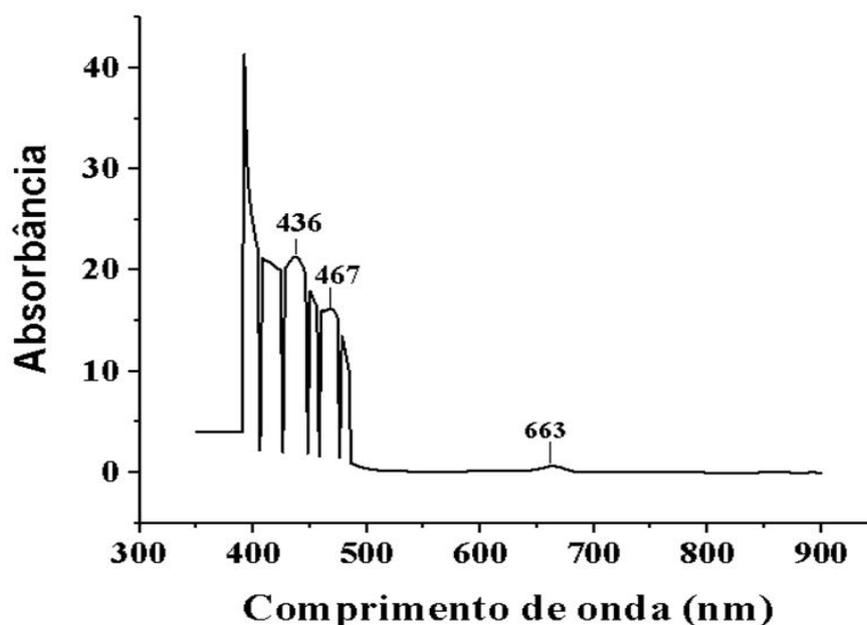


Figura 2. Análise espectrofotométrica UV-Vis do extrato floral hidroetanólico 70% de *Styrax ferrugineus* entre 900 a 400 nm em absorbância. Fonte: Autores, 2020.

No espectrograma de varredura em UV-Vis (Figura 2), observam-se três resultados nas bandas 436, 467 e 663 nm para o extrato hidroetanólico floral de *S. ferrugineus*. Nas bandas de 436

e 467 nm possivelmente são caracterizadas por absorções para a classe fitoquímica que corresponde aos flavonoides ou carotenoides (β -caroteno) [29,30,31]. Em 663 nm região do vermelho, devido às transições eletrônicas de porfirinas, pois apresentam forte absorção nas regiões do espectro eletromagnético para azul (próximo a 400 nm) e no vermelho (próximo a 700 nm) fazem com que sejam absorvidas e observadas em bandas características da região verde do espectro, provavelmente pode estar relacionado à absorção de clorofila (a/b), entre 600 a 700 nm [29,32].

A solução hidroetanólica 70% demonstrou ser eficiente para extração das classes dos flavonoides, carotenoides e clorofilas no extrato floral de *S. ferrugineus*. Bernardi et al. [29], complementa que, os carotenoides hidrocarbonetos são geralmente hidrofóbicos e as xantofilas carotenoides oxigenados possuem baixa polaridade, enquanto que solventes com maior polaridade apresentam melhores resultados de extração para clorofilas.

Na **Tabela 2**, estão apresentados os resultados qualitativos para a prospecção fitoquímica do extrato floral hidroetanólico 70% de *S. ferrugineus*.

Tabela 2. Prospecção fitoquímica do extrato hidroetanólico flora de *Styrax ferrugineus*.
Fonte: Autores, 2020.

e depsidonas, esteróides e triterpenóides, flavonóis, xantonas e eficiente tempo de oxidação.

De acordo com Silva et al. [28], são descritos poucos estudos para *S. ferrugineus*, sendo o conhecimento desta espécie bem restrito quanto as suas atividades biológicas e constituição fitoquímica. Entre comunidades indígenas brasileiras, *S. ferrugineus* é utilizada no tratamento de processos gastrointestinais e em picos febris de patologias não identificadas [33,34]. É descrito a presença de resina secretada das cascas do caule, sendo alternativa quando empregada a resina de benjoim com ações antiinflamatórias [28,35,36].

Nos estudos de Silva et al. [28], os pesquisadores avaliaram os extratos aceto etílico e metanólico do fruto de *S. ferrugineus* por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), onde conseguiram identificar os seguintes compostos fitoquímicos: homoeogonol (1), egonol (2), 7-demetoxi egonol-2-metilbutanoato (3), egonol gentiobiosídeo (4), acetato de homoeogonol (1a), acetato de egonol (2a), demetoxi egonol (5), demetoxi homoeogonol (6), egonol-2-metilbutanoato (7). Alguns destes compostos fitoquímicos apresentam importante ação citotóxica, como demonstrado por De Oliveira et al. [37], onde homoeogonol (1) e egonol (2) apresentaram atividade para células normais humana (GM07492A), melanoma murino (B16F10), adenocarcinoma cervical humano (HeLa), carcinoma hepatocelular de fígado humano (HepG2), adenocarcinoma mamário humano (MCF-7) e glioblastoma humano (M059J). Luís et al. [38], testaram o extrato foliar

Classes	Resultados
Glicosídeos cardíacos	+++
Glicosídeos cianogênicos	+
Alcaloides	++
Ácidos orgânicos	++
Açúcares redutores	++
Açúcares não redutores	+++
Cumarinas	+
Saponinas espumídicas	++
Saponinas hemolíticas	++
Polisacáridos	-
Fenóis	+++
Taninos	Verde
Flavonoides	+++
Purinas	+++
Resinas	-
Catequinas	+++
Auronas e Chalconas	-
Depsídeos e depsidonas	+++
Heterosídeos cianogenéticos	+
Benzoquinonas, naftaquinonas e fenantraquinonas	++
Antraquinonas	-
Esteróides e triterpenóides	+++
Sesquiterpenolactonas	-
Proteínas e aminoácidos	-
Leucoantocianidinas	-
Antocianidinas	-
Flavonóis	+++
Flavanonas	-
Flavanonóis	-
Xantonas	+++
Dupla olefínicas	++
Azulenos	-
Tempo de oxidação	5 seg.*

Todos os ensaios foram realizados em triplicata e comparados ao padrão do extrato *in natura*. Verde = positivo para taninos condensados ou catéquicos. *Sob homogeneização. Fonte: Autores, 2020.

Observam-se na **Tabela 2**, várias classes de compostos fitoquímicos de grande interesse farmacêutico, biotecnológico e agrícola como glicosídeos cardíacos, açúcares não redutores, fenólicos, taninos condensados ou catéquicos, flavonoides, purinas, catequinas, depsídeos

diclorometânico de *S. ferrugineus*, onde encontraram atividade de inibição antifúngica para *Aspergillus* sp. e para *Penicillium* sp. em uma concentração de 300 ppm. Braguine et al. [35], avaliaram os extratos das espécies *Styrax camporum* e *S. pohlii* coletadas no Cerrado brasileiro no município de Luis Antônio, em São Paulo, onde separaram os compostos caempferol-3-O-(2",4"-di-O-(E)-p-coumaroil)- β -_D-glucopiranosídeo (1), caempferol-3-O-(2",6"-di-O-(E)-p-coumaroil)- β -_D-glucopiranosídeo (2), quercetina (3) e caempferol (4) por CLAE, onde os compostos (2) e (4) apresentaram ação antiesquistossomida em adultos *in vitro* de *Schistosoma mansoni*. Já Pauletti et al. [39], afirmaram em estudo que os compostos flavonólicos *nor*-lignina 5-(3"-hidroxipropil)-7-metoxi-2-(3',4'-metil-enedioxifenil)benzofurano (1) e 5-(3"-hidroxipropil)-7-metoxi-2-(3',4'-dimetoxifenil) benzofurano (2) apresentam

atividade antifúngica para cepas de *Candidas*, *C. albicans*, *Cladosporium cladosporioides* e *Staphylococcus aureus*, e os compostos 5-[3"-(β -_D-glucopiranosiloxi)propil]-7-metoxi-2-(3',4'-metilenedioxifenil)benzofurano (3) e lignina álcool hidrodehidrodiconiferil (5), inibem a ação de *S. aureus* e *C. albicans*.

Na **Tabela 3**, estão apresentados os ensaios a partir do pH para determinação das classes fitoquímicas que reagem conforme a variação do pH do meio.

Tabela 3. Determinação por classe de flavonoides para o extrato hidroetanólico floral de *Styrax ferrugineus*. Fonte: Autores, 2020.

Classes	pH 3	pH 8,5	pH 11
Antocianinas e antocianidinas	-	-	-
Flavonas, flavonóis e xantonas	-	-	+++
Chalconas e auronas	-	-	-
Flavanonóis	-	-	-

Todos os ensaios foram realizados em triplicata e comparados ao padrão do extrato *in natura*. Fonte: Autores, 2020.

Observa-se na **Tabela 3**, a presença pelo teste de variação de pH onde ocorre reação colorimétrica fortemente positiva, conforme teste de cruces para a presença qualitativa de Flavonas, flavonóis e xantonas a partir do extrato bruto floral de *S. ferrugineus*. Várias destas classes de compostos fitoquímicos como flavonas, flavonóis e xantonas, dentre outras, apresentam absorção na região do ultravioleta, sendo esta, uma importante característica no desenvolvimento de cremes e loções fotoprotetoras [30].

Na Tabela 4, estão descritos os resultados colorimétricos para as classes de leucoantocianidinas, catequinas e flavanonas a partir do extrato bruto floral de *S. ferrugineus*.

Tabela 4. Determinação por classes de Leucoantocianidinas, catequinas e flavanonas no extrato hidroetanólico floral de *Styrax ferrugineus*. Fonte: Autores, 2020.

Classes	pH Ácido	pH Alcalino
Leucoantocianidinas	-	-
Catequinas	+++	-
Flavanonas	-	-

Todos os ensaios foram realizados em triplicata e comparados ao padrão do extrato *in natura*. Fonte: Autores, 2020.

Observa-se na **Tabela 4**, apenas a presença fortemente positiva para a classe de catequinas. O resultado para este ensaio corrobora com o resultado obtido utilizando outra metodologia para identificação qualitativa de catequinas observada na (Tabela 2), onde apresentou a

mesma intensidade de reação. As catequinas apresentam atividade fotoprotetora com moléculas reativas que são absorvidas na região do ultravioleta [30].

Na **Tabela 5**, estão apresentados os resultados da cromatografia em camada delgada CCD para o extrato floral de *S. ferrugineus*.

Tabela 5. Análise por cromatografia em camada delgada CCD para o extrato floral hidroetanólico de *Styrax ferrugineus*. Fonte: Autores, 2020.

Eluentes	1	2	3	4	5	6	7	8
C₃H₆O	0,75	0,70	0,80	0,70	0,65	0,80	0,70	0,60
	0,45	0,35	0,70	0,65	0,35	0,50	0,45	0,59
		0,15	0,67	0,50		0,35	0,23	0,55
			0,58	0,35		0,20		0,40
			0,50	0,30				0,33
			0,40	0,20				0,19
			0,31					
CHCl₃	nd*	0,14	0,63	0,14	0,83	0,50	0,67	0,21
			0,24		0,13	0,40	0,20	0,18
			0,18			0,14		0,14
			0,15					
C₄H₈O₂/CHCl₃	0,74	0,48	0,80	0,40	0,65	0,65	nd*	0,15**
			0,73		0,40	0,40		
			0,43		0,15	0,15		
			0,15					

1 = UV₂₅₄ nm. 2 = UV₃₆₅ nm. 3 = Solução aquosa de vanilina sulfúrica. 4 = Solução aquosa de cloreto férrico. 5 = Vapor de Iodo. 6 = Solução aquosa de permanganato de potássio. 7 = Solução aquosa de verde de bromocresol. 8 = Solução de ácido crômico. nd* = não determinado. ** Aquecimento a 80 °C. Fonte: Autores, 2020.

A seguinte sequência elotrópica para os três eluentes apresentou maior número de Rfs para acetona com 34 Rfs, seguido de clorofórmio com 16 Rfs e para a mistura acetato de etila e clorofórmio com 14 Rfs observados. O Rfs 0,15 para a mistura acetato de etila e clorofórmio (1:1) foram identificados somente após aquecimento a 80 °C por 5 minutos para o revelador ácido crômico. Grande quantidade de Rfs observados apresentaram altos valores em mm, conformando que possuem maior quantidade de compostos apolares no extrato floral de *S. ferrugineus*.

Os reveladores, luz UV₂₅₄ nm revela compostos fitoquímicos que absorvem a luz, geralmente são substâncias conjugadas e presentes em sistemas aromáticos; para a luz UV₃₆₅ nm, os compostos com fluorescência natural são revelados naturalmente; para solução de vanilina sulfúrica é especialmente sensível à presença de álcoois e terpenóides; para o complexo cloreto férrico, o Fe⁺³ complexa com algumas classes de compostos evidenciando a presença de fenóis e compostos enolizáveis; os vapores de I₂ se ligam com estruturas de aminoácidos, indóis, alcalóides, esteróides, purinas e lipídios complexando e revelando a placa de CCD com coloração marrom escura; a solução reveladora de permanganato de potássio mancha facilmente compostos oxidáveis, olefinas, alcinos e aromáticos; o verde de bromocresol mostra compostos de ácidos orgânicos; e para substâncias difíceis são observadas facilmente com a solução de ácido crômico, conforme descrito por Sherma; Fried, [40] e De Moraes et al. [41]. O ensaio para açúcares em CCD apresentou resultado positivo para glicose (açúcar redutor) e

sacarose (açúcar não redutor) com Rfs de 0,47 e 0,32 mm, e para os padrões de glicose e sacarose anidra com Rfs de 0,40 e 0,35 mm, respectivamente.

A atividade antioxidante do extrato floral de *S. ferrugineus* apresentou concentração de inibição (CI₅₀) de 22,74 ± 0,21 µg mL⁻¹. Quando comparado ao ácido ascórbico com CI₅₀ de 14,63 µg mL⁻¹, observou-se que o extrato floral apresentou eficiente taxa de redução do radical livre DPPH, entretanto, inferior ao ácido ascórbico como padrão de antioxidante de referência. O conteúdo de compostos fenólicos totais foi de 256,31 ± 0,49 mg EAG 100 g⁻¹ de extrato floral. Silva et al. [28], encontraram atividade antioxidante para o extrato do fruto de *S. ferrugineus*, redução do DPPH de 2,40 µg mL⁻¹.

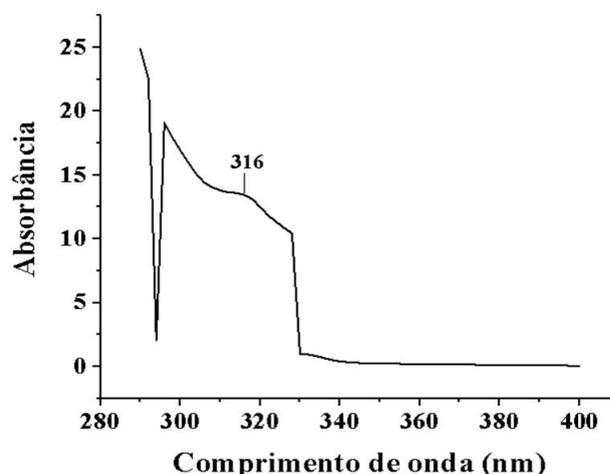


Figura 3. Espectroscopia no UV-Vis na determinação do comprimento de onda crítico UVA e UVB entre os comprimentos de ondas 290 a 400 nm. Fonte: Autores, 2020.

Na **Figura 3**, observa-se no comprimento de onda máximo em 316 nm para o extrato floral de *S. ferrugineus*, sendo este comprimento máximo para o tipo de absorção UVB. Provavelmente corresponde às classes dos

flavonoides e ou carotenoides entre 300 a 550 nm [29,31]. Ferreira et al. [32], sugere que bandas que ocorrem abaixo de 400 nm podem estar relacionadas à presença de α -tocoferol e/ou a alguns ácidos graxos.

Vários filtros solares com formulação sintética apresentam absorções em diferentes comprimentos de ondas. Entre as faixas de 290 a 320 nm são considerados filtros solares UVB e entre 320 a 400 nm são denominados UVA [30]. Goossens e Lepoittevin [42] discutem sobre a mesma relação entre os filtros solares sintéticos para os filtros solares a partir de extratos e óleos extraídos de vegetais. Observe ainda na Figura 3, que o extrato floral de *S. ferrugineus* apresenta atividade fotoprotetora,

onde sua composição possui moléculas com atividade semelhantes aos filtros solares sintéticos [30].

De acordo com Dos Santos e De Souza [43], Pinto et al. [44], e Narayanan et al. [45], o espectro de radiação ultravioleta solar apresenta sérios danos principalmente cutâneos como no fotoenvelhecimento e em tipos de cânceres de pele. O espectro apresenta uma variada ação, com danos actínicos agudos ou crônicos. O espectro UV apresenta subdivisão em três regiões UVA (entre 320 a 400 nm), UVB (entre 290 a 320 nm) e UVC (entre 100 a 290 nm).

Na **Figura 4**, está apresentado o processo hemolítico do extrato bruto floral de *S. ferrugineus* em 5 e 20 minutos de reação.

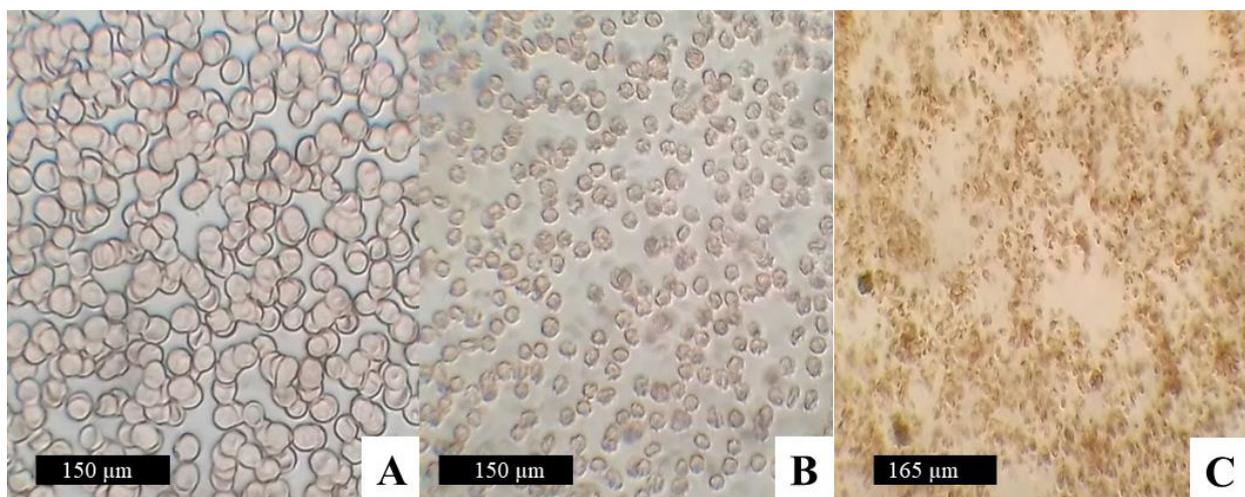


Figura 4. Micrografias óticas no processo de hemólise em concentrado de hemácias 5%. Em (A) hemácias normocíticas, em (B) hemácias início do processo de hemólise em solução do extrato bruto floral de *S. ferrugineus* após 5 minutos e em (C) processo hemolítico completo após 20 minutos. Fonte: Autores, 2020.

Na **Figura 4**, observa-se o tecido hematopoiético com hemácias normocíticas em (A), início da ação hemolítica promovida pelo extrato floral bruto sobre a membrana celular dos glóbulos sanguíneos em (B) com 5 minutos de reação, e em (C) glóbulos sanguíneos completamente destruídos com extravasamento de conteúdo intracelular (hemoglobina) com 20 minutos de reação. Na Figura 5, foi determinada a porcentagem hemolítica sobre diferentes concentrações de extrato floral de *S. ferrugineus*, onde foi possível determinar sua ação através da concentração do extrato *versus* porcentagem de hemólise.

Na **Figura 5**, está apresentado o ensaio hemolítico promovido pelo extrato floral de *S. ferrugineus* em diferentes concentrações ($\mu\text{g mL}^{-1}$).

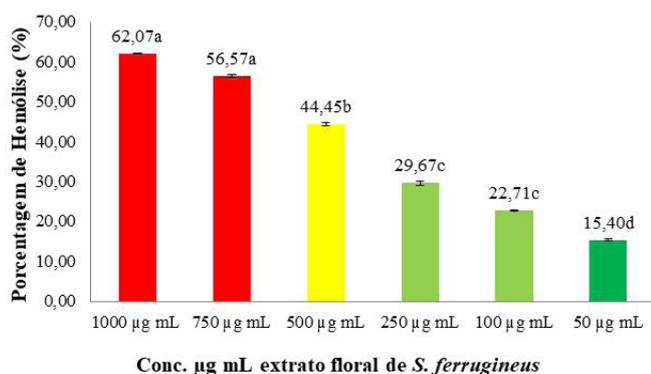


Figura 5. Ensaio de porcentagem de hemólise do extrato floral hidroetanólico 70% de *Styrax ferrugineus*. Cor da barra: vermelho (alta), amarelo (média), verde claro (moderada) e verde escuro (baixa). Médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Fonte: Autores, 2020.

Conforme se observa na Figura 5, o extrato hidroetanólico floral apresenta na maior concentração de $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$ com atividade de 62% considerada alta, entretanto, nas demais concentrações foi observado menor intensidade hemolítica, principalmente na menor concentração de $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ com 15%. Entretanto, o extrato demonstrou ser fracamente hemolítico quando comparados a outros estudos.

Devido a falta de dados para comparação destes resultados com o gênero *Styrax*, este estudo comparou com os resultados de outros extratos vegetais, como nos estudos de Ramos et al. [24], onde encontraram percentual de hemólise de 29,31% a 74,43% para a concentração de $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$ para os extratos hidroetanólicos 80% da casca e das folhas de *Erythrina velutina*. Siqueira et al. [46], encontraram atividade hemolítica de

17,83% para o extrato foliar de *Microgramma vaccinnifolia* para a concentração de $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$. Já Sousa et al. [47], os pesquisadores observaram atividade hemolítica de 63,88% na maior concentração usual de $400 \mu\text{g mL}^{-1}$ para o extrato hidroetanólico 70% das cascas do caule de *Ziziphus joazeiro*. Conforme Ramos et al. [24] e Nofiani et al. [48], nos processos hemolíticos acima de 40% são considerados altos, sendo os extratos altamente hemolíticos. Para Ramos et al. [24], Veiga Júnior et al. [49], as plantas medicinais apresentam algum grau de citotoxicidade, sendo um problema de saúde pública, por apresentar diversos efeitos, como automedicação, uso excessivo da droga vegetal e interações com outras drogas. Algumas classes de fitoquímicos como saponinas e terpenos apresentam grau elevado de atividade citotóxica devido à ação tensoativa em interagir com a membrana dos eritrócitos, causando deformação da membrana e extravasamento do conteúdo hemoglobínico [50]. Ainda, Kalaivani et al. [51], complementam que, o ensaio hemolítico é de grande importância para se conhecer o comportamento do extrato vegetal ou de substância sintética quanto ao seu potencial citotóxico na mensuração sobre a lesão na membrana plasmática das células com a formação de poros ou ruptura total.

Conclusão

Este estudo avaliou o extrato hidroetanólico floral de *Styrax ferrugineus* quanto as suas características físico-químicas, fitoquímicas e bioativas, sendo este, o primeiro estudo para o órgão floral desta espécie.

Os resultados obtidos apresentaram o extrato floral rico em compostos fitoquímicos pelos testes qualitativos e por cromatografia em camada delgada, bem como atividade de fotoproteção, antioxidante e citotóxica. Novos estudos deveram ser realizados avaliando quantitativamente os compostos isolados do extrato hidroetanólico floral dentre outras análises *in vitro* quanto as possíveis atividades biológicas e farmacológicas, podendo assim, desenvolver medicamentos e possíveis agentes biológicos de uso agrícola e de biotecnologia.

Referências bibliográficas

- [1] FRITSCH PW, CRUZ BC, SIMISON WB, CAMPBELL AJ, HARRIS JK. Early phylogenetic divergence of Gynodioecious species warrants the recognition of subséries in *Styrax* series *Valvatae*. **Systematic Botany**, v. 40, n. 4, p. 1081-1092, 2015.
- [2] PAULETTI PM, ARAÚJO AR, YOUNG MCM, GIESBRECHT AM, BOLZANI VS. nor-Lignans from the leaves of *Styrax ferrugineus* (Styracaceae) with antibacterial and antifungal activity. **Phytochemistry**, v. 55, n. 6, p. 597-601, 2000.
- [3] TIMMERS MA, GUERRERO-MEDINA JL, ESPOSITO D, GRACE MH, PAREDES-LÓPEZ O, GARCÍA-SAUCEDO PA, LILA MA. Characterization of phenolic compounds and antioxidant and anti-inflammatory activities from Mamuyo (*Styrax ramirezii* Greenm.) fruit. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 63, p. 10459-10465, 2015.
- [4] SOUZA MC, HABERMANN G. Non-destructive equation to estimate the leaf area of *Styrax pohlilii* and *Styrax ferrugineus*. **Brazilian Journal of Biology**, v. 74, n. 1, p. 222-225, 2014.
- [5] MARUYAMA PK, CUSTÓDIO LN, OLIVEIRA PE. When hummingbirds are the thieves: visitation effect on the reproduction of Neotropical snowbell *Styrax ferrugineus* Ness & Mart (Styracaceae). **Acta Botanica Brasilica**, v. 26, n. 1, p. 58-64, 2012.
- [6] SILVA TA, POLO EM, HENRIQUE CY, ALVES OJA, NICOLELLA HD, GIMENEZ VMM, et al. *Styrax camporum* and *S. ferrugineus* fruits: norneolignans, antioxidant and cytotoxic activities. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v. 6, n. 11, p. 75-80, 2016.
- [7] DE OLIVEIRA PF, FURTADO RA, ACÉSIO NO, LEANDRO LF, MONTANHEIRO G, DE PÁDUA FC, CORRÊA MB, BRAGUINI CG, PAULETTI PM, TAVARES DC. *In vivo* protective activity of *Styrax camporum* hydroalcoholic extract against genotoxicity induced by doxorubicin and methyl methanesulfonate in the micronucleus and comet assays. **Planta Med**, v. 78, p. 1899-1905, 2012.
- [8] BRAGUINI CG, BERTANHA CS, GONÇALVES UO, MAGALHÃES LG, RODRIGUES V, MELLEIRO GIMENEZ VM, GROppo M, SILVA ML, CUNHA WR, JANUÁRIO AH, PAULETTI PM. Schistosomicidal evaluation of flavonoids from two species of *Styrax* against *Schistosoma mansoni* adult worms. **Pharmaceutical Biology**, v. 50, n. 7, p. 925-929, 2012.

- [9] TELES HL, HEMERLY JP, PAULETTIT PM, PANDOLFI JR, ARAUJOT AR, VALENTINI SR, YOUNG MC, BOLZANI VS, SILVA DH. Cytotoxic lignans from the stems of *Styrax camporum* (Styracaceae). **Natural Product Research**, v. 19, p. 319-323, 2005.
- [10] OLIVEIRA AKM, PEREIRA KCL, MULLER JAI, MATIAS R. Análise fitoquímica e potencial alelopático das cascas de *Pouteria ramiflora* na germinação de alface. **Horticultura Brasileira**, v. 32, p. 41-47, 2014.
- [11] ALVES MM, PEREIRA AMS, PEREIRA OS, FRANÇA SC, BERTONI BW. Caracterização química de tinturas e extratos secos de plantas medicinais do Cerrado por cromatografia em camada delgada. **Scientia Plena**, v. 7, n. 12, p. 9901, 2011.
- [12] FRAZEN FL, FRIES LLM, DE OLIVEIRA MSR, LIDÓRIO HF, MENEGAES JF, LOPES SJ. 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.
- [13] 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, n. 1, p. e98, 2019.
- [14] ALARCÓN MET, CONDE CG, MÉNDEZ GL. Extracción, caracterización y actividad antioxidante del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill. **Revista Cubana de Farmacia**, v. 52, n. 1, p. e266, 2019.
- [15] GONÇALVES J, SILVA GCO, CARLOS LA. Compostos bioativos em flores comestíveis. **Perspectivas Online: Biológicas & Saúde**, v. 9, n. 29, p. 11-20, 2019.
- [16] GARCÍA J HG, NARANJO BDC, SALAZAR MTJ, SERNA DMO. 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.
- [17] MENEZES FILHO ACP, SOUSA WC, CASTRO CFS, DE SOUZA LF. Composição química do óleo essencial das flores de *Myrcia guianensis*. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 24, n. 4, p. e892, 2019.
- [18] MENEZES FILHO ACP, CASTRO CFS. Análise fitoquímica preliminar de extratos foliares de Orchidaceas (*Cattleya walkeriana* Gardner.), (*Encyclia linearifolioides* Kraenzl.) e (*Polystachya concreta* (Jacq.) Garay & H. R. Sweet). **Ensaio e Ciências**, v. 23, n. 1, p. 16-23, 2019.
- [19] RODRIGUES IMC, SOUZA FILHO APS, FERREIRA FA. Estudo fitoquímico de *Senna alata* por duas metodologias. **Revista Planta Daninha**, v. 27, n. 3, p. 507-513, 2009.
- [20] SIMÕES RC, DE ALMEIDA SSMS. Estudo fitoquímico de *Bauhinia forficata* (Fabaceae). **Biota Amazônia**, v. 5, n. 1, p. 27-31, 2015.
- [21] MENEZES FILHO ACP, CORDEIRO DA, OLIVEIRA FILHO JG, CASTRO CFS. Biometria do fruto e avaliações físico-química e antioxidante da farinha de calabura. **Revista Agrarian**, v. 13, n. 49, p. 421-431, 2020.
- [22] SILVA RN, MONTEIRO VN, ALCANFOR JD'AX, ASSIS EM, ASQUIERI ER. 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.
- [23] DE SOUSA RG, LIMA ADS, DE LIMA, EN. Incremento da atividade fotoprotetora e antioxidante de cosméticos contendo extratos vegetais da Caatinga. **Brazilian Journal of Natural Sciences**, v. 3, n. 1. p. 225-230, 2020.
- [24] RAMOS RM, FEITOSA JM, LIMA VS, SANTOS RC, DE OLIVEIRA AM, SOARES LAL, DA SILVA GC. Estudo comparativo da composição fitoquímica, citotoxicidade e potenciais antioxidante e fotoprotetora da casca e folha de *Erythrina velutina*. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 6, p. 33140-33158, 2020.

- [25] DACIE JV, LEWIS SM, CATOVSKY D. Blood cell cytochemistry and supplementary techniques. *Practical Hematology*, Churchill Livingstone, Edinburgh, p. 120-148, 1975.
- [26] LOEUILLE B, FRITSCH P, PIRANI JR. Flora da serra do Cipó, Minas Gerais: Styracaceae. **Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo**, v. 26, n. 2, p. 175-182, 2008.
- [27] SARAIVA LC, CESAR O, MONTEIRO R. Biologia da polinização e sistema de reprodução de *Styrax camporum* Pohl. e *S. ferrugineus* Nees et Mart. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 11, p. 71-80, 1988.
- [28] SILVA TA, POLO EM, HENRIQUE CY, ALVES OJA, NICOLELLA HD, GIMENEZ VMM, ARAÚJO ARB, TAVARES DC, ANDRADE E SILVA ML, CUNHA WR, JANUÁRIO AH, PAULETTI PM. *Styrax camporum* and *S. ferrugineus* fruits: norneolignans, antioxidant and cytotoxic activities. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v. 6, n. 11, p. 75-80, 2016.
- [29] BERNARDI F, NICOLINI KP, 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.
- [30] VIOLANTE IMP, SOUZA IM, VENTURINI CL, RAMALHO AFS, SANTOS RAN, FERRARI M. Avaliação in vitro da atividade fotoprotetora de extratos vegetais do Cerrado de Mato Grosso. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 2A, p. 452-457, 2009.
- [31] BOBIN MF, RAYMOND M, MARTINI MC. UVA/UVB absorption properties of natural products. **Cosmetic & Toiletries Journal**, v. 109, p. 63-78, 1994.
- [32] FERREIRA LS, SANTOS MRP, FIGUEIRA LC, NAGATA KMR, REMÉDIOS CMR, SOUSA FF. Caracterização de óleos e resinas vegetais da Amazônia por espectroscopia de absorção. **Scientia Plena**, v. 13, n. 1, p. 012704, 2017.
- [33] LORENZI H. 1982. Árvores Brasileiras. Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora.
- [34] RODRIGUES VEG, DE CARVALHO DA. Florística de plantas medicinais nativas de remanescentes de floresta estacional semidecidual na região do alto Rio Grande, Minas Gerais. **Cerne**, v. 14, p. 93-112, 2008.
- [35] BRAGUINECG, BERTANHA CS, GONÇALVES UO, MAGALHÃES LG, RODRIGUES V, GIMENEZ VMM, GROppo M, ANDRADE E SILVA ML, CUNHA WR, JANUÁRIO AH, PAULETTI PM. Schistosomicidal evaluation of flavonoids from two species of *Styrax* against *Schistosoma mansoni* adult worms. **Pharmaceutical Biology**, v. 50, n. 7, p. 925-929, 2012.
- [36] DE ALMEIDA SP, PROENÇA CEB, SANO SM, RIBEIRO JF. Cerrado espécies vegetais úteis. Planaltina: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. 1998.
- [37] DE OLIVEIRA PF, DAMASCENO JL, BERTANHA CS, ARAÚJO AR, PAULETTI PM, TAVARES DC. Study of the cytotoxic activity of *Styrax camporum* extract and its chemical markers, egonol and homoegonol. **Cytotechnology**, v. 68, p. 1597-1602, 2016.
- [38] LUÍS NB, BILÓRIA JS, MASSUIA GQ, CHESCA AC, CUNHA LCS. Teste microbiológico do extrato bruto da planta *Styrax ferrugineus*. UNIUBE. In: 8º EnTec – Encontro de Tecnologia da UNIUBE, 28 a 30 de outubro de 2014, Uberaba, MG, Brasil.
- [39] PAULETTI PM, ARAÚJO AR, YOUNG MCM, GIESBRECHT AM, BOLZANI VD. nor-Lignans from the leaves of *Styrax ferrugineus* (Styracaceae) with antibacterial and antifungal activity. **Phytochemistry**, v. 55, p. 597-601, 2000.

- [40] SHERMA, J.; FRIED, B. Handbook of thin-layer chromatography. 3th, Edition, Revised and Expandend. 2005. p. 1330.
- [41] 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.
- [42] GOOSSENS A, LEPOITTEVIN JP. Allergie de contact aux cosmétiques et aux composants de parfums: Aspects cliniques, chimiques et diagnostiques nouveaux. **Revue Française D'allergologie et D'immunologie Clinique**, v. 43, p. 294-300, 2003.
- [43] DOS SANTOS CMS, DE SOUZA PHG. Avaliação da atividade fotoprotetora da curcumina. **Perspectivas da Ciência e Tecnologia**, v. 9, p. 26-45, 2017.
- [44] PINTO JES, MICKOS TB, SILVA KF, SARTOR CFP, FELIPE DF. Estudo da atividade fotoprotetora de diferentes extratos vegetais e desenvolvimento de formulação de filtro solar. In: Encontro Internacional de Produção Científica de Cesumar, 8, 2013, Maringá. Anais Eletrônicos, Maringá, Ed. CESUMAR.
- [45] NARAYANAN DL, SALADI RN, FOX JL. Ultraviolet radiation and skin cancer. **International Journal of Dermatology**, v. 49, p. 978-986, 2010.
- [46] SIQUEIRA JS, FERREIRA LRD, LIMA VS, SANTOS RC, OLIVEIRA AM, SOARES LAL, SILVA GC. Prospecção fitoquímica e avaliação dos potenciais citotóxico e antioxidante do extrato das folhas de *Microgramma vaccinnifolia*. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 4, p. 20318-20331, 2020.
- [47] SOUSA IJO, SILVA MCP, LEOPOLDINO GL, AGOSTINHO LS. 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.
- [48] 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.
- [49] VEIGA JÚNIOR VF, PINTO A, MACIEL MAM. Plantas Medicinais: cura segura? **Química Nova**, v. 28, n. 3, p. 519-528, 2005.
- [50] SIMÕES CMO, SCHENKEL EP, MELLO JCP, MENTZ, LA, PETROVICK PR. Farmacognosia do produto natural ao medicamento. Artmed, 1ª Ed., 2016. 470 p.
- [51] KALAIVANI T., RAJASEKARAN C, SUTHINDHIRAN K, MATHEW L. Free radical scavenging cytotoxic and hemolytic activities from leaves of *Acacia nilotica* (L.) Wild. Ex Delile subsp. *indica* (Benth.) Brenan. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2011, p. 1-8, 2011.