

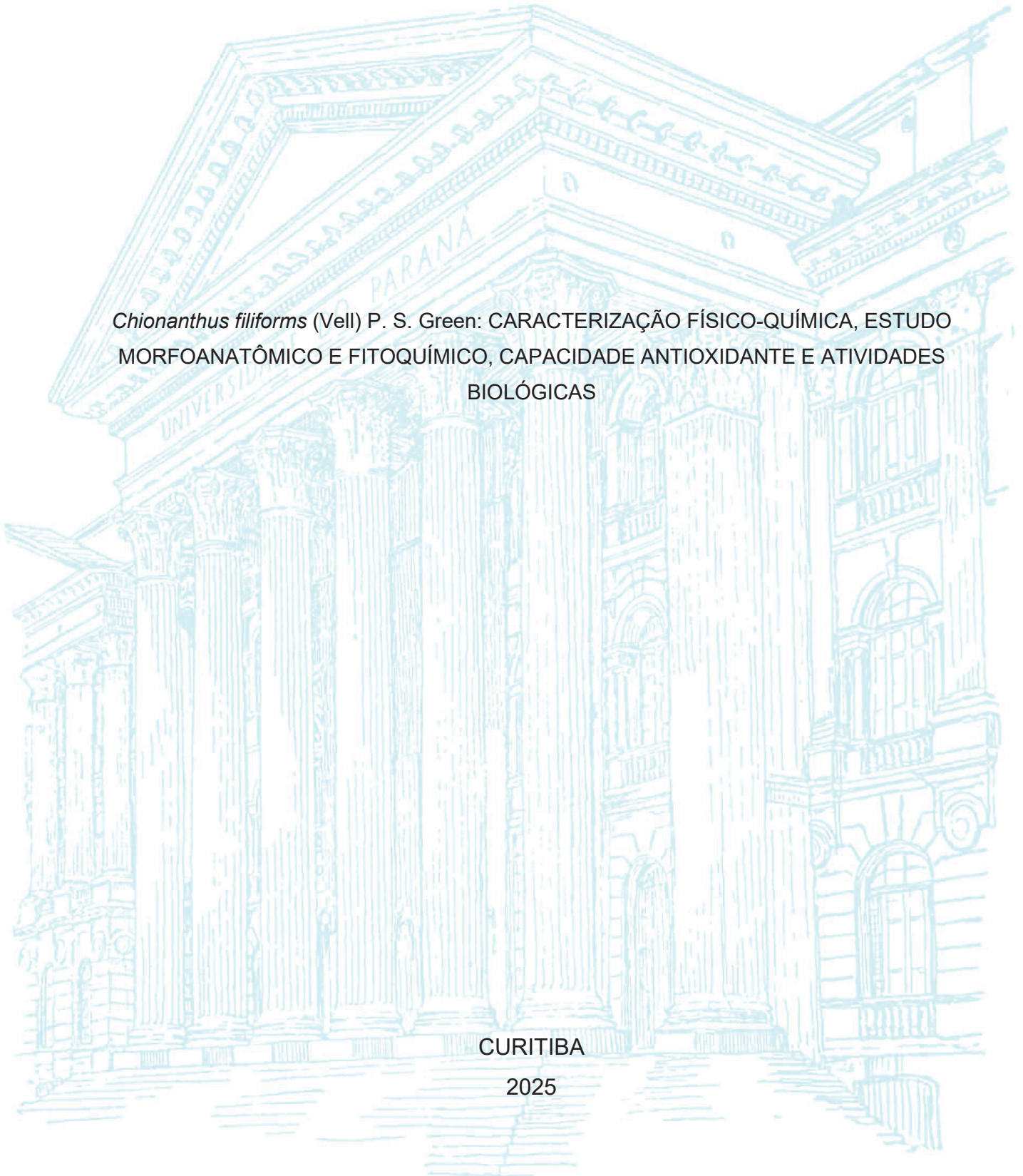
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ALICE DO CARMO KOSSOSKI NALEPA

Chionanthus filiformis (Vell) P. S. Green: CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA, ESTUDO MORFOANATÔMICO E FITOQUÍMICO, CAPACIDADE ANTIOXIDANTE E ATIVIDADES BIOLÓGICAS

CURITIBA

2025



ALICE DO CARMO KOSSOSKI NALEPA

Chionanthus filiformis (Vell) P. S. Green: CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA, ESTUDO MORFOANATÔMICO E FITOQUÍMICO, CAPACIDADE ANTIOXIDANTE E ATIVIDADES BIOLÓGICAS

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Prof^a Dr^a. Josiane de Fátima Gaspari Dias

Coorientadora: Prof^a Dr^a. Deise Prehs Montrucchio

CURITIBA

2025

Nalepa, Alice do Carmo Kossoski

Chionanthus filiformis (Vell) P. S. Green [recurso eletrônico]: caracterização físico-química, estudo morfoanatômico e fitoquímico, capacidade antioxidante e atividades biológicas / Alice do Carmo Kossoski Nalepa. – Curitiba, 2025.

1 recurso online : PDF

Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, 2025.

Orientador: Profa. Dra. Josiane de Fátima Gaspari Dias

Coorientador: Profa. Dra. Deise Prehs Montrucchio

1. Oleaceae. 2. Antioxidantes. 3. Compostos fenólicos. I. Dias, Josiane de Fátima Gaspari. II. Montrucchio, Deise Prehs. III. Universidade Federal do Paraná. IV. Título.

CDD 583.963



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS - 40001016042P8

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **ALICE DO CARMO KOSSOSKI NALEPA**, intitulada: *Chionanthus filiformis* (Vell) P. S. Green: **CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA, ESTUDO MORFOANATÔMICO E FITOQUÍMICO, CAPACIDADE ANTIOXIDANTE E ATIVIDADES BIOLÓGICAS**, sob orientação da Profa. Dra. JOSIANE DE FÁTIMA GASPARI DIAS, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de mestra está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 03 de Dezembro de 2025.

JOSIANE DE FÁTIMA GASPARI DIAS
Presidente da Banca Examinadora

CRISTIANE DA SILVA PAULA DE OLIVEIRA
Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

MARILYS DALLARMI MIGUEL
Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus por ter me sustentado com saúde, força e perseverança, guiando-me no caminho certo durante todo o desenvolvimento deste projeto.

À minha família, em especial ao meu marido, Thiago Nalepa, e à minha filha, Luiza Kossoski Nalepa, pelo amor, apoio incondicional, compreensão e incentivo em todos os momentos.

À minha orientadora, professora Dra. Josiane de Fátima Gaspari Dias, pela dedicação, orientação cuidadosa e por compartilhar seu tempo e conhecimento ao longo desta jornada.

À professora Dra. Deise Presh Montrucchio, pela valiosa coorientação.

Aos professores Dr. Obdulio Gomes Miguel e Dra. Marilis Dallarmi Miguel, pela colaboração e apoio fundamentais no decorrer da pesquisa.

Aos técnicos e colaboradores do Departamento de Farmácia da Universidade Federal do Paraná, em especial a Cíntia Aparecida dos Anjos, Paulo Sergio Diniz, Maria das Graças e Maurício Passos, pela constante disposição em ajudar. Estendo também meus agradecimentos aos técnicos de outros departamentos que contribuíram de forma significativa.

Aos colegas Katia Regina Antonio Lima, Camila da Luz dos Santos, Jair Lima e Lucimara Hackbarth, pela parceria e apoio nas etapas experimentais; às minhas colegas de trabalho, Priscila Aparecida Ludka e Suely Karin Weiss, pelo incentivo constante; e também a Gislene Mari Fujiwara e Elaine Caroline Kiatkoski, pela motivação e encorajamento ao longo do percurso.

À Dra. Mônica Surek, pela colaboração nas análises antimicrobianas, e à Dra. Lorene Armstrong, pela contribuição essencial no estudo morfoanatômico da espécie.

Ao Engenheiro Florestal Ms. Inti de Souza, pela importante ajuda na coleta do material vegetal.

À Universidade Federal do Paraná, por ter sido palco de mais uma etapa importante da minha trajetória acadêmica, ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas (PPGCF) pela oportunidade de aprendizado e acolhimento,

e ao Núcleo de Estudos em Produtos Naturais e Farmacotécnica (NEPNF) pela confiança e espaço de crescimento.

À CAPES. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001

Por fim, agradeço, de coração, a todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização e conclusão deste trabalho

A persistência é o caminho do êxito. (Charles Chaplin)

RESUMO

Chionanthus filiformis (Vell) P. S. Green, azeitona-do-mato, é uma árvore da família Oleaceae, endêmica da Floresta Atlântica, com folhas opostas, simples e cartáceas, flores brancas e frutos do tipo drupa. O estudo avaliou parâmetros farmacopeicos, caracterização morfoanatômica e histoquímica, perfil fitoquímico, quantificação de compostos bioativos e atividades biológicas de extratos brutos e frações de folhas, caules e frutos de *Chionanthus filiformis* coletados em Curitiba, Paraná, Brasil. Parte do material foi destinada à análise morfoanatômica, histoquímica e microscopia eletrônica por varredura, revelando marcadores diagnósticos como paredes celulares anticiniais retas a onduladas, mesofilo dorsiventral, sistema vascular do nervo central e distribuição de cristais, além de lipídios, polissacarídeos e compostos fenólicos. Outra parte do material foi destinada à realização de testes físico-químicos (teor de sólidos, umidade e cinzas), cujos resultados permaneceram dentro dos limites estabelecidos pela Farmacopeia Brasileira, 7ª edição. Também foram conduzidos o *screening* fitoquímico e a preparação de extratos brutos e etanólicos de folhas e caules. No caso dos frutos, as frações foram obtidas por extração contínua. O rendimento dos extratos etanólicos foi de 19,1% para as folhas e 11,6% para os caules, enquanto os extratos aquosos liofilizados apresentaram rendimentos de 0,8% e 0,69%, respectivamente. A partir do particionamento dos extratos etanólicos, foram obtidas quatro frações semipurificadas de cada extrato: hexano, clorofórmio, acetato de etila e fração remanescente. O *screening* fitoquímico por CCD e CCD bidimensional revelou a presença de esteroides, flavonoides, cumarinas, taninos e antraquinonas. Os extratos etanólicos, aquosos e frações de folhas, caules e frutos foram direcionados à quantificação de fenólicos totais, flavonoides totais e taninos condensados, bem como à avaliação da capacidade antioxidante pelos métodos DPPH• e fósfolimolibdênio. Nos ensaios antioxidantes, frações polares de folhas e caules (extrato aquoso, fração acetato de etila e fração remanescente) apresentaram atividade comparável ou superior a antioxidantes comerciais, incluindo BHT, evidenciando significativo potencial redutor. Os extratos e frações foram avaliados por ensaios para determinar suas atividades biológicas, mostrando ausência de toxicidade relevante frente a *Artemia franciscana* e sem efeito hemolítico significativo. Na atividade antimicrobiana, o extrato bruto da folha e algumas frações (fração clorofórmio, fração hexano e fração acetato de etila) apresentaram efeitos moderados a fracos contra *P. aeruginosa*, *E. faecalis*, *S. aureus* e *E. coli*, com CIM variando de 125 a 1000 µg/mL. Os resultados indicam que *C. filiformis* possui folhas e caules ricos em compostos bioativos, com elevada capacidade antioxidante, baixa toxicidade preliminar e atividade antimicrobiana seletiva, reforçando seu potencial farmacológico, nutracêutico e ecológico.

Palavras-chave: *Chionanthus*; antioxidante; fitoquímica; compostos fenólicos; atividade biológicas.

ABSTRACT

Chionanthus filiformis (Vell.) P. S. Green, known as azeitona-do-mato, is a tree of the family Oleaceae, endemic to the Brazilian Atlantic Forest, characterized by opposite, simple, chartaceous leaves, white flowers, and drupaceous fruits. This study evaluated pharmacopoeial parameters, morphoanatomical and histochemical characterization, phytochemical profile, quantification of bioactive compounds, and the biological activities of crude extracts and fractions from the leaves, stems, and fruits of *Chionanthus filiformis* collected in Curitiba, Paraná, Brazil. Part of the plant material was used for morphoanatomical, histochemical, and scanning electron microscopy analyses, which revealed diagnostic markers such as anticlinal cell walls ranging from straight to wavy, dorsiventral mesophyll, vascular organization of the midrib, and the distribution of crystals, along with the presence of lipids, polysaccharides, and phenolic compounds. Another portion of the material was used for physicochemical analyses (solids content, moisture, and ash), with results remaining within the limits established by the Brazilian Pharmacopoeia, 7th edition. Phytochemical screening and the preparation of crude and ethanolic extracts of leaves and stems were also conducted. For the fruits, fractions were obtained by continuous extraction. The yields of the ethanolic extracts were 19.1% for leaves and 11.6% for stems, whereas the lyophilized aqueous extracts yielded 0.8% and 0.69%, respectively. Partitioning of the ethanolic extracts generated four semipurified fractions from each extract: hexane, chloroform, ethyl acetate, and the remaining fraction. Phytochemical screening by TLC and two-dimensional TLC revealed the presence of steroids, flavonoids, coumarins, tannins, and anthraquinones. Ethanolic extracts, aqueous extracts, and fractions from leaves, stems, and fruits were subjected to quantification of total phenolics, total flavonoids, and condensed tannins, as well as evaluation of antioxidant capacity using the DPPH· and phosphomolybdenum methods. In the antioxidant assays, polar fractions from leaves and stems (aqueous extract, ethyl acetate fraction, and remaining fraction) exhibited activity comparable to or greater than that of commercial antioxidants, including BHT, demonstrating significant reducing potential. Extracts and fractions were also evaluated for biological activities, showing no relevant toxicity toward *Artemia franciscana* and no significant hemolytic effect. In antimicrobial assays, the crude leaf extract and some fractions (chloroform, hexane, and ethyl acetate fractions) exhibited moderate to weak activity against *P. aeruginosa*, *E. faecalis*, *S. aureus*, and *E. coli*, with MIC values ranging from 125 to 1000 µg/mL. Overall, the results indicate that *C. filiformis* possesses leaves and stems rich in bioactive compounds, with high antioxidant capacity, low preliminary toxicity, and promising selective antimicrobial activity, reinforcing its pharmacological, nutraceutical, and ecological potential.

Keywords: *Chionanthus*; antioxidant; phytochemistry; phenolic compounds; biological activity.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|-----|
| FIGURA 1 – FLUXOGRAMA DAS FASES DA PESQUISA COM <i>Chionanthus filiformis</i> | 31 |
| FIGURA 2 – <i>Chionanthus filiformis</i> (Vell) P. S. Green, LOCAL DA COLETA..... | 33 |
| FIGURA 3 – FRACIONAMENTO DO EXTRATO BRUTO DE FOLHAS DE <i>Chionanthus filiformis</i> (Vell) P. S. Green EM SOXHLET MODIFICADO | 47 |
| FIGURA 4 – ÁRVORE, CAULE E FOLHAS DE <i>Chionanthus filiformis</i> | 80 |
| FIGURA 5 – MORFOANATOMIA DAS FOLHAS DE <i>Chionanthus filiformis</i> | 81 |
| FIGURA 6 – ANATOMIA DO PECÍOLO E DO CAULE DE <i>Chionanthus filiformis</i> EM SEÇÃO TRANSVERSAL..... | 83 |
| FIGURA 7 – CRISTAIS DE CHIONANTHUS FILIFORMIS OBSERVADOS POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA..... | 85 |
| FIGURA 8 – CRISTAL EM FORMA DE SETA DE <i>Chionanthus filiformis</i> OBSERVADO POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV) E ANALISADO POR ESPECTROSCOPIA POR DISPERSÃO DE ENERGIA DE RAIOS X (EDS)..... | 86 |
| FIGURA 9 – CRISTAL AGREGADO EM PLACAS DO CAULE DE <i>Chionanthus filiformis</i> VISUALIZADO POR MEV E ANALISADO POR EDS..... | 87 |
| FIGURA 10 – HISTOQUÍMICA DE <i>Chionanthus filiformis</i> | 88 |
| FIGURA 11 – MAPA DE CALOR DAS CORRELAÇÕES ENTRE OS MÉTODOS DE DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS E ENSAIOS ANTIOXIDANTES..... | 108 |

LISTA DE GRÁFICOS

| | |
|--|-----|
| GRÁFICO 1 – ATIVIDADE HEMOLÍTICA DOS EXTRATOS E FRAÇÕES OBTIDAS DAS FOLHAS DE <i>Chionanthus filiformis</i> EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES (75–1000 MG/ML)..... | 113 |
| GRÁFICO 2 – ATIVIDADE HEMOLÍTICA DOS EXTRATOS E FRAÇÕES OBTIDAS DOS CAULES DE <i>Chionanthus filiformis</i> EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES (75–1000 MG/ML)..... | 114 |

LISTA DE QUADROS

| | |
|---|----|
| QUADRO 1 – HIERARQUIA TAXONÔMICA DE <i>Chionanthus filiformis</i> P.S. GREEN | 30 |
| QUADRO 2 – REATIVOS EMPREGADOS NOS TESTES HISTOQUÍMICOS..... | 35 |
| QUADRO 3 – PROCEDIMENTO PARA IDENTIFICAÇÃO DE METABÓLITOS POR CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA..... | 49 |
| QUADRO 4 – ANÁLISE DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS POR CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA BIDIMENSIONAL..... | 51 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|-----|
| TABELA 1 – GÊNEROS DA FAMÍLIA OLEACEAE: CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS E DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA..... | 19 |
| TABELA 2 – RELAÇÃO DAS ESPÉCIES DE <i>Chionanthus</i> L. COM RESPECTIVOS AUTORES, ÁREAS E OCORRÊNCIA..... | 24 |
| TABELA 3 – MOLÉCULAS ISOLADAS DE ESPÉCIES DO GÊNERO <i>Chionanthus</i> L. | 59 |
| TABELA 4 – POTENCIAL BIOLÓGICO DO GÊNERO <i>Chionanthus</i> L. EM ESTUDOS SELECIONADOS..... | 65 |
| TABELA 5 – RESULTADOS DO PARÂMETRO PERDA POR DESSECAÇÃO DE FOLHAS E CAULE DE <i>C. filiforms</i> | 90 |
| TABELA 6 – RESULTADOS DO TEOR DE CINZAS DE FOLHAS E CAULE DE <i>C. filiforms</i> | 91 |
| TABELA 7 – COMPOSIÇÃO FITOQUÍMICA DO EXTRATO AQUOSO DE FOLHAS E CAULE DE <i>C. filiforms</i> | 92 |
| TABELA 8 – COMPOSIÇÃO FITOQUÍMICA DO EXTRATO HIDROALCÓOLICO DAS FOLHAS E CAULES DE <i>C. filiforms</i> | 93 |
| TABELA 9 – TEOR DE SÓLIDOS DOS EXTRATOS BRUTOS DE <i>C. filiforms</i> | 94 |
| TABELA 10 – TEOR DE SÓLIDOS DOS EXTRATOS AQUOSOS <i>C. filiforms</i> | 94 |
| TABELA 11 – RENDIMENTO DAS FRAÇÕES DAS FOLHAS, CAULE E FRUTOS DE <i>C. filiforms</i> | 95 |
| TABELA 12 – GRUPOS QUÍMICOS IDENTIFICADOS EM EXTRATOS E FRAÇÕES DE FOLHAS, FRUTOS E CAULES DE <i>C. filiforms</i> POR CCD..... | 96 |
| TABELA 13 – GRUPOS QUÍMICOS IDENTIFICADOS NAS FRAÇÕES DE FOLHAS, FRUTOS E CAULE DE <i>C. filiforms</i> POR CROMATOGRAFIA BIDIMENSIONAL..... | 98 |
| TABELA 14 – CONTEÚDO DE COMPOSTOS FENÓLICOS, FLAVONOIDES E TANINOS TOTAIS NOS EXTRATOS E FRAÇÕES DE FOLHAS, CAULE E FRUTOS DE <i>C. filiforms</i> | 100 |

| | |
|---|-----|
| TABELA 15 – CAPACIDADE ANTIOXIDANTE (ENSAIO DPPH) DOS EXTRATOS E FRAÇÕES DE DIFERENTES PARTES DE <i>Chionanthus filiforms</i> , EXPRESSA EM EQUIVALENTES DE TROLOX (MG ET/MG DE AMOSTRA)..... | 103 |
| TABELA 16 – RESULTADOS DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DETERMINADOS PELO MÉTODO DA REDUÇÃO DO FOSFOMOLIBDÊNIO, EM COMPARAÇÃO COM OS PADRÕES DE REFERÊNCIA..... | 106 |
| TABELA 17 – MORTALIDADE DE ARTEMIA FRANCISCANA E CL ₅₀ UTILIZANDO EXTRATOS E FRAÇÕES DAS FOLHAS, CAULE E FRUTOS DE <i>Chionanthus filiforms</i> | 109 |
| TABELA 18 – AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE HEMOLÍTICA DOS EXTRATOS E FRAÇÕES DE FOLHAS E CAULES DE <i>Chionanthus filiforms</i> | 111 |
| TABELA 19 – CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (CIM, MG/ML) DOS EXTRATOS E FRAÇÕES DE <i>Chionanthus filiforms</i> , FRENTE A MICRORGANISMOS PADRÃO..... | 116 |

LISTA DE ABREVIATURAS OU SIGLAS

| | |
|--------|---|
| ANVISA | - Agência Nacional De Vigilância Sanitária |
| ABTS | - 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) |
| ANOVA | - Análise de variância unidirecional |
| BHT | - Butil-hidroxitolueno |
| C | - Caule |
| CCD | - Cromatografia em camada delgada |
| CIM | - Concentração inibitória mínima |
| CL50 | - Concentração letal 50% |
| ABTS | - 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) |
| ANOVA | - Análise de variância unidirecional |
| CCD | - Cromatografia em camada delgada |
| CIM | - Concentração inibitória mínima |
| CLSI | - Clinical and Laboratory Standards Institute |
| DMSO | - Dimetilsulfóxido |
| DNA | - Ácido desoxirribonucleico |
| DPPH• | - 2,2-difenil-1-picrilhidrazil |
| EAG | - Equivalentes de ácido gálico |
| EB | - Extrato bruto |
| EBC | - Extrato bruto caule |
| EBF | - Extrato bruto folhas |
| EC | - Equivalentes de catequina |
| EAQC | - Extrato aquoso do caule |
| EAQF | - Extrato aquoso da folha |
| EDS | - Espectroscopia de raio X por dispersão de energia |
| EFC | - Escola de Florestas Curitiba |
| ET | - Equivalentes de trolox |
| F | - Folhas |
| FAA | - Formaldeído, ácido acético e etanol 70% (1:1:18 v/v/v) |
| FAC | - Fração acetato de etila |
| FACC | - Fração acetato de etila caule |
| FACF | - Fração acetato de etila folhas |

| | |
|--------|--|
| FC | - Fração clorofórmio |
| FCC | - Fração clorofórmio caule |
| FCF | - Fração clorofórmio folhas |
| FESEM | - Microscopia eletrônica de varredura por emissão de campo |
| FH | - Fração hexano |
| FHC | - Fração hexano caule |
| FHF | - Fração hexano folhas |
| FR | - Fração remanescente |
| FRAP | - Poder antioxidante de redução do ferro |
| FRF | - Fração remanescente folhas |
| FRC | - Fração remanescente caule |
| IC | - Intervalo de confiança |
| MEV | - Microscopia eletrônica de varredura |
| NEU | - Difetilboriloxietilamina 1% em metanol seguido de polietilenoglicol 4000 5% em etanol |
| pH | - Potencial hidrogeniônico |
| PBS | - Tampão fosfato salino |
| SISGEN | - Sistema Nacional de Proteção ao Patrimônio Genético |
| TFC | - <i>Total Flavonoids Content</i> |
| TPC | - <i>Total Phenolic Compounds</i> |
| UFPR | - Universidade Federal do Paraná |
| UFCS | - Universidade Federal de Santa Catarina |
| UV/VIS | - Ultravioleta visível |

SUMÁRIO

| | | |
|----------|--|-----------|
| 1 | INTRODUÇÃO. | 16 |
| 1.2 | OBJETIVO GERAL | 17 |
| 1.2.1 | Objetivo geral | 17 |
| 1.2.2 | Objetivos específicos | 17 |
| 2 | REVISÃO DE LITERATURA | 19 |
| 2.1 | FAMÍLIA OLEACEAE | 19 |
| 2.2 | GÊNERO <i>CHIONANTHUS</i> L. | 23 |
| 2.3 | ESPÉCIE <i>Chionanthus filiformis</i> (VELL) P. S. GREEN | 29 |
| 3 | MATERIAL E MÉTODOS | 31 |
| 3.1 | REVISÃO INTEGRATIVA DE <i>Chionanthus filiformis</i> L | 31 |
| 3.1.1 | Metodologia | 32 |
| 3.2 | MATERIAL VEGETAL | 32 |
| 3.3 | ESTUDO MORFOANATÔMICO E HISTOQUÍMICO | 34 |
| 3.3.1 | Preparo de lâminas | 34 |
| 3.3.2 | Técnica de diafanização ou clareamento | 34 |
| 3.3.3 | Testes histoquímicos | 35 |
| 3.3.4 | Registos fotográficos e micromedições | 36 |
| 3.3.5 | Microscopia eletrônica de varredura | 36 |
| 3.3.6 | Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raios X (EDS) | 37 |
| 3.4 | ENSAIOS FÍSICOS-QUÍMICOS | 37 |
| 3.4.1 | Umidade (Perda por dessecação) | 37 |
| 3.4.2 | Determinação de cinzas | 38 |
| 3.5 | ENSAIO FITOQUÍMICO PRELIMINAR | 38 |
| 3.5.1 | Preparo do Extrato Aquoso (20%) | 39 |
| 3.5.1.1 | Pesquisa de heterosídeos antociânicos e heterosídeos saponínicos | 39 |
| 3.5.1.2 | Pesquisa de heterosídeos cianogênicos | 39 |
| 3.5.1.3 | Pesquisa de taninos | 39 |
| 3.5.1.4 | Pesquisa de aminogrupos | 40 |
| 3.5.1.5 | Pesquisa de ácidos fixos | 40 |
| 3.5.1.6 | Pesquisa de ácidos voláteis | 40 |

| | | |
|---------|---|----|
| 3.5.2 | Preparo do extrato hidroalcoólico a 20%..... | 41 |
| 3.5.2.1 | Pesquisa de alcaloides..... | 41 |
| 3.5.2.2 | Pesquisa de leucoantocianidinas..... | 42 |
| 3.5.2.3 | Pesquisa de flavonoides..... | 42 |
| 3.5.2.4 | Pesquisa de cumarinas..... | 43 |
| 3.5.2.5 | Pesquisa de substâncias iridoidais..... | 43 |
| 3.5.2.6 | Pesquisa de heterosídeos antraquinônicos..... | 44 |
| 3.5.2.7 | Pesquisa de esteroides e/ou triterpenos..... | 44 |
| 3.6 | PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS E FRAÇÕES..... | 45 |
| 3.6.1 | Extrato aquoso..... | 45 |
| 3.6.2 | Extrato etanólico..... | 45 |
| 3.6.3 | Teor de sólidos..... | 46 |
| 3.6.4 | Fracionamentos dos extratos brutos..... | 47 |
| 3.6.5 | Extração dos frutos..... | 48 |
| 3.6.6 | Rendimento dos extratos brutos e frações..... | 48 |
| 3.7 | PERFIL FITOQUÍMICO DE EXTRATOS E FRAÇÕES..... | 48 |
| 3.8 | QUANTIFICAÇÃO DE FENÓLICOS, FLAVONOIDES E TANINOS..... | 51 |
| 3.8.1 | Determinação do teor de fenólicos totais..... | 51 |
| 3.8.2 | Determinação do teor de flavonoides totais..... | 52 |
| 3.8.3 | Determinação de taninos condensados..... | 52 |
| 3.9 | CAPACIDADE ANTIOXIDANTE <i>IN VITRO</i> | 53 |
| 3.9.1 | Potencial antioxidante pelo teste Redução do Fosfomolibdênio..... | 53 |
| 3.9.2 | Potencial antioxidante pelo método do radical livre DPPH..... | 54 |
| 3.10 | AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES BIOLÓGICAS..... | 55 |
| 3.10.1 | Determinação da citotoxicidade pelo ensaio com <i>Artemia franciscana</i> | 55 |
| 3.10.2 | Avaliação da citotoxicidade sobre eritrócitos..... | 56 |
| 3.10.3 | Avaliação da atividade antibacteriana..... | 57 |
| 4 | RESULTADOS E DISCUSSÃO | 59 |
| 4.1 | REVISÃO INTEGRATIVA..... | 59 |
| 4.1.1 | Compostos químicos isolados..... | 59 |
| 4.1.2 | Atividades biológicas e capacidade antioxidante identificadas..... | 65 |
| 4.1.3 | Potencial citotóxico..... | 75 |
| 4.1.4 | Capacidade antioxidante..... | 76 |
| 4.1.5 | Ação anti-inflamatória..... | 78 |

| | | |
|----------|---|------------|
| 4.1.6 | Inibição da agregação de proteínas LCC..... | 79 |
| 4.2 | MATERIAL VEGETAL..... | 79 |
| 4.3 | ESTUDO MORFOANATÔMICO E HISTOQUÍMICO..... | 80 |
| 4.3.1 | Características morfológicas de folhas, galhos e pecíolo..... | 80 |
| 4.3.2 | Análise histoquímica..... | 87 |
| 4.4 | ENSAIOS FÍSICOS-QUÍMICOS..... | 90 |
| 4.4.1 | Umidade (Perda por dessecação)..... | 90 |
| 4.4.2 | Determinação de cinzas..... | 91 |
| 4.5 | ANÁLISE FITOQUÍMICA..... | 91 |
| 4.6 | PREPARAÇÃO E RENDIMENTO DO EXTRATO BRUTO..... | 94 |
| 4.7 | FRACIONAMENTO..... | 95 |
| 4.8 | PERFIL FITOQUÍMICO DE EXTRATOS E FRAÇÕES..... | 96 |
| 4.9 | QUANTIFICAÇÃO DE FENÓLICOS, FLAVONOIDES E TANINOS..... | 100 |
| 4.10 | CAPACIDADE ANTIOXIDANTE <i>IN VITRO</i> | 103 |
| 4.10.1 | Potencial antioxidante pelo método do radical livre DPPH•..... | 103 |
| 4.10.2 | Potencial antioxidante pelo teste de redução do fosfomolibdênio..... | 106 |
| 4.11 | AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES BIOLÓGICAS..... | 109 |
| 4.11.1 | Avaliação da Toxicidade Frente a <i>Artemia franciscana</i> | 109 |
| 4.12 | Avaliação da citotoxicidade sobre eritrócitos..... | 111 |
| 4.13 | Potencial antimicrobiano..... | 115 |
| 5 | CONCLUSÃO..... | 118 |
| | REFERÊNCIA..... | 120 |
| | ANEXO 1 – EXSICATA DE <i>Chinanthus filiformis</i> (VELL) P.S. GREEN..... | 133 |
| | ANEXO 2 - ACESSO AO PATRIMÔNIO GENÉTICO..... | 134 |

1 INTRODUÇÃO

A pesquisa com amostras vegetais é relevante para a identificação de compostos bioativos (Ntungwe *et al.*, 2020), os quais podem apresentar atividades biológicas e farmacológicas importantes, como propriedades anti-inflamatórias, antioxidantes, antimicrobianas e anticancerígenas (Chan *et al.*, 2016; Dima *et al.*, 2020). Em geral, esses compostos correspondem a metabólitos secundários, associados ao sistema de defesa das plantas e à atração de polinizadores (Mehmood *et al.*, 2022).

A química de produtos naturais destaca-se como uma das principais estratégias para a descoberta de novos fármacos, seja pela aplicação direta de substâncias isoladas ou pela utilização de seus modelos bioativos como inspiração para o desenvolvimento de novas drogas (Viegas; Bolzani; Barreiro, 2006; Barreiro; Bolzani, 2009; Aware *et al.*, 2022). Nesse contexto, as florestas tropicais assumem papel de destaque, pois concentram uma das maiores diversidades química e biológica do planeta, configurando-se como reservatórios estratégicos para a prospecção de moléculas com potencial terapêutico (Braz Filho, 2010; Valli; Bolzani, 2019).

O Brasil apresenta uma expressiva biodiversidade, distribuída em seis biomas terrestres: Caatinga, Cerrado, Amazônia, Mata Atlântica, Pampas e Pantanal, que juntos ocupam aproximadamente 8,5 milhões de km² (Valli; Russo; Bolzani, 2018). Essa riqueza natural reforça não apenas a necessidade de preservação por seu valor ecológico intrínseco, mas também pela relevância farmacológica associada ao potencial de descoberta de novos fármacos (Barreiro; Bolzani, 2009; Braz Filho, 2010).

Entre as famílias botânicas de interesse, destaca-se a Oleaceae, que compreende cerca de 25 gêneros e aproximadamente 790 espécies (Wallander; Albert, 2000; Christenhusz *et al.*, 2017). Os representantes dessa família encontram-se organizados em cinco tribos (*Fontanesieae*, *Forsythieae*, *Jasmineae*, *Myxopyreae* e *Oleeae*) e apresentam como constituintes químicos mais comuns os flavonoides, monoterpenoides, iridoides, secoiridoides e glicosídeos (Huang *et al.*, 2019).

Inserido nesse grupo, o gênero *Chionanthus* L. reúne 140 espécies distribuídas em regiões tropicais e subtropicais da Ásia, África, América e Austrália,

além de áreas temperadas do leste asiático e nordeste da América (Fernández-Alonso; Cogollo-Pacheco, 2016). Classificado na subfamília *Oleoideae*, tribo *Oleeae* e subtribo *Oleinae*, o gênero apresenta monofilia confirmada por dados moleculares (Green, 1994; Kew Science, 2024). Estudos anteriores apontaram a presença de metabólitos bioativos relevantes nesse grupo, reforçando sua importância para pesquisas fitoquímicas e farmacológicas.

Entre as espécies do gênero *Chionanthus* L., destaca-se *Chionanthus filiformis* (Vell.) P. S. Green, popularmente conhecida como azeitona-do-mato ou azeitona-silvestre. A espécie apresenta como sinônimos taxonômicos *Bonamica filiformis* Vell., *Chionanthus mandioccanus* (Eichler) Lozano & Fuertes, *Linociera mandioccana* Eichler e *Mayepea mandioccana* (Eichler) Kuntze (Biral, Lombardi, 2024, Kolba, Gomes, Lombardi, 2020).

Assim, o estudo de espécies de *Chionanthus* L., em especial de *C. filiformis*, apresenta relevância científica e farmacológica. A investigação dessa espécie contribui para a caracterização morfoanatômica, a identificação de compostos bioativos e a avaliação de suas atividades biológicas, ampliando o conhecimento sobre a biodiversidade brasileira e seu potencial terapêutico.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo geral

Avaliar a composição fitoquímica, as características morfoanatômicas e as atividades biológicas da planta *Chionanthus filiformis* (Vell) P. S. Green.

1.2.2 Objetivos específicos

- Realizar uma revisão integrativa do gênero *Chionanthus* L.;
- Coletar amostras de caules, folhas e frutos da planta *Chionanthus filiformis* (Vell) P. S. Green;
- Realizar o estudo morfoanatômico dos caules e folhas;
- Determinar as características físico-químicas das amostras coletadas;
- Realizar análise fitoquímica preliminar das amostras coletadas;

- Preparar o extratos etanólicos das folhas e caules e frações dos caules, folhas e frutos de *Chionanthus filiformis* (Vell) P. S. Green;
- Extrair óleo essencial das folhas e caules e obter o extrato aquoso de *Chionanthus filiformis* (Vell) P. S. Green;
- Fracionar os extratos e identificar as principais classes de constituintes presentes nos extratos e frações de folhas, caules e frutos;
- Identificar o teor de compostos fenólicos, flavonoides e taninos totais;
- Investigar a capacidade antioxidante dos extratos etanólicos, extratos aquosos e frações de folhas, caules e frutos de *Chionanthus filiformis* (Vell) P. S. Green;
- Determinar a toxicidade dos extratos etanólicos, extratos aquosos e frações de folhas, caules e frutos frente ao microcrustáceo *Artemia franciscana*;
- Analisar a atividade hemolítica dos extratos etanólicos, extratos aquosos e frações de folhas, caules de *Chionanthus filiformis* (Vell) P. S. Green;
- Verificar a atividade antimicrobiana dos extratos etanólicos, extratos aquosos e frações de folhas, caules de *Chionanthus filiformis* (Vell) P. S. Green.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 FAMÍLIA OLEACEAE

A família Oleaceae é composta por 25 gêneros e cerca de 790 espécies (Christenhusz *et al.*, 2017), apresentando distribuição global, predominando em regiões tropicais, subtropicais e temperadas, conforme demonstrado na TABELA 1 (WFO, 2025)

TABELA 1 – GÊNEROS DA FAMÍLIA OLEACEAE: CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS E DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA

(continua)

| Gênero | Características morfológicas | Distribuição |
|----------------------------|--|------------------------|
| <i>Abeliophyllum</i> Nakai | Arbustos caducifólios; folhas simples, opostas, inteiras; flores pequenas, hermafroditas, solitárias ou em cimeiras terminais, brancas ou rosadas; 2 estames; ovário súpero, bicarpelar e unilocular; fruto cápsula pequena | Coreia do Sul |
| <i>Chionanthus</i> L. | Árvores ou arbustos perenes ou decíduos; folhas simples, opostas; flores pequenas em panículas ou racemos; 2 estames; ovário súpero, bicarpelar, unilocular; fruto drupa monospérmica. | Américas, Ásia, África |
| <i>Comoranthus</i> Knobl | Árvores ou arbustos perenes; folhas simples, opostas, inteiras; flores pequenas, hermafroditas, reunidas em racemos ou panículas; 2 estames; ovário súpero, bicarpelar e unilocular; fruto drupa pequena, geralmente monospérmica. | Comores e Madagascar |
| <i>Dimetra</i> P.S. Green | Árvores ou arbustos perenes; folhas simples, opostas; flores pequenas em panículas; 2 estames; ovário súpero, bicarpelar, unilocular; fruto drupa ou cápsula monospérmica. | Sudeste Asiático |
| <i>Fontanesia</i> Labill. | Árvores ou arbustos decíduos; folhas | Oeste e Sul da Ásia |

| | | |
|----------------------------|--|------------------------------------|
| | <p>simples, opostas; flores pequenas em panículas ou cimeiras; 2 estames; ovário súpero, bicarpelar, unilocular; fruto drupa pequena, monospérmica.</p> | (continua) Mediterrâneo |
| <i>Forestiera</i> Poir | <p>Árvores ou arbustos caducifólios; folhas simples, opostas, inteiras; flores pequenas, hermafroditas ou unissexuais, reunidas em racemos ou panículas; 2 estames; ovário súpero, bicarpelar e unilocular; fruto drupa ou cápsula pequena</p> | América do Norte, Central e do Sul |
| <i>Forsythia</i> Vahl | <p>Arbustos caducifólios; folhas simples, opostas; flores pequenas a médias em racemos; 2 estames; ovário súpero, bicarpelar, unilocular; fruto cápsula.</p> | Leste da Ásia |
| <i>Fraxinus</i> L. | <p>Árvores decíduas; folhas compostas, opostas; flores pequenas, hermafroditas ou unissexuais; 2 estames; ovário súpero, bicarpelar, unilocular; fruto sâmara alada.</p> | Hemisfério Norte |
| <i>Haenianthus</i> Griseb. | <p>Árvores ou arbustos perenes; folhas simples, opostas, inteiras; flores pequenas, hermafroditas, reunidas em racemos ou panículas; 2 estames; ovário súpero, bicarpelar e unilocular; fruto drupa pequena, geralmente monospérmica</p> | Caribe |
| <i>Hesperelaea</i> A. Gray | <p>Árvores ou arbustos perenes; folhas simples, opostas; flores pequenas em racemos ou panículas; 2 estames; ovário súpero, bicarpelar, unilocular; fruto drupa pequena.</p> | México |
| <i>Jasminum</i> L. | <p>Trepadeiras, arbustos ou pequenas árvores perenes; folhas simples ou compostas, opostas; flores pequenas a médias em cimeiras ou panículas; 2 estames; ovário súpero, bicarpelar, unilocular; fruto baga ou drupa.</p> | Ásia, África, Oceania |
| <i>Ligustrum</i> L. | <p>Arbustos ou pequenas árvores perenes; folhas simples, opostas, inteiras;</p> | Europa, Ásia, Norte da África |

| | | |
|--------------------------------|---|----------------------------|
| | flores pequenas em panículas ou racemos; 2 estames; ovário súpero, bicarpelar, unilocular; fruto drupa escura. | (continua) |
| <i>Menodora</i> Humb. & Bonpl. | Arbustos ou subarbustos perenes; folhas simples, opostas; flores pequenas em racemos ou cimeiras; 2 estames; ovário súpero, bicarpelar, unilocular; fruto cápsula pequena. | América do Norte e Central |
| <i>Myxopyrum</i> Blume | Arbustos ou trepadeiras perenes; folhas simples, opostas; flores pequenas em racemos ou panículas; 2 estames; ovário súpero, bicarpelar, unilocular; fruto cápsula ou drupa. | Sudeste Asiático |
| <i>Nestegis</i> F. Muell. | Árvores ou arbustos perenes; folhas simples, opostas, inteiras; flores pequenas, hermafroditas em racemos ou cimeiras; 2 estames; ovário súpero, bicarpelar, unilocular; fruto drupa. | Nova Zelândia, Austrália |
| <i>Noronhia</i> Thouars | Árvores ou arbustos perenes; folhas simples, opostas, inteiras; flores pequenas em racemos ou panículas; 2 estames; ovário súpero, bicarpelar, unilocular; fruto drupa. | Madagascar |
| <i>Notelaea</i> Vent. | Árvores ou arbustos perenes; folhas simples, opostas, inteiras; flores pequenas, hermafroditas, reunidas em racemos ou panículas; 2 estames; ovário súpero, bicarpelar e unilocular; fruto drupa pequena, geralmente monospérmica | Austrália |
| <i>Nyctanthes</i> L. | Arbustos ou pequenas árvores perenes; folhas simples, opostas, inteiras; flores pequenas a médias em racemos ou cimeiras, brancas com garganta laranja; 2 estames; ovário súpero, bicarpelar, unilocular; fruto cápsula pequena. | Sul da Ásia |
| <i>Olea</i> L. | Árvores ou arbustos perenes; folhas simples, opostas, inteiras e coriáceas; flores pequenas em panículas axilares ou terminais; | Mediterrâneo, África, Ásia |

| | | |
|-------------------------------|---|------------------------|
| | 2 estames; ovário súpero, bicarpelar, unilocular; fruto drupa carnosa. | (conclusão) |
| <i>Osmanthus</i> Lour. | Árvores ou arbustos perenes; folhas simples, opostas, inteiras ou serradas; flores pequenas em cimeiras ou panículas; 2 estames; ovário súpero, bicarpelar, unilocular; fruto drupa pequena. | Leste da Ásia |
| <i>Philadelphía</i> L. | Arbustos caducifólios; folhas simples, opostas, inteiras; flores pequenas, hermafroditas, solitárias ou em cimeiras; 2 estames; ovário súpero, bicarpelar e unilocular; fruto cápsula pequena | China, Coreia, Japão |
| <i>Picconia</i> Webb & Berth. | Árvores ou arbustos perenes; folhas simples, opostas, inteiras; flores pequenas, hermafroditas, reunidas em cimeiras ou panículas; 2 estames; ovário súpero, bicarpelar e unilocular; fruto drupa pequena | Macaronésia |
| <i>Schrebera</i> J.F. Gmel. | Árvores ou arbustos perenes; folhas simples, opostas; flores pequenas em racemos ou panículas; 2 estames; ovário súpero, bicarpelar, unilocular; fruto cápsula ou drupa pequena. | África, Ásia |
| <i>Syringa</i> L. | Arbustos ou pequenas árvores caducifólias; folhas simples, opostas, inteiras; flores pequenas a médias em panículas terminais; 2 estames; ovário súpero, bicarpelar, unilocular; fruto cápsula oblonga. | Leste da Europa e Ásia |

FONTE: Adaptado de WFO (2025)

As espécies ocupam diversos habitats, desde florestas tropicais úmidas até regiões temperadas e semiáridas, evidenciando grande plasticidade ecológica. Essa diversidade está relacionada a adaptações morfológicas e fisiológicas, como folhas resistentes à dessecação, capacidade de crescimento em solos pobres e estratégias de dispersão de sementes adaptadas a diferentes agentes polinizadores e dispersores (Mabberley, 2017).

A família é atualmente classificada em cinco tribos: *Fontanesieae*, *Forsythieae*, *Jasmineae*, *Myxopyreae* e *Oleeae* (Wallander, Albert, 2000).

A diversidade química da família inclui flavonoides, monoterpenoides, iridoides, secoiridoides e glicosídeos, associados a atividades biológicas como propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, antimicrobianas, hepatoprotetoras e anticancerígenas (Huang *et al.*, 2019; Chan *et al.*, 2016; Dupin *et al.*, 2020). Entre os gêneros, destacam-se *Olea* (oliveira), *Fraxinus* (freixo), *Jasminum* (jasmim), *Forsythia*, *Osmanthus* e *Syringa*, todos com grande importância econômica, ornamental e ecológica (Fernández-Alonso, Cogollo-Pacheco, 2016). O gênero *Olea* apresenta diversos usos medicinais. As folhas de *Olea europaea* L. são utilizadas no tratamento da hipertensão arterial e na prevenção de doenças cardiovasculares (Maghrani *et al.*, 2004; Stevens *et al.*, 2021; Lawrendiadis, 1961), e o óleo essencial obtido das folhas ou frutos é empregado no tratamento de reumatismo, problemas circulatórios e como laxante (Feo *et al.*, 1992; Ghazanfar, Al-Al-Sabahi, 1993). No gênero *Fraxinus*, as sementes de *Fraxinus excelsior* L. possuem efeito hipoglicemiante (Bai *et al.*, 2010), enquanto as cascas de *Fraxinus ornus* L. são utilizadas para controle do colesterol e no tratamento de distúrbios gastrointestinais, incluindo diarreias (Maghrani *et al.*, 2004; Feo *et al.*, 1992). O gênero *Syringa* apresenta extratos e compostos químicos presentes em flores, caules, cascas e raízes com atividades hepatoprotetora, anti-inflamatória, antibacteriana, antiviral e antitumoral. As flores são aproveitadas para extração de óleo essencial e fabricação de perfumes, enquanto a madeira é utilizada na indústria moveleira (Wenbo *et al.*, 2021). Além disso, na medicina popular, os botões de *Strongylus vulgaris* L. são utilizados no tratamento de dores articulares (Söukand *et al.*, 2017).

2.2 GÊNERO *Chionanthus* L.

Entre os gêneros da família Oleaceae, destaca-se *Chionanthus* L, incluído na subfamília Oleoideae, tribo Oleeae e subtribo Oleinae, cuja monofilia tem sido confirmada por estudos moleculares (Green, 1994; Kew Science, 2024). O gênero compreende cerca de 140 espécies, conforme apresentado na TABELA 2, distribuídas pelas regiões tropicais e subtropicais da Ásia, África, América e

Austrália, além das zonas temperadas do leste asiático e do nordeste americano (Fernández-Alonso & Cogollo-Pacheco, 2016; Song *et al.*, 2016; POWO, 2025). No Brasil, são reconhecidas doze espécies nativas (Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2025).

TABELA 2 – RELAÇÃO DAS ESPÉCIES DE *Chionanthus* L. COM RESPECTIVOS AUTORES E ÁREAS DE OCORRÊNCIA

(continua)

| Espécie | Localização | Autor e Ano |
|------------------------------------|-------------------------------|-----------------------------------|
| <i>Chionanthus abriacquiensis</i> | Colômbia, Antioquia | Fern.Alonso & Cogollo, 2016 |
| <i>Chionanthus acuminatissimus</i> | Filipinas | (Merr.) Kiew ex de Juana, 2016 |
| <i>Chionanthus acunae</i> | Cuba | (Borhidi & O.Muñiz) Borhidi, 1980 |
| <i>Chionanthus adamsii</i> | Jamaica | Stearn, 1979 |
| <i>Chionanthus albidiflorus</i> | Sri Lanka | Thwaites, 1860 |
| <i>Chionanthus ambliirrhinus</i> | Tailândia | P.S.Green, 1999 |
| <i>Chionanthus avilensis</i> | Venezuela | P.S.Green, 1994 |
| <i>Chionanthus axillaris</i> | Austrália, Queensland | R.Br., 1810 |
| <i>Chionanthus axilliflorus</i> | Cuba | (Griseb.) Stearn, 1976 |
| <i>Chionanthus bakeri</i> | Cuba | (Urb.) Stearn, 1977 |
| <i>Chionanthus balgooyanus</i> | Indonésia, Bornéu, Sarawak | Kiew, 2002 |
| <i>Chionanthus beccarii</i> | Indonésia, Sumatra | (Stapf) Kiew, 1998 |
| <i>Chionanthus brachystachys</i> | Nova Caledônia | (Schltr.) P.S.Green, 1998 |
| <i>Chionanthus brassii</i> | Papua-Nova Guiné | (Kobuski) Kiew, 1998 |
| <i>Chionanthus bumelioides</i> | Bahamas, Cuba, Hispaniola | (Griseb.) Stearn, 1976 |
| <i>Chionanthus callophylloides</i> | Indonésia, Bornéu | Kiew, 2002 |
| <i>Chionanthus callophyllus</i> | Tailândia, Malásia, Indonésia | Blume, 1851 |
| <i>Chionanthus caudifolius</i> | Malásia, Península da Malásia | (Ridl.) Kiew, 1979 |
| <i>Chionanthus caymanensis</i> | Ilhas Cayman | Stearn, 1979 |
| <i>Chionanthus celebicus</i> | Indonésia, Sulawesi | Koord., 1898 |
| <i>Chionanthus chrysopetalus</i> | Peru | Cornejo ex Lombardi, 2017 |
| <i>Chionanthus clementis</i> | Filipinas | (Quisumb. & Merr.) Kiew, 1998 |
| <i>Chionanthus colonchensis</i> | Equador | Cornejo & Bonifaz, 2004 |

| | | (continua) |
|----------------------------------|--|--------------------------------------|
| <i>Chionanthus compactus</i> | Jamaica, Hispaniola | Sw., 1788 |
| <i>Chionanthus cordulatus</i> | Indonésia, Bornéu, Sulawesi, Maluku | Koord., 1898 |
| <i>Chionanthus coriaceus</i> | Taiwan | (S.Vidal) Yuen P.Yang & S.Y.Lu, 1998 |
| <i>Chionanthus courtallensis</i> | Índia, Tamil Nadu, Kerala | Bedd., 1872 |
| <i>Chionanthus crassifolius</i> | Brasil | (Mart.) P.S.Green, 1994 |
| <i>Chionanthus crispus</i> | Indonésia, Bornéu, Sarawak, Sabah | Kiew, 1981 |
| <i>Chionanthus curvicaarpus</i> | Malásia, Malásia Ocidental | Kiew, 1985 |
| <i>Chionanthus cuspidatus</i> | Indonésia, Bornéu | Blume, 1851 |
| <i>Chionanthus decipiens</i> | Mianmar, Tailândia, Península da Tailândia | P.S.Green, 1996 |
| <i>Chionanthus densiflorus</i> | Indonésia, Java, Sumatra | Zoll. & Moritzi, 1845 |
| <i>Chionanthus dictyophyllus</i> | Hispaniola | (Urb.) Stearn, 1977 |
| <i>Chionanthus diversifolius</i> | Indonésia, Sumatra | Miq., 1861 |
| <i>Chionanthus domingensis</i> | Cuba, República Dominicana, Haiti, Jamaica, México, Panamá, Porto Rico | Lam., 1791 |
| <i>Chionanthus dussii</i> | Ilhas de Barlavento | (Krug & Urb.) Stearn, 1976 |
| <i>Chionanthus ellipticus</i> | Indonésia, Java, Sumatra | Blume, 1851 |
| <i>Chionanthus enerve</i> | Indonésia, Bornéu, Sarawak | (Steenis) Kiew, 1983 |
| <i>Chionanthus eriorachis</i> | Tailândia | (Kerr) P.S.Green, 1996 |
| <i>Chionanthus evenius</i> | Indonésia, Bornéu | (Stapf) Kiew, 1979 |
| <i>Chionanthus ferrugineus</i> | Brasil, Minas Gerais, Espírito Santo | (Gilg) P.S.Green, 1994 |
| <i>Chionanthus filiformis</i> | Brasil, Região Sul e Sudeste | (Vell.) P.S.Green, 1994 |
| <i>Chionanthus fluminensis</i> | Brasil, Rio de Janeiro | (Miers) P.S.Green, 1994 |
| <i>Chionanthus gardingor</i> | Tailândia | Kiew, 2016 |
| <i>Chionanthus gigas</i> | Papua-Nova Guiné | (Lingelsh.) Kiew, 1998 |
| <i>Chionanthus globosus</i> | Indonésia, Bornéu | (Kiew) Kiew, 2002 |
| <i>Chionanthus glomeratus</i> | Indonésia, Sumatra | Blume, 1851 |
| <i>Chionanthus grandifolius</i> | Filipinas | (Elmer) Kiew, 1985 |

| | | |
|----------------------------------|---|----------------------------------|
| <i>Chionanthus greenii</i> | Brasil, Minas Gerais | (continua) Lombardi, 2006 |
| <i>Chionanthus guangxiensis</i> | China, Guangxi | B.M.Miao, 1985 |
| <i>Chionanthus guianensis</i> | Guiana Francesa, Venezuela | (Aubl.) Pers., 1805 |
| <i>Chionanthus hahlii</i> | Arquipélago de Bismarck, Ilhas Salomão | (Rech.) Kiew, 1998 |
| <i>Chionanthus hainanensis</i> | China, Hainan | (How & Chun) B.M.Miao, 1985 |
| <i>Chionanthus harmandii</i> | Laos, Vietnã | (Gagnep.) de Juana, 2016 |
| <i>Chionanthus havilandii</i> | Indonésia, Bornéu | Kiew, 1980 |
| <i>Chionanthus henryae</i> | Estados Unidos | H.L.Li, 1986 |
| <i>Chionanthus holdridgii</i> | Porto Rico | (Camp & Monach.) Stearn, 1976 |
| <i>Chionanthus implicatus</i> | Bolívia, Brasil, Colômbia, Equador, Peru, Venezuela | (Rusby) P.S.Green, 1994 |
| <i>Chionanthus jamaicensis</i> | Jamaica | (Urb.) Stearn, 1977 |
| <i>Chionanthus kajewskii</i> | Ilhas Salomão | (Sleum.) Kiew, 1998 |
| <i>Chionanthus kinabaluensis</i> | Indonésia, Bornéu, Sabah, Monte Kinabalu | Kiew, 2002 |
| <i>Chionanthus kostermansii</i> | Indonésia, Ilhas Sunda Menores, Sulawesi | Kiew, 2015 |
| <i>Chionanthus lancifolius</i> | Malásia, Península da Malásia | (Ridl.) Kiew, 1979 |
| <i>Chionanthus leopoldii</i> | Indonésia, Bornéu | Kiew, 2002 |
| <i>Chionanthus ligustrinus</i> | México, Caribe | (Sw.) Pers., 1805 |
| <i>Chionanthus littoreus</i> | Indonésia, Sumatra | Miq., 1861 |
| <i>Chionanthus longiflorus</i> | China | (H.L.Li) B.M.Miao, 1987 |
| <i>Chionanthus longipetalus</i> | Indonésia, Bornéu | (Merr.) Kiew, 1980 |
| <i>Chionanthus lucens</i> | Indonésia, Bornéu | Kiew, 1981 |
| <i>Chionanthus luzonicus</i> | Filipinas, Luzon | Blume, 1851 |
| <i>Chionanthus macrobotrys</i> | Indonésia, Bornéu | (Merr.) Kiew, 1983 |
| <i>Chionanthus macrocarpus</i> | Indonésia, Java, Bornéu | Blume, 1851 |
| <i>Chionanthus macrothyrsus</i> | Vietnã | (Merr.) Soejarto & P.K.Lôc, 2004 |
| <i>Chionanthus mala-elengi</i> | Sul e Sudeste da Ásia | (Dennst.) P.S.Green, 1984 |
| <i>Chionanthus maxwellii</i> | Tailândia | P.S.Green, 2000 |

| | | (continua) |
|-----------------------------------|---|---|
| <i>Chionanthus megistocarpus</i> | Colômbia | Fern.Alonso & Cogollo, 2016 |
| <i>Chionanthus micranthus</i> | Brasil, Bahia | (Mart.) Lozano Fuertes, 1992 |
| <i>Chionanthus microbotrys</i> | Camboja, Laos, Tailândia, Vietnã | (Kerr) P.S.Green, 1996 |
| <i>Chionanthus microstigma</i> | Camboja, Laos, Tailândia, Vietnã | (Gagnep.) P.S.Green, 1996 |
| <i>Chionanthus minutiflorus</i> | Índia, Myanmar | Kurz, 1877 |
| <i>Chionanthus montanus</i> | Índia, Ilhas Andaman & Nicobar, Indonésia, Jawa | Blume, 1826 |
| <i>Chionanthus monteazulensis</i> | Brasil, Minas Gerais | Zavatin & Lombardi, 2023 |
| <i>Chionanthus nitens</i> | Indonésia, Java | Koord. & Valetton, 1902 |
| <i>Chionanthus nitidus</i> | Filipinas | (Merr.) Kiew, 1998 |
| <i>Chionanthus oblanceolatus</i> | América Central | (B.L.Rob.) P.S.Green, 1994 |
| <i>Chionanthus oblongifolius</i> | Indonésia, Sumatra, Java | Koord. & Valetton, 1902 |
| <i>Chionanthus oliganthus</i> | Indonésia, Bornéu | (Merr.) Kiew, 1980 |
| <i>Chionanthus pachyphyllus</i> | Indonésia, Bornéu | (Merr.) Kiew, 1960 |
| <i>Chionanthus palustris</i> | Indonésia, Bornéu | Kiew, 1980 |
| <i>Chionanthus panamensis</i> | México, Colômbia | (Standl.) Stearn, 1977 |
| <i>Chionanthus parkinsonii</i> | China, Hainan, Laos, Malásia, Mianmar, Tailândia, Vietnã | (Hutch.) Bennet & Raizada, 1981 |
| <i>Chionanthus parviflorus</i> | Brasil, Bahia, Espírito Santo | Cornejo, Lombardi & W.W.Thomas, 2011 |
| <i>Chionanthus pedunculatus</i> | Nova Caledônia | P.S.Green, 1998 |
| <i>Chionanthus plurifloroides</i> | Indonésia, Bornéu | Kiew, 2002 |
| <i>Chionanthus pluriflorus</i> | Indonésia, Bornéu | (Knobl.) Kiew, 1980 |
| <i>Chionanthus polycephalus</i> | Indonésia, Bornéu | Kiew, 1980 |
| <i>Chionanthus polygamu</i> | Sul e Sudeste da Ásia | (Roxb.) Kiew, 2002 |
| <i>Chionanthus porcatus</i> | Indonésia, Bornéu | Kiew, 1980 |
| <i>Chionanthus proctorii</i> | Jamaica | Stearn, 1979 |
| <i>Chionanthus pubescens</i> | Peru, Equador | Kunth, 1819 |
| <i>Chionanthus pubicalyx</i> | Indonésia, Bornéu | (Ridl.) Kiew, 1981 |
| <i>Chionanthus purpureus</i> | Sri Lanka | Lam., 1791 |
| <i>Chionanthus pygmaeus</i> | EUA, Flórida | Small, 1924 |
| <i>Chionanthus pyriformis</i> | Tailândia | Kiew, 2016 |

| | | (continua) |
|------------------------------------|-----------------------------------|------------------------------|
| <i>Chionanthus quadristamineus</i> | Austrália, Ilha de Lord Howe | F.Muell., 1873 |
| <i>Chionanthus racemosus</i> | Filipinas | (Merr.) Kiew & Pelsner, 2021 |
| <i>Chionanthus ramiflorus</i> | Sul e Sudeste da Ásia | Roxb., 1820 |
| <i>Chionanthus remotinervius</i> | Filipinas | (Merr.) Kiew, 1998 |
| <i>Chionanthus retusus</i> | China, Japão, Coreia | Lindl. & Paxton, 1852 |
| <i>Chionanthus riparius</i> | Papua-Nova Guiné | (Lingelsh.) Kiew, 1998 |
| <i>Chionanthus robinsonii</i> | Vietnã | (Gagnep.) B.H.Quang, 2014 |
| <i>Chionanthus rostratus</i> | Indonésia, Jawa | (Teijsm. & Binn.) Miq., 1857 |
| <i>Chionanthus rugosus</i> | Indonésia, Bornéu | Kiew, 1980 |
| <i>Chionanthus rupicola</i> | Indonésia, Sulawesi | (Lingelsh.) Kiew, 1998 |
| <i>Chionanthus sabahensis</i> | Indonésia, Bornéu, Sabah | Kiew, 2002 |
| <i>Chionanthus salicifolius</i> | Papua-Nova Guiné | (Lingelsh.) Kiew, 1998 |
| <i>Chionanthus sessiliflorus</i> | Papua-Nova Guiné, Ilhas Carolinas | (Hemsl.) Kiew, 1985 |
| <i>Chionanthus sleumeri</i> | Austrália, Queensland | (C.T.White) Stearn, 1995 |
| <i>Chionanthus sordidus</i> | Indonésia, Sulawesi | Kiew, 2015 |
| <i>Chionanthus spicatus</i> | Indonésia, Bornéu | Blume, 1851 |
| <i>Chionanthus spicifer</i> | Malásia | (Ridl.) Kiew, 1979 |
| <i>Chionanthus stenurus</i> | Indonésia, Sulawesi | (Merr.) Kiew, 1998 |
| <i>Chionanthus subcapitatus</i> | Vietnã | (Merr.) B.H.Quang, 2014 |
| <i>Chionanthus subsessilis</i> | Brasil, Minas Gerais | (Eichler) P.S.Green, 1994 |
| <i>Chionanthus sulawesicus</i> | Indonésia, Sulawesi | Kiew, 2015 |
| <i>Chionanthus sumatranus</i> | Indonésia, Sumatra | Blume, 1851 |
| <i>Chionanthus sutepensis</i> | Tailândia | (Kerr) P.S.Green, 1996 |
| <i>Chionanthus tenuis</i> | Brasil, Rio de Janeiro | P.S.Green, 1994 |
| <i>Chionanthus thorelii</i> | Camboja, Laos, Tailândia, Vietnã | (Gagnep.) P.S.Green, 1996 |
| <i>Chionanthus timorensis</i> | Indonésia, Ilhas Sundas | Blume, 1851 |
| <i>Chionanthus trichotomus</i> | Argentina, Brasil, Paraguai | (Vell.) P.S.Green, 1994 |
| <i>Chionanthus urbanii</i> | República Dominicana, Haiti | (Knobl.) Stearn, 1977 |
| <i>Chionanthus vargasii</i> | Colômbia | Fern.Alonso & Cogollo, 2017 |
| <i>Chionanthus velutinus</i> | Tailândia | (Kerr) P.S.Green, 1996 |
| <i>Chionanthus verruculatus</i> | China | D.Fang, 2001 |

| | | |
|-----------------------------------|------------------------------|-------------------------|
| <i>Chionanthus virginicus</i> | EUA, sudeste | (conclusão) L., 1753 |
| <i>Chionanthus vitiensis</i> | Fiji, Vanuatu | (Seem.) A.C.Sm., 1988 |
| <i>Chionanthus wurdackii</i> | Peru | B.Stâhl, 1991 |
| <i>Chionanthus zeylanicus</i> | Índia, Tamil Nadu, Sri Lanka | L., 1753 |
| <i>Chionanthus zollingerianus</i> | Indonésia, Java | Koord. & Valeton, 1902 |

FONTE: Adaptado de PWO (2025)

Estudos com plantas do gênero *Chionanthus* L. identificaram metabólitos bioativos como flavonoides, secoiridoides, lignanoides, cumarinas, polissacarídeos e ácidos fenólicos. Esses compostos demonstraram atividades antioxidante, anti-inflamatória, antiagregação proteica e citotóxica (Boyer et al., 2005; Boyer et al., 2011; Penman; Bone; Lehmann, 2008; Mihai et al., 2023; Lee et al., 2019; Wang et al., 2021; Kwak et al., 2009).

Dentre as espécies, algumas são utilizadas na medicina popular. As folhas de *Chionanthus virginicus* L. são usadas como colagogo, diurético e tônico (Gülçin et al., 2008). O pó das cascas de *Chionanthus pubescens* Kunth é empregado como purgante e diurético (Lopez-Corona et al., 2022). As cascas de *Chionanthus zeylanica* L. são eficazes para controlar o corrimento branco (Venkateswararao; Ayyaraju; Kammakshamma, 2013). As folhas de *Chionanthus retusus* Lindl. & Paxton são aplicadas no tratamento de diarreias e dores estomacais (Arias et al., 2011; Chen et al., 2018). As folhas e cascas de *Chionanthus mala-elengi* (Dennst.) P. S. Green são utilizadas para tratar tonturas, epilepsia, cicatrização de feridas e doenças hepáticas (Malathi et al., 2020).

2.3 ESPÉCIE *Chionanthus filiformis* (VELL) P. S. GREEN

Chionanthus filiformis (Vell.) P.S. Green apresenta como sinônimo homotípico *Bonamica filiformis* Vell. e como sinônimos heterotípicos *Chionanthus mandioccanus* (Eichler) Lozano & Fuertes, *Linociera mandioccana* Eichler e *Mayepea mandioccana* (Eichler) Kuntze. Popularmente, a espécie é conhecida como “azeitona-do-mato” ou “azeitona-silvestre”. Sua classificação taxonômica encontra-se apresentada no QUADRO 1. Trata-se de uma árvore que pode atingir de 6 a 12 metros de altura, com folhas opostas, simples, inteiras e cartáceas, apresentando

domácias e nervuras centrais e secundárias bem evidentes na face adaxial. As inflorescências são axilares e paniculadas, com flores pediceladas, cálice verde, lobos triangulares e corola branca, produzindo frutos do tipo drupa (Teixeira et al., 2016). No Brasil, a espécie é endêmica da Mata Atlântica, ocorrendo nos estados de Santa Catarina, Paraná, Bahia e em todos os estados da região Sudeste (Lombardi, 2015; Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2025).

QUADRO 1 – HIERARQUIA TAXONÔMICA DE *Chionanthus filiformis* P.S. Green

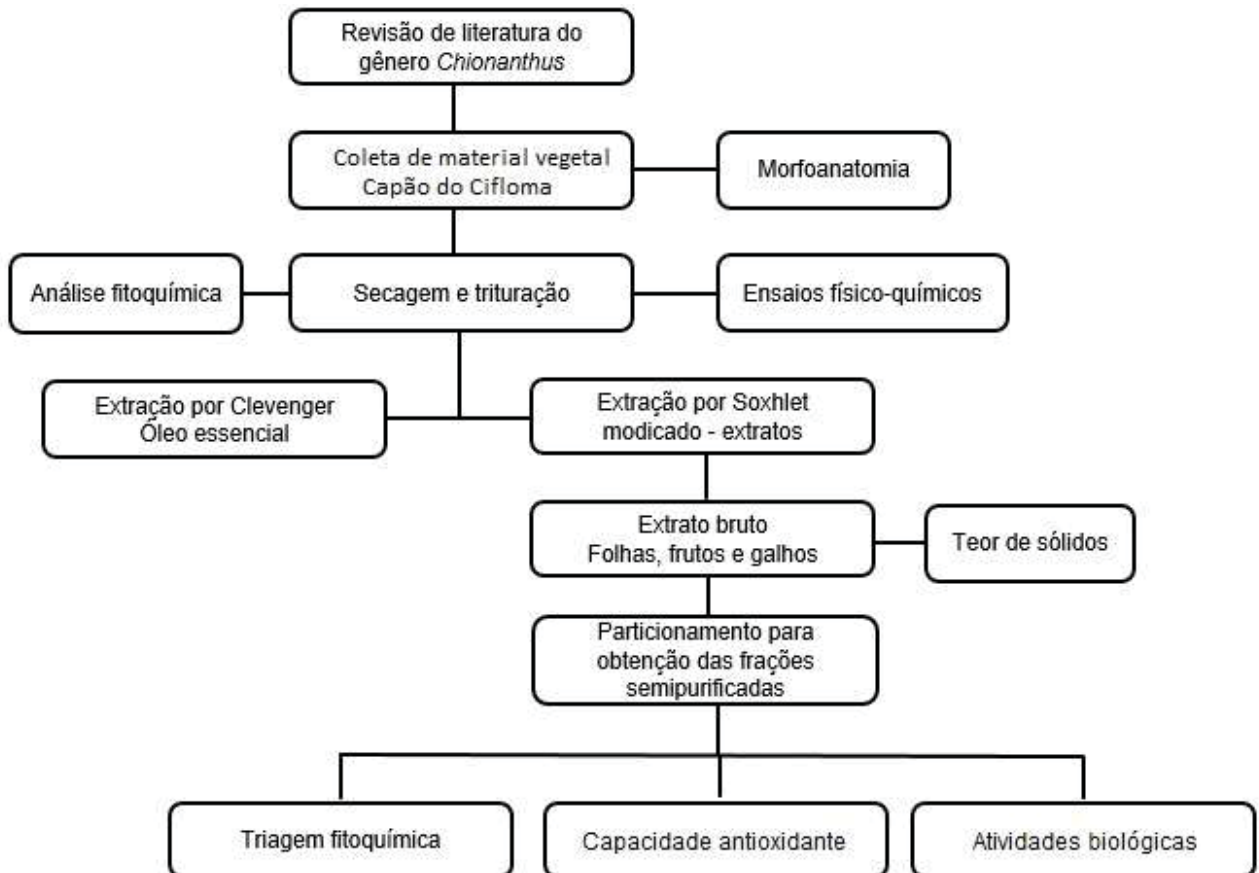
| Categoria | Taxonomia |
|------------------|--|
| Reino | Plantae |
| Divisão | Magnoliophyta |
| Classe | Magnoliopsida |
| Ordem | Lamiales |
| Família | Oleaceae |
| Gênero | <i>Chionanthus</i> L. |
| Espécie | <i>Chionanthus filiformis</i> P.S. Green |

FONTE: Adaptado de Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Flora e Funga do Brasil (2025)

3. MATERIAL E MÉTODOS

O fluxograma apresentado na FIGURA 1 facilita a identificação e a compreensão de cada etapa desta pesquisa científica.

FIGURA 1 - FLUXOGRAMA DAS FASES DA PESQUISA COM *Chionanthus filiformis*



FONTE: A autora (2025)

3.1 REVISÃO INTEGRATIVA DE *Chionanthus* L.

A revisão foi produzida com o objetivo de consolidar informações relevantes e abrangentes sobre os compostos isolados e as atividades biológicas de espécies de *Chionanthus* L.

3.1.1 Metodologia

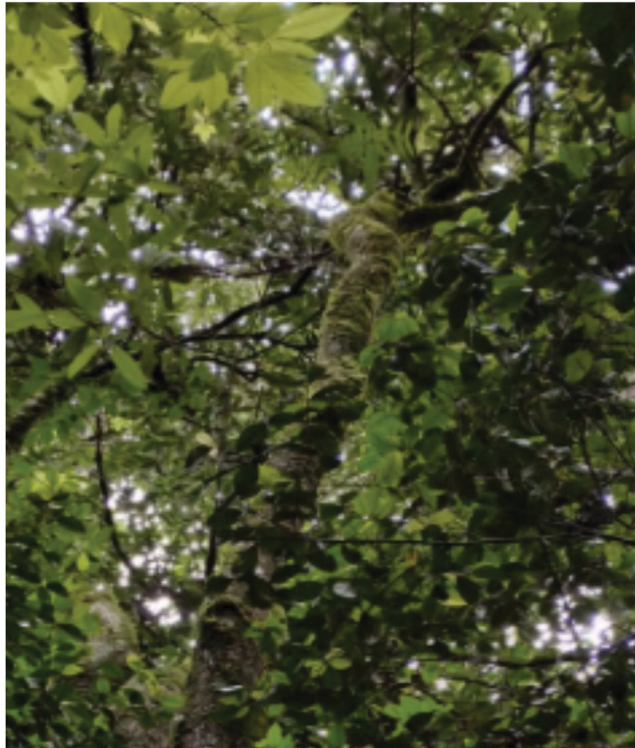
Foi realizada uma busca abrangente utilizando o termo "Chionanthus" nas bases Google Scholar, LILACS, Medline, SciELO, Scopus e Web of Science, sem restrição de data de publicação. Foram utilizados os termos "Chionanthus e atividade biológica" e "Chionanthus e compostos isolados", para seleção dos artigos, além de uma busca manual nas referências bibliográficas dos artigos selecionados. O aplicativo Rayyan foi empregado para organizar os registros e eliminar duplicatas.

Foram inicialmente selecionados 117 artigos publicados entre 2005 e abril de 2025, dos quais 15 foram considerados relevantes para a análise de atividades biológicas e dos compostos químicos isolados. Foram excluídos artigos com foco em botânica ou agronomia, bem como publicações duplicadas. Os artigos incluídos foram lidos na íntegra, e os dados organizados em planilha do Microsoft Excel, registrando informações como espécie, parte utilizada, local de coleta, amostra analisada, ensaio realizado, resultados obtidos e referências bibliográficas. Todo o processo de seleção e análise dos artigos foi conduzido por dois revisores de forma independente. A revisão incluiu apenas artigos originais, publicados em português, inglês ou espanhol, que apresentassem informações sobre constituintes químicos ou atividades biológicas de espécies do gênero *Chionanthus* L.

3.2 MATERIAL VEGETAL

O material vegetal da espécie *Chionanthus filiformis* (Vell.) P. S. Green foi coletado em 23 de outubro de 2023, no Capão do Cifloma, situado no Campus Botânico da Universidade Federal do Paraná, nas coordenadas geográficas de 25°26'55.8" S e 49°14'22.0" W (Figura 2). A área de coleta insere-se no bioma Floresta Atlântica e apresenta clima subtropical úmido. A coleta foi realizada durante a estação da primavera, período associado ao aumento da atividade metabólica e ao desenvolvimento vegetativo das plantas.

FIGURA 2 - *Chionanthus filiformis* (Vell) P. S. Green, LOCAL DA COLETA



FONTE: A autora (2023)

As folhas, os caules e os frutos foram coletados de um exemplar adulto, com aproximadamente 12 metros de altura, registrado no sistema de catalogação do Cifloma e identificado no Herbário da Escola de Florestas de Curitiba – EFC, sob o número de exsicata EFC14325 (ANEXO 1). A identificação botânica foi realizada pelo mestre Inti Souza.

O estudo está registrado na plataforma SISGEN sob o número A5A3530 (ANEXO 2).

As amostras coletadas foram separadas, as folhas e galhos colocadas em sacos de nylon e secas em temperatura ambiente. Após secas, foram fragmentadas em pequenas partículas em moinho de facas/martelo, com o objetivo de otimizar a eficiência do processo extrativo, uma vez que, quanto menor as partículas, maior é a área de contato entre o material vegetal e o líquido extrator. Ao final obteve-se 550 g de folhas secas e 555 g de caules secos. Os frutos foram separados de acordo com estado de maturação, e acondicionados em sacos plásticos e congelados, resultando em 30 g de frutos verdes e 35 g de frutos maduros. As amostras de folhas e caules foram submetidas à extração hidroalcoólica para a realização dos ensaios fitoquímicos e biológicos, além da hidrodestilação, com o objetivo de

obtenção do óleo essencial. Os frutos, após descongelamento e trituração, passaram por extração contínua, resultando em diferentes frações destinadas às análises programadas.

3.3 ESTUDO MORFOANATÔMICO E HISTOQUÍMICO

Folhas e caules foram coletados de *C. filiformis* e fixados em solução de formalina-ácido acético-álcool 70 (FAA), a qual era composta de formaldeído, ácido acético e etanol 70%, na proporção de 0,5:0,5:9 (v/v). Este procedimento foi realizado para preservar as estruturas celulares, inibindo os processos de autólise e metabolismo (Johansen, 1940). Depois de 72 horas de fixação, o material botânico foi lavado em água destilada e acondicionado em uma solução de etanol 70% (v/v) (Berlyn et al., 1976, Kise, 1976; Oliveira, 2000; Arruda, 2021) até a elaboração das lâminas para a identificação das estruturas.

3.3.1 Preparo de lâminas

As lâminas semipermanentes das seções da lâmina, nervura central, pecíolo e caule foram preparadas pela técnica de cortes transversais, realizados manualmente com o auxílio de uma lâmina de barbear e suporte de isopor (Cortez et al., 2016). As seções resultantes receberam coloração dupla, utilizando fucsina básica para evidenciar os elementos lignificados e azul de Astra para os elementos celulósicos (Kraus et al., 1998). Em seguida, os cortes corados foram posicionados entre lâmina e lamínula, com adição de uma gota de solução de glicerina a 50% para manter a hidratação, e selados com esmalte incolor (Berlyn et al., 1976). Posteriormente, as amostras preparadas passaram à análise e registro fotográfico em microscópio fotônico (BX40, Olympus®).

3.3.2 Técnica de diafanização ou clareamento

As folhas passaram pelo processo de diafanização antes de serem coradas. Primeiramente, foram seccionadas em cortes de aproximadamente 1 cm² e submersas em água destilada em vidro de relógio. A seguir, clarificadas em uma placa de Petri utilizando uma solução de hipoclorito de sódio em água (80/20),

preparada a partir de hipoclorito de sódio a 2,5%, até atingirem uma cor transparente. Após o clareamento, as seções foram lavadas com água destilada por 6 vezes, a cada 15 minutos. As partes das folhas foram neutralizadas com uma solução de ácido acético a 5%, seguido de um novo enxágue com água destilada e coradas com safranina a 1% (Franklin, 1945). O processo de montagem das lâminas foi realizado com glicerina a 50% (Kraus et al., 1998).

3.3.3 Testes histoquímicos

Os ensaios histoquímicos utilizaram folhas e caules previamente fixados em solução FAA. Em seguida, o material vegetal foi seccionado manualmente, obtendo-se cortes transversais que receberam tratamento com os reagentes e corantes descritos no QUADRO 2.

QUADRO 2 - REATIVOS EMPREGADOS NOS TESTES HISTOQUÍMICOS

| Composto | Reativo | Resultado | Referência |
|-----------------------------------|---|--------------------------------|---|
| Terpenos | Reagente de NADI | Azul ou Vermelho | Divid e Carde, 1964 |
| Compostos Lipofílicos | Sudan III Sudan Black B | Laranja/ Azul escuro a preto | Pearse, 1972 |
| Lípidos ácidos Lípidos neutros | Azul do Nilo | Azul ou rosa | Cain, 1947 |
| Corpos proteicos | Azul brilhante de Coomassie/ Xilidine Ponceau (XP) | Azul brilhante/Vermelho | Fisher, 1968 Vidal, 1970 |
| Polissacáridos neutros | Ácido periódico de Schiff (PAS) | Magenta | O'Brien e McCully, 1981 |
| Amido | Solução de iodo | Castanho, roxo ou preto | Johansen, 1940 |
| Pectina | Vermelho de rutênio | Vermelho ou rosa | Johansen, 1940 |
| Fenólicos | Cloreto férrico 2% | Castanho a preto | Johansen, 1940 |
| Taninos condensados | Vanilina clorídrica | Vermelho | Mace e Howell, 1974 |
| Alcaloides | Dragendorff, Ellram e Wagner | Laranja a castanho avermelhado | Furr e Mahlberg, 1981 Svendsen e Verpoorte, 1983 |

FONTE: A Autora (2025)

3.3.4 Registos fotográficos e micromedições

O Índice Estomatal (IE) de dez campos distintos do lado abaxial foi calculado de acordo com a fórmula descrita na Farmacopeia Brasileira, 7^a Edição (BRASIL, 2019): % Índice Estomático = número de estômatos / (número de estômatos + número de células epidérmicas) × 100. A equação foi aplicada a todos os campos analisados, sendo posteriormente determinadas a média e o desvio padrão. O comprimento e a largura dos estômatos foram mensurados em vinte exemplares selecionados aleatoriamente no lado abaxial, possibilitando a estimativa do tamanho médio. As imagens utilizadas nas análises foram obtidas em microscópio de luz Olympus CX 31, acoplado a uma unidade de controle C-7070, pertencente ao Laboratório de Farmacognosia da Universidade Estadual de Ponta Grossa.

3.3.5 Microscopia eletrônica de varredura

O procedimento de microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi utilizado para examinar a ultraestrutura superficial das amostras vegetais, permitindo a análise da cutícula, características do caule, folhas e pecíolo, além do tipo e forma de cristais. O material, fixado em FAA 70%, foi desidratado em uma série crescente de soluções etanólicas (70, 80, 90 e 100% v/v), sendo trocadas a cada 15 minutos (Souza, 1998). Posteriormente, foi seco em um secador de ponto crítico (Balzers CPD 030 (BAL-TEC AG, Balzers, Liechtenstein) e revestido com ouro utilizando um revestidor de pulverização catódica Quorum (modelo SC7620), procedimento que visa garantir condutibilidade eletrônica à amostra. A análise foi realizada em um microscópio eletrônico de varredura (Jeol JSM 6360 LV) e em um sistema de emissão de campo Tescan Mira3, operando em modo de alto-vácuo, com uma tensão de aceleração de 15 kV, no laboratório multiusuário (C-LABMU) da Universidade Estadual de Ponta Grossa.

3.3.6 Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raios X (EDS)

A análise por espectroscopia de raios X por energia dispersiva (EDS) foi realizada para caracterizar a composição química elementar dos cristais presentes nas amostras. Cristais aleatórios foram selecionados para análise, assim como células sem cristais, utilizadas como controle negativo. Os espectros elementares foram obtidos utilizando um detector de EDS acoplado ao microscópio eletrônico de varredura por emissão de campo (FESEM) no modo de pressão variável, operando a 15 kV. As análises foram conduzidas no Complexo Multiusuário de Laboratórios (C-Labmu) da Universidade Estadual de Ponta Grossa.

3.4 ENSAIOS FÍSICOS-QUÍMICOS

Os ensaios físicos-químicos auxiliam na identificação morfoanatômica e na determinação do material botânico, além de atestar a pureza, revelam desvios de qualidade e indicam possíveis adulterações.

3.4.1 Umidade (Perda por dessecação)

A quantidade de substâncias voláteis presentes nas folhas e caules de *Chionanthus filiformis* (Vell) P. S. Green foi determinada seguindo a metodologia descrita na Farmacopeia Brasileira 7ª edição (Brasil, 2024). Foram pesados 2 g de cada amostra da planta seca e depositada em cadinho de porcelana, previamente dessecado e tarado. Os cadinhos foram colocados na estufa a 100 °C por 2 horas. Em seguida foram pesados, após resfriamento no dessecador, até a obtenção de peso constante, diferença de pesagem de no máximo 0,5% entre pesagens consecutivas. O teste foi realizado em quintuplicata e o valor da umidade foi determinado utilizando a fórmula 1:

$$\% \text{ umidade} = (P_a - P_s / P_a) \times 100 \quad (1)$$

Considerar: P_a = Peso do cadinho + peso da amostra; P_s = Peso do cadinho + peso da amostra seca.

O resultado foi expresso em porcentagem de umidade em relação ao material vegetal seco.

3.4.2 Determinação de cinzas

O teor de cinzas totais de amostras de folhas e caules de *Chionanthus filiformis* (Vell) P. S. Green, foi determinada seguindo a metodologia descrita na Farmacopeia Brasileira 7ª Edição (2024). A técnica é utilizada para determinar a quantidade de componentes inorgânicos e impurezas presentes em amostras vegetais. Foram pesados 3 g do material vegetal em cadinhos de porcelana, previamente dessecados e tarados até peso constante, em seguida levados a mufla e incinerados por 6 horas a 600 °C. Após resfriados em dessecador, foram pesados novamente até peso constante. O teste foi realizado em quintuplicata e o teor de cinzas totais foi determinado utilizando a fórmula 2:

$$\text{Teor de cinzas (\%)} = (P2 - P1 / P3) \times 100 \quad (2)$$

Considerar: P1 = Peso do cadinho após calcinação e resfriamento (g); P2 = Peso do cadinho com amostra após calcinação e resfriamento (g); P3 = Peso da amostra (g)

O resultado foi expresso em porcentagem de cinzas em relação ao material seco.

3.5 ENSAIO FITOQUÍMICO PRELIMINAR

O ensaio fitoquímico preliminar teve como finalidade identificar qualitativamente os principais grupos de metabólitos presentes na espécie vegetal. Para isso, utilizou-se a metodologia descrita por Moreira (1979), com adaptações de Miguel (2003). Foram preparados extratos aquoso e hidroalcoólico (20%) de folhas e caules previamente secos e triturados, que passaram por reações de coloração ou precipitação específicas.

No extrato aquoso foram investigados: heterosídeos antociânicos, saponínicos e cianogênicos, além de taninos, grupos amínicos, ácidos fixos e ácidos

voláteis. No extrato hidroalcoólico foram avaliados: alcaloides, leucoantocianidinas, flavonoides, cumarinas, iridoídes, antraquinonas, esteroides e/ou triterpenos.

3.5.1 Preparo do Extrato Aquoso (20%)

Os extratos aquosos foram preparados utilizando 40 g de material vegetal triturado (folhas e caules), extraídos com 200 mL de água purificada em banho-maria a 70 °C por 1 hora, com agitação ocasional. O extrato obtido foi filtrado e o volume ajustado para 200 mL.

3.5.1.1 Pesquisa de heterosídeos antocianícos e heterosídeos saponícos

Uma alíquota de 5 mL do extrato aquoso foi distribuída em três tubos de ensaio. O primeiro foi acidificado com ácido clorídrico 1 N até pH 1, o segundo alcalinizado com hidróxido de sódio 1% até pH 10 e o terceiro ajustado para pH 7 (neutro). Considerou-se positiva a presença de antocianinas quando houve mudança de cor para vermelho (meio ácido), azul (meio alcalino) ou violeta (meio neutro). Caso a coloração observada fosse verde, a reação foi interpretada como indicativa de flavonoides. Na sequência, os mesmos tubos foram agitados por 5 minutos e deixados em repouso por 30 minutos. A formação de espuma persistente, com altura igual ou superior a 1 cm, foi considerada evidência da presença de heterosídeos saponícos.

3.5.1.2 Pesquisa de heterosídeos cianogênicos

Foram transferidos 5 mL do extrato aquoso para um tubo de ensaio, ao qual se adicionou 1 mL de H₂SO₄ 1 N. Uma tira de papel picrossódico foi então suspensa no tubo, que permaneceu em banho-maria a 60 °C por 30 minutos. A reação foi considerada positiva pela coloração vermelha na tira de papel, indicando a presença de heterosídeos cianogênicos.

3.5.1.3 Pesquisa de taninos

A 1 mL do extrato aquoso foram adicionadas 5 gotas de solução de cloreto

férrico a 1%. A coloração observada foi utilizada para interpretação: verde indica taninos condensados, azul revela taninos hidrolisáveis e marrom sugere a presença de polifenóis.

3.5.1.4 Pesquisa de aminogrupos

Uma alicota de 10 mL do extrato aquoso foram adicionadas em cápsulas de porcelana e aquecidos em banho-maria a 60 °C. Em seguida, cinco gotas do extrato concentrado foram aplicadas em pontos previamente demarcados de uma tira de papel-filtro. Após a secagem, o papel foi nebulizado com solução de ninidrina e aquecido em estufa a 100 °C por 15 minutos. A reação é considerada positiva quando ocorre o surgimento de coloração azul-violeta.

3.5.1.5 Pesquisa de ácidos fixos

Em um balão de fundo chato foi colocado 20 mL do extrato aquoso e 2 mL de hidróxido de sódio 1N, em seguida, aquecido sob refluxo por 30 minutos. Após resfriamento, a solução foi acidificada com ácido sulfúrico 2N e extraída três vezes com 10 mL de éter etílico. Os extratos etéreos foram combinados, tratados com carvão ativado, filtrados e evaporados em banho-maria a 50 °C até secar completa. O resíduo foi aquecido em estufa por 10 minutos e, em seguida, foram adicionados 5 mL de hidróxido de amônia 1N. Em uma tira de papel-filtro, dois pontos foram demarcados e impregnados com o resíduo amoniacal. Após secagem em estufa, uma gota do reativo de Nessler foi adicionada a um dos pontos. A presença de cor marrom indica ácidos fixos.

3.5.1.6 Pesquisa de ácidos voláteis

Em tubo de ensaio foram adicionados 5 mL do extrato aquoso e ácido sulfúrico 1N. Uma fita indicadora de pH foi suspensa no tubo, que foi aquecido em banho-maria a 60 °C por 30 minutos. A presença de ácidos voláteis é indicada quando o pH é inferior a 7.

3.5.2 Preparo do extrato hidroalcoólico a 20%

Pesaram-se 40 g de folhas e caules secos e triturados, os quais foram adicionados a 200 mL de álcool etílico a 70% (v/v) e submetidos a aquecimento em banho-maria a 70 °C durante 1 hora. O extrato alcoólico resultante foi posteriormente concentrado até atingir um terço do volume inicial. A partir do extrato concentrado, realizaram-se extrações sucessivas com solventes orgânicos de polaridade crescente: hexano, clorofórmio e acetato de etila. Cada extração foi feita em funil de separação, agitando-se 10 vezes com volumes de 20 mL de solvente. Após cada extração, os volumes das frações obtidas foram completados para 200 mL com o respectivo solvente.

Os extratos foram acondicionados em frascos âmbar e identificados da seguinte forma:

- Folhas: fração hexano (FHF), fração clorofórmio (FCF), fração acetato de etila (FACF);
- Caule: fração hexano (FHC), fração clorofórmio (FCC), fração acetato de etila (FACC).

O resíduo obtido a partir do extrato de folhas foi denominado fração remanescente de folhas (FRF), enquanto o proveniente do caule recebeu a designação de fração remanescente de caule (FRC). Em ambos os casos, o volume foi completado para 200 mL com etanol a 70% (v/v). Todas as frações permaneceram sob refrigeração até a realização das análises de seus respectivos marcadores.

3.5.2.1 Pesquisa de alcaloides

Os alcaloides são compostos básicos cuja solubilidade depende do pH. A pesquisa qualitativa desses compostos baseia-se na capacidade dos alcaloides, na forma de sal (extratos ácidos), de reagir com iodo e metais pesados (como bismuto, mercúrio e tungstênio), formando precipitados coloridos.

Neste ensaio, 50 mL de cada fração foram concentrados em banho-maria a 70 °C até secura. Em seguida, os extratos e frações foram ressuspensos em 1 mL de etanol e 20 mL de ácido clorídrico a 1% (v/v). A partir dessas soluções, 2 mL

foram transferidos para cada tubo de ensaio, totalizando quatro tubos, sendo o quarto utilizado como controle negativo.

Para a identificação dos alcaloides, foram adicionados aos tubos os seguintes reagentes:

- Reativo de Mayer: formação de precipitado ou leve turvação branca;
- Reativo de Dragendorff: formação de precipitado vermelho-tijolo;
- Reativo de Wagner-Bouchard: formação de precipitado alaranjado.

A ocorrência de precipitados coloridos indica a presença de alcaloides na amostra.

3.5.2.2 Pesquisa de leucoantocianidinas

As leucoantocianidinas são flavonoides monoméricos 3,4-diols. A reação para sua identificação baseia-se na redução das leucoantocianidinas em antocianidinas na presença de ácido clorídrico, provocando mudança de coloração do amarelo para o vermelho.

No ensaio, 10 mL do extrato hidroalcoólico e das frações foram transferidos para uma cápsula de porcelana e concentrados em banho-maria a 60 °C até secura. O resíduo foi ressuscitado em 5 mL de álcool etílico P.A., adicionadas 5 gotas de ácido clorídrico concentrado e aquecido até ebulição. A reação é considerada positiva quando ocorre o aparecimento de coloração vermelha.

3.5.2.3 Pesquisa de flavonoides

a) Heterosídeos flavônicos: 20 mL do extrato hidroalcoólico e das frações foram concentrados em banho-maria e ressuscitados em 10 mL de etanol absoluto. Em seguida, 5 mL da solução foram transferidos para tubos de ensaio, adicionados 1 cm de fita de magnésio e, lentamente, 1 mL de ácido clorídrico fumegante. A reação é considerada positiva para:

- Flavonas: coloração laranja;
- Flavanonas: coloração violeta;
- Flavonóis: coloração vermelha.

b) Teste do oxálico bórico (reação de Taubock): 10 mL de cada fração foram concentrados em cápsula de porcelana a 60 °C. Acrescentaram-se 5 gotas de acetona P.A., 30 mg de ácido bórico e ácido oxálico (1:1), e a mistura foi novamente concentrada. Em seguida, adicionaram-se 5 mL de éter etílico. A reação é positiva para flavonóis quando, sob luz UV, surge fluorescência amarela-esverdeada.

c) Ensaio de Pacheco: 10 mL do extrato ou frações foram concentrados em banho-maria a 60 °C, adicionados cristais de acetato de sódio e 0,1 mL de anidrido acético, seguidos de 0,1 mL de ácido clorídrico concentrado. A coloração roxa indica presença de dihidroflavonoides.

d) Ensaio com zinco em HCl: 10 mL do extrato ou frações foram concentrados, ressuspensos em 10 mL de etanol, e 5 mL da solução transferidos para tubos de ensaio com pastilhas de Zn. Adicionou-se lentamente HCl fumegante. A formação de coloração roxa-violeta indica presença de dihidroflavonoides.

3.5.2.4 Pesquisa de cumarinas

Utilizaram-se 30 mL de cada extrato ou fração, acidificados com ácido clorídrico 2 N até pH 1 e posteriormente concentrados em banho-maria a 60 °C até reduzir a 5 mL. A fração hidroalcoólica foi extraída duas vezes com 10 mL de éter etílico; o extrato etéreo obtido foi então concentrado a 5 mL. Em seguida, 3 mL da solução foram transferidos para tubos de ensaio, adicionados a 2 mL de hidróxido de sódio 1 N e expostos à luz UV (366 nm, 15 min). A fluorescência azul ou verde-amarelada indica a presença de cumarinas. Para confirmação, o extrato residual foi aplicado em papel-filtro em três pontos. A mancha 2, tratada com hidróxido de sódio 1 N e exposta à luz UV, apresentando fluorescência azul ou verde-amarelada, sugere reação positiva para cumarinas.

3.5.2.5 Pesquisa de substâncias iridoidais

Foram transferidos 2 mL do extrato e frações para três tubos de ensaio. No primeiro adicionaram-se cristais de floroglucinol e 1 mL de ácido clorídrico. Coloração verde escura indica reação positiva. No segundo foi colocado duas gotas

de ácido sulfúrico. Coloração rosa violácea indica reação positiva. E no terceiro, foram colocados cristais de vanilina e duas gotas de ácido sulfúrico. Coloração rosa cereja indica reação positiva.

3.5.2.6 Pesquisa de heterosídeos antraquinônicos

Uma alíquota de 30 mL do extrato e das frações foi aquecida sob refluxo com 5 mL de ácido sulfúrico 10% durante 30 minutos. Após a filtração, adicionaram-se 30 mL de água destilada e procedeu-se à extração da fração orgânica. A fração hidroalcoólica foi extraída duas vezes com 10 mL de éter etílico. Os extratos, concentrados a 5 mL, foram submetidos à reação de Bornträger, com adição de 5 mL de hidróxido de amônio 10%. A formação de coloração vermelha indica a presença de heterosídeos antraquinônicos.

3.5.2.7 Pesquisa de esteroides e/ou triterpenos

a) Reação de Liebermann-Burchard: 30 mL do extrato e frações foram concentrados em banho-maria a 60 °C, ressuspendidos em 5 mL de clorofórmio e filtrados. Em tubos de ensaio com volumes variados (0,1; 0,5 e 1,0 mL, completando 2 mL com clorofórmio) adicionou-se 1 mL de anidrido acético e 2 mL de ácido sulfúrico concentrado. A presença de cor rósea escura ou azul: presença de função carbonila no C-3 e dupla ligação entre C-5 e C-6. Cor verde: função carbonila no C-3 e dupla ligação em C-5 e C-6 e Cor amarela: presença de metila no C-14.

b) Reação de Keller-Kiliani: 2 mL do extrato e frações foram concentrados em cadinhos, adicionados 2 mL de ácido acético glacial e 0,2 mL de cloreto férrico 1%, e transferidos para tubo com 2 mL de ácido sulfúrico concentrado. Formação de cor na zona de contato ou na fase acética indica desoxi-açúcares: verde sugere triterpenos e azul indica esteroides.

3.6 PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS E FRAÇÕES

Foram preparados extratos aquosos e brutos a partir do material vegetal selecionado. Em seguida, procederam-se às etapas de fracionamento, visando a obtenção das diferentes frações.

3.6.1 Extrato aquoso

As folhas e caules foram submetidos ao processo de hidrodestilação, utilizando um aparelho Clevenger, com a finalidade de obtenção do óleo essencial e do hidrolato, conforme os protocolos descritos na Farmacopeia Brasileira, 7ª edição (2024). O sistema experimental era composto por um balão de fundo redondo, uma manta de aquecimento e um condensador acoplado. Durante o procedimento, o material vegetal foi fervido em água destilada por aproximadamente seis horas, possibilitando a separação dos compostos voláteis.

Para a extração a partir das folhas, foram utilizados 500 g de material seco previamente fragmentado, adicionados a 4 litros de água destilada em balão de fundo redondo, sendo o sistema mantido sob aquecimento contínuo durante seis horas. No caso dos caules, foram empregados 505 g de material seco fragmentado, imersos em 4,5 litros de água destilada e submetidos às mesmas condições de extração por hidrodestilação. Ao término do processo, obtiveram-se dois produtos: o óleo essencial, coletado, acondicionado em frasco âmbar hermeticamente vedado e armazenado em freezer a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$; e o hidrolato, fração aquosa rica em compostos voláteis hidrossolúveis, designada como extratos aquosos. Estes foram denominados extrato aquoso das folhas (EQF) e extrato aquoso do caule (EQC), posteriormente liofilizados e mantidos sob refrigeração até a realização das análises.

3.6.2 Extrato etanólico

A obtenção dos extratos etanólicos de *C. filiformis* foi realizada por extração em sistema Soxhlet modificado, desenvolvido conforme descrito por Carvalho *et al.* (2009), cujo modelo industrial é patenteado no Instituto Nacional da Propriedade Industrial (INPI) sob o número PI 0601703-7 A2. Esse método apresenta elevado rendimento e eficiência em relação a técnicas convencionais, sendo recomendado

para o isolamento de compostos termoestáveis aplicáveis em análises químicas e formulações farmacêuticas.

Para o material foliar, utilizaram-se 500 g de folhas secas fragmentadas, extraídas com 6,5 L de etanol 96°GL, em sistema de refluxo, por aproximadamente seis ciclos de oito horas. No caso dos caules, a extração foi conduzida com 505 g de material seco fragmentado e 7 L de etanol 96°GL, mantidos em refluxo por cerca de sete ciclos de seis horas cada. Os extratos hidroalcoólicos obtidos foram filtrados, separando-se 3 g de cada um para testes biológicos e, em seguida, submetido a banho-maria a 70 °C até a completa secagem. O restante foi concentrado em evaporador rotativo, sob pressão reduzida, a 50 °C e 90 rpm, até redução do volume a um terço do inicial, e posteriormente submetido a secagem em banho-maria a 70 °C até completa eliminação do solvente. Após a secagem, os extratos foram acondicionados em frascos âmbar, à temperatura ambiente, até o momento do fracionamento, obtendo-se 3,982 g de extrato bruto etanólico seco de folhas e 3,653 g de caules. O extrato das folhas foi denominado EBF, e o dos caules, EBC.

3.6.3 Teor de sólidos

O teor de sólidos foi determinado a partir da eliminação da fase líquida dos extratos brutos e aquosos, conforme metodologia descrita na Farmacopeia Brasileira, 7ª edição (Brasil, 2024). Para os extratos brutos, alíquotas de 10 mL foram acondicionadas em placas de Petri previamente taradas e submetidas à estufa a 105 °C por 2 horas. Após o resfriamento em dessecador, as placas foram novamente pesadas até obtenção de massa constante.

A diferença entre a massa da placa contendo o resíduo sólido e a da placa vazia correspondeu ao teor de sólidos presente em 10 mL de extrato. Os valores foram expressos como massa de extrato seco em relação à massa da amostra vegetal, sendo cada determinação realizada em quintuplicata. No caso dos extratos aquosos, o teor de sólidos foi obtido após a liofilização do material, permitindo o cálculo correspondente.

O teor de sólidos também foi utilizado para o cálculo do rendimento dos extratos brutos e aquosos, de acordo com a fórmula 3:

$$\text{Rendimento (\% m/m)} = (\text{Teor de sólidos} / \text{Material vegetal seco}) \times 100 \quad (3)$$

Em que: Teor de sólidos: massa (g) de sólidos presente em 1 mL do extrato.
Material vegetal seco: massa (g) de planta seca e triturada utilizada para obtenção de 1 mL do extrato bruto.

3.6.4 Fracionamentos dos extratos brutos

Os extratos brutos etanólicos das folhas (EBF) e dos caules (EBC) foram submetidos a fracionamento por extração líquido-líquido em sistema Soxhlet modificado (PI 0601703-7 A2) (FIGURA 3), utilizando-se solventes de polaridade crescente, na seguinte ordem: hexano, clorofórmio e acetato de etila.

FIGURA 3 - FRACIONAMENTO DO EXTRATO BRUTO DE FOLHAS DE *Chionanthus filiformis* (Vell) P. S. Green EM SOXHLET MODIFICADO



FONTE: A Autora (2024)

O extrato etanólico concentrado foi colocado no Soxhlet, acoplado a um balão de fundo chato contendo pedras de porcelana e conectado a um condensador de bolas. O conjunto foi mantido sob aquecimento em manta elétrica. Após a adição do primeiro solvente (hexano), o sistema foi mantido em refluxo para promover a extração adequada dos constituintes. O mesmo procedimento foi repetido com os demais solventes, até o completo esgotamento do material.

Ao final, foram obtidas as seguintes frações das folhas: fração hexano (FHF), fração clorofórmio (FCF), fração acetato de etila (FACF) e fração remanescente (FRF). Para os caules, as frações correspondentes foram: fração hexano (FHC), fração clorofórmio (FCC), fração acetato de etila (FACC) e fração remanescente (FRC).

3.6.5 Extração dos frutos

Os frutos foram separados em maduros e verdes e extraídos separadamente. Após serem fragmentados em pequenas partes, foram submetidos à extração líquido-líquido contínua em equipamento Soxhlet, utilizando solventes de polaridade crescente: hexano, clorofórmio e acetato de etila. Utilizaram-se 35 g de frutos maduros e 30 g de frutos verdes. Foram obtidos os seguintes extratos: hexano do fruto verde (FHFV) e do fruto maduro (FHFM), clorofórmio do fruto verde (FCFV) e do fruto maduro (FCFM), e acetato de etila do fruto verde (FACFV) e do fruto maduro (FACFM). O rendimento de cada extrato foi calculado em relação à massa de material vegetal seco dos frutos.

3.6.6 Rendimento dos extratos brutos e frações

Após a obtenção das frações de folhas e galhos, bem como dos extratos dos frutos, o rendimento foi calculado com base na massa inicial do material vegetal seco e triturado (Fórmula 4).

$$\text{Rendimento (\%)} = \text{teor de sólidos totais/material vegetal seco} \times 100 \quad (4)$$

3.7 PERFIL FITOQUÍMICO DE EXTRATOS E FRAÇÕES

Os extratos e frações das folhas, caules e frutos, foram avaliados pelos ensaios de cromatografia em camada delgada e cromatografia em camada delgada bidimensional.

A cromatografia em camada delgada é uma técnica analítica que utiliza uma fase estacionária, constituída por um adsorvente fixado sobre uma placa de alumínio, e uma fase móvel formada por uma combinação de solventes, denominada eluente. A amostra a ser analisada é aplicada sobre a fase estacionária, e o processo de separação ocorre à medida que o eluente se desloca por capilaridade ao longo da placa. O conjunto de materiais utilizados incluiu: cromatoplasmas de sílica gel, cuba cromatográfica, capilar de vidro para aplicação das amostras, fase móvel e

sistemas reveladores e o procedimento foi conduzido de acordo com a Farmacopeia Brasileira, 7ª edição (2019).

Na cromatografia em camada delgada (CCD) foram utilizadas cromatoplasmas de sílica gel Whatman® 60 UV254 (3 × 5 cm). Em cada placa, aplicaram-se, com auxílio de um capilar, de 5 a 10 µL de amostra nos pontos demarcados, com o padrão específico para a classe de composto analisada. A fase móvel foi adicionada à cuba cromatográfica para saturação do ambiente. Após a eluição, as placas foram secas à temperatura ambiente (25 °C) e tratadas com reveladores específicos para cada grupo de metabólitos secundários. A visualização foi realizada sob luz ultravioleta antes e após a revelação, e a identificação dos grupos de metabólitos ocorreu de acordo com a coloração final observada. As fases móveis e reveladores empregados estão descritos no Quadro 3.

QUADRO 3- PROCEDIMENTO PARA IDENTIFICAÇÃO DE METABÓLITOS POR CROMATOLOGRAFIA EM CAMADA DELGADA

(continua)

| Metabólitos | Fase móvel | Revelador | Resultado | Referência |
|---------------------------|---|--|--|--|
| Esteroides Triterpenos | Tolueno/Acetato de Etila (93:7) | Vanilina fosfórica (v/v) - Solução de vanilina 1% em etanol - Ácido fosfórico 5% (1:1) | Coloração rosa/violácea após aquecimento em chapa (105 °C) | Oliveira <i>et al.</i> , 2014 Wagner, Bladr, 1996 |
| Alcaloides | Clorofórmio/ Metanol (95:5) Acetato de Etila/ Hexano/Metanol / Ácido fórmico (4:2:2:0,2) Acetato de Etila/ Hexano/Metanol / Dietilamina (4:4:5:0,2) | Reativo de Dragendorff (m/v) -Carbonato de bismuto 5g -Iodeto de potássio 25 g -Ácido clorídrico concentrado 12 mL -Água destilada qsp 100mL | Coloração alaranjada | Oliveira <i>et al.</i> , 2014 Valente <i>et al.</i> , 2006. |
| Flavonoides | Acetato de Etila/ Ácido Fórmico/ Ácido AcéticoGlacial/ Água Destilada (100:11:11:26) | NEU (m/v) - Difenoil-etil-oxi-etil-amino 1 g - Metanol qsp 100 mL | Coloração amarela quando exposta a luz UV | Wagner, Bladr, 1996 |
| Cumarinas | Diclorometano/ Acetona (1:1) | Hidróxido de Potássio 1% (m/v) -Hidróxido de | Coloração azul ou verde quando exposto a luz UV | Wagner, Bladr 1996 |

| | | | | |
|---------------|--|---|---|--|
| | ou Clorofórmio/ Acetona (1:1) | Potássio 1g - Etanol qsp 100 mL | | (conclusão) |
| Taninos | Acetato de Etila/ Ácido Fórmico/ Ácido Acético Glacial/ Água Destilada (100:11:11:26) | Cloreto Férrico 2% (m/v) -Cloreto Férrico 2g -Metanol ou Água Destilada qsp 100 mL | Coloração verde na presença de taninos condensáveis, azul para taninos hidrolisáveis e marrom para compostos fenólicos | Oliveira <i>et al.</i> , 2014 Wagner, Bladr, 1996 |
| Antraquinonas | Acetato de etila/ Metanol/ Água destilada (100:17:13) | Hidróxido de Potássio 5% (m/v) -Hidróxido de Potássio 5g - Etanol qsp 100 mL | Coloração vermelha | Wagner, Bladr, 1996 |

FONTE: A autora (2025)

Na cromatografia em camada delgada bidimensional, utilizaram-se cromatoplasmas de sílica gel Whatman® 60 UV254, com dimensões de 2 × 3 cm. Na base inferior da placa, aplicaram-se 5 µL da amostra, no ponto previamente demarcado, utilizando um capilar de vidro. Em seguida, a placa foi inserida em cuba cromatográfica contendo o solvente específico, garantindo que o nível do eluente não ultrapassasse a linha de aplicação. Após a completa eluição, a placa foi retirada da cuba, seca à temperatura ambiente (≈25 °C), girada em 90° e submetida a uma segunda eluição em nova fase móvel. Concluída esta etapa e após a secagem completa, aplicaram-se os reveladores específicos para cada grupo de compostos analisados.

Foram analisados os extratos e frações que apresentaram resultado positivo na cromatografia em camada delgada (CCD) preliminar. A visualização das placas foi realizada sob luz ultravioleta, antes e após a aplicação dos reveladores, possibilitando a identificação dos grupos químicos a partir da coloração final observada. As fases móveis, os reveladores e as amostras empregadas estão apresentados no Quadro 4.

QUADRO 4- ANÁLISE DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS POR CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA BIDIMENSIONAL

| Metabólito secundário | Fase móvel | Revelador | Resultado | Referência |
|--|---|---|---|---|
| Amostras | | | | |
| Cumarinas FAC folha FAC fruto verde FAC fruto maduro | 1ª fase: clorofórmio 2ª fase: acetato de etila/hexano n-hexano (30:70, v/v) | UV - $\lambda = 254$ e 366 nm | Fluorescência azulou esverdeada-amarelada | Härmälä, Botz, 1990, com adaptação. |
| Flavonoides FAC folha FR folha FAC caule FR caule FAC fruto verde FAC fruto maduro | 1ª fase: acetato de etila/ácido fórmico/água (8:1:1, v/v/v); 2ª fase: metanol/acetato de etila (10%/90%, v/v) | UV / AlCl ₃ 1% em etanol / UV | Coloração verde | Heisig, Wichtl, 1990, com modificações Hawrył, Soczewiński, 2001, com modificações |
| Triterpenos FH folha FH caule FH fruto verde FH fruto maduro | 1ª fase: acetato de etila/ácido acético/água (7:2:2); 2ª fase: clorofórmio/metanol/água (63:32:5) | Reagente Liebermann-Burchard / aquecimento a 130 °C | Saponinas esteroidais: cor verde; Saponinas triterpênicas: cor azul ou rosa escuro | Kapusta <i>et al.</i> , 2005, com modificações |

FONTE: Autor (2024)

NOTA: fração de acetato de etila (FAC), hexano (FH), fração remanescente (FR)

3.8 QUANTIFICAÇÃO DE FENÓLICOS, FLAVONOIDES E TANINOS

A determinação dos compostos fenólicos, flavonoides e taninos foi realizada em extratos brutos hidroalcoólicos, extratos aquosos e frações semipurificadas obtidas de folhas, caules e frutos de *C. Filliforms*. Para isso, empregaram-se métodos espectrofotométricos específicos para cada grupo de compostos, visando quantificar seu teor total nas diferentes amostras. A comparação entre as médias foi realizada por análise de variância (ANOVA), seguida do teste de Tukey ($p < 0,05$), utilizando o programa estatístico Sisvar, versão 5.6 (Ferreira, 2018).

3.8.1 Determinação do teor de fenólicos totais

A quantificação dos compostos fenólicos totais foi realizada em octoplicata pelo método de Folin-Ciocalteu, conforme descrito por Devequi-Nunes *et al.*, (2018). Os extratos e frações foram preparados na concentração de 200 µg/mL em metanol.

Em microplaca de 96 poços, foram pipetados 20 µL da amostra, 80 µL de solução de carbonato de sódio (7,5 g/100 mL) e 100 µL do reagente Folin-Ciocalteu 1 N em meio aquoso. Para cada amostra, foi preparado um branco contendo 20 µL da amostra (200 µg/mL) e 180 µL de metanol. A microplaca foi mantida no escuro por 1 h, à temperatura ambiente (25 ± 2 °C), e a absorbância foi medida a 690 nm em leitor de microplacas.

A concentração total de fenólicos foi determinada com base na curva padrão de ácido gálico em metanol (µg/mL), pela equação de regressão linear $y = 0,0024x + 0,0661$ ($r^2 = 0,9901$), sendo expressa como equivalentes de ácido gálico (mg EAG/g de amostra).

3.8.2 Determinação do teor de flavonoides totais

A quantificação de flavonoides totais foi realizada em octoplicata, conforme a metodologia descrita por Surek *et al.* (2022). As amostras foram preparadas na concentração de 200 µg/mL em metanol.

Em microplaca de 96 poços, foram pipetados 100 µL da amostra e 100 µL de solução de cloreto de alumínio em metanol (2 g/100 mL). Para cada amostra, foi preparado um branco contendo 100 µL da amostra e 100 µL de metanol. A microplaca foi mantida no escuro por 1 h, e a absorbância foi medida a 414 nm em leitor de microplacas.

A concentração de flavonoides totais foi determinada com base na curva padrão de rutina em metanol (µg/mL), utilizando a equação de regressão linear $y = 0,0115x + 0,0294$ ($r^2 = 0,996$), e expressa como equivalentes de rutina (mg ER/g de amostra).

3.8.3 Determinação de taninos condensados

A quantificação dos taninos condensados totais foi conduzida pelo ensaio de vanilina/ácido sulfúrico (Horszwald & Wilfried, 2011; Sun *et al.*, 1998), utilizando amostras preparadas na concentração de 1 mg/mL em metanol. Em microplaca de 96 poços, foram pipetados 25 µL da amostra, 150 µL de solução de vanilina 4% (m/v) em metanol e 75 µL de solução de ácido sulfúrico 32% (v/v) em metanol. Para cada amostra, foi preparado um branco contendo 25 µL de água purificada, 150 µL de solução de vanilina 4% e 75 µL de solução de ácido sulfúrico 32%. A microplaca foi mantida em repouso por 15 minutos à temperatura ambiente (25 ± 2 °C), e a absorbância foi medida a 500 nm em leitor de microplacas.

A concentração de taninos condensados totais foi determinada com base na curva padrão de catequina em metanol (µg/mL), pela equação de regressão linear $y = 0,0003x - 0,0164$ ($r^2 = 0,990$), sendo expressa como equivalentes de catequina (mg EC/g de amostra).

3.9 CAPACIDADE ANTIOXIDANTE *IN VITRO*

A capacidade antioxidante foi determinada em extratos brutos hidroalcoólicos, extratos aquosos e frações semipurificadas obtidas de folhas, caules e frutos, utilizando os métodos do fosfomolibdênio e do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH•). Esses ensaios permitem avaliar a capacidade dos extratos em reduzir agentes oxidantes e em neutralizar radicais livres. A comparação entre as médias foi realizada por análise de variância (ANOVA), seguida do teste de Tukey ($p < 0,05$), utilizando o programa estatístico Sisvar, versão 5.6 (Ferreira, 2018).

3.9.1 Potencial antioxidante pelo teste Redução do Fosfomolibdênio

O teste foi realizado conforme a metodologia descrita por Prieto *et al.*, (1999), que avalia o potencial antioxidante de misturas complexas. Como controles positivos, foram utilizados hidroxitolueno butilado (BHT), ácido ascórbico e rutina. As amostras foram preparadas em metanol na concentração de 0,2 mg/mL.

Inicialmente, foi preparada a solução reagente de fosfomolibdênio pela mistura de 20 mL de ácido sulfúrico (3 mol/L), 28 mL de fosfato de sódio anidro (0,1 mol/L), 12 mL de molibdato de amônio (0,03 mol/L) e água destilada até completar 100 mL. Em seguida, em tubos de ensaio com tampas, foram adicionados 0,3 mL da amostra, 1,5 mL de água destilada e 1 mL da solução reagente de fosfomolibdênio. No tubo branco, a amostra foi substituída por metanol. Cada amostra foi preparada em triplicata. Os tubos foram incubados em banho-maria a 95°C por 90 minutos. Após o resfriamento à temperatura ambiente, o conteúdo foi transferido para microplacas para leitura espectrofotométrica a 690 nm.

A capacidade antioxidante relativa (AAR%) de cada amostra foi calculada utilizando as equações a seguir:

$$\text{AAR\% (BHT)} = (B1 - B2 / \text{abs BHT} - B2)$$

$$\text{AAR\% (Ácido Ascórbico)} = (B1 - B2 / \text{abs ácido ascórbico} - B2) \times 100$$

$$\text{AAR\% (Rutina)} = (B1 - B2 / \text{abs rutina} - B2) \times 100$$

em que:

BHT = hidroxitolueno butilado

B1 = absorvância da amostra;

B2 = absorvância do branco.

3.9.2 Potencial antioxidante pelo método do radical livre DPPH

O potencial antioxidante foi determinado pelo método do radical livre DPPH, conforme descrito por Salgueiro *et al.*, (2014), com adaptações. O ensaio se baseia na capacidade dos extratos em reduzir o radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH•), cuja reação resulta em mudança de cor mensurável por espectrofotometria, a partir da variação de absorvância (Tomei *et al.*, 2007).

A solução de DPPH• (0,24 mmol/L), foi feita imediatamente antes do uso. As amostras foram preparadas na concentração de 200 µg/mL em metanol. O ensaio foi conduzido em microplacas, em octuplicata. Em cada poço, adicionaram-se 71 µL da amostra ou do controle positivo e 29 µL da solução de DPPH•. Para o branco, 71 µL da amostra foram misturados a 29 µL de metanol, enquanto o controle negativo continha 71 µL de metanol e 29 µL de DPPH•. As placas permaneceram no escuro por 30 minutos, sendo então realizada a leitura em espectrofotômetro a 540 nm.

A capacidade antioxidante foi calculada a partir da curva padrão de Trolox em metanol ($\mu\text{g/mL}$), utilizando a equação de regressão linear $y = -0,0127x + 0,2789$ ($r^2 = 0,992$), e expressa em equivalentes de Trolox ($\mu\text{g ET/mg}$ de amostra).

A correlação entre os teores de compostos fenólicos totais, flavonoides e taninos condensados e a capacidade antioxidante das amostras foi determinada por meio do coeficiente de correlação de Pearson ($p < 0,05$).

3.10 AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES BIOLÓGICAS

As atividades biológicas da *C. filiformis* foram investigadas por meio de ensaios *in vitro*, permitindo avaliar o potencial citotóxico, a interação com membranas celulares e a capacidade de inibir o crescimento microbiano. Esses testes fornecem informações importantes sobre o perfil bioativo das amostras.

3.10.1 Determinação da citotoxicidade pelo ensaio com *Artemia franciscana*

A toxicidade preliminar foi investigada utilizando-se os extratos brutos hidroalcoólicos, extratos aquosos e frações semipurificadas obtidas de folhas, caules e frutos, por meio do microcrustáceo *Artemia franciscana*. O ensaio baseou-se no método de Meyer *et al.*, (1982), com algumas adaptações, caracterizando-se como de baixo custo e rápida execução. Os experimentos foram conduzidos no laboratório de Farmacotécnica do Departamento de Farmácia da Universidade Federal do Paraná.

Para o início do teste, preparou-se uma solução salina (pH 9,0–10,0) a partir de sal marinho Instant Ocean Sea Salt dissolvido em água purificada (35 g/L). Parte dessa solução foi aerada por 30 minutos e utilizada para induzir a eclosão dos cistos de *A. franciscana*, enquanto o restante foi reservado para dissolução das amostras. Os cistos permaneceram na solução salina por 48 horas, sob agitação contínua e aquecimento com lâmpada de 20 W, promovendo a eclosão dos náuplios, que foram posteriormente coletados com pipeta Pasteur, atraídos pela luz.

As soluções mãe das amostras foram preparadas na concentração de 1000 $\mu\text{g/mL}$ em solução salina contendo 1% de dimetilsulfóxido (DMSO), a partir da qual foram realizadas diluições seriadas para obter 750, 500, 250, 100, 50 e 10 $\mu\text{g/mL}$. O controle positivo utilizou sulfato de quinidina, e o controle negativo consistiu em

solução salina com 1% de DMSO. Para cada teste, 5 mL das diferentes concentrações de amostras ou controles foram adicionados a frascos de vidro contendo 10 náuplios de *A. franciscana*. Os frascos permaneceram abertos à temperatura ambiente, em local limpo, durante 24 horas. Ao término do período, contabilizou-se o número de náuplios vivos e mortos. Todos os ensaios foram realizados em quintuplicata. A análise estatística dos resultados foi realizada pelo método dos probitos (Finney, 1956), utilizando o software SPSS versão 23.0 (Armonk, NY, USA), sendo consideradas tóxicas as amostras com CL_{50} inferiores a 1000 $\mu\text{g/mL}$ (Meyer *et al.*, 1982).

3.10.2 Avaliação da citotoxicidade sobre eritrócitos

O ensaio de atividade hemolítica foi conduzido com extratos brutos hidroalcoólicos, extratos aquosos e frações semipurificadas de folhas e caules, no laboratório de Farmacotécnica do Departamento de Farmácia da Universidade Federal do Paraná. O procedimento seguiu o protocolo de Aslam *et al.*, (2011), com adaptações, e a hemólise foi determinada por espectrofotometria. Para o experimento, utilizou-se sangue de carneiro desfibrinado (Laborclin®, lote 210805031).

As amostras foram inicialmente diluídas em tampão fosfato salino (PBS, pH $7,2 \pm 0,1$, Newprov®, lote106085) e mantidas sob refrigeração. O sangue foi retirado do refrigerador, homogeneizado suavemente e 5 mL transferidos para tubos Falcon, sendo posteriormente centrifugados por 5 minutos a 3000 rpm. O sobrenadante foi descartado e o precipitado de eritrócitos lavado com solução salina tamponada com fosfato (PBS) gelada, repetindo-se o processo três vezes até que o sobrenadante se tornasse incolor. A suspensão de eritrócitos foi então diluída em PBS para obtenção de concentração final de 2,5%.

As soluções estoque (SE) das amostras e controles foram preparadas a 1000 $\mu\text{g/mL}$ em PBS contendo 10% de metanol. A partir dessas soluções, realizaram-se diluições para concentrações de 1000, 750, 500, 250, 100 e 75 $\mu\text{g/mL}$. O controle negativo consistiu em PBS com 10% de metanol, enquanto a saponina e a rutina foram empregados como padrões hemolítico e não hemolítico, respectivamente, nas mesmas concentrações das amostras.

Para o ensaio, 20 µL das amostras ou controles foram adicionados a 180 µL da suspensão de eritrócitos a 2,5% em tubos tipo Eppendorf®. Os tubos foram homogeneizados manualmente e incubados por 30 minutos em estufa a 37°C. Após a incubação, os tubos foram resfriados em banho de gelo por 5 minutos para interromper a reação, e então centrifugados por 5 minutos a 3000 rpm (Sigma 4-15®). Em seguida, 100 µL do sobrenadante foram diluídos em 900 µL de PBS, e 200 µL desta diluição foram transferidos para microplacas de 96 poços para leitura em espectrofotômetro a 576 nm (Multiskan FC, Thermo Scientific®).

A hemólise foi quantificada em porcentagem, considerando 100% a absorbância obtida com Triton X-100. Todos os testes foram realizados em quintuplicata, e os resultados expressos em % hemólise, calculados conforme Rasool *et al.*, (2015). As diferenças entre as médias foram analisadas por ANOVA, seguida do teste de Tukey ($p < 0,05$), utilizando o software Sisvar versão 5.6 (Ferreira, 2018).

3.10.3 Avaliação da atividade antibacteriana

A atividade antimicrobiana foi avaliada pela técnica de microdiluição em caldo, conforme descrito por Surek *et al.*, (2021) e de acordo com as normas do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (Cockerill *et al.*, 2012), utilizando microplacas estéreis de 96 poços com fundo em “U” e tampa. O ensaio foi conduzido utilizando-se extratos hidroalcoólicos, extratos aquosos e frações semipurificadas de folhas e caules. As amostras foram preparadas em metanol na concentração de 20 mg/mL.

Foram utilizadas as seguintes cepas bacterianas: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 e *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. As cepas foram reativadas em ágar Mueller–Hinton (MH), suspensas em solução salina estéril a 0,85% e ajustadas ao padrão 0,5 da escala de McFarland (1×10^8 UFC/mL). Posteriormente, as suspensões foram diluídas na proporção 1:20, obtendo-se a concentração final de 5×10^5 UFC/mL.

Nas microplacas, realizou-se a diluição seriada dos extratos em 100 µL de caldo Mueller–Hinton, nas concentrações de 1000, 500, 250, 125, 62,5, 31,25, 15,62 e 7,81 µg/mL. Em seguida, 10 µL da suspensão bacteriana foram adicionados a cada poço, atingindo a concentração final de 10^4 UFC/mL. Como controle negativo,

utilizou-se o metanol, adicionando-se 100 µL de solução de metanol em 100 µL de caldo Mueller–Hinton com 10 µL do inóculo bacteriano. Como controle positivo, foi empregada a gentamicina, em concentrações variando de 0,03 a 1000 µg/mL. As microplacas foram incubadas a 35 °C por 20 horas.

A Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi determinada como a menor concentração do extrato capaz de inibir totalmente o crescimento bacteriano, observada a olho nu, e expressa em microgramas por mililitro (µg/mL). A atividade antibacteriana dos extratos e frações foi classificada de acordo com os valores de CIM, conforme Pessini *et al.*, (2003), sendo considerada boa quando a CIM for inferior a 100 µg/mL, moderada quando estiver entre 100 – 500 µg/mL, fraca quando estiver entre 500 – 1000 µg/mL, e inativa quando for superior a 1000 µg/mL.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 REVISÃO INTEGRATIVA

Os estudos analisados abordaram apenas cinco espécies do gênero *Chionanthus* L.: *C. retusus*, *C. virginicus*, *C. mala-elengi*, *C. pubescens* e *C. zeylanicus*, sendo *C. retusus* a mais estudada, com diferentes partes da planta avaliadas. Conforme apresentado na TABELA 3, os principais compostos isolados incluem flavonoides, secoridoides, lignanas, cumarinas, polissacarídeos, ácidos fenólicos e óleos essenciais, sendo que flavonoides e secoridoides se destacam como os principais responsáveis pelas atividades biológicas observadas nesse gênero. A maior parte desses compostos foi detectada na casca de raízes, caules, folhas e flores. De acordo com a TABELA 4, as espécies de *Chionanthus* L. demonstram propriedades antioxidantes, atividades anti-inflamatórias, capacidade de inibir a agregação proteica e efeito citotóxico.

4.1.1 Compostos químicos isolados

Pesquisas fitoquímicas em espécies de *Chionanthus* L. revelaram a presença de diversos compostos pertencentes a diferentes classes químicas, associados a variadas atividades biológicas, conforme mostrado na TABELA 3.

TABELA 3- MOLÉCULAS ISOLADAS DE ESPÉCIES DO GÊNERO *Chionanthus* L.

(continua)

| | Molécula isolada | Amostra | Espécie | Referencia |
|---|--|----------------|-----------------------|------------------------------|
| 1 | 2-(4'-metoxifenil)-2-(2'-metoxifenil)propano | Casca do caule | <i>C. mala-elengi</i> | Malathi <i>et al.</i> , 2020 |
| 2 | (Z)-Isoeugenol | | | |
| 3 | 1-Feniletilenoglicol | | | |
| 4 | 2,4-Di-terc-butilfenol | | | |
| 5 | 1,2-Desidro-17-metiltestosterona | | | |
| 6 | Alfa-asarona | | | |
| 7 | Ar-turmerona | | | |

| | | | | |
|----|---|----------------|----------------------|-----------------------------|
| 8 | Metoxieugenol | | | (continua) |
| 9 | Fenol4-(3,7-dimetil-3-etenoct-1,6-dienil) | | | |
| 10 | 3-(Dodecanamido)ácido benzóico | | | |
| 11 | 2(3H)-Naftalenona 4,4A,5,6,7,8-Hexahidro 4A,7,7-trimetil-, (R)- | | | |
| 12 | Fenol2-metil-5-(1,2,2-trimetilciclopentil)-, (S)- | | | |
| 13 | 7,9-Di-terc-butil-1-oxaspiro (4,5)deca-6,9-dieno-2,8-diona | | | |
| 14 | BenzetanoaminaN-(2,2,2-Trifluoro-) metiletilideno | | | |
| 15 | Filirina | Casca da raiz | <i>C. virginicus</i> | Boyer <i>et al.</i> , 2005 |
| 16 | Acetoxipinoresinol-4"-O-β-D-glicosídeo | | | |
| 17 | Pinoresinol-4',4"-di-O-β-D-glicosídeo e | | | |
| 18 | Pinoresinol-4"-O-β-D-glicosídeo | | | |
| 19 | Filirina-2-O-β-D-glicosídeo | | | |
| 20 | Filirina-6-O-β-D-glicosídeo | | | |
| 21 | Angustifoliosídeo B | | | |
| 22 | Oleuropeína | | | |
| 23 | Ligustrosídeo | | | |
| 15 | Filirina | Casca do caule | | Penman <i>et al.</i> , 2008 |
| 17 | Pinoresinol-4',4"-di-O-β- D-glucoside | | | |
| 18 | Pinoresinol-4"-O-β-D-glicosídeo | | | |
| 19 | Filirina-2-O-β-D-glicosídeo | | | |
| 20 | Filirina-6-O-β-D-glicosídeo | | | |
| 21 | Angustifolioside B | | | |
| 22 | Oleuropeína | | | |
| 23 | Ligustrosídeo | | | |
| 24 | Quercetina | Flor | <i>C. retusus</i> | Lee <i>et al.</i> , 2019 |
| 25 | Kaempferol | | | |

(continua)

| | | | |
|----|---------------------------------------|-------|---------------------------|
| 26 | Astragalina | | |
| 27 | Nicotiflorina | | |
| 28 | Luteolina | | |
| 29 | Luteolina4'-O-β-D-glucopiranosídeo | | |
| 30 | Isorhoifolina | | |
| 31 | Taxifolina | | |
| 32 | Aromadendrina | | |
| 33 | Aromadendrina7-O-β-D-glucopiranosídeo | | |
| 34 | Taxifolina7-O-β-D-glucopiranosídeo | | |
| 35 | Eriodictiol 7-O-β-D-glucopiranosídeo | | |
| 36 | 7-O-Metilparamicocumarina | Raiz | Wang <i>et al.</i> , 2021 |
| 25 | Kaempferol | | |
| 28 | Luteolina | | |
| 24 | Quercetina | | |
| 37 | Apigenina | | |
| 38 | 3,3',5,5',7-penta-hidroxi-flavanona | | |
| 39 | Filigenina | | |
| 22 | Oleuropeína | | |
| 39 | Filigenina | Caule | Kwak <i>et al.</i> , 2009 |
| 40 | Pinoresinol | | |
| 25 | Kaempferol | | |
| 32 | Aromadendrina | | |
| 41 | 2-(4-Hidroxifenil) | | |
| 38 | 3,3',5,5',7-Pentahidroxi-flavanona | | |
| 28 | Luteolina | | |
| 24 | Quercetina | | |
| 37 | Apigenina | | |
| 15 | Filirina | | |

| | | | | |
|----|--------------------------------------|---------------|---------------------|-------------------------|
| 22 | Oleuropeína | | | (continua) |
| 42 | (7R,8R)-Guaiacilglicerol | | | |
| 43 | 2-(4-metoxifenil)-1-etanol | Flor | | Gao, Yin, 2016 |
| 44 | Heneicosano | | | |
| 45 | 2-Fenil-1-etanol | | | |
| 46 | 6,10,14-trimetil-2-pentadecanona | | | |
| 47 | Álcool benzílico | | | |
| 48 | Cicloheneicosano | | | |
| 49 | Eugenol | | | |
| 50 | Tricosano | | | |
| 51 | Ácido palmítico | | | |
| 52 | 2,6,10,14-tetrametilheptadecano | | | |
| 53 | Tridecanal | | | |
| 54 | 2-(4-metoxi-1-fenil)acetato de etila | | | |
| 55 | Docosano | | | |
| 56 | Acetato de benzila | | | |
| 57 | Ácido benzóico | | | |
| 58 | Ácido octanoico | | | |
| 59 | 2-metoxi-4-vinilfenol | | | |
| 60 | Acetato de 2-feniletila | | | |
| 61 | Triacetina | | | |
| 62 | GL-3 | Semente | | YU <i>et al.</i> , 2024 |
| 63 | (8E)-nuzhenida | | | |
| 28 | Luteolina | | | |
| 64 | eriodictiol | | | |
| 65 | Luteolosídeo | | | |
| 29 | Luteolina 4'-O-β-D-glucopiranosídeo | | | |
| 66 | Ácido ursólico | | | |
| 67 | Ácido homovanílico | Fruto e Folha | <i>C. pubescens</i> | |

| | | | | |
|----|---------------------------|--|--|----------------------------|
| | | | | (conclusão) |
| | | | | Mihai <i>et al.</i> , 2023 |
| 68 | Ácido p-cumárico | | | |
| 69 | Ácido trans-cinâmico | | | |
| 70 | 2,5-Dihidroxifenilacético | | | |
| 71 | Ácido vanílico | | | |
| 72 | Ácido gálico | | | |
| 73 | 3,4-dimetoxifenilacético | | | |

FONTE: A autora (2025)

O estudo da composição fitoquímica da casca etanólica de *C. mala-elengi* (Malathi *et al.*, 2020) identificou 14 compostos. Dentre eles, destacam-se: (z)-isoeugenol (2), um fenilpropanóide com ligação dupla z, grupo metoxi e anel aromático; alfa-asarona (6), um éter aromático com cadeia lateral alílica; e ar-turmerona (7), um sesquiterpeno com estrutura cíclica complexa contendo múltiplos anéis e ligações duplas. Estes compostos apresentam atividades biológicas bem conhecidas.

Alguns fenóis também foram identificados, como 2,4-di-terc-butilfenol (4), fenol, 4-(3,7-dimetil-3-etenoc-1,6-dienil) (9) e fenol 2-metil-5-(1,2,2-trimetilciclopentil)-(S) (12), que diferem apenas pelos grupos substituintes no anel aromático. O esteroide testosterona 1,2-deidro-17-metil (5) apresenta ligação dupla entre os carbonos 1 e 2 e um grupo metil na posição 17. Outros fenilpropanóides incluem metoxieugenol (8) e 2-(4'-metoxifenil)-2-(2'-metoxifenil) propano (1), enquanto 1-feniletileno glicol (3) é um álcool fenólico. O composto 3-(dodecanoilamino)ácido benzóico (10) é um derivado acilado do ácido benzóico, e 2(3H)-naftaleno-1,2,3,4,4a,5,6,7,8-nona-hidro-4a,7,7-trimetil-, (R)- (11) é um naftaleno parcialmente saturado com grupos metil e cetona na configuração R. Entre os compostos de estrutura mais complexa, destaca-se o 7,9-di-terc-butil-1-oxaspiro(4,5)deca-6,9-dieno-2,8-diona (13), que apresenta um sistema espirô característico, conferindo rigidez e tridimensionalidade à molécula, e a benzenaetilamina N-(2,2,2-trifluoroetil) (14), que combina um anel benzênico, uma cadeia etano com grupo amino e uma substituição trifluorometil, conferindo propriedades eletrônicas e lipofílicas distintas.

Lignanas e secoiridoides foram encontrados em extratos de raiz e caule de *C. virginicus* (Boyer *et al.*, 2005; Penman *et al.*, 2008) e em caule e raiz de *C. retusus* (Wang *et al.*, 2021; Kwak *et al.*, 2009).

A filirina (15) é uma lignana glicosilada, e seus derivados filirina-2-O- β -D-glicosídeo (19) e filirina-6-O- β -D-glicosídeo (20) diferem apenas na posição da glicose. O dímero fenólico pinoresinol (40) originou os derivados glicosilados pinoresinol-4',4''-di-O- β -D-glicosídeo (17) e pinoresinol-4''-O- β -D-glicosídeo (18), enquanto acetoxipinoresinol-4''-O- β -D-glicosídeo (16) apresenta acetilação adicional. O lignanoide (7R,8R)-guaiacilglicerol (42) deriva de uma unidade guaiaçil ligada a glicerol substituído, e a filigenina (39) é uma aglicona formada por duas unidades fenilpropanóides. Entre os secoiridoides (21–23), angustifoliosídeo B (21) contém um anel iridoide com glicose ligada, oleuropeína (22) possui um núcleo secoiridoide com grupo tirosol ligado à glicose, e ligstrosídeo (23) apresenta variações de substituintes que ampliam a diversidade estrutural e biológica.

Em *C. retusus*, os flavonoides são os principais metabólitos secundários, identificados em flores, raízes, caules e sementes (Lee *et al.*, 2019; Wang *et al.*, 2021; Kwak *et al.*, 2009; Yu *et al.*, 2024). Quatorze flavonoides foram isolados, todos compartilhando a estrutura básica de dois anéis aromáticos conectados por uma cadeia de três carbonos.

Entre eles estão as flavonas agliconas quercetina (24) e kaempferol (25), que diferem na posição das hidroxilas. Luteolina (28) possui hidroxilas nas posições 5 e 7 do anel A e grupo fenólico na posição 4' do anel B; sua forma glicosilada é luteolina 4'-O- β -D-glucopiranosídeo (29). Aromadendrina (32) apresenta hidroxilas em 3, 5 e 7 do anel A, e sua forma glicosilada é aromadendrina 7-O- β -D-glucopiranosídeo (33). Apigenina (37) contém hidroxilas em 5 e 7 do anel A e cetona na posição 4 do anel C. Glicosídeos de flavonoides incluem astragalina (26), nicotiflorina (27) e sofrafalvanona (30), com glicose na posição 3 do anel C. Eriodictiol 7-O- β -D-glucopiranosídeo (35) e taxifolina 7-O- β -D-glucopiranosídeo (34) também são glicosilados; este último deriva da dihidroflavona taxifolina (31). 3,3',5,5',7-pentahidroxiflavanona (38) é uma flavanona com múltiplas hidroxilas, enquanto 7-O-metilparamanicoumarina (36) é uma cumarina metilada e 2-(4-hidroxifenil)etanol (41) é um polifenol simples. Nas sementes, foram identificados: GL-3, (8E)-nuzhenide, eriodictiol, luteolosídeo e ácido ursólico.

O óleo essencial das flores de *C. retusus* apresenta como constituintes álcoois primários, incluindo 2-(4-metoxifenil)-1-etanol (43), 2-fenil-1-etanol (45) e álcool benzílico (47), além de ácidos graxos (44, 50, 51, 55), hidrocarbonetos (48, 52), cetonas (46), fenóis (49, 59), aldeídos (53) e ésteres (54, 56, 60, 61). Também foram identificados os ácidos benzóico (57) e octanoico (58).

Por fim, sete ácidos fenólicos foram isolados de frutos e folhas de *C. pubescens* (Mihai et al., 2023), incluindo ácido homovanílico (67), p-cumárico (68), trans-cinâmico (69), 2,5-diidroxifenilacético (70), vanílico (71), gálico (72) e 3,4-dimetoxifenilacético (73), diferenciando-se pelos grupos substituintes nos anéis aromáticos (FIGURA 9).

4.1.2 Atividades biológicas e capacidade antioxidante, identificadas

Foram encontrados estudos envolvendo apenas quatro espécies do gênero, conforme apresentado na TABELA 4, todos conduzidos por ensaios *in vitro*. Entre os resultados observados estão citotoxicidade, capacidade antioxidante, ação anti-inflamatória e inibição da agregação de proteínas LCC.

TABELA 4 – POTENCIAL BIOLÓGICO DO GÊNERO *Chionanthus* L. EM ESTUDOS SELECIONADOS

(continua)

| Espécie | Amostra | Extrato/composto | Ensaio | Resultado | Referência |
|----------------------|---------------|-----------------------------------|---|--|---------------------|
| <i>C. virginicus</i> | Casca da raiz | Extrato metanólico (EM) | Atividade de captura do radical ânion superóxido (O ₂ ^{•-}) em sistemas PMS-NADH/NBT | 10 µg/mL EM 78,9% EAC 83,2% α-tocoferol 71,4% Trolox 78,2% BHA 76% BHT 47,3% | Gülçin et al., 2007 |
| | | Extrato de acetato de etila (EAC) | Tiocianato de ferro em emulsão de ácido linoleico | 20 µg/mL EM 79,3% EAC 83% α-tocoferol 54,7% Trolox 20,1% BHA 74,4% BHT 71,2% | |

(continua)

| | | | | | |
|----------------------|----------------|-----------------------------|---|--|-----------------------------|
| | | | Atividade quelante de metais em íons ferrosos (Fe ²⁺) | 10 µg/mL EM 94,5% EAC 88,6% α-tocoferol 21,6% Trolox 48,5% BHA 72,1% BHT 64,3% | |
| | | | Atividade de captura de H ₂ O ₂ | 10 µg/mL EM 74,3% EAC 64,6% α-tocoferol 69,8% Trolox 51,1% BHA 70,7% BHT 67,1% | |
| | | | ABTS | 20 µg/mL EM 57,8% EAC 99,9% α-tocoferol 93,3% Trolox 95,2% | |
| | | | DPPH | 20 µg/mL EM 39,2% EAC 83,6% α-tocoferol 85,2% Trolox 14,3% BHA 86,2% BHT 99,7% | |
| <i>C. virginicus</i> | Casca da raiz. | Tinturas-mãe. | Método de controle de qualidade por HPLC | Validação de método | Boyer <i>et al.</i> , 2011 |
| <i>C. virginicus</i> | Casca da raiz | Ligustroside Oleuropeina | Tiocianato férrico em emulsão de ácido linoleico | 20 µg/mL Ligustroside 82,4% Oleuropeina 90,4% α-tocoferol 61,5% Trolox 29,8% BHA 74,4% BHT 71,2% | Gülçin <i>et al.</i> , 2008 |
| | | | Atividade quelante de metais sobre íons ferroso (Fe ²⁺) | 10 µg/mL Ligustroside 62% Oleuropeina 50% α-tocoferol 22% Trolox 49% BHA 72% BHT 64% | |

(continua)

| | | | | | |
|-------------------------|----------------------------------|----------------------|--|---|----------------------------|
| C. <i>virginicus</i> | Folha Inflorescência Fruto | Extrato etanólico | Atividade de captura de peróxido de hidrogênio | 10 µg/mL Ligustroside 83% Oleuropeina 81% α-tocoferol 70% Trolox 51% BHA 71% BHT 67% | Mihai <i>et al.</i> , 2023 |
| | | | ABTS | IC ₅₀ mg/mL Ligustroside 14,69 Oleuropeina 9,96 α-tocoferol 1,57 Trolox 5,38 BHA 3,25 BHT 3,74 | |
| | | | DPPH | IC ₅₀ mg/mL Ligustroside 32,2 Oleuropeina 11,12 α-tocoferol 10.62 Trolox 62,50 BHA 9,86 BHT 9,41 | |
| | | | Atividade de captura do radical ânion superóxido em sistemas PMS- NADH/NBT | 10 µg/mL Ligustroside 69% Oleuropeina 34% α-tocoferol 71% Trolox 78% BHA 76% BHT 47% | |
| | | | Fenólicos totais (TPC) Flavonoides totais (TFC) Antocianidinas | TPC (mg GAE/g) Folha 24.6031 Fruto 10.6721 Inflorescência 14.7404 TFC (mg QE/g) Folha 66,90 Fruto 14,09 Inflorescência 17,14 Antocianinas (mg de cianidina-3- glucosídeo/L) Inflorescência 3,89 | |
| | | | FRAP | IC ₅₀ mg/mL Folha 2,84 Fruto 2,87 Inflorescência 2,95 Trolox 0,019 | (continua) |

| | | | | | |
|----------------------|----------------------------------|--------------------------|---|---|--|
| <i>C. pubescens</i> | Folha Inflorescência Fruto | Extrato etanólico | ABTS | IC ₅₀ mg/mL Folha 55,98 Fruto 59,92 Inflorescência 61,15 Trolox 0,36 | |
| | | | DPPH | IC ₅₀ mg/mL Folha 66,39 Fruto 94,50 Inflorescência 83,47 Trolox 0,08 | |
| | | | Fenólicos totais (TPC) | TPC (mg GAE/g) Folha 28,45 Fruto 11,46 Inflorescência 11,28 | |
| | | | Flavonoides totais (TFC) | TFC (mg QE/g) Folha 60,95 Fruto 13,81 Inflorescência 11,76 | |
| | | | Antocianidinas | Antocianinas (mg de cianidina-3-glucosídeo/L) Fruto 5.33 Inflorescência 9.33 | |
| | | | FRAP | IC ₅₀ mg/mL Folha 2,84 Fruto 2,93 Inflorescência 2,94 Trolox 0,019 | |
| <i>C. zeylanicus</i> | Casca | Extrato acetato de etila | ABTS | IC ₅₀ mg/mL Folha 55,85 Fruto 58,66 Inflorescência 66,97 Trolox 0,36 | Venkateswararao <i>et al.</i> , 2013 (continua) |
| | | | DPPH | IC ₅₀ mg/mL Folha 62,88 Fruto 90,77 Inflorescência 73,38 Trolox 0,08 | |
| | | Extrato metanólico | Teste preliminar para metabólitos secundários | Flavonoides, esteróides, terpenoides, taninos, glicosídeos, alcaloides e açúcares redutores (ambos os extratos) | |
| | | | | | |

| | | | | | |
|-------------------|--------|---|---|--|--|
| | | | | Fenóis, quinonas, lignina, óleos fixos (extrato metanólico) | |
| | | | DPPH | 50µg/ml concentração Extrato acetato de etila 29,42% Extrato metanólico 72,63% Ácido ascórbico 23,38% BHT 75,77% | |
| <i>C. retusus</i> | Folha | Extrato etanólico com diferentes concentrações de etanol | Flavonoides totais (TFC) | 98.46 mg/g | Wang <i>et al.</i> , 2022 |
| | | | DPPH | EC ₅₀ / µg/mL Extrato bruto 38,78 Extrato 10% 110,76 Extrato 20% 44,60 Extrato 30% 37,69 Extrato 40% 37,24 Extrato 50% 24,08 Extrato 60% 49,64 | |
| <i>C. retusus</i> | Folha | Frações LCC-L-CR LCC-C-CR Lignina-CR | DPPH Células RAW 264.7 | IC ₅₀ (mg/ml) LCC-L-CR: 0,05 LCC-C-CR: 0,2 Lignina-CR: 0,06 | Pei <i>et al.</i> , 2020 |
| | | | Radical ânion superóxido (O ₂ ^{•-}) Células RAW 264.7 | IC ₅₀ (mg/ml) LCC-L-CR 0,11 LCC-C-CR 0,19 Lignina-CR 0,14 | |
| | | | Sequestro de ROS <i>In vivo</i> em peixe-zebra | 200 mcg/mL Supressão da intensidade de fluorescência | |
| | | | Efeito sobre a agregação de proteínas ATXN3Q71 | 100 µL.mL LCC-L-CR 36,83% LCC-C-CR 42,55% Lignina-CR 44,15% DMSO 43,05% (4µL/mL) | |
| <i>C. retusus</i> | Flores | Compostos 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35 | Viabilidade de células RAW264.7 (ensaio MTT) | Concentrações de 40 e 80 mM (apenas luteolina apresentou citotoxicidade em 80 | (continua) Lee <i>et al.</i> , 2019 |

| | | | |
|-------------------|------|--|--|
| | | | mM) |
| | | Efeitos inibitórios na produção de NO em células RAW 264.7 | IC ₅₀ (µM) (24) 37,93 (30) >100 (25) 21,25 (31) 78,53 (26) >100 (32) >100 (27) >100 (33) 71,56 (28) 5,99 (34) 57,18 (29) 30,60 (35) 60,86 |
| | | Viabilidade de células HT22 (ensaio MTT) | 20 and 40 mM Concentração Sem citotoxicidade < 40 µM |
| | | Expressão de HO-1 em células hipocâmpais HT22 (compostos 24, 25, 28, 30, 31, 33, 34 e 35) | 24, 25, 28, 29, 31, 33 e 34: viabilidade celular > 80% (40 µM) 26, 27, 30, 32, 35: viabilidade celular < 80% (40 µM) |
| | | Transferência imunológica | 10, 20, e 40 µM concentração <i>p</i> < 0,05 <i>p</i> < 0,01 <i>p</i> < 0,001 |
| | | Viabilidade celular através da via de sinalização HO (compostos 24, 25, 28, 30, 31, 33, 34 e 35) | Viabilidade celular > 60% 24, 25, 28, 33 e 34 Viabilidade celular < 60% 29, 31 e 35 |
| <i>C. retusus</i> | Raíz | Compostos isolados | Efeitos inibitórios na produção de IC ₅₀ µM (36) 45,53 |

(continua)

Wang *et al.*,
2021

| | | | | |
|-------------------|-------|------------------------------|--------------------------------|---|
| | | (22, 24, 25, 28, 36, 38, 39) | NO em células murinas RAW264.7 | (37) 27,18 (25) 24,84 (38) 25,18 (28) 33,98 (39) 78,59 (24) 32,12 (22) 28,14 Indometacina 155,02 |
| | | | Efeitos citotóxicos | IC ₅₀ µM Doxorrubicina (DC) |
| | | | | DLD-1 (36) 38,51 (25) 20,22 (28) 13,69 (24) 10,41 (37) 12,25 (38) 40,18 (39) 39,25 (22) > 50 (DC) 0,38 |
| | | | | MR-32 (36) > 50 (25) 28,17 (28) 30,18 (24) 25,81 (37) > 50 (38) 47,13 (39) > 50 (22) > 50 (DC) 0,034 |
| | | | | CCRF-CEM (36) > 50 (25) 24,38 (28) 15,35 (24) 13,52 (37) 19,48 (38) > 50 (39) 43,68 (22) > 50 |
| | | | | (DC) 0,34 HL-60 (36) > 50 (25) 19,01 (28) 37,66 (24) 20,37 (37) 15,66 (38) > 50 (39) > 50 (22) > 50 (DC) 0,12 |
| <i>C. retusus</i> | Caule | Compostos | Efeitos citotóxicos | ED50 µg/mL |

| | | | | | |
|-------------------|--------|---|--|---|---------------------------|
| | | isolados 15, 22, 24, 25, 28, 32, 37, 38, 39, 40, 41, 42 | | Doxorrubicin (DC) | (continua) |
| | | | | SK-MEL-2 (39)18,94 (40) >30 (25)6,04 (32) >30 (41) >30 (38) 21,70 (28)1,97 (24)3,43 (37)1,88 (15,22 e 42) >30 (DC) 0,13 | Kwak <i>et al.</i> , 2009 |
| | | | | HCT15 (39) 15,22 (40) 33,91 (25) 6,35 (32) 29,81 (41) >30 (38) 28,73 (28) 2,84 (24) 1,84 (37) 2,51 (15,22 e 42) >30 (DC)0,92 | |
| | | | | A549 (39) 16,43 (40) 26,17 (25) 5,16 (32) 18,11 (41)>30 (38) 27,41 (28) 3,27 (24) 3,70 (37) 2,61 (15,22 e 42) >30 (DC) 0,03 | |
| | | | | SK-OV-3 (39) 15,76 (40) 26,82 (25)5,72 (32) 17,26 (41) >30 (38) 17,05 (28) 2,03 (24) 2,68 (37) 2,14 (15,22 e 42) >30 (DC)0,16 | |
| <i>C. retusus</i> | Flores | Composto isolado (32) | Ensaio MTT / Células neuronaes SH-SY5y | Concentração de 40 µM Sem citotoxicidade | |

(continua)
Lee *et al.*, 2022

| | | | | | |
|--|--|--|---|-----------------------------------|--|
| | | | Ensaio de apoptose com Annexina V/iodeto de propídio (PI) | Apoptose em qualquer concentração | |
|--|--|--|---|-----------------------------------|--|

(continua)

| | |
|---|--|
| <p>Regulação do estresse do RE induzido por METH em células SH-SY5y</p> | <p>Tempo (df = 11, p < 0,05 versus grupo tratado com METH)</p> <p>Dose (df = 17, p < 0,05 versus grupo tratado com controle)</p> <p>Redução do mRNA de CHOP em células neuronais expostas a METH (df = 11, p < 0,05 versus grupo tratado com METH e df = 17, p < 0,05 versus grupo tratado com controle)</p> |
| <p>Fosforilação da via de sinalização PI3K/Akt/mTOR em células SH-SY5y expostas a METH</p> | <p>Aumento do nível de fosforilação de PI3K (df = 11, p < 0,05 versus grupo tratado com METH)</p> <p>Restauração das vias PI3K e Akt (df = 11, p < 0,05 versus grupo tratado com METH)</p> |
| <p>Autofagia induzida por METH em células neuronais</p> <p>Intensidade de Annexina V em células SH-SY5y</p> <p>Análise por Western blot</p> | <p>Efeito dependente da dose (df = 17, p < 0,05 versus grupo tratado com METH)</p> <p>Efeito supressor sobre a autofagia nesse nível (df = 11, p < 0,05 versus grupo tratado com METH)</p> |

| | | |
|--|---|-------------|
| | Redução da expressão de Bax em células expostas a METH (df = 11, p < 0,05 versus grupo tratado com METH) | (conclusão) |
| | Redução da intensidade de Caspase 3/7 pela exposição a METH de forma dependente da dose (df = 17, p < 0,05 versus grupo tratado com METH) | |

FONTE: A autora (2025)

4.1.3 Potencial citotóxico

Testes de citotoxicidade *in vitro* foram realizados com substâncias isoladas de *Chionanthus retusus*. O efeito citoprotetor dos flavonoides é atribuído à ativação de moléculas intracelulares envolvidas na cascata de sinalização de quinases de proteínas e lipídios no cérebro, além de influenciar o fluxo sanguíneo cerebrovascular (Vauzour et al. 2008; Dajas et al., 2003).

O estudo realizado por Lee e colaboradores (2019) investigou flavonoides extraídos das flores da planta. No ensaio MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio brometo), que avalia a viabilidade celular com base na capacidade das células metabolicamente ativas de reduzir o MTT a formazana, apenas a luteolina na concentração de 80 mM apresentou efeito citotóxico. Os flavonoides que aumentaram a viabilidade celular também foram avaliados quanto à capacidade de induzir a expressão da proteína HO-1, associada à proteção de células cerebrais contra estresse oxidativo. Os resultados indicaram que a presença de grupos hidroxila, a estrutura do anel B e o tipo de ligação C2-C3 influenciam a eficácia dos flavonoides, sendo que os aglicones apresentaram maior atividade protetora do que os glicosídeos.

Além disso, Wang et al. (2021) avaliaram flavonoides da raiz contra linhas celulares humanas de câncer, incluindo DLD-1 (carcinoma colorretal), CCRF-CEM

(leucemia linfoblástica), HL-60 (leucemia mieloide) e IMR-32 (neuroblastoma). Luteolina, quercetina e apigenina mostraram citotoxicidade relevante contra DLD-1 e CCRF-CEM, enquanto kaempferol e apigenina foram ativos contra HL-60. Kwak et al. (2009) testaram compostos do caule em células tumorais A549, OK-OV-3, SKMEL-2 e HCT15, observando efeitos moderados para kaempferol, luteolina, quercetina e apigenina, e citotoxicidade significativa para filigenina, pinosinol, aromaderina e 3,3',5,5',7-pentahidroxi-flavanona. Lee et al. (2022) mostraram que aromaderina isolada das flores protegeu células neuronais SH-SY5y da citotoxicidade induzida por metanfetamina, modulando o estresse do retículo endoplasmático e ativando a via PI3K/Akt/mTOR.

Em conjunto, esses estudos indicam que *C. retusus* e seus flavonoides derivados apresentam potencial promissor tanto como compostos citoprotetores quanto como candidatos para investigação em diferentes tipos de câncer, com a eficácia dependente da estrutura química dos flavonoides.

4.1.4 Capacidade antioxidante

O potencial antioxidante do gênero *Chionanthus* L. foi investigado por diferentes metodologias *in vitro*, incluindo os ensaios 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico) (ABTS), 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) e Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP), além de testes de eliminação de radicais superóxido e peróxido, inibição da peroxidação da emulsão de ácido linoleico e atividade quelante de íons ferrosos. A maioria dos estudos realizou pelo menos dois ensaios para garantir maior confiabilidade. Os resultados indicam uma correlação entre a atividade antioxidante e os compostos presentes, assim como suas estruturas químicas, sugerindo que essas espécies podem ser fontes promissoras de antioxidantes naturais com potencial terapêutico. Vale ressaltar que as variações nos resultados estão relacionadas ao tipo de solvente, tempo de incubação e pré-tratamentos, possivelmente devido à afinidade de certos compostos com os reagentes (Kryževičiūtė et al., 2016).

Gülçin et al. (2007) demonstraram que os extratos metanólico e de acetato de etila da casca da raiz de *C. virginicus* apresentaram capacidade antioxidante superior aos padrões BHA, BHT, α -tocoferol e trolox, com efeito dependente da dose. Os extratos exibiram maior atividade quelante de íons ferrosos, maior

capacidade de eliminação de radicais aniônicos e inibição da peroxidação da emulsão de ácido linoleico. O extrato metanólico mostrou maior eficiência na eliminação de peróxido de hidrogênio, enquanto o extrato de acetato de etila se destacou na eliminação de radicais ABTS. Apenas no ensaio DPPH a capacidade de eliminação de radicais dos extratos foi inferior à dos padrões, embora o extrato de acetato de etila tenha apresentado os melhores resultados gerais. Esse potencial antioxidante é provavelmente atribuído à presença de lignanas e secoiridoides (Boyer et al., 2005; Boyer et al., 2011).

Em estudo subsequente, Gülçin *et al.*, (2008) avaliaram dois secoiridoides isolados da casca da raiz, ligustrosídeo (23) e oleuropeína (22). Nos ensaios de peroxidação lipídica de emulsão de ácido linoleico, ambos os compostos mostraram atividade redutora superior ao controle e maior eliminação de peróxido de hidrogênio do que os padrões. Contudo, nos testes de DPPH e ABTS, a atividade antioxidante de ambos foi inferior à dos padrões. Na avaliação da capacidade de quelar íons ferrosos, a oleuropeína destacou-se também na eliminação de radicais superóxido. A atividade antioxidante de ambos os compostos depende da concentração, sendo a oleuropeína mais eficiente, possivelmente devido à presença de um grupo hidroxila fenólico adicional (Gülçin, 2006). Esses compostos também foram identificados na casca do caule, oferecendo uma alternativa menos agressiva para coleta do material vegetal (Penman et al., 2008).

O extrato de acetato de etila da casca do caule de *C. zeylanicus* apresentou maior capacidade de eliminação do radical DPPH, atribuída principalmente à presença de compostos fenólicos (Venkateswararao *et al.*, 2013). Resultados similares foram observados em folhas de *C. pubescens* e *C. virginicus* L., que demonstraram elevada atividade antioxidante, especialmente na redução de Fe^{3+} , devido ao maior teor total de polifenóis e flavonoides (Mihai *et al.*, 2023). Como espécies ornamentais, suas folhas representam fonte promissora de antioxidantes. De forma semelhante, extratos etanólicos de folhas de *C. retusus* mostraram significativa capacidade de eliminação do radical DPPH, relacionada ao alto teor de flavonoides, com condições ótimas de extração de 60% de etanol, potência ultrassônica de 140 W, razão líquido-sólido de 25:1 ml/g e temperatura de 80°C (Wang *et al.*, 2022).

Pei *et al.* (2020) investigaram complexos lignina-carboidrato (LCC-C-CR, LCC-L-CR e Lignina-CR) extraídos de folhas de *C. retusus*, observando eficiente

atividade antioxidante em ensaios *in vitro*, com IC₅₀ abaixo de 1 mg/mL nos testes de eliminação de radicais DPPH e superóxido, destacando o complexo LCC-L-CR. Além de ser dependente da dose, a atividade antioxidante mostrou correlação inversa com o percentual de carboidratos, indicando que a heterogeneidade das ligninas influencia a eficácia antioxidante (Ugartondo *et al.*, 2008).

Em resumo, as espécies do gênero *Chionanthus L.* demonstram ser fontes naturais promissoras de antioxidantes, sendo as folhas o material mais indicado para extração desses compostos bioativos.

4.1.5 Ação anti-inflamatória

Estudos *in vitro* investigaram os efeitos inibitórios sobre a produção de óxido nítrico (NO) na linhagem de macrófagos murinos RAW264.7, induzida por lipopolissacarídeo (LPS), utilizando flavonoides extraídos das flores (Lee *et al.*, 2019) e das raízes (Wang *et al.*, 2021) de *C. retusus*. Conforme mostrado na TABELA 5, os flavonoides das flores foram capazes de reduzir a produção de NO, embora com intensidades variadas em relação ao controle positivo (buteína). Observou-se que a atividade anti-inflamatória está relacionada à estrutura dos flavonoides: aqueles com estrutura catecol no anel B, como quercetina (24), luteolina (28), luteolina 4'-O-β-d-glicopiranosídeo (29), taxifolina (31), taxifolina 7-O-β-d-glicopiranosídeo (34) e eriodictiol 7-O-β-d-glicopiranosídeo (35), apresentaram efeito superior aos compostos com estrutura de fenol, astragalina (26), nicotiflorina (27), isorhoifolina (30), aromadendrina (32) e aromadendrina 7-O-β-d-glicopiranosídeo (33). Além disso, verificou-se que o aumento das frações de glicose nos flavonoides tende a reduzir a atividade, embora a presença de glicopiranosídeos na posição C-7 possa intensificá-la em relação aos agliconas. Entre os flavonoides extraídos das raízes, kaempferol (25), apigenina (37), 3,3',5,5',7-pentahidroflavanona (38) e oleuropeína (22) foram os mais eficazes na inibição da produção de NO, quando comparados ao controle positivo (indometacina), reforçando a relação entre estrutura e atividade. Esses resultados indicam que a presença de um anel B com estrutura catecol e de uma porção glicopiranosílica são determinantes para o efeito anti-inflamatório desses flavonoides, destacando *C. retusus* como uma fonte promissora de compostos bioativos com potencial terapêutico (Al-Khayri *et al.*, 2022; Dias *et al.*, 2021).

4.1.6 inibição da agregação de proteínas LCC.

A expansão anormal da sequência de poliglutamina (polyQ) está associada a doenças degenerativas, como a doença de Huntington e diferentes subtipos de ataxias espinocerebelares (Lieberman *et al.*, 2019). Nessas condições, as proteínas polyQ formam agregados nos neurônios, comprometendo funções biológicas e levando à neurodegeneração (Adegbuyiro *et al.*, 2017). Compostos químicos têm mostrado reduzir a citotoxicidade dessas proteínas ao diminuir a formação de agregados (Hong *et al.*, 2019; Walter *et al.*, 2014). Nesse contexto, um estudo *in vitro* revelou que o complexo LCC-L-CR, extraído das folhas de *C. retusus* (Pei *et al.*, 2020), foi capaz de inibir a agregação da proteína polyQ em células neuronais, evidenciando o potencial desse complexo na proteção contra disfunções neuronais associadas a doenças humanas causadas pelo desdobramento incorreto de proteínas.

4.2 MATERIAL VEGETAL

Folhas, caules e frutos de *Chionanthus filiformis* foram coletados em diferentes pontos da copa de um único exemplar, abrangendo amostras em distintos estágios de desenvolvimento, incluindo material jovem e maduro. As folhas e os caules foram submetidos à secagem à sombra, em temperatura ambiente, por aproximadamente 10 dias. Esse procedimento é essencial para a remoção da água, assegurando a estabilidade do material vegetal e prevenindo reações químicas indesejadas, processos de degradação e a proliferação de microrganismos (Oliveira, Petrovick, 2010).

Após a trituração, obtiveram-se 550 g de folhas secas e 555 g de caules secos. Os frutos foram separados em maduros e verdes e, posteriormente, congelados, totalizando 30 g de frutos verdes e 35 g de frutos maduros.

O material coletado foi destinado às análises físico-químicas, ao rastreamento fitoquímico, à obtenção de extratos e frações, bem como à realização de ensaios biológicos e capacidade antioxidante.

4.3 ESTUDO MORFOANATÔMICO E HISTOQUÍMICO

Os resultados obtidos foram comparados aos dados previamente registrados por Kolb et al., (2020), possibilitando identificar semelhanças e diferenças relevantes para a caracterização taxonômica da espécie *Chionanthus filiformis*.

4.3.1 Características morfológicas de folhas, caules e pecíolo

A espécie é uma árvore que pode atingir até 12 metros de altura (FIGURA 4A). Seus ramos são cilíndricos, levemente tortuosos, com superfície que varia de lisa a levemente rugosa, apresentando coloração que vai do marrom-claro ao marrom-acinzentado (FIGURA 4B). As folhas adultas (FIGURA 4C) são simples, opostas, de textura cartácea, com face adaxial verde-escura e face abaxial verde-clara. Apresentam formato lanceolado a oblongo, ápice acuminado, margens inteiras, base simétrica e nervura central principal da qual se ramificam nervuras secundárias ao longo da lâmina foliar.

A análise de 20 folhas revelou comprimento médio de $17,12 \pm 2,22$ cm e largura média de $3,52 \pm 0,39$ cm, enquanto o pecíolo apresentou comprimento médio de $1,52 \pm 0,28$ cm. Esses dados ampliam os registros de Kolb et al. (2020) e confirmam os valores observados por Januário et al. (2012) em relação à morfologia e às dimensões médias de *C. filiformis*.

FIGURA 4 - ÁRVORE, CAULES E FOLHAS DE *C. filiformis*

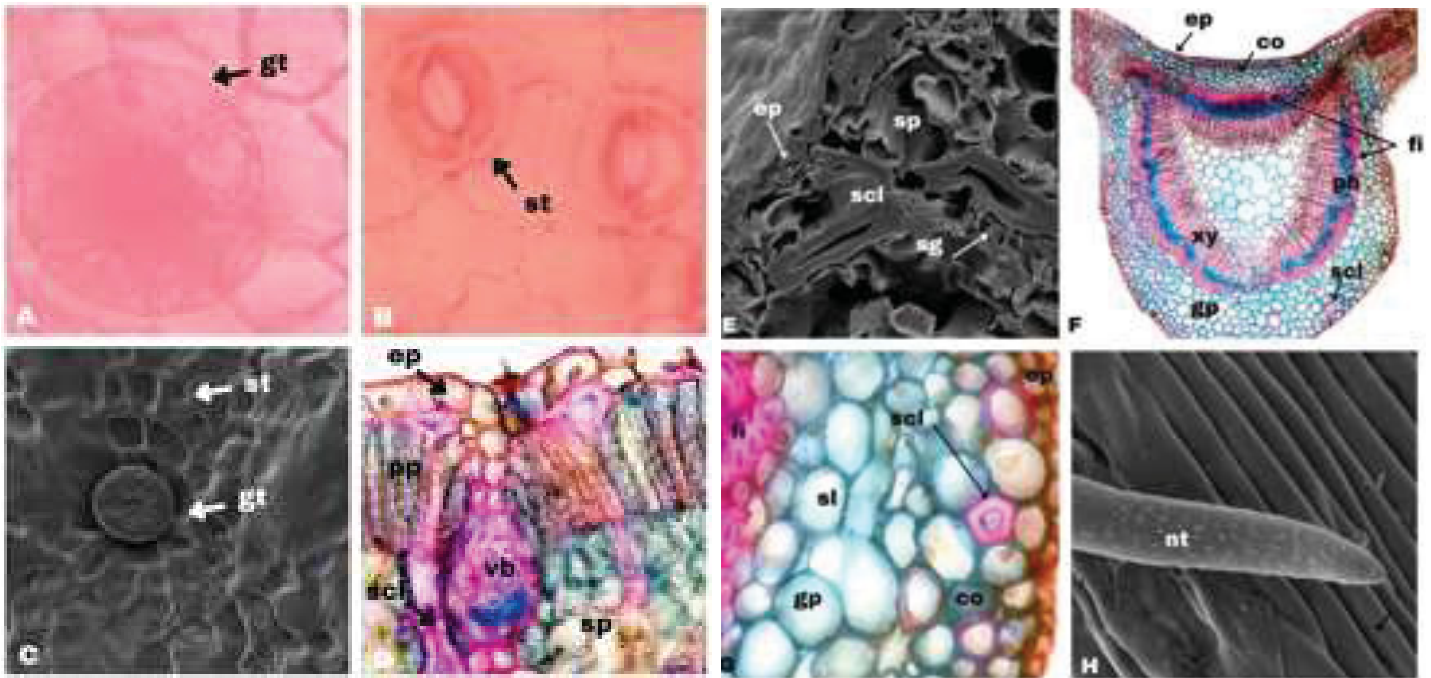


FONTE: A autora (2023)

NOTA: A: Exemplar de árvore em seu habitat original; B: folhas em um ramo; C: folha em vista de superfície.

Na vista frontal, observa-se que a epiderme da folha possui paredes anticlinais retas a levemente onduladas na superfície adaxial (FIGURA 5A), enquanto na face abaxial essas paredes apresentam contorno sinuoso (FIGURA 5 B,C). Ambas as superfícies estão revestidas por uma cutícula fina, ligeiramente estriada (FIGURA 5C). A morfologia das paredes anticlinais da face adaxial pode ser utilizada como caráter diagnóstico, já que, em folhas de *Chionanthus*, as paredes anticlinais geralmente são sinuosas (Kolb *et al.*, 2020).

FIGURA 5 - MORFOANATOMIA DAS FOLHAS DE *Chionanthus filiformis*.



FONTE: A autora (2025)

NOTA: (A–D) Microscopia óptica e eletrônica de varredura da lâmina foliar: (A) tricoma glandular (gt) na face adaxial; (B) estômato anomocítico (st) na face abaxial; (C) vista de SEM mostrando estômato (st) e tricoma glandular (gt); (D) seção transversal da lâmina evidenciando epiderme (ep), parênquima paliçádico (pp), parênquima lacunoso (sp), feixe vascular (vb) e esclereide (scl). (E–H) Detalhes de seções transversais e SEM: (E) esclereides ramiformes (scl), parênquima lacunoso (sp) e grão de amido (sg); (F) nervura central em corte transversal mostrando epiderme (ep), colênquima (co), fibras (fi), feixe vascular com xilema (xy), floema (ph), parênquima fundamental (gp) e esclereides (scl); (G) detalhe do mesofilo com colênquima (co), parênquima fundamental (gp), esclereide (scl) e cristal estilóide (sl); (H) tricoma não glandular (nt) na face abaxial observado por SEM. Barras de escala: (A, B, D, F) 50 µm; (E, G) 20 µm; (C, H) 20 µm.

A espécie apresenta folhas hipostomáticas, com estômatos anomocíticos situados ao mesmo nível das células epidérmicas adjacentes (FIGURA 5 B,C). Os estômatos mediram, em média, $22,99 \pm 2,094 \mu\text{m}$ de comprimento e $20,103 \pm 1,796 \mu\text{m}$ de largura, com Índice Estomático (IE, %) de $14,835 \pm 1,746$, sendo este o primeiro registro de tamanho e IE para um representante do gênero *Chionanthus* (Kolb *et al.*, 2020; Brasil, 2024).

Tricomas glandulares do tipo peltado foram observados em ambas as faces da lâmina foliar (FIGURA 5 A,C,D), enquanto os tricomas não glandulares estão restritos à superfície abaxial (FIGURA 5H). Estes tricomas simples e unicelulares possuem cutícula estriada e distribuição esparsa, característica útil para diagnóstico taxonômico. Tricomas, além de protegerem, participam de funções biossintéticas, absorção de água e detoxificação de metais (Theobald *et al.*, 1980; Almeida *et al.*, 2017; Li *et al.*, 2023; Monchak *et al.*, 2023; Antunes *et al.*, 2024). Nas domácias, presentes como junções em “V” entre nervura principal e secundárias, ocorrem tricomas não glandulares alongados e multicelulares (Kolb *et al.*, 2020; Chomicki *et al.*, 2024).

A epiderme adaxial é unisseriada, composta por células retangulares a poligonais recobertas por cutícula fina (FIGURA 5 D,F). O mesofilo apresenta disposição dorsiventral, com uma camada de parênquima paliçádico e cinco a seis camadas de parênquima lacunoso (FIGURA 5 D,E). A epiderme abaxial é unisseriada, com células poligonais a cúbicas. Os feixes vasculares colaterais são circundados por células esclerenquimáticas e possuem extensões de bainha (FIGURA 5 D,F).

Enquanto o mesofilo dorsiventral é observado em *C. micranthus*, *C. parviflorus* e *C. tenuis*, espécies como *C. crassifolius*, *C. ferrugineus*, *C. fluminensis*, *C. greenii*, *C. subsessilis* e *C. trichotomus* apresentam mesofilo isobilateral (Russin & Everet, 1984; Kolb *et al.*, 2020).

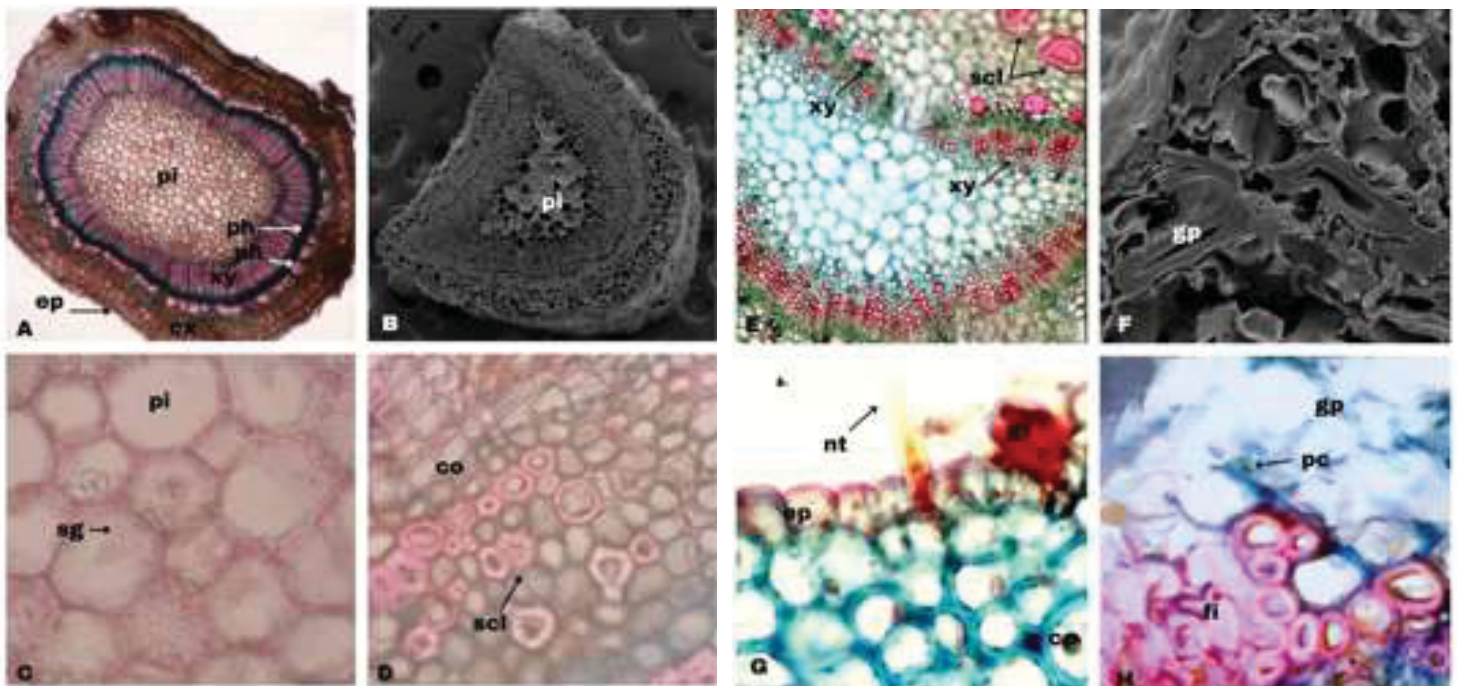
Esclereides ramiformes em formato de “I” foram identificadas no mesofilo (FIGURA 5E), sendo úteis para classificação de espécies (Rao, Bhupal, 1973). Estudos de esclereides, combinados com análises anatômicas e ecológicas, contribuem para compreender evolução e diversificação das dicotiledôneas.

A nervura central apresenta contorno levemente côncavo-convexo (FIGURA 6F), com epidermes unisseriadas de células arredondadas cobertas por cutícula fina. Abaixo, observam-se 1–2 camadas de colênquima angular e parênquima

fundamental (FIGURA 5G). O feixe vascular é colateral medulado, circundado por anel esclerenquimático e fibras que reforçam o floema. Esclereides esferoidais ocorrem dispersas no colênquima e parênquima fundamental. Nos representantes de *Chionanthus*, os feixes da nervura central são geralmente fechados e medulados, exceto em *C. subsessilis* e *C. fluminensis*, que apresentam feixes fistulosos (Antunes *et al.*, 2023).

No pecíolo, a seção transversal é plano-convexa (FIGURA 6A), com epiderme unisseriada de células poliédricas a cúbicas, recoberta por cutícula fina. Abaixo, o colênquima angular e o parênquima fundamental contêm braquisclereides, em dois tipos: parede espessa com lúmen estreito e parede fina com lúmen amplo (FIGURA 6 C,D,H) (Rao, Bhupal, 1973). Tricomas simples, unicelulares e não glandulares, além de tricomas peltados glandulares, estão presentes na epiderme (FIGURA 6 D,G). O colênquima cortical e o anel esclerenquimático ao redor do feixe vascular reforçam a sustentação do pecíolo (FIGURA 6 D,E).

FIGURA 6 - ANATOMIA DO PECÍOLO E DO CAULE DE *Chionanthus filiformis* EM SEÇÃO TRANSVERSAL



FONTE: A autora (2025).

NOTA: (A, B, D, E, F, G, H) microscopia óptica e (C) microscopia eletrônica de varredura. Pecíolo (A, C–H). Caule (B, D, E); (co) colênquima; (ep) epiderme; (fi) fibras; (gp) parênquima fundamental; (gt) tricoma glandular; (nt) tricoma não glandular; (pe) periderme; (ph) floema; (pi) medula; (sg) grãos de amido; (scl) esclereide; (xy) xilema. Barra de escala: (A, B) 200 µm; (C, D, E, F, H) 50 µm; (G) 25 µm.

O sistema vascular do pecíolo é colateral, disposto em arco aberto com extremidades invaginadas (FIGURA 6A), padrão típico do gênero. O parênquima central acumula grãos de amido como reserva. A microscopia eletrônica de varredura evidencia a compactação da medula e detalha as glândulas peltadas (FIGURA 6 B,F,H).

No caule maduro, a seção transversal varia entre esferoidal e poliédrica (FIGURA 6B). Ele apresenta cutícula delgada, camada epidérmica poliédrica e periderme com três a cinco camadas de súber. O córtex contém braquisclereides semelhantes às do pecíolo. O sistema vascular é circundado por aproximadamente três camadas de células esclerenquimáticas, com câmbio formando floema externo e xilema central, intercalado por raios de parênquima. A medula central é composta por células parenquimáticas grandes e de paredes finas (FIGURA 6C).

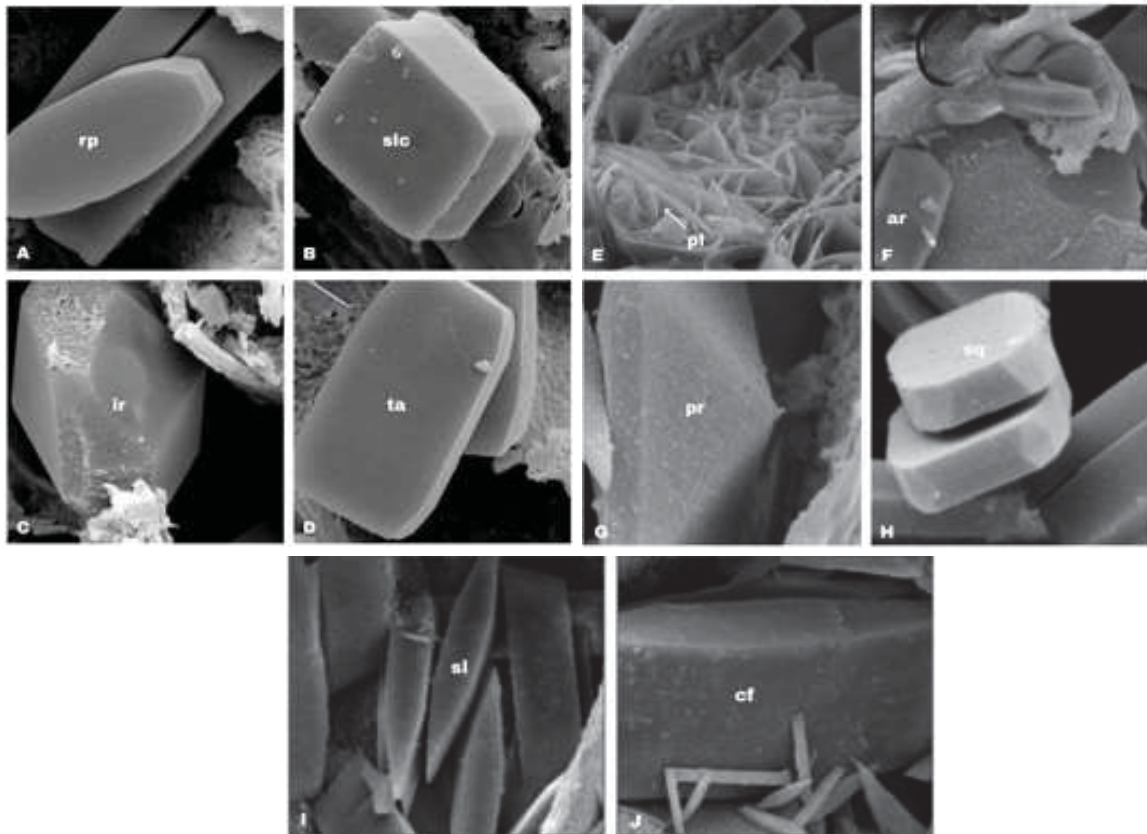
Essas observações complementam os registros de Kolb et al. (2020), que não descreveram detalhadamente a anatomia das espécies estudadas. Assim, características como o tipo e disposição dos tricomas, a presença e variação das braquisclereides e o formato do sistema vascular no pecíolo tornam-se relevantes para a distinção de *Chionanthus filiformis* em relação a outras espécies do gênero (Wosch et al., 2015; Antunes et al., 2023).

Um estudo conduzido por Lersten & Horner (2009) examinou folhas de 240 espécies distribuídas em 23 gêneros da família Oleaceae, incluindo 33 pertencentes ao gênero *Chionanthus* L. Os resultados mostraram que, de modo geral, as espécies de *Chionanthus* apresentam cristais, com exceção de *Chionanthus evenius* (Stapf) Kiew, em que eles não foram observados. Esses cristais foram encontrados em diferentes tecidos, como no mesófilo, na epiderme e nas regiões próximas aos feixes vasculares, mas não no interior dos feixes, estando restritos às células parenquimáticas adjacentes. No caso de *C. filiformis*, já foram relatados seis tipos distintos de cristais: aciculares pequenas, os mais comuns no gênero, prismáticos, estilóides, drusas, esferoides e areia cristalina.

Neste trabalho, os cristais de *C. filiformis* foram observados em idioblastos do mesófilo, no colênquima da nervura central, no colênquima do pecíolo, bem como no córtex e na medula do caule. As imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura (SEM) evidenciam essa diversidade morfológica, sendo identificados dez morfotipos cristalinos distintos: em forma de seta (FIGURA 7F), plano-agregado (FIGURA 7E), placa retangular (FIGURA 7A), quadrado em H (FIGURA 7B), irregular

(FIGURA 7C), retangular em H (FIGURA 7D), bipiramidal tipo dois (FIGURA 7G), placa quadrada (FIGURA 7H), estilóide (FIGURA 7I), e tabular (FIGURA 7J). Alguns desses cristais, como seta, bipiramidais, quadrado em H, estilóides e tabulares, também foram encontrados na forma de areia cristalina. A presença desses morfotipos, quando associada ao órgão vegetal em que se localizam, possui valor diagnóstico, pois *C. filiformis* apresenta cristais que não haviam sido relatados anteriormente para o gênero, como os tipos seta, bipiramidal tipo dois, retangular em H, quadrado em H, irregular, plano-agregado, placa retangular, placa quadrada e tabular.

FIGURA 7 - CRISTAIS DE *Chionanthus filiformis* OBSERVADOS POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA



FONTE: A autora (2025)

NOTA: (B,C,D) nervura central; (A,G,H) pecíolo; (E,F,J) caule.; (ar) cristal em forma de seta; (ir) cristal irregular; (pl) cristal plano-agregado; (cf) cristal tabular; (rp) placa retangular; (sq) placa quadrada; (pr) prismático; (slc) areia cristalina estilóide; (sl) cristal estilóide, (ta) tabular. Barras de escala: (E,F) 20 µm; (I) 10 µm; (H,J) 5 µm; (A-D) 2,5 µm; (G) 2 µm.

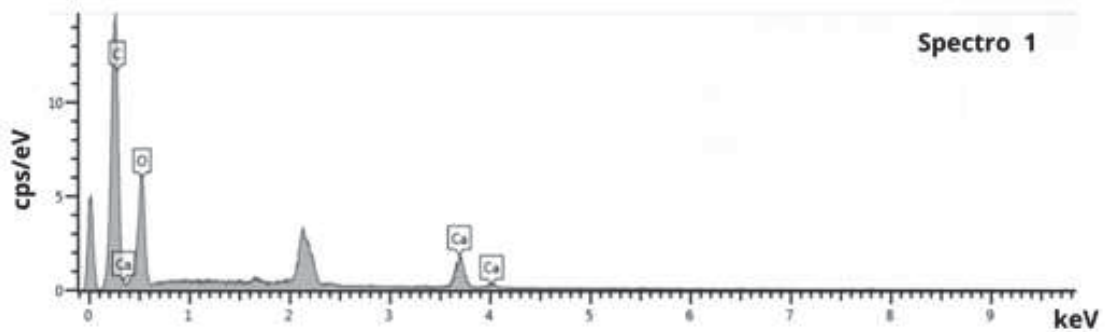
Quando considerados em relação ao órgão em que se localizam, esses tipos de cristais apresentam valor diagnóstico, pois *C. filiformis* exhibe morfotipos que diferem das espécies de *Chionanthus* estudadas anteriormente (Kolb *et al.*, 2020),

incluindo formas em seta, bipiramidal tipo dois, retangular em H, quadrado em H, irregular, agregado em placas, placa retangular, placa quadrada e tabular.

Os morfotipos de cristais podem servir como indicadores de espécies específicas ou de grupos taxonômicos mais amplos, como observado em várias famílias e gêneros de plantas, sugerindo seu potencial uso na classificação e identificação taxonômica (Brito *et al.*, 2021; Raeski *et al.*, 2023; Antunes *et al.*, 2023; Antunes *et al.*, 2024).

A composição química dos cristais foi analisada por espectroscopia por dispersão de energia de raios X (EDS) combinada com microscopia eletrônica de varredura (MEV). Os resultados mostraram picos predominantes de carbono, cálcio e oxigênio, indicando que se tratavam principalmente de cristais de oxalato de cálcio (C, 49,35%; O, 38,11%; Ca, 12,54%) (FIGURA 14). Um dos morfotipos também apresentou magnésio (C, 20,43%; O, 44,79%; Mg, 4,41%; Ca, 30,37%) (FIGURA 8 E 9).

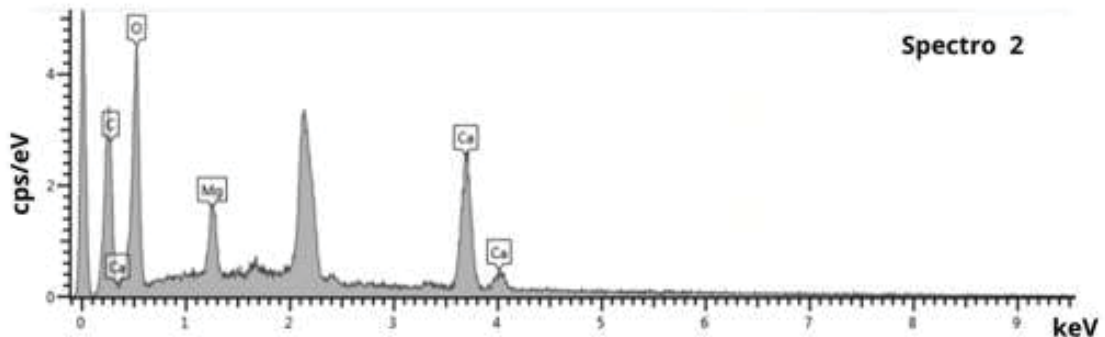
FIGURA 8 - CRISTAL EM FORMA DE SETA DE *Chionanthus filiformis* OBSERVADO POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV) E ANALISADO POR ESPECTROSCOPIA POR DISPERSÃO DE ENERGIA DE RAIOS X (EDS)



FONTE: A autora (2025)

NOTA: O pico em 0 keV corresponde ao ruído e o pico em ~2,2 keV indica o ouro do revestimento da amostra.

FIGURA 9 - CRISTAL AGREGADO EM PLACAS DO CAULE DE *Chionanthus filiformis* VISUALIZADO POR MEV E ANALISADO POR EDS



FONTE: A autora (2025)

NOTA: O pico em 0 keV representa o ruído e o pico em ~2,2 keV corresponde ao ouro usado no revestimento da amostra

Estudos utilizando a técnica EDS mostram que os cristais em plantas são, na maioria, compostos por oxalato de cálcio, nas formas weddelita e whewellita, além de cristais de sílica (SiO_2) e carbonato de cálcio (CaCO_3). Traços de outros elementos, como magnésio, potássio e fósforo, podem estar presentes dependendo da espécie e do ambiente de crescimento. A aplicação da EDS tem sido fundamental para revelar a variedade química desses biominerais, evidenciando seu papel em funções fisiológicas e ecológicas, como a regulação do cálcio intracelular, a proteção contra herbivoria e a resistência a estresses ambientais.

4.3.2 Análise histoquímica

Os testes histoquímicos têm como objetivo de caracterizar grupos químicos em diferentes tecidos e células vegetais, permitindo visualizar a distribuição de compostos específicos, sua localização celular e os processos bioquímicos associados (Almeida et al., 2023).

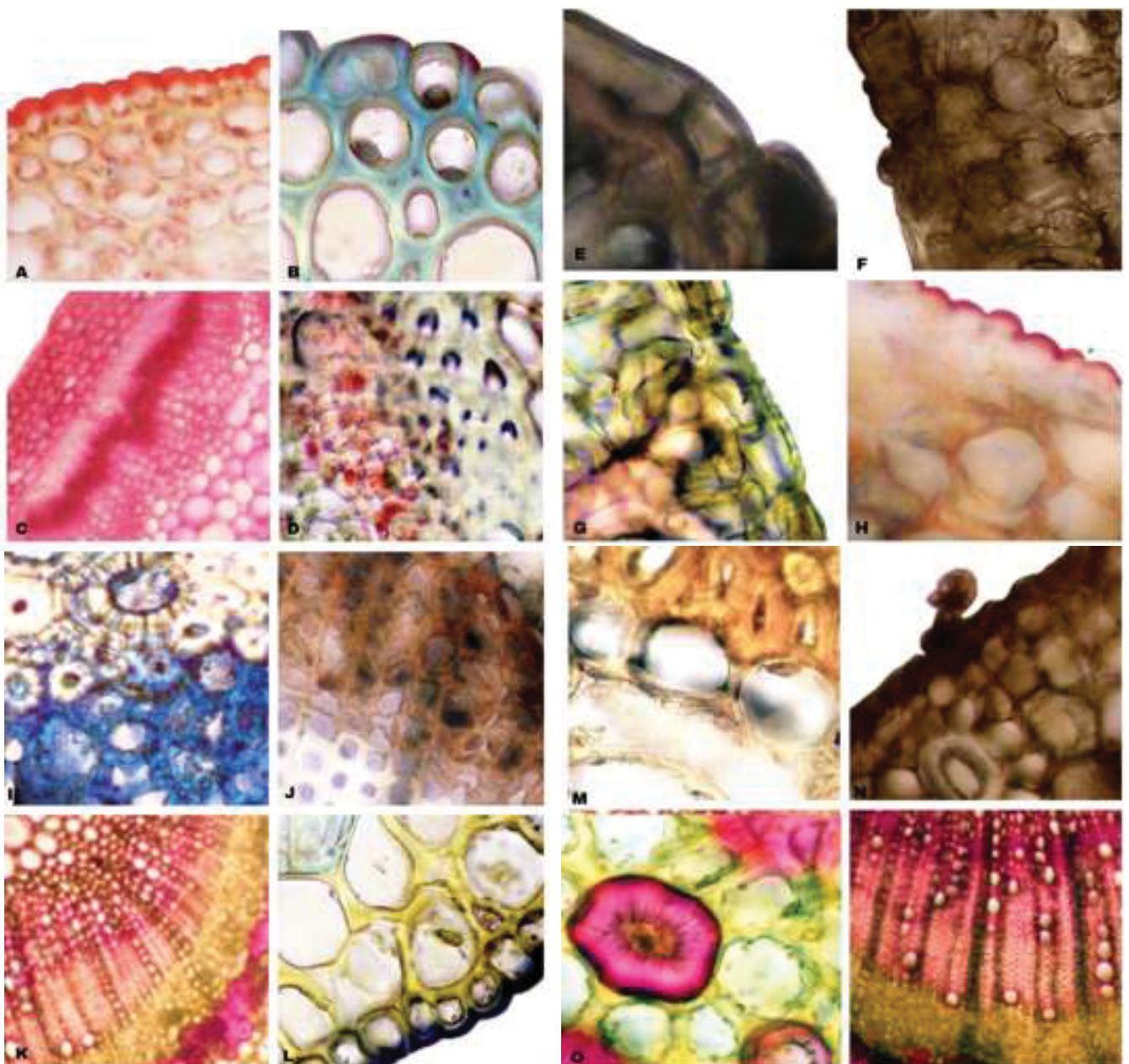
A espécie apresentou reação positiva ao Sudan III (FIGURA 10A) e ao Sudan Black B (FIGURA 10E), indicando a presença de compostos lipofílicos na

cutícula de folhas e caules, além de corpos lipídicos na lâmina, no pecíolo e no caule. Esses corpos lipídicos também reagiram ao Nile Blue (FIGURA 10B), corando-se de azul, sugerindo a presença de lipídios ácidos, enquanto a cutícula apresentou coloração rosa-claro, indicativa de lipídios neutros.

O corante Oil Red (FIGURA 10H) confirmou a presença de lipídios nos mesmos tecidos. Já o reagente NADI (FIGURA 10L) evidenciou corpos lipídicos na nervura central, no pecíolo e no caule em azul, indicando terpenos, enquanto a cutícula apresentou coloração púrpura, sugerindo a presença combinada de terpenos e resinas oleosas.

Nos vegetais, os óleos desempenham papel protetor contra agentes externos e condições ambientais adversas (Camargo *et al.*, 2020).

FIGURA 10 - HISTOQUÍMICA DE *Chionanthus filiformis*



FONTE: A autora (2025)

NOTA: (A) nervura central com Sudan III. (B) nervura central após reação com azul do Nilo. (C) nervura central em reação com P.A.S. (D) nervura central exposta ao Xilidina Ponceau. (E) mesófilo exposto ao Sudan Black B. (F) mesófilo com solução de cloreto férrico. (G) mesófilo exposto ao floroglucinol clorídrico. (H) caule com Oil Red. (I) caule corado com azul brilhante de Coomassie. (J) caule tratado com dicromato de potássio. (K) caule com floroglucinol clorídrico. (L) pecíolo tratado com reagente NADI. (M) pecíolo com solução de iodo. (N) pecíolo após tratamento com solução de cloreto férrico. (O) pecíolo após tratamento com floroglucinol clorídrico. (P) caule com floroglucinol clorídrico. Barras de escala: (C,N,K) 200 µm; (A,B,D,F,G,H,I,J,L,M,N,O,P) 50 µm; (E) 25 µm

O ácido periódico Schiff – P.A.S. (FIGURA 10C) evidenciou polissacarídeos neutros, corados em magenta, localizados no floema e nas paredes celulares da lâmina, colênquima, parênquima fundamental, floema da nervura central e pecíolo, bem como no colênquima do córtex, floema, raios parenquimatosos e medula do caule. Polissacarídeos são macromoléculas biológicas com funções antioxidantes (Huang *et al.*, 2017). A solução de iodo (FIGURA 10M) detectou grãos de amido na lâmina foliar, próximos aos feixes vasculares, e também na nervura central, pecíolo e caule, especialmente no córtex e próximos ao anel de fibras esclerenquimáticas, além do floema e xilema, indicando o papel do amido como reserva energética (Seung & Smith, 2019). O Ruthenium red corou positivamente a maioria dos tecidos, exceto xilema, esclereídes e anéis de fibras esclerenquimáticas. Tanto o Xylidine Ponceau (FIGURA 10D) quanto o Coomassie Brilliant Blue (FIGURA 10I) evidenciaram corpos proteicos no mesófilo, colênquima, floema e xilema da nervura central, assim como no pecíolo e no caule. Os reagentes cloreto férrico (FIGURA 16 F,N) e dicromato de potássio (FIGURA 10J) detectaram compostos fenólicos, localizados principalmente no floema e nos raios parenquimatosos do caule. Taninos condensados não foram observados. Compostos fenólicos atuam na proteção contra danos e infecções (Duarte & Debur, 2005). O Floroglucinol Clorídrico (FIGURA 10G, K, O, P) indicou elementos lignificados no xilema de feixes vasculares, esclereídes dispersas no mesófilo, anéis de fibras esclerenquimáticas e xilema da nervura central, pecíolo e caule. Estes elementos conferem suporte mecânico e contribuem para a hidrofobicidade da planta (Boerjan *et al.*, 2003).

Alcaloides não foram detectados após o uso dos reagentes de Dragendorff, Ellram e Wagner.

Os estudos sobre a anatomia dos órgãos vegetativos aéreos das espécies do gênero *Chionanthus* L. ainda são escassos (Kolb *et al.*, 2020). Com base nos resultados obtidos, foi possível ampliar o conhecimento taxonômico de *C. filiformis*,

por meio da descrição detalhada da anatomia de folhas e caules, assim como da análise histoquímica de seus tecidos

4.4 ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Os parâmetros farmacopeicos contribuem para a padronização e o controle de qualidade de drogas vegetais (Brasil, 2019).

4.4.1 Umidade (Perda por dessecação)

O método de perda por dessecação quantifica os constituintes voláteis eliminada da droga vegetal, sendo um parâmetro utilizado no controle de qualidade de drogas vegetais, o qual garante a estabilização e eficiência do processo de secagem (Brasil, 2019).

As folhas e caules de *C. iliformis* apresentaram teor de água de 4,34 e 4,94, respectivamente, conforme descrito na TABELA 5.

TABELA 5 - RESULTADOS DO PARÂMETRO PERDA POR DESSECAÇÃO DE FOLHAS E CAULE DE *C. filiformis*

| Amostra | Umidade (%) | Desvio padrão | Desvio padrão relativo (%) |
|---------|-------------|---------------|----------------------------|
| Folhas | 4,34 | 0,097 | 2,23 |
| Caule | 4,94 | 0,247 | 5,60 |

FONTE: A autora (2025)

A presença de água no material vegetal pode favorecer o desenvolvimento de bactérias e fungos, bem como a degradação de constituintes químicos pela ação enzimática (Farias, 2007). Ao comparar os resultados obtidos nas amostras vegetais com aqueles descritos para outras espécies na Farmacopeia Brasileira, 7ª edição (BRASIL, 2024), observa-se que os valores se encontram em conformidade, indicando menor viabilidade para o desenvolvimento de fungos e bactérias e redução dos processos de degradação dos constituintes químicos (Araújo et al., 2008).

4.4.2 Determinação de cinzas

A determinação de cinzas constitui um parâmetro relevante para a detecção de adulterações e de impurezas inorgânicas (Shah, Seth, 2010). Os resultados obtidos para folhas e caules estão apresentados na TABELA 6.

TABELA 6 - RESULTADOS DO TEOR DE CINZAS DE FOLHAS E CAULE DE *C. filiformis*

| Amostra | Teor de cinzas (%) | Desvio padrão | Desvio padrão relativo (%) |
|---------|--------------------|---------------|----------------------------|
| Folhas | 2,87 | 0,108 | 3,77 |
| Caule | 3,06 | 0,063 | 1,93 |

FONTE: A autora (2025)

Os valores médios encontrados para cada amostra da espécie estudada, estão dentro dos limites estabelecidos para a maioria das drogas vegetais descritas na Farmacopeia Brasileira (2024). Uma vez que, não existem valores de referência para esta espécie, os resultados encontrados podem ser utilizados como um parâmetro importante no processo de padronização e diferenciação desta espécie (BRASIL, 2019).

4.5 ANÁLISE FITOQUÍMICA

A avaliação fitoquímica preliminar de *Chionanthus filiformis* foi conduzida por meio de testes qualitativos, com o propósito de identificar os principais grupos de metabólitos secundários presentes na espécie. Para tanto, empregou-se a marcha fitoquímica, baseada na observação de mudanças de coloração e na formação de precipitados.

Conforme apresentado na TABELA 7, a análise fitoquímica do extrato aquoso de *Chionanthus filiformis* revelou a presença de ácidos graxos e compostos resinosos tanto nas folhas quanto no caule, indicando a ocorrência de metabólitos de função estrutural. Nos testes realizados, apenas as folhas apresentaram reação positiva para taninos condensados, metabólitos conhecidos por suas atividades antioxidante e antimicrobiana, possivelmente atuando na proteção desse órgão contra estresses ambientais. Por outro lado, não foram detectados antocianinas, saponinas, heterosídeos cianogênicos, grupos amino ou ácidos voláteis, sugerindo que, sob as condições avaliadas, a diversidade química do extrato aquoso é

limitada. Esses achados indicam que as folhas concentram compostos de maior relevância biológica em comparação ao caule, destacando seu potencial para estudos farmacológicos e ecológicos.

TABELA 7 – COMPOSIÇÃO FITOQUÍMICA DO EXTRATO AQUOSO DE FOLHAS E CAULE DE *C. filiformis*

| Classe de metabólitos | Caule | Folha |
|-----------------------------|-------|-------|
| Antocianinas (heterosídeos) | - | - |
| Saponinas (heterosídeos) | - | - |
| Cianogênicos (heterosídeos) | - | - |
| Taninos hidrolisáveis | - | - |
| Taninos condensados | - | + |
| Amino grupos | - | - |
| Ácidos fixos | + | + |
| Ácidos voláteis | - | - |

FONTE: A autora (2024)

NOTA: Símbolo + é indicativo de reação positiva, símbolo - é indicativo de reação negativa.

Os resultados da TABELA 8 referentes à análise fitoquímica das frações hidroalcoólicas de folhas e caule de *C. filiformis* indicam a ausência ou presença em baixas concentrações de alcaloides, leucoantocianidinas, iridoides e heterosídeos antraquinônicos. Flavonoides e cumarinas foram detectados nas frações de acetato de etila das folhas e em algumas frações do caule, evidenciando compostos fenólicos de polaridade média. Esteroides e triterpenos foram identificados em quase todas as frações, representando os metabólitos mais abundantes.

Em síntese, folhas apresentaram principalmente flavonoides, cumarinas e esteroides/triterpenos, enquanto o caule foi dominado por esteroides/triterpenos. Esses dados fornecem base química para análises farmacológicas e comparações intra-gênero.

TABELA 8 - COMPOSIÇÃO FITOQUÍMICA DO EXTRATO HIDROALCÓOLICO DAS FOLHAS E CAULES DE *C. filiformis*

| Classe de Metabólito | Teste | Folha | | | | Caule | | | |
|------------------------------|--|-------|----|-----|----|-------|----|-----|----|
| | | FH | FC | FAC | FR | FH | FC | FAC | FR |
| Alcaloides | Mayer | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Alcaloides | Dragendorff | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Alcaloides | Wagner-Bouchard | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Leucoantocianidinas | Redução em HCl | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Flavonoides | Heterosídeos flavônicos | - | - | + | + | - | - | + | - |
| Flavonoides | Taubock (oxálico bórico) | - | - | + | + | - | - | + | + |
| Flavonoides | Pacheco | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Flavonoides | Zinco/HCl | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Cumarinas | NaOH + UV | - | - | + | - | - | - | - | + |
| Cumarinas | Confirmação em papel filtro | - | - | + | - | - | - | - | + |
| Iridoides | Floroglucinol/HCl | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Iridoides | H ₂ SO ₄ | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Iridoides | Vanilina/H ₂ SO ₄ | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Heterosídeos antraquinônicos | Aquecimento com H ₂ SO ₄ | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Heterosídeos antraquinônicos | Bornträger | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Esteróides/Triterpenos | Liebermann-Burchard | + | + | + | + | - | + | + | + |
| Esteróides/Triterpenos | Keller-Kiliani | + | + | + | + | - | + | + | + |

FONTE: A autora (2024)

NOTA: Símbolo + é indicativo de reação positiva, símbolo - é indicativo de reação negativa. Fração Hexano (FH); Fração Clorofórmio (FC); Fração Acetato de Etila (FAC); Fração remanescente (FR)

4.6 PREPARAÇÃO E RENDIMENTO DO EXTRATO BRUTO

Os extratos brutos etanólicos das folhas e caules de *C. filiformis* foram obtidos por meio de extração contínua em Soxhlet modificado, realizada até o completo esgotamento do material vegetal. Esta técnica foi escolhida por possibilitar a extração eficiente dos constituintes químicos, garantir estabilidade térmica e reduzir o consumo de solventes (Carvalho *et al.*, 2009; Gil-Martín *et al.*, 2022). Adicionalmente, os extratos aquosos foram obtidos por hidrodestilação. Embora não tenha sido possível isolar o óleo essencial, o material residual resultante do processo foi aproveitado para a preparação dos extratos aquosos, assegurando o melhor aproveitamento da biomassa vegetal.

Nos extratos obtidos, foi determinado o teor de sólidos, cujos resultados estão apresentados na TABELA 9. Esse parâmetro foi calculado a partir da pesagem do resíduo proveniente da evaporação da fase líquida, correspondente ao material sólido remanescente, o que possibilitou estimar o rendimento dos extratos. Para as folhas, o rendimento encontrado foi de 19,1%, enquanto para os caules foram de 11,60%. No caso dos extratos aquosos (TABELA 10), o rendimento foi obtido a partir do material liofilizado, resultando em 0,8 % para as folhas e 0,69% para os caules.

TABELA 9 – TEOR DE SÓLIDOS DOS EXTRATOS BRUTOS DE *C. filiformis*

| Amostra | Teor sólidos (%) | Desvio padrão | Desvio padrão relativo (%) |
|---------|------------------|---------------|----------------------------|
| Folhas | 19,1 | 0,146 | 0,77 |
| Caule | 11,60 | 0,088 | 0,76 |

FONTE: A autora (2024)

NOTA: *% calculado em relação ao total de planta seca (g)

TABELA 10 – TEOR DE SÓLIDOS DOS EXTRATOS AQUOSOS *C. filiformis*

| Amostra | Teor sólidos (%) | Desvio padrão | Desvio padrão relativo (%) |
|---------|------------------|---------------|----------------------------|
| Folhas | 0,8 | 0,11 | 0,65 |
| Caule | 0,69 | 0,05 | 0,56 |

FONTE: A autora (2024)

NOTA: *% calculado em relação ao total de planta seca (g)

Em seguida, foi separada uma parte de cada extrato bruto etanólico das amostras, para as atividades biológicas. Foram levados para evaporação, resultando em 3,982g de extrato bruto etanólico seco de folhas e 3,653g de caule.

4.7 FRACIONAMENTO

As frações FH, FC, FAC e FR, obtidas a partir de folhas e caules, foram provenientes do fracionamento dos extratos brutos etanólicos. Em contraste, as frações FHV, FCV e FACV dos frutos verdes, bem como FHM, FCM e FACM dos frutos maduros, foram obtidas por fracionamento direto da amostra vegetal, sem a etapa prévia de obtenção do extrato bruto. A Tabela 11 apresenta os rendimentos alcançados, expressos em gramas e em porcentagem. O fracionamento em função da polaridade dos solventes empregados favorece a identificação das classes de metabólitos, bem como o isolamento e a caracterização dos compostos presentes.

TABELA 11 - RENDIMENTO DAS FRAÇÕES DAS FOLHAS, CAULE E FRUTOS DE *C. filiformis*

| Fração | Folha | | Caule | | Fruto verde | | Fruto maduro | |
|-------------------------|-------|------|-------|------|-------------|------|--------------|------|
| | g | % | g | % | g | % | g | % |
| Fração Hexano | 8,10 | 1,62 | 5,50 | 1,09 | 0,20 | 0,70 | 0,30 | 0,86 |
| Fração Clorofórmio | 6,40 | 1,28 | 4,10 | 0,81 | 0,40 | 1,33 | 0,70 | 2,00 |
| Fração Acetato de etila | 2,00 | 0,40 | 1,10 | 0,22 | 0,30 | 1,00 | 1,00 | 2,86 |
| Fração Remanescente | 5,30 | 1,06 | 1,20 | 0,24 | | | | |

FONTE: A autora (2024)

Os rendimentos das frações foram calculados com base na massa de material vegetal seco, descontando-se a quantidade reservada para análises biológicas. Para este estudo, foram considerados 500 g de folhas, 505 g de caule, 30 g de frutos verdes e 35 g de frutos maduros. Entre as frações obtidas, a de maior rendimento foi a fração acetato de etila do fruto maduro, enquanto a de menor rendimento correspondeu à fração acetato de etila do caule.

Esses resultados indicam que a composição química e a solubilidade dos metabólitos secundários diferem entre partes da planta e o estágio de maturação, refletindo variações na quantidade de compostos extraíveis por solvente. O fracionamento dos extratos brutos segundo a polaridade é, portanto, uma estratégia importante, não apenas para facilitar a identificação das classes de metabólitos secundários com potencial atividade biológica, mas também para aumentar a eficiência na recuperação e isolamento desses compostos, comparativamente ao uso do extrato bruto integral. Esses dados reforçam a importância de considerar o órgão vegetal, a polaridade do solvente e o estágio de desenvolvimento na análise fitoquímica.

4.8 PERFIL FITOQUÍMICO DE EXTRATOS E FRAÇÕES

Os extratos brutos, aquosos e as frações de folhas, caules e frutos de *Chionanthus filiformis* foram avaliados por cromatografia em camada delgada (CCD), uma técnica que permite identificar qualitativamente os principais metabólitos por meio de reações colorimétricas e fluorescentes. A CCD é reconhecida por sua rapidez, boa reprodutibilidade, simplicidade, eficiência e baixo custo (Alberton, Falkenberg, Falkenberg, 2002; Valente *et al.*, 2006). Conforme indicado na TABELA 12, essa análise revelou a presença de esteroides, flavonoides, cumarinas, taninos e antraquinonas.

TABELA 12 – GRUPOS QUÍMICOS IDENTIFICADOS EM EXTRATOS E FRAÇÕES DE FOLHAS, FRUTOS E CAULES DE *C. filiformis* POR CCD

(continua)

| Amostras | Metabólitos | | | | | |
|----------|-------------|------------|-------------|-----------|---------|---------------|
| | Esteroides | Alcaloides | Flavonoides | Cumarinas | Taninos | Antraquinonas |
| EB folha | + | - | - | - | + | - |
| EB caule | + | - | + | + | - | - |
| EQ folha | - | - | - | - | - | - |
| EQ caule | - | - | - | - | - | - |
| FH folha | + | - | - | - | + | - |
| FH caule | + | - | - | - | - | - |

| | | | | | | |
|------------------|---|---|---|---|---|-------------|
| FH fruto verde | + | - | - | - | - | (conclusão) |
| | | | | | | - |
| FH fruto maduro | + | - | - | - | - | - |
| FC folha | + | - | - | - | + | - |
| FC caule | - | - | - | - | - | - |
| FC fruto verde | + | - | - | - | - | - |
| FC fruto maduro | + | - | - | - | - | - |
| FAC folha | + | - | + | + | + | + |
| FAC caule | + | - | + | - | + | - |
| FAC fruto verde | - | - | + | + | - | - |
| FAC fruto maduro | - | - | + | + | - | - |
| FR folha | - | - | + | - | - | - |
| FR caule | + | - | + | - | + | - |

Fonte: A autora (2024)

Nota: O símbolo + indica reação positiva; o símbolo – indica reação negativa. Extrato bruto (EB); Extrato aquoso (EAQ); Fração hexânica (FH); Fração clorofórmica (FC); Fração acetato de etila (FAC); Fração residual (FR); Folha (F); Caule (C); Fruto verde (FV); Fruto maduro (FM).

Os esteroides foram identificados nas folhas, caule e frutos, exceto na fração remanescente das folhas, na fração clorofórmica do caule, na fração acetato de etila dos frutos e nos extratos aquosos. Os flavonoides ocorreram predominantemente nas frações de acetato de etila e residual. Os taninos foram detectados exclusivamente nas folhas e caule, abrangendo o extrato bruto, bem como as frações hexano, clorofórmica, acetato de etila e residual. As cumarinas, por sua vez, foram observadas no extrato bruto e na fração acetato de etila.

Esses achados corroboram com estudos em outras espécies do gênero *Chionanthus*, com a análise histoquímica e com os resultados da marcha fitoquímica. Mihai *et al.* (2023) identificaram flavonoides nas folhas e frutos de *C. virginicus*, relacionando-os à atividade antioxidante. Boyer *et al.* (2005) isolaram lignanas e secoiridoides da casca de raízes de *C. virginicus*, enquanto Venkateswararao *et al.* (2013) relataram flavonoides, esteroides, terpenoides,

taninos, glicosídeos e alcaloides na casca de *C. zeylanicus*. Estudos em *C. retusus* também evidenciaram flavonoides nas folhas, flores, raízes e caule (Wang *et al.*, 2022; Walter *et al.*, 2014; Vauzour *et al.*, 2008; Kwak *et al.*, 2009), mostrando que flavonoides, esteroides e taninos são compostos recorrentes no gênero, com funções bioativas relevantes.

A variação na presença e intensidade desses metabolitos em *C. filiformis* pode ser atribuída ao método de extração, à polaridade do solvente e ao tempo de contato, que influenciam diretamente a eficiência na recuperação dos compostos (Zhang, Lin, Ye, 2018; Hayouni *et al.*, 2007).

A presença de esteroides, flavonoides e taninos nas folhas e caule indica que esses compostos desempenham funções ecológicas relevantes, como defesa química contra herbívoros e patógenos, além de possuírem potencial farmacológico. Flavonoides e cumarinas estão relacionados a atividades antioxidantes, anti-inflamatórias e hepatoprotetoras, enquanto esteroides e terpenos podem apresentar efeitos antimicrobianos e antiproliferativos (Souza-Moreira *et al.*, 2019; Zhao *et al.*, 2016).

O ensaio por cromatografia bidimensional permitiu identificar subgrupos de metabólitos secundários nas frações de folhas, caule e frutos de *C. filiformis*, conforme apresentado na TABELA 13. Esses resultados corroboram as observações dos testes histoquímicos e complementam os achados obtidos pela cromatografia em camada delgada, evidenciando a diversidade química presente nas diferentes partes da planta.

TABELA 13 – GRUPOS QUÍMICOS IDENTIFICADOS NAS FRAÇÕES DE FOLHAS, FRUTOS E CAULE DE *C. filiformis* POR CROMATOGRAFIA BIDIMENSIONAL

(continua)

| METABÓLITO | AMOSTRA | RESULTADO |
|-------------------|------------------|------------------|
| Cumarina | FAC folha | 2 pontos azuis |
| | FAC fruto verde | 1 ponto azul |
| | FAC fruto maduro | 1 ponto azul |
| Triterpeno | FH folha | 1 ponto rosa |
| | FH caule | 1 ponto verde |
| | FH fruto verde | 1 ponto rosa |
| | FH fruto maduro | 1 ponto rosa |

| | | (conclusão) |
|------------|------------------|-----------------|
| Flavonoide | FAC folha | 2 pontos verdes |
| | FR folha | 4 pontos verdes |
| | FAC caule | 2 pontos verdes |
| | FR caule | 3 pontos verdes |
| | FAC fruto verde | 2 pontos verdes |
| | FAC fruto maduro | 3 pontos verdes |

FONTE: O autor (2024)

NOTA: Fração hexano (FH); fração acetato de etila (FAC); fração residual (FR)

Nos testes de cumarinas, a presença de dois pontos azuis na fração acetato de etila das folhas indica a coexistência de, pelo menos, dois subgrupos desses compostos, enquanto a ocorrência de um único ponto azul nas frações de acetato de etila dos frutos, verdes e maduros, sugere menor diversidade desse metabolito nos frutos. Para os triterpenoides, a faixa rosa observada nas frações hexano de folhas e frutos evidencia a presença de saponinas triterpênicas, e a coloração verde confirma saponinas esteroidais, indicando que essas classes de compostos estão distribuídas em diferentes partes da planta, com predomínio nas frações mais apolares. A análise de flavonoides revelou diferentes subgrupos em todas as frações testadas, com pontos verdes variando em número entre folhas, caule e frutos, mostrando que a distribuição e a diversidade desses compostos podem depender do órgão vegetal e da polaridade da fração.

A cromatografia bidimensional demonstrou ser uma ferramenta eficiente para detalhar a composição fitoquímica, permitindo maior resolução e separação de compostos em extratos complexos, além de fornecer uma análise qualitativa rápida, reproduzível e complementar à cromatografia em camada delgada (Cieśła, Waksmundzka-Hajnos, 2009).

4.9 QUANTIFICAÇÃO DE FENÓLICOS, FLAVONOIDES E TANINOS

A quantificação de fenólicos totais, flavonoides e taninos foi realizada por meio de equações de regressão linear, sendo os resultados expressos em mg equivalentes do respectivo padrão, conforme apresentado na TABELA 14.

TABELA 14 – CONTEÚDO DE COMPOSTOS FENÓLICOS, FLAVONOIDES E TANINOS TOTAIS NOS EXTRATOS E FRAÇÕES DE FOLHAS, CAULE E FRUTOS DE *C. filiformis*

| Amostras | TPC | TFC | TTC |
|------------------|----------------------------|--------------------------|---------------------------|
| | (mg EAG/g) Média ± DP | (mg ER/g) Média ± DP | (mg EC/g) Média ± DP |
| EB folha | 2249,31±22,7 ^h | 388,55±3,89 ^m | 580 ±0,5 ^a |
| EAQ folha | 745±23,57 ^d | 19,81 ±2,84 ^a | 575 ±12,62 ^a |
| FH folha | 434,03±3,24 ^c | 112,60±8,32 ^h | 1332 ±14 ^b |
| FC folha | 1976,04±5,89 ^g | 178,58±8,93 ^l | n.d. |
| FAC folha | 1365,97±2,94 ^e | 201,49±7,53 ^j | n.d. |
| FR folha | 1435,51±12,6 ^e | 159,09±3,15 ⁱ | n.d. |
| EB caule | 1793,70±9,82 ^f | 24,78±10,37 ^b | n.d. |
| EAQ caule | 751,74±3,36 ^d | 46,21±8,61 ^e | n.d. |
| FH caule | 327,78±4,56 ^b | 23,99 ±3,26 ^a | 691,11 ±9,31 ^a |
| FC caule | 2293,40±27,11 ^h | 20,07 ±6,10 ^a | n.d. |
| FAC caule | 2090,97±7,45 ^g | 72,53±4,34 ^g | n.d. |
| FR caule | 753,47±25,34 ^d | 24,52±10,63 ^b | n.d. |
| FH fruto verde | 211,12±23,80 ^b | 21,87±5,70 ^a | n.d. |
| FC fruto verde | 237,85±22,40 ^b | 37,96±2,27 ^d | n.d. |
| FAC fruto verde | 214,58±23,80 ^b | 51,29±2,64 ^g | n.d. |
| FH fruto madur | 51,04 ±11,02 ^a | 28,85±2,33 ^c | n.d. |
| FC fruto maduro | 263,34±1,47 ^b | 36,31±2,63 ^d | n.d. |
| FAC fruto maduro | 269,09±16,48 ^b | 50,24±2,27 ^f | n.d. |

FONTE: A autora (2025)

Resultados de teor de compostos fenólicos, flavonoides e taninos expressos em: TPC – Teor de compostos fenólicos (mg EAG/g); TFC – Teor de flavonoides (mg ER/g); TTC – Teor de taninos (mg EC/g). Extratos e frações: EB – Extrato Bruto; EAQ – Extrato Aquoso; FH – Fração Hexano; FC – Fração Clorofórmico; FAC – Fração Acetato de Etila (Folhas); FR – Fração Residual. Equivalentes

padrão: GAE – ácido gálico equivalente; ER – rutina equivalente; EC – catequina equivalente. Resultados expressos como média \pm desvio padrão. Letras iguais na mesma coluna indicam que os valores não diferem estatisticamente entre si pelo teste ANOVA seguido do post-hoc de Tukey, com nível de significância de 5%. n.d. - não detectável.

A quantificação de fenólicos totais em *C. filiformis* evidenciou variações entre as diferentes partes da planta e frações analisadas. As maiores concentrações foram observadas na fração clorofórmica do caule ($2293,40 \pm 27,11$ mg EAG/g) e no extrato bruto das folhas ($2249,31 \pm 22,7$ mg EAG/g), os quais não apresentaram diferença significativa entre si, seguidos pela fração acetato de etila do caule ($2090,97 \pm 7,45$ mg EAG/g). Em contrapartida, os frutos apresentaram os menores teores de fenólicos totais, destacando-se a fração acetato de etila dos frutos maduros ($269,09 \pm 16,48$ mg EAG/g).

De acordo com a classificação de Chew *et al.* (2011), concentrações acima de 50 mg EAG/g são consideradas altas, entre 50–30 mg EAG/g média-altas, entre 30–10 mg EAG/g média-baixas e abaixo de 10 mg EAG/g baixas. Assim, todos os valores de *C. filiformis* enquadram-se na categoria de alto teor fenólico, evidenciando o expressivo acúmulo desses metabólitos na espécie.

Quando comparados com outras espécies do gênero, os resultados de *C. filiformis* se mostram significativamente mais elevados. Mihai *et al.* (2023) relataram conteúdos fenólicos totais em *C. virginicus* de 24,60 mg EAG/g em folhas, 10,67 mg EAG/g em frutos e 14,74 mg EAG/g em inflorescências. Em *C. pubescens*, foram registrados 28,45 mg EAG/g em folhas, 11,46 mg EAG/g em frutos e 11,28 mg EAG/g em inflorescências. Esses valores se situam entre as categorias média-baixa e média-alta, demonstrando que as diferenças podem estar associadas tanto a características intrínsecas das espécies quanto ao tipo de solvente empregado na extração.

A análise estatística das concentrações em *C. filiformis* indicou diferenças significativas entre extratos e frações de folhas, caule e frutos. Nas folhas e caules, observou-se maior acúmulo em frações menos polares, enquanto os frutos apresentaram perfis mais homogêneos, sugerindo distribuição relativamente uniforme de fenólicos.

O teor de flavonoides totais (TFC) também variou de forma expressiva entre partes da planta e frações. As folhas destacaram-se com os maiores valores, sobretudo no extrato bruto (388,55 mg ER/g) e na fração acetato de etila (201,49

mg ER/g), evidenciando predomínio de compostos de caráter apolar a semi-polar. Já a fração aquosa das folhas apresentou o menor teor (19,81 mg ER/g), indicando baixa solubilidade desses metabólitos em água. No caule, os teores foram mais baixos, com destaque para a fração acetato de etila ($72,53 \pm 4,34$ mg ER/g). Os frutos exibiram valores intermediários, sendo ligeiramente mais elevados na fração acetato de etila, tanto nos frutos verdes ($51,29 \pm 2,64$ mg ER/g) quanto nos maduros ($50,24 \pm 2,27$ mg ER/g), o que sugere um perfil químico semelhante entre os estágios de maturação. Esse padrão de predominância nas folhas é corroborado por estudos com outras espécies. Em *C. virginicus*, Mihai *et al.* (2023) reportaram 66,90 mg QE/g em folhas, contra 14,09 mg QE/g em frutos e 17,15 mg QE/g em inflorescências. De forma semelhante, em *C. pubescens*, os valores foram de 60,95 mg QE/g em folhas, 13,82 mg QE/g em frutos e 11,77 mg QE/g em inflorescências. Quanto a *C. retusus* apresentou teor ainda mais elevado (98,46 mg/g), além de ter flavonoides como principais metabólitos secundários, identificados em diferentes órgãos, como flores (Lee *et al.*, 2019), raízes (Wang *et al.*, 2021) e caules (Kwak *et al.*, 2009).

O teste de Tukey confirmou diferenças significativas no TFC entre as frações de *C. filiformis*. As folhas, em especial nas frações apolares ou semi-polares, foram o principal reservatório, enquanto caule e frutos apresentaram menores concentrações, com destaque apenas para algumas frações específicas. Esses resultados reforçam que a distribuição de flavonoides é seletiva e dependente do solvente utilizado, fator determinante para a otimização da extração de compostos bioativos.

A determinação específica de taninos condensados em *C. filiformis* foi realizada pelo ensaio de vanilina/ácido sulfúrico, um método direcionado exclusivamente às proantocianidinas. Os resultados obtidos revelaram um acúmulo expressivo de taninos em frações específicas, com destaque para a fração hexânica das folhas (1332 mg/g), enquanto as demais frações apresentaram valores significativamente menores e semelhantes entre si, conforme evidenciado pelo teste de Tukey. Embora os taninos condensados sejam compostos polares e, portanto, geralmente mais abundantes em extratos e frações polares, a elevada concentração encontrada na fração hexânica pode estar relacionada a diferentes fatores, arraste durante a extração, formação de complexos com compostos apolares, variações no grau de

polimerização ou interferências analíticas do método de quantificação (Melo et al., 2005; Muchuweti *et al*, 2005; Frazer *et al* 2009)

Os resultados obtidos indicam que as folhas e o caule representam fontes relevantes de próantocianidinas, com destaque para a fração hexânica da folha.

4.10 CAPACIDADE ANTIOXIDANTE *IN VITRO*

A avaliação da atividade antioxidante de compostos bioativos requer a aplicação de múltiplas metodologias, uma vez que diferentes ensaios permitem detectar mecanismos distintos de ação antioxidante (Oliveira, 2015).

4.10.1 Potencial antioxidante pelo método do radical livre DPPH

Os extratos e frações de *C. filiformis* foram avaliados quanto à sua capacidade antioxidante por meio do ensaio de redução do radical DPPH, com os resultados expressos em equivalentes de Trolox ($\mu\text{g ET/mg}$ de amostra), conforme apresentado na TABELA 15. Os resultados da capacidade antioxidante, de acordo com a metodologia aplicada, podem ser expressos como quantidade equivalente ao padrão utilizado na amostra, em termos de IC_{50} , ou ainda como porcentagem de inibição do radical livre (Magalhães *et al.*, 2011; Cansian *et al.*, 2015). Assim, o resultado foi expresso em equivalentes de Trolox ($\mu\text{g ET/mg}$ de amostra), desta forma quanto maior for o resultado encontrado, maior será o potencial antioxidante observado

TABELA 15 - CAPACIDADE ANTIOXIDANTE (ENSAIO DPPH) DOS EXTRATOS E FRAÇÕES DE DIFERENTES PARTES DE *Chionanthus filiformis*, EXPRESSA EM EQUIVALENTES DE TROLOX ($\mu\text{g ET/ mg DE AMOSTRA}$)

(continua)

| Amostras | Folha Média \pm DP | Caule Média \pm DP | Fruto verde Média \pm DP | Fruto maduro Média \pm DP | Padrões Média \pm DP |
|----------|--------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|---------------------------|
| EB | 107,4 \pm 6,29 ^d | 104,10 \pm 0,87 ^d | - | - | - |
| EAQ | 129,76 \pm 0,79 ^e | 118,50 \pm 1,43 ^e | - | - | - |
| FH | 73,42 \pm 4,13 ^c | 11,77 \pm 6,67 ^a | 17,33 \pm 7,32 ^a | 9,43 \pm 8,96 ^a | - |
| FC | 117,30 \pm 5,28 ^e | 109,85 \pm 5,73 ^e | 26,14 \pm 4,73 ^a | 9,24 \pm 5,92 ^a | - |

| | | | | | |
|--------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|
| FAC | 119,38±6,44 ^e | 120,22±1,44 ^e | 52,20±8,30 ^b | 50,07±8,10 ^b | (conclusão) |
| | | | | | - |
| FR | 118,29±1,63 ^e | 114,82±3,33 ^e | - | - | - |
| Vit C | - | - | - | - | 123,04±1,34 ^e |
| BHT | - | - | - | - | 108,14±4,80 ^d |
| Trolox | - | - | - | - | 124,57±1,10 ^e |

FONTE: A autora (2025)

NOTA: Capacidade antioxidante expressos em DPPH• ($\mu\text{g ET/mg}$ de amostra). EB: Extrato Bruto; EQA: Extrato Aquoso; FH: Fração Hexano; FCF: Fração Clorofórmio; FAC: Fração Acetato de Etila; FRF: Fração Residual. Resultados expressos em média aritmética e \pm Desvio padrão. Letras e números iguais na mesma coluna, não diferem estatisticamente entre si à nível de 5% de significância pelo teste ANOVA post-hoc de Tukey.

Os resultados do ensaio DPPH para *Chionanthus filiformis* evidenciaram variações na capacidade de neutralização do radical livre entre os diferentes extratos e frações, quando comparados aos padrões de referência (Trolox, vitamina C e BHT). Tanto nas folhas quanto nos caules, as frações mais polares, como o extrato aquoso (EAQ), a fração acetato de etila (FAC) e a fração residual (FR), apresentaram os maiores valores de atividade antioxidante, estatisticamente equivalentes aos de Trolox e vitamina C, indicando potencial antioxidante comparável ao de compostos comerciais. Em contraste, a fração hexânica (FH) apresentou atividade significativamente inferior, especialmente nos caules, sugerindo que compostos de menor polaridade contribuem de forma limitada para a neutralização de radicais livres.

A análise estatística demonstrou que, de modo geral, extratos e frações de mesma natureza não apresentaram diferenças significativas entre folhas e caules. Esse comportamento foi observado, por exemplo, nos extratos brutos (EB), cujos valores para folhas ($107,4 \pm 6,29 \mu\text{g ET/mg}$) e caules ($104,10 \pm 0,87 \mu\text{g ET/mg}$) foram estatisticamente semelhantes. Resultado semelhante foi verificado para os extratos aquosos (EAQ), que apresentaram valores de $129,76 \pm 0,79 \mu\text{g ET/mg}$ para folhas e $118,50 \pm 1,43 \mu\text{g ET/mg}$ para caules, igualmente sem diferença significativa. A fração hexânica (FH) constituiu uma exceção, apresentando diferença estatisticamente significativa entre folhas e caules. De modo geral, esses dados indicam que, em *C. filiformis*, folhas e caules exibem comportamento antioxidante equivalente quando avaliados extratos e frações correspondentes. Nos frutos, tanto

verdes quanto maduros, as frações hexânica, clorofórmica e acetato de etila apresentaram valores de atividade antioxidante inferiores aos observados para folhas e caules. No entanto, as frações correspondentes entre frutos verdes e maduros não diferiram estatisticamente entre si, sugerindo que o estágio de maturação não exerceu influência significativa sobre a atividade antioxidante das frações avaliadas.

De forma geral, os resultados indicam que a atividade antioxidante em *C. filiformis* está associada principalmente ao perfil químico global das amostras, e não à concentração seletiva de compostos em frações específicas.

Em comparação com outras espécies do gênero *Chionanthus*, embora diferenças metodológicas relacionadas a unidades e concentrações dificultem comparações diretas, observa-se que folhas e frações mais polares frequentemente exibem maior atividade antioxidante. Entretanto, no presente estudo, *C. filiformis* não apresentou diferenças estatisticamente significativas entre folhas e caules, evidenciando comportamento antioxidante equivalente entre essas partes da planta. Ainda assim, as frações obtidas com solventes mais polares apresentaram maior capacidade antioxidante, independentemente da origem do material vegetal, destacando a influência da polaridade do solvente na extração de compostos bioativos.

Corroborando esses achados, Gülçin et al. (2007) relataram, em *C. virginicus*, 39,2% de atividade antioxidante no extrato metanólico da raiz e 83,6% no extrato de acetato de etila da casca, com valores comparáveis aos de α -tocoferol (85,2%) e superiores aos de Trolox (14,3%). De forma complementar, Mihai et al. (2023) observaram valores de IC_{50} mais baixos para extratos de folhas em comparação a frutos e inflorescências em *C. virginicus* e *C. pubescens*. Ademais, Wang et al. (2022) demonstraram que, em *C. retusus*, a atividade antioxidante das folhas variou em função da concentração alcoólica empregada nos extratos etanólicos.

Em conjunto, esses dados reforçam que, embora a literatura destaque diferenças entre partes da planta em espécies do gênero *Chionanthus*, em *C. filiformis* a atividade antioxidante está predominantemente associada às frações mais polares, mais do que à distinção entre folhas e caules, evidenciando um perfil antioxidante consistente entre essas amostras.

4.10.2 Potencial antioxidante pelo teste de redução do fosfomolibdênio

Conforme demonstrado na TABELA 16 todos os extratos e frações testados apresentaram atividade antioxidante pelo método da redução do fosfomolibdênio, embora em intensidades variadas. Como referência, os padrões ácido ascórbico (AA), BHT e rutina foram considerados com 100% de atividade, permitindo avaliar o desempenho relativo das amostras.

TABELA 16- RESULTADOS DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DETERMINADOS PELO MÉTODO DA REDUÇÃO DO FOSFOMOLIBDÊNIO, EM COMPARAÇÃO COM OS PADRÕES DE REFERÊNCIA

(continua)

| Amostras | AA (%) média ± DP | BHT (%) média ± DP | Rutina(%) média ± DP |
|------------------|------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|
| EB folha | 6,00±2,29 ⁱ | 149,98±0,66 ^h | 73,14±6,43 ^h |
| EAQ folha | 21,01±1,38 ^g | 121,22±7,96 ^g | 59,11±0,33 ^g |
| FH folha | 20,75±2,23 ^g | 119,71±0,68 ^g | 58,38±6,27 ^g |
| FC folha | 24,99±2,71 ^h | 144,16±13,17 ^h | 70,31±7,62 ^h |
| FAC folha | 21,71±8,96 ^g | 125,26±1,22 ^g | 61,08±3,19 ^g |
| FR folha | 19,00±1,74 ^f | 109,63±4,00 ^f | 53,46±4,90 ^f |
| EB caule | 34,28±4,06 ^j | 197,74±0,09 ⁱ | 96,43±0,05 ⁱ |
| EAQ caule | 21,06±2,14 ^g | 121,44±12,33 ^g | 59,22±6,01 ^g |
| FH caule | 12,59±0,63 ^d | 72,61±3,62 ^d | 35,41±1,77 ^e |
| FC caule | 44,75±2,53 ^m | 258,14±3,01 ^l | 125,89±7, ^{12j} |
| FAC caule | 40,20±3,31 ^l | 231,91±12,71 ^j | 109,75±9,32 ^j |
| FR caule | 22,56±0,84 ^g | 130,14±4,84 ^g | 63,46±2,36 ^g |
| FH fruto verde | 7,49±0,18 ^c | 43,19±1,03 ^c | 21,06±0,50 ^g |
| FC fruto verde | 6,94±0,12 ^b | 40,03±0,68 ^b | 19,53±0,68 ^b |
| FAC fruto verde | 13,00±0,69 ^e | 75,01±4,00 ^e | 36,58±1,95 ^e |
| FH fruto maduro | 7,99±0,71 ^c | 46,07±4,10 ^c | 22,47±2,00 ^c |
| FC fruto maduro | 3,91±0,71 ^a | 22,55±4,13 ^a | 10,99±2,01 ^a |
| FAC fruto maduro | 11,17±0,91 ^d | 64,45±5,24 ^d | 31,43±2,56 ^d |

| | | | |
|-----------------|------------------|------------------|------------------|
| Ácido Ascórbico | 100 ⁿ | | (conclusão) |
| BHT | | 100 ^e | |
| Rutina | | | 100 ⁱ |

Fonte: A autora (2025)

NOTA: EB: extrato bruto; EAQ: extrato aquoso; FH: fração hexano; FC: fração clorofórmio; FAC: fração acetato de etila ; FR: fração remanescente; BHT: butil-hidroxitolueno . Letras iguais na mesma coluna não apresentam diferença estatística significativa em nível de $p < 0,05$ pelo Teste de Tukey

O ensaio de fósfolimolibdênio revelou diferenças significativas na capacidade antioxidante entre as frações de *Chionanthus*. As frações FCC e FACC apresentaram os maiores valores, indicando alta concentração de compostos antioxidantes capazes de reduzir o complexo Mo(VI). Várias frações, principalmente aquelas derivadas de folhas e caules, exibiram atividade antioxidante superior à do padrão BHT, evidenciando o potencial redutor expressivo desses extratos naturais. Em contraste, as frações de frutos verdes e maduros mostraram atividade menor, sugerindo menor acúmulo de metabólitos fenólicos com efeito antioxidante.

A comparação com os padrões de referência – ácido ascórbico, BHT e rutina , permite avaliar o desempenho relativo das frações. O fato de algumas frações superarem o BHT destaca o elevado potencial antioxidante das folhas e caules, possivelmente associado à presença de flavonoides e outros compostos fenólicos, reforçando que extratos naturais podem ter atividade equiparável ou superior a antioxidantes sintéticos.

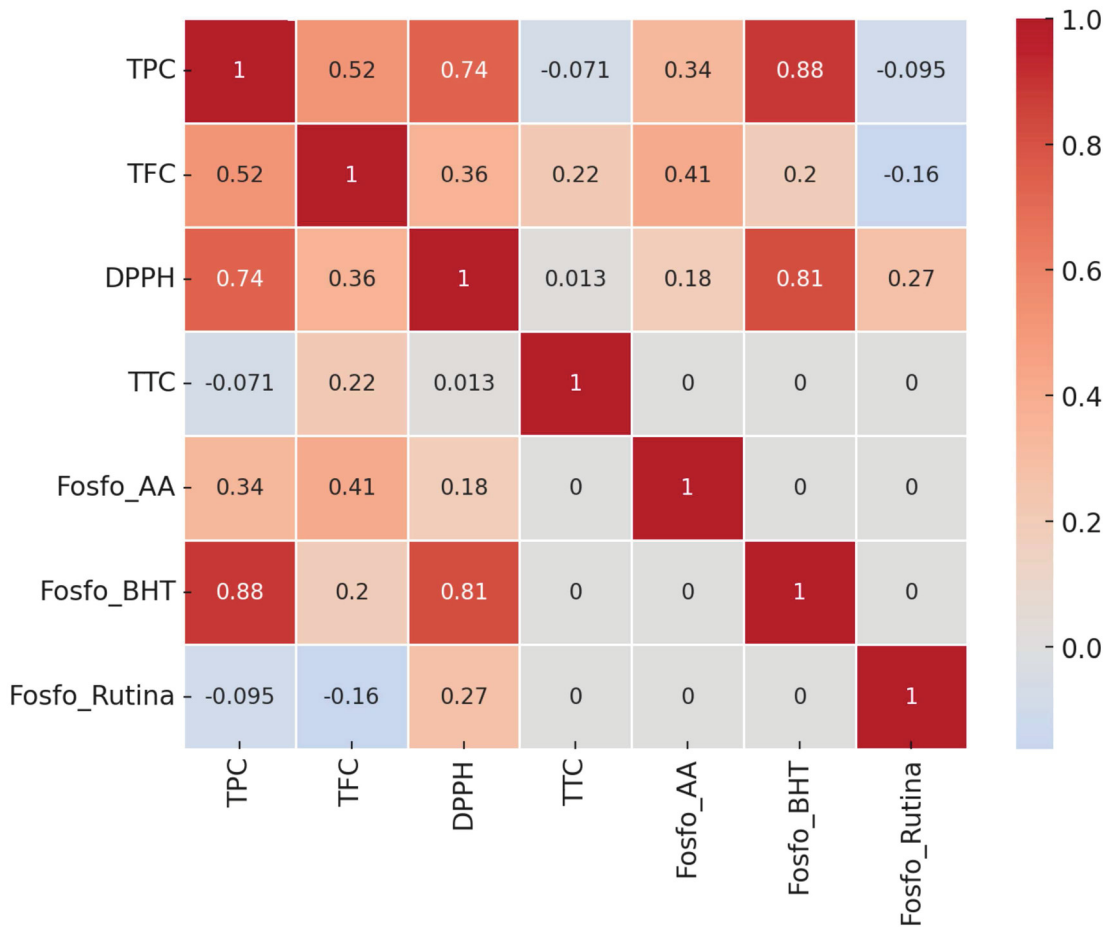
Esses resultados reforçam a importância do fracionamento para concentrar compostos bioativos e sugerem que *Chionanthus* L., possui frações promissoras para aplicações farmacológicas ou nutracêuticas. Estudos complementares, envolvendo diferentes indivíduos e regiões geográficas, são necessários para avaliar a consistência desses efeitos e a variabilidade intraespecífica da atividade antioxidante.

A análise de correlação (Figura 11) mostrou que o teor de fenólicos totais (TPC) apresenta forte associação com a atividade antioxidante tanto no ensaio DPPH ($r = 0,740$) quanto no ensaio de fósfolimolibdênio em relação ao BHT ($r = 0,88$), evidenciando que os compostos fenólicos são os principais responsáveis pela capacidade antioxidante das amostras. Os flavonoides totais (TFC) exibiram correlação moderada com TPC ($r = 0,518$) e com o ensaio de fósfolimolibdênio em relação ao ácido ascórbico ($r = 0,414$), indicando que apenas uma fração dos

fenólicos totais corresponde a flavonoides, os quais contribuem parcialmente para a atividade antioxidante.

Por outro lado, os taninos condensados (TTC) apresentaram correlação nula ou muito baixa com a maioria dos parâmetros avaliados, sugerindo que esses compostos podem atuar de forma independente ou que sua contribuição antioxidante não é plenamente detectada pelos métodos empregados. A capacidade antioxidante avaliada pelo ensaio de fósfolibdênio em relação à rutina mostrou correlações baixas ou negativas com TPC, TFC e DPPH, o que pode indicar seletividade da reação para determinados compostos ou limitações do método na representação da atividade antioxidante total.

FIGURA 11- MAPA DE CALOR DAS CORRELAÇÕES ENTRE OS MÉTODOS DE DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS E ENSAIOS ANTIOXIDANTES



Fonte: A autora (2025)

NOTA: O gráfico apresenta a matriz de correlação de Pearson entre os teores de compostos fenólicos totais (TPC), flavonoides totais (TFC), taninos totais (TTC) e os métodos de avaliação da capacidade antioxidante (DPPH), e fósfolibdênio com o padrão ácido ascobico ((Fosfo_AA), padrão BHT (Fosfo_BHT) e padrão rutina (Fosfo_Rutina). A intensidade da cor indica a força da correlação

(positiva em vermelho e negativa em azul), enquanto os valores numéricos representam os coeficientes de correlação entre os métodos

4.11 AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES BIOLÓGICAS

As frações e extratos foram avaliados quanto à toxicidade por meio de ensaios com *Artemia franciscana* e hemácias, e a atividade antimicrobiana foi investigada por meio do teste de microdiluição frente a microrganismos selecionados.

4.11.1 Avaliação da Toxicidade Frente a *Artemia franciscana*

A avaliação da toxicidade foi realizada por meio de bioensaios utilizando *Artemia franciscana*, um microcrustáceo de água salgada amplamente utilizado como alimento vivo em aquarismo e reconhecido como um bioindicador da qualidade ambiental (Meyer *et al.*, 1982; Lima *et al.*, 2011). A toxicidade de extratos de origem vegetal pode ser estimada com base na determinação da concentração letal média (CL₅₀), que representa a dose necessária para causar a morte de 50% dos náuplios expostos (Cavalcante *et al.*, 2000; Parra *et al.*, 2001; Nascimento *et al.*, 2008). Os dados obtidos a partir dessa análise toxicológica estão apresentados na TABELA 17.

TABELA 17 - MORTALIDADE DE *Artemia franciscana* E CL₅₀ UTILIZANDO EXTRATOS E FRAÇÕES DAS FOLHAS, CAULE E FRUTOS DE *Chionanthus filiformis*

(continua)

| Amostras | Concentração µg/mL | | | | | | | CL ₅₀ (µg/mL) | IC de 95% (µg/mL) |
|-----------|--------------------|----|-----|-----|-----|-----|------|-----------------------------|----------------------|
| | 10 | 50 | 100 | 250 | 500 | 750 | 1000 | | |
| EB Folha | 1 | 2 | 1 | 1 | 1 | 2 | 3 | >1000 | - |
| EB Caule | 0 | 2 | 3 | 3 | 1 | 1 | 1 | >1000 | - |
| EAQ Folha | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | >1000 | - |
| EAQ Caule | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 2 | >1000 | - |
| FH Folha | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | >1000 | - |

| | | | | | | | | | |
|----------------------|---|---|---|---|---|---|---|-------|-------------|
| FH Caule | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 2 | 2 | >1000 | (conclusão) |
| | | | | | | | | | - |
| FH Fruto verde | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | >1000 | - |
| FH Fruto maduro | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | >1000 | - |
| FC Folha | 0 | 0 | 1 | 0 | 2 | 1 | 7 | >1000 | - |
| | | | | | | | | | - |
| FC Caule | 0 | 2 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | >1000 | - |
| FC Fruto verde | 0 | 1 | 0 | 1 | 2 | 1 | 1 | >1000 | - |
| FC Fruto maduro | 0 | 1 | 0 | 1 | 2 | 1 | 1 | >1000 | - |
| FAC Folha | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | >1000 | - |
| FAC Caule | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 2 | >1000 | - |
| FAC Fruto verde | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 2 | 1 | >1000 | - |
| FAC Fruto maduro | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | >1000 | - |
| FR Folha | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | >1000 | - |
| FR Caule | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | >1000 | - |
| Metanol | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | >1000 | - |
| Sulfato de Quinidina | - | - | - | - | - | - | - | 119,5 | 73 a 197 |

FONTE: A autora (2025)

NOTA: Extrato Bruto (EB), Extrato aquoso (EAQ) Fração Hexânica (FH), Fração Clorofórmio (FC), Fração Acetato de Etila (FAC), Fração Remanescente (FR). IC= Intervalo de Confiança. CL₅₀= concentração letal

De acordo com Meyer et al. (1982), amostras são consideradas ativas quando a CL₅₀ é inferior a 1000 µg/mL. Conforme observado na TABELA 17, nenhuma das amostras testadas apresentou letalidade relevante sobre os náuplios de *Artemia franciscana*. Embora algumas mortes tenham sido observadas, o total não se mostrou diferente de forma relevante em relação aos controles positivo (sulfato de quinidina) e negativo (metanol) (Meyer et al., 1982).

A metodologia empregada apresenta vantagens importantes, como baixo custo, facilidade de execução, rapidez e simplicidade, sendo adequada para ensaios preliminares de toxicidade (Nascimento et al., 2008).

Até o momento, não foram encontrados estudos publicados sobre a toxicidade de espécies do gênero *Chionanthus* frente a *A. franciscana*, impossibilitando comparações diretas com a literatura existente.

O ensaio com *A. franciscana* é considerado um teste preliminar eficiente para a detecção de toxicidade de compostos bioativos e auxilia na definição do direcionamento de pesquisas futuras em áreas como atividade farmacológica, antitumoral, antibacteriana e ecotoxicidade (Amarante *et al.*, 2011). Para uma avaliação completa da toxicidade de *Chionanthus filiformis*, seriam necessários estudos adicionais *in vitro* e *in vivo*, incluindo análises de toxicidade aguda, crônica e hepatotoxicidade.

4.12 Avaliação da citotoxicidade sobre eritrócitos

Os resultados referentes ao ensaio de atividade hemolítica dos extratos e frações de *Chionanthus filiformis* estão apresentados na TABELA 18. Verificou-se que nenhuma das amostras avaliadas induziu hemólise, não sendo observada hemólise total *in vitro* em nenhuma das concentrações testadas.

TABELA 18 - AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE HEMOLÍTICA DOS EXTRATOS E FRAÇÕES DE FOLHAS E CAULES DE *Chionanthus filiformis* (continua)

| Amostra | Concentração µg/mL | | | | | | Controle |
|--------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|----------|
| | 75 | 100 | 250 | 500 | 750 | 1000 | |
| EAQ Folha | 4.877 ± 0,52 ^t | 5.604 ± 0,88 ^u | 0.415 ± 5,81 ^a | 3.321 ± 2,51 ^r | 2.179 ± 0,56 ^k | 1.661 ± 1,22 ^h | |
| EAQ Caule | 2.283 ± 1,06 ^m | 3.113 ± 0,56 ^q | 3.321 ± 0,76 ^r | 3.425 ± 0,49 ^r | 2.906 ± 0,35 ^o | 2.075 ± 0,84 ^k | |
| EB Folha | 1.634 ± 1,41 ^h | 2.684 ± 1,13 ⁿ | 2.684 ± 3,62 ⁿ | 2.801 ± 0,79 ^o | 2.672 ± 6,54 ⁿ | 2.801 ± 1,22 ^o | |
| EB Caule | 2.179 ± 1,50 ^k | 2.698 ± 1,48 ⁿ | 2.906 ± 0,80 ^o | 1.660± 3,54 ^h | 1.660 ± 0,92 ^h | 3.321 ± 0,35 ^r | |
| FH Folha | 2.906 ± 0,47 ^o | 2.075 ± 1,40 ^k | 2.595 ± 0,51 ⁿ | 1.661 ± 0,73 ^h | 2.179 ± 0,59 ^k | 2.491 ± 0,40 ⁿ | |
| FH Caule | 5.369 ± 1,53 ^u | 1.634 ± 0,68 ^h | 0.933 ± 1,74 ^e | 1.401 ± 0,91 ^g | 3.735 ± 1,29 ^s | 4.669 ± 1,67 ^t | |
| FC Folha | 2.906 ± 1,48 ^o | 2.491 ± 1,43 ⁿ | 3.113 ± 3,29 ^q | 1.453 ± 1,68 ^g | 2.802 ± 3,95 ^o | 0.415 ± 5,15 ^a | |
| FC Caule | 1.245 ± 1,41 ^f | 3.113 ± 1,53 ^q | 2.802 ± 1,13 ^o | 3.528 ± 1,19 ^r | 3.425 ± 4,23 ^r | 4.566 ± 1,59 ^t | |
| FAC Folha | 0.933 ± 0,39 ^e | 0.700 ± 0,15 ^c | 1.167 ± 1,4 ^f | 0.583 ± 0,29 ^b | 0.817 ± 0,79 ^d | 1.284 ± 2,48 ^f | |
| FAC Caule | 3.943 ± 4,54 ^s | 3.321 ± 5,97 ^r | 3.217 ± 3,17 ^r | 2.906 ± 4,10 ^o | 5.812 ± 5,44 ^u | 4.566 ± 6,60 ^t | |
| FR Folha | 2.229 ± 1,77 ^l | 7.890 ± 1,89 ^x | 4.354 ± 2,39 ^s | 7.166 ± 0,87 ^v | 6.291 ± 1,81 ^v | 4.610 ± 2,87 ^t | |

| | | | | | | | |
|----------|-----------------------------|------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|------------------------------|
| FR | | | | | | | (conclusão |
| Caule | 8.637 ±3,34 ^y | 5.135 ±1,53 ^t | 3.268 ±1,52 ^r | 1.634 ±3,75 ^h | 4.202 ±0,67 ^s | 1.984 ±2,00 ^j |) |
| Rutina | 1.751 ±1,19 ⁱ | 2.334 ±1,34 ^m | 2.567 ±0,6361 ⁿ | 3.034 ±1,15 ^p | 4.202 ±2,35 ^s | 4.902 ±0,62 ^t | |
| Saponina | 5.708 ±6,17 ^u | 19.614 ±1,47 ^z | 75,186 ±2,79 ^{aa} | 86,939 ±6,34 ^{ab} | 87,017 ± 3,63 ^{ab} | 90,053 ±10,73 ^{ac} | |
| Metanol | - | - | - | - | - | - | 16.086 ±7,13 ^w |
| PBS | - | - | - | - | - | - | 19.925 ±7,82 ^z |

FONTE A autora (2025)

NOTA: Extrato Bruto (EB), Extrato aquoso (EAQ), Fração Hexano (FH), Fração Cloroformio (FC), Fração Acetato de Etila (FAC), Fração Remanescente (FR). NOTA: Resultados expressos em média aritmética e \pm Desvio padrão. Diferença estatística em nível de 5% de significância pelo teste de Tukey. Letras minúsculas n iguais não diferem estatisticamente entre si, em todas as linhas e colunas

Para que uma amostra seja considerada hemolítica, é necessário que promova a lise de, no mínimo, 50% dos eritrócitos em comparação ao controle positivo (Dos Santos Júnior *et al.*, 2010; Fang *et al.*, 2020). A hemólise decorre de alterações estruturais na membrana celular, que podem envolver desorganização da bicamada lipídica, modulação do transporte iônico ou outros mecanismos citotóxicos capazes de comprometer a estabilidade e o equilíbrio celular (De Souza Lima; Soto-Blanco, 2010).

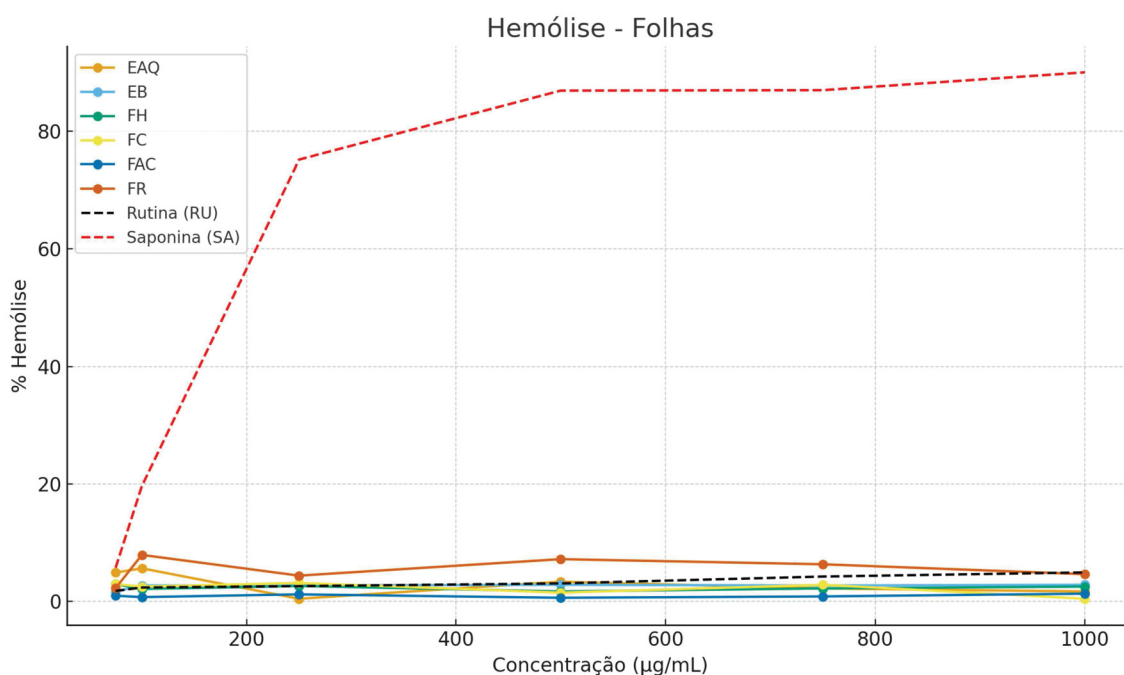
A avaliação da atividade hemolítica dos extratos e frações obtidos das folhas e caules de *Chionanthus filiformis*, associada ao teste de toxicidade em *Artemia franciscana*, possibilitou investigar o perfil toxicológico da espécie e de seus constituintes químicos. Esses ensaios são amplamente empregados como ferramentas de triagem preliminar em estudos com plantas medicinais, permitindo identificar materiais com baixo risco citotóxico (Kublik *et al.*, 1996; Gandhi; Cherian, 2000; Kalegari *et al.*, 2011; Colacite, 2015).

Neste estudo, a rutina foi utilizada como padrão não hemolítico e a saponina como padrão hemolítico, nas concentrações de 75 a 1000 $\mu\text{g/mL}$. A rutina, um flavonoide com reconhecida atividade antioxidante, atua na proteção dos eritrócitos contra a hemólise, sequestrando radicais livres e preservando a integridade da membrana (Abe *et al.*, 2014). Em contraste, a saponina induz hemólise mesmo em baixas concentrações, devido à sua interação direta com a bicamada lipídica (Karabaliev; Kochev, 2003).

Os resultados indicam que os extratos aquosos (EAQ), extratos brutos etanólicos (EB) e frações de folhas e caules de *Chionanthus filiformis* apresentam baixa atividade hemolítica, com valores consistentemente inferiores ao limite crítico de 50% em todas as concentrações avaliadas.

As amostras das folhas mostraram, de modo geral, baixa atividade hemolítica, sugerindo um perfil de segurança preliminar favorável. Em praticamente todas as concentrações testadas (75 a 1000 µg/mL), os níveis de hemólise permaneceram abaixo daqueles observados para a Rutina, utilizada como controle não hemolítico, indicando que os extratos e frações das folhas não promovem lise significativa dos eritrócitos (GRÁFICO 1).

GRÁFICO 1 - ATIVIDADE HEMOLÍTICA DOS EXTRATOS E FRAÇÕES OBTIDAS DAS FOLHAS DE *Chionanthus filiformis* EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES (75–1000 MG/ML)



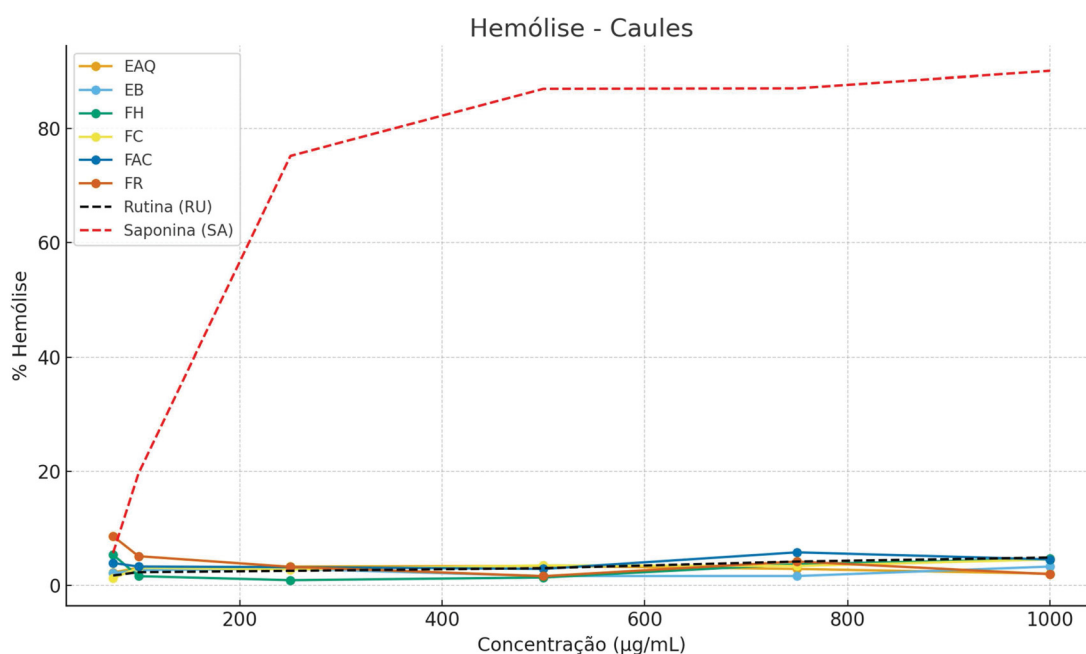
FONTE A autora (2025)

NOTA: O gráfico apresenta a porcentagem de hemólise induzida pelos extratos brutos e frações (EAQ: extrato aquoso, EB: extrato bruto, FH: fração hexânica, FC: fração clorofórmica, FAC: fração acetato de etila, FR: fração residual) em diferentes concentrações (100–1000 µg/mL). As linhas tracejadas representam os padrões de comparação: rutina (controle negativo) e saponina (controle positivo)

As amostras de caules apresentaram maior variação em comparação às folhas, mas também não demonstraram hemólise significativa. Isso indica que os caules de *C. filiformis* possuem toxicidade hemolítica baixa a moderada, com

algumas frações lipofílicas mostrando tendência a níveis ligeiramente mais elevados, ainda dentro de limites considerados seguros para extratos vegetais (GRÁFICO 2).

GRÁFICO 2 - ATIVIDADE HEMOLÍTICA DOS EXTRATOS E FRAÇÕES OBTIDAS DOS CAULES DE *Chionanthus filiformis* EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES (75–1000 MG/ML)



FONTE: A autora (2025)

NOTA: O gráfico apresenta a porcentagem de hemólise induzida pelos extratos brutos e frações (EAQ: extrato aquoso, EB: extrato bruto, FH: fração hexano, FC: fração clorofórmio, FAC: fração acetato de etila, FR: fração residual) em diferentes concentrações (100–1000 µg/mL). As linhas tracejadas representam os padrões de comparação: rutina (controle negativo) e saponina (controle positivo)

As frações hexano de folhas e caules (FHF e FHC), nas quais foi detectada a presença de saponinas, exibiram maior variação da hemólise, embora em níveis reduzidos. A fração hexano de caule atingiu 5,37% de hemólise a 75 µg/mL, enquanto a de folhas alcançou 2,91% na mesma concentração, comportamento compatível com o efeito moderado das saponinas. Outras frações, como as residuais (FRF e FRC), apresentaram picos superiores em algumas concentrações, notadamente 7,89% para FRF a 100 µg/mL e 8,63% para FRC a 75 µg/mL, valores que, ainda assim, permanecem abaixo do limiar de toxicidade eritrocitária

A análise estatística pelo teste de Tukey demonstrou que, de modo geral, não houve diferença significativa entre a maioria dos extratos e frações em relação à rutina, corroborando a baixa atividade hemolítica. No entanto, algumas frações

hexano e residuais apresentaram diferenças estatísticas significativas, embora em níveis de hemólise considerados seguros (<10%). Esses resultados sugerem que a presença de saponinas em determinadas frações está associada a um aumento moderado da permeabilidade da membrana.

Além disso, todos os extratos e frações apresentaram valores de hemólise inferiores aos controles metanol e PBS, indicando efeito protetor sobre as hemácias. Ensaio fitoquímico por cromatografia em camada delgada (CCD) confirmaram a presença de flavonoides e taninos, compostos com reconhecida ação antioxidante, capazes de estabilizar a membrana eritrocitária e neutralizar espécies reativas de oxigênio (Zuanazzi; Montanha, 2007; Ahmed et al., 2019). Observou-se, ainda, que as frações com maior atividade hemolítica coincidiram com aquelas em que foram identificadas saponinas, reforçando a relação entre esses metabólitos e o aumento da permeabilidade da membrana.

Embora os achados indiquem baixo potencial citotóxico, torna-se necessário realizar ensaios adicionais *in vitro* e *in vivo* para confirmação da segurança farmacológica dos extratos e frações. Os resultados obtidos reforçam a utilidade do ensaio hemolítico como ferramenta de triagem preliminar em pesquisas com plantas medicinais, contribuindo para a identificação de extratos promissores e seguros para o desenvolvimento de fitoterápicos (Kundishora; Sithole; Mukanganyama, 2020).

4.13 Potencial antimicrobiano

A atividade antimicrobiana dos extratos e frações de *Chionanthus filiformis* foi avaliada frente aos microrganismos *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853). A maior concentração testada foi 1000 µg/mL. Os resultados obtidos estão descritos na TABELA 19.

TABELA 19 – CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (CIM, MG/ML) DOS EXTRATOS E FRAÇÕES DE *Chionanthus filiformis* FRENTE A MICRORGANISMOS PADRÃO

| Amostras | <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 | <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212 | <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 |
|-------------|--|---|------------------------------------|--|
| EAQ Folha | >1000 | >1000 | >1000 | >1000 |
| EAQ Caule | >1000 | >1000 | >1000 | >1000 |
| EB Folha | >1000 | 500 | 1000 | 125 |
| EB Caule | >1000 | >1000 | >1000 | >1000 |
| FH Folha | >1000 | 500 | 1000 | 500 |
| FH Caule | >1000 | >1000 | >1000 | 1000 |
| FC Folha | >1000 | >1000 | >1000 | 125 |
| FC Caule | >1000 | 1000 | >1000 | >1000 |
| FAC Folha | 1000 | 1000 | 1000 | >1000 |
| FAC Caule | 500 | 500 | 500 | >1000 |
| FR Folha | >1000 | >1000 | >1000 | 1000 |
| FR Caule | >1000 | >1000 | >1000 | >1000 |
| Gentamicina | 0,417 | 8 | 2,5 | 2 |

FONTE: A autora (2025)

NOTA: Extrato aquoso (EAQ), Extrato Bruto (EB), Fração Hexano (FH), Fração Cloroformio (FC), Fração Acetato de Etila (FAC), Fração Remanescente (FR). Valores expressos em µg/mL; >1000 = inativo nas concentrações testadas

Conforme a classificação proposta por Pessini *et al.* (2003), sendo considerada boa quando a CIM é inferior a 100 µg/mL, moderada quando varia entre 100 e 500 µg/mL, fraca quando se situa entre 500 e 1000 µg/mL e inativa quando apresenta valores superiores a 1000 µg/mL, a maioria dos resultados obtidos pode ser considerada inativa (CIM >1000 µg/mL) frente às cepas bacterianas testadas. Esse comportamento foi especialmente evidente contra as bactérias gram-negativas (*E. coli* e *P. aeruginosa*), cuja maior resistência está relacionada à barreira imposta pela membrana externa (Nikaido, 2003).

Apesar disso, alguns extratos e frações apresentaram atividades relevantes. O extrato bruto da folha (EB Folha) exibiu atividade moderada contra *P. aeruginosa* (125 µg/mL) e atividade fraca frente a *E. faecalis* (500 µg/mL). A fração cloroformio da folha (FC Folha) também apresentou atividade moderada contra *P. aeruginosa* (125 µg/mL). Além disso, a fração hexano da folha (FH Folha) apresentou atividade moderada contra *E. faecalis* (500 µg/mL) e contra *P. aeruginosa* (500 µg/mL). Já a

fração acetato de etila da folha (FAC Folha) exibiu atividade fraca frente a *S. aureus*, *E. faecalis* e *E. coli* (CIM = 1000 µg/mL).

Esses resultados indicam que as folhas concentram compostos com maior potencial antimicrobiano em comparação aos caules, pois os melhores desempenhos foram observados exclusivamente a partir desse órgão vegetal. O fato de frações apolares e semipolares (hexano, clorofórmio e acetato de etila) terem apresentado atividade sugere o envolvimento de metabólitos de natureza lipofílica, como terpenoides e fenólicos pouco polares, frequentemente associados à atividade antimicrobiana em espécies da família Oleaceae.

Embora os valores de CIM sejam superiores aos observados para a gentamicina, os achados reforçam o potencial biológico de *C. filiformis*. O extrato bruto da folha, a fração clorofórmio da folha e, em menor grau, as frações hexano e acetato de etila da folha destacam-se como os resultados mais promissores, justificando estudos futuros de isolamento e caracterização de compostos bioativos. Ressalta-se que não foram encontrados estudos prévios de atividade antimicrobiana em espécies do gênero *Chionanthus*, o que impossibilita a comparação direta dos resultados obtidos com a literatura.

5 CONCLUSÃO

O gênero *Chionanthus* L. apresenta potencial para diversas atividades biológicas, conforme demonstrado em ensaios realizados *in vitro*. Estudos indicam que suas espécies contêm compostos farmacologicamente relevantes, especialmente compostos fenólicos, amplamente reconhecidos por suas propriedades antioxidantes e terapêuticas. Esses metabólitos constituem importantes candidatos para o desenvolvimento de novos fármacos.

Entretanto, todas as atividades biológicas relatadas até o momento baseiam-se exclusivamente em avaliações pré-clínicas, conduzidas em modelos laboratoriais ou celulares, sem confirmação em estudos clínicos. Além disso, muitos dos compostos identificados ainda não tiveram seus potenciais biológico e farmacológico plenamente investigados. Assim, tornam-se necessários estudos adicionais que elucidem mecanismos de ação, segurança, doses eficazes e possíveis efeitos adversos. Também é fundamental ampliar as pesquisas para outras espécies do gênero, que reúne mais de 100 espécies distribuídas globalmente. Investigações sistemáticas são essenciais para explorar de forma abrangente o potencial biológico e farmacológico do grupo.

No presente estudo, *Chionanthus filiformis* apresentou elevado potencial biológico, com folhas e caules atuando como principais reservatórios de compostos bioativos. A caracterização anatômica revelou marcadores diagnósticos importantes, como paredes celulares anticiniais retas a onduladas, mesofilo dorsiventral, organização vascular do nervo central e distribuição de cristais, além da presença de lipídios, fenólicos, polissacarídeos e amido, contribuindo para a identificação botânica da espécie.

A análise fitoquímica evidenciou predominância de flavonoides, cumarinas e esteroides/triterpenos nas folhas, enquanto os caules apresentaram maior concentração de esteroides/triterpenos. A quantificação de fenólicos totais indicou níveis elevados, classificando folhas e caules como materiais de alto teor fenólico com destaque para a fração clorofórmica do caule e para o extrato bruto das folhas. O teor de flavonoides totais foi igualmente expressivo nas folhas, sobretudo no extrato bruto (388,55 mg ER/g) e na fração cloroformio (178,58 mg ER/g), sugerindo predominância de compostos apolares a semipolares. Em contraste, frações aquosas e frutos apresentaram valores menores. Os taninos condensados foram

particularmente abundantes na fração hexano das folhas (1332 mg/g), reforçando o papel protetor e antioxidante desses metabólitos.

Nos ensaios antioxidantes, os métodos de fósfolimbdênio e DPPH• revelaram atividade elevada nas frações polares de folhas e caules (EAQ, FAC e FR). No DPPH•, essas frações apresentaram capacidade de neutralização de radicais estatisticamente comparável aos padrões Trolox e Vitamina C, enquanto frações menos polares, como FH, exibiram atividade consideravelmente menor. Frações de frutos demonstraram menor capacidade antioxidante, com exceção da FAC, que manteve valores relevantes (52,20 µg ET/mg no fruto verde e 50,07 µg ET/mg no fruto maduro). No ensaio de fósfolimbdênio, várias frações apresentaram potencial redutor superior ao antioxidante sintético BHT.

Os testes de toxicidade indicaram provável perfil seguro, sem letalidade significativa para *Artemia franciscana* e baixa atividade hemolítica. Quanto à atividade antimicrobiana, folhas e suas frações apresentaram melhor desempenho, com atividade moderada contra *Pseudomonas aeruginosa* e efeito fraco frente às demais bactérias avaliadas. Os caules exibiram atividade mais limitada.

Em conjunto, os resultados demonstram que *C. filiformis* possui folhas e caules ricos em compostos fenólicos, flavonoides e taninos, apresentando alta capacidade antioxidante, baixa toxicidade preliminar e atividade antimicrobiana seletiva. Tais características destacam o potencial farmacológico, nutracêutico e ecológico da espécie. Estudos futuros envolvendo diferentes populações, estações do ano e regiões geográficas são essenciais para confirmar a consistência dos resultados, compreender a variabilidade intraespecífica e aprofundar o conhecimento sobre os mecanismos de ação de seus compostos bioativos.

REFERÊNCIAS

- ADEGBUYIRO, A. et al. Proteins containing expanded polyglutamine tracts and neurodegenerative disease. **Biochemistry**, v. 56, p. 1199–1217, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.biochem.6b00936>.
- AHMED, D. et al. Hepatoprotective, anti-hemolytic, and anti-radical properties of cold-pressed, no-solvent, extract of bottle gourd fruit. **International Journal of Vegetable Science**, London, v. 25, n. 4, p. 330-339, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1080/19315260.2018.1513963>.
- ALBERTON, M. D.; FALKENBERG, D. B.; FALKENBERG, M. B. Análise cromatográfica de fitoterápicos a base de espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia*). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 12, p. 11-13, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2002000300006>.
- ALMEIDA, V. P. et al. Comparative morphoanatomical analysis of Mikania species. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 27, n. 1, p. 9–19, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2016.05.002>.
- AMARANTE, C. B. et al. Estudo fitoquímico biomonitorado pelos ensaios de toxicidade frente à Artemia salina e de atividade antiplasmódica do caule de aninga (*Montrichardia linifera*). **Acta Amazonica**, v. 41, n.3, p.431-434, 2011.
- ANTUNES, A. A. et al. Authentication and quality control of the Brazilian traditional herb “Espinheira-Santa” (*Monteverdia ilicifolia*) by morpho-anatomy and microscopy. **Microscopy and Microanalysis**, v. 29, n. 5, p. 1809–1821, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1093/micmic/ozad098>.
- ANTUNES, K. A. et al. Authentication and quality control of the Brazilian traditional herb ‘Carquejas’ (Baccharis species) using morpho-anatomy and microscopy. **Plants**, v. 13, n. 21, p. 3030, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants13213030>.
- ARAÚJO, A. A. S. et al. Antinociceptive activity and toxicological study of aqueous extract of *Egletes viscosa* Less (Asteraceae). **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 44, n. 4, p. 707-715, 2008.
- ARIAS, R. S. et al. Development of Simple Sequence Repeat Markers for *Chionanthus retusus* (Oleaceae) and Effective Discrimination of Closely Related Taxa. **HortScience**, v. 46, p. 23–29, 2011. DOI: <https://doi.org/10.21273/hortsci.46.1.23>.
- ASLAM, F. et al. Antioxidant, haemolytic activities and GC-MS Profiling of *Carissa carandas* roots. **International Journal of Phytomedicine**, v. 3, n. 4, p. 567–578, 2011.
- AWARE, C. B. et al. Natural bioactive products as promising therapeutics: A review of natural product-based drug development. **South African Journal of Botany**, v. 151, p. 512–528, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2022.05.028>.

- BAI, N.; HE, K.; IBARRA, A.; BILY, A. et al. Iridoids from *Fraxinus excelsior* with adipocyte differentiation-inhibitory and PPAR α activation activity. **J. Nat. Prod.**, v. 73 p. 2-6, 2010. DOI:<https://doi.org/10.1021/np9003118>.
- BARREIRO, E. J.; BOLZANI, V. D. S. Biodiversidade: fonte potencial para adescoberta de fármacos. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 679–688, 2009.
- BIRAL, L.; LOMBARDI, J. A. *Chionanthus* in **Flora e Funga do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB604564>>. Acesso em: 30 de agosto. 2025.
- BERLYN, G. P.; MIKSCHE, J. P. **Botanical Microtechnique and Cytochemistry**. Ames: Iowa State University, v 1, 1976.
- BOYER, L. et al. Lignans and secoiridoids from the root bark of *Chionanthus virginicus* L.: isolation, identification and HPLC analysis. **Phytochemical Analysis**, v. 16, p. 375–379, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1002/pca.863>.
- BOYER, L.; BAGHDIKIAN, B.; BUN, S. S et al. *Chionanthus Virginicus* L.: Phytochemical Analysis and Quality Control of Herbal Drug and Herbal Preparations. **Nat Prod Commun.**, v. 6, p. 19, 2011. DOI:<https://doi.org/10.1177/1934578x1100600603>.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Farmacopeia Brasileira**. 6a edição, v. 1. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), 2024.
- BRAZ FILHO, R. Contribuição da fitoquímica para o desenvolvimento de um país emergente. **Química Nova**, v. 33, n. 1, p. 229–239, 2010. DOI:<https://doi.org/10.1590/S0100-40422010000100040>.
- Boerjan W, Ralph J, Baucher M. Lignin Biosynthesis. **Annual Review of Plant Biology**, v. 54, 519-546, 2003. DOI:<https://doi.org/10.1146/annurev.Arplant.54.031902.134938>.
- BRITO, P. S. et al. Light and Scanning Electron Microscopy, Energy Dispersive X-Ray Spectroscopy, and Histochemistry of *Eucalyptus tereticornis*. **Microscopy and Microanalysis**, v. 27, p. 1295–1303, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1017/S1431927621012514>.
- CAIN, A. J. The use of Nile blue in the examination of lipids. **Quarterly Journal of Microscopical Science**, v. 88, p. 383–392, 1947.
- CAMARGO, K. C. et al. Chemodiversity of Essential Oils from Nine Species of Celastraceae. **Chemistry & Biodiversity**, 2020. DOI:<https://doi.org/10.1002/cbdv.202000107>.
- CARVALHO, J. L. S. et al. Termoestabilidade de processos extrativos de *Nasturtium officinale* R. Br., Brassicaceae por sistema de Soxhlet modificado. **Química Nova**, v.

32, n. 4, p. 1031-1035, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000400034>.

CANSIAN, R. et al. Antioxidant and genotoxic properties of *Maytenus dasyclada*: a comparative study in relation to *Maytenus* reference species. **Brazilian Journal of Biology**, v. 75, n. 2, p. 471–476, 2015. DOI: 10.1590/1519-6984.18113.

CAVALCANTE, M. F. et al. Síntese de 1,3 ,5-triazinas substituídas e avaliação da toxicidade frente a *Artemia Salina* leach. **Química Nova**, v. 23, n.1, p. 20-22, 2000.

CIEŚLA, L.; WAKSMUNDZKA-HAJNOS, M. Two-dimensional thin-layer chromatography in the analysis of plant secondary metabolites. **Journal of Chromatography A**, v. 1216, n. 7, p. 1035–1052, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2008.12.057>.

CHAN, W.; TAN, L. T.; CHAN, K.; LEE, L.; GOH, B. Nerolidol: A Sesquiterpene Alcohol with Multi-Faceted Pharmacological and Biological Activities. **Molecules**, v. 21, n. 5, p. 1-40, 2016. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules21050529>.

CHEN, W. et al. Study on anatomical character of leaves and petioles of *Chionanthus retusus* bio-types. **J. China Agric. Univ.**, v. 3, p. 38–51, 2018. DOI: <https://doi.org/10.11841/j.issn.1007-4333.2018.05.05>.

CHEW, Y. L. et al. Assessment of phytochemical content, polyphenolic composition, antioxidant and antibacterial activities of Leguminosae medicinal plants in Peninsular Malaysia. **BMC complementary and alternative medicine**, v. 11, n. 1, p. 1-10, 2011.

CHRISTENHUSZ, et al. The number of known plants species in the world and its annual increase. **Phytotaxa**, v. 9, p. 1–55, 2017. DOI: <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.9.1.1>

CHOMICKI, G. et al. Diversity and development of domatia: Symbiotic plant structures to host mutualistic ants or mites. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 82, p. 1369-266, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2024.102647>.

COCKERILL, F. R. et al. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; Approved Standard — ninth Edition. In: *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically; Approved Standard*, v. 32, n. 2, 2012.

COLACITE, J. Triagem Fitoquímica, Análise Antimicrobiana e Citotóxica e dos Extratos das Plantas: *Schinus terebinthifolia*, *Maytenus ilicifolia* Reissek, *Tabebuia avellanedae*, *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan. **Saúde e Pesquisa**, v. 8, n. 3, p. 509, 2015. DOI: <https://doi.org/10.17765/1983-1870.2015v8n3p509-516>.

CORTEZ, P. A. et al. Manual Prático de Anatomia Vegetal: Morfologia e Anatomia Vegetal. **Organizado por Universidade Estadual de Santa Cruz**. Ilhéus, BA: Editus, 2016. p. 92.

DAVID, R.; CARDE, J. P. Coloration différentielle des inclusions lipidiques et terpéniques des pseudophylles du Pin maritime au moyen du réactif Nadi. **Comptes Rendus Hebdomadaires des Séances de l'Académie des Sciences Paris D**, v. 258, p. 1338–1340, 1964.

DEVEQUI-NUNES, D. et al. Chemical characterization and biological activity of six different extracts of propolis through conventional methods and supercritical extraction. **PLoS One**, v. 13, n. 12, p. e0207676, 2018.

DIAS, J. de F. G.; CÍRIO, G. M.; MIGUEL, M. D.; MIGUEL, O. G. Contribuição ao estudo alelopático de *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss., Celastraceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 3, p. 220–223, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2005000300011>.

DIMA, C.; ASSADPOUR, E.; DIMA, S.; JAFARI, S. M. Bioavailability and bioaccessibility of food bioactive compounds; overview and assessment by in vitro methods. **Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 19, n. 6, p. 2862–2884, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12623>.

DAJAS, F. et al. Neuroprotection by flavonoids. *Braz J Med Biol Res*, v. 36, p. 1613–1620, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1590/s0100-879x2003001200002>.

DE SOUZA LIMA, M. C., & SOTO-BLANCO, B. Poisoning in goats by *Aspidosperma pyriforme* Mart.: biological and cytotoxic effects. **Toxicon : Official Journal of the International Society on Toxinology**, n. 55, v. 2-3, p. 320–324. 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2009.08.004>.

DOS SANTOS JÚNIOR, H. M. et al. Evaluation of native and exotic Brazilian plants for anticancer activity. **Journal of Natural Medicines**, v. 64, n. 2, p. 231–238, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11418-010-0390-0>.

Duarte SR, Debur MC (2005). Morfoanatomia do caule e da folha de *Maytenus ilicifolia*. **Fitoterapia**, v. 76, p. 41-49. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2004.10.003>.

DUPIN, J. et al. Resolving the Phylogeny of the Olive Family (Oleaceae): Confronting Information from Organellar and Nuclear Genomes. **Genes**, v. 11, p. 1508, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/genes11121508>.

FARIAS, M. R. Avaliação da qualidade de matérias-primas vegetais. In: SIMÕES, C. M. O.; et al. (Org.). **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 6. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Ed UFRGS/Ed UFSC, 2007.

FANG, Z. et al. Review: The Triterpenoid Saponins and Biological Activities of *Lonicera* Linn. **Molecules**, v. 25, n. 17, p. 1–16, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules25173773>.

FEO, V.; AQUINO, R.; MENGHINI, A.; RAMUNDO, E. et al. Traditional phytotherapy in the peninsula Sorrentina, Campania, southern Italy. **J. Ethnopharmacol.**, v. 36, p. 113-125, 1992. DOI: [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(92\)90010-O](https://doi.org/10.1016/0378-8741(92)90010-O).

FERNÁNDEZ-ALONSO, J. L.; COGOLLO-PACHECO, A. *Chionanthus abriaquiensis* Fern. Alonso & Cogollo (Oleaceae), una nueva especie de Colombia. **Candollea**, v. 71, p. 61-66, 2016. DOI: <https://doi.org/10.15553/c2016v711a8>.

FERREIRA, D. F. *S/SVAR – Sistema de Análise de Variância*. Versão 5.7, Build 91. Lavras, MG: UFLA, 2018.

FINNEY, D. J. *Probit Analysis*. Cambridge: Cambridge University Press, 1956.
Fisher DB (1968). Protein staining of ribboned epon sections for light microscopy. **Histochemie**, v.16, p. 92-96.

FRANKLIN, G. Preparation of Thin Sections of Synthetic Resins and Wood-Resin Composites, and a New Macerating Method for Wood. **Nature**, v. 155, p. 51, 1945. DOI: <https://doi.org/10.1038/155051a0>.

FRAZIER, R. A. et al. Interactions of tea tannins and condensed tannins with proteins. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 50, n. 5, p. 719–726, 2009.

FURR, M.; MAHLBERG, P. G. Histochemical analyses of laticifers and glandular trichomes in *Cannabis sativa*. **Journal of Natural Products**, v. 44, p. 153–159, 1981.

GAO, J. Y.; YIN, W. P. Flower Essential Oil Composition of *Chionanthus retusus*. *Chemistry of Natural Compounds*, v. 52, p. 934–935, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10600-016-1823-0>.

GANDHI, V. M.; CHERIAN, K. M. Red cell haemolysis test as an in vitro approach for the assessment of toxicity of karanja oil. **Toxicology In Vitro**, v. 14, p. 513-516, 2000. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0887-2333\(00\)00046-1](https://doi.org/10.1016/s0887-2333(00)00046-1)

GHAZANFAR, S. A.; AL-AL-SABAHI, A. M. Medicinal plants of northern and Central Oman (Arabia). **Econ. Bot.**, v. 47, p. 89-98, 1993. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF02862209>.

GIL-MARTÍN, E. et al. Influence of the extraction method on the recovery of bioactive phenolic compounds from food industry by-products. **Food Chemistry**, v. 378, p. 1-39, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131918>.

GREEN, P.S. A Revision of *Chionanthus* (Oleaceae) in S. America and the Description of *Priogymnanthus*, gen. nov. **Kew Bull**, v. 49, p. 261, 1994. DOI: <https://doi.org/10.2307/4110264>.

GÜLÇİN, I.; GEPIREMEN, A.; RİM, E.; BOYER, L. A comparative study on the antioxidant activity of fringe tree (*Chionanthus virginicus* L.) extracts. **African Journal of Biotechnology**, p. 410–418, 2007.

GÜLÇİN, İ. et al. Antioxidant secoiridoids from fringe tree (*Chionanthus virginicus* L.). **Wood Sci. Technol.**, v. 43, p. 195-212, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00226-008-0234-1>.

HÄRMÄLÄ, P.; BOTZ, L.; STICHER, O.; HILTUNEN, R. Two-dimensional planar chromatographic separation of a complex mixture of closely related coumarins from the genus *Angelica*. **Journal of Planar Chromatography – Modern TLC**, p. 515–520, 1990.

HAYOUNI, E. A. et al. The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. **Food Chemistry**, v. 105, n. 3, p. 1126–1134, 2007. DOI:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.02.010>.

HAWRYŁ, M. A.; SOCZEWIŃSKI, E. Normal phase 2D TLC separation of flavonoids and phenolic acids from *Betula* sp. leaves. **Journal of Planar Chromatography – Modern TLC**, v. 14, p. 415–421, 2001.

HEISIG, W.; WICHT, M. Two-dimensional TLC and HPLC in the determination of plant glycosides. I. *Calendula officinalis* flowers. **Deutsche Apotheker Zeitung**, v. 130, p. 2058–2062, 1990.

HONG, H. et al. A bisamidine-based inhibitor of toxic protein inclusions in neurons ameliorates cytotoxicity in polyglutamine disease models. **Journal of Biological Chemistry**, v. 294, p. 2757–2770, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1074/jbc.Ra118.006307>

HORNUNG, P. et al Sustainable Use of *Ilex paraguariensis* Waste in Improving Biodegradable Corn Starch Films' Mechanical, Thermal and Bioactive Properties. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 28, p. 1696–1709, 2020. DOI:<https://doi.org/10.1007/s10924-020-01723-w>.

HUANG, G.; MEI, X.; HU, J. The antioxidant activities of natural polysaccharides. **Current Drug Targets**, v. 18, n. 11, p. 1296–1300, 2017. DOI:<https://doi.org/10.2174/1389450118666170123145357>.

HUANG, Y. L.; OPPONG, M. B.; GUO, Y. et al. The Oleaceae family: A source of secoiridoids with multiple biological activities. **Fitoterapia**, v. 136, p. 136, 2019. DOI:<https://doi.org/10.1016/j.fitote.2019.04.010>.

HORSZWALD, A.; WILFRIED, B. Determination of condensed tannins using the vanillin–HCl method: a critical review of the procedure. **Food Chemistry**, v. 123, p. 1–5, 2011.

JARDIM BOTÂNICO DO RIO DE JANEIRO. Oleaceae in Flora e Funga do Brasil. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB10972>>. Acesso em: 10 Set. 2025.

JOHANSEN, D. A. **Plant Microtechnique**. New York: McGraw Hill Book, 1940.

KAPUSTA, I. et al. Triterpene saponins from barrel medic (*Medicago truncatula*) aerial parts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 2164–2170, 2005.

KARABALIEV, M.; KOCHEV, V. Interaction of solid supported thin lipid films with saponin. **Sensors and Actuators B**, v. 88, p. 101-105, 2003.

KALEGARI, M. et al. Phytochemical constituents and preliminary toxicity evaluation of leaves from *Rourea induta* Planch (*Connaraceae*). **Brazilian Journal Pharmaceutical Sciences**, v. 47, n. 3, p. 635-642, 2011.

KEW SCIENCE. Plants of the World Online | Kew Science. Disponível em: <<https://powo.science.kew.org>>. Acesso em: 30 de agosto. 2025.

KRYŽEVIČIŪTĒ, N.; KRAUJALIS, P.; VENSKUTONIS, P. R. Optimization of high-pressure extraction processes for the separation of raspberry pomace into lipophilic and hydrophilic fractions. *Journal of Supercritical Fluids*, v. 108, p. 61–68, 2016. DOI: 10.1016/j.supflu.2015.10.025.

KWAK, J. H.; KANG, M. W.; ROH, J. H.; CHOI, S. U. et al. Cytotoxic phenolic compounds from *Chionanthus retusus*. **Arch Pharmacol Res**, v. 32, p. 1681-1687, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12272-009-2203-0>.

KOLB K. L.; GOMES S.M.; LOMBARDI, J. A. Leaf anatomy as a taxonomy tool for the identification of Brazilian native species of *Chionanthus* (Oleaceae). **Flora**, v. 266, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.flora.2020.151590>, v.5, p. 311-316, 2013

KRAUS, J. E. et al. Astra blue and basic fuchsin double staining of plant materials". **Biotechnic and Histochemistry**, n. 73, v. 5, p. 235-43, 1998. DOI: <https://doi.org/https://doi.org/10.3109/10520299809141117>.

KUBLIK, H. et al. Nasal absorption of 17-β estradiol from different cyclodextrin inclusion formulations in sheep. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 42, p. 320-24, 1996.

KUNDISHORA, A.; SITHOLE, S.; MUKANGANYAMA, S. Determination of the Cytotoxic of Different Leaf Extracts from *Parinari curatellifolia* (*Chrysobalanaceae*). **Journal of Toxicology**, v. 28, p. 1–11, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1155/2020/8831545>.

LAWRENDIADIS, G. Contribution to the knowledge of the medicinal plants of Greece. **Planta Medica**, v. 9, p. 164–169, 1961. DOI: <https://doi.org/10.1055/s-0028-1100338>.

Lee, HS., Kim, EN., Jeong, GS, 2021. Aromadendrin Protects Neuronal Cells from Methamphetamine-Induced Neurotoxicity by Regulating Endoplasmic Reticulum Stress and PI3K/Akt/mTOR Signaling Pathway. **Int J Mol Sci.**, v. 22, p. 2274. <https://doi.org/10.3390/ijms22052274>.

LEE, Y.-G. Et al. Flavonoids from *Chionanthus retusus* (Oleaceae) flowers and their protective effects against glutamate-induced cell toxicity in HT22 cells. **International**

Journal of Molecular Sciences, v. 20, p. 3517, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms20143517> .

Lersten, N. R., & Horner, H. T. (2009). Crystal diversity and macropatterns in leaves of Oleaceae. **Plant Systematics and Evolution**, v. 282, 87-102. DOI:<https://doi.org/10.1007/s00606-009-0209-1>

LIEBERMAN, A. P.; SHAKKOTTAI, V. G.; ALBIN, R. L. Polyglutamine repeats in neurodegenerative diseases. **Annual Review of Pathology**, v. 14, p. 1–27, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev-pathmechdis-012418-012857>.

LOMBARDI, J.A. *Chionanthus chrysopetalus* (Oleaceae), a New Species from Peru. **Phytotaxa**, v. 311, p. 190, 2017. DOI:<https://doi.org/10.11646/phytotaxa.311.2.7>.

LOPEZ-CORONA, A.V. et al . Antioxidant, Anti-Inflammatory and Cytotoxic Activity of Phenolic Compound Family Extracted from Raspberries (*Rubus idaeus*): A General Review. **Antioxidants** 2022 11: 1192 DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox11061192>.

MABBERELEY, D. J. *Mabberley's Plant-Book: A Portable Dictionary of Plants, their Classification and Uses*. 4. ed. Cambridge: **Cambridge University Press**, 2017.
Mace ME, Howell CR (1974). Histochemistry and identification of condensed tannin precursor in roots of cotton seedlings. **Canadian Journal of Botany**, v. 52, p. 2423–2426.

MAGHRANI, M. et al. Antihypertensive activity of *Olea europaea* L. leaf extract in spontaneously hypertensive rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 95, n. 1, p. 125–130, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2004.06.013>.

MAGALHÃES, C. G. et al. *Maytenus salicifolia*: Triterpenes isolated from stems and antioxidant property of extracts from aerial parts. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 21, n. 3, p. 415–419, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102695X2011005000039> .

MALATHI, K. et al. Gc-ms analysis of bioactive compounds present in ethanolic stem bark extract of an endemic plant *Chionanthus mala-elengi* (dennst.) p.s. green (oleaceae). **Plant Arch**, v. 20, p. 1577-1582.

MEHMOOD, A. et al. In vitro total phenolics, total flavonoids, antioxidant and antibacterial activities of selected medicinal plants using different solvent systems. **BMC Chemistry**, v. 16, n. 1, p. 1–10, 2022. DOI:<https://doi.org/10.1186/s13065-022-00858-2>.

MELO, A. et al. Taninos: uma abordagem da química à ecologia / Tannins: from chemistry to ecology. **Química Nova**, v. 28, n. 5, p. 781–788, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422005000500029>.

MEYER, B. N. et al. Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. **Planta Medica**, v. 45, n. 1, p. 31–34, 1982. DOI: <https://doi.org/10.1055/s-2007-971236>.

MIGUEL, O. G. Ensaio sistemático de análise fitoquímica. **Apostila da disciplina de fitoquímica do curso de farmácia da UFPR**, Curitiba, 2003.

MIHAI, R. A. et al. Comparative Assessment of Antioxidant Activity and Functional Components of *Chionanthus virginicus* and *Chionanthus pubescens* from the Andean Region of Ecuador. **Pharmaceutics**, v. 15, p. 1676, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15061676>.

MOREIRA, E. A. Marcha sistemática de análise em fitoquímica. **Tribuna Farmacêutica**, v. 47, n. 1, p. 1-19, 1979.

MONCHAK, I. T. et al. Trichome microscopy as a diagnostic tool for species of the *Solidago* complex: *S. chilensis* and *S. microglossa*. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 66, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1590/1678-4324-ssbfar-2023230070>.

MUCHUWETI, M.; NDHLALA, A. R.; KASIYAMHURU, A. Estimativa do grau de polimerização de taninos condensados de algumas frutas silvestres do Zimbábue (*Uapaca kirkiana* e *Ziziphus mauritiana*) utilizando o método vanilina-HCl modificado. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 85, n. 9, p. 1474–1478, 2005.

NASCIMENTO, J. E. et al. Estudo fitoquímico e bioensaio toxicológico frente a larvas de *Artemia salina* Leach. de três espécies medicinais do gênero *Phyllanthus* (Phyllanthaceae). **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 29, n. 2, p. 145-150, 2008.

NIKAIDO, H. Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 67, n. 4, p. 593–656, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1128/MMBR.67.4.593-656.2003>.

NTUNGWE, N. E. et al. *Artemia* species: An important tool to screen general toxicity samples. **Current Pharmaceutical Design**, v. 26, n. 24, p. 2892–2908, 2020. DOI: <https://doi.org/10.2174/1381612826666200406083035>

O'BRIEN, T. P.; MCCULLY, M. E. The study of plant structure: principles and selected methods. **Melbourne**: Termarcarphi Pty. Ltd, 1981.

OLIVEIRA, V. B. et al. Quality control parameters of *Psychotria fractistipula* L. B. Sm., Klein & Delprete (Rubiaceae): loss on drying, total ash and phytochemical screening. **Visão Acadêmica**, v. 15, 2014. DOI: <https://doi.org/10.5380/acd.v15i4.40032>.

OLIVEIRA, O. W.; PETROVICK, P. R. Secagem por aspersão (spray drying) de extratos vegetais: bases e aplicações. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 4, p. 641–650, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2010000400026>.

OLIVEIRA, G. L. S. Determinação da capacidade antioxidante de produtos naturais in vitro pelo método do DPPH•: estudo de revisão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, p. 36–44, 2015.

PARRA, A. L. et al. Comparative study of the assay of *Artemia salina* L. and the estimate of the medium lethal dose (LD50 value) in mice, to determine oral acute toxicity of plant extracts. **Phytomedicine: International Journal of Phytotherapy and Phytopharmacology**, v. 8, n. 5, p. 395–400, 2001. DOI: <http://doi.org/10.1078/0944-7113-00044>.

PENMAN, K.; BONE, K.; LEHMANN, R. Fringe tree (*Chionanthus virginicus* L.) stem bark offers a sustainable alternative to root bark. **Australian Journal of Medical Herbalism**, v. 20, 2008.

PEARSE, A. G. E. Histochemistry: *theoretical and applied*. 3rd ed. **Baltimore: The Williams & Wilkins Company**, 1972.

PEI, W. et al. Isolation and identification of a novel anti-protein aggregation activity of lignin-carbohydrate complex from *Chionanthus retusus* leaves. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 8, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.573991>.

PRIETO, P.; PINEDA, M.; AGUILAR, M. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. **Analytical biochemistry**, v. 269, n. 2, p. 337-341, 1999.

PROSHKINA, E. et al. Terpenoids as potential geroprotectors. **Antioxidants**, v. 9, n. 6, p. 1–51, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox9060529>.

POWO. **Plantas do Mundo Online**. Facilitado pelos Jardins Botânicos Reais, Kew, 2025. Disponível em: <https://powo.science.kew.org/>. Acessado: 10 Set. 2025.

RAESKI, P. A. et al. Applications of calcium oxalate crystal microscopy in the characterization of *Baccharis articulata*. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 66, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1590/1678-4324-ssbfar-2023230078>.

RAO, T. A.; BHUPAL, O. P. Typology of sclereids. **Proceedings of the Indian Academy of Sciences**, v. 77, p. 41–55, 1973. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF03045552>.

RUSSIN, W. A., EVERT, R. F. Studies on the leaf of *Populus deltoides* (*Salicaceae*) – morphology and anatomy. **Am. J. Bot.** 71, 1398–1415, 1984.

SALGUEIRO, F. B. et al. Phenolic composition and antioxidant properties of Brazilian honeys. **Quimica Nova**, v. 37, p. 821-826, 2014.

SEUNG, D.; SMITH, A. M. Starch granule initiation and morphogenesis progress in *Arabidopsis* and cereals. *Journal of Experimental Botany*, v. 70, p. 771–784, 2019. DOI: [10.1093/jxb/ery412](https://doi.org/10.1093/jxb/ery412)

SILVA, E. R.; OVERBECK, G. E.; SOARES, G. L. G. Phytotoxicity of volatiles from fresh and dry leaves of two Asteraceae shrubs: Evaluation of seasonal effects.

South African Journal of Botany, v. 93, p. 14–18, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2014.03.006>.

SONG, J.; OAK, M.; HON, S. Morphological traits in an androdioecious species, *Chionanthus retusus* (Oleaceae). **Flora**, v. 223, p. 129–137, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.flora.2016.05.009>.

SŐUKAND, R.; HRYNEVICH, Y.; VASILYEVA, I.; PRAKOFJEWA, J. et al. Multifunctionality of the few: current and past uses of wild plants for food and healing in Liubań region, Belarus. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, v. 13, p. 10, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13002-017-0139-x>.

SOUZA-MOREIRA, T. M. et al. Flavonoids from *Plinia cauliflora* (Mart.) Kausel (Myrtaceae) with antifungal activity. **Natural Product Research**, v. 33, n. 17, p. 2579–2582, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2019.06.017>.

STEVENS, Y.; WINKENS, B.; JONKERS, D.; MASCLEE, A. The effect of olive leaf extract on cardiovascular health markers: a randomized placebo-controlled clinical trial. **European Journal of Nutrition**, v. 60, n. 4, p. 2111–2120, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00394-020-02397-9>.

SUN, B.; RICHARDSON, T.; FORD, J. Quantification of condensed tannins in plant materials using the vanillin–HCl method. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, p. 4277–4280, 1998.

SUREK, M. et al. Propolis authentication of stingless bees by mid-infrared spectroscopy and chemometric analysis. **LWT**, v. 161, p. 113370, 2022.

SVENDSEN, A. B.; VERPOORTE, R. Chromatography of alkaloids. New York: **Elsevier Scientific Publishing Company**, 1983 .

TEIXEIRA, M. D. R.; LOMBARDI, J. A.; OLIVEIRA, R. P.; GIULIETTI, A. M. Flora da Bahia: Oleaceae. **Revista Sitientibus série Ciências Biológicas (SCB)**, v. 16, 2016. DOI: <https://doi.org/10.13102/scb1090>.

THEOBALD, W. L.; KRAHULIK, J. L.; ROLLINS, R. C. Trichome description and classification. **Anatomy of the dicotyledons I. Oxford**: Clarendon Press, p. 40–53, 1980.

UGARTONDO, V.; MITJANS, M.; VINARDELL, M. Comparative antioxidant and cytotoxic effects of lignins from different sources. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 6683–6687, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.11.038>.

VALENTE, L. M. M. et al. Desenvolvimento e aplicação de metodologia por cromatografia em camada delgada para determinação do perfil de alcalóides oxindólicos pentacíclicos nas espécies sul-americanas do gênero *Uncaria*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, n. 2, p. 216–223, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2006000200015>.

VALLI, M.; BOLZANI, V. S. Natural products: Perspectives and challenges for use of

brazilian plant species in the bioeconomy. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 91, p. 1–7, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1590/0001-3765201920190208>.

VALLI, M.; RUSSO, H. M.; BOLZANI, V. DA S. The potential contribution of the natural products from Brazilian biodiversity to bioeconomy. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 90, n. 1, p. 763–778, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1590/0001-3765201820170653>.

VAUZOUR, D. et al. The neuroprotective potential of flavonoids: a multiplicity of effects. **Genes & Nutrition**, v. 3, p. 115–126, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12263-008-0091-4>

VÁSQUEZ-REYES, S. et al. Dietary bioactive compounds as modulators of mitochondrial function. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 96, n. 15, p. 1–18, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2021.108768>.

VEIGA, A. et al. Colorimetric microdilution assay: Validation of a standard method for determination of MIC, IC50%, and IC90% of antimicrobial compounds. **Journal of Microbiological Methods**, v. 162, p. 50–61, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2019.05.003>.

VENKATESWARARAO, S.; AYYARAJU, M.; KAMMAKSHAMMA, J. Phytochemical screening and antioxidant activity of bark extracts of *Chionanthus zeylanica* Linn., as an important medicinal plant in Eastern Ghats. **Journal of Medicinal Plants Studies**, v. 3, n. 2, p. 99–104, 2013.

VIDAL, B. C. Dichroism in collagen bundles stained with Xylidine-Ponceau 2R. **Annales d’Histochemie**, v. 15, p. 289–296, 1970.

VIEGAS, C.; BOLZANI, V. DA S.; BARREIRO, E. J. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Química Nova**, v. 29, n. 2, p. 326–337, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422006000200025>.

YU, J. et al Chemical compositions of seeds from *Chionanthus retusus*. **Chemistry of Natural Compounds**, v. 60, p. 723–725, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10600-024-04422-3>.

WAGNER, H.; BLADT, S. **Plant Drug Analysis: a Thin Layer Chromatography Atlas**. 2nd ed. Berlin: Springer Science & Business Media, 1996.

WALLANDER, E.; ALBERT, V. A. Phylogeny and classification of Oleaceae based on rps16 and trnL-F sequence data. **Am. J. Bot.**, v. 11, p. 1827–1841, 2000. DOI: <https://doi.org/10.2307/2656836>.

WANG, I. C.; CHEN, L. C.; CHANG, T. H.; CHEN, C. L. et al. New Coumarin and Bioactive Constituents of *Chionanthus retusus*. **Chem. Nat. Compd.**, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10600-021-03492-x>.

WANG, Z.; YANG, S.; GAO, Y.; HUANG, J. Extraction and purification of antioxidative flavonoids from *Chionanthus retusus* leaf. **Front. Bioeng. Biotechnol.**, v. 10, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.1085562>.

WAGNER, H.; BLADT, S. **Plant Drug Analysis**. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 1996.

WALTER, G. et al. High-throughput screen of natural product extracts in a yeast model of polyglutamine proteotoxicity. *Chemistry & Biodiversity Drug Design*, v. 83, p. 440–449, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1111/cbdd.12259> .

WENBO, Z.. et al. Traditional uses, phytochemistry and pharmacology of genus *Syringa*: A comprehensive review. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 266, p. 113465, 2021. DOI:<https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113465>

WFO. **Plant list** . Disponível em: <<https://wfoplantlist.org>>. Acesso em: 30 de agosto. 2025.

WOSCH, L. et al Comparative study of *Passiflora* taxa leaves: I. A morpho-anatomic profile. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 25, n. 4, p. 328–343, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2015.06.004>.

ZHANG, Q. W.; LIN, L. G.; YE, W. C. Techniques for extraction and isolation of natural products: A comprehensive review. **Chinese Medicine (United Kingdom)**, v. 13, n. 20, p. 1–26, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13020-018-0177-x>.

ZHAO, Q. Q. et al. Terpenoids with anti inflammatory activity from *Abies chensiensis*. **Fitoterapia**, Milano, v. 111, <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2016.04.002>.

ZUANAZZI, J. A. S.; MONTANHA, J. A. Flavonoides. In: SIMÕES, C. M. O.; et al. (Org.). **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 6.ed. Porto Alegre/Florianópolis.

ANEXO 1 – EXSICATA DE *Chionathus filiformis* (VELL) P.S. Gren



ANEXO 2 - ACESSO AO PATRIMÔNIO GENÉTICO



**Ministério do Meio Ambiente
CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO**

SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO

Comprovante de Cadastro de Acesso

Cadastro nº A5A3530

A atividade de acesso ao Patrimônio Genético, nos termos abaixo resumida, foi cadastrada no SisGen, em atendimento ao previsto na Lei nº 13.123/2015 e seus regulamentos.

Número do cadastro: **A5A3530**
 Usuário: **Universidade Federal do Paraná**
 CPF/CNPJ: **75.095.679/0001-49**
 Objeto do Acesso: **Patrimônio Genético**
 Finalidade do Acesso: **Pesquisa**

Espécie

Chionanthus filiformis

Título da Atividade: **Estudo fitoquímico e biológico de espécies do gênero Chionanthus**

Equipe

| | |
|---------------------------------------|---------------------------------------|
| Josiane de Fatima Gaspari Dias | Universidade Federal do Paraná |
| Obdulio Gomes Miguel | Universidade Federal do Paraná |
| Marilis Dallarmi Miguel | Universidade Federal do Paraná |
| Deise Prehs Montrucchio | Universidade Federal do Paraná |
| Alice do Carmo Kossoski Nalepa | Universidade Federal do Paraná |

Data do Cadastro: **18/06/2024 13:30:14**

Situação do Cadastro: **Concluído**

Conselho de Gestão do Patrimônio Genético
 Situação cadastral conforme consulta ao SisGen em 13:30 de 18/06/2024.



SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO
 DO PATRIMÔNIO GENÉTICO
 E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL
 ASSOCIADO - **SISGEN**

