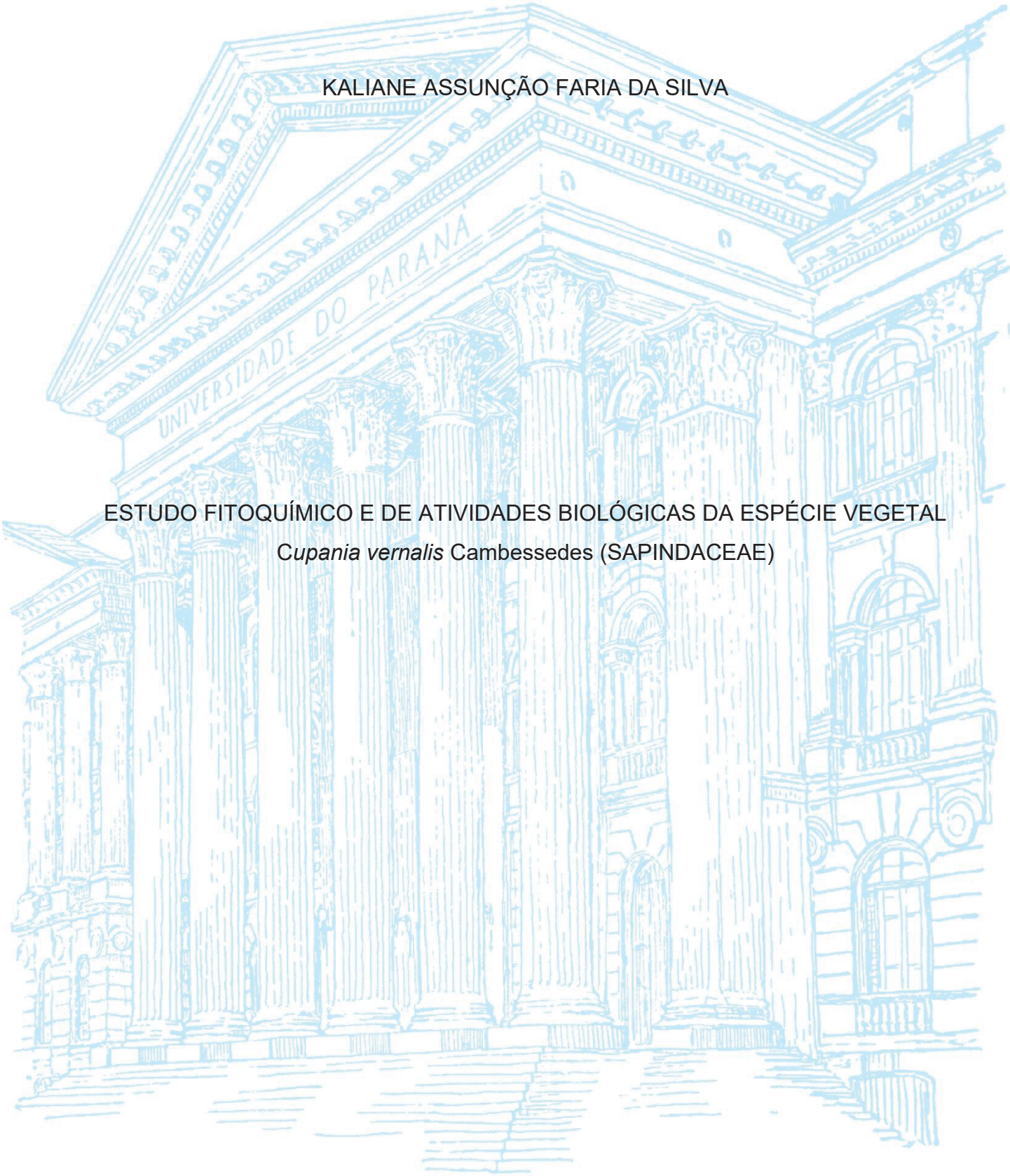
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

KALIANE ASSUNÇÃO FARIA DA SILVA



ESTUDO FITOQUÍMICO E DE ATIVIDADES BIOLÓGICAS DA ESPÉCIE VEGETAL *Cupania vernalis* Cambessedes (SAPINDACEAE)

CURITIBA

2023

KALIANE ASSUNÇÃO FARIA DA SILVA

ESTUDO FITOQUÍMICO E DE ATIVIDADES BIOLÓGICAS DA ESPÉCIE VEGETAL *Cupania vernalis* Cambessedes (SAPINDACEAE)

Dissertação apresentada ao Programa 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: Profª. Drª. Josiane de Fátima Gaspari Dias

CURITIBA

2023

Silva, Kaliane Assunção Faria da
Estudo fitoquímico e de atividades biológicas da espécie vegetal *Cupania vernalis* Cambessedes (Sapindaceae) [recurso eletrônico] / Kaliane Assunção Faria da Silva – Curitiba, 2023.
1 recurso online : PDF

Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, 2023.

Orientador: Profa. Dra. Josiane de Fátima Gaspari Dias

1. Sapindaceae. 2. Toxicidade. 3. Patente. I. Dias, Josiane de Fátima Gaspari. II. Universidade Federal do Paraná. III. Título.

CDD 583.75

Maria da Conceição Kury da Silva CRB 9/1275

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E 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 **KALIANE ASSUNÇÃO FARIA DA SILVA** intitulada: **ESTUDO FITOQUÍMICO E DE ATIVIDADES BIOLÓGICAS DA ESPÉCIE VEGETAL *Cupania vernalis* Cambessedes (SAPINDACEAE)**, 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, 10 de Novembro de 2023.

JOSIANE DE FÁTIMA GASPARI DIAS
Presidente da Banca Examinadora

LUCIANE DALARMI
Avaliador Externo (CENTRO DE ENSINO SUPERIOR DE MARINGÁ - CURITIBA)

MARILIS DALLARMI MIGUEL
Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

AGRADECIMENTOS

À Deus pela vida, proteção e permissão por mais esta conquista.

À minha mãe Sandra Maria Assunção, a meu pai Geraldo Faria da Silva que proporcionaram uma base sólida de família e ao apoio, incentivo, dedicação, compreensão, carinho e amor.

À minha avó Inês Assunção, pelo apoio incondicional a todas as minhas escolhas.

À minha filha Lauren, que por inúmeras vezes me acompanhou a universidade para conhecer o laboratório e entender o que faz um cientista.

À As Ervas Curam Indústria Farmacêutica e ao diretor técnico Aldo Dadalt pelo apoio, permissão e incentivo ao mestrado.

À Universidade Federal do Paraná e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas pela oportunidade e ao Departamento de Química – LaMIV.

A todos os funcionários e professores do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, que de diversas maneiras contribuíram para a realização deste trabalho.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001 pelo apoio no desenvolvimento desta pesquisa.

À minha orientadora Profª Dra. Josiane de Fátima Gaspari Dias pela dedicação, confiança, paciência, ensinamentos e amizade.

Ao Prof. Dr. Obdulio Gomes Miguel e Profª Dra. Marilis Dallarmi Miguel pelos ensinamentos, confiança e amizade.

A todos os colegas de mestrado e doutorado pelas contribuições e amizade.

A todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

Lembremo-nos de que o homem interior se renova sempre. A luta enriquece-o de experiência, a dor aprimora-lhe as emoções e o sacrifício tempera-lhe o caráter.

(CHICO XAVIER)

RESUMO

O objetivo desta pesquisa foi estudar a espécie vegetal *Cupania vernalis* Cambessedes, comumente chamada de 'camboatã vermelho', uma espécie nativa, mas não endêmica do Brasil, pouco estudada, membro da família Sapindaceae. A partir das partes aéreas desta espécie, coletada no campus Jardim Botânico da Universidade Federal do Paraná, preparou-se o extrato etanólico bruto e as frações com solventes de diferentes polaridades. O extrato bruto e as frações obtidas foram submetidas ao ensaio sistemático fitoquímico por CCD, bioensaio frente ao microcrustáceo *Artemia salina*, atividade hemolítica e estudo alelopático. Durante o fracionamento do extrato etanólico com solvente hexano, um precipitado cristalino se formou como subproduto da extração. Para fins de elucidação, os cristais foram separados e enviados para análise para determinar o grau de cristalinidade utilizando a técnica de DRXm. Tal técnica confirmou a presença de um ciclitól, caracterizado como L-quebrachitol, um produto natural não relatado anteriormente para esta espécie e que possui ação anti-inflamatória, antioxidante e neuroprotetora. Na busca por patentes contendo L-quebrachitol, foi verificado patentes registradas mundialmente, nas quais utilizam o L-quebrachitol como material de partida na síntese de novas moléculas e compostos biologicamente ativos devido a sua estrutura molecular opticamente ativa. Após avaliação dos resultados apresentados nos testes *in vitro* de atividade hemolítica e toxicidade frente a *Artemia salina*, foi observado que a espécie *Cupania vernalis* Cambess. não possui potencial tóxico. No estudo alelopático, foi evidenciado inibição do crescimento do hipocótilo e radícula das sementes da espécie alvo. Portanto, torna-se interessante dar continuidade ao isolamento de outros compostos e realizar novas atividades biológicas e farmacológicas para a espécie *Cupania vernalis*.

Palavras-chave: *Cupania;* L-quebrachitol; L-2-o-methyl-chiro-inositol; toxicidade; patentes.

ABSTRACT

The objective of this research was to study the plant species *Cupania vernalis* Cambessedes, commonly called 'red camboatã', a native species, but not endemic to Brazil, little studied, member of the Sapindaceae family. From the aerial parts of this species, collected at the Jardim Botânico campus of the Federal University of Paraná, the crude ethanolic extract and fractions with solvents of different polarities were prepared. The crude extract and fractions obtained were subjected to systematic phytochemical testing by CCD, bioassay against the microcrustacean *Artemia salina*, hemolytic activity and allelopathic study. During the fractionation of the ethanolic extract with hexane solvent, a crystalline precipitate formed as a by-product of the extraction. For elucidation purposes, the crystals were separated and sent for analysis to determine the degree of crystallinity using the mXRD technique. This technique confirmed the presence of a cyclitol, characterized as L-quebrachitol, a natural product not previously reported for this species and which has anti-inflammatory, antioxidant and neuroprotective actions. In the search for patents containing L-quebrachitol, patents registered worldwide were verified, in which they use L-quebrachitol as a starting material in the synthesis of new molecules and biologically active compounds due to its optically active molecular structure. After evaluating the results presented in in vitro tests of hemolytic activity and toxicity against *Artemia salina*, it was observed that the species *Cupania vernalis* Cambess. does not have toxic potential. In the allelopathic study, inhibition was evidenced only of the growth of the hypocotyl and radicle of the target species' seeds. Therefore, it is interesting to continue the isolation of other compounds and carry out new biological and pharmacological activities for the *Cupania vernalis* species.

Keywords: *Cupania*; L-quebrachitol; L-2-O-Methyl-chiro-inositol; toxicity; patents.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 - ESTRUTURA VERNANOLÍDEO 23
FIGURA 2 - FLUXOGRAMA DA PESQUISA COM AS PARTES AÉREAS DE *Cupania vernalis* 25
FIGURA 3 - EXSICATA E PARTES AÉREAS DA ESPÉCIE *Cupania vernalis* Cambess. 27
FIGURA 4 - EXTRATO ETANÓLICO BRUTO OBTIDO POR APARELHO DE SOXHLET MODIFICADO 30
FIGURA 5 - FRASCOS EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DAS AMOSTRAS UTILIZADAS NA ANÁLISE DE TOXICIDADE FRENTE A *Artemia salina*.....36
FIGURA 6 - TUBOS COM OS PADRÕES FITOQUÍMICOS UTILIZADOS NO TESTE DE HEMÓLISE.....38
FIGURA 7 - PRECIPITADO GERADO APÓS FRACIONAMENTO DO EXTRATO ETANÓLICO COM HEXANO.....44
FIGURA 8 – ESTRUTURA MOLECULAR 2-METIL-L-CHIRO-INOSITOL (L-QUEBRACHITOL) 46

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 - COMPARAÇÃO ENTRE O NÚMERO TOTAL DE PATENTES PUBLICADAS NA BASE DE DADOS ESPACENET SEM RESTRIÇÃO DE TEMPO (A) E NO PERÍODO DE 2013 A 2023 (B).49
GRÁFICO 2 - RELAÇÃO DO NÚMERO DE PATENTES DEPOSITADAS POR ANO NA BASE DE DADOS ESPACENET DURANTE O PERÍODO DE 2013 A 2023.....50
GRÁFICO 3 - RELAÇÃO DO NÚMERO DE PATENTES PUBLICADAS NA BASE ESPACENET DE ACORDO COM OS PAÍSES DEPOSITANTES DURANTE O PERÍODO DE 2013 A 2023 50
GRÁFICO 4 - RELAÇÃO DOS TIPOS DE DEPOSITANTES DAS PATENTES PUBLICADAS NA BASE ESPACENET DURANTE O PERÍODO DE 2013 A 2023 COM A PALAVRA-CHAVE L-QUEBRACHITOL.....51
GRÁFICO 5 - ATIVIDADE HEMOLÍTICA DO EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES DAS PARTES AÉREAS DA *Cupania vernalis*.....66
GRÁFICO 6 - INFLUÊNCIA DO EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES NO ÍNDICE DE VELOCIDADE DE GERMINAÇÃO DE *Lactuca sativa* L.....71
GRÁFICO 7 - INFLUÊNCIA DO EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES NO CRESCIMENTO DO HIPOCÓTILO DE *Lactuca sativa* L. 73
GRÁFICO 8 - INFLUÊNCIA DO EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES NO CRESCIMENTO DA RADÍCULA DE *Lactuca sativa* L.....74

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - DILUIÇÕES DAS AMOSTRAS PARA O ENSAIO DE *Artemia salina* ...35
TABELA 2 - DILUIÇÕES PARA O TESTE DE HEMÓLISE.....37
TABELA 3 - PROCEDIMENTO DO TESTE DE HEMÓLISE.....38
TABELA 4 - DILUIÇÕES DAS AMOSTRAS PARA O ESTUDO ALELOPÁTICO.....39
TABELA 5 - ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS DO MATERIAL VEGETAL 41
TABELA 6 – DETERMINAÇÃO DE CINZAS DO MATERIAL VEGETAL 42
TABELA 7 – TEOR DE SÓLIDOS TOTAIS NO EXTRATO BRUTO 43
TABELA 8 - RENDIMENTO DAS FRAÇÕES EXTRAÍDAS POR SOXHLET 43
TABELA 9 - DADOS CRISTALOGRÁFICOS DA CÉLULA UNITÁRIA OBTIDOS POR DRXm 45
TABELA 10 - TOXICIDADE DO EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES EM *Artemia salina* 64
TABELA 11 - AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE HEMOLÍTICA DO EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES DAS PARTES AÉREAS DE *Cupania vernalis* 65
TABELA 12 - INFLUÊNCIA DO EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES NO ÍNDICE DE VELOCIDADE DE GERMINAÇÃO (IVG) DE *Lactuca sativa* L. 70
TABELA 13 - INFLUÊNCIA DO EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES NO CRESCIMENTO DA RADÍCULA E HIPOCÓTILO DAS PLÂNTULAS DE *Lactuca sativa* L. 72

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 - CLASSIFICAÇÃO INFRAFAMILIAR DE SAPINDACEAE 18
QUADRO 2 - RELAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA/FARMACOLÓGICA REALIZADAS COM PLANTAS DO GÊNERO *Cupania* L. 21
QUADRO 3 - CHAVES DE IDENTIFICAÇÃO DE ESPÉCIES DO GÊNERO *Cupania* L. 22
QUADRO 4 - ENQUADRAMENTO TAXONÔMICO DA ESPÉCIE *Cupania vernalis* Cambess. 24
QUADRO 5 - FASES E ATIVIDADES PARA A BUSCA DE INFORMAÇÃO TECNOLÓGICA EM BASES DE PATENTES. 33
QUADRO 6 - COMPOSIÇÃO DOS SOLVENTES DAS FASES MÓVEIS E REVELADORES DA CCD E INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS PARA AS FRAÇÕES DE C*upania vernalis.* 34
QUADRO 7 - CONTROLES PARA O TESTE DE HEMÓLISE.....37
QUADRO 8 - RELAÇÃO DE PATENTES PUBLICADAS NO ESPACENET REFERENTES AO L-QUEBRACHITOL DURANTE O PERÍODO DE 2013 A 2023.....53
QUADRO 9 - ANÁLISE FITOQUÍMICA DAS FRAÇÕES PROVENIENTES DO EXTRATO ETANÓLICO DE *Cupania vernalis*.....62

LISTA DE ABREVIATURAS OU SIGLAS

EB	- Extrato bruto
FH	- Fração hexano
FAE	- Fração acetato de etila
FC	- Fração clorofórmio
FR	- Fração remanescente
UV	- Ultravioleta
PC	- Precipitado cristalino
H_2O	- Água
CCD	- Cromatografia em camada delgada
CCDC	- Cambridge crystallografic data centre
DRXm	- Difratometria de raio X de monocristal
DCM	- Diclorometano
PEG	- Polietilenoglicol
IVG	- Índice de velocidade de germinação
SAP	- Saponina
RUT	- Rutina
CL_{50}	- Concentração letal 50%
DMSO	- Dimetilsulfóxido
PBS	- Tampão fosfato salina
rpm	- Rotação por minuto
ppm	- Partes por milhão
nm	- Nanômetros
ml	- Mililitros
µl	- Microlitros
µg	- Microgramas
mm	- Milímetros
cm	- Centímetros
g	- Gramas

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 15
1.1 OBJETIVOS 17
1.1.1. Objetivo geral 17
1.1.2. Objetivos específicos 17
2 . REVISÃO DE LITERATURA 18
2.1 FAMÍLIA SAPINDACEAE 18
2.2 GÊNERO *Cupania* L. 20
2.3 ESPÉCIE *Cupania Vernalis* Cambessedes 22
2.3.1. Enquadramento taxonômico de Cu*pania vernalis* Cambess. 24
3 MATERIAL E MÉTODOS 25
3.1 FLUXOGRAMA DA PESQUISA 25
3.2 CLASSIFICAÇÃO DO TIPO DA PESQUISA 26
3.3 MATERIAL VEGETAL 26
3.3.1. Coleta, identificação e exsicata 26
3.3.2. Cadastro SisGen 26
3.3.3. Análises físico-químicas 27
3.4 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS E FRAÇÕES 29
3.4.1. Extrato etanólico bruto 29
3.4.2. Determinação do teor de sólidos 30
3.4.3. Sistema de partição líquido/liquido 31
3.4.4. Difratometria de raio X de monocristal (DRXm) 31
3.4.5. Levantamento de patentes de L-quebrachitol com aplicação clínica 32
3.5 PERFIL FITOQUÍMICO POR CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA 33
3.6 ESTUDOS DAS ATIVIDADES BIOLÓGICAS 34
3.6.1. Ensaios de toxicidade *in vitro* 34
3.6.1.1. Análise da atividade sobre *Artemia salina* 35
3.6.1.2. Atividade hemolítica *in vitro* 36
3.6.2. Potencial alelopático 39
3.6.2.1. Germinação 39
3.6.2.2. Crescimento 40
3.6.2.3. Análise estatística 40
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES 41

4.1 ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS 41
4.1.1 Perda por dessecação.....41
4.1.2 Determinação de cinzas totais 42
4.1.3 Teor de sólidos e rendimento do extrato e frações de *Cupania vernalis* 42
4.2 IDENTIFICAÇÃO DA ESTRUTURA CRISTALINA.....44
4.2.1. Patentes de L-quebrachitol.....48
4.2.2. Patentes nacionais de L-quebrachitol.....60
4.3 PERFIL FITOQUÍMICO POR CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA 61
4.4 ESTUDO DAS ATIVIDADES BIOLÓGICAS.....63
4.4.1. Atividade frente *Artemia salina* 63
4.4.2. Atividade hemolítica *in vitro* 64
4.4.3. Potencial alelopático.....68
5 CONCLUSÕES 77
REFERÊNCIAS.....78

1 INTRODUÇÃO

As plantas são utilizadas medicinalmente a milhares de anos por culturas de todo o mundo. O uso surge de forma independente em grande parte dos povos, fazendo parte da evolução humana, sendo o primeiro recurso terapêutico a ser utilizado (BARNES; ANDERSON; PHILLIPSON, 2007).

De acordo com Organização Mundial da Saúde, 80% da população mundial utiliza remédios à base de plantas como principal forma de manutenção da saúde (BARNES; ANDERSON; PHILLIPSON, 2007). Uma parte significativa do mercado de consumo está convencida de que os produtos naturais estão associados à segurança e à saúde, enquanto os produtos sintéticos estão ligados a efeitos secundários indesejáveis (MOREIRA et al., 2006).

Os tratamentos com plantas estão no centro de muitos dos diversos sistemas médicos do mundo, formando a base da medicina moderna e muitos dos compostos farmacêuticos e medicinais são derivados de fontes naturais (HEINRICH et al., 2012). O emprego correto das plantas para fins terapêuticos pela população em geral, requer o uso de plantas selecionadas por sua eficácia e segurança terapêutica, pois, podem ser uma fonte de exposição a elementos tóxicos, dependendo da sua origem (BRIMA, 2017).

A toxicidade de medicamentos preparados com plantas pode parecer insignificante quando comparada com os medicamentos sintéticos, entretanto é um problema preocupante à saúde pública (BALBINO; DIAS, 2010) .

As plantas medicinais são ferramentas importantes para a pesquisa farmacológica e o desenvolvimento de novos fármacos, não apenas quando os constituintes vegetais são utilizados diretamente como agentes terapêuticos, mas também como materiais de partida para a síntese de medicamentos ou como modelos para compostos farmacologicamente ativos (WHO, 1998). Vale ressaltar que muitas plantas que não são consideradas medicinais podem ser fontes de novas moléculas biologicamente ativas, se exploradas dentro de um programa adequado voltado para a pesquisa e desenvolvimento (P&D) e produção de novos fármacos (BARATA; SALLES-FILHO; QUEIROZ, 1998)

A validação de novos fármacos de origem vegetal por meio de pesquisa, a fim de garantir sua eficácia e segurança, seria o caminho para obtenção de um melhor aproveitamento das plantas medicinais e seus derivados, de forma que seu uso seja

fundamentado em evidências experimentais que comprovem o risco-benefício e que possam ser aplicados na fitoterapia (EMILIANO; BALLIANO, 2019).

A segurança e tudo o que ela implica são as principais preocupações para qualquer pessoa envolvida nos cuidados de saúde. Qualquer discussão significativa sobre segurança, risco e toxicidade devem levar em conta a farmacologia, epidemiologia e estatística, bem como em questões de percepção (HOFFMANN, 1951).

O foco da comunidade de pesquisa em produtos naturais, no entanto, raramente está nos protocolos usados na fitoterapia, mas sim nas próprias plantas como fontes de estruturas químicas novas e, portanto, patenteáveis (HOFFMANN, 1951).

Dentre os setores que patenteiam inovações, destaca-se o setor farmacêutico, pelo alto investimento em pesquisa e desenvolvimento. A indústria farmacêutica é uma das que mais geram patentes atualmente, principalmente no Brasil, sendo considerado um dos setores que mais inovam (DE LIMA, 2011).

É preciso ressaltar que a biodiversidade brasileira e a consequente composição química diversificada das espécies vegetais, não é conhecida com precisão tal a sua complexidade. A sinergia entre os fitoquímicos pode potencializar seus efeitos benéficos proporcionando vantagens sobre os tratamentos baseados em fármacos sintetizados quimicamente (MONTEIRO-ALFREDO et al., 2023).

Cupania vernalis Camb., conhecida como "camboatã", "arco de pipa" ou "arco de peneira", é uma árvore semidecídua, de 10 a 22 metros de altura, pertencente à família Sapindaceae, que cresce de Minas Gerais ao Rio Grande do Sul, principalmente no Cerrado e mata de galeria. Várias investigações científicas revelaram que vários tipos de extratos desta espécie têm potencial bioativo contra diversas patologias, com ação diurética, expectorante, sedativa e dermatites. (KESHARWANI; GAJBHIYE, 2023)

A escolha do tema do projeto foi baseada no interesse e necessidade de pesquisas sobre plantas nativas, principalmente aquelas pouco estudadas.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1. Objetivo geral

Realizar o estudo fitoquímico e de atividades biológicas das partes aéreas da espécie *Cupania vernalis* Cambessedes (Sapindaceae).

1.1.2. Objetivos específicos

- ✓ Coletar e identificar as partes aéreas da espécie em estudo;
- ✓ Cadastrar a pesquisa no SisGen;
- ✓ Determinar a perda por dessecação e cinzas totais;
- ✓ Obter o extrato etanólico bruto e frações hexano, clorofórmio, acetato de etila e remanescente;
- ✓ Realizar análise fitoquímica preliminar;
- ✓ Isolar e identificar composto;
- ✓ Realizar o levantamento de patentes da estrutura isolada;
- ✓ Investigar a toxicidade preliminar frente a *Artemia salina*;
- ✓ Investigar a atividade hemolítica;
- ✓ Avaliar o potencial alelopático.

2 . REVISÃO DE LITERATURA

2.1 FAMÍLIA SAPINDACEAE

A família Sapindaceae pertence a ordem Sapindales, contida na subclasse Rosidae, classe Magnoliopsida, da divisão Magnoliophyta (GUARIM NETO; SANTANA, 2000). Radlkofer (1931–1934) considera duas subfamílias, Eusapindaceae e Dyssapindaceae, 4 subséries, 14 tribos e 4 subtribos (ROSADO, 2011).

Desde a obra seminal de Radlkofer, vários autores têm tentado superar os desafios apresentados pela complexa classificação infrafamiliar da família. O estudo sobre a classificação taxonômica da família, realizado por Buerki et al. (2021), a classificação infrafamiliar de Sapindaceae do quadro 1 segue a sequência dos clados recuperados nas análises filogenéticas. Quatro subfamílias são reconhecidas juntamente com 20 tribos distribuídas da seguinte forma: duas tribos em Hippocastanoideae, 2 em Dodonaeoideae e 16 em Sapindoideae; nenhuma tribo é reconhecida na subfamília monotípica Xanthoceratoideae (BUERKI et al., 2021).

QUADRO 1 - CLASSIFICAÇÃO INFRAFAMILIAR DE SAPINDACEAE

Taxonomia Sapindaceae	
Reino	Plantae
Clade	Traqueófitas
Clade	Angiospérmicas
Clade	Eudicotiledôneas
Clade	Rosídeos
Ordem	Sapindales
Família	Sapindaceae Juss.
Subfamílias	Dodonaeoideae
	Hippocastanoideae
	Sapindoideae
	Xanthoceratoideae

FONTE: Adaptado de (BUERKI et al., 2021).

A família Sapindaceae está constituída por representantes que se apresentam com diferentes formas de vida, englobando desde as trepadeiras, como em *Serjania*

Miller, *Paullinia* L., até as altas árvores, como em *Talisia* Aublet e *Cupania* L. (GUARIM NETO; SANTANA, 2000)

Mais de 80% da diversidade genérica está restrita aos ecossistemas tropicais e subtropicais do Hemisfério Sul (BUERKI et al., 2021). Cosmopolita, a família supracitada tem uma ampla distribuição, constituída globalmente por cerca de 200 gêneros e 2.000 espécies (GUARIM NETO; SANTANA, 2000) .

Foi descrita por Antoine Laurent de Jussieu em 1789 e os primeiros estudos florístico-taxonômicos envolvendo espécies de Sapindaceae no Brasil foram realizados no século XVII por Piso e Marcgrave (1648), seguidos por Cambess. (1824), na *Flora Brasiliae Meridionalis* e por Radlkofer (1892–1900), na *Flora Brasiliensis* (PEREIRA, 2014).

No Brasil há 25 gêneros e cerca de 411 espécies. Tem distribuição predominantemente pantropical, embora alguns táxons ocorram em áreas temperadas (BUERKI et al., 2021). A maior diversidade dentro do grupo ocorre nas áreas de Mata Atlântica e Amazônica, biomas conhecidos pela alta riqueza de espécies e altas taxas de endemismo das angiospermas (BELLONZI et al., 2020).

Árvores, arbustos, lianas com gavinhas ou trepadeiras, os caules das espécies de lianas geralmente apresentam cilindros vasculares múltiplos e muitas vezes com presença de látex branco (SPRENGEL-LIMA; REZENDE, 2013). Apresentam algumas sinapomorfias químicas (aminoácidos de ciclopropano) e moleculares (baseadas nos genes rbcL e matK) que reforçam sua monofilia (JUDD et al., 2008).

Algumas espécies são polinizadas pelo vento e outras por aves e mamíferos, como o gênero *Cupania* L*.,* que apresentam cápsulas que contrastam em cor com as sementes (LIMA JR et al., 2006).

A polpa dos frutos, folhas e sementes, de muitos gêneros pertencentes a família, são ricos em vitaminas e minerais, proporcionando vários benefícios no combate à subnutrição e à pobreza na África Ocidental (ADEYEMI; OGUNDIPE; OLOWOKUDEJO, 2012).

A família possui muitas espécies economicamente importantes, em que suas frutas são utilizadas, como por exemplo, o guaraná, longan, pitomba e rambutan (BUERKI, 2021). Mais de 50 espécies de Sapindaceae são utilizadas pelo homem com finalidades econômicas, sendo estas aplicadas na construção civil, indústria madeireira, alimentícia, farmacêutica e de biocombustíveis, sendo os principais gêneros com aplicação econômica *Talisia, Cupania e Paullinia* (NETO; SANTANA;

SILVA, 2000).

Talisia e Cupania, por serem predominantemente arbóreas, são utilizadas pela indústria madeireira. Outros representantes da família são utilizados como ornamentais a exemplo de *Allophylus, Cardiospermum e Matayba*. Ainda, o gênero *Paullinia* apresenta potencial na indústria farmacêutica, indústria alimentícia para fabricação de sucos e refrigerantes e propriedades ictiotóxicas (PEREIRA, 2014).

Muitas espécies pertencentes a esta família apresentam atividades biológicas e farmacológicas (SOFIDIYA, 2012). São utilizadas na medicina tradicional como diuréticas, estimulantes, expectorantes, sedativas, vermífugas, em dermatites e dores estomacais, em diversas regiões do mundo (SOUZA, 2006).

Informações etnofarmacológicas revelaram que extratos de membros desta família são comumente usados para o tratamento de furúnculos, úlceras, problemas dermatológicos, cicatrização de feridas e diarreia (SOFIDIYA, 2012).

A investigação química desta família levou ao isolamento de saponinas, diterpenos, flavonoides, entre outros metabólitos secundários (CAVALCANTI et al., 2001). Foram isolados de espécies da família Sapindaceae saponinas do ácido oleanólico e derivados, com ação hemolítica e ictiotóxica e a presença de taninos, justificando seu uso secundário contra infecções intestinais (MAZZA et al., 2000).

A ação antioxidante, antidiabética e anti-inflamatória são atribuídas aos compostos fenólicos encontrados em muitas espécies da família e a presença de cianolipídios tóxicos nas sementes, metabólitos característicos apenas das Sapindaceaes, apresentam forte atividade inseticida e larvicida, e tem sido investigada como fonte para o desenvolvimento de pesticidas (DIAS; ROSSINI, 2012).

2.2 GÊNERO *Cupania* L.

O gênero foi relatado pela primeira vez por Lineu (1754) no *Genera Plantarum* (IPNI, 2023). É um dos vários gêneros pertencentes à tribo *Cupanieae* nas Sapindaceaes. O estado do conhecimento sobre a *Cupania* L. indica que o principal centro de distribuição está no Brasil com 27 espécies (SOMNER; FERRUCCI, 2004).

O quadro 2 demonstra as atividades biológicas e farmacológicas descritas na literatura para as espécies do gênero *Cupania* L.

QUADRO 2 - RELAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA/FARMACOLÓGICA REALIZADAS COM PLANTAS DO GÊNERO *Cupania* L.

Espécie	**Atividade biológica/ farmacológica**	**Parte utilizada**	**Solvente**	**Referências**
Cupania cinerea Poepp.	Antiparasitária Antimalárica	Casca	Extrato hexânico	GACHET et al., 2011
Cupania dentata Moc. & Sessé ex DC.	Giardicida	Casca	Extrato metanólico e frações	CALZADA; BAUTISTA, 2020
	Antidiarreica	Folhas	Água (Infusão)	ZAMORA-MARTINEZ; POLA, 1992
Cupania glabra SW.	Citotoxicidade Antimicrobiana Antifúngica	Casca e caule	Extrato bruto de diclorometano	SETZER et al., 2005
Cupania vernalis Cambess.	Anti-inflamatória	Folhas	Extrato etanólico	NAPOLITANO et al., 2005
	Antitumoral	Folhas	Extrato hexânico	(DE MESQUITA et al., 2009)
	Antioxidante	Folhas	Extrato bruto hidroalcóolico e fração n-butanol	SOBOTTKA et al., 2021
	Antimalárica/ Antiplasmodial	Folhas	Extrato hexânico	DE MESQUITA et al., 2007
	Antifúngica	Casca	Extrato bruto clorofórmico	CAVALCANTI et al., 2001b
	Leishmanicida	Folhas	Extrato hexânico	GACHET et al., 2011
Cupania scrobitulata Rich.	Larvicida	Frutos	Fração acetato de etila	FALKOWSKI et al., 2020
Cupania platycarpa Radlk.	Antitussígena	Casca e caule	Extrato etanólico	LIMA et al., 2006
Cupania oblongifolia Mart.	Antitussígena	Caule e folhas	Extrato etanólico	

FONTE: Autora (2021).

As espécies de Sapindaceae são de difícil identificação, sendo o fruto uma característica importante na definição de gêneros e espécies (BUERKI et al., 2009).

O quadro 3 demonstra as chaves para identificação das espécies do gênero *Cupania* L.

QUADRO 3 - CHAVES DE IDENTIFICAÇÃO DE ESPÉCIES DO GÊNERO *Cupania* L.

Chave	Espécie
1. Ovário 2-carpelar; cápsula obtriagular; achatada lateralmente.	*Cupania ludowigii* Somner & Ferrucci
1. Ovário 3-carpelar; cápsula trígona, obovóide, piriforme, turbinada ou trígono-subclavada.	
2. Cápsula trígono-piriforme, epicarpo com lenticelas esbranquiçadas.	*Cupania oblongifolia* Mart.
2. Cápsula trígona, obovoide, turbinada ou subclavada, epicarpo sem lenticelas esbranquiçadas.	
3. Folíolos com margem inciso-denteada; dentes conspícuos; cápsula ferrugíneo-tomentosa.	*Cupania furfuracea* Radlk.
3. Folíolos com margem denteado-serrada ou repando-denteada; cápsula nunca ferrugínea-tomentosa.	
4. Cápsula com epicarpo tuberculado-rugoso; tricomas amarelo-ocráceos; domácias pilosas ou em forma de bolsa.	*Cupania vernalis* Cambess.
4. Cápsula nunca com epicarpo tuberculado-rugoso, glabro ou quando piloso sem tricomas amarelo-ocráceos; domácias quando presentes foveoladas.	
5. Cápsula cartácea, avermelhada.	*Cupania tenuivalvis* Radlk.
5. Cápsula coriácea ou sublenhosa, negra ou castanha.	
6. Cápsula trígono-subclavada, sublenhosa, negra, epicarpo glabrescente.	*Cupania zanthoxyloides* Cambess.
6. Cápsula trígono-obovoide, 3-lobada, coriácea, castanha, epicarpo pubérulo ou pubescente.	
7. Folíolos planos, face adaxial brilhante, glabra; endocarpo viloso.	*Cupania concolor* Radlk.
7. Folíolos bulados, face adaxial opaca, pubescente apenas nas nervuras principais; endocarpo com tricomas crespos.	*Cupania bracteosa* Radlk.

FONTE: Adaptado de Wanderley et al. (2009).

2.3 Espécie *Cupania vernalis* Cambessedes

O nome genérico *Cupania* foi dado em homenagem ao monge e botânico italiano Francesco Cupani (1657 – 1710), diretor do Jardim Botânico do Príncipe *Della Católica* (Sicília, Itália) e autor de *Hortus Catholicus* e de outros trabalhos botânicos; o epíteto específico vernalis vem do latim *vernalis* (vernal), relativo à primavera (CARVALHO, 2006).

Cupania vernalis Cambessedes (Sapindaceae), conhecida popularmente como camboatá-vermelho, é uma espécie arbórea perenifólia nativa, mas não endêmica no Brasil, que atinge até 25 m de altura e 80 cm de diâmetro (BOSCARDIN et al., 2012).

Pode ser encontrada no Paraná, Rio de Janeiro, São Paulo, Goiás, Mato Grosso, Paraíba, Bahia, Maranhão, Minas Gerais, Espírito Santo e Santa Catarina (NETO; SANTANA; SILVA, 2000).

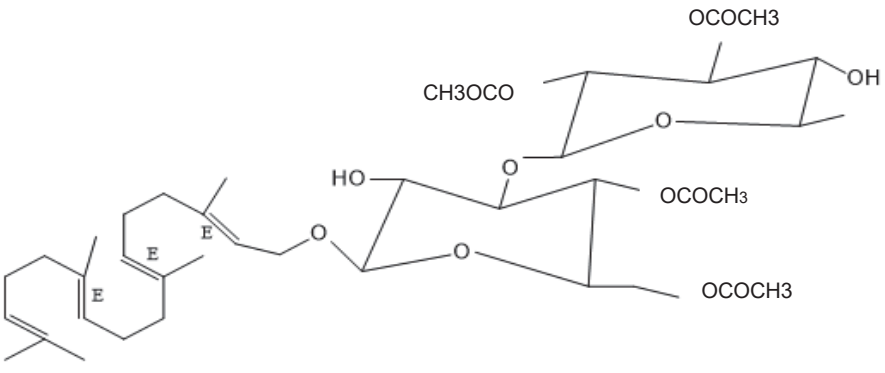
As sinonímias da espécie são *Cupania clethrodes* Martius, *Cupania uraguensis* Hooker & Arnott, *Cupania bangii* F.A. Barkley e *Stadmannia sorbifolia* Linden (WFO, 2023).

Popularmente é conhecida como camboatá, camboatã, camboatã-vermelho, cuvantã, cubantã, cragoatã (SP), guarantã, Miguel-pintado (SC), arco-de-pipa, arco-de-peneira, pau-de-cantil, jaguá-ratai (LORENZI, 1992) e ainda rabo-de-bugio e arco-de-barril (WANDERLEY et al., 2009).

Possui atividade antifúngica, em que o extrato clorofórmico bruto demonstrou ser ativo contra cepas mutantes de *Saccharomyces cerevisiae* (CAVALCANTI et al., 2001); anti-inflamatória, em que o extrato etanólico das folhas inibiram a produção de óxido nítrico em macrófagos *in vitro*, um importante mediador inflamatório (NAPOLITANO et al., 2005); atividade antimalárica e antiplasmodial identificada no extrato hexânico das folhas da espécie (MESQUITA et al., 2007) e atividade leishmanicida a partir do extrato hexânico das folhas de *Cupania vernalis*, atribuída a citotoxicidade geral dos glicosídeos diterpênicos presentes na planta (GACHET et al., 2011).

Em relação à composição química, foi isolado do caule de *Cupania vernalis* um composto denominado vernanólideo (Figura 1). A estrutura foi determinada por técnicas espectrométricas, incluindo RMN mono e bidimensionais. Além disso, foram obtidas misturas de sitosterol, estigmasterol, 3-β-D-glucosilsitosterol, 3-β-D-glucosilestigmasterol e cumarina escopoletina, esta última responsável pela atividade moderada contra as cepas mutantes de *Saccharomyces cerevisiae* (CAVALCANTI et al., 2001).

FIGURA 1 - ESTRUTURA VERNANOLÍDEO



FONTE: Adaptado de Cavalcanti et al. (2001), utilizando o software KnowitAll (2023).

2.3.1. Enquadramento taxonômico de Cu*pania vernalis* Cambess.

O enquadramento taxonômico da espécie *Cupania vernalis* Cambess. está demostrado no quadro 4.

QUADRO 4 - ENQUADRAMENTO TAXONÔMICO DA ESPÉCIE *Cupania vernalis* Cambess.

TAXONOMIA DE *Cupania vernalis* Cambess.	
Reino	Plantae
Divisão	Magnoliophyta
Classe	Equisetopsida C. Agardh
Subclasse	Magnoliidae Novák ex Takht.
Super ordem	Rosanae Takht.
Ordem	Sapindales Juss. ex Bercht. & J. Presl
Família	Sapindaceae Juss.
Subfamília	Sapindoideae Burnett
Gênero	*Cupania* L.
Espécie	*Cupania vernalis* Cambessedes

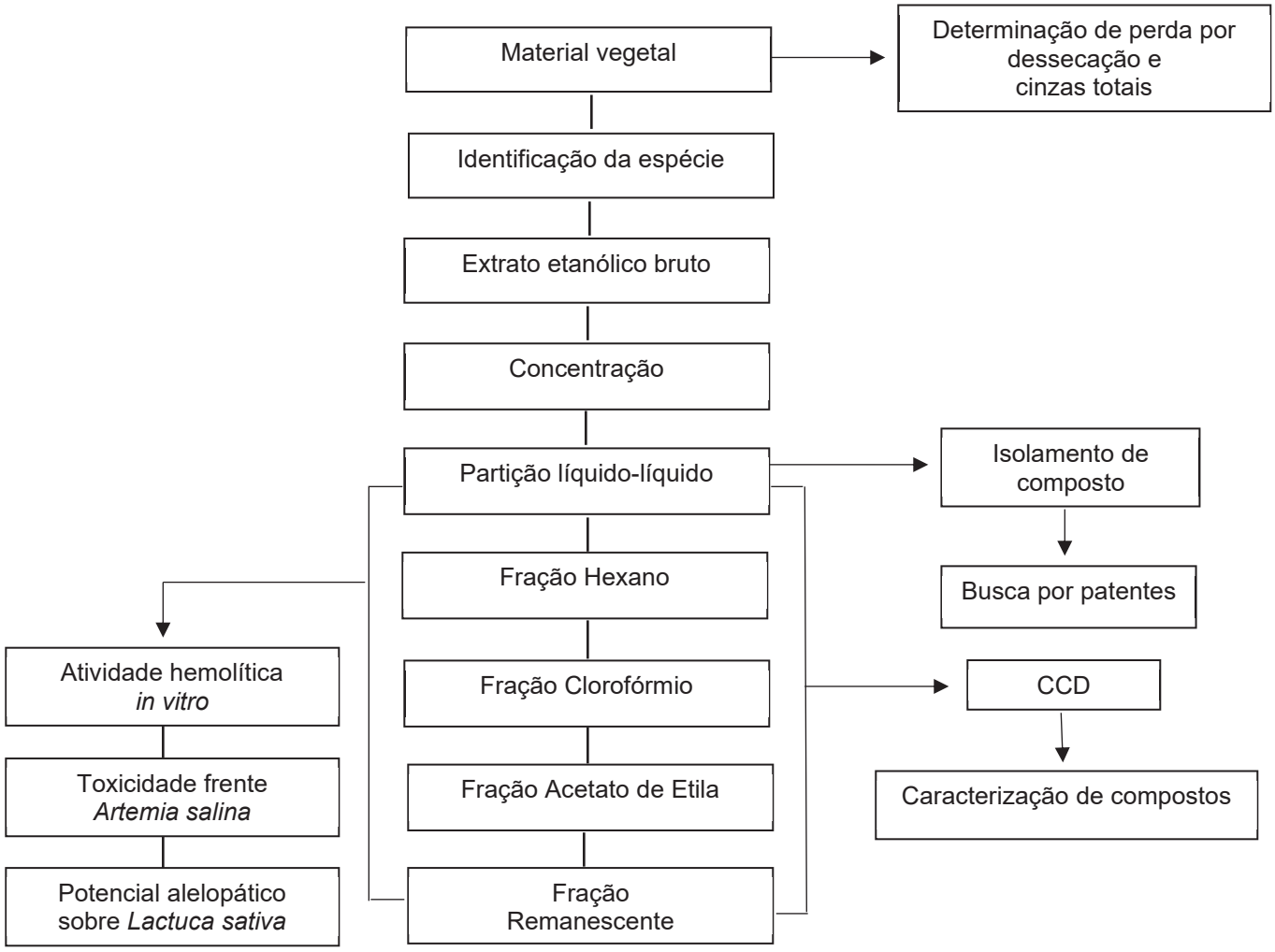
FONTE: Adaptado de Tropicos.org Missouri Botanical Garden (2021).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 FLUXOGRAMA DA PESQUISA

A figura 2 apresenta o fluxograma geral da metodologia de obtenção e atividades biológicas dos extratos e frações da espécie *Cupania vernalis* Cambessedes.

FIGURA 2 - FLUXOGRAMA DA PESQUISA COM AS PARTES AÉREAS DE *Cupania vernalis*



FONTE: A Autora (2022).

3.2 CLASSIFICAÇÃO DO TIPO DA PESQUISA

A pesquisa realizada é do tipo experimental e exploratória, por possuir fins práticos, envolvendo a investigação de compostos químicos e de atividades biológicas da espécie *Cupania vernalis Cambessedes*. Essa pesquisa também envolveu revisão de literatura para a fundamentação teórica. Para a análise dos dados obtidos a pesquisa foi qualitativa e quantitativa.

3.3 MATERIAL VEGETAL

3.3.1. Coleta, identificação e exsicata

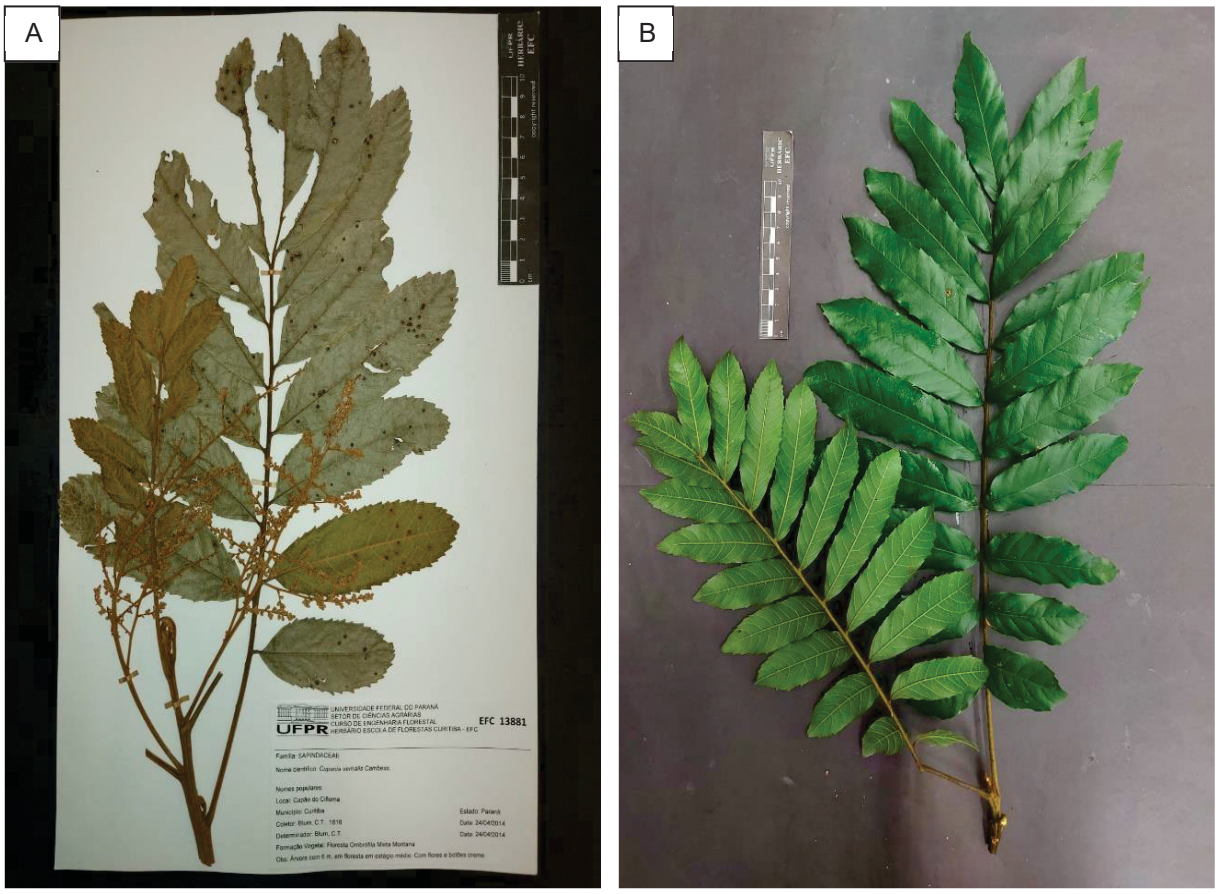
O material vegetal foi coletado no Capão do Cifloma, localizado na Universidade Federal do Paraná, campus Jardim Botânico no mês de agosto de 2021. A identificação botânica da espécie foi realizada por comparação com a exsicata registrada sob o número 13881 de *Cupania vernaliss* Cambess. do Herbário Escola de Florestas Curitiba – EFC, no setor de Ciências Agrárias da UFPR.

A figura 3 apresenta a exsicata depositada no local e as partes aéreas da espécie vegetal *Cupania vernalis* Cambessedes coletada e utilizada no estudo.

3.3.2. Cadastro SisGen

O acesso ao patrimônio genético da espécie vegetal *Cupania vernalis* possui cadastro no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen) sob o n° A0A1FD4.

FIGURA 3 - EXSICATA E PARTES AÉREAS DA ESPÉCIE *Cupania vernalis* Cambess.



FONTE: A Autora (2021).
NOTA: (A) exsicata registrada sob o número 13881 de *Cupania vernalis* Cambess. do Herbário Escola de Florestas Curitiba – EFC, no setor de Ciências Agrárias da UFPR; (B) material vegetal coletado no Capão do Cifloma, localizado na Universidade Federal do Paraná, campus Jardim Botânico.

3.3.3. Análises físico-químicas

As partes aéreas foram colocadas para secagem em temperatura ambiente e posteriormente rasuradas, em moinho de facas e martelos. Foram realizadas as análises de perda por dessecação e cinzas totais no vegetal rasurado.

3.3.3.1 Perda por dessecação

Para determinação de perda por dessecação das partes aéreas da espécie vegetal estudada, foi escolhida a metodologia para a determinação de água em vegetais, descrita na Farmacopéia Brasileira 6ª edição (BRASIL, 2019a), com algumas adaptações. O procedimento foi realizado em triplicata, pesando-se 2 g da

planta rasurada, acondicionada em uma placa de Petri previamente dessecada nas mesmas condições a serem adotadas para a amostra, durante 30 minutos.

O conjunto foi levado à estufa de circulação forçada de ar (100-105) °C, por cinco horas. Os cadinhos foram depositados em dessecador até resfriamento completo e procedeu-se à pesagem novamente. O teor de umidade foi determinado a partir da diferença (em massa) entre a umidade do material estabilizado e a umidade do material seco em estufa, conforme demonstrado na fórmula 1, caracterizando a perda por umidade.

FÓRMULA 1 - CÁLCULO PARA DETERMINAÇÃO DE PERCENTUAL DE PERDA POR DESSECAÇÃO

$$\textbf{(\%) de água} = \frac{\textbf{(P amostra + P placa de Petri) - (P amostra dessecada + P placa de Petri) x 100}}{\textbf{P amostra}}$$

Em que:

P = massa

% = porcentagem de água presente na espécie vegetal

FONTE: Farmacopéia Brasileira 6ª edição (2019).

3.3.3.2 Cinzas totais

Para determinação das cinzas totais, foi utilizada a metodologia, presente na Farmacopéia Brasileira 6ª edição (BRASIL, 2019a).

O material residual da etapa de determinação de perda por dessecação foi utilizado como ponto de partida. Os cadinhos recém pesados foram inseridos em mufla, com aumento de temperatura gradativo, sem ultrapassar a temperatura de 600 °C, para que todo o material fosse incinerado (aproximadamente 2 horas), tornando-se cinzas.

Após o resfriamento em dessecador, o conjunto foi pesado. A análise foi realizada em triplicata e o resultado foi calculado em porcentagem de cinzas em relação ao material vegetal original seco à temperatura ambiente.

3.4 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS E FRAÇÕES

3.4.1. Extrato etanólico bruto

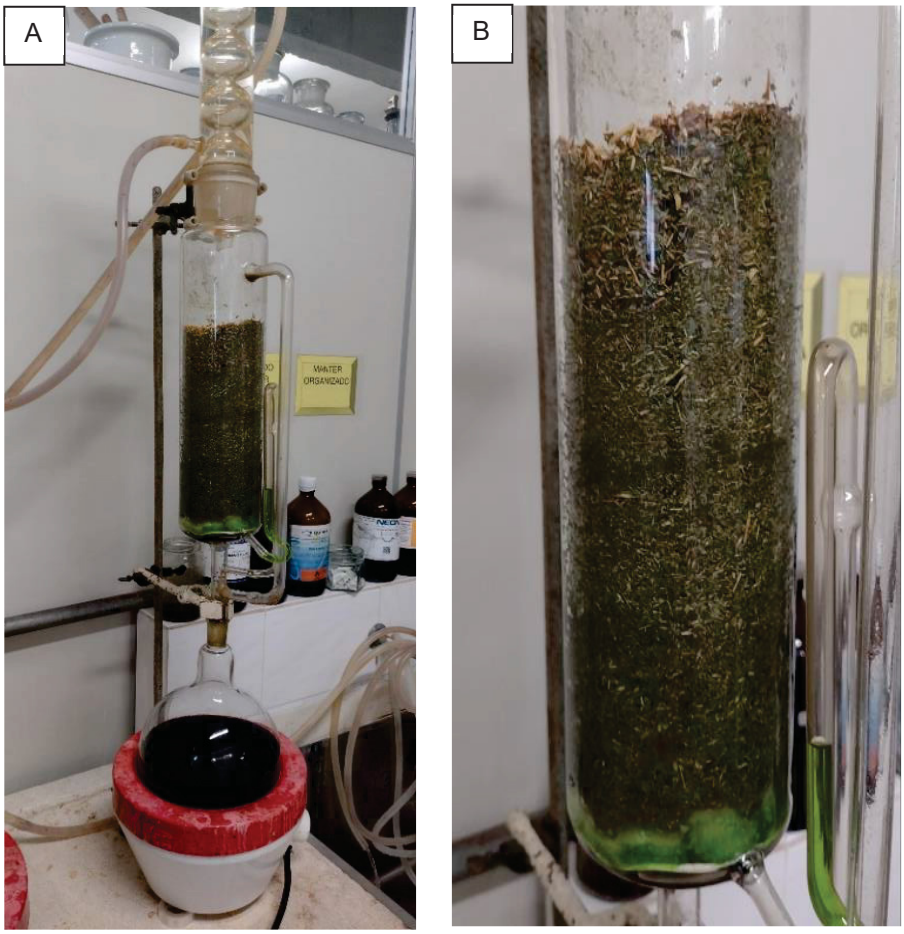
As partes aéreas da planta seca rasuradas foram pesadas e extraídas em aparelho de Soxhlet modificado, patente de modelo industrial no INPI sob o nº PI 0601703-7 A2 (Figura 4).

Aproximadamente 500 g do material vegetal seco foi introduzido, no suporte de vidro do aparelho de Soxhlet (este continha uma placa porosa e uma camada de algodão em sua base). O aparelho de Soxhlet modificado foi conectado a um balão de fundo chato contendo pérolas de vidro e adicionou-se 4000 ml de etanol 96 ºGL. Em seguida, o sistema foi conectado ao condensador de bolas e levado ao aquecimento em manta aquecedora. A extração foi realizada por 20 horas, até o clareamento do líquido contido no canal lateral do Soxhlet. Este processo de repetiu por mais 2 vezes, totalizando 1.500 g da espécie vegetal e 12 L de etanol.

Após início do aquecimento, o líquido extrator contido no balão foi evaporado e posteriormente condensado no condensador de bolas, percorrendo novamente o material vegetal; a amostra é repetidamente colocada em contato com as porções frescas do solvente, permitindo a extração.

Quando o líquido atinge o nível de transbordamento, o extrato é descarregado no balão por sifonamento carregando os constituintes extraídos. Estes ciclos se repetem até o clareamento do líquido contido no canal lateral do Soxhlet. Em cada ciclo da operação, o material entra em contato com o solvente renovado. Este procedimento permite uma maior eficiência na extração de compostos orgânicos presentes na amostra, pois a quantidade de líquido extrator é constante no sistema, garantindo um contato prolongado entre a amostra e o solvente, sendo a melhor alternativa de lixiviação (LUQUE DE CASTRO; PRIEGO-CAPOTE, 2010).

FIGURA 4 - EXTRATO ETANÓLICO BRUTO OBTIDO POR APARELHO DE SOXHLET MODIFICADO



FONTE: A Autora (2021).
NOTA: (A) aparelho Soxhlet modificado; (B) material vegetal rasurado em contato com álcool 96º GL.

3.4.2. Determinação do teor de sólidos

A análise de teor de sólidos foi realizada segundo a metodologia para determinação de resíduo seco em extratos fluidos e moles, presente na Farmacopéia Brasileira 6ª edição (BRASIL, 2019a).

Pipetou-se volumetricamente 5 ml do extrato alcoólico bruto e transferiu-se para uma placa de Petri previamente dessecada. A placa contendo a amostra foi levada a estufa à 105º C, por 3 horas.

O teor de sólidos totais (g/ml) foi determinado pela verificação da massa do extrato seco nas placas de Petri, após resfriamento em dessecador.

3.4.3. Sistema de partição líquido/liquido

Para obtenção das frações foi utilizado o método de partição sistema líquido/líquido, utilizando solventes de padrão analítico (PA), seguindo a ordem crescente de polaridade: n-hexano, acetato de etila e clorofórmio. O objetivo da operação é separar os constituintes de uma mistura líquida pelo uso de um solvente líquido insolúvel (ABUBAKAR; HAQUE, 2020).

Para a realização da partição líquido-líquido utilizou-se o aparelho de Soxhlet modificado, patente de modelo industrial no INPI sob o nº PI 0601703-7 A2, conectado a um balão de fundo chato de 1000 ml contendo pérolas de vidro (CARVALHO et al., 2007b).

O extrato etanólico bruto concentrado foi colocado no suporte de vidro do aparelho de Soxhlet e em seguida, foi adicionado o primeiro solvente (hexano) sobre o extrato etanólico bruto. Este sistema foi acoplado ao condensador de bolas, levado ao aquecimento em manta aquecedora e deixado sob refluxo por 10 horas, até extração completa. Este processo foi repetido com os demais solventes: clorofórmio e acetato de etila.

O produto remanescente da última etapa de fracionamento foi denominado como fração remanescente ou residual. Por fim, foram obtidas quatro frações das partes aéreas: hexânica (FH), clorofórmica (FCL), acetato de etila (FAE) e remanescente (FR), correspondendo a quatro polaridades. Estas frações foram avaliadas nos bioensaios e demais testes juntamente com o extrato bruto (EB), totalizando cinco amostras analisadas.

3.4.4. Difratometria de raio X de monocristal (DRXm)

O estudo cristalográfico foi escolhido como técnica para elucidação da estrutura cristalina. No presente estudo, a técnica de DRXm foi empregada para determinar o grau de cristalinidade do precipitado gerado após o particionamento do extrato etanólico bruto com o solvente hexano.

A análise de difratometria de raio X de monocristal foi realizada no departamento de Química da UFPR pela coleta de um cristal (RSH001) presente no precipitado cristalino, selecionado com auxílio de uma lupa, depositado em óleo mineral e analisado em um difratômetro Bruker® modelo D8 Venture, equipado com

detector de área Phton 100, fonte de radiação monocromática de Mo-Kα (0,71073 Å).

A análise da estrutura cristalina foi realizada através do banco de dados estruturais da Cambridge Crystallographic Data Centre (CCDC).

3.4.5. Levantamento de patentes de L-quebrachitol com aplicação clínica

Em uma primeira etapa foram definidas as bases de dados a serem utilizadas. Assim, para a busca mundial foi escolhida a base de dados gratuita Espacenet e para a busca nacional foi escolhida a base de dados do INPI. Em uma segunda etapa foi definido o intervalo de tempo para efetuar a pesquisa, sendo escolhido dois cenários: uma busca das patentes publicadas sem prazo de tempo e uma busca compreendendo o período de 2013 – 2023, totalizando os últimos 10 anos de inovação. A terceira estratégia para rastrear as patentes foi à escolha da palavra-chave, em que a escolhida foi “quebrachitol or 2-metil-L-chiro-inositol” e a seleção dos filtros A (Necessidades humanas), 61 (Ciências médias ou veterinárias; higiene), P (Atividade terapêutica específica de compostos químicos ou preparações medicinais) e Q (Utilização específica de cosméticos ou preparações semelhantes de higiene pessoal).

A busca no INPI foi efetuada utilizando a palavra-chave “quebrachitol or 2-metil-L-chiro-inositol”, selecionando “todas as palavras” contidas no “resumo”. O INPI apresenta limitações na busca (poucos conectores entre campos de busca e pesquisa somente em língua portuguesa). Como critério de exclusão, foram retirados os registros com caracteres orientais e os registros que não houve menção da palavra-chave.

A busca pelas patentes na base Espacenet e INPI foi realizada em maio de 2023. O quadro 5 representa o planejamento e execução das atividades.

QUADRO 5 - FASES E ATIVIDADES PARA A BUSCA DE INFORMAÇÃO TECNOLÓGICA EM BASES DE PATENTES.

Fase	Atividade
Planejamento	• Formular questão para a busca; • Identificar palavras-chave; • Montar *string* de busca; • Identificar classificação internacional (CIP); • Decidir quanto ao período de tempo; • Definir critérios de inclusão e de exclusão; • Selecionar base(s) de dados
Execução	• Realizar busca nas bases de dados • Organizar resultado das buscas • Selecionar patentes
Análise	• Analisar as patentes selecionadas

FONTE: Adaptado de Fernandes et al. (2018).

3.5 PERFIL FITOQUÍMICO POR CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA

Para identificação dos principais grupos do metabolismo secundário da espécie vegetal, foi realizado um ensaio fitoquímico por separação físico-química, para a pesquisa de terpenos, cumarinas, alcaloides, taninos, flavonoides e antraquinonas.

Para a realização do ensaio de CCD foram utilizadas cromatoplacas de sílica gel 60 UV 254, da marca Whatman®, de dimensões 5 x 3 cm, como fase estacionária e como eluentes misturas de diferentes proporções com os solventes: tolueno, acetato de etila, DCM, acetona, ácido fórmico, ácido acético glacial, clorofórmio, metanol e água.

Para revelar as classes dos compostos foram utilizados reveladores específicos como: anisaldeído sulfúrico para terpenos, hidróxido de sódio 1% para cumarinas, cloreto férrico 2% para taninos, reativo de NEU para flavonoides, Dragendorff para alcaloides e hidróxido de sódio 5% para antraquinonas.

As amostras foram aplicadas com auxílio de tubo capilar a 0,5 cm da borda inferior. Após a eluição da fase móvel pela cromatoplaca e a evaporação do solvente, foram utilizados diferentes reveladores específicos para cada grupo de metabólitos secundários. As análises de CCD foram realizadas conforme quadro 6.

As placas foram visualizadas sob luz UV (254 a 365 nm) antes e após a revelação com seus respectivos reagentes. Nas técnicas para flavonoides e cumarinas, a exposição a luz UV deve alterar a coloração após a utilização do revelador.

QUADRO 6 - COMPOSIÇÃO DOS SOLVENTES DAS FASES MÓVEIS E REVELADORES DA CCD E INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS PARA AS FRAÇÕES DE C*upania vernalis.*

Constituinte químico	**Fase móvel / proporção**	**Revelador**	**Evidências**	**Metodologia**
Terpenos	Tolueno: acetato de etila (93:7)	**Anisaldeído sulfúrico:** Anisaldeído 0,5 ml Ácido acético glacial 10 ml Metanol 85 ml Ácido sulfúrico 5 ml	Coloração rosa/violácea após aquecimento em estufa 105°C	WAGNER; BLADT, 1996
Cumarinas	DCM: Acetona (10:10)	**Hidróxido de sódio 1%** Hidróxido de potássio 1 g Etanol qsp 100 ml	Coloração azul ou verde quando expostas a luz UV	
Taninos	Acetato de etila: ácido fórmico: ácido acético glacial: água (100:11:11:26)	**Cloreto Férrico 2%** Cloreto Férrico 2 g Metanol ou água qsp 100 ml	Coloração verde para taninos condensados. Coloração azul para taninos hidrolisáveis. Coloração marrom para compostos fenólicos.	WAGNER; BLADT, 1996
Flavonoides	Acetato de etila: ácido fórmico: ácido acético glacial: água (100:11:11:26)	**Reativo de NEU** Difenol boril oxi etil amino 1 g Metanol 100 ml	Desenvolvimento de coloração amarela em luz UV	WAGNER; BLADT, 1996
Alcaloides	Clorofórmio: Metanol (95:5) Universo amônio	**Dragendorff** Carbonato de bismuto 5g Iodeto de potássio 25 g Ácido clorídrico 12 ml Água destilada qsp 100 ml	Coloração alaranjado forte na presença de alcaloides	VALENTE et al., 2006
Antraquinonas	Acetato de Etila: Metanol: Água destilada (100:17:13)	**Hidróxido de potássio 5%** Hidróxido de potássio 5 g Etanol qsp 100 ml	Coloração vermelha	WAGNER; BLADT, 1996

FONTE: A autora (2022).

3.6 ESTUDOS DAS ATIVIDADES BIOLÓGICAS

3.6.1. Ensaios de toxicidade *in vitro*

Os testes de toxicidade *in vitro* são técnicas utilizadas com intuito de investigar o efeito de compostos ou extratos que não envolvam tecidos animais vivos nem animais inteiros (HOUGHTON et al., 2007) para determinações prévias de toxicidade do material vegetal, através da avaliação da viabilidade celular.

Os métodos para avaliação de toxicidade do extrato bruto e frações das partes aéreas da espécie *Cupania vernalis* foram toxicidade aguda sobre o microcrustáceo *Artemia salina* e atividade hemolítica *in vitro.*

3.6.1.1. Análise da atividade sobre *Artemia salina*

O ensaio de toxicidade frente à *Artemia salina,* segundo Meyer et al. (1982), é um ensaio biológico rápido, de baixo custo, não requer ambiente asséptico, utiliza um grande número de organismos para validação estatística, não requer equipamentos especiais e a quantidade de amostra é relativamente pequena.

Devido a fácil eclosão dos cistos e disponibilidade durante todo o ano, os náuplios do camarão de *Artemia salina* são organismos de teste mais convenientes para estudos de toxicidade (SORGELOOS; WIELEN; PERSOONE, 1978).

Para obtenção dos náuplios de *Artemia salina* foi necessário a incubação dos ovos deste microcrustáceo em solução salina. Foi preparada água do mar artificial pela adição de 36 g de sal marinho em 1000 ml de água purificada. O pH foi ajustado para a faixa de 8-9 com Na_2CO_3 para evitar o risco de morte dos náuplios por diminuição do pH durante a incubação. Segundo Lewan et al. (1992), pH superior a 6 é essencial para o desenvolvimento de *Artemia salina*, e um pH superior a 10,5 deve ser evitado (LEWAN; ANDERSSON; MORALES-GOMEZ, 1992).

Os ovos de *Artemia salina* (200mg/400ml) foram colocados em contato com a solução salina e então incubados em temperatura (27-30) °C por 48 horas, com aeração e iluminação constante, para que favorecesse a eclosão das larvas (metanáuplios) (MEYER et al., 1982).

O extrato e as frações das partes aéreas foram diluídos com 1% de dimetilsulfóxido (DMSO) e o volume completado com água do mar artificial até a concentração desejada. Preparou-se uma solução estoque com concentração de 100 mg/100 ml para cada uma das amostras testadas (extrato etanólico e frações).

A partir da solução estoque, foram preparadas as amostras em 7 concentrações diferentes conforme a tabela 1.

TABELA 1 - DILUIÇÕES DAS AMOSTRAS PARA O ENSAIO DE *Artemia salina*

Concentração (ug/ml)	Volume de SE (ul)	Volume de Salina (ul)
1000	5.000	-
750	3.750	1.250
500	2.500	2.500
250	1.250	3.750
100	500	4.500
50	250	4.750
10	50	4.950

FONTE: A Autora (2022).

A figura 5 ilustra as diferentes concentrações realizadas para o teste.

FIGURA 5 - FRASCOS EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DAS AMOSTRAS UTILIZADAS NA ANÁLISE DE TOXICIDADE FRENTE A *Artemia salina*

FONTE: A Autora (2022).

Para controle, os náuplios foram avaliados frente ao solvente utilizado (DMSO 1% em salina). Como controle negativo (branco) foi utilizado solução salina e como controle positivo o sulfato de quinidina nas mesmas concentrações das amostras.

Foram colocadas em cada frasco contendo 5 ml das amostras ou controles, 10 náuplios de *Artemia salina*, os quais foram novamente incubados em temperatura de (27-30) °C por 24 horas. Após 24 horas realizou-se a contagem dos náuplios mortos e vivos com auxílio de lupa.

Os dados foram submetidos a análise estatística pelo método probit (FINNEY, 1949) utilizando o software SPSS® versão 23.0 (IBM CORPORATION, 2015) para determinar os valores de CL_{50}, bem como intervalo de 95% de confiança e valores de qui-quadrado.

Todos os testes foram realizados em quintuplicara. As frações foram consideradas ativas ou tóxicas quando a CL50 for menor que 1000 µg/ml (MEYER et al., 1982).

3.6.1.2. Atividade hemolítica *in vitro*

A atividade hemolítica avalia a capacidade da substância estudada em realizar o rompimento das hemácias liberando hemoglobina. O ensaio foi realizado segundo

(ASLAM et al., 2011).

O sangue de carneiro utilizado foi adquirido da empresa Newprov ® (Figura 6). Este foi levemente homogeneizado e 3 ml foram transferidos a um tubo *Falcon* para centrifugação durante 5 minutos a 3000 rpm.

Após a centrifugação o sobrenadante foi desprezado, e o precipitado lavado com tampão fosfato-salino (PBS) gelado. O processo se repetiu até que o sobrenadante ficasse completamente incolor. Em seguida a papa de eritrócitos foi diluída com PBS para obtenção de uma diluição a 2,5% (m/v).

Para a verificação da atividade hemolítica, foi utilizado o extrato bruto e suas frações nas concentrações determinadas na tabela 2. A diluição das amostras/solução mãe foi feita com 10% de metanol completando o volume da solução com PBS.

TABELA 2 - DILUIÇÕES PARA O TESTE DE HEMÓLISE

Concentração (µg/ml)	Solução Mãe (µl)	PBS (µl)
100	100	900
500	500	500
1000	1000	-

FONTE: A Autora (2022).
NOTA: Tampão fosfato salina (PBS).

Os padrões utilizados na análise estão demonstrados no quadro 7. O metanol utilizado para preparar as amostras nas diferentes concentrações também foi utilizado como padrão negativo de hemólise.

QUADRO 7 - CONTROLES PARA O TESTE DE HEMÓLISE

Controles	Padrão
Controle positivo	Triton 0,1% em água destilada Saponina em água destilada
Controle negativo	Metanol PBS Rutina em PBS

FONTE: A Autora (2022).
NOTA: Tampão fosfato salina (PBS).

Após o preparo das soluções e diluições, foi realizado o teste em tubos tipo Eppendorfs de 1,5ml, conforme a tabela 3.

TABELA 3 - PROCEDIMENTO DO TESTE DE HEMÓLISE

Amostra	Teste
Solução Mãe e diluições desejadas	20 µl de solução da amostra + 180 µl de hemácia
Controle positivo Triton 0,1%	20 µl de Triton 0,1% + 180 µl de hemácia
Controle positivo Saponina	20 µl de Saponina + 180 µl de hemácia
Controle negativo Metanol	20 µl de Metanol + 180 µl de hemácia
Controle negativo PBS	20 µl de PBS + 180 µl de hemácia
Controle negativo Rutina	20 µl de Rutina + 180 µl de hemácia

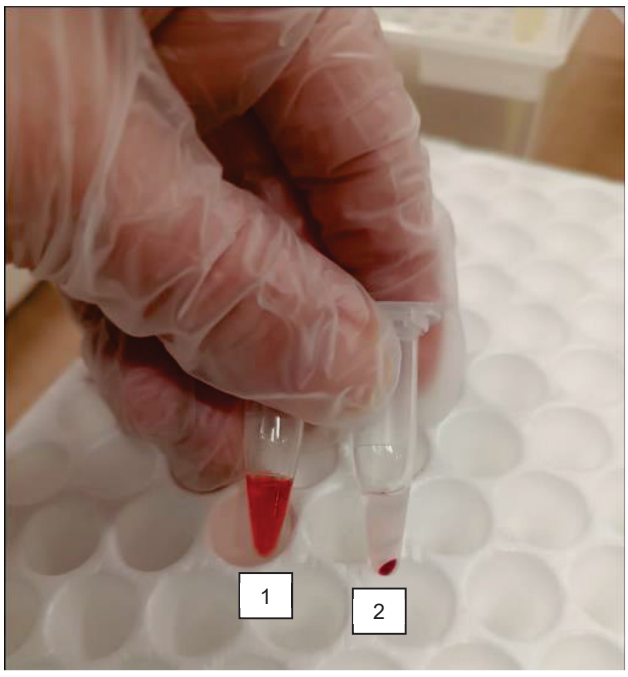
FONTE: A Autora (2022)
NOTA: Tampão fosfato salina (PBS).

Os tubos foram homogeneizados manualmente com leve agitação e incubados em estufa com temperatura controlada de (37 ± 0,5) °C por 30 minutos. Na sequência, os tubos foram encaminhados ao banho de gelo por 5 minutos e depois centrifugados a 3.000 rpm por mais 5 minutos.

Os tubos foram observados quanto a ocorrência ou não da formação de hemólise total (solução límpida, vermelha e sem depósito de eritrócitos).

A figura 6 ilustra tubo positivo para hemólise (1) e tubo negativo para hemólise (2).

FIGURA 6 - TUBOS COM OS PADRÕES FITOQUÍMICOS UTILIZADOS NO TESTE DE HEMÓLISE



FONTE: A Autora (2022).
NOTA: (1) Controle positivo Saponina; (2) Controle negativo Rutina.

O sobrenadante foi diluído em PBS gelado e 200 µl desta diluição foi transferida para placa de *Elisa* de 96 poços, para posterior leitura em espectrofotômetro na faixa de 576 nm.

O teste de comparação múltipla de médias de Tukey foi utilizado para testar diferenças significativas entre as médias (ao nível de 5%). As análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa Action® versão 2.9 (ESTATCAMP, [s.d.]). O teste foi realizado em triplicata.

3.6.2. Potencial alelopático

Para avaliação da atividade alelopática foram utilizados o extrato bruto e as frações obtidas do extrato, de acordo com o método descrito em Chon et al. (2005) e Dias et al. (2005).

A metodologia utilizada foi a de verificação da ocorrência de efeitos inibitórios ou estimulatórios na germinação e no crescimento de *Lactuca sativa* L. (alface), frente às amostras testadas, em diferentes concentrações.

3.6.2.1. Germinação

As caixas Gerbox utilizadas nos testes foram previamente lavadas com solução de hipoclorito diluída a 1% e enxaguadas com água. Em seu interior foram inseridas duas camadas de papel filtro Whatman® n° 6, embebidos em 6 ml de cada solução estoque de amostra nas concentrações determinadas na tabela 4.

TABELA 4 - DILUIÇÕES DAS AMOSTRAS PARA O ESTUDO ALELOPÁTICO

Diluição (µl /ml)	Volume de SE ml	Volume de Metanol ml
1000	12	-
750	9	3
500	6	6
250	3	9
100	1,2	1,8

FONTE: A Autora (2022).

As caixas Gerbox foram deixadas abertas, dentro da câmara de fluxo laminar até a total evaporação do solvente, em temperatura ambiente, por 24h, vedando a janela de ventilação com papel filme de PVC para evitar uma possível contaminação. Após evaporação total do solvente, foram adicionados 6 ml de água destilada e as 20 sementes de alface foram depositadas.

Como controle positivo foi utilizado água e como controle negativo metanol sob as mesmas condições das amostras.

As caixas foram vedadas com Parafilm® e mantidas no interior do fluxo laminar, durante 7 dias. O número de sementes germinadas foi verificado a cada 24h durante o período de sete dias para a alface. Foram consideradas germinadas após o aparecimento da protusão da radícula através do tegumento. (DE FEO; DE SIMONE; SENATORE, 2002).

O índice de velocidade de germinação (IVG) foi calculado, conforme (MAGUIRE, 1962).

3.6.2.2. Crescimento

O bioensaio de crescimento foi realizado da mesma forma descrita para germinação. Realizou-se a verificação do crescimento fazendo a leitura do crescimento do hipocótilo e da radícula em milímetros, no sétimo dia do teste apenas, com auxílio de régua e papel milimetrado.

3.6.2.3. Análise estatística

Para a verificação das diferenças estatísticas, os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade com auxílio do programa Action® versão 2.9 (ESTATCAMP, [s.d.]).

Os resultados foram expressos em relação ao controle negativo e demonstrados em gráfico de barras.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

A realização de testes físico-químicos e fitoquímicos são essenciais para o controle de qualidade de plantas medicinais, no intuito de proporcionar a segurança e a efetividade, além de fornecer dados para futuros estudos para a padronização e desenvolvimento de novos fármacos (SOUZA et al., 2017).

Estudos sobre a constituição química e teor de cinzas em plantas são importantes como etapa de identificação das espécies, entretanto muitas plantas não possuem monografias farmacopeias, e necessitam de estudos visando estabelecer alguns parâmetros de qualidade (ALVES et al., 2007). São importantes a se estabelecer, uma vez que denunciam adulterações ou falsificações de materiais e confirmam a identidade botânica.

4.1.1 Perda por dessecação

A importância da determinação da perda por dessecação está relacionada à estabilidade microbiológica da matéria-prima vegetal, como expressão da sua suscetibilidade ao desenvolvimento de fungos e bactérias e à estabilidade química, representada, especialmente, pelos processos de hidrólise (WHO, 1998).

A combinação destes parâmetros físico-químicos é exclusiva de cada espécie. Os resultados estão demonstrados como média ± desvio padrão na tabela 5.

TABELA 5 – ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS DO MATERIAL VEGETAL

Amostra	**Perda por dessecação (%)**
Partes aéreas	9,65 ± 0,07

FONTE: A autora (2022).

A presença de umidade em matéria-prima vegetal propicia a ação de enzimas podendo acarretar a degradação de constituintes químicos da planta, produzindo substâncias que se ingeridas podem provocar intoxicação, além de diminuir o valor farmacológico da planta e até anulá-lo e possibilitar o desenvolvimento de fungos e

bactérias (DOURADO; DOCA; ARAÚJO, 2005).

O resultado para a espécie *Cupania vernalis* corrobora com o teor máximo de umidade estabelecido nas diferentes farmacopéias; variando entre 8% e 14%, limite máximo recomendando para vegetais (BRASIL, 2010).

4.1.2 Determinação de cinzas totais

A determinação do teor de cinzas é um indicativo de impurezas inorgânicas não voláteis que podem estar presentes como contaminantes no material vegetal (LUCCA et al., 2010). As cinzas totais incluem as derivadas de tecido vegetal (cinzas fisiológicas) e de materiais estranhos, especialmente areia e terra aderente à superfície da droga (cinzas não fisiológicas) (SILVA et al., 2007).

Na Farmacopeia Brasileira não há informações sobre o limite máximo de cinzas para espécies vegetais, porém o resultado da determinação de cinzas totais na espécie em estudo apresenta-se abaixo de 11%, conforme os limites estabelecidos nas monografias de diversas drogas vegetais descritas, como por exemplo das partes aéreas de quebra-predra e hortelã-do-Brasil, demostrando uma quantidade adequada de material inorgânico na espécie vegetal analisada (BRASIL, 2019b)

Conforme metodologia descrita, o teor de cinzas das partes aéreas da espécie está descrito na tabela 6 (média ± desvio padrão).

TABELA 6 – DETERMINAÇÃO DE CINZAS NO MATERIAL VEGETAL

Amostra	**Cinzas (%)**
Partes aéreas	3,62% ± 0,27

FONTE: A autora (2022).

4.1.3 Teor de sólidos e rendimento do extrato e frações de *Cupania vernalis*

Assim como os ensaios físico-químicos, o teor de sólidos pode ser aplicado como parâmetro de controle de qualidade dos extratos. Esse valor pode ser utilizado como um parâmetro da avaliação da eficácia de extração do solvente, correspondendo aos sólidos totais presentes no extrato (LIMA et al., 2020).

Não há padrões estabelecidos para valores aceitáveis de teor de sólidos de extratos, pois a descrição do teor é inédita a essa espécie.

Conforme metodologia descrita, o teor de sólidos totais (g/ml) do extrato bruto das partes aéreas está descrito na tabela 7 (média ± desvio padrão).

TABELA 7 – TEOR DE SÓLIDOS TOTAIS NO EXTRATO BRUTO

Amostra	Teor de sólidos (g/ml)
Extrato bruto	0,107 g/ml ± 0,002

FONTE: A autora (2022).

O extrato bruto das partes aéreas foi obtido por meio de extração por Soxhlet. Foram utilizadas 1.500 g de material vegetal, rasurada para que no momento da extração fosse aumentada a superfície de contato entre o material e o solvente, melhorando a eficiência da extração (POLEZ et al., 2021), obtendo-se após a extração 6,6 L de extrato etanólico bruto. Foi determinado o resíduo seco teórico (0,227 g/ml) deste extrato e posteriormente foi concentrado até a secura, em banho-maria à 60ºC, obtendo-se 138,2 g de resíduo sólido total no extrato etanólico bruto, fornecendo um rendimento de 9,22%.

Após o cálculo do rendimento, o extrato etanólico bruto (EB) foi fracionado para a obtenção da fração hexano (FH), fração acetato de etila (FAE) e fração clorofórmio (FC). Na tabela 8 está demonstrado o rendimento de cada fração em relação ao extrato bruto.

TABELA 8 - RENDIMENTO DAS FRAÇÕES EXTRAÍDAS POR SOXHLET

Amostra	Massa obtida (g)	Rendimento (%) em relação ao extrato bruto total
EB	138,2	100%
FH	36,07	26%
FC	8,33	6%
FAE	35,17	25%

FONTE: A Autora (2022).

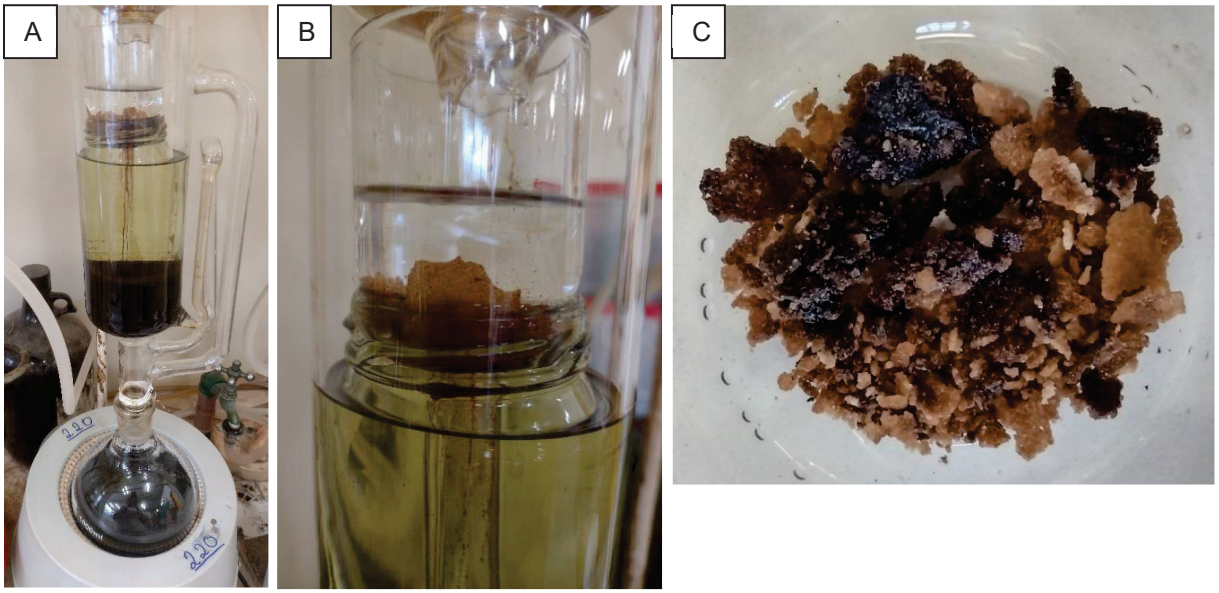
Pode-se observar que a fração com maior rendimento foi a fração hexano (FH) seguido da fração acetato de etila (FAE), e a de menor rendimento foi a fração clorofórmio (FCL).

4.2 IDENTIFICAÇÃO DA ESTRUTURA CRISTALINA

A difração de raio X serve para observar a cristalinidade dos compostos cristalinos, sejam eles inorgânicos ou orgânicos. O seu funcionamento ocorre através da interação entre o feixe de raios x incidentes e os elétrons dos átomos componentes de um material (FIGUEIREDO, 2017), permitindo avaliar os parâmetros geométricos, as distâncias e os ângulos interatômicos, interações intermoleculares e o arranjo supramolecular (FERREIRA, 2019b).

Durante o particionamento do extrato bruto com solvente hexano, um precipitado cristalino (PC) se formou como subproduto da extração (Figura 7).

FIGURA 7 - PRECIPITADO GERADO APÓS FRACIONAMENTO DO EXTRATO ETANÓLICO COM HEXANO



FONTE: A Autora (2022).
NOTA: (A) aparelho Soxhlet modificado; (B) depósito de cristais durante o particionamento; (C) precipitado cristalino isolado.

O produto obtido após o particionamento do extrato etanólico bruto com o solvente hexano foi observado em lupa de aumento e classificado como amostra cristalina.

Foram obtidos 4,35 g de precipitado cristalino (PC), e o rendimento foi de 0,29% quando comparado com a quantidade de material vegetal inicial (1.500 g). Se comparado a massa obtida do extrato etanólico bruto (138,2 g), o rendimento do precipitado cristalino foi de 6,01%.

Desse modo, um cristal transparente denominado RSH001 e na forma de um paralelepípedo foi isolado e submetido a DRXm.

A análise do cristal revelou uma célula unitária compatível com a estrutura depositada no *Cambridge Crystallographic Data Centre* (CCDC), cujo código ZZZIIO02 pode ser encontrado no banco de dados de estruturas cristalinas.

Os dados cristalográficos obtidos para o cristal RSH001 estão descritos na tabela 9.

TABELA 9 - DADOS CRISTALOGRÁFICOS DA CÉLULA UNITÁRIA OBTIDOS POR DRXm

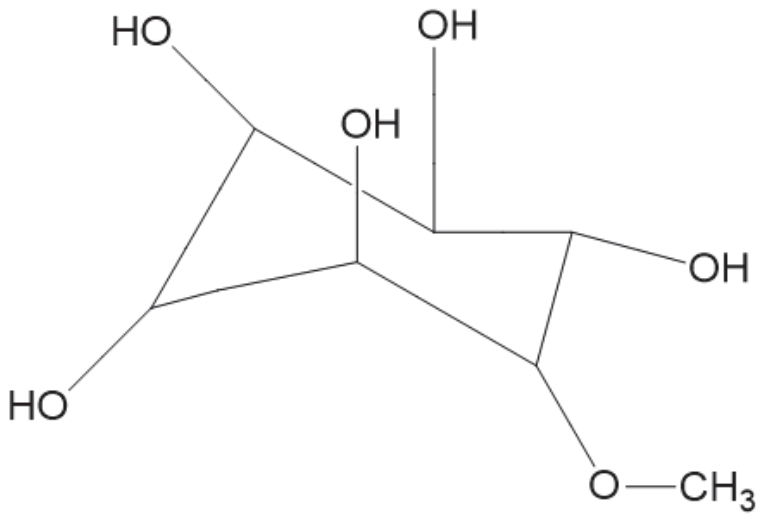
Código de identificação da amostra	RSH001
Database identifier	ZZZIIO02
Nome	(+)-Quebrachitol
Sinônimos	(+)-2-O-methyl-chiro-inositol
Fórmula empírica	$C_7 H_{14} O_6$
Massa molar	194,18 $g.mol^{-1}$
Temperatura	299 K
Comprimento de onda da radiação	1,54 Å
Forma/cor	Paralelepípedo/incolor
Sistema cristalino	Monocíclico
Grupo espacial	$P2_1$
Dimensões da célula unitária **α = γ = 90° ≠ β**	a = 6.69 Å α= 90° b = 7.19 Å β = 90,20 ° c = 8.73 Å γ = 90 °

FONTE: Adaptado de The Cambridge Crystallographic Data Centre (CCDC) (2023).

A estrutura do cristal analisado revelou um composto quiral, composto por um anel de seis átomos de carbono, cinco grupos hidroxila e um grupo metóxi.

O composto foi caracterizado como 2-metil-L-chiro-inositol (L-quebrachitol) (Figura 8).

FIGURA 8 – ESTRUTURA MOLECULAR 2-METIL-L-CHIRO-INOSITOL (L-QUEBRACHITOL)



FONTE: Adaptado do The Cambridge Crystallographic Data Centre (CCDC) utilizando o software KnowitAll.

O quebrachitol é um ciclitól, um constituinte bioativo da planta, de ocorrência natural (VIJAYAKUMAR et al., 2020). Os ciclitóis são altamente solúveis e metabolicamente inertes, o que permite que eles se acumulem em níveis elevados sem interferir nas estruturas celulares ou no metabolismo (WU et al., 2018).

Os ciclitóis são amplamente distribuídos no reino vegetal e em outras células vivas e exibem uma ampla gama de atividades biológicas (AL-SUOD et al., 2017). Um papel desses compostos é ajudar as plantas a sobreviverem a condições ambientais adversas em resposta a várias situações de estresse (ORTHEN; POPP; SMIRNOFF, 1994).Ainda, desempenham um papel importante nos processos de regulação celular, transdução de sinal, osmorregulação, fisiologia dos canais iônicos e são um componente da membrana celular (OWCZARCZYK-SACZONEK et al., 2018). Na natureza, o quebrachitol tem sido sugerido como um dos principais contribuintes para a pressão osmótica e um agente crioprotetor, diminuindo os danos a membrana do congelamento (WU et al., 2018).

O L-quebrachitol isolado das partes aéreas de *Cupania vernalis* não foi relatado antes para nenhuma espécie do gênero *Cupania.* Foi descrito pela primeira vez como um produto natural em *Aspidosperma quebracho* (Apocynaceae), e mais tarde foi detectado em várias espécies das Sapindaceae, bem como em membros das famílias Aceraceae e Euphorbiaceae (WU et al., 2018).

O acúmulo de quebrachitol pode ser um traço taxonômico de plantas pertencentes às Sapindaceaes (FAN et al., 2021).

Diversas atividades para este carboidrato foram identificadas; papel citoprotetor do quebrachitol conferindo gastroproteção contra o dano gástrico induzido pelo etanol e indometacina, possivelmente mediado, em parte, por prostaglandinas endógenas e liberação de óxido nítrico (DE OLINDA et al., 2008); forte atividade antagônica da PAF (fator ativador plaquetário), um potente mediador glicerofosfolipídeo que está envolvido em uma série de funções fisiológicas, como agregação plaquetária e neutrofílica, indução de alterações na permeabilidade vascular, anafilaxia e hipotensão (MOHARAM et al., 2010); proliferação, diferenciação e mineralização de osteoblastos, através da ativação da via Wnt, uma das principais vias conhecidas para regular o desenvolvimento embrionário, renovação tecidual e regeneração em organismos multicelulares, podendo ser uma estratégia no tratamento da osteoporose (BLAGODATSKI et al., 2020; YODTHONG et al., 2018); inibição da formação de biofilme e virulência de *Staphylococcus epidermidis* (KARUPPIAH; THIRUNANASAMBANDHAM, 2020) *e Staphylococcus aureus* (VIJAYAKUMAR et al., 2020); ação citoprotetora em um sistema de cultura mesencefálica fetal de ratos, oferecendo proteção contra agentes tóxicos em células neuronais e não neuronais, possivelmente envolvendo múltiplos mecanismos, entre os quais a ação antioxidante, podendo servir como pistas no desenvolvimento de fármacos para o tratamento de vários distúrbios neurodegenerativos (NOBRE JÚNIOR et al., 2006) e potencial antimalárico *in vivo* (MISHRA et al., 2023).

L-Quebrachitol também pode ser empregado como um material de partida na síntese de compostos biologicamente ativos devido a sua estrutura molecular opticamente ativa, como um bloco de construção quiral (KIDDLE, 1995). Um exemplo é a pironetina, isolada do caldo de cultura de *Streptomyces,* que apresenta ação imunossupressora e antitumoral, sintetizada em 1997 a partir do L-quebrachitol e ácido málico (CHIDA et al., 1997). Bengamidas, compostos naturais de uma espécie de esponja marinha, que apresentam ação antitumoral e anti-helmínticas (FONSECA, 2005) e o ciclofelitol, um inibidor da B-glucosidase e potente inibidor do vírus HIV, isolado de uma cultura de cogumelos foram sintetizados a partir do L-quebrachitol (AKIYAMA et al., 1991).

Estratégias sintéticas para a preparação de uma série de antibióticos e inibidores enzimáticos em forma ótica ativa também foram alcançadas a partir de L-quebrachitol (KIDDLE, 1995), assim como derivados de inositol, conhecidos por suas propriedades medicinais, como ésteres de mio-inositol, usados em hepatologia, hexassulfato de mio-inositol, usado em quimioterapia e aminociclitóls, usados como antibióticos (VAYSSE et al., 2012).

Vale ressaltar que as empresas farmacêuticas, que investem milhões de dólares em pesquisa, na maioria dos casos, não esperam descobrir novos compostos de uso terapêutico a partir de plantas medicinais, ainda que isso tenha uma pequena chance de ocorrer. Elas procuram, na verdade, modelos na natureza (*templates*), que lhes permitam utilizar como ponto de partida para o desenho de novas drogas (HARVEY, 2007).

O isolamento de fontes naturais é geralmente uma abordagem primária para fornecer produtos naturais e para descobrir e desenvolver novos candidatos a medicamentos (WANG et al., 2017), cosméticos e produtos alimentícios. Uma vez que a substância é isolada, ela pode ser caracterizada e estudada para determinar suas propriedades químicas e biológicas.

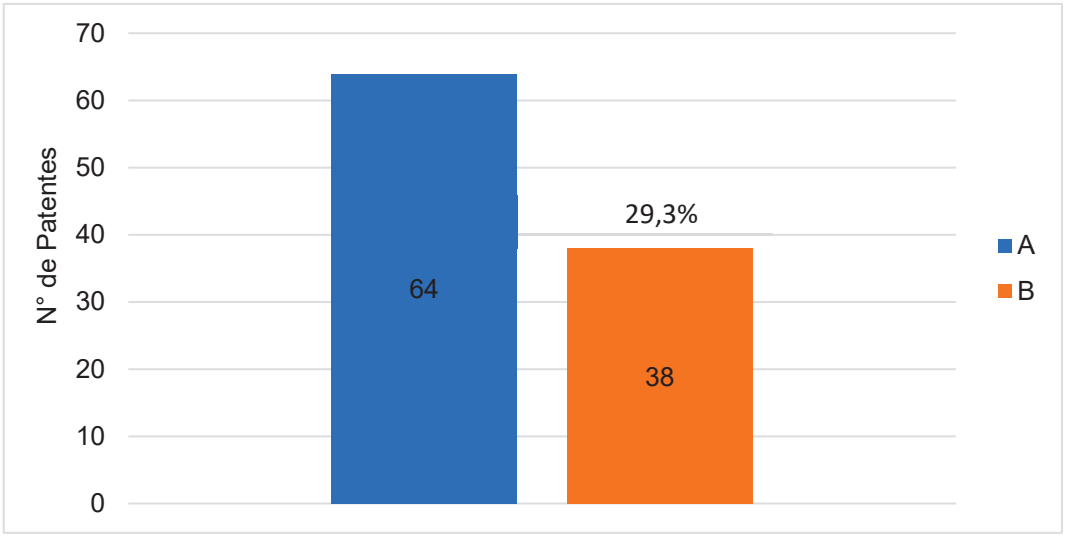
Além disso, substâncias naturais podem ser utilizadas no desenvolvimento de produtos ecologicamente corretos devido à sua biodegradabilidade e baixa toxicidade.

4.2.1. Patentes de L-quebrachitol

O levantamento de documentos de patentes foi realizado englobando tecnologias da área farmacêutica na base de dados internacional Espacenet.

Na pesquisa sem restrição de tempo foram encontradas 64 patentes. Destas, 38 (29,3%) foram publicadas entre os anos de 2013 e 2023 (Gráfico 1).

GRÁFICO 1 - COMPARAÇÃO ENTRE O NÚMERO TOTAL DE PATENTES PUBLICADAS NA BASE DE DADOS ESPACENET SEM RESTRIÇÃO DE TEMPO (A) E NO PERÍODO DE 2013 A 2023 (B)



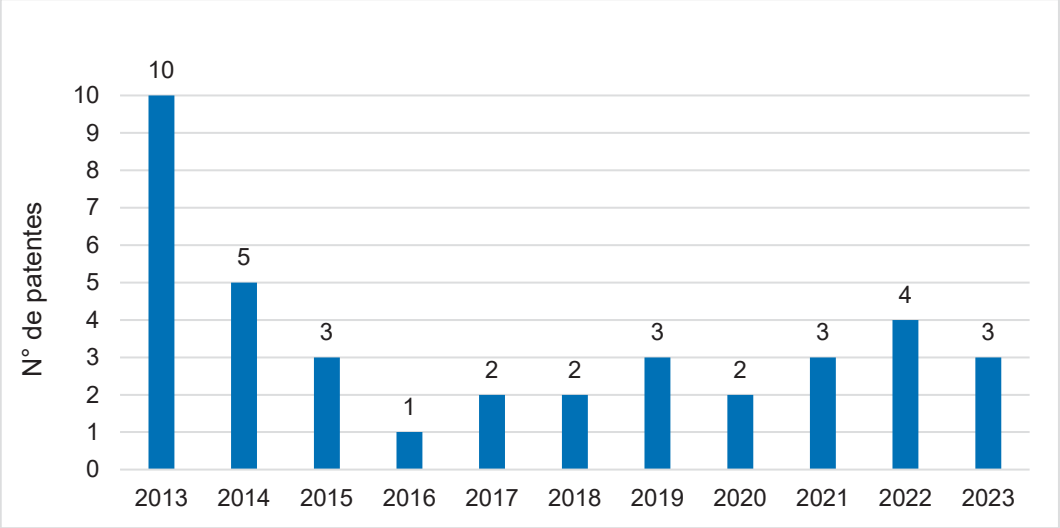
FONTE: A Autora (2023).

Neste contexto, o presente estudo analisou criticamente as patentes compreendidas entre os anos de 2013 e 2023, pelo fato de que continuarão em vigor por mais alguns anos. Na sequência, foi efetuado uma organização de acordo com o ano de publicação destes documentos (Gráfico 2), os países depositantes (Gráfico 3).

Ao avaliar o indicador relacionado com o número de publicações de patentes de L-quebrachitol por ano, pode-se observar que no período avaliado o maior número de depósitos foi registrado no ano de 2013, com 10 patentes. Logo na sequência, a partir de 2014, as publicações de patentes da temática apresentaram declínio, não ultrapassando mais de 5 patentes por ano (Gráfico 2).

Os dados demonstram que novas tecnologias vêm sendo propostas e protegidas intelectualmente nos últimos anos, demonstrando ser uma estrutura com potencial no desenvolvimento de novos fármacos.

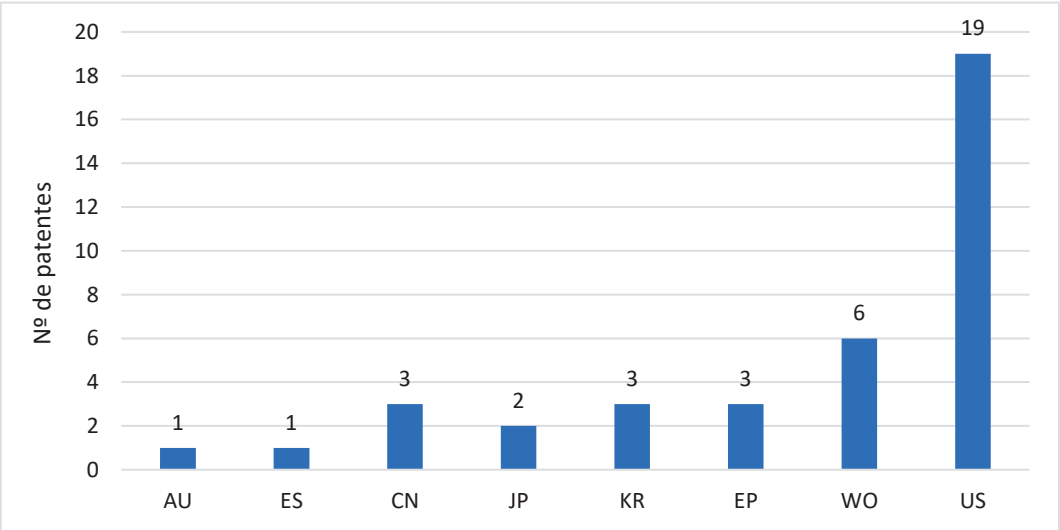
GRÁFICO 2 - RELAÇÃO DO NÚMERO DE PATENTES DEPOSITADAS POR ANO NA BASE DE DADOS ESPACENET DURANTE O PERÍODO DE 2013 A 2023



FONTE: A Autora (2023).

Dentre os países detentores de patentes (Gráfico 3), os de maiores destaques são Estados Unidos com 19 registros e Organização Mundial da Propriedade Intelectual (WO) com 6 registros, seguido pela Organização Europeia de Patentes (EP), Coréia e China com 3 registros, Japão com 2 registros e Espanha e Austrália com 1 registro.

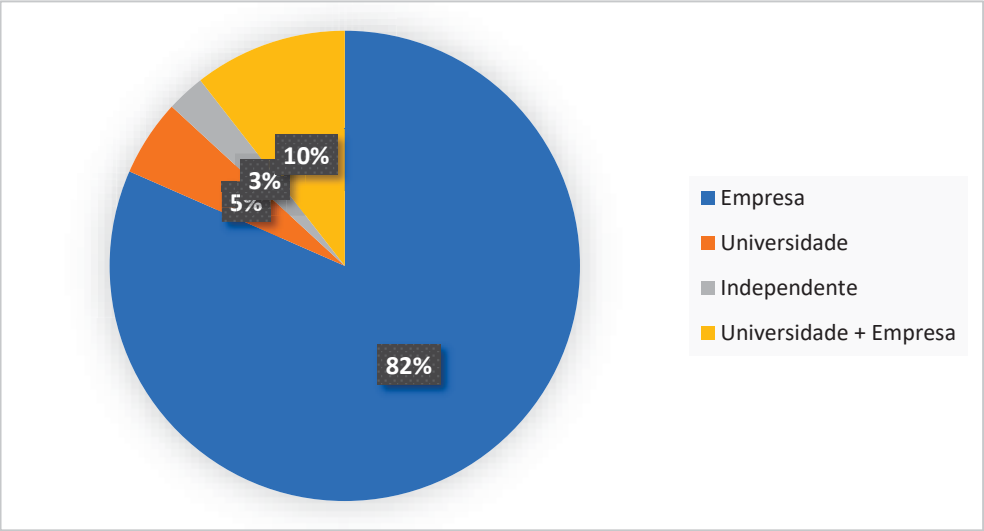
GRÁFICO 3 - RELAÇÃO DO NÚMERO DE PATENTES PUBLICADAS NA BASE ESPACENET DE ACORDO COM OS PAÍSES DEPOSITANTES DURANTE O PERÍODO DE 2013 A 2023



FONTE: A Autora (2023)
NOTA: Austrália (AU), China (CN); Organização Mundial da Propriedade Intelectual (OMPI/WIPO) (WO); Japão (JP); Organização Européia de Patentes (OPE/EPO) (EP); Estados Unidos (US); Espanha (ES); Coreia (KR).

Com relação aos tipos de depositantes, esses podem ser divididos em empresas, universidades, parcerias entre empresas e universidades, ou ainda depositantes independentes (pessoa física ao invés de pessoa jurídica). Conforme demonstrado no gráfico 4 os depositantes de maior destaque foram empresas, representando 82% das titularidades das patentes. Logo na sequência encontram-se as empresas em parceria com universidades (10%), universidades (5%) e depósitos independentes (3%).

GRÁFICO 4 - RELAÇÃO DOS TIPOS DE DEPOSITANTES DAS PATENTES PUBLICADAS NA BASE ESPACENET DURANTE O PERÍODO DE 2013 A 2023 COM A PALAVRA-CHAVE L-QUEBRACHITOL



FONTE: A Autora (2023).

A patente francesa n° FR2406M é o registro de patente mais antigo, registrada em 1964, dentro da classificação cooperativa de patentes (CPC) A61 (necessidades humanas; ciências médicas ou veterinárias; higiene). A invenção forneceu um medicamento contendo quebrachitol. A requerente descobriu que o quebrachitol possuí propriedades terapêuticas devido essencialmente à sua baixa toxicidade, mesmo em grandes doses, e à sua ação laxativa, ocasionada pelo aumento de água no lúmen intestinal.

A patente japonesa n° JPH0245407A é registro de patente mais antigo (1990), com utilização específica em cosméticos ou preparações semelhantes de higiene pessoal (A61Q). A invenção fornece um cosmético contendo L- quebrachitol, extraído do soro da borracha, de efeito umectante e suavizante para a pele, de qualidade

estável e de baixo custo. O L- quebrachitol existente no soro da borracha natural é um componente essencial para incorporação em cosmético como loção facial, loção láctea e creme; pode ser separado do soro em grande quantidade com um processo simples e de baixo custo. O composto tem excelente afinidade com a pele e moderada propriedade de retenção de umidade, suaviza a pele pelo efeito de restauração e é livre toxicidade.

Após a análise dos 38 registros encontrados, 9 registros entraram no critério de exclusão, sendo 4 registros de patentes descritos em caracteres orientais e 5 registros excluídos da prospecção por não apresentarem tecnologia envolvendo o L-quebrachitol.

No quadro 8 estão demostradas as patentes registradas no Espacenet com atividade terapêutica específica de compostos químicos ou preparações medicinais e utilização específica em cosméticos ou preparações semelhantes de higiene pessoal compreendendo o período de 2013 a 2023, totalizando os últimos 10 anos de inovação.

QUADRO 8 - RELAÇÃO DE PATENTES PUBLICADAS NO ESPACENET REFERENTES AO L-QUEBRACHITOL DURANTE O PERÍODO DE 2013 A 2023

Título	Patente n°	País de origem	Data da publicação	Descrição
Conjugados poliméricos de ziconotida	EP2898900A1 EP2898900B1	Organização Europeia de Patentes	2015-07-29 2017-11-15	A invenção fornece peptídeos que são quimicamente modificados pela fixação covalente a um ou mais polímeros solúveis em água. O conjugado da invenção, quando administrado por qualquer uma das várias vias de administração, exibe características diferentes das características do peptídeo não ligado ao polímero solúvel em água. O polímero de preferência utilizado é o polietilenoglicol (PEG). Nas moléculas centrais em PEGs ramificados, podem ser empregados polióis cicloalifáticos, incluindo açúcares de cadeia linear ou de anel fechado e álcoois de açúcar, tais como quebrachitol.
Polipeptídios aspartil-tRNA sintetase peguilados	US2015159148A1 US9822353B2	Estados Unidos	2015-06-11 2017-11-21	Polipeptídios da aspartil-tRNA sintetase, fornecem um novo mecanismo de modulação seletiva das respostas inflamatórias, sem os perfis de efeitos colaterais tipicamente associados a agentes anti-inflamatórios tradicionais, são conjugados com PEG (*PEGylated*) a fim de melhorar as propriedades de liberação controlada, estabilidade, meia-vida e outras propriedades farmacocinéticas em comparação com polipeptídios *no-PEGylated*. Polímeros adicionais lipossolúveis ramificados para uso na formação de um conjugado polipeptídico da presente invenção podem ser preparados com um resíduo de poliol, que forma a base da ramificação para os conjugados, sendo o quebrachitol uma das opções.
Polipeptídios tirosil-tRNA sintetase peguilados	US2014255378A1 US9714419B2	Estados Unidos	2014-09-11 2017-07-25	Polipeptídios da tirosil-tRNA sintetase, responsáveis pela modulação de vias hematopoiéticas como trombopoiese, modulação da angiogênese, modulação de vias inflamatórias, entre outras, são conjugados com PEG (*PEGylated*) a fim de melhorar as propriedades de liberação controlada, estabilidade, meia-vida e outras propriedades farmacocinéticas em comparação com polipeptídios *no-PEGylated*. Polímeros adicionais lipossolúveis ramificados para uso na formação de um conjugado polipeptídico da presente invenção podem ser preparados com um resíduo de poliol, que forma a base da ramificação para os conjugados, sendo o quebrachitol uma das opções.

Conjugados poliméricos de GLP-1	US2013096258A1 US8580919B2	Estados Unidos	2013-04-18 2013-11-12	Conjugados que compreendem uma fração GLP-1 (glucagon-like peptide-1) covalentemente ligada a um ou mais polímeros solúveis em água. O peptídeo-1 semelhante ao glucagon (doravante denominado GLP-1) é um peptídeo derivado do pró glucagon secretado pelas células L intestinais em resposta à ingestão de nutrientes e possui a capacidade de reduzir rapidamente os níveis de glicose em indivíduos normais e diabéticos. Um resíduo de poliol, que forma a base da ramificação para os conjugados multi armados pode ser utilizado o quebrachitol como uma das opções.
Conjugado polimérico hiper ramificado de alcanoato	US10039737B2 US2017189369A1	Estados Unidos	2017-07-06 2018-08-07	Conjugados poliméricos hiper ramificados com fármaco (camptotecina) ligado covalentemente ao polímero por meio de uma ligação alcanoato. Um resíduo de poliol, que forma a base da ramificação para os conjugados multi armados pode ser utilizado o quebrachitol como uma das opções.
Conjugados poliméricos hiper ramificado de compostos agonistas TLR e métodos de tratamento imunoterápico relacionados	WO2018132496A1	Organização Europeia de Patentes	2018-07-19	Conjugado composto por uma molécula anticancerígena (agonista TLR) que são ligadas covalentemente a um polímero não peptídico solúvel em água. Um resíduo de poliol, que forma a base da ramificação para os conjugados multi armados pode ser utilizado o quebrachitol como uma das opções.
Polímero hiper ramificado visando conjugado anticâncer	US10869863B2 US2020000797A1	Estados Unidos	2020-01-02 2020-12-22	Moléculas anticancerígenas que são ligadas covalentemente a um polímero não peptídico solúvel em água. Um resíduo de poliol, que forma a base da ramificação para os conjugados multi armados pode ser utilizado o quebrachitol como uma das opções. Os pró-fármacos da invenção são terapeuticamente eficazes, e exibem propriedades melhoradas *in vivo* quando comparados com a droga mãe não modificada.
Conjugados poliméricos de peptídeos protegrinas	US2016158311A1 US9763995B2	Estados Unidos	2016-06-09 2017-09-19	Conjugação do peptídeo protegrina, de ação antimicrobiana, a um ou mais polímeros solúveis em água, com finalidade de aumentar o tempo de meia-vida e/ou depuração reduzida. O polímero de preferência utilizado é o polietilenoglicol (PEG). Nas moléculas centrais em PEGs ramificados, podem ser empregados polióis cicloalifáticos, incluindo açúcares de cadeia linear ou de anel fechado e álcoois de açúcar, tais como quebrachitol.

Método de tratamento imunoterápico para tumor	AU2018316694A1	Austrália	2020-02-13	Moléculas anticancerígenas que são ligadas covalentemente a um polímero não peptídico solúvel em água. Um resíduo de poliol, que forma a base da ramificação para os conjugados multi armados pode ser utilizado o quebrachitol como uma das opções.
Pró-fármacos poliméricos hiper ramificados	US2014323514A1 US9333200B2	Estados Unidos	2014-10-30 2016-05-10	Moléculas anticancerígenas (camptotecina e derivados) são ligadas covalentemente a um polímero não peptídico solúvel em água. Um resíduo de poliol, que forma a base da ramificação para os conjugados multi armados pode ser utilizado o quebrachitol como uma das opções. Os pró-fármacos da invenção são terapeuticamente eficazes, e exibem propriedades melhoradas *in vivo* quando comparados com a droga mãe não modificada.
Compostos ligados a polímeros solúveis em água e compostos de fármacos	US2014088021A1	Estados Unidos	2014-03-27	O composto selecionado a partir de um agente farmacologicamente ativo útil para o tratamento do câncer de mama, câncer de ovário, câncer de pâncreas, câncer de estômago, câncer de pulmão e câncer de esôfago conjugado a um polímero e a um resíduo de poliol, onde o quebrachitol pode ser umas das opções, com finalidade de aumentar o tempo de meia vida, reduzir a dose e os efeitos colaterais e entregar uma maior quantidade do agente farmacologicamente ativo a alvos específicos.
Conjugados oligômero-calciomiméticos e compostos relacionados	US2014323565A1 US9421275B2	Estados Unidos	2014-10-30 2016-08-23	Refere-se a moléculas calciomiméticos ligadas covalentemente através de uma ligação estável ou liberável a um oligômero não peptídico solúvel em água. Um resíduo de poliol, que forma a base da ramificação para os conjugados pode ser utilizado o quebrachitol como uma das opções.
Pro-fármacos poliméricos hiper ramificados	ES2629696T3	Espanha	2017-08-14	Pró-fármaco no qual quatro moléculas anticancerígenas são ligadas covalentemente a um polímero não peptídico hiper ramificado solúvel em água. Um resíduo de poliol, que forma a base da ramificação para os conjugados multi armados pode ser utilizado o quebrachitol como uma das opções.
Conjugados polímero-sunitinib	US2013331425A1 US9827326B2	Estados Unidos	2013-12-12 2017-11-28	Molécula anticancerígena (sunitinib) que é ligada covalentemente a um polímero não peptídico solúvel em água. Um resíduo de poliol, que forma a base da ramificação para os conjugados multi armados pode ser utilizado o quebrachitol como uma das opções.

Conjugados de pró-fármacos poliméricos hiper ramificados de compostos à base de taxano	US2013331443A1	Estados Unidos	2013-12-12	Anticancerígeno (taxano) conjugado, direcionado e modificado por um polímero multibraço. Um resíduo de poliol, que forma a base da ramificação para os conjugados multi armados, pode ser utilizado o quebrachitol como uma das opções.
Conjugados polímero des-etil sunitinib	EP2654797A1 EP2654797B1	Organização Europeia de Patentes	2013-10-30 2017-11-08	Molécula anticancerígena (des-etil sunitinib) que é ligada covalentemente a um polímero não peptídico solúvel em água. Um resíduo de poliol, que forma a base da ramificação para os conjugados multi armados pode ser utilizado o quebrachitol como uma das opções.
Conjugados de pró-fármacos poliméricos hiper ramificados de compostos à base de pemetrexedo	EP2654795A1 EP2654795B1	Organização Europeia de Patentes	2013-10-30 2018-03-07	Anticancerígeno (pemetrexedo) conjugado, direcionado e modificado por um polímero multibraço. Um resíduo de poliol, que forma a base da ramificação para os conjugados multi armados, pode ser utilizado o quebrachitol como uma das opções.
Inserções oculares compreendendo um dímero esteroide ligado covalentemente	US11612567B2 US2021030667A1	Estados Unidos	2021-02-04 2023-03-28	Um método de tratamento de doença ocular que consiste em um artigo formado a partir de um composto de fórmula D1-L-D2, ou um sal farmacologicamente aceitável, em que D1 e D2 é um radical formado a partir de um esteroide selecionado de um esteroide e L é um ligante, formado a partir de um poliol ligado covalentemente, sendo o quebrachitol uma das opções.
Conjugados poliméricos pró-fármacos hiper ramificados de compostos a base de cabazitaxel	US10894087B2	Estados Unidos	2021-01-19	Anticancerígeno (cabazitaxel) direcionado e modificado por um polímero multibraço. O núcleo dos polímeros inclui compostos polihidroxilados, sendo o quebrachitol uma das opções.
Composições e métodos de inibição da ligação de autoanticorpos IGG plasmáticos ao receptor de serotonina 2A	WO2022115369A1	Organização Mundial da Propriedade Intelectual	2022-06-02	Métodos de tratamento para obesidade, hipertensão, aterosclerose, dislipidemia diabética e redução dos triglicerídeos utilizando uma composição farmacêutica contendo peptídeos acoplados a um ou mais grupos polietilenoglicolados (*PEGylated*), que é capaz de inibir a ligação de autoanticorpos 5-HT2A a uma região do receptor de serotonia 2A. O núcleo dos polímeros inclui compostos polihidroxilados, sendo o quebrachitol uma das opções.
Conjugado hiper ramificado anticâncer	US11191843B2 US2021008218A1	Estados Unidos	2021-01-14 2021-12-07	Conjugado anticancerígeno direcionado e modificado por um polímero multibraço, representado pela seguinte fórmula: R é um núcleo orgânico, POLY é um polímero, L é um ligante multivalente, T é uma molécula-alvo, D é um agente ativo. O núcleo dos polímeros inclui o quebrachitol como opção.

Composições à base de polímeros e conjugados de agentes antimicrobianos	US2013059360A1 US8420068B2	Estados Unidos	2013-03-07 2013-04-16	A invenção refere-se a um agente antimicrobiano que apresenta um tempo de meia vida curto, o qual é conjugado a um polímero a fim de prolongar a meia-vida *in vivo* do agente antimicrobiano. O quebrachitol é um dos polióis de escolha para compor o núcleo central do polímero.
Ciclitóis e derivados e suas aplicações terapêuticas.	US2008200437A1	Estados Unidos	2013-07-25	Desenvolvimento de rotas sintética para a preparação de ciclitóis seletivamente fosforilados (quebrachitol), abrangendo o uso dos derivados polifosforilados e pirofosfatos de ciclitóis como efetores alostéricos da hemoglobina. Além disso, a presente invenção abrange seu uso como agentes terapêuticos para o tratamento de doenças relacionadas à hipóxia ou outras condições associadas ao funcionamento inadequado dos pulmões ou do sistema circulatório; a capacidade de aumentar a tensão de oxigênio no tumor pode ajudar a inibir a angiogênese e o crescimento do tumor. Aplicações semelhantes também podem ser previstas para outras doenças relacionadas com a angiogênese, tais como hemangioma, artrite reumatoide, colite ulcerosa, doença de Crohn e Alzheimer (aumentar o oxigênio através da barreira hematoencefálica usando um efetor alostérico). Os efetores alostéricos também podem auxiliar no tratamento de uma variedade de doenças associadas a várias formas de demência vascular e osteoporose.
Método de preparação do produto purificado quebrachitol da folha de *Hippophae rhamnoides*.	CN110538207A	China	2019-12-06	Método de preparação de quebrachitol, um produto purificado das folhas de *Hippophae rhamnoides*. O produto purificado obtido é de baixo custo de produção e adequado para produção industrial; o quebrachitol purificado tem evidente atividade hipoglicemiante celular, o qual pode ser utilizado no desenvolvimento de drogas hipoglicemiantes.
Processo de extração de polissacarídeos do látex de *Hevea* de efluentes da indústria de fabricação de borracha, extrato de polissacarídeo, composição e uso.	WO2023055307A1	Organização Mundial da Propriedade Intelectual	2023-04-06	Método de extração de polissacarídeos e purificação do quebrachitol de efluentes de processos industriais de borracha para uso como medicamento no tratamento da inflamação.

Métodos de prevenção, tratamento e diagnóstico de distúrbios de agregação de proteínas.	JP2014065731A	Japão	2014-04-17	Métodos para o tratamento da doença de Alzheimer, Parkinson e outras amiloidoses, utilizando isômeros de Inositol; a invenção suprime e reduz a formação de fibrilas amiloides na intervenção terapêutica da doença de Alzheimer e outras amiloidoses em curso. Compreende na administração de estereoisômeros, enantiômeros ou derivados de inositol.
Métodos e formulações para promover um cabelo mais cheio com aplicação tópica de extrato de *Hevea brasiliensis.*	WO2019022679A1	Organização Mundial da Propriedade Intelectual	2019-01-31	Formulações para aplicação tópica no couro cabeludo compreendendo extrato de *Hevea brasiliensis*, promovendo crescimento do cabelo, prevenção da queda e/ou redução da queda do cabelo do couro cabeludo. O látex extraído da *Hevea brasiliensis* contém 60% de água, 1,43% de quebrachitol, 0,25% de açúcar e 0,34% de outros compostos que contêm tocotrienol, ácido indolilacético e ergotionina.
Peptídeo-C Peguilado	US2015087586A1	Estados Unidos	2015-03-26	Fornece um método para tratar pacientes com diabetes compreendendo a administração de uma dose terapêutica de peptídeo C conjugado em combinação com insulina. O peptídeo C Peguilado compreende um polímero PEG linear e de cadeia ramificada. Moléculas centrais em PEGs ramificados incluem polióis, que são posteriormente funcionalizados. Tais polióis incluem polióis alifáticos ou cicloalifáticos, incluindo açúcares de cadeia linear ou de anel fechado e álcoois de açúcar, tais como o quebrachitol.
Conjugado anticâncer hiper ramificado direcionado	EP3613792A1 EP3613792A4 EP3613792B1	Organização Europeia de Patentes	2020-02-26 2020-03-04 2021-02-24	Molécula anticancerígena ligada covalentemente a um polímero não peptídico solúvel em água. Um resíduo de poliol, que forma a base da ramificação para os conjugados multi armados pode ser utilizado o quebrachitol como uma das opções. Os pró-fármacos da invenção são terapeuticamente eficazes, e exibem propriedades melhoradas *in vivo* quando comparados com a droga mãe não modificada.

FONTE: Adaptado de ESPACENET – Patent search (2023).

Das 29 patentes selecionadas e compreendidas nos últimos 10 anos de inovação, 23 patentes apresentaram como inovação o desenvolvimento de regimes terapêuticos mais eficazes para o tratamento de várias doenças e distúrbios, com o objetivo de melhorar a entrega de agentes biologicamente ativos, particularmente drogas de moléculas pequenas.

Os desafios associados à formulação e entrega de agentes farmacêuticos podem incluir baixa solubilidade aquosa do agente farmacêutico, toxicidade, baixa biodisponibilidade, instabilidade e rápida degradação *in vivo* (CHENG; RIGGS-SAUTHIER, 2013).

O termo *PEGylation* refere-se à modificação de moléculas biológicas por conjugação covalente com polietilenoglicol (PEG), um polímero atóxico e não imunogênico. *PEGylation* é tipicamente usado como uma estratégia para superar desvantagens particulares associadas a alguns biofármacos. A *PEGylation* pode alterar as propriedades físicas e químicas de uma molécula biológica, tais como sua conformação, ligação eletrostática, hidrofobicidade e perfil farmacocinético (WATKINS et al., 2011).

Tem sido empregada para melhorar a biodisponibilidade e solubilidade de pequenas moléculas terapêuticas, melhorar a estabilidade química e diminuir a toxicidade, introduzindo biocompatibilidade e contornando as respostas do sistema imunológico (ABBINA; PARAMBATH, 2018). Também aumenta a estabilidade da droga e o tempo de retenção dos conjugados no sangue, além de reduzir a proteólise e a excreção renal, permitindo assim uma frequência de dosagem reduzida (MENDLEIN et al., 2015).

Ao aumentar a dose de droga recebida no local alvo enquanto reduz a quantidade de droga em tecido não alvo, a janela terapêutica do agente farmacologicamente ativo pode ser aumentada. Esse efeito pode permitir a administração de agentes farmacologicamente ativos altamente potentes, cujo uso é normalmente limitado devido aos seus perfis de efeitos colaterais (KONAKOVA et al., 2014).

Os conjugados PEG-droga têm várias vantagens: atividade biológica aumentada em comparação com as moléculas não conjugadas; uma residência prolongada no corpo, demonstrando características farmacocinéticas muito superiores; uma diminuição da degradação por enzimas metabólicas e uma redução ou eliminação da imunogenicidade proteica (VERONESE; PASUT, 2005).

Com relação aos polímeros não-peptídicos solúveis em água hiper ramificados, esses normalmente contêm três ou mais polímeros, cada um com a capacidade de se ligar covalentemente a um fármaco, e cada um conectado a um núcleo central (por exemplo um resíduo de um poliol) (KONAKOVA et al., 2014).

Os compostos polihidroxilados cicloalifáticos que são preferidos como núcleos dos polímeros incluem compostos lineares ou de anel fechado e álcoois de açúcar, tais como o quebrachitol (DING et al., 2021). O L-quebrachitol é uma das opções de poliol a ser utilizado através da ligação covalente a um polímero solúvel em água (conjugação) com o polietilenoglicol (*PEGylation*).

O principal objetivo da funcionalização desses polióis é abordar simultaneamente os principais problemas encontrados com os fármacos, bem como com seus carreadores, ou seja, solubilidade em água, estabilidade no meio biológico e segmentação (TZIVELEKA et al., 2006).

Entre outros benefícios, os polímeros não peptídicos solúveis em água hiper ramificados, dada a capacidade de cada ramificação se ligar covalentemente a um medicamento ou a um agente ligante, têm o potencial de fornecer maior caráter de fármaco em comparação, por exemplo, com um polímero linear que tenha um único medicamento ligado a ele (KONAKOVA et al., 2014).

Os compostos divulgados nas patentes descritas no quadro 8 fornecem a entrega direcionada de agentes farmacologicamente ativos. Espera-se que os compostos tenham uma meia-vida mais longa, sendo possível reduzir a dose do agente farmacologicamente ativo administrado ao paciente, reduzindo o risco de efeitos colaterais. Os compostos também podem ser capazes de entregar uma maior quantidade do agente farmacologicamente ativo a alvos específicos, proporcionando assim uma maior dose efetiva (KONAKOVA et al., 2014).

Os pró-fármacos e os fármacos das invenções são terapeuticamente eficazes, e exibem propriedades melhoradas *in vivo* quando comparados com a droga mãe não modificada (VIEGAS et al., 2014).

4.2.2. Patentes nacionais de L-quebrachitol

Para complementar o presente trabalho, foi realizada uma comparação entre os dados internacionais e a realidade tecnológica brasileira sobre novos produtos e processos protegidos intelectualmente envolvendo L-quebrachitol. Para isso, uma

busca de patentes com o mesmo delineamento sistemático foi efetuada na base de dados do INPI.

A busca na base de dados do INPI não trouxe patentes ligadas ao tema. Este resultado demostra o potencial da temática no âmbito da pesquisa, quando comparado aos resultados obtidos mundialmente. Uma hipótese é sobre a baixa importância atribuída pelas empresas inovadoras às relações cooperativas com universidades e institutos públicos de pesquisa (BAGATOLLI; DAGNINO, 2013).

Conforme evidenciado por Matias-Pereira (2011), existem deficiências na avaliação do desempenho da gestão do sistema de proteção à propriedade intelectual no país, além das dificuldades na administração das políticas estabelecidas no segmento de registro e patentes, não cumprindo adequadamente seu papel, em termos institucionais e de geração de estímulos à inovação.

4.3 PERFIL FITOQUÍMICO POR CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA

A análise fitoquímica preliminar foi realizada para obter informações qualitativas acerca dos principais grupos de metabólitos presentes na amostra e reconhecer/qualificar os componentes químicos presentes nas plantas, produtos do metabolismo secundário vegetal, prever suas possíveis atividades biológicas e direcionar o estudo do vegetal.

A cromatografia em camada delgada (CCD) é um método considerado rápido, eficiente de baixo custo e fácil reprodutibilidade. Consiste na separação dos componentes de uma mistura através da migração diferencial sobre uma camada delgada de adsorvente retido sobre uma superfície plana (SILVA, 2010).

O valor medicinal das plantas reside nos constituintes fitoquímicos bioativos, que produzem efeitos fisiológicos definidos no corpo humano. Cada família, género e espécies produzem uma mistura característica destes compostos químicos, e podem, por vezes, ser utilizados como caracteres taxonômicos na classificação de plantas (KABERA et al., 2014).

Realizou-se testes para as classes de metabólitos secundários: terpenos, cumarinas, alcaloides, taninos, flavonoides e antraquinonas, por meio da análise de cromatografia em camada delgada (CCD) e os resultados encontrados estão descritos no quadro 9.

QUADRO 9 - ANÁLISE FITOQUÍMICA DAS FRAÇÕES PROVENIENTES DO EXTRATO ETANÓLICO DE *Cupania vernalis*

Metabólitos secundários	**Amostras**			
	FH	**FAE**	**FCL**	**FR**
Alcaloides	-	-	+	-
Cumarinas	+	-	+	+
Terpenos	-	-	+	+
Flavonoides	-	+	-	+
Taninos	-	+	+	+
Antraquinonas	-	-	-	-

FONTE: A Autora (2022)
LEGENDA: (+): presença do grupo químico; (-): ausência do grupo químico.
NOTA: Fração hexano (FH), Fração clorofórmio (FCL), Fração acetato de etila (FAE) e Fração remanescente (FR).

As frações clorofórmio e remanescente apresentaram coloração rosa/violácea, resultado positivo para terpenos quando revelados com anisaldeído sulfúrico.

As frações clorofórmio, acetato de etila e remanescente apresentaram resultados positivos para taninos condensados quando reveladas com cloreto férrico 2% pela formação de coloração verde. Taninos são solúveis em água e em solventes orgânicos polares.

Nenhuma das frações apresentou resultado positivo para antraquinonas, quando reveladas com hidróxido de potássio 5%.

A fração hexano, a fração clorofórmio e a fração remanescente apresentaram resultados positivos para cumarinas quando reveladas com hidróxido de sódio 1% e expostas a luz UV; é possível afirmar que devido ao fato destes metabólitos secundários serem lipofílicos, ocorre uma maior afinidade química do líquido extrator apolar com estes compostos (BAGGIO, 2014).

As frações acetato de etila e remanescente apresentaram resultados positivos para flavonoides, quando reveladas com reativo de NEU e expostas a luz UV. Os resultados positivos para taninos e flavonoides corroboram com os encontrados por Sobottka et al. (2021), onde ocorreu a presença destes metabólitos na fração acetato de etila de *Cupania vernalis;* também condiz com o esquema de partição e separação dos principais metabólitos secundários proposto por Cechinel Filho e Yunes (1998) no qual da fração acetato de etila pode-se extrair flavonoides e taninos.

A fração clorofórmio apresentou bandas alaranjadas, resultado positivo para alcaloides, quando reveladas com reativo de Draggendorf; em sua maioria, os alcaloides são pouco hidrossolúveis, mas os sais formados na reação com ácidos geralmente são solúveis. Em geral essa classe de metabólitos secundários é solúvel em clorofórmio ou outros solventes de baixa polaridade (LACERDA, 2017).

4.4 ESTUDO DAS ATIVIDADES BIOLÓGICAS

4.4.1. Atividade frente *Artemia salina*

Artemia salina é um microcrustáceo de água salgada utilizado como alimento vivo para peixes, facilmente encontrado em lojas especializadas em aquários, que pode ser utilizado para estimar a toxicidade através da concentração letal média (CL_{50}) (MEYER et al., 1982).

É um dos organismos de teste mais valiosos disponíveis para testes de ecotoxicidade, e a pesquisa disponível sugere que várias aplicações da Artemia na toxicologia e ecotoxicologia (RAJABI et al., 2015), incluindo estudos em produtos naturais, como um ensaio preliminar de toxicidade, para rastrear um grande número de extratos e compostos para a descoberta de drogas em plantas medicinais (NTUNGWE N et al., 2020).

A avaliação de toxicidade aguda dos extratos e frações de *Cupania vernalis* em *Artemia salina* estabelece parâmetro para a espécie, uma vez que não foram encontrados relatos de ensaios ecotoxicológicos anteriores para se estabelecer comparações.

A toxicidade de extratos de plantas expressa como valores de CL_{50} é comumente valorizada por comparação com o índice de toxicidade de Meyer ou Clarkson (HAMIDI; JOVANOVA; PANOVSKA, 2014).

De acordo com o índice de toxicidade de Meyer et al. (1982), extratos com CL_{50} < 1000 µg/ml são considerados tóxicos, enquanto extratos com CL_{50} > 1000 µg/ml são considerados não tóxicos. O critério de toxicidade de Clarkson et al. (2004) para a avaliação da toxicidade dos extratos vegetais classifica os extratos pela seguinte ordem: extratos com CL_{50} acima de 1000 µg/ml não são tóxicos, CL_{50} de 500 - 1000 µg/ml são pouco tóxicos, extratos com CL_{50} de 100 - 500 µg/ml são tóxicos a meio, enquanto os extratos com CL_{50} de 0 - 100 µg/ml são altamente tóxicos.

Podemos considerar tóxicas amostras que apresentam CL_{50} < 1000 µg/ml, ou seja, nenhuma das amostras testadas. Todas as frações das partes aéreas não ocasionaram letalidade nos indivíduos no período avaliado, sendo considerados livres de toxicidade.

Os resultados obtidos no ensaio em *Artemia salina* estão descritos na tabela 10.

TABELA 10 - TOXICIDADE DO EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES EM *Artemia salina*

Amostra	CL_{50} µg/mL
EB	> 1.000
FH	> 1.000
FC	> 1.000
FAE	> 1.000
FR	> 1.000

FONTE: A autora (2022).
NOTA (1): Extrato bruto (EB); Fração hexano (FH); Fração clorofórmio (FC); Fração acetato de etila (FAE); Fração remanescente (FR).

Deve-se levar em consideração a variabilidade de metabólitos e componentes biologicamente ativos em plantas, os quais alteram conforme parâmetros ambientais, solo, condições de colheita e armazenamento, disponibilidade hídrica, ataque por patógenos e mesmo a idade da planta, interferem qualitativa e/ou quantitativamente no teor dos princípios ativos presentes no vegetal, o que, por sua vez, refletiria em sua bioatividade (BOTREL et al., 2010; CLARKSON et al., 2004)

Trabalhos adicionais *in vitro* e *in vivo* destinados a compreender os mecanismos de ação da espécie vegetal devem ser realizados para garantir a segurança de seu uso.

4.4.2. Atividade hemolítica *in vitro*

A hemólise é caracterizada por ruptura do eritrócito com liberação de hemoglobina. A hemoglobina livre no plasma é prejudicial à saúde causando sérios danos em órgãos vitais, afetando o sistema cardiovascular e sistema renal, sendo necessário dessa maneira a observação da referida atividade (CARVALHO et al., 2007a).

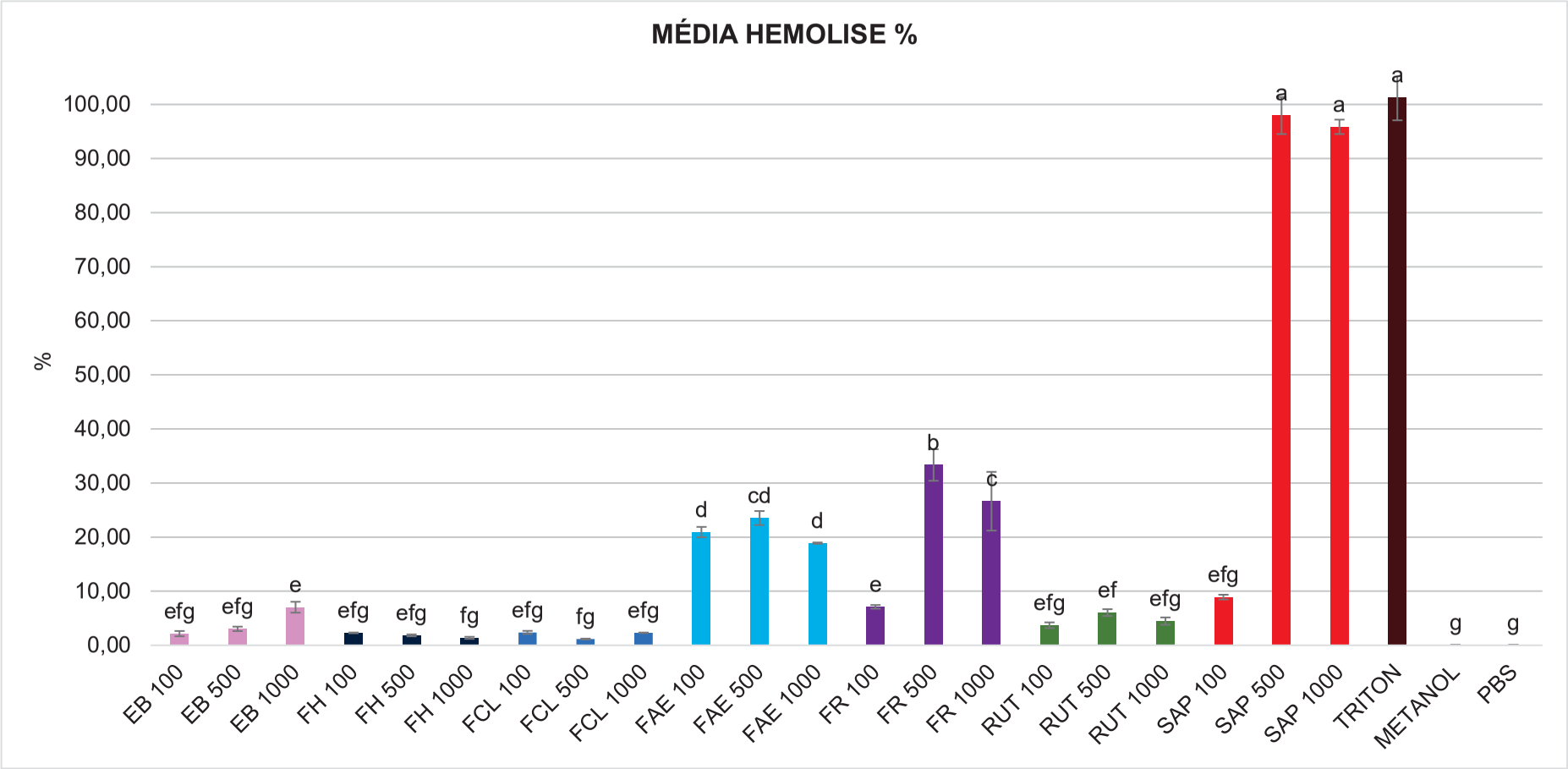
Nesse sentido na triagem de atividades biológicas e toxicológicas de extratos vegetais, faz-se necessária a verificação da atividade hemolítica das espécies estudadas, sendo apontada como um indicador de toxicidade geral e bioatividade, de grande importância na averiguação da ação de extratos de plantas sobre o sangue humano. Para o ensaio de atividade hemolítica, foram testados as frações e o extrato bruto das partes aéreas da *Cupania vernalis*. Os resultados estão descritos na tabela 11 e gráfico 5.

TABELA 11 - AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE HEMOLÍTICA DO EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES DAS PARTES AÉREAS DE *Cupania vernalis*

Amostra	Concentração (µg/ml)	% Média hemólise	Desvio padrão	Teste de Tukey
EB	100	2,16	0,49	efg
	500	3,04	0,41	efg
	1000	7,04	1,01	e
FH	100	2,30	0,07	efg
	500	1,84	0,18	efg
	1000	1,38	0,19	fg
FC	100	2,39	0,28	efg
	500	1,16	0,08	fg
	1000	2,31	0,04	efg
FAE	100	20,93	0,96	d
	500	23,53	1,30	cd
	1000	18,89	0,12	d
FR	100	7,11	0,34	e
	500	33,33	2,91	b
	1000	26,64	5,43	c
Saponina	100	8,91	0,44	efg
	500	97,95	3,42	a
	1000	95,86	1,33	a
Rutina	100	3,71	0,53	efg
	500	6,05	0,63	ef
	1000	4,48	0,67	efg
Metanol	Controle negativo	0,05	0,00	g
PBS	Controle negativo	0,05	0,00	g
Triton 0,1%	Controle positivo	101,3	4,24	a

FONTE: A Autora (2022).
NOTA (1): Extrato bruto (EB); Fração hexano (FH); Fração clorofórmio (FC); Fração acetato de etila (FAE); Fração remanescente (FR).
(2): Amostras classificadas no mesmo grupo não diferem estatisticamente ($p < 0,05$) entre si, pelo teste de Tukey.

GRÁFICO 5 - ATIVIDADE HEMOLÍTICA DO EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES DAS PARTES AÉREAS DA *Cupania vernalis*



FONTE: A Autora (2022).
NOTA (1): Extrato bruto (EB); Fração hexano (FH), Fração clorofórmio (FCL), Fração acetato de etila (FAE), Fração remanescente (FR), Saponina (SAP), Rutina (RUT).
NOTA (2): Amostras classificadas no mesmo grupo não diferem estatisticamente ($p < 0,05$) entre si, pelo teste de Tukey.

É possível observar no gráfico 5 que as amostras não possuem uma resposta dose dependente. A fração remanescente na concentração de 500 µg/ml e 1.000 µg/ml foram as que apresentaram maior porcentagem de hemólise (33,3% e 26,6% respectivamente) em comparação ao controle positivo saponina e triton e as demais frações nas diferentes concentrações.

As frações acetato de etila apresentaram atividade hemolítica na concentração de 100 µg/ml (20,9%), 500 µg/ml (23,5%) e 1.000 µg/ml (18,9%).

Não foi observado hemólise total para nenhuma amostra em nenhuma diluição, quando comparado aos controles positivo 100% (saponina e triton 0,1%), demonstrando que as amostras não foram capazes de promover hemólise total *in vitro*.

O extrato bruto e a fração clorofórmio apresentaram atividade hemolítica fraca quando comparado aos controles positivos 100%.

Segundo Silva (2010), hemólise quantificada em até 20% pode ser considerada uma baixa atividade hemolítica, entre 20 e 50% pode ser considerada uma atividade hemolítica moderada e acima disto a hemólise pode ser considerada alta.

As saponinas são quimicamente um grupo heterogêneo de glicosídeos esteróis e glicosídeos triterpênicos (YANG; SUN; FANG, 2005). Formam complexos com esteróis da membrana eritrocitária, causando aumento da permeabilidade e consequente sua ruptura com perda de hemoglobina (WANG et al., 2007). Este fato é atribuído as características anfifílicas de sua estrutura molecular (VOUTQUENNE et al., 2002).

A presença de saponinas em extratos vegetais é facilmente identificada por sua atividade hemolítica e capacidade de formar espuma estável em solução aquosa (OAKENFULL, 1981).

Os dados prévios sugerem que a hemólise e a citotoxicidade das saponinas esteroidais são dependentes de suas estruturas, especialmente da natureza, número e sequência dos açúcares em sua estrutura (WANG et al., 2007).

Como observado na triagem fitoquímica, através da cromatografia em camada delgada, a fração remanescente apresentou resultado positivo para terpenos justificando a atividade hemolítica encontrada, possivelmente pela presença de saponinas.

A fração remanescente e a fração acetato de etila também apresentaram resultados positivos para taninos e flavonoides. Entre os polifenóis, os taninos são de

grande interesse como compostos antibacterianos devido à sua capacidade de interagir fortemente com proteínas, lipídios e polissacarídeos (OLCHOWIK-GRABAREK et al., 2020).

Um estudo realizado por (FEDELI et al., 2004), avaliou o efeito de alguns taninos sobre eritrócitos de truta expostos ao estresse oxidativo. Os resultados do presente estudo mostram que, em baixas concentrações, os taninos apresentaram efeito protetor sobre os danos ao DNA, enquanto em altas concentrações podem ser genotóxicos. O ácido tânico em contanto com as hemácias de truta em tempos de incubação mais longos, acelerou o evento hemolítico.

Efeitos inibitórios dos flavonoides sobre a hemólise induzida por radicais livres e seus efeitos oxidativos sobre a hemoglobina de eritrócitos bovino foram demonstrados (KITAGAWA; SAKAMOTO; TANO, 2004). Os flavonoides em estudo foram quercetina, seus glicosídeos rutina e quercetina-3-O-glicosídeo, morina e epicatequina. Na presença de radicais livres a esses flavonoides retardaram o início da hemólise de forma dose dependente. Na ausência de radicais livres, os flavonoides relativamente hidrofóbicos quercetina e morina induziram a oxidação da oxihemoglobina a metemoglobina. A oxidação pela quercetina foi especialmente acentuada. Entretanto, essa oxidação não induziu hemólise. Esses achados indicam que flavonoides relativamente hidrofóbicos penetram no citoplasma dos eritrócitos, interagem com a hemoglobina e oxidam o ferro heme (KITAGAWA; SAKAMOTO; TANO, 2004).

4.4.3. Potencial alelopático

A alelopatia, definida por Molisch (1937) é a interação química entre as plantas, onde ocorre a liberação de bioquímicos com influências estimulantes e inibitórias (CHON et al., 2005). Podem ter efeitos benéficos ou prejudiciais nos organismos-alvo (JELASSI et al., 2016).

Os efeitos da alelopatia na germinação e crescimento das plantas podem ocorrer através de uma variedade de mecanismos, incluindo redução da atividade mitótica em raízes e hipocótilos, atividade hormonal suprimida, redução da taxa de absorção de íons, fotossíntese inibida e respiração, formação de proteína inibida, diminuição da permeabilidade das membranas celulares e/ou inibição da ação enzimática (JEFFERSON; PENNACCHIO, 2003).

Efeitos significativos na fotossíntese e respiração são os resultados mais bem caracterizados das interações alelopáticas. Além disso, compostos alopáticos parecem induzir um estresse oxidativo secundário expresso como produção de radical livre aprimorada e indução do sistema antioxidante celular (GNIAZDOWSKA; BOGATEK, 2005).

A germinação e o desenvolvimento da plântula são etapas muito sensíveis a fatores externos devido à ocorrência de uma série de processos fisiológicos, portanto a presença de determinadas substâncias pode gerar um efeito tóxico no processo de germinação e no desenvolvimento durante os primeiros dias, que são fundamentais para a sobrevivência da espécie (SOBRERO; RONCO, 2004).

A principal vantagem do uso da *Lactuca sativa* L. (alface) como espécie alvo no estudo alelopático é sua sensibilidade aos aleloquímicos, mesmo em baixas concentrações, além de apresentar rápida germinação e desenvolvimento da radícula e parte aérea (CARVALHO et al., 2019).

No ensaio de atividade fitotóxica foi avaliada a influência do extrato etanólico bruto e das frações hexano, clorofórmio, acetato de etila e remanescente das partes aéreas da *Cupania vernalis* Cambess. no índice de velocidade de germinação (IVG) em sementes de *Lactuca sativa* L. Os resultados estão demonstrados na tabela 12.

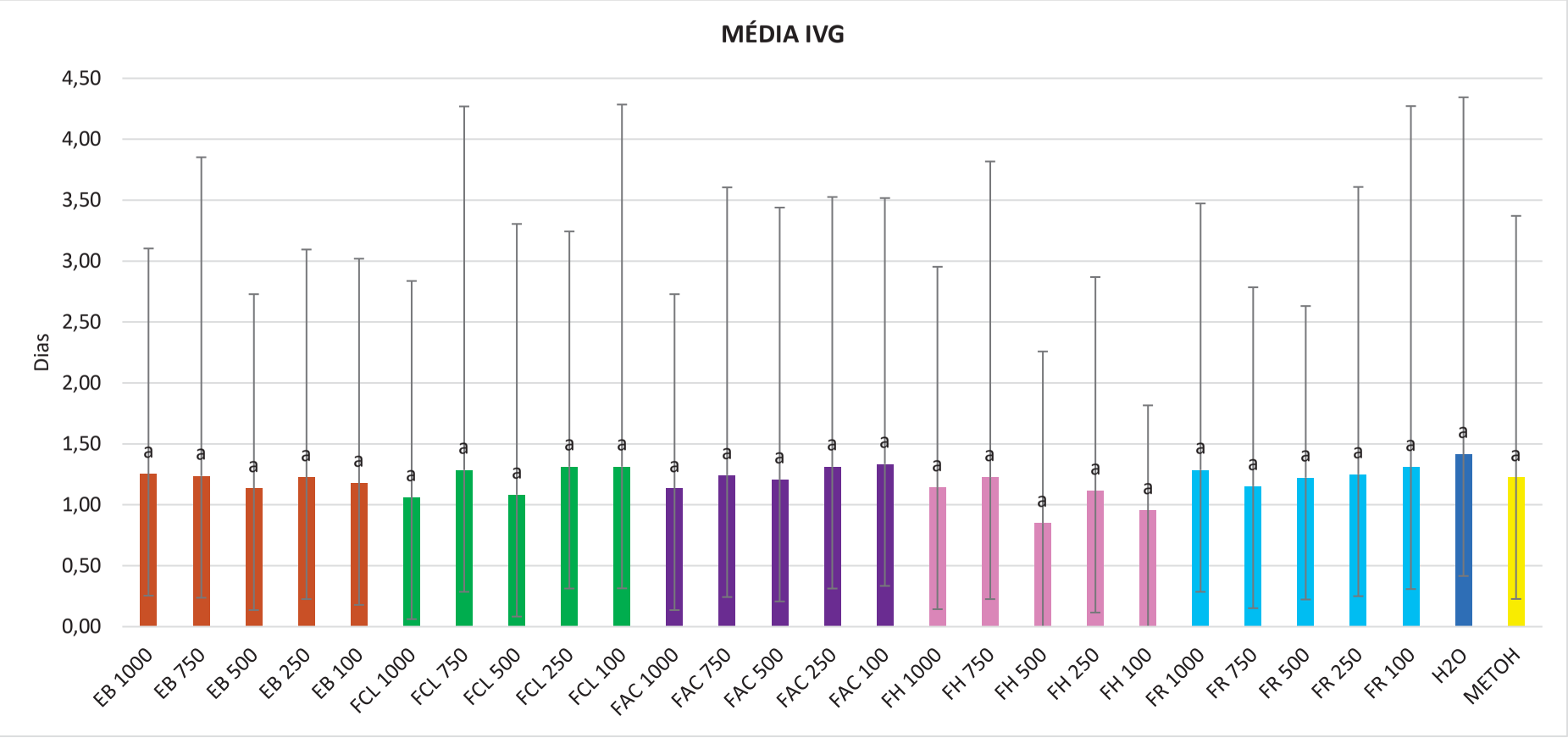
TABELA 12 - INFLUÊNCIA DO EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES NO ÍNDICE DE VELOCIDADE DE GERMINAÇÃO (IVG) DE *Lactuca sativa* L.

Amostra	Concentração (µg/ml)	Média IVG (cm)	Desvio padrão (%)	Teste Tukey
Água		1,42	2,93	a
Metanol		1,23	2,14	a
EB	1000	1,25	1,85	a
	750	1,24	2,62	a
	500	1,14	1,59	a
	250	1,23	1,87	a
	100	1,18	1,84	a
FH	1000	1,14	1,81	a
	750	1,23	2,59	a
	500	0,85	1,41	a
	250	1,12	1,75	a
	100	0,96	0,86	a
FCL	1000	1,06	1,78	a
	750	1,29	2,98	a
	500	1,08	2,22	a
	250	1,31	1,93	a
	100	1,31	2,97	a
FAE	1000	1,14	1,59	a
	750	1,24	2,36	a
	500	1,21	2,23	a
	250	1,31	2,21	a
	100	1,33	2,18	a
FR	1000	1,15	2,19	a
	750	1,22	1,63	a
	500	1,25	1,41	a
	250	1,31	2,36	a
	100	1,15	2,96	a

FONTE: A Autora (2022).
NOTA: Extrato bruto (EB); Fração hexano (FH), Fração clorofórmio (FCL), Fração acetato de etila (FAE), Fração remanescente (FR); Água (H_2O).
(2) Amostras classificadas no mesmo grupo não diferem estatisticamente ($p < 0,05$) entre si, pelo teste de Tukey.

Conforme demostrado no gráfico 6, é possível observar que as sementes da espécie alvo, *Lactuca Sativa* L. (alface), não sofreram influência no processo de velocidade de germinação após contato com o extrato e frações obtidas das partes aéreas de *Cupania vernalis*, quando comparado ao controle. Não se observa diferença significativa do controle em relação a todas as concentrações testadas, que apresentaram valores de IVG inferiores ao tratamento teste mais não apresentaram diferenças entre si. O tempo médio de germinação não apresentou diferença estatística entre os tratamentos segundo o teste de Tukey a 5% de probabilidade.

GRÁFICO 6 - INFLUÊNCIA DO EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES NO ÍNDICE DE VELOCIDADE DE GERMINAÇÃO DE *Lactuca sativa* L.



FONTE: A Autora (2022).
NOTA (1): Extrato bruto (EB); Fração hexano (FH), Fração clorofórmio (FCL), Fração acetato de etila (FAE), Fração remanescente (FR); Água (H_2O), Metanol (MetOH)
NOTA (2) Amostras classificadas no mesmo grupo não diferem estatisticamente ($p < 0,05$) entre si, pelo teste de Tukey.

No ensaio de atividade fitotóxica também foi avaliada a influência do extrato etanólico bruto e das frações hexano, clorofórmio, acetato de etila e remanescente das partes aéreas da *Cupania vernalis* no crescimento da radícula e hipocótilo das plântulas de *Lactuca sativa* L. Os resultados estão demonstrados na tabela 13.

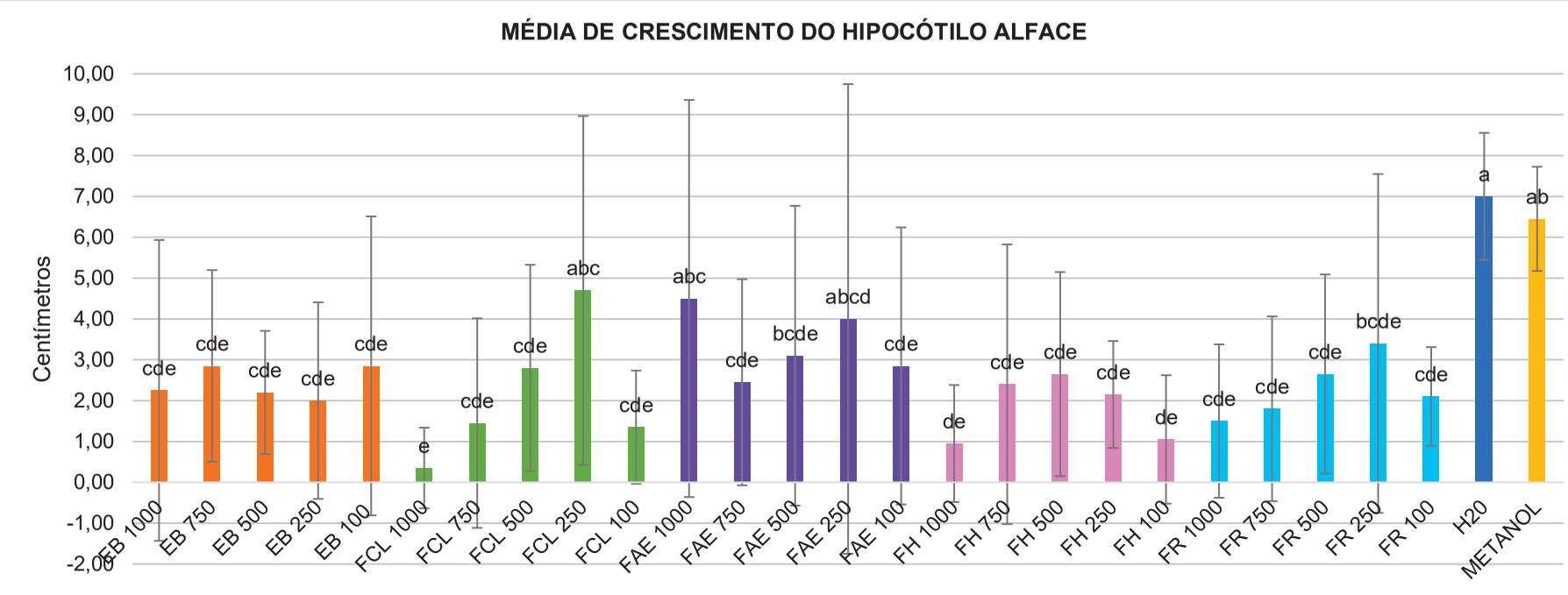
TABELA 13 - INFLUÊNCIA DO EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES NO CRESCIMENTO DA RADÍCULA E HIPOCÓTILO DAS PLÂNTULAS DE *Lactuca sativa* L.

Amostra	Concen-tração (µg/ml)	Radídula (cm)	Desvio padrão (%)	Teste Tukey	Hipocótilo (cm)	Desvio padrão (%)	Teste Tukey
Água		7,00	1,56	a	7,00	1,56	a
Metanol		6,45	1,28	abc	6,45	1,28	ab
EB	1000	3,15	2,21	abcd	2,25	3,68	cde
	750	3,10	1,45	abcd	2,85	2,35	cde
	500	5,45	4,80	abcd	2,20	1,51	cde
	250	3,25	2,12	abcd	2,00	2,41	cde
	100	4,10	2,61	abcd	2,85	3,66	cde
FH	1000	2,00	2,16	d	0,95	1,43	de
	750	2,60	1,85	cd	2,40	3,42	cde
	500	4,20	3,98	abcd	2,65	2,50	cde
	250	3,70	1,30	abcd	2,15	1,31	cde
	100	4,15	3,91	abcd	1,05	1,57	de
FCL	1000	4,90	4,02	abcd	0,35	0,99	e
	750	2,00	2,00	d	1,45	2,56	cde
	500	6,95	5,02	a	2,80	2,53	cde
	250	6,80	4,55	ab	4,70	4,27	abc
	100	2,95	1,47	bcd	1,35	1,39	cde
FAE	1000	3,95	2,74	abcd	4,50	4,86	abc
	750	3,65	1,63	abcd	2,45	2,52	cde
	500	4,10	3,26	abcd	3,10	3,67	bcde
	250	5,30	4,26	abcd	4,00	5,75	abcd
	100	4,15	3,53	abcd	2,85	3,39	cde
FR	1000	4,95	3,22	abcd	1,50	1,88	cde
	750	5,20	6,52	abcd	1,80	2,26	cde
	500	3,55	1,88	abcd	2,65	2,44	cde
	250	6,45	6,04	abc	3,40	4,15	bcde
	100	4,40	0,94	abcd	2,10	1,21	cde

FONTE: A Autora (2022).
NOTA: Extrato bruto (EB); Fração hexano (FH), Fração clorofórmio (FCL), Fração acetato de etila (FAE), Fração remanescente (FR); Água (H_2O).
(2) Amostras classificadas no mesmo grupo não diferem estatisticamente ($p < 0,05$) entre si, pelo teste de Tukey.

No Gráfico 7 estão apresentados os valores médios de crescimento do hipocótilo das plântulas de alface nas diferentes concentrações. Conforme resultados estatísticos, as concentrações inibiram o crescimento do hipocótilo da espécie, quando comparado aos controles positivos, com destaque as frações clorofórmio e hexano na concentração de 1000 µg/ml e fração hexano na concentração de 100 µg/ml.

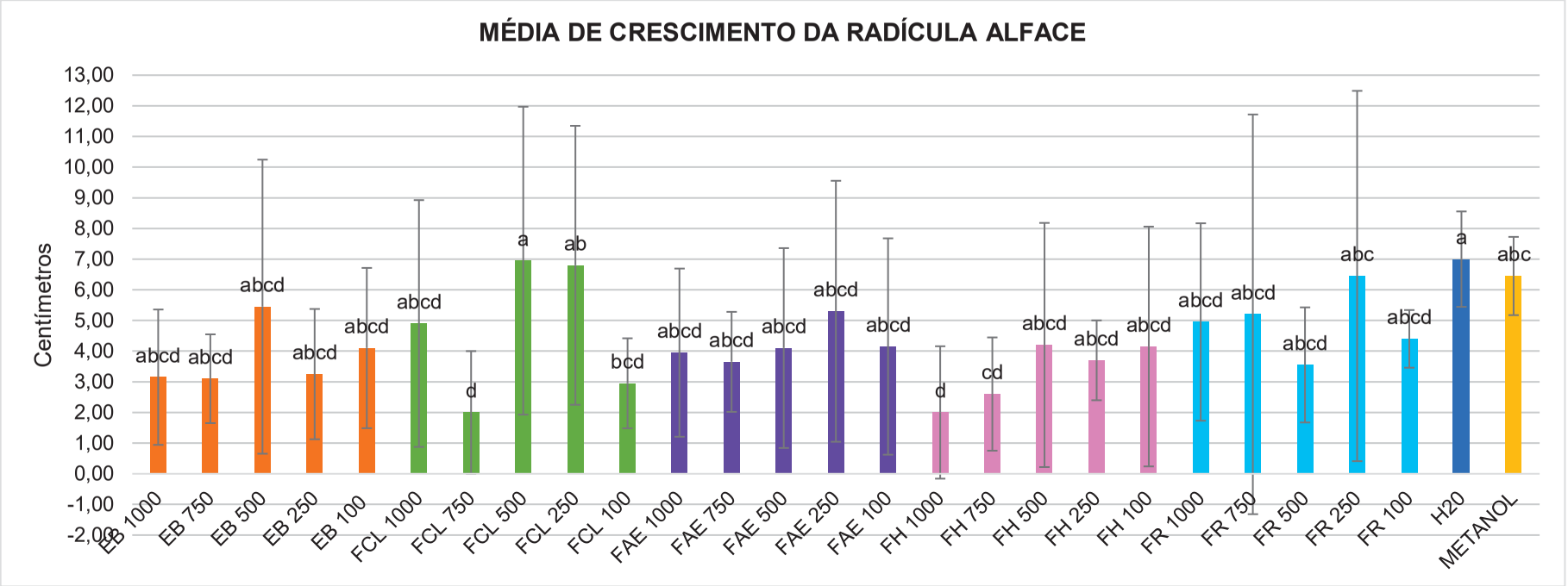
GRÁFICO 7 - INFLUÊNCIA DO EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES NO CRESCIMENTO DO HIPOCÓTILO DE *Lactuca sativa* L.



FONTE: A Autora (2022).
NOTA (1): Extrato bruto (EB); Fração hexano (FH), Fração clorofórmio (FCL), Fração acetato de etila (FAE), Fração remanescente (FR), Água (H_2O).
NOTA (2) Amostras classificadas no mesmo grupo não diferem estatisticamente ($p < 0,05$) entre si, pelo teste de Tukey.

No Gráfico 8 estão apresentados os valores médios de crescimento radicular de plântulas de alface.

GRÁFICO 8 - INFLUÊNCIA DO EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES NO CRESCIMENTO DA RADÍCULA DE *Lactuca sativa* L.



FONTE: A Autora (2022).
NOTA (1): Extrato bruto (EB); Fração hexano (FH), Fração clorofórmio (FCL), Fração acetato de tila (FAE), Fração remanescente (FR), Água (H_2O).
NOTA (2) Amostras classificadas no mesmo grupo não diferem estatisticamente ($p < 0,05$) entre si, pelo teste de Tukey.

As plântulas submetidas a fração clorofórmio na concentração de 500 µg/ml não diferiu significativamente; O crescimento médio das radículas nesta concentração não apresentou diferença estatística entre os tratamentos segundo o teste de Tukey a 5% de probabilidade, quando comparado ao controle água. As demais frações nas diferentes concentrações apresentaram inibição do crescimento da radícula; a fração clorofórmio na concentração 750 µg/ml e a fração hexano na concentração 1.000 µg/ml apresentaram maior potencial de inibição no crescimento.

Pode-se inferir que a atividade de inibição apresentada pelas frações nas diferentes concentrações é devido a presença dos metabólitos secundários, como observado nas análises por CCD.

Embora os aleloquímicos possam pertencer a qualquer uma das classes de metabólitos secundários, terpenoides, alcaloides e compostos fenólicos são classes de compostos alelopáticos mais comumente associados a alelopatia (ACI et al., 2022; TREZZI, 2002). Os monoterpenos são os principais componentes dos óleos essenciais de plantas e são os terpenoides inibidores do crescimento via volatização mais abundantes identificados em plantas (SAMPIETRO, 2001) .

Conforme evidenciado na triagem fitoquímica, a fração clorofórmio apresentou resultado positivo para alcaloides, cumarinas e terpenos e a fração hexano apresentou resultado positivo para cumarinas. Dewick (2002) afirma que os alcaloides, mesmo em pequenas quantidades, são substâncias naturalmente tóxicas. Poucos alcaloides são conhecidos por terem atividade alelopática. Alguns como cocaína, cafeína, cinconina, fisostigmina, quinina, quininidina, estricnina são reconhecidos inibidores da germinação (SAMPIETRO, 2001).

Cumarinas têm sido largamente relacionadas à alelopatia. Compostos como escopolina, escopoletina e furanocumarinas são apontadas como inibidoras potentes tanto do crescimento de plantas como da germinação de sementes (SAMPIETRO, 2001; SOUZA FILHO; ALVES, 2000). O psoraleno, uma furanocumarina isolada de sementes de *Psoralea subacaulis* Purs. pode inibir a germinação de sementes de alface em concentrações inferiores a 0,001 ppm. Esta classe de metabolitos secundários poderiam ser excelentes fontes herbicidas, entretanto existem evidências de citotoxicidade em mamíferos (ALVES; SANTOS, 2002).

Percebe-se que estruturas com características mais apolares promoveram a inibição do crescimento das plântulas.

De forma geral, as raízes mostram-se mais sensíveis à ação dos metabólitos presentes nos extratos quando comparados com as demais estruturas das plântulas, fato este que pode ser explicado pelas raízes estarem em contato direto com o alelo-químicos (LIMA et al., 2011).

Reigosa et al. (1999) sugeriram que a resposta esperada de um processo fisiológico a determinadas concentrações de um aleloquímico é variável, ou seja, a resposta não é previsível de acordo com a concentração.

Percebe-se no presente estudo que o estímulo alelopático sobre as sementes de alface não apresentam uma relação dose-dependente. Cada processo fisiológico apresenta uma resposta diferente a certas doses de cada aleloquímico, não sendo esse efeito necessariamente dose-dependente. Este fenômeno chama-se hormese, no qual uma característica biológica é estimulada por baixas doses de um composto, mas inibida por altas doses do mesmo, sendo considerada uma resposta adaptativa a ruptura da homeostase (JUSSELINO, 2002).

O efeito alelopático pode ser classificado em dois tipos: auto toxicidade – é um mecanismo intraespecífico de alelopatia que ocorre quando uma espécie de planta libera determinada substância química que inibe ou retarda a germinação e o crescimento de plantas da própria espécie; heterotoxicidade – ocorre quando uma substância com efeito fitotóxico é liberada por determinada planta afetando a germinação e o crescimento de plantas de outra espécie (FAVARETTO, 2014).

Cabe ressaltar que os resultados obtidos em laboratório para a alelopatia podem não se confirmar em condições naturais, visto a ocorrência simultânea de fatores bióticos e abióticos que podem interferir nos resultados.

5 CONCLUSÕES

Levando-se em consideração os objetivos propostos para este trabalho e os resultados obtidos podem-se fazer as seguintes conclusões:

- A espécie *Cupania vernalis* Cambess., pertencente à família Sapindaceae, não apresenta descrição na literatura sobre sua composição fitoquímica ou qualquer outro estudo descritivo desse cunho. Em uma pesquisa fitoquímica preliminar por CCD, esta espécie evidenciou a presença de grupos de metabólitos secundários como: alcaloides, flavonoides, terpenos, cumarinas e taninos;
- Em análise utilizando a técnica de DRXm do precipitado cristalino gerado após o particionamento com solvente hexano, identificou-se a presença de um ciclitól denominado L-quebrachitol, um composto cristalino bioativo evidenciado pela primeira vez nesta espécie;
- Na busca de patentes contendo o L-quebrachitol, identificou-se um potencial de pesquisa nacional, quando comparado ao significativo número de patentes depositadas mundialmente;
- O teste de toxicidade não revelou atividade contra o microcrustáceo *Artemia salina*, pois, todas as amostras apresentaram um valor de CL_{50} superior a 1000 µg/ml, o que evidencia a baixa toxicidade das amostras pelo ensaio.
- Não foi observado hemólise para nenhuma amostra em nenhuma diluição, quando comparado ao controle positivo triton 0,1%, demonstrando que as amostras não foram capazes de promover hemólise *in vitro.*
- No estudo alelopático, as sementes da espécie alvo, *Lactuca Sativa* L. (alface), não sofreram influência no processo de velocidade de germinação, porém foi evidenciado inibição do crescimento do hipocótilo e da radícula após contato com o extrato e frações obtidas das partes aéreas de *Cupania vernalis*.

Este trabalho contribuiu para o enriquecimento dos dados a respeito da espécie tendo em vista os resultados obtidos nos ensaios realizados. Mostra-se de suma importância a continuidade dos estudos para o isolamento e identificação de compostos, principalmente devido as frações não apresentaram potencial tóxico e que podem possuir outras atividades biológicas ou farmacológicas relevantes.

REFERÊNCIAS

ABBINA, S.; PARAMBATH, A. PEGylation and its alternatives: A summary. **Engineering of Biomaterials for Drug Delivery Systems: Beyond Polyethylene Glycol**, [s. l.], p. 363–376, 2018. Acesso em: 22 nov. 2023.

ABUBAKAR, A.; HAQUE, M. Preparation of medicinal plants: Basic extraction and fractionation procedures for experimental purposes. **Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences**, [s. l.], v. 12, n. 1, p. 1–10, 2020. Disponível em: <https://journals.lww.com/10.4103/jpbs.JPBS_175_19>

ACI, M. M.; SIDARI, R.; ARANITI, F.; LUPINI, A. Emerging Trends in Allelopathy: A Genetic Perspective for Sustainable Agriculture. **Agronomy**, [s. l.], v. 12, n. 9, p. 2043, 2022. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2073-4395/12/9/2043>

ADEYEMI, T. O.; OGUNDIPE, O. T.; OLOWOKUDEJ, J. D. Species Distribution Modelling of Family Sapindaceae in West Africa. **International Journal of Botany**, [s. l.], v. 8, n. 1, p. 45–49, 2011. Disponível em: <https://www.scialert.net/abstract/?doi=ijb.2012.45.49>

AKIYAMA, T.; OHNARI, M.; SHIMA, H.; OZAKI, S. Total Synthesis of Cyclophellitol from L-Quebrachitol. **Synlett**, [s. l.], v. 1991, n. 11, p. 831–832, 1991. Disponível em: <http://www.thieme-connect.de/DOI/DOI?10.1055/s-1991-20895>

AL-SUOD, H.; LIGOR, M.; RAȚIU, I.-A.; RAFIŃSKA, K.; GÓRECKI, R.; BUSZEWSKI, B. A window on cyclitols: Characterization and analytics of inositols. **Phytochemistry Letters**, [s. l.], v. 20, p. 507–519, 2017. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S187439001630355X>

ALVES, S. de M.; SANTOS, L. da S. Natureza química dos agentes alelopáticos. Em: **Alelopatia: princípios básicos e aspectos gerais**. Belém: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Embrapa Amazônia Oriental. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2002.

ALVES, S. F.; OLIVEIRA, G. F. de L.; JORGE, C. A.; BARROS, G. C.; SILVA, E. M.; PAULA, J. R.; BARA, M. T. F. Prospecção fitoquímica e ensaios de pureza de sete plantas medicinais usadas na fitoterapia ayurvédica. **Revista Eletrônica de Farmácia**, Goiânia, v. IV, n. 2, p. 118–120, 2007.

ASLAM, F.; RASOOL, N.; RIAZ, M.; ZUBAIR, M.; RIZWAN, K.; ABBAS, M.; HUSSAIN BUKHARI, T.; HUSSAIN BUKHARI, I. Antioxidant, hemolytic activitie and GC-MS profiling of *Carissa carandas* roots. **International Journal of Phytomedicine**, [s. l.], v. 3, p. 567–578, 2011. Disponível em: <http://www.arjournals.org/index.php/ijpm/index>

BAGATOLLI, C.; DAGNINO, R. P. Política de estímulo às patentes no Brasil: avançando na contramão? **Revista Economia e Tecnologia**, [s. l.], p. 73–86, 2013. Disponível em: <www.ser.ufpr.br/ret>. Acesso em: 30 set. 2023.

BAGGIO, S. O. **Extração de cumarinas de *Pterocaulon balansae* (Asteraceae)**. 2014. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2014.

BALBINO, E. E.; DIAS, M. F. Farmacovigilância: um passo em direção ao uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, [s. l.], v. 20, n. 6, p. 992–1000, 2010. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-695X2010000600027&lng=pt&nrm=iso&tlng=en>

BARATA, L.; SALLES-FILHO, S.; QUEIROZ, S. **Medicamentos a partir de plantas medicinais no Brasil**. [s.l.]: Academia Brasileira de Ciências, 1998. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/239938091>

BARNES, J.; ANDERSON, L. A.; PHILLIPSON, D. J. **Herbal Medicines**. 3. ed. Chicago: Pharmaceutical Press, 2007.

BELLONZI, T. K.; DUTRA, F. V.; SOUZA, C. N. De; REZENDE, A. A.; GASPARINO, E. C. Pollen types of Sapindaceae from Brazilian forest fragments: apertural variation. **Acta Botanica Brasilica**, [s. l.], v. 34, n. 2, p. 327–341, 2020. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-33062020000200327&tlng=en>

BLAGODATSKI, A.; KLIMENKO, A.; JIA, L.; KATANAEV, V. L. Small Molecule Wnt Pathway Modulators from Natural Sources: History, State of the Art and Perspectives. **Cells 2020, Vol. 9, Page 589**, [s. l.], v. 9, n. 3, p. 589, 2020. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2073-4409/9/3/589/htm>. Acesso em: 15 nov. 2023.

BOSCARDIN, J.; COSTA, E. C.; GARLET, J.; OLIVEIRA, G. G. De. Primeiro registro de predação por microlepidóptero (Lepidoptera, Tortricidae, Olethreutinae) sobre sementes de *Cupania vernalis* Cambess. (Sapindaceae) no Sul do Brasil. **Revista Biotemas**, [s. l.], v. 25, n. 3, 2012. Disponível em: <http://www.periodicos.ufsc.br/index.php/biotemas/article/view/21864>

BOTREL, P. P.; PINTO, J. E. B. P.; FERRAZ, V.; BERTOLUCCI, S. K. V.; FIGUEIREDO, F. C. Teor e composição química do óleo essencial de *Hyptis marrubioides* Epl., Lamiaceae em função da sazonalidade. **Acta Scientiarum. Agronomy**, [s. l.], v. 32, n. 3, p. 533–538, 2010. Disponível em: <http://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciAgron/article/view/3415>

BRASIL. **Farmacopéia Brasileira**. 5. ed. Brasília: ANVISA, 2010. v. 1 Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/farmacopeia/farmacopeia-brasileira/edicoes-anteriores>. Acesso em: 5 jan. 2023.

BRASIL. **Farmacopéia Brasileira**. 6. ed. Brasília. v. 1 Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/farmacopeia/farmacopeia-brasileira>. Acesso em: 5 jan. 2023a.

BRASIL. Farmacopéia Brasileira. Em: 6. ed. Brasília. v. 2 - Monografias.

BRIMA, E. Toxic Elements in Different Medicinal Plants and the Impact on Human Health. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, [s. l.], v. 14, n. 10, p. 1209, 2017. Disponível em: <http://www.mdpi.com/1660-4601/14/10/1209>

BUERKI, S.; CALLMANDER, M. W.; ACEVEDO-RODRIGUEZ, P.; LOWRY, P. P.; MUNZINGER, J.; BAILEY, P.; MAURIN, O.; BREWER, G. E.; EPITAWALAGE, N.; BAKER, W. J.; FOREST, F. An updated infra-familial classification of Sapindaceae based on targeted enrichment data. **American Journal of Botany**, [s. l.], v. 108, n. 7, p. 1234–1251, 2021. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ajb2.1693>

BUERKI, S.; FOREST, F.; ACEVEDO-RODRÍGUEZ, P.; CALLMANDER, M. W.; NYLANDER, J. A. A.; HARRINGTON, M.; SANMARTÍN, I.; KÜPFER, P.; ALVAREZ, N. Plastid and nuclear DNA markers reveal intricate relationships at subfamilial and tribal levels in the soapberry family (Sapindaceae). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, [s. l.], v. 51, n. 2, p. 238–258, 2009. Acesso em: 30 set. 2023.

CALZADA, F.; BAUTISTA, E. Plants used for the treatment of diarrhoea from Mexican flora with amoebicidal and giardicidal activity, and their phytochemical constituents. **Journal of Ethnopharmacology**, [s. l.], v. 253, p. 112676, 2020. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378874119337092>

CARVALHO, E. B.; BORGES, É. L.; CARLOS, L. M. B.; SILVA, M. A. M.; MAGALHÃES, S. M. M.; GOMES, F. V. B. A. F.; CARVALHO, M. J. C.; QUIXADÁ, A. T. S.; PITOMBEIRA, M. H. S. Efeito da bomba de infusão de soluções sobre o grau de hemólise em concentrados de hemácias. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, [s. l.], v. 29, n. 2, 2007. a. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-84842007000200013&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt>

CARVALHO, J. L. de S.; DADALT, R. C.; MIGUEL, M. D.; MIGUEL, O. G. **Processo de obtenção de extratos hidroalcoólicos, extratos secos e derivados do agrião (*Nasturtium officinale*) e espécies medicinais afins, com modificações introduzidas em equipamento Soxhlet para aplicações na indústria, área farmacêutica, cosmética, alimentícia e afins.**, PI 0601703-7 A2, 2007. b.

CARVALHO, M. S. S.; ANDRADE-VIEIRA, L. F.; SANTOS, F. E. Dos; CORREA, F. F.; DAS GRAÇAS CARDOSO, M.; VILELA, L. R. Allelopathic potential and phytochemical screening of ethanolic extracts from five species of *Amaranthus* spp. in the plant model *Lactuca sativa*. **Scientia Horticulturae**, [s. l.], v. 245, p. 90–98, 2019. Acesso em: 15 nov. 2023.

CARVALHO, P. E. R. Cuvatã (*Cupania vernalis*). Em: **Espécies arbóreas brasileira**. Colombo: Embrapa Florestas, 2006. v. 2p. 199–208.

CAVALCANTI, S. B. T.; TELES, H. L.; SILVA, D. H. S.; FURLAN, M.; YOUNG, M. C. M.; BOLZANI, V. S. New tetra-acetylated oligosaccharide diterpene from *Cupania vernalis*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, [s. l.], v. 12, n. 3, p. 413–416, 2001. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-50532001000300014&lng=en&nrm=iso&tlng=en>

CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R. A. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. **Química Nova**, Itajaí, v. 21, n. 1, 1998.

CHENG, L.; RIGGS-SAUTHIER, J. **Multi-arm polymeric prodrug conjugates of Pemetrexed-based compounds**, EP2654795A1, 2013.

CHIDA, N.; YOSHINAGA, M.; TOBE, T.; OGAWA, S. Total synthesis of (−)-PA-48153C (pironetin) utilising l-quebrachitol as a chiral building block. **Chemical Communications**, [s. l.], n. 11, p. 1043–1044, 1997. Disponível em: <http://xlink.rsc.org/?DOI=a701404j>

CHON, S.-U.; JANG, H.-G.; KIM, D.-K.; KIM, Y.-M.; BOO, H.-O.; KIM, Y.-J. Allelopathic potential in lettuce (*Lactuca sativa* L.) plants. **Scientia Horticulturae**, [s. l.], v. 106, n. 3, p. 309–317, 2005. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304423805001585>

CLARKSON, C.; MAHARAJ, V. J.; CROUCH, N. R.; GRACE, O. M.; PILLAY, P.; MATSABISA, M. G.; BHAGWANDIN, N.; SMITH, P. J.; FOLB, P. I. In vitro antiplasmodial activity of medicinal plants native to or naturalised in South Africa. **Journal of Ethnopharmacology**, [s. l.], v. 92, n. 2–3, p. 177–191, 2004. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378874104000728>

Cupania | International Plant Names Index. [s.d.]. Disponível em: <https://www.ipni.org/n/117160-3>. Acesso em: 4 jan. 2024.

DE FEO, V.; DE SIMONE, F.; SENATORE, F. Potential allelochemicals from the essential oil of *Ruta graveolens*. **Phytochemistry**, [s. l.], v. 61, n. 5, p. 573–578, 2002. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0031942202002844>

DE LIMA, M. R. F.; DE SOUZA LUNA, J.; DOS SANTOS, A. F.; DE ANDRADE, M. C. C.; SANT'ANA, A. E. G.; GENET, J.-P.; MARQUEZ, B.; NEUVILLE, L.; MOREAU, N. Anti-bacterial activity of some Brazilian medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, [s. l.], v. 105, n. 1–2, p. 137–147, 2006. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378874105007452>

DE LIMA, S. M. **Inovação, concorrência e crescimento empresarial: teoria e política aplicadas a indústria de fitoterápicos no Brasil**. 2011. Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2011. Disponível em: <https://repositorio.ufpb.br/jspui/handle/tede/4972>. Acesso em: 18 abr. 2023.

DE MESQUITA, M. L.; DE PAULA, J. E.; PESSOA, C.; DE MORAES, M. O.; COSTA-LOTUFO, L. V.; GROUGNET, R.; MICHEL, S.; TILLEQUIN, F.; ESPINDOLA, L. S. Cytotoxic activity of Brazilian Cerrado plants used in traditional medicine against cancer cell lines. **Journal of Ethnopharmacology**, [s. l.], v. 123, n. 3, p. 439–445, 2009.

DE MESQUITA, M. L.; GRELLIER, P.; MAMBU, L.; DE PAULA, J. E.; ESPINDOLA, L. S. In vitro antiplasmodial activity of Brazilian Cerrado plants used as traditional remedies. **Journal of Ethnopharmacology**, [s. l.], v. 110, n. 1, p. 165–170, 2007. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378874106004648>

DE OLINDA, T. M.; LEMOS, T. L. G.; MACHADO, L. L.; RAO, V. S.; SANTOS, F. A. Quebrachitol induced gastroprotection against acute gastric lesions: role of prostaglandins, nitric oxide and K+ ATP channels. **Phytomedicine: international**

journal of phytotherapy and phytopharmacology, [s. l.], v. 15, n. 5, p. 327–33, 2008. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17976970>

DEWICK, P. M. **Medicinal natural products: a biosynthetic aproroach**. 2. ed. England: John Wiley & Sons LTD, 2002.

DIAS, J. 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**, [s. l.], v. 15, n. 3, p. 220–223, 2005. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-695X2005000300011&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt>

DIAS, M.; ROSSINI, C. Bioactive natural products from Sapindaceae deterrent and toxic metabolites against insects. Em: **Insecticides - Pest Engineering**. [s.l.]: InTech, 2012.

DING, H.; YUAN, J.; HUANG, Y.; SONG, Y. **Multi-arm targeting anti-cancer conjugate** 2021.

DOURADO, E. R.; DOCA, K. N. P.; ARAÚJO, T. C. de C. “Raizeiros” na cidade de Anápolis-GO. **Revista Eletrônica de Farmácia Suplemento**, [s. l.], v. 2, n. 2, p. 67–69, 2005.

EMILIANO, S. A.; BALLIANO, T. L. Prospecção de Artigos e Patentes sobre Plantas Medicinais Presentes na Caatinga Brasileira. **Cadernos de Prospecção**, [s. l.], v. 12, n. 3, p. 615, 2019. Disponível em: <https://periodicos.ufba.br/index.php/nit/article/view/27324>

Espacenet – patent search. [s.d.]. Disponível em: <https://worldwide.espacenet.com/>. Acesso em: 30 set. 2023.

ESTATCAMP. **ActionStat**, [s.d.]. Disponível em: <https://www.estatcamp.com/>. Acesso em: 4 jan. 2023.

FALKOWSKI, M.; JAHN-OYAC, A.; ODONNE, G.; FLORA, C.; ESTEVEZ, Y.; TOURÉ, S.; BOULOGNE, I.; ROBINSON, J.-C.; BÉREAU, D.; PETIT, P.; AZAM, D.; COKE, M.; ISSALY, J.; GABORIT, P.; STIEN, D.; EPARVIER, V.; DUSFOUR, I.; HOUËL, E. Towards the optimization of botanical insecticides research: *Aedes aegypti* larvicidal natural products in French Guiana. **Acta Tropica**, [s. l.], v. 201, p. 105179, 2020. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0001706X1930840X>

FAN, S.; WANG, D.; XIE, H.; WANG, H.; QIN, Y.; HU, G.; ZHAO, J. Sugar Transport, Metabolism and Signaling in Fruit Development of *Litchi chinensis* Sonn: A Review. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 22, n. 20, p. 11231, 2021. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1422-0067/22/20/11231>

FAVARETTO, A. **Aspectos alelopáticos, fitoquímicos e anatômicos do campim-annoni (*Eragrostis plana* Nees.)**. 2014. Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2014.

FEDELI, D.; BERRETTINI, M.; GABRYELAK, T.; FALCIONI, G. The effect of some tannins on trout erythrocytes exposed to oxidative stress. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, [s. l.], v. 563, n. 2, p. 89–96, 2004. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1383571804001652>

FERNANDES, W. B.; NAPOLITANO, H. B.; NODA-PEREZ, C.; MARTINS, F. T.; LARIUCCI, C. **Aplicações Tecnológicas da Metodologia Cristalográfica**. [s.l: s.n.].

FERREIRA, D. F. SISVAR: A computer analysis system to fixed effects split plot type designs. **Revista Brasileira de Biometria**, [s. l.], v. 37, n. 4, p. 529–535, 2019. a. Disponível em: <https://biometria.ufla.br/index.php/BBJ/article/view/450>

FERREIRA, L. O. A. **Caracterização físico-química e elucidação estrutural de Bichalconas simétricas**. 2019b. Universidade Federal de Goias, Goiania, 2019. Disponível em: <http://repositorio.bc.ufg.br/tede/handle/tede/9774>. Acesso em: 11 abr. 2023.

FIGUEIREDO, A. B. M. **Desenvolvimento e avaliação de esferas de quitosana/*Dysphania ambrosióides* (L.) & Mosyakin Clements para uma possível aplicação como biomaterial**. 2017. Universidade Federal de Campina Grande, Patos, 2017.

FINNEY, D. J. THE ADJUSTMENT FOR A NATURAL RESPONSE RATE IN PROBIT ANALYSIS. **Annals of Applied Biology**, [s. l.], v. 36, n. 2, p. 187–195, 1949. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1744-7348.1949.tb06408.x>

FONSECA, G. **Aproximación quimioenzimática a la síntesis del anillo central de Bengamidas**. 2005. Universidad de la República Montevideo, Uruguay, 2005.

GACHET, M. S.; KUNERT, O.; KAISER, M.; BRUN, R.; ZEHL, M.; KELLER, W.; MUÑOZ, R. A.; BAUER, R.; SCHUEHLY, W. Antiparasitic compounds from *Cupania cinerea* with activities against *Plasmodium falciparum* and *Trypanosoma brucei rhodesiense*. **Journal of Natural Products**, [s. l.], v. 74, n. 4, p. 559–566, 2011. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/np100415m>

GNIAZDOWSKA, A.; BOGATEK, R. Allelopathic interactions between plants. Multi site action of allelochemicals. **Acta Physiologiae Plantarum**, [s. l.], v. 27, p. 395–407, 2005.

GUARIM NETO, G.; SANTANA, S. R. A família Sapindaceae para a flora do estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. Em: **Simpósio sobre recursos naturais e sócio-econômicos do Pantanal: Os desafios do novo milênio**. Cuiabá. v. 3p. 1–46.

GUARIM NETO, G.; SANTANA, S. R.; DA SILVA, J. V. B. Notas etnobotânicas de espécies de Sapindaceae Jussieu. **Acta bot. bras**, [s. l.], v. 14, n. 3, p. 327–334, 2000.

HAMIDI, M. R.; JOVANOVA, B.; PANOVSKA, K. Toxicological evaluation of the plant products using Brine Shrimp (*Artemia salina* L.) model. **Macedonian pharmaceutical bulletin**. [s.l: s.n.].

HARVEY, A. L. Natural products as a screening resource. **Current Opinion in Chemical Biology**, [s. l.], v. 11, n. 5, p. 480–484, 2007. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1367593107001081>

HEINRICH, M.; BARNES, J.; GIBBONS, S.; WILLIAMSON, E. M. **Fundamentals of Pharmacognosy and Phytotherapy**. 2. ed. [s.l.]: Churchill Livingstone, 2012.

HOFFMANN, D. **Medical herbalism: the science and practice of herbal medicine**. Rochester: Healing Arts Press, 1951.

HOUGHTON, P. J.; HOWES, M.-J.; LEE, C. C.; STEVENTON, G. Uses and abuses of in vitro tests in ethnopharmacology: Visualizing an elephant. **Journal of Ethnopharmacology**, [s. l.], v. 110, n. 3, p. 391–400, 2007. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378874107000402>

IBM CORPORATION. **IBM SPSS Statistics**, 2015. Disponível em: <https://www.ibm.com/support/pages/ibm-spss-statistics-23-documentation>. Acesso em: 4 jan. 2023.

INPI. [s.d.]. Disponível em: <https://busca.inpi.gov.br/pePI/jsp/patentes/PatenteSearchBasico.jsp>. Acesso em: 30 set. 2023.

JEFFERSON, L. V.; PENNACCHIO, M. Allelopathic effects of foliage extracts from four Chenopodiaceae species on seed germination. **Journal of Arid Environments**, [s. l.], v. 55, n. 2, p. 275–285, 2003.

JELASSI, A.; AYEB-ZAKHAMA, A. El; NEJMA, A. Ben; CHAARI, A.; HARZALLAH-SKHIRI, F.; JANNET, H. Ben. Phytochemical composition and allelopathic potential of three Tunisian Acacia species. **Industrial Crops and Products**, [s. l.], v. 83, p. 339–345, 2016. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0926669016300206>

JUDD, W. S.; CAMPBELL, C. S.; KELLOG, E. A.; STEVENS, P. F.; DONOGHUE, M. J. **Sistemática vegetal. Um enfoque filogenético**. 3. ed. [s.l.]: Artmed Editora S.A., 2008.

JUSSELINO, P. F. **Hormese: um pouco de algo perigoso pode ser bom!?** 2002. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2002.

KABERA, J. N.; SEMANA, E.; MUSSA, A. R.; HE, X. Plant secondary metabolites: biosynthesis, classification, function and pharmacological properties. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, [s. l.], v. 2, p. 377–392, 2014.

KARUPPIAH, V.; THIRUNANASAMBANDHAM, R. Quebrachitol from *Rhizophora mucronata* inhibits biofilm formation and virulence production in *Staphylococcus epidermidis* by impairment of initial attachment and intercellular adhesion. **Archives**

of Microbiology, [s. l.], v. 202, n. 6, p. 1327–1340, 2020. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s00203-020-01844-9>

KESHARWANI, P.; GAJBHIYE, V. **Advances in Phytonanotechnology for Treatment of Various Diseases**. Boca Raton: CRC Press, 2023.

KIDDLE, J. J. Quebrachitol: A Versatile Building Block in the Construction of Naturally Occurring Bioactive Materials. **Chemical Reviews**, [s. l.], v. 95, n. 6, p. 2189–2202, 1995. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/cr00038a016>

KITAGAWA, S.; SAKAMOTO, H.; TANO, H. Inhibitory Effects of Flavonoids on Free Radical-Induced Hemolysis and Their Oxidative Effects on Hemoglobin. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, [s. l.], v. 52, n. 8, p. 999–1001, 2004. Disponível em: <http://www.jstage.jst.go.jp/article/cpb/52/8/52_8_999/_article>

KONAKOVA, M.; RIGGS-SAUTHIER, J.; CHARYCH, D. H.; EID, C. N.; FRY, D. G.; LOEHRLEIN, C. F. **Water-Soluble Polymer-Linked Binding Moiety and Drug Compounds**, US2014088021A1, 2014.

LACERDA, R. B. M. **Estudo químico dos alcaloides piperidínicos presentes em *Senna spectabilis* (Fabaceae) e avaliação da atividade leishmanicida**. 2017. Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2017.

LEWAN, L.; ANDERSSON, M.; MORALES-GOMEZ, P. The use of *Artemia Salina* in toxicity testing. **Alternatives to Laboratory Animals**, [s. l.], v. 20, n. 2, p. 297–301, 1992. Disponível em: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/026119299202000222>

LIMA, C. P.; CUNICO, M. M.; MIGUEL, O. G.; MIGUEL, M. D. Efeito dos extratos de duas plantas medicinais do gênero Bidens sobre o crescimento de plântulas de *Lactuca sativa* L. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, [s. l.], v. 32, n. 1, p. 83–87, 2011.

LIMA JR., É. de C.; ALVARENGA, A. A. De; CASTRO, E. M. De; VIEIRA, C. V.; BARBOSA, J. P. R. A. D. Aspectos fisioanatômicos de plantas jovens de *Cupania vernalis* Camb. submetidas a diferentes níveis de sombreamento. **Revista Árvore**, Minas Gerais, v. 30, n. 1, p. 33–41, 2006. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-67622006000100005&lng=pt&tlng=pt>

LIMA, M. J. dos S.; SILVA, M. Y. C. Da; MELO, K. R. De; CHAGAS, B. de F.; ROLIM, L. A.; NETO, P. J. R.; SILVA, R. M. F. Da. Caracterização do extrato seco de *Libidibia ferrea* para terapia antihiperglicemiante. **Brazilian Journal of Development**, [s. l.], v. 6, n. 12, p. 27488–97506, 2020. Disponível em: <https://www.brazilianjournals.com/index.php/BRJD/article/view/21506/17153>

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. São Paulo: Editora Plantarum, 1992.

LUCCA, P. S. R.; ECKERT, R. G.; SMANHOTTO, V.; KUHN, L. M.; MINANTI, L. R. Avaliação farmacognóstica e microbiológica da droga vegetal camomila (*Chamomilla*

recutita L.) comercializada como alimento em Cascavel-Paraná. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, [s. l.], v. 12, n. 2, p. 153–156, 2010.

LUQUE DE CASTRO, M. D.; PRIEGO-CAPOTE, F. Soxhlet extraction: Past and present panacea. **Journal of Chromatography A**, [s. l.], v. 1217, n. 16, p. 2383–2389, 2010.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination—Aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, [s. l.], v. 2, n. 2, p. 176–177, 1962. Acesso em: 2 set. 2023.

MATIAS-PEREIRA, J. A gestão do sistema de proteção à propriedade intelectual no Brasil é consistente? **Revista de Administração Pública**, [s. l.], v. 45, n. 3, p. 567–590, 2011.

MAZZA, M. C. M.; RODIGUERI, H. R.; NAKASHIMA, T.; ZILLER, S. R.; MAZZA, C. A. da Si.; CONTO, A. J.; SOARES, A. de O.; BAGGIO, A. J. **Potencial de aproveitamento medicinal de espécies do sub-bosque dos Bracatingais da região de Curitiba, PR**. 2000. Embrapa, Colombo, 2000.

MENDLEIN, J. D.; BUECHLER, Y. J.; WU, C.-F.; GREVE, J. **Pegylated aspartyl-tRNA synthetase polypeptides**, US2015159148A1, 2015.

MEYER, B.; FERRIGNI, N.; PUTNAM, J.; JACOBSEN, L.; NICHOLS, D.; MCLAUGHLIN, J. Brine Shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. **Planta Medica**, [s. l.], v. 45, n. 05, p. 31–34, 1982. Disponível em: <http://www.thieme-connect.de/DOI/DOI?10.1055/s-2007-971236>

MISHRA, S.; KUMAR, S.; RAMDAS; KHARE, S.; SHUKLA, A.; SHANKER, K.; PAL, A.; KHAN, F.; DAROKAR, M. P. Quebrachitol from *Putranjiva roxburghii* Wall. (Putranjivaceae) a potent antimalarial: Pre-clinical efficacy and its interaction with PfLDH. **Parasitology International**, [s. l.], v. 92, p. 102675, 2023. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1383576922001398>

MOHARAM, B. A.; JANTAN, I.; JALIL, J.; SHAARI, K. Inhibitory effects of Phylligenin and Quebrachitol isolated from *Mitrephora vulpina* on platelet activating factor receptor binding and platelet aggregation. **Molecules**, [s. l.], v. 15, n. 11, p. 7840–7848, 2010. Disponível em: <http://www.mdpi.com/1420-3049/15/11/7840>

MONTEIRO-ALFREDO, T.; MACEDO, M. L. R.; DE PICOLI SOUZA, K.; MATAFOME, P. New Therapeutic Strategies for Obesity and Its Metabolic Sequelae: Brazilian Cerrado as a Unique Biome. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 24, n. 21, p. 15588, 2023.

MOREIRA, A. C.; MÜLLER, A. C. A.; PEREIRA, N.; ANTUNES, A. M. D. S. Pharmaceutical patents on plant derived materials in Brazil: Policy, law and statistics. **World Patent Information**, [s. l.], v. 28, n. 1, p. 34–42, 2006.

NAPOLITANO, D. R.; MINEO, J. R.; DE SOUZA, M. A.; DE PAULA, J. E.; ESPINDOLA, L. S.; ESPINDOLA, F. S. Down-modulation of nitric oxide production in murine macrophages treated with crude plant extracts from the Brazilian Cerrado. **Journal of Ethnopharmacology**, [s. l.], v. 99, n. 1, p. 37–41, 2005.

NOBRE JÚNIOR, H. V.; CUNHA, G. M. A.; MORAES, M. O.; LUCIANA, M. F. D.; OLIVEIRA, R. A.; MAIA, F. D.; NOGUEIRA, M. A. S.; LEMOS, T. L. G.; RAO, V. S. Quebrachitol (2-O-methyl-l-inositol) attenuates 6-hydroxydopamine-induced cytotoxicity in rat fetal mesencephalic cell cultures. **Food and Chemical Toxicology**, [s. l.], v. 44, n. 9, p. 1544–1551, 2006. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0278691506000883>

NTUNGWE N, E.; DOMÍNGUEZ-MARTÍN, E. M.; ROBERTO, A.; TAVARES, J.; ISCA, V. M. S.; PEREIRA, P.; CEBOLA, M.-J.; RIJO, P. Artemia species: An important tool to screen general toxicity samples. **Current Pharmaceutical Design**, [s. l.], v. 26, n. 24, p. 2892–2908, 2020. Disponível em: <https://www.eurekaselect.com/180718/article>

OAKENFULL, D. Saponins in food - A review. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 6, p. 19–40, 1981.

OLCHOWIK-GRABAREK, E.; SEKOWSKI, S.; BITIUCKI, M.; DOBRZYNSKA, I.; SHLYONSKY, V.; IONOV, M.; BURZYNSKI, P.; ROSZKOWSKA, A.; SWIECICKA, I.; ABDULLADJANOVA, N.; ZAMARAEVA, M. Inhibition of interaction between *Staphylococcus aureus* α-hemolysin and erythrocytes membrane by hydrolysable tannins: structure-related activity study. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 10, n. 1, p. 11168, 2020. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41598-020-68030-1>

ORTHEN, B.; POPP, M.; SMIRNOFF, N. Hydroxyl radical scavenging properties of cyclitols. **Proceedings of the Royal Society of Edinburgh. Section B. Biological Sciences**, [s. l.], v. 102, p. 269–272, 1994. Disponível em: <https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S0269727000014226/type/journal_article>

OWCZARCZYK-SACZONEK, A.; LAHUTA, L.; LIGOR, M.; PLACEK, W.; GÓRECKI, R.; BUSZEWSKI, B. The Healing-Promoting Properties of Selected Cyclitols—A Review. **Nutrients**, [s. l.], v. 10, n. 12, p. 1891, 2018. Disponível em: <http://www.mdpi.com/2072-6643/10/12/1891>

PEREIRA, L. de A. **A família Sapindaceae na floresta atlântica do nordeste oriental**. 2014. Mestrado - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2014.

POLEZ, V. L. P.; MAGARELLI, G.; SOUZA, M. L. De; SANCHES, M. M.; RODRIGUES, A. F. O.; ROCHA, T. L. **Controle de qualidade: obtenção e caracterização de produtos vegetais naturais para o controle de pragas**. Brasília.

RAJABI, S.; RAMAZANI, A.; HAMIDI, M.; NAJI, T. *Artemia salina* as a model organism in toxicity assessment of nanoparticles. **DARU Journal of Pharmaceutical Sciences**, [s. l.], v. 23, n. 1, p. 20, 2015. Disponível em: <https://link.springer.com/10.1186/s40199-015-0105-x>

REIGOSA, M. J.; SÁNCHEZ-MOREIRAS, A.; GONZÁLEZ, L. Ecophysiological Approach in Allelopathy. **Critical Reviews in Plant Sciences**, [s. l.], v. 18, n. 5, p. 577–608, 1999. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/07352689991309405>

ROSADO, A. **Sapindaceae Juss. em Remanescente de Floresta Estacional Semidecidual no Sul do Brasil: Estação Ecológica do Caiuá**. 2011. Mestrado - Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2011.

SAMPIETRO, D. A. **Alelopatía: concepto, características, metodología de estudio e importancia**. 2001. Universidad Nacional de Tucumán. Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia, San Miguel de Tucumán, 2001.

SETZER, W. N.; VOGLER, B.; SCHMIDT, J. M.; PETTY, J. L.; HABER, W. A. Isolation of Cupanioside, a Novel Cytotoxic and Antibacterial Long-Chain Fatty Alcohol Glycoside from the Bark of *Cupania glabra*. **Planta Medica**, [s. l.], v. 71, n. 7, p. 686–688, 2005. Disponível em: <http://www.thieme-connect.de/DOI/DOI?10.1055/s-2005-871278>

SILVA, P. A. Da; GONÇALVES, A. P. C.; OLIVEIRA, M. De; CORTEZ, L. E. R. **Controle de qualidade da camomila comercializada em Maringá- Paraná**. Maringá. Disponível em: <http://rdu.unicesumar.edu.br/handle/123456789/6812>. Acesso em: 7 maio. 2023.

SILVA, P. C. B. **Avaliação das atividades antidiarreica e antiespasmódica de *Solanum asterophorum* Mart. (Solanaceae)**. 2010. Mestrado - Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2010.

SOBOTTKA, A. M.; TESSARO, E.; SILVA, S. M. Da; PEDRON, M.; SEFFRIN, L. T. Polyphenol content and antioxidant potencial of *Allophylus edulis* (A. St.-Hil. et al.) Hieron. ex Niederl. and Cupania vernalis Cambess. (Sapindaceae). **Revista Árvore**, [s. l.], v. 45, 2021. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-67622021000100207&tlng=en>

SOBRERO, M. C.; RONCO, A. Ensayo de toxicidad aguda con semillas de lechuga (*Lactuca sativa* L.). [s. l.], 2004.

SOFIDIYA, M. O.; JIMOH, F. O.; ALIERO, A. A.; AFOLAYAN, A. J.; ODUKOYA, O. A.; FAMILONI, O. B. Evaluation of antioxidant and antibacterial properties of six Sapindaceae members. **Journal of Medicinal Plants Research**, [s. l.], v. 6, n. 1, 2012. Disponível em: <http://www.academicjournals.org/JMPR/abstracts/abstracts/abstracts2012/9Jan/Sofidiya%20et%20al.htm>

SOMNER, G. V.; FERRUCCI, M. S. A new species of *Cupania sect. Trigonocarpus* (Sapindaceae) from Brazil. **Botanical Journal of the Linnean Society**, [s. l.], v. 146, n. 2, p. 217–221, 2004. Disponível em: <https://academic.oup.com/botlinnean/article-lookup/doi/10.1111/j.1095-8339.2004.00317.x>

SORGELOOS, P.; REMICHE-VAN DER WIELEN, C.; PERSOONE, G. **The use of *Artemia Nauplii* for toxicity tests - A critical analysis. Ecotoxicology and Environmental Safety**. [s.l.: Harwich and Scott, 1978.

SOUZA, C. A. S.; ALMEIDA, L. N. De; CRUZ, E. dos S.; SILVA, C. M. L.; NASCIMENTO JÚNIOR, J. A. C.; SILVA, F. A. Da; SERAFINI, M. R. Controle de qualidade físico-químico e caracterização fitoquímica das principais plantas

medicinais comercializadas na feira-livre de Lagarto-SE. **Scientia Plena**, [s. l.], v. 13, n. 9, 2017. Disponível em: <https://www.scientiaplena.org.br/sp/article/view/3509>

SOUZA FILHO, A. P. S.; ALVES, S. M. Potencial alelopático de plantas de acapu (*Vouacapoua americana*): efeitos sobre plantas daninhas de pastagens. **Planta Daninha**, [s. l.], v. 18, n. 3, p. 435–441, 2000.

SOUZA, M. T. **Estudo fitoquímico e avaliação da atividade biológica de *Matayba elaeagnoides* Radlk.** 2006. Mestrado - Universidade Federal do Vale de Itajaí, Itajaí, 2006.

SPRENGEL-LIMA, C.; REZENDE, A. A. Sapindaceae do noroeste paulista: lista de espécies e chave de identificação baseada em caracteres vegetativos. **Biota Neotropica**, [s. l.], v. 13, n. 2, p. 270–282, 2013. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1676-06032013000200270&lng=pt&tlng=pt>. Acesso em: 26 ago. 2023.

TREZZI, M. M. **Avaliação do potencial alelopático de genótipos de sorgo**. 2002. Doutorado - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2002.

Tropicos | Name - *Cupania vernalis* Cambess. [s.d.]. Disponível em: <http://legacy.tropicos.org/Name/28600006>. Acesso em: 26 ago. 2023.

TZIVELEKA, L. A.; KONTOYIANNI, C.; SIDERATOU, Z.; TSIOURVAS, D.; PALEOS, C. M. Novel Functional Hyperbranched Polyether Polyols as Prospective Drug Delivery Systems. **Macromolecular Bioscience**, [s. l.], v. 6, n. 2, p. 161–169, 2006. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/mabi.200500181>. Acesso em: 22 nov. 2023.

VALENTE, L. M. M.; ALVES, F. F.; BEZERRA, G. M.; ALMEIDA, M. B. S.; ROSARIO, S. L.; MAZZEI, J. L.; D'AVILA, L. A.; SIANI, A. C. 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**, [s. l.], v. 16, n. 2, p. 216–223, 2006.

VAYSSE, L.; BONFILS, F.; SAINTE-BEUVE, J.; CARTAULT, M. Natural Rubber. Em: **Polymer Science: A Comprehensive Reference**. [s.l.]: Elsevier, 2012. v. 10p. 281–293.

VERONESE, F. M.; PASUT, G. PEGylation, successful approach to drug delivery. **Drug Discovery Today**, [s. l.], v. 10, n. 21, p. 1451–1458, 2005.

VIEGAS, T.; ZHAO, X.; BENTLEY, M. D.; REN, Z. **Multi-arms polymers prodrugs**, US2014323514A1, 2014.

VIJAYAKUMAR, K.; BHARATHIDASAN, V.; MANIGANDAN, V.; JEYAPRAGASH, D. Quebrachitol inhibits biofilm formation and virulence production against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Microbial Pathogenesis**, [s. l.], v. 149, p. 104286, 2020. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0882401020306525>

VOUTQUENNE, L.; LAVAUD, C.; MASSIOT, G.; MEN-OLIVIER, L. Le. Structure-Activity Relationships of Haemolytic Saponins. **Pharmaceutical Biology**, [s. l.], v. 40, n. 4, p. 253–262, 2002. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1076/phbi.40.4.253.8470>

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

WANDERLEY, M. das G. L.; GIULIETTI, A. M.; MELHEM, T. S.; SHEPHERD, G. J. Sapindaceae. Em: **Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo. Instituto de Botânica**. São Paulo: Editora Hucitec, 2009. v. 6.

WANG, D.; ZHANG, S.; CHANG, Z.; KONG, D.-X.; ZUO, Z. Quebrachitol: Global Status and Basic Research. **Natural Products and Bioprospecting**, [s. l.], v. 7, n. 1, p. 113–122, 2017. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s13659-017-0120-3>

WANG, Y.; ZHANG, Y.; ZHU, Z.; ZHU, S.; LI, Y.; LI, M.; YU, B. Exploration of the correlation between the structure, hemolytic activity, and cytotoxicity of steroid saponins. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 15, n. 7, p. 2528–2532, 2007. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0968089607001010>

WATKINS, J. D.; BUECHLER, Y. J.; WU, C.-F.; DO, M.-H.; VASSETOT, A. P.; MENDLEIN, J. D. **PEGylate tyrosil- tRNA synthetase polypeptides**, US2014255378A1, 2011.

WFO Plant List | World Flora Online. [s.d.]. Disponível em: <https://wfoplantlist.org/plant-list/taxon/wfo-0000629654-2023-06?page=1>. Acesso em: 26 ago. 2023.

WHO. **Regulatory Situation of Herbal Medicines: A worldwide Review.** Geneva. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/63801>. Acesso em: 21 fev. 2022.

WU, Z.-C.; ZHANG, J.-Q.; ZHAO, J.-T.; LI, J.-G.; HUANG, X.-M.; WANG, H.-C. Biosynthesis of quebrachitol, a transportable photosynthate, in *Litchi chinensis*. **Journal of Experimental Botany**, [s. l.], v. 69, n. 7, p. 1649–1661, 2018. Disponível em: <https://academic.oup.com/jxb/article/69/7/1649/4770203>

YANG, Z.-G.; SUN, H.-X.; FANG, W.-H. Hemolytic activity and adjuvant effect of *Astragalus membranaceus* saponins (AMS) on the immune responses to ovalbumin in mice. **Vaccine**, [s. l.], v. 23, n. 44, p. 5196–5203, 2005. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0264410X05006043>

YODTHONG, T.; KEDJARUNE-LEGGAT, U.; SMYTHE, C.; WITITSUWANNAKUL, R.; PITAKPORNPREECHA, T. L-quebrachitol promotes the proliferation, differentiation, and mineralization of MC3T3-E1 cells: Involvement of the BMP-2/RUnx2/MAPK/Wnt/β-catenin signaling pathway. **Molecules**, [s. l.], v. 23, n. 12, 2018.

ZAMORA-MARTINEZ, M. C.; POLA, C. N. de P. Medicinal plants used in some rural populations of Oaxaca, Puebla and Veracruz, Mexico. **Journal of Ethnopharmacology**, [s. l.], v. 35, p. 229–257, 1992.