



UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
ESCOLA DE FARMÁCIA



MARIA GABRIELE FREIRE MARTINS

ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO EXTRATO ETANÓLICO DA *Casearia sylvestris*

Ouro Preto
2025

MARIA GABRIELE FREIRE MARTINS

ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO EXTRATO ETANÓLICO DA *Casearia sylvestris*

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Farmácia pela Universidade Federal de Ouro Preto.

Orientadora: Profa. Dra. Dênia Antunes Saúde Guimarães

Ouro Preto

2025

SISBIN - SISTEMA DE BIBLIOTECAS E INFORMAÇÃO

M386a Martins, Maria Gabriele Freire.
Atividade antioxidante do extrato etanólico da *Casearia sylvestris*.
[manuscrito] / Maria Gabriele Freire Martins. - 2025.
66 f.: il.: color., tab.. + Quadro.

Orientadora: Profa. Dra. Dênia Antunes Saúde Guimarães.
Monografia (Bacharelado), Universidade Federal de Ouro Preto.
Escola de Farmácia. Graduação em Farmácia .

1. *Casearia sylvestris*. 2. Compostos Químicos. 3. Radicais livres (Química). 4. Antioxidantes. I. Guimarães, Dênia Antunes Saúde. II. Universidade Federal de Ouro Preto. III. Título.

CDU 633.8

Bibliotecário(a) Responsável: Soraya Fernanda Ferreira e Souza - SIAPE: 1.763.787



FOLHA DE APROVAÇÃO

Maria Gabriele Freire Martins

Atividade antioxidante do extrato etanólico de *Casearia sylvestris*

Monografia apresentada ao Curso de Farmácia da Universidade Federal de Ouro Preto como requisito parcial para obtenção do título de Farmacêutico

Aprovada em 04 de setembro de 2025

Membros da banca

Dra. Dênia Antunes Saúde Guimarães - Orientadora (Universidade Federal de Ouro Preto)
Dra. Rafaela Cunha Matosinhos - (Universidade Federal de Ouro Preto)
Dra. Zilma Schimith Ferraz Filha - (Instituto Federal - Campus Ouro Preto)

Dra. Dênia Antunes Saúde Guimarães, orientadora do trabalho, aprovou a versão final e autorizou seu depósito na Biblioteca Digital de Trabalhos de Conclusão de Curso da UFOP em 04/09/2026



Documento assinado eletronicamente por **Denia Antunes Saude Guimaraes, PROFESSOR DE MAGISTERIO SUPERIOR**, em 29/09/2025, às 14:34, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.ufop.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0986124** e o código CRC **3643FBD3**.

Encerrar uma fase é dar espaço para um novo capítulo. Continue escrevendo sua história com determinação e paixão.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me conceder força, sabedoria e me capacitar para enfrentar todos os desafios da jornada acadêmica. Sem Ele, Teu amor e graça, nada disso seria possível.

Aos meus pais, Milton e Waléria, por todo amor, por sempre acreditarem no meu potencial, me ensinarem o valor da dedicação e da perseverança e por me permitirem e incentivarem a viver as oportunidades sem maiores preocupações. À minha irmã, Marianne, por ser minha grande companhia, amiga e apoiadora, ter você comigo torna a vida ainda mais especial. À Biboca, minha alma gêmea canina, e à Xixa, por me mostrarem com o amor mais puro e sincero que o afeto verdadeiro não precisa de palavras, apenas de lambeijos e um rabinho abanando. Amo vocês!

À minha família Freire e Martins, pelo incentivo constante, e à minha prima Ana Beatriz, por me encorajar e me fazer sentir parte do seu mundo em Portugal.

À Universidade Federal de Ouro Preto e a todos os professores e funcionários da Escola de Farmácia, por compartilharem conhecimentos e contribuírem para a minha formação através do ensino público de qualidade. À Universidade do Porto pela experiência cultural que me fez crescer de maneiras inimagináveis.

À Dênia, minha orientadora, e a toda equipe do LAPLAMED, em especial Andressa, Isabela, Rafaela, Daniela, Anna Tereza, Aureliana e Ana Carolina, pela paciência, disponibilidade, ensinamentos e por terem me guiado e ajudado durante todo o desenvolvimento da pesquisa. A participação de vocês foi essencial para que este trabalho se tornasse realidade, e a entrega é a vitória de um grande desafio.

A Ouro Preto e aos amigos que caminharam ao meu lado durante essa trajetória, pelos momentos de compartilhamentos e risadas que tornaram este percurso mais leve e significativo. À República Mandala, por me acolher e me permitir fazer parte de uma história tão linda, eu não teria lembranças tão incríveis se não fosse por vocês. Às minhas amigas, Chamosas e KAMG, pela cumplicidade e vibração em cada conquista, em especial à Pac (Ana Clara), pelas tardes de estudo e incentivo para continuar enfrentando os desafios.

Por fim, a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para que eu chegasse até aqui, obrigada por cada gesto, cada palavra e cada demonstração de carinho.

RESUMO

Os radicais livres são espécies químicas altamente reativas que podem ser gerados no organismo por processos fisiológicos ou por fatores externos do ambiente. Quando produzidos em excesso, desencadeiam o estresse oxidativo, capaz de contribuir para o desenvolvimento de doenças crônicas e do processo de envelhecimento. Os antioxidantes são os agentes responsáveis por neutralizar esses radicais, podendo ser de origem sintética ou natural, sendo importantes aliados na prevenção dos danos oxidativos. A *Casearia sylvestris* é uma planta nativa do Brasil, popularmente conhecida como guaçatonga, com ampla utilização na medicina popular devido às suas propriedades anti-inflamatória, antimicrobiana, cicatrizante e antioxidante, atribuídas em grande parte, à presença de compostos fenólicos e terpenos. Desta forma, o trabalho teve como objetivo obter o perfil cromatográfico do extrato etanólico da *Casearia sylvestris*, avaliar sua atividade antioxidante e dosar os compostos fenólicos totais presentes nesse extrato. O perfil cromatográfico foi obtido por CLAE-DAD, entretanto não foi possível realizar a identificação precisa dos metabólitos secundários. A avaliação da atividade antioxidante foi realizada pelos métodos de captura dos radicais DPPH e ABTS. O conteúdo fenólico total foi determinado pelo método de Folin-Ciocalteu. No método do DPPH, o valor obtido de CE50 para o extrato etanólico da *Casearia sylvestris* foi de 135,00 µg/mL e 32,58% de descoloração; e, no método do ABTS, o valor obtido de TEAC foi de 0,2715 mM. No método de Folin-Ciocalteu, o extrato etanólico apresentou um teor de compostos fenólicos menor em relação a resultados registrados na literatura para a mesma espécie vegetal. Os achados deste estudo demonstram que o extrato etanólico da *C. sylvestris* apresentou relevante capacidade antioxidante, sendo seu efeito provavelmente relacionado aos compostos fenólicos e terpenos, reforçando sua importância como possível fonte de antioxidante natural e seu potencial como novo insumo farmacêutico ativo vegetal antioxidante.

Palavras chaves: *Casearia sylvestris*; Antioxidantes; Extrato etanólico; DPPH; ABTS; Conteúdo fenólico.

ABSTRACT

Free radicals are highly reactive chemical species that can be generated in the body by physiological processes or by external environmental factors. When produced in excess, they trigger oxidative stress, which can contribute to the development of chronic diseases and the aging process. Antioxidants are agents responsible for neutralizing these radicals. They can be synthetic or natural and are important allies in the prevention of oxidative damage. *Casearia sylvestris* is a native plant from Brazil, commonly known as guaçatonga, widely used in folk medicine due to its anti-inflammatory, antimicrobial, healing, and antioxidant properties, which are largely attributed to the presence of phenolic compounds and terpenes. Thus, the objective of this study was to obtain the chromatographic profile of the ethanolic extract of *Casearia sylvestris*, evaluate its antioxidant activity, and measure its total phenolic content. The chromatographic profile was obtained by HPLC-DAD, however, it was not possible to accurately identify the secondary metabolites. The antioxidant activity was evaluated by the DPPH and ABTS radical scavenging methods. The total phenolic content was determined using the Folin-Ciocalteu method. In the DPPH method, the EC50 value obtained for the ethanolic extract of *Casearia sylvestris* was 135.00 µg/mL and 32.58% discoloration; and in the ABTS method, the TEAC value obtained was 0.2715 mM. In the Folin-Ciocalteu method, the ethanolic extract showed a lower phenolic compound content compared to results reported in the literature for the same plant species. The findings of this study demonstrate that the ethanolic extract of *C. sylvestris* has significant antioxidant capacity, with its effect likely related to phenolic compounds and terpenes, reinforcing its importance as a possible source of natural antioxidants and its potential as a new active pharmaceutical ingredient with antioxidant properties.

Keywords: *Casearia sylvestris*; Antioxidants; Ethanolic extract; DPPH; ABTS; Phenolic contents.

LISTA DE ABREVIATURAS

Abs.: Absorbância;

ABTS: Ácido 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico);

ABTS•+: Radical do ácido 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico);

Anvisa: Agência Nacional de Vigilância Sanitária;

ARR: Atividade de retirada de radical;

As: Arsênio;

BHA: Hidroxianisol butilado;

BHT: Hidroxitolueno butilado;

CAT: Catalase;

Cd: Cádmio;

CE50: Concentração efetiva capaz de reduzir 50% do radical;

CLAE-DAD: Cromatografia à Líquido de Alta Eficiência acoplada a detector de arranjo de diodos;

Cl: Cloro;

Cr: Cromo;

DPPH: 2,2-difenil-1-picrilhidrazil;

EPM: Erro padrão da média;

EROs: Espécies reativas de oxigênio;

Fe: Ferro;

FM A: Fase Móvel A;

FM B: Fase Móvel B;

H₂ O₂ : Peróxido de hidrogênio;

Hg: Mercúrio;

ICEB: Instituto de Ciências Exatas e Biológicas;

IFAVs: Insumos ativos vegetais;

Mn: Manganês;

Nox: NADPH oxidase;

O₂ : Oxigênio molecular;

O₂^{-•}: Ânion superóxido;

OMS: Organização Mundial da Saúde;

PPG CiPharma/UFOP: Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da UFOP;

Rename: Relação Nacional de Medicamentos Essenciais;

RENISUS: Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS;

Sb: Antimônio;

Sc: Escândio;

SOD: Superóxido dismutase;

TEAC: Atividade Antioxidante Equivalente ao Trolox;

Trolox: Ácido 6-hidroxi-2,5,7-8-tetrametilcromano-2-carboxílico;

UFOP: Universidade Federal de Ouro Preto;

UV: Ultravioleta.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação ilustrativa da ação dos antioxidantes sob os radicais livres.....	18
Figura 2 - <i>Casearia sylvestris</i> , com destaque para o tronco.....	19
Figura 3 - Ramo e folhas da <i>C. sylvestris</i>	20
Figura 4 - Inflorescência da <i>C. sylvestris</i>	20
Figura 5 - A) Limpeza de EROs (R•) por flavonoides. B) Sítios de ligação para metais.....	22
Figura 6 - Estrutura química geral do diterpeno clerodânico.	23
Figura 7 - Estruturas químicas de alguns diterpenos presentes na <i>Casearia sylvestris</i>	24
Figura 8 - A) Folhas, B) arbusto e C) árvore da <i>Casearia sylvestris</i>	34
Figura 9 - Exsicata da <i>Casearia sylvestris</i> depositada no Herbário José Badini-OUPR da UFOP	35
Figura 10 - A) Processo de percolação do material vegetal e B) Extrato etanólico após a retirada do solvente extrator por rotaevaporação.....	36
Figura 11 - Esquema da metodologia para a determinação do conteúdo fenólico do extrato etanólico de <i>Casearia sylvestris</i>	38
Figura 12 - Reação do radical livre DPPH com molécula doadora de Hidrogênio	40
Figura 13 - Esquema da metodologia do ensaio para avaliação da atividade antioxidante do extrato etanólico de <i>Casearia sylvestris</i> pelo método DPPH.....	41
Figura 14 - Estabilização do radical ABTS•+ por um antioxidante.....	43
Figura 15 - Esquema da metodologia do ensaio para avaliação da atividade antioxidante do extrato etanólico de <i>Casearia sylvestris</i> pelo método ABTS	43
Figura 16 - Perfil cromatográfico do extrato etanólico das folhas da <i>Casearia sylvestris</i> Swartz e espectros no UV para os picos 1, 2, 3 e 4	45
Figura 17 - Soluções de ácido gálico: tubo 1: 50 µg/mL, tubo 2: 40 µg/mL, tubo 3: 30 µg/mL, tubo 4: 20 µg/mL, tubo 5: 10 µg/mL.....	46
Figura 18 - Curva analítica padrão do ácido gálico.	46
Figura 19 - Tubo contendo o extrato etanólico de <i>Casearia sylvestris</i> 100µg/ml.....	47

Figura 20 - Descoloramento do radical DPPH após ser neutralizado por substância antioxidante.....	48
Figura 21 - Resultado obtido para o extrato etanólico de <i>Casearia sylvestris</i> nas concentrações de 100, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20 e 10 µg/mL.....	50
Figura 22 - Descoloramento do radical ABTS após ser neutralizado por substância antioxidante.....	52
Figura 23 - Curva analítica padrão do Trolox.....	52
Figura 24 - Resultado obtido para o extrato etanólico de <i>Casearia sylvestris</i> nas concentrações 100 (Tubo1), 70 (Tubo 2), 40 (Tubo 3), 20 (Tubo 4) e 10 (Tubo 5) µg/mL.....	53

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Condições para obtenção dos perfis cromatográficos do extrato etanólico da <i>Casearia sylvestris</i>	37
Tabela 2 - Atividade antioxidante do extrato etanólico de <i>Casearia sylvestris</i> pelo método de captura do radical DPPH	49
Tabela 3 - Concentrações dos extratos etanólico de <i>Casearia sylvestris</i> e quercetina em µg/mL, que reduzem 50% do radical livre (CE50) DPPH	50
Tabela 4 - Resumo dos resultados obtidos para DPPH para a quercetina, extrato etanólico de <i>Casearia sylvestris</i> e extratos da literatura Benelli (2014)	51
Tabela 5 - Resumo dos resultados obtidos nos experimentos realizados com o extrato etanólico de <i>C. sylvestris</i> e com as substâncias padrões de referência	54

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Atividades etnofarmacológicas apresentadas para a <i>Casearia sylvestris</i>	26
Quadro 2 - Atividades biológicas apresentadas para os extratos da <i>Casearia sylvestris</i>	27

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	17
2.1 Espécies reativas de oxigênio (EROs), antioxidantes e estresse oxidativo ...	17
2.2 <i>Casearia sylvestris</i>	18
2.2.1 Metabólitos secundários	20
2.2.2 Atividades biológicas	24
2.2.3 Toxicidade	28
3. JUSTIFICATIVA.....	30
4. OBJETIVOS.....	31
4.1 Objetivo geral.....	31
4.2 Objetivos específicos	31
5. MATERIAIS E MÉTODOS	32
5.1 Materiais	32
5.2 Equipamentos	33
5.3 Coleta da espécie vegetal.....	33
5.4 Identificação do material vegetal.....	34
5.5 Estabilização do material vegetal.....	35
5.6 Preparo do extrato etanólico da <i>Casearia sylvestris</i>	35
5.7 Obtenção da impressão digital do extrato etanólico por CLAE-DAD	36
5.8 Conteúdo fenólico total	37
5.8.1 Preparo das soluções	37
5.8.1.1 Solução de ácido gálico	37
5.8.1.2 Solução de carbonato de sódio 10%.....	37
5.8.1.3 Solução do extrato	37
5.8.2 Metodologia - Avaliação do conteúdo fenólico total.....	38
5.9 Avaliação da atividade antioxidante <i>in vitro</i> do extrato etanólico pelo método de captura do radical DPPH.....	39
5.9.1 Preparo das soluções	39

5.9.1.1 Solução de DPPH.....	39
5.9.1.2 Solução dos extratos para o teste do DPPH	39
5.9.1.3 Solução de quercetina para o DPPH.....	39
5.9.2 Metodologia - Avaliação pelo método de captura do radical DPPH.....	39
5.10 Avaliação da atividade antioxidante <i>in vitro</i> do extrato etanólico pelo método de captura do radical ABTS	41
5.10.1 Preparo das soluções	41
5.10.1.1 Solução estoque de ABTS 7 mM.....	41
5.10.1.2 Solução de persulfato 140 mM.....	42
5.10.1.3 Preparo do radical ABTS•+.....	42
5.10.1.4 Solução de trolox para o teste do ABTS.....	42
5.10.1.5 Solução do extrato para o teste do ABTS.....	42
5.10.2 Metodologia - Avaliação pelo método de captura do radical ABTS	42
5.11 Análise estatística	44
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
6.1 Rendimento do extrato.....	45
6.2 Impressão digital (perfil cromatográfico) do extrato por CLAE-DAD	45
6.3 Avaliação da quantificação do conteúdo fenólico do extrato.....	46
6.4 Avaliação da atividade antioxidante pelo método de captura do radical DPPH.....	48
6.5 Avaliação da atividade antioxidante pelo método de captura do radical ABTS.....	51
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	54
8. CONCLUSÃO	55
9. REFERÊNCIAS.....	56

1. INTRODUÇÃO

Radicais livres são átomos ou moléculas caracterizadas por um elétron desemparelhado em sua camada de valência, resultando em um número ímpar de elétrons. Essas moléculas são geradas como subprodutos de reações enzimáticas do nosso organismo e, devido ao seu curto tempo de meia-vida e elevada reatividade, interagem com outras moléculas na busca pela estabilidade, o que frequentemente leva à oxidação, tornando-as instáveis (Halliwell e Gutteridge, 1990; Tumilaar, 2024).

Os agentes antioxidantes desempenham um papel essencial ao neutralizar radicais livres e minimizar os danos oxidativos que eles provocam, contribuindo para a preservação da integridade celular (Valko *et al.*, 2007; Junior *et al.*, 2017). Esses agentes podem ser de origem natural, como as vitaminas C, E e A, carotenoides e flavonoides, ou de origem sintética, como a N-acetilcisteína, trolox, hidroxianisol butilado (BHA) e hidroxitolueno butilado (BHT) (Oliveria *et al.*, 2009).

O estresse oxidativo, causado pelo desequilíbrio entre radicais livres e antioxidantes, está relacionado ao desenvolvimento de diversas doenças crônicas e degenerativas, como aterosclerose, diabetes, doenças cardiovasculares, catarata e ao processo de envelhecimento (Sies, 1993; Junior *et al.*, 2017; Młynarska *et al.*, 2024).

Embora os radicais livres sejam produzidos em processos essenciais ao metabolismo humano, como fagocitose, produção de energia e crescimento celular, seu excesso pode causar danos significativos, incluindo alterações em proteínas de membranas, DNA, carboidratos e peroxidação lipídica (Barreiros *et al.*, 2006). Por isso, a busca por plantas antioxidantes é de grande relevância para combater os efeitos prejudiciais dessas moléculas.

A *Casearia sylvestris*, popularmente conhecida como "guaçatonga" é uma planta nativa de diversas regiões do Brasil. Anteriormente pertencia à família Flacourtiaceae, mas atualmente pertence à família Salicaceae (Stevens, 2001). É caracterizada por possuir tronco pequeno de coloração pardo-escuro, sendo um arbusto, subarbusto ou árvore que atinge uma altura entre 3 e 4 metros (Alonso, 2007). Devido ao grande uso na medicina popular, a *C. sylvestris* é uma das plantas citadas na "Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS" (RENISUS), que destaca 71 espécies de grande relevância terapêutica no Brasil (BRASIL, 2021).

Além disso, tem atraído a atenção de pesquisadores devido às suas propriedades farmacológicas promissoras, como: antiulcerosa (Basile *et al.*, 1990; Fialho *et al.*, 2010), anti-inflamatória (Gusman *et al.*, 2015), diurética, antisséptica, cicatrizante e anestésica tópica (Alonso, 2007).

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Espécies reativas de oxigênio (EROs), antioxidantes e estresse oxidativo

Os radicais livres são espécies altamente reativas por apresentarem um elétron livre capaz de interagir com outras moléculas do organismo. A sua formação é considerada normal e faz parte do desenvolvimento do nosso metabolismo (Martelli e Nunes, 2014).

A mitocôndria é apontada como a maior fonte de produção dessas espécies. Os radicais são gerados durante o processo de fosforilação oxidativa, que ocorre na cadeia transportadora de elétrons mitocondrial, podendo haver o escape de elétrons que reagem diretamente com o oxigênio molecular (O_2), formando o ânion superóxido ($O_2^- \bullet$), um dos radicais livres mais comuns no meio intracelular (Hekimi *et al.*, 2011). Além das mitocôndrias, o sistema imunológico também desempenha um papel significativo. Algumas células de defesa, como neutrófilos e macrófagos, expressam a enzima NADPH oxidase (Nox), que atua na geração do ânion superóxido. Essa produção está relacionada à destruição dos patógenos invasores, funcionando como uma estratégia de defesa do organismo contra infecções (Martelli e Nunes, 2014).

Outros fatores externos também podem contribuir para a formação dos radicais, como a poluição ambiental, consumo de pesticidas em grandes quantidades, radiação UV (Herling *et al.*, 2006), estresse, excesso de exercícios físicos, tabagismo, entre outros (Carocho e Ferreira, 2013).

Os antioxidantes são substâncias capazes de neutralizar as espécies reativas de oxigênio (EROs), contribuindo para a manutenção do equilíbrio redox no organismo (Figura 1). Esses agentes podem ser produzidos de forma endógena, de maneira enzimática, como é o caso da enzima superóxido dismutase (SOD), que converte o ânion superóxido ($O_2^- \bullet$), altamente reativo e tóxico, em peróxido de hidrogênio (H_2O_2). Posteriormente, esse composto é também degradado por outras enzimas antioxidantes, como a catalase (CAT) e a glutathiona peroxidase, resultando na formação de água e oxigênio, substâncias inofensivas ao organismo (Vasconcelos *et al.*, 2007). Além disso, os antioxidantes também podem ser obtidos de forma exógena, por meio da alimentação, especialmente em frutas e vegetais ricos em vitaminas, minerais e compostos bioativos. Exemplos incluem a cereja, manga, laranja, cenoura, cebola, morango e espinafre, todos reconhecidos por seu potencial antioxidante natural (Oliveira *et al.*, 2009).

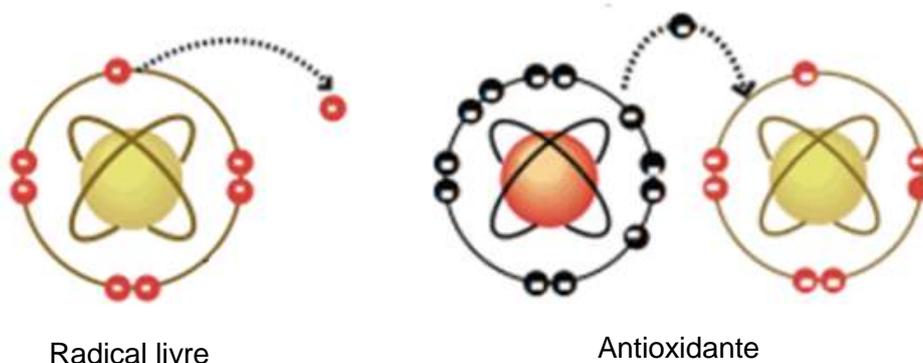


Figura 1 – Representação ilustrativa da ação dos antioxidantes sob os radicais livres.

Fonte: Adaptado de Vasconcelos *et al*, 2014.

O avanço dos estudos realizados pela literatura, torna evidente que o excesso de espécies reativas de oxigênio (EROs) pode causar danos a lipídios, proteínas e DNA, desencadeando processos patológicos diversos como: diabetes mellitus, câncer, aterosclerose, Alzheimer e Parkinson. Sendo assim, a preocupação com a existência desses elétrons livres se dá devido ao estresse oxidativo que surge a partir do momento em que existe um desequilíbrio entre a quantidade de antioxidantes no organismo e a produção exacerbada de radicais (Ferreira e Matsubara, 1997). Os efeitos prejudiciais gerados e a gravidade da situação estão diretamente ligados à qualidade de vida (Vasconcelos *et al*. 2014).

Diante do exposto, torna-se relevante investigar espécies vegetais e compostos com ação antioxidante, visando seu uso como aliados terapêuticos em doenças relacionadas ao desequilíbrio oxidativo.

2.2 *Casearia sylvestris*

A *Casearia sylvestris* é uma planta pertencente à família Salicaceae, nativa de regiões tropicais e subtropicais da América Central e do Sul, sendo difundida em países como México, Peru e Argentina. No Brasil, é encontrada por praticamente toda a extensão territorial, apresentando variações vegetacionais e maior crescimento no estado do Amazonas (Silva, 2016). A espécie é popularmente conhecida como “guaçatonga”, “erva-de-lagarto”, “chá-de-bugre”, “café-bravo”, “café-do-diabo” e “cafeeiro-do-mato” (Araújo *et al.*, 2014; Ferreira, 2023). Tradicionalmente utilizada na medicina popular por suas propriedades terapêuticas, essa espécie vegetal tem despertado crescente interesse científico devido a seu potencial farmacológico.

É caracterizada como um arbusto, subarbusto ou árvore (Figura 2) com em média 6 m de altura, perene, com tronco tortuoso com casca de coloração acinzentada a acastanhada, podendo ser lisa ou rugosa e com pequenas fendas superficiais. A raiz é radiada e protostélica. As folhas (Figura 3) são alternas, simples, assimétricas, lanceoladas, ovaladas ou elípticas, com ápice agudo, base estreita ou arredondada e com face superior brilhante e inferior opaca, possuindo pontos translúcidos, nos quais é possível notar glândulas indicadoras da presença de óleos essenciais. As flores (Figura 4) são pequenas, possuem cerca de cinco sépalas, numerosas, branco-esverdeadas ou amareladas, reunidas em inflorescências axilares abundante em todos os ramos e o fruto é do tipo cápsula, pequeno, vermelho quando maduro, e possui de 2 a 6 sementes (Araújo *et al.*, 2014; Marquete, 2016; Ferreira, 2023).

A espécie apresenta crescimento moderado e longevidade significativa de, em média, 20 anos. Sua multiplicação ocorre principalmente por sementes, tanto de forma espontânea na natureza quanto por meio de técnicas artificiais em ambientes agrícolas. Seu ciclo reprodutivo é bem definido, com florescimento predominante entre os meses de junho e agosto, seguido pelo amadurecimento de seus frutos no período de setembro a novembro (Ferreira *et al.*, 2011). Pode ser encontrada em diversos tipos de vegetações e possui grande adaptação aos meios (Silva, 2016).



Figura 2 – *Casearia sylvestris*, com destaque para o tronco.

Fonte: Silva, 2016.



Figura 3 - Ramo e folhas da *C. sylvestris*.

Fonte: Silva, 2016.



Figura 4 - Inflorescência da *C. sylvestris*.

Fonte: Silva, 2016.

2.2.1 Metabólitos secundários

As plantas produzem uma ampla variedade de compostos químicos ao longo do seu ciclo de vida, os quais podem ser classificados em dois grandes grupos: metabólitos primários e metabólitos secundários. Os metabólitos primários estão diretamente relacionados às funções vitais da planta, como crescimento celular, respiração, estocagem e reprodução, sendo comuns a praticamente todas as espécies vegetais (Fumagali *et al.*, 2008). Já os metabólitos secundários, embora não sejam essenciais para a sobrevivência imediata, desempenham papéis estratégicos na adaptação ao ambiente, atuando na defesa contra predadores, microrganismos e estresses ambientais, aumentando a probabilidade de sobrevivência da espécie, além de participar de processos de interação ecológica (Aerts *et al.*, 1991).

De acordo com Kossel (1891), autor que definiu os metabólitos secundários como contrários aos primários, os secundários são geralmente caracterizados como substâncias

presentes em baixas concentrações nas plantas, representando menos de 1% do conteúdo total de carbono e frequentemente se acumulam de maneira localizada, sendo restritos a determinados tecidos ou estruturas celulares.

Esses constituintes são considerados os responsáveis pelo desenvolvimento de atividades biológicas, concedendo à planta relevância terapêutica devido a atividades como: antibióticas, antifúngicas e antivirais, utilizadas para proteger as plantas dos patógenos, e ainda apresentando atividades antigerminativas ou tóxicas para outras plantas (Li *et al.*, 1993). Os constituintes químicos de uma espécie variam de acordo com o ecossistema, a depender do solo, nutrientes disponíveis, clima, regime de ventos, região onde a planta foi coletada, entre outros (Silva *et al.*, 2021) e podem ser classificados de acordo com a rota sintética (Harbone, 1999), sendo os principais, compostos fenólicos, terpenícos, esteroides e alcaloides (Fumagali *et al.*, 2008).

Do ponto de vista fitoquímico, as espécies do gênero *Casearia* são conhecidas por sintetizarem flavonoides, taninos, lignanas, esteroides, cumarinas, amidas, compostos fenólicos e terpenóides, com destaque para a presença de diterpenos do tipo clerodânicos (Junior, 2010). A presença dos flavonoides é benéfica, pois destacam-se como antioxidantes com capacidade de neutralizar radicais livres (Figura 5A) e quelar metais (Figura 5B) (Rodrigues *et al.*, 2008). Esses compostos agem na proteção contra diversas doenças, incluindo cardiovasculares, determinados tipos de câncer e processos degenerativos associados ao envelhecimento celular. Sua estrutura polifenólica permite que inativem espécies reativas de oxigênio, como os radicais superóxido e hidroxila (Dewick, 2002).

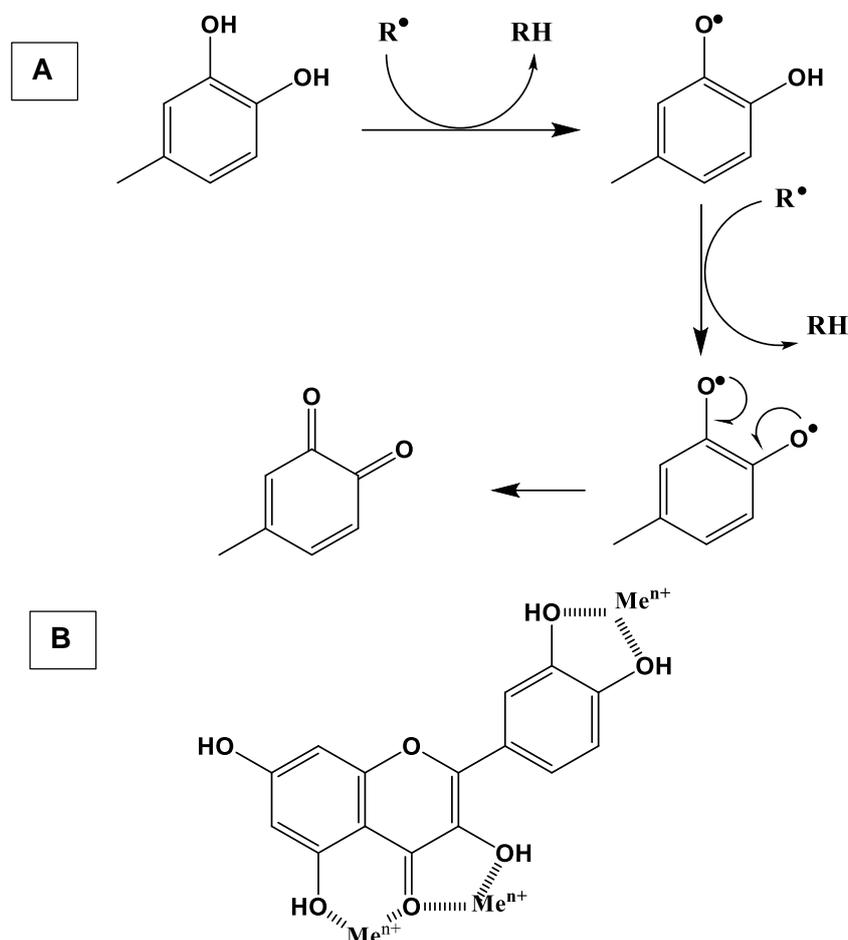


Figura 5 – A) Limpeza de EROs (R^\bullet) por flavonoides. B) Sítios de ligação para metais.

Fonte: Adaptado de Pietta, 2000.

Os radicais livres atraem mediadores inflamatórios, contribuindo para danos aos tecidos e para uma resposta inflamatória geral. Dessa maneira, os flavonoides são capazes de reduzir a liberação de peroxidase, o que auxilia na inibição da produção de EROs por neutrófilos, além de bloquear o metabolismo do ácido araquidônico. Essa ação confere a eles propriedade anti-inflamatória, uma vez que a liberação do ácido araquidônico constitui o evento inicial da inflamação (Nijveldt *et al.*, 2001).

Nas doenças cardiovasculares, níveis elevados de espécies reativas de oxigênio estão associados à ruptura de placas ateroscleróticas, o que eleva o risco de infarto. Além disso, essas espécies contribuem para a redução da biodisponibilidade de óxido nítrico, comprometendo a vasodilatação e favorecendo o desenvolvimento da hipertensão arterial. Os antioxidantes, por sua vez, atuam inibindo a peroxidação lipídica, protegendo o músculo cardíaco e ainda, modulam a expressão de genes envolvidos, prevenindo o surgimento dessas doenças (Młynarska *et al.*, 2024).

Os compostos fenólicos apresentam capacidade redutora e potencial antioxidante (Figura 5A), devido à presença do anel aromático contendo ao menos um grupo hidroxila. Os radicais formados após a doação de elétrons tornam-se estabilizados por ressonância, o que contribui para sua atividade antioxidante (Sousa *et al.*, 2007; Monteiro, 2017).

Entre os estudos realizados especificamente com a *Casearia sylvestris*, é revelado uma rica variedade de metabólitos secundários, com destaque para os diterpenos clerodânicos, especialmente as casearinas, que ocorrem predominantemente nas folhas e atuam como marcadores quimiotaxonômicos do gênero *Casearia* (Silva, 2016). Dos 42 diterpenos clerodânicos isolados na espécie, 27 pertencem ao grupo das casearinas e compartilham uma mesma estrutura química fundamental, sendo nomeadas de A a X (Figura 6). Além destas e de outras variantes, como caseargrewiina F e casearvestrininas A–C, também foram identificados diterpenos menos complexos, como o (-)-ácido hardwickiico e a 15-hidróxi-3-cleroden-2-ona, e diterpenos ent-kauranos (Figura 7). Essas substâncias têm sido associadas a diversas atividades biológicas (Unger, 2022). Outros compostos identificados incluem monoterpênos e sesquiterpênos presentes no óleo essencial das folhas e flores, triterpenoides, taninos, flavonoides, saponinas, alcaloides, cumarinas, neolignanais, ácidos fenólicos, polissacarídeos e ácidos graxos (Silva, 2016). Essa complexa composição fitoquímica reforça o potencial terapêutico da espécie.

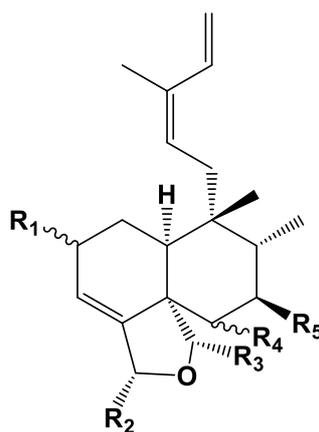


Figura 6 – Estrutura química geral do diterpeno clerodânico.

Fonte: Ferreira *et al.*, 2011.

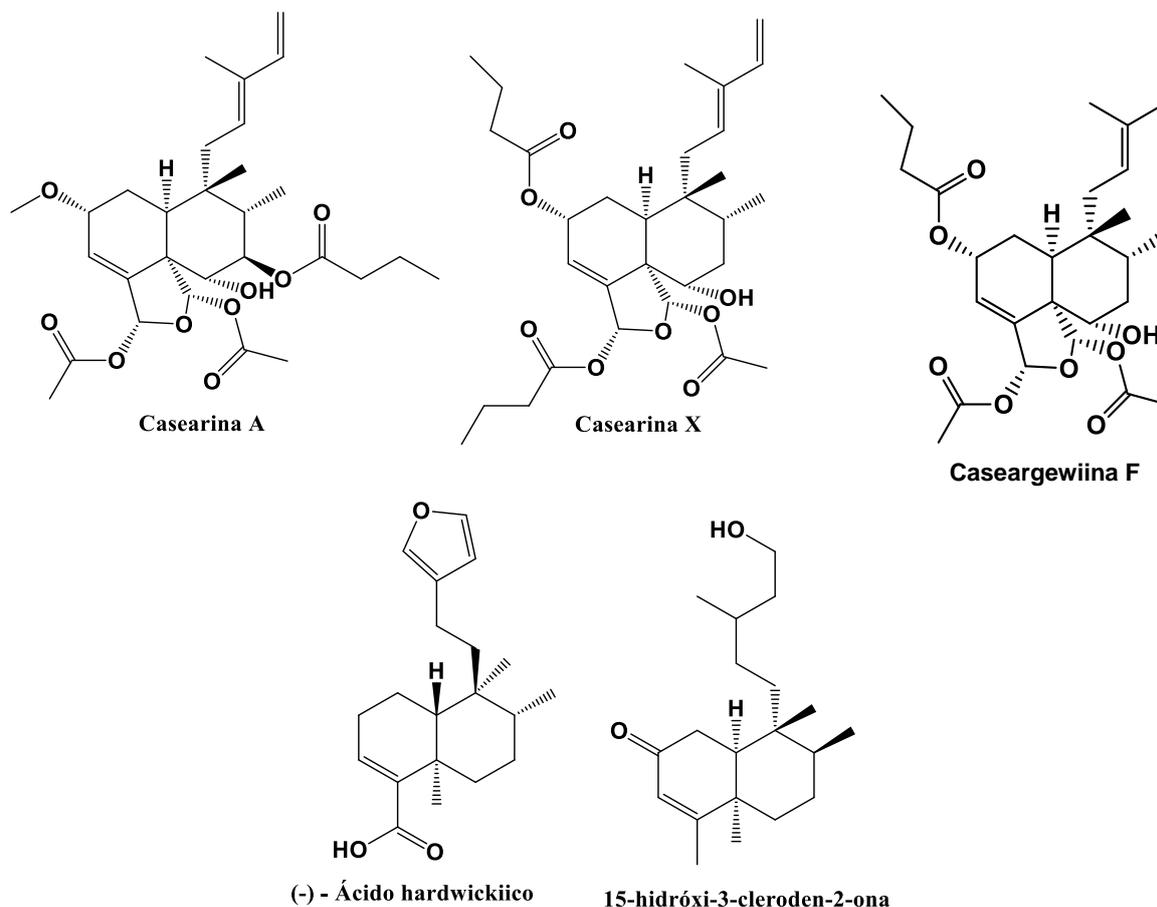


Figura 7 – Estruturas químicas de alguns diterpenos presentes na *Casearia sylvestris*.

Fonte: Dos Santos, 2008; Passareli, 2010; Oda, 2021.

2.2.2 Atividades biológicas

A presença dos metabólitos secundários na planta demonstra o potencial terapêutico da *Casearia sylvestris* despertando o interesse científico e levando à realização de estudos que investigaram suas atividades biológicas. A guaçatonga é encontrada com aplicação não apenas na medicina popular, mas também em diversos setores, como na indústria farmacêutica, de química fina e nutracêuticos (Fumagali *et al.*, 2008).

A espécie faz parte da RENISUS, sendo considerada útil para atender às doenças de maior incidência no Brasil. Essa lista tem como objetivo sistematizar as informações já existentes, direcionar e fortalecer os estudos sobre as espécies vegetais, elaborar pareceres técnicos para a inclusão de fitoterápicos na Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (Rename), subsidiar regulamentações e elaboração de formulários terapêuticos pela Anvisa ou pelo Ministério da Saúde e auxiliar gestores e profissionais com informações sobre eficácia e segurança das plantas medicinais (Silva, 2016; BRASIL, 2025).

Na etnofarmacologia, ciência que estuda as ações fisiológicas de substâncias vegetais, animais e outras, utilizadas pela medicina tradicional de culturas antepassadas e de hoje em dia (Rodrigues e Oliveira, 2020), existem relatos do uso da tintura das folhas da *Casearia sylvestris* contra picadas de insetos (Tomazi *et al.*, 2014), e da utilização do chá das folhas contra picada de cobra (Garlet e Irgang, 2001; Coelho *et al.*, 2009). No Brasil, os povos Karajá usam a casca da planta através da maceração no tratamento de diarreia e contra diversos venenos de serpentes (Fialho *et al.*, 2010), já outras tribos esmagam as raízes para tratamento de feridas e lepra (Ferreira, 2011) e utilizam a decocção da casca contra febre e como anti-inflamatório (Hirschmann e De Arias, 1990; Ribeiro *et al.*, 2019). No Peru, a tribo Shipibo-Conibo usa a decocção da casca da *Casearia* para gripe, dor no peito e resfriados. (Hoehne, 1939). Na Colômbia, há relatos do uso do decocto dos ramos e das folhas em feridas e cortes. No Paraguai, a decocção das folhas é utilizada para tratamento de reumatismo, eczema e sarna (Alonso, 2007).

No Quadro 1, página 26, é mostrado um resumo das atividades etnofarmacológicas já registradas, bem como a parte da guaçatonga utilizada, a indicação e o modo de preparo.

Um dos estudos que contribuiu para o reconhecimento e padronização da *C. sylvestris* como um fitoterápico, foi o descrito por Pierri e colaboradores (2017). Eles utilizaram o extrato das folhas da *C. sylvestris*, demonstrando a atividade anti-inflamatória significativa em modelo animal, com a administração de doses de 300 e 500 mg/kg a ratos, sem induzir efeitos adversos como lesões ou úlceras gástricas. O estudo também destacou o potencial terapêutico dos diterpenos presentes na espécie, especialmente por sua atuação frente a processos infecciosos.

No estudo realizado por Fialho e colaboradores (2010), foi observada uma resposta favorável do extrato da planta na modulação da permeabilidade gástrica à sacarose. Os resultados demonstraram que, na presença do extrato, houve aumento da concentração da sacarose em comparação ao grupo controle, sugerindo um possível efeito protetor contra o desenvolvimento de lesões ulcerativas no estômago, sem provocar reações adversas.

Quadro 1 - Atividades etnofarmacológicas apresentadas para a *Casearia sylvestris*.

Indicação	Parte da Planta	Modo de Preparo	Referência
Picada de insetos	Folha	Tintura	Tomazi <i>et al.</i> , 2014
Picada de cobra	Folha	Chá	Garlet e Irgang, 2001
			Coelho, De Paula e Espíndola, 2009
Diarreia e veneno de serpente	Casca	Maceração	Fialho <i>et al.</i> , 2010
Gripe, dor no peito e resfriado	Casca	Decocção	Hoehne, 1939
Feridas e cortes	Ramos e folha	Decocção	Alonso, 2007
Reumatismo, eczema e sarna	Folha		
Febre e anti-inflamatório	Casca	Decocção	Ribeiro <i>et al.</i> , 2019; Hirschmann e De Arias, 1990

Fonte: elaborado pelo autor.

De acordo com Carvalho e colaboradores (2018), a combinação de membranas de látex natural com extratos e derivados das folhas da *Casearia sylvestris*, demonstrou efeitos significativos na cicatrização de feridas cutâneas, além da ação anti-inflamatória quando aplicada topicamente. A eficácia da formulação foi confirmada por meio de análises de espectroscopia, microscopia e testes de resistência mecânica, que comprovaram sua permeabilidade dérmica.

No estudo conduzido por Falcão e colaboradores (2017), o óleo essencial obtido das folhas da guaçatonga por hidrodestilação foi avaliado quanto ao seu potencial antimicrobiano. A atividade foi determinada por meio do método de difusão em placa, utilizando concentrações de 30 µL. Os resultados demonstraram eficácia contra

aproximadamente 70% das cepas bacterianas analisadas, com maior efeito sobre bactérias gram-positivas, evidenciando o potencial do óleo essencial como agente antimicrobiano.

Em outro estudo realizado por Teixeira e colaboradores (2015), foram avaliadas as atividades antioxidante, antimicrobiana, antifúngica e a toxicidade da *Casearia sylvestris*. Os resultados demonstraram que o extrato metanólico preparado a partir de galhos, ramos e folhas da planta mostrou-se eficaz contra o fungo *Aspergillus niger* e foi capaz de inibir o crescimento de leveduras como *Candida albicans*, *Candida guilliermondii* e *Candida tropicalis*. O extrato etanólico obtido das folhas apresentou ação antimicrobiana para as bactérias *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella setubal*. Além disso, demonstrou atividade antioxidante significativa mesmo na menor dose testada.

No Quadro 2, é mostrado um resumo das atividades biológicas já estudadas, assim como a parte da planta e o extrato utilizado.

Quadro 2 - Atividades biológicas apresentadas para os extratos da *Casearia sylvestris*.

Atividade	Parte da Planta	Extrato	Referência
Anti-inflamatória	Folha	Etanólico	Esteves <i>et al.</i> , 2005
			Pierre <i>et al.</i> , 2017
Antiulcerogênica	Folha	Etanólico	Dos Santos, 2008
			Fialho <i>et al.</i> , 2010
Antimicrobiana	Folha	Óleo essencial	Godoi, 2013
			Falcão <i>et al.</i> , 2017
Antioxidante, antimicrobiana e antifúngica	Folha	Etanólico, aquoso e óleo essencial	Güntzel, 2008
	Galhos, ramos e folhas	Etanólico	Teixeira <i>et al.</i> 2015
Antitumoral	Folha	Hexânico	De Mesquita <i>et al.</i> , 2009
Cicatrizante e anti-inflamatória	Folha	Etanólico	Carvalho <i>et al.</i> 2018

Fonte: elaborado pelo autor.

2.2.3 Toxicidade

Embora a *Casearia sylvestris* apresente diversas propriedades terapêuticas relevantes, alguns estudos também se dedicaram à avaliação da sua toxicidade, a fim de garantir a segurança no uso dos seus extratos e compostos bioativos. De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), 70 a 95% dos países subdesenvolvidos utilizam apenas plantas medicinais no tratamento de diversas doenças. Sendo assim, as investigações toxicológicas são fundamentais para conter o uso indiscriminado, estabelecer limites seguros de uso e identificar possíveis efeitos adversos associados a diferentes vias de administração e concentrações (Araújo *et al.*, 2014).

Segundo Ferreira (2023), o consumo de infusões preparadas com a *Casearia sylvestris* em doses elevadas e por períodos prolongados pode provocar efeitos adversos, como náuseas, hemorragias e alterações na urina, que se torna mais espessa e com odor característico. A utilização contínua é recomendada por, no máximo, 20 dias, sendo contraindicada para crianças menores de 12 anos, gestantes e lactantes. Quanto às interações farmacológicas, destaca-se a necessidade de cautela no uso concomitante com anticoagulantes, uma vez que a planta pode antagonizar a ação da vitamina K, e seu uso prolongado pode potencializar o efeito anticoagulante, dificultando o ajuste das dosagens. Em práticas fitoterápicas, o extrato da *C. sylvestris* pode ser associado a outras espécies vegetais para potencializar seus efeitos: *Varronia curassavica* (erva-baleeira), no alívio de dores na coluna, por seu efeito anti-inflamatório; *Jacaranda caroba* (caroba) e *Peschiera fuchsiaefolia* (leiteira), no auxílio ao tratamento da obesidade; e *Aristolochia cymbifera* (cipó-mil-homens), *Passiflora alata* (maracujá) e *Polypodium vacciniifolium* (erva-silvina), para distúrbios circulatórios e hipertensão arterial.

No estudo conduzido por Prieto (2012) foi evidenciado que a casearina X, isolada do extrato etanólico da *Casearia sylvestris*, demonstrou ação antígenotóxica significativa. A substância foi capaz de proteger o DNA contra os efeitos causados por poluentes atmosféricos resultantes da queima da cana-de-açúcar, reconhecidamente genotóxicos. Essa proteção foi observada em todas as concentrações avaliadas, evidenciando a eficácia na prevenção de danos genéticos induzidos por agentes ambientais. Ademais, não foram identificadas alterações mutagênicas nas células sanguíneas dos ratos, reforçando seu potencial como agente seguro para aplicações terapêuticas.

De acordo com o estudo realizado por Ameni (2011) sobre a toxicidade oral aguda do extrato fluido da *C. sylvestris*, não foi observado efeito tóxico em ratos. O tratamento foi

realizado por 28 e por 90 dias. Apesar do sistema imune não ter sofrido alterações, os parâmetros bioquímicos como albumina e proteína foram aumentados; e a creatina, triglicérides e colesterol total diminuiram. Desta forma, considerou-se seguro o uso, mas fazem-se necessário mais estudos pré-clínicos.

Silva e colaboradores (2008) relataram que a aplicação terapêutica do óleo essencial de *Casearia sylvestris* requer precaução, especialmente no que se refere a quantidade absorvida sistemicamente. Estudos indicaram que os sesquiterpenos β -cariofileno e α -humuleno presentes no óleo essencial podem induzir toxicidade, devido à possível sensibilidade dos eritrócitos a esses compostos.

Já no estudo realizado por Yamashita e colaboradores (2005), foram analisadas três espécies do gênero *Casearia*, com o objetivo de identificar os microelementos presentes em sua composição. Na espécie *C. sylvestris*, foram detectados elementos como cromo (Cr), manganês (Mn), escândio (Sc), ferro (Fe) e cloro (Cl), entre outros. Por outro lado, não foram encontrados metais pesados tóxicos, como mercúrio (Hg) e antimônio (Sb), o que representou um dado positivo em termos de segurança. Embora tenham sido identificadas baixas concentrações de arsênio (As) e cádmio (Cd), os autores consideraram que, sob a perspectiva farmacológica e toxicológica, tais níveis não representavam risco à saúde humana, sugerindo que o uso da espécie é seguro dentro dos parâmetros analisados.

3. JUSTIFICATIVA

Muitas pesquisas vêm mostrando a existência de substâncias naturais com propriedades antioxidantes (Cömert e Gökmen, 2018; Bouyahya *et al.*, 2021; Muhammad *et al.*, 2024), principalmente devido à problemática existente em relação ao estresse oxidativo gerado no organismo humano a partir do excesso de radicais livres. Considerando que eles são produzidos naturalmente pelo metabolismo, que estamos constantemente em contato com fontes externas de radicais (Martelli *et al.*, 2014) e que os danos oxidativos nas células e tecidos têm sido associados ao desenvolvimento de várias doenças, justifica-se o crescente interesse na relação entre antioxidantes e saúde, com busca em substâncias que possam retardar ou impedir os processos de oxidação.

Devido à possibilidade de provocar reações indesejáveis, o uso de antioxidantes de origem sintética é limitado. Em contrapartida, compostos naturais com ação antioxidante têm se destacado como alternativas mais seguras e promissoras (Oliveira *et al.*, 2009). A crescente substituição de antioxidantes sintéticos por substâncias derivadas de fontes naturais reflete sua eficácia terapêutica e o menor risco de efeitos adversos (Al-Rimawi *et al.*, 2024).

Investigar a atividade antioxidante da *Casearia sylvestris* pode proporcionar um entendimento mais aprofundado sobre seus potenciais benefícios na terapêutica. Este trabalho aborda aspectos relacionados a atividade antioxidante *in vitro* do extrato etanólico das folhas da *Casearia sylvestris*. Ao explorar essa relação, busca-se enriquecer o campo da fitoterapia, colaborando para o desenvolvimento de novos insumos farmacêuticos ativos vegetais (IFAVs), oferecendo informações cruciais para a saúde humana e, potencialmente, abrindo portas para novos tratamentos e intervenções preventivas.

A espécie escolhida para a realização desse estudo é nativa de várias regiões do Brasil e faz parte da lista de plantas medicinais de interesse do SUS, a RENISUS, o que aumenta seu potencial como recurso natural. Ao explorar sua propriedade antioxidante, os resultados podem enriquecer as propriedades medicinais, a valorização da biodiversidade local e incentivar a utilização na terapêutica de espécies vegetais nativas do Brasil. Assim, diante da crescente importância dos antioxidantes na saúde humana, do potencial econômico e da relevância ecológica da *Casearia sylvestris*, este projeto tem como objetivo ampliar o entendimento sobre os benefícios dessa espécie vegetal altamente utilizada na medicina popular brasileira.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

Avaliar a atividade antioxidante *in vitro* do extrato etanólico da *Casearia sylvestris* Sw. e dosar os compostos fenólicos totais.

4.2 Objetivos específicos

- Preparar o extrato etanólico da *Casearia sylvestris*;
- Obter a impressão digital do extrato etanólico por CLAE-DAD;
- Avaliar o teor de compostos fenólicos totais do extrato;
- Avaliar a atividade antioxidante *in vitro* do extrato pelos métodos de captura dos radicais DPPH e ABTS.

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 Materiais

- 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) (Sigma-Aldrich);
- Ácido 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico) (ABTS) (Sigma-Aldrich);
- Ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico (Trolox) (Sigma-Aldrich);
- Ácido gálico (Sigma-Aldrich);
- Água acidificada com ácido acético glacial 1% (pH 3,3);
- Água destilada;
- Carbonato de sódio (Synth);
- Coluna Shim-pack GIST, C18 5 μm - 4,6 x 250 mm (Shimadzu);
- Etanol PA 95% (Química Moderna);
- Filtro de seringa 0,2 μm ;
- Metanol acidificado com ácido acético glacial 1% (pH 3,2);
- Metanol grau HPLC (Supelco);
- Metanol P.A. (Química Moderna);
- Metanol P.A. (Química Moderna);
- Persulfato de potássio (Sigma-Aldrich);
- Pré-coluna Shim-pack GIST(G), C18 5 μm - 4,0 x 10 mm (Shimadzu);
- Quercetina (Sigma-Aldrich);
- Reagente de Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich);
- Solução de carbonato de sódio 10%.

5.2 Equipamentos

- Balança analítica (Shimadzu);
- Bomba de vácuo (Buchi);
- Cromatógrafo Waters 2996 (Water Alliance) equipado com detector de arranjo diodos (DAD) Waters 2996. Software Empower Pro foi utilizado para obtenção dos cromatogramas;
- Dessecador;
- Espectrofotômetro UV-visível Cary 50 Bio (Varian);
- Estufa de secagem e esterilização (MA 035, Marconi);
- Evaporador rotativo R-205 (Buchi);
- Moinho de facas (Marconi);
- Percolador de aço inoxidável de 5L;
- Refrigerador;
- Vórtex (Logen Scientific).

5.3 Coleta da espécie vegetal

As partes aéreas da *Casearia sylvestris* foram coletadas no mês de junho de 2022, no município de São João do Manhuaçu, MG, Brasil, por Andressa Barbosa Magalhães (Figura 8).



Figura 8 – A) Folhas, B) arbusto e C) árvore da *Casearia sylvestris*.

Fonte: Andressa Barbosa Magalhães, 2022.

5.4 Identificação do material vegetal

A identificação taxonômica foi realizada pela especialista Dr^a. Renata Viviane Scalon do Departamento de Biodiversidade, Evolução e Meio Ambiente do Instituto de Ciências Exatas e Biológicas (ICEB) da Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP). A exsicata correspondente foi depositada no Herbário Professor José Badini-OUPR da UFOP, com o número de registro 36.416 (Figura 9).



Figura 10 – A) Processo de percolação do material vegetal e B) Extrato etanólico após a retirada do solvente extrator por rotaevaporação.

Fonte: Andressa Barbosa Magalhães, 2022.

5.7 Obtenção da impressão digital do extrato etanólico por CLAE-DAD

Para a obtenção da impressão digital do extrato foi empregada a técnica de Cromatografia à Líquido de Alta Eficiência (CLAE), acoplada a detector de arranjo de diodos (DAD), através do cromatógrafo da Water Alliance, modelo Waters 2996, do Laboratório Multiusuário 1 do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da UFOP (PPG CiPharma/UFOP). Foi utilizada uma pré-coluna Shimadzu Shim-pack GIST, C18, com dimensões de 4,0 x 10 mm, acoplada a uma coluna cromatográfica do mesmo modelo e fase estacionária C18, com medidas de 4,6 x 250 mm. A amostra do extrato foi preparada na concentração de 1%, diluída em metanol e posteriormente filtrada por meio de filtro de seringa com porosidade de 0,2 μm . A análise foi conduzida sob fluxo de 1mL/min, com a coluna mantida a 25°C, e volume de injeção de 20 μL . O método cromatográfico empregado foi o de gradiente linear, utilizando-se duas fases móveis: A - água acidificada com ácido acético glacial 1% (pH 3,3), e B - metanol acidificado com ácido acético glacial 1% (pH 3,2) (Tabela 1). A detecção foi realizada em uma faixa de comprimento de onda entre 260 - 280 nm.

Tabela 1 - Condições para obtenção dos perfis cromatográficos do extrato etanólico da *Casearia sylvestris*.

Tempo de eluição (min.)	FM A (%)	FM B (%)
0	100	0
10	5	95
25	0	100
30	100	0
35	100	0

Fase Móvel A (FM A): água acidificada com ácido acético glacial 1%, pH 3,3. Fase Móvel B (FM B): metanol acidificado com ácido acético glacial 1%, pH 3,2.

Fonte: elaborado pelo autor.

5.8 Conteúdo fenólico total

5.8.1 Preparo das soluções

5.8.1.1 Solução de ácido gálico

Em balança analítica, foi pesado 0,50 mg de ácido gálico. E, em seguida, o material foi transferido para balão volumétrico de 10,00 mL. Utilizou-se metanol para a dissolução completa do composto e aferição do volume até a marca. A partir dessa solução-estoque, foram elaboradas diluições para obtenção das concentrações de 10,00; 20,00; 30,00, 40,00 e 50,00 µg/mL.

5.8.1.2 Solução de carbonato de sódio 10%

Pesaram-se 2,50 g de carbonato de sódio em balança analítica e, em seguida, transferiu-se o conteúdo para um balão volumétrico de 25,00 mL. Adicionou-se água destilada para solubilizar o sal e ajustar o volume final do balão.

5.8.1.3 Solução do extrato

O extrato etanólico da *C. sylvestris* (1,00 mg) foi pesado em balança analítica e transferido para balão volumétrico de 10,00 mL. O extrato foi dissolvido com metanol, e o volume aferido até a marca do balão com o mesmo solvente.

5.8.2 Metodologia - Avaliação do conteúdo fenólico total

Para avaliar o teor de compostos fenólicos totais do extrato foi empregada a metodologia de Swain & Hills (1959), com adaptações. O experimento foi realizado a partir da adição do reagente de Folin-Ciocalteu em amostras do extrato.

Em tubo de ensaio, foram adicionados 500,00 μL da solução do extrato 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ juntamente com 500,00 μL do reagente de Folin-Ciocalteu. Após homogeneização em agitador tipo vórtex, a amostra permaneceu em repouso por 3 minutos. Em seguida, adicionaram-se 500,00 μL da solução de carbonato de sódio 10%, e o tubo foi mantido em repouso por 1 hora, protegido da luz (Figura 11).

Utilizou-se o ácido gálico como padrão de referência. Para a construção da curva de calibração, seguiram-se os mesmos procedimentos aplicados ao extrato, utilizando soluções-padrão de ácido gálico nas concentrações de 10,00; 20,00; 30,00; 40,00 e 50,00 $\mu\text{g}/\text{mL}$. O espectrofotômetro foi zerado com metanol, e as leituras de absorbância foram realizadas em comprimento de onda de 760 nm. O teor de compostos fenólicos foi expresso em miligramas de ácido gálico por grama de extrato. Os experimentos foram realizados em triplicata.

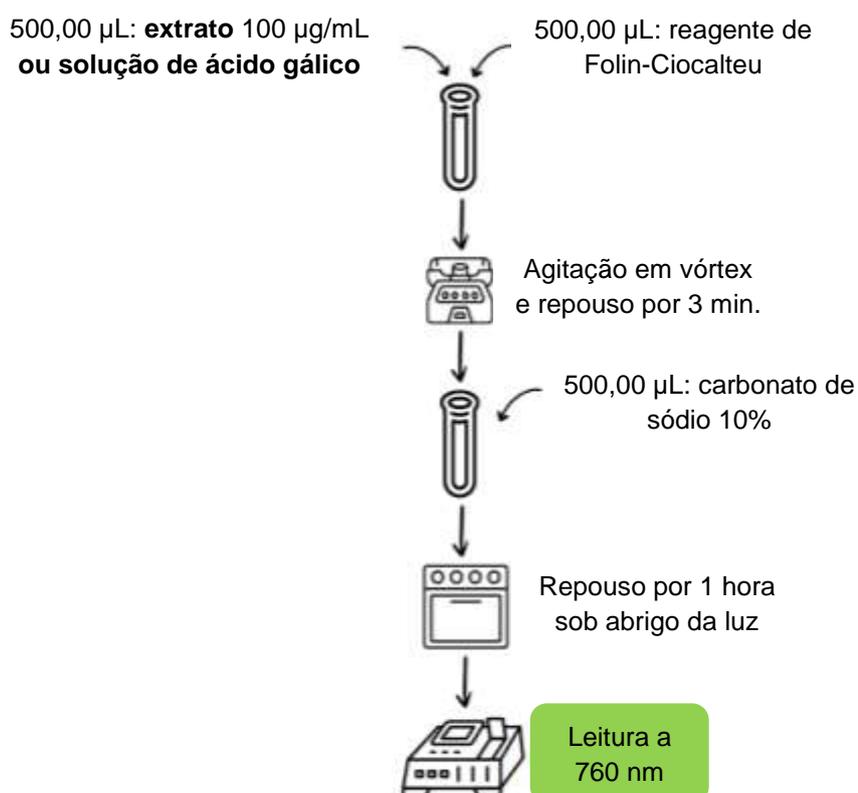


Figura 11- Esquema da metodologia para a determinação do conteúdo fenólico do extrato etanólico de *Casearia sylvestris*.

5.9 Avaliação da atividade antioxidante *in vitro* do extrato etanólico pelo método de captura do radical DPPH

5.9.1 Preparo das soluções

5.9.1.1 Solução de DPPH

A solução de 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) 0,38 mM, foi preparada no mesmo dia da análise experimental. Para isso, foram pesados 10,00 mg do reagente DPPH em balança analítica e transferidos para balão volumétrico de 100,00 mL. O metanol foi utilizado como solvente, sendo adicionado até completar o volume do balão. A solução resultante foi protegida da luz e mantida refrigerada em banho de gelo até o momento do uso, a fim de preservar sua estabilidade.

5.9.1.2 Solução dos extratos para o teste do DPPH

No dia anterior ao ensaio, foram pesados inicialmente 10,00 mg do extrato etanólico em balança analítica e transferidos para balão volumétrico de 100,00 mL. A diluição foi feita em metanol, completando o volume do balão. Dessa forma, obteve-se uma solução com concentração final de 100,00 µg/mL. A partir dessa solução-estoque, foram realizadas diluições sucessivas para se obterem as concentrações de 10,00; 20,00; 30,00; 40,00; 50,00; 60,00; 70,00 e 80,00 µg/mL, utilizadas na avaliação antioxidante.

5.9.1.3 Solução de quercetina para o DPPH

Para o preparo da solução padrão no dia, foi pesada uma alíquota de 10,00 mg de quercetina, um flavonoide polifenólico amplamente difundido em alimentos e plantas, com capacidade de sequestrar espécies reativas de oxigênio, quelar metais e inibir a peroxidação lipídica (Xu, 2019). Dissolveu-se em metanol, em balão volumétrico de 100,00 mL, com posterior aferição do volume. A solução obtida foi empregada na elaboração de diluições nas seguintes concentrações: 20,00; 30,00; 40,00 e 50,00 µg/mL, utilizadas como controle positivo na análise de DPPH.

5.9.2 Metodologia - Avaliação pelo método de captura do radical DPPH

A análise da capacidade antioxidante, utilizando o método de captura do radical livre DPPH, foi realizada a partir da metodologia descrita por Singh *et al.* (2002) e Ferrari (2008), com modificações. Esse experimento baseia-se na neutralização do radical DPPH, que possui coloração violeta intensa, e que, ao interagir com substâncias antioxidantes, sofre descoloração, adquirindo tonalidade amarelada (Figura 12).

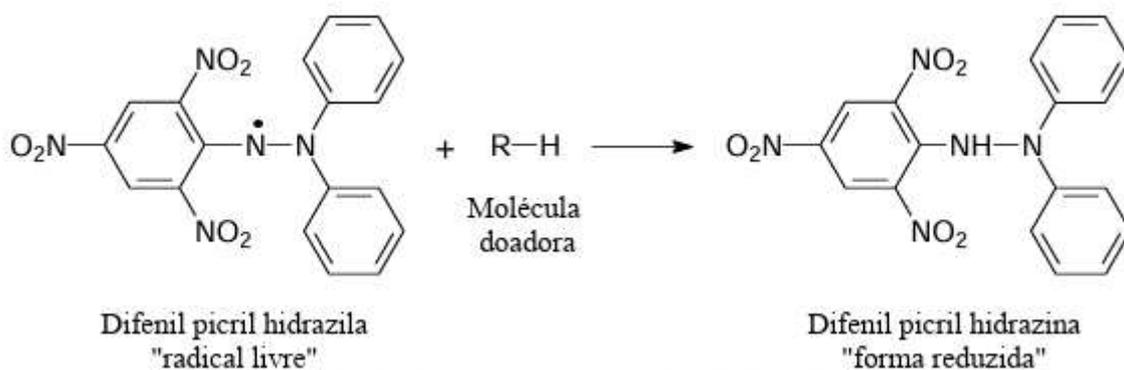
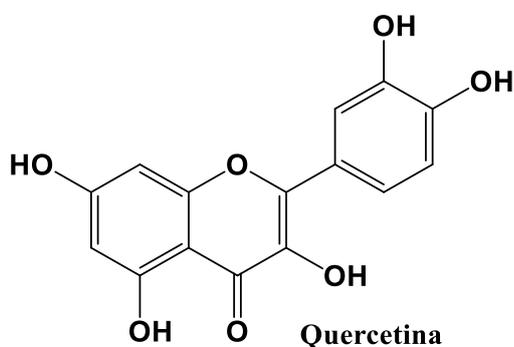


Figura 12 - Reação do radical livre DPPH com molécula doadora de Hidrogênio.

Fonte: Güntzel, 2008

As amostras do extrato etanólico foram preparadas por diluição em metanol até atingirem as concentrações de 10,00; 20,00; 30,00; 40,00; 50,00; 60,00; 70,00; 80,00 e 100,00 µg/mL. Para comparação, foi utilizado o antioxidante padrão quercetina, cujas soluções foram preparadas nas faixas de 20,00; 30,00; 40,00; 50,00 e 100,00 µg/mL.



Durante o preparo da amostra, em tubos de ensaio separados, foram adicionados 750,00 µL de cada concentração do extrato etanólico e da quercetina, em seguida 1,50 mL da solução de DPPH. Para o controle, utilizou-se 750 µL das soluções de extrato e quercetina combinados a 1,50 mL de metanol. A solução branca foi composta por 750 µL de metanol e 1,50 mL de DPPH. Todas as amostras foram incubadas em temperatura de 25 - 30°C por 30 minutos.

Decorrido o tempo de reação, a avaliação foi realizada a partir da redução da absorbância na região visível de comprimento de onda de 517 nm em espectrofotômetro (Figura 13). Todas as medições foram executadas em triplicata. A atividade de retirada de radical (ARR) foi expressa como percentual de inibição, porcentagem de descoloração, calculada pela fórmula:

$$\%ARR = 1 - [(Abs. amostra - Abs. branco) / Abs. controle positivo] \times 100,$$

sendo *Abs.* o valor de absorbância correspondente.

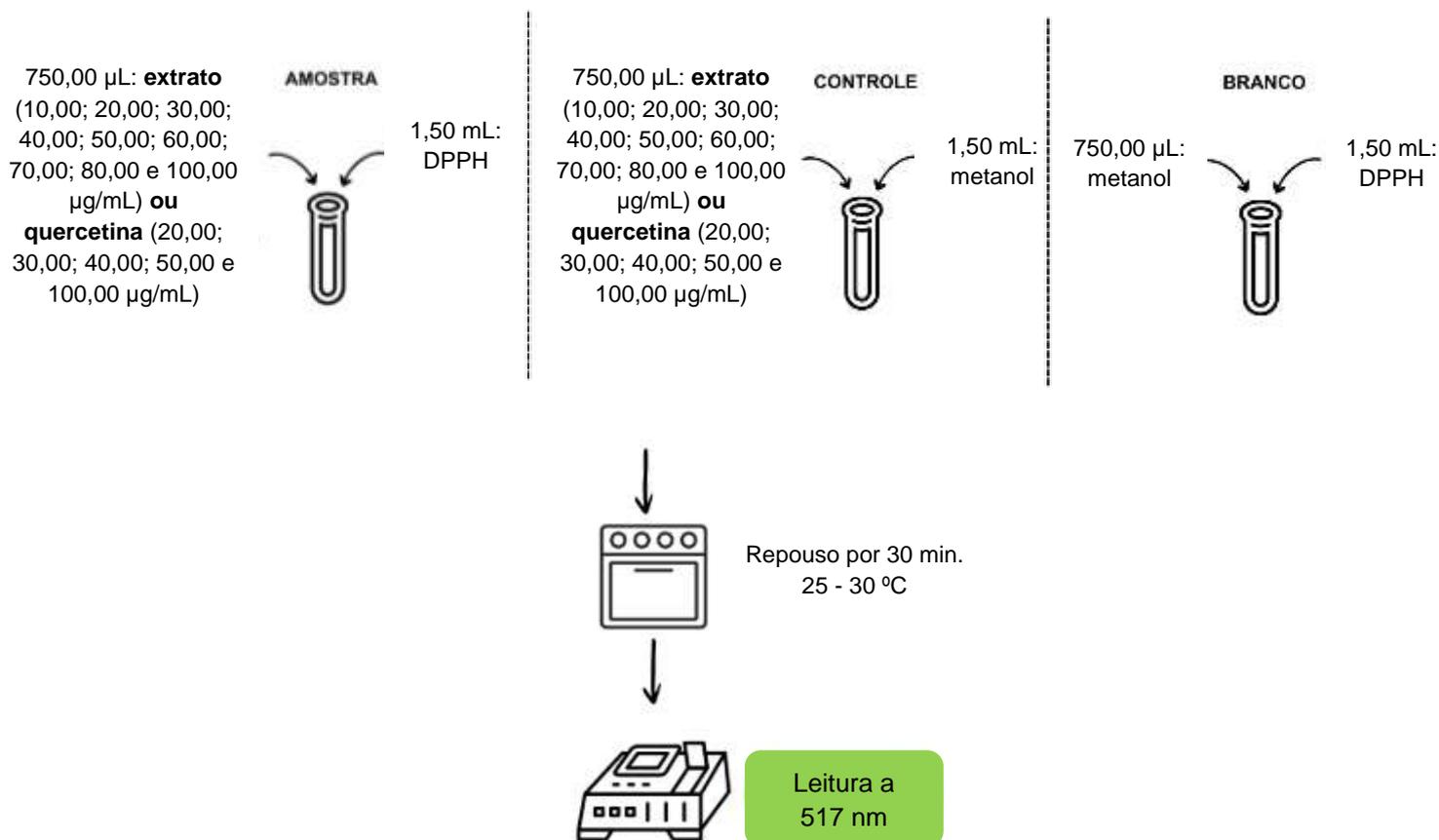


Figura 13 - Esquema da metodologia do ensaio para avaliação da atividade antioxidante do extrato etanólico de *Casearia sylvestris* pelo método DPPH.

Fonte: elaborado pelo autor.

5.10 Avaliação da atividade antioxidante *in vitro* do extrato etanólico pelo método de captura do radical ABTS

5.10.1 Preparo das soluções

5.10.1.1 Solução estoque de ABTS 7 mM

Pesaram-se, em balança analítica, 96,00 mg do composto 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico) (ABTS), o qual foi transferido para balão volumétrico de 25,00 mL. Utilizou-se água destilada para a dissolução do reagente e para aferir o volume até a marca. A solução foi mantida em local refrigerado e protegida da luz.

5.10.1.2 Solução de persulfato 140 mM

Pesaram-se, em balança analítica, 75,68 mg de persulfato de potássio, que foram transferidos para balão volumétrico de 2,00 mL. O reagente foi diluído com água destilada até atingir o volume final. Após o preparo, a solução foi mantida sob refrigeração e em ambiente escuro.

5.10.1.3 Preparo do radical ABTS^{•+}

Para gerar o radical ABTS^{•+}, foram misturados 88,00 µL da solução de persulfato a 140 mM com 5,00 mL da solução estoque de ABTS 7mM, em um béquer envolto em papel alumínio. A mistura permaneceu em repouso, ao abrigo da luz, por no mínimo 16 horas à temperatura ambiente. Decorrido o período de incubação, o etanol foi adicionado até que a solução atingisse uma absorvância de $0,70 \pm 0,05$ nm no comprimento de onda de 734 nm.

5.10.1.4 Solução de trolox para o teste do ABTS

O antioxidante padrão trolox (25,00 mg) foi dissolvido em etanol e adicionado a um balão volumétrico de 50,00 mL. Com base nessa solução-estoque, foram realizadas diluições para obtenção das concentrações finais de 0,10; 0,50; 1,00; 1,50 e 2,00 mM. A solução foi preparada no dia do experimento e protegida da luz.

5.10.1.5 Solução do extrato para o teste do ABTS

O extrato etanólico de *C. sylvestris* (1,00 mg) foi dissolvido em metanol e transferido para balão volumétrico de 10,00 mL. O volume do balão foi aferido com metanol até a marca. A partir dessa solução, prepararam-se diluições nas concentrações de 10,00; 20,00; 40,00 e 70,00 µg/mL.

5.10.2 Metodologia - Avaliação pelo método de captura do radical ABTS

A análise da ação antioxidante com base na neutralização do radical livre ABTS^{•+} foi executada conforme a metodologia descrita por Ferraz Filha e colaboradores (2017), com as devidas adaptações. Esse procedimento baseia-se na estabilização do radical ABTS^{•+} por um antioxidante, sendo sua atividade avaliada pela descoloração da solução (Figura 14).

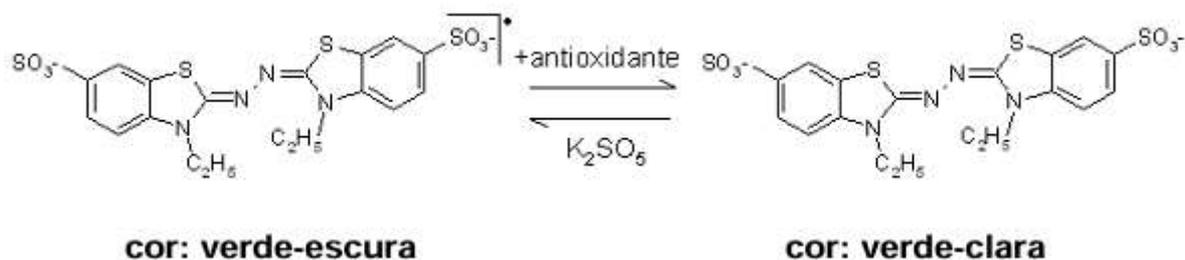


Figura 14 - Estabilização do radical ABTS.+ por um antioxidante.

Fonte: Rufino *et al.*, 2007.

As amostras dos extratos foram diluídas para se obterem as concentrações de 10,00; 20,00; 40,00; 70,00; e 100,00 $\mu\text{g/mL}$. Para cada ensaio, adicionaram-se 30,00 μL das soluções dos extratos a tubos de ensaio protegidos da luz, seguidos de 3,00 mL da solução do radical ABTS \cdot^+ (Figura 15). As misturas foram agitadas em vórtex e deixadas em incubação por 6 minutos, à temperatura ambiente, e em local escuro. A formação do radical se dá pela reação do ABTS com o persulfato de potássio e a incubação de 16 horas. Após o período da reação, as leituras das absorbâncias foram realizadas em espectrofotômetro, no comprimento de onda de 734 nm, com o equipamento previamente zerado com etanol.

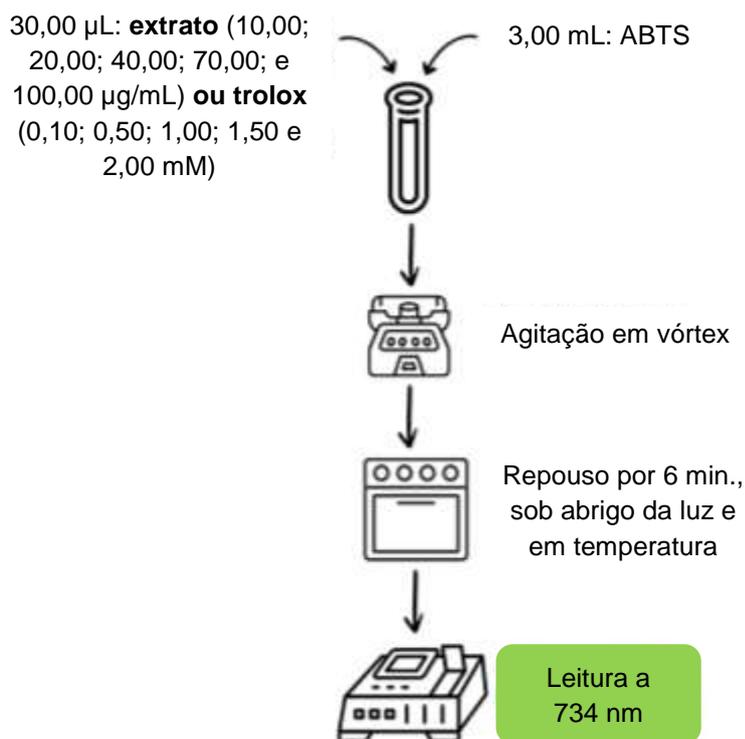
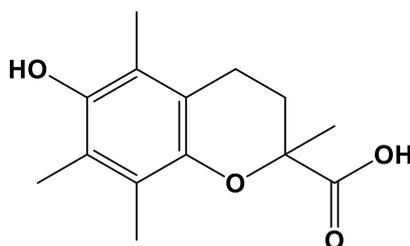


Figura 15 - Esquema da metodologia do ensaio para a avaliação da atividade antioxidante do extrato etanólico de *Casearia sylvestris* pelo método ABTS.

Fonte: elaborado pelo autor.

O trolox, um análogo hidrossolúvel da vitamina E, foi utilizado como substância antioxidante de referência. Para estabelecer a curva padrão, foram preparadas soluções de trolox, nas concentrações de 0,10; 0,50; 1,00; 1,50 e 2,00 mM, que passaram pelas mesmas condições experimentais das amostras teste. Todas as análises foram executadas em triplicata.



Trolox

Para a construção da curva, as concentrações de trolox foram inseridas no eixo X e as respectivas absorvâncias no eixo Y. Os resultados finais da atividade antioxidante foram expressos como Atividade Antioxidante Equivalente ao Trolox (TEAC), representando a concentração de trolox equivalente a 1000,00 µg/mL do extrato avaliado. Para determinar o TEAC, foi construída a equação da reta da curva padrão do extrato e obtido o valor de absorvância (Y) correspondente a 1000,00 µg/mL. Esse valor foi inserido na equação da reta do trolox, e o valor de X obtido foi considerado o valor final do TEAC.

5.11 Análise estatística

As análises dos resultados obtidos foram realizadas através do software GraphPad Prism 6.0 juntamente com testes complementares. O intervalo de confiança foi de 95%, considerando diferenças significativas quando P for menor que 0,05 ($P < 0,05$).

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Rendimento do extrato

Utilizaram-se 1000 g de material vegetal seco e pulverizado da *Casearia sylvestris*, e a partir dele foram obtidos 144,5 g de extrato etanólico seco, correspondendo a um rendimento de 14,45%.

6.2 Impressão digital (perfil cromatográfico) do extrato por CLAE-DAD

Na Figura 16, observa-se o cromatograma representativo do extrato etanólico das folhas da *Casearia sylvestris*, o qual corresponde ao perfil químico característico da amostra, acompanhado dos espectros de absorção na região do UV dos principais picos. A eluição dos compostos majoritários ocorreu entre os tempos de retenção de 12 a 30 minutos, sugerindo que as substâncias presentes apresentam polaridade média a baixa.

No presente estudo, o cromatograma foi obtido na faixa de 260 a 280 nm. De acordo com Oda (2021), os picos correspondentes às casearinas, diterpenos clerodânicos típicos da espécie, exibem espectro de absorção UV característico na faixa de 232 a 235 nm. Sendo assim, houve uma limitação da detecção adequada desses compostos, uma vez que a janela espectral não contempla de forma ideal a absorção dos diterpenos. Embora os principais picos tenham sido identificados, a faixa empregada não foi a mais apropriada para a identificação precisa, sendo necessária uma nova corrida com espectro de absorção mais baixo, entretanto não foi possível realizar devido à indisponibilidade do equipamento.

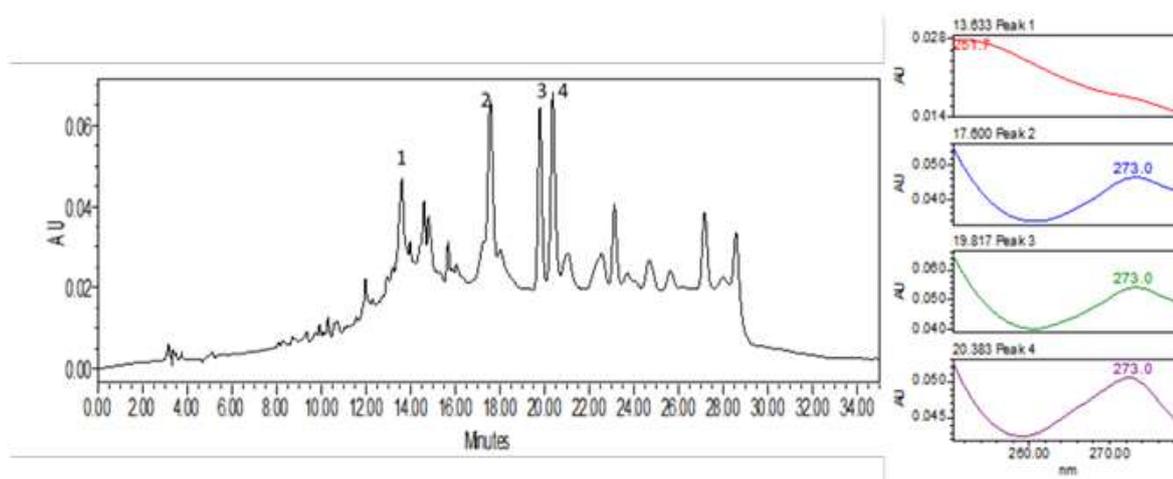


Figura 16 - Perfil cromatográfico do extrato etanólico das folhas da *Casearia sylvestris* Swartz e espectros no UV para os picos 1, 2, 3 e 4.

6.3 Avaliação da quantificação do conteúdo fenólico do extrato

Para a determinação do teor de compostos fenólicos totais no extrato etanólico da *Casearia sylvestris*, foi construída uma curva-padrão com soluções de ácido gálico em diferentes concentrações. As colorações das soluções são apresentadas na Figura 17, enquanto a Figura 18 exibe a curva gerada com base nas absorvâncias (eixo Y) e nas respectivas concentrações (eixo X).

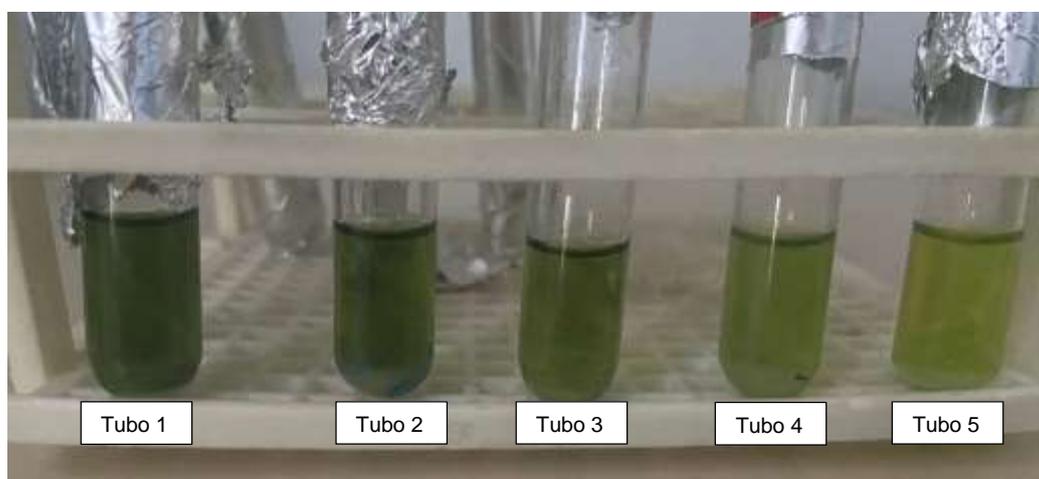


Figura 17 - Soluções de ácido gálico: tubo 1: 50 µg/mL, tubo 2: 40 µg/mL, tubo 3: 30 µg/mL, tubo 4: 20 µg/mL, tubo 5: 10 µg/mL.

Fonte: o autor

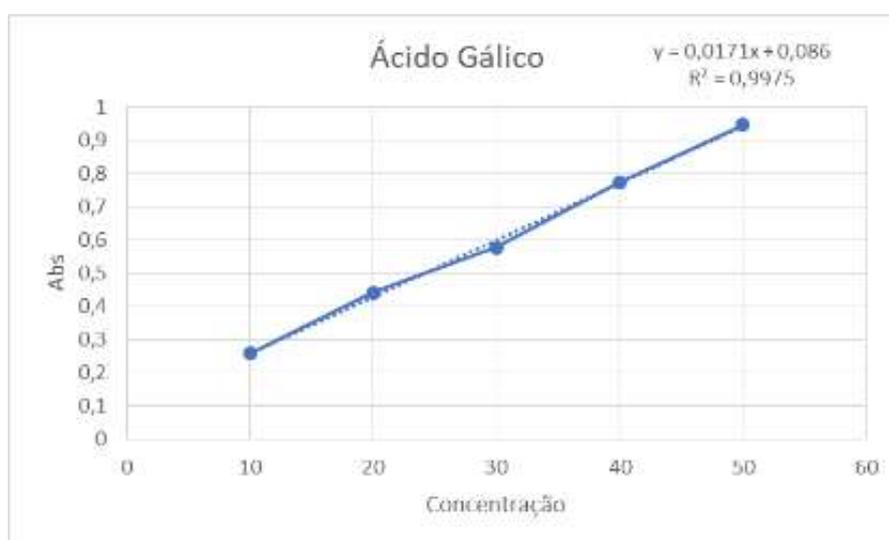


Figura 18 - Curva analítica padrão do ácido gálico.

Fonte: elaborado pelo autor.

A equação obtida, $y = 0,0171x + 0,086$, foi empregada para calcular o teor de fenólicos, expresso em miligramas de ácido gálico por grama de extrato (mg/g). Para isso, a média dos valores de absorvância do extrato pela leitura em triplicata foram inseridos na equação, permitindo a obtenção de x , que representa o conteúdo fenólico. A concentração de compostos fenólicos obtida foi de: $30,60 \pm 13,42$ mg/g. A Figura 19 ilustra a coloração da solução do extrato etanólico da *C. sylvestris* com concentração de 100 µg/mL.

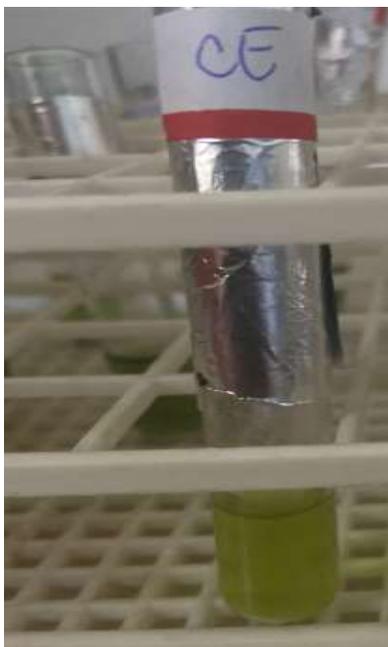


Figura 19 - Tubo contendo o extrato etanólico de *Casearia sylvestris* 100 µg/mL.

Fonte: o autor.

Quanto maior a absorvância, maior o conteúdo fenólico, sendo assim, o resultado indicou a presença de compostos fenólicos no extrato etanólico da *C. sylvestris*. Entretanto, o teor obtido foi inferior ao observado por Oliveira e colaboradores. (2023), que analisaram um extrato etanólico comercial da mesma espécie e relataram um elevado teor de compostos fenólicos ($270,54 \pm 7,40$ mg/mL), também determinado pelo método de Folin-Ciocalteu. A discrepância entre os resultados pode ser atribuída a fatores como a padronização do extrato comercial, as condições de extração, a região de coleta, tipo de solo e condições climáticas onde a planta foi cultivada, condições que conseguem influenciar diretamente na composição química da planta (Kabtni, 2020).

Ainda que o teor de compostos fenólicos totais encontrado na análise não seja elevado, é possível atestar a presença desses metabólitos, reforçando o potencial antioxidante da planta.

6.4 Avaliação da atividade antioxidante pelo método de captura do radical DPPH

O DPPH é um radical livre estável, devido à deslocalização do seu elétron não-pareado, por ressonância, ao longo de toda a estrutura molecular. Essa deslocalização também é responsável pela coloração violeta intensa que a molécula apresenta inicialmente nesse método *in vitro*. Ao ser reduzida a molécula perde gradativamente sua coloração roxa, apresentando um tom amarelado, tornando a mudança visualmente perceptível, como demonstrado na Figura 20 (Molyneux, 2003).

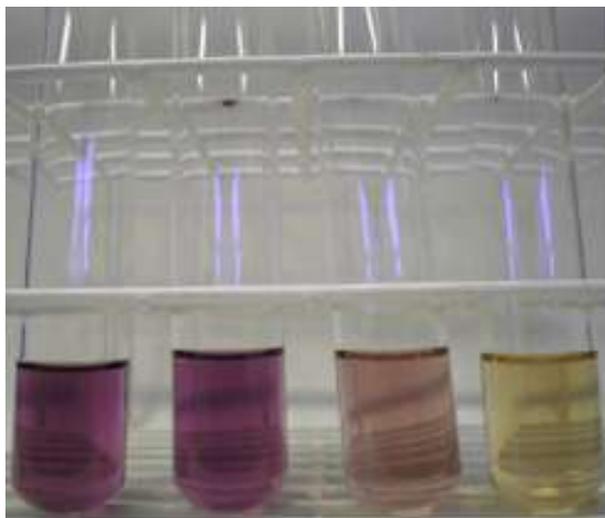


Figura 20 - Descoloramento do radical DPPH após ser neutralizado por substância antioxidante.

Fonte: Rufino *et al.*, 2007.

A presença de grupos hidroxila ligados a anéis aromáticos, especialmente em posição orto, está diretamente relacionada a uma maior eficácia antioxidante dos compostos, uma vez que favorecem a estabilização do radical por ressonância (Duarte-Almeida *et al.*, 2006). Sendo assim, a atividade foi avaliada pela descoloração da solução, sendo a porcentagem de ARR determinada utilizando a fórmula descrita no item 5.9.2, página 39. Os resultados obtidos para o padrão e o extrato estão apresentados na Tabela 2 e Figura 21.

Tabela 2 - Atividade antioxidante do extrato etanólico de *Casearia sylvestris* pelo método de captura do radical DPPH.

Amostra	Concentração (µg/mL)	Descoloração (%)
Extrato etanólico	100	32,58
	80	32,32
	70	32,06
	60	29,69
	50	27,54
	40	26,67
	30	26,30
	20	24,47
	10	22,46
Quercetina	100	94,41
	50	94,79
	40	94,80
	30	94,44
	20	94,30

Fonte: elaborado pelo autor.



Figura 21 - Resultado obtido para o extrato etanólico de *Casearia sylvestris* nas concentrações de 100, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20 e 10 µg/mL.

Fonte: o autor.

Adicionalmente, foi determinada a concentração efetiva capaz de reduzir 50% do radical (CE50), que representa um parâmetro quantitativo da potência antioxidante do extrato avaliado. Os dados correspondentes estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 - Concentrações dos extratos etanólico de *Casearia sylvestris* e quercetina em µg/mL, que reduzem 50% do radical livre (CE50) DPPH.

Amostra	CE50 µg/mL ± EPM (Intervalo de confiança - 95%)
Extrato etanólico de <i>Casearia sylvestris</i>	135,00 ± 1,27 (95,20 - 191,40)
Quercetina	1,74 ± 0,10 (0,90 - 3,36)

Fonte: elaborado pelo autor.

Analisando os valores de absorvância obtidos e o cálculo da porcentagem de descoloração da solução de DPPH, verificou-se que o extrato etanólico na concentração de 100 µg/mL apresentou o maior potencial antioxidante, embora com descoloração inferior à observada para a mesma concentração do padrão de quercetina. Da mesma forma, o

extrato de *Casearia sylvestris* requereu uma concentração mais elevada para atingir 50% de redução dos radicais livres, em comparação à quercetina. Benelli (2014) apresentou, em seu estudo, um resultado de CE50 igual a $244 \pm 2 \mu\text{g/mL}$, e descoloração de $90 \pm 1\%$, para o extrato etanólico da *C. sylvestris* 500 $\mu\text{g/mL}$ extraído por Soxhlet; e CE50 igual a $231 \pm 6 \mu\text{g/mL}$, e descoloração de $92,2 \pm 0,9\%$, para extrato etanólico obtido por maceração. Comparando os resultados desse autor aos obtidos no presente estudo, o extrato etanólico de *C. sylvestris* na maior concentração testada apresentou CE50 inferior, 135 $\mu\text{g/mL}$, sugerindo um maior potencial antioxidante, uma vez que quanto menor o CE50, maior a capacidade antioxidante da substância (Tabela 4). No entanto, a descoloração de 32,58% foi inferior à obtida por Benelli na concentração de 500 $\mu\text{g/mL}$, sendo importante levar em consideração que o método utilizado é voltado para compostos de polaridade alta. De acordo com o resultado obtido no perfil cromatográfico o extrato etanólico de *Casearia sylvestris* apresenta em sua composição compostos de polaridade média a baixa, justificando uma menor porcentagem de ARR. A diferença entre os resultados indicou ainda a influência do método de extração escolhido.

Tabela 4 - Resumo dos resultados obtidos para DPPH para a quercetina, extrato etanólico de *Casearia sylvestris* e extratos da literatura Benelli (2014).

	Quercetina	Extrato etanólico 100 $\mu\text{g/mL}$ Percolação	Benelli (2014) 500 $\mu\text{g/mL}$ Soxhlet	Benelli (2014) 500 $\mu\text{g/mL}$ Maceração
%ARR	94,41%	32,58%	$90 \pm 1\%$	$92,2 \pm 0,9\%$
CE50	1,74 $\mu\text{g/mL}$	135,00 $\mu\text{g/mL}$	$244 \pm 2 \mu\text{g/mL}$	$231 \pm 6 \mu\text{g/mL}$

Fonte: elaborado pelo autor.

6.5 Avaliação da atividade antioxidante pelo método de captura do radical ABTS

O método de captura do radical ABTS tem sido amplamente utilizado na avaliação da atividade antioxidante de amostras, devido à sua aplicabilidade em compostos tanto hidrossolúveis quanto lipossolúveis (Vasconcelos *et al.*, 2006). Esse ensaio baseia-se na geração do radical ABTS•+ a partir da reação entre o ABTS e o persulfato de potássio (Figura 14, pág. 43). A presença de substâncias antioxidantes promove a redução desse

radical, resultando em uma descoloração mensurável por espectrofotometria e perceptível, conforme ilustrado na Figura 22 (Re *et al.*, 1999).

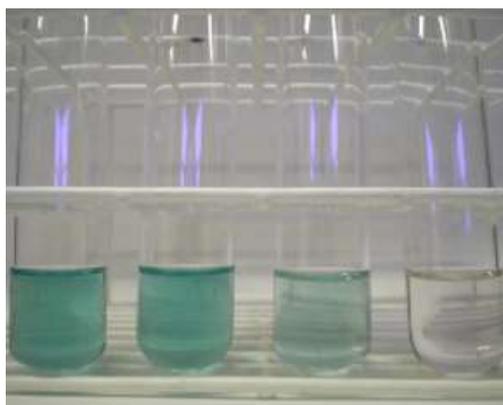


Figura 22 - Descoloramento do radical ABTS após ser neutralizado por substância antioxidante.

Fonte: Rufino *et. al*, 2007.

Para quantificar a capacidade antioxidante do extrato, foi empregada a curva-padrão do trolox, cuja equação da reta foi determinada como $y = -0,2759x + 0,6274$ (Figura 23). A partir dessa equação, foi calculado o valor de x correspondente à absorbância observada para uma solução do extrato a 1000 µg/mL. Para isso, utilizaram-se as equações das retas obtidas em triplicata para o extrato, substituindo o valor de x por 1000 µg/mL a fim de se encontrar o valor de y correspondente à absorbância. A partir da média dos resultados de y, substituiu-se na equação da reta do padrão, obtendo agora o valor de x que representa o TEAC, ou seja, a concentração de trolox necessária para produzir o mesmo percentual de inibição do radical ABTS•+ que 1000 µg/mL do extrato em análise.

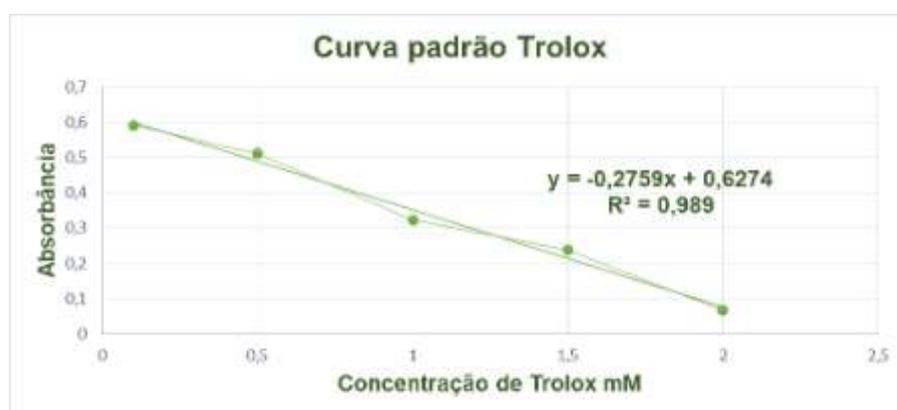


Figura 23 - Curva analítica padrão do trolox.

Fonte: elaborado pelo autor.

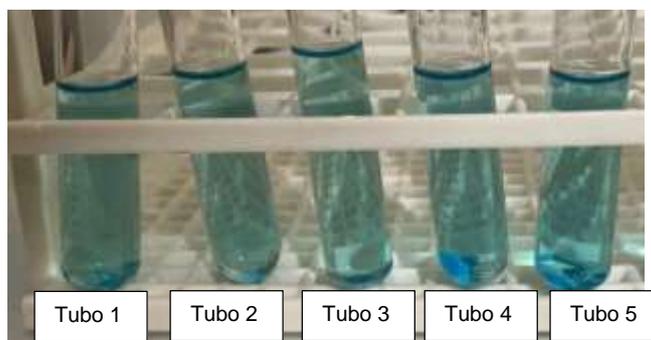


Figura 24 - Resultado obtido para o extrato etanólico de *Casearia sylvestris* nas concentrações 100 (Tubo1), 70 (Tubo 2), 40 (Tubo 3), 20 (Tubo 4) e 10 (Tubo 5) µg/mL.

Fonte: o autor.

Dessa forma, quanto maior o valor de TEAC, maior é o potencial antioxidante do extrato, indicando que uma quantidade superior de trolox seria necessária para igualar o efeito antioxidante apresentado pelo extrato testado. O resultado obtido para o TEAC do extrato etanólico de *C. sylvestris* (Figura 24) foi igual a $0,2715 \pm 0,0911$ mM de trolox equivalente a $1000 \mu\text{g/mL} \pm \text{EPM}$, demonstrando que o extrato possui atividade antioxidante. Oliveira e colaboradores (2023) demonstraram a porcentagem de redução de radical ABTS do extrato etanólico comercial da mesma espécie, relatando um valor de $96,51 \pm 0,38\%$, ou seja, demonstrando que esse extrato conseguiu sequestrar quase todos os radicais presentes no meio, o que sugere uma eficácia ainda maior do que a apresentada pelo extrato etanólico avaliado no presente estudo. Apesar de os estudos utilizarem unidades diferentes e, assim, não poderem ser diretamente comparados, ambos os resultados apontam para a capacidade antioxidante da *Casearia*. Ferraz-Filha e colaboradores (2017) apresentaram resultado para o padrão quercetina $3,00 \mu\text{g/mL}$ igual a $0,10 \pm 0,01$ mM, valor inferior ao obtido para o extrato etanólico, $0,2715 \pm 0,0911$ mM, indicando uma maior captura de radical ABTS para o extrato, sendo assim, os dados obtidos reforçam o potencial antioxidante do extrato analisado neste trabalho.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos neste estudo (Tabela 5) demonstraram que o extrato etanólico da *Casearia sylvestris* apresentou potencial atividade antioxidante, evidenciada pelos ensaios realizados com os métodos de captura de radicais DPPH e ABTS. Devido a composição química que acredita-se ser apresentada pelo extrato etanólico, os resultados foram maiores no experimento com o radical ABTS. Ademais, a presença de compostos fenólicos, quantificados por meio do reagente de Folin-Ciocalteu, reforçou a capacidade do extrato em atuar como agente redutor, contribuindo para a neutralização de radicais livres e espécies reativas. A esses compostos, às casearinas e os diterpenos clerodânicos, destacados anteriormente, são atribuídos o efeito antioxidante.

Tabela 5 - Resumo dos resultados obtidos nos experimentos realizados com o extrato etanólico de *C. sylvestris* e com as substâncias padrões de referência.

Metodologia	Resultado Extrato	Resultado Substância padrão de referência
Folin-Ciocalteu (mg de equivalente de ácido gálico/ g de extrato)	30,60 ± 13,42 mg/g.	270,54 ± 7,40 mg/mL
DPPH (% de descoloração a 100 µg/mL)	32,58%	94,41%
ABTS (TEAC - mM de Trolox equivalente a 1000 µg/mL ± EPM)	0,2715 ± 0,0911 mM	-

Fonte: elaborado pelo autor.

8. CONCLUSÃO

Os dados obtidos no presente trabalho, aliados à comparação com referências da literatura, indicaram que o extrato etanólico das folhas da *Casearia sylvestris* possui compostos bioativos com potencial para o desenvolvimento de novo insumo farmacêutico ativo vegetal com propriedade antioxidante.

9. REFERÊNCIAS

AERTS, R. J.; SNOEIJER, W.; VAN DER MEIJDEN, E.; VERPOORTE, R. Allelopathic inhibition of seed germination by Cinchona alkaloids?. **Phytochemistry**, v. 30, n. 9, p. 2947-2951, 1991. DOI: 10.1016/S0031-9422(00)98229-3

ALONSO, J. Tratado de Fitofármacos y Nutraceuticos. **Argentina: Corpus Editorial y Distribuidora**, 2007. 1143p.

AL-RIMAWI, F.; SBEIH, M.; AMAYREH, M.; RAHHAL, B.; MUDALAL, S. Evaluation of the effectiveness of natural extract as a substituent for synthetic preservatives and antioxidants in pharmaceutical preparations. **Saudi Pharm J**. 2024. DOI: 10.1016/j.jsps.2024.102014.

AMENI, A. Z. **Estudo do extrato fluido de *Casearia sylvestris***: constituintes químicos, potencial terapêutico e interações medicamentosas. 2015. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

BANDEIRA, J. M.; BARBOSA, F. F.; BARBOSA, L. M. P.; RODRIGUES, I. C. S.; BACARIN, M. A.; PETERS, J. A.; BRAGA, E. J. B. Composição do óleo essencial de quatro espécies do gênero *Plectranthus*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, p. 157-164, 2011. DOI: 10.1590/s1516-05722011000200006.

BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química nova**, v. 29, p. 113-123, 2006. DOI: 10.1590/S0100-40422006000100021.

BASILE, A. C.; SERTIÉ, J. A. A.; PANIZZA, S.; OSHIRO, T. T.; AZZOLINI, C. A. Pharmacological assay of *Casearia sylvestris*. I. Preventive anti-ulcer activity and toxicity of the leaf crude extract. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 30, n. 2, p. 185-197, 1990.

BENELLI, P. Obtenção de extratos bioativos de folhas de *Casearia sylvestris* e encapsulamento em biopolímero utilizando a tecnologia supercrítica. Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Florianópolis, 2014.

BOUYAHYA, A.; EL MENYIY, N.; OUMESLAKHT, L.; EL ALLAM, A.; BALAHBIB, A.; RAUF, A.; MUHAMMAD, N.; KUZNETSOVA, E.; DERKHO, M.; THIRUVENGADAM, M.; SHARIATI, M. A.; EL OMARI, N. Preclinical and Clinical Antioxidant Effects of Natural

- Compounds against Oxidative Stress-Induced Epigenetic Instability in Tumor Cells. **Antioxidants (Basel)**. 2021. DOI: 10.3390/antiox10101553.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Monografias de Plantas Mediciniais de Interesse ao SUS. 2025. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/composicao/sectics/plantas-mediciniais-e-fitoterapicos/plantas-mediciniais-e-fitoterapicos-no-sus/monografias>>.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Plantas Mediciniais de Interesse ao SUS – Rennisus. 2021. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/composicao/sectics/plantas-mediciniais-e-fitoterapicos/ppnmpf/rennisus>>.
- CAROCHO, M.; FERREIRA, I. C. F. R. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. **Food and chemical toxicology**, v. 51, p. 15-25, 2013.
- CARVALHO, F. A.; UCHINA, H. S.; BORGES, F. A.; OYAFUSO, M. H.; HERCULANO, R. D.; GREMIÃO, M. P. D.; & SANTOS, A. G. Natural membranes of *Hevea brasiliensis* latex as delivery system for *Casearia sylvestris* leaf components. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 28, p. 102-110, 2018. DOI: 10.1016/j.bjp.2017.10.007
- COELHO, A. A. M; DE PAULA, J. E.; ESPÍNDOLA, L. S. Efeito de extratos de plantas do Cerrado em *Dipetalogaster maxima* (Uhler) (Hemiptera, Reduviidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 53, p. 444-451, 2009. DOI: 10.1590/S0085-56262009000300020
- CÖMERT, E. D.; GÖKMEN, V. Evolution of food antioxidants as a core topic of food science for a century. **Food Research International**, v. 105, p. 76-93, 2018. DOI: 10.1016/j.foodres.2017.10.056.
- DE ARAÚJO, É. J. F.; DE ARAÚJO, D. Y. M. L.; DE FREITAS, R. M.; FERREIRA, P. M. P. Aspectos toxicológicos da planta medicinal *Casearia sylvestris* Swartz: revisão de literatura. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 35, n. 3, 2014.
- DE MESQUITA, M. L.; DE PAULA, J. E.; PESSOA, C.; DE MORAES, M. O.; COSTA-Lotufo, L. V; GROUGNET, R.; MICHEL, S.; TILLEQUIN, F.; ESPINDOLA, L. S. Cytotoxic activity of Brazilian Cerrado plants used in traditional medicine against cancer cell lines. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 123, n. 3, p. 439-445, 2009. DOI: 10.1016/j.jep.2009.03.018.

DE OLIVEIRA, J. P. L.; SANTOS, I. A.; SOARES, L. S.; BARROS, H. E. A.; MARTINS, M. S. A.; BOAS, E. V. B. V., CARVALHO, E. E. N. Antioxidant activity of the commercial *Casearia sylvestris* Swartz extract. **Scientia Naturalis**, v. 5, n. 2, 2023. DOI: 10.29327/269504.5.2-9

DEWICK, PAUL M. **Medicinal natural products: a biosynthetic approach**. John Wiley & Sons, 2002.

DUARTE-ALMEIDA J. M., SANTOS R. J., GENOVESE M.I., LAJOLO, F.M. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema beta-caroteno/ácido linoléico e método de sequestro de radicais DPPH. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 26, n. 2, p. 446- 452, 2006.

ESTEVES, I.; SOUZA, I. R.; RODRIGUES, M.; CARDOSO, L. G.; SANTOS, L., S.; SERTIE, J. A.; PERAZZO, F. F.; LIMA, L. M.; SCHNEEDORF, J. M.; BASTOS, J. K.; CARVALHO, J. C. Gastric antiulcer and anti-inflammatory activities of the essential oil from *Casearia sylvestris* Sw. **Journal of ethnopharmacology**, v. 101, n. 1-3, p. 191-196, 2005. DOI: 10.1016/j.jep.2005.04.020.

FALCÃO, L.; ROMAN, S. S.; ZAKRZEWSKI, S. B. B.; PEREIRA, A. A. M.; PAROUL, N.; CANSIAN, R. L. Ação antimicrobiana do óleo essencial de folhas de *Casearia sylvestris* swartz. **Erechim Perspect**, v. 41, n. 153, p. 115-123, 2017.

FERRARI, F.C. Estudo fitoquímico da fração acetato de etila, avaliação da atividade antiinflamatória *in vitro* e *in vivo* da toxicidade em camundongos de *Lychnophora trichocarpha* Spreng. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Ouro Preto. 2008.

FERRAZ-FILHA, Z. S.; FERRARI, F. C.; ARAÚJO, M. C. P. M.; BERNARDES, A. C. F. P. F.; SAÚDE-GUIMARÃES, D.A. Effects of the aqueous extract from *Tabebuia roseoalba* and phenolic acids on hyperuricemia and inflammation. **Evidence- Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2017, n. 1, p. 2712108, 2017. DOI: 10.1155/2017/2712108.

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 43, p. 61-68, 1997. DOI: 10.1590/S0104-42301997000100014.

FERREIRA, M. C. A. *Casearia sylvestris* Sw. Fitoterapia Brasil. 2023. Disponível em: <<https://fitoterapiabrasil.com.br/planta-medicinal/casearia-sylvestris>>

FERREIRA, P. M. P.; COSTA-LOTUFO, L. V.; MORAES, M. O.; BARROS, F. W. A.; MARTINS, A. M. A.; CAVALHEIRO, A. J.; BOLZANI, V. S.; SANTOS, A. G.; PESSOA, C. Folk uses and pharmacological properties of *Casearia sylvestris*: a medicinal review. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 83, p. 1373-1384, 2011. DOI:10.1590/S0001-37652011005000040

FIALHO, S. DA S.; NOGUEIRA, G. M.; DUARTE, C. A.; PAIVA NETO, Á. DE O.; MACORIS, D. DA G. *Casearia sylvestris* na permeabilidade gástrica à sacarose em equinos submetidos a protocolo de indução de úlcera gástrica. **Ciência Rural**, v. 40, p. 318-325, 2010. DOI: 0.1590/S0103-84782010000200013

FUMAGALI, E.; GONÇALVES, R. A. C.; MACHADO, M. DE F. P. S.; VIDOTI, G. J.; OLIVEIRA, A. J. B. DE. Produção de metabólitos secundários em cultura de células e tecidos de plantas: O exemplo dos gêneros *Tabernaemontana* e *Aspidosperma*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, p. 627-641, 2008. DOI: 10.1590/S0102-695X2008000400022

GARLET, T. M. B.; IRGANG, B. E. Plantas medicinais utilizadas na medicina popular por mulheres trabalhadoras rurais de Cruz Alta, Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de plantas medicinais**, v. 4, n. 1, p. 9-18, 2001.

GODOI, A. P. T. Estudo do óleo essencial de *Casearia sylvestris* e da formulação de enxaguatório bucal. Caracterização química, citotoxicidade, potencial antimicrobiano e efeito nas propriedades dos materiais odontológicos estéticos. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2013.

GÜNTZEL, A. R. C. Avaliação das atividades farmacológicas de extrato de *Casearia sylvestris* Sw. 2008. Dissertação (Mestrado) – Curso de Ambiente e Desenvolvimento, Universidade do Vale do Taquari - Univates, Lajeado, 2008.

GUSMAN, G. S.; CAMPANA, P. R. V.; CASTRO, L. C.; CASTILHO, R. O.; TEIXEIRA, M. M.; BRAGA, F. C. Evaluation of the Effects of Some Brazilian Medicinal Plants on the Production of TNF- α and CCL2 by THP- 1 Cells. **Evidence- Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2015, n. 1, p. 497123, 2015.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M.C. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. **Methods in Enzymology**, v. 186, p. 1-85, 1990.

HARBORNE, J. B. Classes and functions of secondary products from plants. In: **Chemicals from plants: perspectives on plant secondary products**. 1999. p. 1-25. DOI: 10.1142/9789812817273_0001

HAWASH, M.; JARADAT, N.; ABUALHASAN, M.; THAHER, M.; SAWALHI, R.; YOUNES, N.; SHANAA, A.; NUSEIRAT, M.; MOUSA, A.. *In vitro* and *in vivo* assessment of the antioxidant potential of isoxazole derivatives. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, p. 18223, 2022.

HEKIMI, S.; LAPOINTE, J.; WEN, Y. Taking a “good” look at free radicals in the aging process. **Trends in Cell Biology**, v. 21, n. 10, p. 569-576, 2011. DOI: 10.1016/j.tcb.2011.06.008.

HERRLING, T.; JUNG, K.; FUCHS, J. Measurements of UV-generated free radicals/reactive oxygen species (ROS) in skin. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 63, n. 4, p. 840-845, 2006. DOI: 10.1016/j.saa.2005.10.013

HIRSCHMANN GS; DE ARIAS AR. A survey of medicinal plants of minas gerais. Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 29, n. 2, p. 159-172, 1990. DOI: 10.1016/0378-8741(90)90052-u.

HOEHNE, F. C. Plantas e substâncias vegetais tóxicas e medicinais. In: **Plantas e Substâncias Vegetais Tóxicas e Medicinais**. 1939. p. 355 p.-355 p.

JUNIOR, S. Q.; OLIVEIRA, R. L. DE; MARQUES, M. M. M.; SILVA, A. R. A DA; GUEDES, M. I. F. Atividade de sequestro de radical livre dos extratos etanólicos das folhas de *Anacardiaceae*. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 38, n. 1, p. 99-104, 2017 DOI: 10.5433/1679-0367.2017v38n1p9.

KABTNI, S.; SDOUGA, D.; REBEY, I. B.; SAVE, M.; TRIFI-FARAH, N.; FAUCONNIER, ML.; MARGHALI, S. Influence of climate variation on phenolic composition and antioxidant capacity of *Medicago minima* populations. **Scientific Reports**. 2020. DOI: 10.1038/s41598-020-65160-4.

KOSSEL, A. Ueber die chemische Zusammensetzung der Zelle. **Du Bois-Reymond's Archiv/Arch Anat Physiol Physiol Abt**, v. 278, p. 181-186, 1891.

LI, J.; Ou-Lee, T.; Raba, R.; Amundson, R. G.; Last, R. L. Arabidopsis flavonoid mutants are hypersensitive to UV-B irradiation. **The Plant Cell**, v. 5, n. 2, p. 171-179, 1993. DOI: 10.1105/tpc.5.2.171.

MARQUETE, R.; MANSANO, V. F. O gênero *Casearia Jacq.* no Brasil. **Revista de Biologia Neotropical/Journal of Neotropical Biology**, v. 13, n. 1, p. 69-249, 2016. DOI: 10.5216/rbn.v13i1.26435.

MARTELLI, F.; NUNES, F. M. F. Radicais livres: em busca do equilíbrio. **Ciência e Cultura**, v. 66, n. 3, p. 54-57, 2014. DOI: 10.21800/S0009-67252014000300017.

MENEZES, A. DE F. DOS R. Efeitos do extrato etanólico das folhas da *Casearia sylvestris* sobre a migração de neutrófilos no modelo de artrite gotosa. 2024. 50 f. Monografia (Graduação em Farmácia) - Escola de Farmácia, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2024.

MŁYNNARSKA, E.; HAJDYS, J.; CZARNIK, W.; FULARSKI, P.; LESZTO, K.; MAJCHROWICZ, G.; LISIŃSKA, W.; RYSZ, J.; FRANCZYK, B. The Role of Antioxidants in the Therapy of Cardiovascular Diseases - A Literature Review. **Nutrients**. 2024 DOI: 10.3390/nu16162587.

MONTEIRO, S. C.; BRANDELLI, C. L. C. Farmacobotânica aspectos teóricos e aplicação. **Artmed**, 2017. E-book. <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788582714416/>.

MUHAMMAD, A.; CHUKWUMA, C. I.; ERUKAINURE, O. L.; ISLAM, M. S. Therapeutic potential of natural products in oxidative and metabolic diseases. **Frontiers in Pharmacology**, v. 15, p. 1375788, 2024. DOI:10.3389/fphar.2024.1375788

NIJVELDT, R. J.; HOORN, E. V. N. D. E. V.; BOELEN, P. G.; NORREN, K. V.; LEEUWEN, P. A. V. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 74, n. 4, p. 418–425, 2001.

ODA, F. B. Disposição cinética e atividade anti-inflamatória in vitro de diterpenos clerodânicos da *Casearia sylvestris Swartz* e de seus produtos de degradação. 2021. Tese (Pós-Graduação - Área de Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos e Medicamentos) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP, Araraquara, 2021.

OLIVEIRA, A. C. DE; VALENTIM, I. B.; GOULART, M. O. F.; SILVA, C. A.; BECHARA, E. J. H.; TREVISAN, M. T. S. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. **Química Nova**, v. 32, p. 689-702, 2009. DOI: 10.1590/S0100-40422009000300013.

PASSARELI, F. Preparação e caracterização de casearinas de *Casearia sylvestris* como padrão fitoquímico. 2010. 183 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química, 2010.

PIERRI, E. G.; CASTRO, R. C.; VIZIOLI, E. O.; FERREIRA, C. M. R.; CAVALHEIRO, A. J.; TININIS, A. G.; CHIN, C. M.; & SANTOS, A. G..Anti-inflammatory action of ethanolic extract and clerodane diterpenes from *Casearia sylvestris*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 27, n. 4, p. 495-501, 2017. DOI: doi.org/10.1016/j.bjp.2016.12.008

PIETTA, P. G. Flavonoids as antioxidants. **Journal of Nature Products**, v.63, p. 1035-1042, 2000. DOI: 10.1021/np9904509.

PRIETO, A. M.; DOS SANTOS, A. G.; OLIVEIRA, A. P. S.; CAVALHEIRO, A. J.; SILVA, D. H. S.; BOLZANI, V. S.; VARANDA, E. A.; SOARES, C. P. Assessment of the chemopreventive effect of casearin B, a clerodane diterpene extracted from *Casearia sylvestris* (*Salicaceae*). **Food and chemical toxicology**, v. 53, p. 153-159, 2013. DOI: 10.1016/j.fct.2012.11.029

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, n. 9-10, p. 1231-1237, maio 1999. Elsevier BV. DOI: 10.1016/s0891-5849(98)00315-3.

RIBEIRO, S. M.; FRATUCELLI É. D. O.; BUENO, P. C. P; DE CASTRO, M. K. V.; FRANCISCO, A. A.; CAVALHEIRO, A. J.; KLEIN, M. I. Antimicrobial and antibiofilm activities of *Casearia sylvestris* extracts from distinct Brazilian biomes against *Streptococcus mutans* and *Candida albicans*. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, Araraquara, v. 19, n. 1, p.1-16, nov. 2019. DOI: 10.1186/s12906-019-2717-z.

RODRIGUES, E.; OLIVEIRA, D. R. Ethnopharmacology: a laboratory science?. **Rodriguésia**, v. 71, p. e01612019, 2020. DOI: 10.1590/2175-7860202071061

RODRIGUES, P. A.; MORAIS, S. M.; MARQUES, M. M. M.; AGUIAR, L. A.; NUNES-PINHEIRO, D. C. S. Atividade antioxidante e gastro-protetora de produtos naturais em animais experimentais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 10, p. 116-123, 2008.

RUFINO, M. D. S. M., ALVES, R. E.; BRITO, E. S. DE; MORAIS, S. M. DE; SAMPAIO, C. DE G.; PÉREZ-JIMÉNEZ J.; SAURA-CALIXTO, F. D. Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS⁰⁺. 2007.

RUFINO, M. D. S. M., ALVES, R. E.; BRITO, E. S. DE; MORAIS, S. M. DE; SAMPAIO, C. DE G.; PÉREZ-JIMÉNEZ J.; SAURA-CALIXTO, F. D. Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. 2007.

SANTOS, A. G. Identificação dos princípios ativos antiulcerogênicos das folhas de *Casearia sylvestris*: contribuição para o desenvolvimento de um fitoterápico. 2008. 335 f. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química, 2008.

SIES, H. Strategies of antioxidant defense. **European Journal of Biochemistry**, v. 215, n. 2, p. 213-219, 1993. DOI: 10.1111/j.1432-1033.1993.tb18025.x

SILVA, A. A. O.; FIGUEREDO, A. T. F. B.; SANTOS, P. A.; BELO, E. S.; SOUZA, M. J. M. F. Análise fitoquímica e doseamento de metabólitos secundários das folhas de *Miconia albicans* (Sw) Triana coletadas de duas regiões do estado de Goiás. **Revista Eletrônica da Faculdade Evangélica de Ceres**, v. 10, n. 1, p. 71-91, 2021. DOI: 10.37951/refacer.v10i1.5880

SILVA, A. T. M. Atividade antioxidante e quantificação do teor em compostos fenólicos de extratos de *Plectranthus barbatus Andrews*. 2025. 48 f. Monografia (Graduação em Farmácia) - Escola de Farmácia, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2025.

SILVA, M. G. Avaliação da atividade antioxidante, teor em compostos fenólicos e inibição da xantina oxidase do extrato etanólico dos frutos da *Guazuma ulmifolia Lam*. 2019. 45 f. Monografia (Graduação em Farmácia) - Escola de Farmácia, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2019.

SILVA, R. A. da. *Casearia Sylvestris Sw*: uma planta brasileira de interesse do SUS. Monografia (Especialização em Tecnologia Industrial Farmacêutica) - Instituto de Tecnologia em Fármacos/Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2016.

SILVA, S. L.; CHAAR, J. S.; FIGUEIREDO, P. M. S.; YANO, T. Cytotoxic evaluation of essential oil from *Casearia sylvestris* Sw on human cancer cells and erythrocytes. **Acta Amazonica**, v. 38, p. 107-112, 2008. DOI: 10.1590/S0044-59672008000100012

SINGH, R. P.; CHIDAMBARA MURTHY, K. N.; JAYAPRAKASHA, G. K. Studies on the antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel and seed extracts using in vitro models. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 1, p. 81-86, 2002. DOI: 10.1021/jf010865b.

SOUSA, C. M. M.; SILVA, R. H.; JUNIOR, G. M. V.; AYRES, M. C. C.; COSTA, C. L. S.; ARAÚJO, D. S. C.; CALVACANTE, L. C. D.; BARROS, E. D. S.; ARAÚJO, P. B. M.; BRANDÃO, M. S.; CHAVES, M. H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, Teresina, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007.

SOUZA, D. M. Perfis cromatográficos e atividade antioxidante de extratos de *Miconia albicans*. 2023. 47 f. Monografia (Graduação em Farmácia) - Escola de Farmácia, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2024.

STEVENS, P. (2001). **Angiosperm Phylogeny Website**. Disponível em:< <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>>.

SWAIN, T.; HILLIS, W. E. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. I. — The quantitative analysis of phenolic constituents. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 10, n. 1, p. 63-68, 1959. DOI: 10.1002/jsfa.2740100110.

TEIXEIRA, J. E; MEDEIROS, L. F.; SOUZA, A.; GÜNTZEL, A. R. C.; RÜCKER, B.; CASALI, E. A.; ETHUR, E. M.; WINK, M. R.; TORRES, I. L. S. Ethanolic extract of *Casearia sylvestris* Sw exhibits in vitro antioxidant and antimicrobial activities and in vivo hypolipidemic effect in rats. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. Botucatu. Vol. 17, n. 2 (abr./jun. 2015), p. 49-55, 2015. DOI: 10.1590/1983-084X/13_074.

TOMAZI, L. B.; AGUIAR, P. A.; CITADINI-ZANETTE, V.; ROSSATO, A. E. Estudo etnobotânico das árvores medicinais do Parque Ecológico Municipal José Milanese, Criciúma, Santa Catarina, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, p. 450-461, 2014. DOI: 10.1590/1983-084X/09_116.

TUMILAAAR, S. G.; HARDIANTO, A.; DOHI, H.; KURNIA, D. A comprehensive review of free radicals, oxidative stress, and antioxidants: Overview, clinical applications, global

perspectives, future directions, and mechanisms of antioxidant activity of flavonoid compounds. **Journal of Chemistry**, v. 2024, n. 1, p. 5594386, 2024. DOI: 10.1155/2024/5594386.

UNGER, J. C. Solventes Eutéticos Naturais Profundos como alternativa aos solventes orgânicos na extração de terpenos bioativos de *Casearia sylvestris Swartz*. 2022. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2022.

VALKO, M.; LEIBFRITZ, D.; MONCOL, J.; CRONIN, M. T.; MAZUR, M.; TELSER, J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 39, n. 1, p. 44-84, 2007. DOI: 10.1016/j.biocel.2006.07.001.

VASCONCELOS, M. A.; ARROYO, V. A.; FERREIRA, D. S.; CROTTI M., A. E.; ANDRADE E SILVA, M. L.; CARVALHO, J. C. BASTOS, J. K.; CUNHA, W. R. In vivo analgesic and anti-inflammatory activities of ursolic acid and oleanolic acid from *Miconia albicans* (Melastomataceae). **Verlag der Zeitschrift für Naturforschung, Tübingen**, v. 61, n. 7-8, p. 477-82, 2006.

VASCONCELOS, S. M. L.; GOULART, M. O. F.; MOURA, J. B. DE F.; MANFREDINI, V.; BENFATO, M. DA S.; KUBOTA, L. T..Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. **Química Nova**, v. 30, p. 1323-1338, 2007. DOI: 10.1590/S0100-40422007000500046.

VASCONCELOS, T. B.; CARDOSO, A. R. N. R.; JOSINO, J. B.; MACENA, R. H. M.; BASTOS, V. P. D. Radicais livres e antioxidantes: proteção ou perigo?. **Journal of Health Sciences**, v. 16, n. 3, 2014.

VIEIRA JÚNIOR, G. M. Contribuição ao estudo dos metabólitos secundários do gênero *Casearia* e de algumas de suas atividades biológicas. 2010. 364 f. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química, 2010.

XU, D.; HU, M.J.; WANG, Y. Q.; CUI, Y. L. Antioxidant activities of quercetin and its complexes for medicinal application. **Molecules**, v. 24, n. 6, p. 1123, 2019. DOI: 10.3390/molecules24061123.

YAMASHITA, C. I. Estudo sobre os constituintes inorgânicos presentes em diferentes espécies da planta medicinal do gênero 'casearia' coletadas em regiões distintas da Mata Atlântica, SP. 2006. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. DOI: 10.11606/D.85.2006.tde-05062007-152847.