

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE

Glower Braga

Syagrus coronata (Mart.) Beccari: composição química, atividades biológicas e toxicidade aguda *in vitro* do óleo fixo

Juiz de Fora
2023

GLOWER BRAGA

Syagrus coronata (Mart.) Beccari: composição química, atividades biológicas e toxicidade aguda *in vitro* do óleo fixo

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Saúde – área de concentração em Saúde Brasileira, da Universidade Federal de Juiz de Fora, como requisito à obtenção do grau de Mestre em Saúde.

Orientadora: Prof^a Dr^a Nádia Rezende Barbosa Raposo

Juiz de Fora

2023

GLOWER BRAGA***SYAGRUS CORONATA (MART.) BECCARI: COMPOSIÇÃO QUÍMICA,
ATIVIDADES BIOLÓGICAS E TOXIDADE AGUDA IN VITRO DO ÓLEO FIXO***

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Saúde – área de concentração em Saúde Brasileira, da Universidade Federal de Juiz de Fora, como requisito à obtenção do grau de Mestre em Saúde.

Aprovada em: ____ de _____ de 2023.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Nádia Rezende Barbosa Raposo (Orientadora)
Universidade Federal de Juiz de Fora

Prof^a. Dr^a Hanny Reis Mockdeci
Instituto de Saúde e Educação

Prof. Dr. Marcos Antônio Fernandes Brandão
Universidade Federal de Juiz de Fora

Agradecimentos

Agradeço aos meus pais, pelo brilho nos olhos que iluminaram meu caminho.

À minha querida e amada esposa Eliane, e às minhas filhas Clara e Laura, que materializam todos os dias o mais puro amor.

A minha orientadora Professora Nádia, por sua paciência e sorriso energizante que deu sentido e ternura aos desafios mais difíceis.

Ao professor Marcos, amigo e incentivador de sonhos.

Aos colegas Urias e Laura pelo apoio incondicional.

Por fim a toda a minha família, porto seguro de todos os meus sonhos.

Aos deuses da mata, que habitam a floresta mágica...
Eu ofereço minha reverência, humildade e gratidão.
Nas sombras verdes e rios serenos.
Encontro a paz do meu coração.

Às árvores ancestrais que nos observam.
Às criaturas misteriosas que nelas vivem e se escondem.
Às correntes límpidas que fluem com o tempo.
Aos deuses da mata, eu dedico esta prece.

Vocês são os guardiões do equilíbrio e da vida,
Neste santuário verde, onde todas as coisas se entrelaçam.
Que vossos espíritos sagrados protejam os caminhos.
Dos filhos da terra.
Sementes da Mata.

Prometo preservar vossa casa com lealdade.
Nas trilhas sinuosas da mata, caminho em harmonia.
Com os deuses da mata, Guardiões da Floresta.
Eu sigo a toada nos trilhos da vida.

Que essa dedicatória honre os deuses da mata e a importância da preservação da natureza.

RESUMO

O Brasil possui ampla biodiversidade natural, a qual representa importante fonte de compostos bioativos para as indústrias farmacêutica, de higiene pessoal, e de perfumaria, além de pesquisadores para a descoberta de novos insumos e aplicações inovadoras. *Syagrus coronata* (Mart.) Beccari é uma palmeira presente em alguns biomas nacionais e possui grande importância cultural, socioeconômica e ecológica. As amêndoas comestíveis são ricas em óleo fixo que pode ser aproveitado tecnologicamente, dada a hipótese de que a composição química do mesmo possua compostos ativos úteis para os setores farmacêutico, cosmético, alimentício, ornamental e forrageiro. O objetivo deste trabalho foi caracterizar o perfil químico de ácidos graxos por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas, as atividades antioxidante (DPPH), de inibição da acetilcolinesterase (método colorimétrico de Ellman) e antifúngica [(*Candida albicans* ATCC 10231; *Candida glabrata* (Taniwaki, M.H.) CCT 0728; *Candida krusei* (FTI) CCT 1517; e *Candida guilliermondii* (CCT) 1890], bem como a toxicidade aguda *in vitro* (*Artemia salina*, *Daphnia magna* e citotoxicidade empregando fibroblastos murinos – L929) do óleo fixo extraído da amêndoa de *Syagrus coronata* adquirido de uma cooperativa nacional. A análise cromatográfica revelou o ácido láurico como composto majoritário (44,61%). A ação antioxidante não foi dose-dependente e na maior concentração testada (250 $\mu\text{g mL}^{-1}$), a inibição foi de 12,4%. O óleo promoveu inibição da acetilcolinesterase de 29,4% e $\text{CI}_{50} = 3,5 \pm 0,2 \text{ mg mL}^{-1}$ e exibiu efeito fungicida para três das quatro espécies analisadas (concentração fungicida mínima = 1.250 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para *C. albicans* e *C. glabrata* e 2.500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para *C. krusei*). O óleo não demonstrou ser tóxico para os organismos-modelo (dose letal 50% = 1.082,12 \pm 1,36 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e 101,32 mg mL^{-1} para *Artemia salina* e *Daphnia magna*, respectivamente) e nem alterou a viabilidade dos fibroblastos murinos (L929). Os dados revelam a segurança e a eficácia deste óleo e demonstram a possibilidade de maior e melhor aproveitamento sustentável desta espécie vegetal.

palavras-chave: *Syagrus coronata*; composição química; atividades biológicas; toxicidade aguda; óleo fixo.

ABSTRACT

Brazil has a wide natural biodiversity, which represents an important source of bioactive compounds for the pharmaceutical, personal care, perfumery and cosmetics industries, as well as researchers for the discovery of new inputs and innovative uses. *Syagrus coronata* (Mart.) Beccari is one of the main native palm trees in the Brazilian biomes and has great cultural, socioeconomic and ecological importance. It is also a valuable source of fixed oil rich-seeds that can be used technologically. This chemical composition has active compounds useful for the pharmaceutical, cosmetic, food, ornamental and forage sectors. The aim of this study was to characterize the chemical profile of fatty acids by gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS), the antioxidant (DPPH), acetylcholinesterase inhibition (Ellman's colorimetric assay) and antifungal activities [(*Candida albicans* ATCC 10231; *Candida glabrata* (Taniwaki, M.H.) CCT 0728; *Candida krusei* (FTI) CCT 1517; and *Candida guilliermondii* (CCT) 1890], as well as the *in vitro* acute toxicity (*Artemia salina*, *Daphnia magna* and cytotoxicity in murine fibroblasts – L929) of the fixed oil extracted from seeds of *Syagrus coronata* acquired from a national cooperative. GC-MS analysis revealed lauric acid as the major compound (44.61%). The antioxidant action was not dose-dependent and at the highest concentration tested (250 $\mu\text{g mL}^{-1}$), the inhibition was 12.4%. Licuri oil promoted acetylcholinesterase inhibition of 29.4% and $\text{IC}_{50} = 3.5 \pm 0.2 \text{ mg mL}^{-1}$ and it exhibited a fungicidal effect for three of the four species analyzed (minimum fungicidal concentration = 1,250 $\mu\text{g mL}^{-1}$ for *C. albicans* and *C. glabrata* and 2,500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ for *C. krusei*). The fixed oil did not prove to be toxic to the model organisms (lethal dose 50% = 1,082.12 \pm 1.36 $\mu\text{g mL}^{-1}$ and 101.32 mg mL^{-1} for *Artemia salina* and *Daphnia magna*, respectively) nor did it change the viability of the murine fibroblasts (L929) under analytical conditions. The data reveal the safety and effectiveness of this oil and demonstrate the possibility of greater and better sustainable use of this plant species.

Key words: *Syagrus coronata*; chemical composition; biological activities; acute toxicity; fixed oil.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Palmeira <i>Syagrus coronata</i> de (Mart.) Beccari.	18
Figura 2	Frutos de licuri maduros.	19
Figura 3	Corte transversal do fruto de licuri.	19

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Composição química da polpa e da amêndoa do fruto de licuri	21
Tabela 2	Composição dos principais ácidos graxos presentes nas amêndoas de licuri.	22
Tabela 3	Programação linear da temperatura do forno da coluna usada na cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas.	42

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
ACh	Acetilcolina
AChE	Acetilcolinesterase
ACTI	Acetiltiocolina
µg	Micrograma
CFM	Concentração fungicida mínima
CG-EM	Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa
CI ₅₀	Concentração inibitória 50%
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CL ₅₀	Concentração letal de 50%
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
CO ₂	Dióxido de carbono
DA	Doença de Alzheimer
DMEM	<i>Dubelcco's Modified Eagle's Medium</i>
DMSO	Dimetilsulfóxido
DPPH	2,2-difenil-1-picril-hidrazil
DTNB	5,5'- ditiobis (2-nitrobenzóico)
ERNs	Espécies reativas de nitrogênio
EROs	Espécies reativas de oxigênio
HEPES	Ácido [4-(2-hidroxietil)]-1-piperazinaetanolsulfônico
iAChE	Inibidor da acetilcolinesterase
IR	Índice de retenção
Mg	Miligrama
ml	Mililitro
mM	miliMolar
MTT	Brometo de 3- (4,5-dimetil-2-tiazolil)-2,5-difenil-2H tetrazólio
NO [•]	Óxido nítrico
NO ₂ [•]	Dióxido nítrico
O ₂ ^{•-}	Ânion superóxido
OH [•]	Radical hidroxila

OMS	Organização Mundial da Saúde
PA	Por amostragem
P. A.	Para Análise
p/p	Peso por peso
PBS	Tampão fosfato salino
SDA	Ágar Sabouraud Dextrose
SFB	Soro Fetal Bovino
SUS	Sistema Único de Saúde
TNB	5-tio-2-nitrobenzoato
v/v	Volume por volume

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	12
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	14
2.1 ÓLEOS BOTÂNICOS	14
2.2 FAMÍLIA ARECACEAE.....	15
2.3 GÊNERO SYAGRUS.....	16
2.4 <i>Syagrus coronata</i> (Mart.) Beccari	17
2.4.1 Óleo de licuri	20
2.4.2 Atividades biológicas do óleo de licuri	25
2.4.3 Aplicações não biológicas da palmeira licuri	28
2.5 AVALIAÇÃO DE ATIVIDADES BIOLÓGICAS E DE TOXICIDADE.....	29
2.5.1 Métodos alternativos ao uso de animais em pesquisa	29
2.5.2 Avaliação de atividades biológicas in vitro	31
2.5.3 Avaliação da toxicidade por meio do uso de bioensaios.....	34
3 OBJETIVOS.....	40
3.1 GERAL	40
3.2 ESPECÍFICOS	40
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	41
4.1 MATERIAL VEGETAL	41
4.2 PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DO ÓLEO FIXO DE <i>Syagrus coronata</i>	41
4.3 ATIVIDADES BIOLÓGICAS	42
4.3.1 Atividade antioxidante	42
4.3.2 Inibição da acetilcolinesterase (AChE)	44
4.3.3 Atividade antifúngica	45
4.4 TOXICIDADE AGUDA.....	46
4.4.1 <i>Artemia salina</i> Leach.....	46
4.4.2 <i>Daphnia magna</i>	46
4.4.3 Citotoxicidade	47
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	49
Artigo científico submetido ao periódico intitulado Revista Científica Multidisciplinar Núcleo do Conhecimento	49
6 CONCLUSÃO	76
REFERÊNCIAS	77

1 INTRODUÇÃO

O licuri - *Syagrus coronata* (Mart.) Beccari - é uma palmeira nativa do bioma do Cerrado e da costa leste do Brasil, ocorrendo também no Nordeste e bem adaptada às regiões secas e áridas da Caatinga e da Mata Atlântica. Possui grande importância cultural, socioeconômica e ecológica (SILVA et al., 2019; SILVA e MIGUES, 2019; PENHA et al., 2023). A extração de palmeiras é proibida pela lei brasileira e, portanto, indivíduos isolados são uma visão comum em pastagens manejadas no semiárido brasileiro (SILVA et al., 2019).

A nomenclatura vernacular inclui licuri, ouricuri (português), *uricuripalme* (alemão), *licuri* (espanhol), *ouricuri* e *licuri* (inglês). O tamanho da árvore varia entre 1,5 m a 13 m de altura. Possui grande potencial alimentício, ornamental e forrageiro, sendo o seu manejo de grande importância. Seus frutos são elipsóides ou ovóides, 2,5–3×1,7–2 centímetros, com epicarpo verde-amarelado ou alaranjado, apresentando polpa adocicada e amêndoas comestíveis ricas em óleo que pode ser aproveitado tecnologicamente (ARCANO et al., 2021; TEIXEIRA et al., 2022; FREIRES, 2023). De acordo com Ticktin (2004), o licuri exerce papel vital para a subsistência e geração de renda das comunidades do semiárido baiano brasileiro.

Rufino e colaboradores (2008) destacaram que tanto os frutos quanto as sementes do licuri são amplamente utilizados na produção de doces, ração animal, óleo comestível e biodiesel, enquanto as folhas são utilizadas no artesanato e na produção de utilidades domésticas. Na medicina popular, o óleo de *S. coronata* possui diferentes relatos de suas aplicações, como por exemplo: picadas de cobra, inflamações oculares, micoses, cicatrização de feridas e tratamento da dor espinhal, além de outras atividades biológicas, incluindo atividades antibacteriana, antiparasitária, inseticida, bem como hidratante (CORADIN et al., 2018; RAZERA, 2021, RODRIGUES et al., 2011). O extrato obtido das sementes também tem demonstrado potencialidades biológicas, conforme demonstrado por Silva e Miguez (2019). As frações aquosas e metanólica obtidas das inflorescências foram avaliadas por Hugues e colaboradores (2013) e demonstraram atividade contra *Bacillus cereus* e *Staphylococcus aureus* resistente a múltiplos fármacos. Adicionalmente, Bessa e colaboradores (2016) e Santos e colaboradores (2019) também demonstraram

a eficácia antimicrobiana e a atribuíram ao perfil de ácidos graxos presentes no óleo, rico em ácido láurico. Dos Santos Souza e colaboradores (2021) demonstraram a segurança do óleo fixo por meio de estudos de citotoxicidade, toxicidade aguda oral *in vivo* e genotoxicidade, bem como a atividade antioxidante. Penha e colaboradores (2023) destacaram o uso da espécie vegetal como fonte de compostos bioativos e suas potencialidades tanto para a saúde humana (agentes terapêuticos, cosméticos e alimentícios) quanto para uso veterinário.

Com interesse em fortalecer o conhecimento e valorização do potencial uso de espécies nativas e diante da escassez de dados na literatura no que tange às atividades biológicas e de toxicidade sobre do óleo fixo extraído da amêndoa de *Syagrus coronata* (Mart.) Beccari., neste trabalho foram avaliados o perfil de ácidos graxos, as atividades antioxidante de inibição da acetilcolinesterase, antifúngica sobre quatro cepas de *Cândida ssp*, bem como a toxicidade aguda *in vitro* (*Artemia salina*, *Daphnia magna* e citotoxicidade em fibroblastos murinos – L929).

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 ÓLEOS BOTÂNICOS

Os óleos botânicos são lipídios ou gorduras derivados de uma ou mais partes da planta que podem ser classificados como óleos fixos (vegetais) ou essenciais (voláteis). Apresentam uma combinação de ácidos graxos saturados (sem ligações duplas), monoinsaturados (uma ligação dupla) e poliinsaturados (duas ou mais ligações duplas), com comprimento variável da cadeia carbônica, ligados a uma molécula de glicerol (ALVES et al., 2019).

Os componentes oleosos extraídos das plantas, apresentam vários benefícios medicinais, dadas as suas propriedades de barreira na pele, devido ao seu efeito oclusivo, permitindo que a epiderme retenha umidade e causando uma diminuição nos valores de perda de água trans epidérmica (TEWL) e a exposição da pele à alérgenos do meio em situações de quebra de barreira epidérmica.

Os ácidos graxos livres, principalmente os monoinsaturados, como o ácido oleico, podem penetrar na barreira cutânea atingindo camadas mais profundas como subcutâneo e atuar como veículo, promovendo a permeação de outros componentes dos óleos vegetais e, conseqüentemente, facilitando sua ação em camadas mais profundas do tegumento (LIN et al., 2017).

Além de todo o exposto, os óleos vegetais possuem caracteristicamente baixo peso molecular e baixa viscosidade, sendo menos oclusivos que os óleos minerais, o que lhes confere maior penetrabilidade cutânea, sendo fonte de ácidos graxos essenciais e vitaminas para a mesma (LEAL et al., 2013).

Por outro lado, os ácidos graxos possuem papel fundamental na manutenção e formação das membranas celulares do extrato córneo da pele humana, camada tecidual que regula a umidade e possui função de barreira com o meio ambiente, enaltecendo suas funções lubrificante, emoliente e antiinflamatória na pele, regulando; pois, a permeabilidade e equilíbrio da oleosidade natural da pele, com proteção aos danos ambientais (ALVES et al., 2019).

Segundo Poljčak e sua equipe (2019), os óleos vegetais têm apresentado resultado promissor nos estudos *in vitro* e *in vivo*, com efeitos bacteriostáticos,

antimicrobianos, anti-oxidativos, anti-inflamatórios, promovendo a proliferação celular e estimulando a produção de colágeno e componentes da matriz extracelular e, por fim, recompondo a barreira lipídica da pele.

A diversidade química presente nos óleos vegetais pode induzir a uma variedade de atividades farmacológicas e mecanismos de ação que dependem das quantidades e proporções de cada produto químico. Os ácidos graxos essenciais presentes nos óleos vegetais, podem ainda, além da função de barreira física, fornecer gordura para várias camadas da pele e ativar receptores de peroxissomas que podem diminuir o processo inflamatório através de sua cascata de ativação (LUCA; VALACCHI, 2010).

Por outro lado, alguns óleos botânicos, ao contrário do que se pensa, podem ter efeitos indesejáveis na pele, agindo como irritantes quando aplicados topicamente de forma direta, como o óleo de oliva, talvez pela presença de polifenóis e esqualeno. Deste modo, ao pensar-se em um óleo deve-se pensar em sua complexa constituição e no sinergismo bioativo de seus multicomponentes (MOORE et al., 2020).

2.2 FAMÍLIA ARECACEAE

A família Arecaceae, também conhecida como Palmae, é o nome científico das palmeiras pertencentes a ordem Arecales, classe Liliopsida e a divisão/filo Magnoliophyta (SOUZA; LIMA, 2019). É amplamente distribuída territorialmente, sendo encontrada principalmente nos trópicos e subtropicais. Ocupam nichos ecológicos variados desde estirpes subterrâneas e de pequeno porte até formas arbóreas e raramente trepadeiras, com ou sem espinhos no caule e folhas (SOARES et al., 2020).

Esta família, são um dos principais troncos da evolução das monocotiledôneas, sendo bem adaptadas a uma variedade de climas e solos, prosperando principalmente nas regiões com clima quente e úmido (ELIAS, 2017).

A representatividade da família destas palmeiras é uma das maiores do mundo, com cerca de 240 gêneros e 2.700 espécies e nas Américas existem cerca de 67 gêneros e aproximadamente 1.440 espécies, sendo que o Brasil apresenta cerca de 35 gêneros e 380 espécies (SILVA, 2002).

A maior ocorrência de gêneros desta família *Arecaceae*, no território brasileiro, são encontradas nos campos Rupestres de Minas Gerais, Goiás e Bahia. No entanto, a maior concentração de indivíduos ocorre na chamada “zona dos cocais” que possui abrangência desde o Norte e Nordeste até o Centro-Oeste, sendo representadas pelos babaçuais, carnaubais e buritizais, e mais na direção do Pantanal, os carandazais (LORENZI et al., 2010).

Outros ecossistemas ainda pouco conhecidos, catalogam a presença desta família, tais como a Mata Atlântica, a Caatinga e os Brejos de Altitude (SILVA, 2012).

As espécies da família *Arecaceae* propagam-se principalmente por meio de sementes, apresentando germinação lenta e irregular, que perdem rapidamente a viabilidade ao sofrer desidratação (SILVA, 2012).

As *Arecaceae*s, por apresentarem um grande número de espécies, representam grande importância econômica e ornamental, sendo exploradas e utilizadas comercialmente devido ao vasto repertório de produtos que podem ser obtidos de seus recursos biológicos, tais como óleo, amido, cera, palmito e as fibras, considerando-se a referida família, como um dos recursos vegetais de maior importância para o homem em diferentes culturas (SILVA, 2012).

Geralmente, todas as partes (fruto, palha, tronco, raiz, etc) das palmeiras são utilizadas. No gênero *Euterpe* (Açaizeiro), por exemplo, o fruto (açaí) é utilizado como alimento (vinho, polpa congelada, sorvete, picolé, açaí em pó, geleia, bolo, mingau, corante, bombom); a palha é empregada para fazer casa, cesto, tapete, abanador, adubo e ração animal; com o caroço se produz adubo, colares e pulseiras; o estipe (tronco) é utilizado em construções rurais como ripas e caibros; com a raiz é preparado chá para verminoses; e finalmente, o cacho é usado como adubo, vassoura de quintal, e quando queimado como repelente (SOUZA et al., 2019).

2.3 GÊNERO *SYAGRUS*

O gênero *Syagrus* está inserido na família *Arecaceae* e na subfamília *Arecoideae*, sendo praticamente restrito e encontrado na América do Sul e concentrando-se mais densamente no leste do Brasil. Com exceção do Chile, todos os países do continente da América do Sul possuem espécies nativas do *Syagrus*. No território brasileiro, as palmeiras deste gênero distribuem-se nas

florestas tropicais, Mata Atlântica, Caatinga do Nordeste do Brasil. Crescem também ao nível do mar até regiões elevadas com 1.800 metros de altitude, porém são nas zonas de transição e florestas sazonalmente secas, savanas (cerrados) e nos campos rupestres que abrigam a maior parte de suas espécies (NOBLICK, 2017).

2.4 *Syagrus coronata* (Mart.) Beccari

A palmeira popularmente conhecida como Licuri, aricuri, coqueiro cabeçudo, coqueiro dicori, licurizeiro, nicuri, ouricuri e uricuri, cujo nome científico é *Syagrus coronata* (Mart.) Beccari ganha eco no bioma brasileiro por sua vasta distribuição no território nacional, em áreas de semiárido, cerrado e caatinga, sendo este último, o único bioma exclusivamente brasileiro (DRUMOND, 2007; MEDEIROS et al., 2019; CAMPOS et al., 2018; GUIMARÃES et al., 2021).

A palmeira licuri apresenta distribuição determinada por dois fatores principais: a sazonalidade das precipitações e também a precipitação de chuva no trimestre mais frio do ano. Portanto, não só a quantidade de chuvas anuais, mas também sua distribuição temporal, impactam e exercem forte influência nas áreas cuja palmeira é mais prevalente. Áreas onde a sazonalidade das precipitações é menos pronunciadas, com níveis de precipitação entre 220-600 mm no trimestre mais frio, são mais propícias à ocorrência da palmeira (LIMA et al., 2020).

Conhecida como a “árvore salvadora da vida”, por ser uma palmeira totalmente aproveitável, desenvolve um importante papel socioeconômico, cultural e ambiental para a subsistência do sertanejo (GUIMARÃES et al., 2021). As palmeiras são utilizadas para ornamentação, de suas folhas são extraídas cera e o óleo de suas amêndoas fornecem componentes para a produção de sabão. Por fim, o mesocarpo do licuri, rico em fibras vegetais, é utilizado para o artesanato (LORENZI et al., 2010).

O nome coronata provém de suas folhas com distribuição espiralada ao longo do tronco, formando uma “coroa foliar” em seu ápice. O licuri possui inflorescência bem ramificada e protegida por uma bráctea lenhosa popularmente chamada de cimba, que pode chegar até a um metro de

comprimento albergando grande quantidade de pequenas flores amarelas (RAZERA, 2021).

Apresentam estirpe (caule) único, medindo de oito a onze metros com folhas de aproximadamente três metros, pinadas e com pecíolo longo e bainha invaginante, cujos folíolos de tonalidade verde-escura, estão arranjados em vários planos (CAMPOS, 2018), como pode ser observado na Figura 1.



Figura 1. Aspecto geral da palmeira licuri. Fonte: o autor (2023).

A florescência e frutificação da espécie ocorrem durante todo o ano, porém com maior frutificação entre maio e agosto, culminando com o amadurecimento dos frutos entre os meses de outubro e dezembro, porém os picos de floração estão definidos em áreas específicas e variam com os índices pluviométricos (MIRANDA, 2011).

Os frutos do licuri podem ser consumidos em sua totalidade pela população, ou seja, tanto a polpa, quanto a amêndoa (LORENZI et al., 2010). Quando verdes, possuem endosperma líquido, que vai solidificando no processo de amadurecimento do mesmo, até transformar-se em uma amêndoa (SANTOS, 2011). Quando maduros os frutos apresentam uma coloração do amarelo claro ao alaranjado, a depender do estágio de maturação, possuindo ainda polpa amarela, pegajosa e adocicada, cujas sementes, quando secas, tornam-se escuras e com tegumento duro revestindo sua amêndoa rica em óleo que percentualmente representa 38% da mesma (BARBOSA et al., 2020a). O teor lipídico em seus frutos é de 4,5% na polpa e 49,2% na amêndoa (CREPALDI et al., 2001; LORENZI et al., 2010). Os frutos podem ser observados nas Figuras 2 e 3.



Figura 2. Frutos de Licuri com drupa inteira, cortada transversalmente e com retirada do epicarpo e exposição do mesocarpo. Fonte: o autor (2023).



Figura 3. Corte transversal demonstrando as camadas de um fruto de licuri Fonte: o autor (2023).

A amêndoa do licuri apresenta teor de 49,2% de lipídeos e 11,5% de proteínas e a polpa dos frutos possui 13,2% de carboidratos totais. Vale ressaltar que o teor de proteínas, embora menos expressivo do que em outros vegetais, é maior que o encontrado em frutos de espécies de palmeiras amazônicas, que varia de 1,18 a 5,5%. O uso da amêndoa em formulações alimentícias também é recomendado em ações para o combate à fome e desnutrição na região Nordeste (CREPALDI et al., 2001; CORADIN et al., 2018). Já os frutos são energéticos, com valor calórico de 108,6 kcal/100 g⁻¹ para a polpa e 527,3 kcal/100 g⁻¹ para a amêndoa, sendo também fontes ricas em carotenoides. Embora o teor de β -caroteno seja inferior ao valor obtido nos frutos de outras palmeiras, o licuri constitui uma boa fonte de β -caroteno, sobretudo em períodos de seca severa em regiões onde, muitas vezes, se constitui no único alimento disponível (CREPALDI et al., 2001; CORADIN et al., 2018).

O processo tradicional de torra das castanhas, que é realizado pelas comunidades que se alimentam das mesmas, elevou o valor nutricional do Licuri, aumentando a quantidade de compostos fenólicos e a capacidade antioxidante. Adicionalmente, este processo levou a uma mudança significativa na composição volátil da semente de licuri, com a produção de moléculas relacionadas com alta atividade de odor, além do desenvolvimento de aroma de coco, maltado e torrado (BELVISO et al., 2013).

Os resultados encontrados, para as sementes cruas e torradas de licuri foram, respectivamente: fenóis totais 1,21 e 2,78 (mg de equivalentes de ácido gálico por grama de amostras desengorduradas), flavonóides totais 1,16 e 2,12 (mg de catequina por grama de amostra desengordurada), taninos concentrados totais 1,17 e 2,02 (mg de catequina por grama de amostra desengordurada), atividade antioxidante DPPH 5,88 e 7,01 microM de equivalente Trolox por grama de amostra desengordurada e atividade antioxidante 4,07 e 5,31 microM de equivalente Trolox por grama de amostra desengordurada). Os resultados demonstram que, após o processo de torra ocorre um aumento de fenóis totais, flavonóides totais e taninos condensados totais. Da mesma forma, a atividade antioxidante das sementes torradas foi superior as sementes cruas (BELVISO et al., 2013).

Em escala de produtividade das palmeiras de licuri, a frutificação ocorre aproximadamente seis anos após o plantio tendo como média anual de produção de frutos cerca de 2.000 kg/hectare, podendo chegar até a 4.000 kg/hectare em condições ideais e reduzindo a produtividade nos meses com baixa pluviosidade (RISSI; JÚNIOR.; 2023).

2.4.1 Óleo de licuri

Das amêndoas, é extraído o óleo de licuri, de rico valor nutricional, e contendo nutrientes minerais como cobre, ferro, manganês, zinco, cálcio, selênio, magnésio e o pigmento betacaroteno componentes que estimulam o bom funcionamento do sistema imunológico e do sistema nervoso, além de prevenir a osteoporose, aterosclerose, doenças cardíacas, artrite reumatóide, processos inflamatórios e infecciosos (CREPALDI, 2001; BASTO, 2017).

Componentes orgânicos como lipídios, carboidratos, proteínas estão presentes nos frutos e amêndoas de *S. coronata*. Na amêndoa encontram-se

lipídios e seguidamente proteínas em maior concentração, e os carboidratos estão mais presentes na polpa (NASCIMENTO, 2014). A Tabela 1 descreve detalhadamente os componentes da polpa e da amêndoa do licuri.

Tabela 1. Composição química da polpa e da amêndoa do fruto de licuri.

Parâmetros analisados	Polpa	Amêndoa
	Composição centesimal média	
Umidade (%)	77,4	28,6
Cinzas (%)	1,4	1,2
Lipídeos (%)	4,5	49,2
Nitrogênio (%)	0,5	2,2
Proteínas (%)	3,2	11,5
Carboidratos totais (%)	13,2	9,7
Xantofila	Traços	Não detectado
β -caroteno	Traços	Não detectado
α -caroteno ($\mu\text{g.g}^{-1}$)	26,1	Não detectado
Pró-vitamina A (ER)	4,4	Não detectado
α -tocoferol ($\mu\text{g.g}^{-1}$)	3,8	Não detectado
Ácido ascórbico	Traços	Não detectado
Valor calórico (kcal.100 g^{-1})	108,6	527,3

Fonte: Adaptado de Crepaldi et al. (2001) e Coradin et al. (2018).

O óleo de licuri apresenta diversos benefícios à saúde humana em razão da presença de ácidos graxos de cadeia média (AGCM), que são gorduras saturadas de fácil digestão. Estes ácidos graxos também podem ser utilizados na formulação de suplementos alimentares, ajudando na redução do peso, promovendo a saciedade, liberando energia e auxiliando no funcionamento do metabolismo e da tireoide (CORADIN et al., 2018).

Os ácidos graxos são conhecidos vulgarmente como ácidos gordos, óleos fixos e de forma mais científica como ácidos monocarboxílicos alifáticos, e possuem ampla distribuição entre os vegetais, podendo estar ligados a outros constituintes orgânicos como glicerol, açúcares e grupamentos fosfatos para formar lipídeos (BASTO, 2017).

Eles são classificados quanto ao tipo de ligação entre os seus átomos de carbono, que quando simples são chamados de ácidos graxos saturados e quando dupla as ligações entre os átomos de carbono, no caso de apenas uma ligação, são classificados como monossaturados, e acima de uma ligação dupla são classificados como polissaturados. Na cadeia de ácidos graxos, o número de carbonos varia de 4 a 28 elementos, apresentando em uma de suas extremidades um grupamento carboxila e na outra extremidade um grupo metila. Os ácidos graxos de cadeia curta são os que possuem menos de oito átomos de carbono, e os de cadeia longa são os que possuem mais de dezesseis carbonos em sua cadeia estrutural, e os de cadeia média são os que se encontram entre oito e dezesseis carbonos em sua estrutura molecular (BASTO, 2017).

A distribuição dos ácidos graxos encontrados nas amêndoas do licuri está demonstrada na Tabela 2, baseada em Gomes Neto et al. (2009) e Coradin et al. (2018).

Tabela 2. Composição dos principais ácidos graxos presentes nas amêndoas de licuri.

Ácidos graxos	Identificação	Porcentagem (%)
C8:0	Caprílico	24,68
C10:0	Cáprico	13,94
C12:0	Laúrico	36,43
C14:0	Mirístico	7,15
C16:0	Palmítico	3,98
C18:0	Esteárico	3,05
C18:1 w 9	Oleíco	4,08
C18:2 w 6	Linoleíco	1,02

Fonte: Gomes Neto et al. (2009) e Coradin et al. (2018).

Para que seja possível extrair os lipídeos e, conseqüentemente ácidos graxos, da amêndoa de licuri é necessária uma ruptura da membrana destas células, que pode ser feito através de uma extração mecânica, extração por solventes e extração mista. A extração mecânica, através de prensa mecânica ou hidráulica, é o método mais antigo e popular, porém menos econômico, pois no final da extração por prensa, ainda resta uma torta de resíduos da amêndoa que contém óleo. O método de lixiviação ou remoção por solvente apresenta alta performance de extração e a solução resultante é chamada de miscela (óleo/solvente), que será removida do extrator e após passar por um evaporador para remoção do solvente, restando o óleo puro. Por fim a extração mista consiste na junção do processo mecânico com o processo por solvente (BARBOSA et al., 2020b).

O ácido láurico, presente em maior concentração no óleo de licuri, pode ser um aliado do sistema imunológico, por ativar a liberação de interleucina-2, que faz a medula óssea produzir novas células brancas de defesa, desejável naquelas pessoas com baixa imunidade, especialmente, portadores de HIV e câncer (CORADIN et al., 2018). Os ácidos graxos de cadeia média, como o ácido láurico, ricamente presente no óleo de licuri, são excelentes surfactantes, podendo ser fonte alternativa, natural e mais barata para ser utilizado no tratamento de feridas (ALVES, 2019).

O ácido caprílico tem ação antifúngica e o ácido cáprico tem papel fundamental no metabolismo da glicose e dos lipídeos (CORADIN et al., 2018).

A composição dos ácidos graxos do licuri é similar à do óleo de coco, com propriedade emoliente (hidratante), baixa acidez e alta estabilidade. O óleo do licuri promove boa espalhabilidade, podendo ser usado diretamente sobre a pele, cabelos ou na preparação de emulsões e formulações cosméticas, a exemplo de aerossóis, cremes, loções e batons. O óleo de licuri também apresenta características físico-químicas similares ao óleo de babaçu e, embora o óleo do licuri seja utilizado pelas comunidades do semiárido como óleo comestível, o seu uso é mais apropriado como matéria-prima para a indústria de cosméticos (CORADIN et al., 2018).

As emulsões com concentração de 10% a 20% de óleo e 10% a 15% de tensoativos, promovem hidratação significativa devido à característica de retenção de água e são altamente estáveis. O óleo de licuri apresenta ações

hidratante e calmante, além de possuir antioxidantes que agem evitando o envelhecimento precoce da pele humana e diminuindo as rugas (CORADIN et al., 2018).

Por todas as propriedades dermatológicas do óleo de licuri, trago ao debate, as lesões por pressão, que representam grave problema de saúde pública, e no Brasil acomete cerca de 36,56% dos pacientes internados em unidades de terapia intensiva, 42% dos pacientes internados em unidades clínicas, e em 39% dos pacientes cirúrgicos. Ainda não existem dados substanciais sobre o custo destes tratamentos de lesões por pressão no Brasil. Sabe-se, porém, que existem mais de 2.000 produtos para o tratamento de feridas, e neles incluídos as plantas medicinais e óleos vegetais, tendo alguns conhecidos valores na cicatrização, prevenção de infecção, não apresentando efeitos adversos locais ou sistêmicos e tornando-se uma alternativa estratégica, atraente e de baixo custo para o tratamento de feridas de pele (ALVES et al., 2013).

Os triglicerídeos de cadeia média, presentes nos óleos vegetais, são importantes no processo regulatório da inflamação, regeneração de células e tecidos, melhorando a resposta imune e a cicatrização de feridas por meio do estímulo à angiogênese e epitelização. Estas propriedades têm despertado grande interesse da indústria farmacêutica nacional e internacional. Os principais ácidos graxos encontrados no óleo (Dersani Original), que é comercialmente vendido para tratamento de feridas nas farmácias é: ácido cáprico (18,8%), ácido caprílico (17,4%), ácido palmítico (3,8%), ácido esteárico (3,8%), ácido oléico (27,5%) e ácido linolênico (28,1%). Os principais ácidos graxos encontrados no óleo de licuri são: ácido caprílico (10,5%), ácido cáprico (6,6%), ácido láurico (45,2%), ácido mirístico (14,9%), ácido palmístico (7,2%), ácido esteárico (3,8%), ácido oléico (7,7%), ácido linoléico (4,2%) (ALVES et al., 2013).

Foram desenvolvidas formulações cosméticas contendo óleo de licuri, com avaliação dos seus efeitos imediatos e de longo prazo sobre a função de barreira e hidratação da pele humana, cujos resultados demonstraram que após 20 dias de aplicação contínua da emulsão, ocorreu um aumento muito significativo no conteúdo de água do estrato córneo, o que foi observado também após 20 dias de aplicação da emulsão. Foi observada também uma diminuição significativa na perda de água transepidermica, tanto após duas horas da aplicação como

também após a utilização da emulsão com óleo de licuri por 20 dias, indicando uma função aumentada de proteção de barreira da pele. Além disso, o óleo de licuri na formulação de emulsão aqui referida, foi classificada como não irritante no teste de membrana corioalantóide de ovo de galinha (SOUZA, 2018).

O óleo extraído do licuri, além de conter rica presença de ácidos graxos, também possui compostos fenólicos com potencial antioxidante. Os compostos fenólicos são substâncias que possuem em suas estruturas anéis aromáticos e ligações duplas conjugadas, conferindo a esses compostos a capacidade de exercer atividade antioxidante. As concentrações de compostos fenólicos no óleo de licuri foram 189,93 mg e 553,33 mg equivalentes de ácido gálico por grama de óleo prensado e óleo refinado, respectivamente. A partir desses resultados, conclui-se que o óleo de licuri é uma boa fonte de ácidos graxos de cadeia média, além de possuir quantidade significativa de compostos fenólicos e potencial antioxidante (BAUER et al., 2013).

O teor de óleo na polpa de licuri varia de 4,11% a 4,50%, enquanto o óleo da semente de licuri varia entre 39,0% e 50,0%. O óleo da semente de licuri é um importante recurso alimentar para humanos e animais em zonas semiáridas. No nordeste do Brasil, as populações locais utilizam esse óleo amplamente para fritar, cozinhar e fazer sabão (TEIXEIRA et al., 2022).

2.4.2 Atividades biológicas do óleo de licuri

Na medicina popular, o óleo de *S. coronata* possui diferentes relatos de suas aplicações, como por exemplo: picadas de cobra, inflamações oculares, micoses, cicatrização de feridas e tratamento da dor espinhal, além de outras atividades biológicas que já foram descritas, incluindo atividades antibacterianas, inseticidas, bem como hidratantes (CORADIN et al., 2018; RAZERA, 2021).

Em modelo de *Galleria mellonella* infectada com *Staphylococcus aureus*, foram avaliadas as atividades antibióticas e antibiofilme do óleo de licuri, devido ao potencial terapêutico de 11 compostos voláteis que correspondem a 98,63% do óleo total, sendo a maioria 89,79% ácidos graxos, que apresentou eficácia antimicrobiana contra todos os *S. aureus*, neles incluindo aqueles com fenótipos de formação de biofilme e múltipla resistência a drogas (SANTOS et al., 2019).

Na ação contra as cepas avaliadas de *S.aureus*, o óleo essencial foi mais ativo que o óleo fixo, dando ênfase a sua atividade bactericida mais eficaz, entretanto o óleo fixo do licuri apresentou ações bacteriostática e bactericida (BESSA et al., 2016).

O extrato aquoso das inflorescências do licuri apresentam atividade antimicrobiana frente aos microorganismos *Bacillus cereus* e três cepas de *S. aureus*, enquanto o extrato metanólico das inflorescências demonstrou atividade antibacteriana frente a *B. cereus*. O extrato aquoso da inflorescência de *S. coronata* apresentou atividade moderada (CIM = 0,78 mg/mL) contra cepas de *S. aureus* e forte atividade (CIM = 0,19 mg/mL) contra *B. cereus*, enquanto o extrato de metanólico apresentou atividade moderada (CIM = 0,78 mg/mL) contra *B. cereus* (HUGHES et al., 2013).

Segundo Oliveira e seus colaboradores (2020), o óleo de licuri possui efeito fungistático inibindo o crescimento micelial e germinação de esporos do fungo *Fusarium oxysporum*, causador da fusariose, demonstrando potencial para sua utilização no controle biológico deste fungo.

Não foi encontrada na literatura científica pesquisada, a atividade do óleo de licuri sobre *Candida* spp - responsáveis por várias mortes em todo o mundo, especialmente a *Candida albicans* (ZHOU et al., 2018). Vale ressaltar que essa levedura comensal pode se tornar patogênica em determinadas circunstâncias (SIQUEIRA et al., 2015). Apesar das relevâncias clínica e epidemiológica das infecções causadas por *Candida* spp., as opções terapêuticas são escassas.

O óleo de licuri tem sido também estudado como uma alternativa biodegradável e menos tóxica ou atóxica para o meio ambiente como inseticida contra o *Aedes aegypti*, que é um mosquito da família *Culicidae* e vetor dos vírus que causam a dengue, chikungunya e zika. Notou-se neste estudo de Santos e colaboradores (2017) que a atividade natatória das larvas de *Aedes aegypti* incubadas com o óleo de licuri por 1 a 3 horas foi significativamente menor do que as larvas do controle. Os resultados também demonstraram que as larvas, após 48 horas de incubação com o óleo extraído das sementes de *S. coronata*, morreram. Os autores também relataram que a atividade larvicida foi devida à ação dos ácidos decanóico e dodecanóico, enquanto o efeito dissuasor da oviposição estava provavelmente relacionado à presença do ácido octanóico (SANTOS et al., 2017).

O licuri, além das ações larvicida e bactericida mencionadas, possui efeito tripanocida, atribuídos aos óleos essenciais voláteis extraídos de seu fruto, sendo promissores no tratamento de doenças parasitárias e abrindo perspectivas para criação de novos fármacos para combater doenças provocadas por estes patógenos. Em estudo que foram tratados macrófagos peritoniais de murinos infectados com o *Trypanosoma cruzi*, demonstrou-se que o óleo essencial inibiu em porcentagem significativa a concentração de macrófagos infectados. Em ensaio hemolítico, cujo objetivo foi avaliar a citotoxicidade do óleo em relação à membrana plasmática, observou-se que o óleo de licuri foi consideravelmente menos tóxico, quando comparado com os medicamentos de referência (SOUZA et al., 2017).

A atividade de um extrato aquoso (casca do coco) de *S. coronata* contra os parasitas *Leishmania amazonensis* e seus efeitos na infecção de macrófagos e na produção de óxido nítrico pelos mesmos foi investigada, demonstrando a presença de procianidinas poliméricas (na concentração de 146 mg/g) no extrato aquoso da casca do fruto do licuri. O extrato aquoso não exibiu efeito citotóxico em células (macrófagos) de mamíferos, sendo considerado não alergênico, pois nenhum dos animais que foram testados (camundongos) não apresentou qualquer reação alérgica dérmica ou ocular, concluindo-se, pois, pelo potencial desta planta como uma droga leishmanicida (RODRIGUES et al., 2011).

Os resíduos do licuri, como as cascas de frutas, folhas e flores são potenciais substratos para serem utilizados no processo de cultivo e bioconversão para micélios, basidiomas e produção de enzimas ligninolíticas pelo *Genoderma lucidum*, popularmente conhecido como cogumelo-rei no Brasil e estudados em todo mundo pelas propriedades medicinais de seus micélios, basidiomas e esporos (MENEZES et al., 2016).

O ácido láurico, um dos principais ácidos graxos do óleo de licuri, demonstra propriedades antiinflamatórias e antimicrobianas, o que poderia explicar a tradicional utilização do óleo de licuri como agente antiinflamatório pela população. A citotoxicidade deste óleo foi avaliada frente às linhagens celulares: células embrionárias renais (HEK-293), macrófagos (J774.A1) e a linhagem tumoral Sarcoma-180 (S-180), cujos resultados demonstraram baixos níveis de citotoxicidade nas concentrações avaliadas. O óleo de licuri se administrado por via oral em camundongos, é seguro quando avaliado por parâmetros

bioquímicos, hematológicos e histológicos e não demonstrou dano genético mesmo em altas concentrações. Além disso, sua ingestão não causa efeitos nocivos à saúde dos consumidores, mesmo em doses relativamente altas (SOUZA et al., 2021).

2.4.3 Aplicações não biológicas da palmeira licuri

A possibilidade de esgotamento dos combustíveis fósseis e os danos causados ao meio ambiente por eles têm levado à procura de fontes renováveis de energia não poluidora. O biodiesel, que é um combustível originado pelo processo químico de transesterificação, em que ésteres de ácidos graxos são obtidos pela reação de óleos vegetais ou gorduras animais com um álcool. O óleo proveniente das amêndoas de licuri apresenta rico teor de ácido láurico, cujos ésteres formados serão de cadeia média, facilitando a reação de obtenção de biodiesel. Além disso, a ausência de insaturação eleva a estabilidade oxidativa, representando mais uma oportunidade tecnológica e estratégica para o Brasil, tendo ainda como vantagem a adaptação desta palmeira em regiões áridas como à caatinga e cerrado (SANTOS, 2011).

A otimização do cultivo do licuri, poderá contribuir diretamente com o desenvolvimento econômico e sustentável, alinhado a uma agricultura familiar, que potencializa a oferta alternativa de uma fonte proveniente de biomassa para a produção de biocombustível, resultando principalmente, na melhoria da qualidade de vida da população nordestina, cujo cultivo desta palmeira é mais frequente, e na cadeia de valor do extrativismo conciente (DUARTE, 2018).

Os subprodutos provenientes da produção de biocombustível a partir de óleos vegetais podem ser utilizados na alimentação animal. A torta de licuri corresponde a um subproduto do processo de extração do óleo obtido por prensagem a quente, sem o uso de solventes e contém altos teores de proteína (23,6%), fibra (51,5%) e óleo (10,1%), na matéria seca. Esta palmeira típica do semiárido nordestino brasileiro, possui destaque por sua capacidade de suportar secas prolongadas, sendo fonte de alimento importante para humanos e animais (COSTA, 2016) além de sua potencial conversão em biodiesel.

Para além das propriedades do óleo de licuri, as fibras dos frutos do licurizeiro têm sido pesquisadas como um processo biossorvente alternativo para

remover azul de metileno, um corante utilizado em processos de tingimento, de soluções aquosas. A utilização de adsorventes ou biossorventes de baixo custo tornam este processo mais atraente do que os demais processos de tratamento (MEILI et al., 2016).

O uso dos subprodutos agroindustriais provenientes da extração do óleo do licuri, devido a maior disponibilidade e redução de custos em relação aos ingredientes tradicionais, como farelo de soja e milho moído, tem sido mais requisitado e utilizado para alimentação de ruminantes (FERREIRA et al., 2016). A torta de licuri, que é um exemplo deste subproduto de extração, pode ser utilizada em 21% de matéria seca em rações para gado (*Bos taurus* e *Bos indicus*) em confinamento sem prejudicar a qualidade da carne fresca ou de sol, sendo também indicada para concentrar a suplementação de vacas leiteiras com produções médias de 10 kg/dia em níveis de até 400 g/kg no suplemento concentrado, proporcionando um lucro adicional de US\$0.07/animal por dia, e também aumentando a taxa de gordura do leite e do queijo Minas frescal sem causar efeitos negativos sobre os parâmetros de produtividade. (GOUVÊA, 2014; FERREIRA et al., 2017).

Por fim, a farinha de licuri, também um subproduto de extração do óleo, rica em fibras alimentares (35,08%), possui expressivo valor de compostos fenólicos e boa fonte de antioxidantes naturais, sendo uma excelente opção para o enriquecimento de pães, valorizando ainda mais a comercialização e utilização de seus frutos, sendo sua castanha, utilizada na gastronomia torrada, caramelizada, no preparo de granola, sorvete, sobremesas e diversos outros alimentos, os quais são ricos em minerais e beta-caroteno. A importância do licuri na alimentação vem crescendo nos últimos anos, extrapolando o âmbito dos usos tradicionais e inspirando cada vez mais a elaboração de novas receitas, como doces, comidas salgadas e pães (GOMES; APLEVICZ, 2020).

2.5 AVALIAÇÃO DE ATIVIDADES BIOLÓGICAS E DE TOXICIDADE

2.5.1 Métodos alternativos ao uso de animais em pesquisa

Os métodos chamados alternativos e os testes *in silico*, *in vitro* e/ou *ex vivo* ou de avaliação de atividades biológicas e de toxicidade são caracterizados pela tentativa de substituição e/ou diminuição do uso de animais na pesquisa (BEDNARCZUK et al., 2010; CAO et al., 2020). Esses ensaios têm seus objetivos descritos na estratégia dos 3Rs, as quais consistem na redução (*Redution*) do número de animais por meio do planejamento experimental e do suporte estatístico; no refinamento (*Refinement*) definido como o cuidado com o animal, evitando a dor, o estresse e o desconforto que podem influenciar diretamente nos resultados da pesquisa; e na substituição (*Replacement*) por modelos *in silico*, *in vitro* e/ou *ex vivo*. (FURXHI et al., 2020, NEVES et al., 2023). Toda esta evolução estratégica na criação e na validação de métodos alternativos ao uso de animais se faz necessária cotidianamente, devido há vários fatores bioéticos para pesquisadores e sociedade em geral, bem como para o desenvolvimento tecnológico. Os protocolos alternativos ao uso de animais *in vitro* podem utilizar organismos-modelo como bactérias, fungos, algas, crustáceos e microcrustáceos, além de frações dos sistemas biológicos, tais como cultivo de células, cultivo de tecidos, enzimas e proteínas (BEDNARCZUK et al., 2010).

De acordo com Gon e colaboradores (2023), ainda há espaço para a redução do uso de animais para alguns testes *in vivo*, no entanto, são necessários investimentos em infraestrutura e pessoal qualificado para tal ação. Ainda segundo os autores, promover um cenário – sob o ponto de vista político, técnico e regulatório – mais propício para validação e implementação de

métodos alternativos nacionalmente, será uma contribuição valiosa para as diminuições tanto de custo quanto de tempo na liberação de lotes de produtos.

Análises *in silico*, empregando modelos computacionais também pode ser empregada como método alternativo, nos quais *softwares* são utilizados para o desenho de novas moléculas e são realizadas simulações que podem prever um possível efeito biológico e/ou tóxico sem a dissecação de animais (DOKE E DAWHALE, 2013). Tais dados direcionam a condução de estudos *in vivo*, e podem contribuir para a melhoria dos estudos com animais (BEDNARCZUK et al., 2010). Os métodos *in silico* tem ganhado popularidade e seu uso é crescente, pois são relativamente econômicos e eficientes. Além disso, tais métodos possibilitam a identificação de descritores importantes a partir da modelagem computacional e uso da inteligência artificial, favorecendo a descoberta de novas propriedades e/ou toxicidade dos compostos (BALRAADJSING et al., 2022; GAJEWICZ, 2018; KOVALISHYN et al., 2018; MURUGADOSS et al., 2021; ZHANG et al., 2020).

2.5.2 Avaliação de atividades biológicas *in vitro*

2.5.2.1 Atividade antioxidante

As espécies reativas de oxigênio (EROs) e de nitrogênio (ERNs) são geradas naturalmente durante o metabolismo celular dos seres vivos e desempenham papel crucial nas atividades bioquímicas bem como na sinalização de transdução, transcrição de genes, proliferação celular, adesão de leucócitos, agregação plaquetária, angiogênese (UTTARA et al., 2009). De acordo com Vicentino e Menezes (2007), quando o organismo não consegue neutralizar tais moléculas, o acúmulo de EROs/ERNs acontece. Tal condição desencadeia o estresse oxidativo (SIMIONI et al., 2018). Os ânions superóxidos (O_2^-), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e os radicais hidroxilas (OH^\cdot) são exemplos de EROS (CHOI et al., 2002). O estresse oxidativo é tido como importante fator para o dano progressivo da estrutura neuronal e comprometimento da função dessa célula, sendo considerado uma das principais causas do desenvolvimento de distúrbios neurodegenerativos, incluindo a Doença de Alzheimer (LIGUORI et al., 2018; TELEANU et al., 2022).

Um dos mecanismos de neutralização destas espécies reativas se dá por meio da ação de substâncias antioxidantes, ou seja, compostos capazes de evitar possíveis danos ao organismo (GULCIN, 2020). Diversos antioxidantes são obtidos de fontes naturais (RANA et al., 2022; SHI et al., 2022).

Apesar da fisiopatologia da Doença de Alzheimer não estar completamente elucidada, vários mecanismos se relacionam com o estado de neuroinflamação (OZBEN; OZBEN, 2019). Alguns produtos de fontes naturais também apresentam propriedades antiinflamatórias, que associadas ao potencial antioxidante, têm demonstrado capacidade para prevenir ou melhorar o processo neurodegenerativo. Este efeito pode estar relacionado à complexa composição dos produtos naturais, os quais podem interagir com múltiplos alvos e modular diferentes vias de sinalização simultaneamente (COOPER, 2017).

Dentro deste cenário, a busca por novos agentes antioxidantes tem sido objeto de estudo de vários pesquisadores ao redor do mundo na tentativa de amenizar condições de doenças agudas ou crônicas relacionadas ao estresse oxidativo (SADEER *et al.*, 2020).

Dentre os vários protocolos de ensaio para esta atividade, o de neutralização do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH) é um dos mais comumente usados, pois é altamente sensível, tecnicamente simples, rápido, preciso e reprodutível (KEDARE; SINGH, 2011). Ele se baseia na doação de elétrons da substância a ser testada (potencial antioxidante) para neutralizar o radical DPPH, e que pode ser acompanhado pela mudança de coloração de violeta para amarelo. Desta forma, a atividade pode ser estimada pela leitura da absorvância com auxílio do espectrofotômetro (ROMULO, 2020). A construção de um gráfico do percentual de inibição *versus* a concentração da substância-teste permite o cálculo da concentração efetiva necessária para reduzir a quantidade de radicais DPPH pela metade (CI₅₀) (SCHAICH; TIAN; XIE, 2020).

2.5.2.2 Avaliação *in vitro* da inibição da acetilcolinesterase (AChE)

As teorias sobre a fisiopatologia da Doença de Alzheimer servem como base para a busca de alvos terapêuticos que revertam ou estabilizam o quadro clínico do paciente. No entanto, apesar de todo progresso, ainda não há cura para a Doença de Alzheimer (BREIJYEH; KARAMAN, 2020).

A terapia farmacológica disponível se baseia na regulação do neurotransmissor acetilcolina (ACh) por meio da inibição da acetilcolinesterase (AChE), auxiliando na contenção da progressão dos sintomas, estabilização ou melhora, mesmo que temporária, das funções cognitivo-comportamentais. Estas opções ajudam a manter a independência do paciente, apesar de não serem curativas, e melhorar a qualidade de vida de ambos, paciente e cuidadores/familiares (SHARMA, 2019). Cinco são as opções para o tratamento da Doença de Alzheimer aprovadas pela agência americana *Food and Drug Administration* (FDA) que tratam os sintomas sem alterar o curso da doença. Quatro delas são para o tratamento sintomático e atuam na regulação de neurotransmissores (tacrina, donepezila, rivastigmina e galantamina) e o quinto é anticorpo monoclonal com especificidade para a proteína A β , classificado como medicamento modificador da doença (PASSERI *et al.*, 2022; BUBLEY *et al.*, 2023; METZ; PAVLOV, 2021). Os inibidores da AChE regulam os níveis de AChE na fenda sináptica, enquanto a memantina, regula os níveis de glutamato e evita a superativação destes receptores através da ação antagonista (HAMPEL *et al.*, 2018). Aducanumabe foi aprovado em 2021 para uso em paciente no estágio inicial da doença e tem a capacidade de se ligar à proteína A β para facilitar o reconhecimento e remoção pelas células do sistema imunológico. Ainda, por atuar em um dos biomarcadores que tem papel importante na fisiopatologia da DA, recebe a classificação de medicamento modificador da doença (ARGUETA; NOTARI; SZIGETI, 2022).

A acetilcolinesterase (AChE) é uma enzima que catalisa a reação de hidrólise da ACh em acetato e colina, e tem o papel de finalizar a transmissão sináptica mediada por este neurotransmissor nas sinapses colinérgicas e junções neuromusculares com alta eficiência catalítica. Dessa forma, as substâncias capazes de interromper a ação desta enzima são chamadas de inibidores da AChE (iAChE) e favorecem a concentração de ACh na fenda sináptica (HAMPEL *et al.*, 2018; MARUCCI *et al.*, 2021).

A busca por novas opções terapêuticas emerge da elevada prevalência da doença e da limitação terapêutica (ROSTAGNO, 2022), sendo que ambas geram impactos negativos, tanto físicos, emocionais, sociais e econômicos (ALZHEIMER'S ASSOCIATION REPORT, 2023).

Nesse sentido, fontes naturais têm sido extensivamente avaliadas na tentativa de desenvolver fármacos mais eficazes para compor o arsenal terapêutico da DA. Portanto, neste estudo avaliou-se o óleo de licuri por meio de metodologias *in vitro* que pudessem sinalizar alguma potencialidade neste sentido, seja pela atividade antioxidante quanto pela capacidade de inibir a AChE. (LI *et al.*, 2022)

A metodologia descrita por Ellman e colaboradores (1961) é baseada na reação da AChE com um substrato específico e análogo à ACh, acetilticolina (ACTI), e o produto resultante interage com o reagente de Ellman, o ácido 5,5'-ditiobis (2-nitrobenzóico) (DTNB). A ACTI é hidrolisada pela AChE e libera a tiocolina e esta reage com o ânion carboxilato do DTNB resultando na formação de dois produtos: 2-nitrobenzoato 5-mercaptoticolina e o ânion de coloração amarela, o 5-tio-2-nitrobenzoato (TNB). A quantidade de TNB formada é diretamente proporcional à atividade da AChE presente na amostra. No ensaio, uma solução contendo a substância teste e a enzima é homogeneizada com o substrato ACTI e DTNB. A formação do TNB é quantificada espectrofotometricamente. Apresenta como vantagens a boa sensibilidade, rapidez e simplicidade (JÄRVINEN *et al.*, 2011).

2.5.3 Avaliação da toxicidade por meio do uso de bioensaios

A avaliação da toxicidade de entidades químicas diversas de origem natural, sintética e/ou biotecnológica, por meio do uso de bioensaios, é necessária para garantir a segurança ao seu uso, tanto por seres humanos quanto por animais, como também permitem conhecer e/ou minimizar seus impactos ambientais. Vários testes de toxicidade são padronizados nacionalmente pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) e empregados na avaliação da qualidade das águas para estimar a toxicidade relativa de agentes químicos, efluentes líquidos, lixiviados de resíduos sólidos. (COSTA *et al.*, 2008). Segundo Yamamoto e colaboradores (2012), não só o crescimento da população, mas também o avanço de novas tecnologias propiciaram a produção de novos fármacos em larga escala.

Para a condução deste tipo de ensaio - caracterizado pela exposição de determinado agente, em diferentes concentrações, frente a um organismo vivo,

no qual são observados efeitos no comportamento e/ou na sobrevivência - bactérias luminescentes (*Vibrio fischeri*, *Vibrio harveyi*, *Photobacterium phosphoreum* e *Pseudomonas fluorescens*), algas (*Raphidocelis subcapitata*), organismos invertebrados (*Artemia salina* Leach, *Daphnia magna*, *Thamnocephalus platyurus*) e organismos aquáticos como peixes e mexilhões são rotineiramente empregados (DUTRA et al., 2012; GHOSH, THAKUR e KAUSHIK, 2017; MARTINS et al., 2019; MENDONÇA et al., 2021; ROCCO et al., 2015).

2.5.3.1 *Artemia salina* Leach

O bioensaio que emprega o microcrustáceo *Artemia salina* Leach é considerado uma ferramenta útil para a avaliação preliminar da toxicidade aguda (FERRAZ FILHA et al., 2012) e sua metodologia encontra-se descrita na Norma Brasileira, emitida e divulgada pela ABNT – NBR 16530 de 09/2016.

O gênero *Artemia* apresenta ampla distribuição geográfica, exibe cultura e manutenção simplificadas em ambientes de pesquisa; resistência quanto à manipulação, salinidade elevada e ampla faixa de temperatura; possui ciclo de vida curto e, ainda, elevada taxa de reprodução (NUNES et al.; 2006). É considerado um bioindicador em experimentos laboratoriais, dada a resposta perceptível às pequenas variações no microambiente (CARVALHO et al., 2009).

O ensaio de letalidade com *Artemia salina* requer pequena alíquota de amostra; gera resultados rapidamente, não requer dispositivos sofisticados para sua execução e nem mão de obra altamente qualificada sendo, portanto, considerado um bioensaio de baixo custo. Adicionalmente, os cistos latentes podem ser adquiridos comercialmente (PIMENTA et al., 2003). Luna e colaboradores (2005) relataram que os resultados obtidos por este bioensaio exibem correlação com a atividade citotóxica em tumores sólidos humanos. Segundo Chan e colaboradores (2021), todas estas características reunidas fazem com que este bioensaio seja considerado uma alternativa atrativa para triagem da toxicidade aguda de várias entidades químicas em estudos.

Neste bioensaio desenvolvido por Meyer e colaboradores (1982), os náupilos são expostos a diferentes concentrações da substância de interesse e a sobrevivência é evidenciada ao longo do tempo. A mortalidade observada é anotada, e assim, a concentração letal pode ser determinada (BANTI; HADJIKAKOU, 2021; ZHU et al., 2018). No entanto, uma limitação destacada

por Ntungwe e colaboradores (2018) é o fato deste bioensaio não ser adequado para a avaliação de efeitos crônicos, necessitando ser complementado com a execução de outros ensaios de toxicidade relevantes para os organismos e condições de interesse.

2.5.3.2 *Daphnia magna*

Os testes de toxicidade aguda com peixes (*Danio rerio*) e dafinídeos são empregados como principal método para controle ambiental, com destaque para *Daphnia magna*. A utilização de microcrustáceos é compreendida dentro da ecotoxicologia como forma de demonstrar os efeitos da contaminação ambiental em vários níveis tróficos (MAGALHÃES e FERRÃO FILHO, 2008).

Em 2012, David e colaboradores relataram que os testes utilizando o microcrustáceo-modelo *Daphnia magna* são amplamente utilizados mundialmente visto que são organismos aquáticos (de água doce), cujo *habitat* é semelhante às condições naturais encontradas na água; com elevada capacidade reprodutiva, com tamanho entre 5 e 6 mm e de fácil cultivo (ALVES; SILVANO, 2006). Ainda, o fato do curto tempo de exposição, os pequenos volumes de amostras empregados e a elaboração de diretrizes internacionais de execução que possibilitam a comparação mundial dos resultados, tornam este bioensaio atrativo (ABNT, 2016; AKERE et al., 2023; CONNORS et al., 2022).

Daphnia magna alimenta-se preferencialmente de algas. Em boas condições ambientais, se reproduz por partenogênese, originando apenas fêmeas (ALVES; SILVANO, 2006). Adicionalmente, possui de 7 a 8 semanas de vida, ou seja, exibe curto tempo de maturação. Tais características também contribuem para que este microcrustáceo seja amplamente empregado nas pesquisas relacionadas às mudanças fisiológicas resultantes de estresse químico ou ambiental (ACHARYA; SCHULMAN; YOUNG, 2010). Podem ser utilizados em ensaios para análise experimental, tanto de toxicidade aguda quanto crônica (OCDE, 1984, 2012; CONNORS et al., 2022).

Daphnia magna tem sido empregada como organismo-modelo em estudos recentes (OLIVEIRA PEREIRA et al., 2023), incluindo a avaliação de nanomateriais e microplásticos (AKERE et al., 2023; WANG e WANG, 2023).

2.5.3.3 Cultura de células e tecnologias emergentes

A cultura de células é caracterizada pela manutenção e multiplicação de células vivas em um determinado meio de cultura, o qual fornece nutrientes e fatores de crescimento para a sobrevivência das células fora do organismo vivo. (LUIZI et al., 2004). Alguns fatores (controle de temperatura e da umidade; conhecimento da morfologia celular e técnicas assépticas) são essenciais para a manutenção saudável do cultivo celular (MIGITA, 2012).

A monocultura celular evoluiu para uma ferramenta indispensável para a compreensão dos processos biofísicos e biomoleculares básicos pelos quais as células formam tecidos e órgãos, assim como a fisiologia tecidual desses tecidos e o seu funcionamento quando afetado por doenças, visto que as células em cultivo mantêm o genoma do tecido vivo original e os mecanismos fundamentais de proliferação. À luz de sua finalidade, esse método alternativo pode ser empregado para demonstrar correspondências aos modelos *in vivo* (ASSIS et al., 2007; SHAH et al., 2023).

As culturas celulares (2D-bidimensional e 3D-tridimensional) ocupam uma posição crucial como ferramentas de investigação para simular o desenvolvimento humano e uma vasta gama de doenças, pois proporcionam grandes benefícios quando comparados à experimentação animal, a saber: escalabilidade (alto rendimento), análise funcional simplificada em comparação com modelos animais caros, trabalhosos e demorados (CORRÒ et al., 2020).

Os resultados obtidos por meio de estudos com células mantidas em cultura estão se tornando ferramentas cada vez mais fundamentais nas pesquisas relacionadas ao setor de saúde e, em especial, na biotecnologia industrial. Esses dados podem informar aspectos funcionais, bioquímicos e moleculares, como também ser aplicados em análise de alvos farmacológicos e na produção de produtos biológicos, tais como vacinas, anticorpos e organoides (MIGITA, 2012; CORRÒ et al., 2020). No entanto, as culturas 2D carecem das redes celulares de comunicação cruzada, as quais são aproveitadas de forma eficiente em culturas tridimensionais (3D) com uma melhor imitação das condições *in vivo* (PRASAD et al., 2021). Portanto, essa importante técnica de pesquisa aliada às tecnologias emergentes de manufatura aditiva e microfluídica tem ampliado seu campo de aplicação: avaliação da citotoxicidade de compostos

químicos (ADEM et al., 2018; DUVAL et al., 2017), da biocompatibilidade de materiais (ERIONE et al., 2017), o desenvolvimento farmacológico (ACEVEDO et al., 2018; MANATUNGA et al., 2018; KIM e GILBERT, 2018), bem como de plataformas em desenvolvimento que incluem farmacoterapia regenerativa, organoides como fonte celular de regeneração produzido por bioengenharia (JALAN-SAKRIKAR et al., 2023; SHAH et al., 2023).

Os modelos de cultura 3D abrem novos caminhos para os estudos translacionais com a otimização das tecnologias emergentes e o desenvolvimento de estruturas eficientes e, portanto, 3D tendem a se tornar mais promissoras (SUNDSTRÖM et al., 2021).

Os modelos de órgão em chip também representam uma abordagem inovadora e a que mais se aproxima do tecido *in vivo* (BENAM et al., 2016; THACKER et al., 2020). Estes modelos simulam as respostas fisiológicas de um órgão completo, chamado de órgão em um chip, que é um modelo tridimensional de cultura celular microfluídica, com circuito integrado multicanal (KUNDU et al., 2021).

O fibroblasto é o principal tipo celular da derme e, por isso, selecionados para este estudo. Têm sido longamente explorado para estudos *in vitro*, provavelmente pela capacidade de crescimento em culturas, comparativamente às outras linhagens celulares. A função primária desse tipo celular é a síntese de proteínas da matriz extracelular, tais como colágeno, fibronectina, elastina, proteoglicanas, e suas enzimas degradadoras, tais como colagenase, elastase e outras metaloproteinases da matriz (BALDWIN e KLIGMAN, 1988).

Mais recentemente, modelos de pele completa, (composta por matriz de colágeno povoada por fibroblastos humanos primários como derme e epiderme diferenciada feita de queratinócitos humanos primários) têm sido empregados (REDDERSEN et al., 2019; WIEGAND et al., 2016). Modelos de pele artificial construídas tridimensionalmente (3D) com ou sem biotinta ou contaminadas também são utilizados com diferentes finalidades, como a cobertura de feridas de pele por pressão (FINK et al., 2022; MARKIEWICZ et al., 2022; KIM et al., 2023; CHOI et al., 2023).

Os métodos colorimétricos utilizados para obtenção da citotoxicidade são caracterizados pela conversão de um substrato para um produto colorido por enzimas intracelulares presente em células metabolicamente ativas. Dessa

forma, a cor final obtida é diretamente proporcional ao número de células viáveis. Dentre os ensaios colorimétricos estabelecidos na literatura, dois são destacados: o ensaio de redução do brometo de 3- (4,5-dimetil-2-tiazolil)-2,5-difenil-2H tetrazólio (MTT) e o ensaio que emprega resazurina (EDIRIWEERA, TENNEKOON e SAMARAKOON, 2018).

O método de redução do sal de MTT é o método mais rotineiramente empregado na avaliação da citotoxicidade e pode ser considerado padrão-ouro para a viabilidade e proliferação celular (GHASEMI et al., 2023; YAGIZ et al., 2023). Essa metodologia se baseia na redução do sal de MTT (solução de coloração amarelada) por enzimas desidrogenases e agentes redutores presente em células metabolicamente ativas (STOCKERT et al., 2012), cujo produto desta reação é a geração de um composto insolúvel em água e de cor arroxeada (a formazana) (SCHERLIE, 2011). Quando solubilizada, ela forma uma solução homogênea, cuja absorvância pode ser medida em espectrofotômetro (MOSMANN, 1983).

Esse protocolo consegue avaliar a função mitocondrial, diretamente relacionada ao metabolismo das células vivas; sendo a quantidade de células vivas diretamente proporcional à formação dos cristais de formazana (SYLVESTER, 2011).

Diante de todo este contexto e considerando a possível ocorrência desse óleo e/ou de seus resíduos no ambiente aquático, foi proposta a avaliação da toxicidade aguda neste projeto, por meio de bioensaios, nos quais foram avaliados os efeitos tóxicos decorrentes da exposição do óleo de interesse (óleo fixo obtido das amêndoas de *Syagrus coronate* (Mart.) Beccari por dois organismos-modelo, a saber: *Artemia salina* Leach e *Daphnia magna*. Ainda, e visando o aproveitamento deste óleo da biodiversidade nacional para fins de uso humano e veterinário, foi avaliada a toxicidade sobre fibroblastos murinos (L929).

3 OBJETIVOS

3.1 GERAL

Caracterizar o perfil químico, avaliar a eficácia *in vitro* e o perfil de segurança do óleo fixo de *Syagrus coronate* (Mart.) Beccari – o licuri.

3.2 ESPECÍFICOS

Caracterizar quali e quantitativamente o perfil químico dos ácidos graxos presentes no óleo fixo extraído das amêndoas de *Syagrus coronata*.

Estabelecer os potenciais biológicos (antioxidante, antifúngico e de inibição da acetilcolinesterase) empregando protocolos *in vitro*.

Avaliar a toxicidade frente aos organismos-modelo (*Artemia salina* Leach e *Daphnia magna*) e fibroblastos murinos (L929) expostos ao óleo fixo de licuri.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAL VEGETAL

O óleo fixo extraído da amêndoa de *Syagrus coronata* (Mart.) Beccari por prensagem a frio e filtrado foi adquirido comercialmente da empresa D. L. Derivados De Ouricuri Ltda Licuri do Brasil (Cadastro Nacional da Pessoa Jurídica 16.632.882/0001-48, nome fantasia Licuri Brasil) localizada em Caldeirão Grande (coordenadas geográficas: Latitude: 11° 0' 32" Sul, Longitude: 40° 18' 7" Oeste) - Bahia - Brasil. O óleo possui coloração amarelada e aroma suave de côco.

4.2 PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DO ÓLEO FIXO DE *Syagrus coronata*

Os ácidos graxos utilizados na síntese dos padrões de ésteres metílicos foram submetidos ao protocolo de esterificação em meio alcoólico. A uma alíquota da mistura de ácidos graxos (80 mg), adicionou-se 8 mL de solução previamente preparada com 2 g de cloreto de amônio, 60 mL de metanol para análise e 3 mL de ácido sulfúrico. Após homogeneização em vórtex e aquecimento em água fervente por 10 minutos, foram adicionados 4 mL de uma solução saturada de cloreto de sódio. Por fim, realizou-se extração com 2 mL de *n*-hexano PA destilado, para a obtenção dos ésteres metílicos.

Em outro tubo de ensaio, foram adicionados 80 mg do óleo extraído da amêndoa do licuri e, em seguida, adicionados 4 mL de solução de hidróxido de potássio 0,5 mol/litro de metanol PA e homogeneizados em vórtex. Em seguida, foram aquecidos em água fervente por 5 minutos. Após esse período, adicionou-se 4 mL de uma solução previamente preparada com 2 g de cloreto de amônio PA, 60 mL de metanol PA e 3 mL de ácido sulfúrico PA. A mistura foi novamente homogeneizada e depois aquecida em água fervente por 5 minutos. Finalmente, foram adicionados 4 mL de solução de cloreto de sódio saturada (36 g em 100 mL de água) e realizada a extração com 2 mL de *n*-hexano PA destilado, para a obtenção dos ésteres metílicos derivados dos ácidos graxos presentes no óleo. Adicionou-se à fase orgânica obtida após a extração com *n*-hexano destilado, concentração aproximada de 40 mg/mL, em um tubo de ensaio com sulfato de

sódio anidro PA. Depois, transferiu-se 100 μL desta solução para outro tubo contendo 900 μL de *n*-hexano destilado, realizando assim uma diluição de 10 vezes. Em seguida, transferiu-se essa solução para o *vial* do CG-EM em uma proporção de 1 + 2 volume/volume (v/v), chegando à concentração final de 1,33 mg/mL.

As análises por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) foram realizadas em equipamento GCMS-QP2010Plus (Shimadzu) acoplado ao auto-injetor AOC-5000, coluna capilar RTx®-5MS, 60 m x 0,25 mm, espessura do filme 0,25 μm (Crosband 5% difenil, 95% polisiloxano). Como gás de arraste, foi utilizado o gás hélio. Para a realização das análises, as seguintes condições foram empregadas: modo *Split* (taxa de *split* 1:10), volume de injeção de 1 μL , fluxo de 19,1 mL/minuto, temperatura de interface do injetor de 245 °C. Para o forno, foi empregue a programação descrita na Tabela 3.

Tabela 3 – Programação linear da temperatura do forno da coluna usada na cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas.

Taxa (°C/minuto)	Temperatura (°C)	Tempo de espera (minutos)
-	80	3
5	150	6
5	215	3
5	250	1

Fonte: o autor (2023).

Em relação ao detector de massas, este foi programado para analisar massas na faixa de 40 a 700 unidades de massa atômica, no intervalo de 3 até 47 minutos, e a fonte de ionização foi o impacto de elétrons a 70 eV.

A identificação dos componentes ocorreu com base no índice de retenção (IR) calculado por meio da injeção de padrão de *n*-alcanos C7-C30 e nos modelos de fragmentação dos espectros de massas, sendo ambos comparados ao banco de dados do sistema (NIST08 Mass Spectral Library) e com a literatura (ADAMS, 2007).

4.3 ATIVIDADES BIOLÓGICAS

4.3.1 Atividade antioxidante

A atividade antioxidante foi investigada pelo método de sequestro de espécies reativas de oxigênio através da redução do DPPH, descrito por Sreejayan e Rao (1996), com modificações. Inicialmente, foi preparada uma solução de DPPH na concentração de 0,05 mM através da pesagem de 1 mg de DPPH solubilizado em 50 mL de etanol para análise (PA). Uma alíquota do óleo de licuri foi preparada a partir de 10 µL de óleo e 10 µL de dimetilsulfóxido, (DMSO, Vetec) solubilizados em 1980 µL de etanol obtendo uma solução inicial de 5.000 µg/mL. Dessa, foram alíquotados 200 µL aos quais se adicionou 800 µL de etanol PA, obtendo uma solução com concentração de 1.000 µg/mL. Foram realizadas diluições seriadas utilizando o etanol PA como diluente. Em microplaca de 96 poços, foram adicionados 50 µL da amostra, em diferentes concentrações, e 150 µL de DPPH. Ao término do processo, foram obtidas concentrações-teste na faixa de 0,122 a 250 µg/mL. Para cada concentração foi preparado o branco da amostra, para excluir possível interferência da coloração da amostra. As placas foram levadas para homogeneização no agitador de microplaca por 3 minutos, e mantidas à temperatura ambiente e ao abrigo da luz por 30 minutos. Após esse período, foi realizada a leitura da placa com o espectrofotômetro (Multiskan GO, Datamed, Brasil) (comprimento de onda = 510 nm). O padrão utilizado no ensaio foi o ácido ascórbico (Sigma-Aldrich, EUA), o qual foi preparado igualmente à amostra e na mesma faixa de concentração. O ensaio foi conduzido em triplicata. A atividade antioxidante foi calculada por meio da Equação 1.

$$\text{Atividade antioxidante (\%)} = \frac{A_{\text{amostra}} - A_{\text{controle}}}{A_{\text{DPPH}}} \times 100 \text{ (Equação 1)}$$

onde: A_{amostra} é o valor da absorbância da solução contendo a amostra mais o DPPH; A_{controle} equivale ao valor da absorbância da solução contendo amostra mais o etanol; e A_{DPPH} equivale à solução etanólica de DPPH.

Com a obtenção das absorvâncias, foram calculadas as porcentagens da atividade antioxidante para cada concentração e construído um gráfico de dose-resposta. Dessa forma, foi possível obter a concentração capaz de inibir 50% dos radicais livres (CI_{50}) presente no DPPH.

4.3.2 Inibição da acetilcolinesterase (AChE)

A inibição da AChE provocada pelo óleo de licuri foi avaliada pelo método colorimétrico descrito por Ellman e colaboradores (1961), com algumas modificações, adaptado para microplacas por Rhee e colaboradores (2001). Foram usados o iodeto de acetiltiocolina (ATCI) como substrato e o reagente de Ellman ácido 5,5'-ditiobis-(2-nitrobenzóico) (DTNB). Em uma placa de 96 poços, foram adicionados 80 μL de solução tampão Tris-HCl 50 mM (pH=8,0), 120 μL do óleo de licuri (2 – 2.000 $\mu\text{g mL}^{-1}$), e 25 μL da solução de DTNB 3 mM + ATCI 75 mM. Em seguida, foram colocados 25 μL de solução de AChE 0,25 U mL^{-1} . Posteriormente a absorvância foi lida espectrofotometricamente ($\lambda = 415 \text{ nm}$), a cada 15 segundos por 41 ciclos, e à temperatura de 37 °C. O fármaco de referência empregado foi a eserina. Também foram preparados o branco do óleo-teste, adicionando 120 μL do óleo (nas mesmas concentrações dos poços-teste) à 130 μL do tampão tris(hidroximetil)aminometano-ácido clorídrico (Tris-HCl), para excluir possível interferência da coloração do óleo; o branco da enzima, adicionando 225 μL de tampão Tris-HCl à 25 μL de substrato, para excluir possível interferência da enzima; e a enzima teste, adicionando 200 μL de tampão Tris-HCl, 25 μL de substrato e 25 μL de enzima, para obter 100% de atividade da enzima. O teste foi realizado em triplicata. A atividade enzimática foi calculada a partir da inclinação da região linear da curva cinética ($\Delta\text{Absorvância}/\Delta\text{tempo}$) utilizando o programa Microsoft® Excel. A porcentagem de inibição foi calculada pela comparação das taxas de reação da amostra (óleo) com a taxa de reação da eserina. A concentração inibitória 50% (CI_{50}), ou seja, concentração do óleo capaz de inibir a hidrólise da acetilcolina em 50%, foi determinada a partir da curva dose-resposta, empregando o *software* GraphPad Prism 5. O teste t de *Student* foi utilizado para avaliar diferenças significativas entre os valores de porcentagem de inibição e CI_{50} do óleo e o fármaco de referência. A probabilidade aceita como indicativa da existência de diferença significativa foi de $p < 0,05$.

4.3.3 Atividade antifúngica

As cepas padrão utilizadas neste estudo foram: *Candida albicans* American Type Culture Collection (ATCC) 10231; *Candida glabrata* (Taniwaki, M.H.), Coleção de culturas tropicais (CCT) 0728; *Candida krusei* (FTI) CCT 1517; e *Candida guilliermondii* (CCT) 1890 oriundas da Fundação André Tosello (São Paulo, Brasil). Os procedimentos foram realizados de acordo com o protocolo M27-A2 do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI).

As linhagens de leveduras foram cultivadas a 35 ± 2 °C por 48 horas em ágar Sabouraud dextrose (SDA). Suspensões fúngicas de cada linhagem foram preparadas com transmitância de 89-90% no comprimento de onda de 530 nm, usando solução salina estéril 0,9%. Foram feitas diluições das soluções em meio *Roswell Park Memorial Institute* (RPMI) 1640 (Sigma Aldrich, EUA) tamponado com ácido 3(N-morfolino) propanosulfônico (MOPS) (*JT Baker*, Alemanha) para obtenção de 3×10^3 unidades formadoras de colônia (UFC)/mL. O pH foi ajustado para 7,0, com o auxílio de solução de hidróxido de sódio 0,5 M. O óleo foi diluído em meio RPMI 1640 tamponado com MOPS e $20 \mu\text{L mL}^{-1}$ de Tween-80/DMSO (1:1, v/v), em concentrações que variaram de 9,7 – $2.500 \mu\text{g mL}^{-1}$.

Em microplacas estéreis de 96 poços, foram adicionados 100 μL do óleo de licuri nas diferentes concentrações e 100 μL das suspensões fúngicas padronizadas. O controle de crescimento consistiu em 200 μL do mesmo meio de cultura inoculado e o controle negativo compreendeu em 200 μL de meio de cultura não inoculado. A anfotericina B ($0,125 - 64 \mu\text{g mL}^{-1}$) e a nistatina (2 a 64 unidades internacionais - UI) foram utilizadas como fármacos de referência.

As microplacas foram incubadas em estufa bacteriológica a 35 ± 2 °C por 48 horas. A menor concentração na qual não houve crescimento fúngico foi classificada como a concentração inibitória mínima (CIM). Para determinar a concentração fungicida mínima (CFM), retirou-se 10 μL dos poços onde não ocorreu crescimento no procedimento da CIM e transferiu-se para tubos contendo 1 mL de caldo *Sabouraud dextrose* (SDB), os quais foram incubados novamente nas mesmas condições previamente descritas. Após esse período, foi realizada a leitura da CFM. Nas concentrações em que se observaram crescimento fúngico, a diluição foi considerada como sendo fungistática.

Naquelas onde não ocorreram crescimento, classificou-se como de ação fungicida. Os experimentos foram realizados em triplicata.

4.4 TOXICIDADE AGUDA

4.4.1 *Artemia salina* Leach

A avaliação da letalidade para *Artemia salina* foi realizado de acordo com o descrito por Meyer e colaboradores (1982), com modificações. Os ovos encistados do microcrustáceo (Maramar Aquacultura, Cabo Frio, Rio de Janeiro, Brasil) foram incubados em água marinha artificial com pH = 8-9 à temperatura ambiente. Após 48 horas de incubação sob iluminação artificial, os ovos eclodiram e 10 unidades do microcrustáceo foram coletados e adicionados em poços de placa branca leitosa contendo o óleo de licuri solubilizados inicialmente em 2,5% de DMSO (Vetec) com volume completado para 5 mL usando água do mar artificial. A amostra foi avaliada em triplicata nas concentrações de 10 a 1.000 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Os controles negativos foram a água do mar artificial e o DMSO (2,5%) e o controle positivo empregado foi o timol, nas mesmas concentrações do óleo. Transcorridas as 24 horas de tratamento, o número de microcrustáceos sobreviventes foi contado e a porcentagem de morte calculada. A concentração letal de 50% (CL₅₀) foi calculada pela análise Probit (Finney, 1971). O teste T de *Student* foi empregado e valores de $p < 0,05$ apresentaram diferença estatística significativa.

4.4.2 *Daphnia magna*

Para a avaliação da toxicidade aguda empregando a *Daphnia magna* como bioindicador foi utilizado o Kit Daphtoxkit F magna (Microbio Tests Inc., Bélgica). Foram utilizados organismos com 2 a 26 horas de vida após a eclosão dos ovos e os procedimentos executados seguiram as orientações do fabricante.

Resumidamente, foram avaliadas diferentes concentrações do óleo (0,10 a 40,00 mg mL^{-1} de Tween 80:DMSO, 1:1, v/v). Foram preparados também os controles, os quais consistiam de Tween 80:DMSO (1 : 1, v/v) e a água. Para

cada concentração foram acrescentados 25 microcrustáceos, os experimentos foram protegidos da luz, incubados por 48 horas à temperatura de 22°C e os resultados expressos em Concentração Efetiva Média (CE₅₀), ou seja, aquela capaz de provocar a morte ou imobilidade a 50% dos organismos, após determinado tempo de exposição (ABNT, 2002; 2011). O óleo avaliado foi categorizado conforme o estabelecido por Zucker (1985, Manrique, 2009).

4.4.3 Citotoxicidade

A linhagem celular imortalizada empregada na elaboração deste estudo foi a de fibroblasto murino (L929) fornecida pela Universidade Federal de Santa Catarina. As células foram cultivadas em meio *Dubelcco's Modified Eagle's Medium* (DMEM, Vitrocell) suplementado com 10% de soro fetal bovino (Vitrocell), 1% de penicilina e estreptomicina (100 µg mL⁻¹, Sigma-Aldrich) e 1% de ácido [4-(2-hidroxietil)]-1-piperazinaetanolsulfônico (HEPES, 10 mM, Sigma-Aldrich) e mantidas em incubadora (Thermo Fisher Scientific) sob atmosfera umidificada à temperatura 37 °C e com 5% de dióxido de carbono (CO₂).

Este ensaio foi realizado de acordo com o método de redução de MTT [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il) -2,5-brometo de difeniltetrazólio] proposto por Mosmann (1983). Brevemente, após atingirem 80% de confluência, as células foram tripsinizadas e plaqueadas com densidade celular de 5 x 10³ células por poço, da placa estimada por meio de contagem em câmara de Neubauer empregando o corante azul de *Trypan*. Após 24 horas, o meio foi substituído pelos tratamentos. Foram preparadas 5 réplicas, das quais foram aplicadas 100 µL do óleo de licuri solubilizado em dimetilsulfóxido (DMSO) em meio de cultura DMEM, sendo a faixa de concentração teste variando de 7,81 a 1.000 µg mL⁻¹.

O controle do experimento foi realizado nas mesmas condições, porém aplicados apenas meio de cultura sem o óleo. Além disso, foi preparado o controle do solvente (DMSO) pela adição do mesmo em meio DMEM. Essa placa foi novamente incubada a 37 °C e 5% CO₂ pelo período de 48 horas.

Em seguida, os tratamentos foram removidos, os poços lavados com 100 µL de tampão fosfato salina (PBS) e aplicada a solução de MTT a 10% [(10 µL de MTT (5 mg mL⁻¹) e 90 µL de DMEM]. A placa foi incubada por 3 horas e,

então, os cristais de formazana foram solubilizados com 100 µL de DMSO. A absorvância foi lida empregando comprimento de onda fixo de 540 nm.

Os resultados foram expressos em porcentagem (%) de viabilidade celular (Equação 2) comparando os controles com o tratamento com óleo de licuri.

$$Viabilidade\ celular\ (\%) = \frac{A_{amostra}}{A_{controle}} \times 100 \text{ (Equação 2)}$$

onde: $A_{amostra}$ é o valor da absorvância obtida após reação com MTT referente às células tratadas com diferentes concentrações do óleo; $A_{controle}$ equivale ao valor da absorvância após reação com MTT de células não tratadas, ou seja, que foi adicionado apenas meio de cultura.

Análise de variância (ANOVA) seguida de teste *post hoc* de Bonferroni foi realizada com auxílio do software *Graphpad Prism* versão 5, sendo os valores de $p < 0,05$ considerados estatisticamente diferentes.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Artigo científico submetido ao periódico intitulado **Revista Científica Multidisciplinar Núcleo do Conhecimento, Qualis B1, área de Medicina I.**



REVISTA CIENTÍFICA MULTIDISCIPLINAR
NÚCLEO DO CONHECIMENTO
ISSN: 2448-0959

O artigo científico intitulado: "COMPOSIÇÃO QUÍMICA, ATIVIDADES BIOLÓGICAS E TOXICIDADE IN VITRO DO ÓLEO DE LICURI", do autor Glover Braga, foi submetido à Revista Científica Multidisciplinar Núcleo do Conhecimento e passará pelo processo de avaliação.

São Paulo, 05 de setembro de 2023.

Atenciosamente;

Evelyn Carlyne M. - Assistente Administrativo / Brasil
Revista Científica Multidisciplinar Núcleo do Conhecimento
www.nucleodoconhecimento.com.br

(011) 3136-0919 - São Paulo: 9h-18h, de segunda a sexta contato@nucleodoconhecimento.com.br
Av Eng. Luis Carlos Benini, 1140 - 7ª Andar - Brooklin - São Paulo - SP - CEP 04571-000

OPEN ACCESS

Revista Científica Multidisciplinar
Núcleo do Conhecimento
ISSN: 2448-0959

27.427.094
Leitores ativos

72.127
Artigos Científicos

180
Países

395
Editores / Redatores

8
Anos

A REVISTA CIENTÍFICA MULTIDISCIPLINAR NÚCLEO DO CONHECIMENTO ESTÁ INDEXADA EM:

TOGETHER WE REACH THE GOAL

5.997
SJFactor - 2021
saiba mais

QUALIS - B1
Quais 2017 - 2020
saiba mais

<https://www.nucleodoconhecimento.com.br/>

COMPOSIÇÃO QUÍMICA, ATIVIDADES BIOLÓGICAS E TOXICIDADE *IN VITRO* DO ÓLEO DE LICURI

RESUMO

Syagrus coronata (Mart.) Beccari é uma palmeira presente em alguns biomas nacionais e possui grande importância cultural, socioeconômica e ecológica. As amêndoas comestíveis são ricas em óleo fixo que pode ser aproveitado tecnologicamente, dada a hipótese de que a composição química do mesmo possua compostos ativos úteis para os setores farmacêutico, cosmético, alimentício, ornamental e forrageiro. O objetivo deste trabalho foi caracterizar o perfil químico de ácidos graxos por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas, as atividades antioxidante (DPPH), de inibição da acetilcolinesterase (método colorimétrico de Ellman) e antifúngica [(*Candida albicans* ATCC 10231; *Candida glabrata* (Taniwaki, M.H.) CCT 0728; *Candida krusei* (FTI) CCT 1517; e *Candida guilliermondii* (CCT) 1890], bem como a toxicidade aguda *in vitro* (*Artemia salina*, *Daphnia magna* e citotoxicidade empregando fibroblastos murinos – L929) do óleo fixo extraído da amêndoa de *Syagrus coronata* adquirido de uma cooperativa nacional. A análise cromatográfica revelou o ácido láurico como composto majoritário (44,61%). A ação antioxidante não foi dose-dependente e na maior concentração testada (250 µg mL⁻¹), a inibição foi de 12,4%. O óleo de licuri promoveu inibição da acetilcolinesterase de 29,4% e CI₅₀ = 3,5 ± 0,2 mg mL⁻¹ e exibiu efeito fungicida para três das quatro espécies analisadas (concentração fungicida mínima = 1.250 µg mL⁻¹ para *C. albicans* e *C. glabrata* e 2.500 µg mL⁻¹ para *C. krusei*). O óleo não demonstrou ser tóxico para os organismos-modelo (dose letal 50% = 1.082,12 ± 1,36 µg mL⁻¹ e 101,32 mg mL⁻¹ para *Artemia salina* e *Daphnia magna*, respectivamente) e nem alterou a viabilidade dos fibroblastos murinos (L929) nas condições analíticas. Os dados revelam a segurança e a eficácia deste óleo e demonstram a possibilidade de maior e melhor aproveitamento sustentável desta espécie vegetal.

PALAVRAS-CHAVE: *Syagrus coronata*; composição química, atividades biológicas; toxicidade aguda; óleo fixo.

1 INTRODUÇÃO

O licuri - *Syagrus coronata* (Mart.) Beccari - é uma palmeira nativa do bioma Cerrado e da costa leste do Brasil, ocorrendo também no Nordeste e bem adaptada às regiões secas e áridas da Caatinga e da Mata Atlântica e possui grande importância cultural, socioeconômica e ecológica (SILVA et al., 2019; SILVA e MIGUES, 2019; PENHA et al., 2023). A extração de palmeiras é proibida pela lei brasileira e, portanto, indivíduos isolados são uma visão comum em pastagens manejadas no semiárido brasileiro (SILVA et al., 2019).

A nomenclatura vernacular inclui licuri, ouricuri (português), *uricuripalme* (alemão), *licuri* (espanhol), *ouricuri* e *licuri* (inglês). O tamanho da árvore varia entre 1,5 m a 13 m de altura. Possui grande potencial alimentício, ornamental e forrageiro, sendo o seu manejo de grande importância. Seus frutos são elipsóides ou ovóides, 2,5–3×1,7–2 cm, com epicarpo verde-amarelado ou alaranjado, apresentando polpa adocicada e amêndoas comestíveis ricas em óleo que pode ser aproveitado tecnologicamente (ARCANO et al., 2021; TEIXEIRA et al., 2022; FREIRES, 2023). De acordo com Ticktin (2004), o licuri exerce papel vital para a subsistência e geração de renda das comunidades do semiárido baiano brasileiro.

Johnson (1998) e Rufino e colaboradores (2008) destacaram que tanto os frutos quanto as sementes do licuri são amplamente utilizados na produção de doces, ração animal, óleo comestível e biodiesel, enquanto as folhas são utilizadas no artesanato e na produção de utilidades domésticas. Na medicina popular, o óleo de *S. coronata* possui diferentes relatos de suas aplicações, como por exemplo: picadas de cobra, inflamações oculares, micoses, cicatrização de feridas e tratamento da dor espinhal, além de outras atividades biológicas que já foram descritas, incluindo atividades antibacteriana, antiparasitária, inseticida, bem como hidratante (CORADIN et al., 2018; RAZERA, 2021, RODRIGUES et al., 2011). O extrato obtido das sementes também tem demonstrado potencialidades biológicas, conforme relatado por Silva e Miguez (2019). As frações aquosas e metanólicas obtidas das inflorescências foram avaliadas por Hugues e colaboradores (2013) que destacaram a atividade contra *Bacillus cereus* e *Staphylococcus aureus* resistente a múltiplos fármacos. Adicionalmente, Bessa e colaboradores (2016) e Santos e colaboradores (2019) também demonstraram a eficácia

antimicrobiana e a atribuíram ao perfil de ácidos graxos presentes no óleo, rico em ácido láurico. Dos Santos Souza e colaboradores (2021) trouxeram em seu trabalho a segurança do óleo fixo por meio de estudos de citotoxicidade, toxicidade aguda oral *in vivo* e genotoxicidade, bem como a atividade antioxidante. Em, 2023, Penha e colaboradores, destacaram o uso da espécie vegetal como fonte de compostos bioativos e suas potencialidades tanto para a saúde humana (agentes terapêuticos, cosméticos e alimentícios) quanto para uso veterinário.

Diante do exposto e da escassez de dados na literatura sobre as atividades biológicas e de toxicidade sobre do óleo fixo extraído da amêndoa de *Syagrus coronata* (Mart.) Beccari., neste trabalho foram avaliados o perfil de ácidos graxos, as atividades antioxidante, de inibição da acetilcolinesterase e antifúngica, bem como a toxicidade aguda *in vitro* (*Artemia salina*, *Daphnia magna* e citotoxicidade em fibroblastos murinos – L929) deste óleo.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Amostra vegetal

O óleo fixo extraído da amêndoa de licuri por prensagem a frio e filtrado foi adquirido comercialmente da empresa Licuri do Brasil localizada em Caldeirão Grande - Bahia - Brasil. O óleo possui coloração amarelada e aroma suave de coco.

2.2 Perfil de ácidos graxos do óleo fixo de *Syagrus coronata*

Os ácidos graxos utilizados na síntese dos padrões de ésteres metílicos foram submetidos ao protocolo de esterificação em meio alcoólico. A uma alíquota da mistura de ácidos graxos (80 mg), adicionou-se 8 mL de solução previamente preparada com 2 g de cloreto de amônio, 60 mL de metanol para análise e 3 mL de ácido sulfúrico. Após homogeneização em vórtex e aquecimento em água fervente por 10 minutos, foram adicionados 4 mL de uma solução saturada de cloreto de sódio. Por fim, realizou-se extração com 2 mL de *n*-hexano PA destilado, para a obtenção dos ésteres metílicos. Em outro tubo de ensaio, foram adicionados 80 mg do óleo extraído da amêndoa do licuri e, em seguida, adicionados 4 mL de solução de hidróxido de potássio 0,5 mol/litro de metanol PA e homogeneizados em vórtex. Em seguida, foram aquecidos em

água fervente por 5 minutos. Após esse período, adicionou-se 4 mL de uma solução previamente preparada com 2 g de cloreto de amônio PA, 60 mL de metanol PA e 3 mL de ácido sulfúrico PA. A mistura foi novamente homogeneizada e depois aquecida em água fervente por 5 minutos. Finalmente, foram adicionados 4 mL de solução de cloreto de sódio saturada (36 g em 100 mL de água) e realizada a extração com 2 mL de *n*-hexano PA destilado, para a obtenção dos ésteres metílicos derivados dos ácidos graxos presentes no óleo. Adicionou-se à fase orgânica obtida após a extração com *n*-hexano destilado, concentração aproximada de 40 mg/mL, em um tubo de ensaio com sulfato de sódio anidro PA. Depois, transferiu-se 100 µL desta solução para outro tubo contendo 900 µL de *n*-hexano destilado, realizando assim uma diluição de 10 vezes. Em seguida, transferiu-se essa solução para o *vial* do CG-EM em uma proporção de 1 + 2 volume/volume (v/v), chegando à concentração final de 1,33 mg/mL. As análises por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) foram realizadas em equipamento GCMS-QP2010Plus (Shimadzu) acoplado ao auto-injetor AOC-5000, coluna capilar RTx®-5MS, 60 m x 0,25 mm, espessura do filme 0,25 µm (Crosband 5% difenil, 95% polisiloxano). Como gás de arraste, foi utilizado o gás hélio. Para a realização das análises, as seguintes condições foram empregadas: modo *Split* (taxa de *split* 1:10), volume de injeção de 1 µL, fluxo de 19,1 mL/minuto, temperatura do injetor de 245 °C. Para o forno, foi empregue a programação descrita na Tabela 1. Em relação ao detector de massas, este foi programado para analisar massas na faixa de 40 a 700 unidades de massa atômica, no intervalo de 3 até 47 minutos, e a fonte de ionização foi o impacto de elétrons a 70 eV.

Tabela 1 – Programação linear da temperatura do forno da coluna usada na cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas.

Taxa (°C/minuto)	Temperatura (°C)	Tempo de espera (minutos)
-	80	3
5	150	6
5	215	3
5	250	1

Fonte: o autor (2023).

2.3 Atividades biológicas

2.3.1 Atividade antioxidante

A atividade antioxidante foi investigada pelo método de sequestro de espécies reativas de oxigênio através da redução do DPPH, descrito por Sreejayan e Rao (1996), com modificações. Inicialmente, foi preparada uma solução de DPPH na concentração de 0,05 mM através da pesagem de 1 mg de DPPH solubilizado em 50 mL de etanol para análise (PA). Uma alíquota do óleo de licuri foi preparada a partir de 10 µL de óleo e 10 µL de dimetilsulfóxido, solubilizados em 1980 µL de etanol obtendo uma solução inicial de 5.000 µg/mL. Dessa, foram alíquotados 200 µL aos quais se adicionou 800 µL de etanol PA, obtendo uma solução com concentração de 1.000 µg/mL. Foram realizadas diluições seriadas utilizando o etanol PA como diluente. Em microplaca de 96 poços, foram adicionados 50 µL da amostra, em diferentes concentrações, e 150 µL de DPPH. Ao término do processo, foram obtidas concentrações-teste na faixa de 0,122 a 250 µg/mL. Para cada concentração foi preparado o branco da amostra, para excluir possível interferência da coloração da amostra. As placas foram levadas para homogeneização no agitador de microplaca por 3 minutos, e mantidas à temperatura ambiente e ao abrigo da luz por 30 minutos. Após esse período, foi realizada a leitura da placa com o espectrofotômetro (comprimento de onda = 510 nm). O padrão utilizado no ensaio foi o ácido ascórbico (Sigma-Aldrich, EUA), o qual foi preparado igualmente à amostra e na mesma faixa de concentração. O ensaio foi conduzido em triplicata. A atividade antioxidante foi calculada por meio da Equação 1.

$$\text{Atividade antioxidante (\%)} = \frac{A_{\text{amostra}} - A_{\text{controle}}}{A_{\text{DPPH}}} \times 100 \text{ (Equação 1)}$$

onde: A_{amostra} é o valor da absorvância da solução contendo a amostra mais o DPPH; A_{controle} equivale ao valor da absorvância da solução contendo amostra mais o etanol; e A_{DPPH} equivale à solução etanólica de DPPH.

Com a obtenção das absorvâncias, foram calculadas as porcentagens da atividade antioxidante para cada concentração e construído um gráfico de dose-

resposta. Dessa forma, foi possível obter a concentração capaz de inibir 50% dos radicais livres (CI_{50}) presente no DPPH.

2.3.2 Inibição da acetilcolinesterase (AChE)

A inibição da AChE provocada pelo óleo de licuri foi avaliada pelo método colorimétrico descrito por Ellman e colaboradores (1961), com algumas modificações, adaptado para microplacas por Rhee e colaboradores (2001). Foram usados o iodeto de acetiltiocolina (ATCI) como substrato e o reagente de Ellman ácido 5,5'-ditiobis-(2-nitrobenzóico) (DTNB). Em uma placa de 96 poços, foram adicionados 80 μ L de solução tampão Tris-HCl 50 mM (pH=8,0), 120 μ L do óleo de licuri (2 – 2.000 μ g mL⁻¹), e 25 μ L da solução de DTNB 3 mM + ATCI 75 mM. Em seguida, foram colocados 25 μ L de solução de AChE 0,25 U mL⁻¹. Posteriormente a absorvância foi lida espectrofotometricamente ($\lambda = 415$ nm), a cada 15 segundos por 41 ciclos, e à temperatura de 37 °C. O fármaco de referência empregado foi a eserina. Também foram preparados o branco do óleo-teste, adicionando 120 μ L do óleo (nas mesmas concentrações dos poços-teste) à 130 μ L do tampão Tris-HCl, para excluir possível interferência da coloração do óleo; o branco da enzima, adicionando 225 μ L de tampão Tris-HCl à 25 μ L de substrato, para excluir possível interferência da enzima; e a enzima teste, adicionando 200 μ L de tampão Tris-HCl, 25 μ L de substrato e 25 μ L de enzima, para obter 100% de atividade da enzima. O teste foi realizado em triplicata. A atividade enzimática foi calculada a partir da inclinação da região linear da curva cinética ($\Delta A/\Delta t$) utilizando o programa Microsoft® Excel. A porcentagem de inibição foi calculada pela comparação das taxas de reação da amostra (óleo) com a taxa de reação da eserina. A CI_{50} , ou seja, concentração do óleo capaz de inibir a hidrólise da acetilcolina em 50%, foi determinada a partir da curva dose-resposta, empregando o *software* GraphPad Prism 5. O teste t de *Student* foi utilizado para avaliar diferenças significativas entre os valores de porcentagem de inibição e CI_{50} do óleo e o fármaco de referência. A probabilidade aceita como indicativa da existência de diferença significativa foi de $p < 0,05$.

2.3.3 Atividade antifúngica

As cepas padrão utilizadas neste estudo foram: *Candida albicans* American Type Culture Collection (ATCC) 10231; *Candida glabrata* (Taniwaki, M.H.), Coleção de culturas tropicais (CCT) 0728; *Candida krusei* (FTI) CCT 1517; e *Candida guilliermondii* (CCT) 1890 oriundas da Fundação André Tosello (São Paulo, Brasil). Os procedimentos foram realizados de acordo com o protocolo M27-A2 do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI). As linhagens de leveduras foram cultivadas a 35 ± 2 °C por 48 horas em ágar Sabouraud dextrose (SDA). Suspensões fúngicas de cada linhagem foram preparadas com transmitância de 90% no comprimento de onda de 530 nm, usando solução salina estéril 0,9%. Foram feitas diluições das soluções em meio *Roswell Park Memorial Institute* (RPMI) 1640 (Sigma Aldrich, EUA) tamponado com ácido 3(N-morfolino) propanosulfônico (MOPS) (*JT Baker*, Alemanha) para obtenção de 3×10^3 unidades formadoras de colônia (UFC)/mL. O pH foi ajustado para 7,0, com o auxílio de solução de hidróxido de sódio 0,5 M. O óleo foi diluído em meio RPMI 1640 tamponado com MOPS e $20 \mu\text{L mL}^{-1}$ de Tween-80/DMSO (1:1, v/v), em concentrações que variaram de $9,7 - 2.500 \mu\text{g mL}^{-1}$. Em microplacas estéreis foram adicionados $100 \mu\text{L}$ do óleo de licuri nas diferentes concentrações e $100 \mu\text{L}$ das suspensões fúngicas padronizadas. O controle de crescimento consistiu em $200 \mu\text{L}$ do mesmo meio de cultura inoculado e o controle negativo compreendeu em $200 \mu\text{L}$ de meio de cultura não inoculado. A anfotericina B ($0,125 - 64 \mu\text{g mL}^{-1}$) e a nistatina (2 a 64 unidades internacionais - UI) foram utilizadas como fármacos de referência. As microplacas foram incubadas em estufa bacteriológica a 35 ± 2 °C por 48 horas. A menor concentração na qual não houve crescimento fúngico foi classificada como a concentração inibitória mínima (CIM). Para determinar a concentração fungicida mínima (CFM), retirou-se $10 \mu\text{L}$ dos poços onde não ocorreu crescimento no procedimento da CIM e transferiu-se para tubos contendo 1 mL de caldo *Sabouraud dextrose* (SDB), os quais foram incubados novamente nas mesmas condições previamente descritas. Após esse período, foi realizada a leitura da CFM. Nas concentrações em que se observaram crescimento fúngico, a diluição foi considerada como sendo fungistática. Naquelas onde não ocorreram crescimento, classificou-se como de ação fungicida. Os experimentos foram realizados em triplicata.

2.4 Toxicidade aguda

2.4.1 *Artemia salina* Leach

O ensaio de letalidade para *Artemia salina* foi realizado de acordo com o descrito por Meyer e colaboradores (1982), com modificações. Os ovos encistados do microcrustáceo (Maramar Aquacultura, Cabo Frio, Rio de Janeiro, Brasil) foram incubados em água marinha artificial com pH = 8-9 à temperatura ambiente. Após 48 horas de incubação sob iluminação artificial, os ovos eclodiram e 10 unidades do microcrustáceo foram coletados e adicionados em poços de placa branca leitosa contendo o óleo de licuri solubilizados inicialmente em 2,5% de DMSO com volume completado para 5 mL usando água do mar artificial. A amostra foi avaliada em triplicata nas concentrações de 10 a 1.000 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Os controles negativos foram a água do mar artificial e o DMSO (2,5%) e o controle positivo empregado foi o timol, nas mesmas concentrações do óleo. Transcorridas as 24 horas de tratamento, o número de microcrustáceos sobreviventes foi contado e a porcentagem de morte calculada. A concentração letal de 50% (CL₅₀) foi calculada pela análise Probit (Finney, 1971). O teste T de *Student* foi empregado e valores de $p < 0,05$ apresentaram diferença estatística significativa.

2.4.2 *Daphnia magna*

Para a avaliação da toxicidade aguda empregando a *Daphnia magna* como bioindicador foi utilizado o Kit Daphtoxkit F magna (Microbio Tests Inc., Bélgica). Foram utilizados organismos com 2 a 26 horas de vida após a eclosão dos ovos e os procedimentos executados seguiram as orientações do fabricante. Assim sendo, foram avaliadas diferentes concentrações do óleo (0,10 a 40,00 mg mL^{-1} de Tween 80:DMSO, 1:1, v/v). Foram preparados também os controles, os quais consistiam de Tween 80:DMSO (1 : 1, v/v) e a água. Para cada concentração foram acrescentados 25 microcrustáceos, e os experimentos foram protegidos da luz, incubados por 48 horas à temperatura de 22°C e os resultados expressos em Concentração Efetiva Média (CE₅₀), ou seja, aquela capaz de provocar a morte ou imobilidade a 50% dos organismos, após determinado tempo de exposição (ABNT, 2002; 2011). O óleo avaliado foi categorizado conforme o estabelecido por Zucker (1985) *apud* Manrique (2009).

2.4.3 Citotoxicidade

A linhagem celular imortalizada empregada na elaboração deste estudo foi a de fibroblasto murino (L929) fornecida pela Universidade Federal de Santa Catarina. As células foram cultivadas em meio *Dubelcco's Modified Eagle's Medium* (DMEM, Vitrocell) suplementado com 10% de soro fetal bovino, 1% de penicilina e estreptomicina ($100 \mu\text{g mL}^{-1}$) e 1% de ácido [4-(2-hidroxietil)]-1-piperazinaetanolsulfônico (HEPES, 10 mM), sendo mantidas em incubadora sob atmosfera umidificada à temperatura $37 \text{ }^\circ\text{C}$ e com 5% de dióxido de carbono (CO_2). Este ensaio foi realizado de acordo com o método MTT descrito por Mosmann (1983).

Após atingirem 80% de confluência, as células foram tripsinizadas e plaqueadas com densidade celular de 5×10^3 células/poço, estimada por meio de contagem em câmara de Neubauer empregando o corante azul de trypan. Após 24 horas, o meio foi substituído pelos tratamentos. Foram preparadas 5 réplicas, das quais foram aplicadas $100 \mu\text{L}$ do óleo de licuri solubilizado em dimetilsulfóxido (DMSO) em meio de cultura DMEM, sendo a faixa de concentração teste variando de 7,81 a $1.000 \mu\text{g mL}^{-1}$. O controle do experimento foi realizado nas mesmas condições, porém aplicados apenas meio de cultura sem o óleo. Além disso, foi preparado o controle do solvente (DMSO) pela adição do mesmo em meio DMEM. Essa placa foi novamente incubada a $37 \text{ }^\circ\text{C}$ e 5% CO_2 pelo período de 48 horas. Em seguida, os tratamentos foram removidos, os poços lavados com $100 \mu\text{L}$ de tampão fosfato salina (PBS) e aplicada a solução de MTT a 10% [($10 \mu\text{L}$ de MTT (5 mg mL^{-1}) e $90 \mu\text{L}$ de DMEM)]. A placa foi incubada por 3 horas e, então, os cristais de formazana foram solubilizados com $100 \mu\text{L}$ de DMSO. A absorvância foi lida empregando comprimento de onda fixo de 540 nm.

Os resultados foram expressos em porcentagem (%) de viabilidade celular (Equação 2) comparando os controles com o tratamento com óleo de licuri. Análise de variância (ANOVA) seguida de teste *post hoc* de Bonferroni foi realizada com auxílio do software *Graphpad Prism* versão 5, sendo os valores de $p < 0,05$ considerados estatisticamente diferentes.

$$\text{Viabilidade celular (\%)} = \frac{\text{Aamostra}}{\text{Acontrole}} \times 100 \text{ (Equação 2)}$$

onde: A_{amostra} é o valor da absorvância obtida após reação com MTT referente às células tratadas com diferentes concentrações do óleo; A_{controle} equivale ao valor da absorvância após reação com MTT de células não tratadas, ou seja, que foi adicionado apenas meio de cultura.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DO ÓLEO FIXO DE *Syagrus coronata*

O perfil cromatográfico do óleo fixo de *Syagrus coronata* (Figura 1) revelou a presença do ácido láurico como composto majoritário (44,61%). A diversidade de ácidos graxos pode ser observada pelo número de picos cromatográficos identificados no óleo ($n = 6$), perfazendo um total de 100% do material analisado.

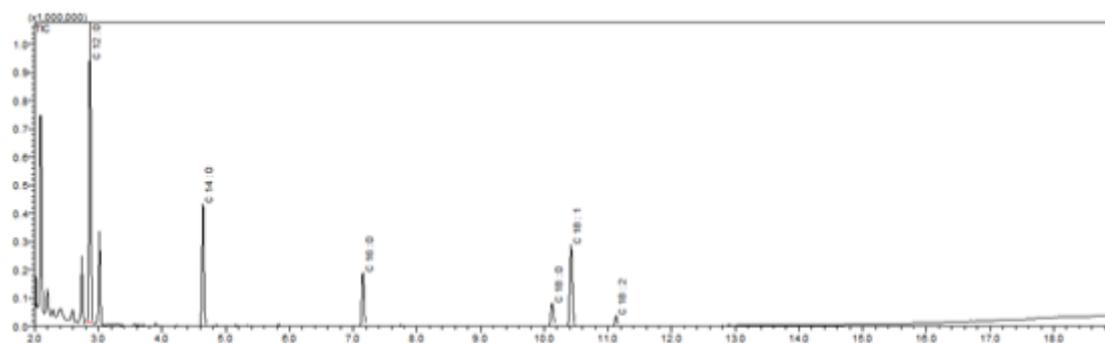


Figura 1. Perfil cromatográfico do óleo fixo de *Syagrus coronata*. Fonte: o autor (2023).

A partir do mesmo, foi possível também descrever a composição qualitativa do óleo fixo de licuri (Tabela 2).

Tabela 2 - Diversidade de ácidos graxos encontrados no óleo fixo de *Syagrus coronata*.

Composição	Abreviação	Ácido	% Área
Dodecanoato de metila	C12:0	Láurico	44,61
Tetradecanoato de metila	C14:0	Mirístico	20,33
Hexadecanoato de metila	C16:0	Palmítico	10,22
Octadecanoato de metila	C18 0	Esteárico	5,07
(E)-octadec-9-enoato de metila	C18:1 ω 9 _{trans}	Elaídico	17,68
(9Z, 12Z)-octadeca-9-12-dienoato de metila	C18:2 ω 6	Linoléico	2,09

t_R -Tempo de Retenção em minutos; IK_{CAL} - Índice de Kovats calculado (com base na série homóloga de *n*-alcanos C7-C30); IK_{LIT} - Índice de Kovats da literatura (ADAMS, 2007). Fonte: o autor (2023).

De acordo com dos Santos Souza (2021), as análises do óleo da amêndoa de licuri realizada por cromatografia gasosa acoplado com detector por ionização de chama (CG-FID) revelaram oito constituintes na amostra de *S. coronata*, dos quais o ácido láurico (43,64%) e o ácido mirístico (14,32%) também foram os mais abundantes. No entanto, no meu estudo foram encontrados seis constituintes, conforme picos na leitura do gráfico de perfil cromatográfico de ácidos graxos de óleo fixo de licuri, o que pode ter ocorrido devido à localização geográfica de onde foi extraído o óleo que analisei, o tipo de solo e o índice pluviométrico da região. Tais fatores podem alterar a composição do óleo extraído e o seu perfil de ácidos graxos.

Destaco, porém, que o ácido láurico é o (AGCM) de maior porcentagem de concentração encontradas em minha análise, em alinhamento com as citações científicas, cuja faixa percentual, descrita por Teixeira e colaboradores (2022) foi de (36% a 48%) de ácido láurico presentes no óleo fixo extraído da amêndoa do licuri.

O uso tópico de óleos vegetais ricos em ácidos graxos funciona com uma barreira protetora para a pele por meio do efeito oclusivo, que permite que a mesma se mantenha hidratada e saudável. O óleo de coco, rico em ácidos graxos saturados como ácido láurico (49%), mirístico (18%) e palmítico (8%) - à

semelhança dos principais ácidos graxos saturados presentes no óleo extraído da amêndoa do licuri, já demonstrou ser efetivo e seguro quando aplicado como hidratante (LIN; ZHONG; SANTIAGO, 2017)

O óleo de licuri apresenta diversos benefícios à saúde humana em razão da presença de ácidos graxos de cadeia média, que são gorduras saturadas de fácil digestão. Estes ácidos graxos também podem ser utilizados na formulação de suplementos alimentares, ajudando na redução do peso, promovendo a saciedade, liberando energia e auxiliando no funcionamento do metabolismo e da glândula tireoide (Coradin et al.; 2018).

3.2 ATIVIDADES BIOLÓGICAS

3.2.1 Atividade antioxidante

O óleo de licuri não apresentou ação antioxidante dose-dependente, não sendo, portanto, possível o cálculo da concentração efetiva de 50% (CE_{50}), ou seja, a concentração necessária para consumir 50% dos radicais livres presentes no DPPH.

Na maior concentração testada, a inibição foi de 12,4%. Este resultado não demonstra uma atividade relevante por este método para esta amostra. No entanto, vale ressaltar que esse não é o único mecanismo de ação antioxidante e que outros protocolos devem ser conduzidos na tentativa de averiguar a potencialidade biológica deste óleo. Os dados encontrados estão de acordo com aqueles obtidos por Dos Santos Souza e colaboradores (2021), que encontraram atividade de 10% para o óleo fixo de licuri oriundo do município de Capim Grosso – Bahia – Brasil.

O fármaco de referência empregado – o ácido ascórbico – demonstrou efeito dose-dependente e $CE_{50} = 1,74 \mu\text{g mL}^{-1}$. De acordo com Gulçin e colaboradores (2010), durante os processos bioquímicos que ocorrem no organismo, são produzidas de modo contínuo as chamadas espécies reativas de oxigênio (EROs), as quais em concentrações fisiológicas participam da homeostase celular. Em desacordo com o nosso achado, Bauer e seus colaboradores (2013) relataram elevado potencial antioxidante para o óleo de licuri usando o mesmo protocolo de análise (DPPH); no entanto, o método de

extração a quente relatado por eles era diferente daquele usado pela empresa fornecedora do óleo empregado neste estudo. Tal diferença pode ser a responsável pela discordância. Seneviratne e sua equipe (2009) demonstraram que o óleo de coco extraído a quente tem uma atividade antioxidante muito maior do que o óleo extraído a frio; essa diferença pode estar relacionada à maior quantidade de substâncias fenólicas resistentes à temperatura no óleo extraído a quente.

3.2.2 Inibição da acetilcolinesterase

O óleo de licuri promoveu inibição enzimática de 29,4% e $CI_{50} = 3,5 \pm 0,2$ mg mL⁻¹, enquanto a eserina inibiu totalmente a enzima com $CI_{50} = 2,0 \pm 0,2$ µg mL⁻¹. Os resultados para o óleo e a eserina diferiram significativamente ($p < 0,05$). Vinutha e colaboradores (2007) propuseram uma classificação para produtos naturais quanto ao potencial de inibição da AChE em: inibidores potentes (> 50% de inibição), inibidores moderados (30-50% de inibição) e inibidores fracos (< 30% de inibição). Portanto, de acordo com essa classificação, o óleo de licuri é considerado um inibidor fraco desta enzima.

El-Hawary e colaboradores (2021) demonstraram a inibição da AChE provocada pelos extratos hidroalcoólicos tanto das folhas quanto dos frutos de *Syagrus romanzoffiana* (Cham.) Glassman, evidenciando *in vivo* o efeito neuroprotetor dos mesmos.

Muitos estudos têm sido realizados de forma sistemática sobre a doença de Alzheimer (DA), a fim de elaborar terapias para reduzir a incidência e controlar os sintomas da doença. Fatores demográficos, genéticos e estilos de vida são características que influenciam o metabolismo lipídico e também são os principais fatores de risco da doença de Alzheimer. No sistema nervoso central, a elevação de citocinas pró-inflamatórias propicia a ativação da micróglia e gera focos de inflamação que prejudicam a homeostase local, resultando em morte neuronal e danos cognitivos (ELLULU et al., 2017; VERDILE et al., 2015). Tendo-se em vista a capacidade antiinflamatória do ácido láurico, é plausível supor que ele possa minimizar os efeitos pró-inflamatórios do ácido araquidônico e melhorar sintomas de DA, por se tratar de uma doença com características inflamatórias (XU et al., 2013). Foi sugerido por alguns autores (MATSUZAKI et al., 2011; GUTTMANN et al., 2020; SANDUPAMA et al., 2022) que os

componentes do óleo de coco, dentre eles o (ácido láurico e os triglicerídios de cadeia média) exibem características potenciais para o tratamento da Doença de Alzheimer.

De acordo com Espinel-Ingroff e colaboradores (2002), a diversidade de atividades biológicas atribuídas aos ácidos graxos saturados se deve parcialmente ao comprimento da cadeia carbônica com mais de 10 átomos de carbono. Tais moléculas estariam diretamente associadas ao desencadeamento de vias anti-inflamatórias e antioxidantes, potenciais interessantes na prevenção da doença de Alzheimer (NEVES, 2018; HERIQUES e PENIDO, 2014). De fato, para o ácido láurico, composto majoritário encontrado no óleo fixo obtido das amêndoas de licuri, são descritas as atividades antiinflamatórias e antimicrobiana (NAKATSUJI; KAO; FANG; ZOUBOULIS et al., 2009). Santos (2019) cita a atividade antiinflamatória, a qual estava relacionada à presença de ácido láurico.

3.2.3 Atividade antifúngica

O óleo fixo extraído da amêndoa do licuri demonstrou efeito fungicida para três das quatro espécies analisadas (CFM = 1.250 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para *C. albicans* e *C. glabrata* e CFM = 2.500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para *C. krusei*) (Tabela 3).

Tabela 3 - Avaliação da atividade antifúngica das substâncias de interesse.

Micro-organismos	Anfotericina B ($\mu\text{g mL}^{-1}$)		Nistatina (UI)		Óleo de licuri ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	
	CIM	CFM	CIM	CFM	CIM	CFM
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	0,125	0,5	8	16	625	1.250
<i>Candida glabrata</i> CCT 0728	0,125	>16	16	>64	625	1.250
<i>Candida krusei</i> CCT 1517	2	4	16	32	1.250	2.500
<i>Candida guilliermondii</i> CCT 1890	0,25	>16	16	>64	1.250	>2.500

Fonte: o autor (2023)

CIM- Concentração Inibitória Mínima; CFM- Concentração Fungicida Mínima; UI- Unidades internacionais.

Considerando que a resistência fúngica é um grave problema de saúde pública e que o desenvolvimento de novos fármacos não é tão rápido quanto a

evolução da resistência nos microrganismos, é imperiosa a busca por novos compostos para o tratamento de doenças causadas por fungos, cujo arsenal terapêutico é escasso (ZHOU et al., 2018; ROBBINS et al., 2020).

Nesse cenário, de acordo com Sampaio e colaboradores (2023), os óleos provenientes de frutos da família Arecaceae, da qual o licuri é pertencente, surgem como candidatos que podem ser utilizados contra microrganismos patogênicos e parasitas, devido a hipótese de que a sua composição química possua compostos ativos como o ácido láurico, além da complexidade de sua matriz orgânica atuando como ativo no mesmo propósito. Tais autores demonstraram que a combinação do óleo fixo de *Syagrus cearenses* Noblick e fluconazol, foi eficaz contra as cepas de *C. albicans*, *C. krusei* e *C. tropicalis*.

Neste trabalho, conforme metodologia aplicada e já detalhada, o óleo de licuri obteve resultados animadores, nas concentrações de 1250-2500 $\mu\text{g mL}^{-1}$, frente as cepas de *C. albicans*, *C.glabrata* e *C.krusei*, apresentando ação fungicida. Apresentou ação fungistática contra *C.guilliermondii* em concentrações menores que nas concenentrações maiores que 2500 $\mu\text{g mL}^{-1}$. A performace do óleo de licuri foi melhor inclusive que os controles positivos de anfotericina e nistatina, que apresentaram ação fungistática contra *C.glabrata*, onde o óleo de licuri apresentou ação fungicida.

O potencial antibacteriano dos produtos naturais extraídos de plantas deste gênero é bem descrito literatura, destacando-se o efeito do óleo de *S. coronata* contra o *Staphylococcus aureus* resistente a múltiplos fármacos, rico em compostos com essa propriedade, como os ácidos láurico, oleico e linoleico. O mecanismo de ação tanto de *S. coronata* quanto de *S. oleracea* não foi completamente elucidado, mas é atribuída ao ácido láurico a destruição da membrana celular e a interferência em processos celulares, como transdução de sinal e transcrição (DAYRIT, 2015; KIM e RHEE, 2016). De acordo com Kim e Rhee (2016) e Kim, Seok e Rhee (2020), o ácido cáprico também pode danificar a membrana microbiana e, facilitar a entrada de íons hidrogênio do ambiente extracelular e promover a inativação celular.

Apesar de não termos realizado outros testes de ação microbiana para confirmar e acrescentar valor ao que foi mencionado nesta dissertação frente a literatura científica, os resultados obtidos com as *Candidas ssp* foram

animadores para aprofundarmos neste estudo e na busca de elucidarmos ainda mais as propriedades complexas do óleo fixo de licuri.

3.3 TOXICIDADE AGUDA

3.2.1 *Artemia salina* Leach

O óleo fixo de licuri não apresentou toxicidade aguda empregando *A. salina* como organismo-modelo, visto que a dose letal 50% (DL₅₀) foi de 1.082,12 ± 1,36 µg mL⁻¹. De acordo com Meyer e colaboradores (1982), amostras com valores de DL₅₀ acima 1.000 µg mL⁻¹ não são consideradas tóxicas. Portanto o óleo fixo de licuri utilizado em nosso ensaio com o organismo-modelo *A. salina*, mostrou-se atóxico e seguro.

Silva e Miguez (2019) também não observaram atividade contra o microcrustáceo para o extrato obtido das sementes de *Syagrus coronata oriundo do município de Senhor do Bonfim – Bahia – Brasil*.

Os controles negativos (água do mar artificial e o DMSO 2,5%) não apresentaram influência sobre os resultados, pois nenhuma larva morreu na presença dos mesmos, mas o timol (controle positivo) apresentou DL₅₀ = 22,00 ± 1,15 µg mL⁻¹. Os valores de DL₅₀ do timol e do óleo de licuri diferiram significativamente ($p < 0,05$).

Este ensaio tem sido amplamente utilizado para triagem toxicológica e isolamento bioguiado de muitos compostos ativos, incluindo produtos naturais, devido à simplicidade e rapidez na execução, além do baixo custo (OLMEDO et al., 2023).

3.2.2 *Daphnia magna*

Os resultados obtidos com o teste de toxicidade empregando *Daphnia magna* como bioindicador, após 48 horas de tratamento, revelaram CE₅₀ = 101,32 mg mL⁻¹. De acordo com a classificação da toxicidade aguda proposta por Zucker (1985), o óleo pode ser considerado praticamente não tóxico.

A presença de compostos tóxicos em corpos de água representa um risco aos organismos aquáticos e para o meio ambiente como um todo, e a realização de ensaios ecotoxicológicos exibem potencialidade para auxiliar preditivamente na compreensão da interação dos efeitos tóxicos da substância analisada, com

a resposta biológica dos organismos. Para avaliar os impactos desta amostra em ecossistemas aquáticos de maneira mais profunda, outros testes ecotoxicológicos (agudos e crônicos) empregando peixes, algas, macrófitas, macroinvertebrados bentônicos e perifiton são indicados (LI LI et al., 2010; SOUSA et al., 2021).

3.2.3 Citotoxicidade

Os resultados da viabilidade celular de fibroblastos murinos (L929) para o óleo fixo das amêndoas de *Syagrus coronata*, bem como para os controles, estão expressos na Figura 2. De acordo com a ISO 10993-5 (2009), as substâncias são classificadas como citotóxicas quando a viabilidade celular é inferior a 70% da amostra celular inicial. Não foram evidenciadas perda da viabilidade celular nas condições analíticas testadas, bem como não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos controles e tratamento ($p > 0,05$).

Observe que no resultado expresso no gráfico abaixo, relativo à exposição dos fibroblastos murinos (L929) nas decrescentes concentrações do óleo fixo de licuri da nossa análise, a viabilidade celular não só foi acima de 70%, mas na maior parte da análise acima de 100%, o que pode e merece ser aprofundada, a capacidade regenerativa do óleo de licuri sobre células da matriz cutânea cultivadas e até mesmo com a incorporação de nanotecnologia às partículas analisadas.

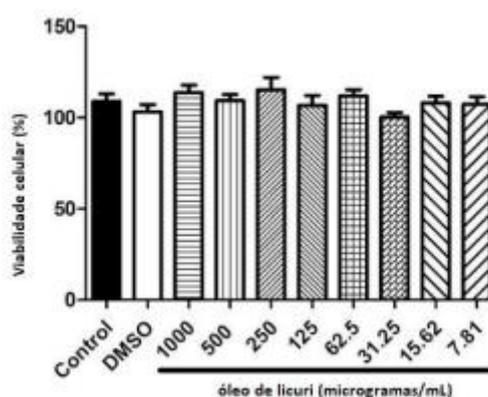


Figura 2- Viabilidade celular de fibroblastos murinos (L929) em função dos tratamentos. Fonte: o autor (2023).

4 CONCLUSÃO

O perfil lipídico e de segurança *in vitro*, aliado ao conjunto das atividades biológicas atribuídas ao óleo extraído da amêndoa de *Syagrus coronate* (Mart.) Beccari demonstraram as suas potencialidades, como insumo ativo para os segmentos farmacêutico, cosmético, e para aplicação em seres humanos e animais.

Ainda, representa a possibilidade de maior e melhor aproveitamento do óleo vegetal, e com isso a promoção de impactos social e econômico benéficos, visto que a produção sustentável e o uso diversificado deste insumo podem aumentar tanto a renda de agricultores familiares no Brasil quanto para a indústria, agregando valor à cadeia produtiva, principalmente de regiões pobres do Brasil, onde a palmeira é prevalente, além de ser fonte nutricional e de substância para umas e animas.

No entanto, estudos mais aprofundados devem ser conduzidos para cada uso pretendido do óleo fixo de licuri; e o uso de estratégias tecnológicas emergentes como a nanotecnologia, podem ser consideradas no âmbito de uma economia sustentável, bem como no desenvolvimento de formulações farmacêuticas e/ou cosméticas diferenciadas à base de lipídios, que devem ser estimuladas.

O potencial atóxico do óleo de licuri nas concentrações testadas, sobre os organismos *Artemia salina* e *Daphnia magna*, assim como a viabilidade celular e potencial regenerativo sobre fibroblastos murinos (L929), devem encorajar as pesquisas de seus componentes nos processos de cicatrização de feridas.

Torna-se imperioso destacar o promissor efeito fungicida do óleo fixo de licuri sobre as cepas de *Candida ssp* analisadas neste estudo, com o seu uso em formulações biotivas e farmacologicamente escaláveis para utilização como antibióticos, dada as escassas possibilidades terapêuticas disponíveis no mercado para tratamento deste fungo.

Tais estratégias e perspectivas sobre a performance comprovada do óleo fixo de licuri, visam não só a valorização da biodiversidade brasileira, mas também a ampliação das oportunidades de mercado e seu amplo potencial de aproveitamento na indústria farmacológica, de alimentos e de biocombustíveis.

REFERÊNCIAS

1. ADAMS, R. P. **Identification of essential components by gas chromatography/mass spectroscopy**. 4.ed. Illinois: Allured Publishing Corporation, 2007.
2. ARCANO, A. F. D; SÁ, A. A. MESSIAS, C. M. B. O. Licuri milk (*Syagrus coronata*) supplemented with the calcium present in the egg shell of laying hens. **Brazilian Journal of Development**, [S.L.], v. 7, n. 3, p. 30303-30313, 2021.
3. ARCANO, A. F. D; SÁ, A. A. MESSIAS, C. M. B. O. Licuri milk (*Syagrus coronata*) supplemented with the calcium present in the egg shell of laying hens. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 3, p. 30303-30313, 2021.
4. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). 2002. Água – Ensaio de toxicidade aguda com *Daphnia* sp. (Crustacea, Cladocera). ABNT NBR 12713: 2002.
5. _____. 2011. Ecotoxicidade aquática – Toxicidade aguda – Método de ensaio com peixes. ABNT NBR 15088: 2011.
6. BAUER, L. C. Chemical characterization of pressed and refined licuri (*Syagrus coronata*) oils. **Acta Scientiarum. Technology**. Maringá, v. 35, n. 4, p. 771-776, Oct.-Dec., 2013.
7. BESSA, C. M. A. S. et al. *Syagrus coronata* seed oils have antimicrobial action against multidrug-resistant *Staphylococcus aureus*. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 10, n. 23, p. 310–317, 2016.
8. BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lwt - Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.
9. CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. (2002). **Reference method for broth dilution tests for the determination of sensitivity to**

- antifungal therapy of filamentous fungi:** approved standard, 22, 16. M38-A.
10. CORADIN, L.; CAMILLO, J ; PAREYN, F. G. C. **Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial. Plantas para o futuro: região Nordeste.** Brasília, DF: Ministério do Meio Ambiente, 2018.
Disponível em <http://www.mma.gov.br/publicacoes/biodiversidade/category/142-serie-biodiversidade.html>. Acesso em 03/08/2023.
 11. ELLMAN, G. L.; COURTNEY, K. D.; ANDRES, V.; FEATHERSTONE, R. M. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. **Biochemical Pharmacologic**, v. 7, p. 88-95, 1961.
 12. FERREIRA, A. C. et al. Effect of replacing ground corn and soybean meal with licuri cake on the performance, digestibility, nitrogen metabolism and ingestive behavior in lactating dairy cows. **Animal**, v. 11, n. 11, p. 1957-1965, 2017.
 13. FINNEY D. J. **Probit Analysis**. 3 ed. Cambridge, UK: Cambridge University Press. 1971.
 14. FREIRES, J. D. Monitoramento tecnológico do processamento do óleo de licuri (*Syagrus coronata*) para fins alimentícios. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 11, n. 1, p. 10-17, 30 mar. 2023.
 15. GOUVÊA, A. L. L. **Qualidade da carne e dos produtos cárneos de tourinhos anelados submetidos a dietas com torta de licuri.** 2014. 71 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal da Bahia, Salvador – BahiaA, 2014. Disponível em: <https://repositorio.ufba.br/handle/ri/31054>. Acesso em: 04 ago. 2023.
 16. GÜLÇİN, İ. Antioxidant properties of resveratrol: a structure-activity insight. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 11, n. 1, p. 210-218, jan. 2010.
 17. GÜLÇİN, I.; BURSAL, E.; ŞEHİTOĞLU, M. H.; BILSEL, M.; GÖREN, A. C. Polyphenol contents and antioxidant activity of lyophilized aqueous extract

- of propolis from Erzurum, Turkey. **Food And Chemical Toxicology**, v. 48, n. 8-9, p. 2227-2238, ago. 2010.
18. HUGHES, A. F. S.; LIMA, F. G.; LUCCHESI, A. M.; GÓES NETO, A.; UETANABARO, A. P. T. Antimicrobial activity of *Syagrus coronata* (Martius) Beccari. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 56, n. 2, p. 269-274, abr. 2013.
19. International Organization for Standardization. **ISO 10993-5 – Biological Evaluation of medical devices. Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity**, 3^a ed., ISO, 2009.
20. JOHNSON, Dennis Victor et al. **Non-wood forest products: tropical palms**. Bangkok, Thailand: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1997.
21. KIM, S. A.; RHEE, M. S. Marked synergistic bactericidal effects and mode of action of medium-chain fatty acids in combination with organic acids against *Escherichia coli* O157: h7. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 79, n. 21, p. 6552-6560, nov. 2013.
22. KIM, S.A.; RHEE, M.S. Use of caprylic acid to control pathogens (*Escherichia coli* O157: h7 and *salmonella enterica* serovar typhimurium) in apple juice at mild heat temperature. **Journal of Applied Microbiology**, v. 119, n. 5, p. 1317-1323, 20 set. 2015.
23. MARTINS, F. J.; CANESCHI, C. A.; VIEIRA, J. L. F. et al. Antioxidant activity and potential photoprospective from amazon native flora extracts. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**. 2016; 161:34-9.
24. MENEZES, T. A. et al. Production of basidiomata and ligninolytic enzymes by the lingzhi or reishi medicinal mushroom, *Ganoderma lucidum* (Agaricomycetes), in Licuri (*Syagrus coronata*) wastes in Brazil. **International Journal of Medicinal Mushrooms**, v. 18, n. 12, p. 1141-1149, 2016.

25. MEYER, B; FERRIGNI, N. R.; PUTNAM, J. E. et al. Brine shrimp: a conveniente general bioassay for active plant constituents. **Planta Medica**, v. 45, n. 5, p. 31-34, 1982.
26. MOSMANN T. Rapid Colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of Immunological Methods**, v. 65, p. 55-62, 1983.
27. OLIVEIRA, C. A.; MORAIS, C. M; NASCIMENTO, I. O.; LIMA, R. O.; OLIVEIRA, F. S. Efeito fungitóxico do óleo de licuri (*Syagrus coronata*) sobre *Fusarium oxysporum* isolado do maracujazeiro. **Cadernos de Agroecologia** (Anais do XI Congresso Brasileiro de Agroecologia), São Cristóvão, Sergipe - v. 15, no 2, 2020.
28. RAZERA, M. L. **Palmeira do sertão: caracterização da cadeia produtiva do licuri (*Syagrus coronata* Martius Beccari) em regiões da Bahia.** 2021. 108 f. TCC (Graduação) - Curso de Engenharia Florestal, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos - PR, 2021. Disponível em: <http://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/29314>. Acesso em: 25 ago. 2022.
29. RODRIGUES, I. A. et al. *In vitro* anti-*Leishmania amazonensis* activity of the polymeric procyanidin-rich aqueous extract from *Syagrus coronate*. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 5, n. 16, p. 3781-3790, 18 August, 2011.
30. RUFINO, M. U. D. L. et al. Conhecimento e uso do ouricuri (*Syagrus coronata*) e do babaçu. **Acta Botanica Brasilica, Buíque**, v. 22, p. 1141-1149, julho 2008.
31. SÁNCHEZ-MORENO, C.; LARRAURI, J. A.; SAURA-CALIXTO, F. A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. **Journal of The Science of Food and Agriculture**, v. 76, n. 2, p. 270-276, fev. 1998.
32. SANTOS, B. S. et al. Anti-staphylococcal activity of *Syagrus coronata* essential oil: biofilm eradication and *in vivo* action on *Galleria mellonella* infection model. **Microbial Pathogenesis**, v. 131, p. 150-157, jun. 2019.
33. SANTOS, L. M. M. et al. Fatty acid-rich volatile oil from *Syagrus coronata* seeds has larvicidal and oviposition-deterrent activities against *Aedes*

- aegypti*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 100, p. 35-40, dez. 2017.
34. SENEVIRATNE, K. N.; HAPUARACHCHI, C. D.; EKANAYAKE, S.
Comparison of the phenolic-dependent antioxidant properties of coconut oil extracted under cold and hot conditions. **Food Chemistry**, v. 114, n. 4, p. 1444-1449, jun. 2009.
35. SILVA, J. O.; COSTA, M. L. ; PAIXÃO, B.; MACÊDO, J. D. B.; RODRIGUES, P. M.; LINS-NETO, E. M. F. Natural Vs Managed Habitat: effect over the seed-predator *pachymerus nucleorum* and its natural enemies. **Neotropical Entomology**, v. 49, n. 1, p. 131-138, 14 nov. 2019.
36. SILVA, J. O.; MIGUES, V. H. Prospecção fitoquímica e atividade biológica de *Syagrus Coronata* e *Vanilla Palmarum*. **Revista Científica Multidisciplinar Núcleo do Conhecimento**. Ano 04, Ed. 07, Vol. 09, pp. 20-42. Julho de 2019.
37. SOUZA, L. I. O. et al. The chemical composition and trypanocidal activity of volatile oils from Brazilian Caatinga plants. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 96, p. 1055-1064, dez. 2017.
38. SOUZA, T. G. S. et al. Biological safety of *Syagrus coronata* (Mart.) Becc. Fixed oil: cytotoxicity, acute oral toxicity, and genotoxicity studies. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 272, p. 113941, maio 2021.
39. SOUZA, T. G. S. **Óleo fixo do *Syagrus coronata*: segurança do uso, reparo tecidual em ferida bucal e atividade antimutagênica**. 2020. 105 p. Tese (Doutorado) - Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco, Recife – PE, 2020. Disponível em <https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/40081>. Acesso em 04 ago. 2023.
40. SREEJAYAN, N.; RAO, M. N. Free radical scavenging of curcuminoids. **Arzneimittel Forschung - Drug Research**, v. 46, v. 2, p. 169-172, 1996.
41. TEIXEIRA, G. L.; IBAÑEZ, E.; BLOCK, J. M. Emerging Lipids from *Areaceae* Palm Fruits in Brazil. **Molecules**, v. 27, n. 13, p. 4188, 29 jun. 2022.

42. TEIXEIRA, G. L.; IBAÑEZ, E.; BLOCK, J. M. Emerging Lipids from *Arecaceae* Palm Fruits in Brazil. **Molecules**, v. 27, n. 13, p. 4188, 29 jun. 2022.
43. TICKTIN, T. The ecological implications of harvesting non-timber forest products. **Journal of Applied Ecology**, v. 41, n. 1, p. 11-21, 12 fev. 2004.
44. WHITTLE, E.; BARRATT, M.D.; CARTER, J.A.; BASKETTER, D.A.; CHAMBERLAIN, M. Skin corrosivity potential of fatty acids: in vitro rat and human skin testing and QSAR studies. **Toxicology in Vitro**, v. 10, n. 1, p. 95-100, fev. 1996.
45. ZUCKER, E. 1985. Hazard Evaluation Division – **Standard Evaluation Procedure – Acute toxicity test for freshwater fish**. USEPA Publication 540/9-85-006.
46. MANRIQUE, W. G. 2009. Toxicidade aguda, risco ambiental do fipronil para o guarú (*Poecilia reticulata*) e dissipação no ambiente aquático. Dissertação (Mestrado), Pós-Graduação em Aquicultura, Centro de Aquicultura da UNESP – Campus de Jaboticabal, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal – SP, 2009. Disponível em <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/86756?show=full>. Acesso em 04 ago. 2023.
47. SOUZA, T. G. S.; SILVA, M. M.; FEITOZA, G. S. et al. Biological safety of *Syagrus coronata* (Mart.) Becc. Fixed oil: cytotoxicity, acute oral toxicity, and genotoxicity studies. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 272, p. 113941, maio 2021.
48. LIN, T.-K.; ZHONG, L.; SANTIAGO, J. Anti-Inflammatory and Skin Barrier Repair Effects of Topical Application of Some Plant Oils. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 1, p. 70, 27 dez. 2017.
49. VINUTHA, B.; PRASHANTH, D.; SALMA, K.; SREEJA, S. L.; PRATITI, D.; PADMAJA, R.; RADHIKA, S.; AMIT, A.; VENKATESHWARLU, K.; DEEPAK, M. Screening of selected Indian medicinal plants for acetylcholinesterase inhibitory activity. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 109, p. 359-363, 2007.

50. EL-HAWARY, S. S.; FATHY, F. I.; SLEEM, A. A.; MORSY, F. A.; KHADAR, M. S.; MANSOUR, Mai K.. Anticholinesterase activity and metabolite profiling of *Syagrus romanzoffiana* (Cham.) Glassman leaves and fruits via UPLC–QTOF–PDA–MS. **Natural Product Research**, v. 35, n. 10, p. 1671-1675, 31 maio 2019.
51. ELLULU, M. S.; PATIMAH, I.; KHAZA'AI, H.; RAHMAT, A.; ABED, Y. Obesity and inflammation: the linking mechanism and the complications. **Archives of Medical Science**, v. 4, p. 851-863, 2017.
52. VERDILE, G.; KEANE, K. N.; CRUZAT, V. F.; MEDIC, S.; SABALE, M.; ROWLES, J.; WIJESEKARA, N.; MARTINS, R. N.; FRASER, P. E.; NEWSHOLME, P. Inflammation and Oxidative Stress: the molecular connectivity between insulin resistance, obesity, and Alzheimer's disease. **Mediators of Inflammation**, v. 2015, p. 1-17, 2015.
53. XU, S.; JAY, A.; BRUNALDI, K.; HUANG, N.; HAMILTON, J. A. CD36 Enhances Fatty Acid Uptake by Increasing the Rate of Intracellular Esterification but Not Transport across the Plasma Membrane. **Biochemistry**, v. 52, n. 41, p. 7254-7261, 3 out. 2013..
54. MATSUZAKI, T.; SASAKI, K.; HATA, J.; HIRAKAWA, Y.; FUJIMI, K.; NINOMIYA, T.; SUZUKI, S. O.; KANBA, S.; KIYOHARA, Y.; IWAKI, T.. Association of Alzheimer disease pathology with abnormal lipid metabolism: the hisayama study. **Neurology**, v. 77, n. 11, p. 1068-1075, 12 set. 2011.
55. Sandupama, Poorni; MUNASINGHE, Dilusha; JAYASINGHE, Madhura. Coconut oil as a therapeutic treatment for alzheimer's disease: a review. **Journal of Future Foods**, v. 2, n. 1, p. 41-52, mar. 2022.
56. GUTTMANN, R.; SIMS, P.; CHURCHILL, C.; WATERS, C.; BERRY, B.; WELLS, J. Coconut Oil and its Constituents as a Treatment for Alzheimer's Dementia. **Journal of Student Research**, v. 9, n. 1, p. 1-6, 3 nov. 2020.
57. NEVES, Daniela Andrade. **Caracterização química, determinação da presença de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, e avaliação do efeito do cozimento na composição química, capacidade antioxidante e atividade antimicrobiana do jambu (*Acmella oleracea*(L.) R.K. Jansen)**. 2018. 134 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciência de Alimentos,

- Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas - Sp, 2018. Disponível em:
<https://repositorio.unicamp.br/acervo/detalhe/1082253>. Acesso em: 01 set. 2023..
58. NAKATSUJI, T.; KAO, M. C.; FANG, J.-Y.; ZOUBOULIS, C. C.; ZHANG, L.; GALLO, R. L.; HUANG, C.-M. Antimicrobial Property of Lauric Acid Against *Propionibacterium Acnes*: its therapeutic potential for inflammatory acne vulgaris. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 129, n. 10, p. 2480-2488, out. 2009.
59. SANTOS, M. S. **Atividade anti-inflamatória tópica dos óleos de babaçu e licuri**. 2019. 91 F. Tese (Doutorado) - Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, Recife – PE, 2019. Disponível em
<https://repositorio.ufpe.br/bitstream/123456789/39567/1/TESE%20Simone%20Maria%20dos%20Santos.pdf>. Acesso em 04 ago. 2023.
60. ZHOU, Y.; YANG, H.; ZHOU, X.; LUO, H.; TANG, F.; YANG, J.; ALTEROVITZ, G.; CHENG, L.; REN, B. Lovastatin synergizes with itraconazole against planktonic cells and biofilms of *Candida albicans* through the regulation on ergosterol biosynthesis pathway. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 102, n. 12, p. 5255-5264, 25 abr. 2018..
61. ROBBINS, N.; WRIGHT, G. D.; COWEN, L. E. Antifungal Drugs: the current armamentarium and development of new agents. **Microbiology Spectrum**, v. 4, n. 5, p. 1-19, 14 out. 2016.
62. SAMPAIO, R. S. L.; PEREIRA, R. L. S.; COUTINHO, H. D. M. et al. Chemical composition and antimicrobial potential of *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex Mart. and *Syagrus cearensis* Noblick (Arecaceae). **Microbial Pathogenesis**, v. 180, p. 106147-106148, jul. 2023.
63. DAYRIT, F. M. The properties of lauric acid and their significance in coconut oil. **Journal of The American Oil Chemists' Society**, v. 92, n. 1, p. 1-15, 15 nov. 2014..

64. KIM, S. A.; RHEE, M. S. Highly enhanced bactericidal effects of medium chain fatty acids (caprylic, capric, and lauric acid) combined with edible plant essential oils (carvacrol, eugenol, β -resorcylic acid, trans -cinnamaldehyde, thymol, and vanillin) against *Escherichia coli* O157: h7. **Food Control**, v. 60, p. 447-454, fev. 2016.
65. KIM, H. W.; SEOK, Y. S.; RHEE, M. S. Synergistic staphylocidal interaction of benzoic acid derivatives (benzoic acid, 4-hydroxybenzoic acid and β -resorcylic acid) and capric acid: mechanism and verification study using artificial skin. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 75, n. 3, p. 571-575, 28 nov. 2019.
66. SOUZA, J. L. S.; SILVA, A. F.; CARVALHO, P. H. A.; PACHECO, B. S.; PEREIRA, C. M. P.; LUND, R. G.. Aliphatic fatty acids and esters: inhibition of growth and exoenzyme production of candida, and their cytotoxicity in vitro. **Archives Of Oral Biology**, v. 59, n. 9, p. 880-886, set. 2014.
67. SOLÍS, P. N.; OLMEDO, D. A.; VASQUEZ, Y.; MORÁN, J. A.; LEÓN, E. G.; CABALLERO-GEORGE, C. Understanding the Artemia Salina (Brine Shrimp) Test: pharmacological significance and global impact. **Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening**, v. 26, p. 1-10, 3 jul. 2023.
68. LI, Z.-H.; LI, P.; RANDAK, T. Ecotoxicological effects of short-term exposure to a human pharmaceutical Verapamil in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 152, n. 3, p. 385-391, set. 2010.
69. SOUSA, M. L.; SANTOS, D. Y. A. C.; CHOW, F.; POMPEO, M. L. M. Caffeine as a contaminant of periphyton: ecological changes and impacts on primary producers. **Ecotoxicology**, v. 30, n. 4, p. 599-609, 17 mar. 2021.

6 CONCLUSÃO

O perfil lipídico do óleo fixo de extraído da amêndoa de *Syagrus coronate* (Mart.) Beccari revelou a presença de ácido láurico como componente majoritário.

As atividades biológicas demonstraram os potenciais antioxidante, fungicida e de inibição da acetilcolinesterase para este óleo.

O perfil de segurança *in vitro* também foi evidenciado pelos resultados dos testes realizados com os organismos-modelo (*Artemia salina* e *Daphnia magna*) e as células imortalizadas de fibroblastos murinos (L929).

Portanto, o conjunto de resultados sugere ao óleo extraído da amêndoa do licuri a potencialidade do mesmo como insumo ativo para compor formulações destinadas aos segmentos farmacêutico e cosmético e sua aplicação em seres humanos e animais. Ainda, demonstra a possibilidade de maior e melhor aproveitamento deste óleo vegetal, e com isso promover impactos social e econômico benéficos, visto que a produção sustentável e o uso diversificado deste óleo podem aumentar tanto a renda de agricultores familiares no Brasil quanto para a indústria.

No entanto, estudos mais aprofundados devem ser conduzidos para cada uso pretendido desse óleo. Também são sugeridos o uso de estratégias tecnológicas convergentes como a nanotecnologia na tentativa de ampliar os efeitos farmacológicos potenciais, bem como o desenvolvimento de formulações farmacêuticas e/ou cosméticas diferenciadas à base de lipídios devem ser estimuladas, tais como óleo-gel. Tais estratégias visam não só a valorização da biodiversidade brasileira, mas também a ampliação das oportunidades de mercado para este óleo.

REFERÊNCIAS

ADAMS, R. P. **Identification of essential components by gas chromatography/mass spectroscopy**. 4.ed. Illinois: Allured Publishing Corporation, 2007.

AKERE TH, ZIGIOTTO DE MEDEIROS AM, MARTINEZ DST, IBRAHIM B, ALI-BOUCETTA H, VALSAMI-JONES E. Nanotoxicity of Graphene Oxide - Gold Nanohybrid to *Daphnia magna*. **Aquat Toxicol**. 2023 Jul;260:106552.

ARCANO, A. F. D; SÁ, A. A. MESSIAS, C. M. B. O. Licuri milk (*Syagrus coronata*) supplemented with the calcium present in the egg shell of laying hens. **Brazilian Journal of Development**, [S.L.], v. 7, n. 3, p. 30303-30313, 2021.

ARCANO, A. F. D; SÁ, A. A. MESSIAS, C. M. B. O. Licuri milk (*Syagrus coronata*) supplemented with the calcium present in the egg shell of laying hens. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 3, p. 30303-30313, 2021.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). 2002. Água – Ensaio de toxicidade aguda com *Daphnia* sp. (Crustacea, Cladocera). ABNT NBR 12713: 2002.

_____. 2011. Ecotoxicidade aquática – Toxicidade aguda – Método de ensaio com peixes. ABNT NBR 15088: 2011.

BALDWIN K; KLIGMAN AM. *In vitro* skin fibroblast studies and human aging, in **Aging and the Skin**, pp 85-92, Raven Press, New York, 1988.

BALRAADJSING S, PEIJNENBURG WJGM, VIJVER MG. Exploring the potential of *in silico* machine learning tools for the prediction of acute *Daphnia magna* nanotoxicity. **Chemosphere**. 2022 Nov;307(Pt 2):135930.

BAUER, L. C. Chemical characterization of pressed and refined licuri (*Syagrus coronata*) oils. **Acta Scientiarum. Technology**. Maringá, v. 35, n. 4, p. 771-776, Oct.-Dec., 2013.

BESSA, C. M. A. S. et al. *Syagrus coronata* seed oils have antimicrobial action against multidrug-resistant *Staphylococcus aureus*. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 10, n. 23, p. 310–317, 2016.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lwt - Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.

CAO, J; PAN, Y.; JIANG, Y.; QI, Y.; YUAN, B., JIA, Z. JIANG, J.; WANG, Q. Computer-aided nanotoxicology: risk assessment of metal oxide nanoparticles via nano-QSAR. **Green Chem.**, 22 (2020), pp. 3512-3521.

CHOI KY, AJITERU O, HONG H, SUH YJ, SULTAN MT, LEE H, LEE JS, LEE YJ, LEE OJ, KIM SH, PARK CH. A digital light processing 3D-printed artificial skin model and full-thickness wound models using silk fibroin bioink. **Acta Biomater**. 2023 Jul 1;164:159-174.

CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. (2002). **Reference method for broth dilution tests for the determination of sensitivity to antifungal therapy of filamentous fungi**: approved standard, 22, 16. M38-A.

CONNORS KA, BRILL JL, NORBERG-KING T, BARRON MG, CARR G, BELANGER SE. *Daphnia magna* and *Ceriodaphnia dubia* Have Similar Sensitivity in Standard Acute and Chronic Toxicity Tests. **Environ Toxicol Chem**. 2022 Jan;41(1):134-147.

CORADIN, L.; CAMILLO, J ; PAREYN, F. G. C. **Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial. Plantas para o futuro: região Nordeste**. Brasília, DF: Ministério do Meio Ambiente, 2018. Disponível em <http://www.mma.gov.br/publicacoes/biodiversidade/category/142-serie-biodiversidade.html>. Acesso em 03/08/2023.

CORRÒ C, NOVELLASDEMUNT L, LI VSW. A brief history of organoids. **Am J Physiol Cell Physiol**. 2020 Jul 1;319(1):C151-C165.

DAYRIT, F. M. The properties of lauric acid and their significance in coconut oil. **Journal of The American Oil Chemists' Society**, v. 92, n. 1, p. 1-15, 15 nov. 2014..

DUVAL K, GROVER H, HAN LH, MOU Y, PEGORARO AF, FREDBERG J, CHEN Z. Modeling physiological events in 2D vs. 3D cell culture. **Physiology (Bethesda)** 2017;32(4):266–277.

DUTRA et al., 2012. Chemical composition and cytotoxicity activity of the essential oil of *Pterodon emarginatus*. **Rev. bras. farmacogn.** 22 (5). Oct 2012.

EL-HAWARY, S. S.; FATHY, F. I.; SLEEM, A. A.; MORSY, F. A.; KHADAR, M. S.; MANSOUR, Mai K.. Anticholinesterase activity and metabolite profiling of *Syagrus romanzoffiana* (Cham.) Glassman leaves and fruits via UPLC–QTOF–PDA–MS. **Natural Product Research**, v. 35, n. 10, p. 1671-1675, 31 maio 2019.

ELLMAN, G. L.; COURTNEY, K. D.; ANDRES, V.; FEATHERSTONE, R. M. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. **Biochemical Pharmacologic**, v. 7, p. 88-95, 1961.

ELLULU, M. S.; PATIMAH, I.; KHAZA'AI, H.; RAHMAT, A.; ABED, Y. Obesity and inflammation: the linking mechanism and the complications. **Archives of Medical Science**, v. 4, p. 851-863, 2017.

FERREIRA, A. C. et al. Effect of replacing ground corn and soybean meal with licuri cake on the performance, digestibility, nitrogen metabolism and ingestive behavior in lactating dairy cows. **Animal**, v. 11, n. 11, p. 1957-1965, 2017.

FINK S, BURMESTER A, HIPLER UC, NEUMEISTER C, GÖTZ MR, WIEGAND C. Efficacy of antifungal agents against fungal spores: An in vitro study using microplate laser nephelometry and an artificially infected 3D skin model. **Microbiologyopen**. 2022 Feb;11(1):e1257.

FINNEY D. J. **Probit Analysis**. 3 ed. Cambridge, UK: Cambridge University Press. 1971.

FREIRES, J. D. Monitoramento tecnológico do processamento do óleo de licuri (*Syagrus coronata*) para fins alimentícios. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 11, n. 1, p. 10-17, 30 mar. 2023.

FURXHI I, MURPHY F, MULLINS M, ARVANITIS A, POLAND CA. Nanotoxicology data for in silico tools: a literature review. **Nanotoxicology**. 2020 Jun;14(5):612-637.

GAJEWICZ, A. How to judge whether QSAR/read-across predictions can be trusted: a novel approach for establishing a model's applicability domain. **Environ. Sci. Nano**, 5 (2018), pp. 408-421.

GHASEMI M, TURNBULL T, SEBASTIAN S, KEMPSON I. The MTT Assay: Utility, Limitations, Pitfalls, and Interpretation in Bulk and Single-Cell Analysis. **Int J Mol Sci**. 2021 Nov 26;22(23):12827.

GON RK, GRANJEIRO JM, DELGADO IF. Aplicação de métodos alternativos ao uso de animais no desenvolvimento e controle da qualidade de produtos imunobiológicos no Brasil. **Vigil Sanit Debate**, Rio de Janeiro, 2023, v.11: e02126.

GOUVÊA, A. L. L. **Qualidade da carne e dos produtos cárneos de tourinhos anelados submetidos a dietas com torta de licuri**. 2014. 71 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal da Bahia, Salvador – BahiaA, 2014. Disponível em: <https://repositorio.ufba.br/handle/ri/31054>. Acesso em: 04 ago. 2023.

GÜLÇİN, İ. Antioxidant properties of resveratrol: a structure-activity insight. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 11, n. 1, p. 210-218, jan. 2010.

GÜLÇİN, I.; BURSAL, E.; ŞEHİTOĞLU, M. H.; BILSEL, M.; GÖREN, A. C. Polyphenol contents and antioxidant activity of lyophilized aqueous extract of propolis from Erzurum, Turkey. **Food And Chemical Toxicology**, v. 48, n. 8-9, p. 2227-2238, ago. 2010.

GUTTMANN, R.; SIMS, P.; CHURCHILL, C.; WATERS, C.; BERRY, B.; WELLS, J. Coconut Oil and its Constituents as a Treatment for Alzheimer's Dementia. **Journal of Student Research**, v. 9, n. 1, p. 1-6, 3 nov. 2020.

HUGHES, A. F. S.; LIMA, F. G.; LUCCHESI, A. M.; GÓES NETO, A.; UETANABARO, A. P. T. Antimicrobial activity of *Syagrus coronata* (Martius) Beccari. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 56, n. 2, p. 269-274, abr. 2013.

International Organization for Standardization. **ISO 10993-5 – Biological Evaluation of medical devices. Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity**, 3^a ed., ISO, 2009.

JALAN-SAKRIKAR N, BREVINI T, HUEBERT RC, SAMPAZIOTIS F. Organoids and regenerative hepatology. **Hepatology**. 2023 Jan 1;77(1):305-322.

JOHNSON, Dennis Victor et al. **Non-wood forest products: tropical palms**. Bangkok, Thailand: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1997.

KIM, S. A.; RHEE, M. S. Highly enhanced bactericidal effects of medium chain fatty acids (caprylic, capric, and lauric acid) combined with edible plant essential oils (carvacrol, eugenol, β -resorcylic acid, trans -cinnamaldehyde, thymol, and vanillin) against *Escherichia coli* O157: h7. **Food Control**, v. 60, p. 447-454, fev. 2016.

KIM, S. A.; RHEE, M. S. Marked synergistic bactericidal effects and mode of action of medium-chain fatty acids in combination with organic acids against *Escherichia coli* O157: h7. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 79, n. 21, p. 6552-6560, nov. 2013.

KIM, S.A.; RHEE, M.S. Use of caprylic acid to control pathogens (*Escherichia coli* O157: h7 and salmonella enterica serovar typhimurium) in apple juice at mild heat temperature. **Journal of Applied Microbiology**, v. 119, n. 5, p. 1317-1323, 20 set. 2015.

KIM YS, PARK M, JIN S, JEONG GH, CHUNG YJ, BANG CH. Genomic comparison between an in vitro three-dimensional culture model of melanoma and the original primary tumor. **Arch Dermatol Res**. 2023 Jul;315(5):1225-1231.

KIM, H. W.; SEOK, Y. S.; RHEE, M. S. Synergistic staphylocidal interaction of benzoic acid derivatives (benzoic acid, 4-hydroxybenzoic acid and β -resorcylic acid) and capric acid: mechanism and verification study using artificial skin. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 75, n. 3, p. 571-575, 28 nov. 2019.

KOVALISHYN et al., 2018 Modelling the toxicity of a large set of metal and metal oxide nanoparticles using the OCHEM platform. **Food Chem. Toxicol.**, 112 (2018), pp.507-517.

LI, Z.-H.; LI, P.; RANDAK, T. Ecotoxicological effects of short-term exposure to a human pharmaceutical Verapamil in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 152, n. 3, p. 385-391, set. 2010.

LIN, T.-K.; ZHONG, L.; SANTIAGO, J. Anti-Inflammatory and Skin Barrier Repair Effects of Topical Application of Some Plant Oils. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 1, p. 70, 27 dez. 2017.

MANRIQUE, W. G. 2009. Toxicidade aguda, risco ambiental do fipronil para o guarú (*Poecilia reticulata*) e dissipação no ambiente aquático. Dissertação (Mestrado), Pós-Graduação em Aquicultura, Centro de Aquicultura da UNESP – Campus de Jaboticabal, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal – SP, 2009. Disponível em <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/86756?show=full>. Acesso em 04 ago. 2023.

MARKIEWICZ E, JEROME J, MAMMONE T, IDOWU OC. Anti-Glycation and Anti-Aging Properties of Resveratrol Derivatives in the in-vitro 3D Models of Human Skin. **Clin Cosmet Investig Dermatol**. 2022 May 19;15:911-927.

MARTINS, F. J.; CANESCHI, C. A.; VIEIRA, J. L. F. et al. Antioxidant activity and potential photoprospective from amazon native flora extracts. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**. 2016; 161:34-9.

MARTINS et al., 2019. New group of azastilbene analogs of resveratrol: Synthesis, anticandidal activity and toxicity evaluation. **Journal of King Saud University – Science**. Volume 31, Issue 2, April 2019, Pages 158-163.

MATSUZAKI, T.; SASAKI, K.; HATA, J.; HIRAKAWA, Y.; FUJIMI, K.; NINOMIYA, T.; SUZUKI, S. O.; KANBA, S.; KIYOHARA, Y.; IWAKI, T.. Association of Alzheimer disease pathology with abnormal lipid metabolism: the hisayama study. **Neurology**, v. 77, n. 11, p. 1068-1075, 12 set. 2011.

MENDONÇA DE ASSIS P, CYPRIANO DUTRA R, AMARANTE CBD, AFONSO MIRANDA CHAVES MDG, MOREIRA CPS, BRANDÃO MAF, RAPOSO NRB. *Plinia cauliflora* (Mart.) Kausel: toxicological assays, biological activities, and elemental analysis of organic compounds. **Nat Prod Res**. 2021 May;35(10):1727-1731.

MENEZES, T. A. et al. Production of basidiomata and ligninolytic enzymes by the lingzhi or reishi medicinal mushroom, *Ganoderma lucidum* (Agaricomycetes), in Licuri (*Syagrus coronata*) wastes in Brazil. **International Journal of Medicinal Mushrooms**, v. 18, n. 12, p. 1141-1149, 2016.

MEYER, B; FERRIGNI, N. R.; PUTNAM, J. E. et al. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. **Planta Medica**, v. 45, n. 5, p. 31-34, 1982.

MOSMANN T. Rapid Colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of Immunological Methods**, v. 65, p. 55-62, 1983.

MURUGADOSS et al., 2021 Identifying nanodescriptors to predict the toxicity of nanomaterials: a case study on titanium dioxide. **Environ. Sci. Nano**, 8 (2021), pp.580-590.

NAKATSUJI, T.; KAO, M. C.; FANG, J.-Y.; ZOUBOULIS, C. C.; ZHANG, L.; GALLO, R. L.; HUANG, C.-M. Antimicrobial Property of Lauric Acid Against *Propionibacterium Acnes*: its therapeutic potential for inflammatory acne vulgaris. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 129, n. 10, p. 2480-2488, out. 2009.

NEVES, Daniela Andrade. **Caracterização química, determinação da presença de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, e avaliação do efeito do cozimento na composição química, capacidade antioxidante e atividade antimicrobiana do jambu (*Acmella oleracea*(L.) R.K. Jansen)**. 2018. 134 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciência de Alimentos, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas - Sp, 2018. Disponível em: <https://repositorio.unicamp.br/acervo/detalhe/1082253>. Acesso em: 01 set. 2023..

NEVES LMG, WILGUS TA, BAYAT A. In Vitro, Ex Vivo, and In Vivo Approaches for Investigation of Skin Scarring: Human and Animal Models. **Adv Wound Care** (New Rochelle). 2023 Feb;12(2):97-116.

OLIVEIRA, C. A.; MORAIS, C. M; NASCIMENTO, I. O.; LIMA, R. O.; OLIVEIRA, F. S. Efeito fungitóxico do óleo de licuri (*Syagrus coronata*) sobre *Fusarium oxysporum* isolado do maracujazeiro. **Cadernos de Agroecologia** (Anais do XI Congresso Brasileiro de Agroecologia), São Cristóvão, Sergipe - v. 15, no 2, 2020.

OLIVEIRA PEREIRA EA, LABINE LM, KLEYWEGT S, JOBST KJ, SIMPSON AJ, SIMPSON MJ. Daphnia magna sub-lethal exposure to phthalate pollutants elicits disruptions in amino acid and energy metabolism. **Aquat Toxicol**. 2023 Apr;257:106432.

RAZERA, M. L. **Palmeira do sertão: caracterização da cadeia produtiva do licuri (*Syagrus coronata* Martius Beccari) em regiões da Bahia**. 2021. 108 f. TCC (Graduação) - Curso de Engenharia Florestal, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos - PR, 2021. Disponível em: <http://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/29314>. Acesso em: 25 ago. 2022.

ROCCO L, SANTONASTASO M, MOTTOLA F, COSTAGLIOLA D, SUERO T, PACIFICO S, STINGO V. Genotoxicity assessment of TiO₂ nanoparticles in the teleost *Danio rerio*. **Ecotoxicol Environ Saf**. 2015 Mar;113:223-30.

ROBBINS, N.; WRIGHT, G. D.; COWEN, L. E. Antifungal Drugs: the current armamentarium and development of new agents. **Microbiology Spectrum**, v. 4, n. 5, p. 1-19, 14 out. 2016.

RODRIGUES, I. A. et al. *In vitro* anti-*Leishmania amazonensis* activity of the polymeric procyanidin-rich aqueous extract from *Syagrus coronata*. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 5, n. 16, p. 3781-3790, 18 August, 2011.

RUFINO, M. U. D. L. et al. Conhecimento e uso do ouricuri (*Syagrus coronata*) e do babaçu. **Acta Botanica Brasilica, Buíque**, v. 22, p. 1141-1149, julho 2008.

SHAH DD, RAGHANI NR, CHORAWALA MR, SINGH S, PRAJAPATI BG. Harnessing three-dimensional (3D) cell culture models for pulmonary infections: State of the art and future directions. **Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol**. 2023 Jun 2:1–20.

SAMPAIO, R. S. L.; PEREIRA, R. L. S.; COUTINHO, H. D. M. et al. Chemical composition and antimicrobial potential of *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex Mart. and *Syagrus cearensis* Noblick (Arecaceae). **Microbial Pathogenesis**, v. 180, p. 106147-106148, jul. 2023.

SÁNCHEZ-MORENO, C.; LARRAURI, J. A.; SAURA-CALIXTO, F. A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. **Journal of The Science of Food and Agriculture**, v. 76, n. 2, p. 270-276, fev. 1998.

SANDUPAMA, POORNI; MUNASINGHE, DILUSHA; JAYASINGHE, MADHURA. Coconut oil as a therapeutic treatment for alzheimer's disease: a review. **Journal of Future Foods**, v. 2, n. 1, p. 41-52, mar. 2022.

SANTOS, B. S. et al. Anti-staphylococcal activity of *Syagrus coronata* essential oil: biofilm eradication and *in vivo* action on *Galleria mellonella* infection model. **Microbial Pathogenesis**, v. 131, p. 150-157, jun. 2019.

SANTOS, L. M. M. et al. Fatty acid-rich volatile oil from *Syagrus coronata* seeds has larvicidal and oviposition-deterrent activities against *Aedes aegypti*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 100, p. 35-40, dez. 2017.

SANTOS, M. S. **Atividade anti-inflamatória tópica dos óleos de babaçu e licuri**. 2019. 91 F. Tese (Doutorado) - Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, Recife – PE, 2019. Disponível em <https://repositorio.ufpe.br/bitstream/123456789/39567/1/TESE%20Simone%20Maria%20dos%20Santos.pdf>. Acesso em 04 ago. 2023.

SENEVIRATNE, K. N.; HAPUARACHCHI, C. D.; EKANAYAKE, S. Comparison of the phenolic-dependent antioxidant properties of coconut oil extracted under cold and hot conditions. **Food Chemistry**, v. 114, n. 4, p. 1444-1449, jun. 2009.

SIQUEIRA AB, RODRIGUEZ LR, SANTOS RK, MARINHO RR, ABREU S, PEIXOTO RF, GURGEL BC. Antifungal activity of propolis against *Candida* species isolated from cases of chronic periodontitis. **Braz Oral Res**. 2015;29:S1806-83242015000100278.

SILVA, J. O.; COSTA, M. L. ; PAIXÃO, B.; MACÊDO, J. D. B.; RODRIGUES, P. M.; LINS-NETO, E. M. F. Natural Vs Managed Habitat: effect over the seed-predator *pachymerus nucleorum* and its natural enemies. **Neotropical Entomology**, v. 49, n. 1, p. 131-138, 14 nov. 2019.

SILVA, J. O.; MIGUES, V. H. Prospecção fitoquímica e atividade biológica de *Syagrus Coronata* e *Vanilla Palmarum*. **Revista Científica Multidisciplinar Núcleo do Conhecimento**. Ano 04, Ed. 07, Vol. 09, pp. 20-42. Julho de 2019.

SOLÍS, P. N.; OLMEDO, D. A.; VASQUEZ, Y.; MORÁN, J. A.; LEÓN, E. G.; CABALLERO-GEORGE, C. Understanding the *Artemia Salina* (Brine Shrimp) Test: pharmacological significance and global impact. **Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening**, v. 26, p. 1-10, 3 jul. 2023.

SOUZA, L. I. O. et al. The chemical composition and trypanocidal activity of volatile oils from Brazilian Caatinga plants. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 96, p. 1055-1064, dez. 2017.

SOUZA, J. L. S.; SILVA, A. F.; CARVALHO, P. H. A.; PACHECO, B. S.; PEREIRA, C. M. P.; LUND, R. G.. Aliphatic fatty acids and esters: inhibition of

growth and exoenzyme production of candida, and their cytotoxicity in vitro. **Archives Of Oral Biology**, v. 59, n. 9, p. 880-886, set. 2014.

SOUSA, M. L.; SANTOS, D. Y. A. C.; CHOW, F.; POMPÊO, M. L. M. Caffeine as a contaminant of periphyton: ecological changes and impacts on primary producers. **Ecotoxicology**, v. 30, n. 4, p. 599-609, 17 mar. 2021.

SOUZA, T. G. S. **Óleo fixo do Syagrus coronata: segurança do uso, reparo tecidual em ferida bucal e atividade antimutagênica**. 2020. 105 p. Tese (Doutorado) - Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco, Recife – PE, 2020. Disponível em <https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/40081>. Acesso em 04 ago. 2023.

SOUZA, T. G. S.; SILVA, M. M.; FEITOZA, G. S. et al. Biological safety of Syagrus coronata (Mart.) Becc. Fixed oil: cytotoxicity, acute oral toxicity, and genotoxicity studies. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 272, p. 113941, maio 2021.

SREEJAYAN, N.; RAO, M. N. Free radical scavenging of curcuminoids. **Arzneimittel Forschung - Drug Research**, v. 46, v. 2, p. 169-172, 1996.

SUNDSTRÖM KB, NGUYEN HOANG AT, GUPTA S, AHLM C, SVENSSON M, KLINGSTRÖM J. Andes Hantavirus-infection of a 3D human lung tissue model reveals a late peak in progeny virus production followed by increased levels of proinflammatory cytokines and VEGF-A. **PLoS One**. 2016;11(2):e0149354.

TEIXEIRA, G. L.; IBAÑEZ, E.; BLOCK, J. M. Emerging Lipids from *Arecaceae* Palm Fruits in Brazil. **Molecules**, v. 27, n. 13, p. 4188, 29 jun. 2022.

TEIXEIRA, G. L.; IBAÑEZ, E.; BLOCK, J. M. Emerging Lipids from *Arecaceae* Palm Fruits in Brazil. **Molecules**, v. 27, n. 13, p. 4188, 29 jun. 2022.

TICKTIN, T. The ecological implications of harvesting non-timber forest products. **Journal of Applied Ecology**, v. 41, n. 1, p. 11-21, 12 fev. 2004.

VERDILE, G.; KEANE, K. N.; CRUZAT, V. F.; MEDIC, S.; SABALE, M.; ROWLES, J.; WIJESEKARA, N.; MARTINS, R. N.; FRASER, P. E.;

NEWSHOLME, P. Inflammation and Oxidative Stress: the molecular connectivity between insulin resistance, obesity, and Alzheimer's disease. **Mediators of Inflammation**, v. 2015, p. 1-17, 2015.

VINUTHA, B.; PRASHANTH, D.; SALMA, K.; SREEJA, S. L.; PRATITI, D.; PADMAJA, R.; RADHIKA, S.; AMIT, A.; VENKATESHWARLU, K.; DEEPAK, M. Screening of selected Indian medicinal plants for acetylcholinesterase inhibitory activity. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 109, p. 359-363, 2007.

XU, S.; JAY, A.; BRUNALDI, K.; HUANG, N.; HAMILTON, J. A. CD36 Enhances Fatty Acid Uptake by Increasing the Rate of Intracellular Esterification but Not Transport across the Plasma Membrane. **Biochemistry**, v. 52, n. 41, p. 7254-7261, 3 out. 2013..

ZHOU, Y.; YANG, H.; ZHOU, X.; LUO, H.; TANG, F.; YANG, J.; ALTEROVITZ, G.; CHENG, L.; REN, B. Lovastatin synergizes with itraconazole against planktonic cells and biofilms of *Candida albicans* through the regulation on ergosterol biosynthesis pathway. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 102, n. 12, p. 5255-5264, 25 abr. 2018.

ZUCKER, E. 1985. Hazard Evaluation Division – **Standard Evaluation Procedure – Acute toxicity test for freshwater fish**. USEPA Publication 540/9-85-006.

ZHANG H, MAO J, QI HZ, DING L. In silico prediction of drug-induced developmental toxicity by using machine learning approaches. **Mol Divers**. 2020 Nov;24(4):1281-1290.

WANG M, WANG WX. Selective ingestion and response by *Daphnia magna* to environmental challenges of microplastics. **J Hazard Mater**. 2023 Sep 15;458:131864.

WHITTLE, E.; BARRATT, M.D.; CARTER, J.A.; BASKETTER, D.A.; CHAMBERLAIN, M. Skin corrosivity potential of fatty acids: in vitro rat and human skin testing and QSAR studies. **Toxicology in Vitro**, v. 10, n. 1, p. 95-100, fev. 1996.

YAGIZ AGHAYAROV O, BAYAR MULUK N, VEJSELOVA SEZER C, KUTLU HM, CINGI C. Evaluation of spiramycin for topical applications: a cell culture study. **Eur Rev Med Pharmacol Sci.** 2023 Mar;27(2 Suppl):44-50.