

COMPOSIÇÃO FITOQUÍMICA E POTENCIAL FARMACOLÓGICO DO ESTIGMA DE ZEA MAYS L. (POACEAE): UMA REVISÃO DE ESCOPO

PHYTOCHEMICAL COMPOSITION AND PHARMACOLOGY POTENTIAL OF THE CORN SILK ZEA MAYS L. (POACEAE): A SCOPING REVIEW

RESUMO: Esta revisão de escopo tem como objetivo examinar as evidências relacionadas ao perfil fitoquímico e às atividades farmacológicas do estigma de milho e identificar as principais lacunas no conhecimento para informar trabalhos futuros. Para tanto, foram feitas buscas nas bases de dados *PubMed*, *Scielo*, *Scopus* e *Science Direct*. As palavras-chave foram: "stigma maydis and phytochemical constituents", "corn silk and phytochemical constituents", "stigma maydis and metabolites", "corn silk and metabolites", "stigma maydis and pharmacological activities" e "corn silk and pharmacological activities". Os artigos foram selecionados seguindo critérios de elegibilidade, seguido de análise integral dos artigos. De 233 artigos encontrados, 40 preencheram os critérios de inclusão. Estudos fitoquímicos evidenciaram uma diversidade de compostos no estigma de milho, com destaque para os flavonoides. Identificou-se que não há uma padronização dos métodos de extração, dos métodos analíticos e dos solventes utilizados nos estudos fitoquímicos. Quanto às potencialidades farmacológicas, destacam-se a atividade antioxidante, antidiabética e diurética. Conclui-se que o estigma de milho apresenta potencial para se tornar um produto para saúde, contudo, é necessário que os métodos analíticos, extrativos e de produção sejam padronizados a fim de garantir a qualidade de futuros produtos intermediários e acabados, à base de estigma de milho.

Palavras-chave: *stigma maydis*, estigma de milho, flavonoides, antidiabético, diurético.

ABSTRACT: This scoping review aims to examine the evidences related to the phytochemical and pharmacological analysis of corn silk and to identify the main gaps to inform future works. Searches were carried out in the databases *PubMed*, *Scielo*, *Scopus* e *Science Direct*. The keywords were "stigma maydis and phytochemical constituents", "corn silk and phytochemical constituents", "stigma maydis and metabolites", "corn silk and metabolites", "stigma maydis and pharmacological activities" e "corn silk and pharmacological activities". The scientific articles were selected following the eligibility criteria and full analysis of the articles. Of 233 identified results, 40 scientific articles met the inclusion criteria. Phytochemical studies evidenced several compounds in corn silk, highlighting the presence of flavonoids. It was identified that the extraction methods, analytical methods and solvents used are not standardized. Concerning to pharmacological properties, highlights the antioxidant, antidiabetic, and diuretic activity. It was concluded that corn silk has the potential to become a health product and yet it is a necessary that the analytical, extractive and production methods be standardized to ensure the quality of future intermediate and finished products corn silk based.

Keywords: *stigma maydis*, corn silk, flavonoids, antidiabetic, diuretic.

Pabline Silva Gasparoti ¹
Joelma Abadia Marciano de Paula ²

1- Mestranda do programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas a Produtos para Saúde- Universidade Estadual de Goiás (Anápolis, Brasil) - Laboratório de Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação de Produtos da Biodiversidade;

2- Professora da Universidade Estadual de Goiás (Anápolis, Brasil) - Laboratório de Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação de Produtos da Biodiversidade.

E-mail: pablinegasparoti@gmail.com

Recebido em: 02/10/2020

Revisado em: 09/12/2020

Aceito em: 26/05/2021



Copyright: © 2021. This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

INTRODUÇÃO

O milho, cujo nome científico é *Zea mays* Lineaus, pertence à família Poaceae, é de origem da Mesoamérica, e segundo estudos, ele foi domesticado no México há 8000 ou 9000 anos.¹ Segundo a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), uma vez difundido no México, o grão se firmou como produto em países da América Central com clima propício para seu cultivo, como por exemplo no Panamá e também na América do Sul. No Brasil, o terceiro maior produtor mundial de milho, a produção de milho atinge todas as regiões do país, e há maior predomínio nas regiões Centro-Oeste e Sul, representando em torno de 68% da área cultivada no Brasil².

O milho possui característica monóica e sua morfologia é resultado da supressão, condensação e multiplicação de várias partes da anatomia das gramíneas. Seus aspectos vegetativos e reprodutivos podem ser modificados pela interação com os fatores ambientais, afetando o controle da ontogenia do desenvolvimento³. Todas as partes do milho podem ser aproveitadas, inclusive seus estigmas (*Stigma maydis*). Os estigmas de milho são conhecidos popularmente no Brasil por “cabelo de milho” ou “barba de milho”, e são parte da inflorescência feminina do milho, podendo alcançar até 45cm de comprimento, com coloração verde claro, amarelo ou marrom claro e sua função é capturar o pólen para polinização⁴. O estigma de milho é um subproduto de resíduos no cultivo de milho e está disponível em todo o mundo⁵.

Os estigmas de milho são utilizados em diferentes países do mundo, como parte da

medicina tradicional⁶. Atualmente há diversas pesquisas para compreender a composição fitoquímica e farmacológica do estigma de milho, para assim tentar entender e confirmar o que já é conhecido dentro da medicina tradicional, já que a investigação fitoquímica tem como intuito verificar a presença de grupos de metabólitos secundários e caracterizar os constituintes químicos presentes em espécies vegetais⁷.

Com base nessas informações científicas existentes acerca do estigma de milho, este estudo tem como objetivo examinar as evidências relacionadas à análise fitoquímica e farmacológica do estigma de milho e identificar as principais lacunas no conhecimento para informar trabalhos futuros.

MATERIAIS E MÉTODOS

A pergunta norteadora deste trabalho foi: evidências científicas referentes ao perfil fitoquímico e às atividades farmacológicas corroboram o potencial fitoterápico do estigma de milho?

Estabeleceram-se como critérios de inclusão, artigos que apresentassem ensaios analisando a composição fitoquímica do estigma de milho, com análises quantitativas e/ou qualitativas; artigos que apresentassem ensaios pré-clínicos abordando estudos sobre atividades farmacológicas do estigma de milho; e artigos de língua portuguesa, inglesa ou espanhola.

Foram estabelecidos como critérios de exclusão artigos voltados para a área genética; artigos de revisão; artigos incompletos; artigos duplicados; artigos que não sejam de língua

portuguesa, inglesa ou espanhola; e artigos que abordassem outras partes do milho, que não fosse estigma.

A pesquisa foi realizada nas bases de dados Pubmed, Scielo, Scopus e Science Direct, sem restrição do período de pesquisa. As palavras-chave utilizadas foram: *stigma maydis and phytochemical constituents, corn silk and phytochemical constituents, stigma maydis and metabolites, corn silk and metabolites, stigma maydis and pharmacological activities e corn silk and pharmacological activities*.

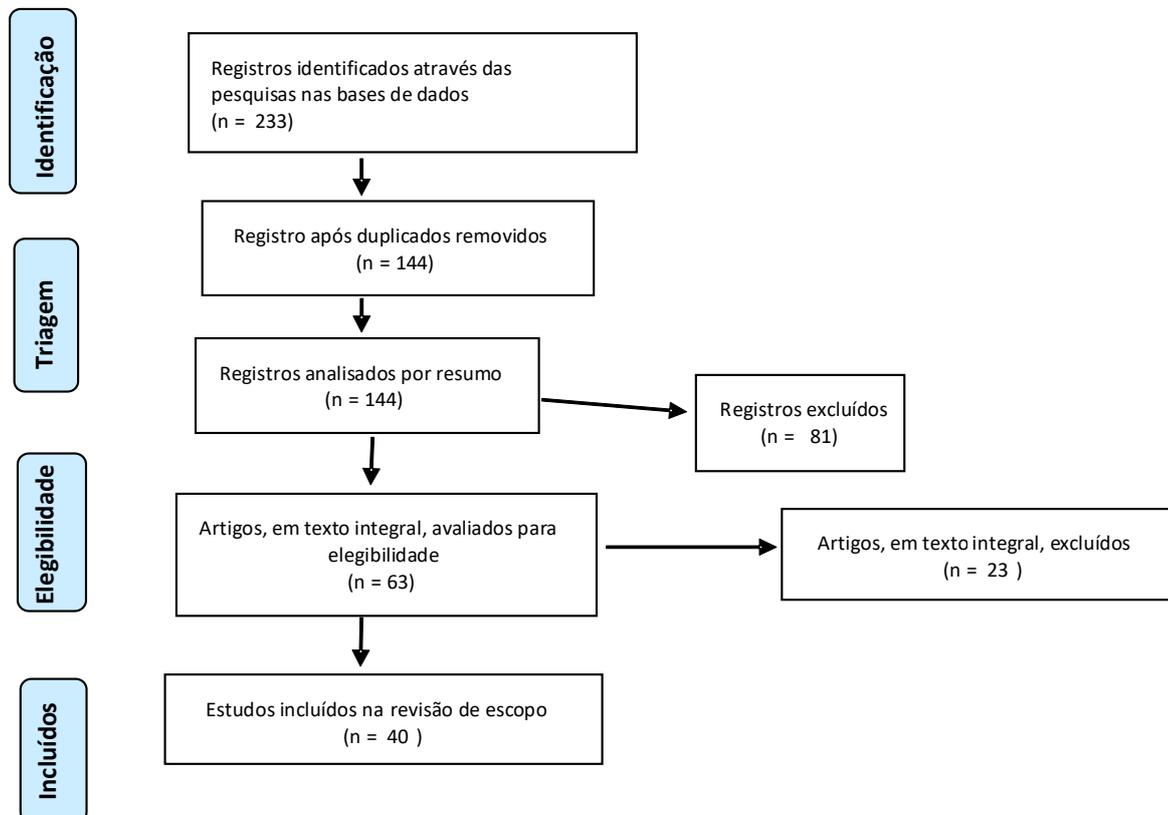
Os artigos foram transferidos dos bancos de dados para um software gerenciador de referências - Zotero. Foi realizada uma triagem inicial dos títulos e resumos dos artigos, para inclusão ou exclusão destes. Posteriormente, os artigos selecionados foram submetidos a uma

nova triagem, porém com a leitura integral dos mesmos. A organização dos resultados, pós-leitura e seleção, foram realizadas com auxílio do programa Excel.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tal como apresentado na Figura 1, a pesquisa identificou 233 estudos potencialmente relevantes. Destes, 89 foram excluídos por serem duplicados; dos 144 estudos restantes, 81 foram excluídos após avaliação dos resumos, por não cumprirem os critérios de inclusão; de 63 artigos, 23 foram excluídos após leitura integral, também por não cumprirem os critérios estabelecidos. Por fim, foram incluídos nesta revisão de escopo 40 artigos.

Figura 1. Fluxograma do processo de seleção dos artigos



Foram encontrados 16 artigos que abordaram a composição fitoquímica dos estigmas de milho, no período de 2003 a 2019 e 24 artigos para estudos de atividades farmacológicas, no período de 2005 a 2019. Os principais achados estão demonstrados nas Tabelas 1 e 2.

Composição Fitoquímica dos estigmas de *Zea mays* L.

Em estudos fitoquímicos qualitativos foram constatados de modo unânime, a presença de flavonoides. Variações na composição química foram evidenciadas, como a presença de esteroides e bálsamos⁸,

xantonas⁹ e fitoesteróis¹⁰, além do flavonoide maysina (Figura 2 A) e luteolina e seus derivados (Figura 2 B). Maysina, o flavonoide mais abundante, está associado às atividades biológicas do estigma de milho, incluindo resistência à lagarta do milho¹². Dentre os compostos fenólicos e flavonoides encontrados, destacam-se ainda a rutina (Figura 2 C), o ácido gálico (Figura 2 D)^{13,14,15,16} e o resveratrol (Figura 2 E)¹³. Vale ressaltar que nos estudos fitoquímicos qualitativos aqui citados foram empregados métodos de extração semelhantes, mas solventes extratores diferentes.

Figura 2

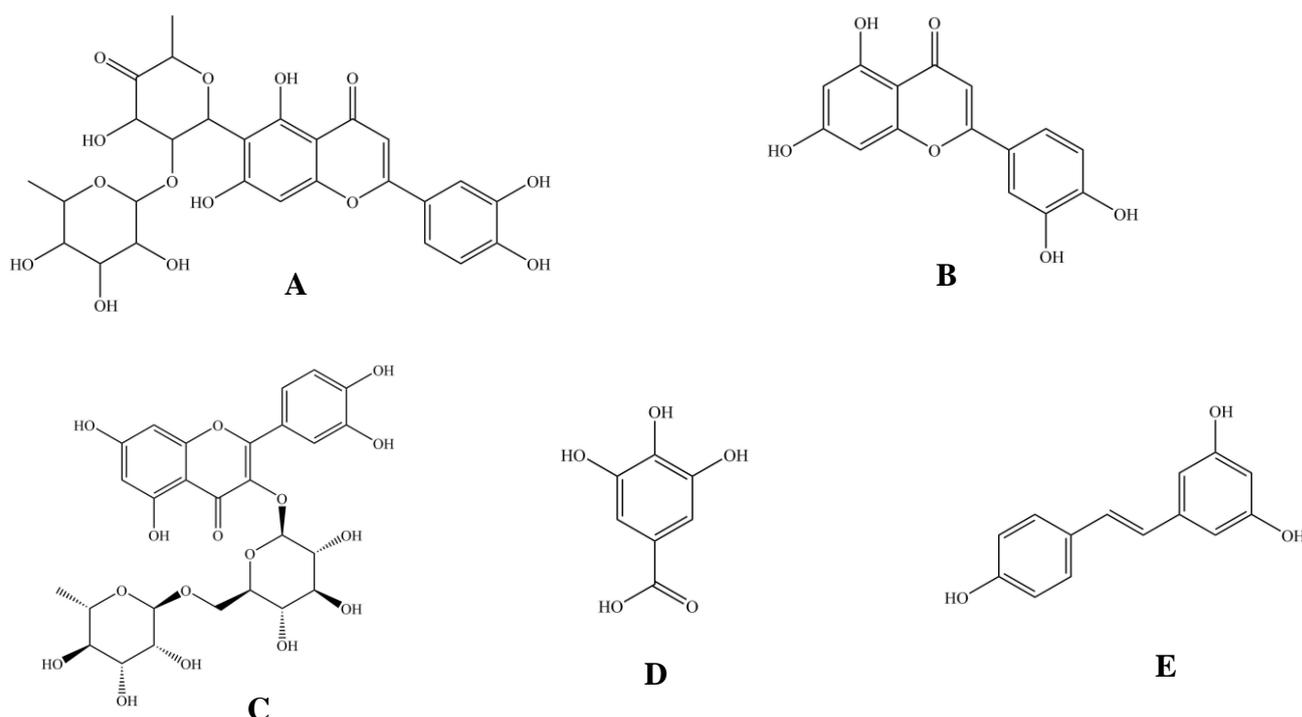


Figura 2: Estruturas dos principais compostos fenólicos e flavonoides presentes no estigma de milho. (A) 2''-O-a-L-ramnosil-6-c (6-deoxi-xilo-hexose-4-ulosil) luteolina (maysina). (B) 2-(3,4-dihidroxifenil)-5,7-dihidroxicromeno-4-ona (luteolina). (C) 2-(3,4-dihidroxifenil)-5,7-dihidroxi-3-[2S,3R,4S,5S,6R]-3,4,5-trihidroxi-6-[[(2R,3R,4R,5R,6S)-3,4,5-trihidroxi-6-metiloxan-2-il] oxan-2-yl] oxicromeno-4-ona (rutina). (D) ácido 3,4,5-trihidroxibenzoico (ácido gálico). (E) 5-[(E)-2-(4-hidroxifenil) etenil] benzeno-1,3-diol (resveratrol).

Tabela 1- Características dos estudos de identificação dos constituintes fitoquímicos dos extratos de estigma de milho

Autor	Tipo de extrato/extração	Tipo de análise	País de coleta do material	Compostos encontrados
Análises Qualitativas				
EMMANUEL <i>et al</i>⁶⁴	- Extrato metanólico- Maceração-rotavaporação	Prospecção fitoquímica	Nigéria	Alcaloides, flavonoides, saponinas, taninos, fenóis, esteroides e bálsamos
DE CARVALHO <i>et al</i>⁹	Extrato hexânico/ - Maceração-rotavaporação	Prospecção fitoquímica	Brasil	Taninos, flavonas, flavonoides e xantonas.
SABIU, O'NEIL, ASHAFI <i>et al</i>¹⁰	Extrato aquoso -Maceração e agitação- filtração-liofilização	Prospecção fitoquímica	África do Sul	Alcaloides, flavonoides, fenóis, saponinas, taninos e fitoesteróis.
MAKSIMOVIC <i>et al</i>¹¹	Extrato etanólico	Cromatografia em camada delgada	Yugoslavia e China	Flavonas, flavonóis, flavonas etiladas e flavona monossídeos
Análises Quantitativas				
ŽILIC <i>et al</i>¹⁹	2 Extrações para dois tipos de análise: com acetona aquosa e outra com metanol -Maceração 1h -Centrifugação	HPLC	Sérvia	ácido para-aminobenzóico (PABA), ácido vanílico, <i>p</i> - cumárico, ácido clorogênico, ácido protocatecuico, ácido caféico, ácido ferúlico, ácido maizênico, ácido hidroxicinâmico ester e ácido 3- O-cafeorilaquínico
REN <i>et al</i>¹²	Extrato metanólico -6h e Extrator de Soxhlet	HPLC Objetivo de isolar duas flavonas glicosídicas.	China	2-O- α -L-ramnosil-6-C-3- desoxiglucosil-3-metoxi- luteolina; ax-5'-metano-3'- metoximaisina; ax-4''-OH-3'- metoximaisina; 6, 4'-di-hidroxi-3'- metoxiflavona-7-O-glucósidos e 7,4'-di-hidroxi-3'-metoxiflavona-2''- O- α -L-ramnosil-6-C-fucósido
ISMAEL <i>et al</i>²³	Extração por ultrassom-filtrado- liofilizado - Etanol 99%, Etanol 80%, Água.	HPLC Detecção de rutina, Kaempferol e quercetina	Bagdá	Detecção de rutina, kaempferol e quercetina

LIU et al ¹⁴	Extrato etanólico Fração com éter de petróleo, éter acético, n-butanol. -Maceração-agitação	TFC, TPC HPLC	China	2'O-a-t-thamnosideo; 3'- methoximaysina.
DONG et al ¹³	Extraído com água, etanol 50%, etanol, 80%, metanol 50% e acetato de etila. - Extração por ultrassom.	TFC, TPC, HPLC	China	Ácido gálico, protocatecuico ácido, ácido clorogenico, ácido cafeico, ácido femilico, rutina, resveratrol, e kampeferol.
PENG et al ¹⁵	Extraído com água, depois acrescentou etanol anidro. - Maceração	Método de cloreto de alumínio- Espectroscopia	China	Rutina, apigenina e disometina.
SAREPOUA et al ¹⁶	- Extraído com metanol a 80%. - Banho maria por 1,5h.	Espectroscopia	China	
NAWAZ et al ¹⁷	- Em ordem crescente de polaridade: hexano, acetato de etila, clorofórmio, metanol e água. - Extração individual, consecutiva e metanólica bruta.	- Prospecção fitoquímica, TPC por Folin- Ciocalteu, TFC, TTC, conteúdo de ácido ascórbico.	Paquistão	- taninos, glicosídeos cardíacos, ácidos fenólicos, flavonoides, ácido ascórbico.
EL-GHORAB et al ¹⁸	- Extrato volátil: água e diclorometano. Extrato: éter, etanol e água purificada. - Para ambos: Maceração- rotaevaporação	- Cromatografia a gás e espectro de massas.	Egito	Principais compostos identificados em extrato volátil: cis- α -terpineol, 6,11-oxidoacor- 4eno, citronelol, trans- pinocamfona, eugeol, neo-isso- 3-thujanol, cis-sabineno hidrato, sabinense e timol.
WEI et al ²⁶	- Etanol 75% - Sob refluxo por três tempos de 2h	HPLC e espectro de massas	China	- cinarosideo, quercetina, luteolina, isorhamnetin, rutina, formononetina.
CAO et al ²⁷	- Etanol 80% e acetato de etila. - Sob refluxo por três horas.	- HSCCC E HPLC	China	Isolou 11,8 mg de isorhamnetina, com 98% de pureza.
WANG et al ⁵	- Etanol 80%. Partições com éter de petróleo, acetato de etila e n-butanol. -Maceração	- Prospecção fitoquímica, TPC, TFC, conteúdo de taninos totais, conteúdo de ácido ascórbico.	China	Foram identificados 76 constituintes químicos, dentre eles, ácido cafeico, ácido ferúlico e ácido vanílico.

TFC: Total flavonoid contente; TTC: total tannins content; TPC: Total phenolics contet; DPPH: 2,2-difenil-1- picril-hidrazil; HPLC: High performance liquid chromatography; HSCCC: High-Speed Counter-Current Chomatography.

Tabela 2- Descrição das pesquisas sobre atividades farmacológicas do estigma de milho, apresentando as principais informações analisadas: tipo de atividade farmacológica, tipo de extrato/extração, tipo de estudo, e principais resultados.

Atividade farmacológica	Método de extração	Doses/concentrações testadas.	Tipo de estudo	Resultado da pesquisa	Referência
	-Extrato Aquoso do estigma de milho, seco/ decocção	400,500,600,700 mg/kg	-Ratos Sprague Dawley com peso de 250-300g, adultos machos	-Apresenta Dose efetiva (DE) 50 de 454,10 mg/Kg.	SOLIHAIH <i>et al</i> ⁴⁵
Atividade diurética	- Extrato etanólico 96% do estigma de milho, salsa e folhas de uva ursina, secas/ maceração.	Não apresenta doses testadas. Extratos e água foram adistrados <i>ad libitum</i> .	- Camundongos <i>Mus musculus albino</i> NMRI (31-46 g- idade de 3 meses	- Comparação entre extrato de estigma de milho, salsa e folhas de uva ursina. Resultado: Efeito diurético duradouro: salsa. Redução de nitrogênio ureico: extrato de estigma de milho.	VRANJEŠ <i>et al</i> ⁴⁸
	-Extrato aquoso do estigma de milho, seco/ decocção.	25, 50, 200, 350 e 500mg/kg.	-Camundongos Swiss Wehster machos (20-33g) e femeas (20-27g). Grupo controle: água. Outro grupo recebeu amostras de extrato aquoso.	- O extrato aquoso apresenta efeito diurético na concentração de 500mg/kg e é kaliurético a 350 e 500 mg/kg peso corporal.	VELAZQUEZ <i>et al</i> ⁴⁶
	- Extrato aquoso do estigma de milho, seco / decocção	Decocção nas concentrações de 5% e 10%, na dose de 10ml/kg.	- Ratos Wistar (200-250g). Grupo controle, com água destilada.	-A administração oral diária de decocção a 5%, na dose de 10ml/kg , está de acordo com o aumento da taxa de filtração glomerular e inibição da reabsorção tubular de sódio e cloreto, causado por fator intrínseco ainda não identificado.	MAKSIMOVIC <i>et al</i> ²⁴
	- Extrato etanólico 95% do estigma de milho, seco/ macerado. O extrato foi particionado em 5 Frações: extrato	10,20,40,60,80 e 100µg/ml.	- Atividade antioxidante total, DPPH, redução de energia, capacidade quelante de ferro.	- A fração n-butanol demonstrou um maior conteúdo de fenólicos totais e flavonoides e maior atividade antioxidante.	LIU <i>et al</i> ¹⁴

Atividade Antioxidante	etanólico, fração éter de petróleo, fração de éter acético, fração de n-butanol e fração de água.				
	- Extrato metanólico do estigma de milho, seco. Alíquota do extrato foi dissolvida em solução tampão, suficientes para produzir soluções a 2%. O restante do extrato ativo foi fracionado por VLC (cromatografia líquida de vácuo), sobre uma coluna de sílica gel.	Extrato a 2%, fracionado em seis frações, que foram dissolvidos em tampão (10-200 ml) cobrindo quantidades de extrato que variam entre 0,2 e 4 mg da amostra.	- Efeito antioxidante, por inibição da peroxidação lipídica em lipossomas.	- A atividade antioxidante é significativamente menor do que no estágio maduro. O autor aponta ainda que, se a atividade antioxidante for o único critério, o estigma de milho deve ser coletado após a colheita dos grãos.	MAKSIMOVIC <i>et al</i> ⁴⁷
	- Extrato etanólico do estigma de milho, fresco. E a técnica?	Não apresenta as concentrações utilizadas.	- Atividade antioxidante total, DPPH.	- Verificou-se que as partes superiores do estigma de milho apresentaram maior atividade antioxidante do que as partes inferiores.	ALAM <i>et al</i> ⁶⁵
- Extrato aquoso do estigma de milho, seco, foi submetida a um processo de maceração com agitação, em seguida foi filtrado e liofilizado.	0,2-1,0 mg/ml em todos os testes realizados.	- DPPH, ensaio de eliminação de óxido nítrico, ensaio de quelação de metais e método de redução de energia.	- Revelou valor de IC50 de 0,68mg/ml, notável se comparado a silimarina, 0,61 mg/ml. O extrato aquoso exibiu efeito na eliminação de óxido nítrico (0,57 mg/mL) se comparado a siilarina (0,71 mg/mL). Revelou capacidade quelante significativa contra íon ferroso.	SABIU <i>et al</i> ¹⁰	

	- Extrato etanólico 70% do estigma de milho, fresco/ Extrator de Soxhlet, em seguida foi fervido sob refluxo, filtrado, e rotoevaporado.	75, 150, 300 mg/kg	- Camundongos BALB/c (machos, pesando entre 18-22g). - Determinação de peroxidação lipídica, razão GSH/GSSG, determinação de atividades de enzimas antioxidantes e análise de alvo hematológico.	- O extrato pode melhorar efetivamente os danos no tecido oxidativo induzido por radiação. Efeito protetor exclusivo do fígado e a regulação positiva o Nrf2 poderia contribuir para um mecanismo de defesa.	BAI <i>et al</i> ⁶⁶
Atividade Antidepressiva	- O estigma foi seco a temperatura ambiente. Extração etanol-agua (1:1). Maceração e liofilização.	125, 250, 500 e 1000 mg/kg	- Camundongos Suiços albinos (aprox.20g). Controle positivo: imipramine	- Investigado a atividade do extrato por natação forçada e teste de suspensão da cauda. A 1500 mg/Kg apresentou atividade semelhante à imipramine.	EBRAHIMZADEH <i>et al</i> ⁵⁴
	- Polissacarídeos foram extraídos do estigma de milho por água destilada e precipitado com solução de etanol 80%.	300,400 e 500 mg/kg	. Ratos machos ICR (Institute of Cancer Research) (aprox.18g). Para o teste de atividade antidepressiva, foi observado o tempo de atividade dos ratos normais e diabéticos em uma caixa preta, após receberem os polissacarídeos de estigma de milho e dimetilguanida para o grupo I ao VI.	-Atraves de medidas de atividade autonômica, os resultados mostraram que os polissacarídeos de stigma de milho mostrou boa atividade antidepressiva e prolongou notavelmente o tempo de atividade durante o teste de atividades autonômicas.	ZHAO <i>et al</i> ⁵⁸
	-Extrato etanolico a 80% de estigma de milho, fresco, feito em agitador rotativo, filtrado,	100, 300 e 500 mg/kg	- Camundongos machos (18 a 20g).	-A ingestão com dose abaixo de 500mg/kg não teve efeito adverso e apresentou	ZHANG, <i>et al</i> ⁵⁰

Atividade Antidiabético	concentrado sob baixa pressão, filtrado e liofilizado.	Diabete induzida por estreptozotocina. Grupo controle: tampão citrato	potencial anti-diabético significativo, acompanhado de atividades antioxidantes e anti-hiperlipidêmicas.		
	- Extrato aquoso/ maceração, seguido de filtração e centrifugação. Sobrenadante foi retirado e concentrado em rotaevaporador. O precipitado com polissacarídeos brutos foi lavado várias vezes.	20g/kg do extrato de polissacarídeos de estigma de milho.	- Camundongos SPF (specific pathogen free). A diabete foi induzida pelo aloxano. - Grupo controle: metformina	- Apresentou efeito hipoglicêmico, porém menos significativo que o controle positivo.	ZHANG, <i>et al</i> ⁵²
	- A amostra em pó e água destilada foi submetida a um processo de maceração com agitação, em seguida foi filtrado e liofilizado.	0,2-1,0 mg/ml em todos os testes realizados.	-Atividade inibitória específica alfa-glucosidase e sucrose e enzima maltase, inibição geral da alfa-glucosidase e método cinético, inibição alfa-amilase e estudo cinético.	- Possui papel inibitório contra a-amilase e a-glucosidase, dose-dependente da concentração.	SABIU <i>et al</i> ¹⁰
	-Foi utilizado estigma de milho, seco. Extrato aquoso, por decocção e liofilização.	0,5;1,0; 2,0; 4,0g/kg	-Camundongos Kunming (20-22g). Diabete induzida por aloxana e adrenalina.	-O tratamento com extrato de estigma de milho reduziu acentuadamente a hiperglicemia em camundongos diabéticos.	GUO <i>et al</i> ⁵¹
Atividade Antibacteriana	-Extratos de éter de petróleo, clorofórmio e	25mg/l e cada extrato a ser testado	- Para screening antimicrobiano foram testadas quatro	- Os extratos com éter de petróleo e metanol	NESSA <i>et al</i> ⁶⁷

metanol, dos estigmas de milho seco	e 2,0mg/ml dos compostos isolados.	bacterias gram positivas: <i>B. cereus</i> , <i>B.subtilis</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> . Oito bacterias gram negativas: <i>Ent. Aerogenes</i> , <i>S. typhi</i> , <i>S. paratyphi</i> , <i>E. coli</i> , <i>S. sonnei</i> , <i>S. flexneri</i> , <i>Prot. Vulgaris</i> , <i>prot. Irabilis</i> e <i>C. albicans</i> .	apresentaram maior atividade antimicrobiana.
- Extrato aquoso utilizando o estigma de milho em pó/ maceração e seco por liofilização.	2,5; 5; 10; 25mg/ml Para formação de biofilme: 0; 0,5; 1 e 2mg/ml.	- Ensaio de formação de biofilme e experimentos de PCR com transcrição reversa em tempo real, para avaliar formação de biofilme e suscetibilidade à vancomicina de cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA) resistentes à metilicina isoladas de vacas leiteiras om mastite.	- Os extratos aquosos inibiram a capacidade de formação de biofilme de cepas de MRSA e aumentaram a suscetibilidade à vancomicina das cepas em condições de cultivo de biofilme.
- Extrato etanólico do estigma de milho, fresco, e seco. Maceração.	150, 300 e 600mg/ml.	-Bacterias testadas: <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Salmonella typhi</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> e <i>Staphylococcus aureus</i> . Controle positivo: Ciprofloxacina.	-Tanto os extratos feitos com extrato de milho fresco e seco, apresentaram boa eficácia antibactericida contra as bacterias testadas, principalmente contra <i>Staphylococcus aureus</i> .
	Ensaio antibacteriano:		

SHANG *et al* ⁶⁸

EMMANUEL *et al* ⁸

DE CARVALHO *et al* ⁹

	Extrato Hexanico de estigma de milho, fresco. Maceração.	10g/ml dissolvido em DMSO e diluído em água destilada para 1024µg/ml. Para concentração inibitória mínima: 512µg/ml a 8µg/ml.	-Bacterias testadas: <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>pseudomonas aeruginosa</i> e <i>Escherichia coli</i>	-O extrato hexanico nao apresentou efeito antibacteriano clinicamente significativo contra bacterias padrão e multirresistentes. Porém,, o extrato modulou seletivamente a ação de antibioticos aminoglicosideos contra bacterias multirresistents, indicando que seus components apresentam efeitos uduladores de antibioticos.	
Atividade Antiinflamatória	- Extrato etanólico 70% do estigma de milho, seco. Extração foi feita em incubadora com agitação.	10,100,200µg/ml	- Em camundongos machos (ICR, 27-33g, idade de 6 semanas).	- Exibe efeitos anti-inflamatorios, diminuindo a expressão do RNAm e da proteína da iNOS e da COX-2, e inibindo a produção de mediadores inflamatórios, incluindo NO, TNF-alfa, IL-6 e IL-1beta, no LPS- macrófagos RAW 264,7 estimulados. Efeitos mediados pela inibição de sinalização NF-Kb,AP-1 e MAPK.	JEONG <i>et al</i> ⁶²
Atividade Anticancer	- Extrato aquoso do estigma de milho fresco /maceração em água quente, seguido de filtração e centrifugação.	Análise proliferação celular: 1.25, 2.5, 6.0, 10.0, 20.0 mg/kg Análise ciclo celular, eletroforese em gel DNA, determinação de potencial transmembranar e Western blot: 5.0, 10.0 e 20.0.	- Cultura de células de câncer de cólon humano e câncer gástrico.	- É hipotético que o extrato de cabelo de milho possa inibir a proliferação de células LoVo através de parada na fase S e induzir a apoptose pela via mediada por mitocôndrias.	GUO <i>et al</i> ⁵⁹
	- O pó seco do estigma de milho foi desengordurado com etanol anidro a 80°,	50,100,200 mg/kg	- Foram adquiridas células de hepatocarcinoma H22 de ratos. Os testes foram feitos utilizando	- Os polissacarídeos presentes inibiram significativamente o crescimento do tumor, prolongou o tempo de	YANG J <i>et al</i> ²⁰

	seco, e extraído com água quente, por maceração. Em seguida filtrado, e o sobrenadante foi retirado para concentração de polissacarídeos.	Maysina extraída: 1-200µg/ml	camundongos Kunming (peso: 18 a 22g- machos)	sobrevivência dos camundongos com tumor H22	LEE <i>et al</i> ⁶⁰
	- Extrato metanólico do estigma de milho, fresco, seguido de extração da maysina		- Cultura de células de câncer de próstata humano andrógeno-independente (PC-3), linha celular de câncer de colo uterino (HeLA), câncer de pulmão humano (A549), linha celular de câncer de estômago (MKN45), e linha celular de câncer de colon (HT-29).	- A maysina isolada induz a ativação de MAPK/ ERK e P3K/Akt, para desencadear aptose mitocondrial em células de câncer de próstata PC-3.	
Atividade Anti-hipertensiva	-Extrato aquoso do estigma de milho, fresco/decoção.	0.1, 1 e 10 mg/kg	- Ratos SHRs (200-250g, 10 semanas de vida)	- Reduziu significativamente os níveis de pressão arterial sistólica em ratos hipertensos, e inibiu atividade da ECA. Este último resultado pode ser avaliado com auxílio da proteômica em conjunto com a bioinformática.	- LI <i>et al</i> ⁶³

Os outros artigos encontrados, totalizando 56,25%, se tratavam de análises fitoquímicas quantitativas, sendo que 43,75%, realizaram análise por cromatografia a líquido de alta eficiência (CLAE). Cada pesquisa selecionada tinha um foco diferente, no qual destes, 43,75% se concentravam em identificar os compostos fenólicos e flavonoides presentes no extrato, já que estes compostos são os mais frequentes no estigma de milho ²⁸. A maioria das pesquisas foi realizada na China (56,25%) e 5,53% delas foram realizadas em cada um dos demais países mostrados na Tabela 1. Houve também uma variação no método de extração e no líquido extrator entre as pesquisas. Os mais utilizados foram metanol, acetona aquosa, etanol 99%, etanol 80%, fracionamentos com éter de petróleo, éter acético e n-butanol, acetato de etila, etanol anidro e água. Na Tabela 1 resume as pesquisas encontradas, os métodos de extração que cada uma adotou e os tipos de extrato, método de análise, país de coleta do material e os compostos fitoquímicos encontrados.

Embora de um modo geral os compostos fenólicos e flavonoides sejam os mais frequentes nas pesquisas com estigma de milho, foram encontrados outros metabólitos, com variações qualitativas e quantitativas. Um dos fatores que pode determinar estas variações é o local de procedência da amostra. O cultivo em regiões e condições ambientais distintas, pode influenciar na composição e concentração dos fitoquímicos produzidos pelas plantas ²⁹. Os compostos químicos presentes em plantas podem se dividir em metabólitos primários e secundários, sendo que os metabólitos primários possuem função essencial no vegetal, como a

fotossíntese, respiração e o transporte de solutos, presentes portanto em todas as plantas. Já os metabólitos secundários nem sempre são necessários para que a planta complete seu ciclo de vida, mas eles possuem um papel importante na interação das plantas com o ambiente em que ela vive ³⁰.

A predominância e frequência dos compostos fenólicos, principalmente flavonoides no estigma de milho aponta para a possibilidade destes compostos serem utilizados como possíveis marcadores da droga vegetal ou de produtos intermediários e acabados. O marcador é definido como uma substância ou classe de substâncias utilizadas como referência no controle de qualidade da matéria-prima vegetal e dos fitoterápicos, preferencialmente tendo correlação com o efeito terapêutico ³³. Ademais, os flavonoides possuem algumas características que reforçam sua utilização como marcadores, por exemplo: ampla distribuição no reino vegetal, especificidade em algumas espécies, relativa facilidade de identificação, relativa estabilidade molecular e acúmulo com menor influência do meio ambiente ^{31,32}.

Outro fator que pode influenciar na variação dos resultados de composição fitoquímica seria os diferentes métodos de extração empregados. Os métodos extrativos, a parte do material vegetal, a origem, o grau de processamento, tamanho da partícula, solvente utilizado, o tempo de extração, polaridade, temperatura e concentração do solvente podem influenciar na extração e no resultado final. O próprio solvente e sua polaridade afetam a transferência de elétrons e de átomos de hidrogênio, que é um aspecto fundamental

na extração. Vários estudos demonstram a influência da extração no teor de metabólitos secundários^{34,35,36,37,38,39}.

Em torno de 70% das pesquisas utilizaram solventes potencialmente tóxicos para a obtenção de extratos, sendo eles metanol, hexano, acetona aquosa, éter de petróleo, éter acético, n-butanol e acetato de etila. O mais comum nos artigos encontrados é o metanol. O uso desses solventes para a obtenção dos extratos de estigma de milho, além de deixar resíduos tóxicos frequentemente proibidos, gera o problema de transformação oxidativa que o extrato sofre quando o solvente é eliminado⁴⁰.

Dentre os estudos avaliados, nenhum objetivou o desenvolvimento de uma matéria-prima ou produto acabado com fins fitoterápicos, uma vez que o foco maior dos estudos era a elucidação dos compostos presentes no material. Por isso observou-se uma variedade de métodos extrativos e solventes, sem necessariamente uma padronização. Embora os resultados destas pesquisas sejam relevantes para subsidiar outros estudos, não atendem a critérios farmacotécnicos adequados para a produção de fitoterápicos. Esse dado aponta uma lacuna no conhecimento, já que para obtenção de extratos para fins medicinais, a padronização é um pré-requisito importante para a garantia da qualidade, conservação dos efeitos terapêuticos e segurança do usuário⁴¹.

Atividades Farmacológicas

Foram encontrados 24 estudos que abordam as atividades farmacológicas do estigma de milho, sendo 25,1% de atividade antioxidante; 16,66% de atividade antidiabética;

16,55% de atividade diurética; 12,5% de atividade anticâncer; 12,5% de atividade anti-inflamatória; 8,33% de atividade antidepressiva; e 4,16% de atividade anti-hipertensiva.

Sob o ponto de vista do solvente extrator identificou-se que 37,5% dos trabalhos utilizaram extrato aquoso; 29,5% extrato etanólico; 8,33%, extrato metanólico seguido de fracionamento com solventes orgânicos; 8,33%, extração com etanol e água; e para os extratos metanólico, hexânico, éter de petróleo com clorofórmio e metanol, extrato de polissacarídeos com água e etanol e lavagem deste com solventes orgânicos, resultou em 4,16% cada. É importante ressaltar que a escolha do solvente depende do propósito da pesquisa. A escolha do solvente é um fator importante no processo de extração e para tanto algumas características - do solvente com relação ao material a ser analisado e o objetivo da pesquisa - devem ser analisadas atentamente para que o desenvolvimento da pesquisa seja viável. Dentre várias características a serem observadas, uma delas é a toxicidade do solvente a ser escolhido. Este aspecto é extremamente importante e, para tanto, deve ser levado em consideração o risco para o pesquisador, risco para o meio ambiente e risco para o consumidor. Nas pesquisas que serão apresentadas a seguir, nenhum dos pesquisadores tinha o intuito de produzir um produto final com fins medicinais, mas sim investigar as potencialidades farmacológicas dos extratos de estigma de milho^{32,42}.

Dentre as pesquisas encontradas, o maior destaque foi para a atividade antioxidante, com 25,1%. Extratos brutos, de materiais vegetais ricos em compostos fenólicos, são cada vez mais interessantes para a indústria

de alimentos por exemplo, pois estes retardam a degradação oxidativa de lipídeos, melhorando a qualidade e valor nutricional dos alimentos⁴³. No âmbito farmacêutico, estudos mostram que a ingestão de antioxidantes naturais, como flavonoides e outros compostos fenólicos, podem atuar como forte candidato na prevenção de doenças relacionadas ao estresse oxidativo, como câncer, aterosclerose, envelhecimento e artrite reumatoide⁴⁴.

Já no contexto de atividades diuréticas, que corresponde a 16,55% dos trabalhos encontrados, observa-se que os autores testaram diferentes extratos de estigma de milho, e apesar de todos os estudos terem sido feitos em animais (ratos e camundongos) foram utilizadas espécies diferentes (Tabela 2). Os artigos encontrados concluíram que o extrato de estigma de milho pode levar a efeito diurético, não sendo o mais potente em todos os casos, como apontaram os estudos comparativos feitos com a Hidroclorotiazida e o estigma de milho da Malásia⁴⁵, e também o estudo comparativo entre o extrato de estigma de milho, extrato de salsa e extrato de uva-ursina⁴⁸. Os diuréticos são referidos comumente como agentes que estimulam a excreção de água e Na⁺ em maior volume, e o estigma de milho é conhecido popularmente no Brasil e na China, pela sua atividade diurética, sendo este utilizado na forma de infusão, conhecido como “chá de cabelo de milho”^{5,42,43}. Porém, não há evidências científicas que expliquem o mecanismo de ação e quais os compostos ativos responsáveis por esta atividade. Existem muitos compostos contidos no extrato aquoso bruto de estigma de milho, por exemplo, que podem provocar a diurese, e é possível que ele

trabalhe de forma individual ou sinérgica com flavonoides, saponinas ou ácidos orgânicos⁴⁷. Solihah *et al*⁴⁵ defende a hipótese de que provavelmente foi acionado o “centro da sede”, localizado no hipotálamo, devido à ação de compostos presentes no extrato aquoso de estigma de milho, agindo individualmente ou sinérgicamente. Esse mecanismo pode ter influenciado a ingestão de água dos ratos tratados com o extrato aquoso. Outro mecanismo, apontado ainda pelo mesmo autor, pode ser a ação do extrato aquoso como poupador de potássio. Mas, como o mesmo afirma, ainda é necessário estudo detalhado para investigar o mecanismo específico.

A porcentagem de trabalhos encontradas para atividade antidiabética foi de 16,66%. Todas as pesquisas apresentadas para atividade antidiabética apontaram efeito hipoglicêmico dos extratos de estigma de milho, apesar dos diferentes extratos e diferentes espécies de camundongos e ratos, como apresentado na Tabela 2. Cada autor tinha um objetivo diferente ao escolher o tipo de extrato para desenvolver a pesquisa. Ressalta-se que doses acima de 1000 mg/Kg pode causar hepatotoxicidade, se em uso prolongado⁵³. Os autores citados afirmam o efeito hipoglicêmico do estigma de milho, mas enfatizam que seu efeito é inferior aos medicamentos utilizados no controle positivo, em caso de diabetes induzida. Sabiu *et al*¹⁰ afirma que a presença de alcaloides, fenóis, taninos, flavonoides, saponinas e esteróis no extrato de estigma de milho pode ser uma justificativa para o potencial hipoglicêmico observado em seu estudo, que aponta que o extrato de estigma de milho é um potencial inibidor da alfa-amilase e alfa-

glucosidase, já que os flavonoides, principalmente, podem ser poderosos agentes hipoglicêmicos. Vale ressaltar que a elevação observada no nível de glicose no sangue dos diabéticos deve-se, principalmente, à hidrólise não regulada de amido pela alfa-amilase pancreática e a subsequente captação de glicose pelas alfa-glucosidases intestinais ⁴⁹.

Com relação aos estudos de atividade antidepressiva do estigma de milho, são mais escassos. Em um estudo ⁵⁴, foram feitos testes de nado forçado e teste de imobilidade, com o extrato etanol-água (1:1) de estigma de milho (Tabela 2). Estes testes são utilizados comumente para rastreamento de drogas antidepressivas e para outros agentes que tenham ação no sistema nervoso central ^{55,56,57}. O teste de imobilidade detecta os efeitos anti-imobilidade de uma ampla variedade de antidepressivos tricíclicos, inibidores seletivos da receptação de serotonina, inibidores da monoamina oxidase, choque eletro-convulsivo e até antidepressivos atípicos⁵⁴. Então, de acordo com este autor, a atividade do estigma de milho pode envolver um dos mecanismos destes agentes. O extrato na dose de 1500 mg/kg apresentou a mesma atividade da Imipramina na dose de 10 mg/kg, e nenhuma mortalidade foi observada até 4000 mg/kg. Já em outro estudo, foi feito um teste para avaliar a atividade antidepressiva em ratos, com polissacarídeos do estigma de milho, extraídos com água e etanol a 80%. Este estudo utilizou ratos diabéticos, pois visava avaliar atividade antidiabética também. Não foram apontados nas pesquisas encontradas possíveis mecanismos de ação para a atividade antidepressiva com os polissacarídeos de estigma de milho⁵⁸.

Foram encontrados três estudos relacionados à atividade anticâncer do estigma de milho. Neles os extratos de estigma de milho foram desenvolvidos com diferentes técnicas, e utilizados testes *in vitro* e *in vivo* (Tabela 2). As linhagens de células até então testadas foram: câncer de cólon humano e gástrico, hepatocarcinoma H22, câncer de próstata PC-3, câncer de colo uterino HeLa, câncer de pulmão humano A549, câncer de estômago MKN45 e câncer de cólon HT-29. Em ambos os estudos foram evidenciadas atividade antitumoral, para cada linhagem celular estudada. Com base em seus estudos, os autores afirmam que a purificação dos componentes antitumorais do extrato de estigma de milho está em processo, o que provavelmente ajudará a identificar mecanismos subjacentes à atividade antitumoral⁵⁹. Outro estudo afirma que com base em seus resultados, sugere-se que a atividade antitumoral do extrato de estigma de milho pode ser, pelo menos em parte, devido a ativação do sistema imune, mas, o mecanismo molecular no qual este extrato confere efeitos quimiopreventivos do câncer não foi claramente definido e são necessários maiores estudos²⁰. Já outros autores apontam que os resultados de seu estudo demonstraram que a maysina, um importante flavonoide do estigma de milho, possui uma potente atividade anticâncer contra células cancerígenas da próstata, em estudos *in vitro*⁶⁰. Os resultados sugeriam também que a maysina pode ter efeitos anticâncer seletivos em tipos específicos de células cancerígenas. Estes resultados são positivos, apesar dos autores^{59,20,60} afirmarem a necessidade de mais estudos, já que

atualmente busca-se tratamentos anticâncer provenientes de fontes naturais, de forma a reduzir os efeitos adversos provocados pela quimioterapia. Atualmente a quimioterapia é geralmente adotada como uma das principais medidas para a terapia tumoral, mas que pode induzir a efeitos adversos graves, como supressão da medula óssea, distúrbio da função hepática e renal e redução da função imunológica. Para minimizar esses efeitos, busca-se então futuros tratamentos provenientes de fontes naturais ⁶¹.

Em pesquisa com o objetivo de avaliar a atividade anti-inflamatória ⁶², o extrato etanólico de estigma de milho *in vitro* e *in vivo* (camundongos machos), apresentou significativo efeito anti-inflamatório, diminuindo a expressão do RNA mensageiro (RNAm) e da proteína iNOS e da COX-2, e inibindo a produção de mediadores inflamatórios (Tabela 2). Nos testes *in vivo* deste estudo, foram observados a analgesia em camundongos-proveniente do teste de resposta a contorção induzida por ácido acético- e diminuição efetiva de um edema-induzido por xileno - na orelha dos camundongos. Os efeitos do extrato de estigma de milho na inflamação e seus subjacentes mecanismos, permanecem desconhecidos.

Já o estudo feito para avaliar o efeito anti-hipertensivo em extrato aquoso do estigma de milho em ratos, aponta que os níveis de pressão arterial foram reduzidos significativamente. Foi identificado que este extrato exibia efeitos anti-hipertensivos em ratos hipertensos, através da inibição da enzima conversora de angiotensina (ECA), que é alvo de medicamentos anti-hipertensivos. Foi

identificado também, no extrato aquoso de estigma de milho, o fitopeptídeo inibidor da ECA, CSBp5, que reduziu os níveis da pressão sanguínea sistólica nos ratos hipertensos. O extrato aquoso apresentou baixa toxicidade. Como o próprio autor afirma, este estudo forneceu uma explanação razoável sobre os efeitos anti-hipertensivos do "chá de cabelo de milho" na medicina popular⁶³. Embora na medicina popular, inclusive na medicina tradicional chinesa, o efeito anti-hipertensivo seja uma das finalidades do estigma de milho, há poucos estudos científicos relatados acerca deste efeito. Nesta revisão, atendendo os critérios de inclusão, foi identificado um artigo.

CONCLUSÃO

Esta revisão destacou as potencialidades do estigma de milho de um ponto de vista científico, ressaltando sua composição fitoquímica e principais atividades farmacológicas. Foram identificadas algumas lacunas, sendo elas a falta de padronização dos métodos de: extração, solventes e métodos analíticos. Sabe-se que os referidos estudos não tinham como objetivo o desenvolvimento de um produto para aplicação com fins medicinais. Contudo, conclui-se, após este estudo, que o estigma de milho apresenta potencial para se tornar um produto para saúde. Para tanto, é necessário que os métodos de extração, os solventes e os métodos analíticos sejam padronizados, a fim de garantir a qualidade de produtos intermediários e acabados, como os fitoterápicos. É importante que se desenvolvam mais pesquisas que investiguem a eficácia, a segurança e estabeleçam padrões de qualidade para este material, para que

futuramente, este venha a se tornar um novo produto para a saúde.

REFERÊNCIAS

- 1 Evert RF, Eichhorn SE. Raven Biologia Vegetal. 8.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2014.
- 2 Môro GV, Fritsche-Neto R. Importância e usos do milho no Brasil. In: Milho: do plantio à colheita. Viçosa: Editora da UFV; 2017.
- 3 Magalhães PC, Durães FOM, Carneiros NP, Palva E. Fisiologia do Milho. 2003 Jun ; 15:45.
- 4 Hassanudim K, Hashim, P, Mustafa, S. Corn Silk (*Stigma Maydis*) in Healthcare: A Phytochemical and Pharmacological Review. *Molecules*. 2012 Aug; 17 (8): 9697-715.
- 5 WANG Y, Liu Q, Fan S, Yang X, Ming L, Wang H, Liu J. Rapid analysis and characterization of multiple constituents of corn silk aqueous extract using ultra-high-performance liquid chromatography combined with quadrupole time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Separation Science*. 2019 Jul ; 42 (19) : 3054–3066
- 6 Hu, QL, Zhang LJ, Li, YN, Ding, YJ, Li, FL. Purification and anti-fatigue activity of flavonoids from corn silk. *International Journal of Physical Sciences*. 2010 Jan; 5 (4): 321–326.
- 7 Bessa NGF, Borges JCM, Beserra FP, Carvalho RHA, Pereira MAB, Fagundes R et al. Prospecção fitoquímica preliminar de plantas nativas do cerrado de uso popular medicinal pela comunidade rural do assentamento vale verde-Tocantins. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*. 2013; 15(4):692-707
- 8 Emmanuel S, OLAJIDE O, Abubakar S, Akiode SÓ, Etuk-udo G. Chemical evaluation, Free radical scavenging activities and antimicrobial evaluation of the methanolic extracts of corn silk (*zea mays*). *Journal of Advances in medical and pharmaceutical sciences*. 2016 Jan; 4 (.9): 1-8
- 9 De Carvalho ABL, Cruz CA, de Freitas CLA, Aguiar JJ dos S, Nunes PLW de S, Lima VM da S, et al. Chemical Profile, Antibacterial Activity and Antibiotic-Modulating Effect of the Hexanic *Zea Mays L. Silk Extract (Poaceae)*. *Antibiotics (Basel) [Internet]*. 2019 Mar; 12 ,8 (1) pii: E22.
- 10 Sabiu S, O'Neill FH, Ashafa AOT. Kinetics of α -amylase and α -glucosidase inhibitory potential of *Zea mays Linnaeus (Poaceae)*, *Stigma maydis* aqueous extract: An in vitro assessment. *J Ethnopharmacol*. 2016 May ;183:1–8.
- 11 Maksimović ZA, Kovačević N. Preliminary assay on the antioxidative activity of *Maydis stigma* extracts. *Fitoterapia*. 2003 Feb ;74(1):144 – 7.
- 12 Ren Shun-Cheng, Liu Ze-Long, Ding Xiao-Lin, Isolation and identification of two novel flavone glycosides from corn silk (*Stigma maydis*). *Journal of Medicinal Plants Research*. 2009 Dec; 3 (12):1009-1015.
- 13 Dong J, Cai L, Zhu X, Huang X, Yin T, Fang H, et al. Antioxidant activities and phenolic compounds of cornhusk, comcob and *stigma maydis*. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. 2014 Nov ;25(11):1956–64.
- 14 Liu J, Wang, C. Wang, Z, Zhang C, Lu, S, Liu, J. The antioxidant and free-radical scavenging activities of extract and fractions from corn silk (*Zea mays L.*) and related flavone glycosides. *Food Chemistry*. 2011 May; 126 (1): 261-269
- 15 Peng KZ, Zhang SY, Zhou HL. Toxicological evaluation of the flavonoid-rich extract from *Maydis stigma*: Subchronic toxicity and genotoxicity studies in mice. *Journal of Ethnopharmacology*. 2019 Nov; 192:161–9
- 16 Sarepoua E, Tangwongchai R, Suriharn B, Lertrat K. Influence of variety and harvest maturity on phytochemical content in corn silk. *Food Chemistry*. 2015 Feb; 169:424–
- 17 Nawaz H, Aslam M, Muntaha ST. Effect of Solvent Polarity and Extraction Method on Phytochemical Composition and Antioxidant Potential of Corn Silk. *Free Radicals and Antioxidants*. 2019 Jan-Jun; 9(1): 5-11.
- 18 El-Ghorab A, El-Massry KF, Shibamoto T. Chemical Composition of the Volatile Extract and Antioxidant Activities of the Volatile and Nonvolatile Extracts of Egyptian Corn Silk (*Zea mays L.*). *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 2007 Oct ;55(22):9124–7.
- 19 Žilić S, Janković M, Basić Z, Vančetović J, Maksimović V. Antioxidant activity, phenolic profile, chlorophyll and mineral matter content of corn silk (*Zea mays L.*): Comparison with medicinal herbs. *Journal of Cereal Science*. 2016 May; 69:363–70.
- 20 Yang J, Li X, Xue Y, Wang N, Liu W. Anti-hepatoma activity and mechanism of corn silk polysaccharides in H22 tumor-bearing mice. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2014 Mar; 64 :276–80.
- 21 Liu RH. Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action. *J Nutr*. 2004 Dec;134 (12 Suppl) :3479S-3485S.
- 22 Yu TT, Lu XX, Lian XJ, Zhang YQ. Composition analysis of flavonoids from corn silk with thin-layer chromatography and ultraviolet spectrophotometry. *Food Science*. 2008; 29:477-481
- 23 Ismael RH, Ahmed SA, Mahmoud SS. Detection of rutin, kaempferol, and quercetin based crude from corn silk and studying their effects on the inhibition of pure urease enzyme and urease of *Klebsiella species*. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 2017 Nov; 6:2676-2685
- 24 Maksimovic Z., Dobric S., Kovacevic N, Milovanovic Z. Diuretic activity of *Maydis stigma* extract in rats. *Pharmazie*. 2005; 59 (12): 976-71

- 25 Liu, J.; Wang, C.; Wang, Z.; Zhang, C.; Lu, S.; Liu, J. The antioxidant and free-radical scavenging activities of extract and fractions from corn silk (*Zea mays* L.) and related flavone glycosides. *Food Chemistry*. 2011 May; 126(1): 261–269.
- 26 Wei B-B, Chen Z-X, Liu M-Y, Wei M-J. Development of a UPLC-MS/MS Method for Simultaneous Determination of Six Flavonoids in Rat Plasma after Administration of *Maydis stigma* Extract and Its Application to a Comparative Pharmacokinetic Study in Normal and Diabetic Rats. *Molecules* [Internet]. 2017 Jul; 22(8).
- 27 Cao X, Wei Y, Ito Y. Preparative isolation of isorhamnetin from stigma maydis using high-speed countercurrent chromatography. *Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies*. 2009 Jan ;32(2):273–80.
- 28 Wan WI, Nurhanan AR, Mohsin SSS, Farid CG. Aqueous, alcoholic treated and proximate analysis of *maydis stigma* (*Zea mays* hairs). *Ann. Microsc.*2008 Jan; 8: 66-72
- 29 Pina JC, Oliveira ACK, Matias R, Da Silva F. Influência de diferentes substratos na produção de fitoconstituintes de *Moringa oleifera* Lam. cultivada em pleno sol. *Ciência Florestal*. 2018 Jul-Set; 28(3):1076-1087.
- 30 Peres LEP. Metabolismo Secundário das Plantas [Internet]. Óleos Essenciais / o Guia do Brasil. 2010. Disponível em: <https://www.oleosessenciais.org/metabolismo-secundario-das-plantas/>
- 31 Gershenzon J, Mabry TJ. Secondary metabolites and the higher classification of angiosperms. *Nordic Journal of Botany*. 2008 Mar; 3 (1):5-34.
- 32 Simões CMO, Schenkel EP, Mello JCO, Ments LA, Petrovick PR. Farmacognosia: do produto natural ao medicamento. 2017; xv, 486.
- 33 BRASIL. Instrução Normativa nº4, de 18 de junho de 2014. Determina a publicação do Guia de orientação para registro de Medicamento Fitoterápico e registro e notificação de Produto Tradicional Fitoterápico. 2014 jun.
- 34 Oliveira VB, Zuchetto M, Oliveira C.F, Paula C.S, Duarte A.F.S, Miguel M.D, Miguel O.G. Efeito de diferentes técnicas extrativas no rendimento, atividade antioxidante, doseamentos totais e no perfil por clae-dad de *dicksonia sellowiana* (presl.). Hook, *dicksoniaceae*. *Revista Brasileira de Plantas Medicinai*s.2016 Jan, 18(1).
- 35 Tiwari, P, Kumar B, Kaur M, Kaur G, Kaur H. Phytochemical screening and extraction: A Review. *Internationale Pharmaceutica Scientia*. 2011 Jan, 1(1) : 98-106.
- 36 Rockenbach, Il, Silva GL, Rodrigues E, Kusoski EM, Fett R. Influência do solvente no conteúdo total de polifenóis, antocianinas e atividade antioxidante de extratos de bagaço de uva (*Vitis vinifera*) variedades Tannat e Ancelota. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 2008 Jan; (28): 238-244.
- 37 Vongsak, B, Sithirsam P, Mangmool S, Thongpraditchote S, Wongkranjang Y, Gritsanapan W. Maximizing total phenolics, total flavonoids contents and antioxidant activity of *Moringa oleifera* leaf extract by the appropriate extraction method. *Industrial Crops and Products*. 2013 Jan; 44: 566–571.
- 38 Bampouli A, Kyriakopoulou K, Ppaefstatjiou G, Louli V, Krokida M, Magoulas K. Comparison of different extraction methods of *Pistacia lentiscus* var. chia leaves: Yield, antioxidant activity and essential oil chemical composition. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*. 2014 Sep, 1 (3): 81-91.
- 49 Stanisavljevic ITK, Stokicevic S, Velickovic DT, Todorovic Z. The effect of different extraction techniques on the composition and antioxidant activity of cherry laurel (*Prunus laurocerasus*) leaf and fruit extracts. *Industrial Crops and Products*. 2014 Mar, (54): 142- 148.
- 40 Sebastián S L., Ramos E., Ibáñez E, Bueno JM, Ballester L.; Tabera J, Reglero G. Dearomatization of Antioxidant Rosemary Extracts by Treatment with Supercritical Carbon Dioxide. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1998 Jan; 47: 13.
- 41 Klei T., Longhini R., Bruschi ML., Mello JCP. Fitoterápicos: um mercado promissor. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*. 2009; 30(3), 241:248
- 42 MOGENSEN, A. O. Choise of solvent in extraction, In: *AIChE* modular instructions: Series B, Stagewise and mass transfer operations. New York: American Institute of Chemical Engineers, 1982. (Extraction and Leaching 3. Module B3.5).
- 43 Tung, YT, Chua, MT, Wang, SY, Chang ST. Anti-inflammation activities of essential oil and constituents from indifenuous cinnamon (*Cinnamomum osmophloem*) twigs. *Bioresource Technology*. 2008 Jun; 99 (9): 3908-13.
- 44 Brenna OV.Pagliariini E. Multivariate analyses of antioxidant power and polyphenolic composition in red wines. *J. Agric. Food Chemistry*. 2001 Oct; 49: 4841-4844.
- 45 Solihah M.A., Nurhanan A.R. Wan Amir Nizam W.A., Wan Rosli W.J. Aqueous extract of cornsilk confers mild diuretic activity in normal rats. *Sais Malaysiana*.2015 Oct ; 44(8):1167-1174.
- 46 Velazquez DVO, Xavier HS, Batista JEM, Castro-Chaves C. *Zea mays* L. extracts modify glomerular function and potassium urinary excretion in conscious rats. *Phytomedicine*. 2005; 12: 363-369
- 47 Maksimovic Z, Malencic D, Kovacevic N. Polyphenol contents and antioxidant activity of *Maydis stigma* extracts. *Bioresource Technology*. 2005; 96: 873-877.

- 48 Vranješ M, Popovic B, Stajner D, Ivetic V, Mandi A, Vranjes, D. Effects of bearberry, parsley and corn silk extracts on diuresis, electrolytes composition, antioxidant capacity and histopathological features in mice kidneys, *Journal of Functional Foods*. 2016; 21: 272–282.
- 49 Gray, GM. Carbohydrate digestion and absorption—role of small intestine. *The New England Journal of Medicine*. 1975 Jun 5; 292 (23) : 1225-1230.
- 50 Zhang Y., Wu L., Ma Z., Cheng J., Liu J. Anti-diabetic, anti-oxidant and Anti-hyperlipidemic activities of flavonoids from corn silk on SZ-induced diabetic mice. *Molecules*. 2015 Oct; 21, 7.
- 51 Guo J., Liu T., Han L., Liu Y. The effects of corn silk on glycaemic metabolism. *Nutrition & Metabolis*. 2009 Nov 23; 6:47
- 52 Zhang Y, Wang J, Wang L, Zhen L, Zhu Q, Chen, X. A study on hypoglycaemic health care function of *Stigma maydis* polysaccharides. *African journal of traditional, complementary, and alternative medicines: African Journal of Traditional Complementary and Alternative Medicines*. 2013 Aug; 10(5): 401–407.
- 53 Ikpeazu VO, Ugbogu EA, Uche-Ikonne C, Okoro B, Nnaemeka J. Evaluation of the safety of oral intake of aqueous extract of *Stigma maydis* (corn silk) in rats. *Acta Scientiarum Polonorum. Technologia Alimentaria*. 2018 Dec; 17(4): 387–397.
- 54 Ebrahimzadeh MA, Mahmoudi M, Ahangar N, Ehteshami, Ansaroudi F, Nabavi SF, Nabavi SM. Antidepressant activity of corn silk. *Pharmacologyonline*. 2009; 3: 647-652.
- 55 Hadizadeh F, Ebrahimzadeh MA, Hosseinzadeh H, Motamed-Shariaty V, Salami S, Bekhradnia AR. Antidepressant and antioxidant activities of some 2-benzoxazolinone derivatives as Bupropion analogues. *Pharmacologyonline* 2009 Jan; 1: 331-335.
- 56 Mahmoudi M, Ebrahimzadeh MA, Ansaroudi F, Nabavi SF, Nabavi SM. Antidepressant and antioxidant activities of *Artemisia absinthium* L. at flowering stage. *African Journal of Biotechnology*. 2009; 8 (24).
- 57 Maity TK, Mandal SC, Saha BP, Pal M. Effect of *Ocimum sanctum* roots extract on swimming performance in mice. *Phytotherapy Research* 2000 April; 14 (2): 120-121
- 58 Zhao W, Yongguang Y, Zhipeng Y, Jingbo L, Feng C. Comparison of anti-diabetic effects of polysaccharides from corn silk on normal and hyperglycemia rats. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2012 May; 50: 1133-1137.
- 59 Guo H, Guan H, Yang W, Liu H, Hou H, Chen X, et al. Pro-apoptotic and anti-proliferative effects of corn silk extract on human colon cancer cell lines. *Oncology Letters*. 2017 Feb ;13(2):973–8
- 60 Lee J., Lee S., Kim S.L., Choi J.W., Seo J.Y., Choi D.J., Park Y.I. Corn silk maysin induces apoptotic cell death in pc-3 prostate cancer cells via mitochondria-dependent pathway. *Life Sciences*. 2014 Dec ; 119 (1-2): 47-55.
- 61 ZHAI, Q.; LI, X.; YU, L.; YAO, Y. Antitumor activity of a polysaccharide fraction from *Laminaria japonica* on U14 cervical carcinoma-bearing mice. *Tumor Biology*. 2014 Jan; 35, 117-122.
- 62 Jeong Y H., Oh YC., Cho WK., Yang HJ., & Ma JY. *Maydis Stigma* Elicits Analgesia and Blocks Edema in mice and inhibits inflammation in macrophages. *The American Journal of Chinese Medicine*. 2017 Sep; 45, 7: 1477-1496
- 63 Li CC., Lee YC., Lo HY., Huang YW, Hsiang CY, Ho TY. Antihypertensive effects of corn silk extract and its novel bioactive constituent in spontaneously hypertensive rats: The involvement of angiotensin-converting enzyme inhibition. *Molecules*. 2019 May; 16, 24 (10) pii: E1886.
- 64 Emmanuel SA, Olajide O, Abubakar S., Akiode AO, Etuk-Udo G. Chemical Evaluation, Free Radical Scavenging Activities and Antimicrobial Evaluation of the Methanolic Extracts of Corn Silk. *Journal of Advances in Medical and Pharmaceutical Sciences*. 2016 Sep; 9: 1-8.
- 65 Alam, EA. Evaluation of antioxidant and antibacterial activities of Egyptian *Maydis stigma* (*Zea mays* hairs) rich in some bioactive constituents. *Journal of American Science*. 2011, 7, 726–729.
- 66 Bai H., Hai C., Xi M., L X. Protective Effect of Maize Silks (*Maydis stigma*) Ethanol Extract on Radiation-Induced Oxidative Stress in Mice. *Plant Foods Human Nutrition*. 2010 Sep; 65: 271-276.
- 67 NESSA, F.; ISMAIL, Z.; MOHAMED, N. Antimicrobial activities of extracts and flavonoid glycosides of corn silk (*Zea mays* L). *International Journal of Biotechnology for Wellness Industries*. 2012; 1 (2): 115-121.
- 68 Shang F., Li L., Yu L., Ni J. Effects of *stigmata maydis* on the methicillin resistant *Staphylococcus aureus* biofilm formation. *PeerJ*. 2019 Feb; 7 (4): e6461.