

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Faculdade Farmácia
Programa de pós-graduação em ciências farmacêuticas

Rafael Christian de Matos

AVALIAÇÕES BOTÂNICA, QUÍMICA E SAZONAL DE FOLHAS DE
***Pouteria guianensis* (Aubl.) E ESTUDOS PRÉ-CLÍNICOS**

Belo Horizonte

2024

Rafael Christian de Matos

**AVALIAÇÕES BOTÂNICA, QUÍMICA E SAZONAL DE FOLHAS DE
Pouteria guianensis (Aubl.) E ESTUDOS PRÉ-CLÍNICOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas. Área de concentração: Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. Renes de Resende Machado

Coorientadora: Profa. Dra. Marina Scopel

Belo Horizonte

2024

M433a Matos, Rafael Christian de.
Avaliações botânica, química e sazonal de folhas de *Pouteria guianensis* (Aubl.) e estudos pré-clínicos [recurso eletrônico] / Rafael Christian de Matos. – 2024.

1 recurso eletrônico (212 f. : il.) : pdf.

Orientador: Renes de Resende Machado.

Coorientadora: Marina Scopel.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Ciências de Farmacêuticas.

Exigências do sistema: Adobe Acrobat Reader

1. Pouteria – Teses. 2. Extratos vegetais – Teses. 3. Inflamação – Teses. 4. Antinocicepção – Teses. 5. Compostos fenólicos – Teses. 6. Cromatografia líquida de alta eficiência – Teses. I. Machado, Renes de Resende. II. Scopel, Marina. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de Farmácia. IV. Título.

CDD: 615.321



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

FOLHA DE APROVAÇÃO

“AVALIAÇÕES BOTÂNICA, QUÍMICA E SAZONAL DE FOLHAS DE POUTERIA GUIANENSIS AUBL E ESTUDOS PRÉ-CLÍNICOS”

RAFAEL CHRISTIAN DE MATOS

Dissertação submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS, como requisito para obtenção do grau de Mestre em CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS, área de concentração CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS.

Comissão

Profa. Dra. Isabela da Costa César
Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG

Profa. Dra. Priscilla Rodrigues Valadares Campana
Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG

Prof. Dr. Renes de Resende Machado - Orientador
Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG

Profa. Dra. Marina Scopel - Coorientadora
Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG

Belo Horizonte, 26 de março de 2024.



Documento assinado eletronicamente por **Renes de Resende Machado, Professor do Magistério Superior**, em 26/03/2024, às 20:50, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Isabela da Costa Cesar, Professora do Magistério Superior**, em 27/03/2024, às 07:28, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Priscilla Rodrigues Valadares Campana, Professora do Magistério Superior**, em 28/03/2024, às 09:33, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Marina Scopel, Professora do Magistério Superior**, em 29/03/2024, às 21:21, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **3076856** e o código CRC **D39086A5**.

Dedico o grau de mestre às mulheres da minha família, que por resistência e sabedoria me ensinaram a força e importância da ancestralidade e dos saberes tradicionais das plantas medicinais. À minha querida avó (Maria Antônia), mãe (Margareth), madrinha (Sandra) e tia Goreth (*in memoriam*).

AGRADECIMENTOS

À energia maior universal por toda a força e inspiração;

Aos povos originários, por deixarem o legado de conhecimento que nos regozijamos, e que aos poucos, conseguimos justificar e compreender por meio da ciência;

Ao pequeno mini Rafa que sonhou, pela primeira vez, aos quatro anos em ser cientista e nunca desistiu desse sonho! Saber da força que você desejou a ciência me motivou e motiva, e reconheço até hoje o nosso brilho no olhar diante de uma nova hipótese a ser testada;

Aos maiores presentes dessa vida! Minha querida mãe (Margareth), pai (Geraldo) e irmão (Thiago) por dividirem de forma tão amorosa a vida comigo, acolhendo meus processos de forma tão afetuosa e fortalecedora. Não existe conquista pessoal que não seja fruto coletivo com vocês! Agradeço também a Andreza por ter sido ouvido e colo durante este processo, sendo suporte e porto seguro. Com vocês toda dificuldade foi mais leve;

À minha querida família que tanto me inspira, aos meus avós, tios, padrinhos, primos, cunhada e afilhado. Nossos encontros mensais, aconselhamentos e compartilhamentos de felicidades sempre foram força motriz para o dia a dia;

À querida tia Goreth (*in memoriam*) por ter me apresentado a possibilidade de cursar farmácia e ampliar meus horizontes para o cuidado integral ao paciente;

Ao meu querido trio do mestrado, Larissa e Thomas, por compartilharem a ciência comigo, pensarem em soluções de problemas conjuntamente e por todas as risadas no meio das aflições dos experimentos;

Ao Pedro, querida dupla de experimentos biológicos, que dividiu os nervosismos no começo dos ensaios com animais e que vibrou a cada significância estatística encontrada! Cada certeza que você me deu durante os experimentos me tranquilizou e hoje sei que ganhei uma parceria fiel para qualquer necessidade;

À querida dupla de mestrado e de caminhada, Ana, por partilhar a vida de forma completa comigo. Meu mestrado ficou inteiro desde que você chegou e dividiu coletas de planta, experimentos, lanches, almoços e caronas. Não houve um dia que fosse pesado ficar tantas horas na UFMG por ter a leveza de ter o seu abraço que me recarrega. Obrigado, também, pelos congressos e parceria caminhada;

Aos queridos alunos de IC que contribuíram com o projeto! Especialmente ao brilhante Alex que dividiu a execução de cada etapa comigo. Obrigado por ter triturado tanta planta com alegria e por todas as contribuições intelectuais! Sem você o projeto não teria avançado tanto. À querida Vanessa, principalmente pela disponibilidade e contribuição com as revisões. Seu olhar atento e anseio de aprendizado mobilizaram o tamanho dos nossos avanços bibliográficos! Agradeço também aos alunos Luiz Henrique, Hiago, Maria Luna e Vitória pelos auxílios realizados;

Aos queridos colegas de laboratório de Farmacologia e Gnosiah! À professora Rachel por ter aberto as portas laboratoriais para mim e ao Olavo, André e Barbara por toda a ajuda técnica. Aos colegas de pós-graduação por partilharem os conhecimentos e reflexões, especialmente à Leticia Barbosa, Raquel Spizarelli, Cynthia e Sarah, pelos experimentos e trocas realizadas;

Aos laboratórios e professores parceiros, em especial aos professores Dr. Armando e Dra. Marta do laboratório de tecnologia farmacêutica e Dra. Rosy do laboratório de biologia vegetal pelas valiosas contribuições. Agradeço à equipe do Jardim Botânico de Belo Horizonte, pela ajuda na procura das espécies do trabalho, em especial à Maria Guadalupe, pelo auxílio na busca em campo de plantas do gênero *Pouteria* spp., conjuntamente a Ms. Nayara do herbário da UFMG pela identificação botânica. Agradeço, também, a parceria da Dra. Carolina, pesquisadora da FUNED, no auxílio das análises espectrométricas. Ao professor José Eduardo diante da disponibilidade de ensino, sanamento de dúvidas e possibilidades de parceria;

Às queridas Liege, Barbara e Maísa, por me incentivarem a ingressar no mestrado e me auxiliarem na conciliação do mercado de trabalho com a pesquisa acadêmica. Tenho muita sorte de dividir o caminho profissional com vocês;

Aos professores orientadores, Dr. Renes e Dra. Marina, por serem tão encorajadores na minha trajetória acadêmica. Ambos me inspiraram no período de graduação e aumentaram exponencialmente, no mestrado, minha paixão e ensejo pela ciência. Obrigado por permitirem um planejamento horizontalizado do projeto, acolherem e viabilizarem minhas ideias e por fomentarem os caminhos de construção que foram trilhados. Espero, um dia, poder espelhar esta inspiração aos meus alunos, como sinto em vocês;

À CAPES pela possibilidade de bolsa, tal como à FAPEMIG por auxílio nos financiamentos da pesquisa;

A todos aqueles que de forma direta ou indireta contribuíram para o desenvolvimento do projeto e apoio pessoal!

Ao chegar à borda da floresta, o riacho vem maior, quase um rio. Adulto já não corre, salta, borbulha como fazia jovem. Agora, move-se com tranquilidade de quem sabe para onde vai. Diz: “Não há pressa. Chegarei lá”

RESUMO

A utilização milenar de plantas medicinais para fins terapêuticos abrange diversas patologias, sendo utilizada para doenças inflamatórias, que representam mais de 50% dos óbitos globais. No contexto brasileiro, a biodiversidade vegetal oferece um vasto potencial para o desenvolvimento de fitoterápicos, especialmente em gêneros como *Pouteria sp.* que apresentam respaldo de utilização etnofarmacológica. Apesar de espécies do gênero terem sido investigadas quanto às propriedades anti-inflamatória e antinociceptiva, o conhecimento fitoquímico e farmacológico ainda é limitado para muitas outras. Desta forma, o objetivo do trabalho foi a realização histológica e de padronização química e sazonal de folhas de *Pouteria guianensis* Aubl. e seus derivados com investigação pré-clínica *in vitro*, *in vivo* e *ex vivo*. Para isso, realizou-se prospecção química dos extratos aquoso e hidroetanólico 80% das folhas de *P. guianensis* por técnicas colorimétricas, cromatográficas e espectrométricas. Além disso, foi desenvolvido e validado método de cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a detector de arranjo de diodos, otimização das condições extrativas de derivado vegetal por superfície de resposta do tipo 2⁴ (avaliando tempo de extração em ultrassom, proporção droga:solvente, temperatura e número de ciclos), para posteriores avaliações farmacológicas tais como: atividades anti-inflamatória e antinociceptiva em modelos murinos, integridade da capacidade motora dos animais após administração dos extratos, atividade antiangiogênica em modelo de membrana corialantoica, toxicidade aguda em modelo murino e citotoxicidade em modelo de *Artemia salina* L.. Também foi realizada avaliação histológica e histoquímica das folhas. Adicionalmente, verificou-se a variação sazonal de parâmetros químicos, físico-químicos e propriedade antioxidante. Os resultados indicaram grande riqueza de compostos fenólicos, com destaque para os flavonoides (com capacidade extrativa modulada pela temperatura de extração), sendo a miricitrina um possível glicosídeo majoritário nas análises por cromatografia à líquido, sendo outras classes identificadas também por análises histoquímicas, como os alcaloides. As análises botânicas demonstraram epiderme simples e glabra com presença de cutícula espessa com ondulações aparentes, além de laticíferos no mesófilo celular, sendo os compostos fenólicos amplamente distribuídos na histoquímica. O método cromatográfico quantitativo desenvolvido foi validado de forma completa. Diversos extratos apresentaram propriedades antioxidantes o que guiou a seleção dos extratos aquoso e do hidroetanólico 80% em conjunto com a diferenciação composicional avaliadas por quimiometria. Apesar de ampla variabilidade sazonal dos parâmetros físico-químicos da espécie, os dois extratos selecionados mostraram potencial anti-inflamatório e antinociceptivo, com preservação da função motora (sem alteração em exames hematológicos e bioquímicos em modelo murino) com adicional propriedade antiangiogênica e baixa toxicidade tópica em modelo *ex vivo*. Após análise citotóxica em *A. salina* foi destacada a necessidade de estudos em outros modelos para maior robustez da atividade citotóxica. Como conclusão, os extratos de *P. guianensis* foram otimizados e padronizados quimicamente e os ensaios pré-clínicos sugerem atividade anti-inflamatória, antinociceptiva, antiangiogênica e baixa toxicidade. Pelo ineditismo dos achados da espécie se faz necessário maior aprofundamento quanto aos mecanismos de ação dos bioativos para vislumbre de sua aplicabilidade terapêutica.

Palavras-chave: *Pouteria sp.*; inflamação; antinocicepção; fenólicos; cromatografia.

ABSTRACT

The ancient use of medicinal plants for therapeutic purposes covered a wide range of pathologies, including inflammatory diseases, which is responsible for more than 50% of global deaths. In the Brazilian context, plant biodiversity offers vast potential for the development of phytotherapies, especially in genera such as *Pouteria* sp. which are treated by ethnopharmacological use. Although species of this genus have been investigated for their anti-inflammatory and antinociceptive properties, phytochemical and pharmacological knowledge is still limited. The aim of this study was to conduct the histological analysis, prospecting and chemical and seasonal standardization of extracts of *Pouteria guianensis* Aubl. with preclinical investigation of its plant derivatives *in vitro*, *in vivo*, and *ex vivo*. Chemical prospecting of aqueous and hydroethanolic 80% extracts of *P. guianensis* leaves was carried out using colorimetric, chromatographic, and spectrometric techniques. In addition, a high-performance liquid chromatography method coupled with a diode array detector was developed and validated, and the extraction conditions of the plant derivative were optimized using a 2⁴-type response surface (evaluating ultrasound extraction time, drug to solvent ratio, temperature and number of cycles), for subsequent pharmacological evaluations such as: anti-inflammatory and antinociceptive activities in murine models, integrity of the animals' motor capacity after administration of the extracts, antiangiogenic activity in a chorioallantoic membrane model, acute toxicity in a murine model and cytotoxicity in an *Artemia salina* L. model. . Histological and histochemical evaluation of the leaves was also carried out. In addition, seasonal variations in chemical and physicochemical parameters and antioxidant properties were verified. The results indicated a large amount of phenolic compounds, especially flavonoids (with extractive capacity modulated by the extraction temperature), with myricitrin being a possible major glucoside in liquid chromatographic analyses, while other classes were also identified by histochemical analyses, such as alkaloids. The botanical analyses showed a simple, glabrous epidermis with a thick cuticle with apparent undulations, as well as laticifers in the mesophyll cells, and phenolic compounds were widely distributed in the histochemistry. The developed quantitative chromatographic method was then validated. Several extracts showed antioxidant properties, which guided the selection of aqueous and hydroethanolic 80% extracts together with the compositional differentiation evaluated by chemometrics. Despite the wide seasonal variability in the physicochemical parameters of the species, the two extracts selected showed anti-inflammatory and antinociceptive potential, with preservation of motor function (no alteration in hematological and biochemical tests in a murine model), additional antiangiogenic properties, and low topical toxicity in an *ex vivo* model. After cytotoxic analysis in *A. salina*, the need for studies in other models was highlighted to make cytotoxic activity more robust. In conclusion, *P. guianensis* extracts were chemically optimized and standardized, and preclinical trials suggested anti-inflammatory, antinociceptive, antiangiogenic, and low toxicity. Due to the novelty of the species' findings, it is necessary to investigate the mechanisms of action of the bioactive compounds to discern their therapeutic applicability.

Keywords: *Pouteria* sp.; inflammation; antinociception; phenolics; chromatography.

LISTA DE ESTRUTURAS QUÍMICAS

(1) Quercetina	35
(2) Kaempferol.....	35
(3) Apigenina	35
(4) Isorhamnetina	35
(5) Miricetina.....	35
(6) Luteolina	35
(7) Flavona	35
(8) 2-hidroxi-flavanona.....	35
(9) Naringina.....	35
(10) Isovitexina	35
(11) Isoorientina.....	35
(12) Orientina	35
(13) Catequina.....	35
(14) Epicatequina	35
(15) Galocatequina	35
(16) Ácido elágico.....	36
(17) Ácido gálico.....	36
(18) Ácido clorogênico.....	36
(19) Ácido 3,4-dicafeoilquinico	36
(20) Ácido vanílico	36
(21) Ácido p-cumárico	36
(22) Ácido cafeico.....	36
(23) Ácido ferulico	36
(24) Loncocarpina	36
(25) β -caroteno.....	36
(26) α -terpineol	36
(27) Limoneno	36
(28) α -felandreno.....	36
(29) Crocetina.....	36
(30) Ácido quínico	118
(31) Ácido isocitríco	118
(32) 4'-metoxi-naringenina.....	118
(33) Quercetina-3-D-xilosídeo	118

(34) Voacamine	118
(35) Apigenina-7-O-glicosídeo	118
(36) Naringenina.....	118
(37) Kaempferol-7-neohesperosídeo	118
(38) Diosmina	118
(39) Siringetina-3-galactosídeo	119
(40) Ácido pigenico B	119
(41) Ácido pigenico C	119
(42) Fortunellina	119
(43) Soyaspogenol B.....	119
(44) Ácido ursólico.....	119
(45) Miricitrina.....	119
(46) Kaempferol-7-O-glicosídeo	119
(47) Kaempferol-3-O-glicosídeo	119
(48) Ácido pigenico A	119

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Fluxograma da seleção de artigos para a revisão integrativa.	31
Figura 2 - Perfil anual (A), de partes vegetais utilizadas (B) e da elucidação fitoquímica (C) encontradas nos artigos incluídos na revisão integrativa.	33
Figura 3 - Estruturas químicas dos principais flavonoides encontrados em plantas medicinais com uso etnofarmacológico para a inflamação.	35
Figura 4 - Estruturas químicas dos principais ácidos fenólicos e terpenóides encontrados em plantas medicinais com uso etnofarmacológico para a inflamação.	36
Figura 5 - Indivíduo de <i>Pouteria torta</i> (Mart.) Radlk na Fundação de Parques Municipais e Zoobotânica de Belo Horizonte (A), folhas (B) e frutos (C) de <i>Pouteria guianensis</i> (Aubl.).....	39
Figura 6 - Fluxograma da seleção de artigos para a revisão do gênero <i>Pouteria sp.</i>	41
Figura 7 - Teste de diferentes fases móveis para diferenciação química de espécies de <i>Pouteria spp.</i>	85
Figura 8 - Sistemas selecionados para diferenciação de espécies de <i>Pouteria spp.</i> com enfoque em flavonoides (A) e compostos fenólicos (B) com seus compostos diferenciais.	86
Figura 9 - Teste inicial de três condições para o desenvolvimento de método analítico para <i>Pouteria guianensis</i> (Aubl.).	87
Figura 10 - Perfil de otimização dos sistemas cromatográficos descritos no item 4.2.4. com as condições de análise das variações instrumentais.	89
Figura 11 - Cromatograma de CLAE-DAD com sistema cromatográfico desenvolvido e picos majoritários com seus respectivos espectros de absorção no ultravioleta de <i>Pouteria guianensis</i> (Aubl.) visualizado em 370nm. Grupo 1 (picos 1, 2, 4, 5, 8, 11 e 12), Grupo 2 (picos 3,7,9,10), Grupo 3 (pico 6), Grupo 4 (picos 13 a 20) e Grupo 5 (picos 21 a 23).....	92
Figura 12 - Diagrama de pareto (A), Gráfico QQ-plot da homoscedasticidade dos resíduos (B); Gráficos ternários das correlações de maior influência (C e D); Gráfico de superfície da correlação de maior influência no modelo (E) e condição final otimizada de extração.	96
Figura 13 - Avaliação da seletividade da amostra (A) com o diluente (B), o padrão (C) e amostra contaminada (D).	98

Figura 14 - Avaliação do perfil cromatográfico de diferentes indivíduos de <i>Pouteria guianensis</i> (Aubl.) coletadas em Belo Horizonte.	99
Figura 15 - Avaliação do perfil do extrato hidroetanólico 80% de um único indivíduo de <i>Pouteria guianensis</i> (Aubl.) coletadas nas estações do inverno (A), primavera (B), verão (C) e outono (D).	100
Figura 16- Perfil cromatográfico de diferentes espécies do gênero <i>Pouteria</i>	101
Figura 17 - Comparação entre diferentes amostras do gênero <i>Pouteria</i> por mapa de calor e Análise Hierárquica de Clusters (A); Análise de componentes principais (B) e K-means clusters (C).....	102
Figura 18 - Gráficos de formação retilínea e perfil de resíduos da linearidade (A e B) e efeito matriz (C e D), respectivamente.	105
Figura 19 - Perfil de hidrólise das amostras de espécies de <i>Pouteria</i> sp.	111
Figura 20 - Cromatograma de absorção na região do ultravioleta (370 nm) e de íons totais obtidos dos extratos aquoso (A e B) e EHE80% (C e D) de <i>Pouteria guianensis</i> (Aubl.) obtidos na análise CLUE-ESI-TOF-MS/MS.	113
Figura 21 - Espectro MS2 do pico em 38,1 min, com identificação pelo banco de dado banco de dados Universal Natural Product Database - UNPD-ISDB como miricitrina.	114
Figura 22 - Estruturas dos possíveis compostos presentes no extrato aquoso de <i>Pouteria guianensis</i> (Aubl.).	118
Figura 23 - Estruturas dos possíveis compostos presentes no extrato EHE80% de <i>Pouteria guianensis</i> (Aubl.).	119
Figura 24 - Estruturas das possíveis substâncias presentes nos extratos aquoso e EHE80% de <i>Pouteria guianensis</i> (Aubl.).	119
Figura 25- Cromatograma de íons totais obtidos do extrato EHE80% de <i>Pouteria guianensis</i> (Aubl.) obtidos na análise por CLAE-QTRAP-MS/MS (A) e espectros com faixa de fragmentação no modo positivo (B) e negativo (C).....	121
Figura 26 - Perfil histológico em lâminas das folhas e pecíolo central de <i>Pouteria guianensis</i> (Aubl.) realizadas em micrótomo rotativo coradas com Astra blue e safranina (9:1)	123
Figura 27 - Perfil histoquímico em lâminas de <i>Pouteria guianensis</i> (Aubl.) realizadas em cortes livre com aumentos de 10x e 40x.	125
Figura 28 - Análise antioxidante por DPPH dos extratos de <i>Pouteria guianensis</i> (Aubl.) (A), dispersão dos componentes principais dos extratos ativos e não ativos (B) com	

análise de componentes principais (Cp1xCp2) (C) e demonstração por mapa de calor dos picos cromatográficos (D).....	128
Figura 29 - Avaliação sazonal de <i>Pouteria guianensis</i> (Aubl.) com enfoque em flavonoides (A) e compostos fenólicos (B) e seus marcadores, revelados com reagente natural.	135
Figura 30 - Perfil cromatográfico das folhas de <i>Pouteria guianensis</i> (Aubl.) em quatro diferentes estações extraída com água (A), etanol 80% (B) e acetato de etila (C).	136
Figura 31 - Avaliação sazonal de <i>Pouteria guianensis</i> (Aubl.) por cromatografia em camada delgada com enfoque em flavonoides (A) e compostos fenólicos (B) e seus marcadores, revelados com DPPH 300µM.	138
Figura 32 - Atividade antioxidante dos extratos aquoso, EHE80% e acetato de etila de <i>Pouteria guianensis</i> (Aubl.) nas quatro diferentes estações e análise de agrupamentos hierárquicos de seu perfil químico.....	139
Figura 33 - Análise discriminante de mínimos quadrados parciais com espectro na região do ultravioleta de picos com VIP scores >2.....	140
Figura 34 - Escala temporal de avaliação do efeito induzido pelos extratos de <i>Pouteria guianensis</i> (Aubl.) sobre a alodínia mecânica induzida por carragenina.....	148
Figura 35 - Escala temporal de avaliação do efeito induzido pelos extratos de <i>Pouteria guianensis</i> (Aubl.) sobre o edema de pata induzido por carragenina.....	149
Figura 36 - Escala temporal de avaliação do efeito induzido pelos extratos de <i>Pouteria guianensis</i> (Aubl.) sobre resposta nociceptiva induzida por calor.....	150
Figura 37 - Escala temporal de avaliação do efeito induzido pelos extratos de <i>Pouteria guianensis</i> (Aubl.) sobre atividade motora.	151
Figura 38 - Efeito da administração prévia (-30 min) <i>p.o.</i> do extrato aquoso de <i>Pouteria guianensis</i> (Aubl.) (62,5, 125 ou 250 mg/Kg) ou dexametasona (Dexa, 10 mg/Kg) na alodínia mecânica e no edema de pata induzidos pela administração <i>i.pl.</i> de carragenina (Cg; 600 µg).	156
Figura 39 - Efeito da administração prévia (-30 min) <i>p.o.</i> do extrato aquoso de <i>Pouteria guianensis</i> (Aubl.) (62,5, 125 ou 250 mg/Kg) ou dexametasona (Dexa, 10 mg/Kg) na alodínia mecânica e no edema de pata induzidos pela administração <i>i.pl.</i> de carragenina (Cg; 600 µg).	157
Figura 40 - Efeito da administração prévia (-30 min) <i>p.o.</i> dos extratos aquoso (Aq) e EHE80% de <i>Pouteria guianensis</i> (Aubl.) (250 mg/Kg) ou dipirona (500 mg/Kg) na resposta nociceptiva induzida pelo calor.....	160

Figura 41 - Efeito da administração prévia (-30 min) <i>p.o.</i> dos extratos aquoso (Aq) e EHE80% de <i>Pouteria guianensis</i> (Aubl.) (250 mg/Kg) ou fenobarbital (50 mg/Kg) ou veículo (Salina) sobre o tempo de permanência dos camundongos na haste girante.	161
Figura 42 - Efeito da administração prévia (-30 min) <i>p.o.</i> dos extratos aquoso (Aq) e EHE80% de <i>Pouteria guianensis</i> (Aubl.) (250 mg/Kg) ou veículo (Salina) na produção de TNF- α (B), IL-1 β (C), CXCL-1 (D) e IL-10 (E) induzidas pela administração <i>i.pl.</i> de carragenina (Cg; 600 μ g).	164
Figura 43 - Fotografias ilustrando o efeito da administração dos extratos aquoso (Aq) e EHE80% de <i>Pouteria guianensis</i> (Aubl.) (1 mg/Kg) ou bevacizumabe (12,5 μ g) ou veículo (Salina) na avaliação de angiogênese em membrana corioalantoica.	166
Figura 44 - Efeito da administração dos extratos aquoso (Aq) e EHE80% de <i>Pouteria guianensis</i> (Aubl.) (1 mg/mL) ou bevacizumabe (250 μ g/mL) ou veículo (Salina) na avaliação dos parâmetros de angiogênese em membrana corioalantoica.	167
Figura 45 - Fotografias ilustrando o efeito da administração dos extratos aquoso (Aq) e EHE80% de <i>Pouteria guianensis</i> (Aubl.) (5 mg/mL) ou NaOH (0,1 M) ou veículo (Salina) na membrana corioalantóica ao longo de 5 min. n = 8.	169
Figura 46 - Efeito da administração de diferentes concentrações dos extratos aquoso e EHE80% de <i>Pouteria guianensis</i> (Aubl.) sobre a mortalidade de indivíduos de <i>Artemia salina</i> (L.). n=10.	170
Figura 47 - Avaliação do peso corporal dos animais dos grupos controle e dos extratos aquoso (A) e EHE80% (B) de <i>Pouteria guianensis</i> (Aubl.), na dose de 350 mg/Kg, durante 14 dias (n=6).	172

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Espécies do gênero <i>Pouteria</i> incluídas no estudo (“ <i>Pouteria</i> Aubl. Plants of the World Online Kew Science”, 2023).....	42
Tabela 2 - Metabólitos identificados no gênero <i>Pouteria</i> sp.....	43
Tabela 3 - Condições cromatográficas avaliadas para diferenciação de espécies de <i>Pouteria</i> spp.	70
Tabela 4 - Condições cromatográficas avaliadas para o desenvolvimento do método por CLAE de <i>Pouteria guianensis</i> (Aubl.).....	71
Tabela 5 - Condições de otimização do método por CLAE para <i>Pouteria guianensis</i> (Aubl.).....	72
Tabela 6 - Condições de delineamento 2 ⁴ das folhas de <i>Pouteria guianensis</i> (Aubl.)	73
Tabela 7 - Parâmetros a serem avaliados no teste de Youden & Steiner	77
Tabela 8 - Delineamento do teste de Youden & Steiner	77
Tabela 9 - Testes, metabólitos e procedimentos realizados na histoquímica vegetal	81
Tabela 10 - Resultados da marcha fitoquímica, com as classes metabólicas investigadas e testes realizados.....	84
Tabela 11 - Método final em CLAE desenvolvido para a espécie <i>Pouteria guianensis</i> (Aubl.).....	91
Tabela 12 - Avaliação da significância das variáveis escolhidas para otimização extrativa e suas correlações.....	95
Tabela 13 - Avaliações estatísticas dos requisitos de parametricidade, variância e correlação da inclinação das curvas do efeito matriz e linearidade.....	105
Tabela 14 - Avaliação da repetibilidade (analista 1, dia 1) e reprodutibilidade (analista 2, dia 2) do doseamento do marcador analítico em função da quercetina	106
Tabela 15 - Recuperação do analito para avaliação da exatidão do método em níveis baixos, intermediários e elevados	107
Tabela 16 - Resultados do parâmetros analíticos do analito e do padrão utilizado na quantificação (quercetina)	108
Tabela 17 - Discrepância nos fatores analíticos das variáveis quando comparada com a condição inicial.	109
Tabela 18 - Perfil de recuperação de amostra a 100% e padrão rodadas em 0, 24, 48, 72 e 96 horas após preparo	110

Tabela 19 - Anotação de possíveis compostos presentes no extrato aquoso de <i>Pouteria guianensis</i> (Aubl.)	115
Tabela 20 - Anotação de possíveis compostos presentes no extrato EHE80% de <i>Pouteria guianensis</i> (Aubl.)	116
Tabela 21 - Anotação de possíveis compostos presentes nos extratos aquoso e EHE80% de <i>Pouteria guianensis</i> (Aubl.)	117
Tabela 22 - Controle de qualidade físico-químico da droga vegetal de <i>Pouteria guianensis</i> (Aubl.) em quatro diferentes estações.....	142
Tabela 23 - Condições climáticas e ambientais em Belo Horizonte nas datas de coleta de <i>Pouteria guianensis</i> (Aubl.) (Dados Instituto Nacional de Meteorologia do Brasil, 2023).	142
Tabela 24 - Doseamento de metabólitos nos extratos aquoso e EHE80% de <i>Pouteria guianensis</i> (Aubl.).....	158
Tabela 25 - Tempo de ocorrência de hemorragia nas membranas corioalantoicas do grupo controle positivo NaOH	168
Tabela 26 - Resultados dos exames hematológicos e bioquímicos para extrato aquoso de <i>Pouteria guianensis</i> (Aubl.) (n=6)	174
Tabela 27 - Resultados dos exames hematológicos e bioquímicos para extrato EHE80% de <i>Pouteria guianensis</i> (Aubl.) (n=6)	174

LISTA DE ABREVIATURAS. SÍMBOLOS E SIGLAS

%	Porcentagem
≤	Menor ou igual à
≥	Maior ou igual à
°C	Grau Celsius
µg	Micrograma
AAH	Análise de agrupamentos hierárquicos
ABS	Albumina bovina sérica
ABTS	2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico)
ACP	Análises de Componentes Principais
ADA	Adenosina deaminase
ADMQP	Análise discriminante de mínimos quadrados parciais
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AOAC	<i>Association Of Official Analytical Collaboration</i> Design de qualidade analítico (do inglês <i>Analytical Quality by Design</i>)
AQBD	
ASC	Área sob a curva
BVS	Biblioteca virtual em saúde
CAF	Composto adjuvante de Freund's
CCD	Cromatografia em camada delgada
CEBIO	Centro de bioterismo
CIM	Concentração inibitória mínima
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
CLAE-ESI-QTRAP-MS/MS	Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas com ionização por <i>electrospray</i> e detecção por triplo quadrupolo/ <i>íon trap</i>
CLUE-ESI-Q-TOF-MS/MS	Cromatografia líquida de ultra eficiência acoplado a um espectrômetro de massas com ionização por <i>electrospray</i> e detecção do tipo quadrupolo/tempo de voo
CP	Componentes principais
DATAPLAMT	Banco de dados de amostras de plantas aromáticas, medicinais e tóxicas
DECS	Descritores em ciências da saúde
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazil
DPR	Desvio padrão relativo
ECPR	Ensaio da capacidade de poder redutor
EHE80%	Extrato hidroetanólico a 80%
g	Grama
GMPc	Monofosfato cíclico de guanossina
i.p.	Intraperitoneal
IC	Concentração Inibitória <i>International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use</i>
ICH	
IL	Interleucinas

JB/FPMZB-BH	Jardim Botânico e Fundação de Parques Municipais e Zoobotânica de Belo Horizonte
L	Litros
m/z	Relação massa/carga
MESH	Título de Assunto Médico (do inglês <i>Medical Subject Heading</i>)
mg	Miligramas
MHNJB-UFMG	Museu de História Natural e Jardim Botânico da UFMG
Min	Minutos
mL	Mililitros
mM	Milimolar
MMQO	Mínimos múltiplos quadrados ordinários
MTT	3-(4,5-dimetiltiazol-2yl)-2,5-di- fenil brometo de tetrazolina Fator de crescimento de nervos (do inglês <i>Nerve Growth Factor</i>)
NGF	
NO	Óxido nítrico (do inglês <i>Nitric Oxide</i>)
OMS	Organização Mundial de Saúde
OPLS	Projeções ortogonais para estruturas latentes (traduzido do inglês <i>Orthogonal Projections to Latent Structures</i>)
p.o.	per os
PNPIC	Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares
QBD	Design de qualidade (do inglês <i>Quality by Design</i>)
RENISUS	Relação Nacional de Plantas de Interesse do SUS
Rf	Fator de retenção (do inglês <i>Retention fator</i>)
ROS	Espécies reativas a oxigênio (do inglês <i>Reactive Oxygen Species</i>)
SISGEN	Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado
SUS	Sistema Único de Saúde
TIC	Cromatograma de íon total (do inglês <i>Total Ion Chromatogram</i>)
TNF	Fator de necrose tumoral (do inglês <i>Tumor Necrosis Factor</i>)
Tr	Tempo de retenção
TRP	Potencial receptor transitório (do inglês: <i>Transient Receptor Potential</i>)
UV	Ultravioleta
V	Volts
VEGF	Fator de crescimento endotelial vascular (do inglês <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>), Pontuação na influência variável na projeção (do inglês <i>Variable Influence on Projection scores</i>)
VIPS score	
WOS	<i>Web Of Science</i>

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO	23
2.REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	25
2.1. Dor e Inflamação	25
2.1.1. Epidemiologia e classificação	25
2.1.2. Sistema imune, cascatas e avaliação de atividade anti-inflamatória e antinociceptiva	26
2.2. Plantas de utilização tradicional em inflamação	27
2.2.1. Metodologia	28
2.2.2. Resultados e discussão	30
2.2.3. Considerações finais	37
2.3. Gênero <i>Pouteria</i> sp.	38
2.3.1. Metodologia	39
2.3.2. Resultados e discussão	40
2.3.3. Considerações finais	63
3.OBJETIVOS	65
3.1. Objetivo geral	65
3.2. Objetivos específicos	65
PARTE 1: Extração do material vegetal, avaliação química, anatômica e escolha dos extratos de trabalho por meio da avaliação da atividade antioxidante por DPPH de <i>Pouteria</i> spp.	66
4.COLETA, CARACTERIZAÇÃO E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	67
4.1. Materiais, Equipamentos e reagentes	67
4.1.1. Equipamentos, instrumentos, aparatos e vidrarias	67
4.1.2. Solventes, reagentes e substâncias químicas de referência	67
4.2. Metodologia.....	68
4.2.1. Coleta e preparo das amostras.....	68

4.2.2.	Marcha fitoquímica	69
4.2.3.	Cromatografia em Camada delgada (CCD).....	69
4.2.4.	Desenvolvimento, otimização e validação de método em CLAE	71
4.2.5.	Otimização das condições extrativas para <i>P. guianensis</i>	72
4.2.6.	Validação de método	73
4.2.7.	Análise por Cromatografia Líquida de ultra eficiência acoplada à espectrometria de massas de alta resolução (CLUE-ESI-Tof-MS/MS).....	78
4.2.8.	Análise por Cromatografia Líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas (CLAE-ESI-QTRAP-MS/MS).....	79
4.2.9.	Caracterização histológica e histoquímica.....	80
4.2.10.	Avaliação da atividade antioxidante de extrato de folhas de <i>P. guianensis</i>	81
4.2.11.	Análise quimiométrica	82
4.3.	Resultados e discussão	82
4.3.1.	Marcha fitoquímica	82
4.3.2.	Cromatografia em Camada Delgada (CCD)	85
4.3.3.	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)	87
4.3.4.	Otimização das condições extrativas para folhas de <i>P. guianensis</i>	93
4.3.5.	Validação	97
4.3.6.	Hidrólise de extratos das folhas do gênero <i>Pouteria</i> sp.....	110
4.3.7.	Análise por Cromatografia Líquida de ultra eficiência acoplada à espectrometria de massas de alta resolução (CLUE-ESI-TOF-MS/MS).....	112
4.3.8.	Análise por Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas (CLAE-ESI-QTRAP-MS/MS).....	120
4.3.9.	Caracterização histológica e histoquímica.....	121
4.3.10.	Avaliação da atividade antioxidante de <i>P. guianensis</i>	126
PARTE 2: Avaliação sazonal de <i>Pouteria guianensis</i> (Aubl.): perfil físico-químico, análises cromatográficas e atividade antioxidante.		131

5. AVALIAÇÃO SAZONAL	132
5.1. Materiais, Equipamentos e reagentes	132
5.1.1. Equipamentos, instrumentos, aparatos e vidrarias	132
5.1.2. Solventes, reagentes e substâncias químicas de referência	132
5.2. Metodologia.....	133
5.2.1. Análises cromatográficas.....	133
5.2.2. Atividade antioxidante.....	133
5.2.3. Análises físico-químicas	134
5.3. Resultados e discussão	134
5.3.1. Análises cromatográficas.....	134
5.3.2. Atividade antioxidante.....	137
5.3.3. Análises físico-químicas	141
PARTE 3: Avaliação das atividades biológicas dos extratos aquoso e EHE80% de <i>Pouteria guianensis</i> (Aubl.)	144
6. Avaliação das atividades biológicas	145
6.1. Materiais, equipamentos e reagentes	145
6.1.1. Equipamentos, instrumentos, aparatos e vidrarias	145
6.1.2. Solventes, reagentes e substâncias químicas de referência	145
6.2. Metodologia.....	146
6.2.1. Animais experimentais.....	146
6.2.2. Preparo dos extratos aquoso e EHE80% de <i>P. guianensis</i>	147
6.2.3. Preparo das soluções de dexametasona, dipirona e fenobarbital	147
6.2.4. Suspensão de carragenina	147
6.2.5. Avaliação da alodínia mecânica induzida por carragenina	147
6.2.6. Avaliação do edema de pata induzido por carragenina	148
6.2.7. Avaliação da resposta nociceptiva induzida por calor	149
6.2.8. Avaliação da produção de TNF- α , IL-1 β , IL-10 e CXCL-1 induzida por carragenina.....	150

6.2.9.	Avaliação da atividade motora.....	150
6.2.10.	Avaliação da atividade antiangiogenica pelo ensaio da membrana corioalantoica.....	151
6.2.11.	Avaliação da citotoxicidade <i>in vivo</i> de citotoxicidade em modelo de <i>Artemia salina</i> L.	152
6.2.12.	Avaliação de toxicidade aguda <i>in vivo</i> em camundongos BALB/c ...	153
6.2.13.	Análise estatística	153
6.3.	Resultados e Discussão.....	154
6.3.1.	Alodínia mecânica e edema de pata induzidos por carragenina	154
6.3.2.	Avaliação da resposta nociceptiva induzida por calor	159
6.3.3.	Avaliação da atividade motora.....	161
6.3.4.	Avaliação da produção de TNF- α , IL-1 β , IL-10 e CXCL-1, induzida por carragenina.....	162
6.3.5.	Avaliação da atividade antiangiogênica por meio do ensaio da membrana corioalantóica.....	165
6.3.6.	Avaliação da citotoxicidade em modelo experimental de <i>Artemia salina</i> L.	170
6.3.7.	Avaliação de toxicidade aguda <i>in vivo</i> em camundongos BALB/c.....	171
7.	CONCLUSÃO.....	175
8.	REFERÊNCIAS.....	177

1. INTRODUÇÃO

A utilização de plantas medicinais com finalidades paliativas e de cura, é datada desde os períodos remotos da humanidade (ŠANTIĆ *et al.*, 2019). Tal recurso, vale-se de uma vasta fonte terapêutica que alça espectros de diversas patologias, em seus diferentes níveis e que, devido a sua acessibilidade e confiabilidade, tem uso prevalente em grande parte da população mundial (EL-DAHIYAT *et al.*, 2020).

Como prenúncio de fonte de busca para tratamento de doenças complexas e/ou de tratamentos dificultosos, esta possibilidade medicinal se torna valorosa diante da insipiência terapêutica de algumas patologias. Dentre estas, pode-se citar as doenças inflamatórias, as quais estão envolvidas em mais de 50% dos óbitos mundiais na atualidade e que, embora tenham ocorrido avanços consideráveis acerca de seus estudos, possuem diversas lacunas a serem sanadas, como melhor elucidação da gênese das doenças e tratamentos mais efetivos (FURMAN *et al.*, 2019).

O processo inflamatório é uma forma de regulação corporal a diversos agentes, caracterizado por ser um fenômeno vascular, com atuação de células imunes e não imunes que visam eliminar patógenos, como forma de proteção do hospedeiro, e promover recuperação tecidual (FURMAN *et al.*, 2019). Contudo, com o avanço da elucidação do seu mecanismo de ocorrência a sua definição se torna difícil, uma vez que ultrapassa sintomatologias clássicas (NETEA *et al.*, 2017; SOUZA; BARROS, 2020).

Em confluência com o avanço de estudos de ação anti-inflamatória de plantas medicinais, não é rara a associação de sua pesquisa para avaliação de atividade antinociceptiva destes compostos. A nocicepção caracteriza-se por ser um fenômeno neural de codificação e processamento de estímulos nervosos diante de um agente nocivo, correlacionando-se diretamente com os processos inflamatórios (RAJA *et al.*, 2020). Embora seja tênue a diferenciação da nocicepção para a definição da dor, sua distinção se encontra na subjetividade da experiência sensorial e/ou emocional envolvida na dor, a qual é definida como uma experiência sensitiva e emocional desagradável associada a uma lesão tecidual real ou potencial (NUGRAHA *et al.*, 2019; RAJA *et al.*, 2020).

O Brasil é considerado o detentor da maior flora do planeta, apresentando elevado potencial de desenvolvimento e descoberta de novos fitoterápicos e chás medicinais,

embora este seja ainda pouco explorado (BRAGA, 2021a). Diante da vasta biodiversidade vegetal brasileira, muitas espécies apresentam predições de ação terapêutica, seja por utilização tradicional ou por relatos científicos. Dessa forma, pode-se pensar ainda a nível de saúde pública e farmacoeconomia, uma vez que a maior parte dos fitoterápicos disponíveis no Sistema Único de Saúde (SUS) (66%), foram desenvolvidos com espécies exóticas, reforçando a elaboração de novos produtos com matéria-prima nacional (DOMINGOS *et al.*, 2019).

Dentre os gêneros vegetais que apresentam indicativo de atividades anti-inflamatória e antinociceptiva por utilização populacional, tem-se o *Pouteria* (SAPOTACEAE), a qual apresenta-se com descritivos químico e biológico de forma incipiente e pouco robusta. Acerca de seus estudos, tem-se relatada a capacidade antinociceptiva e de redução de hiperalgisia para *P. campechiana* (DÉCIGA-CAMPOS *et al.*, 2017) e *P. ramiflora* (JÚNIOR, 2004), avaliação da atividade anti-inflamatória *in vitro* das espécies *P. torta*, *P. ramiflora* (FERREIRA, 2017; JÚNIOR, 2004) e *P. lacuma* (ROJO *et al.*, 2010) sendo que, também foi reportada propriedade cicatrizante e a capacidade antioxidante da espécie *P. campechiana* (ASEERVATHAM *et al.*, 2014). Além disso, o naturalista Guilherme Piso traz em seus relatos, a utilização tradicional de *P. campechiana* como tratamento anti-inflamatório para inflamações de garganta (PISO, 1948).

Tem-se que a triagem fitoquímica do gênero é pouco estudada, sendo elucidado presença majoritária de carboxilatos e compostos fenólicos (ROJO *et al.*, 2010). Contudo, apesar das poucas evidências supracitadas, o gênero contempla mais de 325 espécies, contendo muitas semelhanças de ordem botânica o que dificulta sua diferenciação sabendo-se pouco acerca da intercambialidade terapêutica das espécies (SILVA; SIMEONI; SILVEIRA, 2009). Em confluência a este tópico, tem-se a preocupação de que muitas espécies vegetais possuem grande número de estudos farmacológicos com menor atenção a sua evidencição fitoquímica, demandando um fortalecimento do estudo químico da biodiversidade local (BRAGA, 2021b; CRAGG; NEWMAN, 2013).

Com isso, tem-se que estas informações reforçam a importância de estudo das espécies deste gênero que não foram exploradas pela literatura. Ademais, com o preditivo de atividade que apresentam, urgem avanços científicos com as espécies já estudadas para maior elucidação de seus efeitos e investigação de possíveis mecanismos de ação.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Dor e Inflamação

2.1.1. Epidemiologia e classificação

A prevalência mundial de doenças inflamatórias vêm sendo grande alvo de discussão entre profissionais de saúde, devido a seu aumento exponencial e cronificação do processo inflamatório (CHEN *et al.*, 2018). Confluentes a isto, tem-se que segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), atualmente 3 a cada 5 pessoas vem a óbito devido às doenças inflamatórias crônicas como doenças respiratórias, cardíacas, câncer e diabetes (FURMAN *et al.*, 2019; PAHWA; GOYAL; JIALAL, 2023). Diante deste cenário, se torna valoroso estipular uma forma de rastreio de ocorrência dos quadros inflamatórios para que sejam propostas medidas públicas de saúde, porém suas causas múltiplas tornam este objetivo dificultoso (HUNTER, 2012).

Apesar desta dificuldade, Siew *et al.* (2017) identificaram aumento expressivo de doenças inflamatórias intestinais associadas a grande industrialização ocorrida no século XXI. De forma convergente, outros estudos demonstram o aumento de problemas inflamatórios em momentos estressores como o da pandemia do vírus SARS-CoV-2, no qual doenças auto-imunes como a psoríase pustulosa apresentaram aumento da incidência, principalmente no continente asiático (PRINZ *et al.*, 2023).

Apesar dos fatores socioambientais influenciarem na ocorrência da inflamação, sabe-se que os agentes etiológicos dos processos inflamatórios podem ser divididos em dois grandes grupos. O primeiro, conforme os exemplos supracitados, de agentes não infecciosos, que englobam fatores do estilo de vida do indivíduo, como alimentação e realização de atividades físicas; e danos teciduais físicos por estímulos externos (CHEN *et al.*, 2018). O segundo, de agentes infecciosos, que envolvem contato com microrganismos patogênicos, que desencadeiam respostas imunomoduladoras, as quais podem ocasionar processos inflamatórios momentâneos ou podem desencadear respostas imunes exacerbadas que culminam em doenças autoimunes (ANSAR; GHOSH, 2016; BELIBASAKIS *et al.*, 2023).

Ao mesmo tempo, sabe-se que a dor é um dos sintomas que possibilitam grande rastreio do processo inflamatório (CAO *et al.*, 2023). Embora seja difícil mensurar seus dados epidemiológicos, estima-se que 27,5% das pessoas adultas estejam acometidas por esta condição, com grande desvio de prevalência por distribuição geográfica mundial (9,9-50% da população local) (ZIMMER *et al.*, 2022). Sua

classificação pode se segmentar entre: dor neuropática (quando originada por lesão ou disfunção primária no sistema nervoso central ou periférico), dor inflamatória (quando ocorre a liberação de mediadores inflamatórios que podem sensibilizar ou estimular os nociceptores), dor nociceptiva (resultado da estimulação de nociceptores por fatores térmicos, químicos ou mecânicos, com consequente ativação das vias centrais da dor) e a dor disfuncional (associada a um funcionamento e/ou uma reatividade anormal do sistema nervoso cujas causas são desconhecidas) (KLINKE *et al.*, 2011; ROCHA *et al.*, 2006).

2.1.2. Sistema imune, cascatas e avaliação de atividade anti-inflamatória e antinociceptiva

No processo inflamatório, têm-se dois fundamentais sistemas interligados: o sistema imunológico inato e o adaptativo, que se distinguem na especificidade frente a um foco infeccioso (IWASAKI; MEDZHITOV, 2015; SMITH; RISE; CHRISTIAN, 2019; STÖGERER; STÄGER, 2020). A imunidade inata é inespecífica, atua de modo genérico frente a organismos e representa a primeira e segunda linha de defesa, compreendendo a barreira tecidual e as células interespecíficas como neutrófilos, eosinófilos e macrófagos (BHAGWAT *et al.*, 2018; MATSUWAKI *et al.*, 2011; SHESHACHALAM *et al.*, 2014). A imunidade adquirida, ou adaptativa, é específica, e se desenvolve após contato prévio com o agente invasor individual, atuando com a terceira linha de proteção do organismo, englobando células como os linfócitos T, B e plasmócitos (HAQUE; JANTAN; ABBAS BUKHARI, 2017; TYURIN *et al.*, 2022).

Conectando e participando da imunidade inata ou adaptativa, tem-se as citocinas que são proteínas mediadoras da resposta imune (BRAM; TAVERNIER; GERLO, 2021; KOYASU; MORO, 2012). Elas influenciam um contingente de células imunológicas no que concerne sua atividade, diferenciação, sobrevivência e proliferação (OLIVEIRA *et al.*, 2011). São tipos de citocinas: as interleucinas (IL), interferons, fator de necrose tumoral (TNF), leucotrienos e as quimiocinas responsáveis por atrair células da resposta imune para focos de inflamação (SAIMAN; FRIEDMAN, 2012).

Destas, sabe-se que quatro propriedades são comumente atreladas às citocinas: i. Pleiotropismo, quando agem em diferentes sítios do corpo e apresentam funções díspares nestes locais; ii. Redundância, quando uma mesma ação pode ser feita por citocinas distintas; iii. Sinergismo, onde a ação de duas ou mais são amplificadas em

conjunto; iv. Antagonismo, que ocorre quando o efeito de uma determinada citocina anula ou inibe o efeito de uma oposta, como no caso das pró-inflamatórias (IL-1, IL-2, IL-12, IL-18, IFN- γ , TNF- α) e anti-inflamatórias (IL-10 e TGF- β) (CASAO *et al.*, 2020; DE OLIVEIRA *et al.*, 2011; GUPTA *et al.*, 2020; LI *et al.*, 2023; SANTOS, G. G. DOS *et al.*, 2020; SIKANDAR; SOMMER, 2019; UTTRA *et al.*, 2019).

A fim de averiguar possíveis atividades anti-inflamatórias, têm-se os métodos de avaliação pré-clínicos *in vitro* e *in vivo*. Destes pode-se citar testes *in vitro* com células de linhagem de macrófagos RAW 264.7 que visam investigar a viabilidade celular (YANG *et al.*, 2022), produção do óxido nítrico (NO) (CHO *et al.*, 2023) e etapas do processo inflamatório que podem ser alvo para avaliação de moduladores dessas etapas que possam reduzir a inflamação: a regulação da expressão de moléculas de adesão, prevenção da agregação plaquetária, estímulo à síntese de monofosfato cíclico de guanosina (GMPc) e inibição da lipoperoxidação (DUSSE; VIEIRA; CARVALHO, 2003).

No que se refere aos métodos *in vivo* para triagem de atividade podem-se citar três: (i) “Edema de pata em murinos induzido por estímulos inflamatórios”, o qual fundamenta-se no princípio de formação de edema, como sinal característico da inflamação. Neste, administra-se um estímulo inflamatório, como carragenina, na pata do roedor e seu volume é avaliado diante da substância a qual a atividade é investigada, comparando com valores basais (DI ROSA, 2011; DZOYEM *et al.*, 2017; KARIM *et al.*, 2019; WILLOUGHBY, 1972); (ii) “Avaliação de alodínia mecânica”, a qual avalia a resistência do animal a um estímulo mecânico, uma vez que estímulos inflamatórios, como carragenina e lipopolissacarídeo (LPS), promovem uma sensibilização marcante dos nociceptores (GREGORY *et al.*, 2013; POSADAS *et al.*, 2004); e (iii) “Contorção abdominal induzida por ácido acético” o qual se configura pela injeção intraperitoneal de ácido acético em animais, com contagem do número de contorções abdominais por período pré-determinado, frente a exposição à substância avaliada (SHAJIB *et al.*, 2015).

2.2. Plantas de utilização tradicional em inflamação

Apesar do reconhecimento da efetividade e diversidade de utilização de plantas medicinais com conhecimentos tradicionais associados dos povos originários do Brasil, sabe-se que estas informações se encontram ameaçadas. Isso ocorre devido

à sua transmissão de oralidade entre gerações, o que se agrava, haja vista que por muitas vezes são conhecidos em línguas já não ativas entre as populações indígenas sobreviventes do país (CÂMARA-LERET; BASCOMPTE, 2021).

Desta forma, com o ensejo de realizar o compilamento de estudos disponíveis na literatura acerca destas espécies com relatos etnofarmacológicos com finalidade anti-inflamatória, fez-se necessária a realização de uma ampla revisão bibliográfica da literatura acerca das espécies vegetais com relatos de utilização dos povos originários para escolha do objeto deste trabalho. Com este intuito foi realizada uma revisão integrativa da literatura acerca do tema. Este modelo de revisão foi escolhido como metodologia por identificar, analisar e sintetizar resultados de estudos independentes sobre o mesmo tema, possibilitando uma sumarização ampla de uma temática com abertura de novas discussões acerca dos achados por estudos futuros (BROOME, 2000; SOUZA; SILVA; CARVALHO, 2010).

2.2.1. Metodologia

O Banco de dados de amostras de plantas aromáticas, medicinais e tóxicas (DATAPLAMT) foi selecionado para extração dos nomes das espécies vegetais que apresentavam algum uso em processos inflamatórios. Este banco de dados agrupa informações de utilização tradicional de plantas brasileiras para diversas finalidades, com base em relatos encontrados em livros e escritos antigos (DATAPLAMT, 2023). Em detalhe, incluiu-se na revisão todas as espécies vegetais relatadas no DATAPLAMT que porventura haviam sido utilizadas em doenças cuja inflamação é a causa primária, indiferente de sua classificação. Desta forma, seis categorias foram contempladas, a saber: oftalmias, inflamação de garganta, orquite, inflamação das vias urinárias, inflamação do ouvido e inflamações gerais. Nas situações em que apenas o gênero foi identificado, incluiu-se no estudo todas as espécies com resultados na busca.

Com relação ao critério de busca, entre os meses de agosto e setembro de 2022 foi realizado um levantamento bibliográfico sistematizado de artigos de pesquisas pré-clínicas e clínicas que confirmassem ou refutassem a atividade anti-inflamatória das espécies buscadas. A busca ocorreu nas bases de dados: Pubmed/MEDLINE, Scopus, *Web Of Science* (WOS), Biblioteca Virtual em Saúde (BVS), LILACs e Scielo, de forma exaustiva. As palavras chaves de busca foram pesquisadas em inglês,

português, francês e espanhol, sendo elas definidas pelo Medical Subject Heading (MeSH) e Descritores em Ciências da Saúde (DeCS), utilizando “Inflamação” como palavra principal da procura. Com isso dois descritores de busca foram gerados: (i) O nome da espécie vegetal sem a subespécie (ii) “Anti-Inflamatórios” OR “Agente Anti-Inflamatório” OR “Agente Antiinflamatório” OR “Agentes Anti-Inflamatórios” OR “Agentes Antiinflamatórios” OR “Anti-Inflamatório” OR “Antiinflamatório” OR “Antiinflamatórios” OR “Fármaco Anti-Inflamatório” OR “Fármaco Antiinflamatório” OR “Fármacos Anti-Inflamatórios” OR “Medicamento Anti-Inflamatório” OR “Medicamento Antiinflamatório” OR “Anti-Inflammatory Agents” OR “Agent, Anti-Inflammatory” OR “Agent, Antiinflammatory” OR “Agents, Anti Inflammatory” OR “Agents, Anti-Inflammatory” OR “Agents, Antiinflammatory” OR “Anti Inflammatories” OR “Anti Inflammatory Agent” OR “Anti Inflammatory Agents” OR “Anti-Inflammatories” OR “Anti-Inflammatory Agent” OR “Antiinflammatories” OR “Antiinflammatory Agent” OR “Antiinflammatory Agents” OR “Antiinflammatorios” OR “Agente Antiinflammatorio” OR “Agentes Antiinflammatorios” OR “Fármacos Antiinflammatorios” OR “Anti-inflammatoires” OR “Agents anti-inflammatoires” OR “Agents antiinflammatoires” OR “Antiinflammatoires” OR “Médicaments anti-inflammatoires”. Estas foram pesquisadas conectadas por AND.

Foram considerados elegíveis à composição da revisão estudos nas quatro diferentes línguas buscadas, sem restrição temporal, que abordassem de forma clara sobre o desfecho anti-inflamatório das espécies. Todos os títulos e resumos foram lidos e aqueles que cumprissem o objetivo do trabalho tiveram leitura na íntegra. Excluíram-se artigos não disponíveis de forma completa, que se referiam ao uso de associações vegetais, formulações biofarmacêuticas e de substâncias sintetizadas. Embora artigos de revisão não tenham sido incluídos, suas referências foram analisadas para procurar estudos não aparentes nas demais bases.

Procurou-se extrair dos artigos selecionados informações da parte da droga vegetal utilizada no estudo, a classe de compostos ou compostos isolados, os modelos de avaliação da atividade anti-inflamatória utilizados e os mecanismos de ação investigados. Para os modelos e mecanismos incluiu-se adicionalmente modelos que abordassem sobre características analgésicas, antinociceptivas e de antipiréticas, por serem sintomas característicos da inflamação.

2.2.2. Resultados e discussão

No Brasil, a utilização de plantas medicinais é incentivada em nível nacional e possui regulamentação de uso no SUS que atende a totalidade do país (MAZZARI; PRIETO, 2014). Contudo, a necessidade de maiores aprofundamentos nas espécies nacionais, principalmente nos saberes tradicionais, se confirmou com os achados da pesquisa. Das 126 plantas com relato tradicional de utilização, 86 não retornaram artigos segundo o critério de busca e inclusão, sendo estas, a saber: *Anchietea pyrifolia*; *Aristolochia arcuata* Mast.; *Aristolochia cymbifera*; *Aristolochia floribunda*; *Baccharis glutinosa*; *Begonia paulensis*; *Berberis laurina* Billb.; *Buddleja stachyoides*; *Campomanesia dichotoma*; *Cantinoa plectranthoides*; *Ceiba ventricosa*; *Celosia grandifolia* Moq.; *Celtis brasiliensis*; *Chondrodendron tomentosum*; *Cissampelos ovalifolia*; *Cleome spinosa*; *Cnidocolus urens*; *Cochlospermum regium*; *Commelina erecta*; *Commelina obliqua*; *Cordia americana*; *Cordia tetrandra*; *Curatella americana*; *Davilla rugosa* Poir; *Dieffenbachia seguine*; *Dipteryx odorata*; *Distimake aegyptius* (L.); *Distimake quinquefolius* (L.); *Dorstenia arifolia* Lam; *Dorstenia brasiliensis*; *Ertela trifolia*; *Eryngium pristis*; *Euphorbia hyssopifolia* L.; *Euphorbia potentilloides*; *Handroanthus umbellatus*; *Hibiscus bifurcatus*; *Lophophytum mirabile*; *Luffa operculata* (L.); *Maclura brasiliensis*; *Macropharynx macrocalyx*; *Marcgravia trinitatis*; *Martinella obovata*; *Monstera adansonii* Schott; *Montrichardia linifera*; *Oryctanthus florulentus*; *Passiflora quadrangularis*; *Passovia pedunculata* (Jacq.); *Paubrasilia echinata*; *Pavonia sidifolia*; *Peritassa calypsoides*; *Philodendron imbe*; *Philodendron oblongum*; *Philodendron pedatum*; *Physalis pubescens*; *Pilocarpus jaborandi* Holmes; *Pilocarpus microphyllus*; *Plantago brasiliensis*; *Pleroma clavatum*; *Potalia amara*; *Potalia resinifera*; *Pouteria procera*; *Pradosia lactescens*; *Psidium guineense*; *Rubus brasiliensis*; *Sacciolepis myuros*; *Sagittaria rhombifolia*; *Sauvagesia erecta*; *Schizachyrium condensatum*; *Sequiaria americana*; *Solanum agrarium*; *Solanum alternatopinnatum*; *Sparattosperma leucanthum*; *Sphaeralcea bonariensis*; *Syagrus schizophylla*; *Tephrosia cinerea*; *Teramnus uncinatus*; *Tetracera breyniana*; *Tetracera oblongata*; *Thaumatophyllum bipinnatifidum*; *Trixis antimenorrhoea*; *Vachellia farnesiana*; *Vernonanthura brasiliensis*; *Viola bicuhyba*; *Xanthosoma pentaphyllum* e *Xylopi frutescens*.

Com relação as demais 40 plantas, que foram incluídas no estudo, foram encontradas inicialmente 6181 artigos, que culminaram em 173 inclusos no estudo, devido aos

critérios de inclusão (**Figura 1**). Dentre estes percebeu-se um elevado número de estudos *in vitro* e *in vivo* (pré-clínicos), com apenas um estudo clínico randomizado da espécie *Abrus precatorius*. Estes, majoritariamente se referiam a ação anti-inflamatória de forma inespecífica a sua utilização tradicional, com avaliações gerais de efeito anti-inflamatório.

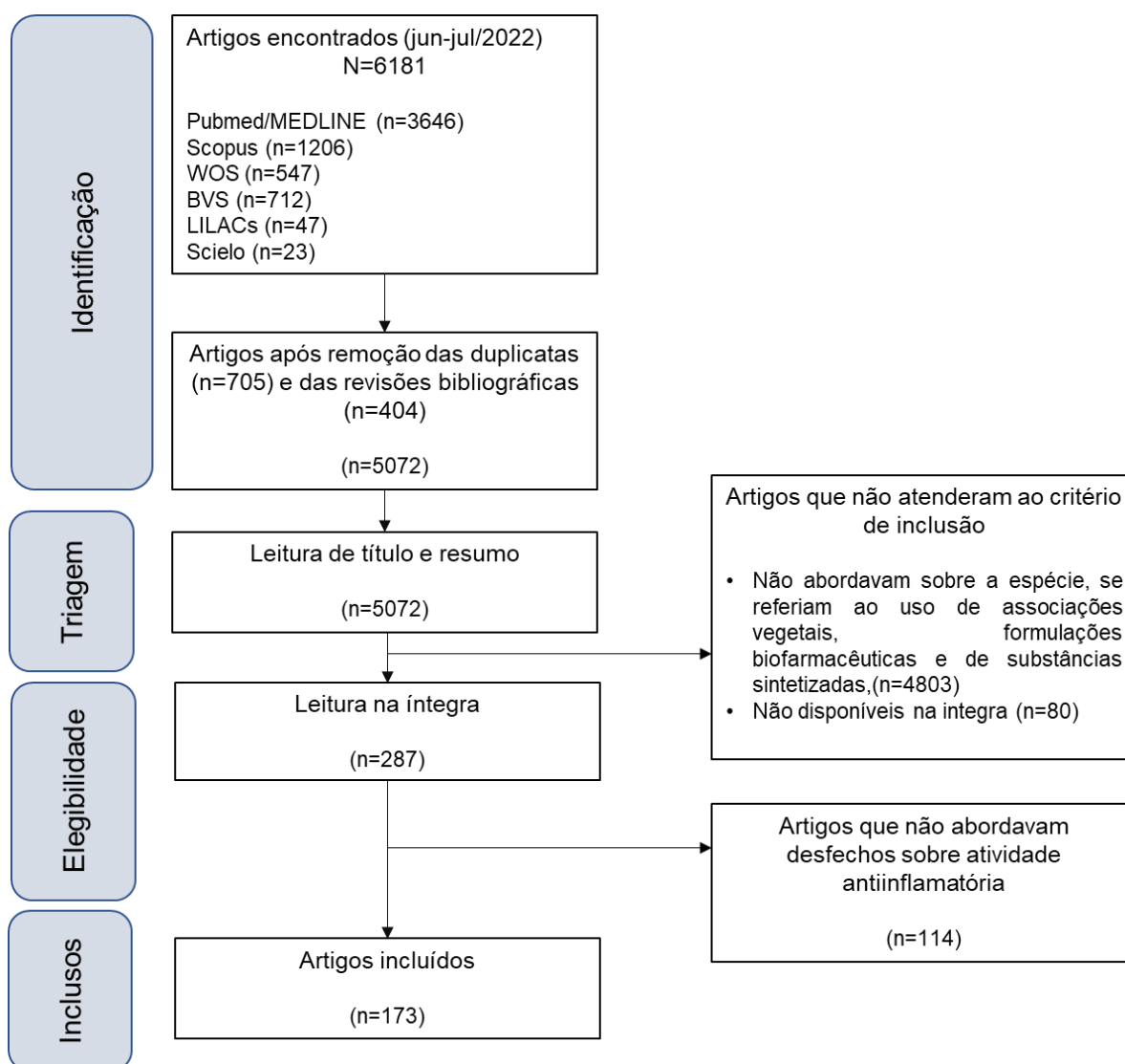


Figura 1 - Fluxograma da seleção de artigos para a revisão integrativa.

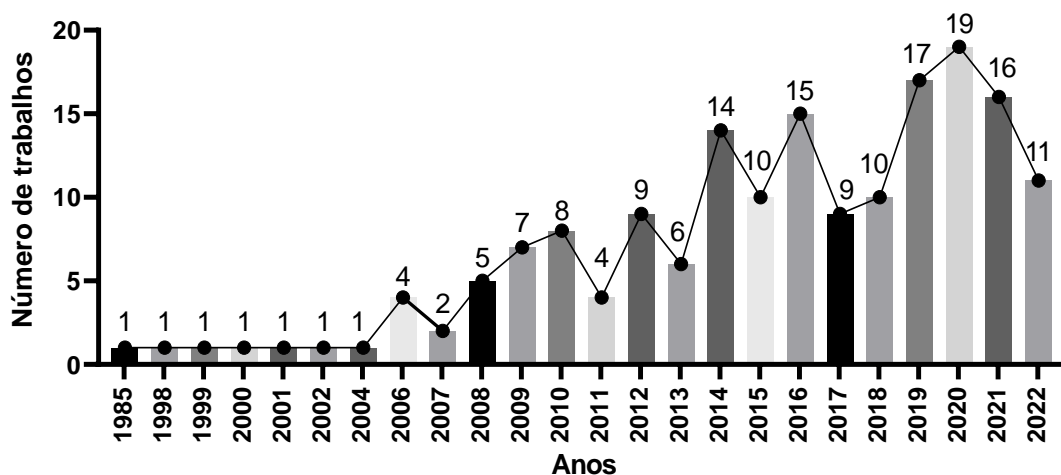
A saber, as espécies incluídas foram: *Abrus precatorius* L., *Anacardium occidentale* L., *Ananas comosus* (L.), *Annona squamosa* L., *Aristolochia trilobata* L., *Asclepias curassavica* L., *Astrocaryum aculeatum* G. Mey., *Ayapana triplinervis* (Vahl), *Boehmeria caudata* Sw., *Caesalpinia pulcherrima* (L.) Sw., *Cecropia* sp., *Cedrela odorata* L., *Ceiba pentandra* (L.) Gaertn., *Chondrodendron platyphyllum* (A. St.-Hil.)

Miers, *Davilla elliptica* A. St.-Hil., *Echinodorus macrophyllus* (Kunth) Micheli, *Euphorbia hirta* L., *Helicteres sacarolha* A. St.-Hil. A. Juss. & Cambess., *Heliotropium indicum* L., *Hymenaea courbaril* L., *Inga* sp. Mill., *Kalanchoe crenata* (Andrews) Haw., *Libidibia ferrea* (Mart. ex Tul.), *Mikania glomerata* Spreng., *Mimosa pudica* L., *Paullinia pinnata* L., *Polygonum* sp. L., *Protium heptaphyllum* (Aubl.), *Psidium guajava* L., *Rhizophora mangle* L., *Schinus molle* L., *Schinus terebinthifolia* Raddi, *Senna occidentalis* (L.) Link., *Sida rhombifolia* L., *Sonchus oleraceus* L., *Spondias mombin* L., *Spondias venulosa* (Engl.), *Urena lobata* L., *Xylopia* sp. L., *Zanthoxylum fagara* L. (dados ainda não publicados).

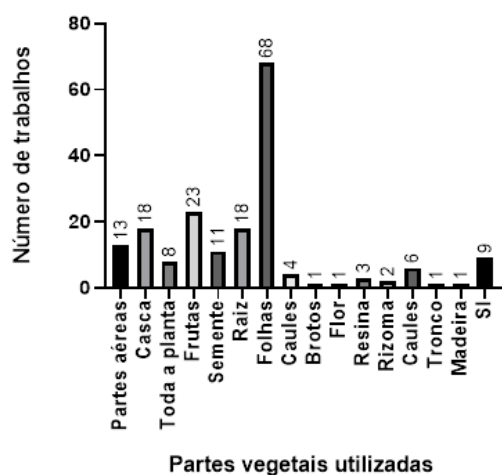
O perfil dos estudos incluídos no trabalho pode ser visualizado na **Figura 2**. Nela, é possível observar aumento das pesquisas deste nicho entre 2006 e 2009 (**Figura 2A**) as quais coincidem com os anos das normatizações nacionais de incentivo de utilização e pesquisa acerca de plantas medicinais no Brasil, respectivamente (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014). Estes fatos podem estar associados, uma vez que antes da publicação da Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) em 2006, ocorreu em 2004 a 2ª Conferência Nacional de Ciência, Tecnologia e Inovação em Saúde, com o objetivo de fomentar pesquisas nacionais acerca das práticas integrativas e complementares que iriam compor a PNPIC, estando dentre elas, a fitoterapia (FIGUEREDO; GURGEL; JUNIOR, 2014).

Ademais, em 2009, período em que é possível observar aumento dos resultados, teve-se em solo nacional que, com a grande biodiversidade inexplorada, as autoridades incitaram a importância de pesquisa com esta temática por meio da RENISUS (Relação Nacional de Plantas de Interesse do SUS), a qual apresenta 71 plantas medicinais que podem contribuir com diversas patologias e que apresentam poucos estudos. Desta forma, a partir deste feito, o número de pesquisas neste tema se ampliou no contexto nacional e hoje tem-se maior espaço para a discussão de novas espécies que podem contribuir com a saúde pública do país (DE ALMEIDA *et al.*, 2020). Ademais, outra característica detectável no perfil de trabalhos encontrados se refere a diversidade das formas extrativas, solventes extratores e das partes vegetais das drogas utilizadas, muitas vezes dificultando a comparação de dados de estudos interespecies (**Figura 2B**).

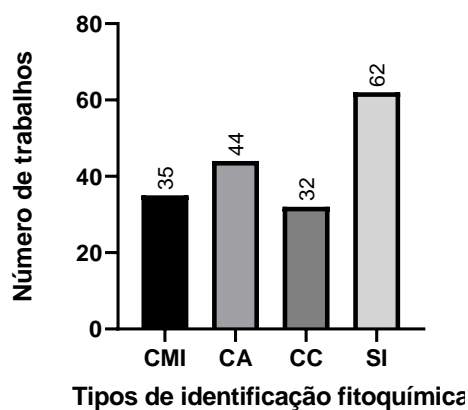
A



B



C



Legenda: CMI-Classe de metabólitos identificados, CA- Compostos anotados, CC- Compostos caracterizados, SI- Sem identificação

Figura 2 - Perfil anual (A), de partes vegetais utilizadas (B) e da elucidação fitoquímica (C) encontradas nos artigos incluídos na revisão integrativa.

De forma análoga, os resultados apresentaram elevado número de estudos sem identificação constitucional das drogas vegetais e/ou de seus marcadores, dificultando o delineamento de um perfil das substâncias bioativas com ação anti-inflamatória nas espécies (**Figura 2C**). Porém, nas análises de extratos brutos foi possível perceber elevada presença de compostos fenólicos, dos quais se destacaram flavonoides, e ácidos fenólicos além da classe de terpenóides, esquematizados na **Figura 3**. Estes achados são corroborados pela literatura, a qual é contundente acerca da diversidade

de ação dos flavonoides, incluindo ação anti-inflamatória, na regulação de citocinas, atuando de forma concisa em outras desordens que tem a inflamação como problema correlacionado, como na diabetes (PAN; LAI; HO, 2010; WANG, Z. *et al.*, 2023). De forma análoga, tem-se os ácidos fenólicos, cuja ação apresenta boa biodisponibilidade, além de serem precursores de outras classes de metabólitos especiais, com ação em doenças degenerativas cardiovasculares, inflamatórias e oncológicas, ajudando a tratar não apenas a sintomatologia do processo inflamatório como a regulação homeostática do organismo (KUMAR; GOEL, 2019).

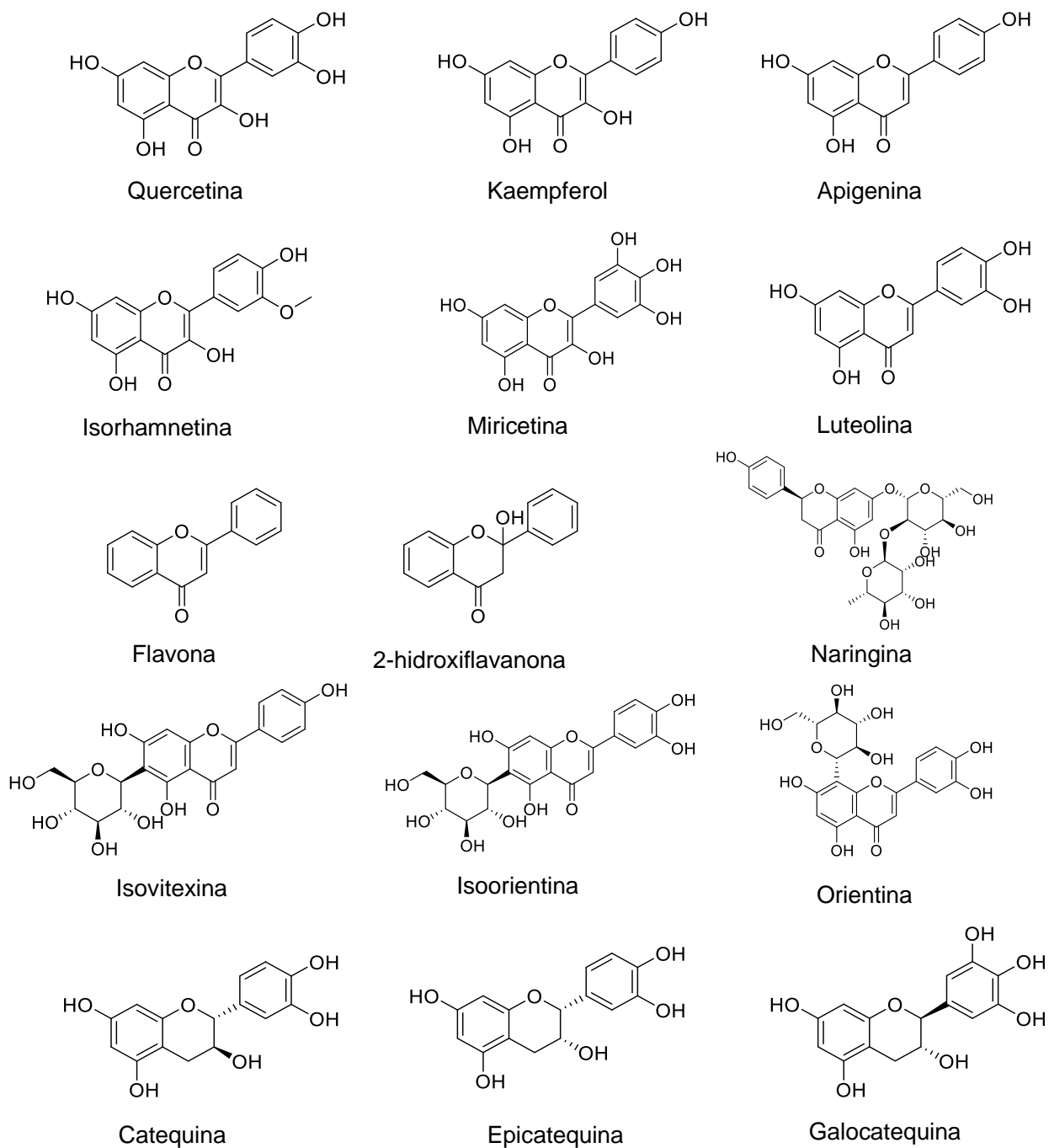


Figura 3 - Estruturas químicas dos principais flavonoides encontrados em plantas medicinais com uso etnofarmacológico para a inflamação.

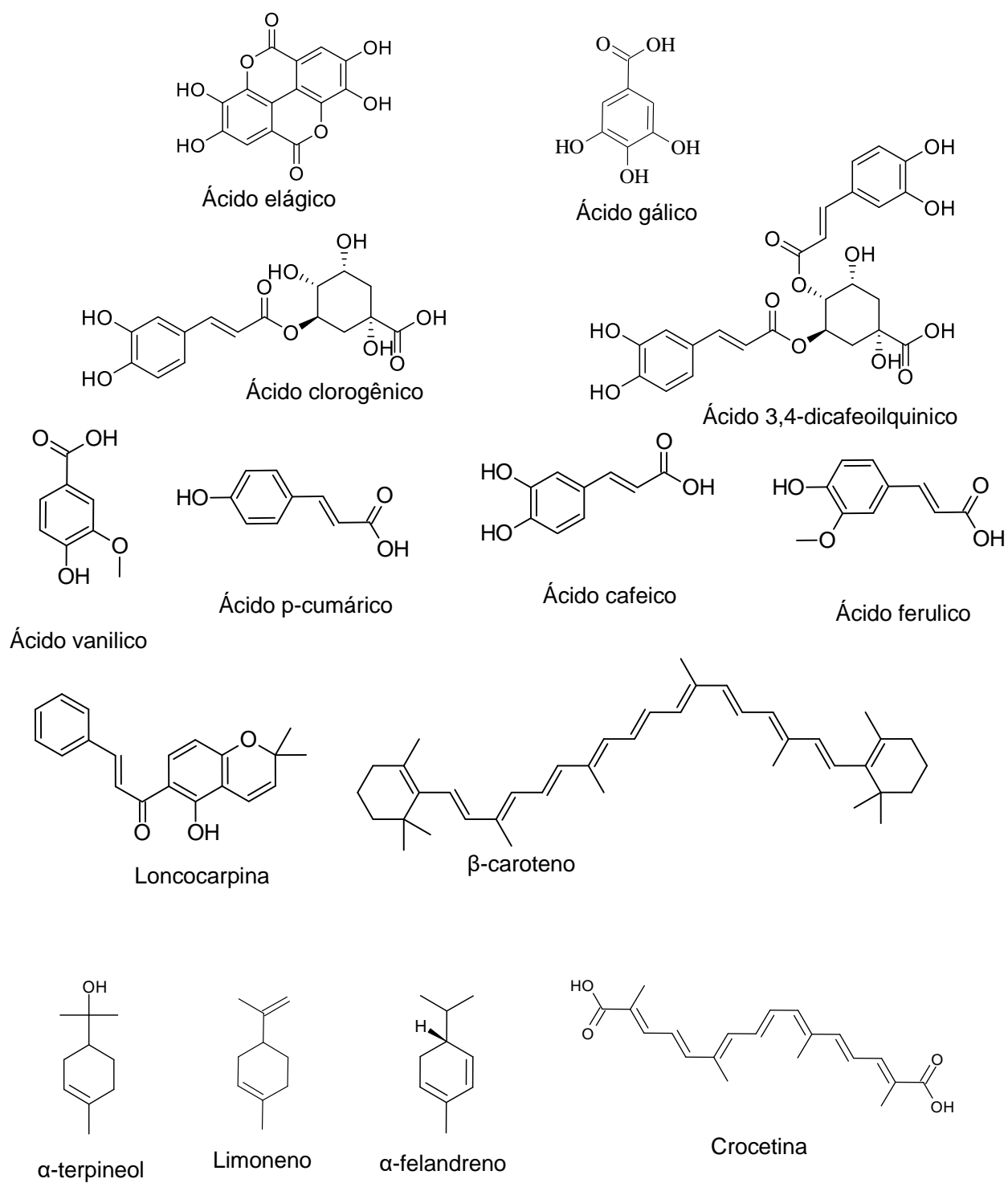


Figura 4 - Estruturas químicas dos principais ácidos fenólicos e terpenóides encontrados em plantas medicinais com uso etnofarmacológico para a inflamação.

Um dos objetivos da revisão, além do compilamento bibliográfico, foi o de identificar espécies vegetais para compor a parte experimental do presente trabalho. Para isso, todas as espécies vegetais com menor incidência de dados publicados foram localizadas quanto a disponibilidade de material vegetal em Belo Horizonte e proximidades. Dentre estas, duas espécies vegetais foram vislumbradas para escopo experimental, sendo elas: *Pouteria procera* (Mart.) K.Hammer (Abiu) e *Helicteres sacarolha* A. Juss. (Sacarolha), sendo a primeira, escolhida para prosseguimento no trabalho devido à maior disponibilidade de material vegetal. Ressalta-se que apesar da espécie *P. procera* estar identificada nos relatos do naturalista Piso (1948), o objeto de estudo selecionado foi o gênero *Pouteria* spp. devido à elevada possibilidade de erro na identificação botânica no período da anotação, haja visto a escassez de recursos de avaliação botânica disponíveis à época (ŁUCZAJ, 2010).

2.2.3. Considerações finais

Embora a biodiversidade venha se mostrando efetiva na terapêutica e como nutracêutico, nos achados do presente estudo percebeu-se a incipiência de dados de diversas espécies, além da variabilidade dos fatores experimentais (como parte da planta utilizados e solventes extratores), dificultando a comparação entre os estudos. Ademais, além da eficácia, é necessário avaliar o controle de qualidade destes produtos que chegam à população, devido a baixa fiscalização de insumos vegetais no cenário brasileiro, preocupando-se acerca da segurança e eficácia destes produtos (BRANDÃO *et al.*, 2013; INGLIS *et al.*, 2018; PALHARES *et al.*, 2021; PALHARES *et al.*, 2015).

Alertando a importância do resgate e fomento dos saberes tradicionais, a presente revisão conseguiu tabular os principais achados etnofarmacológicos das espécies relatadas no DATAPLAMT. É importante explicitar, que, como o banco de dados aborda saberes seculares, a precisão da identificação botânica das espécies é dificultosa e deve ser avaliada com cautela. Outros estudos semelhantes já haviam sido realizados, sem o aprofundamento e direcionamento etnofarmacológico aqui retratado. Em 2018, RIBEIRO *et al.* realizaram uma revisão contendo plantas brasileiras com ação anti-inflamatória, utilizando termos amplos de busca, sem seletividade nas espécies contempladas, com foco restrito aos mecanismos de ação das espécies vegetais (RIBEIRO *et al.*, 2018). Em 2005, outro trabalho foi realizado,

sem a sistematização da busca das espécies e conseguiu como retorno poucos estudos das espécies, os quais demandam atualizações devido a passagem das décadas (FALCÃO *et al.*, 2005). Desta forma, pela primeira vez fez-se uma pesquisa sistematizada, desta abrangência, sob a perspectiva do aspecto etnofarmacológico da biodiversidade brasileira, servindo como fomento para outros estudos elucidarem as lacunas das espécies presentes nos achados.

2.3. Gênero *Pouteria* sp.

O gênero *Pouteria* (**Figura 5**) se encontra dentro da família taxonômica Sapotaceae a qual se refere a um grupo de angiospermas, com mais de 53 gêneros e ampla distribuição no continente asiático e na América do Sul (BAKY; ELSAID; FARAG, 2022; SWENSON; ANDERBERG, 2005). Suas características botânicas, embora sejam diversas, englobam presença de látex nas partes vegetais aéreas, com as folhas sendo majoritariamente alternas e, suas flores, um rico recurso para diferenciação das espécies, as quais sempre apresentam os estames opostos aos lobos da corola floral (RAKOTONIAINA *et al.*, 2018; SWENSON; ANDERBERG, 2005). Contudo, apesar da possível distinção botânica, análises robustas, como aplicação de técnicas de DNA *barcoding* já estão sendo empregadas e elucidadas para diferenciação de algumas espécies em alguns gêneros da família Sapotaceae (VIVAS *et al.*, 2014).

Dentro da família, o gênero *Pouteria* spp. se destaca por sua aplicação econômica e medicinal (SILVA; SIMEONI; SILVEIRA, 2009). Em 1911, por meio de características morfológicas foram incluídas no gênero 325 espécies, das quais poucas elucidadas botânicas, e biofarmacêuticas são encontradas (TRIONO *et al.*, 2007). As aplicabilidades por povos originários contemplam nutrição, construção civil, analgesias e inflamações (CORRÊA, 1909; MARTIUS, 1909; PISO, 1948; WALLACE, 1979), além de utilização popular para tratamento da malária, facilitador de produção de leite materno, redução de febre e resolução de problemas gastrointestinais (FRANCA *et al.*, 2016; JÚNIOR, 2004; MANOSROI; SARAPHANCHOTIWITTHAYA; MANOSROI, 2005; SILVA *et al.*, 2010).

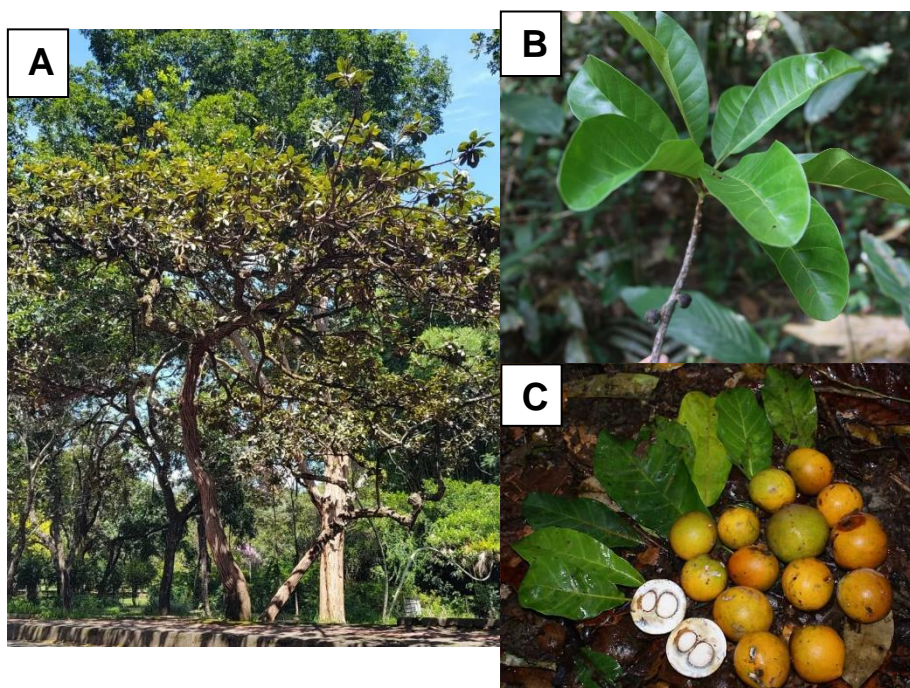


Figura 5 - Indivíduo de *Pouteria torta* (Mart.) Radlk na Fundação de Parques Municipais e Zoobotânica de Belo Horizonte (A), folhas (B) e frutos (C) de *Pouteria guianensis* (Aubl.).

Figura A de acervo pessoal e figuras B e C disponíveis em:
<https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:788972-1/images>

Apesar de seu elevado potencial de aplicabilidade fitoquímico e farmacológico, a última revisão de elevada abrangência do gênero foi realizada em 2009, demandando atualização dos estudos encontrados, haja vista o avanço de estudos do gênero na última década (SILVA; SIMEONI; SILVEIRA, 2009). Desta forma, o levantamento bibliográfico do gênero foi realizado por uma sumarização de ampla abrangência na literatura recente das evidências fitoquímicas e de potenciais atividades biológicas do gênero *Pouteria*.

2.3.1. Metodologia

Foi realizada busca irrestrita em diversas bases de dados, utilizando como fator limitante apenas a data de publicação (jan/2009 a ago/2022). Para tal, utilizou-se como descritor de busca o gênero “*Pouteria*” nas bases de dados: *Pubmed/Medline*, *SciELO*, *Science Direct*, *SciFinder*, *Scopus*, *Web Of Science*, *Springer Link* e *BVS*. Esta revisão incluiu artigos em inglês, português e espanhol, que estiveram disponíveis na íntegra e que abordassem de forma clara descobertas constitucionais, fitoquímicas e

de atividades farmacológicas (*in vitro* ou *in vivo*) de qualquer espécie do gênero *Pouteria*. Não foram inclusos estudos que não estivessem disponíveis na íntegra para leitura, que fossem de abordagem botânica e que não apresentassem identificação das espécies trabalhadas.

Os nomes científicos das espécies incluídas no estudo e sua distribuição mundial foram confirmados pelo *International Plant Names Index* (INTERNATIONAL PLANT NAMES INDEX, 2023), pelo *The World Flora Online* (THE WORLD FLORA ONLINE, 2023) e pelo *Royal Botanic Gardens Kew* (ROYAL BOTANIC GARDENS KEW, 2023).

2.3.2. Resultados e discussão

Como resultado da pesquisa foram encontrados 1955 artigos, dos quais 102 foram incluídos na revisão após os critérios de seleção (**Figura 6**). Destes, foram encontrados dados de 17 espécies, as quais os nomes científicos e sua distribuição geográfica mais comumente encontrada pode ser visualizada na **Tabela 1**.

2.3.2.1. Fitoquímica

O estudo fitoquímico do gênero retornou vasto número de achados, das quais pode-se ressaltar os terpenoides, flavonoides, saponinas, fenólicos e alcaloides com 178 substâncias isoladas, caracterizadas e/ou identificadas por técnicas instrumentais. Os estudos foram conduzidos majoritariamente com os frutos do gênero, os quais muito se expandiram desde os resultados de revisão que precederam a pesquisa (SILVA; SIMEONI; SILVEIRA, 2009). Destas ressalta-se a importância no gênero desta parte vegetal, haja vista que sua utilização etnofarmacológica é predominantemente como nutracêutico, com rico potencial bioativo em seus constituintes primários (MARZUKI; HAMID; WAHAB, 2018) (**Tabela 2**).

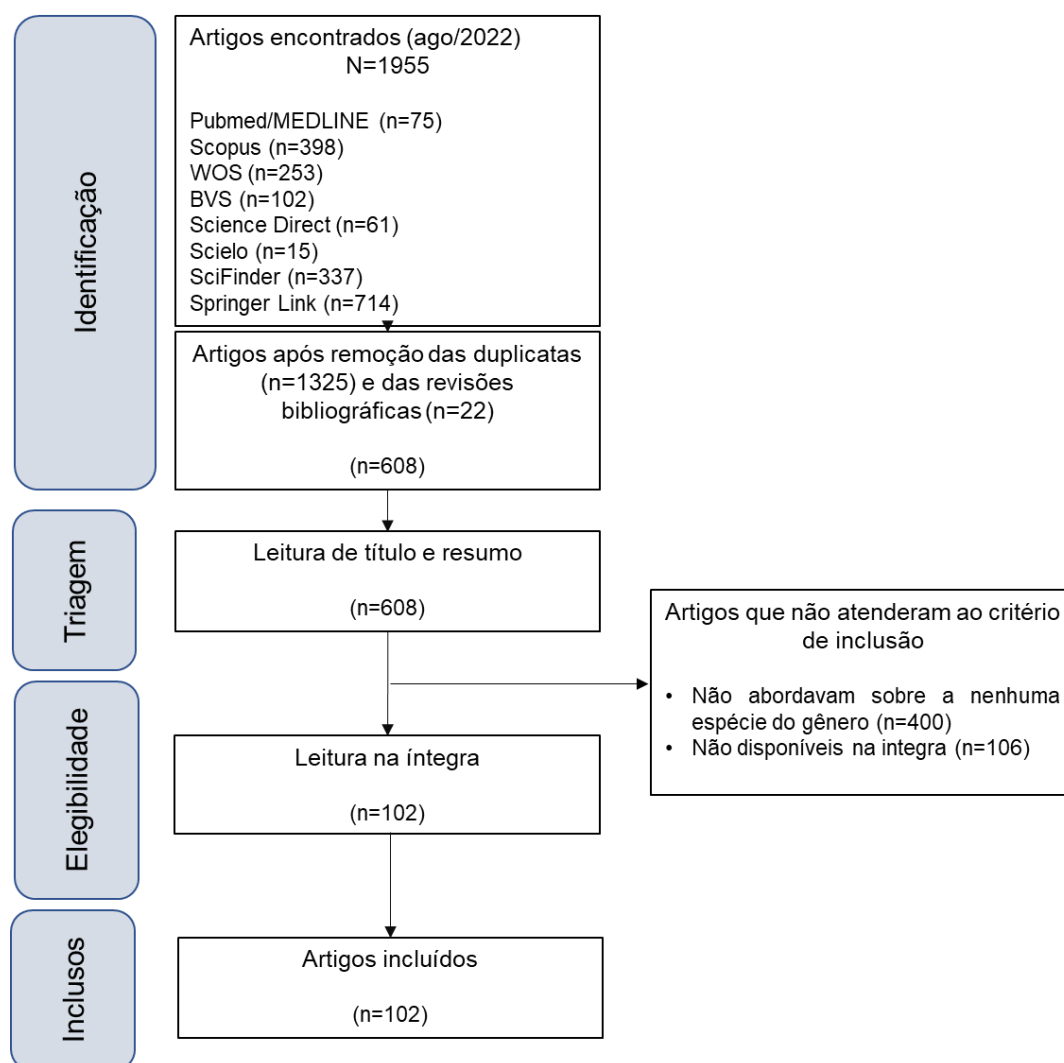


Figura 6 - Fluxograma da seleção de artigos para a revisão do gênero *Pouteria* sp.

Tabela 1 - Espécies do gênero *Pouteria* incluídas no estudo (“*Pouteria* Aubl. | Plants of the World Online | Kew Science”, 2023)

Espécie	Ano de descoberta	Distribuição geográfica
<i>P. alnifolia</i> (Baker) Roberty	1891	Benin, Burkina, Camarões, República Centro-Africana, Chade, Congo, Etiópia, Gâmbia, Gana, Guiné, Guiné-Bissau, Costa do Marfim, Quênia, Libéria, Mali, Moçambique, Nigéria, Senegal, Sudão, Tanzânia e Togo
<i>P. caimito</i> (Ruiz & Pav.) Radlk.	1882	Bolívia, Brasil, Colômbia, Costa Rica, Ecuador, Guiana Francesa, Guiana, Nicarágua, Panamá, Peru, Suriname, Trinidad-Tobago e Venezuela
<i>P. campechiana</i> (Kunth) Baehni	1942	Belize, Costa Rica, El Salvador, Guatemala, Honduras, diversas regiões do México, incluindo o Golfo do México, Nicarágua e Panamá
<i>P. elegans</i> (A.DC.) Baehni	1942	Belize, Costa Rica, El Salvador, Guatemala, Honduras, diversas regiões do México, incluindo o Golfo do México, Nicarágua e Panamá
<i>P. gardneri</i> (Mart. & Eichler) Baehni	1942	Bolívia, Brasil e Paraguai
<i>P. gardneriana</i> (A.DC.) Radlk.	1882	Argentina, Bolívia, Brasil, Paraguai e Uruguai
<i>P. glomerata</i> (Miq.) Radlk.	1882	Argentina, Bolívia, Bolívia, Brasil, Colômbia, Costa Rica, Equador, El Salvador, Guiana Francesa, Guatemala, Guiana, Honduras, México, Panamá, Paraguai, Peru, Suriname e Venezuela
<i>P. lucuma</i> (Ruiz & Pav.) Kuntze	1898	Bolívia, Chile, Colômbia, Equador e Peru
<i>P. macahensis</i> T.D.Penn.	1990	Brasil
<i>P. macrophylla</i> (Lam.) Eyma	1936	Bolívia, Brasil, Colômbia, Guiana Francesa, Peru e Suriname
<i>P. malaccensis</i> (C.B.Clarke) Baehni	1942	Bornéu, Malásia, Nova Guiné, Sulawesi, Sumatra e Tailândia
<i>P. nuda</i> Baehni	1972	Brasil, Suriname e Venezuela
<i>P. obovata</i> (R.Br.) Baehni	1890	Ilhas Andamão, Bangladesh, Bornéu, Camboja, Ilhas Carolinas, Hainan, Java, Kazan-retto, Ilhas Sunda Menores, Malásia, Maluku, Marianas, Nansei-shoto, Nova Guiné, Ilhas Nicobar, Ogasawara-shoto, Paquistão, Filipinas, Queensland, Ilhas Santa Cruz, Seychelles, Ilhas Salomão, Sulawesi, Sumatra, Taiwan, Tailândia e Vietnã
<i>P. ramiflora</i> (Mart.) Radlk.	1882	Bolívia, Brasil e Paraguai
<i>P. sapota</i> (Jacq.) H.E.Moore & Stearn	1967	Belize, Costa Rica, El Salvador, Guatemala, Honduras, México, Nicarágua e Panamá
<i>P. torta</i> (Mart.) Radlk.	1882	Belize, Bolívia, Brasil, Colômbia, Costa Rica, Equador, Guiana Francesa, Guatemala, Honduras, México, Nicarágua, Panamá, Paraguai e Peru
<i>P. venosa</i> (Mart.) Baehni	1942	Brasil, Colômbia, Guiana Francesa, Guiana, Suriname, Venezuela

Tabela 2 - Metabólitos identificados no gênero *Pouteria* sp.

Nº	Nome	Parte vegetal	Espécie	Referências
1	(+)-espatulenol	Folha	<i>P. malaccensis</i>	(SARDANS <i>et al.</i> , 2015)
2	(9'Z)-neoxantina	Fruto	<i>P. sapota</i>	(CACCIOLA <i>et al.</i> , 2016)
3	(E)- β -cariofileno	Fruto	<i>P. glomerata</i>	(PINO <i>et al.</i> , 2017)
		Fruto	<i>P. glomerata</i>	(PINO <i>et al.</i> , 2017)
4	(E)- β -damascenona	Fruto	<i>P. sapota</i>	(MARTÍN; OSORIO, 2019; RODRÍGUEZ <i>et al.</i> , 2018)
5	(E)- γ -bisaboleno	Fruto	<i>P. glomerata</i>	(PINO <i>et al.</i> , 2017)
6	(Z)- γ -bisaboleno	Fruto	<i>P. glomerata</i>	(PINO <i>et al.</i> , 2017)
7	3'-deoxicapsantina	Fruto	<i>P. sapota</i>	(CACCIOLA <i>et al.</i> , 2016; GULYÁS-FEKETE <i>et al.</i> , 2013; MURILLO <i>et al.</i> , 2016, 2020; TURCSI <i>et al.</i> , 2015)
		Fruto	<i>P. sapota</i>	CACCIOLA <i>et al.</i> , 2016
8	3'-deoxicapsorubina	Fruto	<i>P. sapota</i>	MURILLO <i>et al.</i> , 2016, 2020
9	4-terpineol	Fruto	<i>P. sapota</i>	(RODRÍGUEZ <i>et al.</i> , 2018)
10	5,6-epóxido de capsantina	Fruto	<i>P. sapota</i>	MURILLO <i>et al.</i> , 2016, 2020; TURCSI <i>et al.</i> , 2015
		Fruto	<i>P. sapota</i>	(MURILLO <i>et al.</i> , 2016, 2020)
11	5,6-epóxido de criptocapsina	Fruto	<i>P. sapota</i>	(MURILLO <i>et al.</i> , 2016, 2020)
12	5,8-epóxido de criptocapsina	Fruto	<i>P. sapota</i>	(MURILLO <i>et al.</i> , 2016, 2020)
13	5S,8R,5'R-sapotexantina 5,8 epóxido	Fruto	<i>P. sapota</i>	(MURILLO <i>et al.</i> , 2020)
14	5S,8S,5'R-sapotexantina 5,8 epóxido	Fruto	<i>P. sapota</i>	(MURILLO <i>et al.</i> , 2020)
15	8-isopropanil-1,5-dimetil- ciclodeca-1,5-dieno	Folha	<i>P. maleccensis</i>	(SARDANS <i>et al.</i> , 2015)
16	9'-cis-luteína	Fruto e folha	<i>P. campechiana</i>	(AGUILAR-GALVEZ <i>et al.</i> , 2021)
17	9'-cis- β -caroteno	Fruto	<i>P. sapota</i>	(AGUILAR-GALVEZ <i>et al.</i> , 2021)
18	9-cis- β -criptoxantina	Fruto	<i>P. sapota</i>	(AGUILAR-GALVEZ <i>et al.</i> , 2021)
		Fruto	<i>P. sapota</i>	(MOO-HUCHIN <i>et al.</i> , 2014)
		Fruto	<i>P. macrophylla</i>	(CHAVES <i>et al.</i> , 2020)
		Fruto	<i>P. lucuma</i>	(AGUILAR-GALVEZ <i>et al.</i> , 2021)
		Fruto	<i>P. ramiflora</i>	(BORGES <i>et al.</i> , 2022)
19	ácido ascórbico (vit. C)	Fruto	<i>P. campechiana</i>	(NUR <i>et al.</i> , 2022)
		Fruto	<i>P. gardeneriana</i>	(SOARES <i>et al.</i> , 2022)
		Frutos	<i>P. glomerata</i>	(PINO <i>et al.</i> , 2017)
20	alo-aromadendreno	Frutos	<i>P. glomerata</i>	(PINO <i>et al.</i> , 2017)
21	anteraxantina	Fruto	<i>P. campechiana</i>	(COSTA <i>et al.</i> , 2010)

Tabela 2- Continuação

Nº	Nome	Parte vegetal	Espécie	Referências
22	aromadendreno	Fruto	<i>P. glomerata</i>	(PINO <i>et al.</i> , 2017)
23	bicyclo-4,4,0-dec-1-ene-2-isopropyl-5-methyl-9-methylene	Folha	<i>P. malaccensis</i>	(SARDANS <i>et al.</i> , 2015)
24	cadaleno	Fruto	<i>P. sapota</i>	(MARTÍN; OSORIO, 2019; RODRÍGUEZ <i>et al.</i> , 2018)
25	calendino	Folhas e Fruto	<i>P. campechiana</i>	(PAI; SHENOY, 2020)
26	capsantina-5,6-epóxido	Fruto	<i>P. sapota</i>	(CACCIOLA <i>et al.</i> , 2016; CHACÓN-ORDÓÑEZ <i>et al.</i> , 2017)
27	capsoneoxantina	Fruto	<i>P. sapota</i>	(AGÓCS <i>et al.</i> , 2018; CACCIOLA <i>et al.</i> , 2016; MURILLO <i>et al.</i> , 2016)
		Polpa e semente	<i>P. campechiana</i>	(CHACÓN-ORDÓÑEZ <i>et al.</i> , 2017; MURILLO <i>et al.</i> , 2011, 2013, 2016, 2020)
28	cedrol	Fruto	<i>P. sapota</i>	(MARTÍN; OSORIO, 2019; RODRÍGUEZ <i>et al.</i> , 2018)
		Fruto	<i>P. sapota</i>	(MARTÍN; OSORIO, 2019; RODRÍGUEZ <i>et al.</i> , 2018)
29	cis- ζ -caroteno	Fruto	<i>P. campechiana</i>	(COSTA <i>et al.</i> , 2010)
		Fruto	<i>P. sapota</i>	(GULYÁS-FEKETE <i>et al.</i> , 2013) 44–50
30	criptocapsina	Fruto	<i>P. sapota</i>	(CACCIOLA <i>et al.</i> , 2016; CHACÓN-ORDÓÑEZ <i>et al.</i> , 2017; GULYÁS-FEKETE <i>et al.</i> , 2013; LAKEY-BEITIA <i>et al.</i> , 2017; MURILLO <i>et al.</i> , 2013, 2016, 2020; TURCSI <i>et al.</i> , 2015)
31	diepóxido de 5,6,5',8'- β -caroteno	Fruto	<i>P. sapota</i>	(CHACÓN-ORDÓÑEZ <i>et al.</i> , 2017)
32	di-hidroactinidiolideo	Frutos	<i>P. sapota</i>	(MARTÍN; OSORIO, 2019; RODRÍGUEZ <i>et al.</i> , 2018)
33	dióxido de β -criptoxantina-5,6, 5',8'	Fruto	<i>P. sapota</i>	(GULYÁS-FEKETE <i>et al.</i> , 2013)
34	dióxido de β -criptoxantina-5,6,5',6'	Fruto	<i>P. sapota</i>	(GULYÁS-FEKETE <i>et al.</i> , 2013)
35	epóxido de 5,8- β -caroteno	Fruto	<i>P. sapota</i>	(CACCIOLA <i>et al.</i> , 2016)
36	epóxido de 5-6-luteína	Fruto e folha	<i>P. campechiana</i>	(YAHIA; GUTIÉRREZ-OROZCO; ARVIZU-DE LEON, 2011)
37	E- α -bergamoteno	Folha	<i>P. malaccensis</i>	(SARDANS <i>et al.</i> , 2015)
38	fitoflueno	Fruto	<i>P. campechiana</i>	(COSTA <i>et al.</i> , 2010)
39	funebreno	Fruto	<i>P. elegans</i>	(AGUIAR <i>et al.</i> , 2019)
40	germacreno D	Folha	<i>P. malaccensis</i>	(SARDANS <i>et al.</i> , 2015)

Tabela 2- Continuação

Nº	Nome	Parte vegetal	Espécie	Referências
41	iso-mentol	Fruto	<i>P. elegans</i>	(AGUIAR <i>et al.</i> , 2019)
42	kaur-16-eno	Folha e fruto	<i>P. campechiana</i>	(PAI; SHENOY, 2020)
43	limoneno	Fruto	<i>P. glomerata</i>	(PINO <i>et al.</i> , 2017)
44	linalool	Fruto	<i>P. elegans</i>	(AGUIAR <i>et al.</i> , 2019)
45	luteina	Fruto e folha	<i>P. campechiana</i>	(AGUILAR-GALVEZ <i>et al.</i> , 2021; EVANGELISTA-LOZANO <i>et al.</i> , 2021; FUENTEALBA <i>et al.</i> , 2016; YAHIA; GUTIÉRREZ-OROZCO; ARVIZU-DE LEON, 2011)
46	luteoxantina	Fruto	<i>P. sapota</i>	(CACCIOLA <i>et al.</i> , 2016; CHACÓN-ORDÓÑEZ <i>et al.</i> , 2017; MURILLO <i>et al.</i> , 2016)
		Fruto	<i>P. sapota</i>	(ARIF <i>et al.</i> 2022; GUERRERO-CASTILLO <i>et al.</i> , 2021, PINO <i>et al.</i> , 2017)
47	neoxantina	Fruto	<i>P. lucuma</i>	(AGUILAR-GALVEZ <i>et al.</i> , 2021)
		Fruto	<i>P. sapota</i>	(CACCIOLA <i>et al.</i> , 2016)
		Fruto	<i>P. lucuma</i>	(AGUILAR-GALVEZ <i>et al.</i> , 2021; FUENTEALBA <i>et al.</i> , 2016)
48	nopinona	Fruto	<i>P. elegans</i>	(AGUIAR <i>et al.</i> , 2019)
		Fruto	<i>P. sapota</i>	(CACCIOLA <i>et al.</i> , 2016; CHACÓN-ORDÓÑEZ <i>et al.</i> , 2017; MURILLO <i>et al.</i> , 2011, 2013, 2016, 2020)
49	sapotexantina	Polpa e semente	<i>P. campechiana</i>	(CACCIOLA <i>et al.</i> , 2016; CHACÓN-ORDÓÑEZ <i>et al.</i> , 2017; MURILLO <i>et al.</i> , 2011, 2013, 2016, 2020)
50	sapotexantina 5,6-epóxido	Fruto	<i>P. sapota</i>	(MURILLO <i>et al.</i> , 2020)
51	selina-3,7(11)-diene	Folha	<i>P. malaccensis</i>	(SARDANS <i>et al.</i> , 2015)
52	thujopseno	Fruto	<i>P. sapota</i>	(MARTÍN; OSORIO, 2019; RODRÍGUEZ <i>et al.</i> , 2018)
53	trans-linalool oxido piranoide	Fruto	<i>P. sapota</i>	(MARTÍN; OSORIO, 2019; RODRÍGUEZ <i>et al.</i> , 2018)
54	trans-violaxantina	Polpa e semente	<i>P. campechiana</i>	(COSTA <i>et al.</i> , 2010)
55	trans- α -bergamoteno	Fruto	<i>P. glomerata</i>	(PINO <i>et al.</i> , 2017)
		Folha	<i>P. malaccensis</i>	(SARDANS <i>et al.</i> , 2015)
56	trans- ζ -caroteno	Fruto	<i>P. campechiana</i>	(COSTA <i>et al.</i> , 2010)

Tabela 2- Continuação

Nº	Nome	Parte vegetal	Espécie	Referências
57	violaxantina	Fruto	<i>P. sapota</i>	(CHACÓN-ORDÓÑEZ <i>et al.</i> , 2017; MURILLO <i>et al.</i> , 2016)
		Fruto	<i>P. lucuma</i>	(AGUILAR-GALVEZ <i>et al.</i> , 2021)
		Fruto	<i>P. campechiana</i>	(COSTA <i>et al.</i> , 2010; EVANGELISTA-LOZANO <i>et al.</i> , 2021)
		Fruto	<i>P. sapota</i>	(CACCIOLA <i>et al.</i> , 2016)
		Fruto	<i>P. lucuma</i>	(AGUILAR-GALVEZ <i>et al.</i> , 2021)
		Fruto	<i>P. campechiana</i>	(EVANGELISTA-LOZANO <i>et al.</i> , 2021)
58	vitamina A	Casca e polpa	<i>P. campechiana</i>	(NUR <i>et al.</i> , 2022)
59	zeaxantina	Fruto	<i>P. campechiana</i>	(MURILLO; MELÉNDEZ-MARTÍNEZ; PORTUGAL, 2010)
60	α - bisaboleno	Fruto	<i>P. glomerata</i>	(PINO <i>et al.</i> , 2017)
61	α -bisabolol	Fruto	<i>P. glomerata</i>	(PINO <i>et al.</i> , 2017)
62	α -cariofileno	Folha	<i>P. malaccensis</i>	(SARDANS <i>et al.</i> , 2015)
63	α -cedreno	Fruto	<i>P. sapota</i>	(MARTÍN; OSORIO, 2019; RODRÍGUEZ <i>et al.</i> , 2018)
64	α -copaeno	Fruto	<i>P. sapota</i>	(MARTÍN; OSORIO, 2019; RODRÍGUEZ <i>et al.</i> , 2018)
65	α -cubebeno	Folha	<i>P. malaccensis</i>	(SARDANS <i>et al.</i> , 2015)
66	α -pineno	Fruto	<i>P. elegans</i>	(AGUIAR <i>et al.</i> , 2019)
67	α -terpineol	Semente	<i>P. lucuma</i>	(GUERRERO-CASTILLO <i>et al.</i> , 2021)
		Fruto	<i>P. sapota</i>	YAHIA; GUTIÉRREZ-OROZCO; ARVIZU-DE LEON, 2011
		Fruto	<i>P. ramiflora</i>	BORGES <i>et al.</i> , 2022
68	α -tocoferol	Fruto e semente	<i>P. lucuma</i>	AGUILAR-GALVEZ <i>et al.</i> , 2021; GUERRERO-CASTILLO <i>et al.</i> , 2021
		Fruto	<i>P. glomerata</i>	(PINO <i>et al.</i> , 2017)
		Fruto	<i>P. glomerata</i>	(PINO <i>et al.</i> , 2017)
69	β -bisaboleno	Folha	<i>P. malaccensis</i>	(SARDANS <i>et al.</i> , 2015)
		Folha	<i>P. malaccensis</i>	(SARDANS <i>et al.</i> , 2015)
70	β -bourboneno	Folha	<i>P. malaccensis</i>	(SARDANS <i>et al.</i> , 2015)
71	β -cadineno	Fruto	<i>P. sapota</i>	(MARTÍN; OSORIO, 2019; RODRÍGUEZ <i>et al.</i> , 2018)
72	β -cariofileno	Fruto	<i>P. glomerata</i>	(PINO <i>et al.</i> , 2017)
		Fruto	<i>P. sapota</i>	(MURILLO <i>et al.</i> , 2013, 2016; YAHIA; GUTIÉRREZ-OROZCO; ARVIZU-DE LEON, 2011)
		Fruto	<i>P. sapota</i>	(AGUILAR-GALVEZ <i>et al.</i> , 2021; FUENTEALBA <i>et al.</i> , 2016)
73	β -caroteno	Fruto	<i>P. lucuma</i>	(AGUILAR-GALVEZ <i>et al.</i> , 2021; FUENTEALBA <i>et al.</i> , 2016)
		Fruto	<i>P. campechiana</i>	(EVANGELISTA-LOZANO <i>et al.</i> , 2021)
74	β -citroneleno	Fruto	<i>P. elegans</i>	(AGUIAR <i>et al.</i> , 2019)

Tabela 2- Continuação

Nº	Nome	Parte vegetal	Espécie	Referências
75	β -criptoxantina-5,6-epóxido	Fruto	<i>P. sapota</i>	(MURILLO <i>et al.</i> , 2013)
76	β -gurjuneno	Fruto	<i>P. elegans</i>	(AGUIAR <i>et al.</i> , 2019)
77	β -lonona	Fruto	<i>P. sapota</i>	(MARTÍN; OSORIO, 2019; RODRÍGUEZ <i>et al.</i> , 2018)
78	β -selineno	Folha	<i>P. malaccensis</i>	(SARDANS <i>et al.</i> , 2015)
79	β -zeacaroteno	Fruto	<i>P. sapota</i>	(CACCIOLA <i>et al.</i> , 2016)
80	Γ -cadineno	Folha	<i>P. malaccensis</i>	(SARDANS <i>et al.</i> , 2015)
81	Δ -3-careno	Fruto	<i>P. elegans</i>	(AGUIAR <i>et al.</i> , 2019)
82	Δ -cadineno	Fruto	<i>P. sapota</i>	(MARTÍN; OSORIO, 2019; RODRÍGUEZ <i>et al.</i> , 2018)
83	ácido protocatecuico	Fruto	<i>P. sapota</i>	(TORRES-RODRÍGUEZ <i>et al.</i> , 2011)
84	apigenina	Folha e semente	<i>P. campechiana</i>	(ELSAYED <i>et al.</i> , 2016)
		Fruto	<i>P. caimito</i>	(FARIA <i>et al.</i> , 2021)
85	catequina	Folha e Fruto	<i>P. torta</i>	(SOUZA <i>et al.</i> , 2012; DE SALES <i>et al.</i> , 2017)
		Fruto	<i>P. sapota</i>	(TORRES-RODRÍGUEZ <i>et al.</i> , 2011)
		Fruto	<i>P. gardneriana</i>	(MALTA <i>et al.</i> , 2013)
86	chalcona do eriodictiol	Semente	<i>P. lucuma</i>	(GUERRERO-CASTILLO <i>et al.</i> , 2019)
87	desoxihexósido de quercetina	Fruto	<i>P. macrophylla</i>	(GORDON <i>et al.</i> , 2011)
88	digaloil(epi)galocatequina	Fruto	<i>P. macrophylla</i>	(GORDON <i>et al.</i> , 2011)
89	di-hidroquercetina	Fruto	<i>P. macrophylla</i>	(GORDON <i>et al.</i> , 2011)
90	dímero de epicatequina/catequina	Semente	<i>P. lucuma</i>	(GUERRERO-CASTILLO <i>et al.</i> , 2019)
		Folhas e Fruto	<i>P. torta</i>	(SOUZA <i>et al.</i> , 2012; DE SALES <i>et al.</i> , 2017)
91	epicatequina	Fruto	<i>P. sapota</i>	TORRES-RODRÍGUEZ <i>et al.</i> , 2011
		Fruto	<i>P. gardneriana</i>	MALTA <i>et al.</i> , 2013
		Semente	<i>P. lucuma</i>	GUERRERO-CASTILLO <i>et al.</i> , 2019
92	epigalocatequina	Fruto	<i>P. gardneriana</i>	(MALTA <i>et al.</i> , 2013)
93	epigalocatequina-3-O-galato	Semente	<i>P. lucuma</i>	(GUERRERO-CASTILLO <i>et al.</i> , 2019)
94	eridictiol			
95	galocatequin-3-galato	Fruto	<i>P. sapota</i>	(TORRES-RODRÍGUEZ <i>et al.</i> , 2011)
96	galoil(epi)galocatequina	Fruto	<i>P. macrophylla</i>	(GORDON <i>et al.</i> , 2011)
97	isoquercitrina	Folha	<i>P. torta</i>	(SOUZA <i>et al.</i> , 2012)

Tabela 2- Continuação

Nº	Nome	Parte vegetal	Espécie	Referências
98	miricetina	Fruto	<i>P. macrophylla</i>	(GORDON <i>et al.</i> , 2011)
		Semente	<i>P. lucuma</i>	(GUERRERO-CASTILLO <i>et al.</i> , 2019)
		Folhas e semente	<i>P. campechiana</i>	(ELSAYED <i>et al.</i> , 2016)
99	miricetina-3-O- α -L-ramnosídeo	Folhas e semente	<i>P. campechiana</i>	(ELSAYED <i>et al.</i> , 2016)
100	miricitrina	Fruto	<i>P. caimito</i>	(FARIA <i>et al.</i> , 2021)
		Folha	<i>P. torta</i>	(SOUZA <i>et al.</i> , 2012)
101	narigenina	Semente	<i>P. lucuma</i>	(GUERRERO-CASTILLO <i>et al.</i> , 2019)
101		Semente	<i>P. lucuma</i>	(GUERRERO-CASTILLO <i>et al.</i> , 2019)
102	quercetina	Fruto	<i>P. sapota</i>	(KAMALAKANNAN; RAYAR; MEGALA, 2016)
		Fruto	<i>P. macrophylla</i>	(GORDON <i>et al.</i> , 2011)
		Fruto	<i>P. caimito</i>	(FARIA <i>et al.</i> , 2021)
103	rutina	Semente	<i>P. lucuma</i>	(GUERRERO-CASTILLO <i>et al.</i> , 2019)
104		Fruto	<i>P. sapota</i>	(SATHISHKUMAR <i>et al.</i> , 2011)
105	taxifolina	Semente	<i>P. lucuma</i>	(GUERRERO-CASTILLO <i>et al.</i> , 2019)
106	vitexina	Semente	<i>P. lucuma</i>	(GUERRERO-CASTILLO <i>et al.</i> , 2019)
107	12-dien-28-óico	Folha	<i>P. campechiana</i>	(REN <i>et al.</i> , 2019)
108	2 α ,3 β ,19 α -trihidroxi-24-norursa-4	Folha	<i>P. campechiana</i>	(REN <i>et al.</i> , 2019)
109	ácido 3 β -(O-p-coumaroil)-2-hidroxi-urs-12-en-28-oico	Folha	<i>P. caimito</i>	(DE SOUSA <i>et al.</i> , 2019)
110	Linoleato 3 β -eritrodíol	Tronco	<i>P. macahensis</i>	(AMARAL <i>et al.</i> , 2019)
111	3 β -estigmas-5-en-3-ol	Folha	<i>P. campechiana</i>	(PAI; SHENOY, 2020)
112	5,6-dihidroergosterol	Semente	<i>P. lucuma</i>	(GUERRERO-CASTILLO <i>et al.</i> , 2021)
113	acetato de estigmasta-5,22-dien-3-ol	Semente	<i>P. lucuma</i>	(GUERRERO-CASTILLO <i>et al.</i> , 2021)
114	acetato de lanosta-8,24-dien-3-ol	Semente	<i>P. lucuma</i>	(GUERRERO-CASTILLO <i>et al.</i> , 2021)
115	acetato de lupeol	Folha	<i>P. gardneri</i>	(SILVA <i>et al.</i> , 2016)

Tabela 2- Continuação

Nº	Nome	Parte vegetal	Espécie	Referências
116	acetato de α -amirina	Folha	<i>P. gardneri</i>	(SILVA <i>et al.</i> , 2016)
117	acetato de β -amirina	Folha	<i>P. gardneri</i>	(SILVA <i>et al.</i> , 2016)
118	acetato de Ψ -taraxasterol	Folha	<i>P. gardneri</i>	(SILVA <i>et al.</i> , 2016)
119	ácido 3-cafeoilquínico	Fruto	<i>P. caimito</i>	(MEINHART <i>et al.</i> , 2019)
120	ácido 3 β -(O-p-coumaroil)-maslínico (178)	Folha	<i>P. caimito</i>	(DE SOUSA <i>et al.</i> , 2019)
121	ácido 3 β -(O-p-coumaroil)-alfitólico	Folha	<i>P. caimito</i>	(DE SOUSA <i>et al.</i> , 2019)
122	ácido 4-cafeoilquínico	Fruto	<i>P. caimito</i>	(MEINHART <i>et al.</i> , 2019)
123		Fruto	<i>P. gardneriana</i>	(MALTA <i>et al.</i> , 2013)
124	ácido 5-cafeoilquínico	Fruto	<i>P. caimito</i>	(MEINHART <i>et al.</i> , 2019)
125		Fruto	<i>P. gardneriana</i>	(MALTA <i>et al.</i> , 2013)
126	ácido betulínico	Folha	<i>P. caimito</i>	(DE SOUSA <i>et al.</i> , 2019)
127		Fruto	<i>P. sapota</i>	(CAN-CAUICH <i>et al.</i> , 2017; TORRES-RODRÍGUEZ <i>et al.</i> , 2011)
128	ácido cafeoilquínico	Fruto	<i>P. gardneriana</i>	(MALTA <i>et al.</i> , 2013)
129		Fruto	<i>P. gardneriana</i>	(MALTA <i>et al.</i> , 2013)
130	ácido cinâmico	Fruto	<i>P. campechiana</i>	(ELSAYED <i>et al.</i> , 2016)
131		Fruto	<i>P. caimito</i>	(FARIA <i>et al.</i> , 2021)
132	ácido clorogênico	Fruto	<i>P. campechiana</i>	(ELSAYED <i>et al.</i> , 2016)
133		Folha	<i>P. campechiana</i>	(REN <i>et al.</i> , 2019)
134	ácido corosólico	Fruto	<i>P. sapota</i>	(CAN-CAUICH <i>et al.</i> , 2017; TORRES-RODRÍGUEZ <i>et al.</i> , 2011)
135		Fruto	<i>P. campechiana</i>	(ELSAYED <i>et al.</i> , 2016)
136	ácido trans-ferúlico	Fruto	<i>P. glomerata</i>	(CAN-CAUICH <i>et al.</i> , 2017)

Tabela 2- Continuação

Nº	Nome	Parte vegetal	Espécie	Referências
		Fruto	<i>P. macrophylla</i>	(GORDON <i>et al.</i> , 2011)
		Fruto	<i>P. sapota</i>	(CAN-CAUICH <i>et al.</i> , 2017; SALINAS-MORENO <i>et al.</i> , 2019; TORRES-RODRÍGUEZ <i>et al.</i> , 2011; YAHIA; GUTIÉRREZ-OROZCO; ARVIZU-DE LEON, 2011)
		Fruto	<i>P. obovata</i>	(DINI, 2011)
137	ácido gálico	Fruto	<i>P. macrophylla</i>	(DA SILVA <i>et al.</i> , 2012)
		Fruto	<i>P. campechiana</i>	(SUNILA; MURUGAN, 2015)
		Fruto	<i>P. ramiflora</i>	(CIBIN <i>et al.</i> , 2022)
		Folha	<i>P. campechiana</i>	(ELSAYED <i>et al.</i> , 2016)
		Semente	<i>P. lucuma</i>	(GUERRERO-CASTILLO <i>et al.</i> , 2019)
138	behenato de 3 β -eritrodiol	Tronco	<i>P. macahensis</i>	(AMARAL <i>et al.</i> , 2019)
139	ácido galoiquinico	Fruto	<i>P. macrophylla</i>	(GORDON <i>et al.</i> , 2011)
140	ácido gentisico	Semente	<i>P. lucuma</i>	(GUERRERO-CASTILLO <i>et al.</i> , 2019)
141	ácido hidroxibenzóico	Fruto	<i>P. sapota</i>	(YAHIA; GUTIÉRREZ-OROZCO; ARVIZU-DE LEON, 2011)
		Fruto	<i>P. campechiana</i>	(SUNILA; MURUGAN, 2015)
142	ácido hidroxibenzóico	Semente	<i>P. lucuma</i>	(GUERRERO-CASTILLO <i>et al.</i> , 2019)
143	ácido hipptadienóico	Folha	<i>P. caimito</i>	(DE SOUSA <i>et al.</i> , 2019)
144	ácido lucúmico A	Folha	<i>P. campechiana</i>	(REN <i>et al.</i> , 2019)
145	ácido lucúmico B	Folha	<i>P. campechiana</i>	(REN <i>et al.</i> , 2019)
146	ácido maslínico	Folha	<i>P. campechiana</i>	(REN <i>et al.</i> , 2019)
147	ácido oleanólico	Folha	<i>P. gardneri</i>	(SILVA <i>et al.</i> , 2016)
		Folha	<i>P. caimito</i>	(DE SOUSA <i>et al.</i> , 2019)
148	ácido p-cumárico	Fruto	<i>P. caimito</i>	(FARIA <i>et al.</i> , 2021)
		Fruto	<i>P. sapota</i>	(CAN-CAUICH <i>et al.</i> , 2017; TORRES-RODRÍGUEZ <i>et al.</i> , 2011)
149	ácido p-hidroxibenzóico	Fruto	<i>P. sapota</i>	(CAN-CAUICH <i>et al.</i> , 2017; TORRES-RODRÍGUEZ <i>et al.</i> , 2011)
150	ácido protocatecuico	Semente	<i>P. lucuma</i>	(GUERRERO-CASTILLO <i>et al.</i> , 2019)
151	ácido sinápico	Fruto	<i>P. campechiana</i>	(ELSAYED <i>et al.</i> , 2016)
152	ácido siríngico	Fruto	<i>P. sapota</i>	(CAN-CAUICH <i>et al.</i> , 2017; TORRES-RODRÍGUEZ <i>et al.</i> , 2011)
153	ácido ursólico	Folha	<i>P. caimito</i>	(DE SOUSA <i>et al.</i> , 2019)
154	ácido vanílico	Fruto	<i>P. campechiana</i>	(ELSAYED <i>et al.</i> , 2016)
155	araquidato	Tronco	<i>P. macahensis</i>	(AMARAL <i>et al.</i> , 2019)
156	bedenato de ácido 3 β -betulínico	Tronco	<i>P. macahensis</i>	(AMARAL <i>et al.</i> , 2019)

Tabela 2- Continuação

Nº	Nome	Parte vegetal	Espécie	Referências
157	betulina	Semente	<i>P. lucuma</i>	(GUERRERO-CASTILLO <i>et al.</i> , 2021)
		Folha	<i>P. caimito</i>	(DE SOUSA <i>et al.</i> , 2019)
		Folha	<i>P. macahensis</i>	(SANTOS <i>et al.</i> , 2018).
158	cloroglucinol	Fruto	<i>P. campechiana</i>	(SUNILA; MURUGAN, 2015)
159	cicloartenol	Fruto	<i>P. lucuma</i>	(AGUILAR-GALVEZ <i>et al.</i> , 2021)
160	digaloilglicose	Fruto	<i>P. macrophylla</i>	(GORDON <i>et al.</i> , 2011)
161	epi-friedelanol	Folha	<i>P. ramiflora</i>	(RODRIGUES <i>et al.</i> , 2017)
162	eritrodiol	Tronco	<i>P. macahensis</i>	(AMARAL <i>et al.</i> , 2019)
163	erucato	Tronco	<i>P. macahensis</i>	(AMARAL <i>et al.</i> , 2019)
164	espinasterol	Folha	<i>P. caimito</i>	(FRANCA <i>et al.</i> , 2016)
165	estigmasterol	Semente	<i>P. lucuma</i>	(GUERRERO-CASTILLO <i>et al.</i> , 2021)
166	friedelina	Folha	<i>P. ramiflora</i>	(RODRIGUES <i>et al.</i> , 2017)
		Tronco	<i>P. macahensis</i>	(AMARAL <i>et al.</i> , 2019)
167	galato de etila	Semente	<i>P. lucuma</i>	(GUERRERO-CASTILLO <i>et al.</i> , 2019)
168	latosterol	Semente	<i>P. lucuma</i>	(GUERRERO-CASTILLO <i>et al.</i> , 2021)
169	linolenato	Tronco	<i>P. macahensis</i>	(AMARAL <i>et al.</i> , 2019)
170	palmitoleato	Tronco	<i>P. macahensis</i>	(AMARAL <i>et al.</i> , 2019)
171	palmitoleato de 3 β -eritrodiol	Tronco	<i>P. macahensis</i>	(AMARAL <i>et al.</i> , 2019)
172	p-coumaroil-hexose	Fruto	<i>P. gardneriana</i>	(MALTA <i>et al.</i> , 2013)
173	taraxerol	Folha	<i>P. ramiflora</i>	(RODRIGUES <i>et al.</i> , 2017)
174	trigaloilglicose	Fruto	<i>P. macrophylla</i>	(GORDON <i>et al.</i> , 2011)
175	α -amirina	Fruto	<i>P. lucuma</i>	(AGUILAR-GALVEZ <i>et al.</i> , 2021)
		Folha	<i>P. gardneri</i>	(SILVA <i>et al.</i> , 2016)
176	β -amirina	Fruto	<i>P. lucuma</i>	(AGUILAR-GALVEZ <i>et al.</i> , 2021)
		Folha	<i>P. gardneri</i>	(SILVA <i>et al.</i> , 2016)
177	β -sitosterol	Fruto	<i>P. lucuma</i>	(AGUILAR-GALVEZ <i>et al.</i> , 2021)
178	aspidocarpina	Folha	<i>P. campechiana</i>	(PAI; SHENOY, 2020)

2.3.2.2. Atividades biológicas

Durante o período que antecedeu a data de busca da revisão, já se sabia do potencial antioxidante, imunomodulador, antimicrobiano e de efeitos alelopáticos no ambiente de cultivo de algumas espécies do gênero (SILVA; SIMEONI; SILVEIRA, 2009). Conforme os critérios de inclusão da pesquisa, foram encontrados 63 artigos que demonstraram ação farmacológica de *Pouteria sp. in vitro ou in vivo*, sendo que destes, quatro apresentaram avaliação de parâmetros de segurança e toxicidade das espécies. Ademais, os resultados se referiam a 14 diferentes espécies, sendo que apesar da *P. elegans* apresentar estudos fitoquímicos, não apresentou evidências de

suas propriedades farmacológicas. Analogamente, as espécies *P. nuda* e *P. venosa*, apesar de apresentarem estudos de seus potenciais bioativos, não possuíram evidências constitucionais. Dessa forma, nesta sessão serão discutidas diversas atividades farmacológicas identificadas para o gênero.

2.3.2.2.1. Atividade antioxidante

Embora saiba-se que a capacidade antioxidante de espécies vegetais seja irrestrita a classificações taxonômicas, diversas espécies do gênero *Pouteria* possuíram descrição desta atividade biológica. Devido a elevada quantidade de trabalhos encontrados, este tópico foi subdividido entre espécies.

Pouteria caimito

Propriedade redutora em modelo radicalar de ABTS (2,2-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate) foi descrita para extrato rico em fenólicos totais obtidos por extração com metanol:água (8:2; v/v) da polpa de seus frutos (CANUTO *et al.*, 2010). De forma semelhante, um extrato metanol:água (50:50; v/v, pH=2), das sementes e da polpa fresca apresentaram capacidade antioxidante quando submetidas ao mesmo método citado anteriormente acrescido de avaliação na capacidade de redução férrica e conteúdo de ácido ascórbico, sendo as sementes com maior propriedade de ação, devido ao valor de fenólicos totais identificados (262 ± 36.7 nas sementes e 83.0 ± 0.45 nas polpas de fenólicos totais expressos em 100g/mg de ácido gálico) (CONTRERAS-CALDERÓN *et al.*, 2011). Estes resultados, foram semelhantes ao extrato de acetona (70%; v/v) da polpa da espécie pela determinação de ácido ascórbico que apresentou atividade antioxidante frente aos mesmos modelos (VIRGOLIN; SEIXAS; JANZANTTI, 2017). Reforçando a avaliação da influência dos fenólicos totais na propriedade antioxidante, na avaliação da capacidade redutora de 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) e redução de ferro, as propriedades antioxidantes de extratos metanólicos das partes liofilizadas da espécie foram em ordem: a casca, a semente e a polpa, as quais apresentaram proporcionalidade na atividade avaliada e na quantidade de fenólicos totais *in vitro* (MONTERO *et al.*, 2018). Contudo, em outro estudo, uma extração hidroetanólica (95:5; v/v) da polpa não apresentou capacidade antioxidante frente ao DPPH, mas atuou como agente redutor nos modelos de ABTS e capacidade de absorção de

radicais atribuído a identificação de substâncias antioxidantes, como ácido cítrico, ácido clorogênico, quercetina e apigenina, as quais não foram efetivas ao modelo de DPPH no estudo (FARIA *et al.*, 2021). Somado a isto, extratos das folhas da espécie produzidos com água, hexano e etanol apresentaram ação antioxidante frente a DPPH, sendo identificada apenas no extrato aquoso a presença de proantocianidinas, e o isolamento do espinasterol do extrato hexânico, a qual foi e atribuída a propriedade biológica do preparado (FRANCA *et al.*, 2016). Em confluência, um extrato hidroetanólico particionado em hexano e acetato de etila apresentou ação antioxidante frente a molécula radicalar DPPH (sendo o IC₅₀ do extrato hexânico 1439.4 ± 2.7 µg/mL enquanto o de acetato de etila foi de 391.8 ± 0.9 µg/mL) com identificação por cromatografia líquida de ultra eficiência de diversos ácidos fenólicos (DE SOUSA *et al.*, 2019).

Pouteria campechiana

A polpa de frutos extraídas com metanol:água (8:2; v/v) em ultrassom, gerou um extrato rico em carotenoides que apresentou atividade antioxidante frente a modelo de ABTS (BARRETO; BENASSI; MERCADANTE, 2009). Contudo, diante da necessidade de mimetização de extratos caseiros, por parte da população, teve-se que o decocto aquoso da polpa, apresentou boa capacidade redutora frente ao método de DPPH, ABTS, determinação da eliminação do radical óxido nítrico, determinação da eliminação do radical hidroxilo e ensaio da capacidade de poder redutor (ECPR), com caracterização por cromatografia em camada delgada de alta performance e a identificação de polifenóis (ASEERVATHAM *et al.*, 2014). Foi realizado um estudo considerando os estágios de maturação dos frutos de *P. campechiana* e teve-se que seus estágios iniciais de maturação apresentaram maiores concentrações de fenólicos totais, enquanto os estágios finais apresentaram maior concentração de flavonoides, sendo os extratos aquosos e etanólicos do último estágio de maturação ativo frente aos testes de radical superóxido, hidroxilo, DPPH, ECPR e ABTS (SUNILA; MURUGAN, 2017). A atividade antioxidante dos extratos aquoso e hidroetanólico da casca do fruto, apresentou maior potencial redutor frente a DPPH e potencial de eliminação de radicais livres de peróxido de hidrogênio (NUR *et al.*, 2022). Outros achados corroboram acerca da propriedade antioxidante do tronco da espécie, sendo os extratos hidroetanólicos e metanólicos com capacidade antioxidante frente aos modelos de DPPH e ABTS, nos quais foram identificadas

propriedades nutritivas em riqueza de minerais como cálcio, zinco, ferro, magnésio e potássio, sem caracterização fitoquímica dos extratos preparados (ASEERVATHAM *et al.*, 2019; MATSUSAKA; KAWABATA, 2010; PRAMOD *et al.*, 2020).

Pouteria sapota

Com elevada disseminação na culinária da América Central, a maior parte dos estudos de atividade antioxidante da espécie foram acerca do fruto (GONZÁLEZ; VAILLANT; PÉREZ, 2012). Desta forma, foi identificado no extrato de hexano / diclorometano (1:1; v/v) a presença de ácido *p*-hidroxibenzoico; ácido gálico; epicatequina e ácido protocatecuico, por CLAE, aos quais se atribuiu a ação do extrato frente aos métodos de DPPH e ECPR (YAHIA; GUTIÉRREZ-OROZCO; ARVIZU-DE LEON, 2011). Em outro estudo, com extrato metanol:ácido acético (85:15; v/v) do fruto, foi possível confirmar a ação antioxidante frente ao DPPH e a presença de compostos fenólicos como ácido gálico, galocatequina-3-galato e epicatequina, associados a ação do extrato (TORRES-RODRÍGUEZ *et al.*, 2011). Um extrato de água:acetona (80:20; v/v) da polpa apresentou atividade antioxidante em modelos não empregados a outras espécies do gênero, como ensaio antioxidante celular eritrocitário e proteção antioxidante mediada por células (Cell-MAP), com taxas de redução da atividade antioxidante que chegaram até 74% do valor do controle (GONZÁLEZ; VAILLANT; PÉREZ, 2012). A atividade antioxidante da polpa do fruto, com extração por acetona/água/ácido acético (70:29,5:0,5; v/v/v) nos modelos de DPPH e ABTS foram reafirmadas, e se mostrou como uma fonte rica para uma dieta em fibras totais, sendo candidata potencial a suplemento em dietas (MOO-HUCHIN *et al.*, 2014). Com raciocínio análogo, em um extrato etanólico, foi possível extrair compostos polares, dos quais pode-se isolar a quercetina, que se demonstrou como candidata a atividade antioxidante do fruto da espécie (KAMALAKANNAN; RAYAR; MEGALA, 2016). Nesta espécie, os estudos de atividade antioxidante foram expandidos a modelos biológicos de resistência a estresse oxidativo em *C. elegans* induzido por Trolox. Na sua realização, o extrato da polpa e da casca da espécie com Hexano: acetona: etanol (70:15:15; v/v/v) aumentou a capacidade de resistividade a ação antioxidante das cepas de *C. elegans*, que se diferiram nas gerações seguintes do microrganismo, permitindo a formulação da hipótese de que o extrato possibilita gerar uma memória genética responsiva ao estímulo (GONZÁLEZ-PEÑA; LOZADA-RAMÍREZ; ORTEGA-REGULES, 2021). Com relação a suas folhas, seu extrato

aquoso apresentou ação frente aos estímulos de DPPH, atividade de eliminação de peróxido de hidrogenio e atividade de poder redutor, demandando uma caracterização fitoquímica para formulação de hipótese de possíveis marcadores ativos (PRABHU; SELVAM; RAJESWARI, 2018).

Pouteria ramiflora

A polpa do fruto de *P. ramiflora* apresentou capacidade antioxidante frente a DPPH com identificação de vitamina C ($50,99 \pm 1,28$ mg/100 g) e determinação de açúcares redutores ($8,86 \pm 0,49$ g/100 g) aos quais se atribuiu a propriedade do alimento (MORZELLE *et al.*, 2015). Com o intuito de compreender quais seriam possíveis classes marcadoras da atividade antioxidante da espécie, outro estudo realizou cinco extratos diferenciais da polpa do fruto, utilizando como solvente extrator: i. metanol (rico em compostos fenólicos); ii. etanol (com extração favorável a antocianidinas); iii. acetona (com presença de carotenoides); iv. água (com detecção de ácido ascórbico) e v. heptano (com extração seletiva para tocoferóis), os quais foram avaliados frente às espécies reativas a Capacidade de Absorção de Radicais de Oxigênio e modelo de β -caroteno. Destes, o extrato etanólico foi o que apresentou a melhor capacidade redutora, com prospecção de melhor elucidação das antocianidinas presentes no fruto (BORGES *et al.*, 2022). Porém, em outros estudos, substâncias como o ácido gálico, presente em um extrato aquoso otimizado apresentou capacidade antioxidante frente ao método do complexo de fosfomolibdênio e CARO, (CIBIN *et al.*, 2022). A folha foi a única parte adicional da planta estudada na espécie, a qual foi extraída por maceração com hexano e particionada com hexano, acetato de etila e metanol, com isolamento e identificação dos triterpenos friedelina, epi-friedelanol e taraxerol que apresentaram capacidade antioxidante frente ao método de ácido ascórbico (RODRIGUES *et al.*, 2017).

Pouteria lucuma

Três diferentes biotipos de frutos de *P. lucuma* (*Rosalia*; *Monteiro e Leiva 1*) foram caracterizados e testados frente aos métodos de DPPH, ABTS e TROLOX sendo a *P. lucuma* *Rosalia*, com maior capacidade bioativa e maior concentração de metabólitos especiais, como ácido gálico, neoxantina e luteína (FUENTEALBA *et al.*, 2016). Os diferentes estágios de maturação do fruto foram avaliados, contudo a concentração de metabólitos especiais oscilou entre as etapas maduras e não maduras, sem padrão

de melhor período para colheita, sendo que os extratos hidrofílicos do fruto, independente do nível de maturação, apresentaram melhor capacidade antioxidante do que extratos lipofílicos, fortalecendo a hipótese de compostos fenólicos como principais atuantes na capacidade antioxidante (AGUILAR-GALVEZ *et al.*, 2021). Corroborando com esta hipótese, outro extrato hidrofílico de sementes com riqueza de ácidos fenólicos e catequinas, identificados por CLUE/ESI/MS/MS apresentou ótima capacidade redutora frente a diversos métodos *in vitro* de atividade antioxidante, com atividades melhores do que substâncias conhecidamente antioxidantes, como ácido gálico e quercetina (GUERRERO-CASTILLO *et al.*, 2019).

Pouteria macrophylla

Por análise em CLAE/DAD-ESI-MS foram identificados ácidos fenólicos, taninos e flavonoides em extratos hidrofílicos da polpa do fruto. Correlacionou-se a identificação destas classes com a propriedade antioxidante dos frutos de *P. macrophylla* aos quais foram testados frente a capacidade total de eliminação de oxidantes e método de DPPH (CHAVES *et al.*, 2020; DA SILVA *et al.*, 2012; GORDON *et al.*, 2011).

Pouteria gardneriana

Os frutos da espécie se mostraram com alta umidade (65%) e elevado teor de fenólicos totais (220 equivalentes de ácido gálico /100 g) e com atividade antioxidante frente a TROLOX e DPPH (SIQUEIRA *et al.*, 2017; SOARES *et al.*, 2022). No extrato da polpa do fruto liofilizada (acetona 80%) também foram identificados por CLAE-MS/MS elevada quantidade de ácidos fenólicos e flavonoides, corroborando com o elevado teor de fenólicos totais e justificando a atividade antioxidante frente a Capacidade de Absorção Radical de Oxigênio (CARO) e capacidade de eliminação de radicais peróxido (MALTA *et al.*, 2013).

Pouteria glomerata

Quatro extratos dos frutos de *P. glomerata* foram preparados com acetona:água (1:1; v/v), etanol:água (7:3; v/v), água e acetato de etila, sendo o aquoso de maior capacidade antioxidante e com maior concentração de taninos totais (42.00 ± 16.10 equivalentes de ácido tânico /100 g) (SANTO *et al.*, 2020). Em outro estudo, o extrato metanólico dos frutos da espécie apresentou baixo teor de fenólicos totais em equivalente de ácido gálico ($1.28 \pm 0.05 / 100g$), porém apresentou propriedade

antioxidante frente ao ABTS, DPPH e avaliação de poder redutor (CAN-CAUICH *et al.*, 2017).

Pouteria torta

Os frutos de *P. torta* foram liofilizadas, maceradas com etanol e particionadas com água, hexano, acetato de etila e metanol. A atividade antioxidante das frações foi avaliada frente a modelo de ensaio do complexo fosfomolibdênio e teor de fenólicos totais sendo a fração de acetato de etila a com maior capacidade redutora (DE SALES *et al.*, 2017).

2.3.2.2.2. Atividade anticâncer

Os extratos etanólicos brutos da polpa e das folhas de *P. caimito* foram avaliadas com relação às células de carcinomas hepatocelular, colorretal, glioblastoma e de fibroblastos pulmonares humanos com IC₅₀ que variaram 63,73 µg/mL a 117,47 µg/mL, sendo que nos testes com os extratos das folhas ocorreram achados de elevada seletividade celular para as células patológicas (FARIA *et al.*, 2021; WANG *et al.*, 2019). De forma semelhante, *P. campechiana* foi avaliada com o método de exclusão do corante azul de Tripán por ensaio MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difenil brometo de tetrazolona) e modelo *in vivo* de *Artemia salina* L.. Destes, teve-se elevada taxa de apoptose de células HeLa mas nenhuma diferença estatística quanto à viabilidade celular, comparando ao controle, tanto para as folhas quanto para o fruto (PAI; SHENOY, 2021; PRAMOD *et al.*, 2020). Contudo, no estudo que avaliou citotoxicidade *in vivo* com modelo de *A. salina*, encontrou-se maior segurança na casca (IC₅₀ = 701.66 µg/mL) do que na polpa do fruto (IC₅₀ = 570.33 µg/mL), embora ambas tenham se demonstrado citotóxicas (NUR *et al.*, 2022). A quercetina isolada de um extrato etanólico (95%; v/v) da polpa de *P. sapota* apresentou atividade citotóxica em MTT em células de adenocarcinoma de mama (MCF-7) (IC₅₀ = 271.33 ± 5.8 µg/mL), a qual foi menor do que o extrato bruto (782.67 ± 5.8 µg/mL) (KAMALAKANNAN; RAYAR; MEGALA, 2016). De forma análoga, na mesma linhagem celular, o extrato aquoso das folhas apresentou atividade citotóxica com alteração da morfologia celular na faixa de 25 µg–125 µg (PRABHU; SELVAM; RAJESWARI, 2018). Um extrato realizado com acetona:água (80:20; v/v), rico em ácidos fenólicos e flavonoides (identificados por CLAE-TOF/MS) de *P. venosa*

apresentou elevada citotoxicidade em células HepG2 (MALTA *et al.*, 2013), tal qual o particionado de acetato de etila, obtido pelo extrato bruto etanólico do caule de *P. gardneriana* (2000 µg) que reduziu a viabilidade celular consideravelmente ($p < 0,001$) (SANTOS *et al.*, 2015). Com relação a *P. torta*, o extrato hexânico, etanólico e aquoso foram avaliados em células OSCC-3 e MCF-7, no qual ambos os extratos hidrofílicos apresentaram mortalidade maior que o hexânico (próximos a 70% de inibição de viabilidade celular) os quais apresentaram fragmentação de DNA, visualizado por eletroforese em géis de agarose (MOTOYAMA *et al.*, 2013). Um único trabalho fez a comparação da atividade anticâncer de diferentes espécies do gênero (*P. gardneri*, *P. ramiflora*, *P. caimito* e *P. torta*), com avaliação de suas folhas em extratos aquosos, etanólicos e hexânicos. Estas foram testadas em células de queratinócitos (HaCat) e uma linhagem de células de fibroblastos (L-929), sendo o extrato etanólico das folhas de *P. torta* os com menor valor de IC₅₀ ($14,65 \pm 0,02$ µg/mL) e o extrato etanólico de *P. caimito* o único que não apresentou atividade citotóxica (SOUZA *et al.*, 2012).

2.3.2.2.3. Atividade hipoglicemiante

Outra atividade biológica investigada para diversas espécies de *Pouteria* foi a propriedade hipoglicemiante com foco no tratamento de *Diabetes mellitus* com extratos da espécie. Um extrato hidroetanólico (95%; v/v) das folhas de *P. caimito* foi avaliado *in vitro* na inibição das enzimas α -glucosidase, α -amilase e lipase sendo que não apresentou atividade frente aos testes enzimáticos e conseguiu reduzir apenas teores de glicose (IC₅₀ = 103.5 ± 1.8 µg/mL) (FARIA *et al.*, 2021). De forma semelhante, três diferentes triterpenos isolados de *P. campechiana* foram avaliados frente a atividade inibitória de α -glucosidase apresentando fraca propriedade biológica sendo que a inibição do ácido corosólico e ácido maslínico foram de, respectivamente, 66,3% e 55,2% a uma concentração de 50 µM (REN *et al.*, 2019), resultado este díspar ao extrato bruto metanólico das folhas e frutos da espécie, o qual apresentou satisfatória inibição frente às enzimas α - glucosidase e α -amilase (PAI; SHENOY, 2021). Este resultado se expandiu para outras espécies, das quais pode-se citar a *P. lucuma* em que a polpa de seus frutos apresentou redução em ambas enzimas, independente do seu nível de amadurecimento (AGUILAR-GALVEZ *et al.*, 2021), com o particionado hidrofílico apresentando melhor ação farmacológica, com pouca atividade do subtipo de *P. lucuma Montero* (FUENTEALBA *et al.*, 2016). Na espécie

P. ramiflora, três diferentes extratos das folhas foram avaliados para atividade hipoglicemiante. O primeiro, hidroetanólico (50%; v/v) foi avaliado em ratos com indução patológica por estreptomicina, conseguindo reduzir o nível de glicose no sangue após 20 dias de avaliação, com tratamento de 500 mg/kg oral, sem controlar o peso dos animais, além de gerar neuroproteção devido ao controle de stress oxidativo cerebral (DA COSTA *et al.*, 2013). O segundo extrato, etanólico, foi avaliado no mesmo modelo, com redução de infiltrados inflamatórios no 14^o dia de avaliação e reordenação do tecido epitelial no 21^o dia, diferentemente do grupo controle (CORRÊA *et al.*, 2022). Ademais, um terceiro extrato, hexânico, foi avaliado em modelo *in vitro*, e os compostos presentes em uma fração particionada de acetato de etila apresentaram as maiores reduções para α -amilase, sendo os particionados hexânicos e de acetato de etila:hexano, com capacidade de aumento do teor enzimático (RODRIGUES *et al.*, 2017). Com o enfoque de entender as melhores formas extrativas dos compostos bioativos com esta propriedade farmacológica, realizou-se uma otimização extrativa bioguiada por teste de inibição enzimática *in vitro* de *P. sapota*, percebendo que os fatores que influenciam no desfecho são o tempo extrativo, o pH do sistema e a proporção da droga vegetal (SATHISHKUMAR *et al.*, 2011). De forma semelhante, um extrato dos frutos de *P. torta* foi fracionado por avaliação bioguiada conforme a capacidade redutora enzimática. Desta forma, teve-se dois extratos com maior atividade, dos quais foi-se possível inferir a presença de epicatequina, sacarose, glucose e frutose como determinísticas para o desfecho (DE SALES *et al.*, 2017). Ademais, na comparação de espécies de *P. ramiflora* e *P. torta* teve-se atividade considerável de ambas (> 77%) nas folhas, raízes e caules (GOUVEIA *et al.*, 2013).

2.3.2.2.4. Atividade antimicrobiana

A ação antimicrobiana de *P. caimito* foi avaliada utilizando o extrato hexânico da folha, tronco e frutos (500 μ g/mL) da espécie, sendo que os três apresentaram atividade frente a *Candida albicans*, e bactérias gram positivas (*Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus*), e gram-negativas (*Escherichia coli* e *Salmonella typhimurium*) (PEDRO *et al.*, 2020). Com relação a *P. macahensis*, a única atividade biológica relatada foi da avaliação de quatro diferentes triterpenos, isolados do extrato acetônico da casca da espécie frente a *Proteus mirabilis*, causador de infecções urinárias. Neste,

a Concentração Inibitória Mínima (CIM) variou entre 500 e 600 µg/mL, contraposto a concentração de 50 µg/mL do controle de cloranfenicol (AMARAL *et al.*, 2019). Extratos aquoso e hidroetanólico (70%; v/v) das folhas e troncos particionado de *P. ramiflora*, foram avaliados e não se demonstrou atividade frente a *E. coli* e *S. typhimurium*, sendo identificada ação frente a *Fusarium solani* e *S. aureus*, excetuando-se pelo extrato aquoso das cascas da espécie (MATIAS *et al.*, 2019; SANTOS *et al.*, 2018). Um extrato rico em carotenoides dos frutos de *P. sapota*, apresentaram redução do estresse oxidativo em *C. elegans* em 20-30% nas concentrações de 20-40 µg/mL (GONZÁLEZ-PEÑA; LOZADA-RAMÍREZ; ORTEGA-REGULES, 2021) e um extrato etanólico do fruto apresentou inibição de bactérias gram-positivas e gram-negativas (REDDY *et al.*, 2017), de forma semelhante aos extratos hidroetanólicos (90%; v/v) das folhas, casca e caule de *P. venosa* (SANTOS *et al.*, 2015). Com relação a comparação de ação de espécies, folhas de *P. ramiflora* e *P. torta* foram avaliadas contra diversas espécies de *Candida* sp., sendo que os extratos hexânicos de ambas não foram ativos em nenhum microrganismo avaliado e o etanólico ativo para *C. glabrata* (ambas); *C. tropicalis* e *C. krusei* (*P. ramiflora*); *C. parapsilosis* e *C. guilliermondi* (*P. torta*) (CORREIA *et al.*, 2016).

2.3.2.2.5. Atividade anti-inflamatória e antinociceptiva

O extrato etanólico de *P. ramiflora* foi avaliado para atividade antinociceptiva (50 e 100 mg/kg) nos testes de contorção abdominal por injeção intraperitoneal de ácido acético e avaliação da resposta nociceptiva induzida por calor, com redução do número de contorções por minuto e aumento do tempo de permanência dos animais sobre a placa quente. O mesmo extrato foi avaliado em modelo de processo inflamatório induzido por carragenina com redução do exsudato celular, produção de NO e da atividade da enzima adenosina deaminase (ADA) (JÚNIOR, *et al.*, 2009). Diante da importância de estudos com o extrato aquoso da espécie vegetal para validar a utilização populacional do chá do gênero, este foi avaliado em modelo de artrite induzida pelo Composto Adjuvante de Freund's (CAF) com resultados que demonstraram redução do edema de pata dos camundongos no 21º dia, com redução das citocinas IL-1 e TNF- α (MERINI *et al.*, 2014).

2.3.2.2.6. Atividade no tratamento de Alzheimer

Os óleos do fruto e sementes de *P. caimito* foram obtidos por Soxhlet e avaliados na inibição da enzima colinesterase. A inibição do extrato hexânico do fruto foi considerada moderada, sem relato da porcentagem de inibição, enquanto a semente, apresentou 68,40% de inibição, considerada como um potente inibidor ($\geq 50\%$) (FILHO *et al.*, 2018; PEDRO *et al.*, 2020). Com relação a *P. sapota*, três diferentes carotenoides foram obtidos do extrato acetônico da espécie (criptocapsina, 5,6-epóxido de criptocapsina e zeaxantina) avaliados no modelo de atividade anti-amiloidogênica, com maior ação da criptocapsina frente aos outros ($IC_{50} = 1,97 \pm 0,1 \mu M$) (LAKEY-BEITIA *et al.*, 2017).

2.3.2.2.7. Inibição da atividade de Tirosinase

O controle da atividade da enzima tirosinase se correlaciona com a biossíntese da melanina, a qual, se não controlada, pode gerar quadros patológicos de hiperpigmentação. Os extratos aquosos, hidroetanólicos e etanólicos das folhas de *P. caimito*, *P. gardneri*, *P. ramiflora* e *P. torta* foram avaliadas com relação a inibição da enzima e todas apresentaram atividade na concentração de 1000 $\mu g/mL$ (14,65-87,60%), excetuando-se o extrato etanólico de *P. caimito* que foi não ativo no modelo. Neste mesmo trabalho, os extratos etanólicos das cascas e frutos de *P. torta* também foram avaliados nas mesmas condições, apresentando atividade inibitória (SOUZA *et al.*, 2012). No mesmo modelo *in vitro* foram avaliados o extrato hexânico, etanólico e de acetato de etila das folhas de *P. campechiana*, os quais apresentaram a quercitrina como composto majoritário sendo que apenas o extrato hexânico foi não ativo (FITRIANSYAH; HARTATI; FIDRIANNY, 2022).

2.3.2.2.8. Atividade anti-hemolítica

O extrato metanólico de *P. campechiana*, rico em fenólicos totais, foi avaliado nos efeitos inibitórios na hemólise eritrocitária induzida por H_2O_2 . Este apresentou atividade anti-hemolítica com relação dose-resposta nas concentrações de 100-500 $\mu g/mL$ (ASEERVATHAM G. *et al.*, 2019).

2.3.2.2.9. Atividade antidiarreica

Os frutos de *P. caimito* foram extraídas com metanol, e o extrato bruto obtido foi avaliado para atividade antidiarreica nos métodos de diarreia induzida por agentes de óleo de rícino em ratos. Contudo, as dosagens de 30, 100 e 300 mg/kg não demonstraram diferença estatística, se comparado ao grupo controle, sem a demonstração desta atividade biológica (ABREU *et al.*, 2019).

2.3.2.2.10. Atividade gastroprotetora

A atividade gastroprotetora do extrato metanólico de *P. lucuma* foi avaliada com relação a ação gastroprotetora em modelo de lesão induzida por HCl/EtOH. Este, apresentou redução das lesões, com diferença significativa ao grupo controle, quando administrado via oral, em doses de 10 a 100 mg/kg (GUERRERO-CASTILLO *et al.*, 2019).

2.3.2.2.11. Atividade hepatoprotetora

O extrato aquoso dos frutos de *P. campechiana* foi avaliado com relação a sua atividade hepatoprotetora em modelo de toxicidade hepática induzida por acetaminofeno em ratos. No extrato foi identificado o catecol, ao qual se atribuiu o controle de diversos parâmetros bioquímicos hepáticos, como transaminase glutamato-oxalacética sérica (SGOT), transaminase glutamato-piruvato sérica (SGPT), fosfatase alcalina (ALP) e bilirrubina total, os quais contribuíram para a formação histopatológica menos disformes no órgão se comparadas ao grupo controle (ASEERVATHAM *et al.*, 2014).

2.3.2.2.12. Outras atividades

Além das atividades farmacológicas supracitadas, encontrou-se que o extrato aquoso de folhas frescas de *P. sapota* foi avaliado para o desenvolvimento pós-embrionário da mosca *Chrysomya putoria*. Este demonstrou alterar o desenvolvimento da espécie,

com redução da viabilidade das moscas e alteração do período de desenvolvimento entre a pupa e a larva recém-eclodida (CARRIÇO *et al.*, 2014).

2.3.2.2.13. Toxicidade

A segurança do gênero *Pouteria* foi avaliada para duas diferentes espécies. O extrato metanólico de *P. campechiana* foi investigado com relação a sua capacidade antimutagênica em modelo de indução por tetraciclina em camundongos (0,25 mg/kg), o qual conseguiu reduzir a formação de micronúcleos em 39,70% (CHICHIOCO-HERNANDEZ; PAGUIGAN, 2009). Para *P. caimito*, teve-se que os extratos aquoso, etanólico e hexânico de suas folhas foram avaliadas em modelo de *Artemia salina* aos quais apresentaram $DL_{50} > 1$ mg/mL, sendo considerado seguro nos parâmetros do ensaio (FRANCA *et al.*, 2016). Em modelos de animais vertebrados, teve-se que o látex da espécie foi avaliado em modelo murino, com doses crescentes do exsudato, o qual se mostrou extremamente tóxico ($LD_{50} = 1$ mg/kg), formulando a hipótese de que a toxicidade encontrada possa se relacionar com o exsudato de látex característico do gênero (NAVAS-FLORES *et al.*, 2021).

2.3.3. Considerações finais

Esta revisão demonstrou os achados de caracterização química, e de potenciais atividades biológicas presentes no gênero *Pouteria*, o qual apresenta ampla diversidade e distribuição mundial. Com os achados fitoquímicos, evidenciou-se a necessidade de isolamento para confirmação de substâncias identificadas por ferramentas instrumentais, mas pode-se verificar riqueza de terpenoides, flavonoides, fenólicos e saponinas.

Os achados considerando as avaliações biológicas corroboram com algumas utilizações tradicionais, porém outros estudos são necessários para que todas as aplicabilidades etnofarmacológicas sejam avaliadas. Diversas partes vegetais se mostraram promissoras para utilização medicinal, das quais pode-se citar a folha, o tronco, a raiz e os frutos, sendo esta última a parte vegetal com maior taxa de estudos encontrados. Ademais, pouco se investigou acerca da intercambialidade das espécies, e de suas interações farmacológicas e nutricionais. Teve-se ainda que os

estudos toxicológicos foram dúbios, com indicação de toxicidade associada ao látex característico ao gênero.

Desta forma, teve-se a demonstração de potenciais utilizações do gênero, sendo necessário mais estudos que comprovem suas funcionalidades. Em complemento, demanda-se que ocorra isolamento com caracterização das partes vegetais do gênero, tal como os parâmetros de segurança e de farmacocinética.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Realizar análises histológicas, prospecção e padronização química de extratos de *Pouteria* spp., avaliação de parâmetros físico-químicos em quatro diferentes estações com verificação das atividades antioxidante *in vitro*, anti-inflamatória, antinociceptiva, citotóxica e toxicológica *in vivo* e antiangiogênica *ex vivo* de derivados vegetais da espécie.

3.2. Objetivos específicos

- Realizar uma ampla revisão bibliográfica da literatura acerca das espécies vegetais com relatos de utilização dos povos originários para escolha do objeto deste trabalho;
- Realizar coleta e identificação botânica de diferentes espécies do gênero *Pouteria* spp.;
- Desenvolvimento de métodos de caracterização do gênero por cromatografia em camada delgada e por cromatografia líquida de alta eficiência;
- Identificar metabólitos de *P. guianensis* por cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada a espectrometria de massa;
- Identificar e selecionar possíveis marcadores analíticos para a espécie, com validação de método analítico;
- Obter extrato otimizado em flavonoides da espécie;
- Realizar a caracterização microscópica e histoquímica da espécie;
- Avaliar o potencial antioxidante de diferentes extratos das folhas de *P. guianensis* com correlações quimiométricas;
- Quantificar marcadores e aspectos físico-químicos na droga vegetal em quatro diferentes estações;
- Avaliar as atividades anti-inflamatória, antinociceptiva e motora de extratos selecionados em modelo murino;
- Quantificar citocinas no tecido da pata dos animais;
- Avaliar em modelo de membrana corialantóico *ex vivo* a propriedade antiangiogênica dos extratos selecionados e sua toxicidade tópica;
- Avaliar a propriedade citotóxica dos extratos selecionados em modelo de *Artemia salina* L. *in vivo*.
- Avaliação da toxicidade aguda em modelo murino.

PARTE 1

Extração do material vegetal, avaliação química, anatômica e escolha dos extratos de trabalho por meio da avaliação da atividade antioxidante por DPPH de *Pouteria* spp.

4. COLETA, CARACTERIZAÇÃO E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

4.1. Materiais, Equipamentos e reagentes

4.1.1. Equipamentos, instrumentos, aparatos e vidrarias

- Balança analítica (Shimadzu, Unibloc);
- Balão volumétrico de 10,0 ml;
- Banho Maria (NovaTecnica);
- Centrífuga (Edutec, EEQ-9004113);
- Coluna cromatográfica Shimpack XR-ODSIII (C18; dimensões 150 x 2,0 mm, 2,2 μ m) (Shimadzu);
- Coluna cromatográfica NST (C18; dimensões 250 mm x 4.6 mm x 5 μ m);
- Cromatógrafo Líquido de alta eficiência (Shimadzu LC-20A) com detector de arranjo de diodos (Shimadzu SPD-20A);
- Cromatógrafo líquido de ultra eficiência (Shimadzu Proeminence);
- Cromatoplaça de gel de sílica GF254;
- Espectrofotômetro para leitura de microplacas (TECAN Infinite 200 PRO);
- Espectrômetro de massas com ionização por *electrospray* e detecção do tipo quadrupolo/tempo de voo (ESI-Q-TOF) de alta resolução maxis ETD (Bruker);
- Estufa com circulação de ar;
- Membrana filtrante de fase móvel PVDF 0,45 μ m (Millipore, Merck);
- Membrana filtrante para seringas, não estéril, PVDF 0,45 μ m (Millipore, Merck);
- Lâmpada com luz UV (Spectrocline ENF-260C);
- Microscópio micro-escopo (Olympus, BH2);
- Ultrapurificador de água (Milli-Q, Direct-Q 30V);
- Pipeta de Pasteur;
- Pipeta volumétrica 100 μ l;
- Pipeta volumétrica 1000 μ l;
- Pipeta volumétrica 5000 μ l;
- Rotaevaporador (IKA RV3 eco);
- Tubo tipo Falcon de 15 ml e 50 ml;
- Equipamento de Ultrassom (Ultronic Q3.0140A);

4.1.2. Solventes, reagentes e substâncias químicas de referência

- 2-difenil-1-picrilhidrazil, Aldrich;
- α -naftol;
- Acetato de etila P.A., Neon;
- Acetonitrila, grau CLAE, Sigma Aldrich;
- Ácido acético P.A., Synth;

- Ácido clorídrico P.A., Dinâmica;
- Ácido Fórmico P.A., Synth;
- Ácido fosfórico P.A., Synth;
- Benzoato de sódio de cafeína;
- Butanol P.A., Exôdo;
- Cloreto férrico P.A., Exôdo;
- Clorofórmio P.A., Neon;
- Diclorometano P.A., Fmaia;
- Difetilborato de amino-etil éster P.A, Sigma Aldrich;
- Dimetil-p-fenilenodiamina, Sigma Aldrich;
- Etanol P.A. Ciaviico;
- Éter etílico P.A., Neon;
- Fosfato de sódio P.A., Synth;
- Hexano P.A., Neon;
- Hidróxido de sódio P.A., Exôdo;
- Macrogol 400 R; Merck;
- Metanol, grau CLAE, Sigma Aldrich;
- Metanol P.A., Exôdo;
- *P*-dimetilaminocinamaldeído, Sigma Aldrich;
- Quercetina, Aldrich Chemistry;
- Tolueno P.A., Exôdo.

4.2. Metodologia

4.2.1. Coleta e preparo das amostras

Foram coletadas as folhas de quatro espécies do gênero *Pouteria* com depósito no herbário BHCB da Universidade Federal de Minas Gerais. As espécies foram identificadas pela botânica Nayara Couto Moreira e a lista das espécies com o respectivo número do voucher e localização são:

- i. *Pouteria guianensis* Aubl.: Jardim Botânico e Fundação de Parques Municipais e Zoobotânica de Belo Horizonte, (JB/FPMZB-BH), BHCB210380;
- ii. *Pouteria guianensis* Aubl.: Bairro Serrano, Belo Horizonte, BHCB210382;
- iii. *Pouteria guianensis* Aubl.: Museu de História Natural e Jardim Botânico da UFMG (MHNJB-UFMG), BHCB210379 e BHCB210383;
- iv. *Pouteria torta* (Mart.) Radlk.: JB/FPMZB-BH BHCB210385;
- v. *Pouteria caimito* Radlk.: JB/FPMZB-BH, BCHCB210384;
- vi. *Pouteria gardneri* (Mart. & Miq.) Baehni.: MHNJB-UFMG, BHCB210381.

As folhas dos indivíduos também foram coletadas nas quatro estações: i. inverno (Agosto/2022); ii. primavera (Novembro/2022); iii. verão (Fevereiro/2023) e iv. outono (Abril/2023). Em todas as situações, as folhas foram secas em estufa com circulação de ar, na temperatura de 40 °C, pulverizadas em moinho de facas (355 mesh) e armazenadas em frascos herméticos com proteção de luz. O projeto está registrado no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SISGEN) sob o número AF5640E. Optamos pela realização dos estudos com a *P. guianensis* devido a maior disponibilidade de droga vegetal e ineditismo.

4.2.2. Prospecção fitoquímica

Para cada uma das 4 espécies coletadas, realizou-se a pesagem de 1 g da droga vegetal em tubos tipo Falcon e extração por 10 minutos em banho ultrassônico sem aquecimento, em dois ciclos de 10 mL com os diluentes água ou solução hidroetanólica 80%. Após filtração, realizou-se os testes colorimétricos para detecção de metabólitos das classes de fenóis e taninos, antocianinas, antocianidinas e flavonoides, saponinas, alcaloides, cumarinas, leucoantocianidinas, catequinas e flavonas (MATOS, 2020) e triterpenos (LIMA; SILVA, 2016), conforme descritos no **Anexo A**.

4.2.3. Cromatografia em Camada delgada (CCD)

4.2.3.1. Preparo de amostras

Pesou-se, separadamente, em tubos tipo Falcon, 0,5 g das drogas vegetais das quatro espécies de *Pouteria* sp., e foi adicionado 5 mL de metanol. Os tubos foram levados para extração em banho ultrassônico por 15 minutos, seguido de centrifugação a 2000 rpm por 5 minutos. Os sobrenadantes foram filtrados com algodão para balões volumétricos de 10 mL. Novo ciclo extrativo foi realizado com a torta da extração anterior das drogas vegetais, juntando o sobrenadante nos respectivos balões, ajustando-se o volume dos balões com o solvente extrator.

4.2.3.2. Cromatografia em Camada Delgada

Diante da inexistência de método de CCD na literatura que realizasse a diferenciação das amostras do gênero, elencou-se dez diferentes condições cromatográficas descritas na **Tabela 3** que foram testadas para este propósito. Foram aplicados 10 µL de cada amostra em cromatoplasmas de gel de sílica GF254, previamente ativadas. Após a eluição, aspergiu-se solução metanólica de difenilborato de amino-etil éster (1%; m/v) seguida de uma solução de macrogol 400 R (5%; m/v) como forma de revelação seletiva para fenólicos. Ao final deste processo, as cromatoplasmas foram visualizadas sob luz ultravioleta (UV) a 365 nm com registro fotográfico.

Tabela 3 - Condições cromatográficas avaliadas para diferenciação de espécies de *Pouteria* spp.

Condição	Fase móvel	Utilização	Referência
1	Hexano : éter etílico (4:1; v/v)	Avaliação de isolamento de compostos de <i>P. sapota</i>	(MURILLO <i>et al.</i> , 2020)
2	Hexano : acetato de etila (9:1; v/v)	Avaliação de extratos de <i>P. alnifolia</i>	(JEGEDE; IBRAHIM; OBOH, 2009)
3	Hexano : acetato de etila (3:2; v/v)	Avaliação de extratos de <i>P. alnifolia</i>	(JEGEDE; IBRAHIM; OBOH, 2009)
4	Hexano : acetato de etila: Metanol (4:4:1; v/v/v) Acetato de etila : ácido	Avaliação de extratos de <i>P. alnifolia</i>	(JEGEDE; IBRAHIM; OBOH, 2009)
5	acético : ácido fórmico : água (100:11:11:27; v/v/v/v)	Avaliação de flavonoides	(WAGNER; BLADT, 1996)
6	Acetato de etila : metanol : água (7,7:1,3:1, v/v/v)	Identificação de compostos polares de <i>Baccharis dracunculifolia</i>	(VILAS BOAS, 2021)
7	Tolueno : acetato de etila : ácido fórmico (50:40:10; v/v/v)	Avaliação de flavonoides	(WAGNER; BLADT, 1996)
8	Tolueno : clorofórmio : etanol (88,5:57:14,5; v/v/v)	Avaliação de triterpenos	(WAGNER; BLADT, 1996)
9	Diclorometano : etanol : água (25:15:2; v/v/v)	Avaliação de saponinas	(WAGNER; BLADT, 1996)
10	Acetato de etila : etanol: água (5:1:5; v/v/v)	Identificação de flavonoides de <i>P. sapota</i>	(SATHISHKUMAR <i>et al.</i> , 2011)

4.2.4. Desenvolvimento de método em CLAE

Para a escolha do método cromatográfico, preparou-se uma amostra das folhas de *P. guianensis*, a 10 mg/mL. Para isso, 0,5 g de droga vegetal foram extraídos em dois ciclos de 5 mL, utilizando solução hidroetanólica 80% como extrator, sendo o sobrenadante dos ciclos recolhidos em balão volumétrico de 10 mL (com ajuste do menisco com metanol). Esta solução foi diluída na concentração de trabalho de 10 mg/mL com volume ajustado com o mesmo diluente. As amostras foram filtradas em filtro PVDF 0,45 µm.

Três diferentes condições cromatográficas foram avaliadas, conforme descrito na **Tabela 4**. Nestas, um dos métodos propostos havia sido previamente descrito na literatura para avaliação do extrato hidroetanólico 70% de *P. torta*. Em todas as avaliações, utilizou-se uma coluna cromatográfica do tipo C18 (250 mm x 4,6 mm x 5 µm) e os cromatogramas registrados a 370 nm para melhor detecção dos sinais de interesse e estabilização da linha de base.

Tabela 4 - Condições cromatográficas avaliadas para o desenvolvimento do método por CLAE de *Pouteria guianensis* (Aubl.)

Condição 1 (COSTA <i>et al.</i> , 2014)					Condição 2 e 3				
T (min)	Eluente (%)		Tp (°C)	Fluxo (mL/min)	T (min)	Eluente (%)		Tp (°C)	Fluxo (mL/min)
	A1	B				A2	B		
0	90	10	30	1	0	95	5	30	1
70	0	100			30	5	95		
72	90	10			60	5	95		
80	90	10			65	95	5	35	0,6
					70	95	5		

Legenda: A1-Ácido fórmico;0,01% A2- Ácido fórmico 0,2%; B- Metanol; T-tempo; Tp-Temperatura

Após averiguação de que o teste 3 apresentou as melhores condições cromatográficas, considerando o número de picos observados, resolução e intensidade de resposta fez-se a otimização da condição proposta. As novas condições avaliadas podem ser visualizadas na **Tabela 5**.

Tabela 5 - Condições de otimização do método por CLAE para *Pouteria guianensis* (Aubl.)

Condição	Variações avaliadas				
	T1	T2	T3	-	-
Temperatura (°C)	30	35	40	-	-
Acidificação FmA	FmA1	FmA2	-	-	-
	0,01% ác. fórmico	0,20% ác. fórmico	-	-	-
Curva de gradiente	CG1	CG2	CG3	-	-
	0-30 min (5-95 %B)	0-40 min (5-95 %B)	0-20 min (5-95 %B)	-	-
Fluxo (mL/min)	F1	F2	F3	-	-
	0,6	0,8	1	-	-
Composição FmB	FmB1	FmB2	FmB3	FmB4	FmB5
	MeOH	ACN	MeOH: ACN (75:20; v/v)	MeOH: ACN (50:50; v/v)	MeOH 0,2% ác. fórmico
Força do ácido (FmA e FmB)	FA1	FA2	-	-	-
	0,2% ác. fórmico	0,2% ác. fosfórico	-	-	-

Legenda: FmA- Fase móvel A; FmB-Fase móvel B; MeOH-Metanol; ACN- acetonitrila

4.2.5. Otimização das condições extrativas para *P. guianensis*

Após finalizado o desenvolvimento do método analítico, quatro variáveis foram elencadas para otimização extrativa de flavonoides das folhas de *P. guianensis* pelo método de superfície de resposta - temperatura de extração, relação droga/solvente, número de ciclos extrativos e tempo de extração por ultrassom da droga vegetal. O solvente extrator (etanol 80% v/v) foi definido previamente conforme a capacidade antioxidante do extrato (item 4.3.10). Para isso, fez-se o delineamento, do tipo 2⁴ completo por meio do software *DesignExpert* 13.0.12.0, com duas replicatas e único sistema de blocação. A avaliação ocorreu nos níveis baixo e alto, com padronização de um ponto central (-1; 0; +1) conforme a **Tabela 6**.

Tabela 6 - Condições de delineamento 2⁴ das folhas de *Pouteria guianensis* (Aubl.)

Código	Fator	Unidade	Tipo de variável	Níveis		
				-1	0	1
A	Tempo de sonicação	min	Numérica contínua	5,00	10	15,00
B	Número de ciclos	N.A.	Numérica contínua	1	2	3
C	Temperatura	°C	Numérica contínua	20,00 (± 2,00)	30 (± 2,00)	40,00 (± 2,00)
D	Relação droga/Solvente	N.A.	Numérica contínua	5,00	10	15,00

Legenda: N.A.- Não se aplica

A randomização desenvolvida pelo *software* resultou em 33 experimentos, realizados de forma independente, com avaliação em CLAE, seguindo o método validado (item 4.3.5.). Como variável dependente do estudo, optou-se pelo somatório da área de todos os picos cromatográficos com espectro na região do ultravioleta com característica de flavonoides. Para correlação dos valores, utilizou-se de estatística paramétrica, com regressão linear multivariada, análise de resíduos, ANOVA e formação de gráficos de superfície binários, ternários e quaternários.

4.2.6. Validação de método

O método analítico desenvolvido foi validado, com preparo da amostra definido no delineamento experimental, partindo de 0,5 g da droga vegetal e utilizando Etanol 80% v/v como solvente extrator. Contudo, após a obtenção do extrato, a solução foi recolhida em balão volumétrico de 10 mL, com volume ajustado com metanol. Na sequência, diluiu-se 2 mL desta solução estoque para balão volumétrico de 10 mL, com mesmo diluente, para que obtivesse uma concentração final teórica de 10 mg/mL. Para a escolha do marcador analítico, optou-se por selecionar o pico majoritário do cromatograma obtido, o qual sugeriu-se posteriormente como miricitrina (item 4.3.8.). A validação ocorreu com utilização de padrão externo à matriz vegetal, utilizando quercetina como substância química de referência.

O método foi validado conforme os requisitos da *Association Of Official Analytical Collaboration* (AOAC) e Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (ANVISA, 2017b; AOAC, 2016), a qual informa que a linearidade de métodos de doseamento deve ser avaliada no mínimo entre 80% a 120% da concentração de trabalho. Contudo, o processo de validação ocorreu após coleta das folhas de *P. guianensis* nas quatro estações (Parte II), a qual apresentou elevada variação quantitativa de compostos. Desta forma, optou-se como faixa de trabalho 80% da menor concentração encontrada (coleta na estação da primavera, 19,23 µg/mL de miricitrina expressa em função de quercetina), a 120% da maior concentração encontrada (coleta na estação do outono, 36,40 µg/mL de miricitrina expressa em função de quercetina). Por esta premissa, a concentração do analito a 100% escolhida foi de 29,53 µg/mL de miricitrina em função de quercetina, com avaliação da faixa de trabalho de 50% a 150% deste valor, para englobar as faixas de concentração necessárias a sazonalidade. Todos os tratamentos estatísticos e averiguação das premissas aos testes de hipótese foram realizadas conforme guia para tratamento estatístico da validação analítica 10/2017 da ANVISA (ANVISA, 2017a).

No desenvolver deste tópico, faz-se saber que: i. solvente extrator: solução hidroetanólica 80%, ii. Diluente: metanol grau CLAE, iii.: amostra de *P. guianensis*: amostra coletada na estação do inverno (por ser a de teor mais próxima ao 100% do trabalho, com concentração de 22,59 µg/mL), iv. todos os teores serão referentes ao pico majoritário da miricitrina em função da quercetina.

4.2.6.1. Adequabilidade do sistema

Como adequabilidade instrumental, um padrão de 29,53 µg/mL de quercetina foi preparado e injetado em triplicata antes de cada corrida analítica. O sistema foi adequado para prosseguimento das análises diante de: i. simetria do pico da quercetina entre 0,8 e 2,0; ii. eficiência da coluna de no mínimo 2000 pratos teóricos; iii. desvio padrão relativo da área dos três padrões ≤ 2,0%.

4.2.6.2. Seletividade

A seletividade do método foi demonstrada por meio de sobreposição do cromatograma da amostra com o cromatograma da solução diluente e solução

padrão, as quais não poderiam apresentar nenhum pico coincidente com os ocorrentes na amostra, tal como no tempo de retenção de aparição do padrão. Para confirmação da hipótese desta premissa, realizou-se análise de uma amostra contaminada com padrão, a qual a pureza de pico da miricitrina e quercetina foram averiguados segundo *Software LabSolutions™ CL*.

Em complemento, analisou-se diferentes indivíduos de *P. guianensis* coletadas em Belo Horizonte, para averiguação do perfil homônimo cromatográfico, tal como análise de indivíduos de *P. torta*, *P. caimito* e *P. gardneri*, os quais foram submetidos a tratamento quimiométrico com análise de agrupamentos hierárquicos, componentes principais e *k-means clustering* conforme procedimentos descritos no item 4.2.11. para averiguação das regiões de maior diferenciação entre as espécies. Por fim, para demonstração da adequabilidade do método, analisou-se 4 indivíduos de *P. guianensis* coletados em 3 diferentes localizações de Belo Horizonte (item 4.2.1.) para verificar a reprodutibilidade do método independente das variações geográficas, tal como um mesmo indivíduo foi avaliado em quatro diferentes estações para averiguação das implicações sazonais na espécie.

4.2.6.3. Linearidade

A linearidade do método foi avaliada com a construção de três curvas analíticas, com preparo completamente independente, do padrão em diluente. As concentrações avaliadas representaram teor referente a 50%, 75%, 100%, 125% e 150% da condição de trabalho (14,76; 22,15; 29,53; 32,48 e 35,44 µg/mL, respectivamente). A avaliação do parâmetro ocorreu por análise visual do perfil linear da curva de calibração, com construção de seu modelo matemático representativo por meio do teste dos mínimos quadrados ordinários (MMQO) escolhido em função da detecção da homocedasticidade dos dados. A significância do coeficiente angular da curva foi calculada, com avaliação do coeficiente de correlação ($r > 0,990$) e coeficiente de determinação de Pearson ($r^2 > 0,98$).

4.2.6.4. Efeito matriz

A avaliação do efeito matriz ocorreu de forma semelhante ao descrito no processo de linearidade (item 4.2.6.3.), porém fez-se a construção da curva de calibração na matriz

vegetal, e não no diluente. Avaliou-se os requisitos de variância, normalidade e linearidade das curvas construídas e provou-se a aceitação da hipótese nula no teste de comparação de angularidade entre as curvas preparadas em diluente e em matriz por meio de análise no *software GraphPrism v. 8.0*

4.2.6.5. Precisão

Para avaliação da precisão um único analista preparou um padrão e seis diferentes amostras, os quais foram injetados em triplicata e uniplicata, respectivamente. O teor das amostras foi calculado e o desvio padrão relativo conforme normativa da AOAC deveria ser menor do que 7,3% (AOAC, 2016).

4.2.6.6. Precisão Intermediária

Um segundo analista, realizou o procedimento descrito no item **4.2.6.5.** com os mesmos pré-requisitos avaliados. Em complemento, realizou-se teste de normalidade dos dados de ambos os dias, com comparação dos teores obtidos por meio da estatística do teste t de *student*, o qual deveria aceitar a hipótese nula de semelhança estatística de ambos os conjuntos de dados.

4.2.6.7. Exatidão

Preparou-se três amostras nas concentrações de 50%, 100% e 150% com adição de padrão de quercetina a 100%. As áreas dos picos correspondentes a miricitrina e quercetina foram comparadas e calculou-se a recuperação amostral, a qual deveria estar entre 97,0% e 103%, com avaliação da precisão dos dados conforme item **4.2.6.5.**

4.2.6.8. Robustez

A robustez do método analítico foi avaliada em função da variação de parâmetros analíticos na condição inicial do método e estabilidade de solução. Para avaliação do impacto nas variações analíticas, optou-se pelo delineamento univariado de correlação de Youden & Steiner (YOUTEN; STEINER, 1975), conforme a **Tabelas 7**

e **Tabela 8**. Em complemento, a análise de estabilidade do teor da amostra e do padrão ocorreram com injeção em triplicata de uma mesma amostra (mesmo vial) em tempo de 0, 24, 48, 72 e 96 horas contadas a partir do momento de preparo.

Tabela 7 - Parâmetros a serem avaliados no teste de Youden & Steiner

Parâmetro	Condição Original	Condição alterada
Concentração do ácido FmA (A/a)	A – 0,20%	a – 0,25%
Concentração do ácido FmB (B/b)	B – 0,20%	b – 0,25%
Volume de injeção (C/c)	C – 10 µL	c – 8 µL
Temperatura coluna (D/d)	D – 35 °C	d – 30 °C
Fluxo FM (E/e)	E – 0,6 mL/min	e – 0,5 mL/min
Comprimento de onda (F/f)	F – 370 nm	f – 375 nm
Coluna (G/g)	G – Lote 1	g – Lote 2

Legenda: FmA-Fase móvel A; FmB- Fase móvel B

Tabela 8 - Delineamento do teste de Youden & Steiner (YOUDEN; STEINER, 1975)

Variáveis	Experimentos							
	1	2	3	4	5	6	7	8
pH FmA (A/a)	A	A	A	A	a	a	a	a
pH FmB (B/b)	B	B	b	b	B	B	b	b
Volume de injeção (C/c)	C	c	C	c	C	c	C	c
Temperatura coluna (D/d)	D	D	d	d	d	d	D	D
Fluxo da fase Móvel (E/e)	E	e	E	e	e	E	e	E
Comprimento de onda (F/f)	F	f	f	F	F	f	f	F
Coluna (G/g)	G	g	g	G	g	G	G	g

4.2.6.9. Hidrólise ácida de extratos das folhas das amostras do gênero *Pouteria* sp.

Para auxiliar no processo de diferenciação química das amostras do gênero *Pouteria* sp., utilizou-se de método de hidrólise ácida previamente descrito por Matos, Souza e Scopel (2024). Para isso, 0,4 g da droga vegetal de cada diferente espécie, de forma independente, já pulverizada, foi transferida para balão de fundo redondo, juntamente com 40 mL de ácido clorídrico 1,18 M preparado em uma solução hidro-metanólica (50:50; v/v). Em seguida, a amostra foi levada à extração utilizando equipamento de

refluxo em banho de água (90 °C), durante 205 minutos. Decorrido o tempo, a amostra foi filtrada com algodão, e a torta (juntamente com o algodão utilizado e 10 mL da solução ácida), foram levados novamente à extração por refluxo durante 10 minutos, com repetição deste último ciclo extrativo.

Os extratos combinados provenientes dos três ciclos extrativos, tiveram seu solvente eliminado sob pressão reduzida em rotaevaporador. Foram adicionados 10 mL de água ao resíduo, extraídos com acetato de etila (3 x 10 mL). A fração orgânica combinada, foi lavada com água ultrapurificada (2 x 50 mL) e posteriormente filtrada em 1 g de sulfato de sódio, seguida de redução do volume sob pressão reduzida. O resíduo foi ressuspenso em 5 mL de metanol e diluído com água:metanol na proporção de 1:5 (v/v). Esta solução foi filtrada por membrana de PVDF 0,45 µm e analisada pelo método cromatográfico desenvolvido para a droga vegetal (item 4.2.4.).

4.2.7. Análise por Cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada à espectrometria de massas de alta resolução (CLUE-ESI-Tof-MS/MS)

Para desreplicação das amostras, foram pesados cerca de 50 mg dos extratos brutos (aquoso e EHE80%) otimizados (item 6.2.2.) e transferidos para balão volumétrico de 10 mL. Em seguida, as amostras foram solubilizadas em metanol grau CLAE (Merck), com auxílio de ultrassom (5 min), para se atingir a concentração final de 5 mg/mL, acertando o menisco do balão com o mesmo solvente. Esta solução foi filtrada em filtro de PVDF 0,22 µm, e as análises foram realizadas em um sistema Nexera CLUE (Shimadzu) acoplado a um espectrômetro de massas com ionização por *electrospray* e detecção do tipo quadrupolo/tempo de voo (ESI-Q-Tof) de alta resolução MaXis ETD (Bruker) e monitorado pelo *software Compass 1.5* (Bruker).

Para isso, alíquotas de 2 µL foram injetadas em uma coluna Shimpack XR-ODSIII (C18; 150 x 2,0 mm; 2,2 µm) a 40 °C, sob uma taxa de fluxo de 0,4 mL/min. As fases móveis A e B (0,1% de ácido fórmico e acetonitrila, respectivamente) foram empregadas em uma eluição em modo gradiente a 5% B por 5 min, seguida de uma rampa linear até 100% B em 45 min e permanência a 100% B durante 5 min. Os espectros das massas foram adquiridos no modo de ionização negativo a uma taxa espectral de 5,00 Hz. Os parâmetros da fonte de íons foram ajustados para 500 V de

end plate offset, voltagem do capilar de 4.500 V, pressão do nebulizador de 3,0 Bar, e fluxo e temperatura do gás de secagem de 8,0 L/min e 200 °C, respectivamente. Espectros de fragmentação foram adquiridos em modo dependente de dados (MS/MS automatizado) usando uma rampa de energia de colisão entre 15 e 60 eV. As configurações do resfriador de íons foram otimizadas para uma faixa de 100-1500 m/z usando uma solução calibrante de formiato de sódio 1 mM em 2-propanol a 50%. A calibração de massas foi realizada por meio de infusão inicial de 20 µL de solução calibrante na fonte de íons e recalibração pós-aquisição dos dados brutos. A detecção dos compostos foi realizada por dissecação de pico cromatográfico com subsequente determinação da fórmula de acordo com a massa exata e o padrão isotópico (MS1). A identificação putativa foi baseada na comparação dos espectros de fragmentação dos compostos (MS2) com espectros de referência de substâncias padrão provenientes do banco de dados *in-house* público MassBank (HORAI *et al.*, 2010), assim como espectros de fragmentação *in silico* gerados a partir do banco de dados *Universal Natural Product Database - UNPD-ISDB* (ALLARD *et al.*, 2016). Os experimentos foram conduzidos na Fundação Oswaldo Cruz de Belo Horizonte, em parceria com a pesquisadora Dra. Carolina Paula de Souza Moreira e com o Dr. Alisson Samuel Portes Caldeira.

4.2.8. Análise por Cromatografia Líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas (CLAE-ESI-QTRAP-MS/MS)

Para certificação da presença de miricitrina nos extratos aquoso e EHE80%, preparou-se amostras na concentração de 50 ng/mL, utilizando metanol como diluente, seguido de filtração em membrana PVDF 0,22 µm. Este foi analisado em CLAE/DAD (Agilent) hifenado a espectrômetro de massas com ionização por *electrospray* e detecção do tipo triplo quadrupolo/íon trap (ESI-QTRAP) (Agilent 6460; Agilent 1290 Infinity) e monitorado pelo *software Agilent Mass Hunter Quantitative Analysis* (Agilent).

Para isso, alíquotas de 2 µL foram injetadas em uma coluna C18 (150 × 4,6 mm, 5 µm) a 40 °C, sob uma taxa de fluxo de 0,4 mL/min. As fases móveis (A) água ultrapurificada e (B) formiato de amônio 5 mM com 0,01% ácido fórmico foram empregadas em uma eluição em modo gradiente linear de 35% B até 100% B em 5 min. Os espectros das massas foram adquiridos no modo de ionização positivo e negativo a uma taxa espectral de 5,00 Hz. Os parâmetros da fonte de íons foram

ajustados para 500 V de *end plate offset*, voltagem do capilar de 4.500 V (modo positivo) e 3500 V (modo negativo), pressão do nebulizador de 45 psi, e fluxo e temperatura do gás de secagem de 11,0 L/min e 250 °C, respectivamente.

A escolha da fragmentação para miricitrina foi realizada com base no banco de dados *in-house* público MassBank (HORAI *et al.*, 2010). Para isso, foram investigadas as fragmentações no modo positivo de m/z 465 \rightarrow m/z 319 e no modo negativo de m/z 463 \rightarrow m/z 317, m/z 287, m/z 271.

4.2.9. Caracterização histológica e histoquímica

Para caracterização histológica e histoquímica do indivíduo de *P. guianensis* (voucher BHCB210380), realizou-se coleta de folhas frescas em horários iniciais da manhã (entre 07:00 e 08:00 horas), para proceder as análises no mesmo dia. Fragmentos de folhas (2 mm²) foram fixados em FAA₇₀ (formol, etanol a 70%, ácido acético glacial, na proporção de 1:1:18; v/v/v) por 48 horas. Posteriormente, foram desidratados em série ascendente de n-butilo (Johansen, 1940) e gradualmente incluídos em Paraplast Plus (Kraus e Arduin, 1997). Cortes transversais (12 mm) foram obtidos utilizando um micrótomo rotativo (Leica 2035 Biocut, Leica Microsystems, Wetzlar, Alemanha), fixados em lâminas, desparafinados com acetato de butila e reidratados em uma série alcoólica. As seções foram coradas com Astra blue e safranina (9:1) conforme descrito por Kraus e Arduin (1997), desidratadas e montadas com verniz incolor Acrilex (Paiva *et al.*, 2006).

Os testes histoquímicos para metabólitos vegetais primários e especiais, foram realizados conforme descrito na **Tabela 9**, adaptada de Carneiro *et al.* (2014). Para este ensaio, realizou-se cortes a mão livre com lâmina de metal, os quais foram deixadas em contato com os reagentes descritos. Com finalidade de comparação, fez-se um controle (branco amostral) e as amostras foram fotografadas em microscópio micro-escopo (Olympus BH-2).

Tabela 9 - Testes, metabólitos e procedimentos realizados na histoquímica vegetal

Teste /Classe de metabólitos avaliada	Reagentes	Referências
DMACA- Flavonoides	Fixação em benzoato de sódio a 0,5%, preparado em butanol 90% durante 1-2 h. Reação: 1% p-dimetilaminocinamaldeído a 1% durante 30 min.	(FEUCHT; SCHMID; CHRIST, 1986)
Deggendorf- Alcaloides	Solução de Draggendorf por 10 min	(YODER; MAHLBERG, 1976)
Cloreto férrico- Fenólicos	Solução de cloreto férrico a 1% durante 5 min	(JOHANSEN, 1940)
NADI- Terpenóides	1% de α -naftol com 1% de dimetil-p-fenilenodiamina em tampão fosfato 0,01 M (pH 7,2) por até 30 min	(DAVID; CARDE, 1964)
SUDAN- Lipídeos totais	Solução saturada de vermelho Sudão B em etanol 70 °GL durante 5 minutos	(BRUNDRETT; KENDRICK; PETERSON, 1991)

4.2.10. Avaliação da atividade antioxidante de extrato de folhas de *P. guianensis*

Com o intuito de realizar a avaliação da atividade antioxidante de *P. guianensis*, preparou-se extratos com 15 diferentes diluentes (água, soluções hidroetanólicas de 10-90%-v/v-, etanol, metanol, acetato de etila, hexano e clorofórmio) da droga vegetal pulverizada. Para isso, as amostras foram preparadas conforme descrito no item 4.2.1., utilizando os solventes propostos. Após a obtenção da solução de 10 mg/mL, transferiu-se 200 μ L de seu volume para balão volumétrico de 10 mL, com diluição sucessiva de 3,5 mL para balão volumétrico de 10,0 mL, utilizando metanol como diluente.

Para a realização do ensaio, 100 μ L desta solução (70 μ g/mL) foi mantida em contato com 40 μ L uma solução metanólica de 300 μ Mol de 2,2-difenil-1-picrilhidrazil, em microplaca de 96 poços, protegida da luz por 30 minutos. Decorrido o tempo, as leituras foram realizadas em espectrofotômetro no comprimento de onda de 517 nm. Realizou-se conjuntamente a leitura das amostras, soluções de branco amostral (substituindo a solução de DPPH por metanol), controle negativo (substituindo o volume amostral por metanol), e controle positivo, substituindo a solução amostral por uma solução de 7 μ g/mL de rutina e seus respectivos brancos. Todas as amostras

foram preparadas em três diferentes placas, com três triplicatas independentes. Após finalizado o teste, o teor da atividade antioxidante foi calculado segundo fórmula 1:

$$\textit{Atividade antioxidante (\%)}: \frac{\textit{AbsAm} - \textit{AbsCN}}{\textit{AbsCN}} \quad (1)$$

Onde:

AbsAm = Absorbância da amostra subtraída de seu branco

AbsCN = Absorbância do controle negativo subtraída de seu branco

Realizou-se, na sequência, duas curvas analíticas (com 7 pontos avaliados em triplicata) no modelo com os extratos aquoso e hidroetanólico 80% para seus respectivos cálculos de IC₅₀. A faixa de avaliação dos extratos foi determinada de forma empírica, a fim de se identificar a faixa linear de avaliação dos extratos.

4.2.11. Análise quimiométrica

Para correlação dos dados obtidos na atividade antioxidante com o perfil químico das amostras, todos os extratos avaliados no item **4.2.10.** foram avaliados por CLAE, segundo item **4.2.4.**, sendo todos os picos cromatográficos anotados e tabulados. Todos os extratos que apresentaram até 50% da capacidade antioxidante do extrato mais ativo foram classificados como ativos, sendo os demais não ativos.

Utilizando a linguagem R de programação (R *Foundation for Statistical Computing*, Vienna, Austria, versão 4.0.3) interpolou-se os dados instrumentais e da atividade antioxidante, de forma paramétrica univariada, com padronização escalar em função da média e normalização das variáveis dependentes pelo método de *Row-wise normalization*. Foram realizadas exploratoriamente as análises não supervisionadas de componentes principais (ACP), mapa de calor, análise de agrupamentos hierárquicos (AAH) e análise discriminante de mínimos quadrados parciais (ADMQP) utilizando o pacote *MetaboAnalystR* 5.0.

4.3. Resultados e discussão

4.3.1. Prospecção fitoquímica

As análises fitoquímicas iniciais possuem como objetivo o rastreio metabólico constitucional de espécies vegetais, por meio de testes preliminares e preditivos que sejam, preferencialmente, rápidos, fáceis e de baixo custo de realização (NAFIU *et al.*, 2017). Com o propósito de averiguar as classes de compostos das espécies de *Pouteria* spp. e comparar seus resultados com os dados do gênero, realizou-se uma marcha fitoquímica clássica, conforme demonstrado na **Tabela 10**.

Com os resultados obtidos, pode-se observar elevada verossimilhança constitutiva entre as espécies, com algumas divergências. Dentre estas, pode-se explicitar a ausência de taninos condensados em *P. guianensis* e um aumento de taninos hidrolisáveis, os quais, apesar de apresentarem ações farmacológicas semelhantes, podem-se distinguir no nível de efeito obtido em modelos *in vitro* e *in vivo* (KATO *et al.*, 2017; WALL-MEDRANO, 2015).

A presença majoritária de flavonoides no gênero já foi previamente relatada e foi confirmada pela marcha fitoquímica, tal qual diversos terpenos e terpenoides que foram isolados e identificados anteriormente no gênero, confluindo com os resultados positivos encontrados (CACCIOLA *et al.*, 2016; CHACÓN-ORDÓÑEZ *et al.*, 2017; GUERRERO-CASTILLO *et al.*, 2019). Ao contrário do cenário supracitado, tem-se a classe de alcaloides, que apesar da presença ter sido identificados no experimento, a aspidocarpina é a única relatada na literatura (PAI; SHENOY, 2020). Contudo, devido à atividades psicotrópicas características desta classe, estes podem ser candidatos a marcadores químicos, se confirmados, para ação do gênero em fenômenos neurais, os quais não apresentam mecanismo de ação elucidado com os fitoconstituintes identificados (FILHO *et al.*, 2018; PEDRO *et al.*, 2020).

Tabela 10 - Resultados da marcha fitoquímica, com as classes metabólicas investigadas e testes realizados

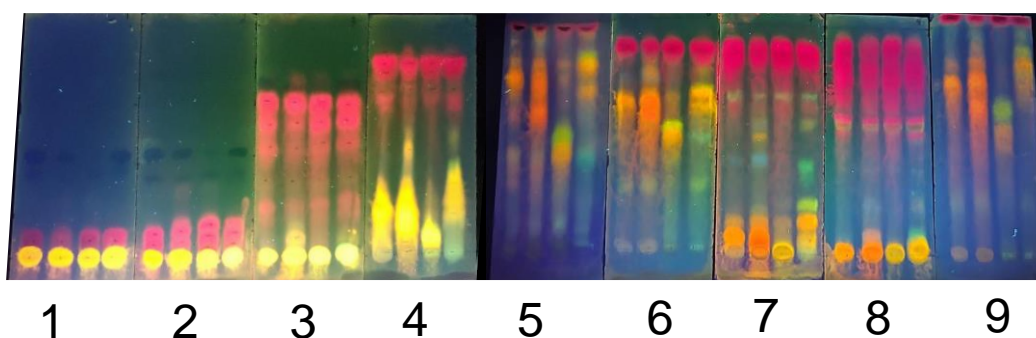
Classe	Teste / Metabólitos	Extrato							
		Aquoso				EHE80%			
		1	2	3	4	1	2	3	4
Fenóis e Taninos	Fenóis	+	+	+	+	+	+	+	+
	Taninos hidrolisáveis	+	-	-	-	+	+	+	+
	Taninos condensados	-	+	+	+	-	-	-	-
Antocianinas, antocianidinas e flavonoides	Antocianinas e antocianidinas	-	-	-	-	-	-	-	-
	Flavonas, flavonóis e xantonas	+	+	+	-	+	+	+	+
	Chalconas e auronas	-	-	-	-	-	-	-	-
	Flavonóis	+	-	-	+	-	-	-	-
Saponinas	Agitação vigorosa do extrato	+	+	+	+	+	+	+	+
Alcaloides	Mayer	+	+	+	+	-	-	-	-
	Dragendorff	+	+	+	+	-	-	-	-
	Wagner	-	-	-	-	-	-	-	-
Cumarinas	Contato de papel de filtro basificado com NaOH 10% com o vapor do extrato em ebulição	+	+	+	+	+	+	+	+
Leucoantocianidinas, catequinas e flavononas	Leucoantocianidinas	+	+	-	+	+	+	+	+
	Catequinas	-	-	+	-	-	-	-	-
	Flavononas	-	-	-	-	-	-	-	-
Triterpenos	Liebermann-Burchard	-	-	-	-	-	-	-	-
	Salkowski	+	+	+	+	+	+	+	+

Legenda: 1- *P. guianensis*; 2- *P. torta*; 3- *P. caimito*; 4- *P. gardneri*; “-” – Negativo para o teste; “+” – Positivo para o teste

Desta forma, entre as espécies, outros estudos são demandados para averiguar se os compostos das classes identificadas são os mesmos, ou se diferenciam. Confluindo a isto, necessita-se de confirmações espectrométricas ou caracterizações fitoquímicas com isolamento de metabólitos afim de corroborar com os perfis qualitativos e quantitativos dos componentes extraídos. Desta forma, devido às avaliações com desfecho visual e seus vieses, em prosseguimento com a pesquisa, desenvolveu-se métodos cromatográficos, enfocando nos flavonoides e fenólicos totais, os quais estiveram presentes em todas as espécies e já foram relatados como possíveis marcadores ativos das espécies (COSTA *et al.*, 2014; DA SILVA *et al.*, 2012).

4.3.2. Cromatografia em Camada Delgada (CCD)

A cromatografia em camada delgada é um valioso recurso, por se tratar de uma técnica barata, rápida, precisa e reproduzível (CHEWCHIDA; VONGSAK, 2019; RANI *et al.*, 2016). Sua realização possibilita a obtenção de um perfil químico inicial de extratos, o qual apresenta plausível aplicabilidade na seletividade de indivíduos vegetais (YAO *et al.*, 2021), haja visto, a dificuldade da caracterização botânica de diversos gêneros, dos quais pode-se citar a verossimilhança morfológica de espécies de *Pouteria* spp (VASCONCELOS *et al.*, 2021). Desta forma, a **Figura 7** apresenta os resultados encontrados nos testes de fase móvel experimentados, sendo a fase móvel descrita por SATHISHKUMAR *et al.* (2011) não avaliada devido a imiscibilidade da fase móvel. Em todos os testes a ordem de aplicação das amostras nas placas foi de *P. guianensis*, *P. torta*, *P. caimito* e *P. gardneri*.



Legenda: 1- Hexano : éter etílico (4:1; v/v); 2- Hexano : acetato de etila (9:1; v/v); 3- Hexano : acetato de etila (3:2; v/v); 4- Hexano : acetato de etila: Metanol (4:4:1; v/v/v); 5- Acetato de etila : ácido acético : ácido fórmico : água (100:11:11:27; v/v/v/v); 6- Acetato de etila : metanol : água (7,7:1,3:1; v/v/v); 7- Tolueno : acetato de etila : ácido fórmico (50:40:10; v/v/v); 8- Tolueno : clorofórmio : etanol (88,5:57:14,5; v/v/v); 9- Diclorometano : etanol : água (25:15:2; v/v/v).

Figura 7 - Teste de diferentes fases móveis para diferenciação química de espécies de *Pouteria* spp.

A extração da droga vegetal com metanol favorece a extração não seletiva de compostos fenólicos, como flavonoides e ácidos fenólicos (WAGNER; BLADT, 1996). Desta forma, utilizou-se o reagente de produtos naturais como revelador, o qual, após aspergido sobre a cromatoplaça e visualizado em 365 nm favorece o aparecimento de bandas de coloração amarelo, alaranjado, ou amarelo alaranjado correspondentes

aos flavonoides; azul ou azul-esverdeada às cumarinas e ácidos fenólicos e vermelho às clorofilas (WAGNER; BLADT, 1996).

Apesar das fases móveis dos sistemas 1 e 2 terem sido relatadas para utilização do gênero estudado, nenhuma ilustração do resultado obtido foi encontrada nos manuscritos publicados, sendo que o primeiro sistema foi relatado para substâncias lipofílicas isoladas, com grande retenção do material polar, nos extratos obtidos (MURILLO *et al.*, 2020; JEGEDE; IBRAHIM; OBOH, 2009). De forma semelhante, os sistemas 3 e 4 foram relatados com melhor resolução para extratos hexânicos, demonstrando baixa resolução dos metabólitos desejados (JEGEDE; IBRAHIM; OBOH, 2009).

Os demais sistemas, apresentaram maior diversidade dos metabólitos, com melhor resolução entre as bandas. Desses, foram escolhidos dois sistemas, por apresentarem manchas diferenciais entre os metabólitos, conforme representado na **Figura 8**. Estes foram selecionados focando majoritariamente os flavonoides (5) e os compostos fenólicos em geral (6). Nela, além de uma diversidade entre as manchas de flavonoides presentes, é possível observar uma menor riqueza qualitativa de compostos fenólicos e cumarinas na *P. caimito*, se comparado às demais.

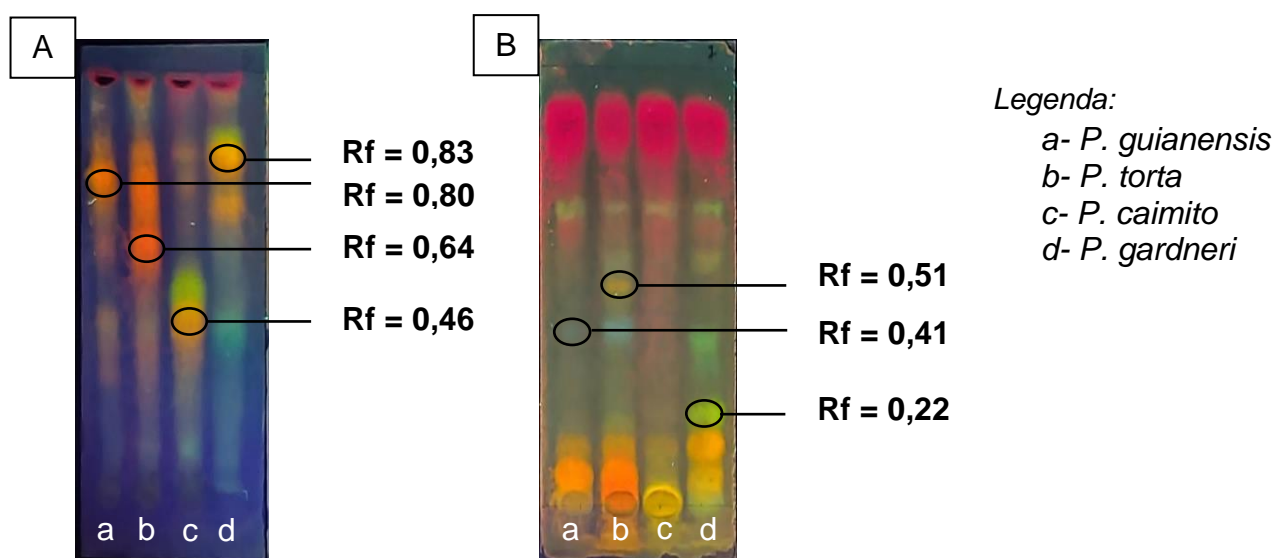


Figura 8 - Sistemas selecionados para diferenciação de espécies de *Pouteria* spp. com enfoque em flavonoides (A) : Acetato de etila : ácido acético : ácido fórmico : água (100:11:11:27; v/v/v/v) e compostos fenólicos (B): Tolueno : acetato de etila : ácido fórmico (50:40:10; v/v/v); com seus compostos diferenciais.

Com estes sistemas, se torna factível uma ferramenta simples de diferencial para as espécies para corroborar com avaliações botânicas, e principalmente com o controle de qualidade da droga vegetal, devido a versatilidade de seu uso (BRAZ *et al.*, 2012; WAKSMUNDZKA-HAJNOS *et al.*, 2023). Contudo, sua aplicabilidade depende de algumas desvantagens, como necessidade de elevada concentração do metabólito para detecção, limitações para utilização em condições de estabilidade e averiguação se os metabólitos que aparecem, realmente se confirmam entre as espécies, haja visto que o tempo de retenção de substâncias com estruturas semelhantes pode ser próximo (CHEW; KHOR; LIM, 2021).

4.3.3. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

O desenvolvimento do método cromatográfico, sucedeu-se conforme condição presente na literatura e a expertise do nosso grupo de pesquisa. Contudo, os métodos descritos previamente não apresentavam adequabilidade de utilização devido a inespecificidade, seletividade e baixo número de compostos identificados (COSTA *et al.*, 2014; DE SOUSA *et al.*, 2019). Na Figura 9 pode-se observar este perfil, uma vez que a condição descrita previamente por Costa *et al.* (2014), se demonstrou com maior pobreza qualitativa e quantitativa que os demais métodos avaliados.

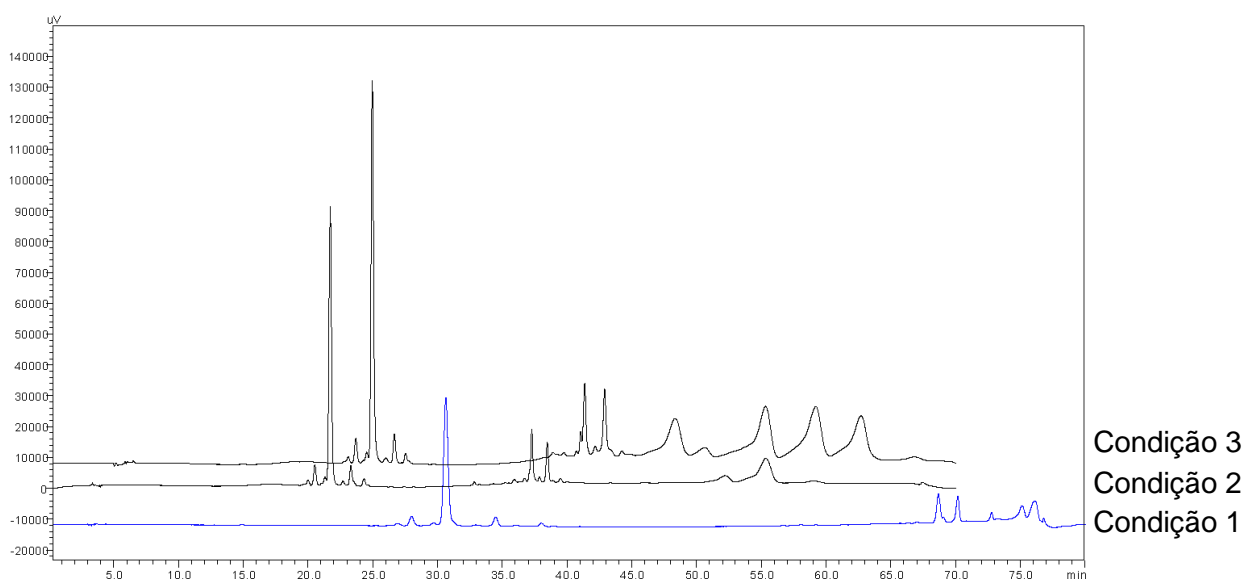


Figura 9 - Teste inicial de três condições para o desenvolvimento de método analítico para *Pouteria guianensis* (Aubl.).

A ausência de compostos e de sensibilidade se torna um problema, uma vez que a técnica de CLAE se diferencia das demais justamente pela separação de misturas complexas, com redução da perda de informações sobre os constituintes (SHOCKCOR, 2017). Contudo, após determinação de um melhor método inicial de análise, é necessário que seja realizado procedimento de otimização experimental segundo técnicas de “*Quality by Design-QBD*” aplicadas a analítica, como o “*Analytical Quality by Design-AQBD*”, o qual altera-se os modulares instrumentais, de forma a obter maior número de compostos identificados, maior resolução e melhor sinal/resposta dos picos apresentados (TOME *et al.*, 2019). Isto é extremamente necessário, para atender os pré-requisitos do guia normativo Q8(R2) do ICH (*International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use*) que definem o QBD como “uma abordagem sistemática para desenvolvimento farmacêutico que começa com objetivos predefinidos e enfatiza produto, entendimento e controle dos processos, baseado em dados científicos sólidos e gestão do risco da qualidade, que objetiva segurança e confiabilidade de resultados apresentados” (ICH, 2009; VERCH *et al.*, 2022).

Apesar de existirem abordagens uni e plurimodais para realização desta técnica, optou-se no trabalho por realizar análises exploratórias de otimização individuais (BEG *et al.*, 2021). Para esta metodologia, optou-se por continuar com a condição 3, testada (**Figura 9**), devido ao perfil qualitativo obtido determinou-se como variáveis independentes da avaliação de desfecho instrumental obtido, o número de picos cromatográficos identificados, a resolução entre estes, relação sinal/ruído obtida e reprodutibilidade do método. Desta forma, os resultados obtidos com a otimização podem ser visualizados na **Figura 10**.

Nos cromatogramas das condições experimentais avaliadas, três diferentes regiões de picos cromatográficos puderam ser observadas. A primeira entre 20 e 35 minutos, a segunda de 35 a 45 minutos e a terceira de 45 minutos ao final da corrida cromatográfica. Devido a baixa robustez, de forma espúria, além de ausência de espectro na região do ultravioleta de substâncias de interesse farmacológico previamente descritas, o último grupo foi desconsiderado no desenvolvimento.

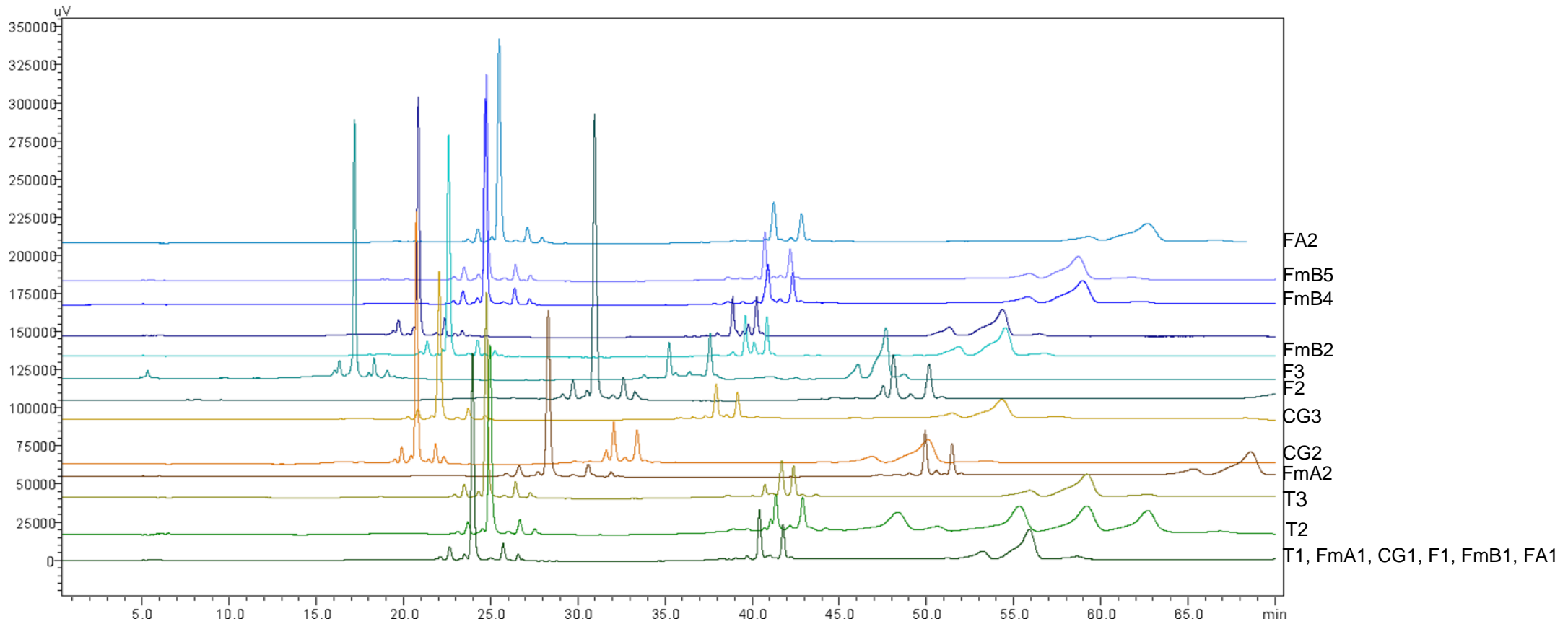


Figura 10 - Perfil de otimização dos sistemas cromatográficos descritos no item 4.2.4. com as condições de análise das variações instrumentais.

Legenda: T- alteração de temperatura, FmA- alteração da concentração de acidificação da fase móvel, CG- alteração da inclinação da curva de gradiente, FmB- alteração do modificador orgânico, FA- alteração da força do ácido utilizada.

Nos métodos onde houve variação de temperatura (T1: 30 °C; T2: 35 °C; T3: 40 °C), verificou-se que, na temperatura de 40 °C aplicado no forno da coluna, os cromatogramas apresentaram melhor resolução entre os picos, sendo esta a definida para as demais corridas cromatográficas. É descrito que a temperatura, modula a velocidade de transferência das partículas entre a fase estacionária e a fase móvel, aumentando o número de trocas das substâncias com as fases móveis, e favorecendo melhor resolução dos picos cromatográficos (ADLOF; LIST, 2004; GONZÁLEZ-ZAMORA *et al.*, 2013).

Outro parâmetro avaliado foi a acidificação da fase móvel. A alteração de pH, altera a ionização molecular e favorece a reprodutibilidade do método por manter as substâncias no mesmo grau de ionização (KITE; PORTER; SIMMONDS, 2007; RODRIGUES *et al.*, 2021). No estudo, a maior concentração de ácido favoreceu a simetria dos picos cromatográficos, rapidez na estabilização da coluna e resolução. A alteração abrupta do terceiro grupo (50 - 65 minutos) de sinais diante dos testes, indica a modulação dos metabólitos de forma pH dependente e permite inferência de algumas classes metabólicas como proantocianidinas, contudo, seriam necessários estudos comprobatórios para esta premissa (MANNINO *et al.*, 2021). Ressalta-se que concentrações de ácidos mais elevadas não foram testadas, pensando na manutenção da coluna cromatográfica, visando a manutenção de bom número de pratos teóricos e maior tempo de sua utilização.

Em continuidade, dois tipos de ácidos foram avaliados (ácido fosfórico e ácido fórmico), haja visto que a capacidade ionizadora modula do nível de deslocamento na reação em equilíbrio de protonação das substâncias (TRIPATHY *et al.*, 2019). Neste teste, como demonstrada a necessidade de acidificação da fase móvel pelo teste anterior, optou-se por acidificar ambas as fases móveis, sendo o ácido fosfórico o selecionado, por causas análogas às supracitadas.

Pensando na alteração do número de pratos teóricos e possível melhora do sistema analítico, tem-se que a inclinação da curva de gradiente modula a velocidade de alteração da polaridade da fase móvel, alterando, em consequente, a velocidade das interações intermoleculares do analito com a fase estacionária (DURNER; EHMANN; MATYSIK, 2019). Neste estudo, a curva de inclinação intermediária, 0-30 min (5-95%B), se mostrou a mais satisfatória diante das variáveis de desfecho.

De forma semelhante, o fluxo da fase móvel, também modula a quantidade de pratos teóricos, além de ter influência mecânica abrasiva na remoção das interações entre analito e fase estacionária (FEKETE *et al.*, 2012; FOSTER *et al.*, 2021). Neste, optou-se pelo fluxo intermediário de 0,6 mL/min, uma vez que o fluxo no nível menor impediu a saída dos compostos do terceiro agrupamento de picos cromatográficos, tornando o método ou exaustivamente maior, ou contaminando amostras posteriores. Além disso, o fluxo mais elevado aumentou a coeluição entre picos de intensidade menor e prejudicou a pureza do pico majoritário observado. Além disso, a pressão instrumental foi elevada consideravelmente, tornando indicativo problemas futuros em corridas analíticas mais longas.

Como último fator avaliado, teve-se a composição do modificador orgânico, o qual altera inevitavelmente a polaridade do sistema cromatográfico. Enquanto o metanol apresenta maior polaridade, a acetonitrila é um modificador menos abrupto, sendo que ambos não apresentam absorvidade na região do UV avaliada (MOLDOVEANU; DAVID, 2013). Desta forma, utilizando as variáveis de desfecho previamente elencadas, metanol acidificado foi o escolhido para o método oficial da análise, o qual está representado na **Tabela 11**, e o cromatograma final obtido pode ser visualizado na **Figura 11**.

Tabela 11 - Método final em CLAE desenvolvido para a espécie *Pouteria guianensis* (Aubl.)

Tempo (Min)	0,2% ácido fosfórico	Metanol 0,2% ácido fosfórico	Fluxo (mL/min)	Temperatura do forno (°C)	Volume de injeção (µL)
0	95	5			
30	5	95			
60	5	95	0,6	40	10
65	95	5			
70	95	5			

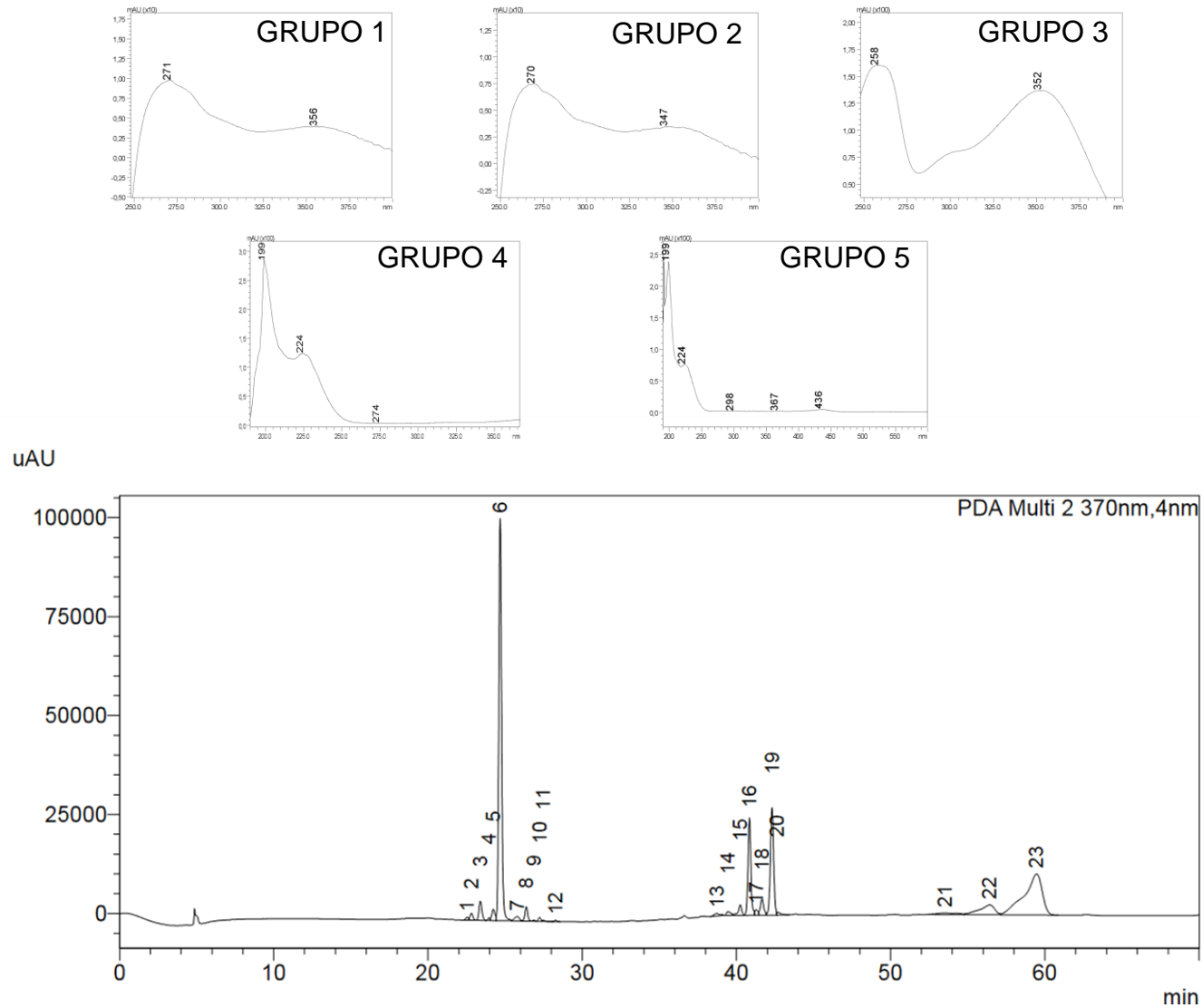


Figura 11 - Cromatograma de CLAE-DAD com sistema cromatográfico desenvolvido e picos majoritários com seus respectivos espectros de absorção no ultravioleta de *Pouteria guianensis* (Aubl.) visualizado em 254 370nm. Grupo 1 (picos 1, 2, 4, 5, 8, 11 e 12), Grupo 2 (picos 3,7,9,10), Grupo 3 (pico 6), Grupo 4 (picos 13 a 20) e Grupo 5 (picos 21 a 23)

4.3.4. Otimização das condições extrativas para folhas de *P. guianensis*

Os compostos fitoquímicos bioativos, são majoritariamente formados por metabólitos especiais que desempenham função fisiológica, ou atuam de forma a neutralizar patógenos (MEREGALLI *et al.*, 2020). Dentre estes, os flavonoides, apresentam ações farmacológicas que se correlacionam diretamente com os relatos de utilização etnofarmacológica com o gênero (MARZUKI; HAMID; WAHAB, 2018), das quais pode-se citar comprovada atividade antioxidante, anti-inflamatória e imunomoduladora (ALBUQUERQUE *et al.*, 2021).

Devido a sua versatilidade terapêutica, os flavonoides foram o grupo escolhido para otimização das condições extrativas das folhas de *P. guianensis* (picos 1 ao 12 do cromatograma, escolhidos com base no perfil de UV, item 4.3.3.). O preparo das amostras, com máxima capacidade de extração de compostos vegetais, também é uma etapa do desenvolvimento de métodos analíticos que utilizam a premissa do AQBD (ICH,2009). Ademais, esta etapa permite conhecer as peculiaridades vegetais no que tange a extração de seus metabólitos, variáveis que precisam ser fortemente controladas e as que não influenciam no processo de obtenção de extratos enriquecidos (CIBIN *et al.*, 2022; MA *et al.*, 2020).

Estudos das condições de extração das folhas de *Pouteria* spp. não foram encontrados na literatura consultada, sendo apenas seus frutos e sementes avaliados sob esta ótica, com avaliação do tempo de sonicação, temperatura e proporção droga vegetal/solvente utilizados para estimar as faixas de variabilidade dos parâmetros utilizadas no estudo (CIBIN *et al.*, 2022; MA *et al.*, 2020; RODRÍGUEZ *et al.*, 2018; SATHISHKUMAR *et al.*, 2011; SOARES *et al.*, 2022; TACIAS-PASCACIO *et al.*, 2021). Optou-se em realizar a extração utilizando equipamento de ultrassom, conforme os métodos relatados na literatura para o gênero, devido ao seu caráter promissor de extração, com boa efetividade e estabilidade dos metabólitos vegetais de interesse (PALMA *et al.*, 2021).

De forma complementar, a literatura foi consultada para averiguação de desenhos metodológicos para folhas de plantas semelhantes (mesma ordem e família). Com os resultados, pode-se perceber que além dos parâmetros de temperatura (CHE *et al.*, 2017), relação droga vegetal/solvente (FATTAHI; RAHIMI, 2016) e tempo de extração em ultrassom (GIACOMETTI; ŽAUHAR; ŽUVIĆ, 2018), o número de ciclos extrativos

também poderia interferir na análise e foi considerado no modelo (GONZÁLEZ-SILVA *et al.*, 2022).

Após a realização dos testes de otimização e plotagem de dados no *software* utilizado, o modelo apresentou $p_{\text{valor}} < 0,0001$ ($F_{\text{ajustado}} = 68,39$, $df = 15$); com curvatura igualmente significativa ($p_{\text{valor}} < 0,0001$, $F_{\text{ajustado}} = 141,41$, $df = 15$). A regressão linear apresentou $R^2 = 0,9846$ e R^2 ajustado = 0,9702, com variância de baixo impacto, e coeficiente de variação igual a 1,75. Devido a análise do tipo fatorial 2^4 completa, com dois níveis, um ponto central e duplicata, o poder de predição para todas as variáveis analisadas foi de 99,9%.

Por se tratar de uma metodologia paramétrica a normalidade dos dados foi averiguada por meio da correlação de Pearson, a qual apresentou $p > 0,05$, fazendo com que os dados não necessitassem de ajustes matemáticos. Com as análises de comparação de variância, obteve-se elevada correlação entre todas as condições avaliadas, excetuando-se pela relação droga vegetal/solvente de forma isolada ($p_{\text{valor}} = 0,5649$). Contudo, como a correlação desta com as demais variáveis apresentou significância estatística, os quatro preditivos escolhidos foram incluídos no modelo matemático desenvolvido, conforme pode ser visualizado na **Tabela 12**.

A análise de pareto foi empregada para saber se a correlação entre as variáveis apresentava caráter positivo (+1) ou negativo (-1) (**Figura 12A**). Além disso, fez-se avaliação da homocedasticidade (normalidade dos resíduos), a qual apresentou-se de forma gaussiana e está representada na **Figura 12B**.

Conforme demonstrado no diagrama, as variáveis ABC e ACD em conjunto e a temperatura de extração de forma isolada, precisam ser controladas, com elevado risco de redução do teor de flavonoides totais extraídos. De forma análoga, a temperatura de extração apresentou perfil negativo, indicando que elevadas temperaturas tendem a apresentar menor sucesso de extração do sistema. Pode-se gerar a hipótese que isto ocorra, uma vez que diante da produção e contenção de látex, característico do gênero, nas células laticíferas, maiores temperaturas podem gerar o rompimento da membrana da organela e aprisionar os metabólitos em sua rede viscosa (NAVAS-FLORES *et al.*, 2021).

Tabela 12 - Avaliação da significância das variáveis escolhidas para otimização extrativa e suas correlações utilizando a área dos picos cromatográficos com espectro na região do ultravioleta característicos de flavonoides

Variável	Soma dos quadrados	df	Média dos quadrados	Valor de F	Valor de p
Modelo	$2,50 \cdot 10^{16}$	15	$1,66 \cdot 10^{15}$	68,39	< 0,0001
A- Tempo de sonicação	$3,58 \cdot 10^{15}$	1	$3,58 \cdot 10^{15}$	147,33	< 0,0001
B- Número de ciclos	$1,02 \cdot 10^{16}$	1	$1,02 \cdot 10^{16}$	421,04	< 0,0001
C- Temperatura	$1,20 \cdot 10^{15}$	1	$1,20 \cdot 10^{15}$	49,24	< 0,0001
D- Relação Droga/Solvente	$8,41 \cdot 10^{12}$	1	$8,41 \cdot 10^{12}$	0,3455	0,5649
AB	$1,35 \cdot 10^{15}$	1	$1,35 \cdot 10^{15}$	55,60	< 0,0001
AC	$4,12 \cdot 10^{14}$	1	$4,12 \cdot 10^{14}$	16,92	0,0008
AD	$2,94 \cdot 10^{14}$	1	$2,94 \cdot 10^{14}$	12,09	0,0031
BC	$5,24 \cdot 10^{13}$	1	$5,24 \cdot 10^{13}$	2,15	0,1618
BD	$5,75 \cdot 10^{14}$	1	$5,75 \cdot 10^{14}$	23,63	0,0002
CD	$2,19 \cdot 10^{14}$	1	$2,19 \cdot 10^{14}$	8,98	0,0085
ABC	$1,52 \cdot 10^{15}$	1	$1,52 \cdot 10^{15}$	62,40	< 0,0001
ABD	$2,86 \cdot 10^{15}$	1	$2,86 \cdot 10^{15}$	117,40	< 0,0001
ACD	$4,89 \cdot 10^{14}$	1	$4,89 \cdot 10^{14}$	20,08	0,0004
BCD	$3,74 \cdot 10^{14}$	1	$3,74 \cdot 10^{14}$	15,38	0,0012
ABCD	$1,78 \cdot 10^{15}$	1	$1,78 \cdot 10^{15}$	73,28	< 0,0001
Curvatura	$3,44 \cdot 10^{15}$	1	$3,44 \cdot 10^{15}$	141,41	< 0,0001
Erro total	$3,89 \cdot 10^{14}$	16	$2,43 \cdot 10^{13}$	-	-
Erro corrigido	$2,88 \cdot 10^{16}$	32	-	-	-

A representação das correlações ternárias e binárias de maiores impactos no modelo podem ser visualizadas na **Figura 12C, 12D e 12E**, respectivamente. Nela é possível observar que baixas proporções de droga/solvente (nível -1) não influenciam em um cenário de capacidade máxima extrativa do modelo, caso as demais variáveis estejam em seu limite superior avaliado (+1). Contudo, na ausência do impacto da relação droga/solvente, todas as demais variáveis precisariam estar no limite superior (+1) para otimização da análise, indicando que apesar de não ser uma variável determinística a relação droga/solvente é uma variável moduladora do sistema (LUO *et al.*, 2018).

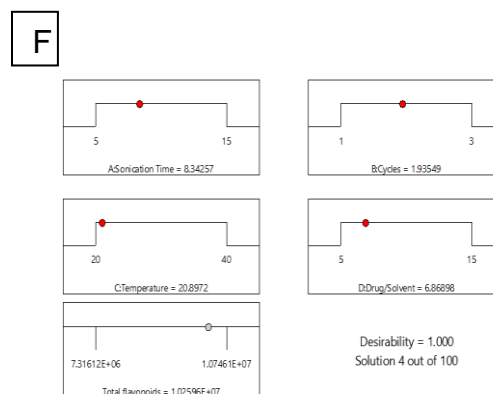
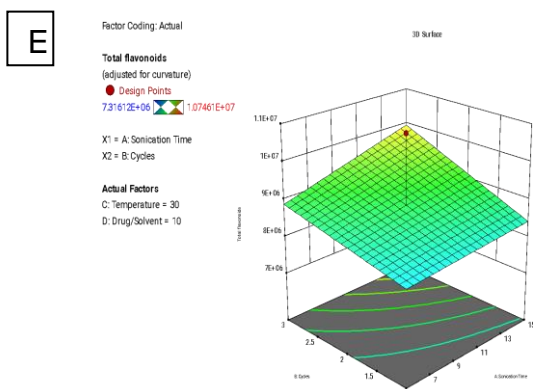
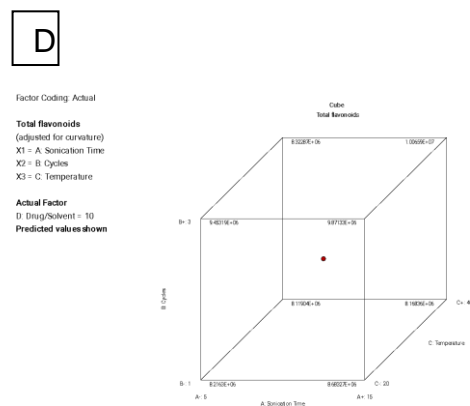
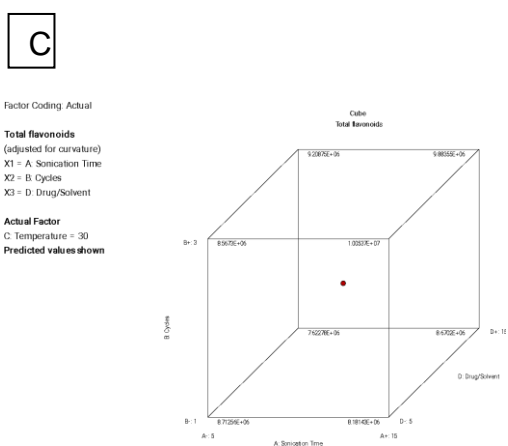
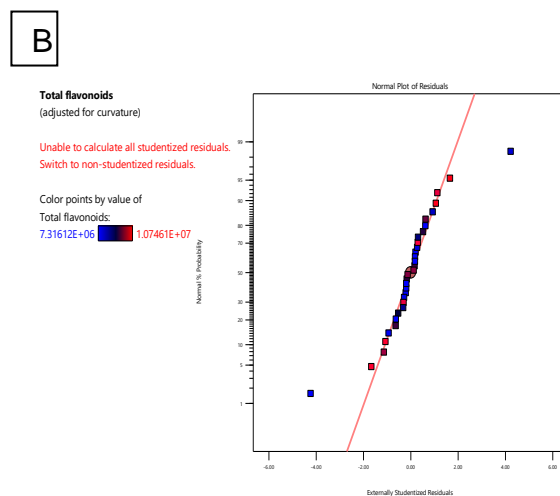
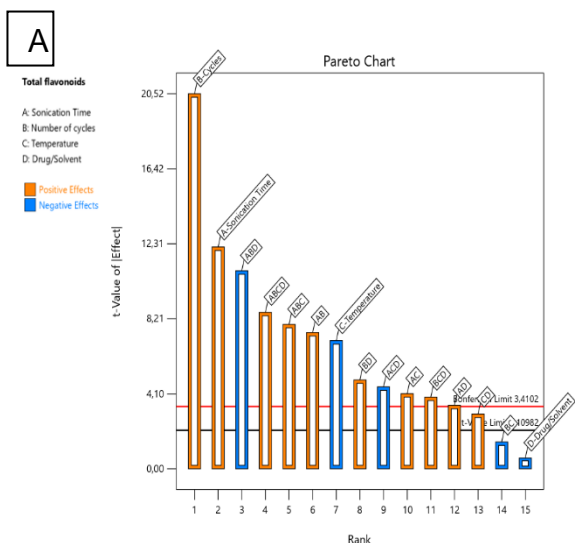


Figura 12 - Diagrama de pareto (A), Gráfico QQ-plot da homoscedasticidade dos resíduos (B); Gráficos ternários das correlações de maior influência (C e D); Gráfico de superfície da correlação de maior influência no modelo (E) e condição final otimizada de extração.

Desta forma, percebe-se que na presença das quatro variáveis (tempo de sonicação; número de ciclos, temperatura e proporção droga solvente), a capacidade máxima de extração dos metabólitos está próxima ao valor central (nível 0) de todas as variáveis, excetuando-se pela relação droga/solvente, ao qual permaneceu intermediária entre os níveis -1 e 0 (**Figura 12F**).

Ao final das avaliações, foi-se possível obter uma condição extrativa adequada, utilizando baixa temperatura (21 °C) e baixo tempo de extração (8 minutos), com dois ciclos extrativos e relação droga/solvente igual a 7. Desta forma, garante-se baixa demanda da droga vegetal, com economia de insumos para estudos laboratoriais e conservação de metabólitos devido a baixa agressividade térmica. Futuramente, se aplicado a realidades fabris e comerciais, a otimização proporciona economia financeira para escalonamento do método, devido a ausência de necessidade de seu aquecimento, o qual é um problema de geração de valor agregado do produto acabado a nível industrial (JUN, 2009).

Em complemento, para a disseminação da utilização populacional da espécie, é necessário a conscientização acerca da forma correta de preparo vegetal, para que malefícios oriundos do processo extrativo não acometam os seus usuários, haja visto que a cadeia logística entre a coleta da planta e consumidor já apresentam diversos riscos inerentes ao processo (ANTONUCCI *et al.*, 2019; MANGLA *et al.*, 2022). Após obtenção do método cromatográfico mais adequado e otimização experimental extrativa, validou-se o método para que ele possa servir de referência para utilizado em rotinas laboratoriais com enfoque em controle de qualidade vegetal.

4.3.5. Validação

4.3.5.1. Seletividade

A seletividade do método analítico se refere à capacidade de detectar o analito de forma inequívoca na matriz, esquivando-se de possíveis interferentes e componentes da matriz que possam estar presentes (MARSON *et al.*, 2020). Seu conceito se difere da especificidade, uma vez que neste a resposta obtida é direcionada apenas a um analito, sendo inviável para espécies vegetais, as quais apresentam diversos marcadores, ativos e não ativos (AVILA-SOSA *et al.*, 2022; ROY *et al.*, 2017)

No estudo, a seletividade foi averiguada em quatro diferentes etapas. No primeiro caso, (**Figura 13**), avaliou-se a seletividade por meio da estratégia baseada em erros de medição (DORKÓ; VERBIĆ; HORVAI, 2015), no qual é possível observar que o analito apresenta tempo de retenção único, o qual não corresponde a nenhum pico do diluente e não apresenta interferência do padrão, sendo que os picos do analito e do padrão, ao serem analisados pelo método de 9 pontos do equipamento não identificaram nenhuma impureza.

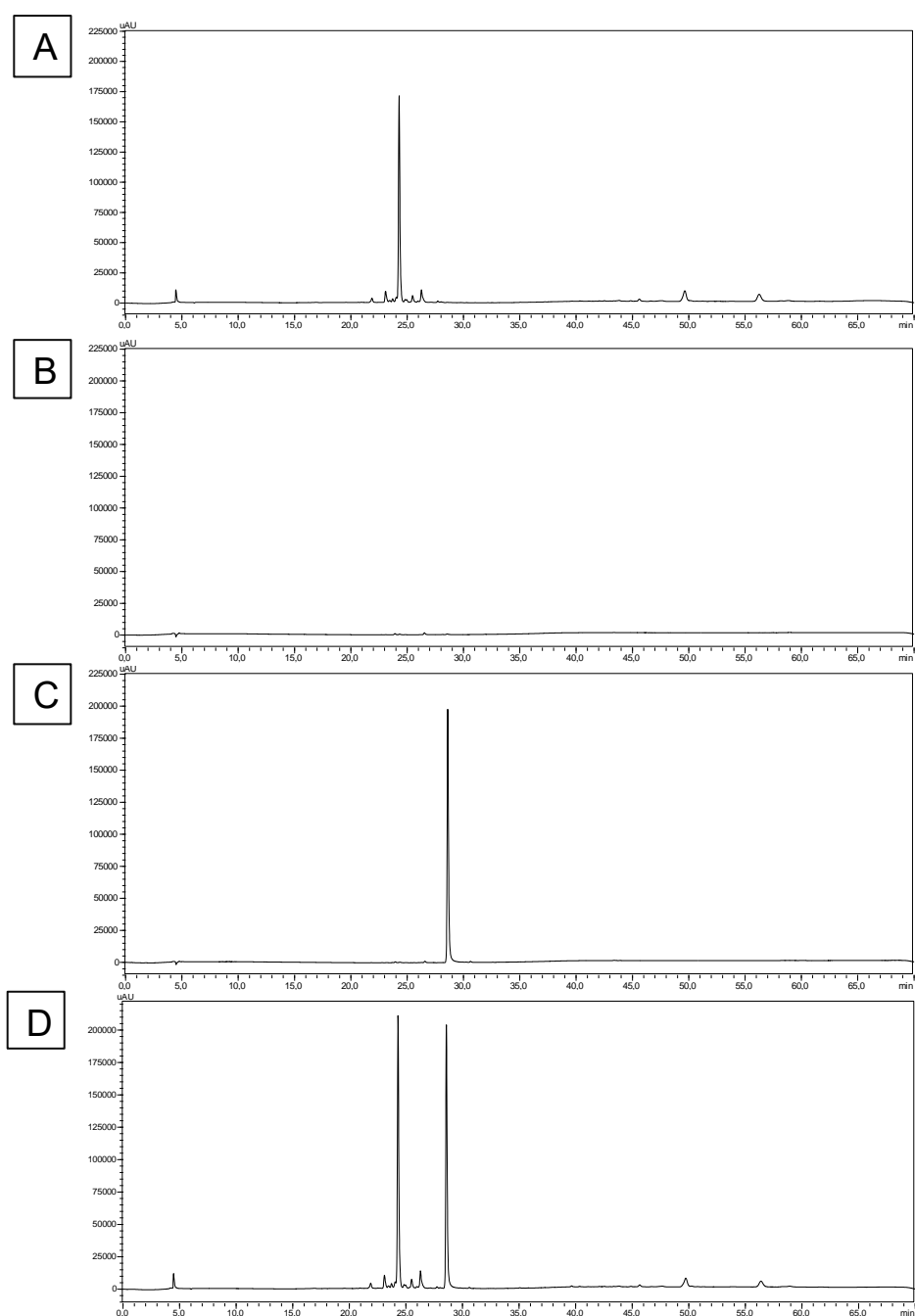


Figura 13 - Avaliação da seletividade da amostra extraída com etanol 80% v/v; (A) com o diluente (B), o padrão (C) e amostra contaminada (D).

Em segundo plano, foi realizada a avaliação da variabilidade dos metabólitos em diferentes indivíduos do gênero que, apesar da possibilidade de apresentarem a tendência de manutenção de mesmos processos bioquímicos e vias metabólicas (KONEČNÁ *et al.*, 2018), podem sofrer influências ambientais no teor e composição dos constituintes químicos de uma forma geral e, desta forma, dificultarem a escolha do marcador analítico (LABARRERE *et al.*, 2019; ZHAO *et al.*, 2017). Assim sendo, na **Figura 14**, pode-se observar o perfil cromatográfico de diferentes espécies de *P. guianensis* coletadas em Belo Horizonte (duas coletadas na região leste - exsicatas BHC210380 e BHC210382 - e duas na região norte da cidade - exsicatas BHC210379 e BHC210383), o qual, apesar de apresentar variabilidade quantitativa entre os compostos, mostrou-se com perspectivas qualitativas semelhantes, indicando a possibilidade de utilização do pico majoritário como padrão para a análise. Contudo, coletas em diferentes localidades corroborariam e fortaleceriam o achado, haja visto que a variação de compostos é de origem biodiversa, se correlacionando ao clima, tipo de solo, e momento de colheita, tornando a geolocalização um fator crítico (CAI *et al.*, 2016; ZHAO *et al.*, 2017).

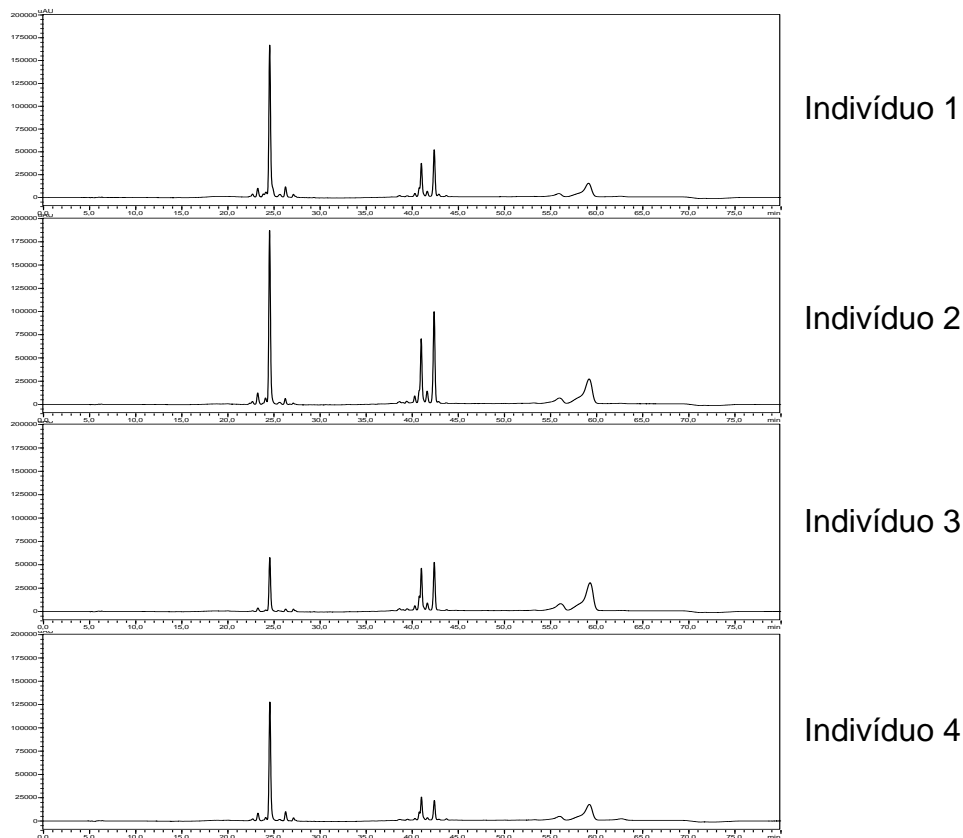


Figura 14 - Avaliação do perfil cromatográfico de diferentes indivíduos de *Pouteria guianensis* Aubl. coletadas em Belo Horizonte.

De forma semelhante, a quimiofenética e a quimiodiversidade vegetal, por apresentarem influências ambientais, apresentam variação constitutiva conforme as estações do ano (DE SÁ *et al.*, 2016; OLIVEIRA *et al.*, 2023; RAMOS *et al.*, 2023). Esta variação pode ser observada na **Figura 15**, na qual os metabólitos apresentaram elevada flutuação ao longo dos quatro períodos anuais, dos quais pode-se citar com maior variabilidade aqueles presentes entre os tempos de retenção de 35 a 45 minutos. Contudo, também é contundente o caráter majoritário do pico principal o qual possibilita seu elencamento como marcador analítico e a não seletividade do perfil químico da espécie inter-estações.

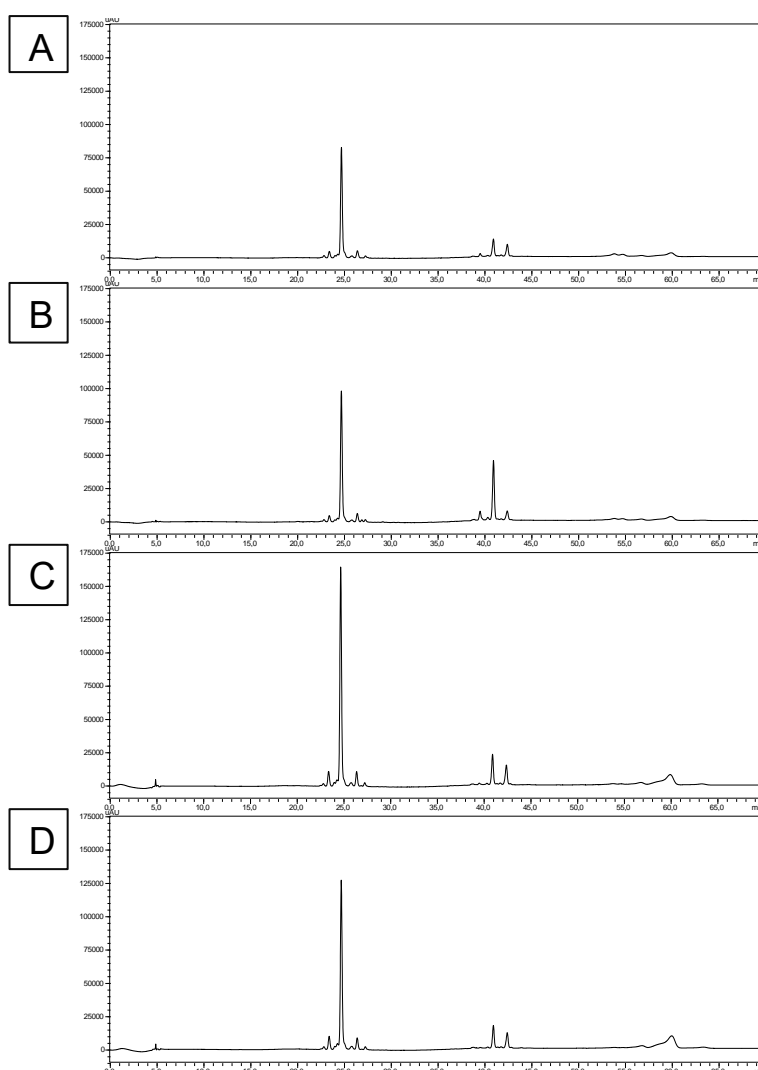


Figura 15 - Avaliação do perfil do extrato hidroetanólico 80% de um único indivíduo de *Pouteria guianensis* Aubl. coletadas nas estações do inverno (A), primavera (B), verão (C) e outono (D).

Por fim, fez-se a diferenciação das espécies do gênero, conforme demonstrado na **Figura 16**. Sabe-se que espécies do mesmo gênero vegetal, apesar de apresentarem variabilidade metabólica, podem possuir perfis semelhantes das classes de compostos que apresentam (AHAMED *et al.*, 2023; CHENG *et al.*, 2021). De forma semelhante, apesar do gênero *Pouteria* spp. apresentar diferenciação dos componentes nas diferentes espécies, compostos fenólicos são os mais comumente relatados, com enfoque nos flavonoides, os quais podem apresentar comportamento verossímil em CLAE (DO *et al.*, 2023; FITRIANSYAH; FIDRIANNY; HARTATI, 2020; SILVA; SIMEONI; SILVEIRA, 2009; TANIGUCHI *et al.*, 2023).

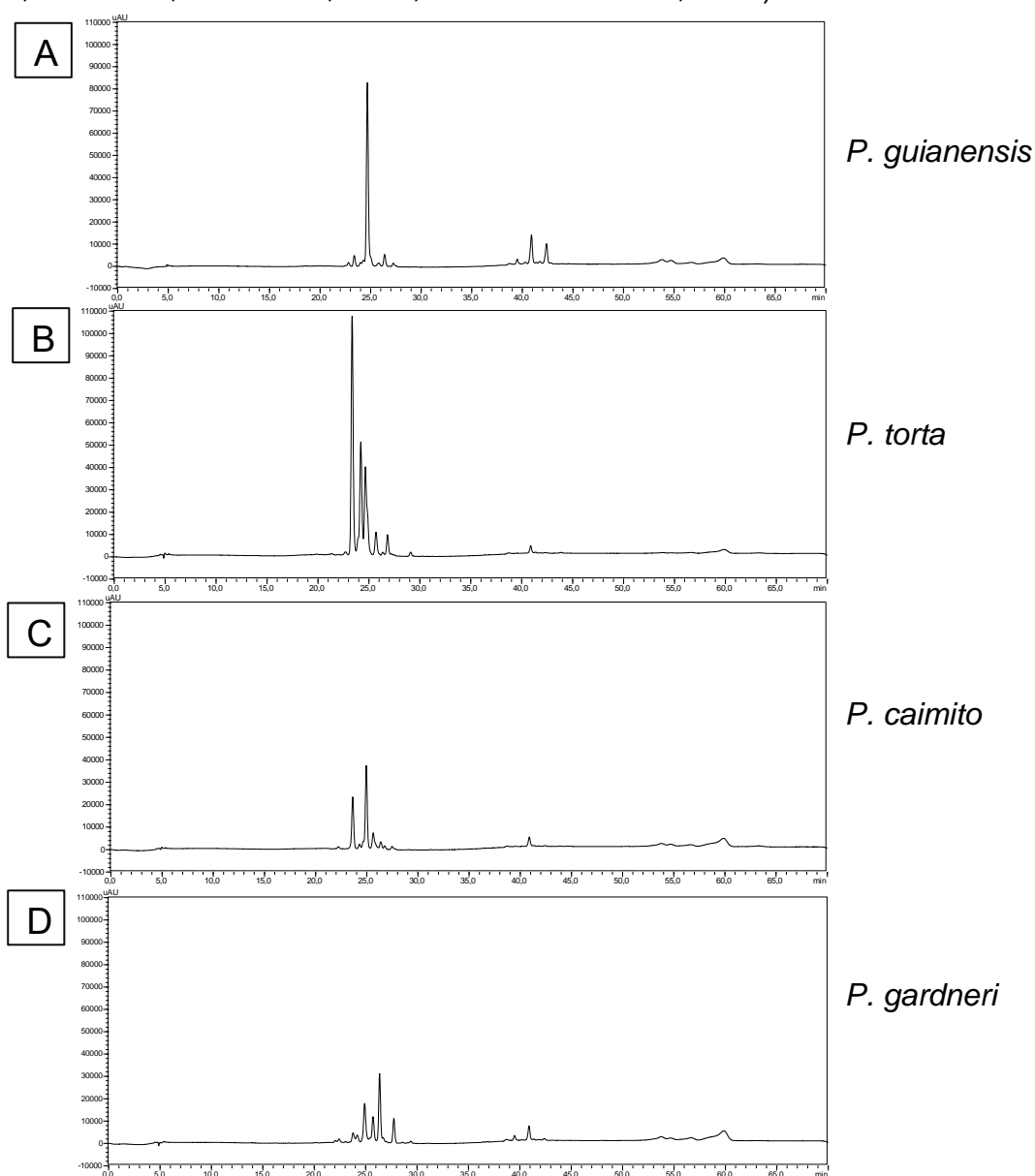


Figura 16- Perfil cromatográfico de diferentes espécies do gênero *Pouteria*.

Legenda: A- *Pouteria guianensis* Aubl.; B- *Pouteria torta* (Mart.) Radlk.; C- *Pouteria caimito* (Ruiz & Pav.) Radlk.; D- *Pouteria gardneri* (Mart. & Eichler) Baehni

Complementarmente, a diferenciação química dentro de um gênero vegetal, pode auxiliar na identificação botânica, quando esta for duvidosa (UPTON *et al.*, 2020). Além disso, garante a segurança dos produtos vegetais adquiridos para consumo de pacientes, haja vista que muitos apresentam contaminação com substâncias externas e diferentes espécies vegetais misturadas, e comercialização como se fossem apenas uma (PALHARES *et al.*, 2021; VAN; PRINSLOO, 2020). Com análise visual, podemos observar perfis cromatográficos distintos entre as diferentes espécies de *Pouteria* spp. (Figura 16), haja visto que *P. guianensis* é a única que apresenta um composto majoritário de intensidade tão distinta dos demais componentes. Contudo, ao avaliarmos qualitativamente, *P. caimito* apresenta picos em tempos de retenção muito semelhantes a espécie de interesse do estudo. Diante disso, fez-se uma análise quimiométrica correlativa entre os resultados obtidos com análise em triplicata de cada espécie, ao qual pode ser visualizada na Figura 17.

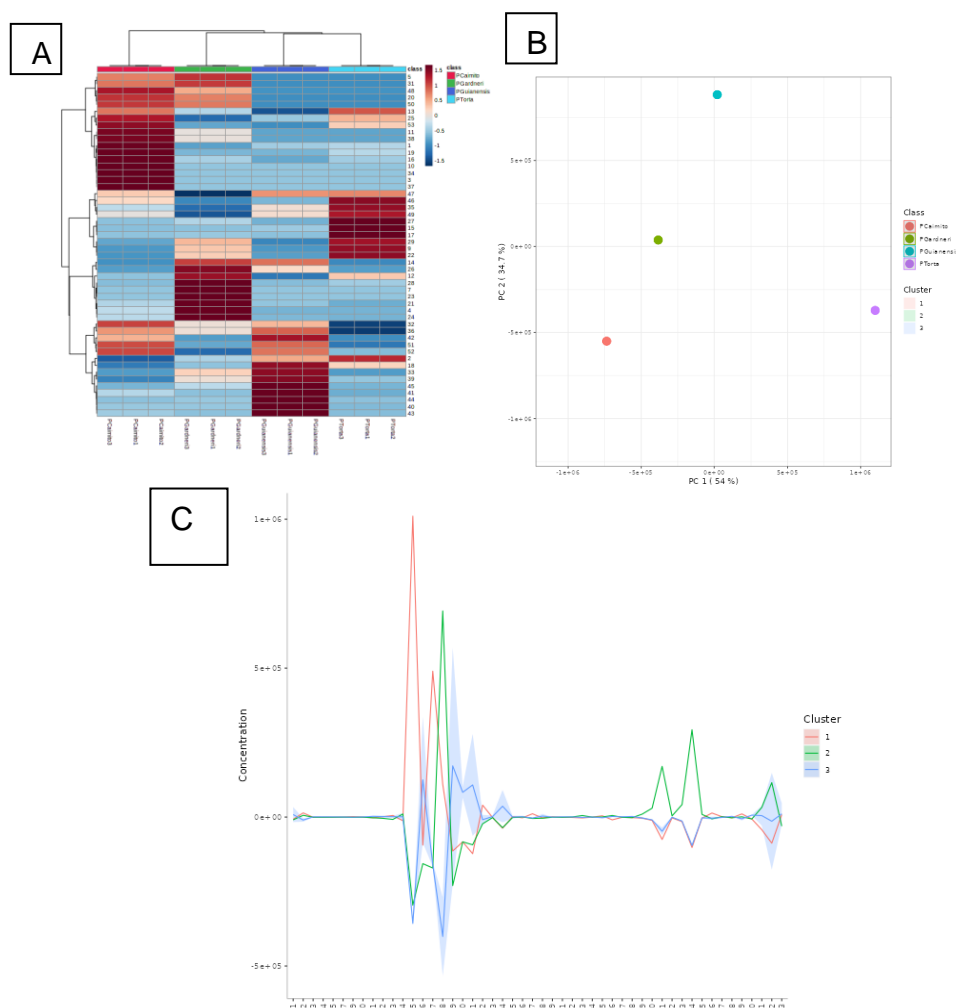


Figura 17 - Comparação entre diferentes amostras do gênero *Pouteria* por mapa de calor e Análise Hierárquica de Clusters (A); Análise de componentes principais (B) e K-means clusters (C).

A quimiometria é uma ciência de origem química que se utiliza de ferramentas estatísticas e matemáticas para uma maior elucidação da proximidade dos constituintes químicos obtidas de forma instrumental (KUMAR *et al.*, 2014). O gráfico de mapa de calor é um método de representação visual que emprega cores para ressaltar valores específicos que indicam a interdependência entre duas dimensões (ERICSSON; BERNDTSSON, 2022). Como visualizado na **Figura 17A**, pode-se perceber que o mapa de calor demonstrou 4 diferentes regiões do cromatograma com presença e variação quantitativa de picos que distinguiam as espécies.

A Análise Hierárquica de *Clusters* (AHC), acima do mapa de calor, agrupou as amostras em três diferentes grupos, concatenando as espécies *P. guianensis* e *P. torta*. A AHC, é uma técnica de extração de dados de multi resolatividade, na qual uma árvore de clusters é formada, com correlação amostral, sendo que as amostras mais próximas dentre os agrupamentos são mais verossímeis do que as mais distantes (CIRRINCIONE *et al.*, 2020). Sua tratativa, no código em linguagem R desenvolvido, foi fomentada a partir de distribuições unifatoriais de presença e ausência de picos cromatográficos (fator primário) segmentado pela intensidade dos picos presentes (fator secundário) (SUBRAMANIYAN *et al.*, 2020; ZOLFAGHARI *et al.*, 2019). Desta forma, a ausência e presença de compostos no cromatograma foi o fator determinístico para a análise.

De forma complementar, realizou-se outras duas análises. A primeira, de Análise de Componentes Principais (ACP), a qual realiza a redução dos dados disposto em matrizes de variáveis menores (componentes principais) que buscam explicar o banco de dados obtido com as corridas cromatográficas, sem perda da informação angariada (**Figura 17B**) (DONG *et al.*, 2023; FERREIRA, 2020). Sua realização foi pautada na transformação logarítmica dos dados, a fim de eliminar quaisquer relações espúrias que pudessem estar presentes na AHC, e nela obteve-se um perfil diferenciado entre todas as espécies, apesar do agrupamento nos mesmos *clusters* da AHC, mostrando a seletividade do método analítico (PALAREA-ALBALADEJO; MARTÍN-FERNÁNDEZ, 2015).

Desta forma, diante da formação dos diferentes grupos realizou-se análise de *k-means clustering* (**Figura 17C**), a qual permite realizar a partição das diferentes replicatas em função dos três grupos segmentados (na AHC), o que possibilita a

visualização das regiões cromatográficas com maior ausência e intensidade dos picos cromatográficos (NA; XUMIN; YONG, 2010).

Desta forma, apesar das análises segmentarem as amostras em três grupos, com a junção da *P. guianensis* e *P. torta*, pode-se demonstrar com técnicas estatísticas que estas ainda se encontram presentes em diferentes sub-*clusters* com separação por componentes principais (PC1+PC2 > 70%). Diante disso, pode-se inferir que o método se mostrou seletivo diante as condições analíticas e diferentes espécies do gênero *Pouteria* spp., enquanto não ocorreu seletividade entre diferentes indivíduos de *P. guianensis*, tal qual na análise inter-sazonal, possibilitando a aplicabilidade do método entre os demais processos analíticos.

4.3.5.2. Linearidade e Efeito Matriz

A linearidade é a propriedade do método de retornar respostas proporcionalmente à concentração do analito, se tornando uma importante ferramenta de performance na calibração e avaliação de métodos analíticos (JURADO *et al.*, 2017). Contudo, uma premissa da utilização de um método de quantificação, em matrizes complexas, é a necessidade de comprovação que os componentes da matriz não apresentam efeitos (reduzores ou de aumento) na quantificação do padrão, fenômeno denominado efeito matriz (RAPOSO; BARCELÓ, 2021).

A avaliação da linearidade e do efeito matriz, iniciam-se com avaliação visual das curvas preparadas, as quais precisam ser lineares. Esta avaliação ocorreu, conforme demonstrado pela **Figura 18**, e prosseguiu-se para os tratamentos estatísticos conforme descrito na **Tabela 13**.

Complementarmente à avaliação dos resultados de normalidade de resíduos (teste de Shapiro Wilk), pode-se observar nas **Figuras 18B** e **18D** que o perfil dos resíduos se mostra com comportamento aleatório. Desta forma, após avaliação destes parâmetros, pode-se demonstrar a ausência de efeito matriz, possibilitando que a quantificação no método analítico seja da amostra contaminada com o padrão, e não do preparo do padrão em diluente, para facilidade em logística no preparo amostral e economia de tempo e de reagentes nas corridas analíticas.

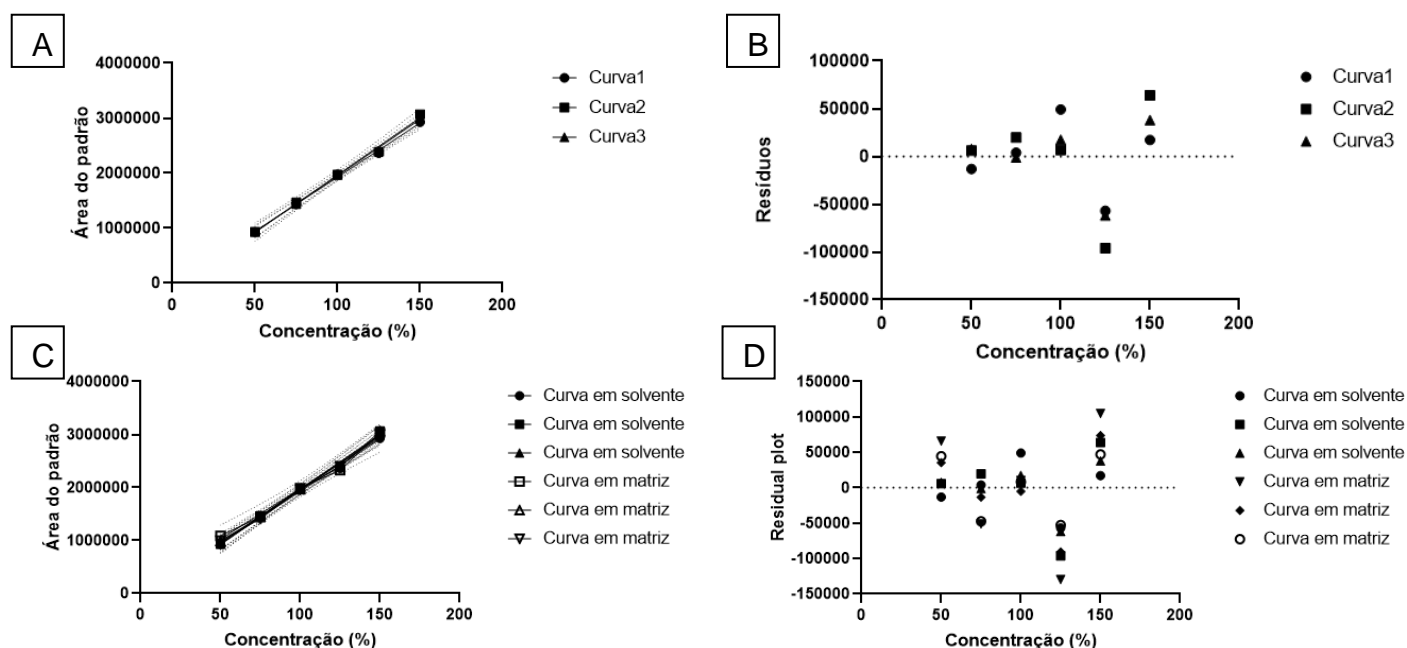


Figura 18 - Gráficos de formação retilínea e perfil de resíduos da linearidade (A e B) e efeito matriz (C e D), respectivamente.

Tabela 13 - Avaliações estatísticas dos requisitos de parametricidade, variância e correlação da inclinação das curvas do efeito matriz e linearidade

Testes	Linearidade	Efeito matriz	Parâmetro	Resultado
Teste de Cochran	C tabulado= 0,684 C calculado= 0,447	C tabulado= 0,684 C calculado=0,496	$C_{calculado} < C_{tabulado}$	Homocedástico (Teste dos MMQO)
Coefficiente de correlação de Pearson (R)	0,999	0,998	$R > 0,990$	Variáveis altamente correlacionadas
Coefficiente de determinação (R^2)	0,999	0,996	$R^2 > 0,980$	Associação linear
Teste F de Snedecor (para variância)	F tabulado = 4,67 F calculado = 4,89 $p > 0,0001$	F tabulado = 4,67 F calculado = 11,94 $p > 0,0001$	$F_{(Calc)} \geq F_{(5\%, 1, n-2)}$, $p > 0,05$ É indicativo de qual metodologia de teste T deve ser realizada e não normativa	Variâncias semelhantes
Shapiro Wilk	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	Distribuição normal
Teste T de <i>student</i> (Avaliação se coeficiente angular é diferente de 0)	$p < 0,0001$	$p < 0,0001$	$p < 0,05$	Coefficiente diferente de 0
Comparação das inclinações da curva em diluente e curva em matriz	$F(5,23) = 0,3957$; $p = 0,8466$		$p > 0,05$	Coefficientes sem diferença estatística

4.3.5.3. Precisão e precisão intermediária

A precisão do método foi avaliada utilizando como referência a repetibilidade intra-dia e a precisão intermediária. Estes parâmetros são cruciais na avaliação do método, não apenas para avaliação da reprodutibilidade dos dados, mas também como ferramenta de averiguação das condições analíticas, haja visto que dependem de materiais calibrados, com o devido controle ambiental (LARA-ALMAZÁN *et al.*, 2021). Desta forma, os resultados da avaliação podem ser visualizados na **Tabela 14**.

Tabela 14 - Avaliação da repetibilidade (analista 1, dia 1) e reprodutibilidade (analista 2, dia 2) do doseamento do marcador analítico em função da quercetina

Teor amostra (%)	Analista 1		Analista 2		Precisão Intermediária			P _{valor}
	Recuperação (%)	DPR (%)	Teor amostra (%)	Recuperação (%)	DPR (%)	DPR (%)	Teste T	
0,0303	102,4		0,0306	103,5				
0,0325	104,9		0,0307	104,0				
0,0297	100,7	1,26	0,0304	103,0	1,3	1,23	T _{calculado} =0,11; T _{tabulado} =1,81; df=10	0,7392
0,0303	102,8		0,0302	102,4				
0,0303	102,5		0,0296	100,3				
0,0324	103,2		0,0300	101,7				

Legenda: DPR= Desvio padrão relativo

Considerando o teor da amostra, após diluição como 29,53 µg/mL, temos como massa de miricitrina na droga vegetal 2,96 mg/g droga vegetal (0,30%). Segundo a AOAC (2016), os limites da repetibilidade e reprodutibilidade nesses casos são de 3,7% e 6%, respectivamente. Desta forma, foi possível demonstrar a precisão do método, tal como a inexistência de problemas de alternância de analista nas condições instrumentais dispostas. Existe outra metodologia de avaliação da precisão, denominada reprodutibilidade, a qual avalia a precisão da recuperação do analito em condições distintas, tal como laboratório, dia de análise e analista (SALAH; CHOW; SONG, 2017). Contudo, esta não foi avaliada considerando que o estudo não apresenta caráter colaborativo, demandando este complemento, em caso de padronização do método de forma compendial, ou implementação em outros laboratórios bioanalíticos (ANVISA, 2017).

4.3.5.4. Exatidão

A exatidão se refere à capacidade do método de retornar valores reais na análise, reduzindo assim o erro do tipo α nas análises químicas (RYFFEL, 2017). A exatidão foi realizada em três diferentes níveis de amostra e contaminadas com padrão a 100%. O resultado obtido pode ser visualizado na **Tabela 15**.

Tabela 15 - Recuperação do analito para avaliação da exatidão do método em níveis baixos, intermediários e elevados

Amostra	Teor (%)	% Recuperação	Média (%)	DPR (%)
1		98,53		
2	50	98,18	98,40	0,20
3		98,49		
1		102,66		
2	100	99,64	100,66	1,73
3		99,67		
1		97,82		
2	150	97,63	97,57	0,29
3		97,26		

Legenda: DPR - Desvio padrão relativo

Utilizando como referência a AOAC (2016), o retorno de amostras a 0,30% devem ocorrer entre 95-105%, o qual foi possível de visualizar na tabela 15. Ademais, a variabilidade das replicatas se manteve dentro do permitido no limite da repetibilidade, demonstrando a acurácia do método de acordo com as estratégias analíticas propostas.

4.3.5.5. Robustez

A robustez pode ser definida pela capacidade do método em resistir à pequenas variações analíticas, que podem ocorrer de forma voluntária ou involuntária (FERREIRA, *et al.*, 2017). Sua realização é majoritariamente de forma multivariada, haja visto que as diferentes condições experimentais podem ocorrer concomitantemente, gerando assim entradas em diferentes níveis de impacto (NOVAES, CLEBER *et al.*, 2016). Nos últimos anos, ferramentas de delineamento experimental vêm sendo utilizadas como estratégia de avaliação do impacto de pequenas variáveis no método analítico (FERREIRA, *et al.*, 2017) e por ser uma estratégia de conhecimento do método, pode ser utilizada na etapa do

desenvolvimento instrumental, ou para monitoramento de quais variáveis precisam ser controladas nas análises analíticas (CÉSAR; PIANETTI, 2009).

No estudo, optou-se por realizar a avaliação da robustez pelo método de Youden & Steiner, o qual se trata de um delineamento experimental 2^n , do tipo fracionado, onde n é um número inteiro, representado pelo número de variáveis avaliadas (KARAGEORGOU; SAMANIDOU, 2014). Sua limitação se correlaciona com a redução do número de experimentos para determinação do nível de impacto das variáveis, sendo que quanto maior o “ n ”, maior o erro associado (EUROPEAN UNION, 2002).

Os resultados de área de picos cromatográficos e a recuperação de cada um dos 8 testes propostos no teste podem ser visualizados na **Tabela 16**, enquanto a oscilação de cada variável em diferentes parâmetros analíticos pode ser visualizada na **Tabela 17**.

Tabela 16 - Resultados dos parâmetros analíticos do analito e do padrão utilizado na quantificação (quercetina)

<i>Experimento</i>	Área		Tempo Retenção (min)		Fator de cauda		Número de pratos teóricos		Recuperação do analito (%)
	<i>Am</i>	<i>Pd</i>	<i>Am</i>	<i>Pd</i>	<i>Am</i>	<i>Pd</i>	<i>Am</i>	<i>Pd</i>	
1 - Controle	1542829	1969969	24,29	28,54	1,30	1,35	173510	235074	78,3
2	1480655	2123718	27,11	31,70	1,25	1,06	78506	122505	69,7
3	1386990	1975012	25,34	29,79	1,23	1,04	78138	109750	70,2
4	1674350	2131965	27,31	31,68	1,19	1,34	139879	232559	78,5
5	1949533	239068	27,87	32,46	1,21	1,05	79087	117728	81,5
6	1200901	1777833	25,01	29,23	1,28	1,33	175178	240355	67,5
7	1581139	2337513	27,30	31,67	1,16	1,35	130194	229578	67,6
8	1455592	1778605	24,66	29,10	1,21	1,06	78386	111651	81,8

Legenda: Am- Amostra, Pd-padrão

Tabela 17 - Discrepância nos fatores analíticos das variáveis quando comparada com a condição inicial.

Parâmetros	Tempo Retenção (min)	Fator de cauda	Número de pratos teóricos	[%]	Status
pH FMA	0,19	-0,02	-971	0,43	Aprovado
pH FMB	0,08	-0,03	-13976	0,29	Aprovado
Volume de injeção	-0,19	0,00	3245	-0,01	Aprovado
Temperatura da coluna	0,54	-0,01	1659	0,07	Aprovado
Fluxo da Fase Móvel	2,64	-0,02	-9001	-0,13	Aprovado
Comprimento de onda	0,15	0,00	-459	-11,26	Reprovado
Coluna	0,37	-0,15	-97572	2,81	Aprovado

Segundo o teste de Youden & Steiner, a única variável que precisa ser completamente controlada, por interferir a recuperação do analito é o comprimento de onda, o que é justificado, uma vez que na varredura nos comprimentos de onda da região do ultravioleta realizado com o equipamento, percebe-se que quanto maior o comprimento de onda, maior a intensidade do pico sugerido para miricitrina e menor a da quercetina. Contudo, o pH da FmB e a marca da coluna analítica alterou significativamente o número de pratos teóricos e o fluxo afetou o tempo de retenção e o número de pratos teóricos. Estas oscilações se justificam por serem variáveis que alteram diretamente o grau de ionização das moléculas (pH da fase móvel B) e a velocidade de remoção mecânica das interações analito-fase estacionária (fluxo), modulando assim o número de transições do analito na fase móvel e fase estacionária, e conseqüentemente alterando o número de pratos teóricos (FURMAN, 2020).

Em complemento, avaliou-se o tempo de estabilidade das amostras, conforme demonstrado na **Tabela 18**. Com ele, pode-se observar que o perfil de recuperação e o desvio padrão relativos estão coerentes com os preconizados na AOAC (2016), indicando estabilidade de amostra e padrão analisados em até 4 dias após preparo amostral, mantidos em condição ambiente. Isto, provavelmente, se correlaciona com a estabilidade dos flavonoides, os quais a cinética de degradação se mostra muito lenta sem agentes estressores externos (LU *et al.*, 2019).

Tabela 18 - Perfil de recuperação de amostra a 100% e padrão rodadas em 0, 24, 48, 72 e 96 horas após preparo

Tempo (hs)	Teor (%)				
	0	24	48	72	96
Replicata 1	99,00	99,31	100,76	100,61	100,81
Replicata 2	100,18	100,47	100,59	100,25	100,87
Replicata 3	99,94	100,13	100,97	101,04	100,80
Média	99,71	99,97	100,77	100,63	100,82
DPR (%)	0,62	0,60	0,19	0,39	0,04

4.3.6. Hidrólise de extratos das folhas do gênero *Pouteria* sp.

Uma ferramenta que pode ser utilizada na diferenciação de espécies de gêneros vegetais, é a hidrólise de seus compostos lábeis (TU *et al.*, 2017; ZHANG *et al.*, 2014). Isto, pois, muitas vezes apresentam diversos compostos de mesmo núcleo fenólico, com ligações com diferentes açúcares, que quando hidrolisadas possibilitam identificar diferentes agliconas nos extratos (FRANCESCATO *et al.*, 2013). Além disso, os açúcares presentes nas estruturas podem alterar a polaridade de diferentes núcleos principais, provocando co-eluição de substâncias, ocasionando uma perda de informação constitutiva das espécies, quando avaliadas por CLAE-DAD (FRANCESCATO *et al.*, 2013; NUUTILA; KAMMIOVIRTA; OKSMAN-CALDENTY, 2002; WALLE *et al.*, 2005).

Como demonstrado no item 4.3.5.1., a diferenciação química de espécies do gênero pode ser dificultosa, e todas as tratativas possíveis devem ser aplicadas como estratégia de identificação do gênero *Pouteria* spp.. No estudo, o resultado da hidrólise das quatro diferentes espécies coletadas pode ser visualizado na **Figura 19**. Nela é possível observar que os picos da região majoritária de flavonoides foram aqueles que apresentou maior alteração do perfil qualitativo, com redução dos picos cromatográficos. Com a análise, pode-se observar que as amostras *P. guianensis* e *P. torta* apresentam as mesmas agliconas, com possíveis diferenciações dos açúcares ligados em suas estruturas.

Ademais, ficou evidente a diferença de agliconas na *P. caimito*, as quais não estão presentes em nenhuma outra espécie. Este fato se torna um fator de elevada importância, uma vez que que *P. caimito* e *P. guianensis* apresentam elevado grau de

semelhança botânica e genética (VIVAS *et al.*, 2014). Desta forma, esta avaliação se torna valorosa ferramentas para diferenciá-las.

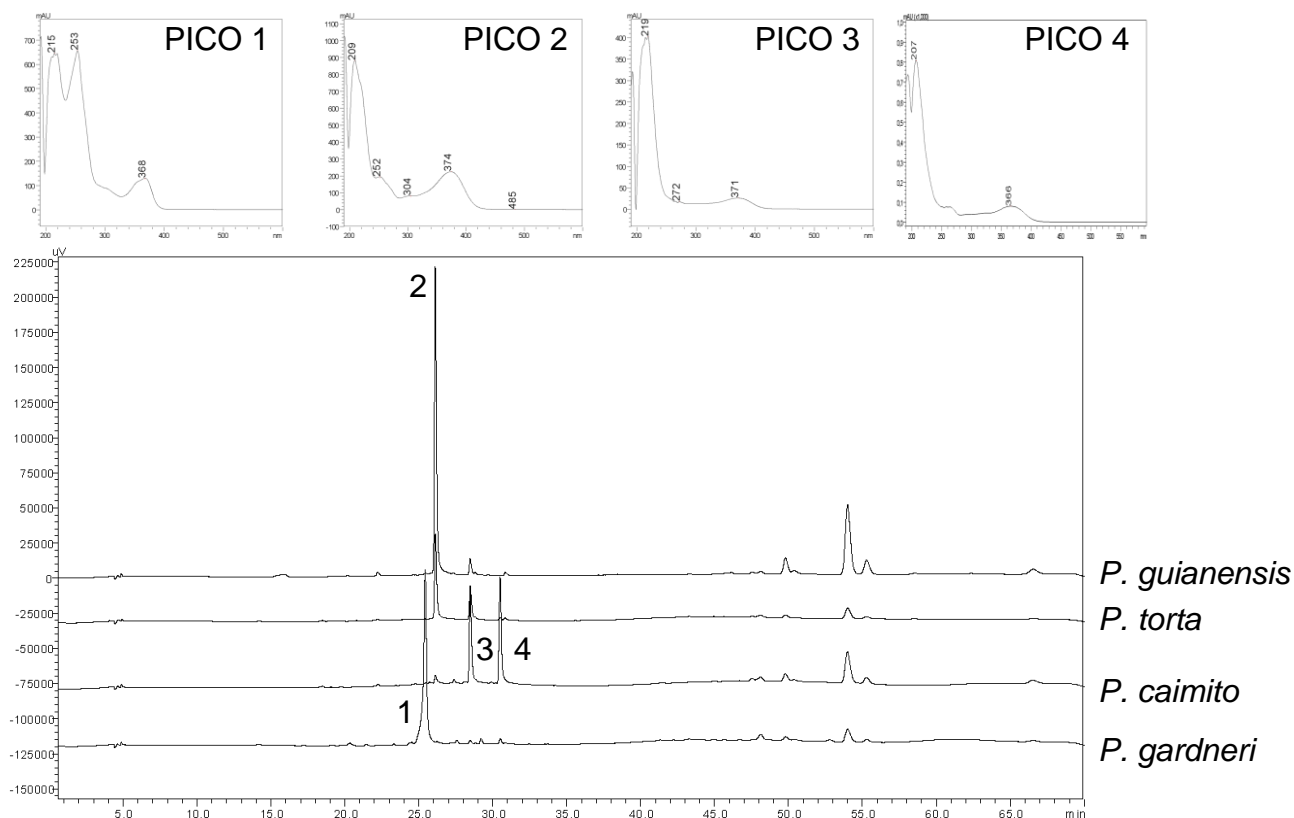


Figura 19 - Perfil de hidrólise das amostras de espécies de *Pouteria* sp.

Pelo espectro na região do ultravioleta, é possível caracterizar o pico majoritário da amostra de *P. guianensis* como a miricetina (a aglicona da miricitrina) (TANIGUCHI *et al.*, 2023). Ademais, o pico 1, apresentou absorção na região do ultravioleta semelhante ao de derivados da quercetina, indicando a presença do composto no gênero, corroborando novamente com a escolha do padrão escolhido como marcador externo (NAGEH SHOLKAMY *et al.*, 2020). De forma complementar os picos 3 e 4 possuíram absorção no ultravioleta semelhantes aos espectros do kampferol e 3,5-dihidroxi-flavona, respectivamente, demandando confirmações futuras (TANIGUCHI *et al.*, 2023).

4.3.7. Análise por Cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada à espectrometria de massas de alta resolução (CLUE-ESI-Tof-MS/MS)

A espectrometria de massas, no contexto dos extratos vegetais se vale de um vasto recurso, devido a elevada sensibilidade e assertividade da técnica, com a possibilidade de utilização em misturas complexas e extratos brutos (JORGE; MATA; ANTÓNIO, 2016). Ademais, a detecção do tipo ESI-Q-Tof possibilita transmissões e poder de resolução mais elevados, viabilizando maior exatidão nos valores da relação massa/carga encontrados (YAVOR *et al.*, 2023).

Contudo, devido a biodiversidade metabólica vegetal, uma completa elucidação de seus constituintes químicos demanda outras etapas de análise, como isolamento e confirmação por outras análises instrumentais (como Ressonância Magnética Nuclear-RMN) (BHINDERWALA *et al.*, 2018). Desta forma, pode-se enxergar a análise por espectrometria de massas como uma forma rápida e assertiva de caracterização inicial de compostos, para aprofundamentos fitoquímicos posteriores (WOLFENDER; HOSTETTMANN, 1995).

Além disso, tem-se que o processo de desreplicação é frequentemente conduzido por CLUE em conjunto com DAD e a espectrometria de massas, associando as técnicas a buscas em bancos de dados, de forma a evitar esforços dispendiosos na identificação de compostos já conhecidos (NIELSEN; LARSEN, 2015). Essa abordagem permite concentrar recursos na descoberta de compostos inéditos ou facilitar o isolamento eficiente de compostos conhecidos com base em grupos funcionais, reduzindo a necessidade de etapas adicionais (MÅNSSON *et al.*, 2010).

Devido a riqueza de compostos fenólicos, como ácidos carboxilados e fenóis (facilmente desprotonados) e flavonoides, a análise ocorreu no modo de ionização negativa do equipamento, haja visto a facilidade de ionização nesta modalidade operacional (KESKES *et al.*, 2016; MOCO *et al.*, 2006). O cromatograma obtido com absorção no ultravioleta e de íons totais (TIC- *Total Ion Chromatogram*) podem ser visualizados na **Figura 20**.

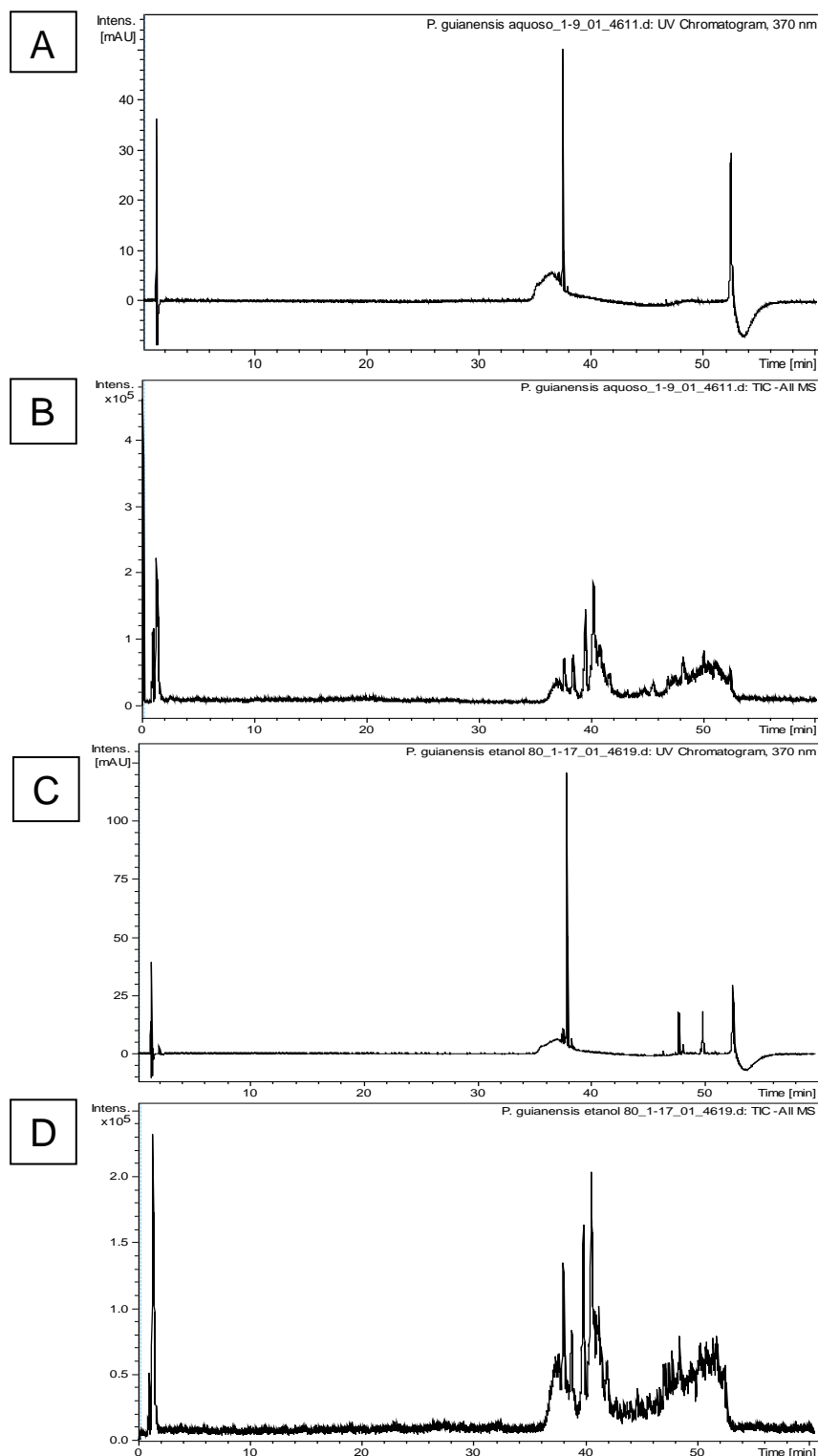


Figura 20 - Cromatograma de absorção na região do ultra violeta (370 nm) e de íons totais obtidos dos extratos aquoso (A e B) e EHE80% (C e D) de *Pouteria guianensis* (Aubl.) obtidos na análise CLUE-ESI-TOF-MS/MS.

Nela, é possível observar que no método avaliado em cromatógrafo líquido de ultraeficiência, o extrato hidroetanólico 80% apresenta apenas um pico majoritário, com perfil no ultravioleta e de ionização molecular, característico da miricitrina, de m/z

[M-H]⁻ 463,0885, (**Figura 21**), apresentando absorção na região do ultravioleta análogo ao presente no pico majoritário identificado na CLAE (item **4.3.2.**), possibilitando a formulação de hipótese que este composto pode ser, de fato, o marcador analítico da espécie. Em complemento, a sugestão dos compostos fitoquímicos identificados nos extratos aquoso, hidroetanólico e em ambos, conjuntamente com as referências de achados semelhantes no gênero, podem ser visualizados nas **Tabelas 19, 20 e 21**, e nas **Figuras 22, 23 e 24** respectivamente.

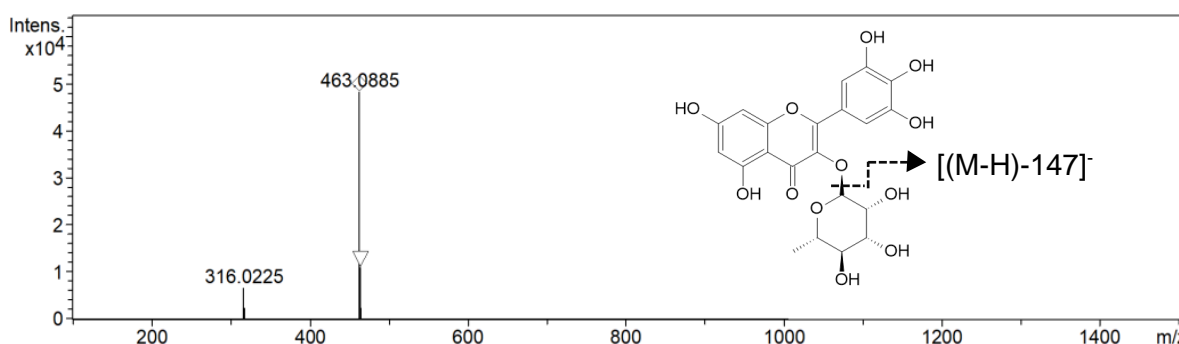


Figura 21 - Espectro MS2 do pico em 38,1 min, com identificação pelo banco de dados *Universal Natural Product Database - UNPD-ISDB* como miricitrina.

A desreplicação dos extratos, se torna essencial como uma forma de compreensão das ações farmacológicas e possíveis mecanismos de ações *in vitro* e *in vivo* dos extratos vegetais (CARVALHO *et al.*, 2023). Com o avançar da tecnologia, esta caracterização possibilita também, por estratégias de *machine learning* a predição de aplicabilidades farmacológicas do extrato (WÄLDCHEN *et al.*, 2018). No estudo, a escolha do extrato hidroetanólico 80% possibilitou uma maior capacidade extrativa de fenólicos e flavonoides, frente a extratos etanólicos (GARMUS *et al.*, 2019). Contudo, diante da avaliação na técnica hifenada do extrato aquoso, sua capacidade extrativa, apesar de ter sido menor no estudo, apresenta indicativo de maior variabilidade dos metabólitos obtidos (GRZEGORCZYK-KAROLAK; KISS, 2018). Dessa forma, possíveis variações de ações entre os extratos avaliados pode-se dar em função da variabilidade qualitativa e quantitativa dos compostos.

Tabela 19 - Anotação de possíveis compostos presentes no extrato aquoso de *Pouteria guianensis* (Aubl.)

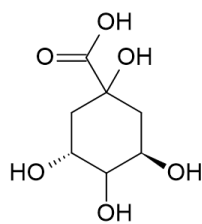
Extrato	Composto	TR (min)	Nomenclatura proposta (Fórmula molecular)	<i>m/z</i> [M-H] ⁻	Principais fragmentos <i>m/z</i> (abundância relativa)	Referências no gênero
Aquoso	1	1,6	ácido quínico (C ₁₅ H ₁₄ O ₇)	191.0561	85.0277 (32.1); 93.0324 (7.6); 127.0388 (15.0); 191.0546 (100)	(GORDON <i>et al.</i> , 2011; MALTA <i>et al.</i> , 2013; MEINHART <i>et al.</i> , 2019)
	2	1,6	galocatequina (C ₂₂ H ₁₈ O ₁₁)	305.0686	125.0246 (4.4); 261.0770 (4.3); 285.0409 (4.1); 305.0686 (100.01); 306.0728 (27.4)	(DE SALES <i>et al.</i> , 2017; GORDON <i>et al.</i> , 2011; GUERRERO-CASTILLO <i>et al.</i> , 2019; MALTA <i>et al.</i> , 2013; SANTOS, M. M. S. <i>et al.</i> , 2018; SOUZA <i>et al.</i> , 2012; TORRES-RODRÍGUEZ <i>et al.</i> , 2011)
	3	2,6	ácido isocítrico (C ₆ H ₈ O ₇)	191.0198	111.0085 (16.7); 154.9982 (5.4); 173.0092 (34.9); 191.0208 (100.0)	(FARIA <i>et al.</i> , 2021; GUERRERO-CASTILLO <i>et al.</i> , 2019)
	4	36,5	4'-metoxi-naringenina (C ₁₆ H ₁₄ O ₅)	285.0617	261.0070 (29.2); 285.0617 (100.0); 359.0987 (32.0)	(GUERRERO-CASTILLO <i>et al.</i> , 2019)
	5	38,4	quercetina-3-D-xilosídeo (C ₂₀ H ₁₈ O ₁₁)	433.1617	223.0877 (8.8); 279.1232 (8.6); 315.1350 (18.6); 319.0129 (23.3); 433.1617 (100.0); 469.1378 (14.8); 519.1981 (17.5)	(FARIA <i>et al.</i> , 2021; GORDON <i>et al.</i> , 2011; GUERRERO- CASTILLO <i>et al.</i> , 2019; KAMALAKANNAN; RAYAR; MEGALA, 2016; PRABHU; SELVAM; RAJESWARI, 2018; SATHISHKUMAR <i>et al.</i> , 2011)
	6	40,6	voacamine (C ₄₃ H ₅₂ N ₄ O ₅)	703.2627	242.1762 (6.1); 563.2606 (7.3); 703.2627 (100.0); 1113.5137 (3.7)	-
	7	42,2	apigenina-7-O-glicosídeo (C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀)	431.171	116.9275 (10.1); 174.9559 (7.7); 303.0910 (12.4); 431.1710 (100.0); 432.1745 (34.6)	(FARIA <i>et al.</i> , 2021; FRANCA <i>et al.</i> , 2016)
	8	47,1	naringenina (C ₁₅ H ₁₂ O ₅)	271.2282	132.9229 (59.5); 248.9606 (53.8); 271.2282 (100.0); 286.2498 (28.1); 455.3536 (34.4)	GUERRERO-CASTILLO <i>et al.</i> , 2019
	9	51,1	kaempferol-7- neohesperidosídeo (C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅)	593.407	115.9203 (12.3); 297.1536 (9.3); 311.1691 (10.6); 339.2006 (15.4); 383.3536 (18.4); 593.4070 (100); 761.5986 (11.3)	KUBOLA; SIRIAMORNUN; MEESO, 2011
	10	51,9	diosmina (C ₂₈ H ₃₂ O ₁₅)	607.4227	597.3936 (6.6); 607.4227 (100.0); 762.6006 (4.8)	-

Tabela 20 - Anotação de possíveis compostos presentes no extrato hidroetanólico 80% de *Pouteria guianensis* (Aubl.)

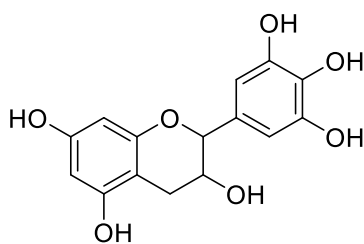
Extrato	Composto	TR (min)	Nomenclatura proposta (Fórmula molecular)	m/z [M-H] ⁻	Principais fragmentos m/z (abundância relativa)	Referências no gênero
Hidroetanólico 80%	11	37,3	catequina (C ₁₅ H ₁₄ O ₆)	289.0711	245.0811 (6.5); 287.0554 (9.3); 289.0713 (100.0); 578.1381 (1.6)	DE SALES <i>et al.</i> , 2017; GORDON <i>et al.</i> , 2011; GUERRERO-CASTILLO <i>et al.</i> , 2019; MALTA <i>et al.</i> , 2013; SANTOS <i>et al.</i> , 2018; SOUZA <i>et al.</i> , 2012; TORRES-RODRÍGUEZ <i>et al.</i> , 2011
	12	38,4	siringetina-3-galactosídeo (C ₂₃ H ₂₄ O ₁₃)	507.1127	174.9554 (18.9); 377.1805 (42.2); 433.0760 (20.1); 507.1127 (100.0); 508.1162 (24.2); 555.2215 (29.6)	-
	13	45,8	ácido pigenico B (C ₃₀ H ₄₈ O ₅)	487.34	487.3400 (100.0); 555.3270 (9.2); 975.6900 (12.6)	-
	14	42	ácido pigenico C (C ₃₀ H ₄₈ O ₆)	503.339	112.9860 (2.4); 174.9560 (2.4); 503.3390 (100.0); 571.3260 (13.0); 639.3140 (3.8)	-
	15	47,9	fortunellina (C ₂₈ H ₃₂ O ₁₄)	591.2593	591.2592 (100.0); 613.2405 (4.6); 681.2284 (3.8); 1183.5234 (11.7)	-
	16	48,2	3-GluA soyasapogenol B (C ₃₆ H ₅₈ O ₉)	633.2699	255.2331 (1.2); 447.3345 (1.2); 591.2596 (26.0); 633.2699 (100.0); 701.2571 (41.3)	-

Tabela 21 - Anotação de possíveis compostos presentes nos extratos aquoso e hidroetanólico 80% de *Pouteria guianensis* (Aubl.)

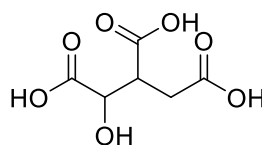
Extrato	Composto	TR (min)	Nomenclatura proposta (Fórmula molecular)	m/z [M-H] ⁻	Principais fragmentos m/z (abundância relativa)	Referências no gênero
Aquoso e hidroetanólico 80%	17	46,9	ácido ursólico (C ₃₀ H ₄₈ O ₃)	455.354	455.3540 (100.0); 523.3410 (26.2); 591.3280 (7.7)	(DE SOUSA <i>et al.</i> , 2019)
	18	38,1	miricitrina (C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂)	463.0885	316.0225 (13.6); 317.0293 (4.9); 463.0885 (100.0); 464.0918 (22.9)	GORDON <i>et al.</i> , 2011; GUERRERO-CASTILLO <i>et al.</i> , 2019
	19	38,5	kaempferol-7-O-glicosídeo (C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁)	447.0938	283.0245 (16.4); 445.0770 (11.0); 447.0938 (100.0); 893.1776 (14.6)	(KUBOLA; SIRIAMORNPNUN; MEESO, 2011)
	20	38,6	kaempferol-3-O-glicosídeo (C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁)	447.0918	311.0767 (39.2); 446.1086 (14.4); 447.0918 (100.0); 461.0721 (22.1); 477.1020 (14.1); 563.1172 (30.0); 577.0471 (21.0); 615.0969 (39.5)	(KUBOLA; SIRIAMORNPNUN; MEESO, 2011)
	21	40,6	naringina (C ₂₇ H ₃₂ O ₁₄)	579.2544	341.1138 (2.9); 441.2021 (4.0); 533.2491 (30.5); 579.2544 (100.0)	-
	22	45,8	ácido pigenico A (C ₃₀ H ₄₈ O ₄)	471.3485	112.9826 (5.1); 248.9748 (3.2); 471.3485 (100.0); 539.3362 (37.8); 607.3216 (17.5)	(REN <i>et al.</i> , 2019)



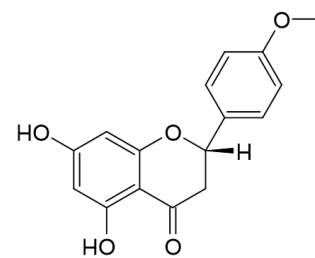
Ácido quínico
(1)



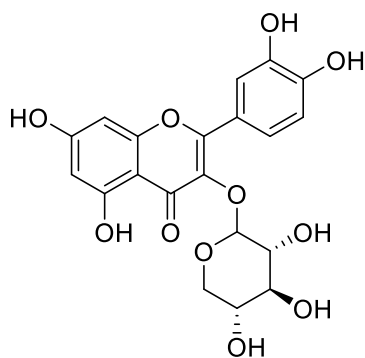
Galocatequina
(2)



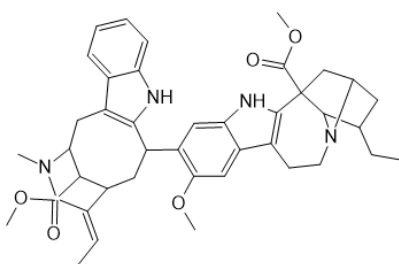
Ácido isocitríco
(3)



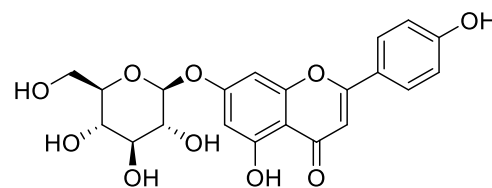
4'-metoxi-naringenina
(4)



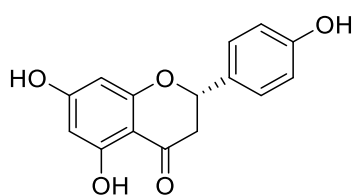
Quercetina-3-D-xilosídeo
(5)



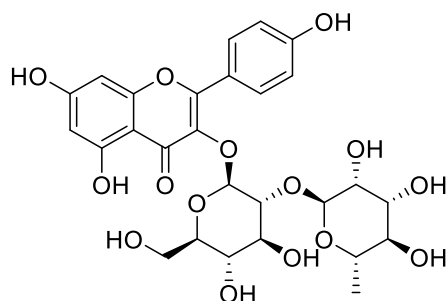
Voacamine
(6)



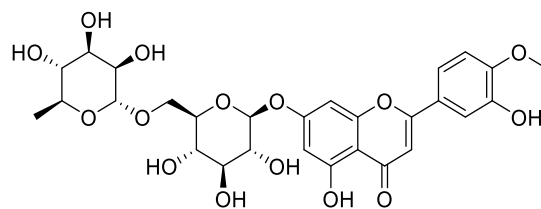
Apigenina-7-O-glicosídeo
(7)



Naringenina
(8)



Kaempferol-7-neohesperosídeo
(9)



Diosmina
(10)

Figura 22 - Estruturas dos possíveis compostos presentes no extrato aquoso de *Pouteria guianensis* (Aubl.).

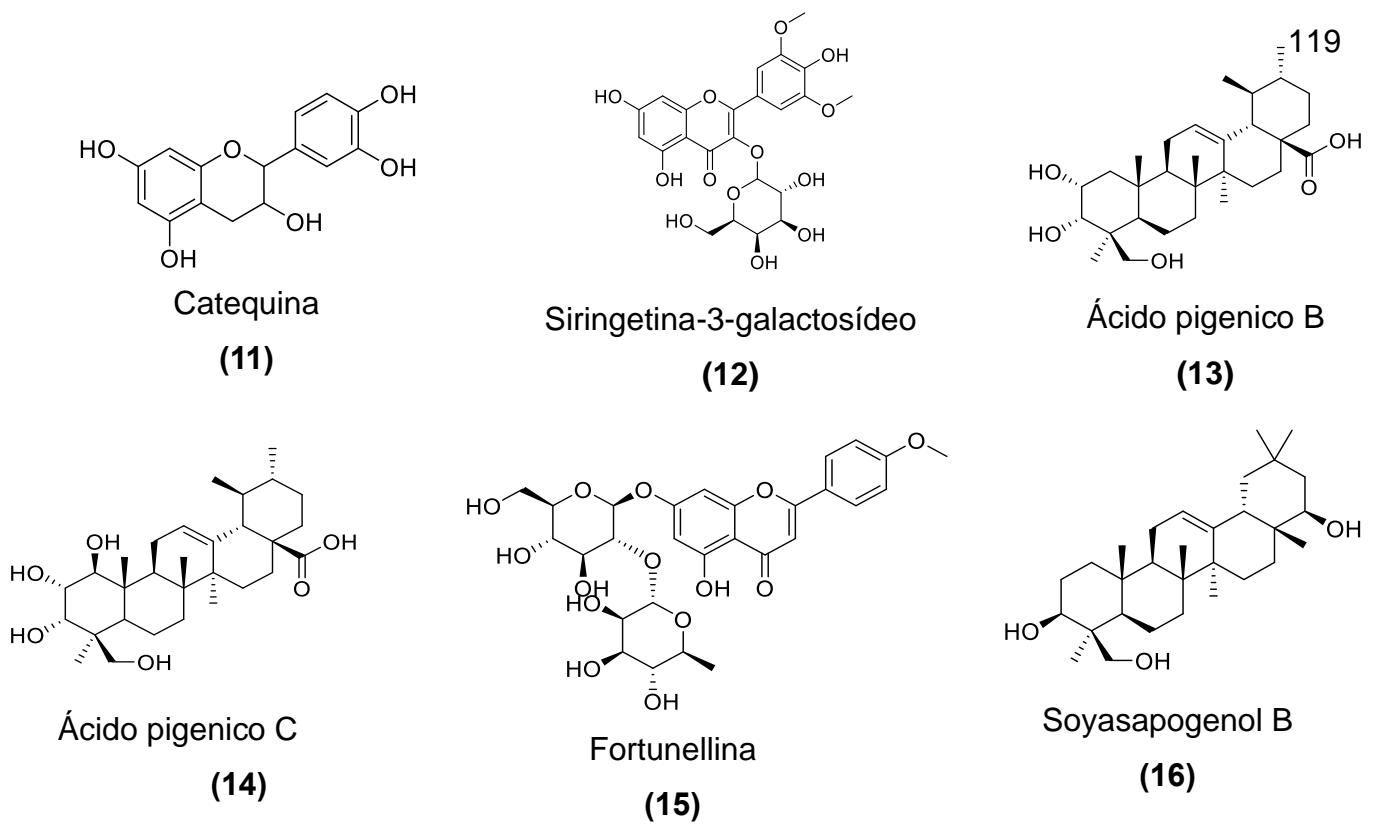


Figura 23 - Estruturas dos possíveis compostos presentes no EHE80% de *Pouteria guianensis* (Aubl.).

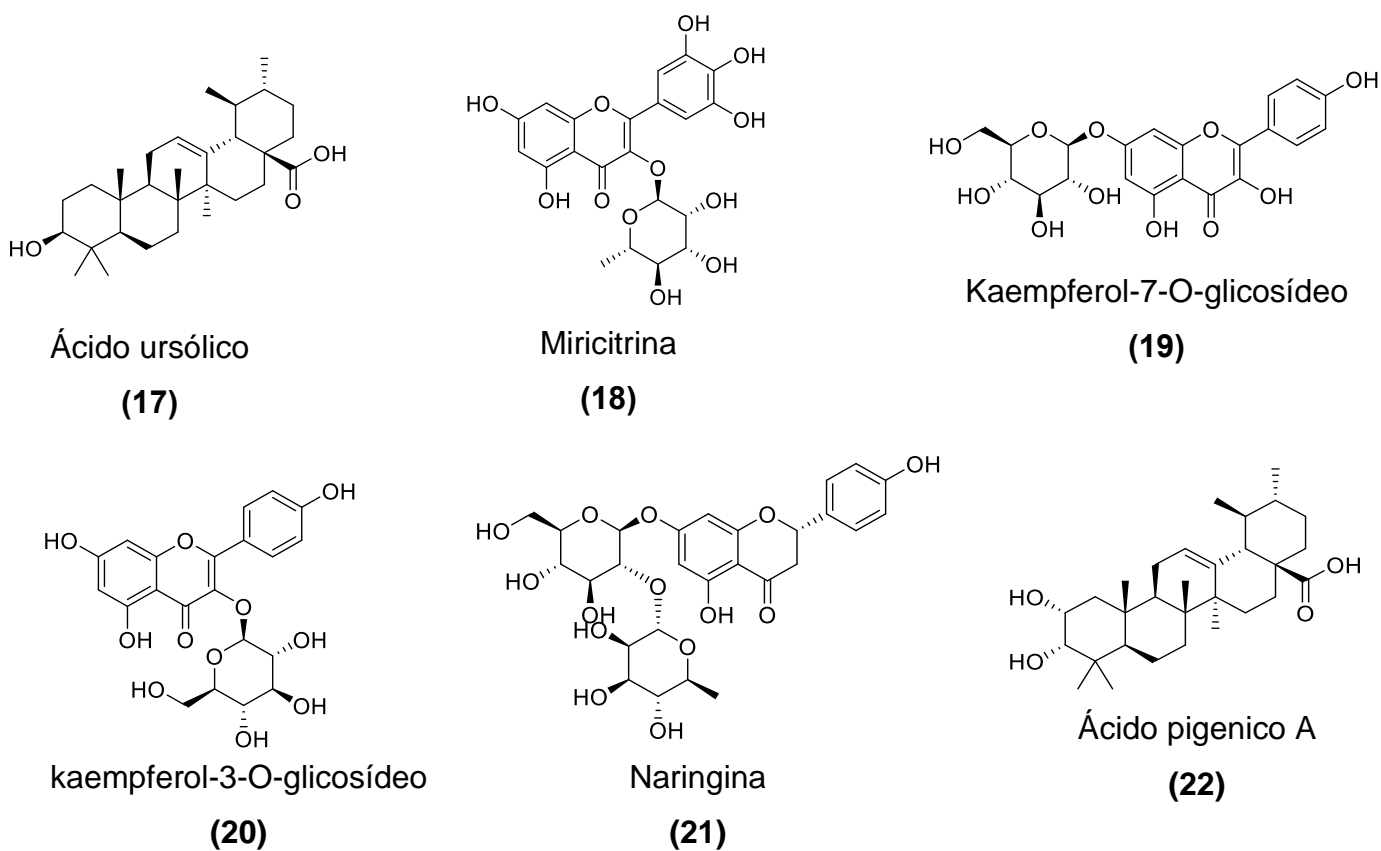


Figura 24 - Estruturas das possíveis substâncias presentes nos extratos aquoso e EHE80% de *Pouteria guianensis* (Aubl.).

Ademais, é possível ver nas **Tabelas 19, 20 e 21**, a riqueza de compostos cujo núcleo principal já havia sido previamente relatado na literatura. Destes, alguns se correlacionam diretamente com atividades relatadas da planta como ação antidiabética e ação antimicrobiana conhecida do ácido quínico (BENALI *et al.*, 2022) e atividade anti-inflamatória e antinociceptiva de derivados de quercetina (LI *et al.*, 2016; SHUKLA *et al.*, 2019).

Contudo, algumas outras substâncias como os ácidos pigenicos B e C, pouco estudados devido a menor abundância na natureza, precisam de maiores averiguações e investigações para serem confirmadas na espécie (BAGAL *et al.*, 2023). Ademais, a presença de alguns metabólitos, sugerem a investigação de outras atividades farmacológicas no gênero, como por exemplo atividade ansiolítica, característica de derivados da apigenina (SALEHI *et al.*, 2019) e modulação de parâmetros hematológicos, descritos para a diosmina (SCHASTLIVTSEV *et al.*, 2020). Em complemento, a presença de compostos como a voacamina justificariam ações antitumorais no gênero (VON LINNÉ, 2007) haja visto esta característica dos alcaloides, que necessitam de maior nível de elucidação entre espécies de *Pouteria* spp..

Diante da extração e identificação dos compostos, sugere-se a necessidade de análises com maior nível de complexidade, como análises metabolômicas e proteômicas (MARTINS-DE-SOUZA, 2014). Desta forma, seria possível avaliação de uma maior quantidade de moléculas endógenas específicas da bioquímica celular, especialmente aquelas de caráter majoritariamente apolar, o qual não foi possível avaliar com os extratos de elevada polaridade obtidos (CHEN; LI; XU, 2022).

4.3.8. Análise por Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas (CLAE-ESI-QTRAP-MS/MS)

A análise espectrométrica com analisador do tipo triplo-quadrupolo possibilitam a ampliação da resposta do analito, potencializando a resposta instrumental e assim se tornando uma técnica de alta sensibilidade (PÉREZ *et al.*, 2013).

Optou-se pela realização desta segunda técnica hifenada a espectrômetro de massas, haja visto que apesar dos preditivos da presença da miricitrina pelas análises supracitadas (Itens **4.3.3.**, **4.3.6.**, **4.3.7.**) não podemos descartar a possibilidade do pico analítico ser referente a outras substâncias que possuem m/z próximos, como é

o caso da isoquercitrina, que é distribuída em outras espécies do gênero (SATHISHKUMAR *et al.*, 2011).

Desta forma pesquisou-se duas fragmentações, referenciadas no *MassBank* (HORAI *et al.*, 2010), no modo positivo e negativo. Os resultados do cromatograma de íons totais, e das faixas de transição podem ser visualizadas na **Figura 25**, correspondendo a perda do fragmento de ramnose (m/z 146), o açúcar presente no esqueleto de miricetina (genina da miricitrina) e quebra do anel B do esqueleto flavonoídico (m/z 46). Ademais, este perfil não corresponde ao da isoquercitrina, confirmando a predição da substância presente no extrato corresponder ao flavonoide indicado inicialmente (KRASTEVA; NIKOLOV, 2008; TIBERTI *et al.*, 2007).

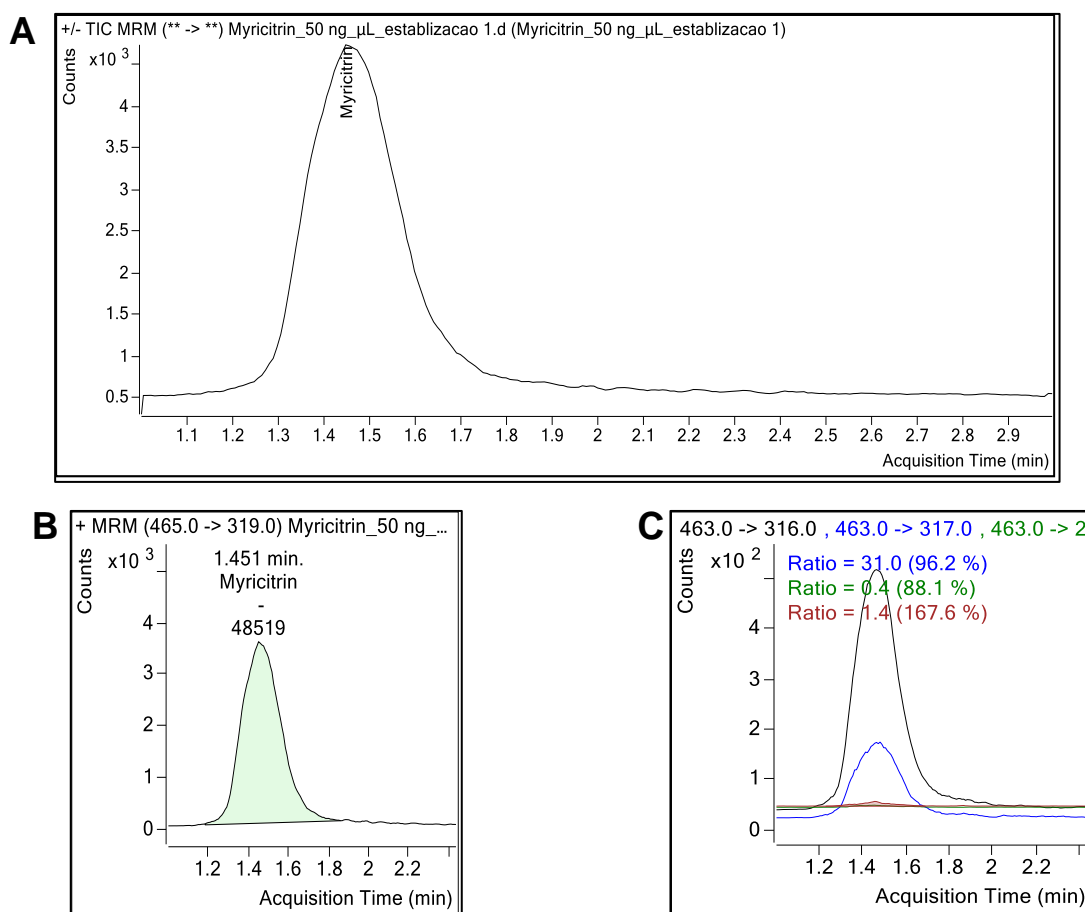


Figura 25- Cromatograma de íons totais obtidos do extrato EHE80% de *Pouteria guianensis* (Aubl.) obtidos na análise por CLAE-QTRAP-MS/MS (A) e espectros com faixa de fragmentação no modo positivo (B) e negativo (C).

4.3.9. Caracterização histológica e histoquímica

A avaliação botânica de *P. guianensis*, com relação a seu caráter macroscópico é bem relatado pela literatura, se diferindo das demais espécies do gênero por apresentar corola de quatro pétalas, lóbulos com margem ciliada e sépalas de igual comprimento,

estaminódios subulados e glabros (ALVES-ARAÚJO; SWENSON; ALVES, 2014). Contudo, a demanda de estruturas reprodutivas dificulta a sua caracterização, haja visto a labilidade do pedúnculo floral, o qual torna estas estruturas frágeis, com dificuldade de ser mantido de forma íntegra. Desta forma, as análises histológicas se tornam valioso recurso de avaliação morfogênica e diferenciação de espécies vegetais (BARTOS *et al.*, 2018; YEUNG, 1999).

Na **Figura 26**, pode-se avaliar os cortes histológicos das folhas e do pecíolo de *P. guianensis*. É possível observar que as folhas apresentam epiderme simples e glabra com presença de cutícula espessa com ondulações aparentes e estômatos localizados na face abaxial. O mesofilo é dorsiventral com 2 camadas de parênquima paliádico e 4-5 camadas de parênquima lacunoso, com amplos espaços intercelulares, e presença de laticíferos. Nas nervuras secundárias os feixes vasculares são envoltos por uma bainha esclerenquimática conectando as epidermes adaxial e abaxial. O feixe vascular é classificado como anficrival com presença de fibras. A nervura central é biconvexa com epiderme unisseriada, cutícula espessa com alguns tricomas, parênquima com idioblastos e córtex permeado por idioblastos cristalíferos e resiníferos. Apresenta dois arcos colaterais, com medula parenquimática que possui idioblastos resiníferos.

Com relação ao pecíolo tem-se que apresenta epiderme simples com cutícula espessa e tricomas. Apresenta córtex parenquimático permeado por laticíferos. O cilindro vascular apresenta fibras em seu arredor com crescimento secundário (sistema e floema dispostos radialmente), e possui medula parenquimática.

Na literatura, encontrou-se a realização de cortes histológicos apenas de folhas de *P. gardneriana* Radlk, com poucas descrições botânicas. Neste estudo de Leite *et al.* (2017) destaca-se a propriedade hipostomática das folhas (estomas apenas na região abaxial), sendo esta avaliação não realizada no estudo.

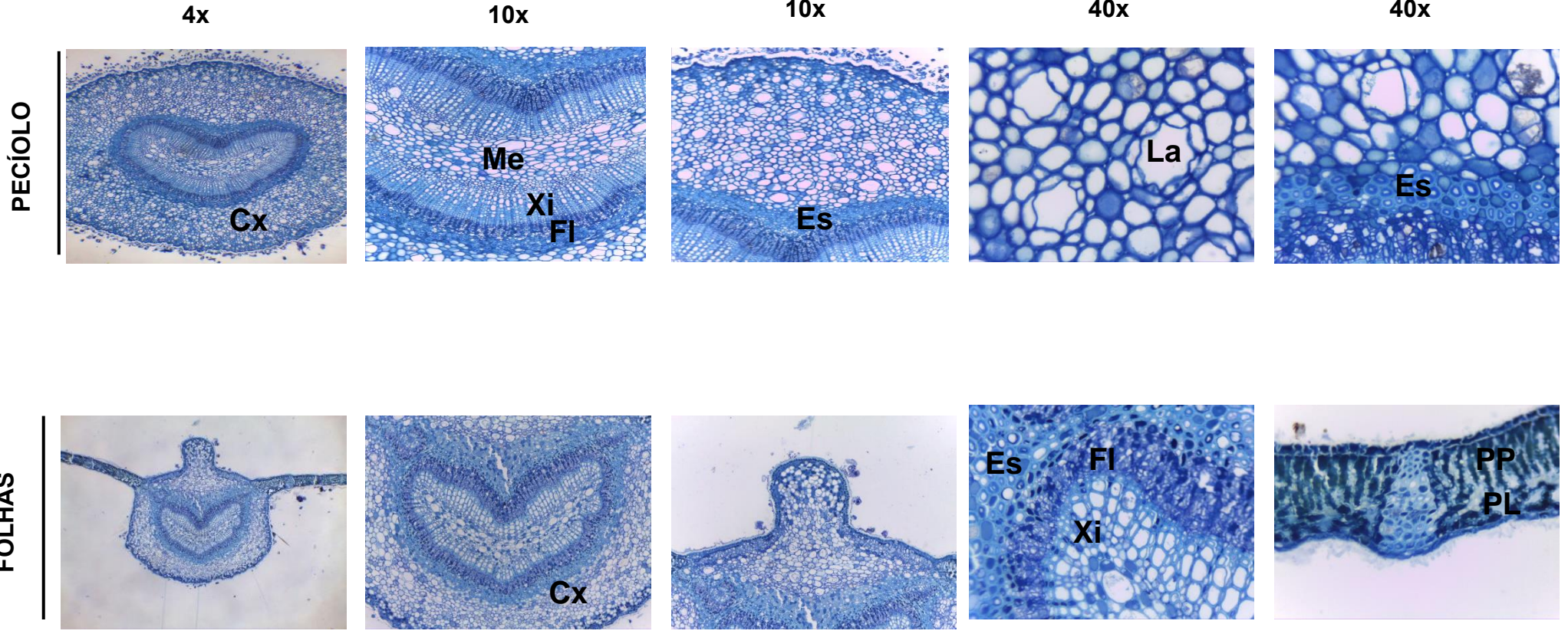


Figura 26 - Perfil histológico em lâminas das folhas e pecíolo central de *Pouteria guianensis* (Aubl.) realizadas em micrótomo rotativo coradas com Astra blue e safranina (9:1).

Legenda: Cx- córtex, Es- esclerênquima, FI- floema, La- laticífero, Me- medula, PL- parênquima lacunoso e PP- parênquima paliçádico

Com relação as análises histoquímicas (**Figura 27**), é possível observar teste positivo para todos os metabólitos investigados, sendo os flavonoides (azul) presentes majoritariamente no córtex da folha e do pecíolo e nos parênquimas peciolares; os alcaloides (amarelo a amarronzado) próximos as paredes celulares, os compostos fenólicos (marrom a preto) amplamente distribuídos em ambas as estruturas avaliadas, os terpenoides (azul a roxo) presentes no cortex e os lipídeos (alaranjado), dentro dos laticíferos. De forma confluyente, este último resultado é comum de ocorrer a outras espécies com riqueza de látex, como a *Manilkara zapota* (L.) P. Royen (Sapotaceae), a qual apresenta o teste SUDAN (lipídeos) positivo em toda a região próxima a cutícula vegetal (MOURA *et al.*, 2019). Ademais, ressalta-se o teste para alcaloides (Draggendorf), o qual apresentou considerável resposta no ensaio, indicando a necessidade de maior investigação desta classe de metabolitos especiais, apesar da ausência de dados que corroborem com o achado na literatura.

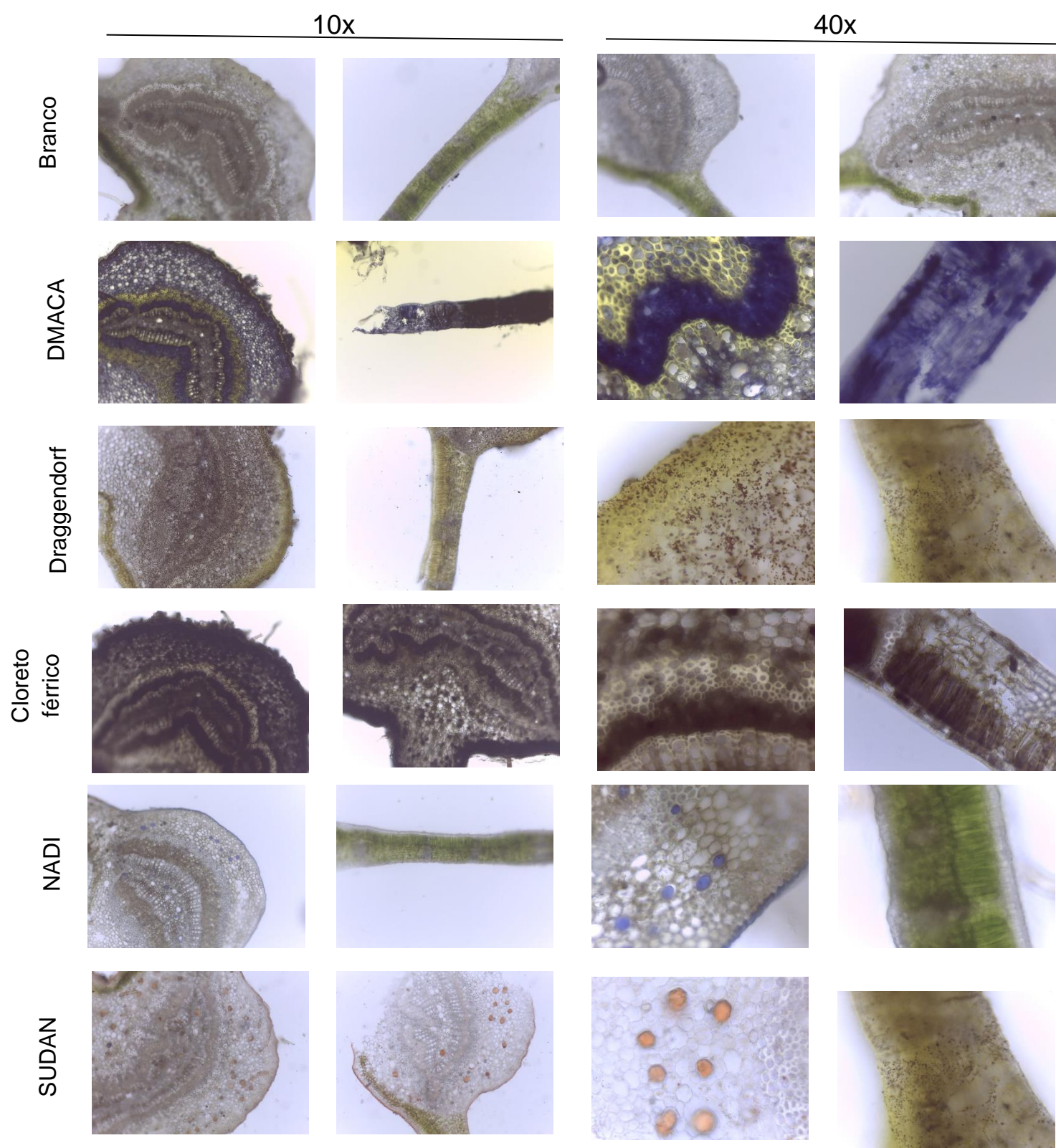
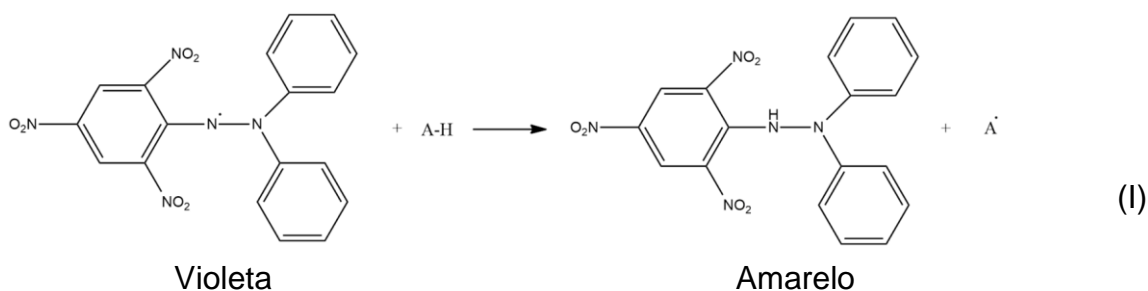


Figura 27 - Perfil histoquímico em lâminas de *Pouteria guianensis* (Aubl.) realizadas em cortes livre com aumentos de 10x e 40x.

4.3.10. Avaliação da atividade antioxidante de *P. guianensis*

As espécies vegetais, por estarem expostas a diversos fatores estressores (condições climáticas, exposição ao sol e deficiência de nutrientes) possuem elevadas concentrações de espécies reativas a oxigênio (ROS), desenvolvendo a propriedade antioxidante como forma de sobrevivência (CHAVES; SANTIAGO; ALÍAS, 2020; WAN *et al.*, 2022). Para verificação do potencial antioxidante das plantas existem diversos métodos *in vitro* e *in vivo* que possuem diferentes mecanismos, com diferentes sensibilidades e aplicabilidades (ALAM; BRISTI; RAFIQUZZAMAN, 2013; OLEINIK *et al.*, 2022).

Dentre os testes para realizar a avaliação da atividade antioxidante *in vitro* de derivados de produtos naturais pode-se citar o método de redução da molécula radicalar 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), segundo a reação química (I), o qual foi descrito inicialmente por MANZOCCO *et al.* (1998). Por este método, a redução da substância radicalar promove alteração de sua coloração de violeta para amarelo, com cálculo da alteração da absorbância da coloração do DPPH em contato com a amostra (ALAM; BRISTI; RAFIQUZZAMAN, 2013). O processo de oxirredução que ocorre está representado na reação I sendo as substâncias fenólicas os compostos bioativos que majoritariamente apresentam ação no modelo (ÁCSOVÁ; MARTINIAKOVÁ; HOJEROVÁ, 2019). Ademais, sabe-se que o método apresenta robustez experimental, e apesar de sua simplicidade, consegue detectar grande número de variáveis na amostra, como a concentração de hidrogênios reativos, necessitando, por isso, cuidado na escolha do solvente diluente para que este não influencia na realização do teste (SHAHIDI, 2015).



Com relação a atividade antioxidante dos diferentes extratos estudados, o resultado obtido pode ser visualizado na **Figura 28A**, na qual classificou-se como ativo todos os extratos que apresentassem até 50% da propriedade antioxidante do extrato mais ativo (extrato hidroetanólico 30%, com $42,50 \pm 1,83\%$ de redução radicalar). Desta forma, os extratos hidroetanólico à 100%, metanólico, acetato de etila, hexânico e clorofórmico foram caracterizados como não ativos. Ressalta-se que o teste foi realizado na concentração de 50 $\mu\text{g/mL}$ pois é relatado na literatura que extratos que apresentarem $\text{IC}_{50} \leq 50 \mu\text{g/mL}$ são altamente ativos, $50 \mu\text{g/mL} < \text{IC}_{50} \leq 100 \mu\text{g/mL}$ apresentam moderada atividade antioxidante e $\text{IC}_{50} \geq 200 \mu\text{g/mL}$ não apresentam atividade antioxidante considerável (SIMIRGIOTIS *et al.*, 2016). Desta forma, pela **Figura 28A** sugere-se que nenhum extrato apresenta elevado teor antioxidante, tornando a categorização antioxidante ativa ou inativa realizada no trabalho em função da ação dos diferentes extratos, de forma empírica, e não de sua classificação conforme a literatura.

Na **Figura 28B**, pode-se ver a distribuição dos componentes principais do modelo quimiométrico que foi desenvolvido a partir da interpolação dos dados do perfil químico cromatográfico dos 15 extratos obtidos (considerando os 45 diferentes picos cromatográficos selecionados) com a sua caracterização de atividade ou inatividade frente ao modelo de DPPH. Isto se torna relevante, uma vez que as análises quimiométricas buscam a redução de dados analíticos sem perda de informações importantes do modelo. Desta forma, os componentes principais são as percepções multifacetadas dos dados adquiridos, com cálculo matemático da previsibilidade estatística, denominados Componentes Principais (CP) (SHLENS, 2014). Desta forma, o elevado percentual de CP1 e CP2 (64,5% e 31,6%, respectivamente) demonstram a coerência do critério de atividade e inatividade escolhidos, tal como a concordância com os dados químicos.

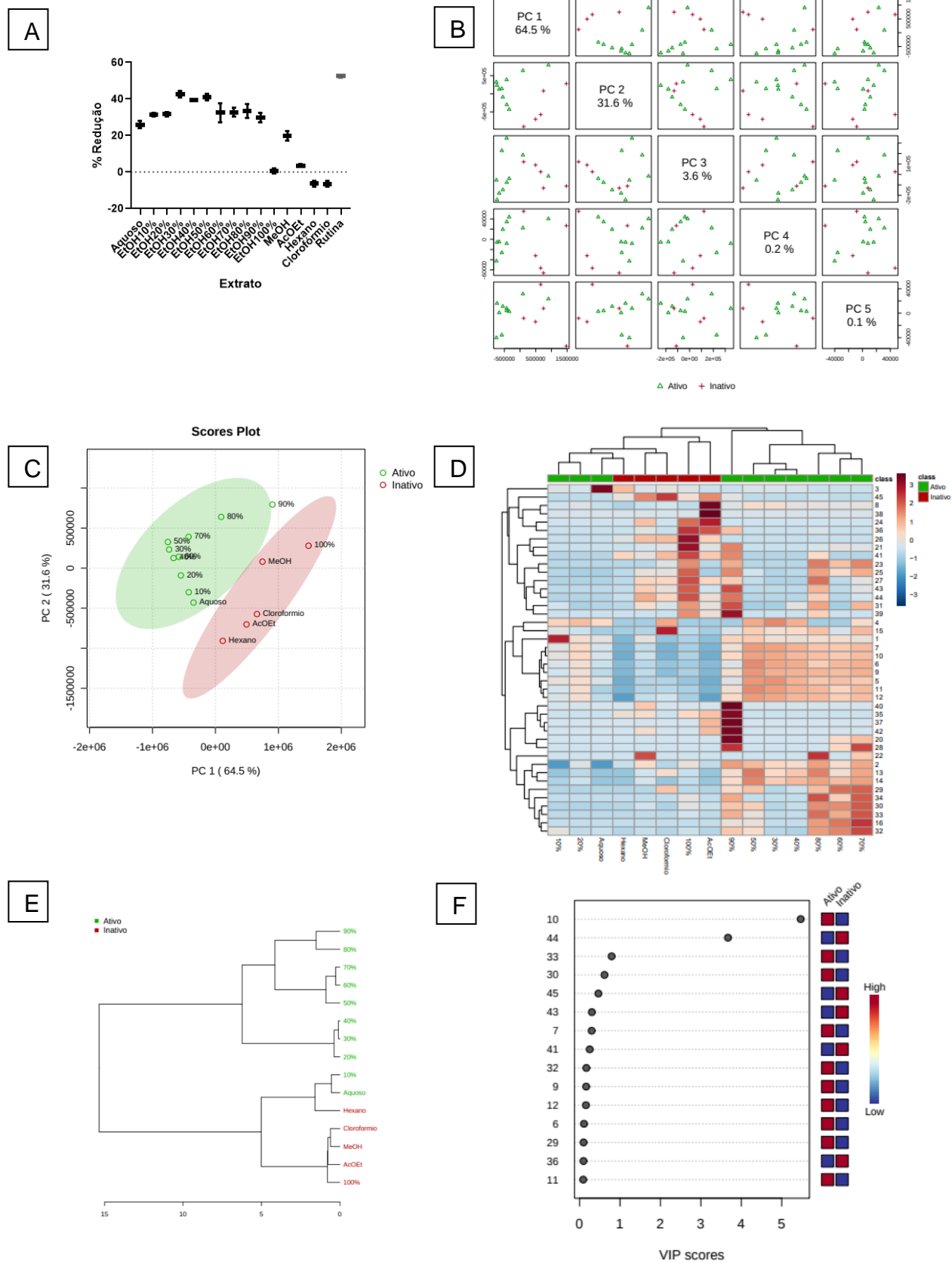


Figura 28 - Análise antioxidante por DPPH dos extratos de *Pouteria guianensis* (Aubl.) (A), dispersão dos componentes principais dos extratos ativos e não ativos (B) com análise de componentes principais (Cp1xCp2) (C) e demonstração por mapa de calor dos picos cromatográficos (D), agrupamento hierárquico (E) e análise de VIP scores (F).

De forma confluyente com isto, tem-se que com a análise de PCA demonstrou a capacidade de separação entre os extratos ativos e não ativos (**Figura 28C**). A estratégia multifatorial utilizada, relaciona bidimensionalmente os aspectos das amostras e possibilita demonstrar seu agrupamento em dois diferentes segmentos (SANTOS, *et al.*, 2019). Contudo as análises de agrupamentos hierárquicos em função da média e da variância amostral (**Figura 28D e 28E**, respectivamente) indicam que extratos de baixo grau de alcoolutura (0%, 10% e 20%) e 90%, apresentaram atividade no modelo, indicando que a pobreza quantitativa dos compostos detectados no CLAE, não impediram a sua ação, viabilizando a formulação da hipótese de que esta atividade pode se originar, também, por compostos não detectados no DAD.

Ressalta-se que existem relatos para o gênero de extratos hidroetanólicos (95%) que não apresentaram atividade modelo de DPPH porém foram ativos em outros modelos como o de ABTS (FARIA *et al.*, 2021). Diante disso, explicita-se que mais análises são necessárias antes da afirmação da não atividade antioxidante das amostras avaliadas.

A última análise quimiométrica (**Figura 28F**) realizada faz parte de um conjunto maior de análises denominada projeções ortogonais para estruturas latentes (traduzido de *Orthogonal Projections to Latent Structures - OPLS*) intitulada *VIP scores (Variable Influence on Projection)* (GALINDO-PRIETO; ERIKSSON; TRYGG, 2015). Nesta análise, correlacionou-se os picos cromatográficos (ausência e presença), tal como intensidade quando ocorrente com a atividade antioxidante (GALINDO-PRIETO; ERIKSSON; TRYGG, 2014).

Nesta, foi possível observar dois picos com valor de *VIP scores* maior 3, sendo os principais na análise. Destes, tem-se que o pico 10 (identificado, possivelmente, como miricitrina no item **4.3.8.**), foi o que mais se correlacionou com a atividade do extrato e o pico 44 (na região final do cromatograma) o que esteve mais presente nos extratos não ativos.

A aplicabilidade da quimiometria no trabalho, fomentou a escolha de extratos para avaliação da atividade anti-inflamatória, antinociceptiva, antiangiogênica e citotóxica da espécie, haja visto que a aplicação estatística no contexto de extratos possibilita a visualização mais clara acerca de suas semelhanças, diferenças e bioatividades (parte III desta dissertação) (ABOLLINO *et al.*, 2011). Desta forma, escolheu-se os extratos aquosos (EA) e extrato hidroetanólico de 80% (EHE80%), devido a

diversidade química apresentada entre os extratos, principalmente o elevado teor de miricitrina.

Diante da escolha dos extratos, construiu-se duas curvas analíticas em triplicata no modelo de DPPH com 7 pontos avaliados (25, 50, 75, 100, 125, 150 e 175 µg/mL para o EA e 20, 30, 40, 50, 60, 70 e 75 µg/mL para o EHE80%) para cálculo do IC₅₀. As curvas analíticas construídas foram iguais a $Y = 0,4649 \cdot X + 11,52$; $R^2=0,9922$ (IC₅₀ = 82,77 µg/mL) e $Y = 1,096 \cdot X + 7,607$; $R^2=0,9916$ (IC₅₀ = 38,68 µg/mL), respectivamente. Apesar do amplo número de estudos da atividade antioxidante das plantas do gênero, tem-se que a parte vegetal com mais resultados são os frutos, ricos em compostos fenólicos (ASEERVATHAM *et al.*, 2014), contudo, os extratos obtidos de folhas de *P. guianensis* apresentaram capacidade antioxidante maior do que as diferentes partes vegetais de outras espécies, como *P. caimito* e *P. campechiana* (ASEERVATHAM *et al.*, 2014; MONTERO *et al.*, 2018). Em complemento, extratos aquosos das folhas de *P. caimito* foram as únicas avaliadas frente ao modelo com este diluente, e apresentou IC₅₀ menor do que o obtido (36,1 µg/mL), sem avaliação de extrato hidroetanólico 80% (FRANCA *et al.*, 2016).

Contudo, é de conhecimento a elevada influência sazonal que as espécies vegetais sofrem, refletindo em alteração de diversos parâmetros físico-químicos (SANTOS-SILVA; SANTOS; SANTOS, 2022; WRIGHT, 1996). Desta forma, para validação da caracterização da droga vegetal de *P. guianensis*, teve-se a necessidade da avaliação da droga vegetal nas diferentes estações, realizando assim a parte II deste trabalho.

PARTE 2

Avaliação sazonal de *Pouteria guianensis* (Aubl.): perfil físico-químico, análises cromatográficas e atividade antioxidante.

5. AVALIAÇÃO SAZONAL

5.1. Materiais, Equipamentos e reagentes

5.1.1. Equipamentos, instrumentos, aparatos e vidrarias

- Algodão;
- Balança analítica;
- Balão de fundo redondo;
- Balão volumétrico de 10,0 mL;
- Balão volumétrico de 250,0 mL;
- Banho Maria (NovaTecnica);
- Cadinhos de porcelana;
- Centrifuga (Eduotec, EEQ-9004113);
- Coluna cromatográfica C18 (NST; 250 mm x 4.6 mm x 5 µm);
- Coluna de condensação;
- Cromatógrafo Líquido de alta eficiência (Shimadzu LC-20A) com detector de arranjo de diodos (Shimadzu SPD-20A);
- Cromatoplaça de gel de sílica GF254;
- Espectrofotômetro (TECAN Infinite 200 PRO);
- Estufa (Solab SL-1001A);
- Estufa com circulação de ar;
- Filtro de fase móvel PVDF 0,45 µm (Millipore Industrias e comércio);
- Membrana filtrante para seringas, não estéril, PVDF 0,45 µm (Millipore, Merck);
- Funil de separação;
- Funil de vidro;
- Lâmpada UV (Spectrocline ENF-260C);
- Ultrapurificador de água (Direct-Q 30V);
- Mufla (Fornos Lavosier, 402C);
- Papel de filtro qualitativo (Unifil);
- Papel de filtro quantitativo (J. Prolab, L0540);
- Pesa filtro;
- Pipeta de Pasteur;
- Pipeta volumétrica 100 µL;
- Pipeta volumétrica 1000 µL;
- Pipeta volumétrica 5000 µL;
- Placa de aquecimento com agitação (Corning PC-420D);
- Cromatoplaça de gel de sílica GF254;
- Rotaevaporador (IKA RV3 eco);
- Tubo Falcon de 15 mL e 50 mL;
- Ultrapurificador de água (Milli Q, Direct-Q 30V);
- Ultrassom (Ultronic Q3.0140A);

5.1.2. Solventes, reagentes e substâncias químicas de referência

- 2-difenil-1-picrilhidrazil, Aldrich;
- Acetato de etila P.A., Neon;

- Acetona P.A., Dinâmica;
- Acetonitrila, grau CLAE, Sigma Aldrich;
- Ácido acético P.A., Synth;
- Ácido clorídrico P.A., Dinâmica;
- Ácido fórmico P.A., Synth;
- Ácido fosfomolibdico, Dinâmica;
- Ácido fosfórico P.A., Synth;
- Carbonato de sódio, Êxodo;
- Cloreto de alumínio, Dinâmica;
- Difetilborato de amino-etil éster P.A. Sigma Aldrich;
- Etanol P.A. Ciavico;
- Metanol P.A., Exôdo;
- Metanol, grau CLAE, Sigma Aldrich;
- Metenamina, Merck;
- Pirogalol, Synth;
- Pó de pele, Sigma Aldrich;
- Quercetina $\geq 95\%$, Aldrich Chemistry;
- Tungstato de sódio, Dinâmica.

5.2. Metodologia

Coletas sazonais do indivíduo de *P. guianensis* localizado no JB/FPMZB-BH (BHCB210380) foram realizadas nos meses de agosto/2022 (inverno); outubro/2022 (primavera); fevereiro/2023 (verão) e abril/2023 (outono). Como critério de escolha do indivíduo para o desenvolvimento da avaliação sazonal optou-se pela disponibilidade de material vegetal e viabilidade de coleta nos momentos necessários.

5.2.1. Análises cromatográficas

O perfil cromatográfico das amostras nas diferentes estações foi avaliado com o intuito de verificar a estabilidade da biossíntese dos marcadores escolhidos e a variabilidade dos demais fitoquímicos. Para isso, selecionaram-se os métodos de CCD (avaliação de flavonoides e taninos, item 4.3.2.) e CLAE (item 4.3.3.) para sua compreensão. As análises foram realizadas após coleta de todas as estações, mantendo as amostras pulverizadas em frasco hermético sob abrigo de luz.

5.2.2. Atividade antioxidante

A avaliação da atividade antioxidante dos extratos aquoso, hidroetanólico (etanol:água 80:20; v/v) e de acetato de etila foi realizada por metodologia de redução de DPPH conforme descrito no item 4.2.10. Estas amostras foram avaliadas por CLAE conforme

item **4.3.3.** com avaliação quimiométrica de interpolação de seu perfil constitutivo e suas respectivas propriedades antioxidantes conforme descrito em **4.2.11.**

Em complemento, realizou-se avaliação da propriedade redutora do extrato metanólico de *P. guianensis* por cromatografia em camada delgada. Para isso, fez-se cromatoplaça conforme item **4.3.2.**, sendo utilizado na revelação do sistema cromatográfico, solução de DPPH 300 µM preparado no momento da realização do teste (RENAULT *et al.*, 2014).

5.2.3. Análises físico-químicas

Realizou-se os ensaios de perda por dessecação, determinação de cinzas totais e cinzas insolúveis em ácido de forma gravimétrica conforme descrito pela Farmacopeia Brasileira, 6 edição - FB6, (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2019). Em complemento realizou-se a quantificação de flavonoides totais expressos em hiperosídeo utilizando como referência a monografia de *Calendula officinalis* L. (FB6) e a quantificação de taninos totais expressos em pirogalol, seguindo a monografia de *Hamamelis virginiana* L. (Farmacopeia Brasileira, 2019). Os resultados obtidos em todas as avaliações foram comparados por Anova de única via, com análise de variância de *Brown-Forsythe test*, homoscedasticidade por D'Agostino-Pearson omnibus (K2) e post-teste de Tukey. Em todos os casos foi necessário utilizar correção para variância e obteve-se normalidade dos dados.

5.3. Resultados e discussão

5.3.1. Análises cromatográficas

A diversidade de metabólitos produzidas por espécies vegetais se modulam devido às condições de cultivo, crescimento, estresses bióticos e abióticos que alteram sua capacidade bioquímica e expressão diferencial de diferentes classes de compostos (WANG, S. *et al.*, 2019). Esta influência vem se acentuando, inclusive, diante das mudanças climáticas planetárias, o que fazem com que a caracterização da biodiversidade vegetal se torne um fenômeno contínuo que sempre demandará atualizações (XU; WENG, 2020).

Dentre as classes de variação, podemos citar as diversidades de oscilação do perfil quantitativo e qualitativo de flavonoides e compostos fenólicos em geral (SHI *et al.*, 2022; THAKUR; KAPILA, 2017). Desta forma, esta se tornou uma preocupação do trabalho haja visto que marcadores bioquímicos devem ser robustos para serem

utilizados como diferenciadores entre espécies, resistindo a variabilidades de modificações metabólicas sazonais (ZAHOOR *et al.*, 2022). Desta forma, fez-se análise por CCD que pode ser visualizada na **Figura 29**.

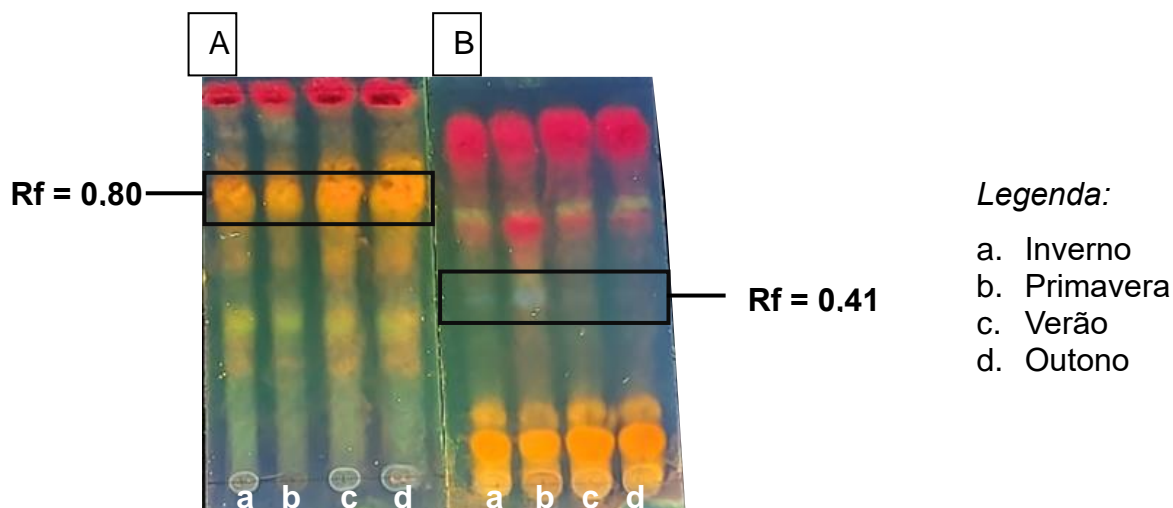


Figura 29 - Avaliação sazonal de *Pouteria guianensis* (Aubl.) por cromatografia em camada delgada com enfoque em flavonoides (A) e compostos fenólicos (B) e seus marcadores, revelados com reagente de produto natural.

Com relação a avaliação focada em flavonoides, foi possível observar de forma característica em todas as estações a mancha com Rf próximo a 0,80 e ausência de mancha com Rf próximo a 0,64; a qual diferenciava a espécie da *P. torta*. (item 4.3.2.) Contudo, na avaliação de fenólicos, apesar da mancha característica da espécie com Rf = 0,41 estar presente nas estações de inverno e primavera, sua presença se torna muito sutil nas estações de verão e outono. Desta forma, apesar de importante a caracterização de fenólicos em geral, a diferenciação de *P. guianensis* das demais espécies de *Pouteria* spp. se torna facilitada com o método de avaliação de flavonoides.

Na análise por CLAE (**Figura 30**) é possível visualizar com maior nível de detalhamento as diferenças obtidas entre os metabólitos. Nestas, é possível observar maior variabilidade quantitativa para os picos cromatográficos de 20 a 30 min nos extratos aquosos, nos picos de 35 a 45 min nos extratos hidroetanólicos 80% e de acetato de etila, sendo este último, caracterizado pela maior variação concomitante nos picos de 50 a 65 min.

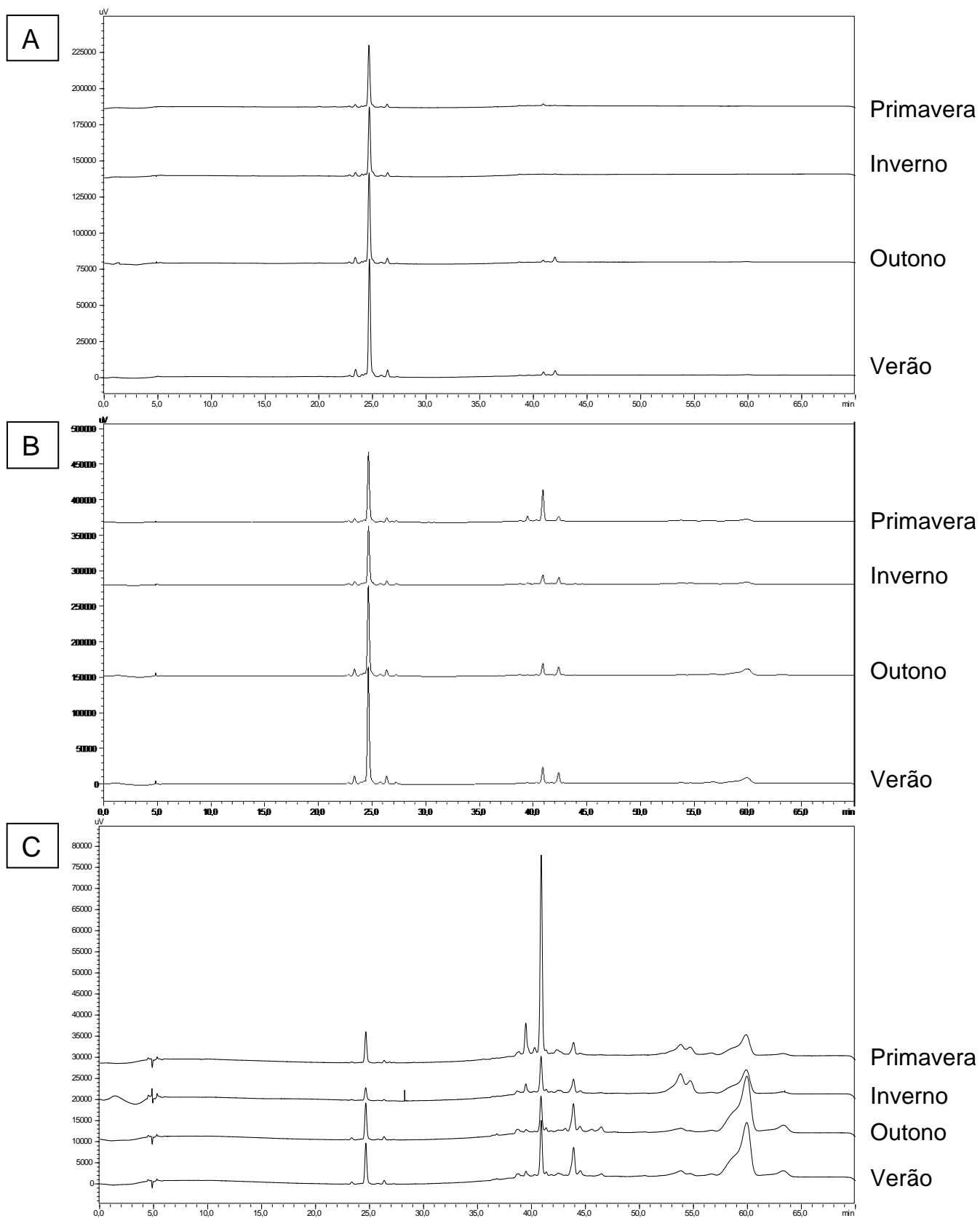


Figura 30 - Perfil cromatográfico das folhas de *Pouteria guianensis* (Aubl.) em quatro diferentes estações, extraídas com água (A), solução hidroetanólica a 80% (B) e acetato de etila (C).

A avaliação de plantas ricas em flavonoides e compostos fenólicos não apresentam consenso com relação a estações ou condições climáticas de maior favorecimento de produção destes metabólitos (ARAUJO *et al.*, 2022; SHI *et al.*, 2022; ZHOU *et al.*, 2019), inclusive não é raro que a produção de flavonoides seja inversamente proporcional à das demais classes fenólicas, devido a biossíntese de vegetal de ambas as classes, as quais podem ser concorrentes na demanda de intermediários, o que se ilustra pelas análises em CLAE de *P. guianensis* (GOMES *et al.*, 2021; ZHANG *et al.*, 2022).

5.3.2. Atividade antioxidante

Com a variabilidade nas diferentes estações dos metabólitos ocorre, conseqüentemente, uma oscilação nas propriedades de ação farmacológica do vegetal, sendo esta uma característica importante de se conhecer para averiguação do melhor momento do ano para coleta enfocando as finalidades a que a droga vegetal se destina (SIVACI; DUMAN, 2014). Dentre estas, a propriedade antioxidante é uma ação terapêutica diretamente afetada por fatores sazonais, haja visto que quanto maior o grau de exposição solar vegetal, maior será a necessidade de agentes antioxidantes para sobrevivência da planta, sendo o método de redução por DPPH altamente sensível a estas flutuações (RATHORE *et al.*, 2022; SARTOR *et al.*, 2013). Com a necessidade de identificação de possíveis compostos que sejam responsáveis a esta atividade, aspergiu-se sobre as duas diferentes cromatoplasmas (com o método selecionado para flavonoides e para fenólicos) solução de DPPH 300 µM. Este teste pode ser avaliado na **Figura 31** onde é possível visualizar que na cromatoplasma com maior riqueza de flavonoides (**Figura 31A**), toda a região onde a amostra percorreu apresentou atividade antioxidante (com descoloração do DPPH) impossibilitando o elencamento de quais manchas possivelmente se correlacionam com a atividade. Em contrapartida, na cromatoplasma com maior riqueza de compostos fenólicos (**Figura 31B**) tem-se que a região de maior descoloração apresenta $R_f < 0,5$, o qual, quando revelado com reagente natural, demonstrou ser a região de maior prevalência de flavonoides, indicando que esta classe é a maior responsável por esta ação na espécie. Contudo, foi possível observar uma maior quantidade de manchas e de maior intensidade na primavera, indicando maior concentração de metabólitos antioxidantes nesta estação.

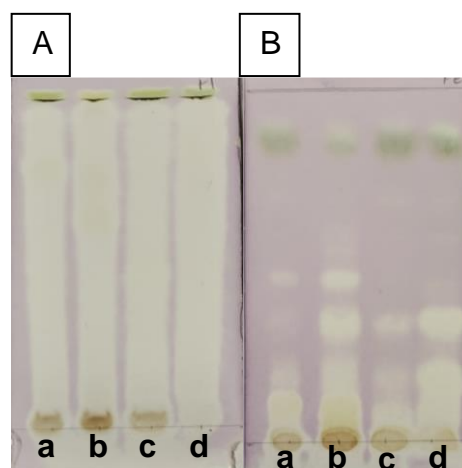


Figura 31 - Avaliação sazonal de extratos metanólicos de *Pouteria guianensis* (Aubl.) por cromatografia em cada delgada com enfoque em flavonoides (A) e compostos fenólicos (B) e seus marcadores, revelados com DPPH 300µM no inverno (A); primavera (B); verão (C) e outono (D).

O resultado obtido era esperado, haja visto que já se tem relatado que apesar de outros compostos fenólicos apresentarem propriedade redutora, esta é mais acentuada nos derivados flavonoídicos do que outras classes como ácidos fenólicos (GHASEMZADEH, 2011; SROKA, 2005). Desta forma, avaliou-se três diferentes extratos frente a atividade antioxidante, o extrato aquoso e o hidroetanólico (80%) pois apresentam bons quantitativos de flavonoides, e o extrato de acetato de etila, com menor proporção desta classe de metabólitos para validação desta hipótese. Os resultados da atividade antioxidante e da AAH, do perfil cromatográfico por CLAE obtido dos extratos pode ser visualizado na **Figura 32**.

Com os resultados foi possível observar que os três diferentes extratos preparados apresentaram pior atividade antioxidante na coleta de inverno e melhor atividade na coleta de verão, o que sugere que a exposição solar no indivíduo *P. guianensis* pode ter influenciado diretamente na formação desta classe metabólica (ZHANG *et al.*, 2019; ZHU *et al.*, 2018). Contudo, o achado é importante haja visto que, em plantas ricas em compostos voláteis, como os frutos do gênero, existe uma co-influência entre estes e a produção de fenólicos que podem induzir maior produção de compostos antioxidantes em outras estações, como o inverno nas demais partes vegetais (LIANOPOULOU; BOSABALIDIS, 2014). Explicita-se que apesar de existirem relatos de óleos essenciais das sementes e polpa dos frutos de diversas espécies de *Pouteria* spp., não existe relato do óleo das folhas, fazendo com que esta influência metabólica precise ser melhor elucidada (GUERRERO-CASTILLO *et al.*, 2021; PAI; SHENOY K., 2021; RODRÍGUEZ *et al.*, 2018)

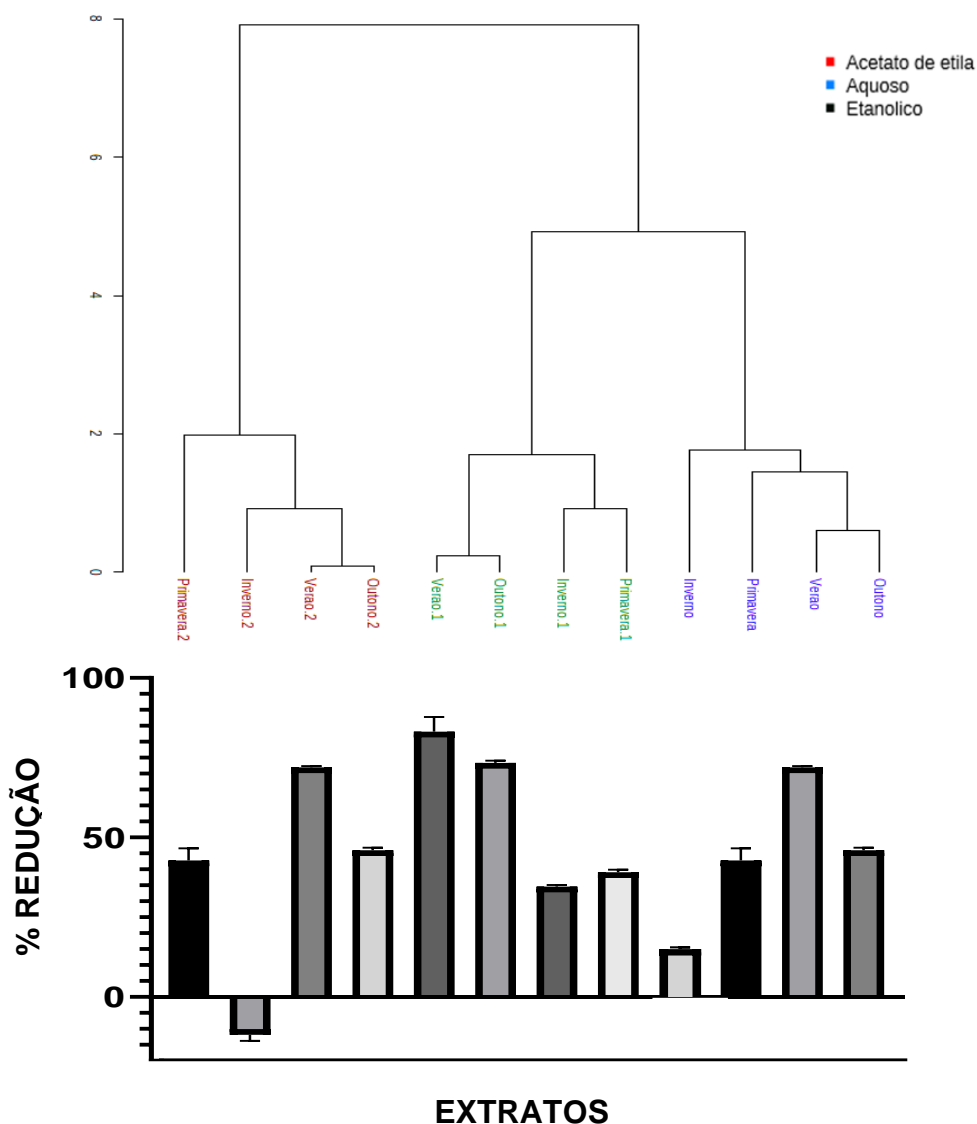


Figura 32 - Atividade antioxidante dos extratos aquoso, EHE80% e acetato de etila de *Pouteria guianensis* (Aubl.) nas quatro diferentes estações e análise de agrupamentos hierárquicos de seu perfil químico.

Um fator que demanda atenção foi a elevada atividade antioxidante dos extratos menos polares, excetuando-se pela coleta realizada no inverno. Isto, provavelmente se correlaciona com a presença de compostos terpênicos e proantocianidinas aos quais podem estar correlacionados com a região do cromatograma da amostra visualizado na **Figura 30** nos tempos de 50-65 min, em que é possível observar um aumento na concentração nas demais estações, se comparado ao inverno. Ademais, sabe-se que estas classes, como as proantocianidinas, apresentam reconhecida propriedade antioxidante (TURKIEWICZ *et al.*, 2019; WANG; CHEN; HOU, 2019) além

de ser amplamente distribuída no gênero (DO *et al.*, 2023; FITRIANSYAH; FIDRIANNY; HARTATI, 2020).

Em complemento e consonância a esta suposição, é perceptível pela análise de ADMQP demonstrada na **Figura 33**, a qual ilustra que as quatro estações apresentam perfil químico no CLAE consideravelmente distinta, a presença de picos cromatográficos que são mais expressos em cada momento do ano com *VIP scores* > 2. Neste é possível perceber que compostos com espectro na região ultravioleta características de flavonoides, pico 16, (TANIGUCHI *et al.*, 2023), ácidos fenólicos, picos 33 e 39 (GUTIÉRREZ-VELÁZQUEZ *et al.*, 2018; MIRA *et al.*, 2008), e proantocianidinas, pico 55 (GOMES *et al.*, 2019), se correlacionam com as diferentes estações, demonstrando que apesar de uma variabilidade metabólica, existe uma riqueza de compostos antioxidantes em todos os momentos em que houve a coleta, o que viabiliza a utilização vegetal independente do momento sazonal, para esta finalidade.

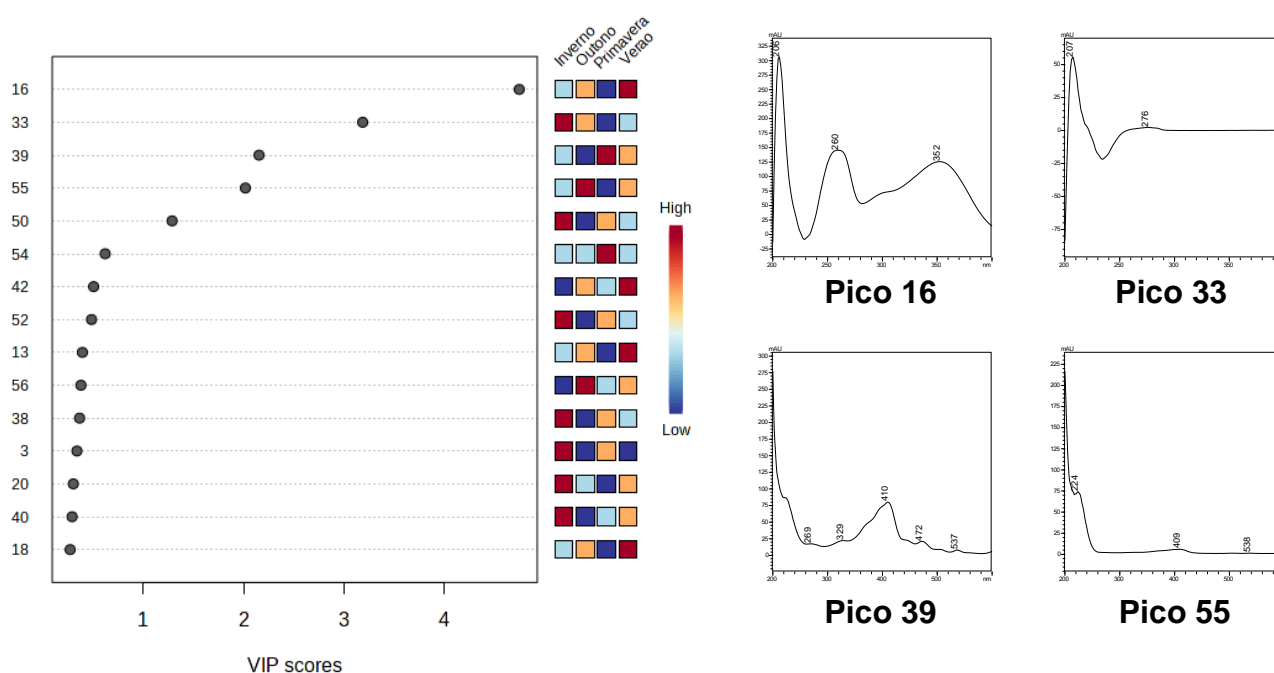


Figura 33 - Análise discriminante de mínimos quadrados parciais com espectro na região do ultravioleta de picos com *VIP scores* >2.

Ademais, sabe-se que estas três classes apresentam propriedade anti-inflamatória conhecida, renunciando a utilização vegetal para esta finalidade independente do momento de coleta (GINWALA *et al.*, 2019; KOUDOUFIO *et al.*, 2021; KUMAR, N.; GOEL, 2019). Contudo, a variação sazonal observada se torna crítica diante dos parâmetro de toxicidade, uma vez que o perfil toxicológico vegetal se altera conforme a concentração de metabólitos, demandando uma futura avaliação crítica da segurança da espécie ao longo do ano (GUNE *et al.*, 2020; LUZ *et al.*, 2020).

5.3.3. Análises físico-químicas

Além da variabilidade analítica de substâncias químicas, o processo de monitoramento físico-químico de espécies vegetais é valoroso recurso no controle de qualidade de drogas vegetais (FITZGERALD; HEINRICH; BOOKER, 2020). Destes podem-se citar a perda por dessecação, que reflete o teor de compostos voláteis a 105 °C, haja visto que a atividade de voláteis após o processo de estabilização vegetal, se correlaciona diretamente com a estabilidade da droga vegetal (OLIVER; WOOD; O'MAHONY, 1997), e as cinzas totais e insolúveis responsáveis por determinar de forma indireta a quantidade de compostos inorgânicos e derivados silícios, respectivamente, comumente atrelados a finalidade terapêutica de plantas medicinal (KUMAR, S.; KUMAR; SINGH, 2020), além de refletir possíveis ambientes de cultivo com contaminações inorgânicas (KIM *et al.*, 2011). Conjuntamente estes parâmetros ajudam a monitorar a contaminação por outras espécies vegetais e controle da cadeia logística de cultivo, colheita, transporte e distribuição de plantas (PRAKASH *et al.*, 2019).

Desta forma, pode-se visualizar na **Tabela 22** o doseamento dos diferentes metabólitos e parâmetros físico químicos do indivíduo de *P. guianensis* nas diferentes estações. Em complemento, diante a variabilidade dos parâmetros físico-químicos em função do ambiente em que a planta se encontra, pode-se visualizar na **Tabela 23** as condições climáticas em Belo Horizonte (cidade da coleta) de acordo com o Instituto Nacional de Meteorologia do Brasil, no dia de coleta das amostras (INMET, 2023).

Tabela 22 - Controle de qualidade físico-químico da droga vegetal de *Pouteria guianensis* (Aubl.) em quatro diferentes estações

Ensaio	Estação (média ± DPR)			
	Verão	Outono	Inverno	Primavera
Perda por dessecação (%)	7,69 ± 3,47 ^a	7,79 ± 3,36 ^a	5,80 ± 2,81 ^b	10,03 ± 0,66 ^c
Flavonoides totais (%)	0,46 ± 1,05 ^a	0,63 ± 1,52 ^b	0,33 ± 0,74 ^c	0,76 ± 1,58 ^d
Taninos totais (%)	20,95 ± 4,38 ^a	19,70 ± 2,66 ^{a,b}	18,24 ± 3,69 ^b	8,52 ± 1,98 ^c
Doseamento por CLAE (µg/mL expressos em quercetina)	20,78 ± 1,50 ^a	36,40 ± 1,94 ^b	22,59 ± 2,57 ^a	19,23 ± 2,21 ^a
Cinzas totais (%)	5,03 ± 1,12 ^a	6,09 ± 1,28 ^b	3,98 ± 0,71 ^c	3,95 ± 0,18 ^c
Cinzas insolúveis (%)	1,17 ± 1,21 ^a	0,70 ± 1,02 ^b	2,81 ± 2,77 ^c	0,96 ± 1,47 ^d

Legenda: DPR-Desvio padrão Relativo; Letras iguais na mesma linha representam amostras cuja comparação não demonstram diferença estatística ($p > 0,05$) por análise de Anova de única via.

Tabela 23 - Condições climáticas e ambientais em Belo Horizonte nas datas de coleta de *Pouteria guianensis* (Aubl.) (Dados Instituto Nacional de Meteorologia do Brasil, 2023).

Data de coleta	Estação	Umidade Relativa (%)	Chuva (mm)	Temperatura (°C)	
				Mínima	Máxima
14/02/2023	Verão	50	0	24,4	32,9
15/04/2023	Outono	59	1,4	19,4	28,6
02/08/2022	Inverno	37	0	17,2	27,8
20/10/2022	Primavera	47	14,6	23	34,4

Com o conjunto dos dados é possível observar elevada flutuação em diversos fatores físico-químicos contudo, na perda por dessecação e cinzas totais não foi possível observar correlação entre a umidade relativa, chuva e temperaturas atingidas nos dias da coleta. Ademais é notável que existe uma correlação entre os níveis de flavonoides totais e taninos totais, excetuando-se pelo teor de fenólicos na primavera, ser muito reduzido frente aos demais. Outro fator interessante é que esta avaliação demonstrou a limitação do doseamento de miricitrina pelo CLAE em representar os flavonoides totais haja vista que na coleta de 20/10/2022 apesar de ser o menor teor de miricitrina identificado, teve-se o maior teor de flavonoides totais quando doseado com o auxílio do refluxo.

Devido a espuricidade dos dados obtidos, é muito difícil delimitar a melhor estação de coleta da espécie vegetal, haja visto que a sazonalidade vegetal na produção de taninos e flavonoides possuem alteração metabólica que afetam sua produção quantitativa e qualitativa, principalmente na conversão de glicosídeos em agliconas (HÄRING *et al.*, 2007; SHIM; IMAIZUMI, 2015). Ademais, para expansão dos dados obtidos de atividade antioxidante para outras finalidades terapêuticas, como atividade anti-inflamatória, é necessária avaliação de extratos de interesse em todas as estações, com elucidações das alterações oriundas do metabolismo que ocorrem, haja visto que as alterações dos metabólitos de interesse interferem diretamente na atividade biológica (SCOGNAMIGLIO *et al.*, 2014).

Por fim, é necessário se atentar ao teor de cinzas, que apresentou oscilações consideráveis nas quatro estações. Isto pois, os teores de cinzas totais e insolúveis podem se correlacionar diretamente com a produção de látex vegetal (EMON; SEIBER, 1985) e conseqüentemente com a possível toxicidade vegetal (NAVAS-FLORES *et al.*, 2021).

Para prosseguimento do presente estudo, realizamos as avaliações de atividade biológica e toxicidade de *P. guianensis* com a coleta do inverno, devido a disponibilidade vegetal. Os procedimentos metodológicos e resultados alcançados serão demonstrados na parte III do presente trabalho.

PARTE 3

**Avaliação das atividades biológicas dos extratos aquoso e EHE80% de
Pouteria guianensis (Aubl.).**

6. Avaliação das atividades biológicas

6.1. Materiais, equipamentos e reagentes

6.1.1. Equipamentos, instrumentos, aparatos e vidrarias

- Algodão;
- Analgesímetro digital (Insight Ltda., Ribeirão Preto, Brasil);
- Balança analítica;
- Balão de fundo redondo;
- Balão volumétrico de 10,0 mL;
- Balão volumétrico de 250,0 mL;
- Banho Maria (NovaTécnica);
- Centrifuga (EduTec, EEQ-9004113);
- Coluna de condensação;
- Espectrofotômetro (TECAN Infinite 200 PRO);
- Estereomicroscópico (Motic Motic K-700L, Motic) com câmera acoplada (Camera CCD DCU223C, Thorlabs);
- Funil de separação;
- Funil de vidro;
- Incubadora;
- Liofilizador (Liotop, LiofilizadorL101);
- Pipeta de Pasteur;
- Pipeta volumétrica 100 μ L;
- Pipeta volumétrica 1000 μ L;
- Pipeta volumétrica 5000 μ L;
- Placa de aquecimento (Insight Ltda, Ribeirão Preto, Brasil);
- Placa de aquecimento com agitação (Corning PC-420D);
- Pletismômetro (Modelo 7140, Ugo Basile, Itália);
- Rotaevaporador (IKA RV3 eco);
- Tubo Falcon de 15 mL e 50 mL;
- Ultrapurificador de água (Direct-Q 30V);
- Ultrassom (Ultronic Q3.0140A).

6.1.2. Solventes, reagentes e substâncias químicas de referência

- 2-difenil-1-picrilhidrazil, Sigma Aldrich;
- Acetato de etila P.A., Neon;
- Acetona P.A., Dinâmica;
- Ácido acético P.A., Synth;
- Ácido clorídrico P.A., Dinâmica;
- Ácido Fórmico P.A., Synth;
- Ácido Fosfomolibdico, Dinâmica;
- Ácido fosfórico P.A., Synth;
- Albumina de Soro Bovino, Sigma Aldrich;
- Aprotinina A, Sigma Aldrich;
- Bevacizumabe, Genentech;
- Carbonato de sódio, Êxodo;
- Carragenina, Sigma Aldrich;

- Cloreto de alumínio, Dinâmica;
- Cloreto de Benzametônio, Sigma Aldrich;
- Dexametasona, Sigma Aldrich;
- Dipirona, Sigma Aldrich;
- EDTA, Synth;
- Etanol P.A. Ciaviico;
- Fenobarbital, Sanofi;
- Fluoreto de Fenilmetilsulfonil, Sigma Aldrich;
- Ketamina, Ceva;
- Kits para ELISA (TNF- α , IL-1 β , IL-10 e CXCL-1); DuoSet, R&D Systems;
- Macrogol 400 R; Merck;
- Metanol P.A., Exôdo;
- Metenamina, P.A., Merck;
- Pirogalol;
- Pó de pele, P.A., Sigma Aldrich;
- Quercetina, Aldrich Chemistry;
- Salina comercial, Farmax;
- Salina estéril, ADV;
- Tungstato de sódio, Dinâmica;
- Tween-20, Dinâmica;
- Xilazina, Ceva.

6.2. Metodologia

6.2.1. Animais experimentais

Camundongos Swiss machos e BALB/c fêmeas, pesando entre 20 e 30 g, foram utilizados no estudo. Os animais foram fornecidos pelo Biotério da Faculdade de Farmácia e pelo Centro de Bioterismo (CEBIO) da UFMG, respectivamente, e mantidos em sala com temperatura controlada de 27 ± 1 °C. Água e ração foram fornecidas *ad libitum*. Os animais foram mantidos em um ciclo claro/escuro de 12 h, sendo acomodados em caixas de plástico forradas com maravalha. Durante a realização de todos os protocolos, os animais foram manuseados de maneira cuidadosa, a fim de promover o menor estresse comportamental possível. Ademais, a administração dos extratos de *P. guianensis* ocorreu por via *per os* (*p.o.*) com a retirada da ração 10 h antes da execução dos experimentos. Após o término dos experimentos, os animais foram submetidos à eutanásia em câmara de monóxido de carbono após anestesia geral com solução contendo ketamina e xilazina (100/10 mg/Kg, intraperitoneal, *i.p.*). Todos os experimentos foram realizados de acordo com as recomendações para avaliação de dor experimental em animais (ZIMMERMANN,

1983). O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFMG (Protocolo nº 39/2023 e Protocolo nº 282/2023).

6.2.2. Preparo dos extratos aquoso e EHE80% de *P. guianensis*

Os extratos aquoso e EHE80% de *P. guianensis* foram preparados conforme item 4.3.2. seguidos das etapas de secagem sob pressão reduzida e liofilização. Após finalizado o processo, os extratos foram armazenados em frasco hermético com proteção da luz e mantidos em dessecador. Estes extratos possuíam doseamento de flavonoides totais e taninos totais, conforme determinado no item 5.2.3..

6.2.3. Preparo das soluções de dexametasona, dipirona e fenobarbital

Para o preparo de todas as soluções, utilizou-se como solvente solução salina (cloreto de sódio 0,9%). As soluções de dexametasona, fenobarbital, dipirona foram preparadas em solução salina. A dose de dexametasona, fenobarbital e da dipirona foram 10 mg/Kg, 50 mg/Kg e 500 mg/Kg, *p.o.*, respectivamente, administradas em um volume de 10 mL/Kg.

6.2.4. Suspensão de carragenina

A suspensão de carragenina (2%; v/v) foi preparada em solução salina estéril e administrada por via intraplantar (*i.pl.*).

6.2.5. Avaliação da alodínia mecânica induzida por carragenina

Os camundongos foram ambientados e colocados em compartimentos de acrílico (22 x 18 x 14 cm) sobre uma base de tela metálica. A alodínia mecânica foi avaliada por meio de um analgesímetro digital (Insight, Ribeirão Preto, Brasil) que consiste de um transdutor de pressão manual adaptado a uma ponteira de polietileno de 0,5 mm², que mede o limiar para a retirada da pata, expresso em gramas. O filamento foi aplicado sobre a superfície plantar da pata traseira direita com um aumento gradual de pressão até que o animal retirasse a pata. O valor da pressão que induz a retirada da pata é registrado automaticamente, em uma faixa de 0,1 a 1000 g, ou aproximadamente 0,1

a 10 N. Foram feitas cinco medições, em intervalos de 20 s, sendo o maior e o menor valor eliminados e a resposta nociceptiva calculada como uma média dos três valores restantes. Os animais foram testados antes e depois dos tratamentos. O limiar basal para retirada de pata de cada animal foi determinado no dia do teste e a divisão dos grupos para posterior tratamento foi feita de forma que as massas corporais e os limiares basais médios dos diferentes grupos experimentais fossem semelhantes. A suspensão de carragenina (600 µg, 30 µL, *i.pl.*) foi injetada 30 minutos após a administração dos extratos (62,5, 125 ou 250 mg/Kg, *p.o.*) ou dexametasona (10 mg/Kg, *p.o.*) A alodínia mecânica foi avaliada 2, 4 e 6 h após a administração da carragenina (**Figura 34**). Os resultados foram expressos como o limiar de retirada da pata absoluto (g).

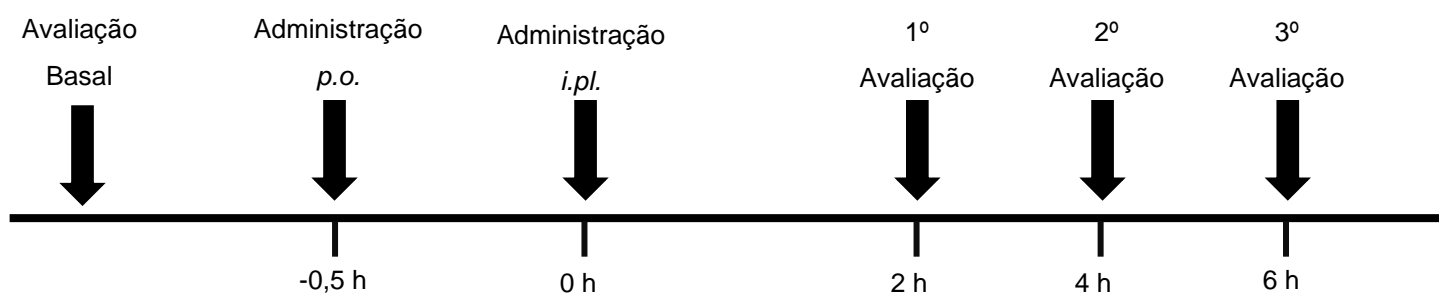


Figura 34 - Escala temporal de avaliação do efeito induzido pelos extratos de *Pouteria guianensis* (Aubl.) sobre a alodínia mecânica induzida por carragenina.

6.2.6. Avaliação do edema de pata induzido por carragenina

Para a avaliação do volume de pata, foi usado o pletismômetro (Modelo 7140, Ugo Basile, Itália). Esse aparelho contém uma célula cilíndrica para a medida do volume de pata, preenchida com uma solução de baixa concentração eletrolítica, conectada a outra célula, dentro da qual existe um eletrodo. Um sistema de vasos comunicantes faz com que o deslocamento da solução eletrolítica na célula onde a pata do animal é mergulhada resulte em um deslocamento da solução na célula que contém o eletrodo. Após ter sido calibrado, o aparelho converte o deslocamento do líquido em volume, que é indicado em um visor digital. Quando a pata do animal é introduzida na célula de medida até a articulação tíbio-tarsal, um pedal é pressionado pelo experimentador, que fixa, dessa forma, o valor do volume observado. A divisão dos grupos para posterior tratamento foi feita de forma que os volumes basais médios dos diferentes grupos experimentais fossem semelhantes. No dia do experimento carragenina (600

μg , 30 μL) foi injetada 30 minutos após administração dos extratos (62,5, 125 ou 250 mg/Kg, *p.o.*) ou dexametasona (10 mg/Kg, *p.o.*). O volume da pata de cada animal foi avaliado 2, 4 e 6 h após a injeção do estímulo inflamatório (**Figura 35**). Os resultados foram expressos como variação do volume da pata (μL) em relação aos valores basais.

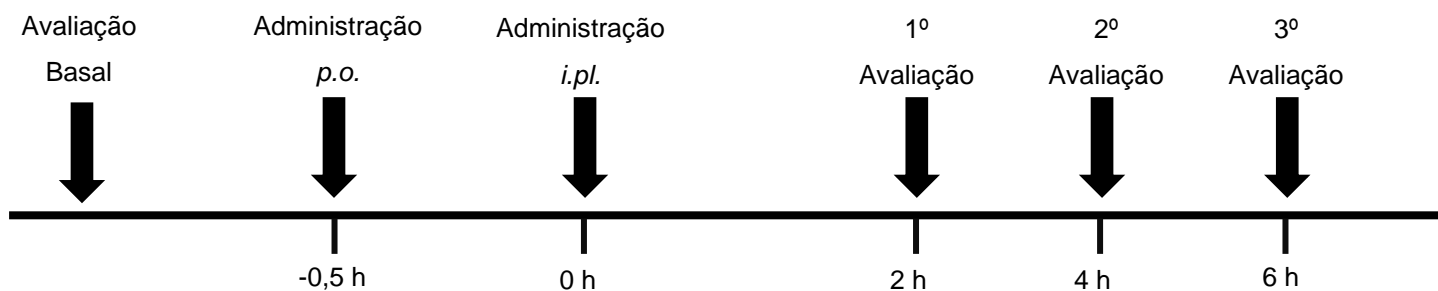


Figura 35 - Escala temporal de avaliação do efeito induzido pelos extratos de *Pouteria guianensis* (Aubl.) sobre o edema de pata induzido por carragenina.

6.2.7. Avaliação da resposta nociceptiva induzida por calor

A avaliação da resposta nociceptiva induzida por calor foi conduzida usando uma placa quente (Insight Ltda, Ribeirão Preto, Brasil), conforme descrito por Woolfe & MacDonald (1944). Os animais foram colocados sob a superfície não aquecida da placa durante 2 min para ambientação nos três dias anteriores ao experimento. No momento do teste, os camundongos foram colocados, individualmente, sobre a placa metálica aquecida na temperatura estabelecida e o tempo para que os animais exibam comportamentos indicativos de desconforto (lambida das patas ou saltos) foi determinado e considerado como a latência para a resposta nociceptiva. A temperatura utilizada foi de 50 °C e o tempo de corte foi de 50 s (**Figura 36**), a fim de evitar a ocorrência de lesão tecidual. Os extratos (62,5, 125 ou 250 mg/Kg, *p.o.*), dipirona (500 mg/Kg, *p.o.*) ou veículo (salina, *p.o.*) foram administrados 30 minutos antes da realização do experimento.

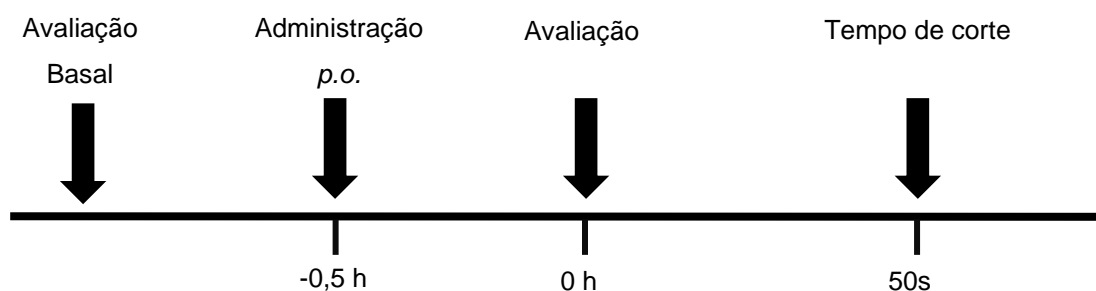


Figura 36 - Escala temporal de avaliação do efeito induzido pelos extratos de *Pouteria guianensis* (Aubl.) sobre resposta nociceptiva induzida por calor.

6.2.8. Avaliação da produção de TNF- α , IL-1 β , IL-10 e CXCL-1 induzida por carragenina.

As concentrações de TNF- α , IL-1 β , IL-10 e CXCL-1 no tecido da pata ipsilateral dos grupos tratamento-carragenina, veículo-veículo e veículo-carragenina, foram determinadas utilizando ensaio imunoenzimático (ELISA), seguindo as instruções fornecidas pelo fabricante (kits DuoSet, R&D Systems, Minneapolis, EUA). A carragenina (600 μ g, 30 μ L) foi injetada via *i.pl.*, 30 min após administração dos extratos (250 mg/Kg, *p.o.*) ou veículo (salina). Os animais foram anestesiados com uma mistura de ketamina e xilazina (100/10 mg/Kg, *i.p.*) e eutanasiados em câmara de monóxido de carbono após 5 h de administração dos extratos ou veículo, e o tecido da pata foi removido. Após determinação das massas, os tecidos foram homogeneizados em solução salina tamponada com fosfato contendo Tween-20 (0,05%), fluoreto de fenilmetilsulfonil (0,1 mM), cloreto de benzametônio (0,1 mM), EDTA (10 mM), aprotinina A (2 mg/mL) e albumina de soro bovino (0,5%), seguida de centrifugação (20.000 rpm) durante 15 min a 4 °C. As amostras de sobrenadante foram armazenadas a -70 °C até a análise das concentrações das citocinas. Os resultados foram expressos em picogramas de citocinas por 100 mg do material coletado.

6.2.9. Avaliação da atividade motora

A coordenação motora dos camundongos foi avaliada na haste girante (diâmetro de 2,3 cm, 14 rpm), seguindo o procedimento de Vaz *et al.* (1996), uma modificação do método original de Dunham e Miya (1957). Os animais foram treinados no aparato, a 14 rpm, durante dois dias antes do experimento, em duas sessões diárias, durante 2 min. A divisão dos grupos para posterior tratamento foi feita de forma que as médias dos tempos de permanência basais fossem semelhantes. Os extratos (250 mg/Kg, *p.o.*), o fenobarbital (50 mg/kg, *p.o.*) ou veículo (Salina, *p.o.*), foram administrados 30 minutos antes da primeira avaliação na haste girante. Em seguida, o tempo de permanência de cada animal na haste girante (14 rpm) foi determinado 0,5, 2, 4, 6 e

24 h após a administração dos extratos ou do fenobarbital (**Figura 37**). O tempo de corte foi de 2 min.

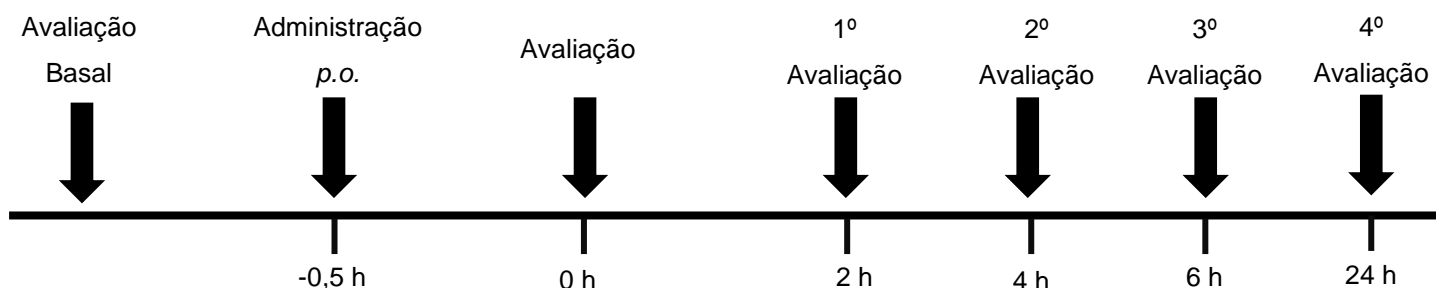


Figura 37 - Escala temporal de avaliação do efeito induzido pelos extratos de *Pouteria guianensis* (Aubl.) sobre atividade motora.

6.2.10. Avaliação da atividade antiangiogênica pelo ensaio da membrana corioalantoica

6.2.10.1. Ensaio da membrana corioalantoica (CAM)

O ensaio da membrana corioalantoica (CAM) foi conduzido para avaliação da propriedade antiangiogênica dos extratos avaliados. Para isso, no dia 0 do desenvolvimento embrionário, ovos de *Gallus gallus domesticus* foram introduzidos em incubadoras, mantendo temperatura de 37,8 °C e umidade relativa do ar de 55%, condições mantidas constantes durante todo o experimento. No terceiro dia, foi realizado um orifício de aproximadamente 1 cm na superfície superior do ovo para expor a membrana corioalantoide. Após a exposição, o orifício foi selado com fita adesiva estéril, sendo que no quinto e sexto dia, volumes de 50 µL das amostras a serem avaliadas (extratos aquoso e EHE80%, 1 mg/mL), bem como dos controles positivos (Bevacizumabe, Avastin, 250 µg/mL) e negativos (solução salina), foram aplicados sobre a membrana. Após a aplicação, o orifício foi novamente selado, e os ovos retornaram à incubação. No sétimo dia, a abertura do ovo foi expandida, expondo a membrana para visualização sob um estereomicroscópio equipado com uma câmera acoplada (SILVA *et al.*, 2019; TOLEDO *et al.*, 2019).

As imagens obtidas pelo estereomicroscópio foram pré-processadas e segmentadas utilizando o pacote *OpenCV* disponibilizada em linguagem *Python*. Para o pré-

processamento fora utilizada um filtro gaussiano seguido da aplicação de filtro de frangi enquanto para a segmentação, utilizou-se o método de Threshold, onde pixels com valores inferiores a 3 foram removidos. Para extração dos parâmetros topológicos e geométricos dos vasos, obteve-se os parâmetros da rede de vasos utilizando o *software VesselVio*[®].

6.2.10.2. Avaliação da toxicidade tóxica *in vivo* pelo ensaio da membrana corioalantoide (HET-CAM)

Para conduzir esse ensaio, ovos de *Gallus gallus domesticus* foram incubados a 37,8 °C com umidade relativa do ar de 55% desde o início do desenvolvimento embrionário. No décimo dia, a membrana corioalantoide foi exposta para a aplicação dos extratos aquoso e EHE80% de *P. guianensis* 5 mg/mL, o controle positivo de NaOH 0,1 M e solução salina. Após a aplicação de 300 µL de cada solução, a membrana foi fotografada nos intervalos de 30 s, 120 s e 300 s. Hemorragia, coagulação e lise foram avaliadas e os tempos de ocorrência foram utilizados para calcular o Índice de Irritação pela fórmula:

$$II = \frac{(301-H) \times 5}{300} + \frac{(301-L) \times 7}{300} + \frac{(301-C) \times 9}{300} \quad (1)$$

No cálculo, H, L e C representam o tempo de surgimento de hemorragia, lise e coagulação, respectivamente. A classificação adotada para a avaliação da toxicidade considera: i. $II < 0.9$, amostra não irritante ou levemente irritante; ii. $0.9 < II < 4.9$, amostra moderadamente irritante; iii. $4.9 < II < 8.9$, amostra irritante; e iv. $8.9 < II < 21$, amostra severamente irritante (PASSOS *et al.*, 2020).

6.2.11. **Avaliação da citotoxicidade *in vivo* de citotoxicidade em modelo de *Artemia salina* L.**

Em recipiente plástico foram solubilizados 22 g de sal marinho em 1000 mL de água sem cloro, a qual possuiu o pH ajustado para 8,0 com NaOH e HCl 0,1 M. Esta permaneceu em aquário com aeração constante durante todo o experimento, sendo que nesta solução, foram deixados por 3 dias cistos de *Artemia salina* L., os quais

após eclosão, foram separadas em grupos de 10 indivíduos. Estes permaneceram em contato com 8 diferentes concentrações dos extratos aquoso e EHE80% por 24 horas (19,5; 50,0; 100,0; 150,0; 250,0; 450,0; 500,0 e 1000,0 µg/mL).

6.2.12. Avaliação de toxicidade aguda in vivo em camundongos BALB/c

Para o estudo de toxicidade aguda, camundongos BALB/c fêmeas foram distribuídos em quatro grupos experimentais, cada grupo submetido a administração de dose única. Os animais do grupo controle receberam solução salina ou etanol liofilizado, como branco para os extratos aquoso e EHE80%, bem como, ambos os extratos em dose de 350 mg/kg, *p.o.* (10 mL/kg), utilizando 6 animais por grupo de tratamento. Após os tratamentos, os animais foram monitorados ao longo de um período de 14 dias, sendo sistematicamente registradas as alterações comportamentais, clínicas, peso corporal, morbidade e mortalidade (OECD 423, 2001).

Posteriormente, os animais foram submetidos à anestesia (*i.p.*) com solução contendo ketamina (100 mg/kg) e xilazina (15 mg/kg), seguida da coleta de amostras sanguíneas pela artéria braquial em tubos contendo anticoagulante (EDTA). Parâmetros hematológicos, incluindo leucócitos totais (WBC), linfócitos, monócitos, granulócitos, glóbulos vermelhos (RBC), hemoglobina e contagem total de plaquetas, foram avaliados para cada grupo, utilizando um analisador de hematologia Hemovet 2300 (Sinothinker Technology, Shenzhen, China).

Em relação às análises bioquímicas, as amostras de sangue foram centrifugadas a 3500 rpm por 10 minutos, e o plasma resultante foi congelado a -20 °C. Os testes bioquímicos foram conduzidos utilizando um analisador semiautomático Bioplus BIO-2000 (São Paulo, SP) com kits comerciais. A função hepática foi avaliada por meio da determinação da atividade da alanina aminotransferase (ALT) e da aspartato aminotransferase (AST), enquanto a função renal foi avaliada através da dosagem de ureia e creatinina. A lesão cardíaca foi avaliada pela determinação da atividade da creatina quinase-MB (CK-MB).

6.2.13. Análise estatística

A análise estatística e apresentação gráfica dos resultados foram feitas por meio do programa *Graphic Prism* 8.0 (San Diego, CA, EUA). Os resultados foram expressos como média \pm erro padrão da média. Os resultados de alodínia mecânica e edema de pata induzidos por carragenina, assim como o peso dos animais foram analisados por meio de análise de variância de duas vias, seguida pelo teste de Bonferroni, exceto os resultados referentes à área sob a curva dos respectivos testes, as quais foram analisados por meio da análise de variância simples de uma via (ANOVA), seguido pelo teste de Tukey. Os resultados nos modelos de avaliação da atividade antinociceptiva induzida por placa quente, atividade motora, membrana corioalantoica e produção de citocinas inflamatórias, foram analisados por meio da análise de variância simples de uma via (ANOVA), seguido pelo teste de Tukey. Foram realizadas averiguações da normalidade e homoscedasticidade pelos testes de Shapiro-Wilk e Spearman's, respectivamente.

Para avaliação do teste de citotoxicidade em modelo de *Artemia salina* L. utilizou-se o cálculo estatístico PROBIT, com desfecho de mortalidade, por meio do *software* SPSS®, com determinação da Dose Letal capaz de matar 50% da população (LD₅₀). Para os resultados da toxicidade aguda foram realizadas averiguações da normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk e averiguação da equivalência das variâncias por teste F. Em caso de dados paramétricos, fez-se comparação entre os grupos controle e grupo tratado com o teste T de Student. Diante de dados sem normalidade ou equivalência de variância fez-se a análise por meio da comparação de Mann Whitney. O nível de significância adotado foi de 5%.

6.3. Resultados e Discussão

6.3.1. Alodínia mecânica e edema de pata induzidos por carragenina

Para avaliação das atividades anti-inflamatória e antinociceptiva dos extratos de *P. guianensis* utilizou-se o modelo de edema de pata e alodínia mecânica induzidos por carragenina em camundongos. Ambos os modelos têm sido frequentemente utilizados na investigação das atividades analgésica e anti-inflamatória de fármacos ou candidatos a fármacos, assim como, na triagem de extratos vegetais (LADEIRA *et. al.*, 2023; AUGUSTO *et. al.*, 2022; COSTA *et. al.*, 2022; OTTERNESS; MOORE, 1988; WINTER; RISLEY; NUSS, 1962). No presente estudo, a administração dos extratos de *P. guianensis* atenuou a alodínia mecânica, elevando o limiar nociceptivo, assim

como, reduziu significativamente o edema de pata após a administração do estímulo inflamatório. Os extratos foram administrados em três diferentes doses (62,5, 125 e 250 mg/Kg) (**Figuras 38 e 39**). Observamos que nas doses avaliadas, os extratos aquoso e EHE80% exibiram atividade nos diferentes tempos avaliados. Portanto, em uma análise global, todas as doses dos extratos atenuaram a alodínia mecânica e edema de pata induzidos por carragenina.

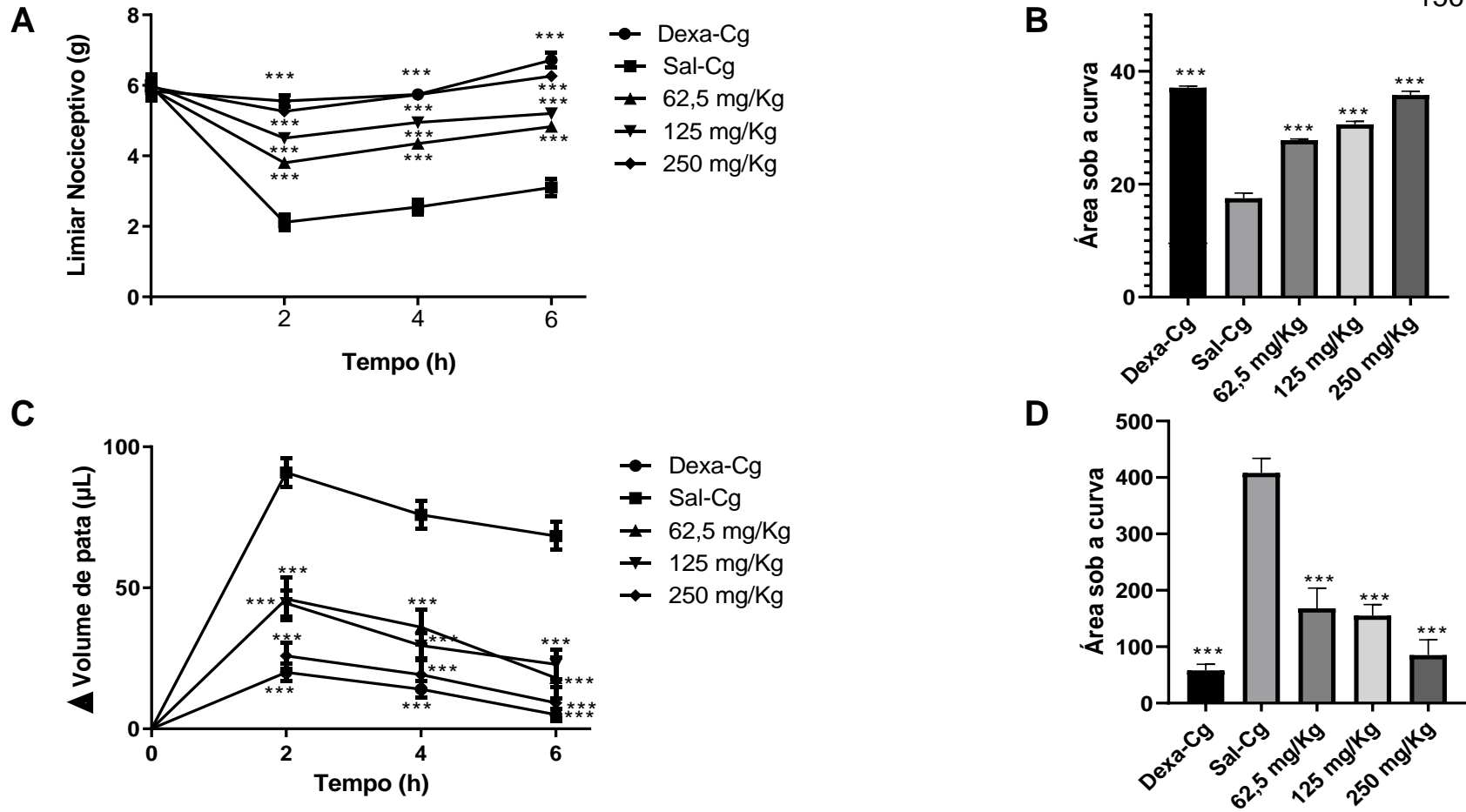


Figura 38 - Efeito da administração prévia (-30 min) *p.o.* do extrato aquoso de *Pouteria guianensis* (Aubl.) (62,5, 125 ou 250 mg/Kg) ou dexametasona (Dexa, 10 mg/Kg) na alodínia mecânica e no edema de pata induzidos pela administração *i.pl.* de carragenina (Cg; 600 µg). A e C representam o curso temporal e B e D representam a ASC. *** indica diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo Sal-Cg (p < 0,001). n = 6.

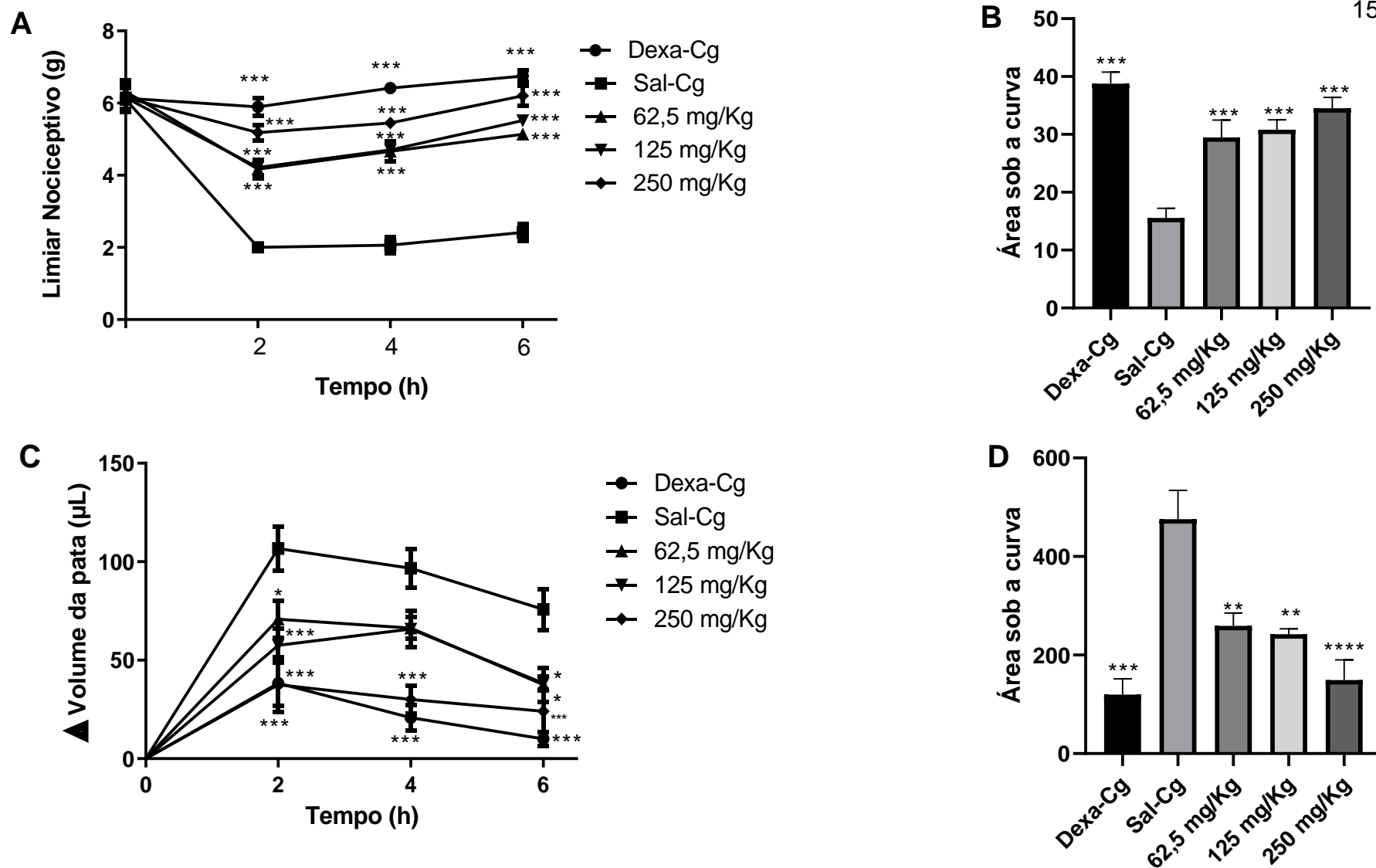


Figura 39 - Efeito da administração prévia (-30 min) *p.o.* do EHE80% de *Pouteria guianensis* (Aubl.) (62,5, 125 ou 250 mg/Kg) ou dexametasona (Dexa, 10 mg/Kg) na alodínia mecânica e no edema de pata induzidos pela administração *i.pl.* de carragenina (Cg; 600 µg). A e C representam o curso temporal e B e D representam a ASC. *, ** e *** indicam diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo Sal-Cg ($p < 0,05$, $p < 0,01$ e $p < 0,001$, respectivamente). $n = 6$.

É importante ressaltar que, em ambos os modelos, a eficácia dos extratos foi semelhante à apresentada pela dexametasona. Ademais, sabe-se que a carragenina é uma mistura de polissacarídeos extraída de algas marinhas da família *Rhodophyceae* e composta, principalmente, por D-galactose sulfatada (CRUNKHORN & MEACOCK, 1971; DiROSA, 1972). A injeção *i.pl.* de carragenina induz uma resposta inflamatória aguda e de nocicepção com liberação de diversos mediadores inflamatórios que levam à formação de edema e ao desenvolvimento de alodínia mecânica (POSADAS *et al.*, 2004; PATIL *et al.*, 2019). Desta forma, o edema induzido pela carragenina, avaliado principalmente pelo aumento do volume da pata injetada, é resultado da vasodilatação e do aumento da permeabilidade vascular, que culminam com extravasamento de líquido para o interstício (MORRIS, 2003).

Nossos resultados indicam que as atividades dos extratos de *P. guianensis* nos modelos de dor inflamatória e edema induzidos por carragenina podem estar associadas a efeitos inibitórios no recrutamento de neutrófilos e na produção de mediadores pró-inflamatórios. Tanto a infiltração de neutrófilos quanto a produção de citocinas inflamatórias desempenham papéis importantes nos mecanismos que levam à formação do edema inflamatório e consequentemente a sensibilização da via nociceptiva (KLINKE *et al.*, 2011; ROCHA *et al.*, 2006).

Pela presença de atividade acentuada nos extratos com a menor dose avaliada (62,5 mg/Kg), podemos inferir que provavelmente doses ainda menores poderiam também apresentar atividade nos modelos avaliados, necessitando de investigações posteriores. Diante dos resultados apresentados, realizamos o doseamento de flavonoides e taninos totais de ambos os extratos avaliados, conforme observado na **Tabela 24**, segundo item 5.2.3. métodos compendiais. Podemos inferir que a diferença entre essas atividades pode estar na variação quantitativa de compostos fenólicos, como os taninos, além da variação qualitativa entre os extratos identificados por espectrofotometria de massas.

Tabela 24 - Doseamento de metabólitos nos extratos aquoso e EHE80% de *Pouteria guianensis* (Aubl.)

Extrato	Flavonoides totais expressos em hiperosídeo (%)	Taninos totais expressos em pirogalol (%)
Aquoso	1,34 ± 3,32	28,37 ± 4,38
EHE80%	2,47 ± 1,25	17,19 ± 0,53

Dentre os compostos anotados por CLUE-MS/MS para o extrato aquoso, que poderia se correlacionar com a melhor atividade deste, podemos citar o ácido quínico o qual apresenta atividades anti-inflamatória e antinociceptiva amplamente descritas na literatura (GHASEMI-DEHNOO *et al.*, 2023; HERRERA-ROCHA *et al.*, 2022). Destaca-se também o elevado percentual de galocatequina, a qual apresenta importante atividade anti-inflamatória e antioxidante, além da diosmina, a qual altera a permeabilidade vascular e atua na modulação de edema e dor (MOKRA; JOSKOVA; MOKRY, 2023; VALVERDE-SALAZAR; RUIZ-GABARRE; GARCÍA-ESCUADERO, 2023; WANG; FAN; ZHANG, 2019), além dos diversos outros bioativos identificados, os quais necessitam de estudos comparativos posteriores para identificarmos se a ação do extrato é originada majoritariamente de um composto ou de forma sinérgica. Júnior e colaboradores (2009) foram os únicos autores a publicar trabalhos de avaliação de outra espécie de *Pouteria* spp. identificado na revisão integrativa disposta no trabalho (**item 2.3.2.**) ou nas revisões do gênero publicadas (DO *et al.*, 2023; FITRIANSYAH; FIDRIANNY; HARTATI, 2020; JÚNIOR *et al.*, 2009; SILVA, C. A. M.; SIMEONI; SILVEIRA, 2009). Neste estudo, a carragenina foi utilizada como agente promotor de bolsas de ar na área intraescapular e, os animais foram tratados com extrato etanólico (100 mg/Kg) das raízes de *P. ramiflora*. Os resultados demonstraram que houve menor migração celular no local, ampliando assim, as perspectivas de pesquisas futuras para realização de estudos com outras partes vegetais e outros solventes.

6.3.2. Avaliação da resposta nociceptiva induzida por calor

Diante da atividade dos extratos em modelo de dor inflamatória, investigamos os efeitos dos extratos aquoso e EHE80% no modelo de placa quente. A exposição de camundongos à placa quente induziu uma resposta nociceptiva caracterizada por comportamentos indicativos de desconforto (lambida das patas ou saltos). A administração prévia (-30 min) *p.o.* dos extratos (250 mg/Kg), bem como, a administração *p.o.* de dipirona (500 mg/Kg), usada como controle positivo, aumentaram a latência da resposta nociceptiva (**Figura 40**).

No modelo da placa aquecida, a exposição ao estímulo térmico induz comportamento nociceptivo nos camundongos pela ativação direta dos nociceptores (Le BARS *et al.*, 2001). A temperatura de 50 °C, empregada na pesquisa, desencadeia a ativação de

receptores da família TRP (*Transient Receptor Potential Cation Channel*), fundamentais para o processamento inicial da resposta nociceptiva (TOMINAGA, 2007). Desse modo, a atividade dos extratos de *P. guianensis*, nesse modelo experimental, sugere ações inibitórias no processamento nociceptivo no sistema nervoso central (SNC) e/ou nos mecanismos de ativação direta dos nociceptores sensíveis a estímulos térmicos.

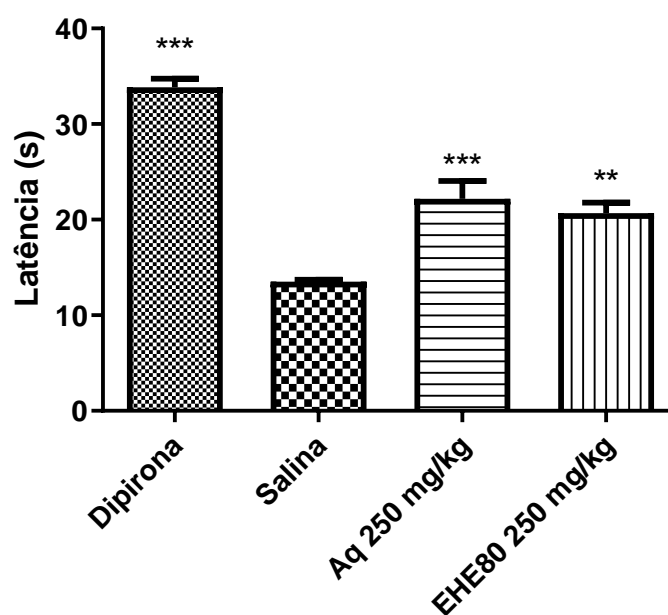


Figura 40 - Efeito da administração prévia (-30 min) *p.o.* dos extratos aquoso (Aq) e EHE80% de *Pouteria guianensis* (Aubl.) (250 mg/Kg) ou dipirona (500 mg/Kg) na resposta nociceptiva induzida pelo calor. ** e *** indicam diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo Salina ($p < 0,01$ e $p < 0,001$, respectivamente). $n = 6$.

A administração do extrato etanólico das raízes de *P. ramiflora* também apresentou atividade com aumento do limiar nociceptivo no modelo de placa quente (JÚNIOR *et al.*, 2009). Esse estudo amplia a possibilidade da avaliação de diferentes extratos e ressaltam a importância de mais estudos com outras espécies e outras partes vegetais para um conhecimento real das ações farmacológicas do gênero e suas intercambialidades.

6.3.3. Avaliação da atividade motora

A atividade motora dos camundongos foi avaliada na haste girante com o objetivo de validar os resultados obtidos nos modelos de dor. Diante do caráter comportamental dos modelos de dor inflamatória e nociceptiva avaliados no presente estudo, foi necessário verificar se as ações dos extratos não estariam correlacionadas com relaxamento muscular, ou então, com comprometimento da coordenação motora (SOUSA *et al.*, 2016).

Nossos resultados demonstraram que os extratos de *P. guianensis*, na dose de 250 mg/Kg, ou o veículo (grupo controle) não alteraram o tempo de permanência dos animais na haste girante. Entretanto, o fenobarbital reduziu significativamente esse tempo. Uma vez que os extratos não alteraram o tempo de permanência dos camundongos na haste girante, é muito pouco provável que a atenuação do comportamento nociceptivo induzida por esses extratos nos modelos anteriormente indicados seja resultado de comprometimento da atividade motora ou de relaxamento muscular. Essa observação é importante para validar os resultados encontrados e indica que a redução do comportamento nociceptivo nos diferentes modelos experimentais resulta de uma atividade antinociceptiva genuína dos extratos de *P. guianensis*.

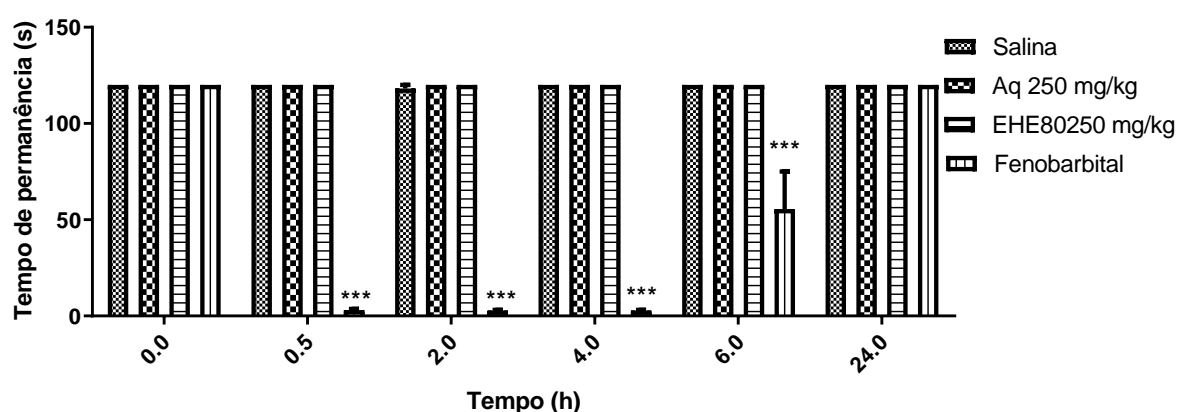


Figura 41 - Efeito da administração prévia (-30 min) *p.o.* dos extratos aquoso (Aq) e EHE80% de *Pouteria guianensis* (Aubl.) (250 mg/Kg) ou fenobarbital (50 mg/Kg) ou veículo (Salina) sobre o tempo de permanência dos camundongos na haste girante. *** indica diferença significativa em relação ao grupo Salina ($p < 0,001$). $n = 6$.

6.3.4. Avaliação da produção de TNF- α , IL-1 β , IL-10 e CXCL-1, induzida por carragenina.

Diante das atividades antialodínica e antiedematogênica apresentadas pelos extratos de *P. guianensis*, investigamos o efeito dos mesmos sobre a produção de citocinas pró-inflamatórias (TNF- α , IL-1 β e CXCL-1), na pata sensibilizada com carragenina.

Em nosso estudo, após quatro horas da administração *i.pl.* da carragenina (600 μ g, 60 μ L) houve aumento das concentrações de TNF- α , IL-1 β e CXCL-1 no tecido da pata. Observamos que o extrato aquoso (250 mg/kg, - 30 min, *p.o.*) reduziu acentuadamente as concentrações de TNF- α , IL-1 β e CXCL-1 no tecido da pata. Por outro lado, o tratamento com o extrato EHE80% (250 mg/kg, - 30 min, *p.o.*) reduziu as concentrações de TNF- α e IL-1 β , mas não de CXCL-1 nesse mesmo tecido (**Figura 42**).

Os macrófagos e os leucócitos polimorfonucleares desempenham um papel fundamental no desenvolvimento do processo inflamatório/doloroso mediante a liberação de citocinas e quimiocinas, destacando-se, inicialmente, a liberação de interleucina (IL)-1, IL-6 e fator de necrose tumoral- α (TNF- α) (KIM & DEUTSCHMAN, 2000). O TNF- α e a IL-1 β são citocinas que induzem facilitação da resposta nociceptiva por meio do fator de crescimento de nervos (NGF), o qual participa do processamento da resposta nociceptiva (SCHOLZ, J.; WOOLF, 2002; CÉRANIC; ZORMAN; SKOK, 2020; VAN LOO; BERTRAND, 2023). A quimiocina CXCL-1 é uma citocina quimioatraente que controla o tráfego de células imunes inatas entre a medula óssea, o sangue e tecidos periféricos durante a inflamação. Nesse caso, os neutrófilos são o principal tipo de célula responsivo, já que eles expressam os receptores CXCR. Desse modo, nossos resultados indicam que as atividades dos extratos de *P. guianensis* nos modelos de dor e inflamação induzidos por carragenina podem estar associadas a efeitos inibitórios no recrutamento de neutrófilos e na produção de mediadores pró-inflamatórios.

Foi demonstrado que o extrato aquoso das folhas de *P. nuda* apresentou propriedade imunomoduladora de TNF- α e IL-1 β em modelo de inflamação crônica (artrite). No entanto, não houve caracterização fitoquímica do extrato, não sendo possível a comparação com os compostos presentes nas folhas de *P. guianensis* (MERINI *et al.*, 2014). De forma semelhante, o extrato metanólico das folhas de *P. campechiana* reduziu a produção de IL-6, TNF- α e óxido nítrico em cultura primária de macrófagos

peritoniais isolados de camundongo a 200 µg/mL (CHAN-ZAPATA *et al.*, 2018). Em complemento, estudos demonstraram que a miricitrina possui capacidade de regulação de TNF- α e IL-1 β (CHEN *et al.*, 2020; LEE; LEE, 2016; YANG W.; LI; YANG, 2019) frente a diferentes estímulos inflamatórios.

Paralelamente à redução de citocinas pró-inflamatórias, o extrato aquoso de *P. guianensis* aumentou a concentração da citocina IL-10 (**Figura 42**), uma citocina anti-inflamatória que desempenha um papel importante no controle das respostas imunes. A IL-10 pode atuar diminuindo a produção de citocinas pró-inflamatórias, contribuindo para a resolução do processo inflamatório (SARAIVA & O'GARRA, 2010). Dessa forma, demonstramos pela primeira vez que, o aumento da concentração de IL-10 gerada pelo tratamento com o extrato aquoso, mas não pelo extrato EHE80%, pode contribuir para sua atividade nos modelos de dor inflamatória e edema induzidos pela carragenina. Entretanto, novos estudos devem ser realizados para elucidar as diferentes ações dos compostos bioativos dos diferentes extratos.

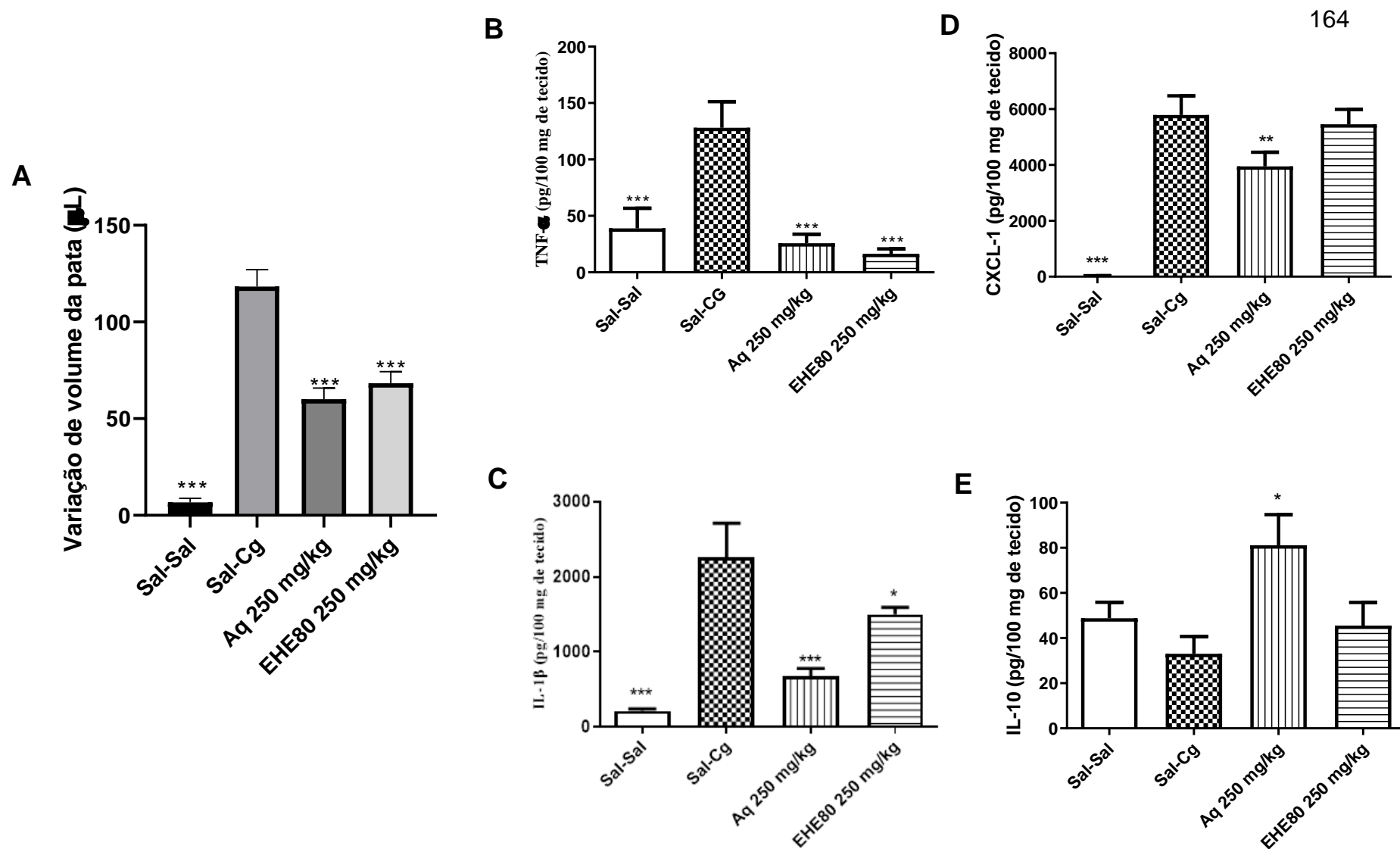


Figura 42 - Efeito da administração prévia (-30 min) *p.o.* dos extratos aquoso (Aq) e EHE80% de *Pouteria guianensis* (Aubl.) (250 mg/Kg) ou veículo (Salina) na produção de TNF- α (B), IL-1 β (C), CXCL-1 (D) e IL-10 (E) induzidas pela administração *i.pl.* de carragenina (Cg; 600 μ g). As concentrações das citocinas no tecido da pata foram avaliadas 4 h após a administração da carragenina. A Fig. A representa a avaliação do edema de pata 4 h após a administração da carragenina. *, ** e *** indicam diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo Sal-Cg ($p < 0,05$, $p < 0,01$ e $p < 0,001$, respectivamente). $n = 6$.

6.3.5. Avaliação da atividade antiangiogênica por meio do ensaio da membrana corioalantóica

6.3.5.1. Ensaio da membrana corioalantóica (CAM)

Apesar de ter sido utilizado inicialmente como modelo alternativo para avaliação de fenômenos carcinogênicos, o ensaio da CAM, quando monitorada, consegue fornecer informações acerca do aumento ou redução de vasos sanguíneos, se correlacionando fortemente com fenômenos angiogênicos ou antiangiogênicos (AUERBACH *et al.*, 1974; RIBATTI, D. *et al.*, 2000; RIBATTI, DOMENICO, 2012). Haja visto que fenômenos inflamatórios podem induzir a produção de novos vasos e agravar o quadro da doença (WALSH; PEARSON, 2001), tem-se que compostos antiangiogênicos vem sendo utilizados como potenciais candidatos no tratamento de inflamações agudas (GONG *et al.*, 2016; SCHOLZ, A.; PLATE; REISS, 2015). Na **Figura 43** é possível visualizarmos as fotografias do experimento utilizando os controles negativo (salina), positivo (BVZ) e dos extratos aquoso e EHE80%, com as respectivas alterações nos vasos sanguíneos obtidas.

Diante da diversidade embriológica da origem da membrana corioalantoica, esse modelo se torna uma ferramenta complexa de observação da angiogênese, apresentando a limitação de possuir apenas imunidade inata no modelo, haja visto a etapa de desenvolvimento do indivíduo avaliado (ECKRICH *et al.*, 2020; RIBATTI, DOMENICO, 2016). Podemos observar que ambos os extratos atuaram de forma antiangiogênica com redução do comprimento da rede vascular, pontos de ramificação, número de segmentos e área total de superfície (**Figura 44**). Embora sejam necessários estudos mecanísticos para avaliar o motivo dessa redução vascular, o modelo da CAM pode ser interessante para prever o efeito de substâncias sobre o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), sendo esse um possível alvo a ser investigado (SUN *et al.*, 2022).



Figura 43 - Fotografias ilustrando o efeito da administração dos extratos aquoso (Aq) e EHE80% de *Pouteria guianensis* (Aubl.) (1 mg/Kg) ou bevacizumabe (12,5 µg) ou veículo (Salina) na avaliação de angiogênese em membrana corioalantoica.

Em uma revisão sistemática com meta-análise, Mai *et al.* (2020) identificaram extensa atividade antiangiogênica de flavonoides de uma forma geral, classe de metabólitos presente nos extratos de *P. guianensis*, como os derivados da catequina e naringina (GACCHE *et al.*, 2015), quercetina (CLERICUZIO *et al.*, 2012; KHATER; GRECO; OSBORN, 2020; TANG *et al.*, 2020), apigenina (FANG *et al.*, 2007; *et al.*, 2011), naringinina (GACCHE *et al.*, 2015), kampferol (CLERICUZIO *et al.*, 2012; GACCHE. *et al.*, 2011; KASHYAP *et al.*, 2017) e miricetina (HUANG *et al.*, 2015; MA *et al.*, 2019; YAMADA; MATSUSHIMA-NISHIWAKI; KOZAWA, 2020; ZHOU *et al.*, 2019). De forma semelhante, outras classes presentes nos extratos também apresentaram essa atividade, como o ácido ursólico (KANJOORMANA; KUTTAN, 2010) e astaxantina

(KOWSHIK *et al.*, 2014), com efeitos associados com a resolução de quadros inflamatório e carcinogênico (KUHNNEN *et al.*, 2009).

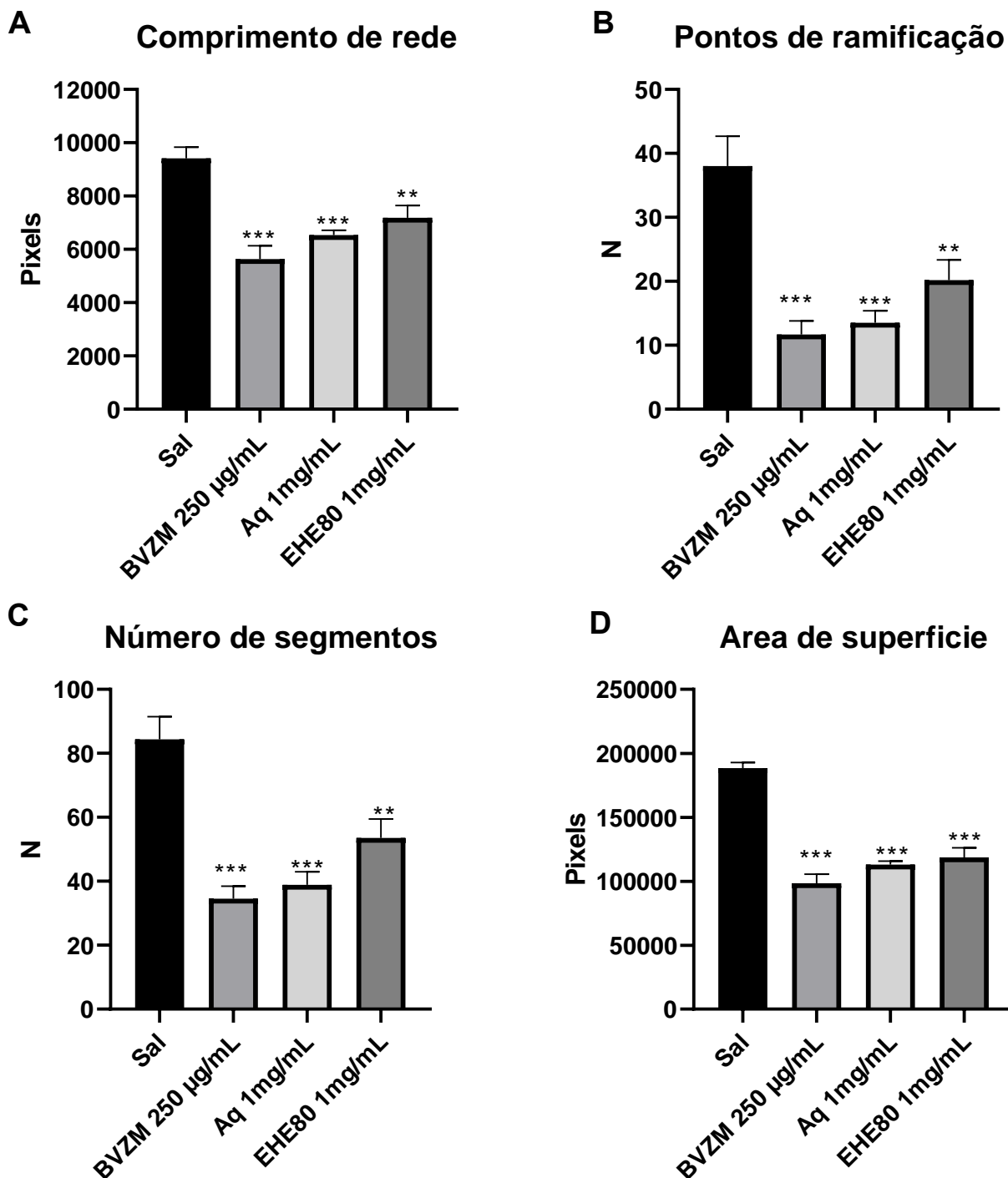


Figura 44 - Efeito da administração dos extratos aquoso (Aq) e EHE80% de *Pouteria guianensis* (1 mg/mL) ou bevacizumabe (250 µg/mL) ou veículo (Salina) na avaliação dos parâmetros de angiogênese em membrana corioalantoica, sendo o comprimento de rede (A), pontos de ramificação (B), número de segmentos (C) e área de superfície (D) os desfechos avaliados. ** e *** indicam diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo Salina ($p < 0,01$ e $p < 0,001$, respectivamente). $n = 8$.

6.3.5.2. Membrana corioalantoide (HET-CAM)

O teste HET-CAM é utilizado como método de avaliação da irritação ocular como alternativa ao ensaio de Draize, sendo atualmente, aplicado para avaliar a irritação de produtos dermatológicos e odontológicos (TOLEDO *et al.*, 2021). Dessa forma, o teste de HET-CAM se torna uma alternativa para avaliação preliminar de toxicidade pela capacidade de predição da toxicidade tópica de extratos e produtos sintéticos (AUGUSTO *et al.*, 2023). Os resultados obtidos com o teste podem ser visualizados na **Figura 45**, a qual representa a figura inicial dos indivíduos avaliados e os mesmos indivíduos com o tempo máximo estipulado na execução do protocolo (300s).

Nossos resultados demonstram que para os grupos controle negativo, extrato aquoso e extrato EHE80% não houve alteração vascular visível (aumento de 30x, Motic Motic K-700L, Motic) já que em 300s as vasculaturas permaneceram inalteradas. Por outro lado, no grupo controle positivo (solução NaOH 0,1 M) observamos a ocorrência de hemorragia, sendo o tempo de aparecimento nos diferentes indivíduos representados na **Tabela 25**. Desse modo, ao calcular o Índice de Irritação (II), observamos que o controle negativo e os extratos avaliados possuem II inferior a 0,9, sendo classificados como não irritante ou ligeiramente irritante. Na ausência de sinais de irritação podemos caracterizar essas amostras como não irritante. O controle positivo apresentou II moderado (II = 4,83). Apesar de existirem patentes que avaliaram o óleo do fruto de *P. lucuma*, (RASKIN *et al.*, 2011) para finalidades tópicas, sua toxicidade nunca foi investigada, assim como, nenhuma parte vegetal de nenhuma outra espécie do gênero. Desta forma, esse é o primeiro relato disponível na literatura para esta finalidade, possibilitando o vislumbre de cosméticos, preparados oftalmológicos e odontológicos com finalidades medicinais para os extratos obtidos.

Tabela 25 - Tempo de ocorrência de hemorragia nas membranas corioalantoicas do grupo controle positivo NaOH

Indivíduo	N1	N2	N3	N4	N5	N6	N7	N8
Tempo para começo da hemorragia (s)	5	15	16	5	10	20	20	17

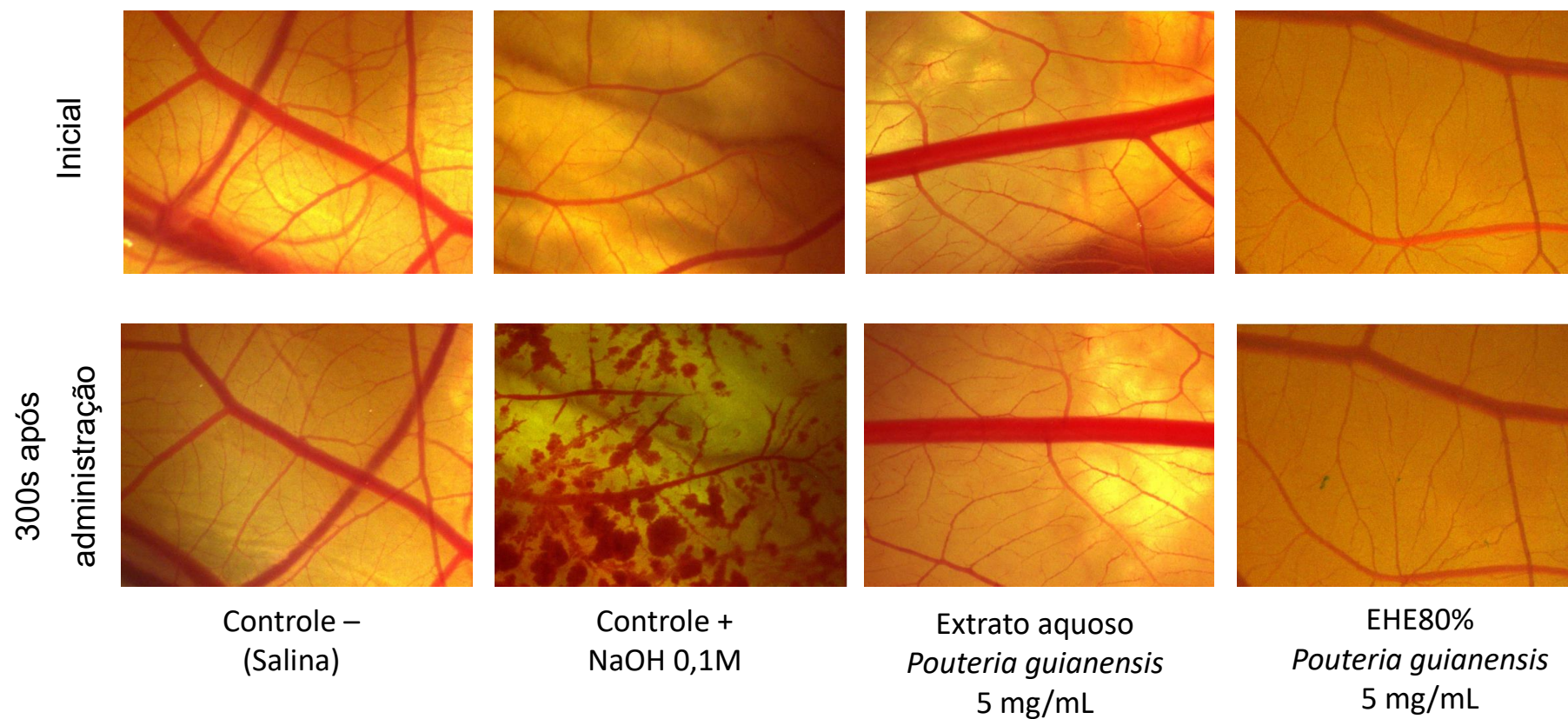


Figura 45 - Fotografias ilustrando o efeito da administração dos extratos aquoso (Aq) e EHE80% de *Pouteria guianensis* (Aubl.) (5 mg/mL) ou NaOH (0,1 M) ou veículo (Salina) na membrana corioalantóica ao longo de 5 min. n = 8.

6.3.6. Avaliação da citotoxicidade em modelo experimental de *Artemia salina* L.

Diante da necessidade de método alternativo para avaliação da citotoxicidade *in vivo*, Meyer *et al.* (1982), estabeleceram os critérios de classificação de toxicidade frente a *Artemia salina* L., com base nos valores de Dose Letal (DL)₅₀, sendo consideradas tóxicas ou ativas as amostras que apresentarem DL₅₀ < 1000 µg/mL e amostras atóxicas ou inativas aquelas que possuírem DL₅₀ > 1000 µg/mL. Na **Figura 46** é possível observar o perfil de mortalidade de indivíduos de *A. salina* (n=10, triplicata) conforme a concentração dos extratos avaliados.

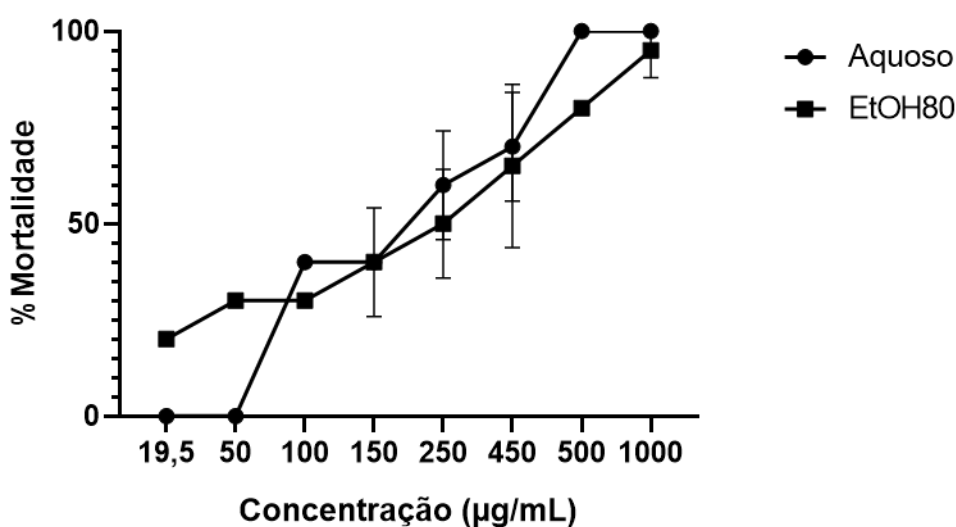


Figura 46 - Efeito da administração de diferentes concentrações dos extratos aquoso e EHE80% de *Pouteria guianensis* (Aubl.) sobre a mortalidade de indivíduos de *Artemia salina* (L.). n=10.

Para o modelo, calculou-se a DL capaz de matar 50% da população, sendo observado que a DL₅₀ e o intervalo de confiança do extrato aquoso de *P. guianensis* foi de 204,42 (137,37-357,20) µg/mL e do EHE80% foi de 179,59 (90,31-352,84) µg/mL, sendo esses considerados ativos para finalidade citotóxica segundo a classificação de Meyer *et al.* (1982). É importante salientar que esse modelo experimental não consegue representar a seletividade do potencial citotóxico, demandando pesquisas adicionais, como viabilidade celular, para avaliar tal fato (BADISA *et al.*, 2009).

Os dados da literatura para o gênero não são robustos e demandam maiores elucidações. Conforme já relatado, apesar dos extratos aquoso, etanólico e hexânico das folhas de *P. caimito* terem apresentados DL₅₀ > 1mg/mL (FRANCA *et al.*, 2016) nos estudos com *A. salina*, os extratos de *P. campechiana* apresentaram atividade

citotóxica em modelo celular de MTT e no micromolusco ($DL_{50} = 453,44-701,66 \mu\text{g/mL}$) (NUR *et al.*, 2022; PAI; SHENOY K., 2021; PRAMOD *et al.*, 2020), indicando que a atividade antitumoral do gênero depende da parte vegetal utilizada para essa finalidade, assim como, a forma de seu preparo.

6.3.7. Avaliação de toxicidade aguda *in vivo* em camundongos BALB/c

A avaliação do perfil de segurança de espécies vegetais é uma etapa de extrema importância para a descoberta de novos extratos e substâncias isoladas que possuam atividade farmacológica (REHMAN *et al.*, 2022). No gênero *Pouteria* spp. não foram encontrados estudos de toxicidade do extrato aquoso de nenhuma espécie, tornando crucial a sua avaliação, haja visto que esse solvente é o mais utilizado pela população em produções caseiras (NAGAPPAN, 2012).

Apesar do peso de animais ser um fator controverso como preditivo de segurança ou toxicidade (LAZIC; SEMENOVA; WILLIAMS, 2020), não houve variação significativa ao longo do tempo entre os grupos tratados com os extratos aquoso e EHE80% quando comparado com o grupo controle (**Figura 47**), respectivamente. É importante salientar que não observamos, durante todo o período de avaliação, a mortalidade, nem sinais de toxicidade clínica, como prostração intensa, piloereção ou diarreia nos grupos avaliados.

Com relação aos exames hematológicos e bioquímicos, pode-se observar nas **Tabelas 26 e 27** os resultados obtidos para os extratos aquoso e EHE80%, respectivamente. Apesar da OECD 423 (2001) preconizar estudos toxicológicos agudos com doses de 2000 mg/kg nos animais, a avaliação preliminar com a dose de 350 mg/kg possibilita um vislumbre de avaliações futuras, com indícios de segurança na dose avaliada, a qual foi superior a todas as doses avaliadas para as atividades anti-inflamatória e antinociceptiva.

As análises hematológicas são importantes para detecção, diagnóstico e monitoramento da progressão de desordens sanguíneas (HO *et al.*, 2018). Os leucócitos totais (células brancas do sangue) representam majoritariamente as células de defesa do corpo, sendo representados pelos linfócitos, monócitos e granulócitos (JALKANEN; SALMI, 2019; TIGNER; IBRAHIM; MURRAY, 2024), os quais não apresentaram distinção entre os grupos controle e grupo tratamento. De forma

semelhante não ocorreu alteração perceptível nas hemácias, responsáveis pelo transporte de oxigênio no sistema circulatório (TRAUT, 2008).

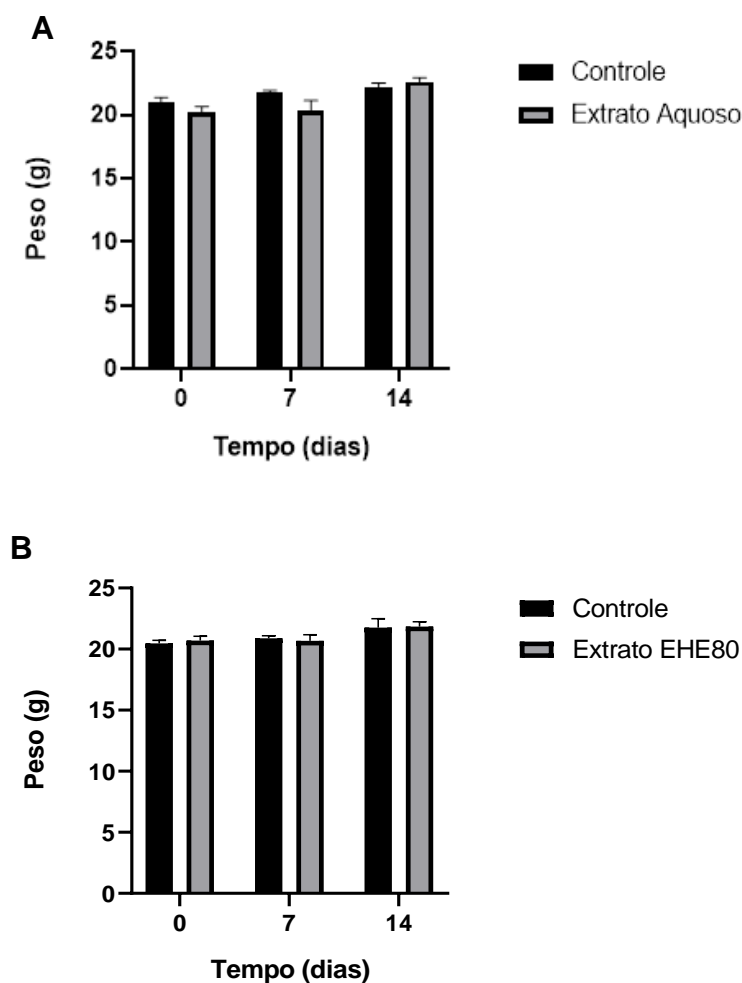


Figura 47 - Avaliação do peso corporal dos animais dos grupos controle e dos extratos aquoso (A) e EHE80% (B) de *Pouteria guianensis* (Aubl.), na dose de 350 mg/Kg, durante 14 dias (n=6).

Quando realizado, porém, o doseamento de plaquetas, principal mediador do processo de coagulação sanguínea que correlaciona-se com processos cicatrizantes (HOLINSTAT, 2017), o extrato EHE80% apresentou diferença significativa entre os grupos ($p_{\text{valor}} = 0,02$). Contudo, é perceptível uma avaria no valor obtido do controle hidroetanólico, frente aos demais grupos, indicando que a alteração é, possivelmente, não decorrente da administração do extrato. Fato este, corroborado pela literatura, a qual demonstra valores de normalidade das plaquetas, em outros estudos com a mesma linhagem de animais utilizados, que são próximos ao valor obtido com a administração do extrato (BARRIOS *et al.*, 2009).

Em confluência a isto, os parâmetros bioquímicos indicativos de alterações cardíacas (CK-MB), hepáticas (ALT e AST) e toxicidade renal (ureia e creatinina) foram analisados, sem indicativo de alteração. No entanto, análises histológicas deverão ser realizadas em uma próxima etapa desse estudo.

Estes achados fortalecem a segurança acerca dos extratos obtidos, principalmente diante da insipiência de dados na literatura acerca da segurança de extratos do gênero em modelos murinos, sendo o único estudo disponível em camundongos avaliado em doses inferiores a do presente estudo (0,25 mg/kg), referente ao extrato metanólico de *P. campechiana* (CHICHIOCO-HERNANDEZ; PAGUIGAN, 2009). Ademais, diante da característica extremamente tóxica do látex do gênero em modelo murino (NAVAS-FLORES *et al.*, 2021) podemos formular a hipótese de que a segurança está relacionada a baixa temperatura empregada no processo extrativo, com redução do látex presente nas espécies de *Pouteria* spp. demandando novas avaliações com preparações de infusão, comumente utilizadas pela população.

Tabela 26 - Resultados dos exames hematológicos e bioquímicos para extrato aquoso de *Pouteria guianensis* (Aubl.) (n=6)

Análises Hematológicas			
Parâmetro	Grupo Controle	Extrato	p valor
Leucócitos totais ($10^3 / \mu\text{L}$)	4,07 \pm 0,57	4,08 \pm 0,34	0,9803
Número Absoluto de linfócitos ($10^3 / \mu\text{L}$)	0,183 \pm 0,05	0,13 \pm 0,02	0,6970
Número Absoluto de monócitos ($10^3 / \mu\text{L}$)	0,483 \pm 0,07	0,45 \pm 0,07	0,6558
Número Absoluto de granulócitos ($10^3 / \mu\text{L}$)	3,40 \pm 0,52	3,50 \pm 0,26	0,8673
Contagem de células vermelhas ($10^6 / \mu\text{L}$)	6,97 \pm 0,82	8,31 \pm 0,23	0,1453
Hemoglobina (g / dL)	13,22 \pm 1,38	13,18 \pm 2,42	0,8182
Contagem de plaquetas ($10^3 / \mu\text{L}$)	253,30 \pm 59,70	273,70 \pm 24,00	0,7584
Análises Bioquímicas			
Parâmetro	Grupo Controle	Extrato	p valor
AST / GOT (U/L)	114,40 \pm 14,63	81,18 \pm 4,54	0,0866
ALT (U/L)	30,85 \pm 3,97	53,39 \pm 9,69	0,0668
CK/MB (U/L)	44,12 \pm 5,68	31,89 \pm 6,15	0,1747
Creatinina (mg / dL)	0,38 \pm 0,02	0,36 \pm 0,01	0,5130
Ureia (mg / dL)	70,00 \pm 6,06	66,70 \pm 8,37	0,3390

Tabela 27 - Resultados dos exames hematológicos e bioquímicos para extrato EHE80% de *Pouteria guianensis* (Aubl.) (n=6)

Análises Hematológicas			
Parâmetro	Grupo Controle	Extrato	p valor
Leucócitos totais	4,43 \pm 0,67	3,73 \pm 0,39	0,387
Número Absoluto de linfócitos	0,23 \pm 0,06	0,17 \pm 0,02	0,6883
Número Absoluto de monócitos	0,53 \pm 0,06	0,47 \pm 0,08	0,4956
Número Absoluto de granulócitos	3,67 \pm 0,58	3,10 \pm 0,31	0,3203
Contagem de células vermelhas	5,78 \pm 0,95	6,89 \pm 0,39	0,3038
Hemoglobina	13,53 \pm 1,28	12,85 \pm 0,72	0,2403
Contagem de plaquetas	137,20 \pm 26,64	271,00 \pm 40,42	0,02
Análises Bioquímicas			
Parâmetro	Grupo Controle	Extrato	p valor
AST / GOT (U/L)	110,30 \pm 12,01	83,46 \pm 10,33	0,2063
ALT (U/L)	53,54 \pm 9,82	40,16 \pm 6,61	0,2847
CK/MB (U/L)	41,24 \pm 3,52	31,95 \pm 3,81	0,1112
Creatinina (mg / dL)	0,36 \pm 0,07	0,30 \pm 0,02	0,4762
Ureia (mg / dL)	52,17 \pm 6,23	61,94 \pm 7,47	0,9177

7. CONCLUSÕES

No presente trabalho avaliou-se, pela primeira vez, a espécie *P. guianensis* por uma ótica diferente da avaliação botânica, prenunciando aplicabilidades desta espécie vegetal. Nesta espécie, foi possível observar por triagens fitoquímicas a riqueza de compostos fenólicos, com ausência de taninos condensados, diferenciando-a de outras espécies de *Pouteria* sp., sendo desenvolvido método cromatográfico seletivo, que evidenciou a diferença qualitativa e quantitativa dentro do gênero.

Com auxílio de espectrometria de massas, foi possível identificar a miricitrina como um possível marcador analítico da espécie, sendo validado método por CLAE-DAD deste marcador em função da quercetina. A influência das condições extrativas por ultrassom deste composto, e de outros flavonoides presentes no extrato hidroetanólico 80%, demandaram uma otimização experimental, sendo demonstrada que condições de baixa temperatura favoreceram maior extração de metabólitos, sendo isto promissor, por se correlacionar com uma menor extração de látex da espécie, o qual apresenta relatos de toxicidade pela literatura.

Na caracterização histológica da folhas observamos epiderme simples e glabra com presença de cutícula espessa com ondulações aparentes e estômatos localizados na face abaxial, além de laticíferos no mesófilo celular. De forma complementar, a avaliação histoquímica demonstrou a riqueza de constituintes fenólicos em seu interior, concomitantemente a presença de classes pouco exploradas dentro do gênero, como alcaloides, sendo esta uma vertente a ser investigada.

A propriedade antioxidante do extrato com diversos solventes foi demonstrada, por método de redução radicalar de DPPH, com necessidade de maiores averiguações em outros modelos. Com estes resultados, concomitantemente a análises quimiométricas, foi possível observar que apesar de serem quimicamente diferentes os extratos aquoso e hidroetanólico 80% possuem bioatividades e foram escolhidos para avaliações *in vivo*. Contudo, a variabilidade sazonal de metabólitos e propriedades físico-químicas indicou que esta propriedade sofre oscilações ao longo do ano, demandando maiores elucidações metabólicas dos mecanismos destas biotransformações.

Os extratos selecionados indicaram potencial atividade anti-inflamatória e antinociceptiva, sem perda da propriedade motora dos animais e redução da produção de citocinas inflamatórias e/ou ao aumento da produção de citocinas anti-inflamatórias como IL-10.

Importante ressaltar que as diferenças nas atividades entre os extratos, provavelmente podem se correlacionar com a variabilidade fitoquímica, necessitando de estudos adicionais que avaliem a correlação entre estas vertentes.

Complementarmente, o estudo utilizando modelo de membrana corialantóica indicou propriedade antiangiogênica e baixa chance de toxicidade tópica, sendo este um possível foco de desenvolvimento de formulações.

Por fim, em modelo murino de toxicidade aguda, os extratos aquoso e EHE80% não apresentaram alterações hematológicas ou bioquímicas significativas após 14 dias de experimento, indicando segurança preliminar dos derivados vegetais. Os resultados do presente estudo reforçam o interesse na investigação dos extratos e bioativos de *P. guianensis* em modelos experimentais crônicos e maior aprofundamento no entendimento dos mecanismos de ação envolvidos.

Portanto, pelo ineditismo dos achados da espécie, se demonstrou pela primeira vez na literatura acerca de sua caracterização histológica, química, sazonal e pré-clínica. Com os achados, aumenta-se a necessidade de maiores aprofundamentos do gênero, e averiguações de maior número de espécies de *Pouteria* spp. e de seus metabólitos.

8. REFERÊNCIAS

- ABBAS BUKHARI, S. N. *Tinospora* species: An overview of their modulating effects on the immune system. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 207, p. 67–85, jul. 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.06.013>>. Acesso em: 17 mar. 2023.
- ABOLLINO, O. *et al.* The role of chemometrics in single and sequential extraction assays: A review: Part I. Extraction procedures, uni- and bivariate techniques and multivariate variable reduction techniques for pattern recognition. **Analytica Chimica Acta**, v. 688, n. 2, p. 104–121, 4 mar. 2011. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003267010015898>>. Acesso em: 4 nov. 2023.
- ABREU, M. M. *et al.* Antimicrobial and antidiarrheal activities of methanolic fruit peel extract of *Pouteria caimito*. **Pharmacognosy Journal**, v. 11, n. 5, p. 944–950, 7 set. 2019. Disponível em: <<https://www.phcogj.com/article/959>>. Acesso em: 24 abr. 2023.
- ÁCSOVÁ, A.; MARTINIAKOVÁ, S.; HOJEROVÁ, J. Selected *in vitro* methods to determine antioxidant activity of hydrophilic/lipophilic substances. **Acta Chimica Slovaca**, v. 12, n. 2, p. 200–211, 1 out. 2019. Disponível em: <<https://www.sciendo.com/article/10.2478/acs-2019-0028>>. Acesso em: 4 nov. 2023.
- ADLOF, R.; LIST, G. Analysis of triglyceride isomers by silver-ion high-performance liquid chromatography: Effect of column temperature on retention times. **Journal of Chromatography A**, v. 1046, n. 1, p. 109–113, 13 ago. 2004. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021967304008970>>. Acesso em: 4 nov. 2023.
- AGÓCS, A. *et al.* Isolation of allene carotenoids from mamey. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 65, p. 1–5, 1 jan. 2018. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0889157517300959>>. Acesso em: 5 maio 2023.
- AGUIAR, J. P. L. *et al.* Aromatic and nutritional profile of an Amazonian autochthonous species, Caramuri *Pouteria elegans* (A.DC.) Baehni. **International Journal of Food Properties**, v. 22, n. 1, p. 1242–1249, 1 jan. 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/10942912.2019.1640248>>. Acesso em: 5 maio 2023.
- AGUILAR-GALVEZ, A. *et al.* Metabolites, volatile compounds and *in vitro* functional properties during growth and commercial harvest of Peruvian lucuma (*Pouteria lucuma*). **Food Bioscience**, v. 40, p. 100882, abr. 2021. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2212429221000079>>. Acesso em: 21 abr. 2023.
- AHAMED, A. *et al.* Phytochemical and pharmacological potential of the genus *Plectranthus*— A review. **South African Journal of Botany**, v. 154, p. 159–189, 1 mar. 2023. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0254629923000261>>. Acesso em: 4 nov. 2023.
- ALAM, MD. N.; BRISTI, N. J.; RAFIQUZZAMAN, MD. Review on *in vivo* and *in vitro* methods evaluation of antioxidant activity. **Saudi Pharmaceutical Journal: SPJ**, v. 21, n. 2, p. 143–152, abr. 2013. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4052538/>>. Acesso em: 4 nov. 2023.
- ALBUQUERQUE, B. *et al.* Phenolic compounds: current industrial applications, limitations and future challenges. **Food & Function**, v. 12, n. 1, p. 14–29, 2021. Disponível em: <<https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2021/fo/d0fo02324h>>. Acesso em: 4 nov. 2023.
- ALLARD, P.-M. *et al.* Integration of molecular networking and *In-silico* MS/MS Fragmentation for natural products dereplication. **Analytical Chemistry**, v. 88, n. 6, p. 3317–3323, 15 mar. 2016. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.analchem.5b04804>>. Acesso em: 4 out. 2023.
- ALVES-ARAÚJO, A.; SWENSON, U.; ALVES, M. A taxonomic survey of *Pouteria* (Sapotaceae) from the Northern Portion of the Atlantic Rainforest of Brazil. **Systematic Botany**, v. 39, n. 3, p. 915–938, 1 jul. 2014. Disponível em: <<http://openurl.ingenta.com/content/xref?genre=article&issn=0363-6445&volume=39&issue=3&spage=915>>. Acesso em: 21 fev. 2024.

AMARAL, G. DA SILVA *et al.* Evaluation of triterpenes isolated from stems of *Pouteria macahensis* T. D. Penn. against *Proteus mirabilis*. **Trends in Phytochemical Research**, v. 3, p. 178–184, 17 nov. 2019.

ANSAR, W.; GHOSH, S. Inflammation and inflammatory diseases, markers, and mediators: Role of CRP in some inflammatory diseases. In: ANSAR, W.; GHOSH, S. *Biology of C Reactive Protein in health and disease*. **New Delhi: Springer India**, 2016. p. 67–107. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/978-81-322-2680-2_4>. Acesso em: 14 abr. 2023.

ANTONUCCI, F. *et al.* A review on blockchain applications in the agri-food sector. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 99, n. 14, p. 6129–6138, 2019. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jsfa.9912>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

ANVISA. **GUIA Nº 10/2017** – Versão 1. 2017 a. Disponível em: <http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/2721567/RDC_166_2017_COMP.pdf/d5fb92b3-6c6b-4130-8670-4e3263763401>.

ANVISA. RESOLUÇÃO DA DIRETORIA COLEGIADA - **RDC Nº 166**, DE 24 DE JULHO DE 2017. , 2017, Sec. Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências. Disponível em: <http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/2721567/RDC_166_2017_COMP.pdf/d5fb92b3-6c6b-4130-8670-4e3263763401>.

AOAC. **Appendix F: Guidelines for Standard Method Performance Requirements**. , 2016. Disponível em: <https://www.aoc.org/wp-content/uploads/2019/08/app_f.pdf>.

ARAUJO, R. D. C. *et al.* Seasonal and pluviometric effects on the phenolic compound composition and antioxidant potential of *Licania macrophylla* Benth (Chrysobalanaceae), a medicinal plant from the Amazon rainforest. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 58, p. e19558, 2022. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1984-82502022000100660&tlng=en>. Acesso em: 25 nov. 2023.

ARIF, A. B. *et al.* Identification of volatile compounds in several parts of Abiu (*Pouteria Caimito*). IOP Conference Series: **Earth and Environmental Science**, v. 1024, n. 1, p. 012066, 1 maio 2022. Disponível em: <<https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1755-1315/1024/1/012066>>. Acesso em: 6 maio 2023.

ASEERVATHAM G., S. B. *et al.* Free radical scavenging potential and antihemolytic activity of methanolic extract of *Pouteria campechiana* (Kunth) Baehni. and *Tricosanthes tricuspidata* Linn. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 18, p. 101031, mar. 2019. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S187881811830954X>>. Acesso em: 20 abr. 2023.

ASEERVATHAM, G. S. B. *et al.* Antioxidant and hepatoprotective potential of *Pouteria campechiana* on acetaminophen-induced hepatic toxicity in rats. **Journal of Physiology and Biochemistry**, v. 70, n. 1, p. 1–14, mar. 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s13105-013-0274-3>>. Acesso em: 11 abr. 2023.

AUERBACH, R. *et al.* A simple procedure for the long-term cultivation of chicken embryos. **Developmental Biology**, v. 41, n. 2, p. 391–394, dez. 1974.

AUGUSTO, P. S. A. *et al.* Metformin effect in models of inflammation is associated with activation of ATP-dependent potassium channels and inhibition of tumor necrosis factor- α production. **Inflammopharmacology**, v. 30, n. 1, p. 233–241, 1 fev. 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s10787-021-00899-4>>. Acesso em: 9 mar. 2024.

AUGUSTO, M.C. *et al.* Thermoresponsive in-situ gel containing hyaluronic acid and indomethacin for the treatment of corneal chemical burn. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 631, p. 122468, 25 jan. 2023. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378517322010237>>. Acesso em: 6 dez. 2023.

- AVILA-SOSA, R. *et al.* Detection of Saffron's Main Bioactive Compounds and Their Relationship with Commercial Quality. *Foods*, v. 11, n. 20, p. 3245, jan. 2022. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2304-8158/11/20/3245>>. Acesso em: 4 nov. 2023.
- BACKONJA, M.-M. Defining neuropathic pain. *Anesthesia & Analgesia*, p. 785–790, set. 2003. Disponível em: <<https://doi.org/10.1213/01.ANE.0000062826.70846.8D>>. Acesso em: 14 abr. 2023.
- BADISA, R. B. *et al.* Selective cytotoxic activities of two novel synthetic drugs on human breast carcinoma MCF-7 cells. *Anticancer research*, v. 29, n. 8, p. 2993–2996, ago. 2009. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2885965/>>. Acesso em: 6 dez. 2023.
- BAGAL, V. K. *et al.* Exploration of bioactive molecules from *Tinospora cordifolia* and *Actinidia deliciosa* as an immunity modulator *via* molecular docking and molecular dynamics simulation study. *Natural Product Research*, p. 1–5, 9 jan. 2023. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/14786419.2023.2165076>>. Acesso em: 4 nov. 2023.
- BAKY, M. H.; ELSAID, M. B.; FARAG, M. A. Phytochemical and biological diversity of triterpenoid saponins from family Sapotaceae: A comprehensive review. *Phytochemistry*, v. 202, p. 113345, out. 2022. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0031942222002618>>. Acesso em: 17 abr. 2023.
- BARRETO, G. P. M.; BENASSI, M. T.; MERCADANTE, A. Z. Bioactive compounds from several tropical fruits and correlation by multivariate analysis to free radical scavenger activity. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 20, n. 10, p. 1856–1861, 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-50532009001000013&lng=en&nrm=iso&tlng=en>. Acesso em: 20 abr. 2023.
- BARRIOS, M. *et al.* Comparative hemostatic parameters in BALB/c, C57BL/6 and C3H/He mice. *Thrombosis Research*, v. 124, n. 3, p. 338–343, jul. 2009. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0049384808005343>>. Acesso em: 23 jan. 2024.
- BARTOS, P. M. C. *et al.* Histology of somatic embryogenesis in *Coffea arabica* L. *Biologia*, v. 73, n. 12, p. 1255–1265, 1 dez. 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.2478/s11756-018-0131-5>>. Acesso em: 21 fev. 2024.
- BAUTISTA, L. E. *et al.* Independent association between inflammatory markers (C-reactive protein, interleukin-6, and TNF- α) and essential hypertension. *Journal of Human Hypertension*, v. 19, n. 2, p. 149–154, fev. 2005. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/1001785>>. Acesso em: 6 dez. 2023.
- BEG, S. *et al.* Chapter 1 - Introduction to analytical quality by design. In: BEG, S. *et al.* (Org.). . *Handbook of Analytical Quality by Design*. [S.l.]: Academic Press, 2021. p. 1–14. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128203323000091>>. Acesso em: 4 nov. 2023.
- BELIBASAKIS, G. N. *et al.* Periodontal microbiology and microbial etiology of periodontal diseases: Historical concepts and contemporary perspectives. *Periodontology* 2000, p. prd.12473. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/prd.12473>>. Acesso em: 14 abr. 2023.
- BENALI, T. *et al.* Pharmacological insights into the multifaceted biological properties of quinic acid. *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*. 2022, v.19, p-1-30. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/02648725.2022.2122303>>. Acesso em: 14 abr. 2023.
- BEREITER, D. A.; HARGREAVES, K. M.; HU, J. W. Trigeminal mechanisms of nociception: Peripheral and brainstem organization. *Pain*. Elsevier Inc., 2008. v. 5. p. 435–460. Disponível em: <<http://www.scopus.com/inward/record.url?scp=84882540344&partnerID=8YFLogxK>>. Acesso em: 6 dez. 2023.
- BHATTACHARYYA, S. *et al.* Toll-like Receptor 4 Mediates induction of the Bcl10-NF κ B-Interleukin-8 inflammatory pathway by carrageenan in human intestinal epithelial cells. *Journal of Biological*

Chemistry, v. 283, n. 16, p. 10550–10558, 18 abr. 2008. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021925820620233>>. Acesso em: 6 dez. 2023.

BHINDERWALA, F. *et al.* Combining mass spectrometry and NMR improves metabolite detection and annotation. **Journal of proteome research**, v. 17, n. 11, p. 4017–4022, 2 nov. 2018. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6668615/>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

BORGES, P. R. S. *et al.* The bioactive constituents and antioxidant activities of ten selected Brazilian Cerrado fruits. **Food Chemistry**: v. 14, p. 100268, jun. 2022. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2590157522000669>>. Acesso em: 21 abr. 2023.

BRAGA, F. C. Paving new roads towards biodiversity-based drug development in Brazil: Lessons from the past and future perspectives. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 31, n. 5, p. 505–518, out. 2021a. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s43450-021-00181-2>>. Acesso em: 11 abr. 2023.

BRAGA, F. C. Brazilian traditional medicine: Historical basis, features and potentialities for pharmaceutical development. **Journal of Traditional Chinese Medical Sciences**, v. 8, p. 44–50, nov. 2021b. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jtcms.2020.06.005>>. Acesso em: 11 abr. 2023.

BRAM, V. D. E.; TAVERNIER, J.; GERLO, S. Interleukin-1 as innate mediator of T cell immunity. **Frontiers in Immunology**, v. 11, p. 621931, 27 jan. 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.621931>>. Acesso em: 17 mar. 2023.

BRANDÃO, M. DAS G. L. *et al.* Changes in the trade in native medicinal plants in Brazilian public markets. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 185, n. 8, p. 7013–7023, ago. 2013.

BRAZ, R. *et al.* Quality control and TLC profile data on selected plant species commonly found in the Brazilian market. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 22, p. 1111–1118, out. 2012. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/rbfar/a/DZkmQHf33CncczBddzYhJnk/>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

BROOME, M. E. **Integrative literature reviews for the development of concepts**. 2. ed. [S.l.: s.n.], 2000. v. In B.L. Rogers&K. Knafel (Eds.).

BRUNDRETT, M. C.; KENDRICK, B.; PETERSON, C. A. Efficient lipid staining in plant material with sudan red 7b or fluoral yellow 088 in polyethylene glycol-glycerol. **Biotechnic & Histochemistry**, v. 66, n. 3, p. 111–116, jan. 1991. Disponível em: <<http://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/10520299109110562>>. Acesso em: 12 out. 2023.

CACCIOLA, F. *et al.* Application of comprehensive two-dimensional liquid chromatography for carotenoid analysis in red mamey (*Pouteria sapote*) fruit. **Food Analytical Methods**, v. 9, n. 8, p. 2335–2341, ago. 2016. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s12161-016-0416-7>>. Acesso em: 5 maio 2023.

CAI, Y. *et al.* Quality Traceability system of traditional chinese medicine based on two dimensional barcode using mobile intelligent technology. **PLOS ONE**, v. 11, n. 10, p. e0165263, 25 out. 2016. Disponível em: <<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0165263>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

CÂMARA-LERET, R.; BASCOMPTE, J. Language extinction triggers the loss of unique medicinal knowledge. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 118, n. 24, p. e2103683118, 15 jun. 2021. Disponível em: <<https://pnas.org/doi/full/10.1073/pnas.2103683118>>. Acesso em: 18 abr. 2023.

CAN-CAUICH, C. A. *et al.* Tropical fruit peel powders as functional ingredients: Evaluation of their bioactive compounds and antioxidant activity. **Journal of Functional Foods**, v. 37, p. 501–506, out. 2017. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1756464617304905>>. Acesso em: 21 abr. 2023.

CANUTO, G. A. B. *et al.* Caracterização físico-química de polpas de frutos da Amazônia e sua correlação com a atividade anti-radical livre. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, n. 4, p. 1196–1205, 26 nov. 2010. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-29452010000400030&lng=pt&tlng=pt>. Acesso em: 20 abr. 2023.

CAO, R. *et al.* Acromegaly with joint pain as an initial symptom: A case report. **International Journal of Rheumatic Diseases**, p. 1756–185X.14572, 17 jan. 2023. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/1756-185X.14572>>. Acesso em: 14 abr. 2023.

CARLINI, V. *et al.* The multifaceted nature of IL-10: Regulation, role in immunological homeostasis and its relevance to cancer, COVID-19 and post-COVID conditions. **Frontiers in Immunology**, v. 14, 2023. Disponível em: <<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2023.1161067>>. Acesso em: 6 dez. 2023.

CARRIÇO, C. *et al.* Biological activity of *Pouteria sapota* leaf extract on post-embryonic development of blowfly *Chrysomya putoria* (Wiedemann, 1818) (Calliphoridae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 24, n. 3, p. 304–308, maio 2014. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0102695X14000313>>. Acesso em: 24 abr. 2023.

CARSWELL, E. A. *et al.* An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 72, n. 9, p. 3666–3670, set. 1975.

CARVALHO, R. DA S. *et al.* Compounds identified in plant extracts applied to agriculture and seed treatment. **Ciência Rural**, v. 54, p. e20220424, 2 jun. 2023. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/cr/a/SBjVSd7TfkC9sNqJZMKy3wq/>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

CASAO, T. DEL R. L. *et al.* Croton urucurana Baillon stem bark ointment accelerates the closure of cutaneous wounds in knockout IL-10 mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 261, p. 113042, out. 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113042>>. Acesso em: 17 mar. 2023.

ĆERANIĆ, D. B.; ZORMAN, M.; SKOK, P. Interleukins and inflammatory markers are useful in predicting the severity of acute pancreatitis. **Bosnian Journal of Basic Medical Sciences**, v. 20, n. 1, p. 99–105, fev. 2020. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7029213/>>. Acesso em: 6 dez. 2023.

CÉSAR, I. D. C.; PIANETTI, G. A. Robustness evaluation of the chromatographic method for the quantitation of lumefantrine using Youden's test. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 45, n. 2, p. 235–240, jun. 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1984-82502009000200007&lng=en&tlng=en>. Acesso em: 4 nov. 2023.

CHACÓN-ORDÓÑEZ, T. *et al.* Carotenoids and carotenoid esters of orange- and yellow-fleshed mamey sapote (*Pouteria sapota* (Jacq.) H.E. Moore & Stearn) fruit and their post-prandial absorption in humans. **Food Chemistry**, v. 221, p. 673–682, abr. 2017. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814616319690>>. Acesso em: 5 maio 2023.

CHAN-ZAPATA, I. *et al.* Immunomodulatory effects of the methanolic extract from *Pouteria campechiana* leaves in macrophage functions. **Food and Agricultural Immunology**, v. 29, n. 1, p. 386–399, 1 jan. 2018. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/09540105.2017.1386163>>. Acesso em: 24 abr. 2023.

CHAVES, E. M. F. *et al.* Potential of wild food plants from the semi-arid region of Northeast Brasil: Chemical approach ethnoguided. **Espacios**, v. 36, n. 16, 2020. Disponível em: <www.revistaespacios.com/a15v36n16/15361620.html>. Acesso em: 24 abr. 2023.

CHAVES, N.; SANTIAGO, A.; ALÍAS, J. C. Quantification of the antioxidant activity of plant extracts: Analysis of sensitivity and hierarchization based on the method used. **Antioxidants**, v. 9, n. 1, p. 76, 15 jan. 2020. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7023273/>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

CHE SULAIMAN, I. S. *et al.* Effects of temperature, time, and solvent ratio on the extraction of phenolic compounds and the anti-radical activity of *Clinacanthus nutans* Lindau leaves by response surface methodology. *Chemistry Central Journal*, v. 11, n. 1, p. 54, 14 jun. 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/s13065-017-0285-1>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

CHEN, L. *et al.* Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. ***Oncotarget***, v. 9, n. 6, p. 7204–7218, 23 jan. 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.18632/oncotarget.23208>>. Acesso em: 14 abr. 2023.

CHEN, M. *et al.* Myricetin inhibits TNF- α -induced inflammation in A549 cells via the SIRT1/NF- κ B pathway. ***Pulmonary Pharmacology & Therapeutics***, v. 65, p. 102000, dez. 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.pupt.2021.102000>>. Acesso em: 24 abr. 2023.

CHEN, Y.; LI, E.-M.; XU, L.-Y. Guide to Metabolomics Analysis: A Bioinformatics workflow. ***Metabolites***, v. 12, n. 4, p. 357, 15 abr. 2022. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2218-1989/12/4/357>>. Acesso em: 19 set. 2023.

CHENG, Q. *et al.* Phytochemical and pharmacological studies on the genus *Arcangelisia*: A mini review. ***Arabian Journal of Chemistry***, v. 14, n. 10, p. 103346, 1 out. 2021. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1878535221003610>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

CHEW, Y.-L.; KHOR, M.-A.; LIM, Y.-Y. Choices of chromatographic methods as stability indicating assays for pharmaceutical products: A review. ***Heliyon***, v. 7, n. 3, p. e06553, 27 mar. 2021. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8027279/>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

CHEWCHIDA, S.; VONGSAK, B. Simultaneous HPTLC quantification of three caffeoylquinic acids in *Pluchea indica* leaves and their commercial products in Thailand. ***Revista Brasileira de Farmacognosia***, v. 29, n. 2, p. 177–181, 1 mar. 2019. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0102695X18304411>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

CHICHIOCO-HERNANDEZ, C. L.; PAGUIGAN, N. D. Antimutagenic potential and phytochemical analysis of selected Philippine plants. ***Pharmacognosy Magazine***, v. 5, n. 20, p. 388–393, 2009. Disponível em: <<https://phcog.com/article/view/2009/5/20s/388-393>>. Acesso em: 24 abr. 2023.

CHO, S.-H. *et al.* Anti-inflammatory activity of *Echinosophora koreensis* nakai root extract in lipopolysaccharides-stimulated RAW 264.7 cells and carrageenan-induced mouse paw edema model. ***Journal of Ethnopharmacology***, v. 302, p. 115940, fev. 2023. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jep.2022.115940>>. Acesso em: 17 mar. 2023.

CIBIN, G. R. *et al.* Development of aromatic soluble tea from the pulp of *Pouteria ramiflora* (Mart.) Radlk. with health benefits. ***South African Journal of Botany***, v. 145, p. 236–242, mar. 2022. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0254629921002702>>. Acesso em: 21 abr. 2023.

CIRRINCIONE, G. *et al.* The GH-EXIN neural network for hierarchical clustering. ***Neural Networks***, v. 121, p. 57–73, 1 jan. 2020. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0893608019302060>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

CLERICUZIO, M. *et al.* Flavonoid oligoglycosides from *Ophioglossum vulgatum* L. having wound healing properties. ***Planta Medica***, v. 78, n. 15, p. 1639–1644, out. 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.pupt.2021.102000>>. Acesso em: 24 abr. 2023

CONTRERAS-CALDERÓN, J. *et al.* Antioxidant capacity, phenolic content and vitamin C in pulp, peel and seed from 24 exotic fruits from Colombia. ***Food Research International***, v. 44, n. 7, p. 2047–2053, ago. 2011. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0963996910004357>>. Acesso em: 20 abr. 2023.

CORRÊA, A. C. L. *et al.* *Pouteria ramiflora* leaf extract on emulgel in wound healing activity in diabetic rats. ***Brazilian Journal of Biology***, v. 82, p. e239378, 2022. Disponível em:

<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1519-69842022000100139&tlng=en>.
Acesso em: 23 abr. 2023.

CORRÊA, M. P. **Algumas Plantas Uteis, suas Aplicações e Distribuição Geographica**. Typographia da Estatística, Rio de Janeiro. Rio de Janeiro: Typographia da Estatística, 1909.

CORREIA, A. F. *et al.* Activity of crude extracts from Brazilian cerrado plants against clinically relevant *Candida* species. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 16, n. 1, p. 203, dez. 2016. Disponível em: <<http://bmccomplementaltermmed.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12906-016-1164-3>>. Acesso em: 6 jan. 2023.

COSTA, S. O. A. M. *et al.* RI75, a curcumin analogue, inhibits tumor necrosis factor- α and interleukin-6 production and exhibits antiallodynic and antiedematogenic activities in mice. **Inflammopharmacology**, v. 30, n. 2, p. 505–515, 1 abr. 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s10787-021-00913-9>>. Acesso em: 9 mar. 2024.

COSTA, D. L. M. G. *et al.* Flavonoid detection in hydroethanolic extract of *Pouteria torta* (Sapotaceae) leaves by HPLC-DAD and the determination of its mutagenic activity. **Journal of Medicinal Food**, v. 17, n. 10, p. 1103–1112, out. 2014. Disponível em: <<http://www.liebertpub.com/doi/10.1089/jmf.2013.0116>>. Acesso em: 2 out. 2023.

COSTA, T. DA S. A. *et al.* Composição de carotenoides em canistel (*Pouteria campechiana* (Kunth) Baehni). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, p. 903–906, set. 2010. Disponível em: <<http://www.scielo.br/j/rbf/a/MGNV3bNrsqZfcJbKYfg8V4x/?lang=pt>>. Acesso em: 5 maio 2023.

CRAGG, G. M.; NEWMAN, D. J. Natural products: A continuing source of novel drug leads. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects**, v. 1830, n. 6, p. 3670–3695, jun. 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2013.02.008>>. Acesso em: 11 abr. 2023.

CRUNKHORN, P.; MEACOCK, S.C. Mediators of the inflammation induced in the rat paw by *carrageenin*. **British Journal of Pharmacology**, v. 42, n. 3, p. 392–402, 1971. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.1971.tb07124.x>>. Acesso em: 23 abr. 2023.

DA COSTA, A. V. *et al.* Neuroprotective effects of *Pouteria ramiflora* (Mart.) Radlk (Sapotaceae) extract on the brains of rats with streptozotocin-induced diabetes. **Metabolic Brain Disease**, v. 28, n. 3, p. 411–419, set. 2013. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s11011-013-9390-6>>. Acesso em: 23 abr. 2023.

DA SILVA, B. A. *et al.* Antioxidant capacity and phenolics of *Pouteria macrophylla*, an under-utilized fruit from Brazilian Amazon. **European Food Research and Technology**, v. 234, n. 5, p. 761–768, maio 2012. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s00217-012-1684-0>>. Acesso em: 21 abr. 2023.

DATAPLAMT. DATAPLAMT - Base de dados bibliográfica. . [S.l.: s.n.]. Disponível em: <<https://www.dataplamt.org.br/v3-novaversao-block/#/>>. Acesso em: 07 dez. 2023.

DE ALMEIDA, E. M. *et al.* Therapeutic potential of medicinal plants indicated by the Brazilian public health system in treating the collateral effects induced by chemotherapy, radiotherapy, and chemoradiotherapy: A systematic review. **Complementary Therapies in Medicine**, v. 49, p. 102293, mar. 2020. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0965229919311471>>. Acesso em: 17 mar. 2023.

DE OLIVEIRA, C. M. B. *et al.* Cytokines and Pain. **Brazilian Journal of Anesthesiology**, v. 61, n. 2, p. 255–265, mar. 2011. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S0034-7094\(11\)70029-0](https://doi.org/10.1016/S0034-7094(11)70029-0)>. Acesso em: 17 mar. 2023.

DE SALES, P. M. *et al.* *Pouteria torta* epicarp as a useful source of α -amylase inhibitor in the control of type 2 diabetes. **Food and Chemical Toxicology**, v. 109, p. 962–969, nov. 2017. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0278691517301084>>. Acesso em: 6 jan. 2023.

DE SOUSA, L. C. R. *et al.* UPLC-QTOF-MS Analysis of extracts from the leaves of *Pouteria caimito* (Sapotaceae) and their antioxidant activity. **Journal of Biosciences and Medicines**, v. 07, n. 03, p. 92–101, 2019. Disponível em: <<http://www.scirp.org/journal/doi.aspx?DOI=10.4236/jbm.2019.73009>>. Acesso em: 20 abr. 2023.

DÉCIGA-CAMPOS, M. *et al.* Antinociceptive and antihyperalgesic activity of a traditional maya herbal preparation composed of *Pouteria campechiana*, *Chrysophyllum Cainito*, *Citrus Limonum*, and *Annona muricata*: Antinociceptive and antihyperalgesic properties of an herbal preparation. **Drug Development Research**, v. 78, n. 2, p. 91–97, mar. 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/ddr.21378>>. Acesso em: 11 abr. 2023.

DiROSA, M. Biological properties of carrageenan. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 24, n. 2, p. 89–102, 12 abr. 2011. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.1972.tb08940.x>>. Acesso em: 17 mar. 2023.

DINI, I. Flavonoid glycosides from *Pouteria obovata* (R. Br.) fruit flour. **Food Chemistry**, v. 124, n. 3, p. 884–888, 1 fev. 2011. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814610008526>>. Acesso em: 7 maio 2023.

DO, T. V. T. *et al.* Nutritional value, phytochemistry, health benefits, and potential food applications of *Pouteria campechiana* (Kunth) Baehni: A comprehensive review. **Journal of Functional Foods**, v. 103, p. 105481, abr. 2023. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1756464623000816>>. Acesso em: 10 set. 2023.

DOMINGOS, T. DE O. M. *et al.* The historical development of pharmacopoeias and the inclusion of exotic herbal drugs with a focus on Europe and Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 240, p. 111891, ago. 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.111891>>. Acesso em: 11 abr. 2023.

DONG, W. *et al.* Denoising aggregation of graph neural networks by using principal component analysis. **IEEE Transactions on Industrial Informatics**, v. 19, n. 3, p. 2385–2394, mar. 2023. Disponível em: <https://ieeexplore.ieee.org/abstract/document/9729514?casa_token=UXLXICP7in0AAAAA:CsgqihYulqXm-9lkFL8O49944bAxBSh17Grjgq5E0Cyb4dcBgBTodDD2gkj-nlB9uaGETcAPGdei>. Acesso em: 4

DORKÓ, Z.; VERBIĆ, T.; HORVAI, G. Selectivity in analytical chemistry: Two interpretations for univariate methods. **Talanta**, v. 132, p. 680–684, 15 jan. 2015. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0039914014008467>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

DUNHAM, N. W.; MIYA, T. S. A note on a simple apparatus for detecting neurological deficit in rats and mice. **Journal of the American Pharmaceutical Association. American Pharmaceutical Association**, v. 46, n. 3, p. 208–209, mar. 1957.

DURNER, B.; EHMANN, T.; MATYSIK, F.-M. High-resolution polymer high performance liquid chromatography: Application of a saw tooth gradient for the separation of various polymers. **Journal of Chromatography A**, v. 1587, p. 88–100, fev. 2019. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021967318315000>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

DUSSE, L. M. S.; VIEIRA, L. M.; CARVALHO, M. DAS G. Revisão sobre óxido nítrico. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 39, n. 4, 2003. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S1676-24442003000400012>>. Acesso em: 17 mar. 2023.

DZOYEM, J. P. *et al.* Anti-inflammatory and anti-nociceptive activities of african medicinal spices and vegetables. medicinal spices and vegetables from africa. [S.l.]: **Elsevier**, 2017. p. 239–270. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128092866000091>>. Acesso em: 17 mar. 2023.

ECKRICH, J. *et al.* Monitoring of tumor growth and vascularization with repetitive ultrasonography in the chicken chorioallantoic-membrane-assay. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 18585, 29 out. 2020. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/s41598-020-75660-y>>. Acesso em: 6 dez. 2023.

EL-DAHIYAT, F. *et al.* Herbal medicines: a cross-sectional study to evaluate the prevalence and predictors of use among Jordanian adults. **Journal of Pharmaceutical Policy and Practice**, v. 13, n. 1, p. 2, dez. 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/s40545-019-0200-3>>. Acesso em: 11 abr. 2023.

ELSAYED, A. M. *et al.* Chemical composition and biological activities of *Pouteria campechiana* (Kunth) Baehni. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 10, n. 16, p. 209–215, 25 abr. 2016. Disponível em: <<https://academicjournals.org/journal/JMPR/article-abstract/379205E58339>>. Acesso em: 7 maio 2023.

EMON, J. V.; SEIBER, J. N. Chemical constituents and energy content of two milkweeds, *Asclepias speciosa* and *A. curassavica*. **Economic Botany**, v. 39, n. 1, p. 47–55, 1 jan. 1985. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/BF02861174>>. Acesso em: 25 nov. 2023.

ERICSSON, A.; BERNDTSSON, M. A heatmap approach for master data management programs. **JISTEM - Journal of Information Systems and Technology Management**, v. 19, p. e202219017, 16 dez. 2022. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/jistm/a/Lq8GjdGvVz66PV5kbqJNXgN/>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

EUROPEAN UNION. **2002/657/EC: Commission Decision of 12 August 2002 implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results (Text with EEA relevance) (notified under document number C(2002) 3044) - Publications Office of the EU.** Disponível em: <<https://op.europa.eu/en/publication-detail/-/publication/ed928116-a955-4a84-b10a-cf7a82bad858/language-en>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

FALCÃO, H. DE S. *et al.* Review of the plants with anti-inflammatory activity studied in Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, p. 381–391, dez. 2005. Disponível em: <<http://www.scielo.br/j/rbfar/a/fnX5kZgZFHbNRwFdK7RMWJz/?lang=en>>. Acesso em: 18 mar. 2023.

FANG, J. *et al.* Apigenin inhibits tumor angiogenesis through decreasing HIF-1 α and VEGF expression. **Carcinogenesis**, v. 28, n. 4, p. 858–864, abr. 2007. Disponível em: < <https://doi.org/10.1093/carcin/bgl205> >. Acesso em: 24 abr. 2023

FARIA, J. V. *et al.* Comparative evaluation of chemical composition and biological activities of tropical fruits consumed in Manaus, central Amazonia, Brazil. **Food Research International**, v. 139, p. 109836, jan. 2021. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0963996920308619>>. Acesso em: 20 abr. 2023.

Farmacopeia Brasileira. Brasil. ANVISA. 6^o ed., v.1 Brasília: 2019

FATTAHI, M.; RAHIMI, R. Optimization of extraction parameters of phenolic antioxidants from leaves of *Capparis spinosa* using response surface methodology. **Food Analytical Methods**, v. 9, n. 8, p. 2321–2334, 1 ago. 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s12161-016-0414-9>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

FERREIRA, G. G. Avaliação *in vitro* de efeitos anti-inflamatórios de extratos de *Pouteria torta* (mart.) Radlk e *Pouteria ramiflora* (Mart.) Radlk. 2017. 68 f. **Dissertação** – Universidade Nacional de Brasília, Brasília, 2017. Disponível em: <<https://repositorio.unb.br/handle/10482/22882>>.

FERREIRA, M. M. C. **Quimiometria: Conceitos, Métodos e Aplicações**. Campinas: [s.n.], 2020. v. 2.

FERREIRA, S. L. C. *et al.* Robustness evaluation in analytical methods optimized using experimental designs. **Microchemical Journal**, v. 131, p. 163–169, 1 mar. 2017. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0026265X16303599>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

FEUCHT, W.; SCHMID, P. P. S.; CHRIST, E. Distribution of flavanols in meristematic and mature tissues of prunus avium shoots. **Journal of Plant Physiology**, v. 125, n. 1–2, p. 1–8, set. 1986. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0176161786802371>>. Acesso em: 12 out. 2023.

FIGUEREDO, C. A. DE; GURGEL, I. G. D.; JUNIOR, G. D. G. A Política Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos: Construção, perspectivas e desafios. **Physis: Revista de Saúde Coletiva**, v. 24, n. 2, p. 381–400, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0103-73312014000200004>>. Acesso em: 15 abr. 2023.

FILHO, A. A. M. *et al.* Fatty acids, physical-chemical properties, mineral and anti-acetylcholinesterase of abiu seed oil. **Chemical Engineering Transactions**, v. 64, p. 283–288, maio 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.3303/CET1864048>>. Acesso em: 24 abr. 2023.

FITRIANSYAH, S. N.; FIDRIANNY, I.; HARTATI, R. Pharmacological activities and phytochemical compounds: Overview of *Pouteria* Genus. **Pharmacognosy Journal**, v. 13, n. 2, p. 577–584, 4 mar. 2020. Disponível em: <<http://www.phcogj.com/article/1396>>. Acesso em: 2 maio 2023.

FITRIANSYAH, S. N.; HARTATI, R.; FIDRIANNY, I. Effect of different solvent on phytochemical content, tyrosinase inhibition and antioxidant activities of campolay (*Pouteria campechiana* kunth. [Baehni.]). **Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences**, v. 10, n. A, p. 158–163, 18 jan. 2022. Disponível em: <<https://oamjms.eu/index.php/mjms/article/view/8204>>. Acesso em: 24 abr. 2023.

FITZGERALD, M.; HEINRICH, M.; BOOKER, A. Medicinal plant analysis: A historical and regional discussion of emergent complex techniques. **Frontiers in Pharmacology**, v. 10, 2020. Disponível em: <<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphar.2019.01480>>. Acesso em: 25 nov. 2023.

FOTIO, A. L. *et al.* Acute and chronic anti-inflammatory properties of the stem bark aqueous and methanol extracts of *Sclerocarya birrea* (Anacardiaceae). **Inflammopharmacology**, v. 17, n. 4, p. 229–237, ago. 2009. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s10787-009-0011-2>>. Acesso em: 24 abr. 2023

FRANCA, C. *et al.* Potential radical-scavenging activity of *Pouteria caimito* leaves extracts. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, p. 184–188, 2016. Disponível em: <http://www.japsonline.com/abstract.php?article_id=1938>. Acesso em: 17 abr. 2023.

FRANCESCATO, L. N. *et al.* Identification of phenolic compounds in *Equisetum giganteum* by LC–ESI–MS/MS and a new approach to total flavonoid quantification. **Talanta**, v. 105, p. 192–203, fev. 2013. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0039914012010259>>. Acesso em: 8 abr. 2023.

FUENTEALBA, C. *et al.* Characterization of main primary and secondary metabolites and *in vitro* antioxidant and antihyperglycemic properties in the mesocarp of three biotypes of *Pouteria lucuma*. **Food Chemistry**, v. 190, p. 403–411, jan. 2016. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814615008559>>. Acesso em: 21 abr. 2023.

FURMAN, D. *et al.* Chronic inflammation in the etiology of disease across the life span. **Nature Medicine**, v. 25, n. 12, p. 1822–1832, dez. 2019. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/s41591-019-0675-0>>. Acesso em: 17 mar. 2023.

FURMAN, W. B. **Continuous flow analysis: Theory and practice**. [S.l.]: CRC Press, 2020.

GACCHE, R. N. *et al.* Evaluation of selected flavonoids as antiangiogenic, anticancer, and radical scavenging agents: an experimental and in silico analysis. **Cell Biochemistry and Biophysics**, v. 61, n. 3, p. 651–663, dez. 2011. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s12013-011-9251-z>>. Acesso em: 24 abr. 2023

GACCHE, R. N. *et al.* Flavonoids as a scaffold for development of novel anti-angiogenic agents: An experimental and computational enquiry. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 577–578, p. 35–48, 1 jul. 2015. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003986115002106>>. Acesso em: 6 dez. 2023.

GALINDO-PRIETO, B.; ERIKSSON, L.; TRYGG, J. Variable influence on projection (VIP) for OPLS models and its applicability in multivariate time series analysis. **Chemometrics and Intelligent**

Laboratory Systems, v. 146, p. 297–304, 15 ago. 2015. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0169743915001148>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

GALINDO-PRIETO, B.; ERIKSSON, L.; TRYGG, J. Variable influence on projection (VIP) for orthogonal projections to latent structures (OPLS). **Journal of Chemometrics**, v. 28, n. 8, p. 623–632, 2014. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/cem.2627>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

GARMUS, T. T. *et al.* Ethanolic and hydroalcoholic extracts of *pitanga* leaves (*Eugenia uniflora* L.) and their fractionation by supercritical technology. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 36, p. 1041–1051, 30 set. 2019. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/bjce/a/5hwyBW6Hc8kStdRPdwT6nHP/?lang=en>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

GEMECHU, W.; BISLAT, D.; ASRES, K. Antimalarial anthrone and chromone from the leaf latex of *Aloe debrana* Chrstian. **Ethiopian Pharmaceutical Journal**, v. 30, n. 1, p. 1–9, 25 ago. 2014. Disponível em: <<https://www.ajol.info/index.php/epj/article/view/106924>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

GHASEMI-DEHNOO, M. *et al.* Quinic acid ameliorates ulcerative colitis in rats, through the inhibition of two TLR4-NF- κ B and NF- κ B-INOS-NO signaling pathways. **Immunity, Inflammation and Disease**, v. 11, n. 8, p. e926, 2023. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/iid3.926>>. Acesso em: 6 dez. 2023.

GHASEMZADEH, A. Flavonoids and phenolic acids: Role and biochemical activity in plants and human. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 5, n. 31, 23 dez. 2011. Disponível em: <<http://www.academicjournals.org/JMPR/abstracts/abstracts/abstracts2011/23Dec/Ghasemzadeh%20and%20Ghasemzadeh.htm>>. Acesso em: 25 nov. 2023.

GIACOMETTI, J.; ŽAUHAR, G.; ŽUVIĆ, M. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of major phenolic compounds from olive leaves (*Olea europaea* L.) using response surface methodology. **Foods**, v. 7, n. 9, p. 149, set. 2018. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2304-8158/7/9/149>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

GINWALA, R. *et al.* Potential role of flavonoids in treating chronic inflammatory diseases with a special focus on the anti-inflammatory activity of apigenin. **Antioxidants**, v. 8, n. 2, p. 35, 5 fev. 2019. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6407021/>>. Acesso em: 25 nov. 2023.

GOMES, J. D. S. X. *et al.* Perfil químico, flavonoides totais, atividade antioxidante e citotóxica dos extratos de *Guapira pernambucensis*. **Vértices (Campos dos Goitacazes)**, v. 21, n. 1, 2019. Disponível em: <<https://www.redalyc.org/journal/6257/625767707009/html/>>. Acesso em: 25 nov. 2023.

GOMES, J. M. *et al.* Seasonal variations of polyphenols content, sun protection factor and antioxidant activity of two Lamiaceae species. **Pharmaceutics**, v. 13, n. 1, p. 110, 16 jan. 2021. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7829895/>>. Acesso em: 25 nov. 2023.

GONG, G. *et al.* *In vivo* SAR and STR analyses of alkaloids from *Picrasma quassioides* identify 1-hydroxymethyl-8-hydroxy- β -carboline as a novel natural angiogenesis inhibitor. **RSC Advances**, v. 6, n. 12, p. 9484–9494, 25 jan. 2016. Disponível em: <<https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2016/ra/c5ra22391a>>. Acesso em: 6 dez. 2023.

GONZÁLEZ, E.; VAILLANT, F.; PÉREZ, A. *In vitro* cell-mediated antioxidant protection of human erythrocytes by some common tropical fruits. **Journal of Nutrition & Food Sciences**, v. 02, n. 03, 2012. Disponível em: <<https://www.omicsonline.org/in-vitro-cell-mediated-antioxidant-protection-of-human-erythrocytes-by-some-common-tropical-fruits-2155-9600.1000139.php?aid=6105>>. Acesso em: 20 abr. 2023.

GONZÁLEZ-PEÑA, M. A.; LOZADA-RAMÍREZ, J. D.; ORTEGA-REGULES, A. E. Carotenoids from mamey (*Pouteria sapota*) and carrot (*Daucus carota*) increase the oxidative stress resistance of *Caenorhabditis elegans*. **Biochemistry and Biophysics Reports**, v. 26, p. 100989, jul. 2021. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2405580821000832>>. Acesso em: 20 abr. 2023.

GONZÁLEZ-SILVA, N. *et al.* Ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from *Psidium cattleianum* leaves: Optimization using the response surface methodology. **Molecules**, v. 27, n. 11, p. 3557, jan. 2022. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1420-3049/27/11/3557>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

GONZÁLEZ-ZAMORA, A. *et al.* Characterization of different capsicum varieties by evaluation of their capsaicinoids content by high performance liquid chromatography, determination of pungency and effect of high temperature. **Molecules**, v. 18, n. 11, p. 13471–13486, nov. 2013. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1420-3049/18/11/13471>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

GORDON, A. *et al.* Phenolic constituents and antioxidant capacity of four underutilized fruits from the Amazon region. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 14, p. 7688–7699, 27 jul. 2011. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf201039r>>. Acesso em: 21 abr. 2023.

GOUVEIA, N. M. D. *et al.* *Pouteria ramiflora* extract inhibits salivary amylolytic activity and decreases glycemimic level in mice. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 85, n. 3, p. 1141–1148, set. 2013. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0001-37652013000301141&lng=en&tng=en>. Acesso em: 23 abr. 2023.

GREGORY, N. S. *et al.* An overview of animal models of pain: Disease models and outcome measures. **The Journal of Pain**, v. 14, n. 11, p. 1255–1269, nov. 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jpain.2013.06.008>>. Acesso em: 11 abr. 2023.

GRZEGORCZYK-KAROLAK, I.; KISS, A. K. Determination of the phenolic profile and antioxidant properties of *Salvia viridis* L. shoots: A comparison of aqueous and hydroethanolic extracts. **Molecules**, v. 23, n. 6, p. 1468, jun. 2018. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1420-3049/23/6/1468>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

GUERRERO-CASTILLO, P. *et al.* Agro-industrial waste seeds from Peruvian *Pouteria lucuma* as new source of phytosterols. **LWT**, v. 144, p. 111259, jun. 2021. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0023643821004126>>. Acesso em: 5 maio 2023.

GUERRERO-CASTILLO, P. *et al.* Biological activity and chemical characterization of *Pouteria lucuma* seeds: A possible use of an agricultural waste. **Waste Management**, v. 88, p. 319–327, abr. 2019. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956053X19301886>>. Acesso em: 21 abr. 2023.

GULYÁS-FEKETE, G. *et al.* Cryptocapsinepoide-type carotenoids from red mamey, *Pouteria sapota*. **Journal of Natural Products**, v. 76, n. 4, p. 607–614, 26 abr. 2013. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/np3007827>>. Acesso em: 5 maio 2023.

GUNE, M. M. *et al.* Seasonal variations of heavy metals in the soil around a coal-fired thermal power plant, South-West Coast of India. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 104, n. 5, p. 602–608, 1 maio 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s00128-020-02831-y>>. Acesso em: 25 nov. 2023.

GUNN, A. *et al.* The influence of non-nociceptive factors on hot-plate latency in rats. **The Journal of Pain**, v. 12, n. 2, p. 222–227, 1 fev. 2011. Disponível em: <[https://www.jpain.org/article/S1526-5900\(10\)00597-3/fulltext](https://www.jpain.org/article/S1526-5900(10)00597-3/fulltext)>. Acesso em: 6 dez. 2023.

GUPTA, S. *et al.* Andrographolide attenuates complete freund's adjuvant induced arthritis via suppression of inflammatory mediators and pro-inflammatory cytokines. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 261, p. 113022, out. 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113022>>. Acesso em: 17 mar. 2023.

GUTIÉRREZ-VELÁZQUEZ, M. V. *et al.* Comparison of the phenolic contents and epigenetic and genetic variability of wild and cultivated watercress (*Rorippa nasturtium* var. *aquaticum* L.). **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 34, p. 9–16, 1 jul. 2018. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0717345818300150>>. Acesso em: 25 nov. 2023.

HÄRING, D. A. *et al.* Biomass allocation is an important determinant of the tannin concentration in growing plants. **Annals of Botany**, v. 99, n. 1, p. 111–120, 1 jan. 2007. Disponível em: <<https://doi.org/10.1093/aob/mcl227>>. Acesso em: 25 nov. 2023.

HERRERA-ROCHA, K. M. *et al.* Phenolic acids and flavonoids in acetonic extract from quince (*Cydonia oblonga* Mill.): nutraceuticals with antioxidant and anti-inflammatory potential. **Molecules**, v. 27, n. 8, p. 2462, jan. 2022. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1420-3049/27/8/2462>>. Acesso em: 6 dez. 2023.

HO, T. L. T. *et al.* Determining mean corpuscular volume and red blood cell count using electrochemical collision events. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 110, p. 155–159, 1 jul. 2018. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S095656631830229X>>. Acesso em: 23 jan. 2024.

HOLINSTAT, M. Normal platelet function. **Cancer metastasis reviews**, v. 36, n. 2, p. 195–198, jun. 2017. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5709181/>>. Acesso em: 23 jan. 2024.

HORIUCHI, T. *et al.* Transmembrane TNF- α : structure, function and interaction with anti-TNF agents. **Rheumatology**, v. 49, n. 7, p. 1215–1228, 1 jul. 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.1093/rheumatology/keq031>>. Acesso em: 6 dez. 2023.

HUANG, H. *et al.* Dietary compounds galangin and myricetin suppress ovarian cancer cell angiogenesis. **Journal of Functional Foods**, v. 15, p. 464–475, 1 maio 2015. Disponível em: <<https://10.1016/j.jff.2015.03.051>>. Acesso em: 6 dez. 2023.

HUNTER, P. The inflammation theory of disease: The growing realization that chronic inflammation is crucial in many diseases opens new avenues for treatment. **EMBO reports**, v. 13, n. 11, p. 968–970, nov. 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/embor.2012.142>>. Acesso em: 14 abr. 2023.

ICH. Q8(R2). 2009. Disponível em: <<http://www.ich.org>>.

INGLIS, P. W. *et al.* DNA Barcoding for the identification of phyllanthus taxa used medicinally in Brazil. **Planta Medica**, v. 84, n. 17, p. 1300–1310, nov. 2018. Disponível em: <<http://www.thieme-connect.de/DOI/DOI?10.1055/a-0644-2688>>. Acesso em: 18 mar. 2023.

INMET. **Tempo:Condições de tempo registrada**, 2023. Disponível em: <<https://tempo.inmet.gov.br/CondicoesTempoRegistradas>>. Acesso em: 25 nov. 2023.

INTERNATIONAL PLANT NAMES INDEX. . [S.l.: s.n.]. , 23 jul. 2023. Disponível em: <<https://www.ipni.org/>>. Acesso em: 23 jul. 2023.

IWASAKI, A.; MEDZHITOV, R. Control of adaptive immunity by the innate immune system. **Nature Immunology**, v. 16, n. 4, p. 343–353, abr. 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/ni.3123>>. Acesso em: 17 mar. 2023.

IYER, S. S.; CHENG, G. Role of interleukin 10 transcriptional regulation in inflammation and autoimmune disease. **Critical reviews in immunology**, v. 32, n. 1, p. 23–63, 2012. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3410706/>>. Acesso em: 6 dez. 2023.

JALKANEN, S.; SALMI, M. 11 - Lymphocyte adhesion and trafficking. In: RICH, R. R. *et al.* (Org.). **Clinical Immunology (Fifth Edition)**. London: Elsevier, 2019. p. 171–182.e1. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780702068966000119>>. Acesso em: 23 jan. 2024.

JANG, D. *et al.* The role of Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- α) in autoimmune disease and current TNF- α inhibitors in therapeutics. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 5, p. 2719, jan. 2021. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1422-0067/22/5/2719>>. Acesso em: 6 dez. 2023.

JEGEDE, I.; IBRAHIM, J.; OBOH, M. A. Pharmacognostic analyses of the leaves of *Pouteria alnifolia* (baker) roberty. (Family Sapotaceae). **Journal of Phytomedicine and Therapeutics**, v. 14, p. 24–30, 1 jan. 2009.

JORGE, T. F.; MATA, A. T.; ANTÓNIO, C. Mass spectrometry as a quantitative tool in plant metabolomics. **Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences**, v. 374, n. 2079, p. 20150370, 28 out. 2016. Disponível em: <<https://royalsocietypublishing.org/doi/10.1098/rsta.2015.0370>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

JUN, X. Caffeine extraction from green tea leaves assisted by high pressure processing. **Journal of Food Engineering**, v. 94, n. 1, p. 105–109, 1 set. 2009. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0260877409001228>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

JÚNIOR, E. A. F. *et al.* Antinociceptive and antiinflammatory properties of the ethanolic extract of *Pouteria ramiflora* Roots. **Latin American Journal of Pharmacy**, 2009.

JÚNIOR, E. DE A. F. Investigação das possíveis atividades antinociceptiva e anti-inflamatória do extrato etanólico de raiz de *Pouteria ramiflora* Radlk. 2004. 75 f. **Dissertação (Mestrado)** – Universidade Federal do Pará, Belém, 2004. Disponível em: <<http://livros01.livrosgratis.com.br/cp147580.pdf>>. Acesso em: 11 abr. 2023.

JURADO, J. M. *et al.* Some practical considerations for linearity assessment of calibration curves as function of concentration levels according to the fitness-for-purpose approach. **Talanta**, v. 172, p. 221–229, 1 set. 2017.

KAMALAKANNAN, K.; RAYAR, A.; MEGALA, L. Isolation of quercetin from *Pouteria sapota* and evaluation of its anti oxidant and cancer activities. **World Journal Of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 5, n. 4, p. 1897–1910, 2016. Disponível em: <https://storage.googleapis.com/journal-uploads/wjpps/article_issue/1459424913.pdf>.

KANJOORMANA, M.; KUTTAN, G. Antiangiogenic activity of ursolic acid. **Integrative Cancer Therapies**, v. 9, n. 2, p. 224–235, jun. 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.1177/1534735410367647>>. Acesso em: 6 dez. 2023

KARAGEORGOU, E.; SAMANIDOU, V. Youden test application in robustness assays during method validation. **Journal of Chromatography A, Method Validation**, v. 1353, p. 131–139, 1 ago. 2014. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021967314001320>>. Acesso em:

KARIM, N. *et al.* Anti-nociceptive and anti-inflammatory activities of asparacosin a involve selective cyclooxygenase 2 and inflammatory cytokines inhibition: An *in vitro*, *in vivo*, and in-silico Approach. **Frontiers in Immunology**, v. 10, p. 581, 26 mar. 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00581>>. Acesso em: 17 mar. 2023.

KASHYAP, D. *et al.* Kaempferol - A dietary anticancer molecule with multiple mechanisms of action: Recent trends and advancements. **Journal of Functional Foods**, v. 30, p. 203–219, mar. 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.01.022>>. Acesso em: 6 dez. 2023

KATO, C. G. *et al.* Inhibition of α -amylases by condensed and hydrolysable tannins: Focus on kinetics and hypoglycemic actions. **Enzyme Research**, v. 2017, p. e5724902, 14 maio 2017. Disponível em: <<https://www.hindawi.com/journals/er/2017/5724902/>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

KESKES, H. *et al.* LC-MS–MS and GC-MS analyses of biologically active extracts and fractions from Tunisian *Juniperus phoenice* leaves. **Pharmaceutical Biology**, v. 55, n. 1, p. 88–95, 22 set. 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7011873/>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

KHATER, M.; GRECO, F.; OSBORN, H. M. I. Antiangiogenic activity of flavonoids: A systematic review and meta-analysis. **Molecules**, v. 25, n. 20, p. 4712, 14 out. 2020. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7594036/>>. Acesso em: 6 dez. 2023.

KIM, P.K.; DEUTSCHMAN, C.S. Inflammatory responses and mediators. **Surgical Clinics of North America**, v. 80, n. 3, p. 885-894, 2000. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S0039-6109\(05\)70102-X](https://doi.org/10.1016/S0039-6109(05)70102-X)>. Acesso em: 25 nov. 2023.

- KIM, D. G. *et al.* Selection of herbal medicines requiring quality control for loss on drying, total ash, and acid-insoluble ash in Korea. **Natural Product Sciences**, v. 17, p. 38–44, 1 mar. 2011. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/289794382_Selection_of_herbal_medicines_requiring_quality_control_for_loss_on_drying_total_ash_and_acid-insoluble_ash_in_Korea>. Acesso em: 25 nov. 2023.
- KITE, G. C.; PORTER, E. A.; SIMMONDS, M. S. J. Chromatographic behaviour of steroidal saponins studied by high-performance liquid chromatography–mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1148, n. 2, p. 177–183, 4 maio 2007. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021967307004761>>. Acesso em: 4 nov. 2023.
- KLINKE, A. *et al.* Myeloperoxidase attracts neutrophils by physical forces. **Blood**, v. 117, p. 1350–1358, 2011. Disponível em: <<https://doi.org/10.1182/blood-2010-05-284513>>. Acesso em: 4 nov. 2023.
- KRASTEVA, I.; NIKOLOV, S. Flavonoids in *Astragalus corniculatus*. **Química Nova**, v. 31, n. 1, p. 59–60, 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422008000100012&lng=en&nrm=iso&tlng=en>. Acesso em: 21 fev. 2024.
- KONEČNÁ, M. *et al.* Tasty rewards for ants: differences in elaiosome and seed metabolite profiles are consistent across species and reflect taxonomic relatedness. **Oecologia**, v. 188, n. 3, p. 753–764, 1 nov. 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s00442-018-4254-8>>. Acesso em: 4 nov. 2023.
- KORBECKI, J. *et al.* The importance of CXCL1 in physiology and noncancerous diseases of bone, bone marrow, muscle and the nervous system. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 8, p. 4205, 11 abr. 2022. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9024980/>>. Acesso em: 6 dez. 2023.
- KOUDOUFIO, M. *et al.* Intestinal protection by proanthocyanidins involves anti-oxidative and anti-inflammatory actions in association with an improvement of insulin sensitivity, lipid and glucose homeostasis. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 3878, 16 fev. 2021. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/s41598-020-80587-5>>. Acesso em: 25 nov. 2023.
- KOWSHIK, J. *et al.* Astaxanthin inhibits JAK/STAT-3 signaling to abrogate cell proliferation, invasion and angiogenesis in a hamster model of oral cancer. **PloS One**, v. 9, n. 10, p. e109114, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0109114>>. Acesso em: 6 dez. 2023.
- KOYASU, S.; MORO, K. Role of innate lymphocytes in infection and inflammation. **Frontiers in Immunology**, v. 3, 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.3389/fimmu.2012.00101>>. Acesso em: 17 mar. 2023.
- KUBOLA, J.; SIRIAMORNUN, S.; MEESO, N. Phytochemicals, vitamin C and sugar content of Thai wild fruits. **Food Chemistry**, v. 126, n. 3, p. 972–981, jun. 2011. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814610015220>>. Acesso em: 10 out. 2023.
- KUHNEN, S. *et al.* Antiangiogenic properties of carotenoids: A potential role of maize as functional food. **Journal of Functional Foods**, v. 1, n. 3, p. 284–290, 1 jul. 2009. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1756464609000346>>. Acesso em: 6 dez. 2023.
- KUMAR, N. *et al.* Chemometrics tools used in analytical chemistry: An overview. **Talanta**, v. 123, p. 186–199, 1 jun. 2014. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0039914014000812>>. Acesso em: 4 nov. 2023.
- KUMAR, N.; GOEL, N. Phenolic acids: Natural versatile molecules with promising therapeutic applications. **Biotechnology Reports**, v. 24, p. e00370, 1 dez. 2019. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2215017X19302383>>. Acesso em: 18 mar. 2023.
- KUMAR, S.; KUMAR, V. J.; SINGH, R. Physico-chemical analysis and preliminary phytochemical screening of crude plant extracts of *Eclipta alba* in district Haridwar. **Rasayan Journal of chemistry**, v.

13, n. 03, p. 1637–1643, 2020. Disponível em: <https://rasayanjournal.co.in/admin/php/upload/1037_pdf.pdf>. Acesso em: 25 nov. 2023.

LABARRERE, B. *et al.* Variations of secondary metabolites among natural populations of sub-antarctic ranunculus species suggest functional redundancy and versatility. **Plants**, v. 8, n. 7, p. 234, jul. 2019. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2223-7747/8/7/234>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

LADEIRA, G. D. A. *et al.* Chemical characterization, antinociceptive and anti-inflammatory effect of *Lippia lacunosa*, a species used by the Bandeirantes. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 312, p. 116473, 10 ago. 2023. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874123003410>>. Acesso em: 9 mar. 2024.

LAKEY-BEITIA, J. *et al.* Anti-amyloid aggregation activity of novel carotenoids: implications for Alzheimer's drug discovery. **Clinical Interventions in Aging**, v. Volume 12, p. 815–822, maio 2017. Disponível em: <<https://www.dovepress.com/anti-amyloid-aggregation-activity-of-novel-carotenoids-implications-fo-peer-reviewed-article-CIA>>. Acesso em: 24 abr. 2023.

LARA-ALMAZÁN, N. *et al.* Validation and uncertainty estimation of analytical method for quantification of phytochelatins in aquatic plants by UPLC-MS. **Phytochemistry**, v. 183, p. 112643, 1 mar. 2021. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0031942220312589>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

LAZIC, S. E.; SEMENOVA, E.; WILLIAMS, D. P. Determining organ weight toxicity with Bayesian causal models: Improving on the analysis of relative organ weights. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 6625, 20 abr. 2020. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/s41598-020-63465-y>>. Acesso em: 23 jan. 2024.

LEE, D. H.; LEE, C. S. Flavonoid myricetin inhibits TNF- α -stimulated production of inflammatory mediators by suppressing the Akt, mTOR and NF- κ B pathways in human keratinocytes. *European Journal of Pharmacology*, v. 784, p. 164–172, 5 ago. 2016. Disponível em: < <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2016.05.025> >. Acesso em: 6 dez. 2023

LENARDÃO, E. J. *et al.* antinociceptive effect of essential oils and their constituents: an update review. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 27, p. 435–474, mar. 2016. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/jbchs/a/5VkyZMT6yphVgsXbL4q5KxQ/?format=html>>. Acesso em: 6 dez. 2023.

LI, Y. *et al.* Quercetin, Inflammation and Immunity. **Nutrients**, v. 8, n. 3, p. 167, 15 mar. 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4808895/>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

LI, Y.-Y. *et al.* Compatibility between cold-natured medicine CP and hot-natured medicine AZ synergistically mitigates colitis mice through attenuating inflammation and restoring gut barrier. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 303, p. 115902, mar. 2023. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jep.2022.115902>>. Acesso em: 17 mar. 2023.

LIANOPOULOU, V.; BOSABALIDIS, A. M. Traits of seasonal dimorphism associated with adaptation to cold stress in *Origanum dictamnus* L. (Lamiaceae). **Journal of Biological Research-Thessaloniki**, v. 21, n. 1, p. 17, 13 out. 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/2241-5793-21-17>>. Acesso em: 25 nov. 2023.

LIMA, R. A.; SILVA, A. C. Identification class of secondary metabolites in ethanolic extract of fruits and leaves of *Eugenia uniflora* L. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v. 20, n. 1, p. 381, 24 fev. 2016. Disponível em: <<https://periodicos.ufsm.br/reget/article/view/19537>>. Acesso em: 5 out. 2023.

LU, Q. *et al.* Stability of flavonoid, carotenoid, soluble sugar and vitamin C in 'Cara Cara' juice during storage. **Foods**, v. 8, n. 9, p. 417, set. 2019. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2304-8158/8/9/417>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

ŁUCZAJ, Ł. J. Plant identification credibility in ethnobotany: a closer look at Polish ethnographic studies. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, v. 6, n. 1, p. 36, dez. 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/1746-4269-6-36>>. Acesso em: 15 abr. 2023.

LUO, T. *et al.* Role of water as the co-solvent in eco-friendly processing oil extraction: Optimization from experimental data and theoretical approaches. **Chemical Engineering Science**, v. 183, p. 275–287, 29 jun. 2018. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0009250918301337>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

LUZ, T. R. S. A. *et al.* Seasonal variation in the chemical composition and biological activity of the essential oil of *Mesosphaerum suaveolens* (L.) Kuntze. **Industrial Crops and Products**, v. 153, p. 112600, 1 out. 2020. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669020305161>>. Acesso em: 25 nov. 2023.

MA, H. *et al.* Myricetin inhibits migration and invasion of hepatocellular carcinoma MHCC97H cell line by inhibiting the EMT process. **Oncology Letters**, v. 18, n. 6, p. 6614–6620, dez. 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.3892/ol.2019.10998>>. Acesso em: 6 dez. 2023

MA, J.-S. *et al.* Extraction, characterization and antioxidant activity of polysaccharide from *Pouteria campechiana* seed. **Carbohydrate Polymers**, v. 229, p. 115409, 1 fev. 2020. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861719310768>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

MALTA, L. G. *et al.* Assessment of antioxidant and antiproliferative activities and the identification of phenolic compounds of exotic Brazilian fruits. **Food Research International**, v. 53, n. 1, p. 417–425, ago. 2013. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0963996913002627>>. Acesso em: 21 abr. 2023.

MANABE, M.; TATARAZAKO, N.; KINOSHITA, M. Uptake, excretion and toxicity of nano-sized latex particles on medaka (*Oryzias latipes*) embryos and larvae. **Aquatic Toxicology**, v. 105, n. 3, p. 576–581, 1 out. 2011. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0166445X11002426>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

MANGLA, S. K. *et al.* A conceptual framework for blockchain-based sustainable supply chain and evaluating implementation barriers: A case of the tea supply chain. **Business Strategy and the Environment**, v. 31, n. 8, p. 3693–3716, dez. 2022. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/bse.3027>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

MANNINO, G. *et al.* Proanthocyanidins and Where to Find Them: A meta-analytic approach to investigate their chemistry, biosynthesis, distribution, and effect on human health. **Antioxidants**, v. 10, n. 8, p. 1229, 30 jul. 2021. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8389005/>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

MANOSROI, A.; SARAPHANCHOTIWITTHAYA, A.; MANOSROI, J. *In vitro* immunomodulatory effect of *Pouteria cambodiana* (Pierre ex Dubard) Baehni extract. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 101, n. 1–3, p. 90–94, out. 2005. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378874105002904>>. Acesso em: 6 jan. 2023.

MANSOURI, M. T. *et al.* A study of the mechanisms underlying the anti-inflammatory effect of ellagic acid in carrageenan-induced paw edema in rats. **Indian Journal of Pharmacology**, v. 47, n. 3, p. 292–298, 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4450555/>>. Acesso em: 6 dez. 2023.

MANZOCCO, L.; ANESE, M.; NICOLI, M. C. Antioxidant properties of tea extracts as affected by processing. **LWT - Food Science and Technology**, v. 31, n. 7, p. 694–698, 1 nov. 1998. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643898904911>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

MARCH, R. E.; TODD, J. F. J. **Practical Aspects of Ion Trap Mass Spectrometry: Chemical, Environmental, and Biomedical Applications**. [S.l.]: CRC Press, 1995.

MARSON, B. *et al.* Validation of analytical methods in a pharmaceutical quality system: An overview focused on hplc methods. **Química Nova**, 2020. Disponível em: <https://quimicanova.sbq.org.br/audiencia_pdf.asp?aid2=9142&nomeArquivo=AG2020-0125.pdf>. Acesso em: 8 abr. 2023.

MARTÍN, D.; OSORIO, C. Identification of aroma-active volatile compounds in *Pouteria sapota* fruit by aroma extraction dilution analyses (AEDA). **Química Nova**, 2019. Disponível em: <http://quimicanova.sbq.org.br/audiencia_pdf.asp?aid2=6925&nomeArquivo=AR20190090.pdf>. Acesso em: 5 maio 2023.

MARTINS-DE-SOUZA, D. Proteomics, metabolomics, and protein interactomics in the characterization of the molecular features of major depressive disorder. **Dialogues in Clinical Neuroscience**, v. 16, n. 1, p. 63–73, mar. 2014. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3984892/>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

MARTIUS, K. VON. Plantas usadas pelos brasileiros e suas substâncias medicinais (título original *Systema Materiae Medica Vegetabilis Brasiliensis*). Original publication in 1843. Belo Horizonte: Fino Traço, 1909.

MARZUKI, N. H. C.; HAMID, M. A.; WAHAB, R. A. Assessment of fatty acid composition and response surface optimization of ultrasonic-assisted extraction of phenolic compounds from *Pouteria campechiana* pulp. **Malaysian Journal of Fundamental and Applied Sciences**, v. 14, n. 2, p. 269–277, 3 jun. 2018. Disponível em: <<https://mjfas.utm.my/index.php/mjfas/article/view/984>>. Acesso em: 6 maio 2023.

MATIAS, R. *et al.* Phytochemistry and fungitoxic potential of extract and fractions of *Pouteria ramiflora* on *Fusarium solani* f. sp. phaseoli. **Bioscience Journal**, v. 35, n. 2, p. 598–608, 12 abr. 2019. Disponível em: <<https://seer.ufu.br/index.php/biosciencejournal/article/view/42199>>. Acesso em: 23 abr. 2023.

MATOS, F. J. DE A. **Introdução à fitoquímica experimental**. 3ª edição ed. Fortaleza: [s.n.], 2020. Acesso em: 5 out. 2023.

MATOS, R.; SOUZA, T.T.; Scopel, M. chemometrics as a tool for quality control of commercial samples of *Equisetum* teas in Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 1 n. 1, p.1-9, 2024. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s43450-024-00516-9>>. Acesso em : 01 mar. 2024.

MATSUSAKA, Y.; KAWABATA, J. Evaluation of antioxidant capacity of non-edible parts of some selected tropical fruits. **Food Science and Technology Research** v. 16, n. 5, p. 467–472, 2010. Disponível em: <https://www.jstage.jst.go.jp/article/fstr/16/5/16_5_467/_pdf>. Acesso em : 01 mar. 2024.

MAZZARI, A. L. D. A.; PRIETO, J. M. Herbal medicines in Brazil: pharmacokinetic profile and potential herb-drug interactions. **Frontiers in Pharmacology**, v. 5, 9 jul. 2014. Disponível em: <<http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fphar.2014.00162/abstract>>. Acesso em: 17 mar. 2023.

MEINHART, A. D. *et al.* Chlorogenic and caffeic acids in 64 fruits consumed in Brazil. **Food Chemistry**, v. 286, p. 51–63, 15 jul. 2019. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814619303085>>. Acesso em: 6 maio 2023.

MEREGALLI, M. M. *et al.* Conventional and ultrasound-assisted methods for extraction of bioactive compounds from red araçá peel (*Psidium cattleianum* Sabine). **Arabian Journal of Chemistry**, v. 13, n. 6, p. 5800–5809, 1 jun. 2020. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1878535220301234>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

MERINI, L. R. *et al.* Attenuation of adjuvant-induced arthritis in rats by phonophoresis with an aqueous gel of the Amazonian plant *Elaeoluma nuda* (Sapotaceae). **Cytokine**, v. 65, n. 2, p. 231–235, fev. 2014. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1043466613007485>>. Acesso em: 24 abr. 2023.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. RESOLUÇÃO DA DIRETORIA COLEGIADA - RDC N° 26, DE 13 DE MAIO DE 2014. maio 2014.

MIRA, N. V. M. DE *et al.* Extração, análise e distribuição dos ácidos fenólicos em genótipos pigmentados e não pigmentados de arroz (*Oryza sativa* L.). **Food Science and Technology**, v. 28, p. 994–1002, dez. 2008. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/cta/a/rNL6v43k8QskHH5Wnjdr9fP/abstract/?lang=pt>>. Acesso em: 25 nov. 2023.

MOCO, S. *et al.* A liquid chromatography-mass spectrometry-based metabolome database for tomato. **Plant Physiology**, v. 141, n. 4, p. 1205–1218, ago. 2006. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1533921/>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

MOKRA, D.; JOSKOVA, M.; MOKRY, J. Therapeutic effects of green tea polyphenol (–)-epigallocatechin-3-gallate (EGCG) in relation to molecular pathways controlling inflammation, oxidative stress, and apoptosis. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 1, p. 340, jan. 2023. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1422-0067/24/1/340>>. Acesso em: 6 dez. 2023.

MOLDOVEANU, S. C.; DAVID, V. Chapter 7 - Mobile Phases and Their Properties. In: MOLDOVEANU, S. C.; DAVID, V. (Org.). **Essentials in Modern HPLC Separations**. [S.l.]: Elsevier, 2013. p. 363–447. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123850133000070>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

MONTERO FERNANDEZ I. *et al.* Evaluation of total phenolic compounds and antioxidant activity in amazon fruit. **Chemical Engineering Transactions**, v. 64, p. 649–654, maio 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.3303/CET1864109>>. Acesso em: 20 abr. 2023.

MONTERO, I. F. *et al.* Nutrients in Amazonian fruit pulps with functional and pharmacological interest. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 14, n. 5, p. 118–127, 30 jun. 2020. Disponível em: <<https://academicjournals.org/journal/AJPP/article-abstract/4461B8A63895>>. Acesso em: 7 maio 2023.

MOO-HUCHIN, V. M. *et al.* Determination of some physicochemical characteristics, bioactive compounds and antioxidant activity of tropical fruits from Yucatan, Mexico. **Food Chemistry**, v. 152, p. 508–515, jun. 2014. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814613018682>>. Acesso em: 20 abr. 2023.

MORRIS, C. J. Carrageenan-Induced Paw Edema in the Rat and Mouse. In: WINYARD, P. G.; WILLOUGHBY, D. A. (Org.). **Inflammation Protocols. Methods in Molecular Biology**. Totowa, NJ: Humana Press, 2003. p. 115–121. Disponível em: <<https://doi.org/10.1385/1-59259-374-7:115>>. Acesso em: 6 dez. 2023.

MORZELLE, M. C. *et al.* Caracterização química e física de frutos de curriola, gabioba e murici provenientes do cerrado brasileiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 37, n. 1, p. 96–103, mar. 2015. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-29452015000100096&lng=pt&tlng=pt>. Acesso em: 21 abr. 2023.

MOTOYAMA, A. *et al.* Cytotoxic effect of *Pouteria torta* leaf extracts on human oral and breast carcinomas cell lines. **Journal of Cancer Research and Therapeutics**, v. 9, n. 4, p. 601, 2013. Disponível em: <<http://www.cancerjournal.net/text.asp?2013/9/4/601/126454>>. Acesso em: 21 abr. 2023.

MOURA, B. I. DE V. *et al.* Pharmacobotanical study of *Manilkara zapota* (L.) P.Royen (Sapotaceae). **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 55, p. e17227–e17227, 4 dez. 2019. Disponível em: <<https://www.revistas.usp.br/bjps/article/view/164779>>. Acesso em: 21 fev. 2024.

MURILLO, E. *et al.* Carotenoid Composition of the Fruit of Red Mamey (*Pouteria sapota*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 64, n. 38, p. 7148–7155, 28 set. 2016. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.jafc.6b03146>>. Acesso em: 5 maio 2023.

MURILLO, E. *et al.* Isolation and identification of sapotexanthin 5,6-epoxide and 5,8-epoxide from red mamey (*Pouteria sapota*). **Chirality**, v. 32, n. 5, p. 579–587, maio 2020. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/chir.23206>>. Acesso em: 5 maio 2023.

MURILLO, E. *et al.* Native carotenoids composition of some tropical fruits. **Food Chemistry**, v. 140, n. 4, p. 825–836, out. 2013. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814612017414>>. Acesso em: 5 maio 2023.

MURILLO, E. *et al.* Sapotexanthin, an A-provitamin carotenoid from red mamey (*Pouteria sapota*). **Journal of Natural Products**, v. 74, n. 2, p. 283–285, 25 fev. 2011. Disponível em: <<https://doi.org/10.1021/np1006982>>. Acesso em: 5 maio 2023.

MURILLO, E.; MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, A. J.; PORTUGAL, F. Screening of vegetables and fruits from Panama for rich sources of lutein and zeaxanthin. **Food Chemistry**, v. 122, n. 1, p. 167–172, 1 set. 2010. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814610002001>>. Acesso em: 5 maio 2023.

MYERS, M. J.; DEEVER, C. M.; LEWANDOWSKI, A. J. Molecular mechanism of action responsible for carrageenan-induced inflammatory response. **Molecular Immunology**, v. 109, p. 38–42, 1 maio 2019. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0161589018309945>>. Acesso em: 6 dez. 2023.

NA, S.; XUMIN, L.; YONG, G. Research on k-means clustering algorithm: An improved k-means clustering algorithm. In: **2010 third international symposium on intelligent information technology and security informatics**, abr. 2010, [S.l.: s.n.], abr. 2010. p. 63–67. Disponível em: <https://ieeexplore.ieee.org/abstract/document/5453745?casa_token=f8OfPsbj_jUAAAAA:Nx9bpFouwvljRghCfYRqBR0w6LCNWnXQ7ODbtPA08PsvuqUMq7GWP90G86xm9DFB3HpXqab-geyC>. Acesso em: 4 nov. 2023.

NAFIU, M. O. *et al.* **Preparation, standardization, and quality control of medicinal plants in Africa. medicinal spices and vegetables from Africa**. [S.l.]: Elsevier, 2017. p. 171–204. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128092866000078>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

NAGAPPAN, R. Evaluation of aqueous and ethanol extract of bioactive medicinal plant, *Cassia didymobotrya* (Fresenius) Irwin & Barneby against immature stages of filarial vector, *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 2, n. 9, p. 707–711, set. 2012. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3609377/>>. Acesso em: 23 jan. 2024.

NAGEH SHOLKAMY, E. *et al.* Antimicrobial quercetin 3-O-glucoside derivative isolated from *Streptomyces antibioticus* strain ess_amA8. **Journal of King Saud University - Science**, v. 32, n. 3, p. 1838–1844, 1 abr. 2020. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1018364720300288>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

NAVAS-FLORES, V. *et al.* Estudio fitoquímico y toxicológico de plantas nativas del oriente ecuatoriano. **Ciencia Unemi**, v. 14, n. 35, p. 26–36, 15 jan. 2021. Disponível em: <<http://ojs.unemi.edu.ec/index.php/cienciaunemi/article/view/1215>>. Acesso em: 24 abr. 2023.

NETEA, M. G. *et al.* A guiding map for inflammation. **Nature Immunology**, v. 18, n. 8, p. 826–831, 1 ago. 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/ni.3790>>. Acesso em: 11 abr. 2023.

NG, S. C. *et al.* Worldwide incidence and prevalence of inflammatory bowel disease in the 21st century: A systematic review of population-based studies. **The Lancet**, v. 390, n. 10114, p. 2769–2778, dez. 2017. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)32448-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)32448-0)>. Acesso em: 14 abr. 2023.

NOMIYAMA, H.; OSADA, N.; YOSHIE, O. Systematic classification of vertebrate chemokines based on conserved syntenies and evolutionary history. **Genes to Cells**, v. 18, n. 1, p. 1–16, 2013. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/gtc.12013>>. Acesso em: 6 dez. 2023.
nov. 2023.

NOVAES, C. G. *et al.* A review of multivariate designs applied to the optimization of methods based on inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP OES). **Microchemical Journal**, v. 128, p. 331–346, 1 set. 2016. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0026265X16300674>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

NUGRAHA, B. *et al.* The IASP classification of chronic pain for ICD-11: functioning properties of chronic pain. **Pain**, v. 160, n. 1, p. 88–94, jan. 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000001433>>. Acesso em: 11 abr. 2023.

NUR, MD. A. *et al.* Nutritional and biological analysis of the peel and pulp of *Pouteria campechiana* fruit cultivated in Bangladesh. **Journal of Agriculture and Food Research**, v. 8, p. 100296, jun. 2022. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2666154322000291>>. Acesso em: 20 abr. 2023.

NUUTILA, A. M.; KAMMIOVIRTA, K.; OKSMAN-CALDENTHEY, K.-M. Comparison of methods for the hydrolysis of flavonoids and phenolic acids from onion and spinach for HPLC analysis. **Food Chemistry**, v. 76, n. 4, p. 519–525, 1 abr. 2002. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814601003053>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

OECD. OECD/OCDE 423 Oecd Guideline for Testing of Chemicals, Acute Oral Toxicity-Acute Toxic Class Method; OECD: Paris, France, 2001.

OLEINIK, G. *et al.* *In vitro* antioxidant extracts evaluation from the residue of the Hevea brasiliensis seed. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, p. 480, 10 jan. 2022. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/s41598-021-04017-w>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

OLIVEIRA, C. M. B. DE *et al.* Citocinas e dor. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 61, n. 2, p. 260–265, abr. 2011. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0034-70942011000200014>>. Acesso em: 17 mar. 2023.

OLIVER, M. J.; WOOD, A. J.; O'MAHONY, P. How some plants recover from vegetative desiccation: A repair based strategy. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 19, n. 4, p. 419–425, 1 dez. 1997. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s11738-997-0038-1>>. Acesso em: 25 nov. 2023.

ORR, P. M.; SHANK, B. C.; BLACK, A. C. The role of pain classification systems in pain management. **Critical Care Nursing Clinics of North America**, v. 29, n. 4, p. 407–418, dez. 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.cnc.2017.08.002>>. Acesso em: 14 abr. 2023.

OTTERNESS, I. G.; MOORE, P. F. Carrageenan foot edema test. **Methods in Enzymology**, **Methods in Enzymology** v. 162, p. 320–327, 1988. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/0076-6879\(88\)62086-6](https://doi.org/10.1016/0076-6879(88)62086-6)>. Acesso em: 6 dez. 2023.

PAHWA, R.; GOYAL, A.; JIALAL, I. Chronic Inflammation. StatPearls. **Treasure Island (FL): StatPearls Publishing**, 2023. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK493173/>>. Acesso em: 14 abr. 2023.

PAI, A.; SHENOY K., C. *In vitro* antidiabetic activity of methanolic extract of leaves and fruits of *Pouteria campechiana* (Kunth) Baehni. **Biomedicine**, v. 41, n. 4, p. 756–762, 31 dez. 2021. Disponível em: <<https://biomedicineonline.org/index.php/home/article/view/732>>. Acesso em: 21 abr. 2023.

PAI, A.; SHENOY, C. Physicochemical, phytochemical, and GC–MS analysis of leaf and fruit of *Pouteria campechiana* (Kunth) Baehni. **Journal of Applied Biology and Biotechnology**, v. 8, n. 4, p. 90–97, 30 jul. 2020. Disponível em: <https://jabonline.in/abstract.php?article_id=483&sts=2>. Acesso em: 5 maio 2023.

PALAREA-ALBALADEJO, J.; MARTÍN-FERNÁNDEZ, J. A. zCompositions — R package for multivariate imputation of left-censored data under a compositional approach. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 143, p. 85–96, abr. 2015. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0169743915000490>>. Acesso em: 8 abr. 2023.

PALHARES, R. M. *et al.* Medicinal plants recommended by the World Health Organization: DNA barcode identification associated with chemical analyses guarantees their quality. **PLOS ONE**, v. 10, n. 5, p. e0127866, 15 maio 2015. Disponível em: <<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0127866>>. Acesso em: 18 mar. 2023.

PALMA, A. *et al.* Ultrasound extraction optimization for bioactive molecules from *Eucalyptus globulus* leaves through antioxidant activity. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 76, p. 105654, 25 jun. 2021. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8254034/>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

PASSOS, J. S. *et al.* Development, skin targeting and antifungal efficacy of topical lipid nanoparticles containing itraconazole. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 149, p. 105296, 15 jun. 2020. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0928098720300853>>. Acesso em: 30 dez. 2023.

PAN, M.-H.; LAI, C.-S.; HO, C.-T. Anti-inflammatory activity of natural dietary flavonoids. **Food & Function**, v. 1, n. 1, p. 15–31, 2010. Disponível em: <<https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2010/fo/c0fo00103a>>. Acesso em: 18 mar. 2023.

PATIL, K. R. *et al.* Animal models of inflammation for screening of anti-inflammatory drugs: implications for the discovery and development of phytopharmaceuticals. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 18, p. 4367, jan. 2019. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1422-0067/20/18/4367>>. Acesso em: 6 dez. 2023.

PEDRO, R. E. R. *et al.* Antimicrobial activity and acetylcholinesterase inhibition of oils and Amazon fruit extracts. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 14, n. 3, p. 88–97, 31 mar. 2020. Disponível em: <<https://academicjournals.org/journal/JMPR/article-abstract/2805D9D63145>>. Acesso em: 23 abr. 2023.

PÉREZ, R. A. *et al.* Gas chromatography–triple-quadrupole mass spectrometry for analysis of selected polyhalogenated pollutants in plants. Comparison of extraction methods. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 405, n. 1, p. 389–400, 1 jan. 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s00216-012-6465-x>>. Acesso em: 21 fev. 2024.

PINO, J. *et al.* Characterization of aroma-active compounds in choch (*Lucuma hypoglauca* Standley) fruit. **International Journal of Food Properties**, v. 20, n. sup1, p. S444–S448, 18 dez. 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/10942912.2017.1297954>>. Acesso em: 5 maio 2023.

PISO, G. **História Natural do Brasil Ilustrada** (Trad. A. Correia). Original publication in 1648. Rio de Janeiro: Companhia Editora Nacional, 1948.

POSADAS, I. *et al.* Expression of Concern: Carrageenan-induced mouse paw oedema is biphasic, age-weight dependent and displays differential nitric oxide cyclooxygenase-2 expression. **British Journal of Pharmacology**, v. 142, n. 2, p. 331–338, maio 2004. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0705650>>. Acesso em: 11 abr. 2023.

Pouteria Aubl. | Plants of the World Online | Kew Science. Disponível em: <<http://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:30005062-2>>. Acesso em: 24 abr. 2023.

PRABHU, D. S.; SELVAM, A. P.; RAJESWARI, V. D. Effective anti-cancer property of *Pouteria sapota* leaf on breast cancer cell lines. **Biochemistry and Biophysics Reports**, v. 15, p. 39–44, set. 2018. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2405580817302649>>. Acesso em: 20 abr. 2023.

PRABHU, D. S.; SELVAM, A. P.; RAJESWARI, V. D. Effective anti-cancer property of *Pouteria sapota* leaf on breast cancer cell lines. **Biochemistry and Biophysics Reports**, v. 15, p. 39–44, set. 2018. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2405580817302649>>. Acesso em: 20 abr. 2023.

PRAKASH, A. *et al.* Development and standardization of quality control parameters of different parts of *Trianthema portulacastrum* L. **SN Applied Sciences**, v. 1, n. 9, p. 1108, 27 ago. 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s42452-019-1074-3>>. Acesso em: 25 nov. 2023.

PRAMOD, C. *et al.* In vitro evaluation of antioxidant and cytotoxic activity of ethanolic extract of *Pouteria campechiana* (kunth) baehni. Bark. **World Journal Of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 9, n. 7, p. 1742–1760, 1 jan. 2020. Disponível em: <https://www.academia.edu/43821274/IN_VITRO_EVALUATION_OF_ANTIOXIDANT_AND_CYTOTOXIC_ACTIVITY_OF_ETHANOLIC_EXTRACT_OF_POUTERIA_CAMPECHIANA_KUNTH_BAEHNI_BARK_Corresponding_Author>. Acesso em: 20 abr. 2023.

PRAMOD, C. *et al.* In-vitro evaluation of antioxidant and cytotoxic activity of ethanolic extract of *Pouteria Campechiana* (kunth)baehni. bark. **World Journal Of Pharmacy And Pharmaceutical Sciences**, v. 9, n. 7, p. 1742–1760, 1 jan. 2020. Disponível em: <https://www.academia.edu/43821274/IN_VITRO_EVALUATION_OF_ANTIOXIDANT_AND_CYTOTOXIC_ACTIVITY_OF_ETHANOLIC_EXTRACT_OF_POUTERIA_CAMPECHIANA_KUNTH_BAEHNI_BARK_Corresponding_Author>. Acesso em: 20 abr. 2023.

PRINZ, J. C. *et al.* Prevalence, comorbidities and mortality of generalized pustular psoriasis: A literature review. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, v. 37, n. 2, p. 256–273, fev. 2023. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/jdv.18720>>. Acesso em: 14 abr. 2023.

QU, X. *et al.* Potential of myricetin to restore the immune balance in dextran sulfate sodium-induced acute murine ulcerative colitis. **The Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 72, n. 1, p. 92–100, jan. 2020.

RAJA, S. N. *et al.* The revised International Association for the Study of Pain definition of pain: concepts, challenges, and compromises. **Pain**, v. 161, n. 9, p. 1976–1982, set. 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000001939>>. Acesso em: 11 abr. 2023.

RAKOTONIAINA, E. N. *et al.* Insights into an endemic medicinal plant species of Madagascar and Comoros: The case of Famelona (*Chrysophyllum boivinianum* (Pierre) Baehni, Sapotaceae family). **South African Journal of Botany**, v. 117, p. 110–118, jul. 2018. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0254629917309936>>. Acesso em: 17 abr. 2023.

RANI, A. *et al.* Comparison of rapid reversed phase High-Performance Liquid Chromatography (RP-HPLC) Method with rapid reversed phase thin layer chromatography method for detecting vegetable oils in ghee (*Clarified Milk Fat*). **International Journal of Food Properties**, v. 19, n. 5, p. 1154–1162, 3 maio 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/10942912.2015.1063065>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

RAPOSO, F.; BARCELÓ, D. Challenges and strategies of matrix effects using chromatography-mass spectrometry: An overview from research versus regulatory viewpoints. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 134, p. 116068, 1 jan. 2021. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165993620302971>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

RASKIN, I. *et al.* Preparation and use of *Pouteria Lucuma* extract. [S.l: s.n.]. Disponível em: <<https://patents.google.com/patent/US20110318403A1/en>>. Acesso em: 6 dez. 2023. , 29 dez. 2011

RATHORE, S. *et al.* Seasonal variability in essential oil composition and biological activity of *Rosmarinus officinalis* L. accessions in the western Himalaya. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, p. 3305, 28 fev. 2022. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/s41598-022-07298-x>>. Acesso em: 25 nov. 2023.

REDDY, K. R. *et al.* Estimation of phytochemical screening, antibacterial and antifungal activity on ethanol extract of *Solanum lycopersicum*, *Pouteria sapota*, *Musa acuminata*, and *Beta vulgaris*. **Indo American Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 4, n. 9, p. 2808–2816, 2017. Disponível em: <<https://zenodo.org/record/888112#.ZEXOts7MLrd>>. Acesso em: 23 abr. 2023.

- REHMAN, M. H. U. *et al.* Phytochemical and toxicological evaluation of *Zephyranthes citrina*. *Frontiers in Pharmacology*, v. 13, 2022. Disponível em: <<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphar.2022.1007310>>. Acesso em: 23 jan. 2024.
- REN, F.-C. *et al.* 13,27-Cycloursane, ursane and oleanane triterpenoids from the leaves of *Lucuma nervosa*. *Fitoterapia*, v. 136, p. 104178, jul. 2019. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0367326X19307555>>. Acesso em: 23 abr. 2023.
- REN, K.; TORRES, R. Role of interleukin-1 β during pain and inflammation. *Brain Research Reviews*. v. 60, n. 1, p. 57–64, 1 abr. 2009. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165017308001598>>. Acesso em: 6 dez. 2023.
- RENAULT, E. *et al.* Partial structural characterization and antioxidant activity of a phenolic-xylan from *Castanea sativa* hardwood. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 70, p. 373–380, set. 2014. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S014181301400470X>>. Acesso em: 25 nov. 2023.
- RIBATTI, D. *et al.* The chick embryo chorioallantoic membrane as a model for *in vivo* research on anti-angiogenesis. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, v. 1, n. 1, p. 73–82, jul. 2000.
- RIBATTI, DOMENICO. Chicken chorioallantoic membrane angiogenesis model. *Methods in Molecular Biology*, v. 843, p. 47–57, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/978-1-61779-523-7_5>. Acesso em: 6 dez. 2023.
- RIBATTI, DOMENICO. The chick embryo chorioallantoic membrane (CAM). A multifaceted experimental model. *Mechanisms of Development*, v. 141, p. 70–77, 1 ago. 2016. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0925477316300363>>. Acesso em: 6 dez. 2023.
- RIBEIRO, V. P. *et al.* Brazilian medicinal plants with corroborated anti-inflammatory activities: a review. *Pharmaceutical Biology*, v. 56, n. 1, p. 253–268, 1 jan. 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/13880209.2018.1454480>>. Acesso em: 18 mar. 2023.
- ROCHA, A.C. *et al.* Relevance of tumour necrosis factor-alpha for the inflammatory and nociceptive responses evoked by carrageenan in the mouse paw. *British Journal of Pharmacology*, v. 148, p. 688-695, 2006. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0706775>>. Acesso em: 4 nov. 2023.
- RODRIGUES, D. P. *et al.* Simultaneous determination of organic acids and sugars in fruit juices by High performance liquid chromatography: characterization and differentiation of commercial juices by principal component analysis. *Ciência Rural*, v. 51, p. e20200629, 12 fev. 2021. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/cr/a/zWtwJJz4NRT63mhCVbLnPTH/?lang=en>>. Acesso em: 4 nov. 2023.
- RODRIGUES, P. M. *et al.* Triterpenes from *Pouteria ramiflora* (Mart.) Radlk. leaves (Sapotaceae). *Food and Chemical Toxicology*, v. 109, p. 1063–1068, nov. 2017. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0278691517302545>>. Acesso em: 21 abr. 2023.
- RODRÍGUEZ, C. *et al.* Analysis of the volatile components of *Pouteria sapota* (*Sapote Mamey*) fruit by HS-SPME-GC-MS. *Natural Product Communications*, v. 13, n. 8, p. 1934578X1801300, ago. 2018. Disponível em: <<http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1934578X1801300826>>. Acesso em: 5 maio 2023.
- ROJO, L. E. *et al.* Original contribution: Wound-healing properties of nut oil from *Pouteria lucuma*: Wound healing oil from lucuma plant. *Journal of Cosmetic Dermatology*, v. 9, n. 3, p. 185–195, 2 set. 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/j.1473-2165.2010.00509.x>>. Acesso em: 11 abr. 2023.
- ROY, E. *et al.* Introduction of selectivity and specificity to graphene using an inimitable combination of molecular imprinting and nanotechnology. *Biosensors and Bioelectronics, 2D Materials in Biosensors & Bioelectronics*. v. 89, p. 234–248, 15 mar. 2017. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956566316301622>>. Acesso em: 4 nov. 2023.
- ROYAL BOTANIC GARDENS KEW. . [S.l.: s.n.]. Disponível em: <<https://powo.science.kew.org/>>. , 23 jul. 2023

RYFFEL, F. A. Alpha and Beta Error (Accumulation). In: MATTHES, J.; DAVIS, C. S.; POTTER, R. F. (Org.). *The International Encyclopedia of Communication Research Methods*. 1. ed. [S.l.]: Wiley, 2017. p. 1–5. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9781118901731.iecrm0002>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

S., E.-L. *et al.* Fruit characterization of *Pouteria campechiana* ([Kunth] Baehni) in three different stages of maturity. *Fruits*, v. 76, n. 3, p. 116–122, 27 maio 2021. Disponível em: <<https://www.pubhort.org/fruits/76/3/2/index.htm>>. Acesso em: 5 maio 2023.

SAIMAN, Y.; FRIEDMAN, S. L. The role of chemokines in acute liver injury. *Frontiers in Physiology*, v. 3, 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.3389/fphys.2012.00213>>. Acesso em: 17 mar. 2023.

SALAH, S.; CHOW, S.-C.; SONG, F. On the evaluation of reliability, repeatability, and reproducibility of instrumental evaluation methods and measurement systems. *Journal of Biopharmaceutical Statistics*, v. 27, n. 2, p. 331–337, 2017.

SALEHI, B. *et al.* The Therapeutic Potential of Apigenin. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 20, n. 6, p. 1305, 15 mar. 2019. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6472148/>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

SALINAS-MORENO, Y. *et al.* Proantocianidinas y actividad enzimática en fruto de mamey zapote (*Pouteria sapota*) durante su maduración. *Revista Bio Ciencias*, v. 6, p. 16 pág-16 pág, 25 mar. 2019. Disponível em: <<https://revistabiociencias.uan.edu.mx/index.php/BIOCIENCIAS/article/view/565>>. Acesso em: 6 maio 2023.

ŠANTIĆ, Ž. *et al.* The historical use of medicinal plants in traditional and scientific medicine. The historical use of medicinal plants in traditional and scientific medicine, *Psychiatria Danubina* v. 4, n. 4, p. 787–792, dez. 2019. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29278625/>>.

SANTO, B. L. S. DO E. *et al.* Dietary fiber chemical structures and physicochemical properties of edible *Pouteria glomerata* fruits, native from Brazilian Pantanal. *Food Research International*, v. 137, p. 109576, nov. 2020. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0963996920306013>>. Acesso em: 21 abr. 2023.

SANTOS, G. G. DOS *et al.* Neuraxial cytokines in pain states. *Frontiers in Immunology*, v. 10, p. 3061, 28 jan. 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.03061>>. Acesso em: 17 mar. 2023.

SANTOS, M. M. S. *et al.* Phytochemistry and antibacterial activity of aqueous and hydroalcoholic extracts of three medicinal plants against food pathogens. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, v. 40, n. 1, p. 36674, 1 jul. 2018. Disponível em: <<http://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciBiolSci/article/view/39674>>. Acesso em: 23 abr. 2023.

SANTOS, R. *et al.* Triterpenes esterified with fatty acid isolated from *Pouteria macahensis* T.D. Penn (Sapotaceae) leaves. *Revista Virtual de Química*, v. 10, n. 5, p. 1327–1334, 2018. Disponível em: <http://rvq.s bq.org.br/audiencia_pdf.asp?aid2=969&nomeArquivo=v10n5a14.pdf>. Acesso em: 7 maio 2023.

SANTOS, R. D. O. *et al.* Principal component analysis and factor analysis: Differences and similarities in nutritional epidemiology application. *Revista Brasileira de Epidemiologia*, v. 22, p. e190041, 2019. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1415-790X2019000100439&tng=en>. Acesso em: 4 nov. 2023.

SANTOS, R. F. E. P. *et al.* Estudo do potencial antimicrobiano e citotóxico da espécie *Pouteria venosa* (Sapotaceae). *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v. 17, n. 3, p. 367–373, set. 2015. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-05722015000300367&lng=pt&tng=pt>. Acesso em: 21 abr. 2023.

SANTOS-SILVA, J.; SANTOS, G. A. B. DOS; SANTOS, J. C. Soils and seasonality influence the richness of gall-inducing insects and their host plants in a tropical dry forest. *Journal of Arid*

Environments, v. 196, p. 104651, 1 jan. 2022. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0140196321002172>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

SARDANS, J. *et al.* Screening study of leaf terpene concentration of 75 borneo rainforest plant species: Relationships with leaf elemental concentrations and morphology. **Research in Natural Products**, 2015.

SARKHEL, S. Evaluation of the anti-inflammatory activities of *Quillaja saponaria* Mol. saponin extract in mice. **Toxicology Reports**, v. 3, p. 1–3, 1 jan. 2016. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2214750015300846>>. Acesso em: 6 dez. 2023.

SARTOR, T. *et al.* Seasonal changes in phenolic compounds and in the biological activities of *Baccharis dentata* (Vell.) G.M. Barroso. **Industrial Crops and Products**, v. 51, p. 355–359, 1 nov. 2013. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669013005293>>. Acesso em: 25 nov. 2023.

SATHISHKUMAR, T. *et al.* Optimal extraction process and identification of α -amylase inhibitors from *Pouteria sapota*. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 3, n. 4, 2011. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/216261869_Optimal_extraction_process_and_identification_of_A-amylase_inhibitors_from_Pouteria_sapota#fullTextFileContent>.

SCHASTLIVTSEV, I. *et al.* Diosmin 600 in adjunction to rivaroxaban reduces the risk of post-thrombotic syndrome after femoropopliteal deep vein thrombosis: results of the RIDILOTT DVT study. **International Angiology**, v. 39, n. 5, nov. 2020. Disponível em: <<https://www.minervamedica.it/index2.php?show=R34Y2020N05A0361>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

SCHOLZ, A.; PLATE, K. H.; REISS, Y. Angiopoietin-2: a multifaceted cytokine that functions in both angiogenesis and inflammation. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1347, n. 1, p. 45–51, jul. 2015. Disponível em: <<https://nyaspubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/nyas.12726>>. Acesso em: 6 dez. 2023.

SCHOLZ, J.; WOOLF, C. J. The neuropathic pain triad: neurons, immune cells and glia. **Nature Neuroscience**, v. 10, n. 11, p. 1361–1368, nov. 2007. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/nn1992>>. Acesso em: 6 dez. 2023.

SCHOLZ, J.; WOOLF, C.J. Can we conquer pain? **Nature Neuroscience, suppl.**, p. 1062-1067, 2002. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/nn942>>. Acesso em: 6 dez. 2023.

SCOGNAMIGLIO, M. *et al.* Seasonal phytochemical changes in *Phillyrea angustifolia* L.: Metabolomic analysis and phytotoxicity assessment. **Phytochemistry Letters**, v. 8, p. 163–170, 1 maio 2014. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1874390013001511>>. Acesso em: 25 nov. 2023.

SHAHIDI, F. **Handbook of Antioxidants for Food Preservation - 1st Edition**. Disponível em: <<https://shop.elsevier.com/books/handbook-of-antioxidants-for-food-preservation/shahidi/978-1-78242-089-7>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

SHAJIB, MD. S. *et al.* Antinociceptive and neuropharmacological activities of methanol extract of *Phoenix sylvestris* fruit pulp. **Frontiers in Pharmacology**, v. 6, 2 out. 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.3389/fphar.2015.00212>>. Acesso em: 17 mar. 2023.

SHEN, Y. *et al.* Myricitrin pretreatment ameliorates mouse liver ischemia reperfusion injury. **International Immunopharmacology**, v. 89, n. Pt A, p. 107005, dez. 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.intimp.2020.107005>>. Acesso em: 6 dez. 2023.

SHI, Y. *et al.* Seasonal variation influences flavonoid biosynthesis path and content, and antioxidant activity of metabolites in *Tetragium hemsleyanum* Diels & Gilg. **PLOS ONE**, v. 17, n. 4, p. e0265954, 28 abr. 2022. Disponível em:

<<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0265954>>. Acesso em: 25 nov. 2023.

SHIM, J. S.; IMAIZUMI, T. Circadian clock and photoperiodic response in *Arabidopsis*: From seasonal flowering to redox homeostasis. **Biochemistry**, v. 54, n. 2, p. 157–170, 20 jan. 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1021/bi500922q>>. Acesso em: 25 nov. 2023.

SHLENS, J. *A Tutorial on Principal Component Analysis*. 2014. Disponível em: <<https://arxiv.org/abs/1404.1100>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

SHOCKCOR, J. P. HPLC–NMR, Pharmaceutical Applications. In: LINDON, J. C.; TRANTER, G. E.; KOPPENAL, D. W. (Org.). **Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry (Third Edition)**. Oxford: Academic Press, 2017. p. 141–151. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128032244003770>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

SHUKLA, R. *et al.* Chapter 18 - Role of flavonoids in management of inflammatory disorders. In: WATSON, R. R.; PREEDY, V. R. (Org.). **Bioactive food as dietary interventions for arthritis and related inflammatory diseases (Second Edition)**. [S.l.]: Academic Press, 2019. p. 293–322. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128138205000180>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

SIEW, S. C. *et al.* Worldwide incidence and prevalence of inflammatory bowel disease in the 21st century: a systematic review of population-based studies. **The Lancet**, v. 390, n. 10114, p. 2769–2778, dez. 2017. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)32448-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)32448-0)>. Acesso em: 14 abr. 2023.

SIKANDAR, S.; SOMMER, C. Neurotrophins, Cytokines, and Pain. In: WOOD, J. N. (Org.). *The Oxford Handbook of the Neurobiology of Pain*. 1. ed. [S.l.]: **Oxford University Press**, 2019. p. 770–816. Disponível em: <<https://academic.oup.com/edited-volume/34282/chapter/290641958>>. Acesso em: 17 mar. 2023.

SILVA, C. A. DE M. *et al.* Triterpenes from *Pouteria gardneri* (Mart. & Miq.) Baehni extracts. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v. 6, n. 12, p. 197–201, 28 dez. 2016. Disponível em: <https://japsonline.com/abstract.php?article_id=2103>. Acesso em: 7 maio 2023.

SILVA, C. A. M.; SIMEONI, L. A.; SILVEIRA, D. Genus *Pouteria*: chemistry and biological activity. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 2a, p. 501–509, jun. 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-695X2009000300025&lng=en&nrm=iso&tlng=en>. Acesso em: 6 jan. 2023.

SILVA, M. A. B. DA *et al.* Levantamento etnobotânico de plantas utilizadas como anti-hiperlipidêmicas e anorexígenas pela população de Nova Xavantina-MT, Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 4, p. 549–562, set. 2010. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-695X2010000400014&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt>. Acesso em: 17 abr. 2023.

SILVA, R. O. *et al.* Treatment for chemical burning using liquid crystalline nanoparticles as an ophthalmic delivery system for pirfenidone. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 568, p. 118466, 10 set. 2019. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S037851731930506X>>. Acesso em: 30 dez. 2023.

SIMIRGIOTIS, M. J. *et al.* High resolution metabolite fingerprinting of the resin of *Baccharis tola* Phil. from the Atacama Desert and its antioxidant capacities. **Industrial Crops and Products**, v. 94, p. 368–375, 30 dez. 2016. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669016305507>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

SIQUEIRA, A. P. S. *et al.* Chemical characterization and antioxidant capacity of guapeva. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 39, n. spe, 2 mar. 2017. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-29452017000700902&lng=en&tlng=en>. Acesso em: 21 abr. 2023.

SIVACI, A.; DUMAN, S. Evaluation of seasonal antioxidant activity and total phenolic compounds in stems and leaves of some almond (*Prunus amygdalus* L.) varieties. **Biological Research**, v. 47, n. 1, p. 9, 1 abr. 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/0717-6287-47-9>>. Acesso em: 25 nov. 2023.

SMITH, N. C.; RISE, M. L.; CHRISTIAN, S. L. A comparison of the innate and adaptive immune systems in cartilaginous fish, ray-finned fish, and lobe-finned fish. **Frontiers in Immunology**, v. 10, p. 2292, 10 out. 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02292>>. Acesso em: 17 mar. 2023.

SOARES, C. M. D. S. *et al.* Development and optimization of the jam production process of *Pouteria* cf. *gardneriana* Radlk (guapeva). **Food Science and Technology**, v. 42, p. e00821, 2022. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612022000100576&tlng=en>. Acesso em: 21 abr. 2023.

SOUSA, A. M. *et al.* Experimental models for the study of neuropathic pain. **Revista Dor**, v. 17, 2016. Disponível em: <<http://www.gnresearch.org/doi/10.5935/1806-0013.20160043>>. Acesso em: 6 dez. 2023.

SOUZA, C. A. M. *et al.* Study of the embryofeto-toxicity of crown-of-thorns (*Euphorbia milii*) latex, a natural molluscicide. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 30, p. 1325–1332, nov. 1997. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/bjmb/a/6tr6DnCqYWPzYdhH3689cGG/?lang=en>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

SOUZA, J. B. DE; BARROS, C. M. DE. Considerations about the new concept of pain. **Brazilian Journal Of Pain**, v. 3, n. 3, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.5935/2595-0118.20200190>>. Acesso em: 11 abr. 2023.

SOUZA, M. T. DE; SILVA, M. D. DA; CARVALHO, R. DE. Integrative review: what is it? How to do it? **Einstein (São Paulo)**, v. 8, n. 1, p. 102–106, mar. 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/s1679-45082010rw1134>>. Acesso em: 14 abr. 2023.

SOUZA, P. M. *et al.* Plants from brazilian cerrado with potent tyrosinase inhibitory activity. **PLoS ONE**, v. 7, n. 11, p. e48589, 16 nov. 2012. Disponível em: <<https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0048589>>. Acesso em: 21 abr. 2023.

SROKA, Z. Antioxidative and antiradical properties of plant phenolics. **Zeitschrift für Naturforschung C**, v. 60, n. 11–12, p. 833–843, 1 dez. 2005. Disponível em: <<https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/znc-2005-11-1204/html>>. Acesso em: 25 nov. 2023.

STÖGERER, T.; STÄGER, S. Innate immune sensing by cells of the adaptive immune system. **Frontiers in Immunology**, v. 11, p. 1081, 29 maio 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01081>>. Acesso em: 17 mar. 2023.

SUBRAMANIYAN, M. *et al.* A generic hierarchical clustering approach for detecting bottlenecks in manufacturing. **Journal of Manufacturing Systems**, v. 55, p. 143–158, 1 abr. 2020. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0278612520300315>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

SUN, L. *et al.* Fibroblast-Mimicking nanodecoys for multi-target antiangiogenesis in the inflammation treatment. **Materials & Design**, v. 222, p. 111096, 1 out. 2022. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0264127522007183>>. Acesso em: 6 dez. 2023.

SUNILA, A. V.; MURUGAN, K. Variation in phenolics, flavonoids at different stages of fruit development of *Pouteria campechiana* (kunth) baehni. and its antioxidant activity. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 9, n. 10, p. 70, 1 nov. 2017. Disponível em: <<https://innovareacademics.in/journals/index.php/ijpps/article/view/20588>>. Acesso em: 20 abr. 2023.

SUNILA, A. V.; MURUGAN, V. S. A. KUMAR AND K. Phenolic acids composition during developmental stages of egg fruit *Pouteria campechiana* (Kunth) Baehni. **International Journal of Advanced Life Sciences**, 24 nov. 2015. Disponível em: <<http://unitedlifejournals.in/ijals/view->

article.php?id=aXhRaU9XQTNjZW56Q0sxR1YvcGo0NIRQOTBZTWRURkFBamxQMUpoQmVNaWZ2TmdYU0dxOUFtbkVHY3VUMUVNUGRHU29IMWx1QURTeW42N1A1Zm1hREhiZzRzUURnNEdpMkFyYzR4Wk5uYUo5MG4xYStLT0dvNHd2a1lxam56cUM>. Acesso em: 7 maio 2023.

SWENSON, U.; ANDERBERG, A. A. Phylogeny, character evolution, and classification of Sapotaceae (Ericales). **Cladistics**, v. 21, n. 2, p. 101–130, abr. 2005. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1096-0031.2005.00056.x>>. Acesso em: 17 abr. 2023.

TACIAS-PASCACIO, V. G. *et al.* Aqueous extraction of seed oil from mamey sapote (*Pouteria sapota*) after Viscozyme L treatment. **Catalysts**, v. 11, n. 6, p. 748, jun. 2021. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2073-4344/11/6/748>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

TANASE, D. M. *et al.* Arterial hypertension and interleukins: Potential therapeutic target or future diagnostic marker? **International Journal of Hypertension**, v. 2019, p. e3159283, 2 maio 2019. Disponível em: <<https://www.hindawi.com/journals/ijhy/2019/3159283/>>. Acesso em: 6 dez. 2023.

TANG, S.-M. *et al.* Pharmacological basis and new insights of quercetin action in respect to its anti-cancer effects. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 121, p. 109604, jan. 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.109604>>. Acesso em: 6 dez. 2023.

TANIGUCHI, M. *et al.* Digital Database of Absorption Spectra of Diverse Flavonoids Enables Structural Comparisons and Quantitative Evaluations. *Journal of Natural Products*, v. 86, n. 4, p. 1087–1119, 28 abr. 2023.

TIBERTI, L. A. *et al.* On-line LC/UV/MS analysis of flavonols in the three apple varieties most widely cultivated in Brazil. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 18, p. 100–105, 2007. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/jbchs/a/WmtBVkMVsWXKZ43DpqmtX5L/?lang=en>>. Acesso em: 21 fev. 2024.

TIGNER, A.; IBRAHIM, S. A.; MURRAY, I. V. Histology, white blood cell. *StatPearls*. Treasure Island (FL): **StatPearls Publishing**, 2024. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK563148/>>. Acesso em: 23 jan. 2024.

THAKUR, S.; KAPILA, S. Seasonal changes in antioxidant enzymes, polyphenol oxidase enzyme, flavonoids and phenolic content in three leafy liverworts. **Lindbergia**, v. 40, n. 5, p. 39–44, jan. 2017. Disponível em: <<https://bioone.org/journals/lindbergia/volume-40/issue-5/linbg.01076/Seasonal-changes-in-antioxidant-enzymes-polyphenol-oxidase-enzyme-flavonoids-and/10.25227/linbg.01076.full>>. Acesso em: 25 nov. 2023.

THE WORLD FLORA ONLINE. . [S.l.: s.n.]. Disponível em: <<http://www.worldfloraonline.org/>>. , 23 jul. 2023

TOLEDO, C. R. *et al.* Anti-angiogenic activity and safety of intraocular application of triterpenes. **Documenta Ophthalmologica**, v. 143, n. 3, p. 259–270, 1 dez. 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s10633-021-09841-z>>. Acesso em: 30 dez. 2023.

TOLEDO, C. R. *et al.* Corosolic acid: antiangiogenic activity and safety of intravitreal injection in rats eyes. **Documenta Ophthalmologica**, v. 138, n. 3, p. 181–194, 1 jun. 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s10633-019-09682-x>>. Acesso em: 30 dez. 2023.

TOME, T. *et al.* Development and optimization of liquid chromatography analytical methods by using AQbD principles: Overview and recent advances. **Organic Process Research & Development**, v. 23, n. 9, p. 1784–1802, 20 set. 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1021/acs.oprd.9b00238>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

TOMINAGA, M. The role of TRP channels in thermosensation. In: LIEDTKE, W. B.; HELLER, S. (Org.). TRP ion channel function in sensory transduction and cellular signaling cascades. **Frontiers in Neuroscience**. Boca Raton (FL): CRC Press/Taylor & Francis, 2007. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK5244/>>. Acesso em: 6 dez. 2023.

TORRES-RODRÍGUEZ, A. *et al.* Soluble phenols and antioxidant activity in mamey sapote (*Pouteria sapota*) fruits in postharvest. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 1956–1961, ago. 2011. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0963996911002808>>. Acesso em: 20 abr. 2023.

TRAUT, T. (Org.). Hemoglobin. **Allosteric Regulatory Enzymes**. Boston, MA: Springer US, 2008. p. 105–125. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/978-0-387-72891-9_6>. Acesso em: 23 jan. 2024.

TRIANA-MARTÍNEZ, F. *et al.* Identification and characterization of cardiac glycosides as senolytic compounds. **Nature Communications**, v. 10, n. 1, p. 4731, 21 out. 2019. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/s41467-019-12888-x>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

TRIONO, T. *et al.* A phylogeny of *Pouteria* (Sapotaceae) from Malesia and Australasia. **Australian Systematic Botany**, v. 20, n. 2, p. 107, 2007. Disponível em: <<http://www.publish.csiro.au/?paper=SB06011>>. Acesso em: 17 abr. 2023.

TRIPATHY, D. B. *et al.* Palmitic acid based environmentally benign corrosion inhibiting formulation useful during acid cleansing process in MSF desalination plants. **Desalination**, v. 472, p. 114128, 15 dez. 2019. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0011916419311543>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

TU, X. *et al.* One-Step extraction and hydrolysis of flavonoid glycosides in rape bee pollen based on soxhlet-assisted matrix solid phase dispersion. **Phytochemical Analysis**, v. 28, n. 6, p. 505–511, 2017. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/pca.2699>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

TURCSI, E. *et al.* Isolation of β -Cryptoxanthin-epoxides, precursors of cryptocapsin and 3'-deoxycapsanthin, from Red Mamey (*Pouteria sapota*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, n. 26, p. 6059–6065, 8 jul. 2015. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.jafc.5b01936>>. Acesso em: 5 maio 2023.

TURKIEWICZ, I. P. *et al.* Antidiabetic, anticholinesterase and antioxidant activity vs. terpenoids and phenolic compounds in selected new cultivars and hybrids of *Artichoke Cynara scolymus* L. **Molecules**, v. 24, n. 7, p. 1222, jan. 2019. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1420-3049/24/7/1222>>. Acesso em: 25 nov. 2023.

TYURIN, A. V. *et al.* Correlation of the imbalance in the circulating lymphocyte subsets with C-Reactive Protein and cardio-metabolic conditions in patients with COVID-19. **Frontiers in Immunology**, v. 13, p. 856883, 6 maio 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.856883>>. Acesso em: 17 mar. 2023.

ÜÇEYLER, N.; SOMMER, C. Cytokine regulation in animal models of neuropathic pain and in human diseases. **Neuroscience Letters**, v. 437, n. 3, p. 194–198, 2008. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.neulet.2008.03.050>>. Acesso em: 6 dez. 2023.

UPTON, R. *et al.* Botanical ingredient identification and quality assessment: strengths and limitations of analytical techniques. **Phytochemistry Reviews**, v. 19, n. 5, p. 1157–1177, 1 out. 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s11101-019-09625-z>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

UTTRA, A. M. *et al.* Ribes orientale: A novel therapeutic approach targeting rheumatoid arthritis with reference to pro-inflammatory cytokines, inflammatory enzymes and anti-inflammatory cytokines. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 237, p. 92–107, jun. 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.03.019>>. Acesso em: 17 mar. 2023.

VALVERDE-SALAZAR, V.; RUIZ-GABARRE, D.; GARCÍA-ESCUADERO, V. Alzheimer's disease and green tea: Epigallocatechin-3-Gallate as a modulator of inflammation and oxidative stress. **Antioxidants**, v. 12, n. 7, p. 1460, jul. 2023. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2076-3921/12/7/1460>>. Acesso em: 6 dez. 2023.

VAN LOO, G.; BERTRAND, M. J. M. Death by TNF: a road to inflammation. **Nature Reviews Immunology**, v. 23, n. 5, p. 289–303, maio 2023. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/s41577-022-00792-3>>. Acesso em: 6 dez. 2023.

VAN WYK, A. S.; PRINSLOO, G. Health, safety and quality concerns of plant-based traditional medicines and herbal remedies. **South African Journal of Botany**, v. 133, p. 54–62, 1 set. 2020. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0254629920309716>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

VASCONCELOS, C. DA C. *et al.* Notes on the seedling morphology of *Pouteria franciscana* Baehni (Sapotaceae). v. 11, n. 1, p. 81–84, 2021. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.18561/2179-5746/biotaamazonia.v11n1p81-84>>.

VAZ, Z. R. *et al.* Antinociceptive action of 2-(4-bromobenzoyl)-3-methyl-4,6-dimethoxy benzofuran, a novel xanthoxyline derivative on chemical and thermal models of nociception in mice. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 278, n. 1, p. 304–312, jul. 1996. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8764364/>>. Acesso em: 6 dez. 2023.

VERCH, T. *et al.* Analytical quality by design, life cycle management, and method control. **The AAPS Journal**, v. 24, n. 1, p. 34, 11 fev. 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1208/s12248-022-00685-2>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

VIRGOLIN, L. B.; SEIXAS, F. R. F.; JANZANTTI, N. S. Composition, content of bioactive compounds, and antioxidant activity of fruit pulps from the Brazilian Amazon biome. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 52, n. 10, p. 933–941, out. 2017. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-204X2017001000933&lng=en&tlng=en>. Acesso em: 20 abr. 2023.

VIVAS, C. V. *et al.* DNA barcoding in Atlantic Forest plants: what is the best marker for Sapotaceae species identification? **Genetics and Molecular Biology**, v. 37, n. 4, p. 662–670, 3 nov. 2014. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1415-47572014000500009&lng=en&tlng=en>. Acesso em: 17 abr. 2023.

VON FREY, M. Berichte über die Verhandlungen der Königlich Sächsischen Gesellschaft der Wissenschaften. **Beiträge zur Physiologie des Schmerzsinns**. n. 2, v. 46, p. 283–297, 1894.

VON LINNÉ, C. CHAPTER 3 - Biological Significance of Alkaloids. In: ANISZEWSKI, T. (Org.). **Alkaloids - Secrets of Life**. Amsterdam: Elsevier, 2007. p. 141–180. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780444527363500052>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

WAGNER, H.; BLADT, S. (Org.). Flavonoid drugs including *Ginkgo Biloba* and Echinaceae species. **Plant Drug Analysis: A Thin Layer Chromatography Atlas**. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 1996. p. 195–245. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/978-3-642-00574-9_8>.

WAGNER, H.; BLADT, S. **Plant Drug Analysis: A Thin Layer Chromatography Atlas**. Berlin, Heidelberg: Springer, 1996. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/978-3-642-00574-9>>. Acesso em: 2 out. 2023.

WAKSMUNDZKA-HAJNOS, M. *et al.* Chapter 20 - Applications of thin-layer chromatography in the quality control of botanicals. In: POOLE, C. F. (Org.). **Instrumental Thin-Layer Chromatography (Second Edition)**. Handbooks in Separation Science. [S.l.]: Elsevier, 2023. p. 575–613. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780323999700000211>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

WALACE, A. R. **Viagens pelos Rios Amazonas e Negro** (Trad. E. Amado; Apr. M. G. Ferri) (Reconquista do Brasil). Original publication in 1853. Rio de Janeiro: Companhia Editora Nacional, 1979.

WÄLDCHEN, J. *et al.* Automated plant species identification—Trends and future directions. **PLOS Computational Biology**, v. 14, n. 4, p. e1005993, 5 abr. 2018. Disponível em: <<https://journals.plos.org/ploscompbiol/article?id=10.1371/journal.pcbi.1005993>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

WALLE, T. *et al.* Flavonoid glucosides are hydrolyzed and thus activated in the oral cavity in humans^{1,2}. **The Journal of Nutrition**, v. 135, n. 1, p. 48–52, 1 jan. 2005. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022316622100088>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

WALL-MEDRANO, A. Taninos hidrolizables; bioquímica, aspectos nutricionales y analíticos y. **Nutricion Hospitalaria**, n. 1, p. 55–66, 1 jan. 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.3305/nh.2015.31.1.7699>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

WALSH, D. A.; PEARSON, C. I. Angiogenesis in the pathogenesis of inflammatory joint and lung diseases. **Arthritis Research**, v. 3, n. 3, p. 147–153, 2001. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC128891/>>. Acesso em: 6 dez. 2023.

WAN, F. *et al.* Effect of steam explosion on phenolics and antioxidant activity in plants: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 124, p. 13–24, 1 jun. 2022. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S092422442200125X>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

WANG, C.-Y.; CHEN, Y.-W.; HOU, C.-Y. Antioxidant and antibacterial activity of seven predominant terpenoids. **International Journal of Food Properties**, v. 22, n. 1, p. 230–238, 1 jan. 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/10942912.2019.1582541>>. Acesso em: 25 nov. 2023.

WANG, J.; FAN, S. M.; ZHANG, J. Epigallocatechin-3-gallate ameliorates lipopolysaccharide-induced acute lung injury by suppression of TLR4/NF-κB signaling activation. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 52, p. e8092, 19 jun. 2019. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/bjmr/a/qq7x8wvmz9xbR6PpXNDPy7h/?lang=en>>. Acesso em: 6 dez. 2023.

WANG, S. *et al.* The structure and function of major plant metabolite modifications. **Molecular Plant**, v. 12, n. 7, p. 899–919, jul. 2019. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1674205219302011>>. Acesso em: 25 nov. 2023.

WANG, Y.-T. *et al.* Cytotoxic effects of *Chlorophyllides* in ethanol crude extracts from plant leaves. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2019, p. 1–13, 15 jul. 2019. Disponível em: <<https://www.hindawi.com/journals/ecam/2019/9494328/>>. Acesso em: 21 abr. 2023.

WANG, Z. *et al.* *In vitro* antioxidant analysis of flavonoids extracted from *Artemisia argyi* stem and their anti-inflammatory activity in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 macrophages. **Food Chemistry**, v. 407, p. 135198, 1 maio 2023. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814622031600>>. Acesso em: 18 mar. 2023.

WHITELEY, P. E.; DALRYMPLE, S. A. Models of Inflammation: Carrageenan-Induced Paw Edema in the Rat. **Current Protocols in Pharmacology**, v. 00, n. 1, p. 5.4.1-5.4.3, 1998. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/0471141755.ph0504s00>>. Acesso em: 6 dez. 2023.

WILLOUGHBY, D. A. The Inflammatory Response. **Journal of Dental Research**, v. 51, n. 2, p. 225–227, mar. 1972. Disponível em: <<https://doi.org/10.1177/00220345720510020301>>. Acesso em: 17 mar. 2023.

WINTER, C. A.; RISLEY, E. A.; NUSS, G. W. Carrageenin-induced edema in hind paw of the rat as an assay for antiinflammatory drugs. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, v. 111, p. 544–547, dez. 1962. Disponível em: <<https://doi.org/10.3181/00379727-111-27849>>. Acesso em: 6 dez. 2023.

WOLFENDER, J.-L.; HOSTETTMANN, K. Applications of liquid Chromatography-Mass Spectrometry to the Investigation of medicinal plants. In: ARNASON, J. T.; MATA, R.; ROMEO, J. T. (Org.). **Phytochemistry of Medicinal Plants. Recent Advances in Phytochemistry**. Boston, MA: Springer US, 1995. p. 189–215. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/978-1-4899-1778-2_9>. Acesso em: 4 nov. 2023.

WOOLFE, G.; MACDONALD, A. D. The evaluation of the analgesic action of pethidine hydrochloride (demerol). **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 80, n. 3, p. 300–307, 1 mar. 1944. Disponível em: <<https://jpet.aspetjournals.org/content/80/3/300>>. Acesso em: 6 dez. 2023.

WRIGHT, S. J. Phenological responses to seasonality in tropical forest plants. In: MULKEY, S. S.; CHAZDON, R. L.; SMITH, A. P. (Org.). **Tropical Forest Plant Ecophysiology**. Boston, MA: Springer US, 1996. p. 440–460. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/978-1-4613-1163-8_15>. Acesso em: 4 nov. 2023.

XU, S. Y.; WENG, J. Climate change shapes the future evolution of plant metabolism. **Advanced Genetics**, v. 1, n. 1, p. e10022, 10 ago. 2020. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9744464/>>. Acesso em: 25 nov. 2023.

YAHIA, E. M.; GUTIÉRREZ-OROZCO, F.; ARVIZU-DE LEON, C. Phytochemical and antioxidant characterization of mamey (*Pouteria sapota* Jacq. H.E. Moore & Stearn) fruit. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 2175–2181, ago. 2011. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S096399691000462X>>. Acesso em: 20 abr. 2023.

YAMADA, N.; MATSUSHIMA-NISHIWAKI, R.; KOZAWA, O. Quercetin suppresses the migration of hepatocellular carcinoma cells stimulated by hepatocyte growth factor or transforming growth factor- α : Attenuation of AKT signaling pathway. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 682, p. 108296, 30 mar. 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.abb.2020.108296>>. Acesso em: 6 dez. 2023.

YANG W.; LI B.; YANG G. The protective effects and mechanisms of myricetin on LPS-induced acute lung injury of BALB/c mice. **International Journal of Traditional Chinese Medicine**, p. 154–159, 2019. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3760/cma.j.issn.1673-4246.2019.02.012>>. Acesso em: 6 dez. 2023.

YANG, L. *et al.* Hostaflavone A from *Hosta plantaginea* (Lam.) Asch. blocked NF- κ B/iNOS/COX-2/MAPKs/Akt signaling pathways in LPS-induced RAW 264.7 macrophages. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 282, p. 114605, jan. 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.114605>>. Acesso em: 17 mar. 2023.

YANG, Y.-L. *et al.* Myricitrin blocks activation of NF- κ B and MAPK signaling pathways to protect nigrostriatum neuron in LPS-stimulated mice. **Journal of Neuroimmunology**, v. 337, p. 577049, 15 dez. 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2019.577049>>. Acesso em: 6 dez. 2023.

YAO, S. *et al.* Simple and robust differentiation of *Ganoderma* species by high performance thin-layer chromatography coupled with single quadrupole mass spectrometry QDa. **Chinese Journal of Natural Medicines**, v. 19, n. 4, p. 295–304, 1 abr. 2021. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1875536421600304>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

YAVOR, M. I. *et al.* Axial and radial space-charge effects in radiofrequency gas-filled low-pressure quadrupole ion guides. **International Journal of Mass Spectrometry**, v. 491, p. 117097, 1 set. 2023. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S138738062300088X>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

YEUNG, E. C. The Use of Histology in the Study of Plant Tissue Culture Systems: Some Practical Comments. *In vitro Cellular & Developmental Biology*. **Plant**, v. 35, n. 2, p. 137–143, 1999. Disponível em: <<https://www.jstor.org/stable/4293175>>. Acesso em: 21 fev. 2024.

YI, M. *et al.* Tea consumption and health outcomes: Umbrella review of meta-analyses of observational studies in humans. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 63, n. 16, p. 1900389, 2019. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/mnfr.201900389>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

YODER, L. R.; MAHLBERG, P. G. Reactions of alkaloid and histochemical indicators in laticifers and specialized parenchyma cells of *Catharanthus roseus* (APOCYNACEAE). **American Journal of Botany**, v. 63, n. 9, p. 1167–1173, out. 1976. Disponível em: <<https://bsapubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/j.1537-2197.1976.tb13202.x>>. Acesso em: 12 out. 2023.

- ZAHOOR, M. *et al.* Determination of genetic diversity in *Acacia modesta* germplasm using SDS-PAGE. **Brazilian Journal of Biology**, v. 84, p. e265065, 10 out. 2022. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/bjb/a/7VGJWcpSJhRHJDSbV5yKG3C/?lang=en>>. Acesso em: 25 nov. 2023.
- ZHANG, T.-J. *et al.* Seasonal variations in group leaf characteristics in species with red young leaves. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 16529, 11 nov. 2019. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/s41598-019-52753-x>>. Acesso em: 25 nov. 2023.
- ZHANG, W. L. *et al.* Hydrolysis of glycosidic flavonoids during the preparation of danggui buxue tang: an outcome of moderate boiling of chinese herbal mixture. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2014, p. e608721, 16 mar. 2014. Disponível em: <<https://www.hindawi.com/journals/ecam/2014/608721/>>. Acesso em: 4 nov. 2023.
- ZHANG, Y. *et al.* Transcriptome and metabolome analyses reveal differences in terpenoid and flavonoid biosynthesis in *Cryptomeria fortunei* needles across different seasons. **Frontiers in Plant Science**, v. 13, 2022. Disponível em: <<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2022.862746>>. Acesso em: 25 nov. 2023.
- ZHAO, S.-Y. *et al.* Chemotaxonomic classification applied to the identification of two closely-related citrus tcms using UPLC-Q-TOF-MS-Based metabolomics. **Molecules**, v. 22, n. 10, p. 1721, out. 2017. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1420-3049/22/10/1721>>. Acesso em: 4 nov. 2023.
- ZHOU, T. *et al.* Comparative metabolomic analysis reveals the variations in taxoids and flavonoids among three taxus species. **BMC Plant Biology**, v. 19, n. 1, p. 529, 29 nov. 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/s12870-019-2146-7>>. Acesso em: 25 nov. 2023.
- ZHOU, Z. *et al.* Myricetin inhibits breast tumor growth and angiogenesis by regulating VEGF/VEGFR2 and p38MAPK signaling pathways. **Anatomical Record (Hoboken)**. 2007, v. 302, n. 12, p. 2186–2192, dez. 2019.
- ZHU, H. *et al.* Anthocyanins function as a light attenuator to compensate for insufficient photoprotection mediated by nonphotochemical quenching in young leaves of *Acmena acuminatissima* in winter. **Photosynthetica**, v. 56, n. SPECIAL ISSUE, p. 445–454, 1 mar. 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s11099-017-0740-1>>. Acesso em: 25 nov. 2023.
- ZIMMER, Z. *et al.* A global study of pain prevalence across 52 countries: examining the role of country-level contextual factors. **Pain**, v. 163, n. 9, p. 1740–1750, set. 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000002557>>. Acesso em: 14 abr. 2023.
- ZIMMERMANN, M. Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. , v. 16, n. 2, p. 109–110, jun. 1983. Disponível em: < [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(83\)90201-4](https://doi.org/10.1016/0304-3959(83)90201-4)>. Acesso em: 4 nov. 2023.
- ZOLFAGHARI, F. *et al.* Hierarchical cluster analysis to identify the homogeneous desertification management units. **PLOS ONE**, v. 14, n. 12, p. e0226355, 18 dez. 2019. Disponível em: <<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0226355>>. Acesso em: 4 nov. 2023.

ANEXOS

ANEXO A- Metodologia utilizadas para a realização da prospecção fitoquímica

Teste	Método utilizado	Comportamento se reativo	Resultado	Referências
Fenóis e Taninos	Adição de FeCl ₃	Coloração variável entre azul e vermelho	Fenóis	MATOS, 2020
		Precipitado azul escuro	Taninos pirogálicos (taninos hidrolisáveis)	MATOS, 2020
		Precipitado verde escuro	Taninos flababênicos (taninos condensados ou catéquicos)	MATOS, 2020
Antocianinas, antocianidinas e flavonoides	Alteração do pH do extrato	Coloração vermelha em meio ácido (3)	Antocianinas, Antocianidinas, chalconas e auronas	MATOS, 2020
		Coloração lilás em meio alcalino (8,5)	Antocianinas e Antocianidinas	MATOS, 2020
		Coloração Azul-púrpura em meio alcalino (11)	Antocianinas e Antocianidinas	MATOS, 2020
		Coloração Amarela em meio alcalino (11)	Flavonas, Flavonóis e Xantonas	MATOS, 2020
		Coloração Vermelho púrpura em meio alcalino (11)	Chaconas e Auronas	MATOS, 2020
		Coloração Vermelho alaranjado em meio alcalino (11)	Flavonóis	MATOS, 2020
Teste para saponinas	Agitação vigorosa do extrato	formação de espuma persistente	Saponinas	MATOS, 2020

ANEXO A- Continuação

Teste	Método utilizado	Comportamento se reativo	Resultado	Referências
Alcaloides	Acidificação e adição de reativo de meyer	precipitado branco ou leve turvação branca	Alcaloides	MATOS, 2020
	Acidificação e adição de Reativo de Dragendorff	precipitado de coloração laranja a vermelho	Alcaloides	MATOS, 2020
	Acidificação e adição de Reativo de Wagner	precipitado de coloração alaranjada.	Alcaloides	MATOS, 2020
Cumarinas	Contato de papel de filtro basificado com NaOH 10% com o vapor do extrato em ebulição	observação de fluorescência amarela ou verde no papel de filtro sob luz UV 365 nm	Cumarinas	MATOS, 2020
Leucoantocianidinas, catequinas e flavonas	Alteração do pH do extrato com aquecimento	Coloração vermelha em meio ácido (1)	Leucoantocianidinas	MATOS, 2020
		Coloração Pardo-amarelada em meio ácido (1)	Catequinas (Taninos catéquicos)	MATOS, 2020
		Coloração vermelho laranja em meio alcalino (14)	Flavononas	MATOS, 2020

ANEXO A- Continuação

Teste	Método utilizado	Comportamento se reativo	Resultado	Referências
Triterpenos	Extração com clorofórmio da solução do extrato com adição de cloreto férrico	Mudança da coloração de amarelo para roxo na presença de reativo de Salkowski	Presença de núcleo esteroidal	LIMA; SILVA, 2016
		Apresentação de coloração coloração verde, azul esverdeado ou roxo a azul com reagente de Liebermann-Burchard	Glicosídeos cardiotônicos	LIMA; SILVA, 2016