

Autores | Authors

Marley Garcia Silva*
[marley.garcia@ifb.edu.br]

Tiago Campelo Vieira
Corrêa**
[tiagocvcorrea@gmail.com]

Alana Cardoso Ferreira***
[lanacardosoferreira@gmail.com]

Ana Paula Leis Rodrigues
de Oliveira****
[ana.leis@ifsudestemg.edu.br]

Gabriel Henrique Horta de
Oliveira*****
[gabriel.oliveira@ifsudestemg.edu.br]

José Clóvis do Prado
Júnior*****
[jcprado@fcrp.usp.br]

CARACTERIZAÇÃO E ATIVIDADE TRIPANOCIDA *IN VITRO* DAS FRAÇÕES HEXÂNICA E ETANÓLICA OBTIDAS DE CARAPIÁ (*DORSTENIA ASAROIDES* HOOK)

CHARACTERIZATION AND TRYPANOCIDAL ACTIVITY OF HEXANIC AND ETHANOLIC FRACTIONS OBTAINED FROM CARAPIÁ (*DORSTENIA ASAROIDES* HOOK)

Resumo: O carapiá (*Dorstenia asaroides* - Moraceae) é uma planta muito utilizada na medicina popular através de formulações tradicionais como febrífugo, emenagogo, antiofídico, tônico, analgésico, anti-inflamatório, diurético, sudorífero, estimulante digestivo, no tratamento de doenças de pele, de diarreia e reumatismo. Como procedimento analítico foram obtidas duas frações orgânicas (Fração Hexânica – FrHex e Fração Etanólica – FrEtOH), com vistas à análise da atividade biológica contra *T. cruzi*. Assim, as frações FrHex e FrEtOH foram submetidas a testes de atividade tripanocida e, para tanto, utilizou-se a cepa Y macrofagotrófica de *Trypanosoma cruzi* e concentrações de 0,5; 2,0; 8,0; 32 e 128 µg/mL para cada fração e para o Benzonidazol, utilizado como controle positivo. Os testes de atividade antiparasitária mostraram que a FrHex na concentração de 128 µg/mL apresentou atividade tripanocida mais eficiente, aqui representada por uma menor DO (densidade óptica), estatisticamente significativa quando comparada à DO da fração etanólica na mesma concentração. Diante deste resultado, a FrHex foi submetida a análise de seu perfil químico, por meio de Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG/EM – Shimadzu CG 17A), onde foram identificadas 10 substâncias mais relevantes, do universo de 106 detectadas na fração. Destaca-se a presença de bergapteno como um dos componentes majoritários e uma das substâncias que caracterizam a espécie *Dorstenia*. Os resultados deste trabalho contribuem para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas das substâncias presentes na fração hexânica para um possível tratamento coadjuvante para a Doença de Chagas.

Palavras-chave: doença de Chagas, bergapteno, CG/EM.

Abstract: *Dorstenia asaroides* – Moraceae, also known as “carapiá” is a plant with great folk medicine value. This plant have several reports about its activities, as febrifuge, emenagogue, antiophidic, tonic, analgesic, anti-inflammatory, diuretic, sweat, digestive stimulant, in the treatment of skin diseases, diarrhea and rheumatism. As a technical chemical procedure, two organic fractions of rhizomes of *D. asaroides* were obtained (Hexanic fraction – FrHex and Ethanolic fraction – FrEtOH) to trypanocidal activity tests. The trypanocidal test was performed with macrophagotropic Y strain of *Trypanosoma cruzi* at the concentrations of 0.5; 2.0; 8.0; 32 and 128 µg/mL for each fraction (FrHex and FrEtOH) and Benzonidazole, used as a positive control. The hexanic fraction with concentration 128 µg/mL showed strong trypanocidal activity, here represented by a lower optical density (OD), statistically significant when we compared to OD of the ethanolic fraction and positive control Benzonidazole. According this result, the chemical profile of FrHex was carried by gas chromatography coupled to mass spectra (GC/MS). Ten compounds in the FrHex were identified, out of the universe of 106 detected in the whole fraction. One of them, the bergapten, is a major component and characterizes the specie *Dorstenia*. Our data allows the development of new therapeutic strategies for the substances present in the hexane fraction for a possible co-adjuvant treatment for Chagas' disease together with the substance now used.

Keywords: Chagas disease, bergapten, CG/MS.

Recebido em: 05/05/2020

Aceito em: 22/10/2021

INTRODUÇÃO

A investigação de compostos biologicamente ativos, a partir de plantas, contribui significativamente para a descoberta de novos fármacos. As plantas são fonte de substâncias potencialmente ativas, em função de um rico metabolismo secundário existente nestas espécies. Assim, os produtos naturais têm emergido como nova fonte de recursos, permitindo a identificação de compostos ativos de interesse geral, através da produção de extratos orgânicos e posterior fracionamento destes (NEWMAN et al., 2003).

O uso de plantas com fins medicinais tem sido preconizado pela Organização Mundial da Saúde (OMS), quando foram definidos os procedimentos associados à Medicina Alternativa e Complementar (MAC). Tais procedimentos incluem o uso terapêutico de ervas medicinais como uma forma de equilíbrio e de saúde. É importante levar em consideração que a opção pelo uso de uma planta medicinal pode estar associada a tradições ou questões sociais (ZENI et al., 2017).

O carapiá (*Dorstenia asaroides* - Moraceae) é uma planta muito utilizada na medicina popular, por meio de formulações tradicionais locais, como febrífugo, emenagogo, anti-oftálmico, tônico, analgésico, anti-inflamatório, diurético, sudorífero, estimulante digestivo, no tratamento de doenças de pele, de diarreia e reumatismo (PENA, 1946; LIFCHITZ, 1981; CRUZ, 1982; CACERES et al., 2001; CARDOSO et al., 2002; ABEGAZ et al., 2004; CELEGHINI et al., 2007).

Embora na literatura não exista dados amplos acerca desta espécie, estudos mostraram que as propriedades do carapiá estão relacionadas a atividade analgésica, anti-inflamatória, atividade antileishmania, atividade antioxidante, atividade citotóxica, atividade giardicida, efeitos anti-hipertensivos e anticolesterolêmico. Além disto, em termos químicos, várias atividades foram relacionadas à presença de furanocumarinas, comumente presente nestas espécies (BALESTRINI et al., 2008).

A busca de substâncias químicas de origem natural e que sejam efetivas para o tratamento da doença de Chagas é algo desafiador. Os agentes quimioterápicos anti *T. cruzi* atualmente disponíveis Nifurtimox e Benznidazol são efetivos apenas na fase inicial da doença, apresentam baixa eficácia, alta toxicidade e ausência de atividade tripanocida durante a fase crônica da doença, não proporcionando uma completa eliminação dos parasitas teciduais em pacientes cronicamente infectados, (BRINGMANN et al., 2004). Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar o processo de extração das fra-

ções orgânicas produzidas a partir de rizomas de carapiá, bem como testar sua capacidade tripanocida *in vitro*.

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal

O material vegetal foi obtido a partir de coleta realizada em área privada no norte de Minas Gerais (região: 15°31'15"/42°31'15'). O material foi identificado e enviado ao Laboratório de Química de Produtos Naturais do Instituto Federal de Brasília, *campus* Gama.

A amostra dos rizomas de *D. asaroides* foi lavada e seca à temperatura ambiente. Após completamente seca, os rizomas foram acondicionados em bandejas de alumínio para as análises posteriores (produção das frações, ensaios para atividade tripanocida e análise cromatográfica).

Obtenção de extratos em hexano e etanol

A massa seca e triturada (40g) de rizomas de *D. asaroides* foi submetida ao processo de extração com solvente Etanol (PA), por meio da técnica Soxhlet. Decorrido o período de extração (90 minutos), o etanol foi eliminado por meio de evaporação rotativa a baixa pressão, obtendo-se a fração em Etanol (FrEtOH). Foi produzida também uma amostra de extrato em Hexano (PA), utilizando 40,0g de rizomas de carapiá, da mesma procedência e utilizando o mesmo protocolo experimental. Após o processo extrativo e de eliminação do solvente, obteve-se a fração em hexano (FrHex).

Testes de atividade tripanocida *in vitro*

Para avaliação da atividade tripanocida, utilizou-se a cepa Y macrofagotrófica de *Trypanosoma cruzi*. O ensaio foi realizado utilizando sangue de camundongos albinos (Swiss) infectados, obtidos por punção cardíaca no pico parasitêmico (sétimo dia de infecção). O sangue infectado foi diluído com o sangue de camundongo sadio e soro bovino fetal, obtendo-se uma concentração final de sangue a 70% com 100000 formas tripomastigotas por mililitro. Os testes de atividade tripanocida foram realizados em placas de microtitulação de 96 poços estéreis e as leituras realizadas em espectrofotômetro (para mensuração da densidade ótica).

As frações obtidas de *Dorstenia asaroides* (FrEtOH e FrHex) foram testados nas concentrações de 0,5; 2,0; 8,0; 32 e 128 µg/mL (concentração final no poço). O material foi incubado a 4 °C por 24 horas, sob agitação constante. Após o

período de incubação, a atividade tripanocida foi estimada por meio da leitura da densidade ótica das amostras a 570 nm e comparação com as leituras correspondentes ao controle positivo, Benzonidazol[®]. Este medicamento foi utilizado nas mesmas concentrações das amostras, de modo a ter um padrão de comparação. Como controle negativo, utilizou-se solução de dimetilsulfóxido (DMSO) a 5%, meio com o qual as amostras foram solubilizadas, além das leituras de absorvâncias do meio de cultura, do meio contendo as células e do meio contendo as células e parasitas (*T. cruzi*). Os ensaios de atividade tripanocida foram feitos em triplicata e realizados com a colaboração do Laboratório de Parasitologia, da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto (USP).

Análise química por meio de cromatografia gasosa acoplada a espectro de massas (CG/EM)

O estudo químico dos extratos obtidos de *Dorstenia asaroides* foi realizado na Central de Cromatografia e Espectrometria de Massas (USP – Ribeirão Preto). Para análise química utilizou-se Cromatógrafo Shimadzu CG – 17A, com detector seletivo de massa, modelo QP 2010, sob as seguintes condições experimentais: coluna EN5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm), programação da coluna com temperatura variando de 60 a 240° C, sendo acrescidos 3 °C a cada minuto e arraste com gás hélio a um fluxo de 1,5 mL/min. Os componentes químicos presentes na amostra foram identificados pela análise dos espectros de massas obtidos da base de dados WILEY7, FFNSCL3 e NIST08. Calculou-se também do índice de retenção de Kovats (IK), baseado nos tempos de retenção das substâncias e curva padrão de hidrocarbonetos, obtida em paralelo à análise da fração. Os resultados foram comparados com a literatura especializada (ADAMS, 2017).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Obtenção das frações hexânica e etanólica dos rizomas de carapiá

Através do método de Soxhlet os rizomas de carapiá foram analisados, sendo obtidas duas frações orgânicas, uma hexânica e outra etanólica, que foram posteriormente utilizadas para os testes de atividade tripanocida e perfil químico.

O método Soxhlet mostrou-se eficiente para os solventes utilizados. A vantagem desta técnica é que permite a reciclagem do solvente, promovendo uma extração exaustiva e com melhor eficiência. Por outro lado, é importante que as tempera-

turas utilizadas na extração sejam controladas, de modo a não interferir na composição da fração, uma vez que as substâncias presentes podem, eventualmente, sofrer alterações estruturais. Esta técnica é comumente utilizada em diferentes materiais e tipos de solvente, podendo ser altamente eficiente para a extração de óleos fixos (CAVALCANTI, SOUSA, HAMAWAKI, 2011), princípios ativos de ginseng (FLORES et al, 2009), extração para análise de contaminantes em solos (HOWTHORNE et al., 2000) e tantas outras aplicações na química de produtos naturais.

Atividade tripanocida

A atividade tripanocida das frações hexânica e etanólica (FrHex e FrEtOH) foi avaliada quanto a sua potencialidade em causar a lise das formas tripomastigotas sanguíneas de *Trypanosoma cruzi*. O gráfico da figura 1 mostra as leituras de absorvância (densidade ótica) das frações FrHex e FrEtOH em comparação como padrão positivo de Benzonidazol[®] e controles negativos, expressos por DMSO 5%, meio de cultura de células e parasitas. Os dados foram expressos em absorvância, uma vez que a intensidade do grau de absorção de luz implica no grau de atividade da amostra. Para todas as análises utilizou-se o benzonidazol como controle positivo e concentrações de 0,5; 2,0; 8,0; 32 e 128 µg/mL.

De acordo com os resultados apresentados no gráfico da figura 1, verificou-se que a fração hexânica (FrHex) exibiu melhor atividade tripanocida quando comparado à fração etanólica (FrEtOH), especialmente nas concentrações de 32,0 e 128 µg/mL. Isto foi demonstrado ao analisarmos a intensidade de absorção das frações e do controle positivo. A menor intensidade de absorção, com valores próximos ao do controle positivo, é um indicativo das potencialidades da fração, em relação à lise parasitária das formas de *T. cruzi*. Verificou-se ainda que o DMSO 5% utilizado para solubilizar os extratos não interferiu na lise parasitária, considerando valores de DO obtidos para este controle.

Atividade farmacológica já foi identificada em extratos metanólicos de rizomas de *Dorstenia barnimiana*, Um estudo demonstrou a ação destas frações contra cepas de *T. cruzi* e *T. brucei* (grupo africano), além de ação antiprotozoária contra *Plasmodium falciparum* e *L. infantum* (PENICHE-PAVIA, 2018). Os mesmos autores ressaltam ainda que extratos provenientes de outras espécies de *Dorstenia* têm significativa atividade contra *Giardia lamblia*, *Leishmania mexicana*, *L. tropica* e *L. major*. Em outro estudo, verificou-se que extratos metanólicos de rizomas de *Dorstenia contrajerva* tiveram efeito contra formas amastigotas axênicas de *L. mexicana*, indicando a pre-

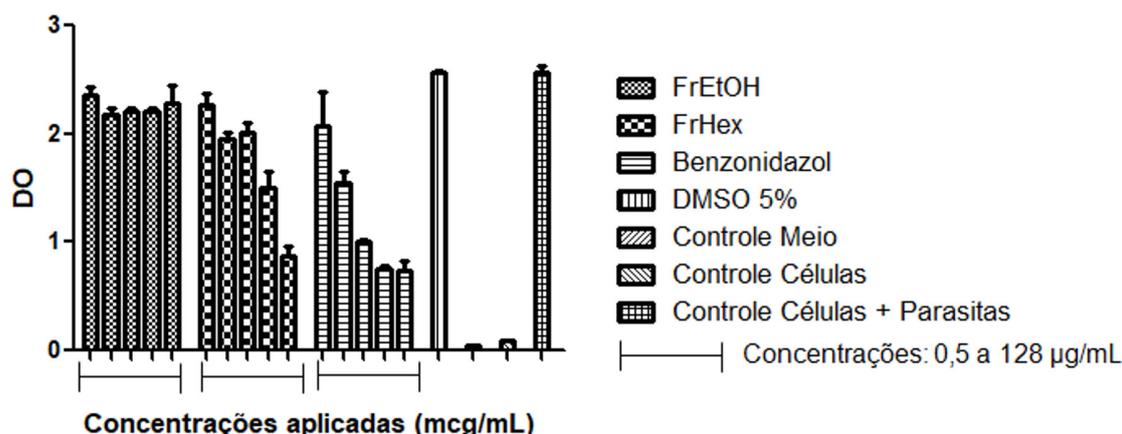


Figura 1. Densidades óticas a 570 nm observadas quando frações etanólica (FrEtOH) e hexânica (FrHex) de carapiá foram testadas em meio contendo formas tripomastigotas sanguíneas de *T. cruzi*. Os testes foram confrontados com análise do padrão de Benzonidazol e controles negativos DMSO 5%, Meio de cultura, Células e Controle inoculado (células + parasitas). Fonte: resultados experimentais.

sença de compostos ativos nesta espécie vegetal (CARRILO-AKÉ et al., 2021). Um estudo conduzido por D'Angelis et al. (2012) mostrou que frações obtidas com o uso de hexano, acetato de etila e clorofórmio de rizomas de *D. asaroides* foi capaz de inibir o crescimento de *Streptococcus mutans*, contribuindo para redução de formação de biofilme bacteriano. Esses trabalhos acima citados corroboram indiretamente com os dados por nós obtidos.

A fração em hexano (FrHex) foi analisada quanto a sua composição química, por meio de cromatografia gasosa acoplada a espectro de massas (CG/EM). A escolha desta fração foi baseada nos melhores resultados de atividade tripanocida, em comparação com a fração etanólica. Embora seja um extrato com alto grau de complexidade, a análise química permitiu a identificação de algumas classes de substâncias presentes e,

com isto, reforçam a correlação entre a base química e atividade biológica.

A identificação destes compostos foi baseada nos tempos de retenção observados (CG/EM) e em dados constantes nas bases WILEY7, FFNSC1.3 e NIST08. Além disto, a análise química é balizada pela comparação com uma curva padrão, composta por hidrocarbonetos diversos, cujo tempo de retenção servirá de base para o cálculo do Índice de Kovats e posterior identificação das substâncias (ADAMS, 2017).

Apesar da presença de um número considerável de substâncias na FrHex, foi possível fazer a identificação prévia de 10 substâncias. A figura 2 apresenta o cromatograma desta fração, com a complexidade típica de extratos desta natureza, mas que demonstra a presença de algumas substâncias majoritárias.

Para cada substância detectada por meio da cromatografia gasosa foi gerado um espectro de massas e, a partir deste, foi

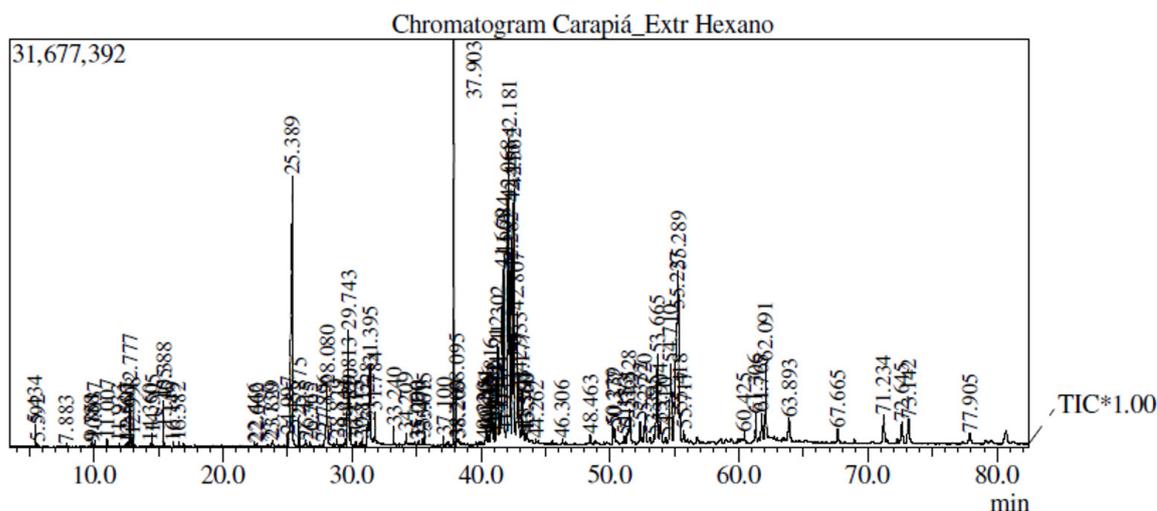


Figura 2. Cromatograma da FrHex obtida de cromatógrafo gasoso Shimadzu CG-17A, modelo QP 2010, coluna DB-5MS - Agilent Technologies (30m x 0.25mm x 0.25µm). Injeção do tipo Split, pressão 95,9 KPa e fluxo 11,4 mL/min.

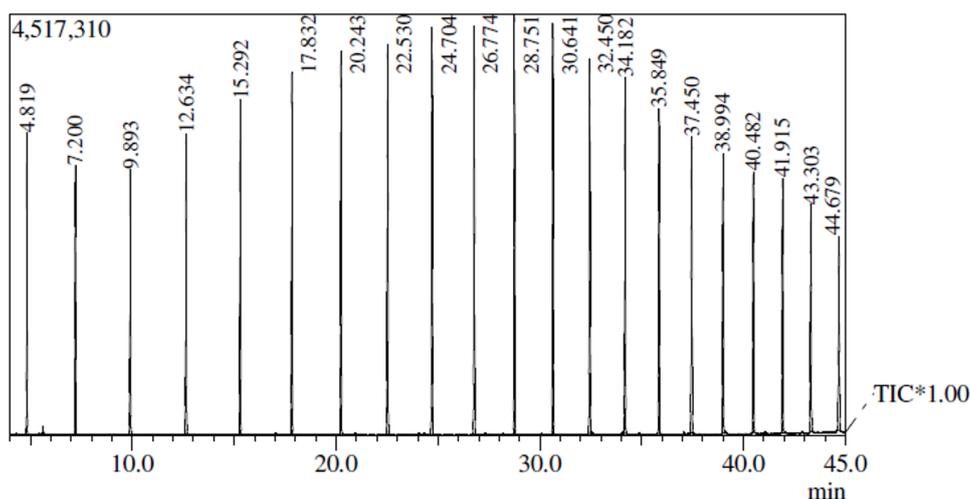


Figura 3. Padrão de hidrocarbonetos para determinação do IK. Dados obtidos em paralelo à análise da FrHex de *D. asaroides*. Condições: CG/EM, coluna EN5MS (30m x 0,25mm x 0,25µm, SGE Analytical Science).

Tabela 1 - Tabela de identificação dos componentes na fração hexânica (FrHex) de *D. asaroides* (carapiá).

| Pico | ¹ TR (min) | Área (%) | ² IK calculado | ³ IK tabelado | Identificação |
|------|-----------------------|----------|---------------------------|--------------------------|------------------------|
| 1 | 5,434 | 0,25 | 1030 | 1024 | <i>p</i> -cimeno |
| 2 | 5,592 | 0,06 | 1037 | 1031 | Álcool benzílico |
| 4 | 9,788 | 0,04 | 1197 | 1188 | ⁴ ni |
| 7 | 11,007 | 0,09 | 1244 | 1237 | Ascaridol |
| 9 | 12,560 | 0,04 | 1298 | 1290 | Timol |
| 14 | 14,505 | 0,15 | 1372 | 1371 | Ciclosativeno |
| 16 | 15,405 | 0,06 | 1385 | 1398 | ⁴ ni |
| 17 | 16,149 | 0,05 | 1422 | 1434 | ⁴ ni |
| 31 | 28,080 | 1,44 | 1967 | 1960 | Ácido hexanoidióico |
| 34 | 29,743 | 2,76 | 2053 | 2057 | Bergapteno |
| 37 | 30,313 | 0,05 | 2083 | 2077 | Octanodecanol |
| 39 | 31,228 | 0,65 | 2133 | 2133 | Ácido Octadecadienoico |
| 41 | 31,784 | 0,47 | 2164 | 2142 | Ácido oléico |

¹TR: Tempo de retenção das substâncias detectadas na FrHex; ²IK calculado: Índice de Kovats calculado para substância; ³IK tabelado: Índice de Kovats padrão, conforme Adams (2017); ⁴ni: indefinido.

realizada a proposição estrutural prévia da substância baseada nos padrões das bibliotecas WILEY7, FFNSC1.3 e NIST08. Contudo, a definição das estruturas químicas presentes na FrHex ocorreu por meio do cálculo do Índice de Kovats (IK) para cada substância, conforme ADAMS (2017).

A tabela 1 apresenta os resultados compilados da identificação estrutural das substâncias na fração, considerando o Tempo de Retenção (TR) obtido no cromatograma (figura 2) e o IK calculado para grupo de substâncias selecionadas, baseado na curva padrão de 21 hidrocarbonetos com número de carbonos crescente (figura 3).

Os dados da tabela 1 mostram que o bergapteno (5-metoxipsoraleno, figura 4) é um dos componentes majoritários encontrados na FrHex e esta identificação confirma outros estu-

dos fitoquímicos de espécies deste gênero. Vilegas et al. (1997) identificaram diversas furanocumarinas em *D. asaroides*, destacando-se o bergapteno, psoraleno, isobergapteno, pimiperlina e isopimiperlina. Além disto, estas substâncias foram também encontradas em outras espécies, originárias da América Latina.

A figura 5 apresenta o espectro de massas obtido da substância identificada como bergapteno, presente na FrHex. A identificação foi confirmada com base no cálculo do Índice de Retenção de Kovats (IK = 2053).

O bergapteno integra a família dos compostos furanocumarínicos naturais com importantes efeitos biológicos e valor medicinal. Foi reportada uma série de ações farmacológicas desta substância, que incluem atividades anticancerígena, antimicrobiana, neuroprotetora, antiinflamatória, fotossensibili-

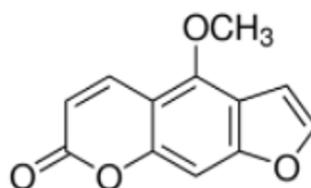


Figura 4. Estrutura química do bergapteno (5-metoxipsoraleno), um dos componentes majoritários encontrados na FrHex de *D. asaroides*. Massa Molar: 216,19 g/mol.

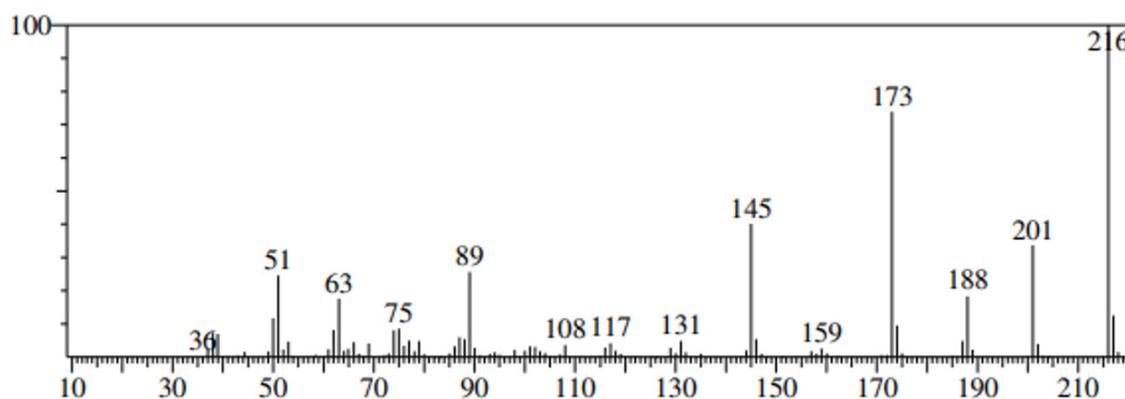


Figura 5. Espectro de massa da substância de tempo de retenção 29,753 minutos, identificada na FrHex de *D.asaroides* cuja estrutura refere-se ao Bergapteno. Fonte: resultados experimentais.

zante, efeito antidiabético e de proteção à osteoporose (NEVES et al., 2002, HAM et al., 2019, SINGH et al., 2019, LIANG et al., 2021).

Concluimos que as substâncias presentes nestas frações, especialmente a hexânica, configuram potenciais protótipos para o design de futuros esquemas terapêuticos a serem utilizados como coadjuvante no tratamento da doença de Chagas. Embora com alto grau de complexidade, o estudo de frações brutas fomenta a pesquisa na área de química de produtos naturais.

APOIO FINANCEIRO

Programa PROGRUPOS/Instituto Federal de Brasília (Edital 038/2014).

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem aos técnicos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto (FCFRP-USP) Cristiana González Rotta, Míriam Paula Alonso Toldo e Izabel

Cristina Casanova Turatti pelo apoio para o desenvolvimento deste trabalho.

REFERÊNCIAS

ABEGAZ, B. M.; NGADJUI, B.T.; FOLEFOG, G.N.; FOTSO S.; AMBASSA, P.; BEZABIH, M.; DONGO, E.; RISE, F.; PETERSEN, D. Prenylated flavonoids, monoterpene furanocoumarins and other constituents from the twigs of *Dorstenia elliptica* (Moraceae), *Phytochemistry*, v. 65, p. 221-226, 2004.

ADAMS, R. P. *Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry*, Illinois: Allured Pub Corp, 2017, 809p.

BALESTRIN, L.; GASPARI, J.F.; MIGUEL, O.G.; DALL'STELLA, D.S.G.; MIGUEL, M. D. Contribuição ao estudo fitoquímico de *Dorstenia multiflora* Miquel (Moraceae) com abordagem em atividade antioxidante. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 18, p. 230-235, 2008.

BRINGMANN, G., DREYER, M., RISCHER, H., WOLF, K., HADI, H.A., BRUN, R., MEIMBERG, H., HEUBL, G. Ancistrobenomine A, the first naphthylisoquinoline oxygenated at Me-3, and related 5, 10-coupled alkaloids, from the "new" plant species *Ancistrocladus*

- benomensis*. **Journal of Natural Products**, v. 67, p. 2058–2062, 2004.
- CACERES, A.; RASTRELLI, L.; DE SIMONE, F.; MARINO, G.; SATURNINO, P.; AQUINO, R. Furanocoumarins from the aerial parts of *Dorstenia contrajerva*. **Fitoterapia**, v. 72, p. 376-381, 2001.
- CARDOSO, C. A. L; VILLEGAS, W; BARISON, A.; HONDA, N.K. Simultaneous determination of furanocoumarins in infusions and decoction from “Carapia” (*Dorstenia* species) by High-Performance Liquid chromatography. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 1465-1469, 2002.
- CARRILLO-AKÉ, A.G.; TORRES-TAPIA, L.W.; DELGADO-DOMÍNGUEZ, J. Antileishmanial Activity of *Dorstenia contrajerva* Against Amastigotes of *Leishmania mexicana*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.31, p. 481–485, 2021.
- CAVALCANTE, A. K., DE SOUSA, L. B.; HAMAWAKI, O. T. Determinação e avaliação do teor de óleo em sementes de soja pelos métodos de ressonância magnética nuclear e soxhlet . **Bioscience Journal**, v. 27, n.1, p. 8-15, 2011
- CELEGHINI, R. M. S.; YARIWAKE, J.H.; LANÇAS, F.M. Otimização das condições de extração hidroalcoólica das furanocoumarinas de *Dorstenia brasiliensis* Lam. por maceração com ultrassom e análise quantitativa por CLAE/UV e fluorescência. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 9, p. 61-66, 2007.
- CRUZ, G. L. **Dicionário de plantas úteis do Brasil**. 2ª ed. São Paulo: Civilização Brasileira, 1982. 599p.
- D'ANGELIS, C.E.M.; LEITE, M.F.; SOUSA, J.P.; ALONSO, L.; POLIZELLO, A.C.; GROppo-JR, M.; AIRES, C.P.; BASTOS, J.K.; SPADARO, A.C.C. Inhibiting effect of *Dorstenia asaroides* extracts on cariogenic properties of *Streptococcus mutans*. **Anaerobe**, v. 18, n. 1, p. 31-36, 2012.
- FLORES, R.; Nicoloso, F.T.; Brondani, D.; Maldaner, J.; Cezarotto,V.; Giacomeli, S.R. Extração de ecdisterona em raízes de ginseng brasileiro. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 4, p. 1223-1226, 2009.
- HAM, J.R.; CHOI, R.Y.; LEE, H.I.; LEE, M.K. Methoxsalen and Bergapten Prevent Diabetes-Induced Osteoporosis by the Suppression of Osteoclastogenic Gene Expression in Mice. **International Journal of Molecular Sciences**, n. 20, v. 6, p. 1-12, 2019.
- HOWTHORNE, B.; GRABANSKI, C. B.; MARTIN, E.; MILLER, D. Comparisons of soxhlet extraction, pressurized liquid extraction, supercritical fluid extraction and subcritical water extraction for environmental solids: recovery, selectivity and effects on sample matrix. **Journal of Chromatography A**, v. 892, n. 1-2, p. 421-433, 2000.
- LIANG, Y.; XIE, L.; LIU, K.; CAO, Y.; DAI, X.; WANG, X.; LU, J.; ZHANG, X.; LI, X. Bergapten: A review of its pharmacology, pharmacokinetics, and toxicity. **Phytotherapy Research**, v. 35, n.11, p.6131– 6147, 2021.
- LIFCHITZ, A. **Plantas medicinales**. 5a ed. Buenos Aires: Kier, p.92, 1981.
- NEVES, M.L.P.; FERREIRA NETO, P.G.; DA SILVA, S.M.S.; ARAÚJO, J.M. Ensaio para detectar bergapteno na casca e no caule de *Brosimum gaudichaudii* Trec através da produção de melanina em actinomicetos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 12, p.53-54, 2002.
- NEWMAN, D. J.; CRAGG, G.M.; SNADER, K.M. Natural products as source of new drugs over the period 1981-2002. **Journal Natural Products**, Cincinnati, n.66, p. 1022 1037, 2003.
- PENA, M. **Dicionário brasileiro de plantas medicinais**. 3a ed. Rio de Janeiro: Kosmos, 1946. p.151-2.
- PENICHE-PAVIA, H.A.; VERA-KU, M.; PERAZA-SANCHEZ, S.R. Phytochemical and Pharmacological Studies on Species of *Dorstenia* Genus (2000-2016). **Journal of the Mexican Chemical Society**, v. 62, n.3, p. 9-23, 2018.
- SINGH, G., KAUR, A., KAUR, J.; BHATTI, M.S.; SINGH, P.; BHATTI, R. Bergapten inhibits chemically induced nociceptive behavior and inflammation in mice by decreasing the expression of spinal PARP, iNOS, COX-2 and inflammatory cytokines. **Inflammopharmacology**, n. 27, p.749–760, 2019.
- VILEGAS, W., YARIWAKE VILEGAS, J.H.; POZETTI, G.L. Furanocoumarins from Brazilian *Dorstenia* spp. **Revista Latinoamericana de Química**, v. 23, p. 78-80, 1994.
- ZENI, A.L.B.; PARISOTTO, A.V.; MATTOS, G.; HELENA, E.T.S. Utilização de plantas medicinais como remédio caseiro na Atenção

Primária em Blumenau, Santa Catarina, Brasil. **Ciência e saúde coletiva**, Rio de Janeiro, v. 22, n. 8, p. 2703-2712, 2017.

CURRÍCULOS

* Instituto Federal de Brasília – Campus Gama. Professor Ensino Básico, Técnico e Tecnológico. Doutorado em Ciências Farmacêuticas, área Produtos Naturais e Sintéticos. Lattes: <http://lattes.cnpq.br/4965584690748917>

** Instituto Federal de Brasília – Campus Gama. Aluno de Iniciação Científica (PIBIC). Licenciado em Química. Lattes: <http://lattes.cnpq.br/7115338570681221>

*** Instituto Federal de Brasília – Campus Gama. Aluna de Iniciação Científica (PIBIC). Licenciada em Química. Lattes: <http://lattes.cnpq.br/9983517457484163>

**** Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais - Campus Manhuaçu. Professora Ensino Básico, Técnico e Tecnológico. Doutorado em Engenharia Química. Lattes: <http://lattes.cnpq.br/5568300015533345>

***** Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais - Campus Manhuaçu. Professor Ensino Básico, Técnico e Tecnológico. Doutorado em Engenharia Agrícola. Lattes: <http://lattes.cnpq.br/7158057432437916>

***** Departamento de Análises Clínicas, Toxicológicas e Bromatológicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo- Campus Ribeirão Preto. Doutorado em Parasitologia. Lattes: <http://lattes.cnpq.br/5630326001367219>