



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
BIOMEDICINA BACHARELADO
DEPARTAMENTO DE BIOFÍSICA E RADIOBIOLOGIA

SAMARA ELLEN DA SILVA SANTOS

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E INVESTIGAÇÃO DA ATIVIDADE
ANTIOXIDANTE E ANTIMICROBIANA DO ÓLEO FIXO E DO EXTRATO
ETANÓLICO DE *Calophyllum brasiliense* Cambess (guanandi)**

Recife
2024

SAMARA ELLEN DA SILVA SANTOS

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E INVESTIGAÇÃO DA ATIVIDADE
ANTIOXIDANTE E ANTIMICROBIANA DO ÓLEO FIXO E DO EXTRATO
ETANÓLICO DE *Calophyllum brasiliense* Cambess (guanandi)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Biomedicina da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

Orientadora: Prof^a Dr^a Cláudia Sampaio De Andrade Lima

Coorientador: Dr. Thiago Silva de Almeida

Recife
2024

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Santos, Samara Ellen da Silva.

Caracterização físico-química e investigação da atividade antioxidante e antimicrobiana do óleo fixo e do extrato etanólico *Calophyllum brasiliense* Cambess (guanandi) / Samara Ellen da Silva Santos. - Recife, 2024.

52 : il., tab.

Orientador(a): Cláudia Sampaio de Andrade Lima

Coorientador(a): Thiago Silva de Almeida

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências, Biomedicina, 2024.

Inclui referências.

1. *Calophyllum brasiliense*. 2. Produtos naturais. 3. Caatinga. 4. Extrato etanólico. 5. Óleo fixo. I. Lima, Cláudia Sampaio de Andrade. (Orientação). II. Almeida, Thiago Silva de. (Coorientação). IV. Título.

580 CDD (22.ed.)

SAMARA ELLEN DA SILVA SANTOS

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E INVESTIGAÇÃO DA ATIVIDADE
ANTIOXIDANTE E ANTIMICROBIANA DO ÓLEO FIXO E DO EXTRATO
ETANÓLICO DE *Calophyllum brasiliense* Cambess (guanandi)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Curso de Biomedicina - Bacharelado da
Universidade Federal de Pernambuco, como
requisito parcial para obtenção do título de
Bacharel em Biomedicina.

Aprovada em: ___/___/___

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Prof^ª Dra. Cláudia Sampaio De Andrade Lima
UFPE/ Departamento de biofísica e radiobiologia

Co-orientador: Prof^ª Dr. Thiago Silva de Almeida
CETENE/Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste

Dr. George Souza Feitoza/EREM Ageu Magalhães

M.a. Kivia dos Santos Machado
UFPE/Departamento de Ciências Farmacêuticas

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus por ter chegado até aqui, sem ele não teria conseguido realizar o sonho de cursar uma universidade pública.

Aos meus pais, Célio e Vânia, por todo apoio e sustento durante esses anos, assim como agradeço minha irmã, Giovanna por toda paciência e apoio que me ajudaram a perseverar.

À família de Nair e Romero por me acolherem em Recife e em suas vidas.

Ao meu grupo de amigas: Laís, Júlia, Talita, Thais, Bruna, Rosana e Doralice por todo apoio e cuidado.

À minha orientadora Prof. Dr^a. Claudia Sampaio por todo auxílio e incentivo.

Ao meu coorientador Dr. Thiago Almeida por todo ensinamento dentro e fora do laboratório e por toda ajuda e paciência comigo.

À toda a equipe do Laboratório de Fitoquímica e Integração de Processos (LaFIP), Juliana, Milena, Gustavo, Edson, Márcia e James.

À minha banca examinadora: Dr. George Souza, Ma. Kivia Machado e Dr^a. Pollyne Borborema que fazem parte dessa formação.

À Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) que contribuiu para a minha formação de maneira excelente.

Ao Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste (CETENE) por possibilitar o desenvolvimento deste trabalho em suas dependências.

À Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE) por financiar e possibilitar o desenvolvimento deste trabalho.

“Porque para Deus nada é impossível”
(Lucas 1:37)

SANTOS, Samara Ellen da Silva. **Potencial fitoterápico, caracterização físico-química e investigação da atividade antioxidante e antimicrobiana do óleo fixo e do extrato etanólico de *Calophyllum brasiliense* Cambess (guanandi)**. 2024. 52 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2024.

RESUMO

Ao longo dos séculos, observa-se na humanidade, de maneira empírica ou cientificamente embasada, a utilização das plantas em diversas aplicações médicas e/ou cosméticas. Essa ação se dá pela presença de diversos compostos bioativos, resultantes dos processos metabólicos dessas plantas, que podem ser encontrados em quantidades diferentes dependendo da espécie vegetal e de questões intrínsecas a sua localização ambiental, clima, etc. Nesse contexto, as condições ambientais expressas na Caatinga brasileira possibilitam uma diversificação de espécies vegetais com diferentes composições bioativas. Dentre elas, destaca-se a *Calophyllum brasiliense* Cambess. Essa espécie é utilizada na obtenção de óleo fixo para produção de biocombustíveis e também já foi utilizada para obtenção de madeira e látex. Dessa forma, o objetivo deste trabalho é obter e caracterizar o óleo fixo e o extrato dessa planta, assim como avaliar os potenciais de atividades antimicrobiana e antioxidante. Para analisar a atividade antioxidante do extrato foi utilizada a via de sequestro do radical livre 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) em concentrações variando de 7,81 a 1000 µg/mL. No que diz respeito à avaliação da atividade antimicrobiana, duas linhagens bacterianas padrões Gram-positivas serão utilizadas, sendo elas a *Staphylococcus aureus* ATCC 12624 e a *Staphylococcus epidermidis* ATCC 33018. Foi realizada uma diluição seriada de polimixina-b, como controle positivo, e das amostras em concentrações variando de 1000 a 31,25 µg/mL. Como controle negativo foi utilizado 190 µL de meio e 10 µL de inóculo. Será realizada a investigação da concentração letal média (CL50) e da concentração inibitória mínima (MIC) que será definida como a menor concentração capaz de inibir o crescimento bacteriano. No que tange aos resultados, o índice de saponificação do óleo foi de 190,7 mg de KOH/g óleo, resultado dentro da faixa de especificação da IN 49/2006 (ANVISA), o índice de iodo foi na média de 130,89 g de I/100 g óleo e o índice de peróxidos foi 18,28 meq de O₂/Kg. Para o extrato, o resultado do ensaio de espectroscopia UV-Vis revelou maior absorção na faixa de 550-700 nm, e os ensaios de toxicidade aguda apontam leve toxicidade do extrato. A marcha química revelou a presença de flavonoides e taninos. Com relação a atividade antimicrobiana e antioxidante, o extrato demonstrou atividade antioxidante, e o óleo apresentou atividade antimicrobiana. A partir dos resultados, visa-se a incorporação dessa espécie no desenvolvimento de bioprodutos com potenciais fitoterápicos e bioeconômicos que agreguem inovação e tecnologia.

Palavras-chave: Biotecnologia vegetal. *Calophyllum brasiliense*. Óleo fixo. Extrato etanólico. Caatinga.

SANTOS, Samara Ellen da Silva. **Phytherapeutic potential, physicochemical characterization and investigation of the antioxidant and antimicrobial activity of the fixed oil and ethanolic extract of *Calophyllum brasiliense* Cambess (guanandi)**. 2024. 52 f. Course Completion Work (Graduation in Biomedicine) - Federal University of Pernambuco, Recife, 2024.

ABSTRACT

Over the centuries, humanity has observed the use of plants in various medical and/or cosmetic applications, whether empirically or scientifically based. This action is due to the presence of various bioactive compounds, resulting from the metabolic processes of these plants, which can be found in different quantities depending on the plant species and issues intrinsic to its environmental location, climate, etc. In this context, the environmental conditions expressed in the Brazilian Caatinga allow for a diversification of plant species with different bioactive compositions. Among them, *Calophyllum brasiliense* Cambess stands out. This species is used to obtain fixed oil for biofuel production and has also been used to obtain wood and latex. The aim of this study was therefore to obtain and characterize the fixed oil and extract of this plant, as well as to evaluate its potential antimicrobial and antioxidant activities. To analyze the antioxidant activity of the extract, the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) free radical scavenging pathway was used at concentrations ranging from 7.81 to 1000 $\mu\text{g/mL}$. With regard to the evaluation of antimicrobial activity, two standard Gram-positive bacterial strains will be used, namely *Staphylococcus aureus* ATCC 12624 and *Staphylococcus epidermidis* ATCC 33018. A serial dilution of polymyxin-b was carried out as a positive control, and of the samples at concentrations ranging from 1000 to 31.25 $\mu\text{g/mL}$. 190 μL of medium and 10 μL of inoculum were used as a negative control. The average lethal concentration (CL50) and the minimum inhibitory concentration (MIC), defined as the lowest concentration capable of inhibiting bacterial growth, will be investigated. As far as the results are concerned, the saponification index of the oil was 190.7 mg KOH/g oil, a result within the specification range of IN 49/2006 (ANVISA), the iodine index was an average of 130.89 g I₂/100 g oil and the peroxide index was 18.28 mEq O₂/Kg. For the extract, the results of the UV-Vis spectroscopy test showed greater absorption in the 550-700 nm range, and the acute toxicity tests indicate slight toxicity of the extract. The chemical analysis revealed the presence of flavonoids and tannins. With regard to antimicrobial and antioxidant activity, the extract showed antioxidant activity and the oil showed antimicrobial activity. Based on the results, the aim is to incorporate this species into the development of bioproducts with phytherapeutic and bioeconomic potential that add innovation and technology.

Keywords: Plant biotechnology. *Calophyllum brasiliense*. Fixed oil. Ethanolic extract. Caatinga.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Divisão das classes de compostos fenólicos em flavonoides e não-flavonoides	16
Figura 2 -	Exemplos de estrutura química básica das principais classes de polifenóis	17
Figura 3 -	Exemplos de estrutura dos principais alcaloides	19
Figura 4 -	Espécie <i>Calophyllum brasiliense</i> Cambess utilizada para o estudo	21
Figura 5 -	Folhas e frutos de <i>Calophyllum brasiliense</i> Cambess	21
Figura 6 -	Frutos coletados de <i>Calophyllum brasiliense</i> Cambess	31
Figura 7 -	Sementes de <i>Calophyllum brasiliense</i> Cambess	32
Figura 8 -	Extração do óleo fixo de <i>Calophyllum brasiliense</i> Cambess bruto com hexano antes e após a filtração	32
Figura 9 -	Óleo fixo de <i>Calophyllum brasiliense</i> Cambess bruto após processo de rotaevaporação	33
Figura 10 -	Extrato bruto de <i>Calophyllum brasiliense</i> Cambess antes e após a filtração	33
Figura 11 -	Extrato bruto de <i>Calophyllum brasiliense</i> Cambess antes e após a filtração	33
Figura 12 -	Extrato bruto de <i>Calophyllum brasiliense</i> Cambess utilizado no estudo	34

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 -** Relação solvente orgânico utilizado na obtenção de extratos vegetais e os metabólitos secundários obtidos 15
- Tabela 2 -** Classificação dos terpenos baseada na quantidade de unidades de isopreno, 18 com os respectivos exemplos 18
- Tabela 3 -** Resultados das análises físico-químicas do óleo fixo de *Calophyllum brasiliense* Cambess e valores preconizados pela Anvisa 36
- Tabela 4 -** Resultados das concentrações inibitórias mínimas e CL₅₀ (µg/mL) para o óleo fixo, extrato etanólico de *Calophyllum brasiliense* e controle de polimixina B 39

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1 -** Curva de análise TG/DTG do óleo fixo de *Calophyllum brasiliense* Cambess 37
- Gráfico 2 -** Espectro de absorção de luz do óleo fixo de *Calophyllum brasiliense* Cambess 38
- Gráfico 3 -** Espectro de absorção de luz do extrato etanólico de *Calophyllum brasiliense* Cambess 38
- Gráfico 4 -** Capacidade de neutralização do radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) do óleo fixo de *Calophyllum brasiliense* Cambess e controle positivo ácido ascórbico 40
- Gráfico 5 -** Capacidade de neutralização do radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) do extrato de *Calophyllum brasiliense* Cambess em comparação com o controle positivo de ácido ascórbico 41

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. REFERENCIAL TEÓRICO	14
2.1. BIOTECNOLOGIA VEGETAL: BIOATIVOS E BIOPRODUTOS.....	14
2.2. A ESPÉCIE <i>Calophyllum brasiliense</i> CAMBESS.....	20
2.3. ÓLEO FIXO DE <i>Calophyllum brasiliense</i> Cambess.....	22
2.4. EXTRATO ETANÓLICO DE <i>Calophyllum brasiliense</i>	22
3. OBJETIVOS	23
3.1. OBJETIVO GERAL	23
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	23
4. MATERIAIS E MÉTODOS	24
4.1. COLETA, IDENTIFICAÇÃO E PROCESSAMENTO DA ESPÉCIE <i>Calophyllum brasiliense</i> Cambess.....	24
4.2. LOCAL DO EXPERIMENTO.....	24
4.3. EXTRAÇÕES DO ÓLEO FIXO E DO EXTRATO DE <i>Calophyllum brasiliense</i> Cambess.....	25
4.4. CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO FIXO E DO EXTRATO ETANÓLICO DE <i>Calophyllum brasiliense</i> Cambess.....	25
4.5. DETERMINAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA DO ÓLEO FIXO E DO EXTRATO FRENTE À <i>Artemia salina</i>	27
4.6. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO ÓLEO FIXO E DO EXTRATO DE <i>Calophyllum brasiliense</i> Cambess	28
4.7. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO ÓLEO FIXO E DO EXTRATO DE <i>Calophyllum brasiliense</i> Cambess.....	29
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
5.1. COLETA, IDENTIFICAÇÃO E PROCESSAMENTO DA ESPÉCIE <i>Calophyllum brasiliense</i> Cambess.....	31
5.2. CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO FIXO E DO EXTRATO ETANÓLICO DE <i>Calophyllum brasiliense</i> Cambess.....	35
5.3. RESULTADOS DOS ENSAIOS MICROBIOLÓGICOS.....	39
5.4. RESULTADOS DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.....	40
6. CONCLUSÃO	41
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43

INTRODUÇÃO

O potencial biotecnológico associado às espécies vegetais na atualidade não é desconhecido. Há muito tempo se tem observado na humanidade o uso das plantas com aplicação nas áreas medicinal, terapêutica e cosmética, principalmente no Brasil (Fagotti; Ribeiro, 2021). Diversas espécies que antigamente eram utilizadas com base no conhecimento popular empírico tornaram-se respaldadas pela comunidade científica na aplicação terapêutica por apresentarem a comprovada atividade a qual lhe era atribuída, assim como o inverso também ocorreu, quando se foi possível evidenciar o caráter de toxicidade em algumas dessas espécies vegetais (Fagotti; Ribeiro, 2021) (Trevisan, 2020). Essas propriedades associadas às plantas medicinais se baseiam na capacidade de síntese de metabólitos secundários bioativos capazes de exercer efeito terapêutico no organismo humano. E, dentre as diversas composições químicas que se pode observar nesses metabólitos vegetais, destacam-se os compostos fenólicos, terpenos e alcaloides (Barreto, 2020). Sendo estes compostos os principais promotores dessas atividades biológicas por atuarem em vias antioxidantes, anti-inflamatórias, antimicrobianas, entre outras (Almeida *et al.*, 2023).

No contexto brasileiro, a diversidade de espécies vegetais contidas nos diferentes biomas do território nacional possibilita uma abundante diversificação de compostos oriundos dessas plantas com diferentes potenciais terapêuticos. Nesse cenário, a Caatinga se revela como um grande polo, abrigando diversas espécies ricas em bioativos de potencial terapêutico. Sendo um espaço geográfico que corresponde a aproximadamente 10% do território nacional do Brasil (Ganem, 2020), esse bioma apresenta características que o tornam singular, assim como as espécies cuja ocorrência se dá na região. Por conta do clima e das condições severas de temperatura e umidade, as espécies abrangidas nessa região são induzidas a adaptação metabólica visando à sobrevivência e perpetuação das espécies (Sanchez, 2022), gerando a síntese de diversos metabólitos secundários bioativos com alto potencial fitoterápico.

E, dentre as diversas espécies presentes na Caatinga brasileira, destaca-se a *Calophyllum brasiliense* Cambess, popularmente chamada de “guanandi”. Essa espécie arbórea já vem sendo relatada na literatura pela sua utilização para a produção de biocombustíveis e também pelo emprego da sua madeira na construção civil e naval (Nery *et al.*, 2007). No que tange suas aplicações biológicas, é possível encontrar algumas publicações relacionando o extrato foliar e óleo fixo da espécie à propriedades biológicas como: atividade hipoglicemiante, atividade antiinflamatória (Domeneghetti, 2018), atividade antiviral (Ali,

2021), atividade antioxidante (Cisneros-Torres, 2019), atividade antiparasitária e atividade antitumoral (Gómez-Verjan, 2019).

Desse modo, tendo em vista a relevância do uso de espécies vegetais na fitoterapia e a relevância da espécie *Calophyllum brasiliense* Cambess, que ocorre na Caatinga, o presente estudo possui como objetivo avaliar a atividade antioxidante, antimicrobiana e toxicidade aguda dos bioprodutos sintetizados a partir dela, sendo eles: o óleo fixo e o extrato vegetal.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. BIOPRODUTOS DE ORIGEM VEGETAL

Culturalmente, sempre se observou na história do mundo a utilização das plantas de um modo geral na área terapêutica e cosmética com resultados efetivos. Através do conhecimento popular, muitas doenças foram tratadas com o uso de “plantas medicinais”, e muitas espécies tornaram-se conhecidas pela sua eficácia no tratamento de lesões de pele, sintomas de febre, entre outras enfermidades (Quemel, 2021). Espécies como, por exemplo, *Aloe vera* já vem há muito tempo sendo associadas ao tratamento cosmético capilar e terapêutico de queimaduras e feridas cutâneas (Freitas, 2014), demonstrando assim o potencial associado às plantas. Desse modo, a diversidade de preparações medicinais (chás, infusões, óleos e compressas naturais) presentes nas práticas familiares e tradições domésticas passadas de geração em geração, aponta para o caráter benéfico da utilização dessas plantas de maneira terapêutica para a sociedade.

Esses resultados eficazes observados no uso dessas plantas se baseiam na presença de propriedades biológicas atribuídas a moléculas bioativas produzidas por estas plantas como os metabólitos secundários. Nesse contexto, os metabólitos secundários são compostos produzidos pelos vegetais podendo estar envolvidos nos processos primários do metabolismo vegetal (como a fotossíntese ou a respiração), mas sem comprometer as funções essenciais da planta. Podem também possuir atividade biológica por se apresentarem com uma rica diversidade de biomoléculas (Borges; Amorim, 2020).

Estes bioprodutos são obtidos a partir de vegetais, sendo constituídos majoritariamente por seus metabólitos secundários com potencial para diversas aplicações. A obtenção desses bioprodutos é determinada pela parte utilizada da planta para a extração, podendo ser exemplificados pelos óleos fixos, óleos essenciais e extratos vegetais (Silva *et al*, 2023). No processamento vegetal, a obtenção desses metabólitos secundários se dá por meio de processos de extração diversos, sendo o mais utilizado a extração por solventes orgânicos que se baseia na afinidade química dos compostos orgânicos da planta (Longo *et al*, 2020).

O processo de extração é uma operação unitária que se baseia na transferência de massa de um soluto e uma substância que pode ser líquida ou sólida, podendo acontecer por meio de interações que envolvem processos líquido-líquido ou sólido-líquido, podendo ser realizada por vários métodos a depender das características da planta e da finalidade da aplicação que será dada ao extrato obtido (Castilho *et al.*, 2021). Nesse processo, vários elementos podem

influenciar a extração desses metabólitos, incluindo a parte da planta empregada e sua origem, o tratamento que se dá ao material, a umidade, o método e a duração da extração, bem como a concentração, temperatura, polaridade e o tipo de solvente utilizado (Tiwari *et al.*, 2011). Tendo em vista esses parâmetros, a escolha dos solventes para obtenção desses metabólitos é um fator crucial para o processo, pois está intrinsecamente ligado ao tipo de molécula que se obterá.

Segundo a literatura, os solventes mais empregados para a obtenção de extratos vegetais são a água, o etanol, o metanol, o clorofórmio, o éter e a acetona (Tabela 1) (Pandey & Tripathi, 2014).

Tabela 1 - Relação solvente orgânico utilizado na obtenção de extratos vegetais e os metabólitos secundários obtidos

Água	Etanol	Metanol	Clorofórmio	Éter	Acetona
Antocianinas	Taninos	Antocianinas	Terpenoides	Alcaloides	Fenóis
Amidos	Polifenóis	Terpenoides	Flavonoides	Terpenoides	Flavonóis
Taninos	Poliacetilenos	Saponinas		Cumarinas	
Saponinas	Flavonóis	Taninos		Ácidos	
Terpenoides	Terpenos	Xantoxilinas		graxos	
Polipeptídeos	Esterol	Totarol			
Lectinas	Alcaloides	Quassinóides			
		Lactonas			
		Flavonas			
		Fenonas			
		Polifenóis			

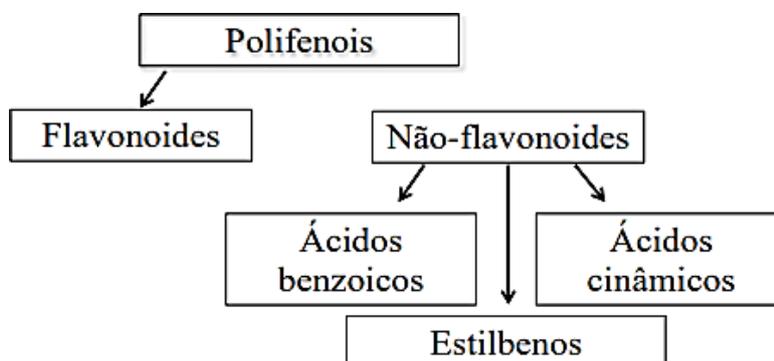
Fonte: Pandey & Tripathi, 2014 (com adaptações)

A escolha do método de extração permite a obtenção de compostos secundários de maneira mais específica, visto que a determinação do solvente delimita a afinidade com os compostos que se deseja obter. No que se refere à obtenção de óleos fixos, o solvente empregado majoritariamente é o hexano, pois este demonstra alta afinidade com lipídeos, além de ser de fácil separação e recuperação no processo. Para a obtenção dos extratos vegetais, um dos solventes mais utilizados é o etanol, pois apresenta afinidade para diversos compostos, vantagem econômica e ausência de toxicidade ao manipulador (Longo *et al.*, 2020). Nesse cenário, os bioativos mais comuns obtidos a partir de plantas são os compostos fenólicos, terpenos e compostos nitrogenados (Borges; Amorim, 2020). Tais compostos possuem capacidade de atuar em diversas vias do organismo humano, podendo gerar diversos efeitos biológicos (Almeida *et al.*, 2023).

Os compostos fenólicos ou polifenóis são uma das classes de metabólitos secundários mais estudadas por conta da alta variedade de atividades biológicas que podem apresentar, como atividade antioxidante e capacidade de fotoproteção (Castro *et al.*, 2022; Coutinho *et al.*, 2020).

Esses compostos são basicamente subdivididos em flavonoides (amplamente distribuídos em frutas, vegetais, chás e outros alimentos vegetais) e não-flavonoides (Figura 1) (Rosa *et al.*, 2017; Manach *et al.*, 2004). São constituídos por um ou mais anéis aromáticos, podendo apresentar ou não hidroxilas em sua estrutura (Figura 2) (Lizárraga-Velázquez *et al.*, 2018). Nessa classe, também podem ser destacados os taninos hidrolisáveis (como os ácidos gálicos ligados a açúcares) e os taninos condensados (como a catequina e o resveratrol). Eles são conhecidos por suas propriedades adstringentes e têm sido estudados por suas atividades antioxidantes e capacidade de se ligar a proteínas (Scalbert *et al.*, 2005). Além disso, estes compostos fenólicos podem ser classificados em duas categorias: os lipofílicos, como os tocoferóis e tocotrienóis (comuns a todos os óleos vegetais) e os hidrofílicos, como os álcoois e ácidos fenólicos, flavonoides e lignanos. (Monteiro-Silva, 2014).

Figura 1 - Divisão das classes de polifenóis em flavonoides e não-flavonoides



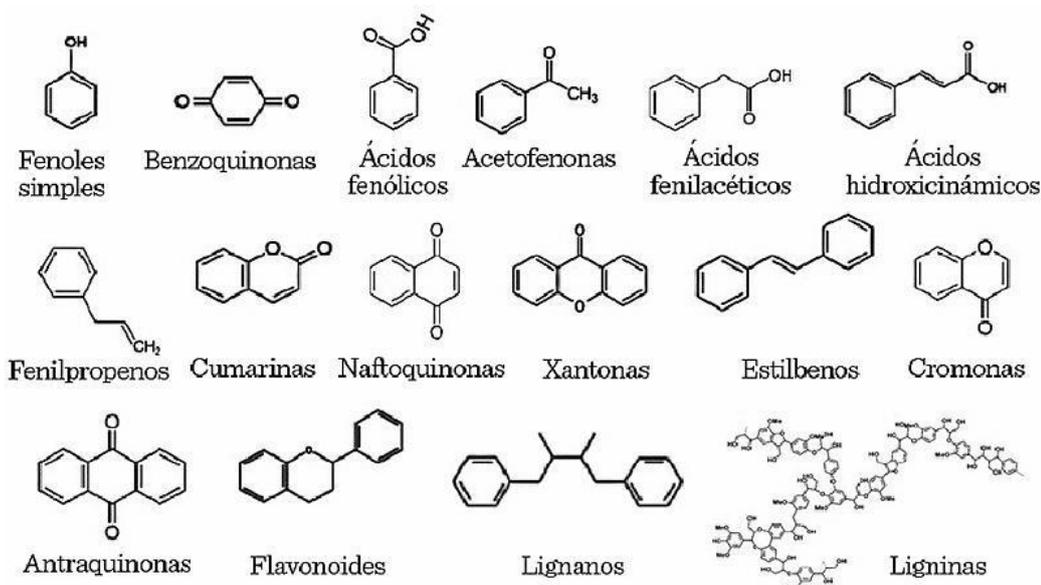
Fonte: Rosa *et al.*, 2017, adaptado.

A diversificação da estrutura química dos polifenóis tem a capacidade de influenciar o nível de atividade biológica desses compostos, podendo ser atenuada ou potencializada (Tripoli *et al.*, 2005).

Outra classe metabólitos secundários de interesse científico, são os terpenos. Essa classe de metabólitos é caracterizada por compostos derivados do isopreno. De modo geral, os terpenos podem ser definidos como “alcenos naturais”, por apresentarem uma dupla ligação carbono-carbono caracterizando-os como um hidrocarboneto insaturado. Por outro lado, se um terpeno contém oxigênio, ele passar a ser classificado como terpenoide, podendo apresentar diferentes funções químicas, entre as quais: ácidos, álcoois, aldeídos, cetonas, éteres, fenóis ou epóxidos terpênicos. Esses compostos podem ser classificados de acordo com o número de

resíduos de isopreno que sua estrutura possui, sendo tal relação parte responsável pela diversidade funcional que essa classe apresenta (Tabela 2) (Felipe & Bicas, 2017).

Figura 2 - Exemplos de estrutura química básica das principais classes de polifenóis



Fonte: (Lizárraga-Velázquez *et al.*, 2018).

Segundo Yuan *et al.* (2015), as principais funções desempenhadas pela classe dos terpenos incluem: atuarem como pigmentos acessórios da fotossíntese em plantas, apresentando absorção máxima na faixa do ultravioleta e do azul; exercerem o papel de precursores em tecidos animais da Vitamina A (retinol) e apresentarem atividade antioxidante (presente em determinados carotenoides). Além disso, algumas subclasses de terpenos podem conferir odor/aroma característico para produtos naturais, como ervas, frutas ou especiarias em decorrência da baixa massa molecular que lhes atribui maior volatilidade, outro fator importante para se destacar é sobre a isomeria dessas moléculas, cujo determinados isômeros ópticos podem conferir uma nota aromática completamente diferente uma da outra (Souza *et al.*, 2013; Farkas & Mohácsi-Farkas, 2014).

Tabela 2 - Classificação dos terpenos baseada na quantidade de unidades de isopreno, com os respectivos exemplos

Classificação	Unidades de isopreno	Exemplo
Hemiterpenos	1	Isopreno (Isopreno (monômero empregado na fabricação de borracha), prenol (odor frutado e utilizado na fabricação de perfumes) e ácido isovalérico (aroma característico de “queijo velho/chulé”)
Monoterpenos	2	Limoneno (aroma característico de fruta cítrica) e α -terpineol (aroma característico floral/pinho)
Sesquiterpenos	3	Farneseno (“diesel da cana”), nootkatona (aroma característico de toranja) e bisabolol (essência de camomila)
Diterpenos	4	Esteviosídeo (produção de adoçante natural a base de stevia) e sclareol (proveniente da sálvia - <i>Salvia sclarea</i>)
Triterpenos	6	Esqualeno (encontrado no óleo de fígado de tubarão)
Tetraterpenos	8	Carotenoides como o β -caroteno (pigmento da cenoura) e a zeaxantina (pigmento predominante em vegetais amarelos).
Politerpenos	>8	Látex (borracha natural)

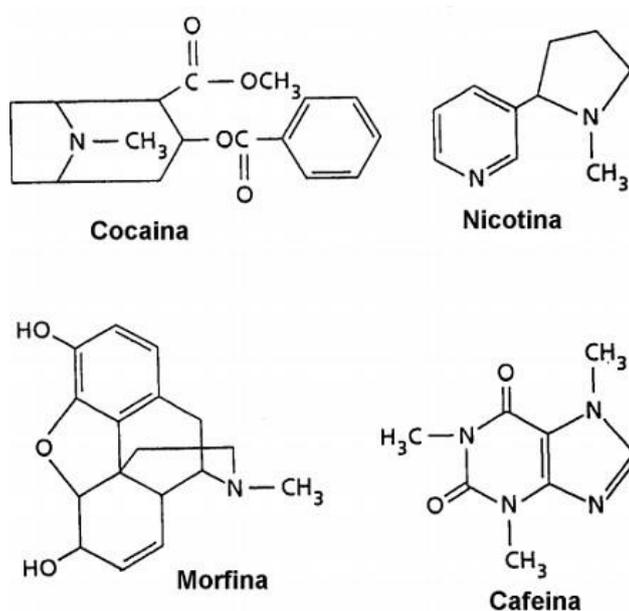
Fonte: Felipe & Bicas, 2017.

A terceira classe de principais compostos secundários obtidos a partir das espécies vegetais são os compostos nitrogenados. Tal classe de compostos é caracterizada por moléculas que participam do processo de defesa química vegetal. Os compostos nitrogenados são moléculas que, cuja nomenclatura propriamente dita expõe, apresentam nitrogênio em sua composição química estrutural (Figura 3). Esses compostos possuem caráter alcalino devido à presença de um ou mais átomos de nitrogênio que podem fazer parte de um anel heterocíclico. Eles são derivados de aminoácidos e as três principais classes desses compostos nitrogenados são os alcaloides, glucosinolatos e glicosídeos cianogênicos (Menezes, 2020).

Dentre os compostos representantes dessa classe, evidenciam-se os alcaloides. Essas moléculas estão amplamente presentes no cenário cotidiano pela sua utilização na farmacologia através de medicamentos, destacando-se entre eles a morfina, extraída da espécie *Papaver somniferum* (Roberts *et al.*, 2010). Os alcaloides são conhecidos por sua atividade analgésica, antimalárica e antitumoral, atuando principalmente no sistema nervoso central e também são utilizados na medicina tradicional e moderna para tratar uma variedade de doenças (Facchini, 2001).

Essas três classes de compostos secundários são frequentemente as biomoléculas que conferem atividade biológica às plantas em geral. Logo, a investigação e análises destas em espécies de ocorrência no Brasil, é uma importante ferramenta na busca de alternativas fitoterápicas benéficas.

Figura 3 - Exemplos de estrutura dos principais alcaloides



Fonte: Menezes, 2001.

2.2. A ESPÉCIE *Calophyllum brasiliense* Cambess

A *Calophyllum brasiliense* Cambess é uma espécie nativa da América Latina pertencente à família *Clusiaceae*. Essa família inclui 50 gêneros e 1.200 espécies distribuídas principalmente nas regiões tropicais do globo. Entretanto, alguns gêneros se desenvolvem com grande facilidade nas regiões norte de zonas temperadas. Esta família engloba árvores, arbustos, lianas e ervas de interesse econômico pela produção de frutos comestíveis, madeiras, derivados químicos de interesse farmacêutico e tintas (Arquimedes *et al.*, 2005).

O gênero *Calophyllum*, cuja maioria das espécies são representadas por árvores tropicais, apresenta entre 180 a 200 espécies de grande interesse econômico, devido à produção de madeiras nobres e, dentre elas, destaca-se a *Calophyllum brasiliense*. Essa espécie é conhecida popularmente como "guanandi" ou "jacareúba", e é amplamente distribuída em países como Argentina e Paraguai, ocorrendo tanto em áreas tropicais, incluindo o Brasil, quanto em subtropicais (Maldonado-Magana *et al.*, 2015).

De ocorrência principal na região da Caatinga brasileira, essa espécie é representada por árvores de médio à grande porte (Figura 4), que podem atingir até 30 metros de altura. Suas folhas são simples, opostas, coriáceas e brilhantes, geralmente elípticas a lanceoladas, com dimensões de 5 a 15 cm de comprimento por 3 a 7 cm de largura (Barreiros *et al.*, 2024) (Figura 5). As flores são pequenas, brancas e perfumadas, agrupadas em inflorescências terminais, enquanto que seus frutos são drupáceos globosos, inicialmente verdes que escurecem conforme o processo de amadurecimento, apresentando uma única semente grande oleaginosa (Souza *et al.*, 2020). A *Calophyllum brasiliense* é encontrada principalmente em florestas tropicais e matas ciliares, por conta da sua fácil adaptação a climas quentes e úmidos. Seus frutos são consumidos por diversas espécies de animais, contribuindo para a dispersão de suas sementes (Silva *et al.*, 2018). O óleo fixo proveniente das sementes dos frutos é descrito como excelente fonte para produção de biocombustíveis. Além disso, a sua madeira também é valorizada na indústria madeireira devido à sua durabilidade e resistência, sendo utilizada na construção civil, na marcenaria e na produção de móveis (Nery *et al.*, 2007).

Diversas partes da planta são utilizadas na medicina popular para o tratamento de inflamações e feridas (Lorenzi, 2002). Essa espécie também é amplamente conhecida por suas propriedades cicatrizantes e anti-inflamatórias, pois sua aplicação direta na pele já promoveu a recuperação e tratamento de lesões cutâneas (Dias *et al.*, 2016).

Figura 4 – Espécie *Calophyllum brasiliense* Cambess utilizada para o estudo



Fonte: Registro da autora

Figura 5 - Folhas e frutos de *Calophyllum brasiliense* Cambess



Fonte: Registro da autora

2.3. ÓLEO FIXO DE *Calophyllum brasiliense* Cambess

Os óleos fixos são compostos obtidos a partir das sementes/amêndoas das plantas, possuindo composição majoritariamente lipídica. Reservados geralmente sob a forma de triglicerídeos, esses lipídeos podem variar na quantidade e na constituição estrutural de ácidos graxos a depender de cada espécie vegetal e de condições ambientais, as quais a planta está inserida (Oba, *et al.*, 2019). Comumente, o perfil lipídico mais observado na literatura para os óleos vegetais são os ácidos graxos: oleicos, linoleicos e palmíticos. Estes ácidos são precursores de uma série de substâncias denominadas eicosanoides, que exercem importante papel na promoção da saúde humana, logo a presença desses ácidos na composição de óleos fixos revela alto potencial fitoterápico na utilização de bioprodutos gerados a partir destes (Souza *et al.*, 2022).

De acordo com a literatura, para a espécie *C. brasiliense* Cambess, o perfil de composição dos ácidos graxos expressos são os ácidos: oleico, linoleico e palmítico (Souza, 2021). Esse perfil lipídico desvela mais uma vantagem da obtenção e utilização do óleo fixo da espécie para o campo medicinal e terapêutico.

2.4. EXTRATO ETANÓLICO DE *Calophyllum brasiliense* Cambess

Os extratos vegetais de forma geral podem ser bioprodutos altamente ricos em compostos químicos com diversas aplicações e atividades biológicas. Na literatura, os extratos podem apresentar atividade antiviral, antitumoral, antihipertensiva, antiinflamatória, antimicrobiana, antioxidante, antiparasitária, anti-HIV, fotoprotetora, entre outras (Michelin *et al.*, 2024; Silva *et al.*, 2022; Trindade *et al.*, 2022; Blanco-Ayala, 2013; Almeida *et al.*, 2023).

Para a espécie de *Calophyllum brasiliense*, a literatura relata a presença de canalolídeos e cumarinas com atividade antiparasitária (Silva *et al.*, 2021). Além disso, a presença de ácidos cromanônicos conferiu a espécie atividade antibacteriana contra cocos e bacilos gram-positivos (Cottiglia *et al.*, 2004). A literatura também descreve efeito gastroprotetores para extratos obtidos a partir da casca do caule de *Calophyllum brasiliense* (Noldin *et al.*, 2016).

Outro estudo também revelou atividades citotóxicas significativas de derivados cumarínicos obtidos a partir da espécie contra três linhagens de células tumorais humanas (K562, U251 e PC3), além da inibição *in vitro* da enzima transcriptase reversa do HIV-1 (Reyes-

Chilpa *et al.*, 2004).

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GERAL

O objetivo geral deste estudo foi obter e caracterizar o óleo fixo e o extrato de *Calophyllum brasiliense* Cambess quanto aos seus potenciais antioxidantes e antimicrobianos.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obter e caracterizar físico-quimicamente os bioprodutos (óleo fixo e extrato) a partir da *Calophyllum brasiliense* Cambess;
- Avaliar os bioprodutos obtidos da *Calophyllum brasiliense* Cambess quanto à sua atividade antioxidante
- Determinar a concentração inibitória mínima (CIM) e concentração letal média (CL₅₀) dos bioprodutos obtidos da *Calophyllum brasiliense* Cambess frente a bactérias gram-positivas;
- Realizar ensaio de toxicidade dos bioprodutos obtidos a partir da *Calophyllum brasiliense* Cambess;

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. COLETA, IDENTIFICAÇÃO E PROCESSAMENTO DA ESPÉCIE *C. brasiliense* Cambess

A planta e os frutos da *C. brasiliense* Cambess utilizados para execução do projeto foram originados e coletados na instalação do Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste (CETENE), no município de Recife, PE (8°03'28.3'S 34°56'58.1"W). Após confirmação da espécie mediante seu registro e depósito junto ao Herbário UFP – Geraldo Mariz na Universidade Federal de Pernambuco deu-se seguimento ao estudo.

Os frutos da *C. brasiliense* Cambess utilizados na extração foram coletados e posteriormente triturados para obtenção das sementes, as quais foram armazenadas sob-refrigeração (-20 °C) até o momento de serem processadas. Inicialmente, a biomassa obtida foi equivalente a 160 gramas. As sementes foram britadas em pequenos pedaços e então colocadas em estufa de secagem para desidratação a 50 °C pelo período de 72 horas até peso constante. Depois de secas, as sementes passaram pelo processo de pulverização, malha 1,0 mm, durante 5 minutos a 10000 RPM através de um pulverizador (Fritsch Variable Speed Rotor Mill Pulverisette 14 Classic line).

As folhas utilizadas para extração foram coletadas e separadas dos galhos para posteriormente serem desidratadas em estufa a 40 °C pelo período de 72 h até peso constante. Após a desidratação, a biomassa foi moída em moinho de facas modelo CLB MF super-macro, obtendo-se um pó de coloração esverdeada. A biomassa utilizada inicialmente foi de 760 gramas.

4.2. LOCAL DO EXPERIMENTO

Os experimentos foram desenvolvidos na unidade de pesquisa vinculada ao Ministério da Ciência, Tecnologia e Informação (MCTI): o Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste (CETENE), no Laboratório de Fitoquímica e Integração de Processos - LaFIP, no município de Recife, sob a supervisão da orientadora e coorientador responsáveis.

4.3. EXTRAÇÕES DO ÓLEO FIXO E DO EXTRATO DE *C. brasiliense* Cambess

A obtenção do óleo fixo deu-se através da extração por solvente orgânico (hexano) pelo método de maceração (Kempes, 2014), na qual a biomassa pulverizada foi fracionada em três partes equivalentes de 50 g e colocada em contato com o solvente na proporção 5:1 (massa:volume), assim como descrito no plano de trabalho anterior. O óleo bruto obtido na extração passou pelo processo filtração dupla em papel filtro (retenção de partículas: 4 – 12 μM) para a retenção de detritos. Posteriormente ao processo de filtração, o óleo foi encaminhado para a dinâmica de recuperação e separação de solvente no equipamento de rotaevaporação (Rota evaporador IKA RV 10 digital, sob pressão reduzida a 60 °C), no qual se obteve o óleo bruto e o hexano separados. Todo o processo foi realizado em triplicata.

Para a obtenção do extrato das folhas de *C. brasiliense* Cambess, submeteu-se a biomassa das folhas pulverizadas ao processo de extração por solvente orgânico por maceração (Medeiros, 2014) com modificações. A biomassa de aproximadamente 240 g foi dividida em três alíquotas de 80 g, e colocada em contato com o etanol na proporção de 1:3 (M:V) com duas trocas de solvente que ocorreram em intervalos de 72 h entre as trocas. Após a extração, realizou-se a filtração dupla do extrato bruto obtido em papel filtro (retenção de partículas: 4 – 12 μM) para a retenção de detritos, e posteriormente fez-se a separação do solvente por rotaevaporação (Rotaevaporador IKA RV 10 digital, sob pressão reduzida a 40 °C) até a obtenção de uma massa consistente de coloração verde escura que foi armazenada sob refrigeração (4 °C) para posteriores análises.

4.4. CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO ÓLEO FIXO E DO EXTRATO ETANÓLICO DE *Calophyllum brasiliense* Cambess

As análises físico-químicas realizadas com o óleo incluíram: turbidez, índice de saponificação, índice de iodo, índice de peróxidos, UV-visível e análise termo-gravimétrica. No que tange às análises físico-químicas do extrato foram realizadas: marcha química e UV-visível.

O índice de saponificação do óleo fixo de *C. brasiliense* foi obtido segundo o protocolo descrito na AOCS (AOCS, 1990), no qual 5 g de óleo foram solubilizados em 50 mL de solução alcoólica de KOH 4% em balão de fundo chato. O balão foi conectado ao condensador para

ferver durante 1 h em banho-maria. Após a saponificação da amostra, adicionou-se 1 mL do indicador fenolftaleína 1% e titulou-se a amostra com solução HCl 0,5 M sob agitação magnética até o desaparecimento da coloração rosa. O teste foi realizado em triplicata.

Para o cálculo do índice de saponificação, foi utilizada a seguinte fórmula descrita no protocolo:

$$\text{Índice de saponificação} = 28,06 \times f \times (B-A) / p$$

Na qual:

f = fator da solução HCl 0,5 M

A = volume gasto na titulação a amostra

B = volume gasto na titulação do branco

p = número de g da amostra

Com relação à determinação do índice de peróxidos, utilizou-se o método segundo a AOCS (AOCS, 1990), segundo o qual pesou-se 0,05g de óleo em erlenmeyer de 250 mL com tampa esmerilhada. Adicionou-se 30 mL de solução de ácido acético:clorofórmio (3:2) sob leve agitação. Com uma pipeta volumétrica adicionou-se 0,5 mL de solução de KI (repouso por 1 minuto) e 30 mL de água destilada. Logo após, titulou-se a amostra com tiosulfato de sódio 0,1 N sob agitação constante até desaparecimento da cor do iodeto. Adicionou-se também 2 mL de solução indicadora de amido e continuou-se a titulação até o desaparecimento da coloração azul.

O índice de peróxidos foi determinado segundo a equação seguinte:

$$\text{Índice de Peróxido (mEq Peróxido/1 000g)} = \frac{(S - B) \cdot N_{K_2Cr_2O_7} \cdot 1000}{m_{AMOSTRA}}$$

S = volume de tiosulfato de sódio gasto na titulação da amostra;

B = volume de tiosulfato de sódio gasto na titulação do branco;

N = normalidade da solução de KI;

m = peso da amostra (g);

Para determinação do índice de iodo, foi utilizado o método de Wijs descrito pela AOCS (AOCS, 1990). Pesou-se 0,25 g de óleo em erlenmeyer de 500 mL com tampa, em seguida foram pipetados 10 mL de clorofórmio e 25 mL de solução de Wijs. O erlenmeyer foi então tampado e levado para ambiente escuro por 30 minutos. Decorrido o tempo mencionado acima foram adicionados 10 mL de solução de iodeto de potássio 15% além de 100 mL de água destilada. A solução foi agitada com agitador magnético e titulada com solução de tiosulfato de sódio 0,1 mol/L até que a coloração amarela da amostra tenha aparecido. Então foram pipetados 2 mL de amido 1% continuando a titulação até que a coloração azul já tenha desaparecido. Foi realizada a prova do branco onde todos os procedimentos são iguais, porém sem amostra. O teste foi feito em triplicata.

O índice de iodo foi determinado pela seguinte fórmula:

$$IV = \frac{(B - S) \times N \times 12,69}{W}$$

IV = o índice de iodo;

B = volume de tiosulfato de sódio gasto na titulação do branco em mililitros;

S = volume de tiosulfato de sódio gasto na titulação da amostra em mililitros;

N = normalidade do tiosulfato de sódio, expressa em equivalente grama (eg) ;

W = massa da amostra em gramas;

Para a análise da turbidez do óleo fixo foi utilizado equipamento turbidímetro (modelo DM-TU Digimed) para leitura em triplicata das amostras.

No ensaio de termogravimetria, as curvas da análise termogravimétrica foram obtidas em um módulo simultâneo TG-DTG em analisador termogravimétrico numa faixa de temperatura de 0 °C a 800 °C, com razão de aquecimento de 10 °C min⁻¹ e atmosfera dinâmica de nitrogênio com vazão de 100 mL min⁻¹ e cadinho de porcelana com massa de 10 a 20 mg aproximadamente.

Para o extrato etanólico, semelhante aos expressos na literatura, os resultados da marcha química apontaram a presença de taninos, flavonoides e xantonas na espécie e a ausência de alcaloides e antocianinas (Silva *et al.*, 2001).

4.5. DETERMINAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA DO ÓLEO FIXO E DO EXTRATO FRENTE À ARTEMIA SALINA

A toxicidade aguda do óleo e do extrato de *C. brasiliense* foi avaliada através do ensaio com *Artemia salina* (Almeida, 2020) com adaptações.

Para o teste, cistos de *Artemia salina* foram eclodidos 24 h antes da realização do teste em água do mar reconstituída, cuja salinidade foi de 35%. Além disso, ajustou-se o pH da solução para 8,0 com bicarbonato de sódio (H_3CO_2), e também se conservou a temperatura do sistema em 28 °C com oxigenação contínua da água. Após a eclosão, foram preparadas alíquotas de 5 mL de solução com o óleo e o extrato nas concentrações estabelecidas (7,81 a 1000 µg/mL) nas quais foram adicionadas as artêmias.

A leitura dos testes foi realizada através da contagem de artêmias vivas após o período de 24h. O teste foi realizado em triplicata e os dados foram utilizados para o cálculo da CL_{50} (concentração necessária de uma dada substância para matar 50% de uma população em teste).

4.6. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO ÓLEO FIXO E DO EXTRATO DE *C. BRASILIENSE*

No que diz respeito à avaliação da atividade antimicrobiana, duas linhagens bacterianas padrões Gram-positivas (cedidas da coleção do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco (UFPEDA) foram utilizadas, sendo elas a *Staphylococcus aureus* ATCC 12624 e a *Staphylococcus epidermidis* ATCC 33018. As espécies foram reavivadas em meio Brain Heart Infusion (BHI) e incubadas por 24 horas a 37 ± 2 °C em estufa bacteriológica.

A atividade antibacteriana foi avaliada através do método de microdiluição, com base no documento M7-A6 do NCCLS (NCCLS, 2003). Os inóculos foram suspensos em solução salina (0.9%) e padronizados para uma concentração final de aproximadamente 1×10^8 UFC/mL (0,5 unidades de turbidez nefelométrica escala McFarland). Volumes de 100 µL de BHI-caldo foram adicionados aos poços e foi realizada uma diluição seriada do controle positivo polimixina-b em concentrações variando de 1000 a 31,25 µg/mL. Em seguida foram adicionados mais 90 µL de meio BHI-caldo e 10 µL de inóculo em cada poço. Como controle negativo foi utilizado 190 µL de meio e 10 µL de inóculo. Todos os experimentos foram

realizados em triplicata e as placas de microdiluição foram incubadas a 37 ± 2 °C por 24 horas para verificar a ação antimicrobiana. A atividade antibacteriana foi detectada através de leitura espectrométrica das placas de microdiluição a 510 nm, e para realização dos cálculos as leituras do controle negativo foram consideradas como 100% de crescimento bacteriano. Também foi realizada a investigação da concentração letal média (CL₅₀) e da concentração inibitória mínima (CIM) que foi definida como a menor concentração capaz de inibir o crescimento bacteriano.

4.7. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO ÓLEO FIXO E DO EXTRATO DE *C. BRASILIENSE*

Para os testes de determinação do potencial antioxidante do óleo de *C. brasiliense* Cambess, foram feitos ensaios foto colorimétricos para três vias de avaliação para tal capacidade: grau de peroxidação lipídica utilizando espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) (Sabir, 2008), grau de redução de radical livre 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) (Mensor, 2001) e atividade quelante (Nonato, 2018). Todos os testes foram realizados em triplicata nas faixas de concentrações compreendidas entre 7,81 µg/mL a 1000 µg/mL. Para o extrato, foi realizado apenas o ensaio para avaliar o grau de neutralização de radical livre 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH).

Placas de microdiluição de 96 poços foram utilizadas, nas quais as amostras para testes foram preparadas adicionando-se 100 µL da solução DPPH, que foi preparada com 0,3 mmol de DPPH em etanol, em 100 µL de soluções das amostras diluídas em etanol P.A, em concentrações variando de 7,81 a 1000 µg/mL em triplicata. Como controle branco, foram utilizados 200 µL de etanol P. A., e como controle de absorvância máxima foi utilizada uma solução com 100 µL de DPPH e 100 µL de etanol. Para controle positivo de neutralização utilizou-se ácido ascórbico nas mesmas concentrações das amostras testadas. A reação ocorreu no escuro, à temperatura ambiente durante 30 minutos. Após esse período, foi realizada a leitura da absorvância através de um espectrofotômetro no comprimento de 518 nm.

Para o ensaio de avaliação do grau de peroxidação lipídica, uma solução de gema de ovo na proporção 3:2 - hexano: isopropanol foi preparada de modo que se obtivesse 1 g para cada 10 mL. Essa solução foi filtrada e rotaevaporada em baixa pressão na temperatura de 60 °C. Após esse processo, 0,05 g do resíduo seco resultante foram solubilizados em água destilada. A solução obtida e as diferentes concentrações do óleo, em conjunto com um volume

adequado de água deionizada (volume total de 500 μ L), foram pré-incubados a 37 °C durante 1 h na presença e na ausência de ferro (agente indutor de peroxidação lipídica por estresse oxidativo). A reação colorimétrica ocorreu pela adição, após a pré-incubação, de 500 μ L de tampão ácido acético (pH-3) e 500 μ L de TBA 0,6% dissolvido em água destilada. As misturas de reação, incluindo uma série de diluições de 0,03 mM de MDA padrão, foram incubadas a 97 °C por 1 h e, após esse período, foi realizada uma partição com butanol para cada solução. A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro (532 nm) após o resfriamento dos tubos, utilizando a fase butanólica.

No que diz respeito ao teste de atividade quelante, adicionou-se 100 μ L da solução do óleo em etanol nas faixas de concentração estabelecidas (7,81 a 1000 μ g/ mL) com 300 μ L da solução de FeSO₄ (2 mM) e 336 μ L Tris(hidroximetil)-aminometano (TRIS-HCl) a 1 M (pH 7,4). As amostras foram incubadas por 5 minutos no escuro, e após esse período, 26 μ L de ortofenantrolina (0,25%) foram adicionados e, imediatamente, realizou-se a leitura em espectrofotômetro no comprimento de onda de 510 nm.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. COLETA, PROCESSAMENTO E OBTENÇÃO DO ÓLEO FIXO E DO EXTRATO DE *Calophyllum brasiliense*

Os frutos foram coletados do chão, em sua maioria eram amarronzados, pequenos e com casca endurecida (Figura 6). Após a quebra da casca para obtenção da semente, observou-se que as sementes apresentavam coloração amarelo-esverdeado com textura lisa e rígida (Figura 7). Nesse processo, as sementes já se demonstraram muito oleaginosas ao manuseio imediato, reforçando o caráter de alta rentabilidade de óleo da espécie.

Figura 6 -Frutos coletados de *Calophyllum brasiliense* Cambess



Fonte: Registro da autora

No processo de extração do óleo fixo com hexano, antes da filtração já foi possível observar a coloração esverdeada do óleo. E, após filtração e rotaevaporação, o óleo de *C. brasiliense* Cambess possuía a coloração verde escura semelhante a alguns azeites (Figuras 7 e 8). O rendimento do óleo das sementes de *C. brasiliense* Cambess demonstrou-se relativamente alto com uma porcentagem de 60% de óleo fixo extraído da semente em comparação ao processo de extração de outras sementes com o mesmo solvente, como por exemplo, as sementes de soja, cujo rendimento se apresenta em 20% (Yoshimura, 2017). Para outras espécies, como a semente de girassol (*Helianthus annuus*), o rendimento de óleo

apresentou-se na faixa de 48%. Tais rendimentos observados apontam para o caráter vantajoso da utilização da espécie *C. brasiliense* como fonte de obtenção de óleos fixos pelo alto teor de rentabilidade de óleo nas sementes (Tabela 5) (Agra *et al.*,2019).

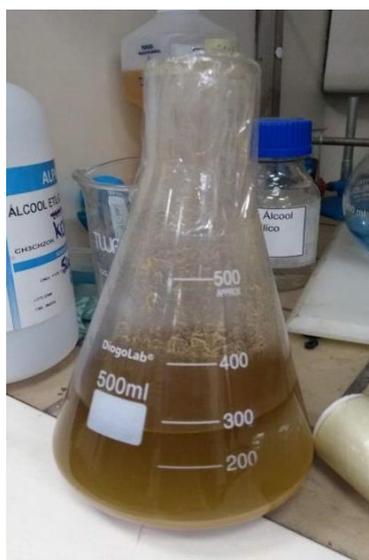
Figura 7 - Sementes de *Calophyllum brasiliense* Cambess



Fonte: Registro da autora

Para o extrato etanólico das folhas, obteve-se a partir da moagem das folhas um pó fino de coloração verde, que no processo de obtenção do extrato etanólico, após a filtração, apresentou-se como um líquido verde escuro com uma baixa viscosidade aparente (Figura 8). Esse extrato bruto após ser submetido à dinâmica de rotaevaporação se apresentou com uma intensa coloração verde escurecida e viscosidade alta (Figura 9).

Figura 8 - Extração do óleo fixo de *Calophyllum brasiliense* Cambess bruto com hexano após a rotaevaporação



Fonte: Registro da autora

Figura 9 - Óleo fixo de *Calophyllum brasiliense* Cambess bruto após processo de rotaevaporação



Fonte: Registro da autora

O rendimento obtido de extrato, a partir da biomassa utilizada inicialmente de folhas da espécie, foi de aproximadamente 30% com o solvente utilizado. No entanto, é importante considerar que o rendimento da extração pode variar dependendo da concentração de etanol, tempo de extração e a temperatura (Tiwari *et al.*, 2011). No caso da necessidade de otimizar o rendimento da extração, outros solventes poderiam ser utilizados para extrair compostos específicos com maior eficiência e rentabilidade.

Figuras 10 e 11 - Extrato bruto de *Calophyllum brasiliense* Cambess antes e após a filtração



Fonte: Registro da autora

Figura 12 - Extrato bruto de *Calophyllum brasiliense* Cambess utilizado no estudo



Fonte: Registro da autora

5.2. CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO FIXO E DO EXTRATO ETANÓLICO DE *Calophyllum brasiliense* CAMBESS

O índice de saponificação expresso pelo óleo fixo de *C. brasiliense* Cambess foi de 190,7 mg KOH/g óleo, resultado dentro da faixa de especificação da IN 49/2006. Esse resultado se assemelha ao valor expresso pelo óleo de soja que compreende a faixa de 189-195 mg KOH/g. Esse parâmetro é importante para determinar a aplicação de um óleo para a indústria cosmética para a fabricação de xampus e sabonetes, sendo que para tal é necessário observar outros parâmetros físico-químicos que confirmam segurança e qualidade, visto que são produtos que possuem contato direto com consumidores.

A turbidez expressa pelo óleo fixo de *C. brasiliense* Cambess foi de 1,22 NTU. Para efeito de comparação com a literatura, o óleo de soja apresenta turbidez na faixa de 0,90 NTU (Rodrigues, 2017), valor não muito distante do encontrado para o óleo de *C. brasiliense*.

O índice de iodo encontrado no óleo fixo de *C. brasiliense* Cambess foi de 130,9 g I₂/100 g de óleo, resultado que atende aos parâmetros do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) que preconiza um índice de iodo de qualidade sendo <240 g g I₂/100 g de óleo (IN 46/2006). A importância desse parâmetro se dá na previsão de susceptibilidade à rancidez oxidativa do óleo e controle de hidrogenação. Pelos resultados obtidos, pode-se inferir que a probabilidade de deterioração oxidativa do óleo de *C. brasiliense* é reduzida, demonstrando estabilidade das cadeias de ácidos graxos. Isso reflete em propriedades de conservação e estabilidade de produtos associados à área alimentícia, apontando uma aplicação para o óleo de *C. brasiliense* Cambess.

Com relação ao índice de peróxidos, o resultado encontrado do óleo de *C. brasiliense* foi de 18,28 mEq O₂/Kg. Esse resultado se apresenta um pouco elevado ao proposto pela Anvisa no que tange a aplicação na indústria de alimentos que é 15 mEq O₂/Kg, porém tal resultado não exclui aplicações do óleo em outras áreas de interesse.

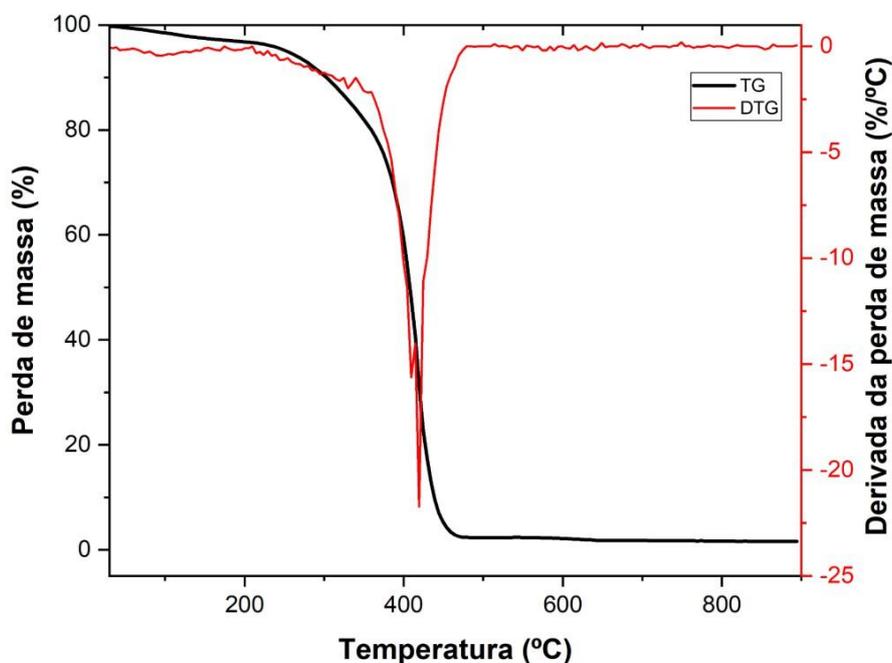
Em suma, os resultados da caracterização do óleo fixo de *C. brasiliense* se demonstraram satisfatórios, podendo ser utilizados como parâmetros para aplicações na indústria cosmética e energética (Tabela 3).

Tabela 3 - Resultados das análises físico-químicas do óleo fixo de *Calophyllum brasiliense* Cambess e valores preconizados pela Anvisa

Parâmetro	Óleo Fixo	Anvisa
Índice de saponificação (mg KOH/g óleo)	190,7	189-195
Índice de iodo (g iodo/100 g óleo)	130,89	> 124
Índice de peróxidos (mEq O ₂ / kg)	18,28	10-15
Índice de acidez (mg KOH /g)	24	0,3
Massa específica (g/cm ³)	0,9114	0,914 - 0,922
Índice de refração	1,4735	1,4700 -1,4760
Brix (%)	73,9	73 (óleo de soja)
Viscosidade (mm ² /s)	58,5	59 (óleo de soja)
Turbidez (NTU)	1,22	-

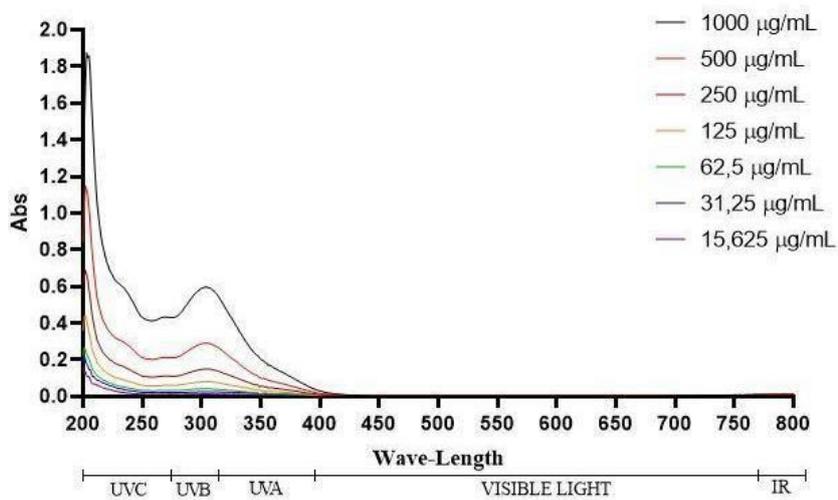
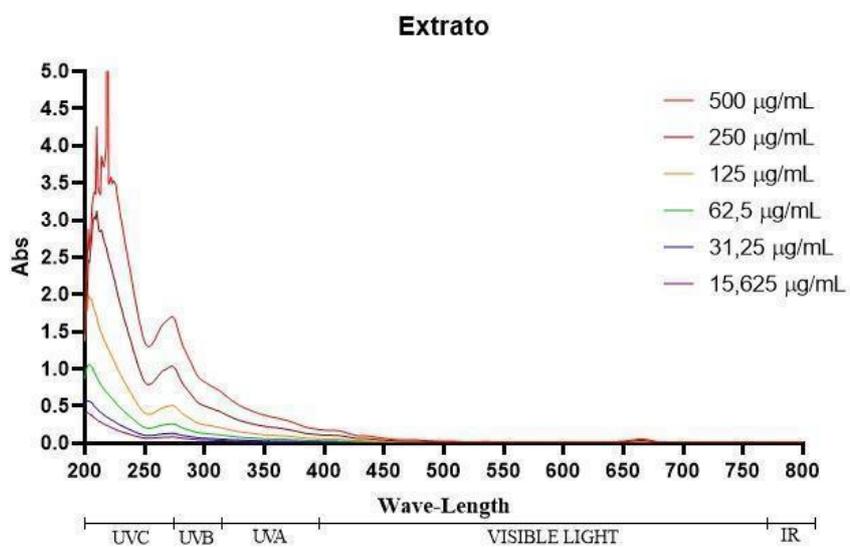
Quanto à análise termogravimétrica, o óleo fixo de *C. brasiliense* demonstrou-se relativamente estável até a temperatura de 300 °C, com pico de degradação da massa na faixa de 400 °C (Gráfico 1). Isso aponta para eficaz capacidade do óleo de manter-se íntegro quando submetido a altas temperaturas, sendo vantajoso para a aplicação de na linha de biocombustíveis e ramos industriais.

Gráfico 1 - Curva de análise TG/DTG do óleo fixo de *Calophyllum brasiliense* Cambess



Os resultados obtidos no ensaio com UV-visível apontaram a eficácia tanto do óleo fixo (Gráfico 2) quanto do extrato etanólico (Gráfico 3) de *C. brasiliense* na absorção dos comprimentos de onda na faixa ultravioleta (200 ~ 400 nm), revelando uma potencial aplicação desses bioprodutos na área farmacêutica e cosmética pela presença de possível propriedade fotoprotetora.

Além disso, nos ensaios de toxicidade frente aos náuplios de *A. salina*, tanto o óleo fixo quanto o extrato etanólico não apresentaram toxicidade nas concentrações testadas. Esse resultado referente à toxicidade confere aos bioprodutos de *Calophyllum brasiliense* vantagens na utilização e aplicações ambientais, pois a obtenção de produtos livres de toxicidade auxilia na manutenção da qualidade do solo, da água e do ar, evitando a contaminação do ambiente e promovendo a saúde das pessoas. Adicionalmente, eles favorecem a sustentabilidade ambiental, cumprem as normas legais e atendem à crescente busca dos consumidores por alternativas ecológicas e seguras.

Gráfico 2 - Espectro de absorção de luz do óleo fixo de *Calophyllum brasiliense* Cambess**Gráfico 3** - Espectro de absorção de luz do extrato etanólico de *Calophyllum brasiliense* Cambess

5.3. RESULTADOS DOS ENSAIOS MICROBIOLÓGICOS

Análises antimicrobianas a partir de bioprodutos vegetais são uma importante alternativa para o combate de infecções por bactérias multirresistentes em decorrência do uso inadequado de antibióticos (Ferreira, *et al.*, 2014). A possibilidade de descoberta de fitofármacos com ação eficiente frente a microrganismos é uma solução vantajosa para a sociedade e para a indústria farmacêutica.

Para a atividade antimicrobiana, alguns autores classificam o grau de atividade dos extratos vegetais em: bom potencial inibitório se demonstrarem atividade em concentrações de até 100 µg/mL, atividade inibitória moderada de 100-500 µg/mL, atividade fraca de 500-1000 µg/mL e inativos maiores que 1000 µg/mL (Santos, 2018).

Nesse contexto, para a análise da concentração inibitória mínima (CIM) do óleo fixo de *C. brasiliense*, os resultados obtidos apontaram que o óleo possui boa atividade antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* com valor de CL₅₀ de 168,70 µg/mL e CIM de 3,90 µg/mL, superando o valor apresentado pelo controle positivo de Polimixina B com CL₅₀ de 222,19 µg/mL, resultado semelhante a exposição com *Staphylococcus epidermidis*, cuja CL₅₀ foi 241,86 µg/mL e CIM de 1,95 µg/mL (Tabela 4). Esse quadro é condizente ao ensaio realizado por Matos *et al.* (2021), que evidenciou que a utilização de óleos fixos e essenciais em testes antimicrobianos resulta em ação inibitória.

Tabela 4 - Resultados das concentrações inibitórias mínimas e CL₅₀ (µg/mL) para o óleo fixo, extrato etanólico de *Calophyllum brasiliense* e controle de polimixina B

Bactéria	Polimixina B		Óleo fixo de <i>C. brasiliense</i>		Extrato etanólico de <i>C. brasiliense</i>	
	CL ₅₀ (µg/mL)	CIM (µg/mL)	CL ₅₀ (µg/mL)	CIM (µg/mL)	CL ₅₀ (µg/mL)	CIM (µg/mL)
<i>Staphylococcus aureus</i>	236,9	125	168,70	3,90	>2000	500
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	218,7	125	241,86	1,95	567,16	250

CL₅₀ - Concentração letal média de 50%; CIM - Concentração Inibitória Mínima;

Para outras espécies, o ensaio de atividade contra bactérias gram-positivas não se demonstrou eficaz como o óleo de *C. brasiliense*. Para Fonseca *et al.* (2022), o óleo de Macaúba

não foi capaz inibir *Staphylococcus aureus* no ensaio antimicrobiano.

No que diz respeito ao extrato etanólico, os resultados do teste apontaram que este, embora fraco, possui atividade contra *Staphylococcus epidermidis* com $CL_{50} > 2000 \mu\text{g/mL}$ e CIM de $500 \mu\text{g/mL}$. Esse resultado é semelhante ao encontrado por Cottiglia *et al.* (2004), no qual o extrato com a mesma espécie apresentou foi capaz de inibir o crescimento de *Staphylococcus epidermidis* e *Bacillus cereus* no ensaio biológico.

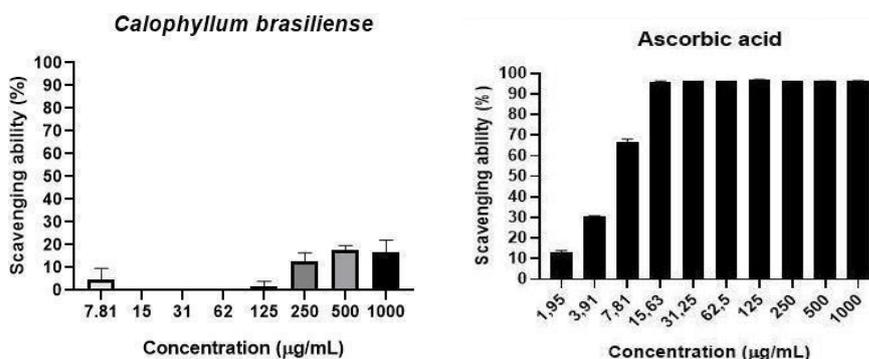
No geral, tanto o óleo fixo quanto o extrato etanólico de *C. brasiliense* apresentaram atividade inibitória contra os microrganismos testados.

5.4. ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

O óleo fixo de *C. brasiliense* demonstrou pouca capacidade de neutralização do radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) com capacidade de neutralização de 50% do radical livre (CN_{50}) em concentrações acima de $1000 \mu\text{g/mL}$ (Gráfico 4), se comparado ao controle positivo de ácido ascórbico, testado nas mesmas concentrações, cuja CN_{50} foi de $5,3 \mu\text{g/mL}$. Tal resultado poderia ser esperado, visto que se trata de um óleo com composição majoritária de lipídeos. No entanto, o óleo fixo de *C. brasiliense* pode apresentar atividade antioxidante através de outras vias além do sequestro de radicais livres.

Na literatura, os óleos fixos vegetais geralmente não apresentam tal capacidade de neutralização de radicais livres por conta da composição majoritária de triglicédeos.

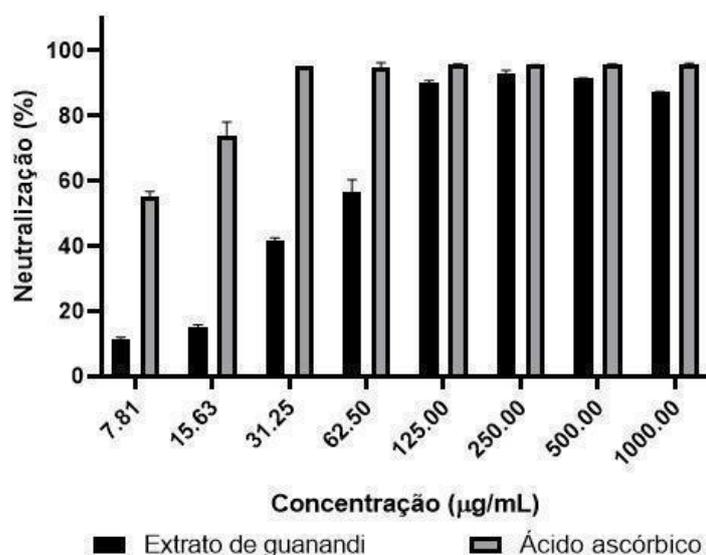
Gráfico 4 - Capacidade de neutralização do radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) do óleo fixo de *Calophyllum brasiliense* Cambess e controle positivo ácido ascórbico



O extrato etanólico de *C. brasiliense* Cambess demonstrou capacidade de neutralização do radical DPPH satisfatória nas concentrações testadas com $CN_{50} = 53,46 \mu\text{g/}$ em comparação ao controle positivo testado de ácido ascórbico que obteve $CN_{50} = 5,3 \mu\text{g/mL}$ (Gráfico 5).

Diversos extratos oriundos de espécies vegetais também já demonstraram atividade de neutralização do radical DPPH por conta da produção de compostos fenólicos em seu metabolismo secundário, o que aponta a potencial presença desses compostos no extrato de *C. brasiliense* Cambess. Na literatura, para frações de extrato das folhas em acetato de etila, a espécie *C. brasiliense* já apresentou os seguintes compostos fenólicos: quercetina, ácido gálico, ácido protocatecuico, hiperosídeo e amentoflavona (Silva *et al.*, 2001). Logo, é possível inferir que tal atividade biológica expressa pela espécie seja consequência da presença desses compostos.

Gráfico 5 - Capacidade de neutralização do radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) do extrato de *Calophyllum brasiliense* Cambess em comparação com o controle positivo de ácido ascórbico



6. CONCLUSÃO

Tendo em vista os resultados obtidos no estudo, pode-se afirmar que os produtos naturais da espécie *Calophyllum brasiliense* possuem atividade antimicrobiana e apresentam potenciais para aplicações diversas. Para o óleo fixo, pode-se destacar que este possui atividade antimicrobiana frente à *Staphylococcus aureus*, além de apresentar um perfil lipídico que se enquadra nos parâmetros de utilização cosmética e farmacêutica, sendo um ponto positivo para sua aplicação na produção de cosméticos e na indústria de biocombustíveis. Já o extrato etanólico da espécie, além de apresentar atividade antioxidante e antimicrobiana, também se destaca a potencial capacidade de fotoproteção contra a radiação ultravioleta, que expressa uma possível aplicação para o desenvolvimento de produtos cosméticos voltados à cosmetologia e estética. Desse modo, ambos os bioprodutos gerados a partir da espécie *Calophyllum brasiliense* são de interesse acadêmico, revelando alto potencial de inovação terapêutica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALI, Sofi Imtiyaz; SHEIKH, Wajid Mohammad; RATHER, Muzafar Ahmad; *et al.* Medicinal plants: Treasure for antiviral drug discovery. **Phytotherapy Research**, v. 35, n. 7, p. 3447–3483, 2021. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ptr.7039>>. Acesso em: 21 nov. 2024.
- ALMEIDA, T.; *et al.* Review: immunomodulatory effects induced by phenolic compounds: Revisão: efeitos imunomodulatórios induzidos por compostos fenólicos. **Concilium**, v. 23, n. 21, p. 814–832, 2023. Disponível em: <<https://clium.org/index.php/edicoes/article/view/2419>>. Acesso em: 15 maio 2024.
- ARQUIMEDES, G.; *et al.* Estudo morfo-anatômico das folhas e caule da *Calophyllum brasiliense* (Clusiaceae), uma contribuição ao estudo farmacognóstico da droga vegetal. **Acta Farm. Bonaerense**, v. 24, n. 3, p. 371-6, 2005. Disponível em: <https://www.ibflorestas.org.br/wp-content/uploads/2015/06/anatomia_das_folhas_e_caule_do_guanandi.pdf>. Acesso em: 29 set. 2024.
- BARREIROS, R. M.; DE SOUZA JÚNIOR, W.; DIAS, K. B.. **Qualidade da madeira de guanandi (*Calophyllum brasiliense* Camb.) após tratamento térmico**. In : VI SETE CONGRESSO MULTIDISCIPLINAR INTERNACIONAL. [s.l]: Sete Congressos, 2024. Disponível em: <<https://sevenpublicacoes.com.br/index.php/anais7/article/view/4946>>. Acesso em: 29 set. 2024.
- BARRETO, S. F.; GASPI, F. O. G. De; OLIVEIRA, C. F. De. Estudo químico das principais vias do metabolismo secundário vegetal: uma revisão bibliográfica. **Revista Científica da FHO|Uniararas**, v. 8, n. 1, p. 60–72, 2020. Disponível em: <<https://ojs.fho.edu.br:8481/revfho/article/view/11>>. Acesso em: 15 maio 2024.
- BLANCO-AYALA, T.; *et al.* Propriedades antioxidantes das xantonas de *Calophyllum brasiliense*: prevenção do dano oxidativo induzido pelo FeSO₄. **BMC Medicina Complementar e Alternativa**, v. 1, pág. 262, 2013. Disponível em: <<https://bmccomplementalmed.biomedcentral.com/articles/10.1186/1472-6882-13-262>>. Acesso em: 20 fev. 2022.
- CABRAL, F. N.; *et al.* Flora da Reserva Ducke, Amazonas, Brasil: *Calophyllaceae*. **Rodriguésia**, v. 72, p. e01942018, 2021. Disponível em:

<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2175-78602021000100205&tlng=pt>. Acesso em: 15 maio 2024.

CASTILHO, G. K.; DA SILVA FELISBINO, S.; RODRIGUES, N. M.. Estudo sobre os tipos de extração para óleos essenciais e óleos vegetais. **RC MOS-Revista Científica Multidisciplinar O Saber**, v. 1, n. 10, p. 52-59, 2021.

CASTRO, T. N. de ; DANTAS MOTA, M.; LAIGNIER, E. C.. Atividade fotoprotetora e antioxidante de compostos fenólicos: uma revisão sistemática de testes in vitro. **Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas**, v. 51, n. 2, 2022. Disponível em: <<https://revistas.unal.edu.co/index.php/rccquifa/article/view/97604>>. Acesso em: 20 set. 2024.

CAVALCANTE, M. de A.; BORGES, W. L. .; SOUZA, T. M. de. Compostos fenólicos a partir de vegetais: uma revisão sobre os métodos de quantificação e avaliação das propriedades antioxidante e antimicrobiana. **Peer Review**, [S. l.], v. 6, n. 10, p. 66–89, 2024. DOI: 10.53660/PRW-2183-4024. Disponível em: <https://www.peerw.org/index.php/journals/article/view/2183>. Acesso em: 20 set. 2024.

CISNEROS-TÓRRES, D.; *et al.* Establishment of a cell suspension culture from *Calophyllum brasiliense* and evaluation of its antioxidant and anti-inflammatory activity. **Revista Mexicana de Ingeniería Química**, v. 19, n. 1, p. 59–70, 2019. Disponível em: <<http://rmiq.org/iqfvp/Numbers/V19/No1/Bio476.pdf>>. Acesso em: 15 maio 2024.

COTTIGLIA, F., *et al.* “New Chromanone Acids with Antibacterial Activity from *Calophyllum brasiliense*”. **Journal of Natural Products**, vol. 67, nº 4, abril de 2004, p. 537–41. DOI.org (Crossref), Disponível em: <<https://doi.org/10.1021/np030438n>>. Acesso em: 01 out. 2024.

COUTINHO DOS SANTOS, D.; *et al.* Chemical Prospecting and Evaluation of the Biological Activity of the Propolis of Salinópolis, Pará. **Revista Virtual de Química**, v. 12, n. 2, p. 492–499, 2020. Disponível em: <<http://static.sites.s bq.org.br/rvq.s bq.org.br/pdf/v12n2a18.pdf>>. Acesso em: 20 set. 2024.

DA SILVA, K. L., *et al.* “Chemical Composition and Analgesic Activity of *Calophyllum Brasiliense* Leaves”. **Therapie**, vol. 56, nº 4, 2001, p. 431–34. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11677868/>>. Acesso em: 01 out. 2024.

DE ALMEIDA, J. C.; DE ALMEIDA, P. P.; GHERARDI, S. R. M.. Potencial antimicrobiano de óleos essenciais: uma revisão de literatura de 2005 a 2018. **Nutr. Time**,

v. 17, n. 01, p. 8623-8633, 2020. Disponível em: <Potencial-antimicrobiano-de-oleos-essenciais.pdf(researchgate.net)>. Acesso em: 18 set. 2024.

DOMENEGHETTI, L.; DEMARCHI, I. G.; CAITANO, J. Z.; *et al.* *Calophyllum brasiliense* Modulates the Immune Response and Promotes *Leishmania amazonensis* Intracellular Death. **Mediators of Inflammation**, v. 2018, p. 1–9, 2018. Disponível em: <<https://www.hindawi.com/journals/mi/2018/6148351/>>. Acesso em: 21 nov. 2024.

FACCHINI, P. J. Alkaloid biosynthesis in plants: biochemistry, cell biology, molecular regulation, and metabolic engineering applications. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 52, n. 1, p. 29–66, 2001. Disponível em: <<https://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev.arplant.52.1.29>>. Acesso em: 30 set. 2024.

FAGOTTI, R. L. V.; RIBEIRO, J. C. Uso de plantas medicinais e medicamentos fitoterápicos em insônia: uma revisão bibliográfica. **Brazilian Journal of Health and Pharmacy**, [S. l.], v. 3, n. 2, p. 35–48, 2021. Disponível em: <<https://revistacientifica.crfmg.emnuvens.com.br/crfmg/article/view/130>>. Acesso em: 17 set. 2024.

FARKAS, J.; MOHÁCSI-FARKAS, Cs. Segurança de alimentos e bebidas: especiarias e temperos. *In: Encyclopedia of Food Safety*. [s.l]: Elsevier, 2014, p. 324–330. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780123786128002900>>. Acesso em: 30 set. 2024.

FERREIRA, S. B.; DANTAS, I. C.; CATÃO, R. M. R. Avaliação da atividade antimicrobiana do óleo essencial de sucupira (*Pterodon emarginatus* Vogel). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, p. 225-230, 2014.

FONSECA, R. S. K., *et al.* “Avaliação da atividade antimicrobiana do óleo da macaúba (*Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex. Mart) / Evaluation of the antimicrobial activity of macaúba oil (*Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex. Mart)”. **Brazilian Journal of Development**, vol. 8, nº 4, abril de 2022, p. 23945–62. DOI.org (Crossref), Disponível em: <<https://doi.org/10.34117/bjdv8n4-080>>. Acesso em: 01 out. 2024.

FREITAS, V.S.; RODRIGUES, R.A.F.; GASPI, F.O.G. Propriedades farmacológicas da *Aloe vera* (L.) Burm. f. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, n. 2, p. 299–307, 2014. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-05722014000200020&lng=pt&tlng=pt>. Acesso em: 16 maio 2024.

GAMA, P. E.; GIL, R. A. Da S. S.; LACHTER, E. R. Produção de biodiesel por meio de

transesterificação in situ de sementes de girassol via catálise térmica e heterogênea.

Química Nova, v. 9, pág. 1859–1862, 2010. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422010000900007&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt>. Acesso em: 26 set. 2024.

GANEM, K. A.; *et al.* Mapeamento da Vegetação da Caatinga a partir de Dados Ópticos de Observação da Terra – Oportunidades e Desafios. **Revista Brasileira de Cartografia**, v. 72, p. 829–854, 2020. Disponível em: <<https://seer.ufu.br/index.php/revistabrasileiracartografia/article/view/56543>>. Acesso em: 3 abr. 2024.

GÓMEZ-VERJAN, Juan; RIVERO-SEGURA, Nadia; ESTRELLA-PARRA, Edgar; *et al.* Network Pharmacology Uncovers Anticancer Activity of Mamea-Type Coumarins from *Calophyllum brasiliense*. **Planta Medica**, v. 85, n. 01, p. 14–23, 2019. Disponível em: <<http://www.thieme-connect.de/DOI/DOI?10.1055/a-0660-0236>>. Acesso em: 21 nov. 2024.

LIZÁRRAGA-VELÁZQUEZ, C. E.; *et al.* Propiedades antioxidantes e imunostimulantes de polifenoles en peces carnívoros de cultivo. **CienciaUAT**, v. 12, n. 2, p. 127, 2018. Disponível em: <<http://www.revistaciencia.uat.edu.mx/index.php/CienciaUAT/article/view/904>>. Acesso em: 20 set. 2024.

LONGO, I. A.; *et al.* Extração de óleo vegetal utilizando co-solvente em banho ultrassônico / Vegetable oil extraction using co-solvent in ultrasonic bath. **Brazilian Applied Science Review**, [S. l.], v. 4, n. 3, p. 1842–1847, 2020. DOI: 10.34115/basrv4n3-088. Disponível em: <https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BASR/article/view/11417>. Acesso em: 18 sep. 2024.

LORDANI, T. V. A. **O efeito cicatrizante do extrato de *Calophyllum brasiliense* Cambess no tratamento de lesões cutâneas induzidas em ratos**. Tese (Mestrado em Biociências e Fisiopatologia). Universidade Estadual de Maringá. Paraná, 2018. Disponível em: <<https://submissoesrevistacientificaosaber.com/index.php/rcmos/article/view/152>>. Acesso em: 18 set. 2024.

LUSTRE SÁNCHEZ, H. Los superpoderes de las plantas: los metabolitos secundarios en su adaptación y defensa. **Revista Digital Universitaria**, v. 23, n. 2, 2022. Disponível em: <https://www.revista.unam.mx/2022v23n2/los_superpoderes_de_las_plantas_los_metabolitos_secundarios_en_su_adaptacion_y_defensa>. Acesso em: 3 abr. 2024.

MALDONADO MAGANA, A. *et al.* “In vitro regeneration of *Calophyllum brasiliense* Cambess: A valuable medicinal tree”. *African Journal of Biotechnology*, vol. 14, nº 40, outubro de 2015, p. 2831–35. DOI.org (Crossref), Disponível em: <<https://doi.org/10.5897/AJB2015.14856>>. Acesso em: 24 set. 2024.

MANACH, C.; *et al.* Polyphenols: food sources and bioavailability. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 79, n. 5, p. 727–747, 2004. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0002916522039144>>. Acesso em: 19 jul. 2024.

MATOS, A. M., *et al.* “Atividade antimicrobiana in vitro de uma combinação de óleos vegetais de caju e mamona e de óleos essenciais de cravo, eugenol, timol e vanilina contra bactérias Gram-negativas e Gram-positivas no rúmen de bovinos”. Research, **Society and Development**, vol. 10, nº 8, julho de 2021, p. e4210816900–e4210816900. Disponível em: <<https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/16900/15188>>. Acesso em: 01 out. 2024.

MEDEIROS, B. J. L. de. **Estudo pré-clínico do Extrato Hidroetanólico de *Calophyllum brasiliense* Cambess.: atividades hipoglicemiante e toxicidade.** Orientador: José Carlos Tavares Carvalho. 2014. 102 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Departamento de Pós-Graduação, Universidade Federal do Amapá, Macapá, 2014. Disponível em: <<http://repositorio.unifap.br:80/jspui/handle/123456789/221>>. Acesso em: 15 mai. 2024.

MENEZES, S. L. M. **Plantas e metabólitos secundários: uma proposta para o ensino de química orgânica.** 2020. 127 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, 2020.

MICHELIN, D. C.; *et al.* Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos vegetais.

Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 4, 2005. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-695X2005000400010&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt>. Acesso em: 29 set. 2024.

MONTEIRO-SILVA, F. Olive oil’s polyphenolic metabolites - from their influence on human health to their chemical synthesis. 2014. Disponível em: <<https://arxiv.org/abs/1401.2413>>. Acesso em: 20 set. 2024.

NERY, F. C.; *et al.* Caracterização Morfológica e Química de Sementes de *Calophyllum brasiliense* Cambess. **Revista Brasileira de Biociências**, [S. l.], v. 5, n. S2, p. pg. 144–146, 2007. Disponível em: <<https://seer.ufrgs.br/index.php/rbrasbioci/article/view/115042>>. Acesso em: 17 set. 2024.

- OBA, G. C.; *et al.* Secagem artificial de sementes de cártamo em diferentes temperaturas do ar: efeito sobre o potencial fisiológico de sementes recém-colhidas e armazenadas. **Journal of Seed Science**, v. 41, n. 4, p. 397–406, 2019. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2317-15372019000400397&tlng=en>. Acesso em: 26 set. 2024.
- O. FELIPE, L.; L. BICAS, J.. Terpenos, aromas e a química dos compostos naturais. **Química Nova na Escola**, v. 39, n. 2, 2017. Disponível em: <http://qnesc.sbq.org.br/online/qnesc39_2/04-QS-09-16.pdf>. Acesso em: 20 set. 2024.
- PASSOS, C. S.; *et al.* Terpenóides com atividade sobre o Sistema Nervoso Central (SNC). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 1a, p. 140–149, 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-695X2009000100024&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt>. Acesso em: 20 set. 2024.
- REYES-CHILPA, R.; ESTRADA-MUÑIZ, E.; RAMÍREZ APAN, T.; *et al.* Cytotoxic effects of mammea type coumarins from *Calophyllum brasiliense*. **Life Sciences**, v. 75, n. 13, p. 1635–1647, 2004. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0024320504004588>>. Acesso em: 21 nov. 2024.
- ROBERTS, M. F.; WINK, M. Biossíntese de alcaloides e betalaínas. *Em*: WINK, Michael (Org.). **Bioquímica do metabolismo secundário de plantas**. Oxford, Reino Unido: Wiley-Blackwell, 2010, p. 20–91. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9781444320503.ch2>>. Acesso em: 30 set. 2024.
- SÁ-FILHO, G. F. De; *et al.* Plantas medicinais utilizadas na caatinga brasileira e o potencial terapêutico dos metabólitos secundários: uma revisão. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 13, p. e140101321096, 2021. Disponível em: <<https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/21096>>. Acesso em: 15 maio 2024.
- SCALBERT, A.; JOHNSON, I. T; SALTMARSH, M.. Polyphenols: antioxidants and beyond. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 81, n. 1, p. 215S-217S, 2005. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0002916523275097>>. Acesso em: 19 jul. 2024.
- SILVA, J. F. T.; *et al.* A utilização de plantas medicinais como alternativa para cicatrização de feridas: uma análise bibliográfica. **Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento**, v. 11, n. 10, pág. e468111033037–e468111033037, 2022. Disponível em:

<<https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/33037>>. Acesso em: 29 set. 2024.

DA SILVA, K. L.; DOS SANTOS, A. R.; MATTOS, P. E.; *et al.* Chemical composition and analgesic activity of *Calophyllum brasiliense* leaves. **Therapie**, v. 56, n. 4, p. 431–434, 2001. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11677868/>>. Acesso em: 21 nov. 2024.

SILVA, L. G. *et al.* Calanolides E1 and E2, two related commarines from *Calophyllum brasiliense* Cambess. (Clusiaceae), displayed *in vitro* activity against amastigote forms of *Trypanosoma cruzi* and *Leishmania infantum*. **Natural Product Research**, v. 35, n. 23, p. 5373–5377, 2 dez. 2021. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32441133/>>. Acesso em 17 set. 2024.

SILVA, P. H. Dos S.; *et al.* Estudo morfo anatômico e atividade antimicrobiana do óleo essencial, extrato bruto e frações das partes aéreas de *Miconia cuspidata* Naudin. **Fronteiras: Journal of Social, Technological and Environmental Science**, v. 12, n. 3, p. 224–238, 2023. Disponível em: <<http://periodicos.unievangelica.edu.br/index.php/fronteiras/article/view/6905>>. Acesso em: 18 set. 2024.

SILVA, R. C. Da; *et al.* Subsídios para propagação de espécies nativas do Brasil com potencial medicinal: *Calophyllum brasiliense* Cambess. **Journal of Seed Science**, v. 3, pág. 318–327, 2019. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2317-15372019000300318&tlng=en>. Acesso em: 26 conjuntos. 2024.

SOARES, S. E.. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, v. 15, n. 1, p. 71–81, 2002. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1415-52732002000100008&lng=pt&tlng=pt>. Acesso em: 20 set. 2024.

SOUZA, F. V. M.; *et al.* (-)-Carvona: Efeito antiespasmódico e modo de ação. **Fitoterapia**, v. 85, pág. 20–24, 2013. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0367326X12002882>>. Acesso em: 30 set. 2024.

SOUZA, L. C.; *et al.* Prospecção Tecnológica da Utilização dos Ácidos Graxos de Óleos Vegetais na Indústria de Cosméticos. **Cadernos de Prospecção**, v. 15, n. 2, p. 541–556, 2022. Disponível em: <<https://periodicos.ufba.br/index.php/nit/article/view/44168>>. Acesso em: 6 fev. 2023.

- SOUZA, B. A. Rendimento e ácidos graxos das sementes de *Calophyllum Brasiliensis* Cambess no sul do Tocantins. 2021. 29 p. **Trabalho de Conclusão de Curso** (Graduação) - Curso de Engenharia Florestal, Universidade Federal do Tocantins, Gurupi, 2021. Disponível em: <https://repositorio.uft.edu.br/handle/11612/5879?locale=pt_BR>. Acesso em: 27 set. 2024.
- TIWARI, P.; *et al.* Phytochemical screening and Extraction: A Review. **Internationale Pharmaceutica Scientia**. Punjab. v. 1, n. 1. p. 98-106, mar. 2011. Disponível em: <[file:///C:/Users/Usu%C3%A1rio/Downloads/Phytochemicalscreeningandextraction-Areview%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/Usu%C3%A1rio/Downloads/Phytochemicalscreeningandextraction-Areview%20(1).pdf)>. Acesso em: 17 set. 2024.
- TREVISAN, M. **Uso popular e atividades antiofídicas e repelente da planta medicinal (Erva tipi) petiveria *Alliacea l. (Phytolaccaceae)* frente ao veneno e a serpente bothrops moojeni**. 2021. 169f. Tese (Doutorado em Ciências do Ambiente) – Universidade Federal do Tocantins, Programa de Pós-Graduação em Ciências do Ambiente, Palmas, 2021. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11612/2471>>. Acesso em: 15 mai. 2024.
- TRINDADE, M. A. Da; *et al.* Plantas medicinais com potenciais propriedades anti-hipertensivas: ênfase em produtos naturais do Cerrado brasileiro. **Hoehnea**, v. e1232020, 2022. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2236-89062022000100501&tlng=en>. Acesso em: 29 set. 2024.
- TRIPOLI, E.; *et al.* The phenolic compounds of olive oil: structure, biological activity and beneficial effects on human health. **Nutrition Research Reviews**, v. 18, n. 1, p. 98–112, 2005. Disponível em: <https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S0954422405000089/type/journal_article>. Acesso em: 20 set. 2024.
- QUEMEL, G. K. C.; *et al.* Propriedades medicinais do óleo da *Copaifera langsdorfii*: uma revisão integrativa da literatura / Medical properties of *Copaifera langsdorfii* oil: an integrative literature review. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 4, n. 3, p. 10490–10508, 2021. Disponível em: <<https://www.brazilianjournals.com/index.php/BJHR/article/view/29721>>. Acesso em: 19 jul. 2024.
- YUAN, H.; *et al.* Carotenoid metabolism and regulation in horticultural crops. **Horticulture Research**, v. 2, n. 1, p. 15036, 2015. Disponível em: <<https://academic.oup.com/hr/article/6453535>>. Acesso em: 23 set. 2024.